

발간등록번호

11-1543000-001432-01

기능성 및 내재해성 유용 유전자원 탐색 및 활용기술 개발

(Development of Exploration and Utilization
Technology for Functional and Anti-environmental
Stress Genetic Resources)

충남대학교

농림축산식품자료실



0025065

농림축산식품부 · 해양수산부
농촌진흥청 · 산림청

제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “Golden Seed” 프로젝트(세부프로젝트 “기능성 및 내재해성 유용 유전자원 탐색 및 활용기술 개발”)의 보고서로 제출합니다.

2016년 11월 8일

프로젝트 연구기관명 : 충남대학교

프로젝트 책임자 : 박 상 언

세부프로젝트 연구기관명 : 충남대학교

세부프로젝트 책임자 : 오 택 근

세부프로젝트 연구기관명 : 충남대학교

세부프로젝트 책임자 : 정 선 옥

협동프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

협동프로젝트 책임자 : 박 수 형

협동프로젝트 연구기관명 : 배추와 육종

협동프로젝트 책임자 : 변 동 해

요 약 문

I. 제 목

기능성 및 내재해성 유용 유전자원 탐색 및 활용기술 개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

- 배추와 케일의 대표 기능성물질인 글루코시놀레이트와 카로티노이 생합성 관련 유전자의 특성을 조사함
- 기능성, 내서성 관련 유전자 발현 네트워크조절 및 재배 활용기술을 개발함.
- 기능성물질의 분석법을 구축하여 재배조건에 따른 해당 기능성 성분 변화를 고찰하고 기능성 성분 극대화를 위한 정밀농법 기술을 확립함.
- 기능성, 내서성 배추과 계통 육성 및 품종 종자 개발을 통한 상업화를 추진함.

III. 연구개발의 목적 및 필요성

- 기능성 배추과 작물 육성 및 정밀농법 대량생산을 통한 국민 보건 향상 및 농가소득 증대를 도모함
- 지구온난화와 기후변화에 대처할 내재해성 배추, 케일 품종이 필요함

IV. 연구개발 내용 및 범위

- 배추과 작물의 기능성 및 내서성 유전자 발현 네트워크조절 및 재배 활용기술 개발
- 기능성 및 내서성 유전자원 분석 및 활용기술 개발
- 정밀농법이용 기능성 성분 발현 기술 확립
- 기능성 및 내서성 배추와 케일의 계통 육성
- 기능성 및 내서성 품종 종자 생산 및 사업화

V. 연구개발결과

- 배추, 케일에서 glucosinolates와 carotenoids 생합성 및 내서성 관련 유전자 발굴
- 기능성 및 내서성 유전자발현 네트워크 조절시스템 규명
- 기능성 강화 및 내서성 유전자발현 조절 인자 규명 및 작물 재배기술활용
- 국내외 다양한 배추 및 케일 유전자원의 수집 및 평가를 통한 우량 개체 선발
- 배추와 케일의 기능성성분(glucosinolates/carotenoids) 분석 방법 확립 및 서비스
- 식물공장형 정밀 재배환경 조절시스템 개발 및 환경 변화에 따른 기능성 성분 함량 분석
- 기능성 성분 목표 함량을 위한 최적 재배조건 및 정밀 환경조절 기술 확립
- 소포자 배양을 통한 고 기능성 배추 및 케일 계통 확립
- 육성한 계통 특성 평가 및 육종시스템에 제공
- 기능성, 내서성이 우수한 배추의 품종 개발 및 사업화
- 기능성 케일 종자 개발 및 사업화

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

- 우리나라 주요 식재료인 배추와 케일의 기능성 및 내서성 유전자원 확보
- 기능성 및 내서성 유전자발현 조절인자 규명 및 작물 재배기술활용
- 기능성 성분 증대를 위한 식물공장의 정밀 재배 시스템 상품화
- 기능성 및 내서성 배추, 케일 종자 개발 및 사업화
- 국민 건강 및 맞춤형 식생활에 기여

SUMMARY

(영문요약문)

I. Title

Development of Exploration and Utilization Technology for Functional and Anti-environmental Stress Genetic Resources

II. Performance against targets

- Characterization of functional compound (glucosinolate and carotenoid) biosynthetic genes in Chinese cabbage and kale.
- Gene expression network analysis of heat resistant and functional compound biosynthetic genes for application of crop cultivation.
- Establish the analysis of functional compound (glucosinolate and carotenoid) for investigating the content of functional compound depend on culture condition and develop precision agriculture for improvement of functional compound accumulation in Chinese cabbage and kale.
- Development and commercialization of new Chinese cabbage and kale cultivars which are improved functional compound accumulation and heat resistance.

III. The purpose and need for research and development

- Development of new Chinese cabbage and kale cultivars which are improved functional compound accumulation and mass production using precision agriculture for improvement of public health and farmers' incomes.
- Development and commercialization of new Chinese cabbage and kale cultivars which are improved multiple stress resistance against climate change and global warming.

IV. Research contents and scope

- Gene expression network analysis of heat resistant and functional compound biosynthetic genes for application of Chinese cabbage and kale cultivation.
- Phytochemical analysis and utilization of Chinese cabbage and kale genetic resources which have functional compound and heat resistance.
- Development of precision agriculture for improvement of functional compound accumulation in Chinese cabbage and kale.
- Development of new Chinese cabbage and kale cultivars which are improved functional compound and heat resistance
- Production and commercialization of new Chinese cabbage and kale cultivar seed which are improved functional compound accumulation and heat resistance.

V. Research Results

- Isolation of glucosinolate and carotenoid biosynthetic genes and heat resistant genes from Chinese cabbage and kale
- Regulational study for gene expression network system of heat resistant and functional compound biosynthetic genes in Chinese cabbage and kale
- Regulation of gene expression of heat resistant and functional compound biosynthetic genes with environment control and application of Chinese cabbage and kale cultivation.
- Domestic and international collection and evaluation of Chinese cabbage and kale genetic resource for selecting excellent cultivar
- Establishment and service of chemical analysis for glucosinolates and carotenoids in Chinese cabbage and kale
- Development of environmental control system for plant factory and functional compound analysis in Chinese cabbage and kale cultivated different environment conditions
- Establishment of optimal culture condition and environmental control system for improvement of functional compound accumulation in Chinese cabbage and kale.
- Development of Chinese cabbage and kale cultivars which are improved functional compound accumulation using microspore culture
- Characterization of new Chinese cabbage and kale cultivars for supply to breeding system
- Production and commercialization of new Chinese cabbage and kale cultivar seed which are improved functional compound accumulation and heat resistance

V. Research achievements and future plan

- Genetic resource collection of Korean representative vegetables, Chinese cabbage and kale which are improved functional compound accumulation and heat resistance
- Development of gene expression network system of heat resistant and functional compound biosynthetic genes for application of Chinese cabbage and kale cultivation.
- Commercialization of plant factory with precise culture system for improvement of functional compound accumulation
- Commercialization and development of new Chinese cabbage and kale cultivar seed which are improved functional compound accumulation and heat resistance
- Contribution for public health and personalized food using new Chinese cabbage and kale cultivar seed which are improved functional compound accumulation and heat resistance

CONTENTS
(영 문 목 차)

Chapter 1. Purpose and Outline of Project

Chapter 2. Domestic and International Research and Development

Chapter 3. Results and Contents of Research and Development

Chapter 4. Contribution of Research and Development for Related Research Area

Chapter 5. Research Results and Their Application Plans

Chapter 6. International Information of Science and Technology

Chapter 7. Reference

목 차

제 1 장 프로젝트(세부프로젝트 포함)의 개요 및 성과목표

- * 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술
- * 연구성과 목표 대비 실적

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- * 국내.외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내.외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

- * 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- * 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전에의 기여도 등을 기술

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

- * 실용화.산업화 계획(기술실시 등)
- * 교육.지도.홍보 등 기술확산 계획 등
- * 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등
- * 추가연구, 타연구에 활용 계획 등
- * 연구기획사업 등 사업별 특성에 따라 목차는 변경 가능함

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

- * 보고서 작성 시 인용된 모든 참고문헌을 열거

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

제 1 장 프로젝트(세부프로젝트 포함)의 개요 및 성과목표

1 절. 연구개발의 목적 및 내용

1. 연구개발 목표 및 내용

가. 최종목표 : 기능성 배추과 작물 육성 및 정밀농법 대량생산을 통한 국민 보건 향상 및 농가소득 증대

나. 주요 연구 내용

(1) 제1세부 과제: 배추과 작물 기능성 및 내서성 유전자 발현 네트워크조절 및 재배 활용기술 개발

(가) 배추, 케일에서 glucosinolates와 carotenoids 생합성 관련유전자 발굴

(나) 배추, 케일에서 내서성 관련유전자 발굴, 특성 조사

(다) 기능성 및 내서성 유전자발현 네트워크 조절시스템 개발

(라) 기능성 강화 및 내서성 유전자발현 조절 인자 규명

(마) 기능성 강화 및 내서성 배추과 작물 재배기술 활용

(2) 제2세부 과제: 기능성 및 내서성 유전자원 분석 및 활용기술 개발

(가) 국내외 다양한 배추 및 케일 유전자원의 수집 및 재배

(나) 배추와 케일의 기능성 성분 분석 방법 확립 및 서비스

(다) 기능성 성분에 의한 유전자원 선발 및 평가

(3) 제3세부 과제: 정밀농법이용 기능성 성분 발현 기술 확립

(가) 식물공장형 정밀 재배환경 조절시스템 개발

(나) 지상부, 지하부 환경에 의한 기능성 성분 함량 영향 시험

(다) 최적 재배조건 및 정밀 환경조절 기술 확립

(4) 제1협동 과제: 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성

(가) 기능성 성분이 높은 우수 선발 자원의 뇌수분 실시

(나) 소포자 배양의 효과적 배양 조건 구명을 통한 우수 계통 육성

(다) 포장 실험을 통한 계통별 특성 평가

(라) 정밀 환경조절 기술 적용을 위한 우수 계통 종자 공급

(5) 제2협동 과제: 기능성 및 내서성 품종 종자 개발 및 사업화

(가) 기능성 성분 고함량 배추 및 케일의 육종 소재 개발

(나) 소포자 배양을 통해 생산된 기능성 성분 고함량 고정계통의 선발

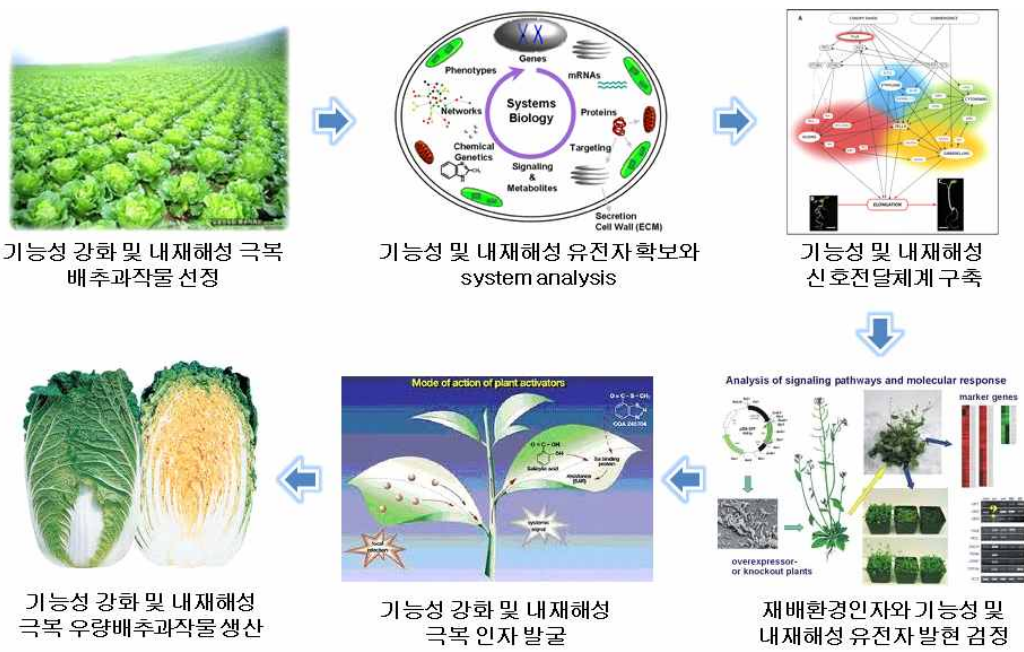
(다) 기능성, 내서성 배추 종자 개발 및 사업화

(라) 기능성 케일 종자 개발 및 사업화

다. 과제별(세부·협동) 연구개발의 목표 및 내용

(1) 제 1 세부과제: 배추과 작물 기능성 및 내서성 유용유전자 발현 네트워크 조절 및 재배 활용기술 개발

- 배추, 케일에서 glucosinolates와 carotenoids 생합성 관련유전자 발굴
 - 애기장대와 배추의 엽기서열 비교를 통한 glucosinolates 및 carotenoids 생합성 관련 유전자의 선별 및 클로닝
- 배추, 케일에서 내서성 관련유전자 발굴
 - 애기장대와 배추의 엽기서열 비교를 통한 내서성 관련 유전자 선별 및 클로닝
- 발굴유전자의 분자생물학적인 특성 조사
 - Glucosinolates 및 carotenoids 함량에 차이를 보이는 다양한 품종에서 유전자의 expression profile검증
 - 선별된 유전자의 내서성에 대한 반응성 확인
- 기능성 및 내서성 유전자발현 네트워크 조절시스템 개발
 - 선별 유전자의 발현 특이성 조사, 유전자 기능 검증 및 대사체학 연구
- 기능성 강화 및 내서성 유전자발현 조절 인자 규명
 - 선별 유전자 발현조절과 기능성 물질 분석을 통한 유전자 기능검증
- 기능성 강화 및 내서성 배추과 작물 재배기술 활용
 - 스트레스 및 환경 변화에 따른 유전자 발현 변화 식물 공장 재배조건 활용

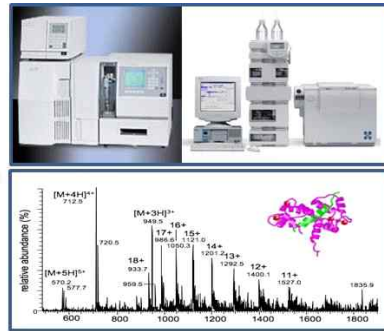


(2) 제 2 세부과제: 기능성 및 내서성 유전자원 분석 및 활용기술 개발

- 국내외 배추와 케일의 다양한 유전자원에 대한 수집 및 재배
 - 농림수산식품부 배추분자마커연구사업단 및 교과부 배추과계놈소재은행, 농진청 식물유전자원센터 및 국외유전자원센터로부터 다양한 유전자원 확보
- 배추와 케일의 기능성성분 (glucosinolates/ carotenoids) 분석 방법 개발
 - 배추과 작물의 품질 육종에 필요한 기능성 성분 분석기술 개발
 - 기능성분의 저비용, 초고속 정밀 분석 기술법 확립 및 매뉴얼화
- 수집자원의 glucosinolates/ carotenoids 함량 측정
 - HPLC와 LC-MS를 이용한 배추와 케일의 glucosinolates/ carotenoids 정량 정성 분석
- 선발된 수집자원의 기능성 및 내서성 조사
 - Glucosinolates 함량에 따른 각각 품종의 기능성 및 내서성 조사 (내서성)
- 내서성 및 기능성 성분이 강화 우량 배추 및 케일의 선발 및 재배
 - 선발된 우량 품종의 후대 기능성 성분 검증



배추와 케일의 품종수집



수집자원의 기능성성분 분석



선발자원의 기능 검증

(3) 제 3 세부과제: 정밀농법 이용 기능성 성분 발현 기술 확립

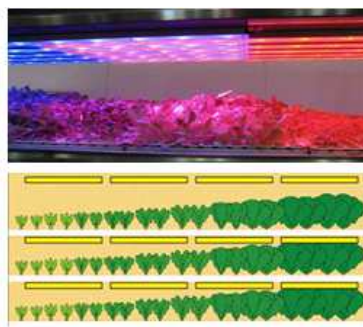
- 식물공장형 정밀 재배환경 조절시스템 개발
 - 재배실, 기계실, 제어실, 준비실로 구성
 - 재배실: 대형 1개실(4 m x 5 m 정도), 소형 4개실(2 m x 2 m 정도)
(온도, 습도, CO₂ 농도 조절형)
 - 재배단: 3단(광, 수분, 양분 조절형)
 - 지상부 제어: 온도, 습도, CO₂ 농도, 기류, 광(광원 종류, 세기, 주기 등)
 - 지하부 제어: 수분, 양분 투입 양 및 주기(양액, 배지, 포트 등)

- 지상부, 지하부 환경에 의한 기능성 성분 함량 영향 시험
 - 소형 재배실: 온도, 습도, CO₂ 농도 등 영향 시험(4수준 동시 시험)
 - 대형 재배실: 광, 수분, 양분 등 영향 시험(다 요인/수준 동시 시험)
 - 기능성, 내재해 유전자 품종에 대한 재배시험
 - 주요 재배환경 인자별 반복 시험
 - 재배환경 인자별 독립 효과, 인자별 복합 효과 분석
 - 표준 온실 조건과의 재배특성 차이점 분석

- 최적 재배조건 및 정밀 환경조절 기술 확립
 - 재배 환경 요인별 재배시험을 통한 최적 재배조건 확립
 - 기능성 성분 목표 함량을 위한 재배조건 검증 시험
 - 최적 재배조건 정밀 환경조절 성능 향상



식물공장: 온도, 습도, CO₂



광, 수분, 양분 영향 고찰



최적 재배 조건 확립

(4) 제 1 협동과제: 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성

- 국내외 주요 배추 및 케일의 평가 및 수집
 - 재배시험 결과 우수 선발 자원의 재배 및 증식
 - 선발자원의 생육조사를 통한 수집 품종의 평가
 - 우수 품종의 선발 및 소포자 배양을 위한 재배 시작
- 선발 자원의 세대 진전과 우수계통의 선발 및 소포자 배양을 통한 계통 고정
 - 노지 재배를 통한 우수 품종의 소포자 배양
 - 품종별 소포자 배양을 위한 최적 조건 확립
 - 소포자 배양 유래 자원의 종자 증식 및 후대 표현형 검증
 - 분자 마커를 이용한 소포자 배양 유래 개체의 유전적 검증
- 소포자 배양을 통해 육성한 계통의 고정 및 증식
 - 선발계통의 세대 진전 및 종자증식
 - 정밀제어 환경 재배를 위한 재료 공급

소포자배양



Plant



Buds selection



Disinfection



Grinding



Filtering



Centrifuge



Culture



Dark culture for 2 weeks



Light culture with shaking

(5) 제 2 협동과제: 기능성 및 내서성 품종 종자 개발 및 사업화

- 글루코시놀레이트, 카로티노이드 고함량 배추 및 케일 육종소재 및 F1품종 개발
 - 배추 및 케일 국내외 유전자원 수집 및 글루코시놀레이트, 카로티노이드 성분조사 후 유망 유전자원 선발
 - 기 보유한 고정계통들의 글루코시놀레이트, 카로티노이드 성분조사 및 선발
 - 선발 유전자원간의 교배 및 후대 선발 및 고정하여 F1 조합작성
 - 선발된 고정계통들을 이용하여 F1 조합작성
 - 작성된 F1 조합들을 이용하여 성능검정 및 선발
 - 선발된 F1 조합의 종자를 시험생산하여 지역적응성 시험 및 생산성 시험
 - 목표에 부합된 F1 조합을 생산 판매 신고 및 품종보호 신청



기능성 성분 고함량 배추 및 케일의 증식

주요 우량 품종의 F₁ 품종 개발

F₁ 조합의 종자 증식과 고정계통 확립

2 절. 연구개발의 필요성

1. 기능성작물 개발의 필요성

배추는 김치의 주원료로 우리나라에서 가장 많이 재배되고 있는 중요한 십자화과 채소이다. 우리나라 식생활에 있어서 김치를 통한 배추의 소비는 필수적인 요소이며, 최근 한식 세계화와 더불어 세계적인 소비확대가 기대되는 채소품목이다. 김치에 대한 과다한 염분, 젓갈사용 등에 대한 서구의 오해는 풀려서 건강음식으로 인정받고 있으나 우리나라의 높은 소화기암 발생률 등을 고려할 때 날마다 먹는 배추김치에 항암 및 소화기 보호 기능이 더해진다면 국민 건강개선, 한식 세계화 및 배추 수출에 있어서 획기적인 전기를 마련하는 기회가 될 것이다. 현재 일반 배추품종들은 항산화 작용을 하는 기능성 성분인 glucosinolate와 carotenoid 물질들이 포함되어 있으나 함량은 미미한 수준이다. 따라서 고함량의 glucosinolate, carotenoid 등이 함유된 배추품종이 개발된다면, 기능성 배추의 실용화로 국민건강에 기여하고, 농가 소득이 증대되고

또한 배추종자 및 김치의 해외 수출이 증가 할 것이다.

케일은 십자화과에 속하며, 원산지는 지중해이다. 양배추의 선조격으로, 양배추와 브로콜리, 콜리플라워 등은 모두 케일을 품종 개량하여 육성한 것이다. 종류는 잎 가장자리가 오글거리는 곱슬케일, 쌈채소로 이용되는 쌈케일, 흰색과 핑크색이 어우러진 꽃케일 등이 있다. 우리나라에서 흔히 먹는 케일은 콜라드라고도 부르는 쌈케일이다. 케일은 glucosinolate와 carotenoid 등이 다른 채소에 비해 많이 들어 있어 생채 쌈용으로 많이 재배되고 증가하는 추세에 있다.

불황에도 불구하고 고령화의 여파로 건강기능식품 판매는 꾸준히 증가하고 있는 것으로 나타났다. 한국보건산업진흥원이 7일 발표한 ‘2015년 식품산업 분석 보고서’에 따르면 2014년 건강기능식품의 매출액은 1조6310억원으로 2013년(1조4820억원)에 비해 10.1% 증가했다.

이는 전체 식품 시장 매출액이 2013년 55조5102억원에서 2014년 55조3672억원으로 0.3% 감소하며 다소 정체된 모습을 보이는 것과 대비된다.

특히 건강기능식품의 국내 판매액은 2014년 1조5641억원으로 2013년(1조4066억원)에 비해 11.2% 증가했다. 건강기능식품의 생산규모도 커졌다. 2014년 기준으로 건강기능식품의 생산액은 1조1208억원으로 전년(1조420억원)보다 7.6% 늘었다. 이는 식품 전체 성장률(4.6%)보다 증가폭이 큰 것이다. 생산실적을 보고한 건강기능식품 업체 역시 2010년 343곳에서 2014년 460곳으로 4년새 34.1% 증가했다. 해마다 7.6%씩 늘어난 셈이다. 보고서는 “선진국은 질병 예방, 높은 의료비로 건강기능식품 시장이 성장했고 한국도 고령화 추세, 자기 건강관리에 대한 관심 증가가 영향을 미친 것”이라고 분석했다.

이처럼 고령화와 성인병 증가등의 사회적 문제가 대두되고 있는 현실에서 기능성 물질이 함유된 배추과 작물개발은 시급한 것으로 판단된다.

2. 내서성 배추과 작물 개발의 필요성

폭염에 가뭄까지 겹치면서 추석 직전 수요가 가장 많은 고랭지 배추와 무 가격이 급등한 것으로 나타났다. 19일 한국농촌경제연구원 농업관측센터에 따르면 이달 중순(8월 11~18일) 고랭지 배추 가격은 10kg(상품)을 기준으로 1만3천440원이었다. 이달 상순(1만300원)보다 30%가량 올라갔고, 지난해 같은 기간(7천500원)보다 무려 79%나 높아졌다. 두 배 가까이 뛴 셈이다. 이달 중순 고랭지 무 18kg당 가격도 지난해 같은 기간보다 13% 높아진 1만3천120원이었다.

배추보다는 가격 상승 폭이 크진 않지만, 추석과 김장철에 수요가 가장 많은 채소류 중 하나여서 장바구니 물가에 부담을 줄 것이란 우려가 나온다. 배추와 무 가격이 크게 오른 것은 올여름 연일 계속된 가마솥더위의 영향으로 작황이 부진했기 때문이다. 배추나 무 등 고랭지 작물은 7~8월에는 해발 600~700m, 기온이 더 올라가는 8월 하순~9월에는 1천m에 있는 경작지에서 기온이 섭씨 18~25도 정도일 때 잘 자란다.

하지만 이달 중순까지 최고기온이 평년 대비 섭씨 2.2도가량 높았고, 강수량은 평년보다 적은 42mm 내외로 가뭄이 지속했다. 특히 고랭지 배추의 경우 95%가량이 강원도 지역에서 재배되는

데, 강원도 역시 낮 최고기온이 30도를 웃도는 찜통더위가 연일 계속되면서 피해가 컸다는 분석이다. 또 이달 상순까지는 배추 출하량이 평년과 비슷한 수준이었지만, 중순에는 고온이 지속되면서 무름병, 잎마름병, 바이러스 등이 확산해 출하가 원활하지 않았다.

실제로 고랭지 배추 주산지의 일별 최고기온 기록을 보면 강원 삼척 하장면은 지난 10일 낮 최고기온이 30.5도를 기록한 것을 시작으로 닷새간 30도를 넘으면서 작황이 부진했던 것으로 조사됐다. 이달 하순부터는 해발고도가 높은 주산지 지역에서 본격적으로 출하작업이 시작돼 배추와 무 모두 중순보다는 출하량이 많겠지만, 고온 피해로 출하량 증가폭이 크진 않을 전망이다.

농촌경제연구원 관계자는 “최근 폭염 기세가 한풀 꺾이면서 다행히 작황 피해가 확산하지는 않았지만, 해발고도가 상대적으로 낮은 주산지에서 작황 피해가 컸다”며 “출하량이 늘면 가격이 내려가긴 하겠지만 배추의 경우 워낙 현 가격이 높게 형성돼 있고 추석 때는 수요가 집중돼 가격 하락 폭이 크진 않을 것으로 보인다”고 말했다 (곧 추석인데…이상고온에 고랭지 배추 가격 80% 급등 연합뉴스 인용).

이처럼 매년 계속되는 여름철 고온 현상으로 배추 수확량에 문제가 생겨 가격 폭등으로 소비자들에게 많은 피해를 초래하고 있는 현실이다. 그래서 내서성 배추 품종 개발이 필요하다.

3 절. 연구개발개발결과의 성과목표

1. 연구성과목표

(단위 : 건수)

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타 (인력양 성)
	출원	등록	품종명 명칭등록	품종생 수입 판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차년도							10		1	1
2차년도							10	1	1	1
3차년도	1						10	2	1	1
4차년도	1	1			1		10	2	2	1
5차년도	1	1	2	1	1		10	2	2	1
계	3	2	2	1	2		50	7	7	5

2. 목표대비 연구성과

(단위 : 건수)

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타 (인력양 성)
	출원	등록	품종명 명칭 등록	품종수 생산 입관 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차년도							71	3	1	0
2차년도								3	1	5
3차년도					1		15	4	3	5
4차년도	1						10	4	2	10
5차년도	1						27	3	5	6
계	2						123	17	12	26

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1 절. 국내 기술개발 현황

1. 배추과 작물의 기능유전체

중국의 연구진들과 국내에서는 충남대학교와 농촌진흥청 공동으로 진행해온 배추게놈프로젝트의 성과로 배추의 전체게놈 염기서열 해독을 완료하여, 연구팀에 의해 283.8Mb의 배추 염기서열이 해독됐고, 배추가 41,147개의 유전자로 구성돼 있음을 밝혀졌다. 배추의 유전자 염기서열이 밝혀짐에 따라 배추의 육종 연한을 단축시키고 유용한 유전자와 유전 형질 탐색이 가능해졌으며, 특히, 유전자를 이용한 형질전환을 통해 내서성, 내병성, 내한성 품종 등 개발에 기초가 될 것으로 기대돼 최근 이상기후로 발생한 배추과동 등에도 향후 많은 기여를 할 것으로 보인다. 대부분 국내 연구진은 배추 유전체 연구에 집중하고 있으며 향후 배추 기능 유전체 연구에도 투자가 필요하다.

연구하여, 연구팀에 의해 283.8Mb의 배추 염기서열이 해독됐고, 배추가 41,147개의 유전자로 구성돼 있음을 밝혀졌다. 배추의 유전자 염기서열이 밝혀짐에 따라 배추의 육종 연한을 단축시키고 유용한 유전자와 유전 형질 탐색이 가능해졌으며, 특히, 유전자를 이용한 형질전환을 통해 내서성, 내병성, 내한성 품종 등 개발에 기초가 될 것으로 기대돼 최근 이상기후로 발생한 배추과동 등에도 향후 많은 기여를 할 것으로 보인다. 대부분 국내 연구진은 배추 유전체 연구에 집중하고 있으며 최근 배추 기능유전체 연구를 하는 국내 연구진도 증가하고 있음

2. 배추과 작물의 기능성물질 분석

배추과 작물을 대표하는 글루코시놀레이트는 유기화합물의 일종으로 포도당으로부터 유래한 황, 질소 등을 함유하고 있다. 물에 잘 녹으며 글루코시드에 속한다. 자연에는 약 120가지의 서로 다른 글루코시놀레이트들이 알려져 있는데, 아미노산(트립토판, 메싸이오닌, 페닐알라닌, 타이로신)들로부터 합성된다. 글루코시놀레이트와 그 분해효소인 미로시나제는 정상적인 조건에서 물리적으로 분리되어 있으나 조직이 파괴되면 글루코시놀레이트가 미로시나아제에 의해 포도당 계열이 분해되면서 이때 남아 있는 분자는 싸이오사이안산염인 아이소싸이오사이아네이트 또는 나이트릴로 변화된다. 일반적으로 HPLC를 이용하여 분석하며, 국내에서는 농촌진흥청과 충남대학교에서 분석이 활발하게 이루어지고 있다.

3. 배추과 작물의 식물공장에서 생산

식물공장이란 일반적인 논밭 말고 건물이나 시설 안에 빛, 공기, 열, 양분 같은 조건을 맞춰서 식물이 자랄 수 있는 환경을 만들어주고 마치 공산품처럼 식물을 생산해내는 곳을 말합니다. 요즘 전 세계적으로 이상 기후 때문에 농업이 큰 타격을 입고 있어서 식량 위기에 대한 불안이 커지고 있습니다. 식물공장은 기후나 지역에 상관없이 농작물을 재배할 수 있게 해주기 때문에 식량 위기에 하나의 대안이 될 수 있습니다. 식물공장에서는 대부분 수경재배를 하기 때문에 토양을 관리할 필요가 없습니다. 또 첨단 녹색기술이 적용되기 때문에 농작물의 생육기간을 단축할 수도 있고, 생산성을 향상시킬 수도 있습니다. 하지만 식물공장은 여러 가지 장점에도 불구하고, 초기 설치비와 유지비 같은 비용이 너무 많이 들기 때문에, 경제성을 위해서는

앞으로 개선해야 할 점이 많습니다. 국내에서는 배추과 작물을 식물공장에서 생산하는 연구는 활발하지 않은 것으로 나타났습니다.

4. 기능성 및 내서성 배추과 작물의 육종

국민소득수준의 증가와 삶의 질 향상, 고령화 사회 진입에 따라 건강의 유지 및 증진이 무엇보다 중요하다는 사회적 트렌드가 형성되면서 건강기능식품산업에 대한 관심이 더 높아졌다. 관련 업계 전문가들에 따르면 건강기능식품으로 촉발된 식품과 의약품의 산업간, 학문간, 시장간의 부분적 통합 움직임이 활발히 이뤄지고 있어 잠재적 시장성은 더욱 확대될 것으로 전망된다. 기능성배추 또한 최근 일반인들에게 큰 관심을 끌고 있으며 종묘회사를 중심으로 기능성 배추 품종 육성이 활발히 진행 중이다.

이상기온의 영향으로 노지채소 작물은 피해가 다각화되고 있고, 농업생산성 저하가 초래되고 있는 실정이다. 기후변화에 따른 농업부분 영향에 대한 과학적인 진단과 평가는 한국 미래농업의 비전 및 농정방향 설정에도 매우 중요한 사안이다. 우리나라 대표적인 노지채소 작물인 배추에서도 이상고온에 의한 생리장해 및 생육저해 현상이 발생하여 생산이 불안정하고 가격변동이 심함으로 최근 농촌진흥청과 종묘 회사를 중심으로 내서성 배추 육종이 활발히 연구 중에 있다.

2 절. 국외 기술개발 현황

1. 배추과 작물의 기능유전체

중국 연구진의 주도하에 배추게놈프로젝트가 완료되어 유전체 뿐만 아니라 배추 기능 유전체학 또한 중국이 주도하에 활발히 진행 중이다.

2. 배추과 작물의 기능성물질 분석

배추를 채소로 먹는 주변 국가 특히 중국과 일본에서 글루코시놀레이트 분석이 활발히 진행 중에 있다.

3. 배추과 작물의 식물공장에서 생산

국내에서는 배추과 작물을 식물공장에서 생산하는 연구는 활발하지 않은 것으로 나타났으며, 국외에서도 배추의 식물공장에 관한 연구 정보가 거의 없다.

4. 기능성 및 내서성 배추과 작물의 육종

국외에서도 배추의 기능성 및 내서성 배추과 작물의 육종에 관한 연구 정보가 거의 없다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

<제1세부과제 : 배추과 작물 기능성 및 내재해성 유용자 발현 네트워크 조절 및 재배 활용기술 개발>

1절. 배추

1. 배추 (*Brassicarapesubsp.pekinensis*)에서 유식물체 발달과정에서 glucosinolate 생합성에 관여하는 MYB transcription factors의 유전자 발현

가. 서론

Glucosinolates (GSLs)는 초식동물과 미생물에 대한 식물방어 물질로 중요한 역할을 한다 (Halkier and Gershenzon, 2006). Glucosinolates는 브로콜리와 배추 같은 십자화과의 채소에서 많이 생산된다. 홍고추와 마늘과 함께 김치의 주재료인 배추는 한국에서 중요한 채소중에 하나이다. 최근 GSLs는 항암효과, 항산화, 항균력 때문에 많은 주목을 받고 있다 (Fahey et al., 1997, 2002; Talalay et al., 2001; Kim et al., 2011). 브로콜리와 콜리플라워의 발아 후 3일된 유식물체는 성숙한 식물보다 glucoraphanin의 함량이 10-100배 가량 높았다. GSLs은 Met, Trp, Phe을 포함하고 있는 몇 가지 아미노산들에 의해 합성된다. Methionine, tryptophan, phenylalanine의 아미노산들은 대부분 중요한 GSLs 생합성의 전구체들이고 각각 indolic, aliphatic, aromatic GSLs을 이끈다 (Grubb and Abel, 2006; Halkier and Gershenzon, 2006). 간단한 GSLs 생합성 경로과정은 그림 1에서 보여준다. 배추과에서 Tryptophan 이차대사산물의 중요한 그룹은 indolic GSL이다. Indolic GSLs와 다른 GSLs는 생물학적 활성인 nitrile, isothiocyanate, 또는 thiocyanate forms으로 myrosinases에 의해 조절된다 (Wittstock and Halkier, 2002). GSLs 생합성은 biotic과 abiotic 스트레스에 반응하고 R2R3-MYB family에 속하는 Transcription factors (TFs)의 복잡한 network에 의해 대사 작용이 이루어진다 (Celenza et al., 2005; Levy et al., 2005; Maruyama-Nakashita et al., 2006; Skirycz et al., 2006; Gigolashvili et al., 2007a,b,2008; Hirai et al., 2007; SØnderby et al., 2007). MYB29, MYB76과 MYB29는 높은 aliphatic GSLs 생합성 조절에 특이적으로 관여하는 조절인자이다 (Gigolashvili et al., 2007b, 2008; Hirai et al., 2007; SØnderby et al., 2007), 반면에 MYB51, MYB122와 MYB34는 높은 indolic GSLs를 조절할 수 있는 유전자이다 (Celenza et al., 2005; Gigolashvili et al., 2007a; Malitsky et al., 2008). Skirycz 등 (2006)은 초식동물과 MeJA에 의해 유도될 수 있는 DOF TF AtDof1.1 (OBP2)는 애기장대에서 GSL 생합성을 부분적으로 조절한다고 보고한바 있다. 애기장대 IQD1 (a novel calmodulin-binding nuclear protein) 식물 방어와 GSL 축적을 자극한다 (Levy et al., 2005). GSLs 생합성은 주된 Sulfur metabolism과 직접적으로 관련이 있다. GSLs core 합

성의 마지막 단계는 desulfo-Glucosinolates 전구체들의 sulfation이다 (Underhill et al., 1973). Yatusевич 등 (2010)은 ATPS (ATP sulfurylase), APK (APS kinase), APR (APS reductase) 유전자들은 core GSLs 생합성 조절에 관여하는 R2R3-MYB TFs에 의해 직접적으로 조절된다고 보고했다. 브로콜리, 콜리플라워, 케일, 브르셀 sprouts를 포함하는 있는 십자화과 식물들은 방어 기작에 중요한 역할을 한다 (Verhoeven et al., 1996, 1997). 많은 브로콜리 품종의 sprouts들은 아주 소량의 indolic GSLs이 존재하고 성숙한 채소에는 훨씬 많다. 이들은 중앙형성을 유도할 수 있는 indole-3-carbinol 생산을 억제시킬 것이라고 보고된바 있다 (Fahey et al., 1997). 현재 까지 GSLs 생합성에 관련된 MYB TFs에 대해서는 연구가 많이 되어졌다 하지만 유식물체 생육발달과정 중 MYB TFs에 대해 유전자 발현에 관한 연구는 보고된 바 없다. 본 연구에서 GSLs 축적과 GSLs 생합성 조절에 관여하는 R2R3-MYB TFs의 전사발현 실험은 행해졌고 GSLs의 함량을 분석했다. Microarray 분석은 서울대학교 양태진 교수님 연구팀의 microarray database를 기초로 행해졌다. 유식물체에서 빛의 영향과 GSLs 축적과의 상관관계도 또한 연구하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물 재료 및 성장 조건

본 실험에 사용된 종자는 아시아 종묘 회사로부터 구입했다. 유식물의 생육별 유전자 발현 실험을 위해서, 종자는 발아시키기 전 24시간 동안 물에 침지시켰으며, 1/2 MS 액체 배지가 든 플라스틱 박스에서 발아시켰다. 유식물은 25도 Growth chamber에서 명조건 (16h light/8h darkness)과 암조건 (24h/day darkness)으로 키웠고, 발아 후 2, 4, 6, 8, 10일 동안 각각의 유식물을 수확했다. 또한 배추의 조직별 (꽃, 줄기, 뿌리, 잎, 종자)로 유전자 발현을 보기 위해서, 배추는 충남대학교 온실에서 키웠다.

(2) 생물정보 분석

배추 (*B. rapa* ssp. *pekinensis*)의 sequence 정보를 얻기 위해서, BRAD (*Brassica*Database) (<http://Brassicadb.org>)가 이용되었다. Glucosinolate 생합성에 관련된 유전자는 총 110개였다. 이 중에서 본 연구진은 MYB transcription factor에 관한 유전자만 사용하였다. 총 18개의 MYB transcription factor에서 MYB 29는 Bra009245와 Bra005949가 거의 같았다. 따라서 본 실험에서 Bra009245 유전자는 사용되지 않았고, 총 17개의 유전자만 사용되었다. Glucosinolate 생합성에 관련된 단백질들이 어느 세포에서 발현하는지 알아보기 위해서 다음과 같은 웹 사이트 프로그램들이 이용되었다.

TargetP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>), ChloroP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/ChloroP/>)와 Wolf PSORT (<http://wolfsort.org/>). 또한 이들 유전자들의 상호 관련 계통수 (phylogenetic tree)를 알아보기 위해서 다음과 같은 프로그램이 이용되었다. TreeTop

Phylogenetic tree prediction program (http://www.genebee.msu.su/services/phtree_reduced.html). 이 단백질들의 이론적인 분자량과 Isoelectric point를 알아보기 위해서 Compute pI/Mwtool(http://ca.expasy.org/tools/pi_tool.html)이 사용되었다.

(3) cDNA 합성과 real-time quantitative PCR 분석

Total RNA는 Geneaid Total RNA extraction kit을 이용하여 분리했다. QRT-PCR을 위해서, first strand cDNA는 ReverTra Ace- α -(Toyobo, Osaka, Japan) Kit과 oligo (dT)₂₀primer를 이용해서 합성되었다. RT-PCR 반응은 다음과 같다. 11 μ l RNase-free water에 1 μ g total RNA (1 μ l), 2 μ l 의 10X buffer, 1 μ l 의 10 mM each dNTP, 2 μ l 의 10 μ M oligo dT primer, 1 μ l 의 40 u/ μ l RNase inhibitor, 그리고 1 μ l 의 4 u/ μ l reverse transcriptase가 사용되었다. 이 혼합물은 42도에서 20분 동안 증폭되었고 99도에서 5분 동안 열이 가해졌다. Gene-specific primers들은 바이오니아 online program (<http://web.bioneer.co.kr/tools/tmcalculator.jsp>)을 이용해서 주문했다. SYBR Green qRT-PCR은 총 20 μ l로 이용되었는데, 10 μ l의 2X SYBR Green Real time PCR master mix (Toyobo), 0.5 μ M (each)의 specific primers, 5 μ l의 10배 희석된 cDNA를 template로 이용하였다. 95도에서 3분 동안 증폭되었고, 95도에서 15초, 72도에서 20초, 그리고 각각의 annealing 온도에서 40 cycle 동안 증폭되었다. 실험에 사용된 gene specific primer는 표2에 있다. 본 실험은 MiniOpticon Real-Time PCR System (Bio-Rad; Hercules, CA, USA)기기를 이용하였고 actin gene (GenBank No.FJ969844)은 house keeping gene으로써 사용되었다.

(4) Glucosinolate 추출 및 분석

(가) DEAE-Sephadex A-25 활성화 및 mini-column 준비

- ① DEAE-Sephadex A-25 (30g)는 초순수에 녹여 분액여두에 넣은 다음 약 1.5배 (v/v)의 초순수를 넣고 거의 빠져나가면 0.5 M sodium acetate (68 g/L)를 넣어 H⁺형태로 활성화 시킨다.
- ② 1 mL pipette tip 끝을 탈지면으로 막고 DEAE-Sephadex A-25 (약 40 mg dry wt.)를 넣어 mini-column을 만든다.

(나) 조 (crude) GSLs를 추출

- ① 2.0 ml-Eppendorf tube에 분말시료 (100 mg)를 평량하여 70% (v/v) boiling methanol (1.5 mL)를 넣는다.
- ② 진동혼합 (vortex)한 다음 항온수조 (70°C)에서 5분간 조 (crude) GSLs를 추출한다.
- ③ 원심분리 (12,000 rpm, 10 min, 4°C)한 후에 상층액은 수거하고, 동일한 과정을 2회 반복 추출 후, 각 상층액을 합친다.
- ④ GSL 조 추출물 (crude extract)을 pasteur pipette으로 mini-column에 로딩한다.
- ⑤ 추출물이 다 빠져나가면 mini-column 아래 부분을 paraffin film으로 막고, aryl sulfatase solution (115 mg/5 mL) 75 μ L을 넣는다.

- ⑥ Mini-column 위 부분을 paraffin film으로 막고, 16시간 동안 상온에 정치한다.
- ⑦ 정치 후, 2.0 mL-ependorf tube에 증류수로 (0.5 mL × 3) 용출한다.
- ⑧ 용출시킨 시료는 0.45 μm hydrophilic PTFE millipore filter (직경 13 mm)로 여과한 후, HPLC용 vial병에 넣어 냉동 보관한다.

(5) Microarray database에 의한 expression 분석

본 연구에서 유전자 발현을 연구하기 위해서, Real-time PCR을 하기 전에 microarray database를 분석했다. *Brassica rapa* 24K microarray database (http://www.brassica-rapa.org/BrEMD/microarray_overview.jsp; Lee et al., 2008)에 있는 Probe sequences와 IDs는 queires로써 유전자들의 nucleotide sequences를 이용하여 조사되었다. 유전자에 대한 probes의 perfect match (PM) values는 검색되었고, Lee 등(2008)이 언급했던 것처럼, 발현 양상을 결정하기 위해 진행되었다.

다. 연구 결과

(1) Glucosinolate 생합성에 관련된 Transcription factor의 identification

Glucosinolate 생합성을 조절하고 있는 18개 transcription factor들은 Brassica database (<http://Brassicadb.org>)에서 확인되었다. 총 18개중, Bra009245 (MYB29)의 ORF는 isoform인 Bra005949 (MYB29)와 99%의 높은 상동성을 보였기 때문에 본 연구에서는 제외되었다. Wang 등 (2011)은 *B. rapa* genome v1.0와 41,174 annotated genes를 바탕으로 BLASTN과 BLASTP를 이용하여 52개의 *A. thaliana* glucosinolate (AtGS) 생합성 유전자들을 확인했다. Brassica TF 유전자들은 애기장대 TF 유전자들과 비교해본 결과 72-92%의 상동성을 보였다 (Wang 등, 2011). 이론상 molecular weight (*M_r*)과 isoelectric point (*pI*)value는 각각 31-53 kDa과 4.8-10.5 사이였다. IQD1 (calmodulin-binding nuclear protein-Bra001299)은 이론상 molecular weight (*M_r*)과 isoelectric point (*pI*)value가 각각 53.2 kDa과 10.5로써 가장 높았다. 반면에, while MYB34 (Bra029349)는 각각 31.2 kDa과 5.1로써 가장 낮았다. 또한 IQD1 (Bra001299)은 474 aa로써 가장 긴 아미노산 sequence를 가졌고, 반면에 MYB34 (Bra029349)는 281 aa로써 가장 짧은 아미노산 sequence를 가졌다 (Table 1). 애기장대 MYB51 (Atlg18570)은 352 aa를 가졌고, 39 kDa의 이론상 molecular weight과 5.6의 *pI*를 나타냈다. 애기장대 HIG1/MYB51은 PredictNLS (<http://cubic.bioc.colum-bia.edu/services/predictNLS/>; Nair and Rost, 2005) 에서 언급한 것처럼 전형적인 nuclear localization signal (NLS)을 포함하지 않았다. 하지만 KKRLIKK 아미노산을 가지고 있는 단백질은 SV40-type NLS을 새롭게 발견되었다 (Gigolashvili et al., 2007). 전구체 아미노산 생합성과 side chain elongation은 chloroplast에서 발현된다고 보고된 바 있다 (Textor et al., 2004; Falk et al., 2004). CYP79와 CYP83에 의해 촉진되는 Glucosinolate core pathway의 산환반응은 ER-cytosol interface에서 발생한다고 보고된 바 있다(Reintanz et al., 2001).

Phylogenetic tree는 배추와 애기장대의 TF amino acid sequences가 사용되었다. Wang 등 (2011)은 각각의 애기장대 TF와 모든 배추의 TF 유전자와 비교해본 결과 모두가 70% 이상의 상동성을 보였다고 보고한바 있다. 예상했던 것처럼, indolic glucosinolate 생합성에 관련된 MYB29와 MYB28은 같은 무리를 이루었고 반면에 aliphatic glucosinolate에 관련된 MYB51과 MYB122는 같은 무리를 이루었다. IQD-1과 Dof1.1은 다른 TFs과 완전히 분리되어 무리를 이룰 수 없었다.

(2) 명조건과 암조건에서 유식물체 발달과정에서 MYB TFs의 유전자 발현

배추에서 MYB TFs의 전사량은 발아 후 명조건과 암조건에서 10일 동안 행해졌다 (그림 3). 암조건에서 자란 유식물체들은 명조건에서 자란것들보다 크기가 더 컸다. Aliphatic glucosinolate에 관련된 MYB29와 MYB28은 명조건과 암조건에서 다른 TFs과 비교했을 때 강하게 발현되었다. 명조건과 암조건에서 전사 양상은 2일부터 10일까지 점차적으로 감소되었다. 명조건에서 거의 모든 TFs의 전사량은 암조건의 전사발현보다 더 많이 발현되었다. 2일째 명조건에서 Bra012961(MYB28)와 Bra005949 (MYB29)의 전사양상은 암조건에 비해 5-6배 더 많이 발현되었다. 4일째 명조건에서 Bra005949 (MYB29)의 발현량이 암조건에서보다 8배 더 높았고, 반면에 6일째 암조건에서 Bra012961 (MYB28)과 Bra005949 (MYB29)은 명조건에 비해 각각 3배와 8배 더 많이 발현되었다. Indolic glucosinolate를 생합성하고 있는 MYB51, MYB122와 MYB34의 전사양상은 aliphatic glucosinolate 생합성에 관련된 MYB28과 MYB29에 비해 발현이 비교적으로 낮았다. 2일째 암조건에서 Bra035954 (MYB34)은 명조건보다 4배 더 높았다 반면에, Bra029349 (MYB34)는 명조건에서 암조건에 비해 9배 더 높았다. 모든 MYB34 isoforms은 2일째부터 6일째까지 감소되었다. 명조건에서 MYB122의 전사량은 암조건에서 보다 더 높았다. Bra008131 (MYB122)은 2일부터 6일까지 발현이 증가되었고 반면에 Bra015939 (MYB122)는 4일에서 8일까지 감소되었다. 암조건에서 Bra025666 (MYB51)은 암조건에서 4일에서 8일까지 비교적으로 증가되었고, 반면에 Bra031035 (MYB51)는 명조건에서 6일부터 10일까지 증가되었다. Bra016553 (MYB51)의 전사량은 명조건과 암조건에서 비슷했다. Indolic 과 aliphatic glucosinolate 생합성에 관여하는 IQD1(Bra034081)는 4일째 명조건에서 암조건에 비해 200배 이상으로 증가되었다 반면에, 6일째 암조건에서는 명조건에 비해 100배 이상 증가되었다.

(3) 부위별 유전자 발현

암조건과 명조건에서 유식물체 발달과정에서의 전사양상처럼, 부위별에서도 aliphatic glucosinolate에 관련된 MYB28과 MYB29는 다른 transcription factors에 비해 아주 강하게 발현되는 양상을 보였다 (그림 4). 줄기에서 Bra035929 (MYB28-2)와 Bra029311 (MYB28-3)의 전사양상은 다른 부위에 비해 각각 500와 30배 더 높게 발현되었다 반면에 꽃에서 Bra012961 (MYB28-1)의 발현량은 종자에서보다 44배 더 높았다. Indolic glucosinolate에 관련된 MYB122, 51, 34와 Dof1.1의 발현량은 MYB29와 MYB28에 비해 낮았다. MYB51 isoform에서 Bra031035

(MYB51-2)는 종자에서만 발현되었다 반면에 Bra025666 (MYB51-1) and Bra016553 (MYB51-3)은 꽃과 줄기를 제외한 다른 부위에서 발현되었다. MYB122의 경우, Bra008131 (MYB122-2)는 어린 잎에서 가장 높게 발현되었고, 반면에 Bra029349 (MYB34-4)는 다른 부위에 비해 8배 증가되었다. Bra035954 (MYB34-2)과 Bra029350 (MYB34-3)의 전사량은 종자, 어린잎, 뿌리에서 발현되었고 반면에 Bra013000 (MYB34-1)은 모든 부위에서 발현되었다. Bra030696 (Dof1.1-2)는 모든 부위에서 비슷한 양상을 보였고 반면에 Bra031588 (Dof1.1-1)은 종자에서 가장 높았다. Indolic과 aliphatic glucosinolate에 관련된 IQD1-1 경우, Bra034081 (IQD1-1-1)은 어린잎과 노엽에서 다른 부위에 비해 5-15배 더 높게 발현되었다 반면에, Bra001299 (IQD1-1-2)는 다른 부위에 비해 뿌리에서 2-3배 더 높게 발현되었다.

(4) Abiotic 스트레스와 생육발달 과정에서 transcription factor의 발현

배추에서 glucosinolate 생합성에 관련된 TFs의 17개 유전자에서 9개 유전자, Bra005949 (MYB29), Bra012961 (MYB28-1), Bra013000 (MYB34-1), Bra016553 (MYB51-3), Bra025666 (MYB51-1), Bra029349 (MYB34-4), Bra030696 (Dof1.1-2), Bra031035 (MYB51-2), Bra035954 (MYB34-2)에 대한 발현 데이터는 배추 microarray 데이터에서 찾을 수 있었고 그 유전자들의 fold change values은 control (0 h) 발현 value와 비교함으로써 계산될 수 있었다. 2배 이상으로 발현되는 것은 발현 변화에 중요한 영향을 미칠 것으로 생각된다. Abiotic stress로 처리된 배추의 microarray 데이터를 기초로 발현양상이 분석되었을 때, 세계의 유전자, Bra005949 (MYB29), Bra012961 (MYB28-1)와 Bra016553 (MYB53-3)는 cold와 salt에서 반응이 나타나지 않았다. 하지만 drought 처리에 의해서는 down regulated 되었다. 반면에 두 개의 유전자, Bra013000 (MYB34-1)와 Bra035954 (MYB34-2)는 cold에 의해 down regulated 되었다 하지만, salt와 drought 처리에서는 regulated되지 않았다. Bra029349 (MYB34-4)는 cold와 salt 처리에서 각각 down-과 up regulated 되었다. 세 개의 유전자, Bra025666 (MYB51-1), Bra030696 (Dof1.1-2), Bra031035 (MYB51-2)는 세 개의 abiotic 스트레스에 대한 반응이 없었다. ABA 처리에서, 네 개의 유전자 Bra005949 (MYB29), Bra013000 (MYB34-1), Bra025666 (MYB51-1), Bra029349 (MYB34-4)는 up regulated되었고 반면에 나머지 5개 유전자는 발현 변화에 아무런 반응이 없었다. 우리는 또한 종자발아부터 꽃이 되기까지 생육발달 동안 9개의 TFs의 발현양상을 조사했다 (그림 5). Standard로써 성숙 종자가 유전자발현에 이용되었다. Bra012961 (MYB28-1)와 Bra029349 (MYB34-4)는 발아 후에 거의 비교적 높게 발현이 되었고, 그 이후 마지막 발달단계에서는 감소되었다. 세 유전자, Bra013000 (MYB34-1), Bra035954 (MYB34-2)와 Bra016553 (MYB51-3)는 발아 후에 증가되었고 마지막 발달단계까지 점차적으로 감소되었다. 반면에 Bra025666 (MYB51-1)의 발현은 cold 처리 후 증가되었고 점차적으로 감소되었다. 두 개의 유전자, Bra005949 (MYB29)과 Bra030696 (Dof1.1-2)는 각각 발아 후 84일째와 꽃에서 일시적으로 2배 이상 높게 발현되었다. Bra031035 (MYB51-2)의 대부분 발현은 종자에 비해 발달과정 중에 감소되었다.

(5) 부위별, 명조건과 암조건 유식물체 생육발달과정에서 Glucosinolate 분석

배추의 부위별로 그리고 유식물체 생육발달과정에서 명조건과 암조건을 처리하고 배추의 생리 활성물질로 추정되고 있는 Glucosinolate를 HPLC를 이용하여 분석 했다 (Table 3). 유식물체의 경우 5가지의 aliphatic GSLs (Glucoraphanin, Sinigrin, Glucoalyssin, Gluconapin, Glucobrassicinapin)과 4가지의 indolic GSLs (4-Hydroxyglucobrassicin, Glucobrassicin, 4-Methoxyglucobrassicin, Neoglucobrassicin)로 구성되어 있는 것으로 분석되었고, 부위별로는 유식물에서 확인되지 않았던 aromatic GSLs (Gluconasturtiin)이 확인되었다. 유식물체의 총 GSLs의 함량을 분석한 결과, 명조건의 경우는 발아 후 2일째 500 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 으로 가장 높게 나타났으며, 8일째는 213.52 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로써 가장 낮은 것으로 확인되었다. 암조건에서도 명조건과 마찬가지로 발아 후 2일째 344.95 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 가장 높은 함량을 보였고, 8일째는 58.72 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 가장 낮았다. 암조건에서는 명조건과 달리 2일에서 8일째까지 총 GSLs 함량이 점점 줄어들었다. 압유발 물질을 제거시키는 전구체인 aliphatic GSLs의 한 종류인 Gluconapin 함량은 명조건 (140-393 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)이 암조건 (3-225 $\mu\text{mol/g dry wt.}$) 보다 대체로 2-3배 높게 나타났다. 반면에 indolic GSLs의 한 종류인 4-Hydroxyglucobrassicin의 함량은 2일째 암조건에서 명조건보다 두 배 높게 나타났으며, 그 이후에는 두 조건에서 비슷한 함량을 보였다. 명조건과 암조건에서 대부분의 GSLs들의 함량은 성장 초기에 높게 나타나는 경향을 보였다.

Gluconapin (232.62 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)은 종자에서 가장 높은 GSL 성분으로 확인된 반면, 뿌리에서는 aromatic GSL의 함량이 32.96 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 으로써 가장 높았고, 줄기, 어린잎, 노엽, 꽃에서는 aliphatic GSLs인 Glucoraphanin과 Glucobrassicinapin이 주요한 성분으로 분석되었다. 특히, aromatic GSL인 Gluconasturtiin은 다른 부위에 비해 뿌리에서 4-10배 가량 많이 함유하고 있음이 확인되었다. 총 GSLs 함량은 종자>꽃>어린잎>줄기>뿌리>노엽 순으로 확인되었다. 추후 식용부위에 글루코시놀레이트가 더 많이 축적 될 수 있는 재배법 연구가 필요할 것으로 판단된다(그림 5).

Table 1. Prediction of targeting location of transit peptide of transcription factors through PSORT, TargetP, ChloroP, and theoretical molecular weights, p-values, and predicted protein length

Group name	BrID	PSORT	TargetP	ChloroP	pI	MW(kDa)	Protein (aa)
Dof1.1	Bra031588	Nucleus	Other	No prediction	9.3	34.7	318
	Bra030696	Nucleus	Chloroplast	Chloroplast	9.5	35.9	335
IQD1-1	Bra034081	Nucleus	Other	No prediction	10.3	49.8	445
	Bra001299	Nucleus	Other	No prediction	10.5	53.2	474
MYB28	Bra012961	Nucleus	Other	No prediction	5.7	39.9	355

	Bra035929	Nucleus	Other	No prediction	5.6	40.6	368
	Bra029311	Nucleus	Other	No prediction	6.1	42.2	373
MYB29	Bra005949	Nucleus	Other	No prediction	4.8	37.2	331
MYB34	Bra013000	Nucleus	Other	No prediction	5.0	35.0	317
	Bra035954	Nucleus	Other	No prediction	5.4	33.6	303
	Bra029350	Nucleus	Other	No prediction	5.3	34.6	310
	Bra029349	Nucleus	Other	No prediction	5.1	31.2	281
MYB51	Bra025666	Nucleus	Other	No prediction	5.9	38.5	342
	Bra031035	Nucleus	Other	No prediction	5.1	37.4	334
	Bra016553	Nucleus	Other	No prediction	5.6	36.4	321
MYB122	Bra015939	Nucleus	Other	No prediction	5.8	36.7	327
	Bra008131	Nucleus	Other	No prediction	5.7	37.7	335

Table 2. List of real-time PCR primers used in this study.

Group name	Primer	Sequence (5' → 3')	Annealing Temp (°C)	Size (bp)
Dof1.1	Bra031588-F	AACAGTCATGACAACAACAACAGTGA	52	197
	Bra031588-R	GGTTGTTCTTCCATCTTCACCG		
	Bra030696-F	ATGGACGAAACATAGCAGCTCC	52	248
Bra030696-R	TCTAGACAAGTTAACCAAACCGGGT			
IQD1-1	Bra034081-F	AGAGTTGATAAGGTCAAACGTAAGAAG	50	218
	Bra034081-R	CTTCTTGCCAAATGTCCTCTAAATA		
	Bra001299-F	CCAAGAGCTCTGATAAGAACCGTAG	51	273
Bra001299-R	TGGTCGCAGCAGCTGAGC			
MYB28	Bra012961-F	ACCATACTGTCAACACGCCTCC	52	219
	Bra012961-R	CAGAAGTGACCTTAGCCGCAAC		
	Bra035929-F	ACCCTACAGTACCTGAGAATTTGCA	51	200
Bra035929-R	ACTTGATTTCTTAAAACGTTTCTTGC			
MYB29	Bra029311-F	AATACCATATGAAAGCTTTTCCAATG	52	238
	Bra029311-R	AGGAAGATCATGACCATACTGATCG		
	Bra005949-F	CTGTCTCCTCCGTGTCTCAA	54	148
Bra005949-R	CCTCGGCTGCATTGTTACTA			
MYB34	Bra013000-F	ACACCGGCGACGTCGATTC	53	229
	Bra013000-R	TCTAACTCCTCCATAAGGCCAACA		
	Bra035954-F	CACAATCGTCGCCGACG	51	270
Bra035954-R	GGCGAACCTTAATCTCTCCG			

	Bra029350-F	AACAAAGCGGCGGCAAG	52	186
	Bra029350-R	ATCCCTCAACTCTTCCATAATGCAA		
	Bra029349-F	CCAACCGGTTTCGAACCAG	52	264
	Bra029349-R	GAATACGTCAAGATCATCGGAGAA		
MYB5 1	Bra025666-F	GATCTCCGAAACCAGCAAATCA	51	240
	Bra025666-R	GTAGTAATGAGTGGGCCACCACT		
	Bra031035-F	ATCTCCGACAAATCAGAAAACCTC	51	236
	Bra031035-R	GTAGTAGTAAGTGGGCCACCACTTC		
	Bra016553-F	TCAGAAAATTTGCAGGATATTCTGG	51	230
	Bra016553-R	ACGGTGACACTTGTAGTAATAGTAGTAGTG TTA		
MYB122	Bra015939-F	TGTTTCTCATGATGATGAAGATTTCTTG	53	184
	Bra015939-R	CCAGTTGTCAATCCCTTCAAAGG		
	Bra008131-F	TTGAATGATGTTGTATCTCATGATGATG	53	190
	Bra008131-R	AGTTGTCAATCCCTTCAAAGGAAACA		

Table 3. HPLC condition for glucosinolates

HPLC	Agilent Technologies 1200 series
Column	Inertsil ODS-3 column (150 × 3.0 mm i.d., particle size 3 μm)
Guard Column	Inertsil ODS-2 Cartridge Guard column E (10 × 2.0 mm i.d., particle size 5 μm)
Detector	227 nm
Column temperature	40 °C
Mobile phase	Solvent A (Water), Solvent B (ACN)
Flow rate	0.2 ml/min
Gradient conditions	0 min solvent B 7 % 18 min solvent B 24 % 32 min solvent B 24 % 32.01 min solvent B 7 % 40 min solvent B 7 %

Table 4. Glucosinolate contents (μmol/g dry wt.) in seedlings of Chinese cabbage during 10 days after sowing.

Trivial name	Light condition					
	Seed	2 days	4 days	6 days	8 days	10 days
Glucoraphanin	12.65	36.29	35.02	58.90	40.81	40.60
Sinigrin	10.71	1.86	1.57	1.32	0.87	0.95
Glucoalyssin	0.93	1.97	1.99	1.40	1.23	0.91
Gluconapin	232.62	393.75	158.94	242.23	140.85	142.00
4-Hydroxyglucobrassicin	ND	3.16	6.71	9.93	7.52	12.70
Glucobrassicinapin	16.59	15.57	7.72	10.46	6.12	7.68
Unknown	35.32	13.74	23.93	11.80	5.62	11.87

Unknown	1.44	16.74	17.29	8.19	3.59	8.17
Glucobrassicin	3.30	1.85	0.93	0.72	0.52	0.67
4-Methoxyglucobrassicin	5.07	6.99	1.86	3.52	4.34	2.79
Neoglucobrassicin	0.42	8.09	3.99	2.03	2.05	2.04
Gluconasturtiin	3.29	ND	ND	ND	ND	ND
Total	322.35	500.00	259.95	350.49	213.52	230.38
Dark condition						
Trivial name	Seed	2 days	4 days	6 days	8 days	10 days
Glucoraphanin	12.65	37.46	37.36	24.79	11.95	17.40
Sinigrin	10.71	1.47	1.05	ND	ND	ND
Glucoalyssin	0.93	2.05	1.48	1.10	1.04	1.01
Gluconapin	232.62	225.84	220.51	45.92	8.09	3.38
4-Hydroxyglucobrassicin	ND	6.57	5.24	9.57	12.35	14.17
Glucobrassicinapin	16.59	9.60	9.01	3.31	0.53	1.11
Unknown	35.32	18.10	8.37	7.36	5.55	10.15
Unknown	1.44	30.92	10.09	8.62	7.32	16.54
Glucobrassicin	3.30	1.69	1.08	0.90	0.27	ND
4-Methoxyglucobrassicin	5.07	4.02	3.63	3.34	3.35	1.93
Neoglucobrassicin	0.42	7.22	7.20	13.73	8.27	2.83
Gluconasturtiin	3.29					
Total	322.35	344.95	305.02	118.66	58.72	68.53

*ND-not detected

Table 5. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in different organs of Chinese cabbage

Trivial name	Flower	Stem	Young leaves	Old leaves	Root
Glucoraphanin	22.28	15.18	16.58	4.21	4.31
Sinigrin	9.94	4.78	1.51	0.33	0.49
Glucoalyssin	1.72	1.26	1.34	0.79	0.44
Unknown	3.80	3.73	3.58	0.98	2.18
Gluconapin	19.20	5.84	7.18	1.49	1.77
Unknown	3.12	2.99	0.96	ND	ND
Glucobrassicinapin	42.65	18.02	17.45	3.75	6.74
Glucobrassicin	9.82	4.31	1.88	2.39	2.65
4-Methoxyglucobrassicin	0.80	1.87	4.83	0.81	0.85
Gluconasturtiin	8.16	2.77	7.08	3.67	32.96
Neoglucobrassicin	0.47	0.53	0.43	0.53	1.20
Total	121.97	61.28	62.81	18.95	53.59

*ND-not detected

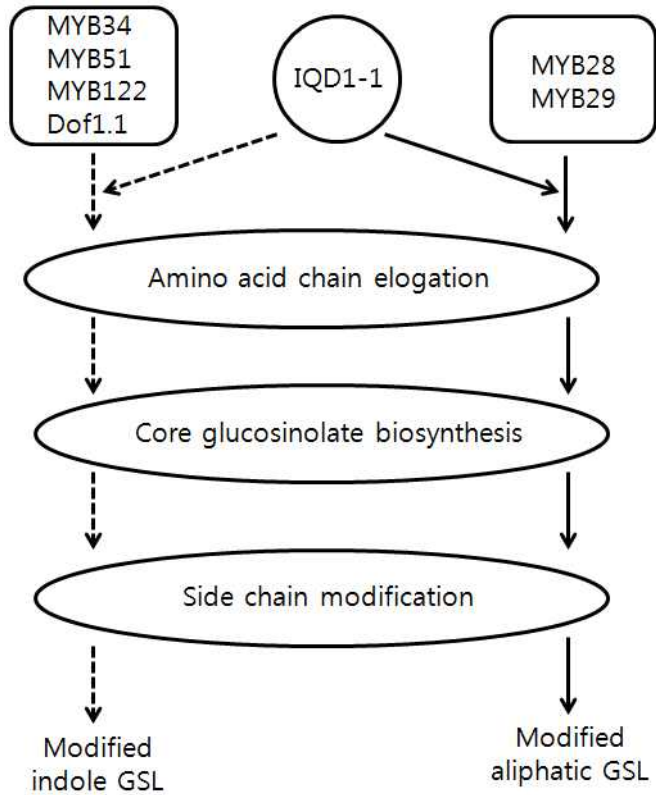


Figure 1. Biosynthesis pathway of the two major groups of glucosinolates in *Brapa*.

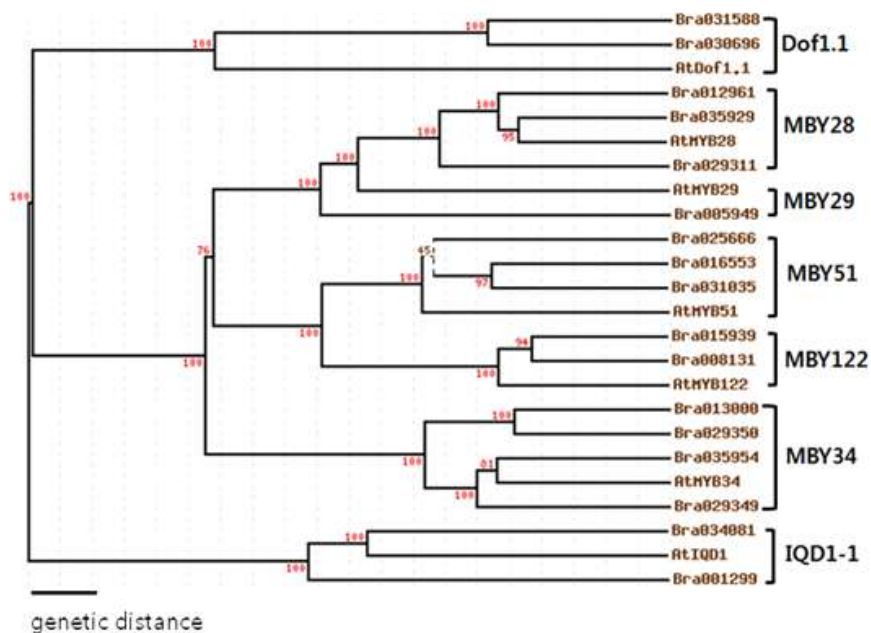
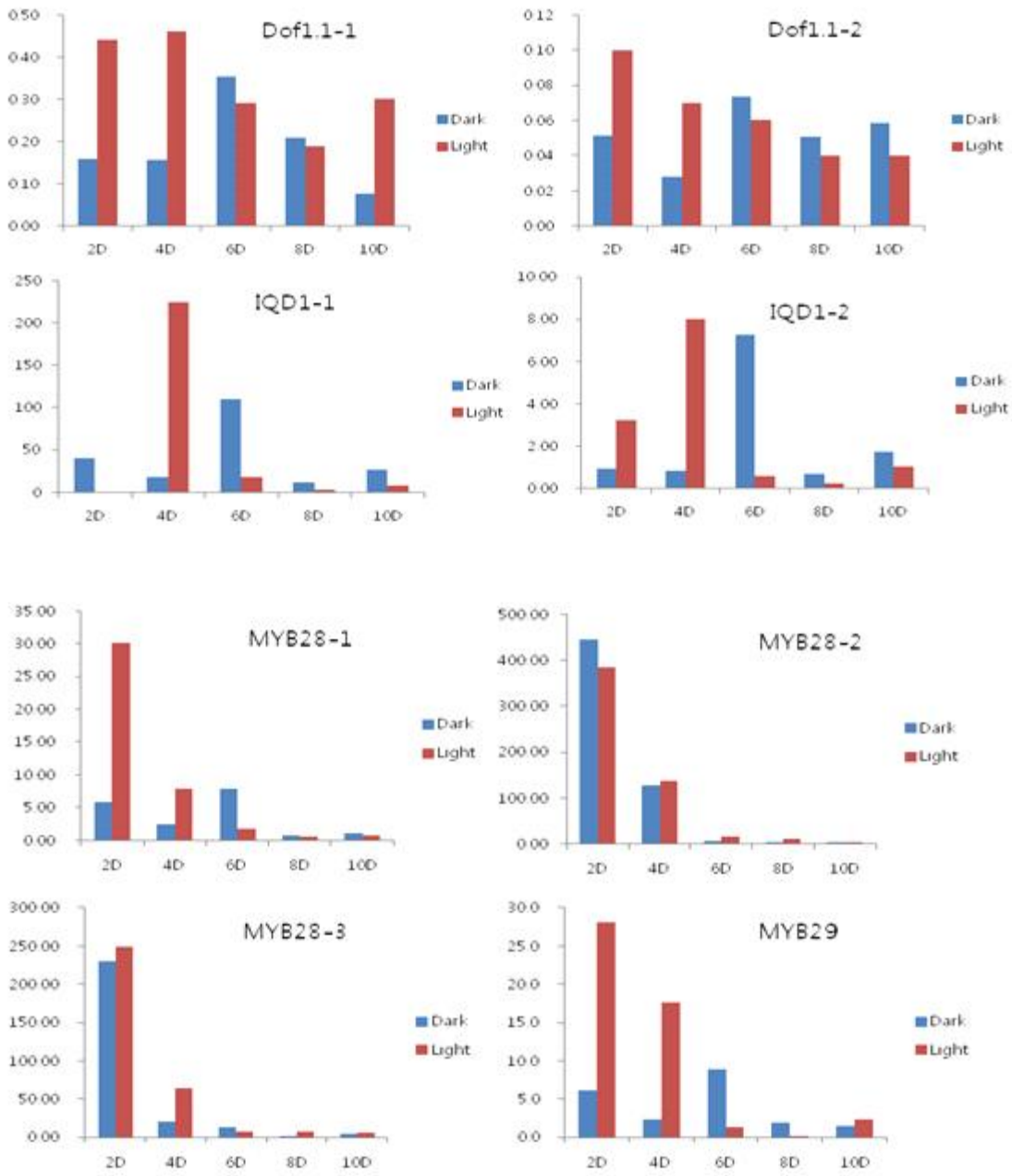


Figure 2. Phylogenetic tree of MYB transcription factors



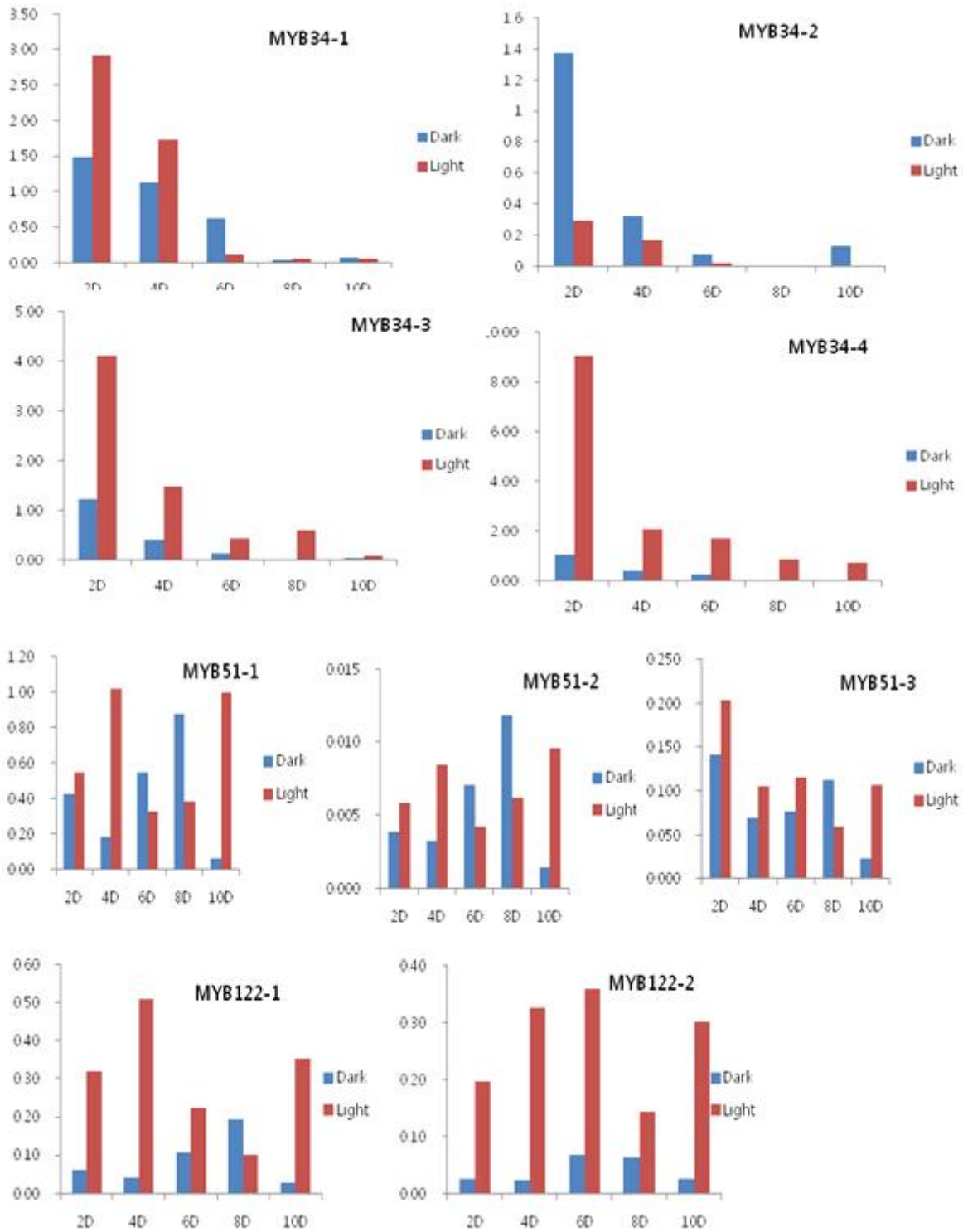
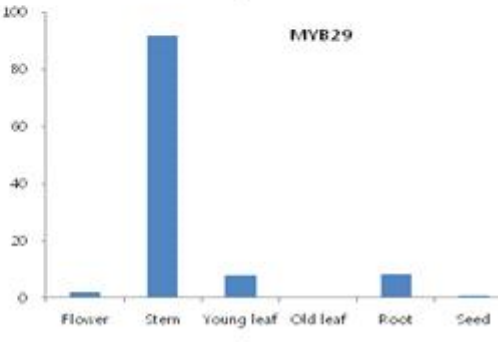
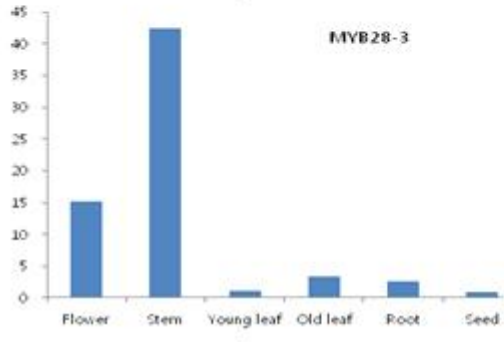
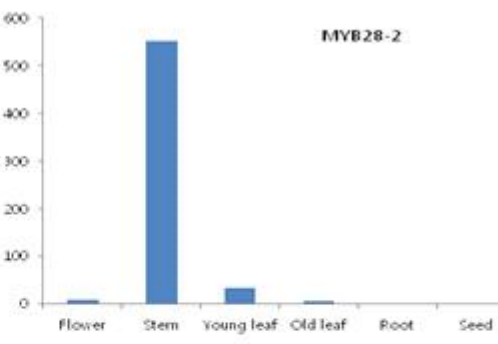
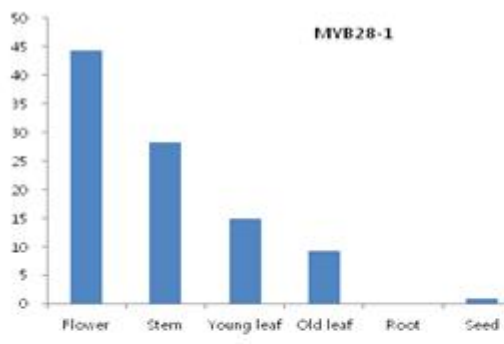
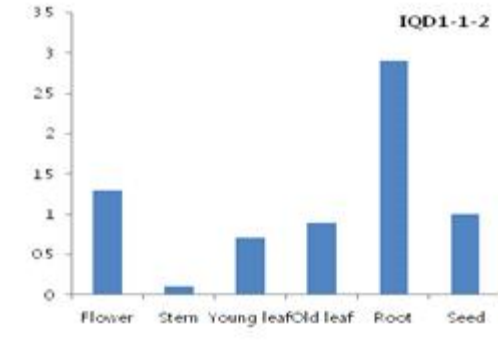
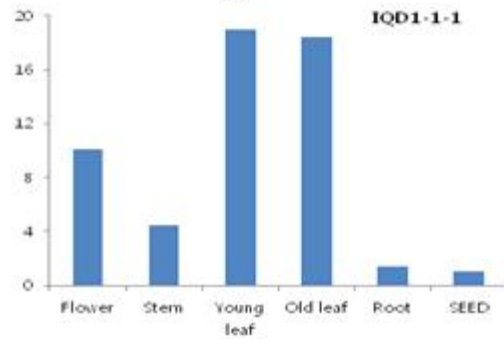
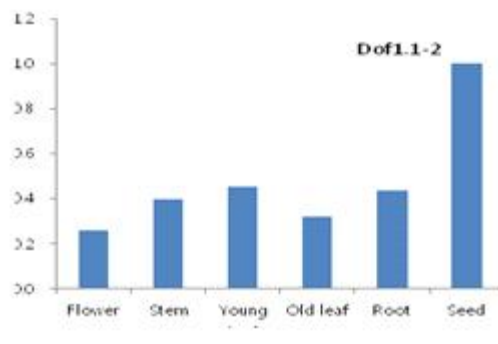
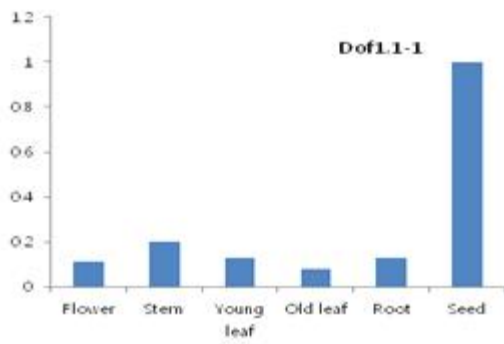


Figure 3. Transcript level of MYB transcription factors of Chinese cabbage sprouts grown under dark and light condition



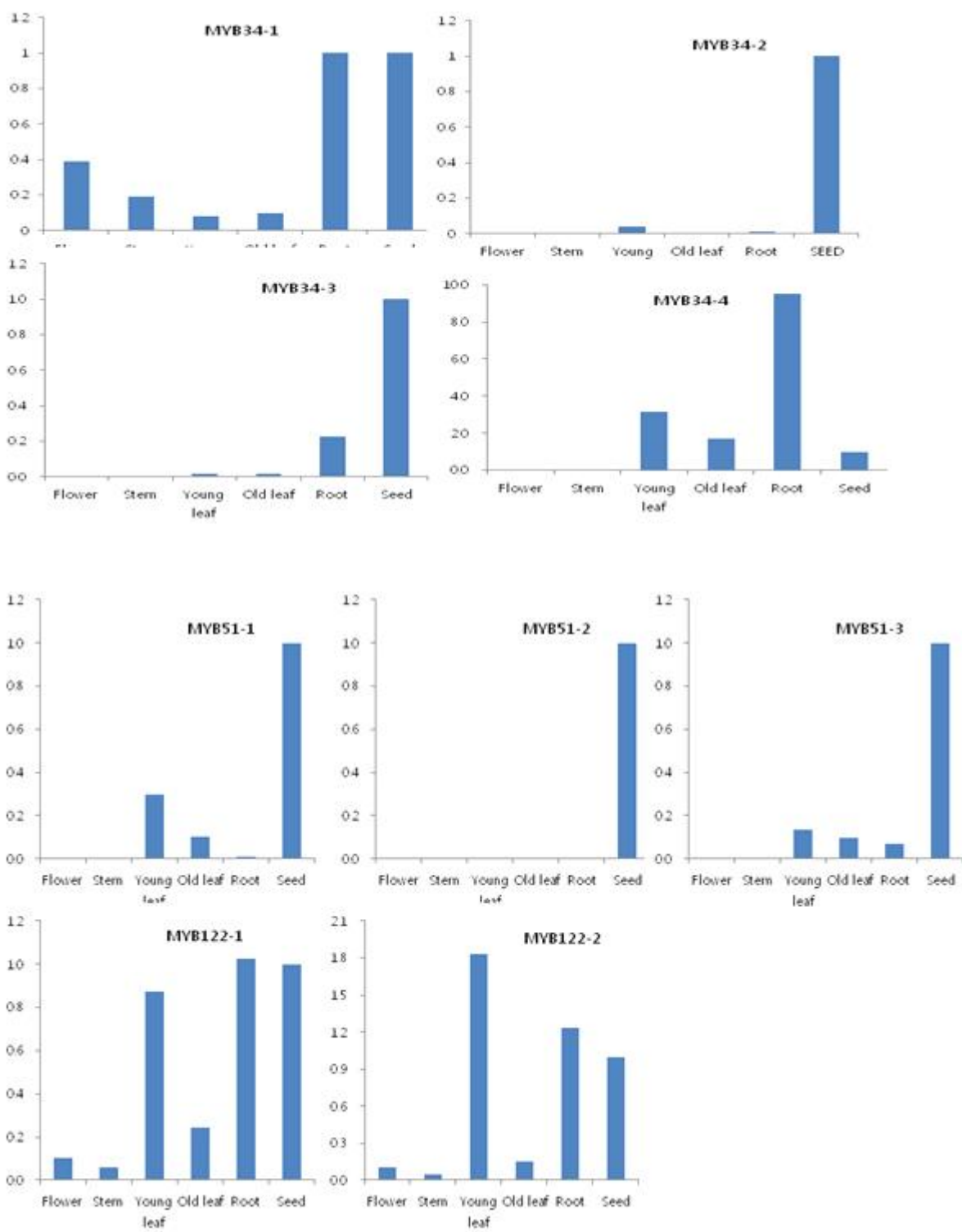


Figure 4. Expression of MYB transcription factors in Chinese cabbage different organs

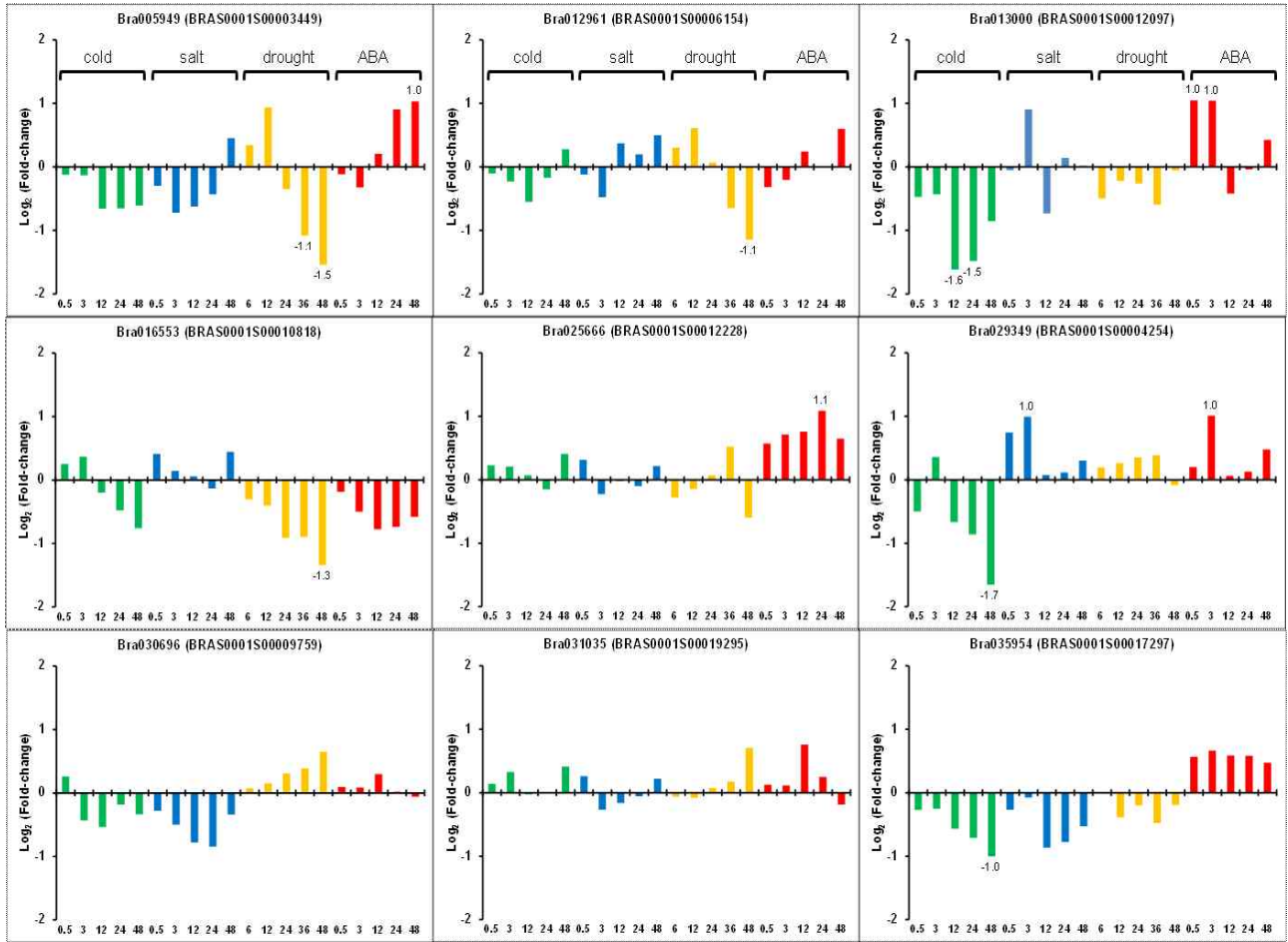


Figure 5. Expression analysis of transcription factors under abiotic stresses and during development by searching microarray database.

2. 배추에서 잎과 유식물체 생육발달과정에서 카로티노이드 축적과 유전자 발현

가. 서론

카로티노이드는 40개의 탄소 분자들로 이루어졌고 600개 이상의 구조를 가지고 있는 다양한 그룹 중의 하나이다. 카로티노이드는 식물의 플라스티드에서 합성된다. 색소처럼, 카로티노이드는 꽃의 노란색, 오렌지색, 빨간색을 만드는데 관여하고 pollinator를 유혹하기도하고 종자들을 멀리 퍼트리는 역할도 한다 ((Howitt and Pogson, 2006). 카로티노이드는 또한 식물이 광합성을 하는 동안 photo-oxidation에 대해 보호하고 빛을 흡수하는데 관여한다 (Bartley and Scolnik, 1995). 카로티노이드는 식물의 성장 발육에 관여하는 다른 유도체와 ABA, flavors의 전구체이다 (Auldridge et al., 2006; Simkin et al., 2004). 게다가 카로티노이드는 동물과 인간의 필수영양소

로써 간주되어져왔다. Provitamin A와 동물과 인간의 다량 섭취는 어떤 암의 위험을 감소시킬 수 있다 (Giovannucci, 1999; Mayne, 1996), 하지만, 카로티노이드의 결핍은 xerophthalmia,

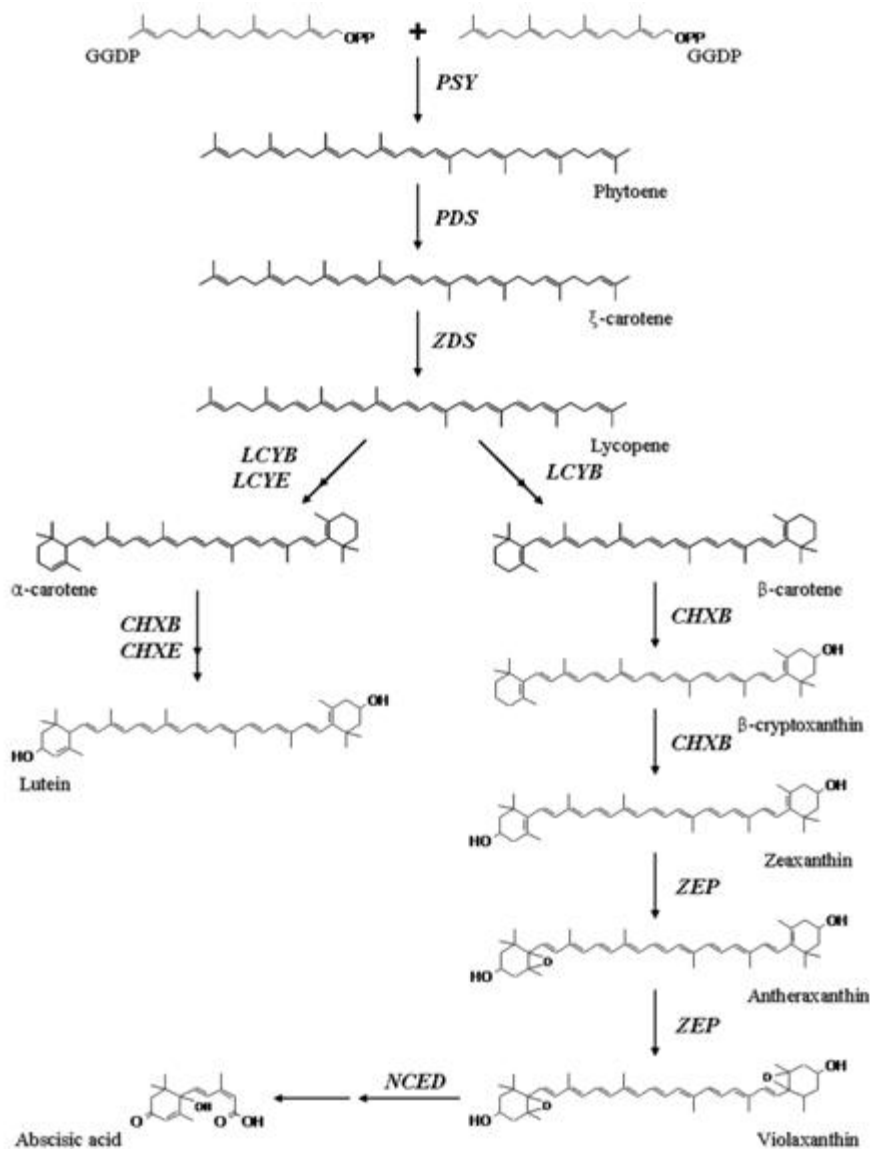


Figure 1. Carotenoids biosynthetic pathway. GGDP, geranylgeranyl diphosphate; PSY, phytoene synthase; PDS, phytoene desaturase; ZDS, ξ -carotene desaturase; LCYB, lycopene β -cyclase; LCYE, lycopene ϵ -cyclase; CHXB, β -ring carotene hydroxylase; CHXE, ϵ -ring carotene hydroxylase; ZEP, zeaxanthin epoxidase; NCED, 9-cis epoxy-carotenoid dioxygenase.

blindness premature death을 일으킬 수 있다 (IMFNB, 2000; Mayne, 1996). 인간은 카로티노이드를 합성 할 능력이 없기 때문에 오랫동안 많은 연구자들은 카로티노이드가 많이 향상된 작물을 개발하는데 노력을 해왔다. Golden rice는 작물에서 카로티노이드의 대사공학을 보여준 대표적인 예이다 (Ye et al., 2000). 카로티노이드 생합성 경로는 플라스티드에서 일어나는데 이에 대해 많은 연구가 이루어졌었다. 카로티노이드 생합성 경로는 그림 1에 있다. 최근까지, 카

로티노이드에 관련된 거의 모든 유전자들은 다양한 식물체에서 많이 연구가 되었다 (Cunningham, 2002; Dobrowolska, 2006). 카로티노이드 유전자들의 전사는 많은 요인들에 의한 과정으로 조절된다. 그들 중에, 빛은 몇몇 식물체에서 카로티노이드의 발현을 유도하는데 중요한 역할을 한다고 보고된바 있다 (Pizarro and Stange, 2009; Römer and Fraser, 2005). 브로콜리, 배추, 양배추, 콜리플라워, 겨자, 케일 등은 십자화자에 속한다. *Brassicarapa*는 잎 채소로써 널리 재배되고 있다. *Br. rapa* subsp. *Pekinensis*는 아시아에서 가장 중요한 채소 중의 하나이고 최근에는 높은 플라보노이드, 카로티노이드, 클로로필 뿐만 아니라 GSLs가 많이 함유되어 있기 때문에 미국 뿐만 아니라 유럽에서도 크게 인기가 있다 (Artemyeva and Solovyeva, 2006; Krumbein et al., 2005). 본 연구에서는 배추의 잎 과 유식물체의 발달과정에서 카로티노이드 축적과 카로티노이드 생합성 유전자 발현이 분석되었고 카로티노이드 생합성에 있어서 빛의 영향도 연구되었다.

나. 재료및방법

(1) 식물재료

본 실험에 사용된 종자는 아시아 종묘 회사로부터 구입했다. 유식물의 생육별 유전자 발현 실험을 위해서, 종자는 발아시키기 전 24시간 동안 물에 침지시켰으며, 1/2 MS 액체 배지가 든 플라스틱 박스에서 발아시켰다. 유식물은 25도 Growth chamber에서 명조건 (16h light/8h darkness)과 암조건 (24h/day darkness)으로 키웠고, 발아 후 2, 4, 6, 8, 10일 동안 각각의 유식물을 수확했다. 또한 잎의 생육과정의 연구를 위해서 배추는 충남대학교 온실에서 3개월 동안 키웠고 성숙한 배추 잎에서 안쪽 중간 쪽 바깥쪽을 분리해서 수확했다.

(2) Real-time PCR에 의한 발현 분석

Total RNA는 배추의 각각의 샘플로부터 분리하여 추출되었다. cDNA는 ReverTra Ace- α - (Toyobo, Osaka, Japan) kit을 사용하여 합성되었다. cDNA는 real-time PCR을 위해서 25배 희석되었다. 카로티노이드 생합성에 관련된 유전자는 NCBI에서 찾아서 이용했다. 그 유전자들은 다음과 같다. [Genbank FJ227935 (BrPSY), FJ606826 (BrPDS), FJ606827 (BrZDS), FJ606828 (BrLCYB), FJ606829 (BrLCYE), GQ178285 (BrCHXB), FJ606830 (BrZEP), and AAV35466 (BrNCED)]. 이들의 프라이머는 Primer 3 소프트웨어를 이용하여 제작했다. Actin gene (*BrActin*:FJ969844)은 house keeping 유전자로 사용되었다(표 1). Real time PCR은 총 20 ul 반응으로 SYBR Green Real time PCR master mix (Toyobo)를 사용하였다. Real-time PCR 반응은 MiniOpticon system (Bio-Rad Laboratories; Hercules, CA, USA)으로 3반복 함으로써 분석되었다. PCR 반응조건은 94도에서 5분, 94도에서 15초, 56도에서 15초, 72도에서 20초로 40 반복을 함으로써 행해졌다.

Table 1. Primers used for real-time PCR

Name	Sequence (5' to 3')	Amplicon (base pair)	Accession number
BrPSY_RT F	GCTATCTACGTTTGGTGCAGAAGAA	189	FJ227935
BrPSY_RT R	AAATGGCTGAATATCGACAGGGTAT		
BrPDS_RT F	GAGCTCGAGGATGATGGTACTGTTA	175	FJ606826
BrPDS_RT R	TAACTGGCACACCAACTAGCTTCTC		
BrZDS_RT F	CCTTCTTGTCAAAGACCACACTCAT	160	FJ606827
BrZDS_RT R	AGCTAGTGAGTTCCTCAGCTTGTC		
BrLCYB_RT F	AAGATATCCAAGAGAGGATGGTTGC	180	FJ606828
BrLCYB_RT R	CCACCATGTAACCTGTAGAAGGATG		
BrLCYE_RT F	ATGGATGAACAGTCTAAGCTCGTTG	185	FJ606829
BrLCYE_RT R	ACACCGTAGTTGTTTGTGAAAGGAA		
BrCHXB_RT F	CAGAGAAAACAAGCTCTCTGGACAC	185	GQ178285
BrCHXB_RT R	CATCTGCCAAGAGAATCGGTAGTAA		
BrZEP_RT F	AGACTTAAGCGCCATAAGAGGAGAA	185	FJ606830
BrZEP_RT R	ACTTGACATACCAAGTGCCAGAGAC		
BrNCED_RT F	CACATCCTCTGTTTTGTTACGAC	171	AAV35466
BrNCED_RT R	AAGAGTTTGTTCCTGGAGTTGTTCC		
BrActin_RT F	TAGTGTTGTTGGTAGGCCAAGACAT	188	FJ969844
BrActin_RT R	GGAGCTCGTTGTAGAAAGTGTGATG		

(3) 카로티노이드 분석

0.1% ascorbic acid (w/v)을 포함하고 있는 30 ml 에탄올로 1 g의 배추 샘플로부터 추출되었다. 이 혼합물은 20초 동안 vortex했고 그리고 85도 water bath에서 5분 동안 놓여졌다.

그 뒤에, 120 ml의 potassium hydroxide (80% w/v)가 비누화하기 위해 첨가되었다. Vortexing하고 85도에서 10분 동안 놓았고, 샘플들은 얼음에 놓았다. 1.5 ml의 차가운 이온수와 0.05 ml의 β -Apo-8'-carotenal ($12.5 \text{ mg} \times \text{mL}^{-1}$)은 internal standard로써 첨가되었다. 다음으로, 카로티노이드는 1.5 ml의 hexane으로 두 번 추출되었고 층을 분리하기 위해 1200g에서 centrifuge 되었다. 추출물은 질소가스의 스템 아래에서 동결건조되었고, 50:50 (v/v) dichloromethane/methanol으로 resuspend 시켰다. 카로티노이드 분석을 위해 사용된 추출 방법은 Howe와 Tanumihardjo (2006)가 사용했던 방법과 비슷했다. HPLC (high performance liquid chromatography analysis) 분석을 위해서, 카로티노이드는 C₃₀YMCcolumn(250 × 4.6 mm, 3 μ m; Waters Corporation, Milford, MA)로 Agilent 1100 HPLC system에서 분리되었고 450 nm에서 photodiode array (PDA) detector로 검출되었다. Solvent A는 10 mM ammonium acetate와 methanol/water (92:8 v/v)로

이루어졌고 Solvent B는 100% methyl *tert*-butylether(MTBE)로 구성되었다. Flow rate는 1 mL×min⁻¹로 유지되었고 샘플들은 0 min, 83% A/17% B; 23 min, 70% A/ 30% B; 29 min, 59% A/41% B; 35 min, 30% A/70% B; 40 min, 30% A/70% B; 44 min, 83% A/17% B; and 55 min, 83% A/17% B로 elute 되었다. 카로티노이드의 identification과 peak assignment는 standards와 비교하여 retention time and UV-visible spectrum data를 기초로 이루어졌고 기존의 발표된 논문을 참조하여 행해졌다 (Fraser et al., 2000; Howe and Tanumihardjo, 2006)

다. 연구 결과

(1) 명조건과 암조건에서 유식물체 발달과정에서 카로티노이드 유전자의 발현

명조건과 암조건에서 파종 후 10일 동안 자란 배추 유식물체는 그림 7에 있다. 암조건에서 자란 유식물체는 명조건에서 자란것보다 길이가 훨씬 길었다. 암조건에서 자란 cotyledons은 작고 노랑색을 나타낸 반면, 명조건에서 자란 cotyledon은 크고 초록색을 나타냈다. 카로티노이드 유전자의 발현 양상은 두 조건에서 자라는 동안 행해졌다 (그림 2). 카로티노이드 생합성 경로에서 첫 번째 유전자인 *BrPSY*는 두 조건에서 비슷한 양상을 보였다. *BrPSY*의 전사량은 6일째 거의 같았고 8일째 증가하다가 10일째 다시 떨어졌다. *BrLCYE*를 제외하고는 *BrPDS*, *BrZDS*, *BrLCYB*, *BrCHXB*의 유전자 발현 양상은 비슷했다. Lycopene β -cyclase (*BrLCYB*)와 다르게 lycopene ϵ -cyclase (*BrLCYE*)는 암조건과 명조건에서 다르게 발현되었다. 명조건에서 *BrLCYE*은 2일에서 8일까지 감소하다가 10일째에 조금 증가했다. 암조건에서, *BrLCYE*은 2일에서 6일까지 감소하다가 8일째에 강하게 증가했고 마지막 10일째에는 감소되었다. *BrZEP*의 전사량은 두 조건에서 2,4,6일째 비교적 낮았고 8일째에 더 높았다가 10일째에 감소되었다. *BrNCED*의 발현은 두 조건에서 2일에서 8일까지 증가하다가 10일째에 떨어졌다. Actin 유전자에 대한 절대적량의 전사량에 의해서, 암조건에서 자란 유식체의 카로티노이드 유전자들은 명조건에서 자란것에 비해 큰 차이점을 드러내지는 않았다. 일반적으로 카로티노이드 유전자들은 유식물체 발달과정 중 8일째에서 가장 높은 발현양상을 보였다.

(2) 잎 생육발달과정에서 카로티노이드 유전자 발현

잎 생육발달과정에서 upstream에 있는 카로티노이드 유전자들의 발현에서 비슷한 양상은 그림 3에 있다. *BrPSY*, *BrPDS*, *BrZDS*, *BrLCYB*, *BrLCYE*, *BrCHXB*의 전사량은 안쪽잎부터 가운데잎까지 감소했고 바깥쪽잎에서는 다시 회복되었다. ABA 생합성에 관련된 *BrZEP*과 *BrNCED* (Thompson 등 2000)은 upstream 카로티노이드 유전자와 다른 발현 양상을 보였다. *BrZEP*과 *BrNCED*의 발현량은 안쪽잎부터 가운데잎까지 증가했고 *BrNCED*의 경우에 발현량은 바깥쪽잎에서 감소되었고 반면에 *BrZEP*은 증가함을 유지했다.

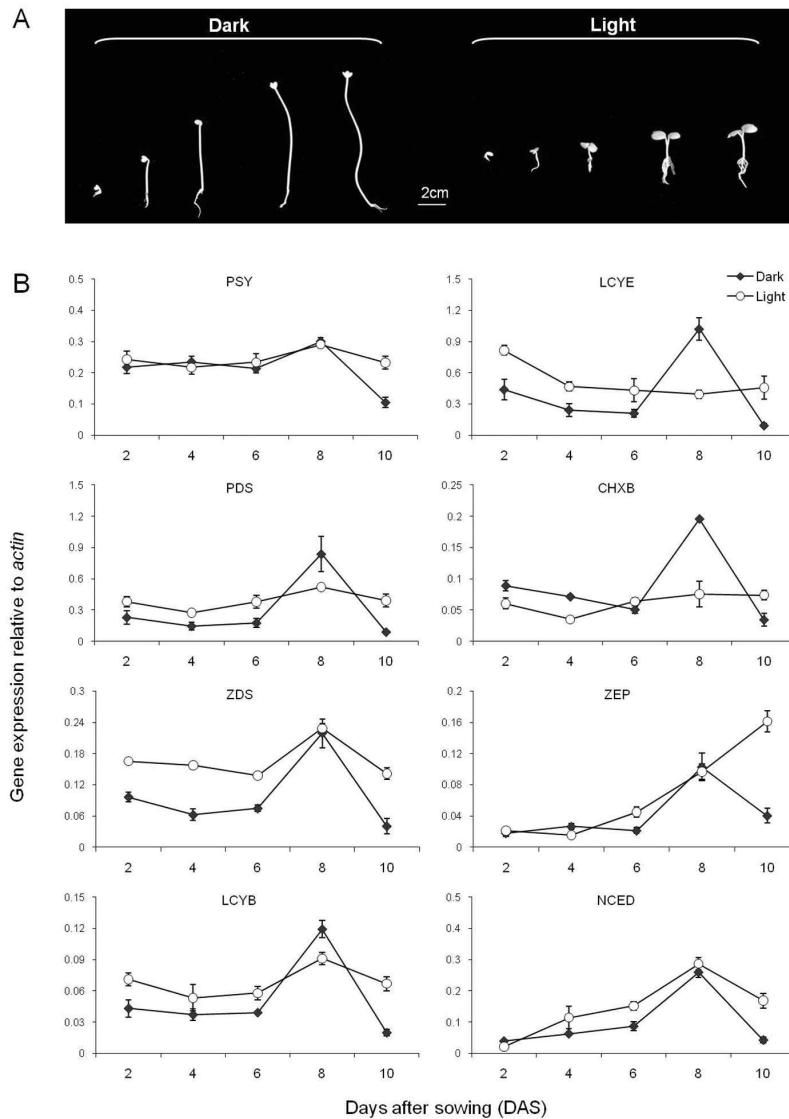


Figure 2. Carotenogenesis genes expression during seedling development of Chinese cabbage. (A) Photograph of Chinese cabbage seedling for 2, 4, 6, 8, 10 days after sowing under dark and light condition. (B) Expression of carotenogenesis genes during seedling development of Chinese cabbage. Units on the horizontal axis indicate the number of days after sowing. The values and the error bars represent the average and standard error from three independent reactions.

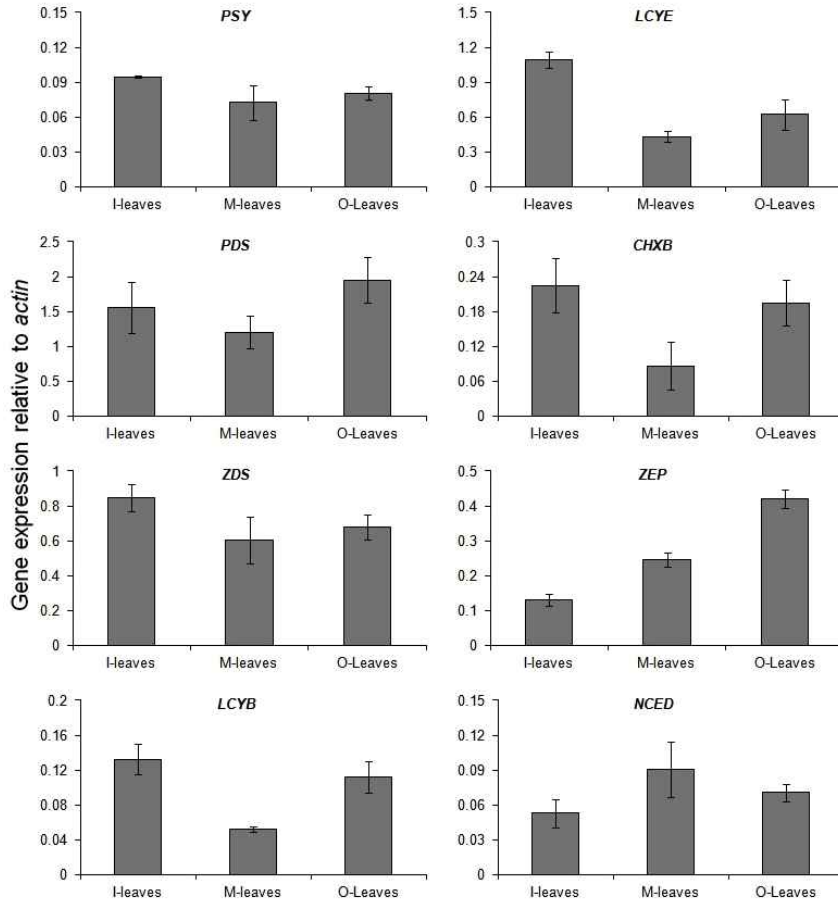


Figure 3. Expression of carotenogenesis genes in different stage of Chinese cabbage leaves. The values and the error bars represent the average and standard error from three independent reactions. I-leaves, inner leaves; M-leaves, middle leaves; O-leaves, outer leaves.

(3) 부위별 카로티노이드 유전자 발현

각 부위별 꽃, 줄기, 어린잎, 노엽, 뿌리에서 카로티노이드 유전자의 발현을 real time PCR을 이용하여 실행했다 (그림 4). 카로티노이드 생합성 대사경로의 첫 번째 유전자인 *BrPSY*는 꽃과 어린잎, 노엽에서 높게 발현되었고 줄기에서는 적당히, 그리고 뿌리에서는 약하게 발현되었다. *BrPSY*처럼, *BrPDS*, *BrZDS*, *BrLCYB*의 발현량은 꽃과 잎에서 많았고 뿌리에서는 낮았다. Lycopene β -cyclase(*BrLCYB*)과 다르게 lycopene ϵ -cyclase(*BrLCYE*)는 꽃에서만 높게 발현되었고 다른 부위에서는 비교적 약하게 발현되었다. *BrCHXB*의 전사는 꽃에서 많이 발현되었고 줄기에서는 중간으로 잎과 뿌리에서는 약하게 발현되었다. *BrZEP* 발현은 어린잎과 노엽에서 높은 반면, 뿌리에서는 가장 약하게 발현되었다. ABA 생합성에 관련된 *BrNCED*는 뿌리에서 가장 강하게 발현되었다.

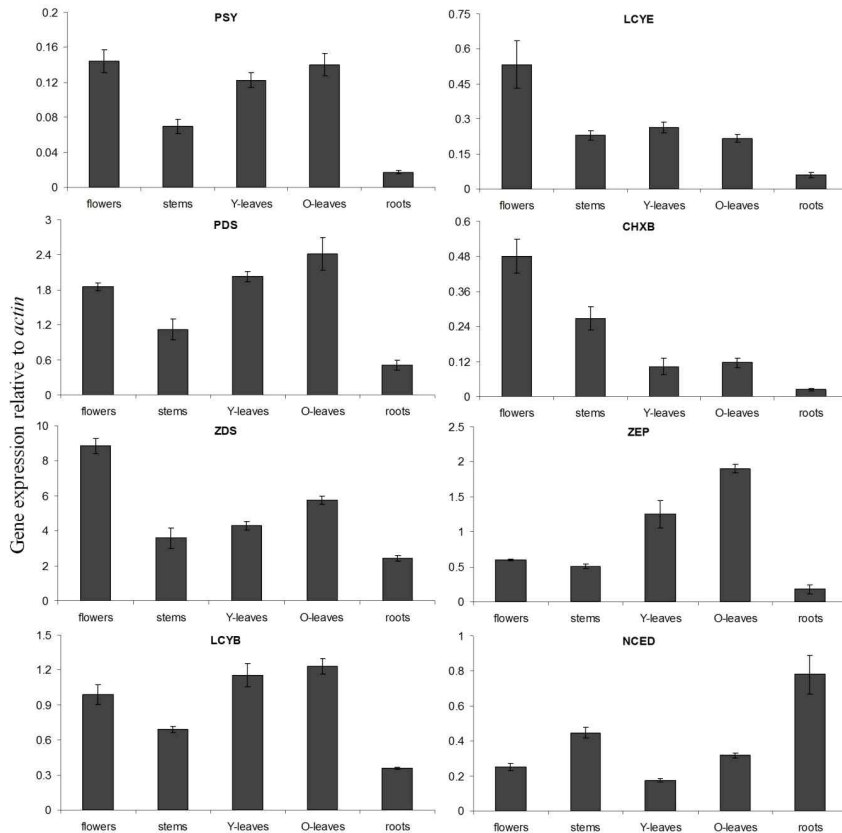


Figure 4. Expression of carotenoid biosynthesis genes in different organs of Chinese cabbage. The values and error bars represent the average and standard error from three independent reactions.

(4) 암조건과명조건에서자란유식물체의카로티노이드분석

카로티노이드 유전자와 카로티노이드 축적의 관계를 측정하기 위해서 8개의 카로티노이드 (lycopene, α -carotene, lutein, β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, antheraxanthin, and violaxanthin)는 HPLC에 의해 발달과정 동안 유식물체의 1 g으로부터 분석되었다(표 2). 암조건에서, 대부분의 카로티노이드는 생육발달과정에서 미세하게 합성되었고 8일째에서 높게 합성되었다. lutein 과 β -carotene을 제외하고는 명조건에서는 다른 카로티노이드는 측정되지 않았다. 4일부터 10일째까지 lutein (ranging from 34.09 to 59.72 μ g/g)과 β -carotene (ranging from 105.77 to 118.49 μ g/g)은 측정되었다. 암조건에서 총 카로티노이드 함량은 2일째에서 4일째까지 증가하다가 6일째 8일째, 10일째에서는 비슷했다. 명조건에서 총 카로티노이드 함량은 2일째 48.12 μ g/g에서 8일째 203.53 μ g/g으로 철저히 증가했고 10일째 178.56 μ g/g으로 감소되었다. 명조건에서 총 카로티노이드 함량은 광합성에 필수요소인 lutein와 β -carotene이 풍부하기 때문에 암조건에서보다 몇 배 더 높게 나타났다 (Yamamizo et al., 2010). 따라서 우리는 배추에서 lutein와 β -carotene은 광합성 과정에서 중요하게 관여한다고 제안한다.

(5) 잎 생육발달과정에서 카로티노이드 분석

잎 생육발달과정에서 세 개의 carotenoids (α -carotene, β -carotene, lutein) 축적의 변화는 표 3에 있다. 안쪽 잎에서, 9.2 $\mu\text{g/g}$ lutein과 2.56 $\mu\text{g/g}$ β -carotene은 측정되었고 가운데 잎에서는 안쪽 잎에서보다 lutein (8.6 $\mu\text{g/g}$)과 β -carotene (2.48 $\mu\text{g/g}$)의 함량은 더 나타났다. 바깥쪽 잎에서 Lutein과 β -carotene의 함량은 각각 73 과 260 $\mu\text{g/g}$ 였고 또한 α -carotene 은 1.1 $\mu\text{g/g}$ 로 낮은 수치를 보였다. 카로티노이드 축적은 안쪽부터 바깥쪽 잎까지 발달과정 동안 대략 30배 증가함을 보였다. 배추에서 바깥쪽 잎은 안쪽과 가운데 잎을 덮고 있고 직접적으로 빛과 접촉을 한다. 따라서 바깥쪽 잎이 안쪽과 가운데 쪽의 잎보다 카로티노이드 함량이 높은 것은 아마도 바깥쪽 잎에서 광합성과 관련이 있기 때문일 것으로 사료된다.

(6) 각각의부위별카로티노이드분석

부위별 즉 꽃, 줄기, 어린잎, 노엽, 뿌리에서 카로티노이드 함량은 HPLC에 의해 분석되었다 (Table 4). 카로티노이드는 꽃과 잎에서 대부분 확인되었고 배추에서 주된 카로티노이드는 lutein과 β -carotene였고 이것은 광합성에 필수적인 화합물이다. Lutein 축적은 노엽에서 120.3 $\mu\text{g/g}$ dry weight으로 가장 높은 함량을 보였다. 어린잎, 꽃, 줄기에서 lutein의 함량은 각각 101.87 $\mu\text{g/g}$, 72.44 $\mu\text{g/g}$ 과 43.62 $\mu\text{g/g}$ 였다. Lutein의 풍부한 함량은 아마도 배추에서 발견된 α -carotene의 전구체의 미량요소를 책임지는데 중요한 역할을 할 것이다. α -carotene과 비교했을 때 vitamin A의 중요한 전구체라고 할 수 있는 β -carotene은 배추에서 많이 합성된다. 특히, β -carotene함량은 노엽과 어린잎에서 각각 103.93 $\mu\text{g/g}$ 과 87.13 $\mu\text{g/g}$ 로 높은 함량을 보였고 줄기와 꽃에서는 각각 31.95 $\mu\text{g/g}$ 과 24.99 $\mu\text{g/g}$ 의 함량을 보였고 뿌리에서는 가장 낮은 0.16 $\mu\text{g/g}$ 함량을 보였다. β -carotene의 높은 함량은 cis isomers 즉 9-*cis* β -carotene과 13-*cis* β -carotene의 비교적으로 높은 함량을 이끈다. 또한 꽃에서 violaxanthin의 함량은 13.85 $\mu\text{g/g}$ 로 낮았고 노엽과 어린잎은 각각 9.6 $\mu\text{g/g}$ 과 8.21 $\mu\text{g/g}$ 였다.

Table 2. Carotenoid composition in seedlings of Chinese cabbage during 10 days after sowing($\mu\text{g g}^{-1}$ dryweight).Resultsareexpressedasmean \pm standarderrorofmean($n=3$).

Light condition					
	2 days	4 days	6 days	8 days	10 days
Lycopene	3.26 \pm 0.42	4.62 \pm 0.62	2.23 \pm 0.35	1.76 \pm 0.17	1.06 \pm 0.07
α -carotene	0.73 \pm 0.05	2.39 \pm 0.17	2.55 \pm 0.18	3.04 \pm 0.21	2.43 \pm 0.07
Lutein	7.63 \pm 0.77	34.09 \pm 0.82	40.84 \pm 4.57	59.72 \pm 5.16	52.22 \pm 7.12
β -carotene	26.97 \pm 2.11	106.61 \pm 3.11	107.95 \pm 4.67	118.49 \pm 9.71	105.77 \pm 1.26
β -cryptoxanthin	2.62 \pm 0.19	3.33 \pm 0.15	2.91 \pm 0.26	3.52 \pm 0.27	2.92 \pm 0.29
Zeaxanthin	1.94 \pm 0.16	4.47 \pm 0.17	4.05 \pm 0.38	5.66 \pm 0.33	5.07 \pm 0.97
Antheraxanthin	0.73 \pm 0.06	2.15 \pm 0.03	2.04 \pm 0.27	2.01 \pm 0.10	1.68 \pm 0.21
Violaxanthin	4.25 \pm 0.53	15.57 \pm 0.21	11.21 \pm 1.30	9.33 \pm 1.02	7.42 \pm 0.60
Total	48.12 \pm 0.79	173.22 \pm 5.29	173.78 \pm 11.99	203.53 \pm 16.97	178.56 \pm 10.59
Dark condition					
Carotenoids	2 days	4 days	6 days	8 days	10 days

Lycopene	1.58 ± 0.07	8.19 ± 1.11	9.95 ± 0.64	10.61 ± 0.99	10.42 ± 0.15
α-carotene	0.43 ± 0.00	0.87 ± 0.09	0.78 ± 0.04	0.93 ± 0.06	0.88 ± 0.00
Lutein	2.83 ± 0.06	4.29 ± 0.11	4.60 ± 0.25	6.18 ± 0.44	5.41 ± 0.02
β-carotene	7.16 ± 0.50	13.58 ± 1.48	7.88 ± 0.42	10.16 ± 1.34	7.30 ± 0.02
β-cryptoxanthin	1.07 ± 0.02	2.59 ± 0.17	3.71 ± 0.20	4.84 ± 0.47	4.77 ± 0.04
Zeaxanthin	0.52 ± 0.01	0.66 ± 0.03	0.96 ± 0.05	1.23 ± 0.09	1.09 ± 0.01
Antheraxanthin	0.41 ± 0.04	0.73 ± 0.05	0.74 ± 0.10	0.80 ± 0.01	0.66 ± 0.08
Violaxanthin	1.94 ± 0.09	2.94 ± 0.11	1.96 ± 0.29	1.60 ± 0.08	0.92 ± 0.33
Total	15.94 ± 0.79	33.84 ± 3.14	30.58 ± 2.00	36.37 ± 3.5	31.46 ± 0.64

Table 3. Carotenoid composition in different stage of Chinese cabbage leaves ($\mu\text{g g}^{-1}$ dryweight). Results are expressed as mean \pm standard error of mean ($n=3$). N.D., not detected; I-leaves, inner leaves; M-leaves, middle leaves; O-leaves, outer leaves.

Carotenoids	I-leaves	M-leaves	O-leaves
α-carotene	N.D	N.D	1.1 ± 0.06
Lutein	9.2 ± 0.54	8.6 ± 0.27	73.68 ± 0.91
β-carotene	2.56 ± 0.15	2.48 ± 0.06	260.51 ± 4.73
Total	11.76 ± 0.70	11.1 ± 0.34	335.33 ± 5.72

N.D = not detected.

Table 4. Carotenoid composition and content in different organs of Chinese cabbage ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ dryweight). Results are expressed as the mean (\pm standard error) ($n=3$). Y-leaves, young leaves; O-leaves, old leaves.

Carotenoids	Flowers	Stems	Y-leaves	O-leaves	Roots
α-Carotene	0.61 (0.03)	0.28 (0.02)	0.57 (0.07)	0.57 (0.05)	N.D.
Lutein	72.44 (6.58)	43.62 (5.72)	101.87 (8.53)	120.3 (12.1)	0.48 (0.09)
β-Carotene	24.99 (1.18)	31.95 (3.35)	87.13 (1.16)	103.93 (2.78)	0.16 (0.05)
9-cisβ-Carotene	5.84 (0.28)	6.2 (0.55)	18.15 (1.1)	18.1 (0.99)	0.06 (0.01)
13-cisβ-Carotene	3.55 (0.23)	3.18 (0.44)	8.65 (0.52)	9.5 (0.75)	N.D.
Zeaxanthin	0.95 (0.14)	0.49 (0.1)	1.14 (0.1)	1.95 (0.15)	N.D.
Violaxanthin	13.85 (1.28)	3.57 (0.5)	8.21 (0.72)	9.6 (0.86)	0.09 (0.00)

N.D. = not detected

3. 배추 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)와 케일 (*Brassica oleracea*. *Acephala*)에서 열 처리 후 내서성 관련 유전자들의 전사량 조사

가. 서론

샤페론분자 (Molecular chaperones)는 최적의 또는 불리한 성장 조건에서 아직 제대로 된 접힘 구조(folding)를 형성하지 않은 단백질이나 약간 구조가 변성(denature)된 단백질의 제대로 된 구조 형성을 도와주는 역할을 하는 단백질이다. 또한 단백질과 세포막의 안정화를 시키는 역할을 하고 단백질이 막을 통과해 나가는 것을 돕는다. 다양한 단백질들은 샤페론 활성을 가지고 있다고 보고 되었다. 더욱이, 많은 샤페론분자들은 스트레스 단백질이고 샤페론분자들 중에 많은 단백질들이 heat-shock proteins (Hsps)로써 발견되었다 [1, 2].

따라서, 이들 샤페론분자들의 이름은 그 단백질들의 초기 명명법을 따르고 Hsps/chaperones로써 간주된다. Hsps/chaperones의 다섯 개의 주된 Family는 the Hsp70 (DnaK) family; the chaperonins (GroEL and Hsp60); the Hsp90 family; the Hsp100 (Clp) family; and the small Hsp (sHsp) family이다. 샤페론분자는 nucleus mitochondria, chloroplasts, endoplasmic reticulum (ER) 같은 세포기관과 cytoplasm에 위치한다 [3-5]. 샤페론 단백질들은 targets을 위해 공유결합으로 bind하지 않고 최종 생산물의 일부를 만들지않는다. 가장 잘 연구된 두 개의 family는chaperonins와 the Hsp70 family chaperones [6]. 가뭄, 염분, 고온, 화학독성, 산화 스트레스 같은 abiotic 스트레스들은 농업에 심각한 장애를 일으키고 환경 훼손을 일으킨다. Abiotic 스트레스는 50% 이상까지 대부분의 주요 작물의 평균 생산량을 줄게 하고 있는 전 세계적 작물 손실의 첫번째 원인이다 [7]. 스트레스에 대한 식물반응의 다양한 메커니즘을 설명하고 내성 (stress tolerance)에 대한 역할은 기본적으로 중요하다. 또한, abiotic stress에 대한 식물 반응에서많은 Hsps/chaperones의 역할은 중요하다. Hsps/chaperones은 세포항상성 (Cellular Homeostasis)의 회복과 스트레스에 대해 식물을 보호하는 중요한 역할을 하는 것으로 보고 되었다 [6]. Hsps/chaperones Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100, small Hsps (sHsps)은 Hsps/chaperones의 활성을 조절하는 다양한 co-chaperone 단백질들과 상호작용을 한다 [8-10].

Hsp60는 prokaryotes, eukaryotic mitochondria, plastids에서 발견되었고, Hsp70은 N-terminal ATPase domain과 C-terminal peptide binding domain의 진화를 거쳐 최소한 50%의 아미노산 상동성을 가지고 있다[9]. Hsp70은 heat shock과 다른 cellular 스트레스에 의해 강하게 유도된다. 어떤 Hsp70은 필수적인 기능을 가지고 있고 열에 대한 내성을 가지고 있으며 환경적인 스트레스에 저항성을 증가시킨다고 보고된바 있다 [11-13]. 또한, Hsp70은 스트레스에 관련된 유전자들의 발현을 조절한다 [14]. 많은 Hsps 달리, 대부분의 Hsp90 기질들은 스테로이드 호르몬 (steroid hormones) 과 kinases를 위한 receptors을 포함하고 있는 signaling 단백질들이다. 따라서, Hsp90은 단백질 folding을 하는데 중요한 역할을 하지만, 스트레스에 반응하는 cellular, morphoglogy, localization, protein turnover, cell cycle regulation, signaling하는 기능을 가지고 있다 [15-18]. Hsp100은 AAA ATPase superfamily의 하나이고 다양한 기능을 가지고 있으며 [19, 20], 단백질의 disaggregation and/or degradation에 중요한

역할을 한다. Hsp100의 발현은 종종 식물에서 관찰되지만, 생육 과정 또는 환경적인 스트레스 요인들에 의해서도 발현이 조절될 것이라고 보고되었다 [21-24].

Low-molecular weight (12-40 kDa) sHsps는 Hsps 중에서 가장 많은 그룹이고, 고등 식물에서 특유의 형태로 발현된다. 비록 sHsps는 단백질 folding에 직접적인 도움을 주지는 않지만, non-native 단백질을 가지고 있는 hydrophobic 상호작용을 통해, 다른 ATP-dependent chaperones에 의해 단백질 folding을 가능케 하는데 도움을 준다 [25-27]. 식물 sHsps의 다양성은 스트레스 조건에 대한 molecular adaptation과 관련이 있을 것이라고 보고되었다[11]. Heat stress transcription factors (Hsfs)는 heat shock (HS) 스트레스 반응의 조절인자이다 [28]. 대체로 Hsfs의 DNA-binding sites의 일치와 기본적인 구조는 yeast부터 사람에 이르기까지 보존되어 있다 [29]. 식물들은 Hsfs를 암호화하는 유전자들의 거대 family를 가지고 있다. 예를 들면, 애기장대는 Hsfs를 암호화하고 있는 21개의 유전자를 가지고 있고 벼는 23개의 유전자를 가지고 있다. 반면에 yeast는 한 개의 Hsf 유전자를 가지고 있고 사람은 세 개의 Hsf 유전자를 가지고 있다 [28, 30]. 게다가, 28개의 *Populus trichocarpa* Hsfs와 16개의 *Medicago truncatula* Hsfs는 생물정보학 분석을 통해 발견되었다. 토마토의 17개 Hsfs는 expressed sequence tags (ESTs)로부터 발견되었다[31, 32]. 식물의 Hsfs는 세 그룹 (A, B, C)으로 나뉘어진다. 이들 그룹은 Hsf 단백질의 hydrophobic coiled-coil region과 DNA-binding domain 사이에서 면적의 길이를 바탕으로 나뉘어진다. 일치하는 Hsf binding sequence (XGAAXXTCCX)는 많은 defense 유전자들의 프로모터 지역에 위치한다. 따라서, 식물 Hsfs는 다양한 환경 스트레스 요인에 대해 식물 반응의 유동적인 기능 또는 overlapping을 가지는 유전자들의 발현을 조절한다 [33]. J-proteins (Hsp40s/DnaJ)은 Hsp70 ATPase 활성을 자극함으로써 HSRs에 중요한 역할을 하고 있는 Hsp70의 co-chaperones이다. J-protein은 Hsp70을 위한 보조인자로 요구되어지고, in vivo에서 Hsp70 기능을 조절한다 [Qiu et al., 2006; Babu et al., 2009]. 식물들, 특히 애기장대와 토마토는 20개 이상의 HSFs를 가지고 있고, HsfA1, HsfA2, HsfB1 families로 나뉘어질 수 있다 [28]. 어떤 HSFs는 열 내성 기능을 한다.

배추 (*Brassica rapa*)는 비타민 C, 미네랄, 식이섬유가 풍부한 저칼로리 잎 줄기 채소이다 [1]. 하지만, 배추 재배는 고온에 취약하다. 따라서, 배추 재배는 고랭지 지역으로 제한된다. 수년 동안 고온에 잘 견디는 배추 품종을 육종하기 위해 연구에 주력했다 [2]. 따라서, 빠르게 내서성을 가지고 있는 라인을 선택하기 위한 방법은 새로운 내서성 배추 품종들의 개발과 육종에 공헌할 것이다. 최근, Park 등은 (2013) 양배추의 어린묘에서 내서성이 있는 것을 초기에 선택하기 위해 heat stress의 유전자 발현양과 이차대사산물에 관련된 유전자의 발현량을 조사하였다. 본 연구에서는 케일의 next generation sequence data로부터 heat shock protein관련 유전자를 발굴하고 그 유전자의 분자적인 기능을 조사하였다. 또한 배추와 케일의 성숙한 잎에서 고온 스트레스를 주고 배추와 케일에서 heat stress에 관련된 단백질과 heat stress transcription factor 유전자들의 전사량을 quantitative real-time PCR을 이용하여 조사를 하였다. 본 연구 결과는 미래에 내서성에 강한 배추 개발을 하기 위한 기초 자료로 제공되리라 사료된다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물 재료 및 고온 처리

본 실험에 사용된 두 품종의 배추 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*), 잎쌈홍 (붉은 색 잎)과 잎쌈 (녹색), 만추콜라드 케일 (*Brassica oleracea. Acephala*) 종자는 아시아 종묘 회사로부터 구입했다. 종자는 발아시키기 전 24시간 동안 물에 침지시켰으며, 발아부터 성숙한 식물체를 키우기 까지 제3세부과제 충남대학교 정선옥 교수 연구실의 식물 공장 시스템 조건에서 실행하였다. 두 품종의 배추와 케일은 식물 공장 시스템 조건하에서 발아되고 3주 동안 양액 재배하에서 자랐다. 그리고 42도씨 growth chamber로 옮긴 후 6, 12, 24 시간 동안 고온 처리하고 모든 잎을 수확하여 액체질소에 얼리고 바로 -80도씨에 저장하였다.

(2) 배추와 케일로부터 내서성에 관련된 유전자의 분석

배추의 Heat shock protein sequence는 충남대학교 임용표 교수 연구실로부터 heat stress transcription factor 유전자 17개를 분양 받았고, 케일은 next generation sequence data로부터 11개의 heat shock protein 관련 유전자를 얻었다. 배추와 케일의 heat shock protein에 관한 유전자 정보를 얻기 위해서, 배추와 케일의 next generation sequence data를 이용했다. 배추의 경우 17개의 full length heat stress transcription factor를 확보할 수 있었고, 케일은 11개의 heat shock protein을 확보 할 수 있었다. 이들 단백질들의 이론적인 분자량과 Isoelectric point를 알아보기 위해서 Compute pI/Mwtool(http://ca.expasy.org/tools/pi_tool.html)을 이용하였다. 각 유전자들의 상동성을 알아보기 위해서 BioEdit Sequence Alignment Editor, version 5.0.9 (Department of Microbiology, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA)으로 *Arabidopsis*와 alignment를 하였다.

(3) cDNA 합성과 real-time quantitative PCR 분석

Total RNA는 Geneaid Total RNA extraction kit을 이용하여 분리했다. QRT-PCR을 위해서, first strand cDNA는 ReverTra Ace- α -(Toyobo, Osaka, Japan) Kit과 oligo (dT)₂₀ primer를 이용해서 합성했다. RT-PCR 반응은 다음과 같다. 11 μ l RNase-free water에 1 μ g total RNA (1 μ l), 2 μ l 의 10X buffer, 1 μ l 의 10 mM each dNTP, 2 μ l 의 10 μ M oligo dT primer, 1 μ l 의 40 u/ μ l RNase inhibitor, 그리고 1 μ l 의 4 u/ μ l reverse transcriptase가 사용되었다. 이 혼합물은 42도에서 20분 동안 증폭되었고 99도에서 5분 동안 열이 가해졌다. Gene-specific primers들은 바이오니아 online program (<http://web.bioneer.co.kr/tools/tmcalculator.jsp>)을 이용해서 주문했다 (table 1, 2). SYBR Green qRT-PCR은 총 20 μ l로 이용되었는데, 10 μ l의 2X SYBR Green Real time PCR master mix (Toyobo), 0.5 uM (each)의 specific primers, 5 μ l의 20배 희석된 cDNA를 template로 사용하였다. 95도에서 3분 동안 증폭되었고, 95도에서 15초, 72도에서 20초, 그리고 각각의 annealing 온도에서 40 cycle 동안 증폭되었다. 실험에 사용된 gene specific primer는 Table 2에 있다. 본 실험은 CFX96 Real-Time PCR System (Bio-Rad; Hercules, CA, USA) 기기를 이용하였고 actin gene (GenBank No. FJ969844)은 house keeping gene으로써 사용되었다.

Table 1. Primers used in this study.

Primer	Sequence (5' →3')	Size (bp)
BoChlSHSP-F	GGGTTGTTGGATCCGCTCTC	136
BoChlSHSP-R	CACGGATCTCGGAAACTCCAC	
BoHSP18-F	TCCCTTCTCGCTTGACGCAT	133
BoHSP18-R	TGGCGTCTCCTTCCAGTCAA	
BoCL2HSP-F	CCAGCCGACGTGATAGAGCA	121
BoCL2HSP-R	TCTCTCCGCTCACCACAAGC	
BoDNAJHSN2-F	CCAGCTGCAGGAGGAGATGA	128
BoDNAJHSN2-R	CAGCAACGTTGAGCTTCCACA	
BoDNAJHSN4-F	TTCCCTGACTCGCTTCACGA	103
BoDNAJHSN4-R	GGACATTGTGCCGTTTCCAA	
BoDNAJHSP-F	CTGCGATCGAGAGCAAGCTG	106
BoDNAJHSP-R	TTTGGCTTCCCGAGACCATC	
BoHSF4-F	AGCTCGTGGCGTTCTTGACC	120
BoHSF4-R	AGCCTTCGCAGTCGCTCTCT	
BoDNAJHSF-F	GAACCCATTCTCGACGGTGAC	133
BoDNAJHSF-R	AACCAACTAGCGCCTCAACCA	
BoActin-F	GGTAGGCCAAGGCATCATGG	142
BoActin-R	CCATGTCGTCCCAGTTGCTC	

Table 2. Primers used in this study.

Primer name	Sequence (5' → 3')	Size(bp)
BrHSFA6B-RT(F)	GCAGAGGCAGCAGCAGATCA	168
BrHSFA6B-RT(R)	TGTCCATCAGAAGCAGCAGTGG	
BrHSFA7A-RT(F)	GGAGATGGAAGGCGATGCAG	100
BrHSFA7A-RT(R)	CTGTTCCAGAAATGGGTCTTGG	
BrHSFA1E-RT(F)	CTGGAGGGCAGTTTGCCGTA	146
BrHSFA1E-RT(R)	GAGCCAGCCAGAACAGCCAT	
BrHSFB4-RT(F)	CGCTTCAATGGACGAGCGTT	130
BrHSFB4-RT(R)	GACCGTGTTGCTCCGTCGTA	
BrHSFC1-RT(F)	AGAGGCCGGAGCAGATGATG	124
BrHSFC1-RT(R)	TTCACCGTGACACGACGCTT	
BrHSFA6B-RT(F)	ACCGATCGATCAAGGGACAAGA	121
BrHSFA6B-RT(R)	CGCTGAGGAGGATCCAGCAT	
BrHSFB1-RT(F)	GACGAGCTGGTGGCGTTCTT	128
BrHSFB1-RT(R)	CAGCCTTCGCAGTCGCTCTC	
BrHSFB2A-RT(F)	GTTTCGTCCGCCAGCTCAAC	138
BrHSFB2A-RT(R)	CCGCTTGTGGCGTTAGCTTC	
BrHSFA2-RT(F)	TGAGGCGAGTGAGGATGAACAA	119
BrHSFA2-RT(R)	CCCAATCCAACGGTGAGGCT	
BrHSFA4A-RT(F)	CCTCCTCCACCAGCAACAGG	178
BrHSFA4A-RT(R)	GGTTGTCGAGGAAAGGAGCGT	
BrHSFA5-RT(F)	AGCTCGAGACCTGAGTCTGGGA	142
BrHSFA5-RT(R)	CCTTGGGACTCGCTCCTCCT	
BrHSFA6A-RT(F)	ACAAATGATGATGGACTTCTTGCTGA	127
BrHSFA6A-RT(R)	CCCATGGCTTGAGGTCATCTCTT	
BrHSFA7B-RT(F)	CGAGTTCGAGAGCGTGGTCA	107
BrHSFA7B-RT(R)	TGTGTTTGGGTCGTCCACCA	
BrHSFA8-RT(F)	TGTTGGTTCAGTTGCTTCAGCCT	146
BrHSFA8-RT(R)	TCCCTCAGATGGTGCCTGGT	
BrHSP101-RT(F)	GCCAAGGAAGGACGGTTCGAT	112
BrHSP101-RT(R)	CAGGCCACTTGCATCGTCAC	
BrHSC70-5-RT(F)	GAGCGCTTCGGCTGGAGAT	120
BrHSC70-5-RT(R)	GCTCCTCCTCCTGGTGCAGA	
BrActin_RT (F)	TAGTGTGTTGGTAGGCCAAGACAT	188
BrActin_RT (R)	GGAGCTCGTTGTAGAAAGTGTGATG	

다. 결과

(1) 케일의 Heat stress에 관련된 유전자의 상동성 비교

케일의 Next Generation Sequence로부터 얻어진 유전자 중 10개의 Heat stress에 관련된 유전자는 low-molecular weight인 sHsps였고 한 개는 heat stress transcription factor였다. 11개중 full-length로 존재하는 것은 네 개의 유전자 뿐이었다. 따라서, full-length로 존재하는 네 개의 유전자에 대해서 기존에 알려진 애기장대와 배추의 heat stress에 관련된 유전자와의 상동성을 Alignment를 통해 비교하였다. 특히, heat stress에 관련된 유전자들은 다른 식물에서는 많이 연구가 안되었다. 케일의 low-molecular weight (12-40 kDa) sHsps 중에 하나인 Heat shock protein은 *Arabidopsis* HSP18.2 (AtHSP 18.2; GenBank accession numbers : NM_125364)와 86%, 배추의 HSP (*Brassica rapa* HSP: BrHSP; AB367955)과 81% 상동성을 보였고, 어떤 용액 상에 존재하는 용질들의 Total 전하가 0을 나타내는 등전점 (isoelectric point; pI)의 값은 6.19 였고, 분자량 (Molecular weight; MW)은 17.94 kDa을 보였다. 케일의 두 번째 sHsps 유전자는 배추의 Heat shock protein 17.6 (BrHSP17.6; EU186348)와 91%, *Arabidopsis* HSP17.6 (AtHSP17.6; NM_121240)와 86%의 상동성을 보였고, 등전점은 5.81이었고, 분자량은 17.48 kDa을 보여서 *Arabidopsis*보다 조금 낮은 분자량을 보였다. 케일의 세 번째 sHsps 유전자는 *Arabidopsis lyrata* DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein DNAJHSP 18.2 (AIDNAJHSP; XM_002884914)와 80%, *Arabidopsis thaliana* (AtDNAJHSP; NM_112176)와 79%의 상동성을 보였다. 또한, 등전점 (pI)은 9.9로 높았고, 분자량은 17.91 kDa을 보였다. Full-length로 존재하는 유전자 중 하나는 heat stress transcription factor 유전자로 *Arabidopsis thaliana* heat stress transcription factor B-1 (AtHSPB1; NM_119862)와 83%, *Brassica rapa* heat shock factor4와 95% 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 6.06 이었고, 분자량은 31.26 kDa이었다.

(2) 케일에서 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자 발굴

지금까지 배추에서 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자는 110개로 알려져 있다. 하지만 케일의 경우 아직까지 밝혀진바 없다. 따라서, 본 연구에서는 케일에서 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자를 발굴하여 이들 유전자가 케일에서 글루코시놀레이트 생합성에 관여하고 있는지 밝히고자한다. 케일의 NGS DATA에서 글루코시놀레이트에 관련된 유전자가 29개 존재하였고, 이 중 10개의 유전자 (MYB transcription factor: MYB51-3; Core structure formation: GGP1-1, GGP1-2, UGT74B1, UGT74C1; Secondary modification: FMOGS-OX5, CYP81F2; Co-substrate pathways: GSH1/PAD2, CHY1-2)가 full-length로 존재하였다. 십자화과로 많이 연구된 배추 또는 애기장대와 상동성의 유무를 확인하기 위해 Alignment를 하였다. 결과는 다음과 같다. 글루코시놀레이트 생합성에 관여하는 MYB Transcription Factor (TF) 중에서 케일의 MYB51은 배추의 MYB51 (BrMYB51; FJ584297)과 98%, *Arabidopsis thaliana* MYB51 (AtMYB51; NM_101715)과 80% 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 5.31 이었고, 분자량은 37.41 kDa이었다. 글루코시놀레이트 생합성 과정 중에 세 번째 단계인 Core structure formation 단계에서는 5개의 유전자가 full-length로 존재하였다. 배추(BrCYP83B1; JX017302)와 애기장대

(AtCYP83B1;NM_119299)의 CYP83B1과 각각 99%, 90%의 높은 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 8.54 이었고, 분자량은 56.88 kDa이었다 (Figure 6). 케일의 GGP1-1 (gamma-glutamyl peptidase)은 GGP1-2와 87%, 애기장대 (AtGGP1;NM_119199)와 70% 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 각각 5.39와 5.02였고, 분자량은 각각 28.41과 28.62 kDa이었다.

케일의 UGT74B1 (UDP-glucosyl transferase 74B1)은 배추 (BrUGT74B1;FJ376054)와 97%의 높은 상동성을 보였고, 애기장대 (AtUGT74B1;NM_102256)와 85%의 상동성을 보였다. 또한, 등전점 (pI)은 5.36이었고, 분자량은 50.65 kDa이었다.

케일의 UGT74C1 (UDP-glucosyl transferase 74C1)은 배추 (BrUGT74C1; FJ376056)와 96%의 높은 상동성을 보였고, 애기장대 (AtUGT74C1; NM_128737)와 86%의 상동성을 보였다. 또한, 등전점 (pI)은 5.29로 UGT74B1보다 조금 낮았으며, 분자량은 51.69 kDa으로 UGT74B1 보다 조금 더 컸다.

케일의 글루코시놀레이트 생합성 단계 중 Secondary modification 단계에서 두 개의 full-length 유전자 (FMOGS-OX5와 CYP81F2)를 얻을 수 있었다. 그 중 FMOGS-OX5 (Flavin-monooxygenase glucosinolate S-oxygenase5)은 *Arabidopsis thaliana* FMOGS-OX5 (AtFMOGS-OX5 NM_101086)와 79%, *Arabidopsis lyrata* FMOGS-OX5 (AlFMOGS-OX5 XM_002889871)와 79%의 상동성을 가졌고, 등전점 (pI)은 5.68이었고, 분자량은 52.55 kDa이었다 (Figure 10). 케일의 CYP81F2는 *Arabidopsis thaliana* (AtCYP81F2; NM_125104)와 87%, *Arabidopsis lyrata* (AlCYP81F2; XM_002864460)와 87%의 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 8.79로 높았고, 분자량은 55.77 kDa이었다.

글루코시놀레이트 생합성 마지막 단계인 Co-substrate pathways 단계에서도 두 개의 full-length 유전자 (GSH1/PAD2: Glutamate-cysteine ligase, CHY1)를 얻을 수 있었다. 케일의 GSH1은 *Brassica juncea* GSH1 (BjGSH1 : AJ563922)와 96%, *Arabidopsis thaliana* GSH (AtGSH: NM_001203879)와 88%의 상동성을 보였고, 등전점 (pI)은 6.02였고, 분자량은 57.94 kDa이었다. 케일의 CHY1은 *Arabidopsis lyrata* CHY1 (AlCHY1 XM_002865047)와 90%, *Arabidopsis thaliana* CHY1 (AtCHY1 NM_125991)와 89%의 상동성을 보였으며, 등전점 (pI)은 7.01이었고, 분자량은 41.3 kDa이었다.

(3) 배추에서 Heat stress에 관련된 유전자 발굴

지금까지 heat stress에 관련된 유전자 중 heat shock protein과 heat shock transcription factor들이 발견되었다. 하지만 본 연구진은 충남대학교 임용표 교수 연구실로부터 heat stress에 관련된 19개의 full-length transcription factor 유전자들을 배추 NGS로부터 확보하여 애기장대의 heat stress 관련 유전자들과 상동성의 유무를 Alignment를 통해 비교하였다. 배추의 heat stress transcription factor 중 BrHSTFA-1a는 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-1a (AtHSTFA-1a; NM_117884)와 77%의 상동성을 보였다. 배추의 BrHSTFA-1b는 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-1b (AtHSTFA-1b: NM_180501)와 76% 상동성을 보였고, BrHSTFA-1d *Arabidopsis thaliana* HSTFA-1d (AtHSTFA-1d: NM_102966)와 83% 상동성을 보였다. 배추의 BrHSTFA-7a은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-7a (AtHSTFA-7a NM_115050)와 80%, BrHSTFA-6b은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-6b (AtHSTFA-6b NM_113182)와 82% 상동성을 보였다. 배추의 BrHSTFB-1은 *Arabidopsis thaliana* HSTFB-1 (AtHSTFB-1 NM_119862)와 83%,

BrHSTFB-2a은 *Arabidopsis thaliana* HSTFB-2a (AtHSTFB-2a NM_125595)와 68% 상동성을 보였다.

배추의 BrHSTFA-2은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-2 (AtHSTFA-2 NM_001124916)와 80%, BrHSTFA-4a은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-4a (AtHSTFA-4a NM_118004)와 82% 상동성을 보였다. 배추의 BrHSTFA-5은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-5 (AtHSTFA-5 NM_117472)와 86%, BrHSTFA-6a *Arabidopsis thaliana* HSTFA-6a (AtHSTFA-6a NM_123751)와 82% 상동성을 보였다. 배추의 BrHSTFA-7은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-7b (AtHSTFA-7b NM_116200)와 77%, BrHSTFA-8은 *Arabidopsis thaliana* HSTFA-8 (AtHSTFA-8 NM_105467)와 81% 상동성을 보였다. 배추의 BrHSP101은 *Arabidopsis thaliana* HSP101 (AtHSP101 U13949)와 89%의 높은 상동성을 보였다. 배추의 BrHSC70-5은 *Arabidopsis thaliana* HSC70-5 (AtHSC70-5 AF217458)와 88% 높은 상동성을 보였다.

(4) 케일에서 heat stress 관련 유전자들의 전사량 조사

케일의 싹과 성숙한 잎에 heat stress를 가한 후에 heat stress에 관련된 heat shock protein들의 유전자 전사량을 qRT-PCR로 조사를 하였다. 케일에서 총 11개의 heat shock protein을 NGS DATA로부터 얻었는데 qRT-PCR을 한 결과 8개의 유전자에서만 데이터를 얻을 수 있었다. Figure 25에서 보는 것처럼 거의 모든 유전자에서 전사량은 케일 싹보다 성숙한 잎 (Old leaf)에서 발현이 더 높았다. 배추싹과 성숙한잎의 유전자 발현은 거의 비슷한 패턴을 보였다. 총 8개의 유전자 중 BoChlSHSP (chloroplast small heat shock protein)은 다른 유전자들보다 발현양이 주목할만하게 높았으며, BoHSP18 (heat shock protein 18.2)와 BoCL2HSP (17.6 kDa class II heat shock protein)도 발현양이 다른 유전자들의 비해 현저히 높았다. 특히, BoChlSHSP에서, 성숙한 잎은 케일싹보다 24 h에서 무려 22배 높은 전사량을 보였다. BoHSF4, BoCL2HSP, BoHSP18, BoDnaJHSF 유전자들은 성숙한 잎에서 heat stress를 준 후 12 h까지 발현양이 증가하다가 24 h에는 다시 떨어졌고, 12 h에 유전자 전사량이 가장 높게 나타났다. 반면에, BoChlSHSP, BoDnaJHSN2, BoDnaJHSN4는 고온 처리 후 24 h에 전사량이 가장 높게 나타났다. BoDnaJHSP는 케일싹에서, 다른 유전자들과 달리 고온을 처리하지않은 0 h에 유전자 발현양이 가장 높았다. 그리고 고온을 처리한 다음 6 h부터 24 h까지 전사량이 증가하였다. 케일 싹은 성숙한 잎에 비해 고온에 약하기 때문에 고온에서 장시간 있지 못하기 때문에 성숙한 잎보다 전사량이 낮았을 것으로 사료된다. 열 났개의 유전자가 모두 heat stress에 관여하는 유전자이기 때문에 고온을 처리하지 않았을 때는 전사량이 아주 낮았고 (0 h), 고온을 처리한 6 h 후에는 전사량이 처리하지 않았을 때보다 높았다. 본 연구 결과는 케일의 내서성에 관여하는 유전자들 중에서 고온에 반응하여 전사량이 높은 유전자 즉, BoChlSHSP, BoHSP18, BoCL2HSP를 이용하여 내서성에 강한 케일을 육성하는데 마커 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

(5) 배추 싹에서 heat stress 관련 유전자들의 전사량 조사

배추에서 heat stress에 관여하는 유전자 중 본 연구에서 이용된 유전자는 heat stress에 관여하는 15개의 heat stress transcription factor를 이용하여 두 개의 품종 배추 (잎쌈홍-Red,

잎짚-Green)에서 qRT-PCR을 이용하여 고온 처리 후 유전자들의 전사량을 조사하였다. 앞서 언급한 케일의 heat stress 관련 유전자에 비해 전사량이 아주 적었다. NGS DATA로부터 얻어진 19개 중 15개만 qRT-PCR이 되었고, 나머지 네 유전자는 PCR이 되지 않았다. 따라서, 본 연구에서는 제외하였다. 두 품종 간의 유전자 발현 패턴은 거의 비슷했다. 총 15개의 유전자 중 8개의 유전자 즉, BrHSFA6B, BrHSFB4, BrHSFB1, BrHSFA2, BrHSFB2A, BrHSFA4A, BrHSFA8, BrHSC70-5는 붉은 색을 띠고 있는 잎짚홍 배추의 유전자 전사량은 초록색을 띠고 있는 잎짚 배추의 전사량보다 높았다. 두 품종의 배추 싹은 몇몇 유전자 (BrHSFA2, BrHSFA7B, BrHSP101, BrHSC70-5)를 제외하고 나머지 유전자들은 고온 처리 후 24 h에 유전자 발현양이 가장 높았고, 이들 네 유전자들은 고온 처리 후 6 h 후에 두 품종 모두 높은 전사량을 보였고, 고온 처리 후 6 시간이 지난 후 24 시간까지 전사량이 점점 감소하는 패턴을 보였다. 특히, BrHSP101, BrHSC70-5은 heat shock protein 유전자 네 그룹 중 각각 hsp100과 hsp70에 속한다. 15개의 유전자 중에서 BrHSFB1과 BrHSFA2의 발현양은 13개의 유전자들보다 Actin에 비해 높은 발현양을 보였다. 이 결과는 배추의 싹에서 heat stress transcription factor에 크게 관여하는 유전자는 BrHSFB1과 BrHSFA1라는 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 배추싹으로 실험을 진행하게 된 것은 배추의 생육초기에 고온 스트레스를 받았을 때 어떤 유전자들이 heat shock에 관여하고 있는지 알아보기 위해서 였다. 본 연구도 케일 실험과 마찬가지로, 고온에 잘 견디는 배추의 품종 육성에 도움이 되리라 사료된다.

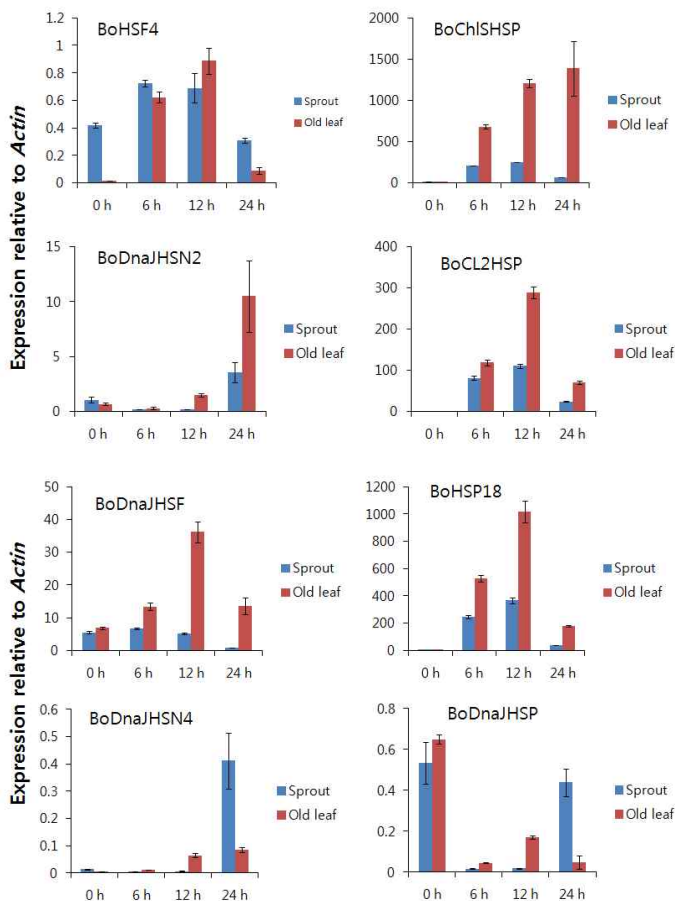


Figure 1. Analysis of fold change in expression of heat stress transcription factor genes after heat treatment from sprout and old leaf of *Brassica oleracea*. Acephala

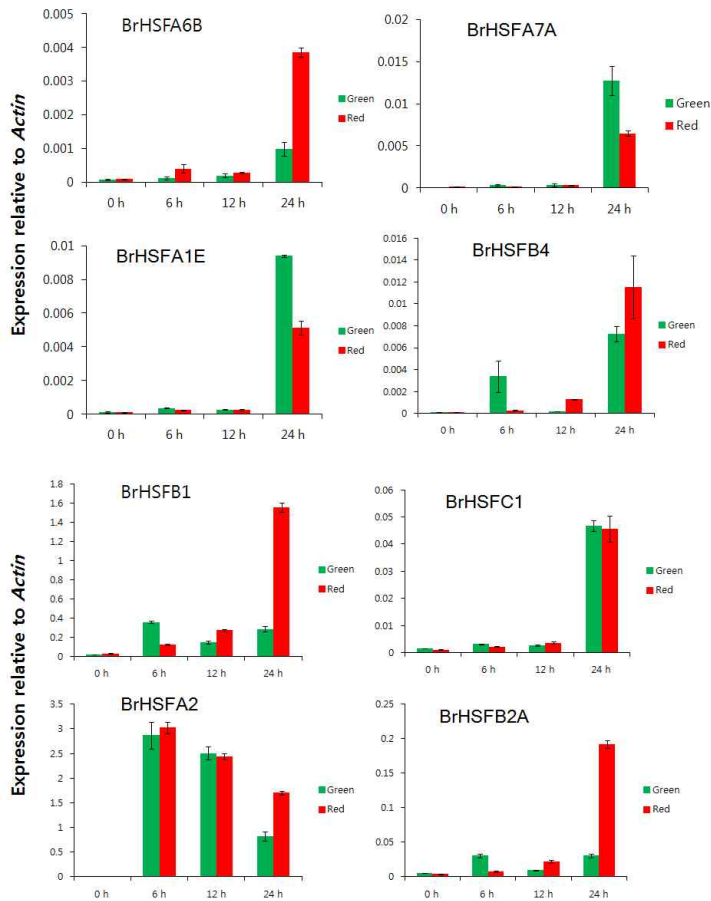


Figure 2. Analysis of fold change in expression of heat stress transcription factor genes after heat treatment from sprout of *Brassica rapa*.

(6) 배추 잎에서 heat stress 관련 유전자들의 전사량 조사

본 연구에서는 배추잎에서 언급했던 것처럼 배추의 heat stress transcription factor 유전자 19개 중 10개의 유전자만이 qRT-PCR이 되었으므로 10개의 유전자를 이용하여 배추잎과 마찬가지로 두 품종 (잎쌈홍-Red, 잎쌈-Green)의 성숙한 잎에서 그들의 발현양을 조사하였다 (Figure 4). 거의 모든 유전자에서 적색인 잎쌈홍 배추의 발현양은 초록색을 띠는 잎쌈 배추보다 발현양이 월등히 높았다. 유전자 발현 패턴은 배추잎과 마찬가지로 잎쌈홍과 잎쌈 배추가 비슷한 패턴을 보였다. 특히 heat shock protein으로 BrHSC70-5, BrHSFA2, BrHSP101은 다른 유전자들의 비해 유전자 발현양이 현저히 높았다. BrHSFA2는 배추잎에서도 다른 유전자들의 전사량보다 높게 나타나서 이 실험 결과와 일치하였다. BrHSFA1E, BrHSC70-5, BrHSP101, BrHSFA7B, BrHSFB1, BrHSFA6A는 고온 처리 후 6 h에서 전사량이 가장 높았다가 그 점점 24 h까지 감소하는 패턴을 보였다. 하지만 BrHSFA2와 BrHSFB2A는 고온 처리 후 24 h에서 가장 높은 전사량을 보였다. 특히, BrHSFB2A는 고온을 처리하지 않은 0 h부터 24 h까지 전사량이 점점 증가하는 패턴을 보였고, 반면 BrHSFC1은 0 h부터 24 h까지 감소하는 패턴을 보였다. 고온 처리 6 시간 후, 잎쌈홍의 BrHSC70-5, BrHSP101, BrHSFB1, BrHSFA2는 잎쌈보다 발현양이 각각 10, 8, 24, 17배 높았다. 이 결과는 적색을 띠는 잎쌈홍 배추는 초록색을 띠는 잎쌈보다 고온 스트레스에 잘 견딘다는 것을 알 수 있다. 이 결과는

케일과 배추싹 실험과 마찬가지로 고온에 잘 견디는 내서성 배추를 육성하는데 도움이 되리라 사료된다.

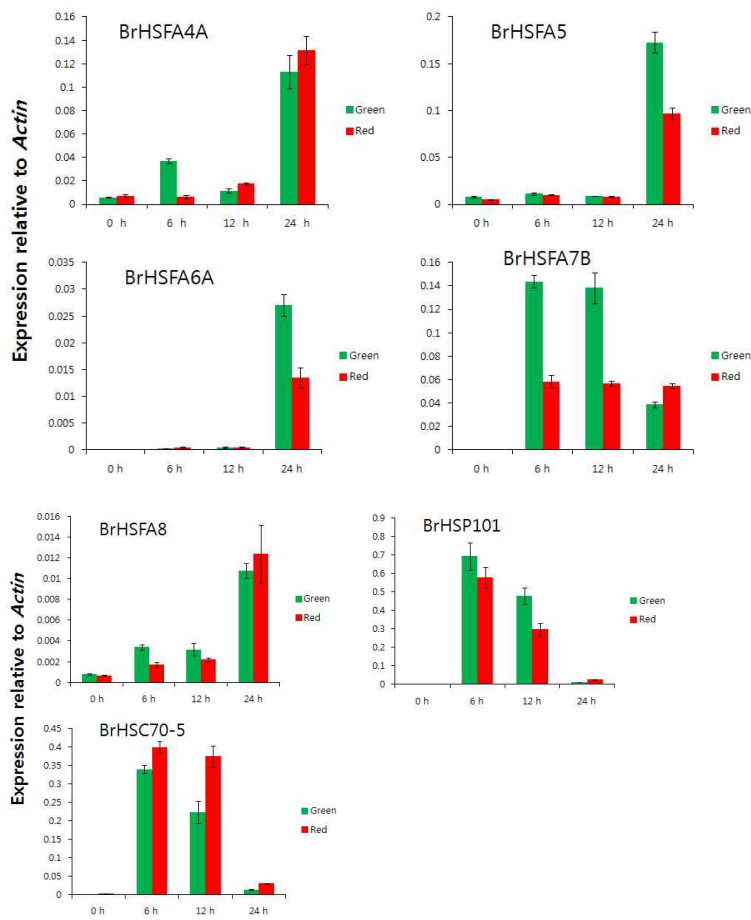
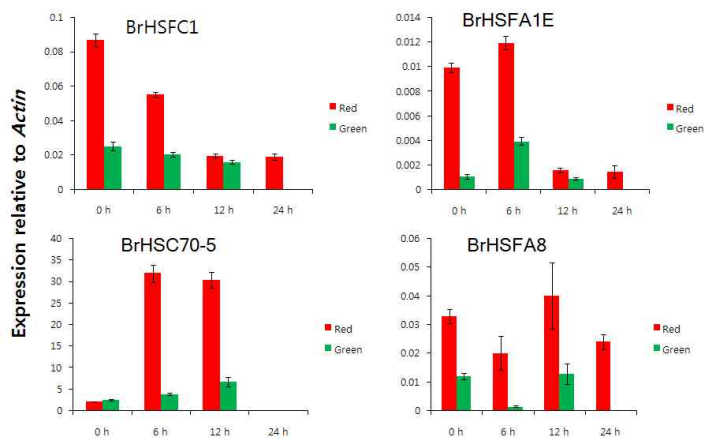


Figure 3. Analysis of fold change in expression of heat stress transcription factor genes after heat treatment from leaf of *Brassica rapa*.



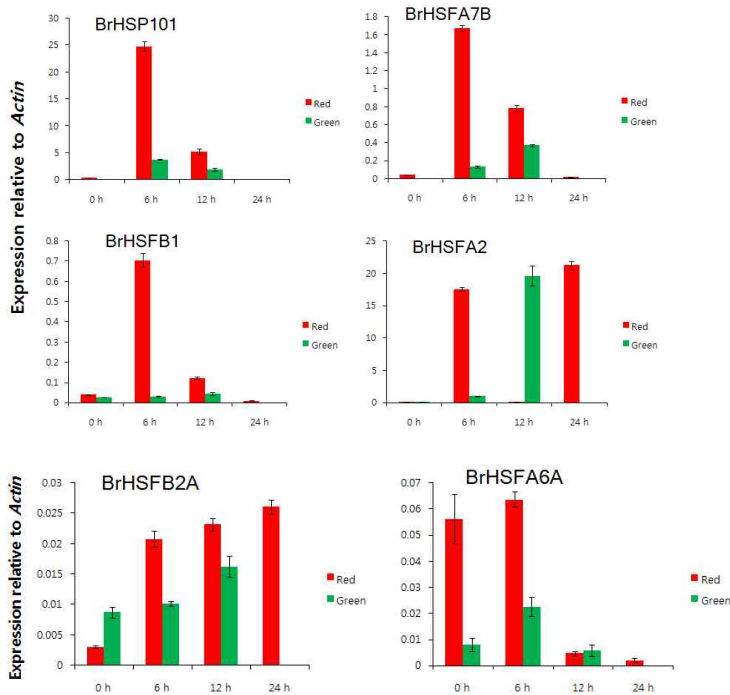


Figure 4. Analysis of fold change in expression of heat stress transcription factor genes after heat treatment from leaf of *Brassica rapa*.

3. 배추에서 LED 조명에 따른 카로티노이드 생합성 관련 유전자 발현

가. 서론

카로티노이드는 테르페노이드 색소의 다양한 그룹을 대표하는 색소로 자연계에 널리 퍼져있다. 식물에서 카로티노이드는 지질막의 안정화, 광합성에서의 빛 수집, 광산화로부터 광계의 보호와 같은 다양한 중요한 기능을 수행한다 (Havaux, 1998; Ledford and Niyogi, 2005). 카로티노이드는 꽃과 열매에서 노란색, 주황색, 붉은색을 나타내며 곤충이나 동물을 공격하는 물질을 만들어내고 수분을 촉진하며 종자를 분산시킨다 (Cunningham and Gantt, 1998). 게다가 카로티노이드는 식물에서 섭취할 수 있는 필수영양분이며 동물과 인간에 있어 건강을 증진시켜주는 중요한 물질이기도 하다 (Parker, 1996). 베타카로틴과 알파카로틴과 같은 프로비타민 A 카로티노이드는 비타민A의 초기 공급원으로 심각한 결핍상태에 도달할 경우 안구건조증, 색맹, 조기사망 할 수 있다 (Mayne, 1996).

카로티노이드 생합성 경로는 고등식물에서 잘 연구되어있다. (Cunningham and Gantt, 1998). 두개의 geranylgeranyl diphosphate (GGDP) 분자가 응축하여 phytoene을 형성하는데 이는 생합성 경로에서 가장 중요한 과정으로 phytoene synthase (PSY)에 의해 촉진되어진다. 그 다음에 파이토엔 불포화효소(PDS)와 ξ -carotene desaturase (ZDS)가 ξ -carotene을 이용해 파이토엔을 라이코펜으로 전환시킨다. 이때 생합성경로는 두개의 가지로 나뉘는데 하나는 알파카

로틴, 다른 하나는 베타카로틴 합성이 진행된다. 알파카로틴은 라이코펜베타시클라제(고리화효소 LCYB)과 라이코펜엡실론시클라제 (고리화효소 LCYE)이 함께 작용할때 형성되고 LCYB 혼자 작용할 경우 두 번의 반응단계를 거쳐 라이코펜을 베타카로틴으로 전환시킨다. 그 후에 알파카로틴과 베타카로틴의 수산화반응이 베타고리 카로틴 수산화효소(CHXB)와 엡실론 고리 카로틴 수산화효소(CHXE)에 의해 촉진되며 각각 루틴과 제아잔틴을 만든다. 그리고 제아잔틴 에 에폭시다아제(ZEP)에 의해 제아잔틴이 에폭시화되어 비올라잔틴을 만드는데 이는9-시스 에폭시 카로티노이드 이산화효소(NCED)에 의해 산화분열을 통한 엡시스산(ABA)의 합성이 촉진되도록 해준다 (Schwartz et al., 1997). 경로를 따라서 카로티노이드는 카로티노이드 분열 이산화효소 (CCDs)에 의해 다양한 사슬위치에 분열하게된다 (Auldridge et al., 2006b). 카로티노이드는 녹색 식물의 광합성기구의 중요한 요소의 역할을 한다. 또한 빛은 식물에서 카로티노이드 생합성을 조절하는 중요한 인자로 작용한다 (Römer and Fraser, 2005). 핵으로 이동한 광수용체의 광 매개 활성화는 카로티노이드 생합성 유전자 전사를 유도한다 (Pizarro and Stange, 2009). 게다가 최근 연구에서 카로티노이드 생합성은 광질, 광도, 광지속기간에 영향을 받으며 모든 광과장에서 동일한 효율성을 보이는건 아니라는 것이 밝혀졌다 (Wu et al., 2007; Liu, 2009). 최근 발광다이오드(LED) 기술의 발달은 식물의 카로티노이드 생합성에 있어 높은 방사조도 수준일 때 다른 파장의 영향을 조사할수 있는 좋은 기회를 제공한다 . LED는 식물의 광합성 등 생장에 필요한 특정 파장의 빛만 공급할 수 있어 식물 성장속도를 빠르게 하거나 식물의 색깔 제어, 향산화물질 , 병해충 방제가 가능하며, 적색과 청색은 식물의 광합성을 촉진하는 역할을 하는데, 적색과 청색 LED조명을 식물에 쬐어주면 식물의 성장을 촉진시킨다고 보고된바 있다. LED조명을 비롯한 IT시스템을 갖춘 통제 시설 내에서 빛 · 온도 · 습도 · 이산화탄소 농도 · 양분 · 수분 등 식물의 생육환경을 인공 제어해 자연환경에 영향 받지 않고 작물을 공산품처럼 만들어낼 수 있는 공장을 LED 식물 공장이라고 하는데 다양한 분야에서 이용되고 있다. 식물공장은 이처럼 속성 재배는 물론 자연재해 등에 영향 받지 않고 안정적으로 작물을 재배할 수 있기 때문에 미래형 농업산업에서 중요하다. 따라서, 본 연구에서는 배추에서 카로티노이드의 생합성에 3가지의 다른 광과장의 영향과 카로티노이드 축적을 조사하였다. 백색, 청색, 적색, 청색+적색, 총 네가지의 LED 조명으로 빛을 처리한 배추에서 카로티노이드 생합성 유전자의 전사 량을 real-time RT PCR를 이용해 분석했다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물재료 및 재배 조건

본 실험에 사용된 신흥쌈 (Red color)과 잎쌈 (Green color) 배추 종자는 아시아 종묘 종자회사로부터 구입했다. 식물재배는 제3세부과제 충남대학교 정선옥 교수팀에 의뢰를 하여 LED 식물 공장 시스템을 이용하여 네 가지의 LED 조명 (백색, 청색, 적색, 청색+적색)을 이용하여 양액으로 3주 동안 재배하였다. 재배 조건은 다음과 같다. 기본 설정 온도는 다음과 같이 진행되었다. 온도는 5개의 수준으로 14, 17, 20, 23, 26 ± 1℃로 설정하였다. 그 외 환경인자는 다음과 같다. 습도는 65 ± 5%로 유지하도록 하였고 CO₂ 농도는 1000 ± 100

ppm을 유지시켜주도록 하였다. 광량은 PPF로 재배 베드 평균 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 이 되도록 조사시켜주었고 일조시간은 하루에 18시간으로 하였다. 양액의 pH는 6.0 ± 0.5 , EC는 1.2 ± 0.1 dS/m로 유지시켜주었다.

(2) Real-time PCR에 의한 발현 분석

Total RNA는 배추의 각각의 샘플로부터 분리하여 추출되었다. cDNA는 ReverTra Ace- α - (Toyobo, Osaka, Japan) kit을 사용하여 합성되었다. cDNA는 real-time PCR을 위해서 25배 희석되었다. 카로티노이드 생합성에 관련된 유전자는 NCBI에서 찾아서 이용했다. 그 유전자들은 다음과 같다. [Genbank FJ227935 (BrPSY), FJ606826 (BrPDS), FJ606827 (BrZDS), FJ606828 (BrLCYB), FJ606829 (BrLCYE), GQ178285 (BrCHXB), FJ606830 (BrZEP), and AAV35466 (BrNCED)]. 이들의 프라이머는 Primer 3 소프트웨어를 이용하여 제작했다 (Table 1). Actin gene (*BrActin*:FJ969844)은 house keeping 유전자로 사용되었다. Real time PCR은 총 20 μl 반응으로 SYBR Green Real time PCR master mix (Toyobo)를 사용하였다. Real-time PCR 반응은 MiniOpticon system (Bio-Rad Laboratories; Hercules, CA, USA)으로 3반복 함으로써 분석되었다. PCR 반응조건은 94도에서 5분, 94도에서 15초, 56도에서 15초, 72도에서 20초로 40 반복을 함으로써 행해졌다.

Table 1. Primers used for Real-time PCR.

Name	Sequence (5' to 3')	Amplicon (base pair)	Accession number
BrPSY_RT F	GCTATCTACGTTTGGTGCAGAAGAA	189	FJ227935
BrPSY_RT R	AAATGGCTGAATATCGACAGGGTAT		
BrPDS_RT F	GAGCTCGAGGATGATGGTACTGTTA	175	FJ606826
BrPDS_RT R	TAACTGGCACACCAACTAGCTTCTC		
BrZDS_RT F	CCTTCTTGTCAAAGACCACACTCAT	160	FJ606827
BrZDS_RT R	AGCTAGTGAGTTCCTCAGCTTGTC		
BrLCYB_RT F	AAGATATCCAAGAGAGGATGGTTGC	180	FJ606828
BrLCYB_RT R	CCACCATGTAACCTGTAGAAGGATG		
BrLCYE_RT F	ATGGATGAACAGTCTAAGCTCGTTG	185	FJ606829
BrLCYE_RT R	ACACCGTAGTTGTTTGTGAAAGGAA		
BrCHXB_RT F	CAGAGAAAACAAGCTCTCTGGACAC	185	GQ178285
BrCHXB_RT R	CATCTGCCAAGAGAATCGGTAGTAA		
BrZEP_RT F	AGACTTAAGCGCCATAAGAGGAGAA	185	FJ606830
BrZEP_RT R	ACTTGACATACCAAGTGCCAGAGAC		
BrNCED_RT F	CACATCCTCTGTTTTGTTCACGAC	171	AAV35466
BrNCED_RT R	AAGAGTTTGTTCCTGGAGTTGTTCC		
BrActin_RT F	TAGTGTGTTGGTAGGCCAAGACAT	188	FJ969844
BrActin_RT R	GGAGCTCGTTGTAGAAAGTGTGATG		

다. 결과

(1) 배추에서 LED 조명 처리시 카로티노이드 유전자 발현

파이토엔 합성효소(BrPSY), 파이토엔 불포화효소(BrPDS), 카이 카로틴 불포화효소(BrZDS), 라이코펜 베타 시클라제(BrLCYB), 라이코펜 엡실론 시클라제(BrLCYE), 베타 고리 카로틴 수산화효소(BrCHXB), 제아산틴 에폭시다아제(BrZEP), 9-시스 에폭시카로티노이드 이산화효소(BrNCED)의 전사수준은 신흥쌈과 잎쌈 배추의 식물 발달과정동안 적색, 청색, 그리고 적청색, 백색의 LED 빛을 조사하여 real-time PCR를 통해 분석하였다. 카로티노이드 생합성유전자의 유전자 발현양은 발아 후 3주 동안 다른 양상을 보였다 (Figure 1-8). 카로티노이드 생합성경로의 시작을 개시하는 BrPSY는 신흥쌈 배추에서 발아 후 2, 3주차에 적색광일 때 더 높았다. 청색광 또한 신흥쌈 배추와 잎쌈 배추에서 발아 후 3주차에 BrPSY의 유전자 발현양이 크게 증가하였다. BrPDS의 유전자 발현 수준은 신흥쌈 배추에서 발아 후 2주차에 청색광과 적청색광에서 더 높게 나타나는 것을 알 수 있었으며 잎쌈 배추에서는 발아 후 1주차에 청색, 적청색, 백색광에서 BrPDS의 유전자 발현양이 높음을 알 수 있었다. BrZDS의 유전자 발현수준은 신흥쌈 배추에서 발아 후 2주차에 청색광 일때만 크게 증가함을 보였다. 배추에서 upstream genes와 비슷한 BrLCYB, BrLCYE, BrCHXB, BrZEP를 포함한 downstream gens의 mRNA 수준은 적색, 백색광과 비교했을 때 청색 혹은 적청색광에서 더 높이 나타났다. 백색광은 오직 신흥쌈 배추에서 발아 후1주차에 BrLCYE, BrZEP의 발현만 높게 나타났다. ABA 생합성을 포함하는 BrNCED의 mRNA 발현은 신흥쌈 배추와 잎쌈 배추는 발아후 3주차에 청색광, 청색광과 백색광에서 각각 높게 나타났다. 카로티노이드 생합성유전자의 조절과 적, 청, 적청, 백색의 LED에서의 카로티노이드축적에 관한 본 연구는 배추에서의 카로티노이드 생합성 메커니즘에 대해 정확하게 설명하는데 유용함을 알 수 있다. 나아가서 이 결과는 아시아의 대중적인 채소인 배추에서 카로티노이드 생산을 최대화 할 수 있는 새로운 접근법을 제시하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

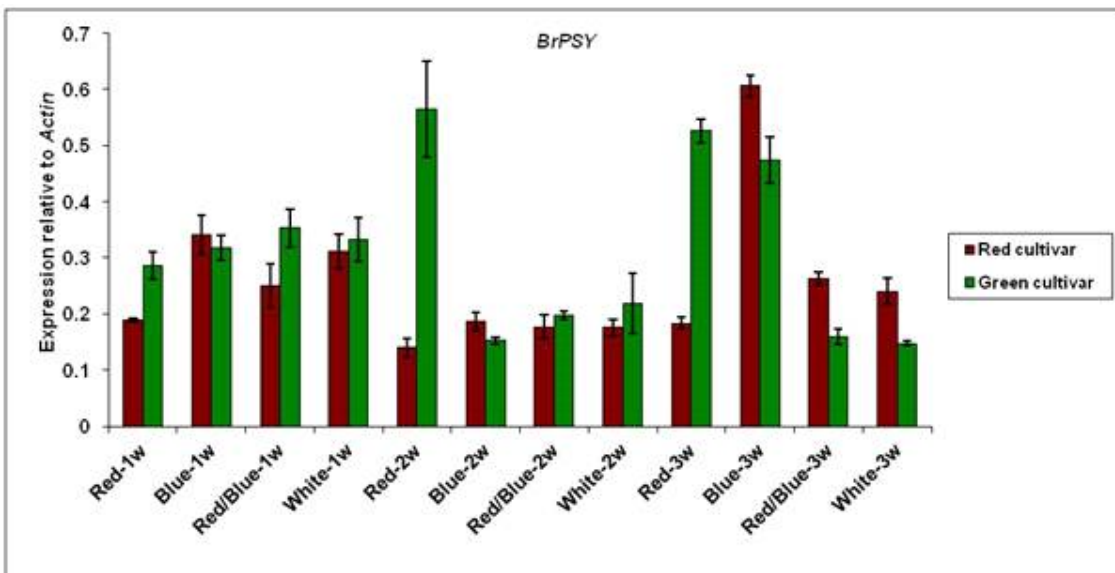


Figure 1. Expression levels of *phytoene synthase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

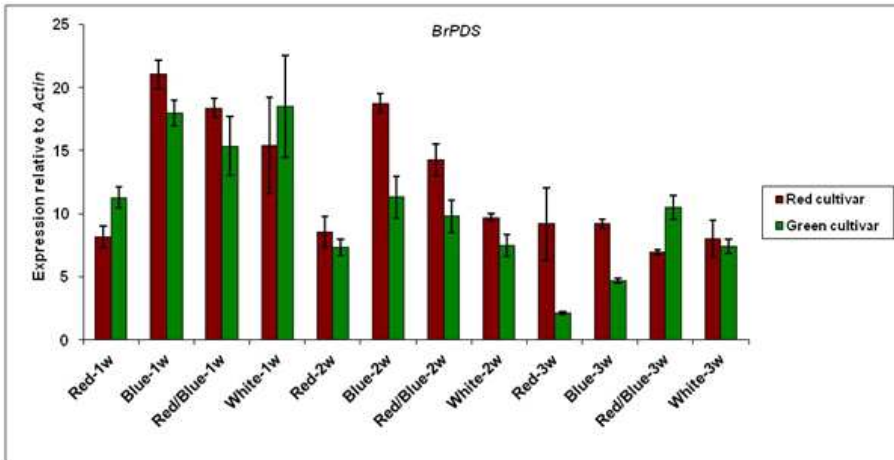


Figure 2. Expression levels of *phytoene desaturase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

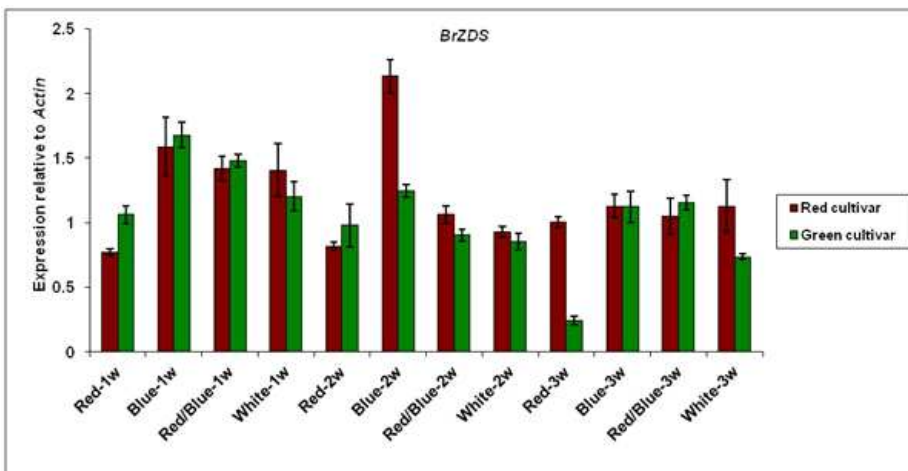


Figure 3. Expression levels of ξ -*carotene desaturase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

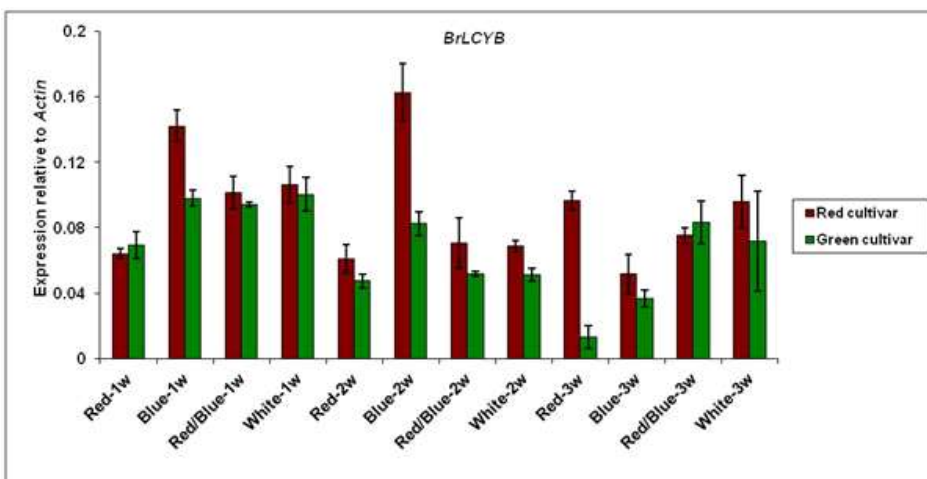


Figure 4. Expression levels of *lycopene ̢-cyclase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

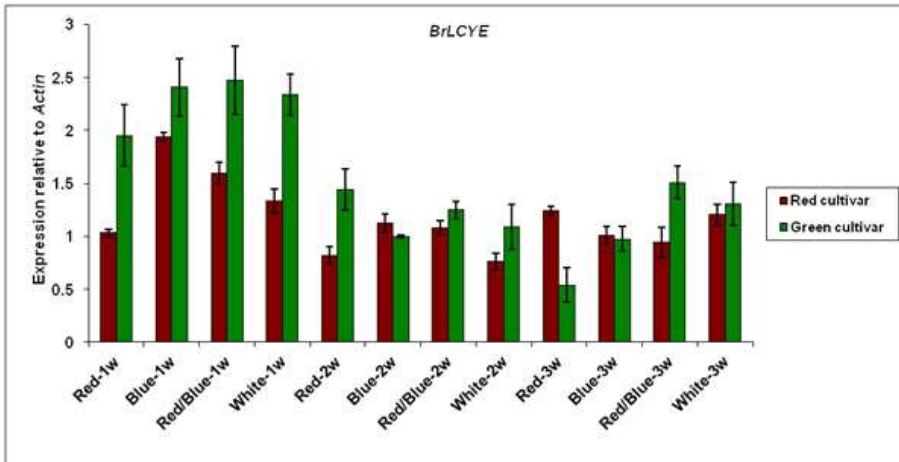


Figure 5. Expression levels of *lycopene ϵ -cyclase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

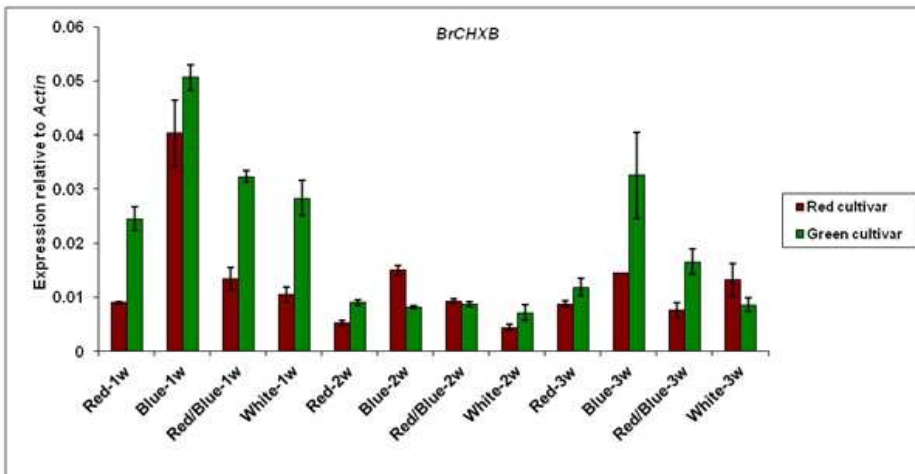


Figure 6. Expression levels of *β -ring carotene hydroxylase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

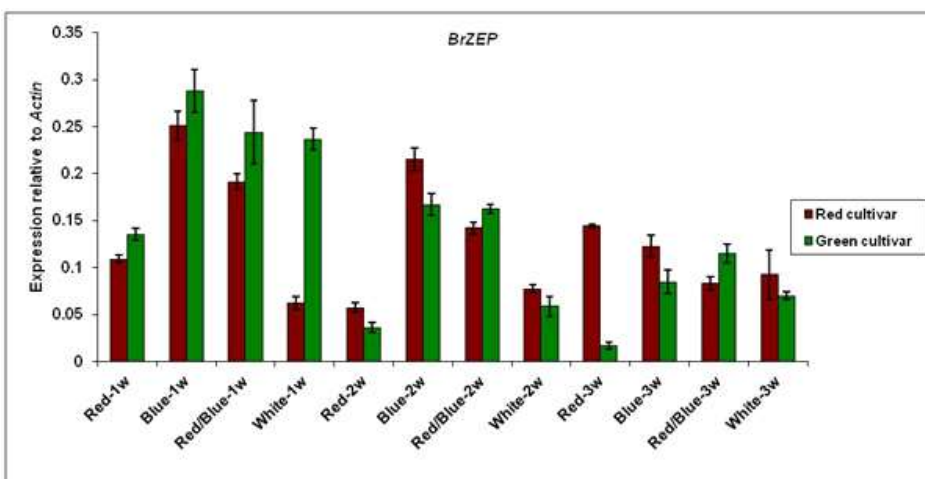


Figure 7. Expression levels of *zeaxanthin epoxidase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

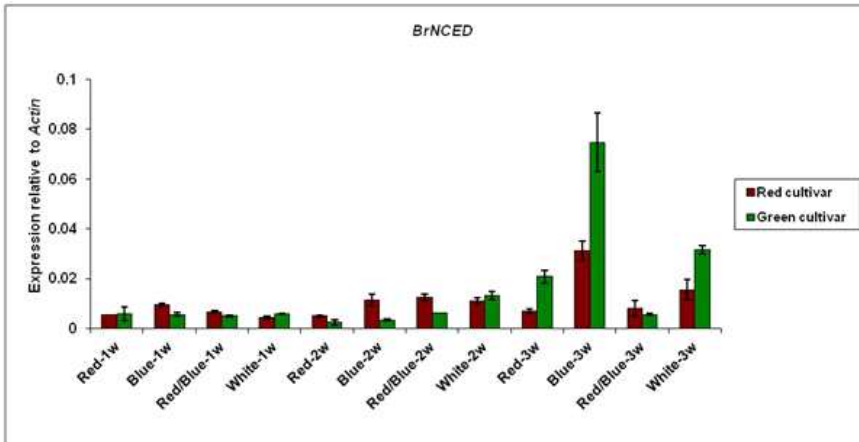


Figure 8. Expression levels of *9-cis epoxy carotenoid dioxygenase* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

4. 배추에서 LED 조명 처리시 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 Transcription Factor의 유전자 발현

가. 서론

Glucosinolates (GSLs)는 초식동물과 미생물에 대한 식물방어 물질로 중요한 역할을 한다. Glucosinolates는 브로콜리와 배추 같은 십자화과의 채소에서 많이 생산된다. 홍고추와 마늘과 함께 김치의 주재료인 배추는 한국에서 중요한 채소중에 하나이다. 최근 GSLs는 항암효과, 항산화, 항균력 때문에 많은 주목을 받고 있다 (Fahey et al., 1997, 2002; Talalay et al., 2001; Kim et al., 2011). 브로콜리와 콜리플라워의 발아 후 3일된 유식물체는 성숙한 식물보다 glucoraphanin의 함량이 10-100배 가량 높았다. GSLs은 Met, Trp, Phe을 포함하고 있는 몇 가지 아미노산들에 의해 합성된다. Methionine, tryptophan, phenylalanine의 아미노산들은 대부분 중요한 GSLs 생합성의 전구체들이고 각각 indolic, aliphatic, aromatic GSLs을 이끈다 (Grubb and Abel, 2006; Halkier and Gershenzon, 2006). 간단한 GSLs 생합성 경로과정은 Figure 37에서 보여준다. 배추과에서 Tryptophan 이차대사산물의 중요한 그룹은 indolic GSL이다. Indolic GSLs와 다른 GSLs는 생물학적 활성인 nitrile, isothiocyanate, 또는 thiocyanate forms으로 myrosinases에 의해 조절된다 (Wittstock and Halkier, 2002). GSLs 생합성은 biotic과 abiotic 스트레스에 반응하고 R2R3-MYB family에 속하는 Transcription factors (TFs)의 복잡한 network에 의해 대사 작용이 이루어진다 (Celenza et al., 2005; Levy et al., 2005; Maruyama-Nakashita et al., 2006; Skirycz et al., 2006; Gigolashvili et al., 2007a,b,2008; Hirai et al., 2007; Sønderby et al., 2007). MYB29, MYB76과 MYB29는 높은 aliphatic GSLs 생합성 조절에 특이적으로 관여하는 조절인자이다 (Gigolashvili et al., 2007b, 2008; Hirai et al., 2007; Sønderby et al., 2007), 반면에 MYB51, MYB122와 MYB34는 높은 indolic GSLs를 조절할 수 있는 유전자이다 (Celenza et al., 2005; Gigolashvili et al., 2007a; Malitsky et al., 2008). Skirycz 등 (2006)은 초식동물과 MeJA에 의해 유도될 수 있는 DOF TF AtDof1.1 (OBP2)는 애기장대에서 GSL 생합성을 부분적으로 조절한다고 보고한바 있다. 애기장대 IQD1 (a novel calmodulin-binding nuclear protein) 식물 방어와 GSL 축적을 자극한다 (Levy et al., 2005).

GSLs 생합성은 주된 Sulfur metabolism과 직접적으로 관련이 있다. GSLs core 합성의 마지막 단계는 desulfo-Glucosinolates 전구체들의 sulfation이다 (Underhill et al., 1973). Yatusевич 등 (2010)은 ATPS (ATP sulfurylase), APK (APS kinase), APR (APS reductase) 유전자들은 core GSLs 생합성 조절에 관여하는 R2R3-MYB TFs에 의해 직접적으로 조절된다고 보고했다. 브로콜리, 콜리플라워, 케일, 브르셀 sprouts를 포함하는 있는 십자화과 식물들은 방어가작에 중요한 역할을 한다 (Verhoeven et al., 1996, 1997). 많은 브로콜리 품종의 sprouts들은 아주 소량의 indolic GSLs이 존재하고 성숙한 채소에는 훨씬 많다. 이들은 종양형성을 유도할 수 있는 indole-3-carbinol 생산을 억제시킬 것이라고 보고된바 있다 (Fahey et al., 1997). 현재까지 GSLs 생합성에 관련된 MYB TFs에 대해서는 연구가 많이 되어졌다 하지만 배추의 유식물체 생육발달과정 중 LED 조명을 조사했을 때 MYB TFs에 대해 유전자 발현에 관한 연구는 보고된 바 없다. 본 연구에서 GSLs 축적과 GSLs 생합성 조절에 관여하는 R2R3-MYB TFs의 전사발현 실험을 진행하였고, GSLs의 함량을 분석했다

나. 재료 및 방법

카로티노이드 실험의 재료 및 방법과 동일함. Real-time PCR에 이용한 프라이머는 Table 1.과 같다.

다. 결과

(1) LED 조명 처리시 글루코시놀레이트에 관여하는 Transcription factor들의 유전자 발현

본 연구는 LED 조명 (적색, 청색, 적청색, 백색)을 조사했을 때 적색을 띠고 있는 신흥쌈 배추와 초록색을 띠는 잎쌈 배추에서 식물 발달 과정 동안 글루코시놀레이트 생합성에 관여하는 transcription factors (TFs) 유전자들의 전사량을 real-time PCR을 이용하여 조사하였다 (Figure 1-13). 글루코시놀레이트 생합성에 관여하는 TFs 중 aliphatic 글루코시놀레이트 생합성에 관여하는 MYB28과 MYB29는 1주차 보다 2, 3주차에서 청색광일 때 다른광에 비해 조금 높았다. 본 연구팀이 배추에서 TFs 전사량을 조직별로 조사를 한 결과 여러 부위에서 다양하게 발현되었고, 특히 aliphatic 글루코시놀레이 생합성에 관여하는 MYB28과 29가 다른 유전자들의 비해 월등히 전사량이 높았다. 하지만 본 실험에서는 이들 유전자의 전사량이 다른 유전자들에 비해 주목할만하게 많이 발현되지는 않았다. 왜 그런지 정확한 이유는 알 수가 없다. 잎쌈 배추는 MYB28-1에서 2주차 청색광에서 현저히 높은 전사량을 보였고 신흥쌈 배추는 3주차 백색광에서 전사량이 높았다. MYB28-2는 유일하게 3주차 신흥쌈 배추에서 높게 발현되었고, 1,2주차에서는 모든 광에서 거의 비슷한 패턴을

보였고, 발현양이 낮았다. MYB28-3은 MYB28-2와 동일한 패턴을 보였다. 3주차 백색광에서 신흥쌈 배추의 전사량이 크게 증가했다. MYB29에서 잎쌈 배추는 3주차 적색광에서 1,2주차에 비해 전사량이 크게 증가하였고, 대체로 신흥쌈보다 전사량이 조금 높았다. 역시, Aliphatic 생합성에 관여하고 있는 Dof1.1은 isoform 마다 다른 양상을 보였다. Dof1.1-1은 2주차 청색광에서 잎쌈 배추가 높게 증가하였고, 반면 Dof1.1-2는 3주차 백색광에서 신흥쌈 배추가 높은 전사량을 보였다. Indolic 글루코시놀레이트 생합성에 관여하고 있는 MYB51은 MYB51-2가 3주차 백

색광에서 신흥쌈 배추의 전사량이 가장 높음을 보였고, MYB51-3은 MYB51-2와 마찬가지로 3주차 백색광에서 잎쌈 배추가 높은 전사량을 보였다. Indolic 글루코시놀레이트 생합성에 관여하는 MYB34는 신흥쌈이 MYB34-1,3,4 모두 백색광에서 크게 증가하였고 잎쌈보다는 다소 높은 전사량을 보였다. MYB122 역시 Indolic 글루코시놀레이트에 관여하는 유전자로써 신흥쌈이 잎쌈보다 더 높은 전사량을 보였고 MYB51과 MYB34와는 달리 2주차 백색광에서 크게 증가하였다. 카로티노이드의 결과와 달리 본 실험에서는 대부분의 TFs 유전자들이 청색광과 적색광보다 백색광에서 신흥쌈 배추의 전사량이 높았다. 글루코시놀레이트 생합성 유전자의 조절과 적, 청, 적청, 백색의 LED에서의 카로티노이드축적에 관한 본 연구는 배추에서의 글루코시놀레이트 생합성 메커니즘에 대해 정확하게 설명하는데 유용함을 알 수 있다.

Table 1. Primers used in this study.

Primer	Sequence (5' →3')	Annealing Temp (°C)	Size (bp)
<i>BrDofl.1-1(F)</i>	AACAGTCATGACAACAACACAGTGA	52	197
<i>BrDofl.1-1(R)</i>	GGTTGTTCTTCCATCTTCACCG		
<i>BrDofl.1-2(F)</i>	ATGGACGAAACATAGCAGCTCC	52	248
<i>BrDofl.1-2(R)</i>	TCTAGACAAGTTAACCAAACCGGGT		
<i>BrMYB28-1(F)</i>	ACCATACTGTCAACACGCCTCC	52	219
<i>BrMYB28-1(R)</i>	CAGAAGTGACCTTAGCCGCAAC		
<i>BrMYB28-2(F)</i>	ACCCTACAGTACCTGAGAATTTGCA	51	200
<i>BrMYB28-2(R)</i>	ACTTGATTTCTTAAAACGTTTCTTGC		
<i>BrMYB28-3(F)</i>	AATACCATATGAAAGCTTTTCCAATG	52	238
<i>BrMYB28-3(R)</i>	AGGAAGATCATGACCATACTGATCG		
<i>BrMYB29(F)</i>	CTGTCTCCTCCGTGTCTCAA	54	148
<i>BrMYB29(R)</i>	CCTCGGCTGCATTGTTACTA		
<i>BrMYB34-1(F)</i>	ACACCGGCGACGTCGATTC	53	229
<i>BrMYB34-1(R)</i>	TCTAACTCCTCCATAAGGCCAACA		
<i>BrMYB34-3(F)</i>	AACAAAGCGGCGGCAAG	52	186
<i>BrMYB34-3(R)</i>	ATCCCTCAACTCTTCCATAATGCAA		
<i>BrMYB34-4(F)</i>	CCAACCGGTTTCGAACCAG	52	264
<i>BrMYB34-4(R)</i>	GAATACGTCAAGATCATCGGAGAA		
<i>BrMYB51-2(F)</i>	ATCTCCGACAAATCAGAAAACCTC	51	236
<i>BrMYB51-2(R)</i>	GTAGTAGTAAGTGGGCCACCACTTC		
<i>BrMYB51-3(F)</i>	TCAGAAAATTTGCAGGATATTCTGG	51	230
<i>BrMYB51-3(R)</i>	ACGGTGACACTTGTAGTAATAGTAGTAGTGTTA		
<i>BrMYB122-1(F)</i>	GTTTCTCATGATGATGAAGATTTCTTG	53	184
<i>BrMYB122-1(R)</i>	CCAGTTGTCAATCCCTTCAAAGG		
<i>BrMYB122-2(F)</i>	TTGAATGATGTTGTATCTCATGATGATG	53	190
<i>BrMYB122-2(R)</i>	AGTTGTCAATCCCTTCAAAGGAAACA		
<i>BrActin(F)</i>	TAGTGTGTTGGTAGGCCAAGACAT	53	188
<i>BrActin(R)</i>	GGAGCTCGTTGTAGAAAGTGTGATG		

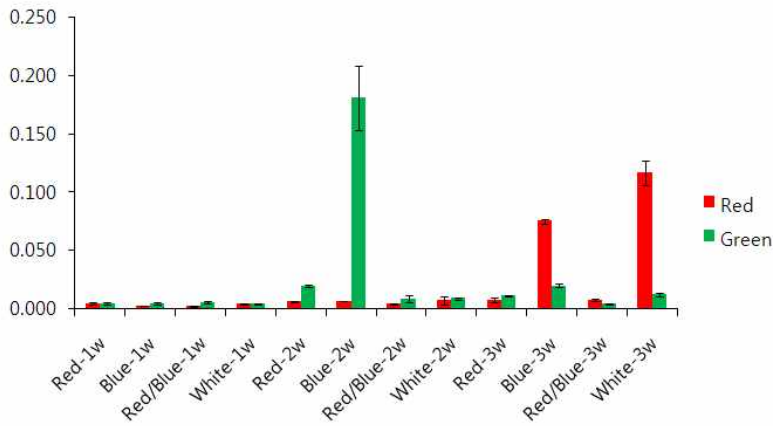


Figure 1. Expression levels of *BrMYB28-1* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

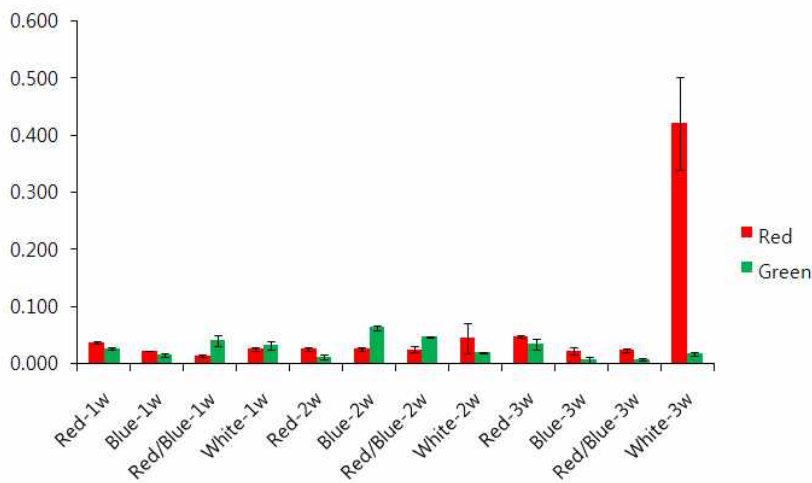


Figure 2. Expression levels of *BrMYB28-2* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

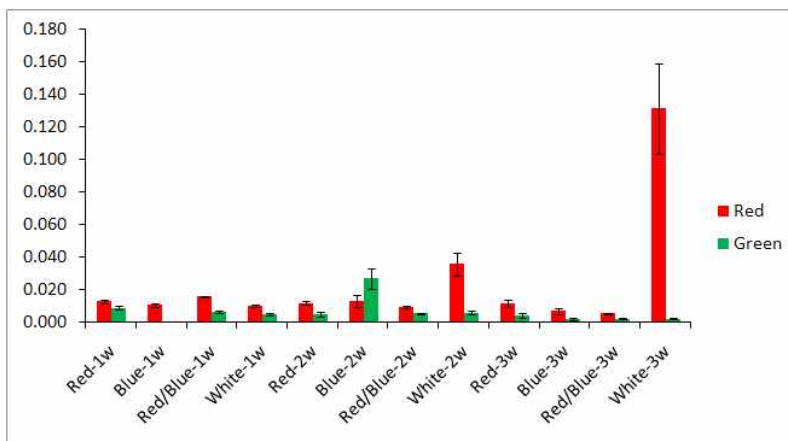


Figure 3. Expression levels of *BrMYB28-3* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

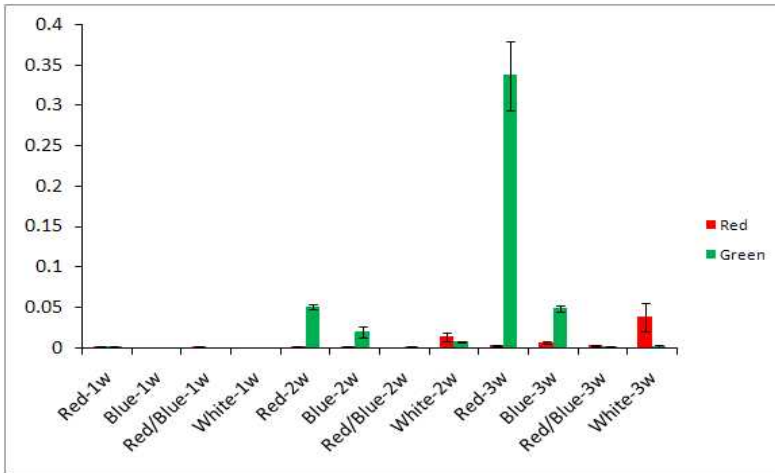


Figure 4. Expression levels of *BrMYB29* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

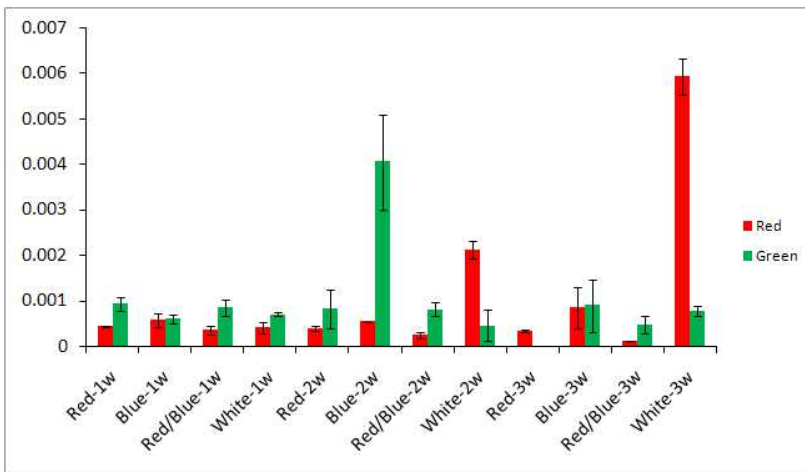


Figure 5. Expression levels of *BrDof1.1-1* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

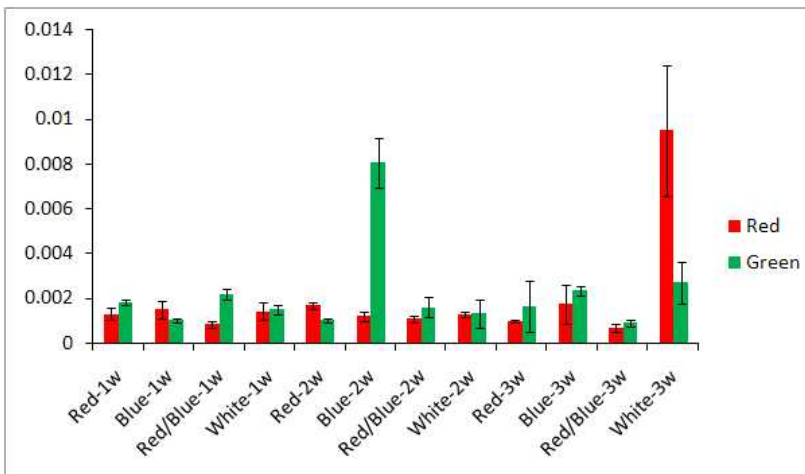


Figure 6. Expression levels of *BrDof1.1-2* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

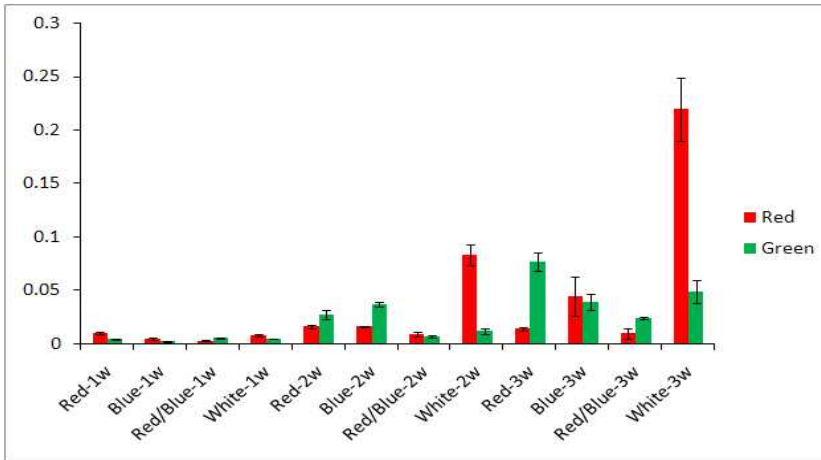


Figure 7. Expression levels of *BrMYB51-2* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

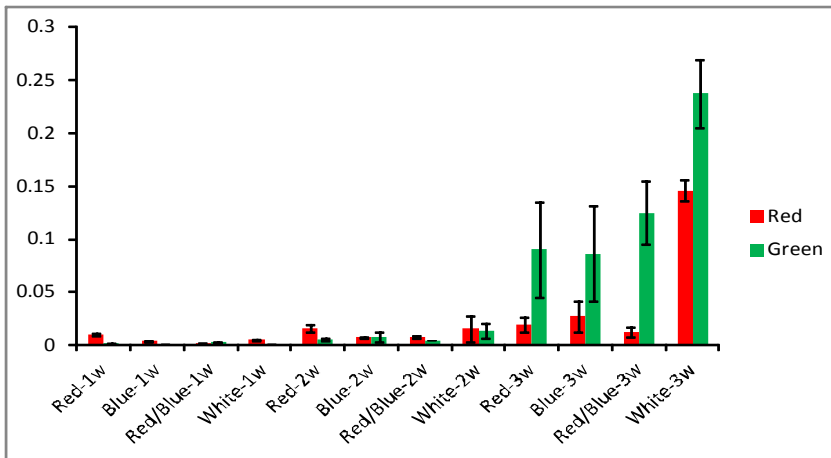


Figure 8. Expression levels of *BrMYB51-3* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

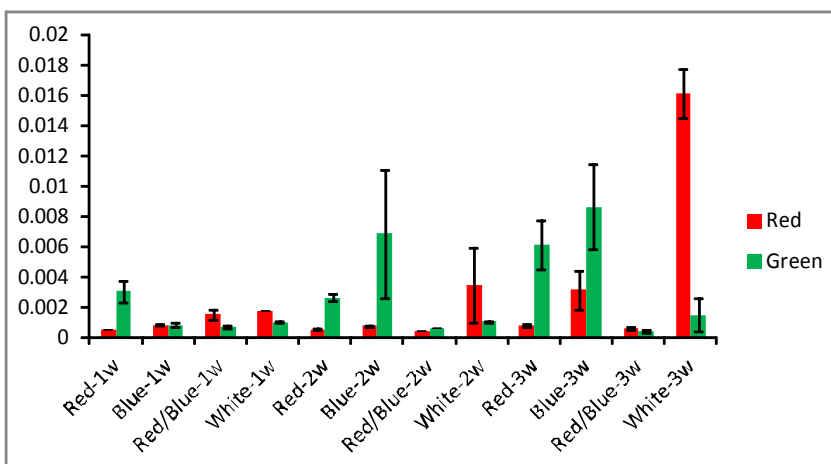


Figure 9. Expression levels of *BrMYB34-1* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

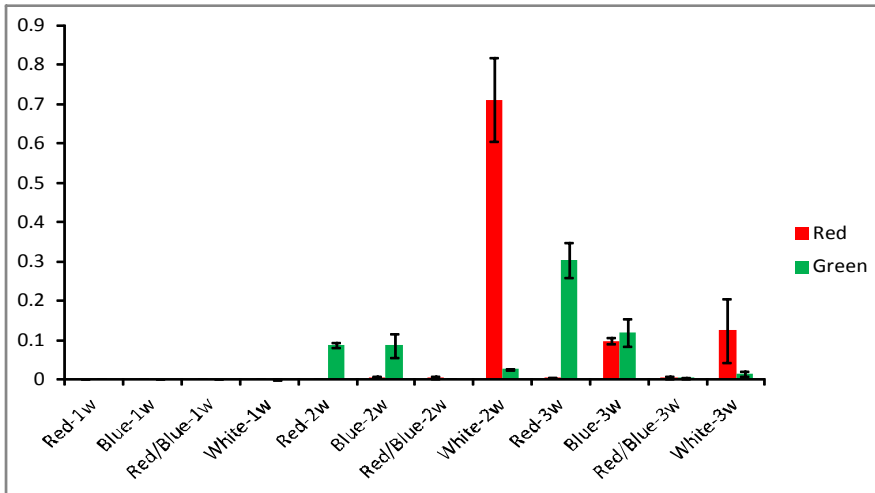


Figure 10. Expression levels of *BrMYB34-3* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

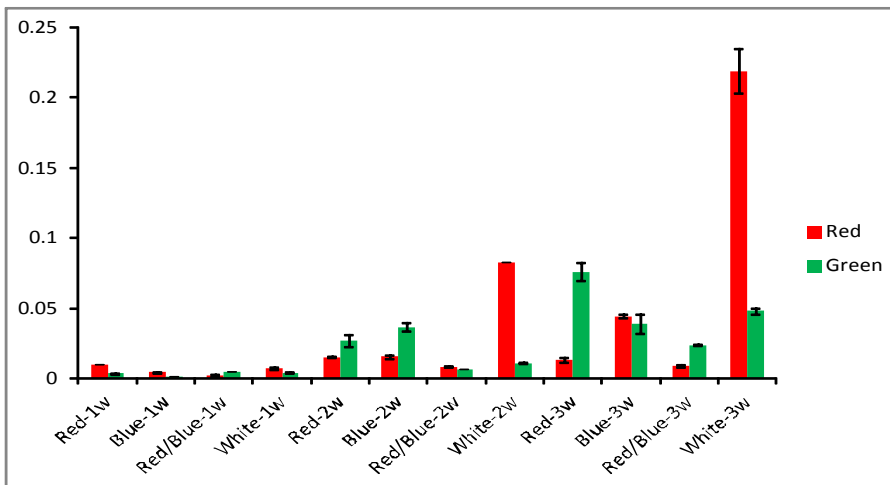


Figure 11. Expression levels of *BrMYB34-4* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

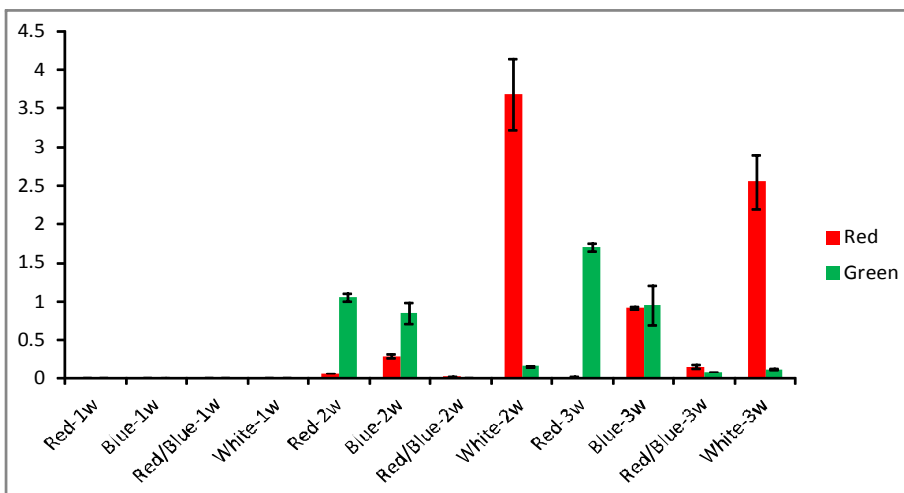


Figure 12. Expression levels of *BrMYB122-1* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

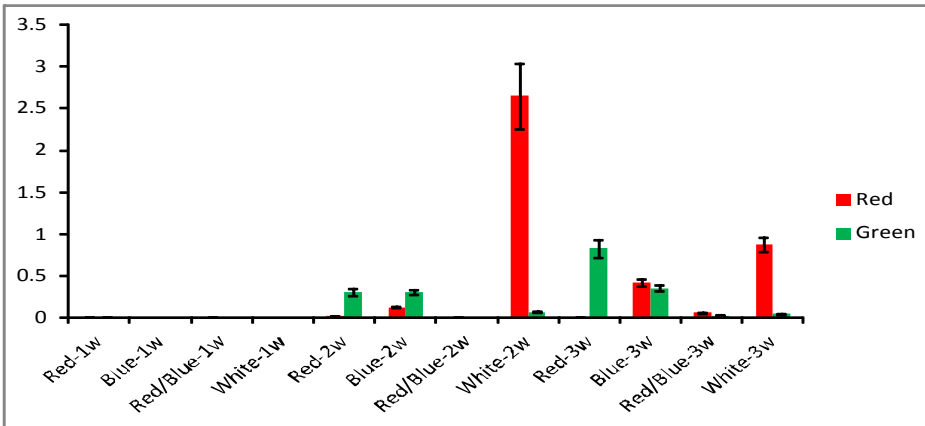


Figure 13. Expression levels of *BrMYB122-2* in Red and Green cultivar of Chinese cabbage under red, blue, red/blue, and white LEDs. The height of each bar and the error bars show the mean and standard error, respectively, from 3 independent measurements.

5. 식물 공장에서 재배된 배추에서 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자의 전사 발현

가. 서론

Glucosinolates (GSLs)는 초식동물과 미생물에 대한 식물방어 물질로 중요한 역할을 한다 (Halkier and Gershenzon, 2006). GSLs는 tryptophan 뿐만 아니라 aromatic과 aliphatic amino acids로부터 유도된 side chain, sulfonated oxime, thioglucose moiety를 가짐으로써 만들어지는 천연 물질이다(그림 1). 그림1에서 보듯이 GSLs의 공통적인 skeletal 구조는 하나의 glucone moiety와 variable aglycone R-group으로 이루어져있다. 지금까지 약 130개의 GSLs이 자연에서 동정되었다. GSLs은 식물내에 있는 내성의 thioglucosidases와 myrosinases가 함께 작용한다. 곤충이 식물을 먹음으로써 식물의 조직이 파괴되고 그때 GSLs는 myrosinases에 의해 가수분해가 된다. 이것은 isothiocyanates, nitriles, thiocyanates를 포함하고 있는 다양한 생물학적 활성을 가지고 있는 물질의 형성을 이끈다. 이 물질들의 생물학적 활성들은 미생물들의 성장을 저해하고(Mari et al., 1993; Manici et al., 1997), indole phytoalexins의 생합성에서 중간역할을 한다 (Pedras et al., 2000). GSLs는 향기 성분, 암을 예방하는 물질, 유기물 살충제로써 중요하다. 브로콜리와 배추 같은 십자화과의 채소에서 많이 생산된다. Cauliflower, brussels sprouts, cabbage, broccoli 같은 Brassica 채소와 특히 broccoli sprouts는 강한 항발암성의 성질을 가지고 있는 GSLs를 많이 함유하고 있다(Fahey et al., 1997). 홍고추와 마늘과 함께 김치의 주재료인 배추는 한국에서 가장 중요한 채소 중에 하나이다. 최근 GSLs는 항암효과, 항산화, 항균력 때문에 많은 주목을 받고 있다 (Fahey et al., 1997, 2002; Talalay et al., 2001). 브로콜리와 콜리플라워의 발아 후 3일된 유식물체는 성숙한 식물보다 glucoraphanin의 함량이 10-100배 가량 높았다.

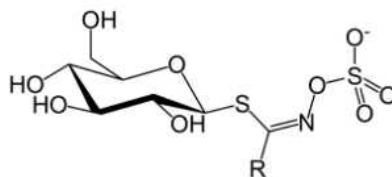


Figure 1. Chemical structure of glucosinolate

GSLs는 브로콜리와 배추 같은 십자화과의 채소에서 많이 생산되는데, Met, Trp, Phe을 포함하고 있는 몇 가지 아미노산들에 의해 합성된다. Methionine, tryptophan, phenylalanine의 아미노산들은 대부분 중요한 GSLs 생합성의 전구체들이고 각각 indolic, aliphatic, aromatic GSLs을 이끈다 (Grubb and Abel, 2006; Halkier and Gershenzon, 2006). 간단한 GSLs 생합성 경로과정은 그림 2와 같다.

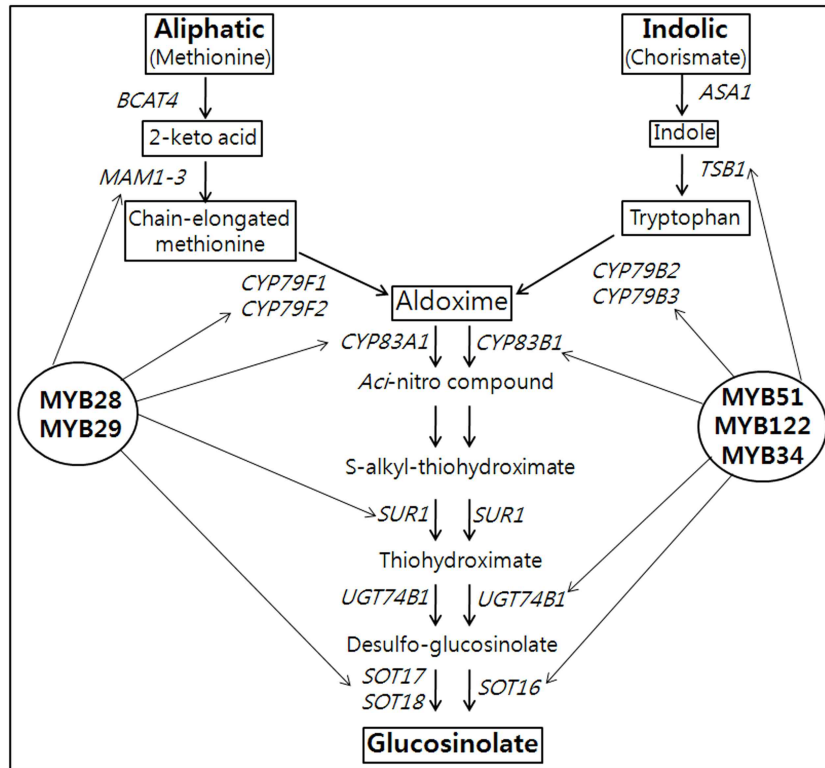


Figure 2. Biosynthesis pathway of glucosinolate in Brassica

(BCAT4, MAM1-3-Side-chain elongation; CYP79F1, CYP79F2, CYP79B2, CYP79B3, CYP83A1, CYP83B1, SUR1, UGT7B1-Core structure formation.)

배추과에서 Tryptophan 이차대사산물의 중요한 그룹은 indolic GSL이다. Indolic GSLs와 다른 GSLs는 생물학적 활성인 nitrile, isothiocyanate, 또는 thiocyanate forms으로 myrosinases에 의해 조절 된다 (Wittstock and Halkier, 2002). GSLs 생합성은 biotic과 abiotic 스트레스에 반응하고 R2R3-MYB family에 속하는 Transcription factors (TFs)의 복잡한 network에 의해 대사 작용이 이루어진다 (Celenza et al., 2005; Levy et al., 2005; Maruyama-Nakashita et al., 2006). MYB29, MYB76과 MYB29는 높은 aliphatic GSLs 생합성 조절에 특이적으로 관여하는 조절인자이다(Gigolashvili et al., 2007b, 2008; Hirai et al., 2007; Sønnerby et al., 2007), 반면에 MYB51, MYB122와 MYB34는 높은 indolic GSLs를 조절할 수 있는 유전자이다(Celenza et al., 2005; Gigolashvili et al., 2007a; Malitsky et al., 2008). Skirycz 등 (2006)은 초식동물과 MeJA에 의해 유도될 수 있는 DOF TF AtDof1.1 (OBP2)는 애기장대에서 GSL 생합성을 부분적으로 조절한다고 보고한바 있다. 애기장대 IQD1 (a novel calmodulin-binding nuclear protein) 식물 방어와 GSL 축적을 자극한다(Levy et al., 2005). GSLs 생합성은 주된 Sulfur metabolism과 직접적으로 관련이 있다. GSLs core 합성의 마지막 단계는 desulfo-Glucosinolates 전구체들의 sulfation이다

(Underhill et al., 1973). Yatusевич 등 (2010)은 APTS (ATP sulfurylase), APK (APS kinase), APR (APS reductase) 유전자들은 core GSLs 생합성 조절에 관여하는 R2R3-MYB TFs에 의해 직접적으로 조절된다고 보고했다. 브로콜리, 콜리플라워, 케일, 브르셀 sprouts를 포함하는 있는 십자화과 식물들은 방어기작에 중요한 역할을 한다 (Verhoeven et al., 1996, 1997). 많은 브로콜리 품종의 sprouts들은 아주 소량의 indolic GSLs이 존재하고 성숙한 채소에는 훨씬 많다. 이들은 종양형성을 유도할 수 있는 indole-3-carbinol 생산을 억제시킬 것이라고 보고된바 있다 (Fahey et al., 1997).

본 연구는 LED 식물 공장 시스템을 이용하여 최적의 재배 조건을 찾기 위해 습도, 이산화탄소 농도, 빛의 세기, 빛의 종류, 일장, 전기 전도도를 이용하여 여러 조건에서 배추를 재배 한 후 글루코시놀레이트에 관련된 유전자들의 전사량을 조사하였다. 또한, 배추와 케일을 온실과 포장에서 재배하였을 때 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자들이 전사 수준에서 어떤 차이를 보이는지 조사하였다. 제1세부과제는 글루코시놀레이트 생합성 관련 유전자를 이용하여 전사 수준을 조사하였고, 제2세부과제는 글루코시놀레이트 함량을 분석하였다. 따라서, 본 연구는 LED 식물 공장을 이용하여 배추를 재배하기 위한 최적의 조건을 찾기 위하여 진행되었다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물 재료

본 실험에 사용된 배추 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)는 제2협동과제 배추와 육종(변동해)으로부터 종자를 분양받아(13-SB31, 13-SB32, 13-SB33, 13-SB34, 13-SB35) 제3세부과제(정선옥 교수) 팀에서 LED 식물 공장에서 배추를 재배하였다. 본 실험은 최적의 습도와 CO₂ 농도를 결정하기 위해 실시되었으며, 재배조건은 Table 1,2와 같다. 또한 분양 받은 종자 중 13-SB32 계통을 포장과 온실에서 재배한 후 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자들의 전사량을 조사하였다. 종자는 발아시키기 전 하루 동안 물에 침지시켰으며, 발아 후 20일에 제1세부과제(박상언 교수), 제2세부과제(김선주 교수), 제3세부과제팀에서 공동으로 샘플을 수확하였다. 각 세부에서 샘플마다 3 반복씩 샘플을 수확하여 제1세부는 유전자 발현을, 제2세부는 글루코시놀레이트 분석을, 제3세부에서는 배추의 형태를 분석하였다. 수확된 배추는 액체질소에 얼려 -80도에 저장하였다.

(2) 재배조건

- | | |
|----------------------------------|---|
| - Temperature : 26±1° C | - Humidity : 55% |
| - CO ₂ : 1000±100 ppm | - No. of beds : 10 beds |
| - Light source : Red:White:Blue | - EC : 1.4 mS. cm ⁻¹ |
| - Photoperiod : 14/10 hours | - Intensity : 160 umol.m ⁻² .s ⁻¹ |

Table 1. Conditions of humidity and CO₂ concentration in plant factory with LED light

Room No.	Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5	Room 6
Tem/Hum	26° C/55%	26° C/55%	26° C/55%	26° C/45%	26° C/45%	
CO ₂	700	1,000	1,300	1,000	1,000	
다른 조건	(1)	(2)	(1)	(3)	(3)	

(1)과 (2) - CO₂, (2)와 (3) - Humidity

Table 2. Conditions of light intensity, photoperiod, and EC in plant factory with LED light

Room No.	Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5	Room 6	Room 7	Room 8
EC/Light	1.4/Flu o (형광등)	1.2/R:B: W	1.4/R:B: W	1.6/R:B: W	1.4/R:B: W	1.4/R:B: W	1.4/R:B: W	1.4/R:B: W
Photoperiod/Intensity	14/10-1 60	14/10- 160	14/10- 160	14/10- 160	14/10- 190	14/10- 130	16/8- 160	12/12- 160
다른 조건	(1)	(2)	(5)	(2)	(4)	(4)	(3)	(3)

(1)과 (5) Light kind (빛의 종류)

(3)과 (5) Photoperiod (일장)

(2)와 (5) EC (전기전도도)

(4)와 (5) Intensity (빛의 세기)

(3) cDNA 합성과 quantitative real-time PCR (qRT-PCR) 분석

Total RNA는 Geneaid Total RNA extraction kit을 이용하여 분리하였다. QRT-PCR을 위해서, first strand cDNA는 ReverTra Ace- α -(Toyobo, Osaka, Japan) Kit과 oligo (dT)₂₀ primer를 이용하여 합성했다. Reverse transcriptase PCR 반응은 다음과 같다. 11 μ l RNase-free water에 1 μ g total RNA (1 μ l), 2 μ l 의 10X buffer, 1 μ l 의 10 mM each dNTP, 2 μ l 의 10 μ M oligo dT primer, 1 μ l 의 40 u/ μ l RNase inhibitor, 그리고 1 μ l 의 4 u/ μ l reverse transcriptase가 사용되었다. 이 혼합물은 42도에서 20분 동안 증폭되었고 99도에서 5분 동안 열이 가해졌다. Gene-specific primers들은 바이오니아 online program (<http://web.bioneer.co.kr/tools/tmcalculator.jsp>)을 이용해서 주문했다. SYBR Green qRT-PCR은 총 20 μ l로 이용되었는데, 10 μ l의 2X SYBR Green Real time PCR master mix (Toyobo), 0.5 μ M (each)의 specific primers, 5 μ M의 20배 희석된 cDNA를 template로 사용하였다. 95도에서 3분 동안 증폭되었고, 95도에서 15초, 72도에서 20초, 그리고 각각의 annealing 온도에서 40 cycle 동안 증폭되었다. 실험에 사용된 gene specific primer는 Table 2, 3와 같다. 본 실험은 CFX96 Real-Time PCR System (Bio-Rad; Hercules, CA, USA) 기기를 이용하였고 actin gene (GenBank No. FJ969844)은 house keeping gene으로써 사용되었다.

Table 2. qRT-PCR primer (Chinese cabbage) used in this study.

Primer	Sequence (5' →3')	Annealing Temp (° C)	Size (bp)
<i>BrDof1.1-1(F)</i>	AACAGTCATGACAACAACAACAGTGA	52	197
<i>BrDof1.1-1(R)</i>	GGTTGTTCTTCCATCTTCACCG		
<i>BrDof1.1-2(F)</i>	ATGGACGAAACATAGCAGCTCC	52	248
<i>BrDof1.1-2(R)</i>	TCTAGACAAGTTAACCAAACCGGGT		
<i>BrMYB28-1(F)</i>	ACCATACTGTCAACACGCCTCC	52	219
<i>BrMYB28-1(R)</i>	CAGAAGTGACCTTAGCCGCAAC		
<i>BrMYB28-2(F)</i>	ACCCTACAGTACCTGAGAATTTGCA	51	200
<i>BrMYB28-2(R)</i>	ACTTGATTTCTTAAAACGTTTCTTGC		
<i>BrMYB28-3(F)</i>	AATACCATATGAAAGCTTTTCCAATG	52	238
<i>BrMYB28-3(R)</i>	AGGAAGATCATGACCATACTGATCG		
<i>BrMYB29(F)</i>	CTGTCTCCTCCGTGTCTCAA	54	148
<i>BrMYB29(R)</i>	CCTCGGCTGCATTGTTACTA		
<i>BrMYB34-1(F)</i>	ACACCGGCGACGTCGATTC	53	229
<i>BrMYB34-1(R)</i>	TCTAACTCCTCCATAAGGCCAACA		
<i>BrMYB34-3(F)</i>	AACAAAGCGGCGGCAAG	52	186
<i>BrMYB34-3(R)</i>	ATCCCTCAACTCTTCCATAATGCAA		
<i>BrMYB34-4(F)</i>	CCAACCGGTTTCGAACCAG	52	264
<i>BrMYB34-4(R)</i>	GAATACGTCAAGATCATCGGAGAA		
<i>BrMYB51-2(F)</i>	ATCTCCGACAAATCAGAAAACCTC	51	236
<i>BrMYB51-2(R)</i>	GTAGTAGTAAGTGGGCCACCACTTC		
<i>BrMYB51-3(F)</i>	TCAGAAAATTTGCAGGATATTCTGG	51	230
<i>BrMYB51-3(R)</i>	ACGGTGACACTTGTAGTAATAGTAGTAGTGTT A		
<i>BrMYB122-1(F)</i>	GTTTCTCATGATGATGAAGATTTCTTG	53	184
<i>BrMYB122-1(R)</i>	CCAGTTGTCAATCCCTTCAAAGG		
<i>BrMYB122-2(F)</i>	TTGAATGATGTTGTATCTCATGATGATG	53	190
<i>BrMYB122-2(R)</i>	AGTTGTCAATCCCTTCAAAGGAAACA		
<i>BrActin(F)</i>	TAGTGTTGTTGGTAGGCCAAGACAT	53	188
<i>BrActin(R)</i>	GGAGCTCGTTGTAGAAAGTGTGATG		

Table 3. qRT-PCR primer (kale) used in this study.

Primer	Sequence (5' →3')	Size (bp)
<i>BoDof1.1-1(F)</i>	GTGGTCTTCCAGCGAGGCTT	111
<i>BoDof1.1-1(R)</i>	TGGTGTGAGGGAGTCGCAT	
<i>BoMYB28-2(F)</i>	CCGTGACTCACAAGCCACTAGC	128
<i>BoMYB28-2(R)</i>	GGGAGGCATTGAGCTTGACC	
<i>BoCYP83B1-F</i>	TGGAGCCTACCGACAGGGAT	108
<i>BoCYP83B1-R</i>	AATGTGCGTCCTTGGTGCAA	
<i>BoMYB29-2(F)</i>	ACTAGAGATAAGCAACCGTGATGAGGTAC	182
<i>BoMYB29-2(R)</i>	GACATGGAGGAGACAGTGTTGTAGAGG	
<i>BoGGP1-1(F)</i>	TGGCATCTGCTTCGGTCATC	113
<i>BoGGP1-1(R)</i>	TCGCATCTTTCACGATGGTTATG	
<i>BoGSTU20(F)</i>	GGCAGTGAAGATTCTTGAAGCTGA	141
<i>BoGSTU20(R)</i>	GCCTCGATGCTGAAGTTACCG	
<i>BoMYB34-4(F)</i>	GCTTCTTAACCGGGTCGCAA	150
<i>BoMYB34-4(R)</i>	ACCGTTTTGAGCAGTGTGGA	
<i>BoMYB51-2(F)</i>	GGTGTGGAAGAATCTTGTGCTGA	101
<i>BoMYB51-2(R)</i>	TGGCGGGCATCATTTCTATG	
<i>BoCYP79F1(F)</i>	GTAGGCCGTCCTGGAATAGGC	146
<i>BoCYP79F1(R)</i>	CCGGTACCAAACGACACGAA	
<i>BoCYP83A1(F)</i>	GTCCCGCGACGAGAAAGAGT	144
<i>BoCYP83A1(R)</i>	AGACGCATTCCAGGGCACAT	
<i>BoActin(F)</i>	GGTAGGCCAAGGCATCATGG	142
<i>BoActin(R)</i>	CCATGTCGTCCCAGTTGCTC	

다. 연구 결과

(1) LED 식물 공장에서 다른 조건의 습도와 이산화탄소 농도로 재배된 배추의 유전자 발현

Indole 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자 MYB34는 네 개의 Isoform을 가지고 있다. Celenza et al. (2005)은 애기장대 ATR1 (altered tryptophan regulation) Myb transcription factor (MYB34)는 indolic glucosinolate homeostasis를 조절한다고 보고하였다. 또한 그들은 애기장대 MYB34를 애기장대에 과발현시켰을 때 IAA와 indolic glucosinolate를 증가시켰다고 보고 하였다. 본 연구 결과를 보면 Room1과 Room2에서 자란 배추의 유전자 발현 패턴이 Room3,4,5,6에서 자란 배추의 유전자 발현 패턴보다 조금 높게 발현이 되었다. 특히 다섯 개의 계통라인에서 뚜렷한 차이를 보이지는 않았지만 13-SB34가 조금 높게 발현 되었다. MYB34-2에서는 R1-L2와 R1-L5에서 가장 높은 발현을 보였고 R6-L1, R6-L2, R6-L3, R6-L4, R6-L5는 다른 조건에서보다 다소 낮은 발현 패턴을 보였다. MYB34-3에서는 R3-L1, R3-L2, R4-L1이 다른 조건에서의 배추보다 훨씬 높은 발현 패턴을 보였다. 특히 Room1,2,3,4,5에서 L1(13-SB31)이 다른 계통에

비해 가장 높은 발현을 보였다. MYB34-4에서 Room1,2는 Room3,4,5,6보다 높은 발현을 보였고, Room5는 가장 낮았다. R2-L3는 MYB34-4에서 가장 높게 발현되었다. MYB34 네 개의 isoform 중에서 MYB34-4는 다른 isoform보다 높은 발현량을 보였다.

MYB122 역시 MYB34 처럼 Indolic glucosinolate 생합성에 관련된 유전자이다. MYB122-1은 Room1에서 L5, Room2에서 L4, Room3에서 L4, Room4에서 L5, Room5에서 L3, Room에서 L4에서 가장 높은 발현을 보였다. 또한 MYB122-2는 R1-L5, R2-L4, R3-L4, R4-L5, R6-L5에서 높은 발현량을 보였다. 따라서, MYB122에서는 L5와 L4 계통라인에서 높았고, Room1과 2는 Room3,4,5,6보다 조금 높은 함량을 보였다. MYB51은 세 개의 isoform으로 이루어졌는데 qRT-PCR 결과 MYB51-1은 유전자 발현량이 너무 낮아서 그래프로 표시할 수 없었다. Gigolashvili et al. (2007a)은 MYB51은 애기장대에서 indolic glucosinolate 생합성을 조절한다고 보고하였다. 특히 MYB51을 애기장대에 과발현시킨 후 파밤나방을 이용하여 bioassay 한 결과 insect herbivory를 감소시켰다고 보고하였다(Gigolashvili et al. 2007a). MYB51-2과 MYB51-3은 앞서 설명한 MYB34와 MYB122와 마찬가지로 MYB51-2에서 Room1,2가 다른 Room보다 더 높은 발현량을 보였고 R1-L5, R2-L5, R3-L2, R4-L3, R5-L3, R6-L2,L3가 각 Room에서 높은 발현량을 보였다. 특히 R2-L5는 가장 높은 발현량을 보였다. MYB51-3에서 R1-L5, R2-L4, R3-L4, R4-L5에서 높은 발현량을 보였다. MYB51에서 R2-L5와 R2-L4에서 가장 높은 발현을 보였다.

Dof1.1 유전자 (그림 11과 12)는 aliphatic glucosinolate 생합성에 관여하는 유전자로써 두 개의 isoform이 존재한다. QRT-PCR 결과를 보면 Dof1.1-1과 Dof1.1-2는 크게 차이를 나타내지 않았다. Dof1.1-1에서 R2-L4가 가장 높은 발현을 보인 반면, R5-L1과 R6-L2가 가장 낮은 발현을 보였다. Dof1.1-2에서는 R1-L1에서 가장 높은 발현을 보였고 반면에 R5-L1에서 가장 낮은 발현을 보였다. 특히 Dof1.1-2에서 R1-L1, R2-L1, R3-L1, R4-L1이 각 Room에서 가장 높은 발현을 보였다. Aliphatic과 indolic glucosinolate 생합성에 관여하는 IQD1은 2 개의 isoform으로 존재하는데 2개 모두 유전자 발현이 너무 낮아서 그래프를 그릴 수 없었다.

MYB28은 3 개의 isoform이 존재하는데 MYB28-1은 발현이 너무 낮았다. MYB28-2와 MYB28-3은 R1-L1과 R4-L1에서 가장 높은 발현량을 보였다. MYB28-2에서 L1은 Room1과 Room4에서 가장 높은 함량을 보였다. 반면에 R2-L1에서는 가장 낮은 발현량을 보였다. MYB28-3은 Room3과 Room4 조건에서 다른 Room 조건보다 높은 발현량을 보였다 반면에 Room2 조건은 다른 Room 조건보다 가장 낮은 발현을 보였다. MYB28-3은 MYB28-2보다 상대적으로 높은 발현 패턴을 보였다. MYB29는 Room3 조건에서 높은 발현 패턴을 보였고, R3-L2와 R3-L4에서 가장 높은 발현량을 보였다(그림 15).

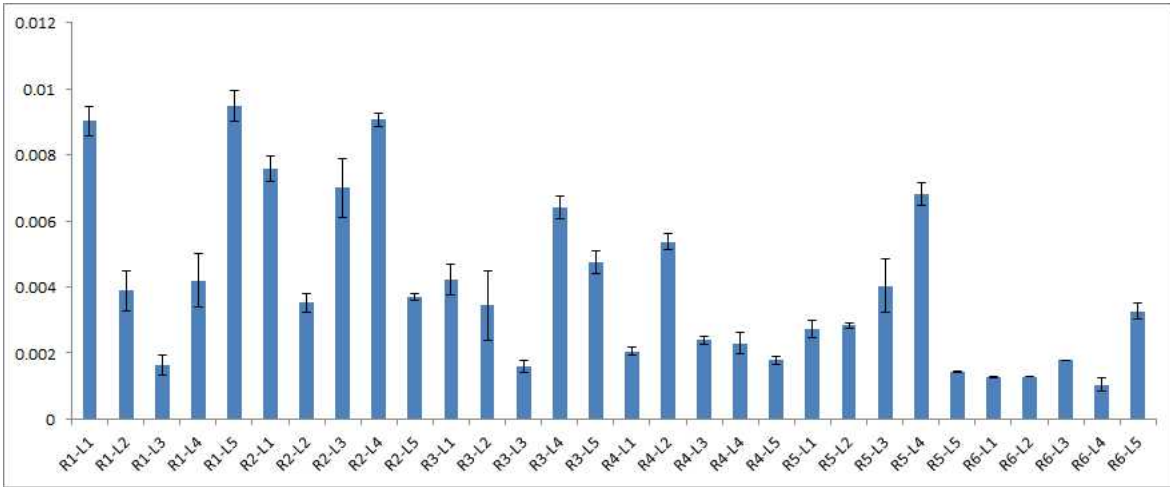


Figure 3. Gene expression of MYB34-1
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

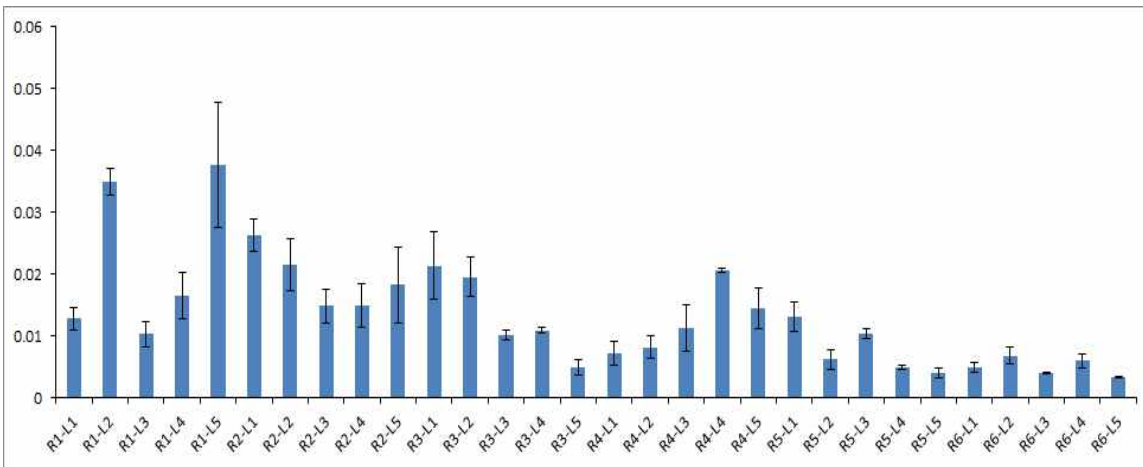


Figure 4. Gene expression of MYB34-2
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

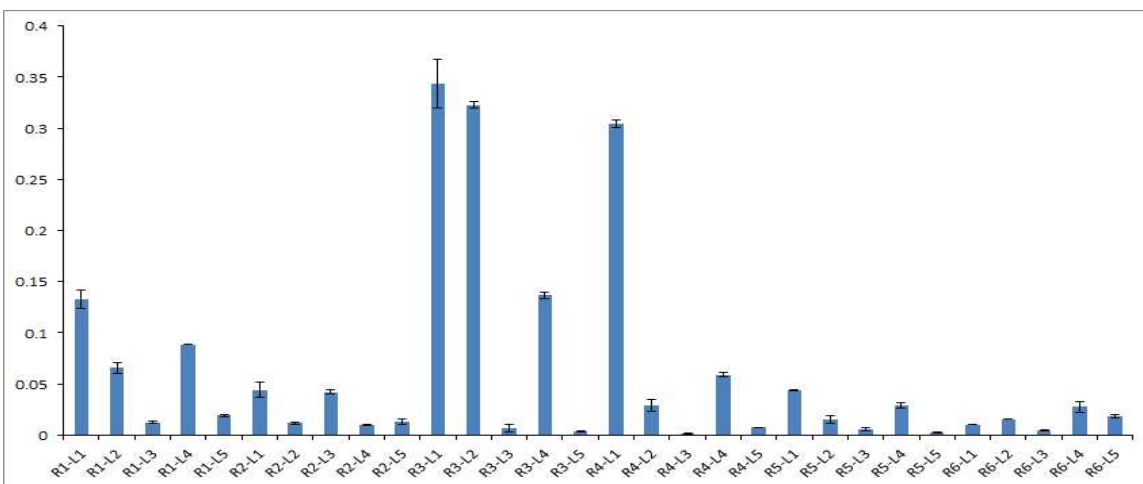


Figure 5. Gene expression of MYB34-3
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

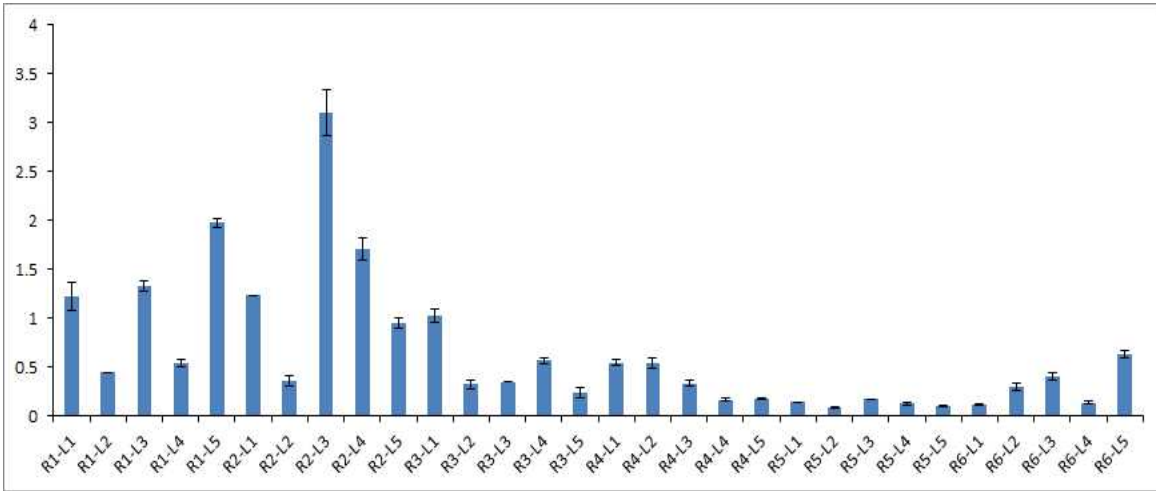


Figure 6. Gene expression of MYB34-4
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

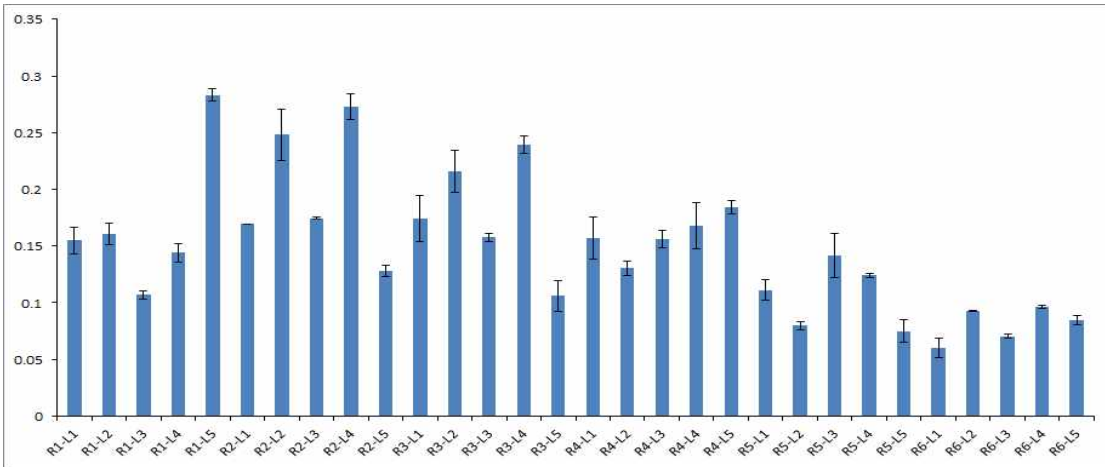


Figure 7. Gene expression of MYB122-1
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

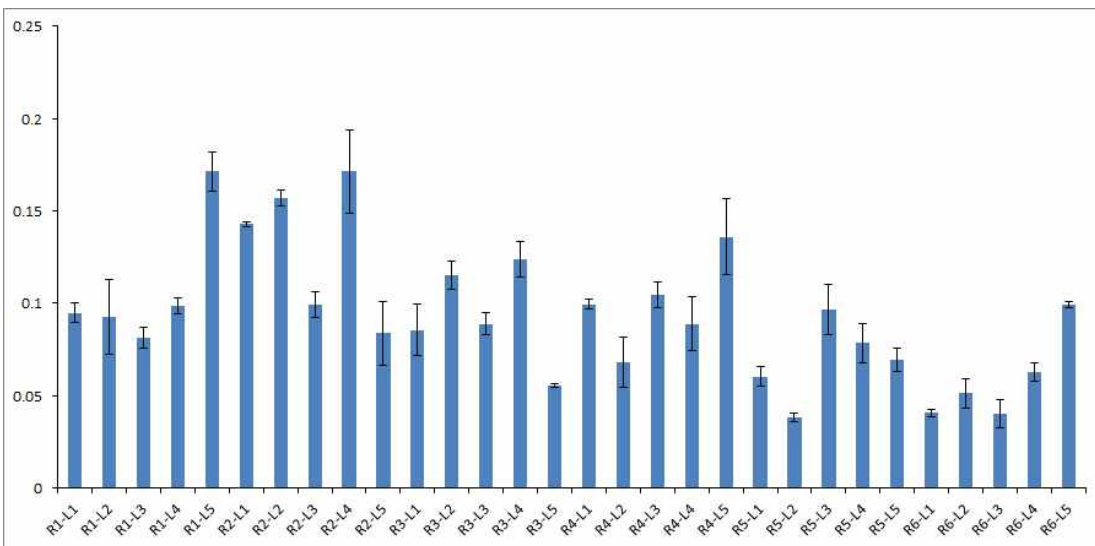


Figure 8. Gene expression of MYB122-2
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

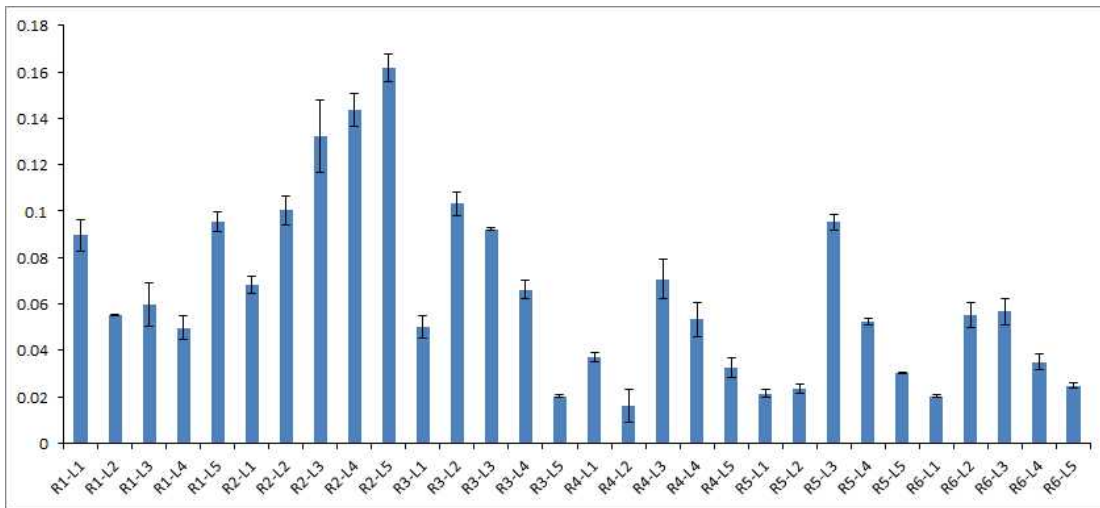


Figure 9. Gene expression of MYB51-2
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

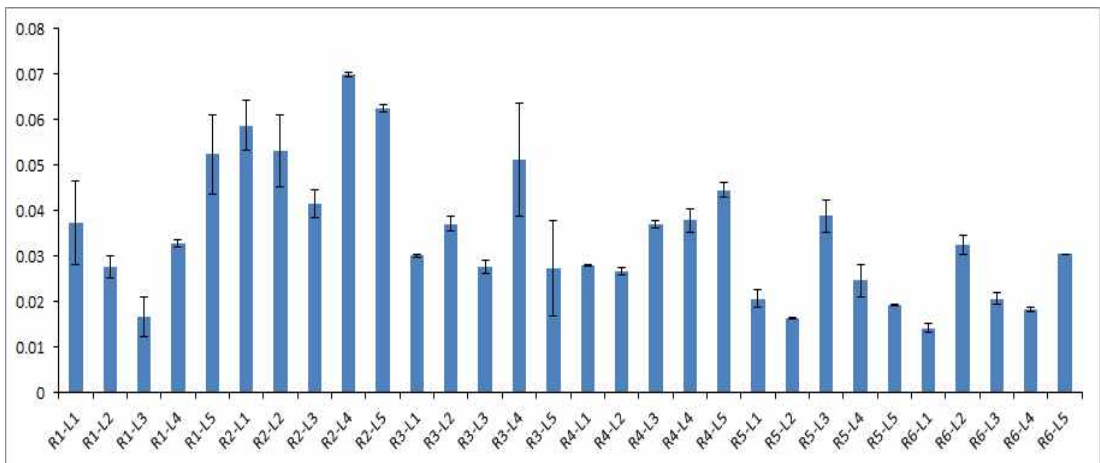


Figure 10. Gene expression of MYB51-3
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

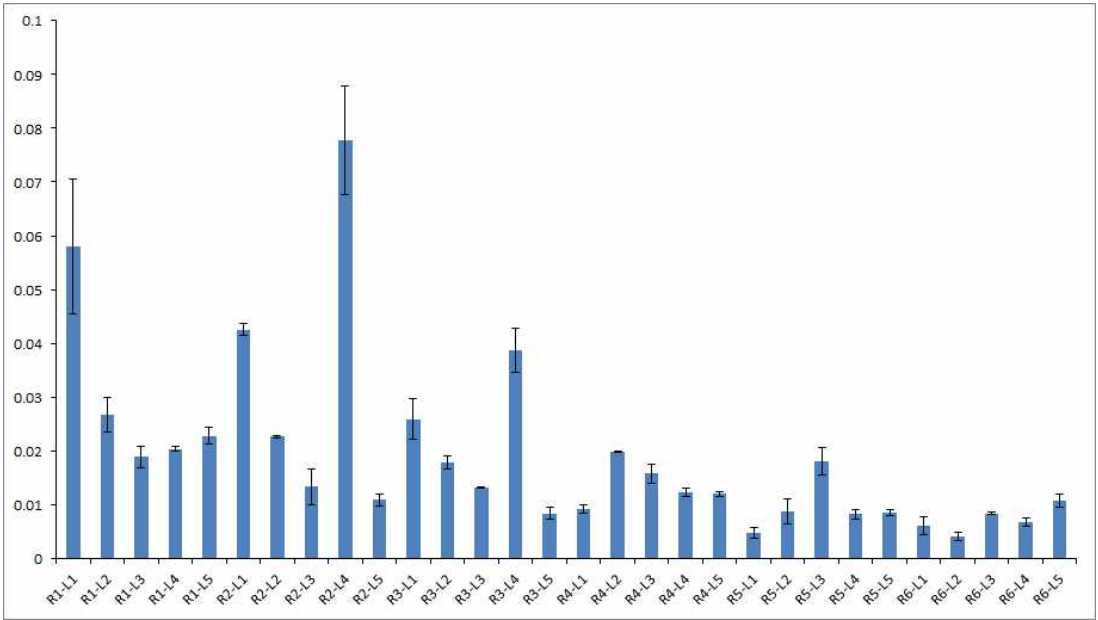


Figure 11. Gene expression of Dof1.1-1
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

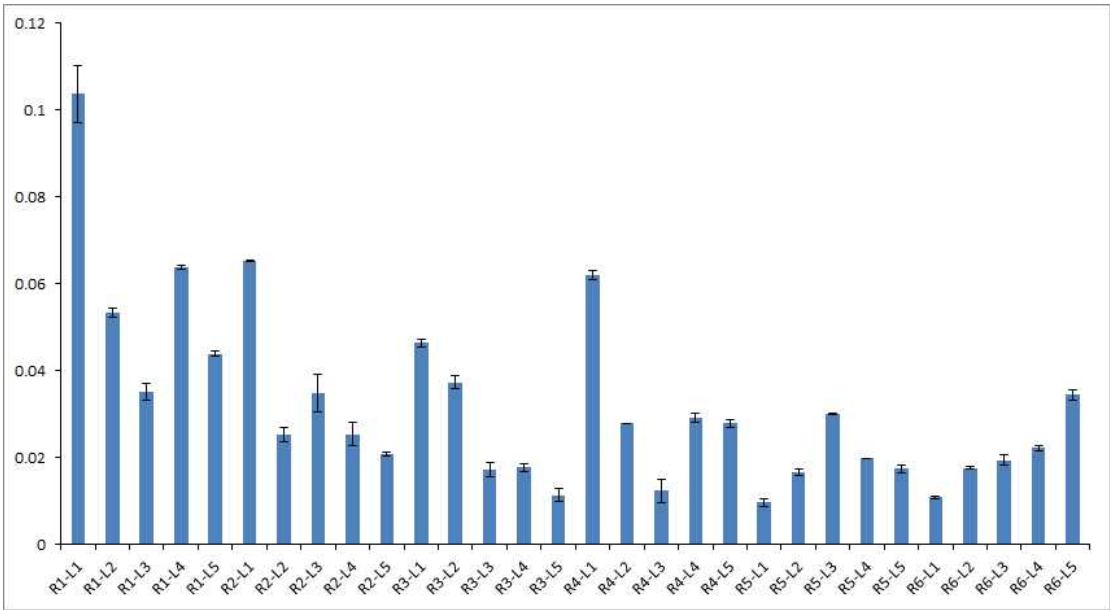


Figure 12. Gene expression of Dof1.1-2
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

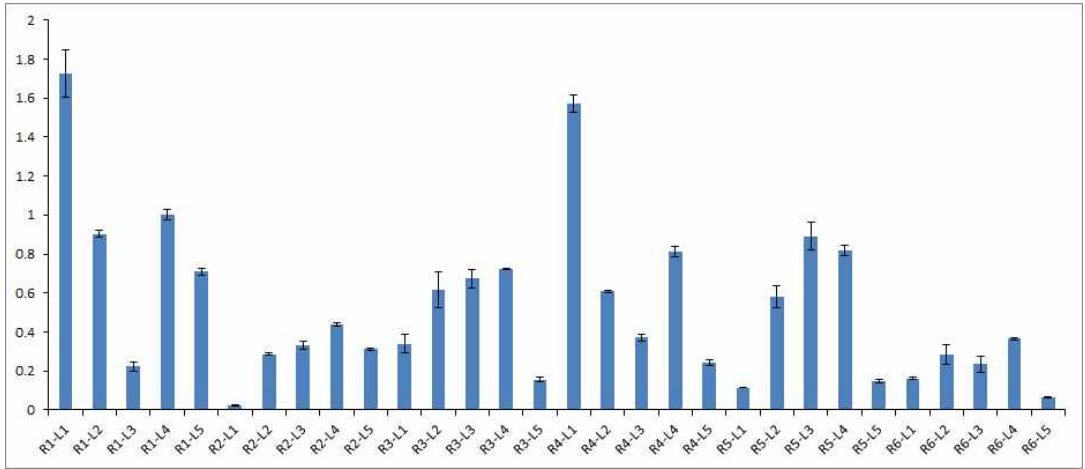


Figure 13. Gene expression of MYB28-2
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

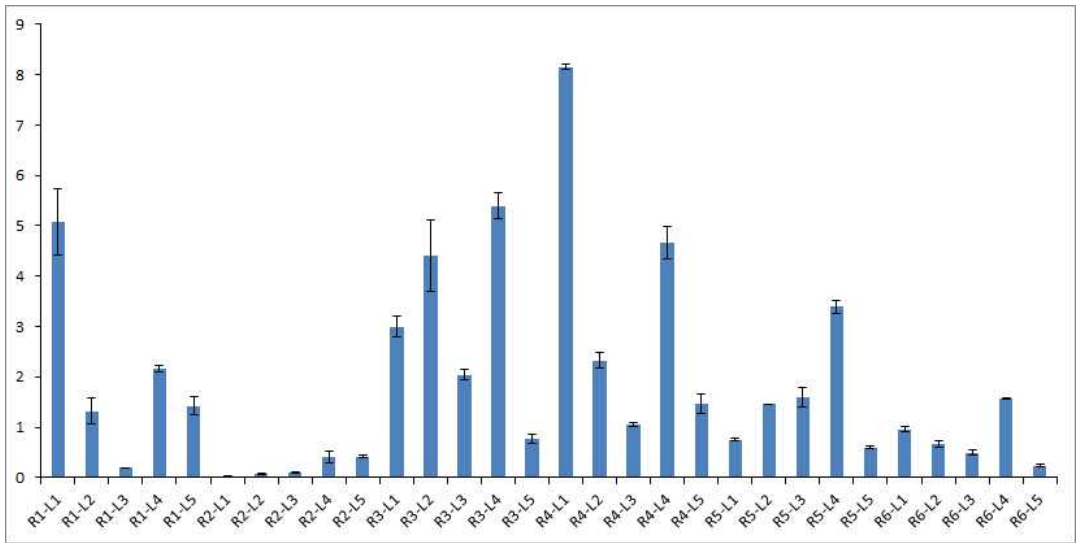


Figure 14. Gene expression of MYB28-3
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

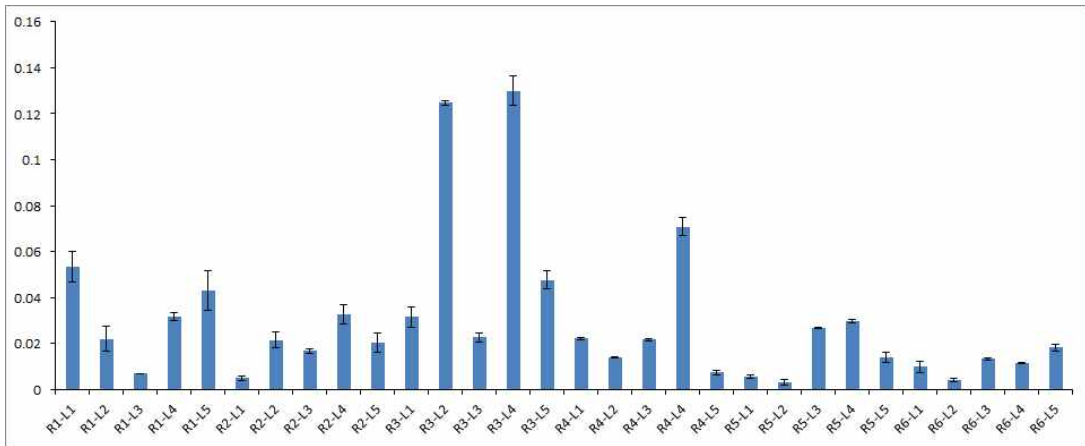


Figure 15. Gene expression of MYB29
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

(2) LED 식물 공장에서 다른 조건의 빛의 종류, 빛의 세기, 일장, 전기 전도도에서 재배된 배추의 유전자 발현

LED 식물 공장에서 여러 조건의 빛의 종류, 빛의 세기, 일장, 전기 전도도를 달리하여 최적의 재배 조건을 찾기 위해서 본 실험이 진행되었다. 재배 조건은 앞에서 언급하였듯이 총 8개의 다른 조건으로 하여 배추를 재배하였다. Aliphatic glucosinolate 생합성에 관여하는 MYB29에서 R7-L4가 가장 높은 유전자 발현량을 보였다. 다음으로 R6-L3였다. MYB28은 앞에서 언급하였듯이 3개의 isoform으로 존재하는데 MYB28-1은 발현량이 너무 낮아서 그래프로 표시할 수 없었다. MYB28-2는 R1-L3와 R1-L4에서 높은 발현량을 보였고, R4-L3에서, R7-L4에서 높은 발현량을 보였다. MYB28-3에서 Room1의 배추는 다른 Room에 있는 배추들보다 유전자 발현 패턴이 높았다. 또한 MYB28-3은 MYB28-2보다 발현량이 상당히 높음을 보였다. Aliphatic과 indolic glucosinolate 생합성 조절을 하는 IQD1.1은 2개의 isoform 중 IQD1.1-1은 너무 낮게 발현되어서 그래프를 그릴 수 없었고, IQD1.1-2는 그림 19와 같다. IQD1.1-2은 각 Room 조건에서 R1-L3, R4-L2, R6-L3, R7-L4가 높은 발현량을 보였다.

Indolic glucosinolate 생합성에 관여하는 MYB34는 4개의 isoform으로 존재하는데 그림 20-23에서와 같이 MYB34-1과 MYB34-2는 발현량이 MYB34-3과 MYB34-4보다 발현이 낮았다. MYB34-1에서 R4-L2가 가장 높은 발현량을 보였고 다음으로 R6-L3와 R8-L5 순이었고, 나머지 샘플들은 모두 비슷한 발현 패턴을 보였다. MYB34-2에서 R4-L5, R6-L3, R7-L4가 높은 발현량을 보였다. R8-L1에서 R8-L4는 점점 감소하는 발현 패턴을 보였고 R6-L1에서 R6-L3까지는 점점 증가하는 발현 패턴을 보였다. MYB34-3에서 R1-L4와 R7-L4가 가장 높은 발현량을 보였다. Room2, Room3, Room4, Room5, Room7 조건에서 L3, L4, L5는 아주 낮은 발현량을 각각 보였다. MYB34-4에서 R1-L3가 가장 높은 발현량을 보였고, Room1과 Room4 조건에서 다른 Room 조건에 비해 다소 높은 발현량을 보였다. Indolic glucosinolate 생합성에 관여하는 유전자 MYB122는 R6-L3에서 가장 높은 발현량을 보였고 두 isoform의 발현 패턴은 비슷하였다. 특히 R8-L1에서 R8-L4까지 차차 감소하는 유전자 발현 패턴을 보였고, 반면에 R6-L1에서 R6-L3까지는 점점 증가하는 유전자 패턴을 보였다.

IQD1.1은 Aliphatic과 indolic glucosinolate 생합성에 관여하는 유전자로 2개의 isoform 중 IQD1.1-2만 발현되었다. R1-L3, R2-L4, R3-L4, R4-L2, R5-L2, R6-L3, R7-L4, R8-L3에서 각각 높은 발현량을 보였다. Aliphatic glucosinolate 생합성에 관여하는 Dof1-1-1 역시 IQD1.1처럼 2개의 isoform이 존재한다. Dof1-1-1에서 R4-L2가 가장 높은 발현 패턴을 보였고 다음으로 R2-L2였다. 반면에 Dof1-1-2는 R1-L3에서 가장 높은 발현량을 보였고 그 다음으로 R4-L2와 R1-L4 순 이었다. Indolic glucosinolate 생합성에 관여하는 유전자인 MYB51은 3개의 isoform으로 존재하는데 MYB51-1은 발현량이 너무 낮아서 생략하였다. MYB51-2에서 R1-L3, R4-L3, R7-L3에서 높은 발현량을 보였고, MYB51-3에서는 R1-L3와 R6-L3에서 높은 발현량을 보였다. 본 연구에서 글루코시놀레이트에 관련된 유전자들의 전사량을 조사한 결과를 보면 8개의 조건에서 5개의 계통라인별로 다양한 유전자 발현 패턴을 보였다. 정확하게는 일치하지는 않지만 8개의 조건에서 Room1에서 유전자 발현이 높았다고 여겨지며 이 중 5개의 계통 중 L3가 가장 발현 패턴이 높은 것으로 판단된다.

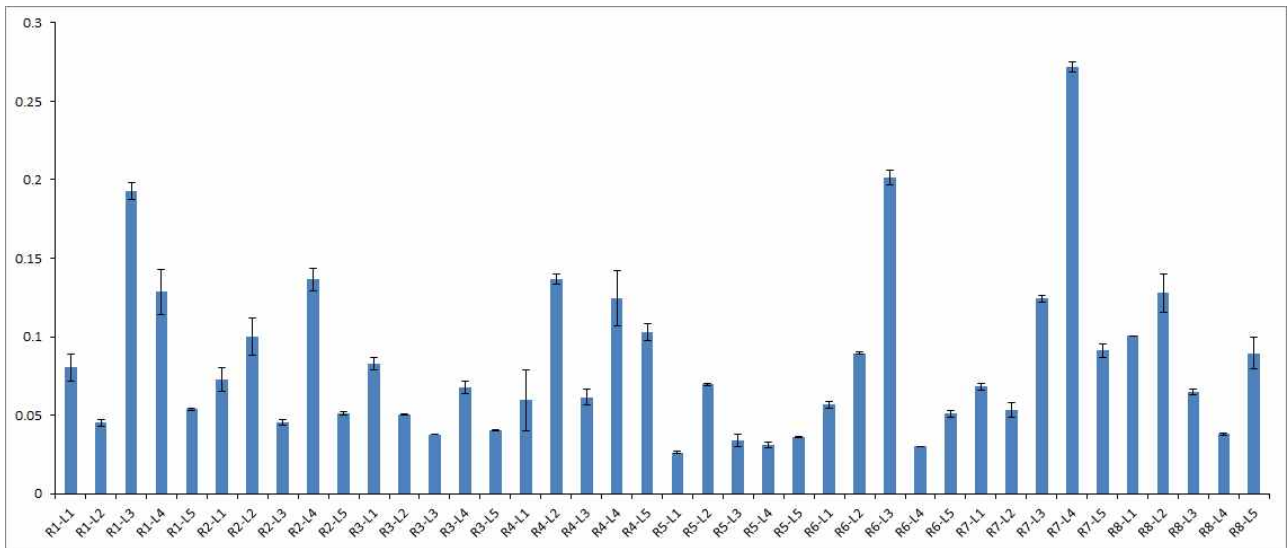


Figure 16. Gene expression of MYB29
(R-room; L-leaf; L1:13-SB31(배추 계통); 13-SB32; 13-SB33; 13-SB34; 13-SB35)

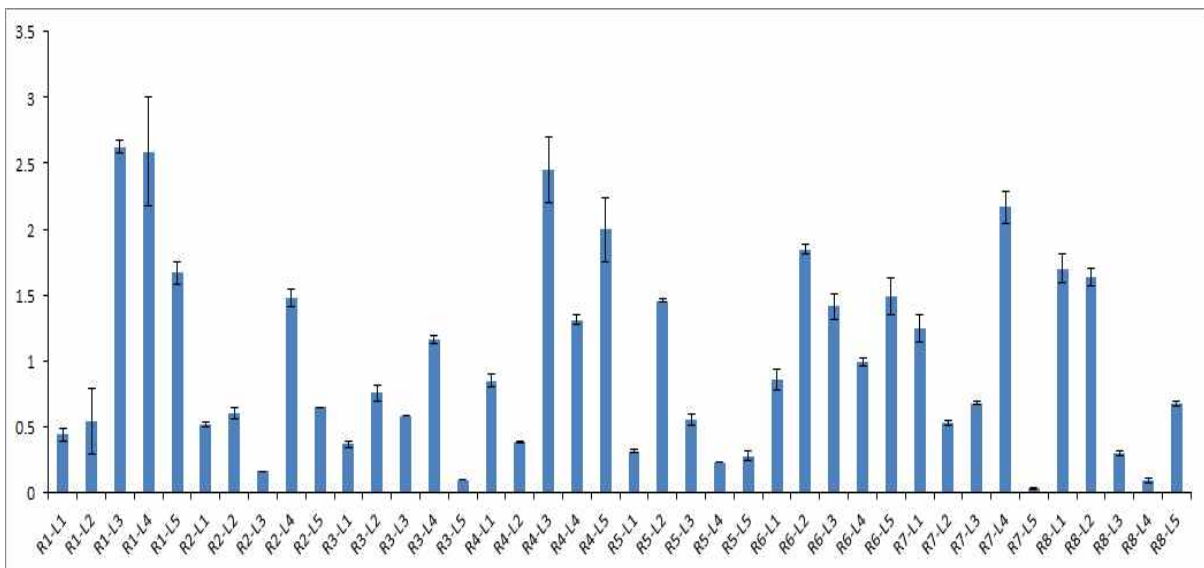


Figure 17. Gene expression of MYB28-2

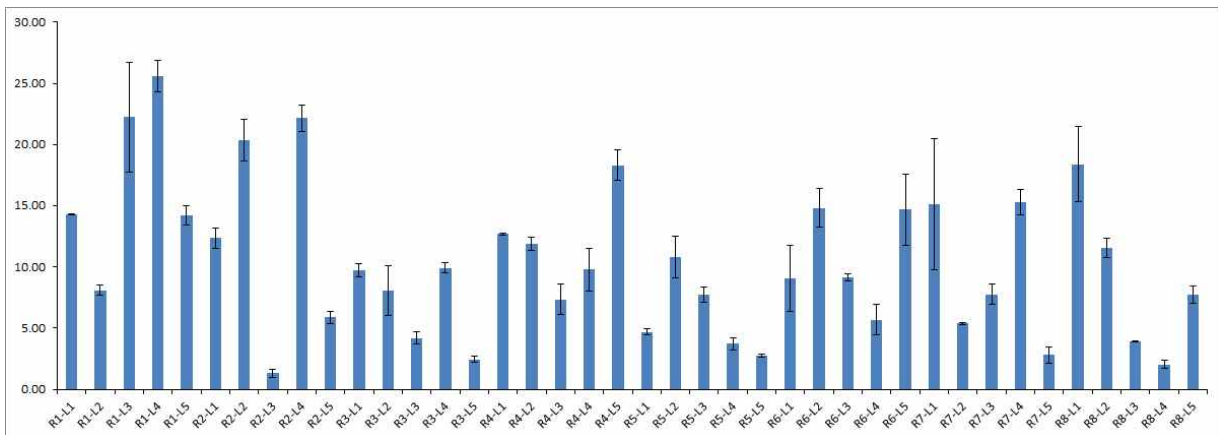


Figure 18. Gene expression of MYB28-3

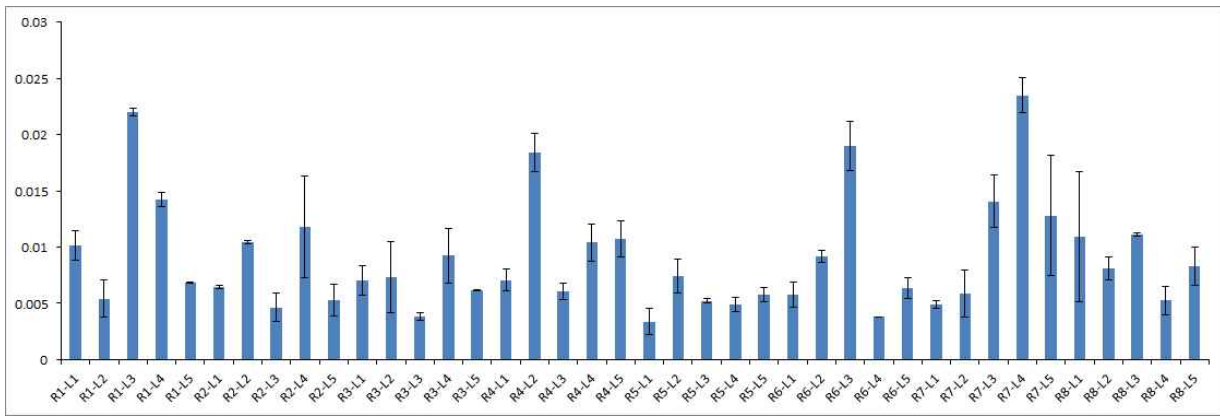


Figure 19. Gene expression of IQD1.1-2

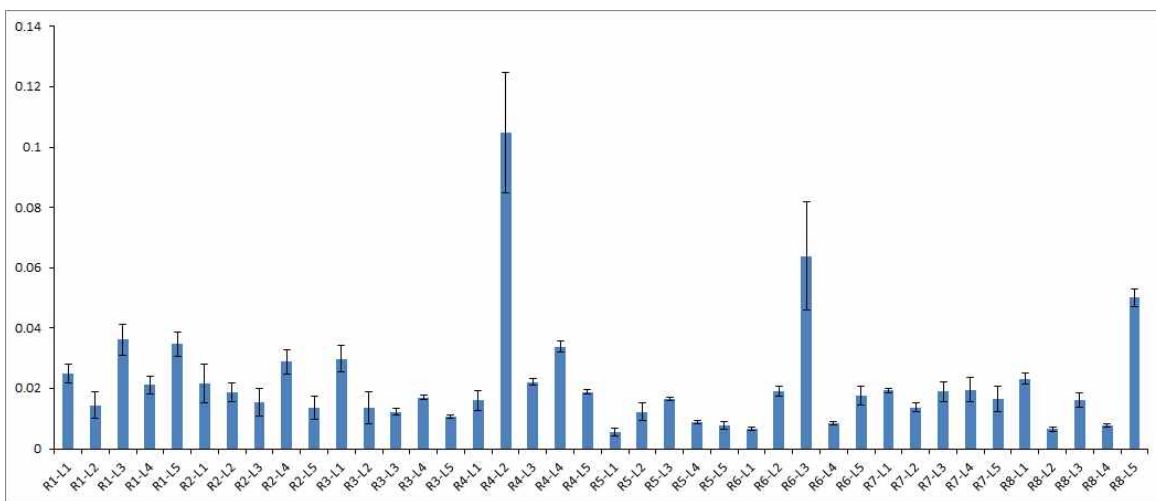


Figure 20. Gene expression of MYB34-1

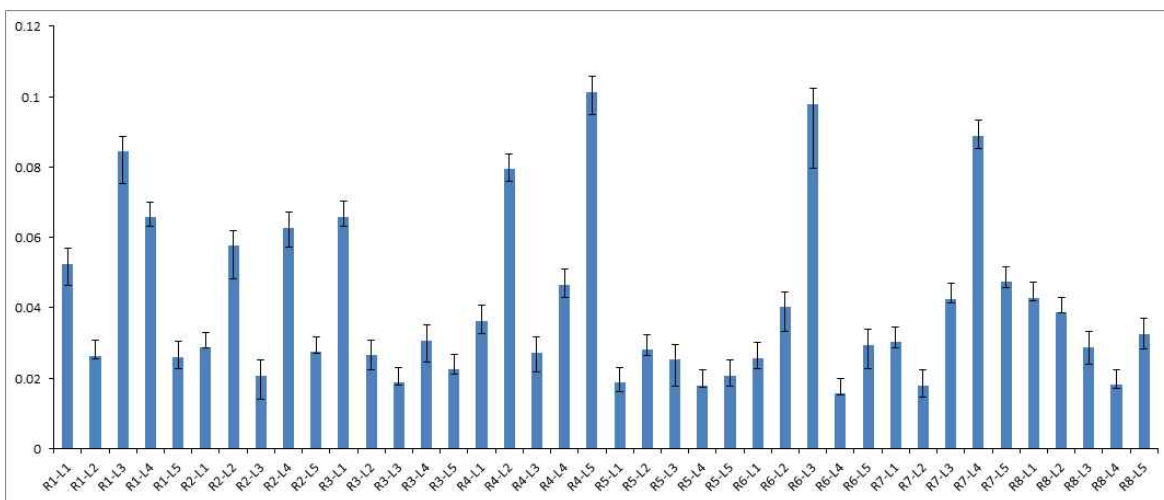


Figure 21. Gene expression of MYB34-2

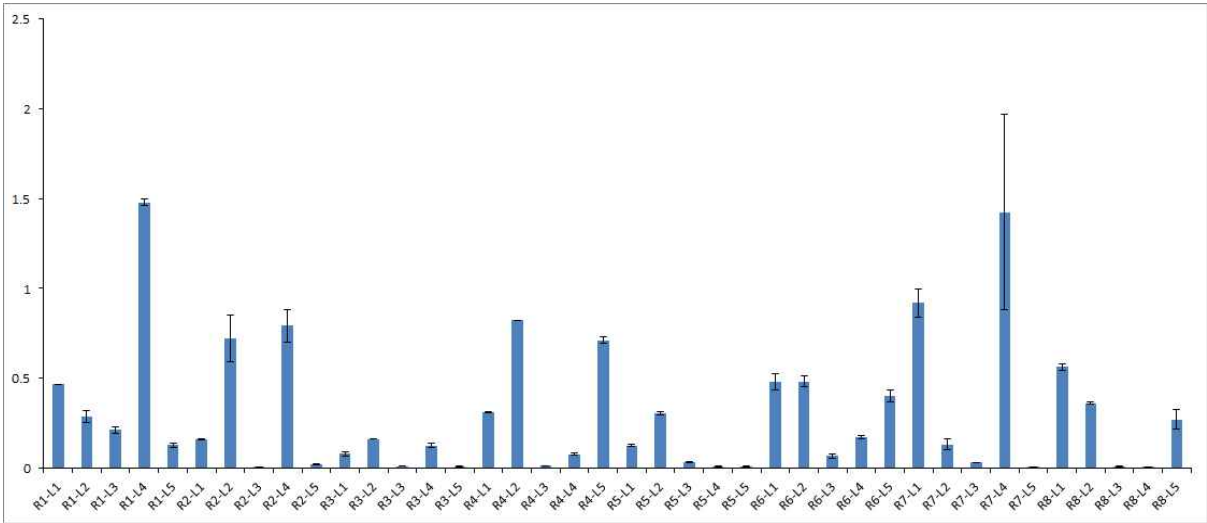


Figure 22. Gene expression of MYB34-3

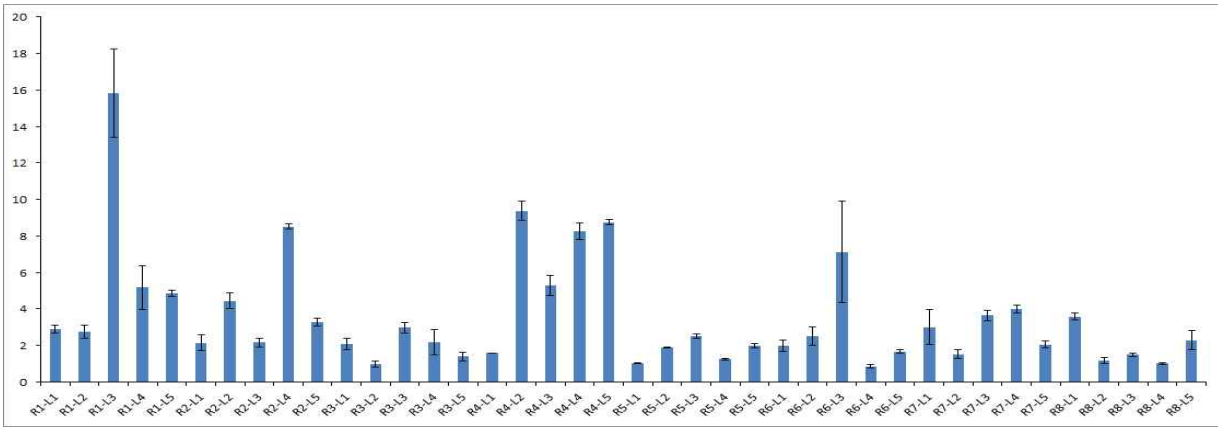


Figure 23. Gene expression of MYB34-4

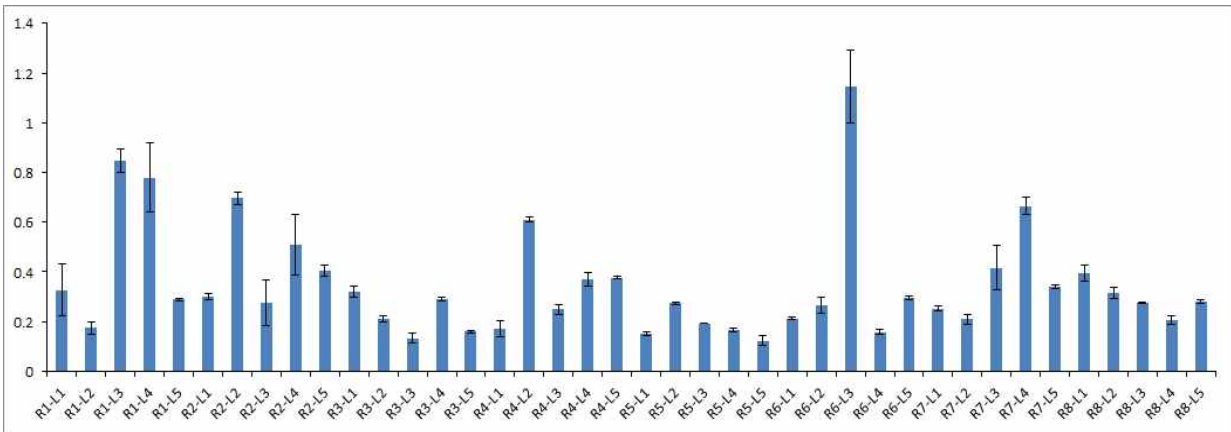


Figure 24. Gene expression of MYB122-1

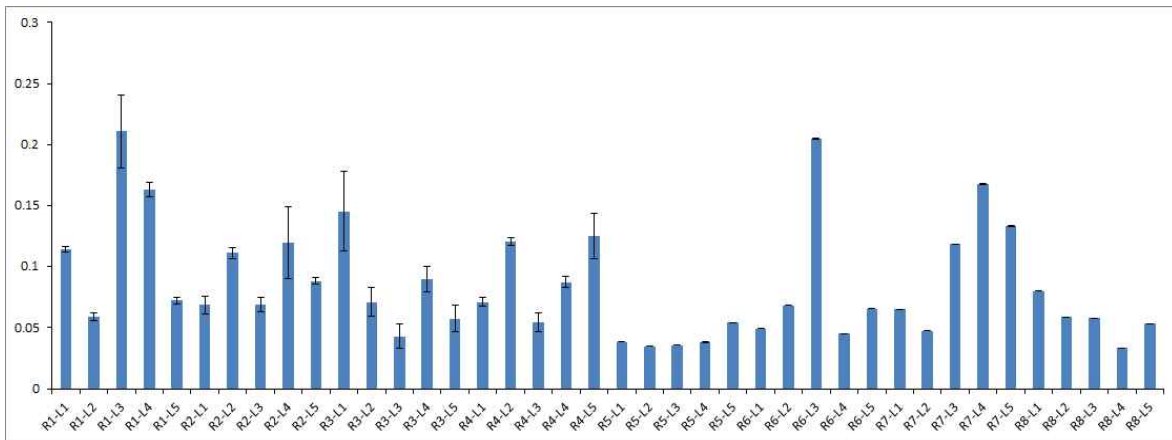


Figure 25. Gene expression of MYB122-2

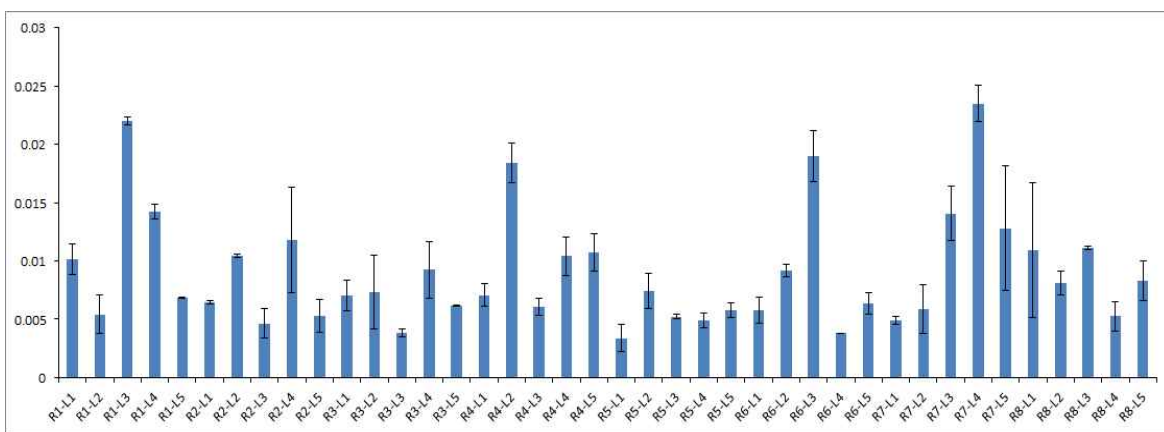


Figure 26. Gene expression of IQD1.1-2

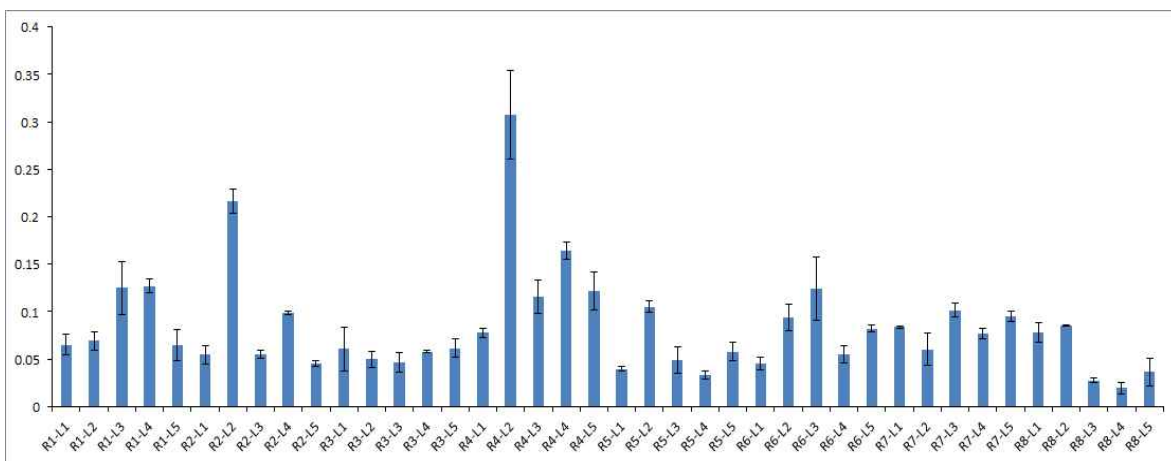


Figure 27. Gene expression of Dof1-1-1

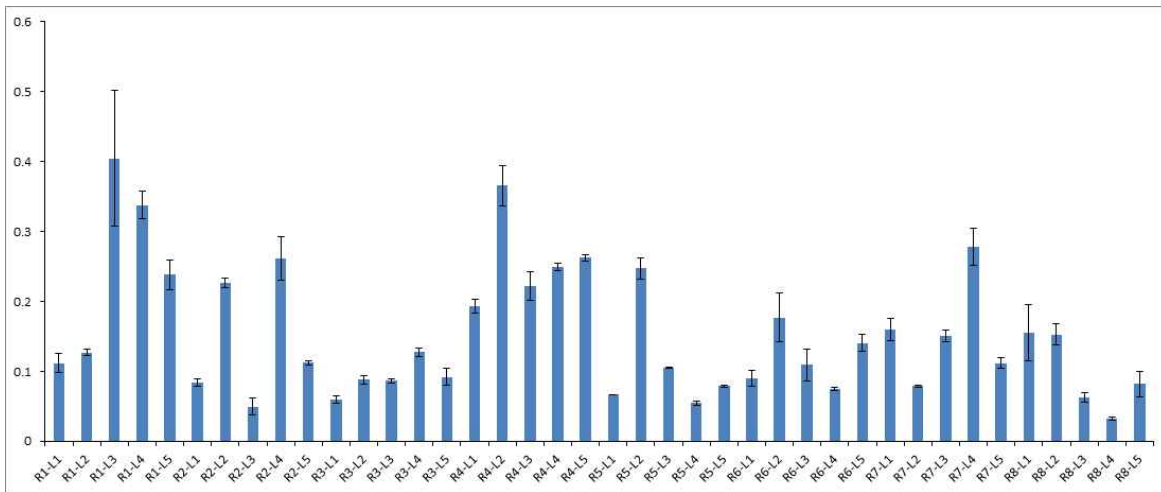


Figure 28. Gene expression of Dof1-1-2

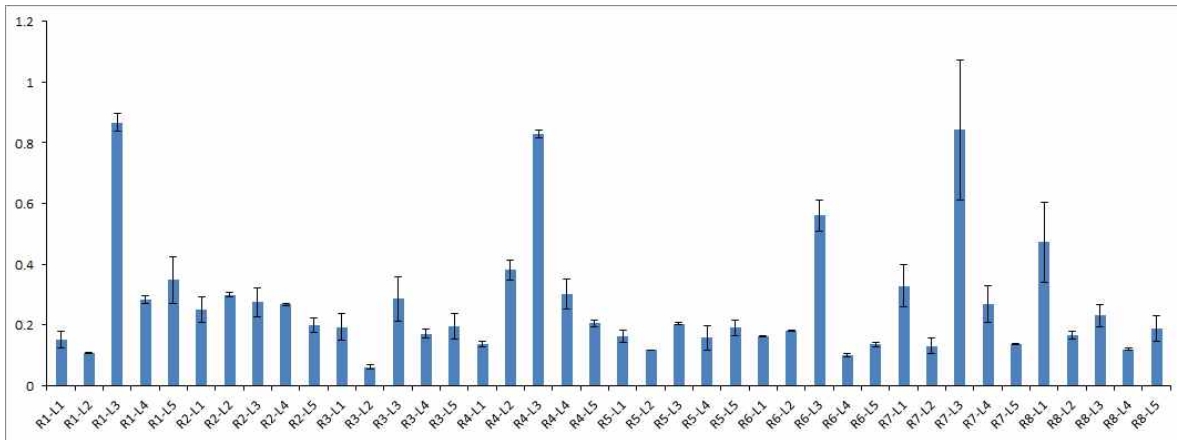


Figure 29. Gene expression of MYB51-2

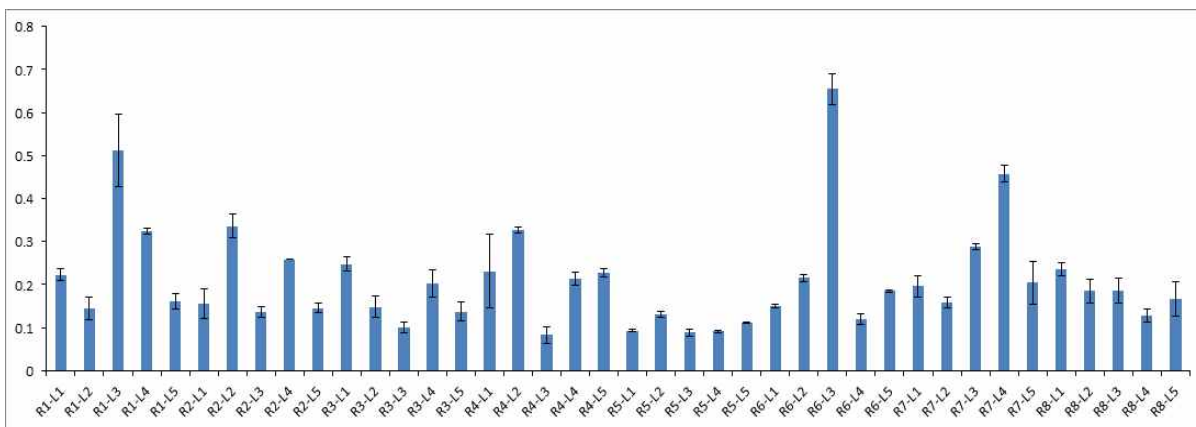


Figure 30. Gene expression of MYB51-3

(3) 유리 온실과 포장에서 재배한 배추와 케일에서 글루코시놀레이트에 관련된 유전자의 전사 발현

온실과 포장에서 재배한 배추와 케일에서 글루코시놀레이트에 관련된 유전자들의 전사 발현을 조사한 결과 Aliphatic glucosinolate 생합성에 관여하는 MYB28-1은 MYB28-2와 MYB28-3보다 높은 발현량을 보였다. Field에서 재배한 배추는 Greenhouse에서 재배한 것보다 약 10배 높은 발현량을 보였고, MYB28-2와 MYB28-3 역시 Field에서 재배한 배추가 Greenhouse에서 재배한 배추보다 각각 12.7배와 27배 높은 발현 패턴을 보였다. 반면에 MYB51은 3개의 isoform 모두 greenhouse에서 재배한 배추가 Field에서 재배한 배추보다 큰 차이를 보이지 않았지만 조금 발현량이 높았다. Dof1-1-1과 Dof1-1-2에서 Field에서 재배한 배추가 Greenhouse에서 재배한 배추보다 각각 5.2배와 4.5배 높은 발현량을 보였다. MYB122-2는 MYB51처럼 Greenhouse에서 Field보다 조금 높은 전사량을 보였다. MYB34의 경우 MYB34-2는 발현량이 너무 낮아서 측정할 수 없었고, 나머지 isoform들은 Field에서 재배한 배추가 약 2배 정도 높은 발현량을 보였다. IQD1.1에서 IQD1.1-1은 발현량이 너무 낮았고 IQD1.1-2는 Field에서 재배한 배추가 Greenhouse에서 재배한 배추보다 6.8배 높은 발현량을 보였다. MYB29도 또한 Field에서 재배한 배추가 Greenhouse에서 재배한 배추보다 1.8배 높은 발현량을 보였다. 따라서, 본 연구에서 MYB51과 MYB122만 제외하고 모든 유전자에서 Field에서 재배한 배추가 Greenhouse에서 재배한 배추보다 유전자 발현량이 현저하게 높음을 확인 할 수 있었다.

케일에서 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자는 next generation sequence에서 확보 할 수 있었으며 유전자 발현이 너무 낮아 그래프로 표시할 수 없는 유전자들을 제외하고 10개의 유전자를 이용하여 결과를 나타냈다(그림 32). 지금까지 글루코시놀레이트 생합성에 관련된 유전자는 약 120개로 알려졌다. 세 단계 즉 Amino acid chain elongation, Core glucosinolate biosynthesis, Side chain modification을 거쳐 글루코시놀레이트가 합성이된다. 이 중에서 본 연구에 사용된 5개의 유전자는 Core glucosinolate biosynthesis 단계에 있는 유전자들이다. 그림 32에서 보는바와 같이 MYB28-2와 MYB29-2는 Field에서 재배한 케일이 Greenhouse에서 재배한 케일보다 훨씬 높은 유전자 발현 패턴을 보였다. 하지만 MYB34-4는 Greenhouse와 Field에서 비슷한 유전자 발현량을 보였다. MYB51-2와 Dof1-1-1도 Field에서 재배한 케일이 Greenhouse보다 5배 이상 높은 발현량을 보였다. Core glucosinolate biosynthesis 단계에 있는 유전자 CYP79F1, CYP83A1, CYP83B1, GGP1-1, GSTU20 모두 Greenhouse에서 재배된 케일보다 높은 유전자 발현량을 보였다. 본 연구에서 결론은 Field에서 재배한 케일이 Greenhouse에서 재배한 케일보다 거의 모든 유전자에서 전사량이 높음을 알 수 있었다.

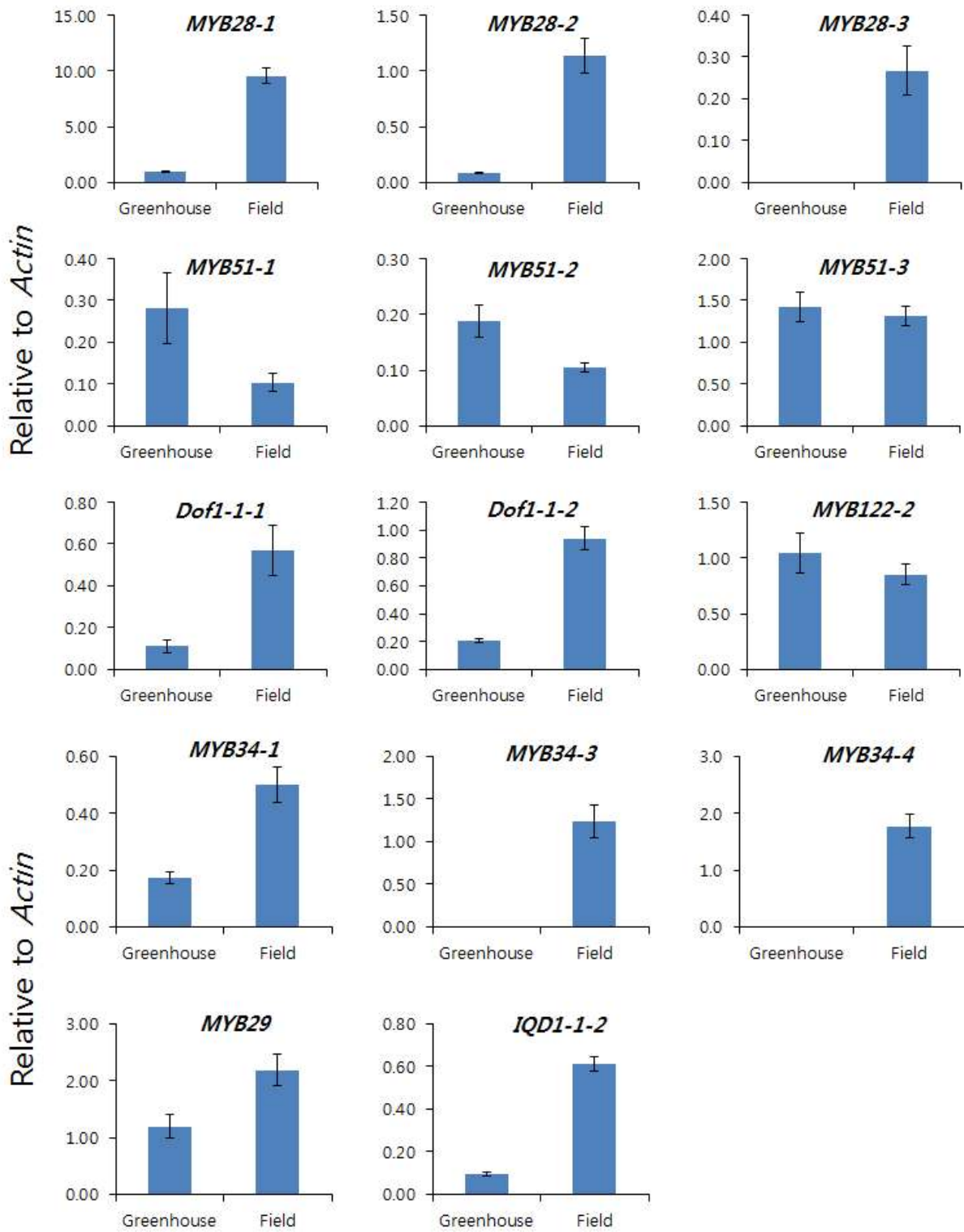


Figure 31. Expression of glucosinolate biosynthetic genes in Chinese cabbage cultivated at greenhouse and field

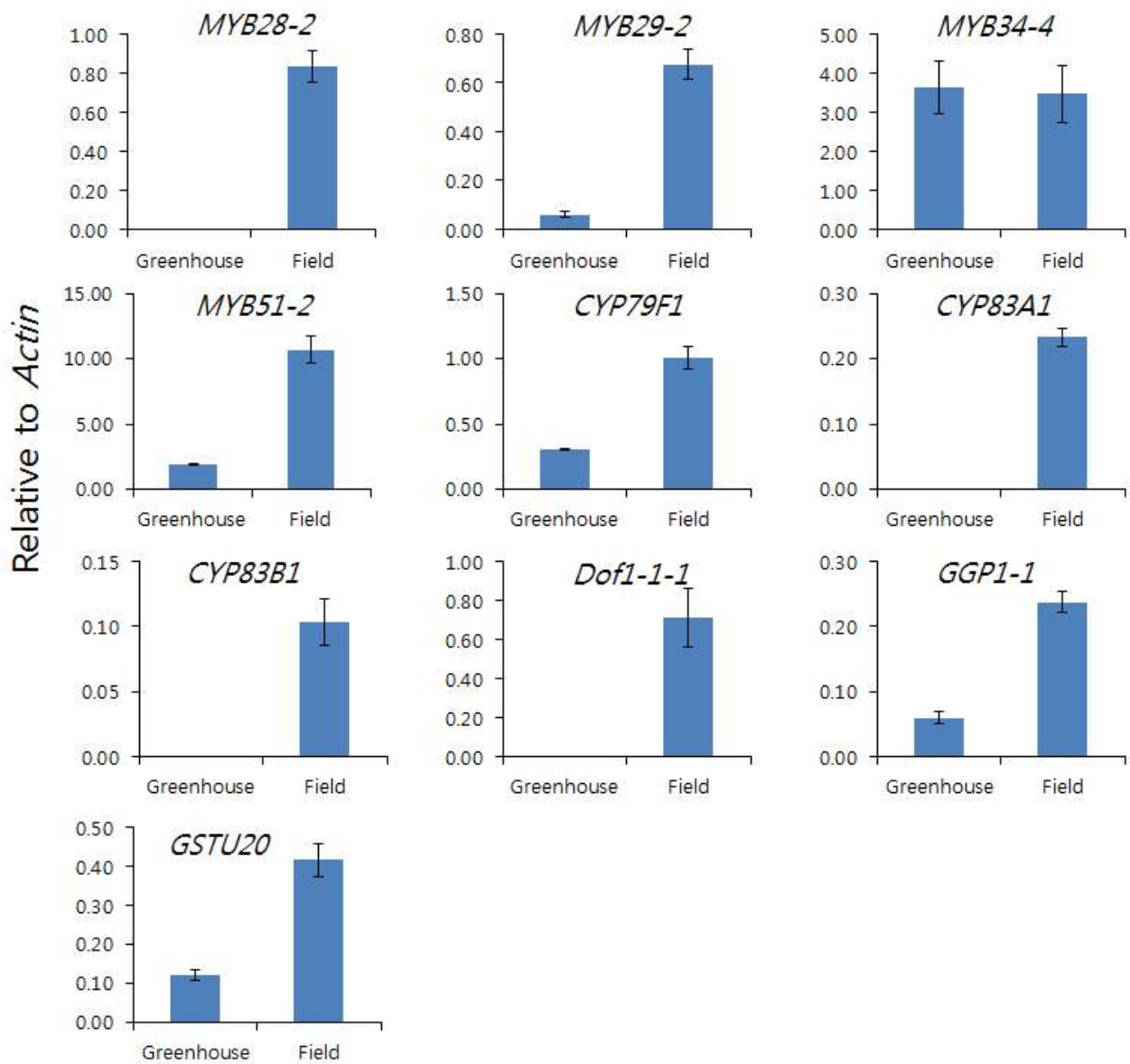


Figure 32. Expression of glucosinolate biosynthetic genes in Kale cultivated at greenhouse and field

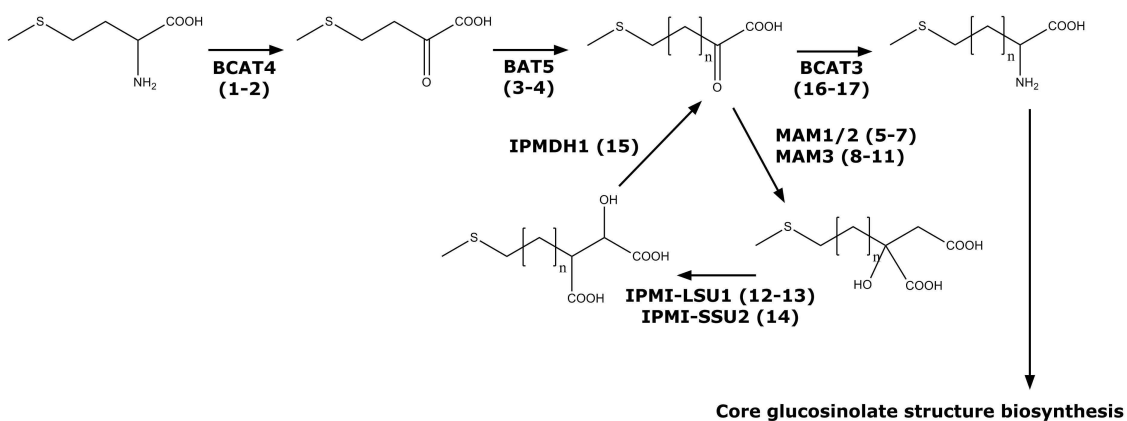
6. 내서성, 이서성 라인에서 고기능성 물질 합성경로 변화 비교분석

가. 연구의 필요성

글루코시놀레이트 (Glucosinolates, GSLs)는 식물이 곤충과 병원균의 공격에 대항하기 위해 분비하는 물질로 항암과 심장질환 등에 생리적 효과가 있다고 알려진 대표적인 고기능성 이차대사산물이다 (Mithen, 2001; Traka and Mithen, 2009). 특히 십자화과 작물에 풍부하게 존재하여 씹쓸하고 특쓰는 독특한 풍미를 내게 하는 역할을 한다고 알려져 있다. 최근에는 glucoiberin과 glucoraphanin 등의 글루코시놀레이트 종이 발암물질의 작용을 억제하여 암세포의 사멸을 유도하고 detoxification 효소의 활성을 증진시켜 발암물질의 배출을 돕는 작용을 한다는 것이 밝혀지는 등 글루코시놀레이트의 생리적 활성에 대한 관심이 높아지고 있다 (Zhang et al., 1992; Jongen, 1996; Talalay and Zhang, 1996; Verhoeven et al., 1997; Smith et al., 1998).

글루코시놀레이트 종은 지금까지 약 130개가 식물에서 분리되었다. 글루코시놀레이트의 식물 내 활성은 곤충이나 병원균과 같은 외부 스트레스 자극에 의한 글루코시놀레이트의 가수분해에 의한 것으로 알려져 있다. 곤충이나 병원균에 의해 조직이 파괴되면 thioglucosidases와 myrosinases가 글루코시놀레이트를 가수분해 하면서 isothiocyanates, nitriles, thiocyanates와 같은 다양한 생리 활성을 가지는 물질이 만들어져 곤충이나 병원균의 성장을 저해하고 (Manici et al., 1997), indole phytoalexins과 같은 스트레스 저항성과 관련된 물질의 생합성을 유도하는 역할을 한다고 알려져 있다 (Pedras et al., 2000).

글루코시놀레이트의 식물 내 합성경로는 전구체의 종류와 합성 경로에 따라 tryptophan로부터 합성되는 인돌계 글루코시놀레이트 (indolic GSLs) 합성경로, alanine, leucine, methionine, valine, isoleucine으로부터 합성되는 지방족 글루코시놀레이트 (aliphatic GSLs) 합성경로, phenylalanine과 tyrosine로부터 합성되는 벤젠계 글루코시놀레이트로 나뉜다 (그림 1). 이 합성 경로는 전구체로 사용되는 아미노산이 신장되는 chain elongation step, 글루코시놀레이트의 기본구조가 형성되는 core glucosinolate biosynthesis step, 기본구조의 글루코시놀레이트에 다양한 잔기가 수식되는 secondary modification step의 크게 3단계로 나뉘며 각 단계를 직접 조절하는 효소가 애기장대를 대상으로 한 실험을 통해 대부분 분리, 동정 되었다.



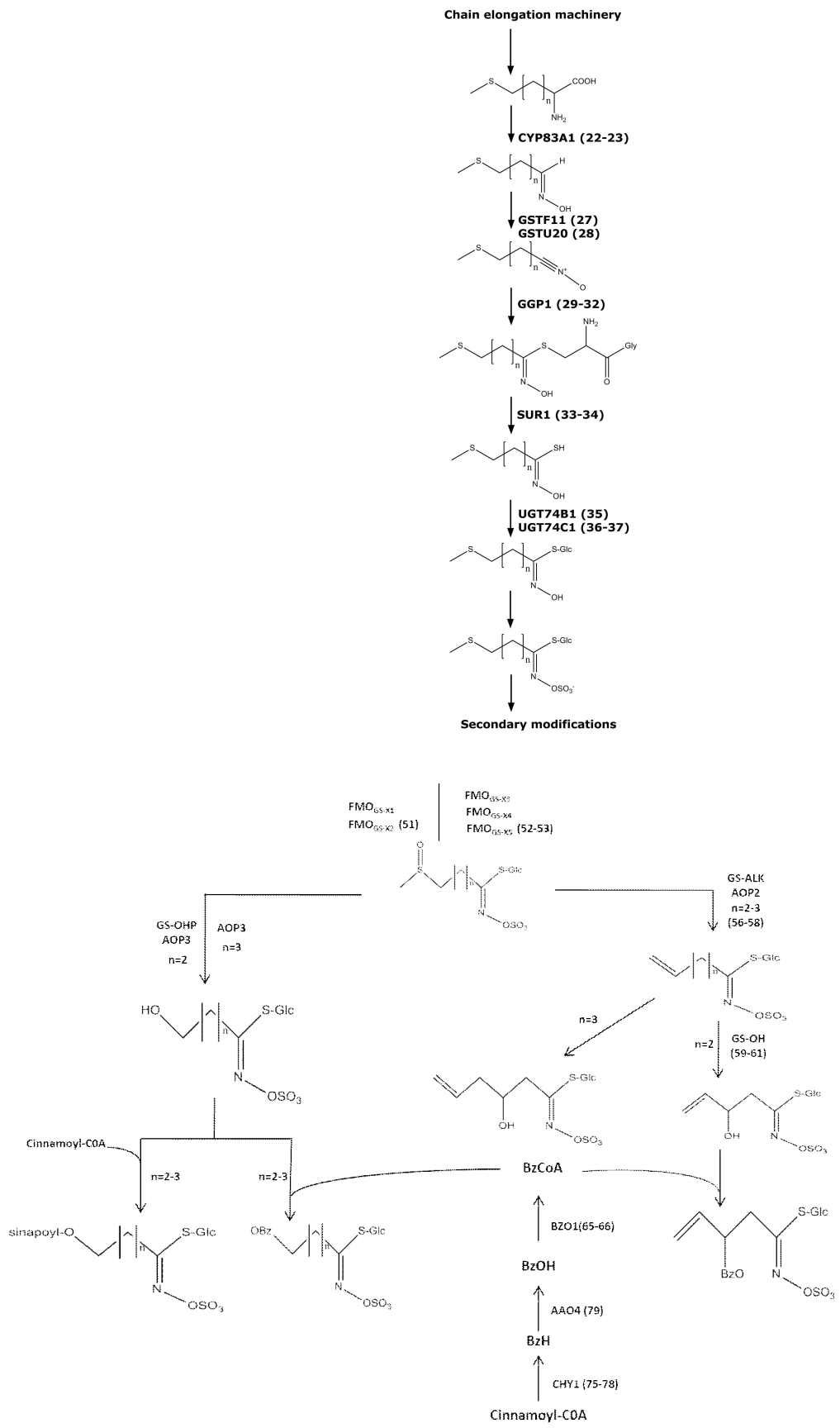


Figure 1. Biosynthetic pathway of glucosinolate

또한 biotic과 abiotic 스트레스에 반응하여 글루코시놀레이트의 생합성을 조절하는 R2R3-MYB family에 속하는 전사인자가 다수 동정되었다. 인돌계 글루코시놀레이트의 합성을 조절하는 MYB34, MYB51, MYB122와 지방족 글루코시놀레이트의 합성을 조절하는 MYB28, MYB29, MYB76이 발견되었고 곤충과 병원균 침입에 따라 전사인자가 글루코시놀레이트의 합성을 조절하는 기작이 여러 논문을 통해 발표되었다. 또한 글루코시놀레이트 합성을 조절하는 다른 전사인자와 식물 내 Sulphur 항상성을 조절하여 인돌계, 지방족 글루코시놀레이트 간 함량을 조절하는 유전자가 다수 보고되었다 (Sønderby et al., 2010).

한편 카로티노이드는 식물에서 ABA와 같은 호르몬의 합성을 위한 재료로 사용되고 광스트레스를 경감시키는 역할을 한다고 알려진 이차대사산물이다 (Green and Durnford, 1996; Nambara and Marion-Poll, 2005). 동물에게는 항암작용을 나타내고 특히 비타민 A 합성을 위한 전구체로 사용되는 중요한 고기능성 물질로 알려져 있다 (Mayne, 1996).

카로티노이드의 합성 경로는 다음과 같다고 알려져 있다 (그림 2).

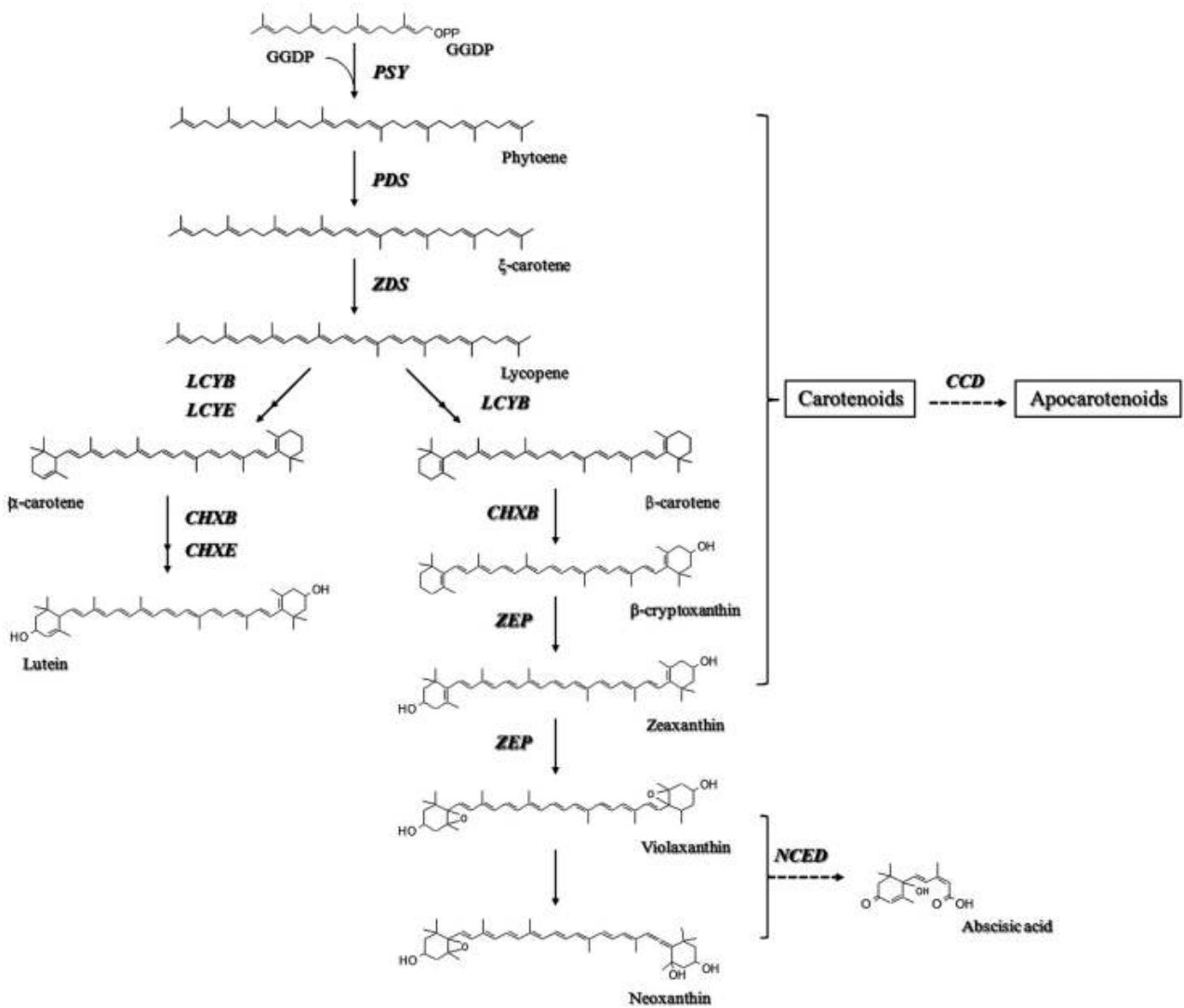


Figure 2. Biosynthetic pathway of carotenoid

Isopentenyl diphosphate를 전구체로 하여 합성되는 카로티노이드의 합성경로는 비교적 잘 알려져 있지만 그것의 합성을 촉진하는 전사인자와 환경조건에 대한 연구는 부족한 실정이다. *PSY*가 카로티노이드 합성을 조절하는 중요한 조절인자로 알려져 있으며 light-signal transduction에 관련된 *DDB1*, *DET1*, *HY5*, *COPI*등이 카로티노이드의 합성 경로를 촉진, 저해하는데 또한 관련되어 있다는 보고가 발표되었지만 전사인자에 대한 연구 외에 카로티노이드의 합성을 촉진하는 환경인자와 외부 환경의 변화에 따라 카로티노이드의 합성이 어떻게 변화하는 지에 대한 관련 연구는 부족한 실정이다. (Tanaka et al., 2008).

또한 글루코시놀레이트 합성에 대한 기존 연구도 곤충과 병원균 침입에 의한 식물 내 방어기작에 관련된 연구가 주로 이루어져왔고 특히 배추, 케일과 같은 작물에서 고온 스트레스와 같은 abiotic stress 조건에 따라 글루코시놀레이트 합성이 어떻게 조절되는지 관련 연구가 없는 실정이다. 따라 십자화과 채소 작물 내 고기능성 물질의 합성이 어떻게 변화하는 지 분석하고자 하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 식물 재료와 열처리 조건

소포자 배양을 통해 육성된 변이 집단이 내서성, 이서성 라인 선발에 사용되었다. 제4세부과제 박수형박사 연구팀으로부터 노지 재배를 통해 예비 선발한 13-FD19, 13-FD47, 13-FD41, 13-FD49, 13-FD54의 총 다섯 개 배추 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) DH (double haploid) 라인 종자를 분양 받아 약 두 달간 재배하였다. 차후 실험 시 재현되는 결과를 얻을 수 있도록 실험실 내 통제된 조건에서 열처리를 하고자 하였고 이를 위해 기존 논문을 참고하여 먼저 배추에 heat stress를 유발하는 두 가지 열처리 조건을 비교하였다 (Wang et al., 2011; Li et al., 2013). 위에 5종의 라인을 대상으로 38°C 24시간 처리와 46°C 1시간 처리 조건을 비교하였고, 46°C 1시간 처리시에 표현형의 차이가 현저히 나타나는 것을 확인하였다. 반면 38°C 24시간 처리 시에는 약 20일 후에도 눈에 띄는 표현형의 차이가 나타나지 않았다.

본격적인 내서성, 이서성 선발을 위해 5종의 소포자 배양 라인을 대전광역시 유성구에 위치하는 충남대학교 농장의 유리온실에서 약 두 달간 재배하였다. 실험실의 건조기를 이용하여 암조건 하 46°C 1시간 열처리를 동일하게 하였고 유전자 분석과 물질 함량의 변화를 분석하기 위해 열처리 후 0, 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 시간에 각각 샘플을 채취하였다. 수확된 배추는 액체질소에 얼려 -80도에 저장하였다.

(2) cDNA 합성과 quantitative real-time PCR (qRT-PCR)분석

Total RNA는 Geneaid Total RNA extraction kit을 이용하여 분리하였고 first strand cDNA는 ReverTra Ace- α -(Toyobo, Osaka, Japan) Kit과 oligo (dT)₂₀ primer를 이용하여 합성하였다. QRT-PCR 분석을 위해 gene-specific primers가 제작되었고 PCR 후 염기서열을 분석하여 특이적으로 유전자가 증폭되는 것을 확인하였다. QRT-PCR 분석은 2X SYBR Green Real time PCR master mix (Solgent, Korea)를 사용하였고 0.5 μ M specific primers, 5 μ M cDNA를 template를 사용하여 95°C 15초, 55°C 20초, 72°C 20초 조건에서 45 cycle 동안 증폭하였다. QRT-PCR 분석을 위해 사용한 gene specific primer는 표 1, 2, 3과 같다. CFX96 Real-Time PCR System (Bio-Rad; Hercules, CA, USA) 기기를 이용하였고 reference gene으로 EF-1a이 사용되었다.

Table 1. qRT-PCR primer for heat shock related gene expression

Gene name	Forward /Reverse	Sequence (5'-3')	Size (bp)	Locus name
HSFA2	Forward	TGAGGCGAGTGAGGATGAAC	156	Bra000557
	Reverse	CCCAATCCAACGGTGAGGCT		
HSFA7b	Forward	CGAGTTCGAGAGCGTGGTCA	187	Bra007739
	Reverse	TGTGTTTGGGTCGTCCACCA		
HSP70	Forward	TGGATGCAGCTGACAAGAAG	150	Bra038734
	Reverse	GCTCCACCCATATCACCACC		
HSP101	Forward	GCCAAGGAAGGACGGTCGAT	164	Bra003807
	Reverse	CAGGCCACTTGCATCGTCAC		

Table 2. qRT-PCR primer for glucosinolate biosynthetic gene expression

Gene name	Forward /Reverse	Sequence (5'-3')	Size	Locus name
BCAT4	Forward	TGAGGCGAGTGAGGATGAAC	154	Bra022448
	Reverse	CCCAATCCAACGGTGAGGCT		
CYP79B3	Forward	CGAGTTCGAGAGCGTGGTCA	134	Bra030246
	Reverse	TGTGTTTGGGTCGTCCACCA		
CYP79F1	Forward	TGGATGCAGCTGACAAGAAG	180	Bra026058
	Reverse	GCTCCACCCATATCACCACC		
CYP83A1	Forward	GCCAAGGAAGGACGGTCGAT	187	Bra024843
	Reverse	CAGGCCACTTGCATCGTCAC		
SUR1	Forward	GAAGCACACGCCAACCTTGC	190	Bra036490
	Reverse	GCTTTCGCGGCCTTATCAGC		
UGT74B1	Forward	CGCGAGATCTAACTCCCTCT	135	Bra024634
	Reverse	AGCTCGTCGTAGCTCAAAGC		

Table 3. qRT-PCR primer for carotenoid biosynthetic gene expression

Gene name	Forward /Reverse	Sequence (5'-3')	Size	Locus name
PSY	Forward	GCTATCTACGTTTGGTGCAG	157	Bra008569
	Reverse	AAATGGCTGAATATCGACAG		
PDS	Forward	ATCTTCCGTAGTGCTCCTC	154	Bra032770
	Reverse	GTTTCATACCAATCTCCATC		
ZDS	Forward	TTACTACCCAAAGAATGGCG	187	Bra040411
	Reverse	AAAACAGGAGAAATCAGCAT		
LCYB	Forward	AACATATCCAAGAGAGGATG	205	Bra034137
	Reverse	CCACCATGTAACCTGTAGAA		
LCYE	Forward	CGCTACAGGCTTCAGTTG	160	Bra034233
	Reverse	ATGCTCTTTGTCGTTTCCTT		
CHXB	Forward	CAGAGAAAACAAGCTCTCTGCA	190	Bra024153
	Reverse	CATCTGCCAAGGAATCGGT		
ZEP	Forward	AGACTTAAGCGCCATAAGAG	154	Bra004686
	Reverse	ACTTGACATACGAAGTGCCA		
NCED	Forward	ACCAAGTTCGCTTACCTCGC	160	Bra004867
	Reverse	CATCGTCTTCTGCTCCCTCA		

(3) 글루코시놀레이트 함량 분석

글루코시놀레이트 추출 방법은 ISO 9167-1(1992)에 의하여 DEAE-Sephadex A-25를 통하여 H⁺ 형태로 활성화 한 뒤, aryl sulfatase에 의해 desulfation하여 분석하는 방법이 널리 사용되고 있다. 본 연구에서도 동일한 방법을 이용하였다. 15 mL tube에 100 mg씩 평량한 분말시료에 70° C로 가열한 70% (v/v) MeOH 1.5 mL를 넣고 진동혼합 한 후 70° C의 항온수조에 2분 동안 반응하였다. 원심분리 (12,000 rpm, 10 min, 4° C) 후 상층액을 수거하고 이와 같은 과정을 총 3회 반복하여 하나로 합한 후 HPLC 분석의 시료로 사용하였다. 정제를 위해 sodium acetate로 활성화된 mini-column 충전용 DEAE-Sephadex A-25를 1 mL pipette tip 에 충전시킨 후 조추출물을 pasteur pipette으로 로딩 하였다. 총 3회 용출시킨 시료는 0.45 μm hydrophilic PTFE millipore filter로 필터링한 후 vial병에 넣어 냉장보관 하였다. Inertsil ODS-3 column (150 × 3.0 mm i.d., particle size 3 μm)을 장착한 Agilent 1260 Series HPLC Systems이 HPLC 분석에 사용되었다.

(4) 카로티노이드 함량 분석

0.1% ascorbic acid과 3 mL 에탄올 용액에 85°C 5분 동안 샘플을 반응시켜 추출한 후 지방산을 제거하기 위해 potassium hydroxide (120 μL, 80% w/v)를 처리하여 saponification 하였다. 얼음에 샘플을 옮긴 후 1.5mL의 증류수를 처리하고 1.5mL의 hexane을 처리하여 물질을 추출하였다. C30 YMC column (250×4.6 mm, 3 μm; YMC Co., Japan)을 장착한 Agilent 1100 HPLC instrument (France)를 사용하여 HPLC 분석을 수행하였다.

다. 연구 결과

(1) 배추 내서성, 이서성 라인 선발

제 4세부과제 박수형박사 연구팀의 도움을 받아 배추 소포자 배양 라인 중 노지 재배 시 내서성, 이서성 표현형을 보이는 13-FD19, 13-FD47, 13-FD41, 13-FD49, 13-FD54의 5 라인을 분양 받아 실험에 사용하였다. 실험실 내 통제된 환경에서 열처리 조건을 확립하기 위해 기존의 논문을 참고하여 38°C 24시간, 46°C 1시간의 두 가지 조건을 먼저 테스트 하였다. 그 결과 46°C 1시간 처리한 실험군에서 열처리 후 약 4일만에 내서성, 이서성 라인간 표현형의 차이가 현저히 나타나는 것을 관찰하였다 (그림 3).

(A)



(B)



(C)



(D)



Figure 3. Chinese cabbage with heat shock treatment at 46°C for 1hr. 시간 처리 후 1, 4, 6, 24일 경과된 소포자 배양 DH 라인. (A) 1 day after heat shock treatment, (B) 4 days heat shock treatment, (C) 6 days after heat shock treatment, (D) 24 days after heat shock treatment

열처리 후 4일째 다섯 개의 라인 중 13-FD47이 가장 빨리 잎이 고사하는 이서성 표현형을 보였고 13-FD19와 13-FD54는 열처리 4일 후 잎이 노랗게 변하기 시작하였다. 반면 13-FD41과 13-FD49는 아직 열처리 후 24일이 경과되어도 잎의 색이 변하거나 고사하지 않는 내서성 표현형을 보였다. 따라서 열처리 후 글루코시놀레이트, 카로티노이드의 함량을 비교 분석하기 위해 가장 내서성 표현형을 보이는 13-FD49 라인과 가장 이서성 표현형을 보이는 13-FD47 라인을 선발하여 유전자 발현 분석과 물질 함량 분석에 사용하였다.

(2) 고온처리 후 heat shock과 글루코시놀레이트 합성관련 유전자 발현 분석 및 글루코시놀레이트 함량 분석

13-FD47과 13-FD49 라인을 충남대학교 농장에 유리온실에서 약 두 달간 재배 하여 이미 확립한 조건과 동일하게 압조건 46°C 1시간 고온처리를 하였고 유전자 분석과 물질 함량의 변화를 분석하기 위해 처리 후 0, 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72 시간에 각각 샘플을 채취하였다. 샘플링 후 RNA를 추출하여 열처리 후 heat shock과 글루코시놀레이트 합성관련 유전자 발현 양상을 분석하였다 (그림 4, 5).

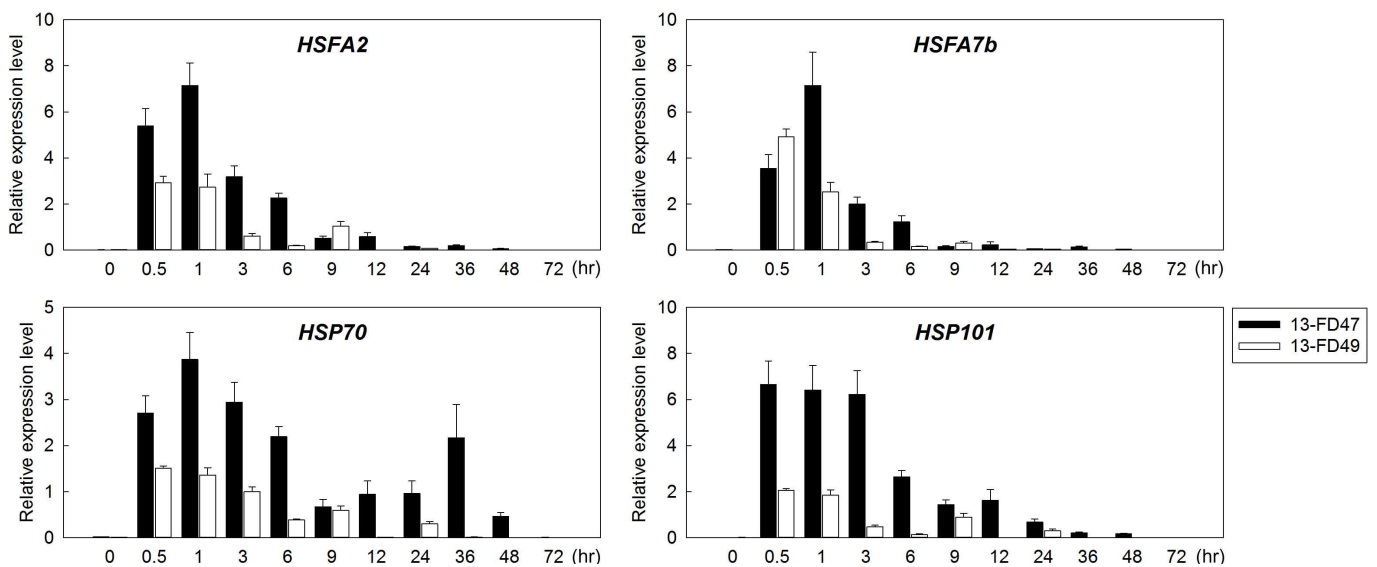


Figure 4. Expression of heat shock genes after heat shock treatment in Chinese cabbage, 13-FD47 and 13-FD49 lines

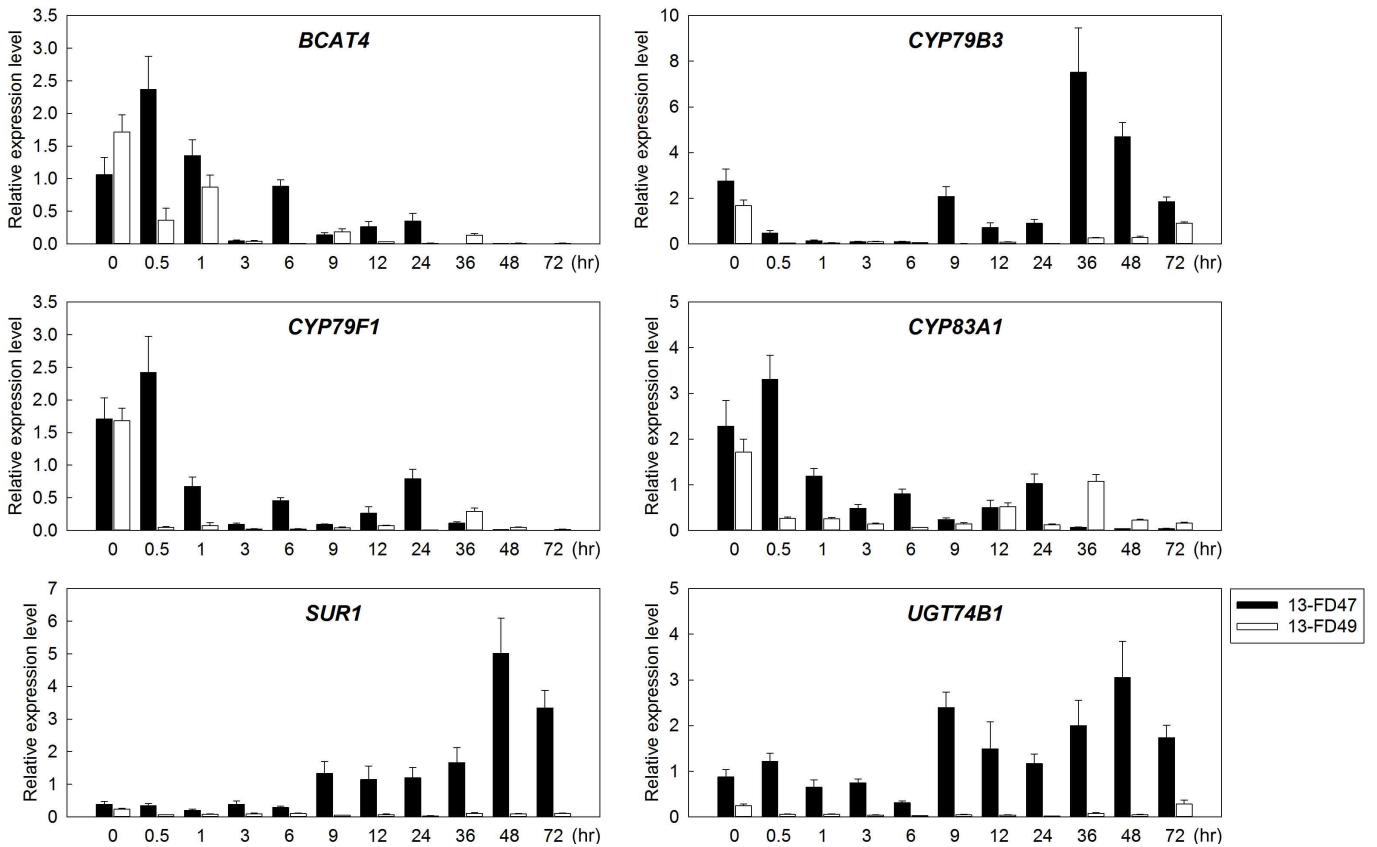


Figure 5. Expression of glucosinolate biosynthetic genes after heat shock treatment in Chinese cabbage, 13-FD47 and 13-FD49 lines

기존에 알려진 애기장대의 heat shock 유전자와 높은 상동성을 보이는 배추 유전자를 분리하여 qRT-PCR로 발현을 분석한 결과 13-FD47과 13-FD49 라인 모두에서 heat shock 관련 유전자의 발현이 고온처리 후 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 특히 13-FD47 라인에서 모든 유전자의 발현이 매우 크게 증가된 것을 확인하였는데 이것은 동일한 고온처리를 받았지만 13-FD47 라인이 heat stress를 더 크게 인식했기 때문으로 생각된다. 글루코시놀레이트 합성 관련 유전자 발현 분석 결과도 또한 13-FD47과 13-FD49간에 뚜렷한 차이를 보였다. 13-FD49 라인에서는 고온처리 후 대부분의 유전자가 발현이 감소하거나 별다른 변화를 보이지 않았다. 이것은 고온 처리 후 글루코시놀레이트의 합성이 식물 내에서 저해되었다는 것을 의미한다. 이 서성 라인인 13-FD47 라인에서도 동일한 양상이 나타났지만 흥미롭게도 약 36시간 후 인돌계 글루코시놀레이트 합성과 관련된 유전자의 발현이 크게 증가된 것을 관찰하였다. 고온처리 48시간 후 육안으로 뚜렷하게 잎이 고사하는 표현형이 나타난 것을 관찰하였기 때문에 이것은 식물 조직이 파괴되면서 인돌계 글루코시놀레이트 합성경로가 증가되었기 때문인 것으로 생각된다. 반면 글루코시놀레이트의 함량은 유전자의 발현양상과 다소 차이를 보였다 (그림 6, 7).

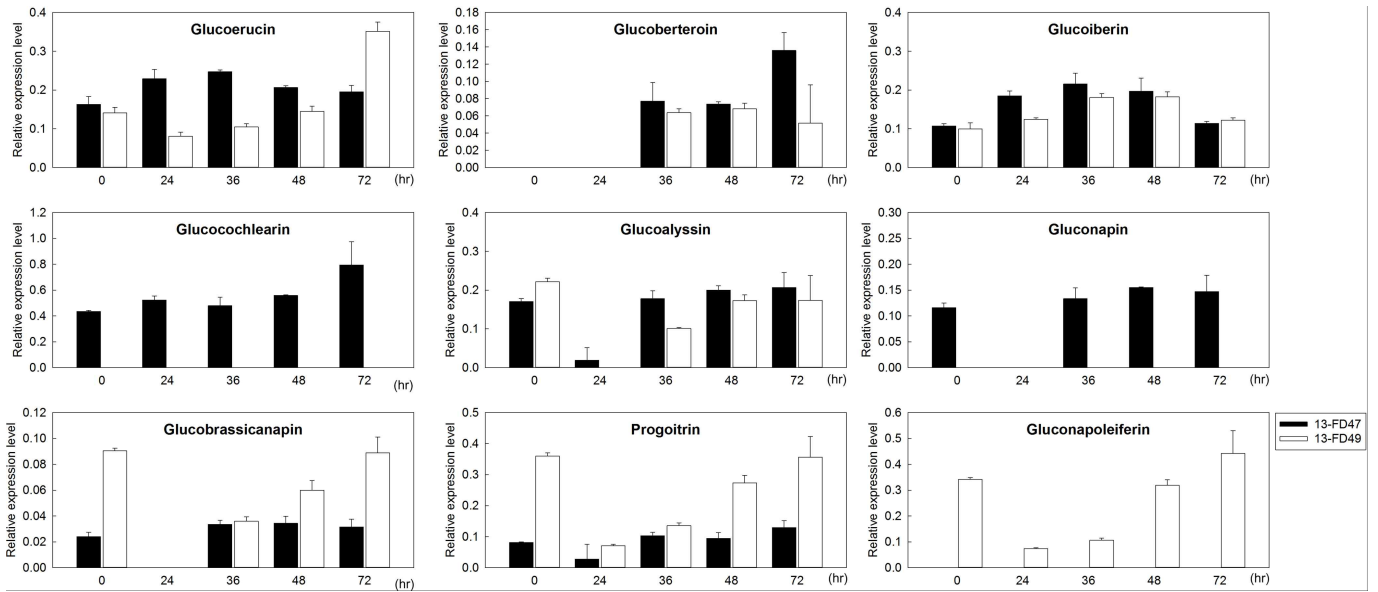


Figure 6. Content of aliphatic glucosinolate after heat shock treatment in Chinese cabbage, 13-FD47 and 13-FD49 lines

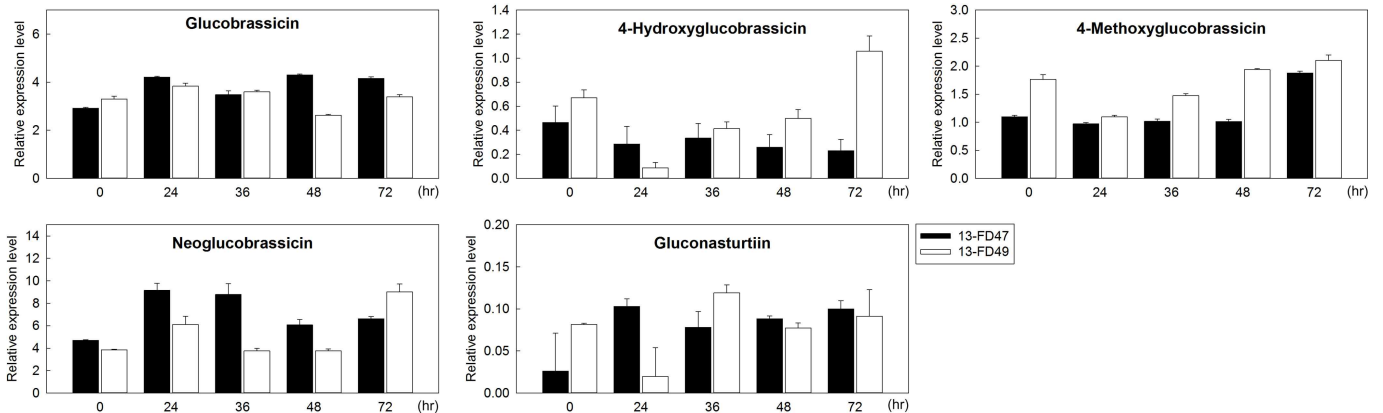


Figure 7. Content of indolic and aromatic glucosinolate after heat shock treatment in Chinese cabbage, 13-FD47 and 13-FD49 lines

글루코시놀레이트 함량 분석 결과 고온처리 후 24시간 내 함량이 크게 감소된 것을 확인 할 수 있었다. 특히 지방족 글루코시놀레이트의 함량이 크게 감소되었는데 glucoerucin, glucoalyssin, glucobrassicinapin, progoitrin, gluconapoleiferin의 함량이 13-FD49 라인에서 24시간째 감소되었다가 다시 점차 함량이 증가하는 양상을 보였다. 이는 13-FD49 라인에서 고온 스트레스를 받은 후 회복되는 기작에 따라 글루코시놀레이트의 함량도 함께 회복되었을 가능성을 시사한다고 할 수 있다. 유전자 발현 분석 결과에서는 지방족 글루코시놀레이트 합성에 관련된 유전자 중 *CYP79F1*, *CYP83A1*의 경우 고온처리 후 오히려 감소하는 양상을 보였고 *SURI*와 *UGT74B1*의 발현이 각각 48시간과 9시간 후 증가하는 양상을 보였기 때문에 이들 유전자의 발현 증가에 따라 물질의 함량이 다시 증가했을 가능성이 있다. 하지만 이런 양상은 13-FD47 라인에서만 나타났고 13-FD49 라인에서는 발현이 증가되지 않았기 때문에 고온처리

후 합성 관련 유전자 보다 글루코시놀레이트의 분해에 관련된 myrosinase의 활성이 변화하여 글루코시놀레이트의 함량이 감소되었을 가능성이 더 크다고 할 수 있다. 또는 sulfur metabolism과 같은 글루코시놀레이트의 합성에 limiting factor로 작용하는 물질의 합성과 대사가 고온처리에 의해 변화하면서 글루코시놀레이트의 합성에도 영향을 미쳤기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 현재 고온처리 후 일차대사산물의 변화와 myrosinase 합성 관련 유전자의 발현과 단백질의 활성을 변화가 글루코시놀레이트 합성 경로에 어떤 영향을 미쳤는지 확인하는 실험을 진행하고 있다. 고온처리 후 식물이 스트레스에 따른 손상을 회복되는 과정에서 글루코시놀레이트의 합성 및 분해가 어떻게 조절되는 지 sulfur metabolism과 myrosinase의 활성 변화에 초점을 맞추어 분석하고 있다.

(3) 고온처리 후 카로티노이드 합성관련 유전자 발현 분석

한편 카로티노이드 합성관련 유전자는 일부 유전자가 고온 처리 후 발현이 증가되는 것을 관찰할 수 있었다 (그림 8). 특히 이 효과는 고온처리를 심하게 받은 13-FD47 라인에서 눈에 띄게 관찰되었다. *PDS*, *ZDS*, *LCYB*, *LCYE*, *CHXB*, *ZEP*의 발현이 고온처리 후 약 0.5시간 만에 증가되었으며 *PDS*, *ZDS*의 경우 13-FD49에서도 동일한 양상이 나타났지만 13-FD47 라인에서 훨씬 현저하게 나타난 것을 확인하였다. 고온 스트레스에 따른 카로티노이드의 합성 관련 유전자의 발현은 고온 스트레스의 반응 정도와 비례하여 변화하는 것으로 생각된다.

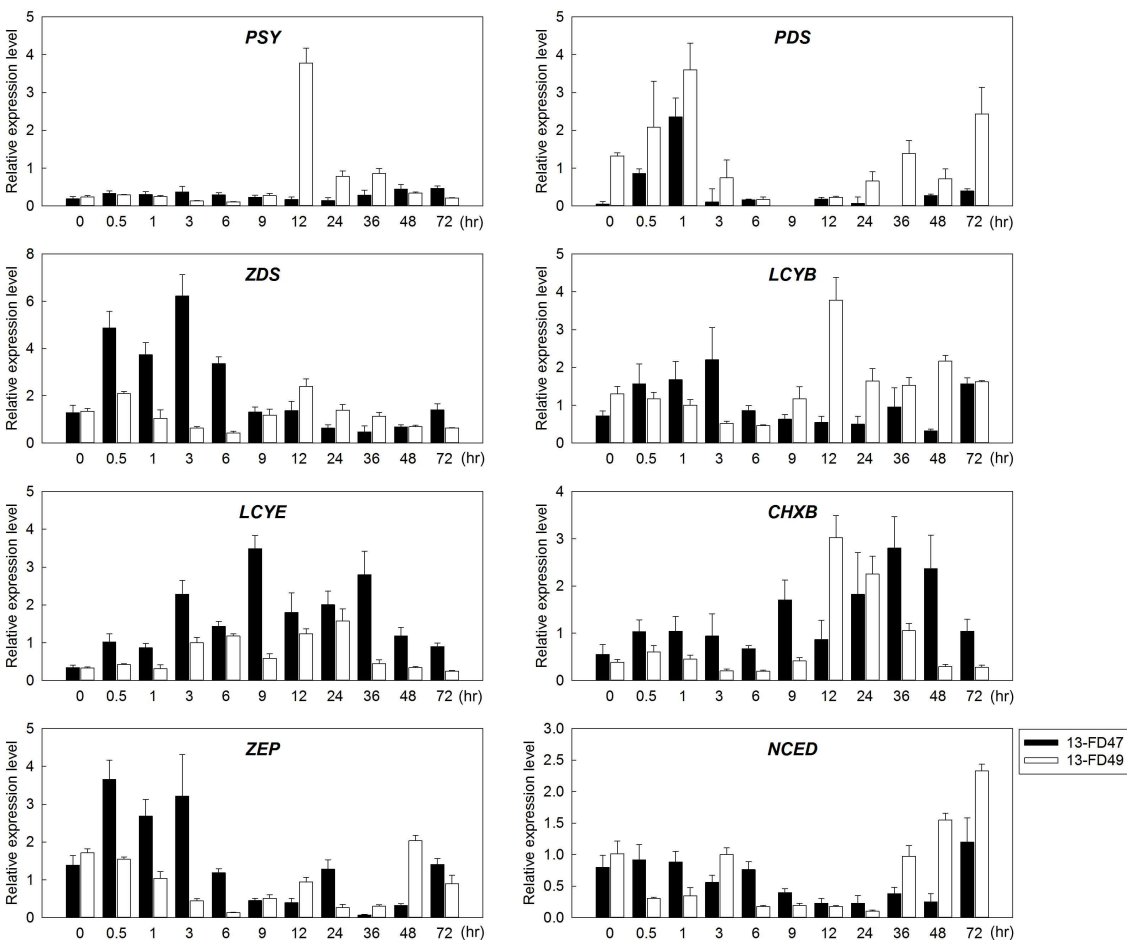


Figure 5. Expression of carotenoid biosynthetic genes after heat shock treatment in Chinese cabbage, 13-FD47 and 13-FD49 lines

7. LED 식물 공장에서 다른 빛 조건 처리에 따른 페닐프로파노이드, 아스코르빈산, 리보플라빈 합성 경로 변화 분석과 배추 부위별 함량 비교 분석

가. 연구의 필요성

페닐프로파노이드는 식물이 항산화 활성을 갖도록 하는데 가장 중요한 역할을 한다고 알려진 대표적인 이차대사산물이다. 페닐프로파노이드와 아스코르빈산은 식물이 항산화 활성을 갖도록 하는데 가장 중요한 역할을 한다고 알려진 대표적인 이차대사산물이다 (Cheynier, 2005). 동물에서 항염, 간보호, 항암 작용등의 역할을 한다고 알려져 있고 (Middleton et al., 2000) 식물 내에서도 다양한 biotic, abiotic 스트레스에 식물을 보호하는 역할을 한다고 알려져 있다 (Dixon and Paiva, 1995).

페닐프로파노이드와 아스코르빈산, 리보플라빈의 생합성 경로는 다음과 같다고 알려져 있다 (Figure 1, 2, 3).

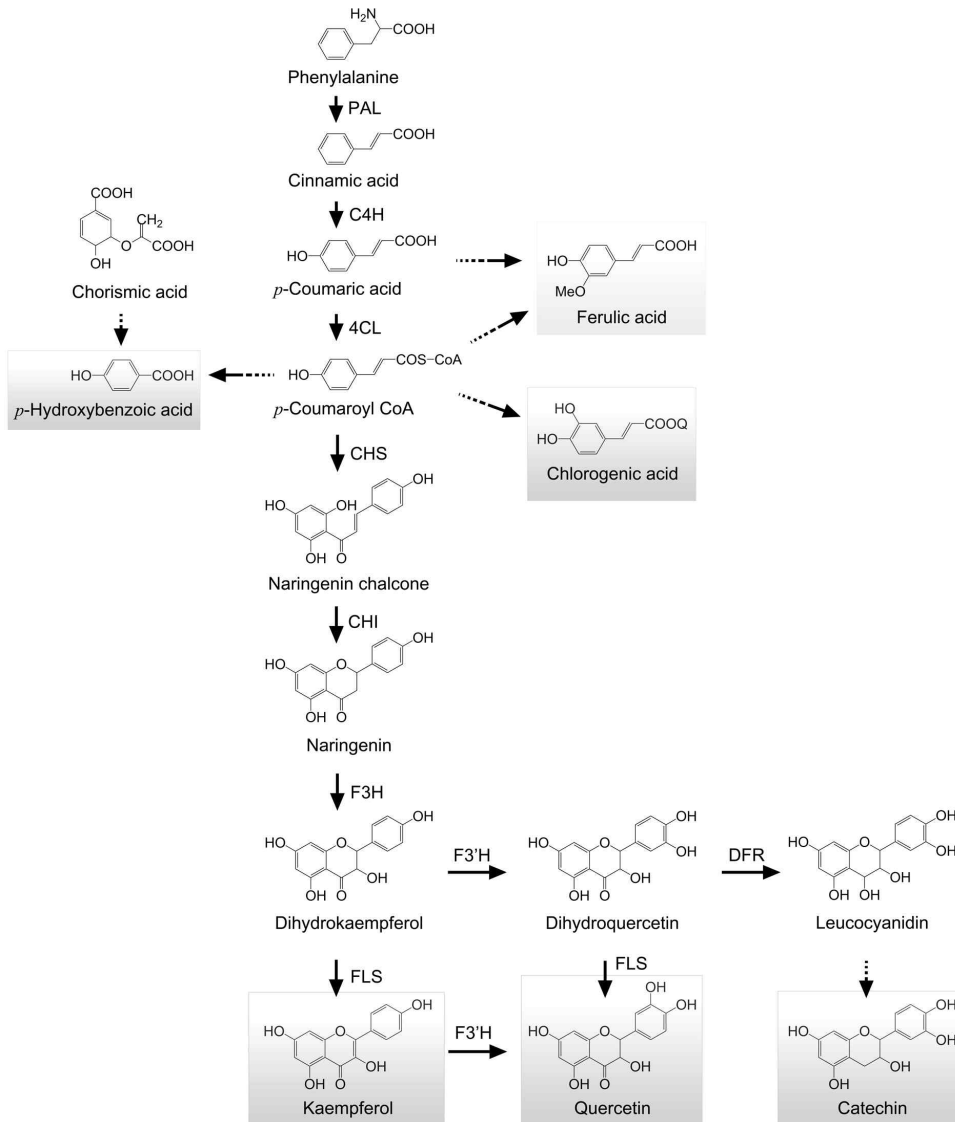


Figure 1. Phenylpropanoid biosynthesis in Brassica

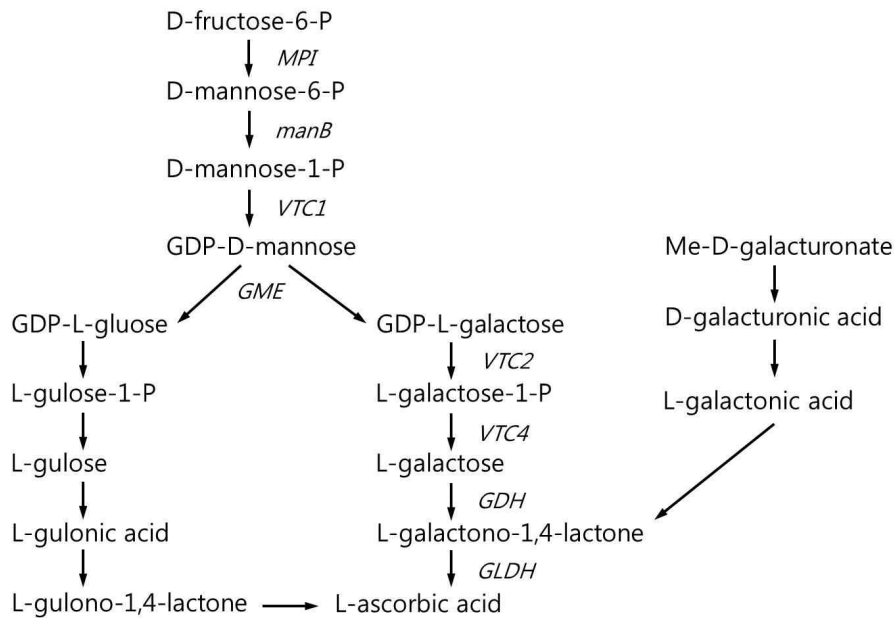


Figure 2. Ascorbic acid biosynthesis in Brassica

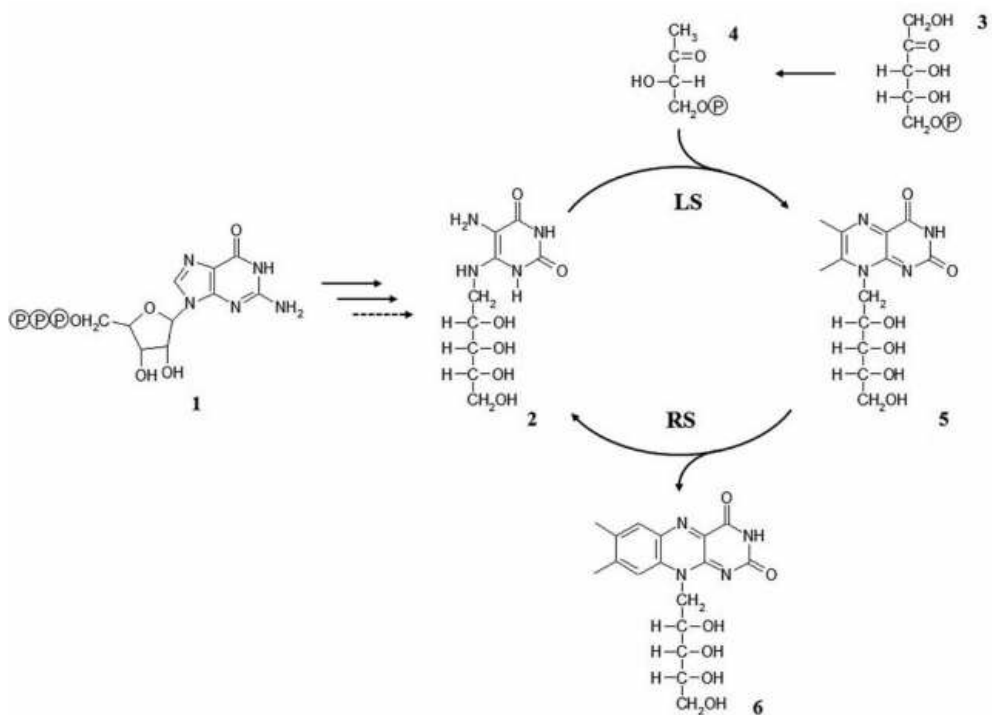


Figure 3. riboflavin biosynthesis in Brassica

1, GTP; 2, 5-amino-6-ribitylamino-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione; 3, ribulose 5-phosphate; 4, 3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate; 5, 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine; 6, riboflavin; LS, lumazine synthase; RS, riboflavin synthase.

페닐프로파노이드는 페닐알라닌의 전구체를 cinnamic acid로 전환하는 PAL 효소에 의해 합성이 시작된다고 알려져 있으며 그 외 CH4, 4CL, CHS, CHI, F3H, F3'H, FLS, DFR, LAR, ANS 등의 효소에 의해 다양한 페닐계 화합물과 안토시아닌이 합성된다고 알려져 있다 (Tanaka et al.,

2008). 한편 아스코르빈산은 D-fructos-6-P를 D-mannose-6-P로 전환하는 반응으로부터 합성된다고 알려져 있다. 식물에서는 mannose가 galactose로 전환되며 최종적으로 아스코르빈산이 합성된다고 알려져 있다 (Smirnoff, 2000). 리보플라빈은 5-amino-6-ribitylamino-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione이 LS와 RS 효소에 의해 riboflavin으로 전환되는 경로만 알려져 있다.

기존 연구는 주로 페닐프로파노이드와 아스코르빈산, 리보플라빈의 합성 경로를 조절하는 유전자가 동정하는 것에 초점을 맞추어 수행되었고 합성 경로에 영향을 미치는 환경 조건에 대한 연구는 부족한 실정이다. 또한 이용되는 부위에 따라서 물질함량의 차이가 크다고 알려져 있지만 배추의 부위에 따라 고기능성 물질의 함량이 어떻게 다른지에 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고기능성 물질인 페닐프로파노이드와 아스코르빈산, 리보플라빈의 합성 경로에 영향을 미치는 환경인자를 시험하고 고기능성 고품유 배추 재배 조건을 확립하기 위해 다양한 빛 조건과 부위 별 물질 함량을 분석하였다.

나. 재료 및 방법

페닐프로파노이드와 아스코르빈산, 리보플라빈 생합성 관련 유전자의 분석은 상기 실험과 동일한 조건에서 qRT-PCR 분석을 통해 수행되었다. qRT-PCR 분석에 사용된 primer는 표 1, 2, 3과 같다.

Table 1. qRT-PCR primer for phenylpropanoid biosynthetic gene expression

Primer	Sequence (5' → 3')	Size (bp)
PAL-RT (F)	AAGCCGGAGTTCACCGATCA	100
PAL-RT (R)	ACGAGCTCCCGTCGAGAATG	
C4H-RT (F)	ATCCTGGTCAACGCCTGGTG	145
C4H-RT (R)	GTCCAACACCAAACGGCACA	
4CL1-RT (F)	CCCAATCACCTCCCTCTCCAC	133
4CL1-RT (R)	GCGACATGGACGTCGGAGTAA	
4CL2-RT (F)	ATGTCCACACGAGAAGAGACGGTC	150
4CL2-RT (R)	TGATCAAGCAAGGCTTTGCG	
4CL3-RT (F)	GGCCAAGAACCCAAGTGTTA	179
4CL3-RT (R)	ACCCAAGGCTCATTGACAAC	
CHS-RT (F)	AGGAAACGCCACATGCACCT	114
CHS-RT (R)	AGGGACTTCGACCACCACGA	
CHI-RT (F)	TCTCCGTCCCGTCACTCTCC	133
CHI-RT (R)	AACGGCAGCTTCATCGTCACTT	
F3H-RT (F)	CAAGCCACACGAGACGATGG	110
F3H-RT (R)	TTGAACCTCCCGTTGCTCAGA	
F3'H-RT (F)	GCCGGAGAAGCTGAACATGG	117
F3'H-RT (R)	TAAGCCGACCCGAGTCCGTA	
FLS-RT (F)	TCCTTCCGCCGTCATTGTTC	141
FLS-RT (R)	TCACGGTGTGGCTCCAAGAA	
DFR-RT (F)	GGACAAAGTTCCGGGCAGTG	140
DFR-RT (R)	TCTGCTGTGCCGACATGTGA	
EF-1-á F	ATACCAGGCTTGAGCATACCG	117
EF-1-á R	GCCAAAGAGGCCATCAGACAA	

Table 2. qRT-PCR primer for Ascorbic acid biosynthetic gene expression

Primer	Sequence (5' → 3')	Size (bp)
MPI-1-RT (F)	CTTGGAGACAGGGTTTTGGA	124
MPI-1-RT (R)	TTTCTTCGCTCCCAACAAGT	
MPI-2-RT (F)	TGGAGAAATGGGGTTGTGAT	157
MPI-2-RT (R)	TGCTTCTTCACTCCCAACAA	
manB-RT (F)	AGTTCGAAAAGCAGCAGGAG	184
manB-RT (R)	AGCAGCGGACCTATCAACAT	
VTC1-1-RT (F)	GGAGAGCCCTTCTTTGTCCT	164
VTC1-1-RT (R)	AAATCCCAGCGTTGATCTTG	
VTC1-2-RT (F)	AAACTGGTTGACGGATCTGG	129
VTC1-2-RT (R)	CCGACGGGTTCAGAAGATAA	
VTC1-3-RT (F)	TGCTGGTCCTCTGGCTTTAG	110
VTC1-3-RT (R)	AGCTTTGGCTTCTCCACAAA	
GME-1-RT (F)	ATCGAGGCTGCTAGGATCAA	184
GME-1-RT (R)	TCCCGAAAGGACCGTAAATG	
GME-2-RT (F)	TCCTCTGGGAAACACAGGTC	207
GME-2-RT (R)	TAACGTCCACACTTGGTTGC	
VTC2-1-RT (F)	ATGCCTCTTGACGCTGAGAA	171
VTC2-1-RT (R)	TGGAAGGAGCTTTCTCTAATGG	
VTC2-2-RT (F)	GGCTTCCGTTGTACTCTTGC	201
VTC2-2-RT (R)	ACCTTGTCACACGGAATC	
VTC2-3-RT (F)	TCCCGTTGTACGTCTGCAAG	178
VTC2-3-RT (R)	TTGTTGCCATCGAAAGACTG	
VTC4-1-RT (F)	TGCTGGAGAGCATGTGTTTC	134
VTC4-1-RT (R)	CCTCCACGAACAACCTCTTG	
GDH-1-RT (F)	AAGAGCAAAGGTGTGGGTGT	195
GDH-1-RT (R)	CTCTGAGACAGAGCCCATCC	
GDH-2-RT (F)	TCCTCTGGGAAACACAGGTC	142
GDH-2-RT (R)	TAACGTCCACACTTGGTTGC	
GLDH-RT (F)	TGGACTTGGAGTTGTTGCTG	135
GLDH-RT (R)	TGGACTTGGAGTTGTTGCTG	
EF-1-á F	ATACCAGGCTTGAGCATAACCG	157
EF-1-á R	GCCAAAGAGGCCATCAGACAA	

Table 3. qRT-PCR primer for riboflavin biosynthetic gene expression

Primer	Sequence (5' → 3')	Size (bp)
LS-1-RT (F)	TGAGGTTGTGACGAAGTTGC	187
LS-1-RT (R)	AACGGCATTGAATTTTCTTG	
RS-RT (F)	TGACGAGGACAGCTGCTTTA	145
RS-RT (R)	AGACCTGGGGAGTGTGTTG	

페닐프로파노이드와 아스코르빈산, 리보플라빈 물질 분석은 본 실험실에서 확립된 기존 방법을 적용하여 수행되었다 (Thwe et al., 2014).

다. 연구 결과

(1) LED 식물 공장에서 다른 빛 조건 처리에 따른 페닐프로파노이드 합성 경로 변화 및 페닐프로파노이드 함량 분석

LED 성장상을 이용하여 다른 빛 조건 하에 재배된 배추에서 고기능성 물질인 페닐프로파노이드의 합성경로가 어떻게 변화하는 지 조사하고 물질의 합성을 촉진하는 재배 조건을 확립하고자 하였다. 이를 위해 발아한 배추를 백색, 청색, 적색 LED가 부착된 성장상에서 약 12일 간 재배하여 합성에 관련된 유전자의 발현을 조사하고 물질 함량의 변화를 분석하는 실험을 수행하였다. 유묘에서 뿌리를 포함한 전 부위의 함량을 분석하기 위해 버미큘레이트에 배추를 파종하였고 16/8시간의 광주기를 갖는 성장상에서 발아시킨 후 LED 성장상으로 옮겨 각각 다른 빛 조건에서 재배하였다. LED 처리 후 6, 9, 12일 후 샘플을 채취하였고 액체질소를 이용하여 동결 후 RNA 추출과 물질 분석에 사용하였다. QRT-PCR 분석에 의한 페닐프로파노이드 합성 관련 유전자의 발현 분석 결과는 그림 4와 같다.

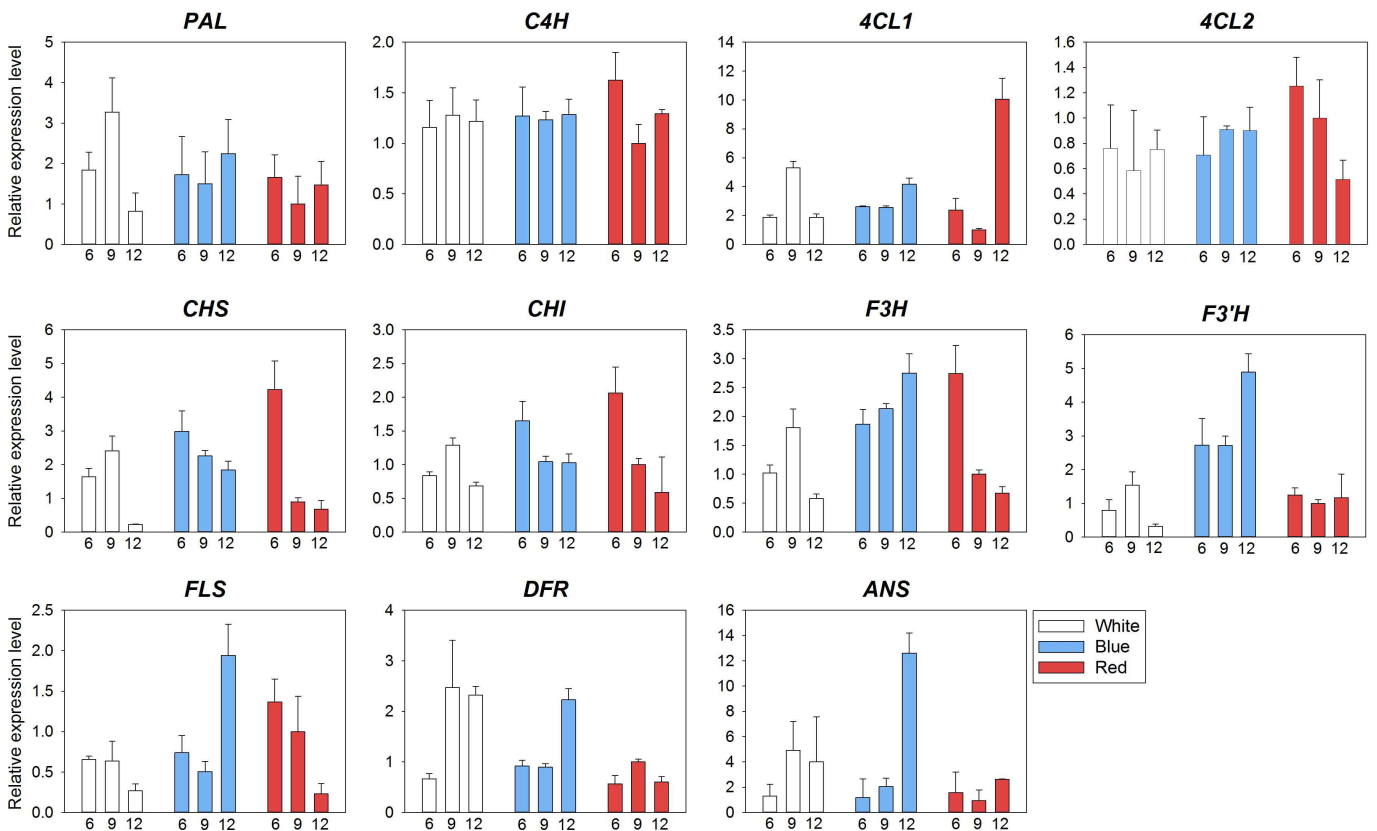


Figure 4. Phenylpropanoid biosynthetic gene expression in Chinese cabbage with white, blue, red LED treatment

분석 결과, 백색 LED에 의해 페닐프로파노이드 합성 경로의 하위 유전자인 *DFR*, *ANS*의 발현이 크게 증가되는 것을 확인하였다. 반면 청색 LED에 의해서는 LED 처리 12일 경과 후 *F3' H*, *FLS*, *DFR*, *ANS*의 발현이 크게 증가되었고 합성 경로의 상위 조절 유전자인 *PAL*, *CAH*, *4CL1*, *4CL2*, *CHS*, *CHI*의 발현은 별다른 변화를 보이지 않았다. 적색 LED 처리에 의해서는 처

리 6일 후 *C4H*, *4CL2*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *FLS*의 발현이 가장 크게 증가된 후 감소하는 양상을 보였다. 물질 함량 분석 결과도 유전자의 발현 결과와 일치하는 양상을 보였다 (표 4).

Table 4. Phenylpropanoid content in Chinese cabbage with white, blue, red LED treatment

		<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	chlorogenic acid	ferulic acid	quercetin	kaempferol
White	6days	22.1±0.96	23.3±0.74	4.37±0.01	1.36±0.26	3.2±0.96
	9days	3.17±0.13	23.84±0.34	3.35±0.13	0±0	1.94±0.23
	12days	9.14±2.74	29.13±6.38	4.53±1.4	0±0	7.71±1.23
Blue	6days	26.02±1.99	25.41±0.33	5.51±0.49	0±0	1.7±0.28
	9days	37.13±0.81	26.93±0.16	5.34±2.63	0±0	4.53±0.01
	12days	49.06±2.15	27.34±2.35	10.6±2.01	4.8±0.59	7.48±0.91
Red	6days	4.03±1.34	26.57±1.2	7.11±1.91	2.61±0.87	2.57±1.03
	9days	3.69±1.09	27.61±0.04	6.42±2.83	2.43±0.08	4.42±3.20
	12days	3.48±1.41	26.69±0.01	19.52±1.47	4.51±0.14	4.25±0.86

페닐프로파노이드의 함량이 가장 크게 증가한 조건은 청색 LED였으며 LED 조사 후 4-hydroxybenzoic acid의 경우 약 1.88배, ferulic acid의 경우 약 1.92배, quercetin은 4.8배, kaemferol은 2.63배로 함량이 크게 증가하였다. 반면 백색 LED 처리 후 4-hydroxybenzoic acid와 quercetin의 함량은 오히려 감소하였고 kaemferol의 함량은 처리 전보다 약 2.4배 증가하였다. 적색 LED 처리에 의해서는 ferulic acid의 함량 증가가 두드러졌다. Ferulic acid의 함량이 약 2.74배 증가하여 가장 많은 양이 검출되었고 quercetin과 kaemferol의 함량도 각각 1.72, 1.65배 증가하였다.

청색 LED 처리시에 전체 페닐프로파노이드 함량의 증가폭이 가장 크고 함량도 가장 많이 축적되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 실험을 통해 확립한 식물공장 재배조건을 사용하여 청색 LED를 조사하였을 때 고기능성 물질인 페닐프로파노이드의 함량을 크게 증가시킬 수 있다는 것을 의미한다.

(2) LED 식물 공장에서 다른 빛 조건 처리에 따른 아스코르빈산, 리보플라빈 합성 경로 변화 분석 및 물질 함량 분석

아스코르빈산의 생합성 경로는 일부 식물과 미생물에서 L-glucose를 사용하는 경로를 경유하는 합성 기작이 보고되었지만 배추를 포함한 십자화과 식물에서 L-glucose를 경유하는 경로에 관련된 유전자와 물질이 발견되지는 않았다. 따라서 본 연구에서는 십자화과 작물에 존재하는 MPI, manB, VTC1, GME, VTC2, VTC4, GDH, GLDH의 발현에 초점을 맞추어 아스코르빈산의 합성 경로의 발현 변화를 분석하였다.

(1)번 실험과 동일한 조건에서 재배한 배추에 같은 조건으로 LED를 처리하여 아스코르빈산, 리보플라빈 합성 경로의 변화와 물질 함량의 변화를 분석하였다 (그림 5, 6 표 5). 분석 결과 아스코르빈산 합성에 관련된 대부분의 유전자의 발현량이 청색 LED 처리 후 크게 증가된 것을 확인할 수 있었다. *MPI-1*, *MPI-2*, *ManB*, *VTC1-2*, *VTC1-3*, *GME-1*, *GME-2*, *VTC2-1*, *VTC2-3*, *VTC4-1*, *GLDH*의 발현이 청색 LED 처리 12일 경과 후 현저하게 증가하였다. 반면 백색 LED 처리에 의해서는 VTC4-1과 GLDH의 발현이 조사 12일 후 가장 크게 증가하였고 다른 유전자의 발현은 큰 발현 양상의 차이를 보이지 않았다. 적색 LED 처리 후에는 대부분의 유전자의

발현이 조사 후 6일째에 가장 큰 양상을 보였고 그 이후 오히려 유전자의 발현양이 감소하는 양상을 보였다.

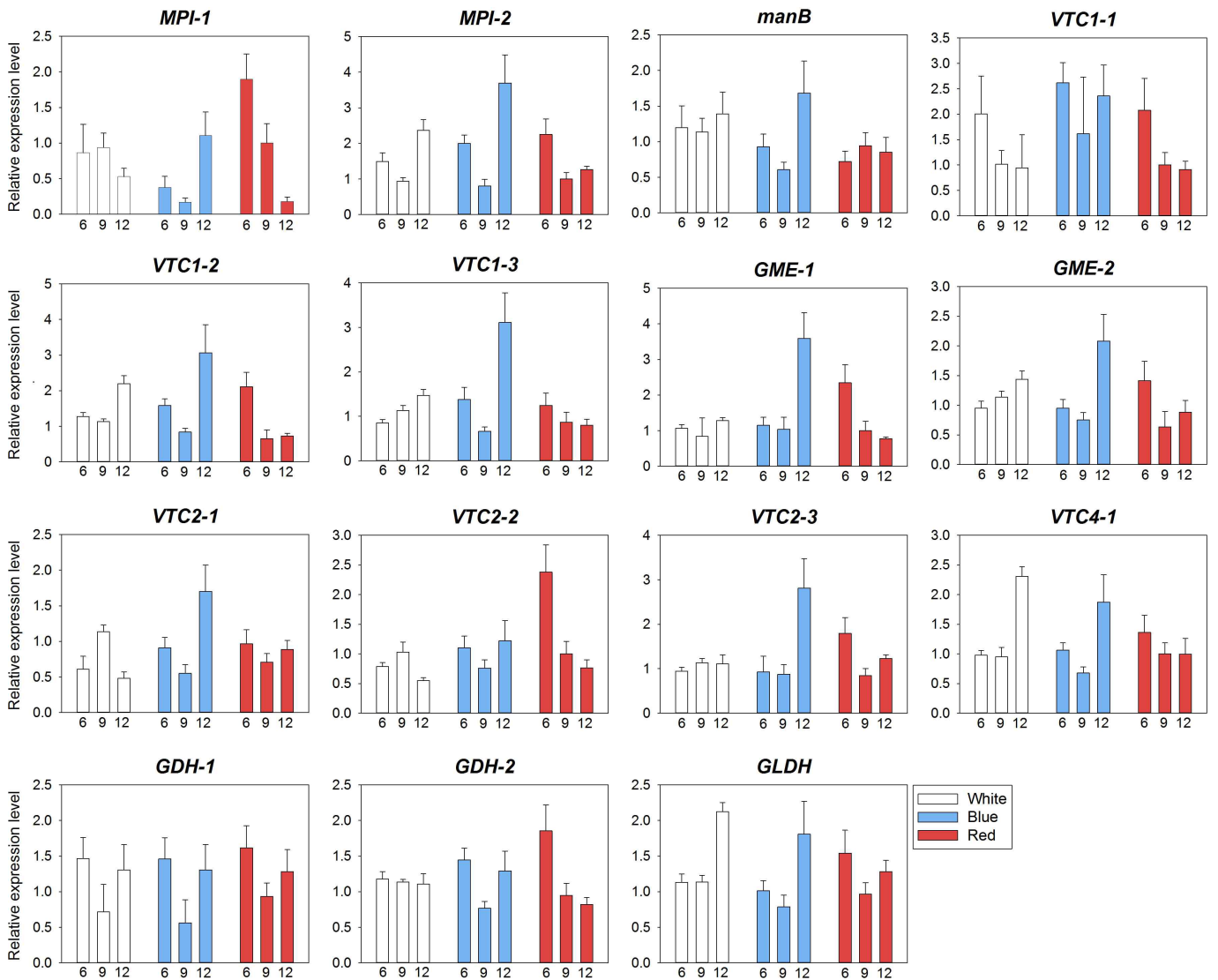


Figure 5. Ascorbic acid biosynthetic gene expression in Chinese cabbage with white, blue, red LED treatment

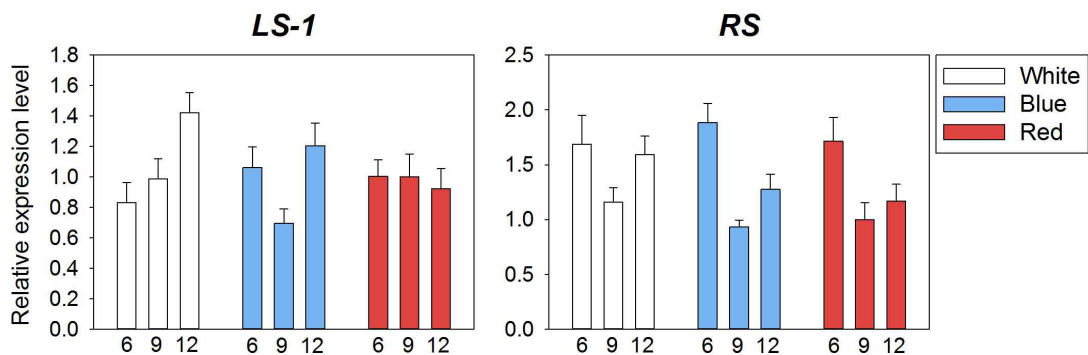


Figure 6. Riboflavin biosynthetic gene expression in Chinese cabbage with white, blue, red LED treatment

리보플라빈 생합성 관련 유전자는 LED 처리 조건에 따라 발현 정도의 차이가 두드러지게 나타나지 않는 양상을 보였다. LS-1의 경우 백색 LED 조사 후 발현이 증가하는 양상을 보였고 RS의 경우 청색, 적색 LED 조사 6일 경과 후 발현이 감소하는 양상을 보였다.

반면 물질 함량 분석 결과는 LED 처리 구간 아스코르빈산 물질함량에 유의한 차이를 보이지 않았다 (표 5). 현재 LED 처리 경과 후 15일, 20일, 25일 쟈 샘플을 확보하여 물질 함량의 변화를 다시 분석할 예정이다.

Table 5. Ascorbic acid content in Chinese cabbage with white, blue, red LED treatment

	ug/mg
red-6days	3.16±0.05
red-9days	3.13±0.04
red-12days	2.26±0.05
blue-6days	3.98±0.06
blue-9days	3.01±0.07
blue-12days	3.11±0.06
White-6days	2.95±0.06
White-9days	3.15±0.04
White-12days	3.05±0.03

(3) 배추 부위별 페닐프로파노이드, 아스코르빈산 함량과 합성 관련 유전자 발현 분석

물질 함량은 식물의 부위에 따라 그 편차가 크다고 알려져 있다. 따라서 고기능성 물질의 축적 양상을 배추 부위별로 비교 분석하였다. 한국에서 가장 많이 소비되는 결구배추를 대상으로 노지에서 약 두 달간 재배한 배추에서 뿌리와 잎, 줄기, 꽃 부분을 수집하여 분석에 사용하였다. 페닐프로파노이드, 아스코르빈산의 함량을 분석하였고 합성 경로 관련 유전자의 발현을 qRT-PCR 분석을 사용하여 비교 분석하였다.

qRT-PCR 분석 결과 페닐프로파노이드 합성에 관련된 유전자의 발현이 대부분 잎에서 가장 크게 나타난 것을 확인하였고 특히 *4CL2*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *F3' H*, *DFR*, *ANS* 유전자에서 같은 양상이 크게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다 (그림 7). 반면 합성 경로 상위 조절 유전자인 *PAL*, *CAH*, *4CL1*의 경우 뿌리에 특이적으로 유전자의 발현이 높은 것으로 확인되었다. 페닐프로파노이드 물질의 함량은 꽃과 잎에서 대부분의 함량이 축적되는 결과를 보였다 (표 6). 이는 유전자의 발현양상과 대체로 일치하는 것으로 상위 유전자의 발현보다는 하위 유전자의 발현에 의해 물질 합성이 주로 조절된다는 것을 의미하는 것이다.

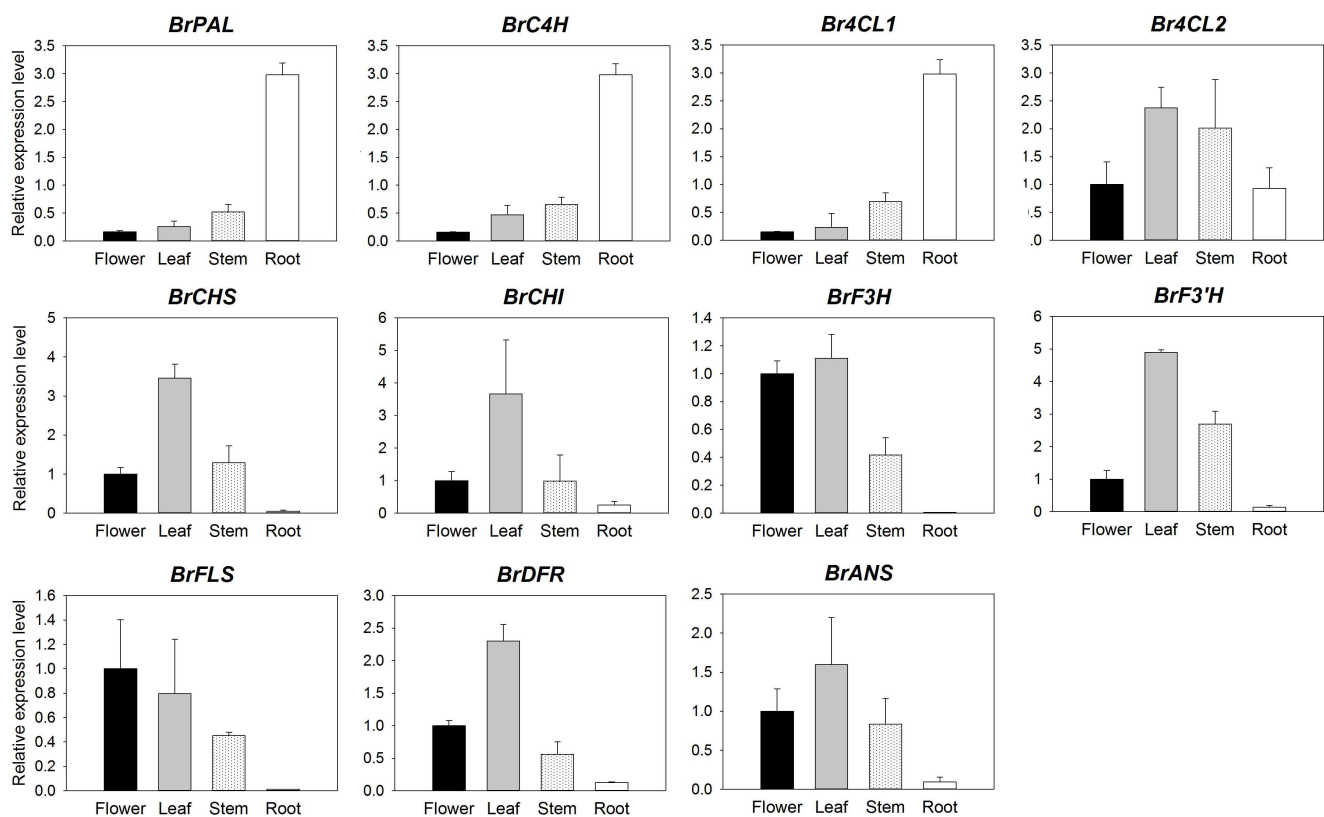


Figure 7. Phenylpropanoid biosynthetic gene expression in different organs of Chinese cabbage

Table 6. Phenylpropanoid content in different organs of Chinese cabbage

ug/g	Flower	Leaf	Stem	Root
p-hydroxybenzoic acid	32.79±2.03	253.25±4.82	0±0	0±0
chlorogenic acid	23.51±6.38	20.48±0.32	15.79±0.64	28.97±0.63
ferulic acid	272.52±2.06	407.27±15.24	95.12±0.4	25.97±0.48
quercetin	339.19±18.87	15.13±5.74	0±0	0±0
kaempferol	678.57±3.05	0±0	0±0	26.21±4.53
catechin	0±0	46.64±0.83	18.23±1.18	8.67±1.1

아스코르빈산 합성 관련 유전자의 경우는 대부분의 유전자의 발현이 꽃, 잎, 줄기에서 증가되어 있는 것을 확인할 수 있었다 (그림 8). *MPI-1*, *MPI-2*, *VTC1-2*, *GME-1*, *GME-2*, *VTC2-1*, *VTC2-2*, *VTC2-3*, *VTC4-1*, *GDH-1*, *GDH-2*, *GLDH*의 발현은 꽃, 잎, 줄기 모두에서 뿌리에 비해 발현이 높은 양상을 보였고 반면 *manB*, *VTC1-1*, *VTC1-3*의 경우 특이적으로 뿌리에서 유전자의 발현이 높은 것을 확인하였다. 현재 배추 부위별 아스코르빈산 물질 함량을 분석 중에 있다.

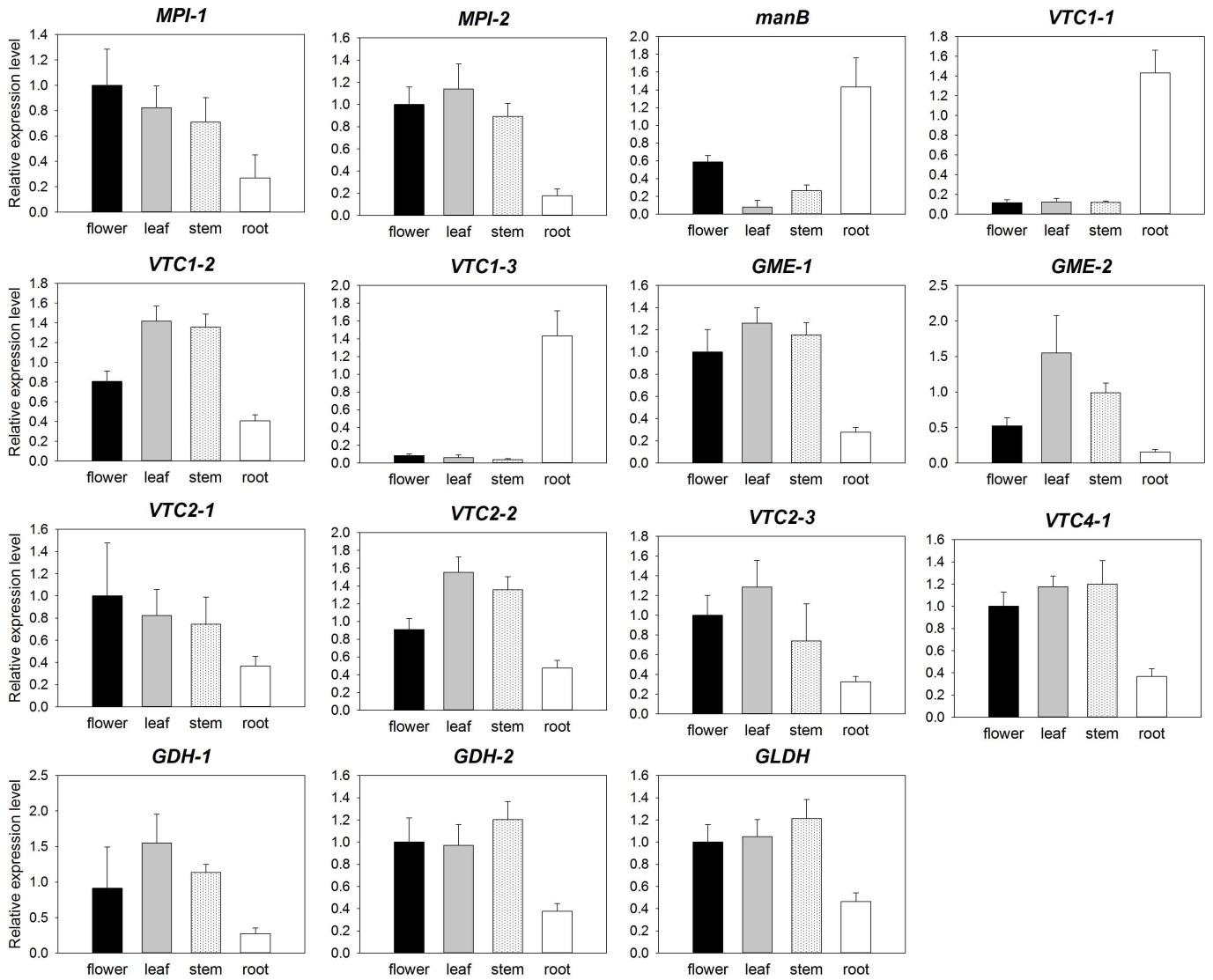


Figure 8. Ascorbic acid biosynthetic gene expression in different organs of Chinese cabbage

리보플라빈은 LS-1의 발현이 줄기에서 높게 나타나는 양상을 보였고 상대적으로 LS-1과 RS 두 유전자의 발현량이 모두 꽃과 뿌리에서 적게 나타나는 양상을 보였다. 현재 배추 부위별 리보플라빈 물질 함량을 분석 중에 있다(그림 9).

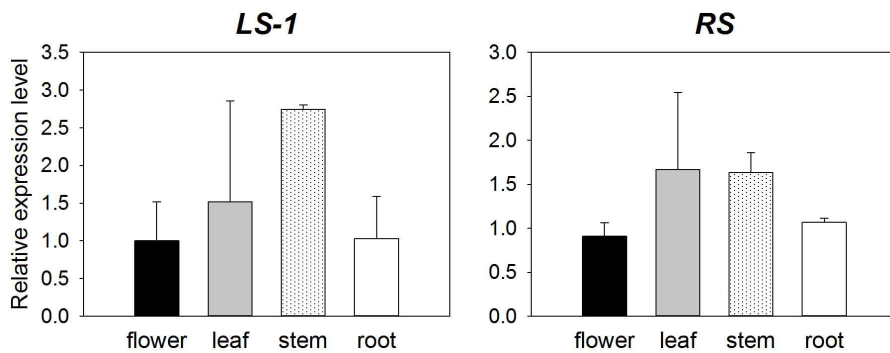


Figure 9. Riboflavin biosynthetic gene expression in different organs of Chinese cabbage

8. 배추 형태적 차이에 따른 이차대사산물의 생합성 비교 분석

가. 연구의 필요성

생물학 분야의 omics가 소개되면서 가장 최근에 관심을 받고 있는 분야가 Phenomics 이다. 피노믹스(Phenomics)는 세포, 조직, 기관, 생명체 등에서 나타나는 물리적, 형태학적, 생리학적, 생화학적 특성, 즉 표현형 전체를 망라하여 계통적으로 해석하는 생물학의 한 분야에서, 최근에는 ICT, 바이오, 광학 기술을 융합한 식물 표현형 개발 기술로서, 자동화 시설에서 식물의 성장 관련 영상 이미지를 획득하고 생물 정보 기술을 융합해 고효율 자동화 식물표현형을 측정, 평가하는 융합기술로 의미가 점차 확대되고 있다.

식물의 형태에 가장 큰 영향을 미치는 것은 대사물질의 생합성이다(그림 1). 특히 일차대사물질이 가장 큰 영향을 미치지만 이차대사산물의 함량 차이에 관한 연구도 미진하여 본 연구를 통하여 시도해 보았다.

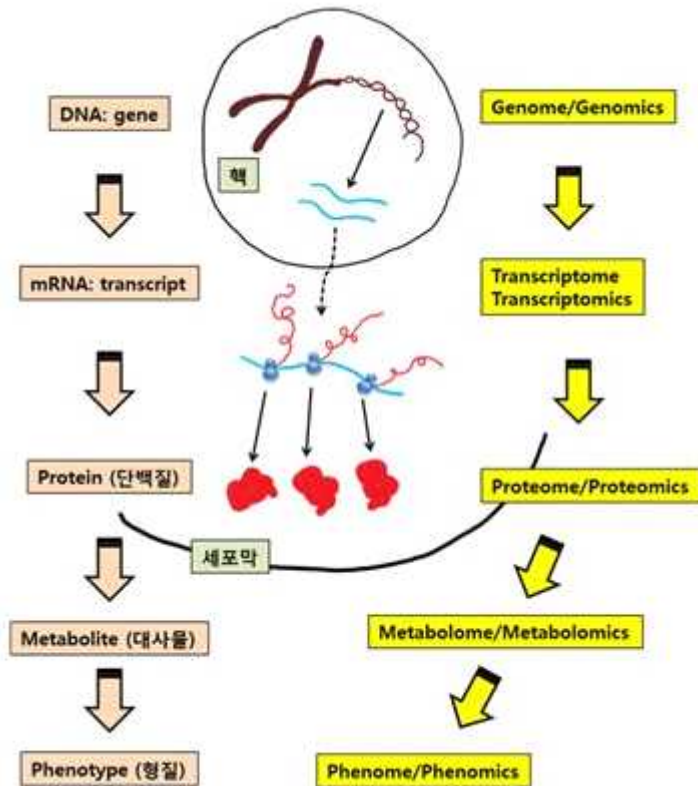


Figure 1. the omics cascade (카이스트 최철희 교수의 세포생물학 자료 인용)

나. 연구 방법

(1) 연구재료

아시아종묘에서 유지하는 일반형배추(Oval type)와 장방형배추(Rectangle type)를 채취하여 형태적인 특성을 조사하였다(그림 2).

(2) Glucosinolate, phenylpropanoid, carotenoid 분석은 이전과 동일함

다. 연구 결과

(1) 형태적 특성조사

일반형배추(Oval type)와 장방형배추(Rectangle type)의 형태적인 특성을 조사한 결과 표 1에 서처럼 장방형 배추가 일반형 배추에 비하여 길이가 길었지만 폭은 좁은 것으로 나타났다. 배추의 무게는 일반형 배추와 장방형 배추가 비슷한 결과를 보였으며, 잎의 수는 일반형 배추가 더 많은 것으로 나타났다.



Figure 2. Two different phenotypes of Chinese cabbage A: rectangle type, B: longitudinal section of rectangle type, C: oval type, D: longitudinal section of oval type

Table 1. Morphological characteristics of rectangle and oval type of Chinese cabbage.

Phenotype	Head weight (kg)	Height (cm)	Width (cm)	The number of leaves
Rectangle type	2.12 ± 0.23	48.80 ± 1.64	12.20 ± 1.10	39.60 ± 2.61
Oval type	2.21 ± 0.23	25.25 ± 3.86	18.75 ± 1.50	64.00 ± 6.58

일반형배추(Oval type)와 장방형배추(Rectangle type)의 이차대사산물의 생합성 특성을 조사한 결과, 글루코시놀레이트 함량은 표 2와 같다. Gluconapoleiferin 함량은 장방형배추(Rectangle type)가 일반형배추(Oval type)에 비하여 2배 정도 높았으며, gluconapin 함량은 일반형배추가 장방형배추 보다 3배 정도 높았다. 4-Hydroxyglucobrassicin 함량은 장방형배추가 일반형배추에 비하여 2배 정도 높았으며, glucobrassicinapin 함량은 일반형배추가 장방형배추 보다 2배 정도 높았다. 그 외 다른 글루코시놀레이트 함량은 일반형배추와 장방형배추가 유사하게 나타났다. 전반적으로 글루코시놀레이트 함량은 일반형배추가 장방형배추에 비하여 조금 높게 나타났다.

Table 2. Glucosinolate contents in rectangle and oval type of Chinese cabbage.

Glucosinolate (μ mol/g dry wt)	Oval type	Rectangle type
Progoitrin	0.77 \pm 0.01	0.77 \pm 0.12
Glucoalyssin	0.27 \pm 0.01	0.21 \pm 0.03
Gluconapoleiferin	0.11 \pm 0.00	0.25 \pm 0.00
Gluconapin	1.63 \pm 0.02	0.55 \pm 0.00
4-Hydroxyglucobrassicin	0.11 \pm 0.02	0.24 \pm 0.01
Glucobrassicinapin	0.68 \pm 0.01	0.28 \pm 0.00
Glucobrassicin	1.45 \pm 0.09	2.09 \pm 0.17
4-Methoxyglucobrassicin	1.60 \pm 0.12	1.39 \pm 0.09
Glucoberberoin	0.56 \pm 0.00	0.51 \pm 0.03
Neoglucobrassicin	0.28 \pm 0.01	0.33 \pm 0.02
Total	7.46 \pm 0.26	6.62 \pm 0.16

Table 3. Phenylpropanoid contents in rectangle and oval type of Chinese cabbage.

Phenylpropanoid (ug/g)	Oval type	Rectangle type
4-hydroxybenzoic acid	63.41 \pm 3.58	47.94 \pm 3.03
Catechin hydrate	11.34 \pm 1.06	n.d
Chlorogenic acid	37.53 \pm 0.75	34.86 \pm 1.41
Caffeic acid	5.39 \pm 0.39	8.00 \pm 0.55
Epicatechin	34.24 \pm 7.42	38.17 \pm 0.50
Ferulic acid	67.97 \pm 1.42	34.81 \pm 1.16
Benzoic acid	0.55 \pm 0.50	29.97 \pm 1.59
Rutin	5.11 \pm 0.29	n.d
<i>trans</i> -cinnamic acid	0.99 \pm 0.22	0.59 \pm 0.03

n.d: not detected

일반형배추(Oval type)와 장방형배추(Rectangle type)의 phenylpropanoid 생합성 특성을 조사한 결과 표 3과 같다. Catechin hydrate와 Rutin은 일반형배추에서 검출되었다. Ferulic acid 함량은 일반형배추가 장방형배추에 비하여 2배 정도 높았으며, benzoic acid 함량은 장방형배추가 일반형배추 보다 25배 정도 높았다. 그 외 다른 phenylpropanoid 함량은 일반형배추와 장방형배추가 유사하게 나타났다.

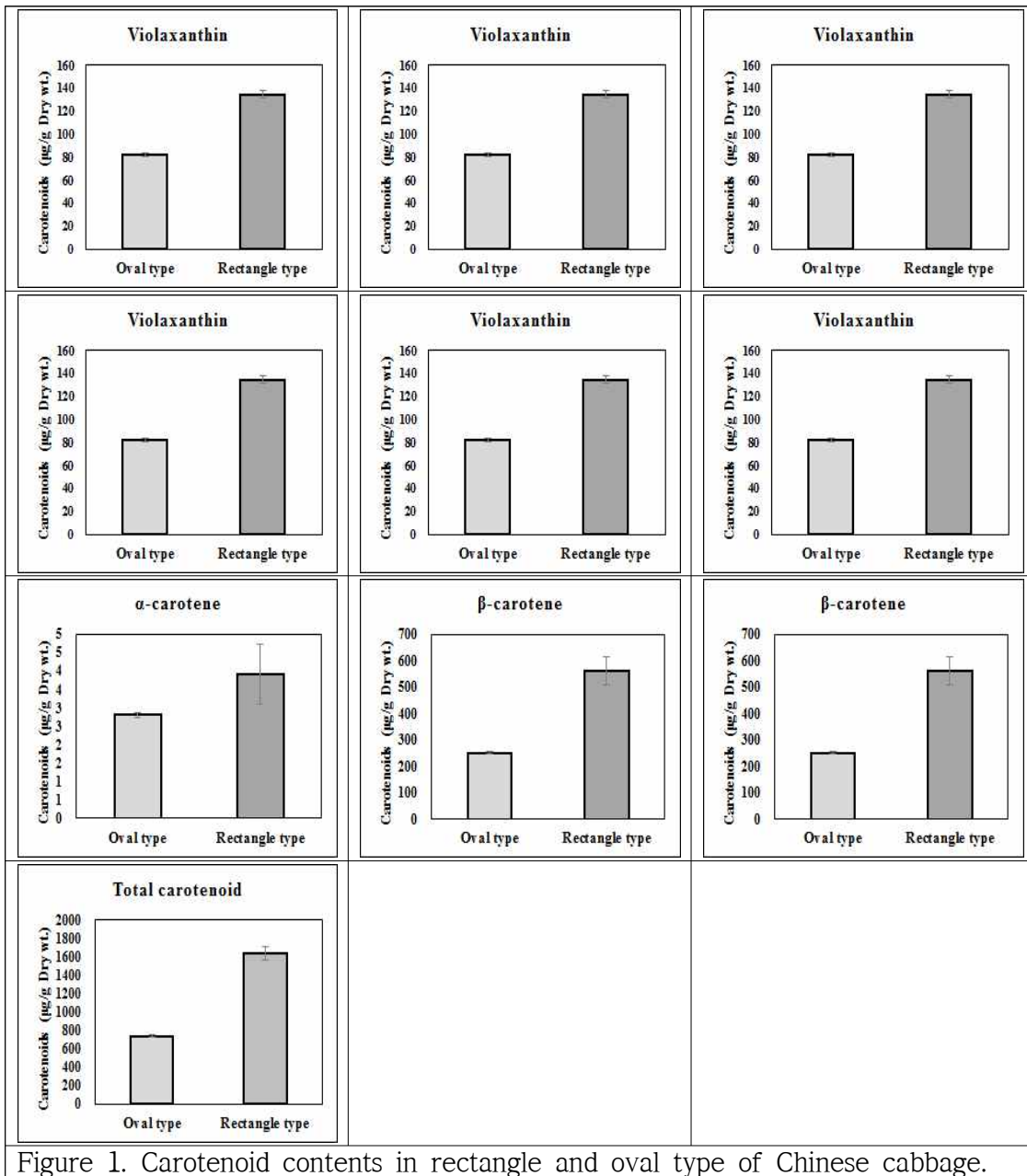


Figure 1. Carotenoid contents in rectangle and oval type of Chinese cabbage.

일반형배추(Oval type)와 장방형배추(Rectangle type)의 carotenoid 생합성 특성을 조사한 결과 그림 2와 같다. Violaxanthin, antheraxanthin, lutein, zeaxanthin, β-crytoxanthin, 13-cis-β-carotene, α-carotene, β-carotene, 9-cis-β-carotene chd 9종의 carotenoid가 검출되었으며, 함량은 9종 모두 장방형배추가 일반형배추에 비하여 2배 정도 높았다.

9. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 배추 sprouts 에서의 glucosinolate, carotenoid, phenylpropanoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

가. 연구의 필요성

식물공장은 시설내의 환경조건 (온도, 습도, 광, CO₂ 농도, 배수, 배양액 등)을 인공적으로 조절하여 시기나 장소에 구애받지 않고 환경제어의 자동화를 통하여 기타 산업에서의 공장생산과 유사한 방법으로 작물생산을 계획하고 일정하게 생산할 수 있도록 하는 시설을 말한다. 식물공장에 있어서 환경제어는 절대적으로 요구되는 데 특히, 공간 활용을 극대화시킬 목적으로 이용되는 다단식 식물재배의 경우 인공광이 절대적으로 필요하게 된다. 그러므로 광원으로써 LED (Light Emitting Diode)는 식물체가 성장하는 데 있어서 최적의 파장을 생산하는 반면 열이 적게 발생한다는 장점을 바탕으로 식물공장에 적합한 새로운 광원의 소재로써 이용되고 있다. 본 연구에서는 배추 및 케일 sprouts를 백색, 적색, 청색의 LED을 광원으로 하는 성장상에서 배양하고 각각의 광원이 배추 및 케일 sprouts의 glucosinolate, carotenoid, phenylpropanoid 생합성에 관련된 유전자의 발현을 조사하고 물질의 함량에 미치는 영향을 분석하고 식물공장에서 계획재배에 배추 및 케일 sprouts의 적합성을 밝히고자 한다.

나. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 배추 sprouts 에서의 glucosinolate 생합성 경로 변화 및 함량 분석

각기 다른 LED 광원 하에 재배된 배추 sprouts에서 고기능성 물질인 glucosinolate 생합성에 관여하는 전사인자(Transcription factors) 발현 변화를 조사하고 각각의 물질의 합성을 촉진하는 재배 조건을 확립하고자 하였다. 버미클레이트에서 배추 및 케일을 파종하고 백색, 청색, 적색 LED가 부착된 성장상에서 25도 그리고 16/8시간의 광주기 조건으로 재배하였다. LED 처리 10일 후 시료를 수확하였고 액체질소를 이용하여 동결한 후 RNA 추출 및 물질분석에 이용하였다.

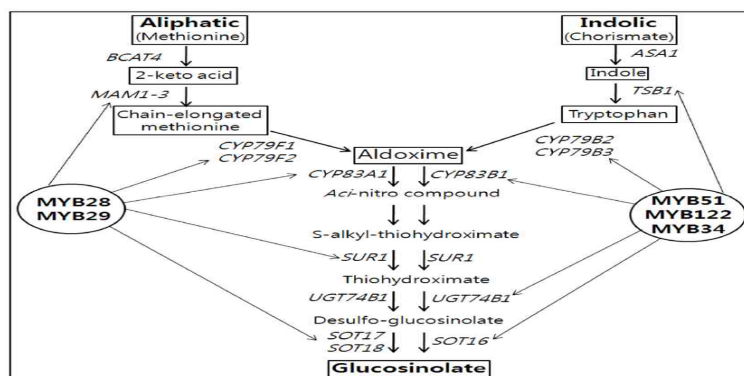


Figure 1. Schematic representation of the aliphatic and indolic glucosinolate biosynthesis in *B. rapa*.

Figure 1와 같이 배추의 glucosinolate 생합성에 관여하는 다양한 전사인자들 중에 전사인자 MYB28, MYB29가 Aliphatic glucosinolate 생합성에 크게 영향을 미치며, MYB41, MYB122, MYB34가 Indolic glucosinolate의 생합성에 주로 영향을 미친다는 것을 보고된바 있다 (Kim et al., 2013). 그로인하여 본 연구에서도 이를 적용하여 총 12가지의 전사인자들 (MYB28-1,

MYB28-2, MYB29, MYB34-1, MYB34-2, MYB34-3, MYB34-4 MYB51-1, MYB51-2, MYB51-3, MYB122-1, MYB122-2)의 발현 양상을 확인하였다. 배추 sprouts에서 qRT-PCR을 이용한 glucosinolate 생합성에 관련된 전사인자의 발현 분석 결과는 다음의 Figure 2과 같다.

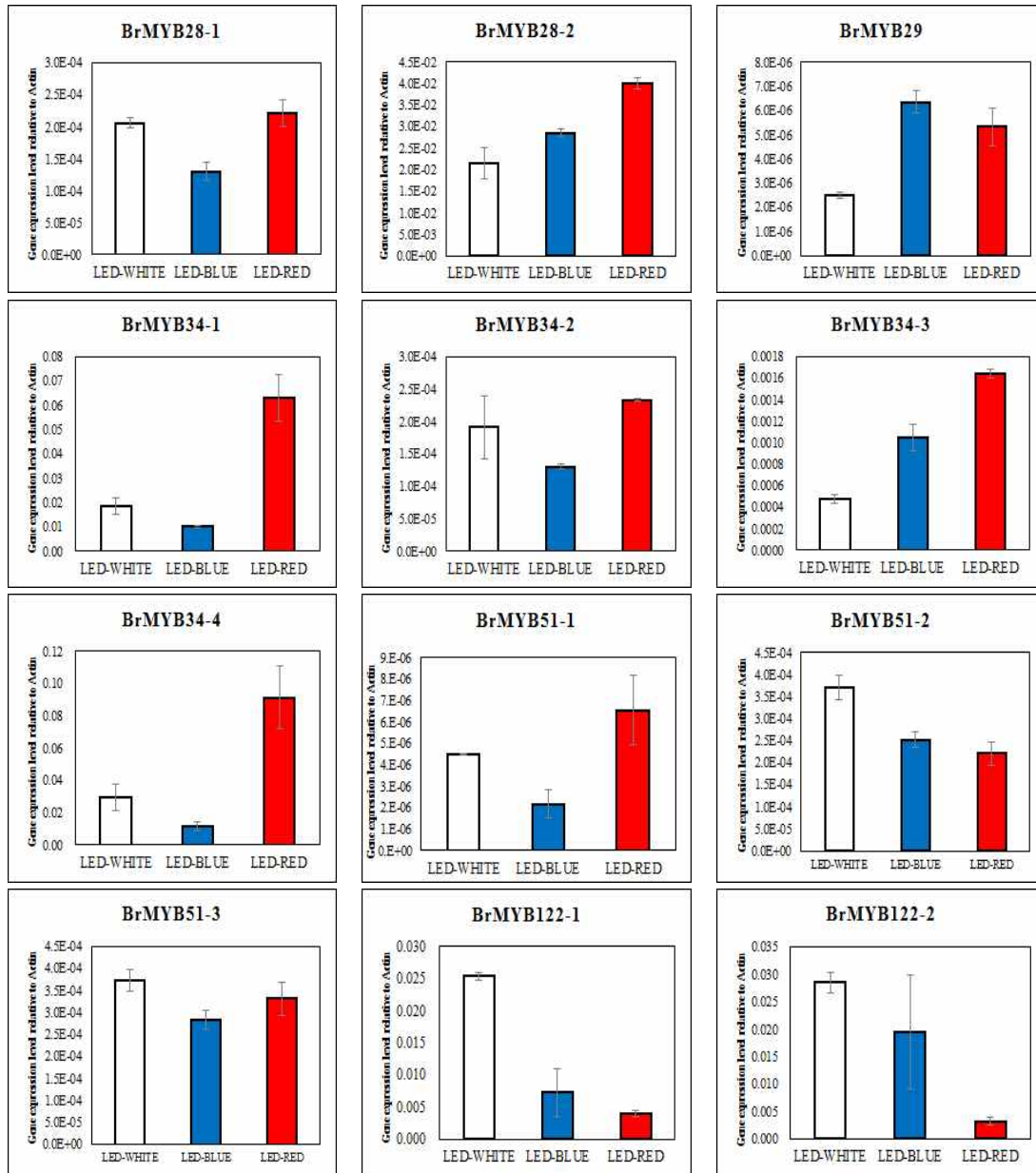


Figure 2. Expression of glucosinolate biosynthesis genes in sprouts of Chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light

적색 LED에 의해 glucosinolate 생합성에 관여하는 조사된 대부분의 전사인자들의 발현이 증가됨을 확인하였다. 특히, MYB28-2, MYB34-1, MYB34-3, MYB34-4, MYB51-1이 유의하게 증가되었으며, MYB28-1, MYB34-2, MYB51-3은 백색 LED와 비슷한 수준에서 발현됨을 확인하였다. 반면에, MYB51-2, MYB122-1은 백색 LED에서 유의하게 증가되었으며, 청색 LED 처리에서는 오직 MYB29의 발현이 유의하게 증가됨을 확인할 수 있었다 (Figure 1). glucosinolate 물질 분석의 결과도 유전자의 발현 결과와 일치하는 경향을 보였다 (Table 1).

Table 1. Glucosinolate contents in sprouts of chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light (μ mol/g DW)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
Glucoiberin	0.31 \pm 0.05	0.31 \pm 0.01	0.37 \pm 0.04
Progoitrin	10.35 \pm 0.43	8.94 \pm 0.36	11.61 \pm 0.27
Glucoaphanin	1.70 \pm 0.09	1.58 \pm 0.11	1.86 \pm 0.08
Glucoalyssin	0.56 \pm 0.03	0.52 \pm 0.02	0.76 \pm 0.03
Gluconapoleiferin	0.26 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	0.23 \pm 0.01
Gluconapin	6.47 \pm 0.22	6.19 \pm 0.32	8.32 \pm 0.17
4-Hydroxyglucobrassicin	0.14 \pm 0.03	0.09 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01
Gluco brassicanapin	0.29 \pm 0.02	0.28 \pm 0.01	0.34 \pm 0.01
Glucoerucin	4.85 \pm 0.47	4.96 \pm 0.21	6.22 \pm 0.16
Gluco raphasatin	0.25 \pm 0.22	0.10 \pm 0.01	0.13 \pm 0.00
Gluco brassicin	5.69 \pm 0.19	1.58 \pm 0.04	2.33 \pm 0.03
4-Methoxyglucobrassicin	4.71 \pm 0.26	2.87 \pm 0.04	5.29 \pm 0.19
Gluco berteroin	N.D ^a	0.64 \pm 0.04	N.D
Gluco nasturtiin	0.91 \pm 0.04	0.74 \pm 0.04	1.13 \pm 0.03
Neoglucobrassicin	3.79 \pm 0.23	4.56 \pm 0.11	4.96 \pm 0.21
Total	40.26 \pm 1.76	33.59 \pm 1.08	43.64 \pm 0.89

^a,Not detected

Glucosinolate의 HPLC 분석결과를 통하여 적색 LED 광원이 glucosinolate의 축적의 촉진에 가장 적합한 것으로 나타났다. 적색 LED 광원 처리 후 총 글루코시놀레이트 함량이 백색 LED 처리에 비하여 1.08 배 증가하였으며 청색 LED 처리에 비하여 1.30 배 증가한 것으로 나타났다. 대부분의 aliphatic glucosinolates (glucoiberin (최소값을 보이는 LED 청색 처리에 비하여 1.19 배), progoitrin (청색 LED의 1.30 배), glucoaphanin (청색의 1.18 배), glucoalyssin (청색 LED의 1.45 배), gluconapin (청색 LED의 1.35 배), gluco brassicanapin (청색 LED의 1.23 배), glucoerucin (최소값을 보이는 백색 LED의 1.30 배), gluco nasturtiin (청색 LED의 1.53 배))의 함량 및 indolic glucosinolates (4-Methoxyglucobrassicin (청색 LED의 1.84 배), neoglucobrassicin (백색 LED의 1.31배) 또한 적색 광원 처리 후 다른 광원에 비하여 증가함을 확인 할 수 있었다. 반면에, gluconapoleiferin, gluco raphasatin (aliphatic glucosinolates), 4-Hydroxyglucobrassicin, gluco brassicin (indolic glucosinolates)의 경우에는 백색 LED 광원처리 후 증가하였으며, 놀랍게도 gluco berteroin은 오직 청색 LED 광원 처리 후에만 물질이 축적됨을 확인 할 수 있었다 (Table 1). 본 연구결과를 통하여 glucosinolate 생합성에 관련하는 전사 인자 대부분이 LED 적색 처리 후 증가되었으며, 이로 인하여 glucosinolate의 물질 생합성이 증가되어 축적 또한 증가된 것으로 사료된다.

다. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 배추에서의 carotenoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

Carotenoid는 식물계에 널리 분포되어 있는 노랑, 빨강, 주황의 천연색소를 말하며 배추과 식물에는 일반적으로 10가지의 carotenoids들이 분포하는 것으로 알려져 있다. 특히, 배추 (Chinese

cabbage)의 경우에는 기관 및 시기별 차이가 상이하나 대략 9 가지의 carotenoids 들이 분포하는 것이 보고된바 있다 (Pham Anh Tuan et al., 2012a, Pham Anh Tuan et al., 2012b). Carotenoid 생합성 경로의 시작은 phytoene synthase (PSY)가 2 분자의 geranylgeranyl diphosphates (GGDP)를 C40 phytoene로의 축매와 함께 시작한다 (Cong et al., 2009). 그리고 phytoene desaturase (PDS)와 ζ -carotene desaturase (ZDS)의 순차적인 작용에 의하여 lycopene이 형성된다 (Guo et al.,2009; Yan et al., 2011). 그 다음 과정에서 생합성 경로는 2개의 지점으로 나누어지게 되고, 첫 번째 지점에서 lycopene β -cyclase (LCYB)와 lycopene ϵ -cyclase (LCYE)이 공동으로 작용하여 α -carotene을 형성하게 되고, 이 후에 β -ring carotene hydroxylase (CHXB), ϵ -ring carotene hydroxylase (CHXE)에 의하여 lutein이 합성된다. 반면에, 다른 한 지점에서는 LCYB에 의하여 2개의 β -ring이 lycopene으로 더해져 β -carotene을 합성하게 된다 (Mendesa et al., 2011). 그리고 이 β -carotene은 각각 CHXB와 zeaxanthin epoxidase (ZEP)의 작용에 의하여 각각 zeaxanthin과 violaxanthin을 형성하게 된다(Tian et al., 2003, Audran et al., 1998). 본 연구에서는 LED 광원별 배추 sprouts의 carotenoid 생합성에 관여하는 관련 유전자의 발현을 조사하고 carotenoid 축적을 촉진하는 LED 식물공장의 재배조건을 확립하고자 하였다.

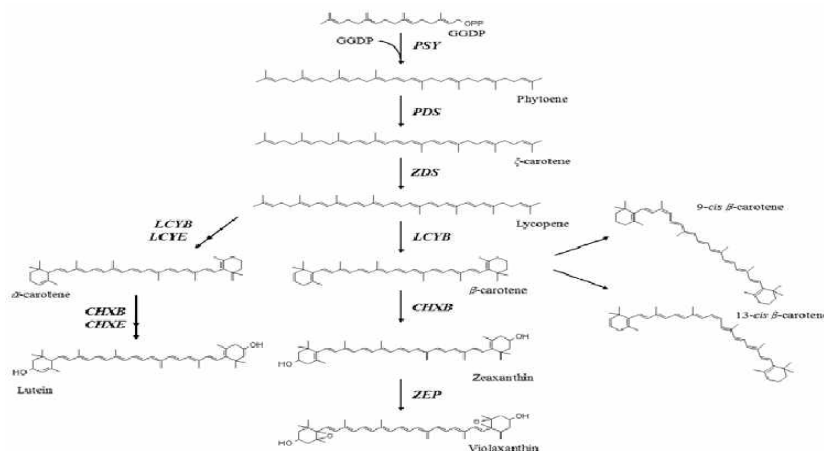


Figure 3. Carotenoid biosynthesis pathway in plants. GGDP, geranylgeranyl diphosphate; PSY, phytoene synthase; PDS, phytoene desaturase; ZDS, ζ -carotene desaturase; LCYB, lycopene β -cyclase; LCYE, lycopene ϵ -cyclase; CHXB, β -ring carotene hydroxylase; CHXE, ϵ -ring carotene hydroxylase; ZEP, zeaxanthin epoxidase.

qRT-PCR의 분석 결과로 (Figure 4), 적색 LED에 의하여 carotenoid 생합성에 관여하는 관련 유전자 가운데 ZEP를 제외한 총 6개의 유전자 (PSY, PDS, ZDS, LCYB, LCYE, CHXB)의 발현이 다른 조건에 비하여 급격히 증가하였음을 확인하였다. 그 다음으로는 백색 LED 처리 후 유전자 발현 (ZDS, CHXB, ZEP)이 청색 LED 처리 보다 발현양이 높게 나타났으며, PSY, PDS, LCYB, LCYE의 경우에는 청색 LED 처리와 동일한 수준을 보였다. HPLC를 통한 Carotenoid 물질 분석의 결과도 유전자의 발현 결과와 일치하는 것으로 나타났다. (Table 1).

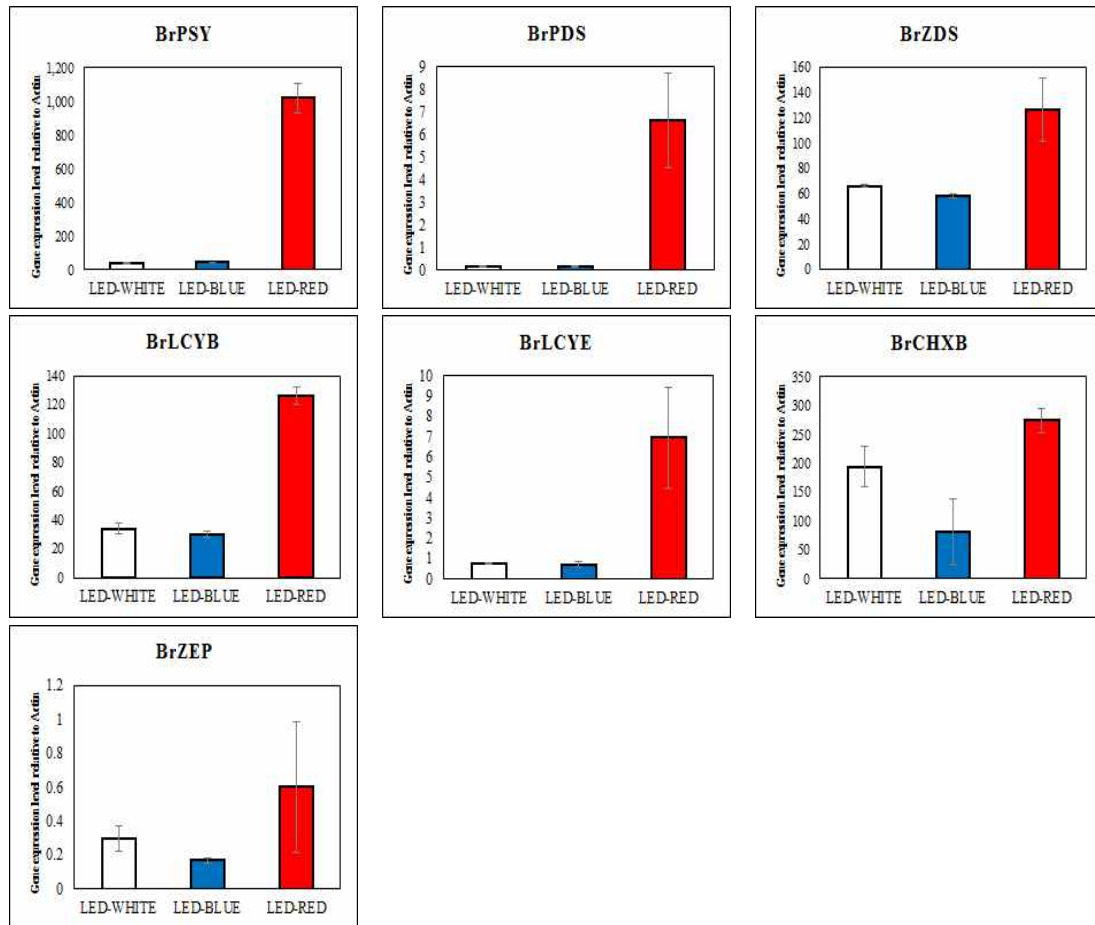


Figure 4. Expression of carotenoid biosynthesis genes in sprouts of Chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light.

Table 2. Carotenoid contents in sprouts of chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
Violaxanthin	66.24 \pm 5.37	33.68 \pm 3.20	80.79 \pm 18.93
Antheraxanthin	108.57 \pm 7.38	77.56 \pm 7.21	134.83 \pm 30.37
Lutein	1203.99 \pm 110.13	973.17 \pm 70.95	1548.38 \pm 276.97
Zeaxanthin	37.86 \pm 4.77	19.72 \pm 2.20	40.10 \pm 8.57
β -cryptoxanthin	9.80 \pm 0.63	7.14 \pm 0.48	8.57 \pm 2.16
13-cis- β -carotene	3.78 \pm 0.16	2.67 \pm 0.14	4.20 \pm 1.00
α -carotene	1.25 \pm 0.01	0.87 \pm 0.08	1.32 \pm 0.30
β -carotene	127.13 \pm 5.88	108.36 \pm 4.69	132.80 \pm 14.15
9-cis- β -carotene	1.61 \pm 0.17	1.26 \pm 0.11	1.86 \pm 0.39
Total	1560.23 \pm 132.78	1224.43 \pm 87.94	1952.85 \pm 352.73

Carotenoid의 HPLC 분석결과를 통하여 적색 LED 광원이 carotenoid의 축적의 촉진에 가장 적합한 것으로 나타났다. 적색 LED 광원 조사 후 총 carotenoid 함량이 백색 LED 처리에 비하여 1.25 배 증가하였으며 청색 LED 처리에 비하여 1.59 배 증가한 것으로 나타났다. 개별의

carotenoids의 경우에는 violaxanthin (최소값을 보이는 LED 청색에 비하여 2.40 배), antheraxanthin (1.74 배), lutein (1.59 배), zeaxanthin (2.03 배), 13-cis- β -carotene (1.57 배), α -carotene (1.52 배), β -carotene (1.23 배), 9-cis- β -carotene(1.47 배) 또한 적색 LED 처리 후 다른 광원 조사에 비하여 최대값을 나타냄을 확인할 수 있었다. 반면에, β -cryptoxanthin은 백색 LED 처리 후 청색 LED 처리에 비하여 1.37 배 증가하였다 (Table 2).

라. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 배추에서의 phenylpropanoid 물질함량 분석

Table 3. Phenylpropanoid contents in sprouts of chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
4-hydroxybenzoic acid	16.38 \pm 5.07	N.D ^a	4.22 \pm 2.51
Chlorogenic acid	35.25 \pm 0.08	37.73 \pm 1.00	37.87 \pm 1.13
Caffeic acid	6.165 \pm 0.20	12.02 \pm 0.55	15.24 \pm 1.79
Epicatechin	109.04 \pm 18.54	82.89 \pm 8.89	46.4 \pm 2.77
<i>p</i> -coumaric acid	22.77 \pm 8.96	N.D	4.46 \pm 1.16
Ferulic acid	4.76 \pm 0.21	5.46 \pm 0.10	4.785 \pm 0.04
Rutin	76.96 \pm 6.08	145.86 \pm 15.99	84.14 \pm 6.85
trans-cinnamic acid	1.08 \pm 0.09	0.91 \pm 0.23	0.55 \pm 0.05
Quercetin	0.36 \pm 0.24	39.12 \pm 1.70	14.28 \pm 2.06
Kaempferol	3.57 \pm 0.88	2.92 \pm 0.20	2.1 \pm 0.31
Total	276.34 \pm 36.52	326.91 \pm 10.32	214.05 \pm 11.23

^a,Not detected

총 phenylpropanoid 의 함량이 가장 크게 증가한 조건은 청색 LED였으며 백색광에 비하여 1.18 배 증가하였으며, 1.53 배 증가하였다. 게다가, ferulic acid의 경우 약 1.15배, rutin은 1.15 배, quercetin은 108.67 배로 함량이 크게 증가하였다. 반면에, 4-hydroxybenzoic acid와 *p*-coumaric acid은 HPLC 시스템에서 감지되지 않았다. 백색 LED 조사 후 4-hydroxybenzoic acid, *p*-coumaric acid에서 최대값을 나타냈으며 epicatechin과 kaempferol은 최소값을 나타낸 LED 적색 처리 후 각각 2.35 배, 1.7 배로 증가되었다. 반면에 glucosinolate 및 carotenoid 생합성 촉진에 가장 적합한 것으로 나타났던 적색 LED 처리 후에는 오직 caffeic acid의 함량만이 증가하는 것을 나타냈다.

본 연구에서 적색 LED 조사가 배추 sprouts의 glucosinolate 및 carotenoid 생합성 및 물질 축적을 촉진한다는 것을 qRT-PCR을 이용한 관련유전자 발현 조사 및 HPLC 물질 분석을 통하여 확인할 수 있었다. 반면에, phenylpropanoid의 경우에는 청색 LED 조사가 가장 적합하였으며 특히, rutin 및 quercetin의 물질 축적을 증가시키는 것으로 나타났다.

10. 식물공장에서 UV 처리에 따른 케일 sprouts 에서의 glucosinolate, carotenoid, phenylpropanoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

가. 연구필요성

식물은 고착생활로 인하여 불가피하게 열악한 외부환경에 적응하기 위해 다양한 이차대사산물들을 생산한다. 특히, 자외선 (UV)는 광화학 반응을 유도하여 식물 조직의 괴사나 갈변 등의 장애를 유발 할 수 있다. 게다가, UV C (280nm 보다 짧은 파장대)는 DNA 분자에 직접적인 손상을 가하여 세포 사멸이 유발한다 (Danon and Gallois, 1998). 그러나 식물의 생존에 치명적이지 않은 저선량의 UV는 식물에 장애를 일으키지 않으면서 오히려 elicitor 로써 작용하기도 한다. 예를 들어, 생육 과정의 포도에 가해진 낮은 선량의 UV는 강한 항산화 물질로 대표되는 stillbene 화합물의 합성을 증가시킨다는 것이 보고된바 있다 (Lancake and Pryce, 1977). 단감 수확 후 자외선 조사가 carotenoid 의 축적의 증가 또한 보고된바 있다 (Choi, 2011).

Indole-3-carbinol은 indole 그룹의 부속물로 회색빛이 도는 흰색 고체 물질이며, 식물에 가해지는 절단, 분쇄, 저작 같은 물리적인 분해 과정 혹은 조리과정 및 미로시나아제 (myrosinase)와 같은 생체 내 효소의 작용에 의해 전구체 (indole-3-glucosinolate) 로부터 합성된다. 특히, 십자화과 채소 (배추, 컬리플라워, 브로콜리, 케일, 콜라드, 싹눈양배추)에 많이 분포되어있다. Indole-3-carbinol은 강한 황산화작용 및 항암작용 뿐만 아니라 독을 제거하는 효소를 자극한다. 특히, 에스트로겐 수용체를 위치하지 못하도록 하는 장애물을 유방과 여러 세포막에 설치하여 유방암과 자궁경부암을 줄이는 역할을 한다. 또한 아플라톡신, 구충제 및 독성에 의한 발암작용을 저지한다.

본 연구에서는 식물이 지속적으로 노출되는 UV 로부터 자신을 보호하기 위하여 다양한 이차대사산물을 생산한다는 점에 착안하여 UV를 조사한 후 glucosinolate, carotenoid 및 phenylpropanoid 생합성에 관련된 유전자 발현을 조사하고 물질의 함량에 미치는 영향을 분석하여 식물공장에서 배추 및 케일 sprouts 재배 시 UV 적용 가능성을 보고하고자 한다.

나. 식물공장에서 UV 처리에 따른 케일 sprouts 에서의 glucosinolate 생합성 경로 변화 및 함량 분석

UV 처리 하에 재배된 배추 케일 sprouts 에서 고기능성 물질인 glucosinolate 생합성에 관여하는 전사인자(Transcription factors) 발현 변화를 조사하고 각각의 물질의 합성을 촉진하는 재배조건을 확립하고자 하였다. 버미쿨레이트에서 배추 및 케일을 파종하고 성장상에서 25도 그리고 16/8시간의 광주기 조건으로 14 일간 재배하였다. 배양된 케일 및 배추 sprouts 들은 UV 광원이 장착된 성장상에서 0H, 6H, 12H, 24H, 48H 간 동안 추가적으로 재배한 후 시료를 수확하였고 액체질소를 이용하여 동결한 후 RNA 추출 및 물질분석에 이용하였다.

본 연구에서는 glucosinolate 생합성 관련 전사인자 (MYB28-1, MYB28-2, MYB28-3, MYB29, MYB34, MYB51, MYB122)의 발현 양상을 확인하였다. 케일 sprouts에서 qRT-PCR을 이용한

glucosinolate 생합성에 관련된 전사인자의 발현 분석 결과는 다음의 Figure 1과 같다.

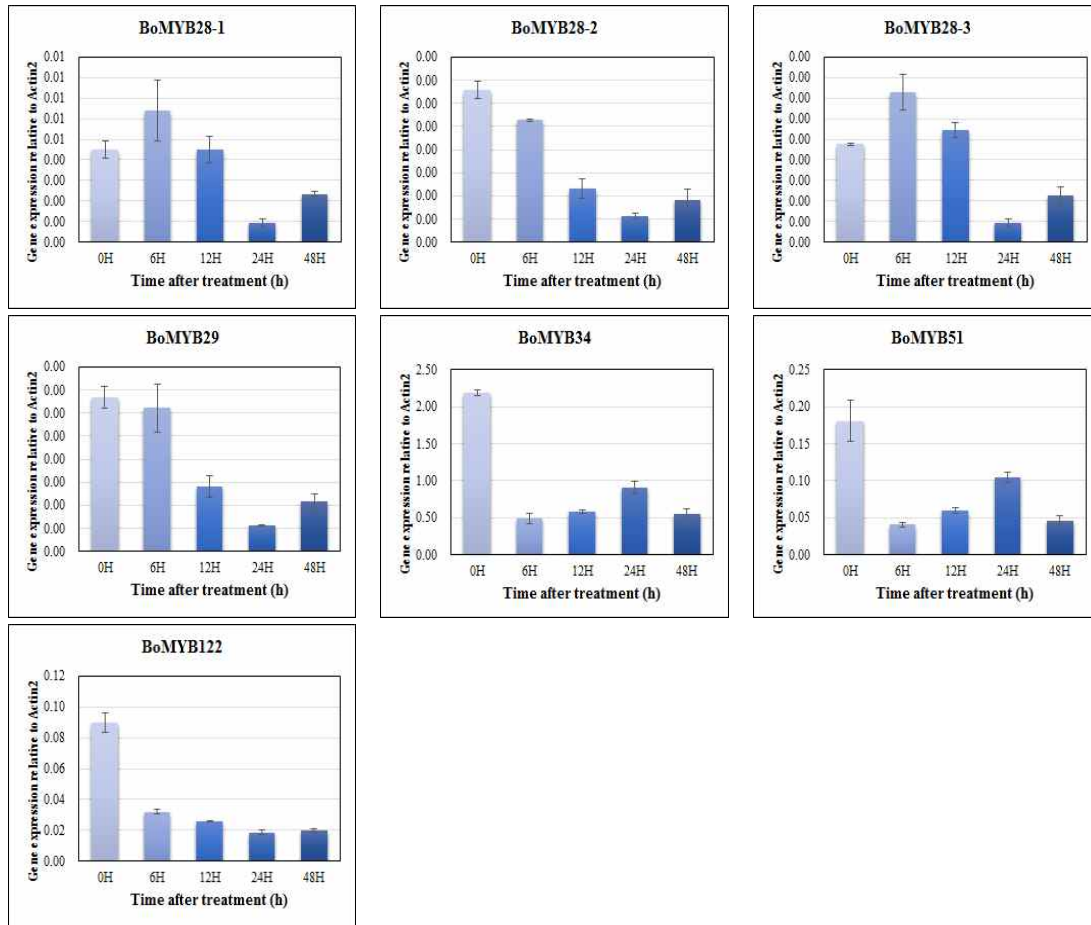


Figure 1. Expression of glucosinolate biosynthesis genes in kale sprouts irradiated with UV light

UV 조사 후 glucosinolate 생합성에 관여하는 대부분의 전사인자 (MYB28-2, MYB34, MYB51, MYB122) 들이 조사하지 않은 대조군에 비하여 그 발현이 감소됨을 확인하였다. 반면에 MYB28-1, MYB28-3, MYB29의 발현은 UV 조사 6시간 후 대조군에 비해 증가되거나 유사한 수준으로 발현 되었고, 그 이후 다시 감소하는 것으로 나타났다. 이는 케일 sprouts의 경우 UV stress에 반응하는 전사인자는 MYB28 또는 MYB29로 추론할 수 있으며, 저선량의 UV 처리 또한 처리시간이 늘어나게 되면 식물에 상당한 부담을 초래하는 것으로 사료된다 (Figure 1). glucosinolate 물질 분석의 결과도 유전자의 발현 결과와 일치하는 경향을 보였다 (Table 1).

Table 1. Glucosinolate contents in kale sprouts irradiated with UV light ($\mu\text{mol/g DW}$).

	0H	6H	12H	24H	48H
Progoitrin	26.58 \pm 2.17	26.94 \pm 2.11	31.24 \pm 0.29	25.01 \pm 1.38	26.01 \pm 1.59
Glucoraphanin	0.81 \pm 0.06	0.87 \pm 0.05	0.87 \pm 0.02	0.75 \pm 0.05	0.71 \pm 0.05
Glucoalyssin	0.41 \pm 0.02	0.56 \pm 0.02	0.52 \pm 0.05	0.50 \pm 0.12	0.57 \pm 0.03
Gluconapoleiferin	1.27 \pm 0.09	1.48 \pm 0.09	1.45 \pm 0.03	1.21 \pm 0.10	1.35 \pm 0.08
Gluconapin	2.12 \pm 0.10	2.28 \pm 0.14	1.84 \pm 0.02	1.64 \pm 0.04	1.34 \pm 0.04
4-Hydroxyglucobrassicin	1.95 \pm 0.15	2.32 \pm 0.17	2.07 \pm 0.06	1.29 \pm 0.19	1.75 \pm 0.05
Glucobrassicinapin	1.58 \pm 0.08	1.72 \pm 0.07	1.17 \pm 0.03	1.20 \pm 0.18	1.09 \pm 0.19
Glucoerucin	0.78 \pm 0.29	1.00 \pm 0.26	0.44 \pm 0.01	0.56 \pm 0.11	0.59 \pm 0.34
Glucobrassicin	3.12 \pm 0.11	2.77 \pm 0.04	2.38 \pm 0.02	2.18 \pm 0.12	2.29 \pm 0.09
4-Methoxyglucobrassicin	2.68 \pm 0.09	2.37 \pm 0.07	2.31 \pm 0.01	2.08 \pm 0.19	1.97 \pm 0.12
Gluconasturtiin	0.49 \pm 0.02	0.57 \pm 0.01	0.49 \pm 0.02	0.47 \pm 0.04	0.50 \pm 0.00
Neoglucobrassicin	6.55 \pm 0.53	8.48 \pm 0.86	7.52 \pm 0.32	6.71 \pm 0.63	7.05 \pm 0.15
Total	48.33 \pm 3.55	54.07 \pm 3.45	52.31 \pm 0.22	43.59 \pm 2.77	45.23 \pm 2.74

Table 2. Glucosinolate contents in kale sprouts irradiated with UV light ($\mu\text{mol/g DW}$)

	0H	6H	12H	24H	48H
Indole-3-carbinol	N.D ^a	6.81 \pm 0.82	3.32 \pm 1.41	3.67 \pm 1.15	3.78 \pm 0.02
indole	N.D	0.36 \pm 0.01	0.23 \pm 0.05	0.21 \pm 0.02	0.22 \pm 0.02

^a,Not detected

Glucosinolate의 HPLC 분석결과를 통하여 UV처리 6 시간 후 glucosinolate의 축적이 대조군에 비하여 1.12 배로 가장 높았다. 그러나 6 시간 후를 기점으로 지속적인 UV 처리 시 glucosinolate 함량이 점점 감소됨을 확인 할 수 있었다. 게다가, 개별의 glucosinolate 함량 또한 6시간 처리 후 대조군에 비하여 대부분 증가됨을 확인 할 수 있었다. 특히, 탐지된 모든 aliphatic glucosinolates (progoitrin, glucoraphanin, glucoalyssin, gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoerucin)의 함량이 대조군에 비하여 증가하였으며, aromatic glucosinolate (gluconasturtiin)의 함량 또한 UV 처리 6 시간 후 증가하였다. 흥미롭게도, indolic glucosinolate의 경우에는 neoglucobrassicin을 제외하고 glucobrassicin, 4-Methoxyglucobrassicin은 대조군에서 오히려 높은 것으로 나타났다. glucobrassicin은 미로시나아제 효소에 작용을 받아 indole-3-carbinol로 합성이 되는 전구체이다. Table 2와 같이 Indole-3-carbinol의 함량도 6시간에서 급격히 증가하였다. 즉, UV 처리 6 시간 후 glucobrassicin의 함량이 대조군에 비하여 적어지고 indole-3-carbinol 함량은 높아지는 것으로 보아 glucobrassicin에서 indole-3-carbinol로의 합성이 증가되었다고 추론할 수 있다. 본 연구결과를 통하여 glucosinolate 생합성에 관련하는 전사인자 중 UV 조사 6시간 후 MYB28 또는 MYB29이 반응하는 것으로 보이며, glucosinolate의 물질 생합성이 증가되어 축적 또한 증가된 것으로 사료된다.

다. 식물공장에서 UV 처리에 따른 케일 sprouts 에서의 carotenoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

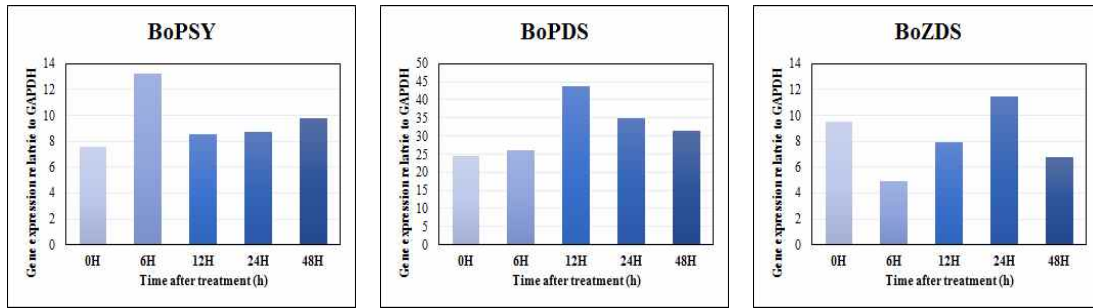


Figure 2. Expression of carotenoid biosynthesis genes in kale sprouts irradiated with UV light.

qRT-PCR의 분석 결과로 (Figure 2), UV 처리 후 6 시간 후 PSY의 유전자 발현이 대조군에 비하여 증가하였으며, PDS의 경우 처리 12 시간 후 그리고 ZDS의 경우에는 처리 24시간 후에 유전자 발현이 가장 높음을 확인 할 수 있었다. 처리 24 시간 후에 사실상 carotenoid 생합성 관련 초기 3가지 유전자에서 높은 수준을 유지 하고 있는 것으로 나타났다.

Table 3. Carotenoid contents in kale sprouts irradiated with UV light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	0H	6H	12H	24H	48H
Violaxanthin	31.65 \pm 4.70	19.73 \pm 1.61	21.17 \pm 0.92	22.38 \pm 0.39	24.85 \pm 1.25
Lutein	1218.82 \pm 324.36	1181.19 \pm 68.39	1223.32 \pm 26.31	1475.19 \pm 24.28	1302.91 \pm 39.68
Zeaxanthin	12.14 \pm 6.15	3.84 \pm 0.79	4.71 \pm 0.08	9.15 \pm 1.61	6.22 \pm 4.40
13-cis- β -carotene	176.39 \pm 21.55	135.03 \pm 3.43	139.93 \pm 13.18	178.28 \pm 3.56	159.18 \pm 4.21
α -carotene	35.48 \pm 4.46	28.35 \pm 0.57	27.68 \pm 1.38	38.37 \pm 0.88	32.63 \pm 1.24
β -carotene	2254.72 \pm 129.76	1978.43 \pm 78.22	1983.40 \pm 37.10	2087.89 \pm 2.09	2029.54 \pm 19.76
9-cis- β -carotene	191.14 \pm 25.11	153.39 \pm 6.68	143.82 \pm 6.19	178.10 \pm 2.50	163.51 \pm 3.56
Total	3920.34 \pm 146.56	3499.97 \pm 154.01	3544.04 \pm 68.02	3989.36 \pm 31.37	3282.22 \pm 33.41

Carotenoid의 HPLC 분석결과를 통하여 UV 처리 24시간 후에 carotenoid 물질의 축적이 가장 높은 것으로 확인되었으며, 이는 앞서 Figure 2의 유전자 발현 결과와 동일한 것으로 나타났다. UV 조사 후 12 시간 까지는 carotenoid의 함량이 감소하다가 24시간 후에 증가하고 다시 48시간에는 감소되는 것으로 나타났다. 대부분의 개별 carotenoid (violaxanthin, zeaxanthin, α -carotene, 13-cis- β -carotene, β -carotene, 9-cis- β -carotene)는 UV 조사 후 24시간 후 보다 대조군에서 그 값이 더 높거나 유사한 수준으로 나타났다. 반면에 lutein 만이 대조군에 비하여 UV 처리 시 1.21배 증가되는 것으로 확인 되었다. Carotenoid는 UV를 강하게 흡수하지 않기 때문에 식물 재료, 조직, 발육 상태에 따라 그 반응이 상이한 것으로 보고된 바 있다. 본 연구에서는 케일 sprouts의 경우에는 UV 조사 24 시간 후에 carotenoid 의 물질축적을 증가시키는 것으로 나타났다.

라. 식물공장에서 UV 처리에 따른 케일 sprouts 에서의 phenylpropanoid 합성 경로 변화 및 함량 분석

Table 4. Phenylpropanoid contents in kale sprouts irradiated with UV Light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	0H	6H	12H	24H	48H
Chlorogenic acid	36.20 \pm 0.08	43.79 \pm 1.86	44.59 \pm 1.04	43.92 \pm 2.22	47.11 \pm 2.27
Ferulic acid	10.14 \pm 0.53	6.87 \pm 0.05	7.05 \pm 0.41	7.26 \pm 1.62	6.93 \pm 1.07
Benzoic acid	14.66 \pm 6.50	94.16 \pm 6.42	160.01 \pm 23.45	149.77 \pm 15.44	138.78 \pm 28.33
Quercetin	36.28 \pm 11.86	32.34 \pm 4.33	11.82 \pm 0.46	21.71 \pm 0.32	28.06 \pm 3.11
Total	97.27 \pm 15.75	177.16 \pm 3.94	223.4 \pm 22.55	222.66 \pm 18.85	220.88 \pm 28.05

^a,Not detected

UV 조사 후 12 시간 까지 총 phenylpropanoid 의 함량 증가하다가 그 이후에는 총 함량이 일정해지는 것을 확인하였다. 이는 phenylpropanoid는 자외선에 의해 유발되는 광산화 스트레스에 대응하는 강한 항산화 물질이기 때문에 이와 같은 결과를 보이는 것으로 사료된다. 특히, Chlorogenic acid는 식물로 하여금 UV 저항성을 부여하는 대표적인 phenylpropanoid 물질로, 본 연구에서 chlorogenic acid는 UV 조사 시간이 길어짐에 따라 증가하는 경향을 보였다. Ferulic acid의 경우 오히려 시간이 지날수록 감소되는 경향을 보였다. Benzoic acid의 경우 UV 저항성에 관해 보고된 바는 아직 없지만, UV 처리시간이 길어질수록 케일 sprouts에서 물질 함량이 증가함을 확인 할 수 있었다.

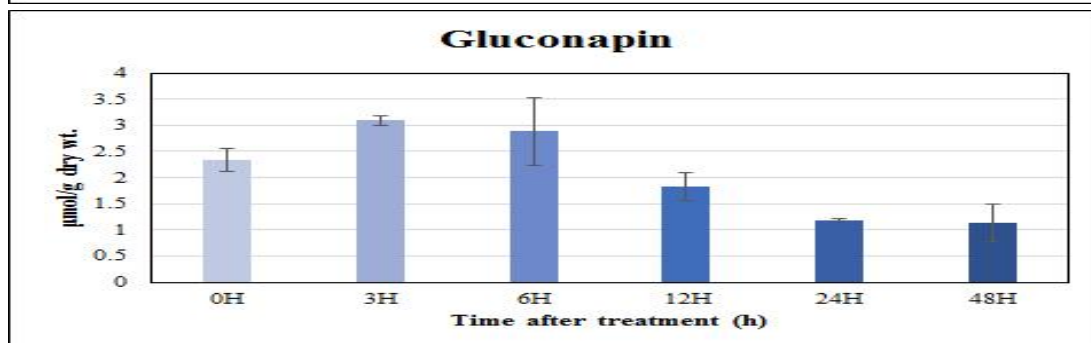
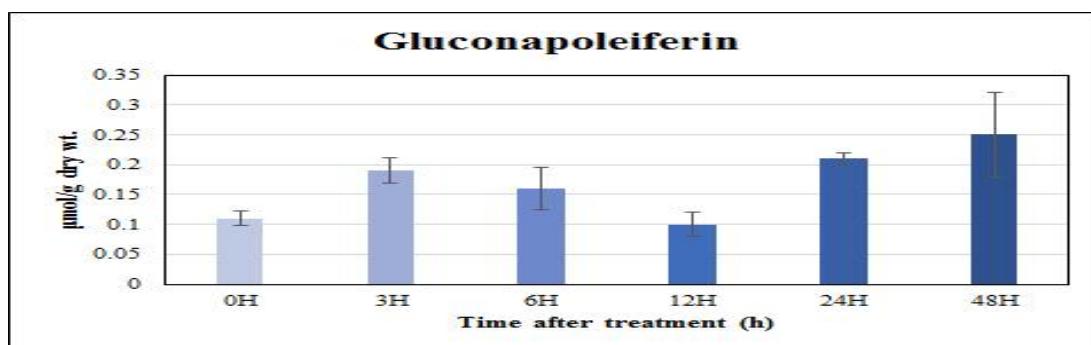
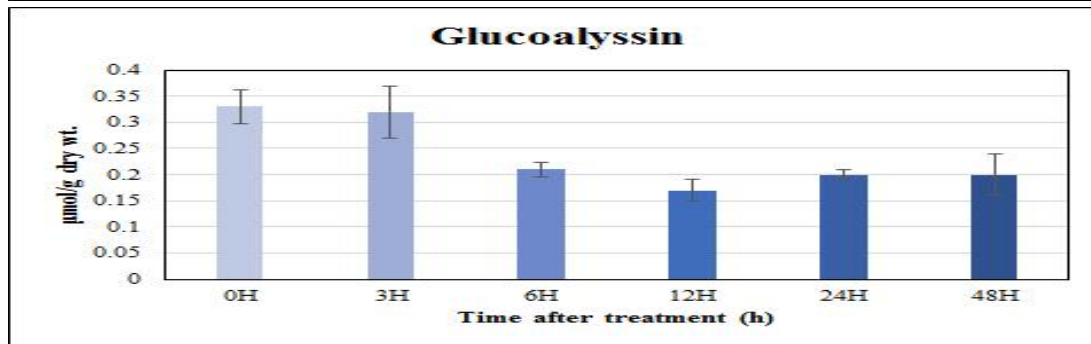
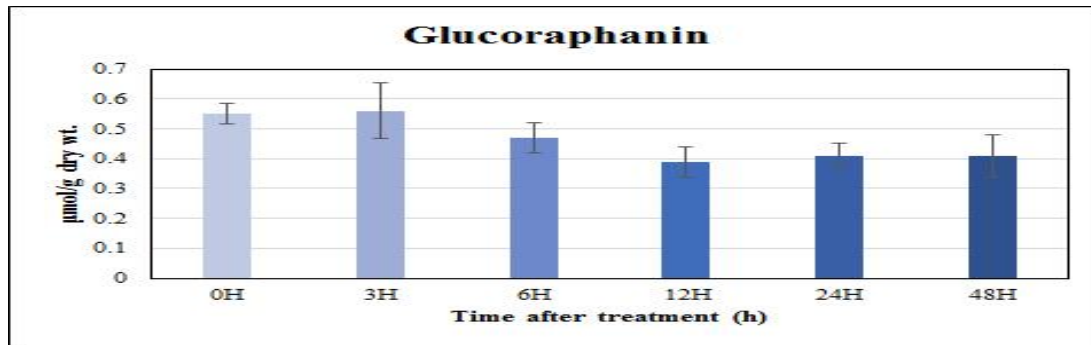
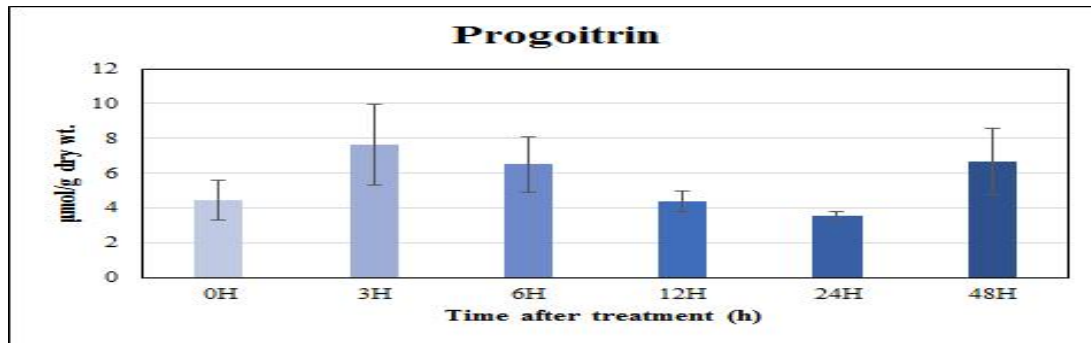
본 연구에서 UV 조사 6 시간 후 케일 sprouts의 glucosinolate 의 생합성 및 물질 축적이 증가되었고 이후 감소하는 경향을 보였으며, UV 조사 24 시간 후 carotenoid 생합성 및 물질 축적을 증가 한다는 것을 qRT-PCR을 이용한 관련유전자 발현 조사 및 HPLC 물질 분석을 통하여 확인할 수 있었다. 직접적으로 UV 저항성에 관여하는 물질인 phenylpropanoid의 경우에는 UV 조사 시간이 늘어날수록 물질의 함량이 증가한다는 것을 HPLC 분석을 통하여 확인할 수 있었다.

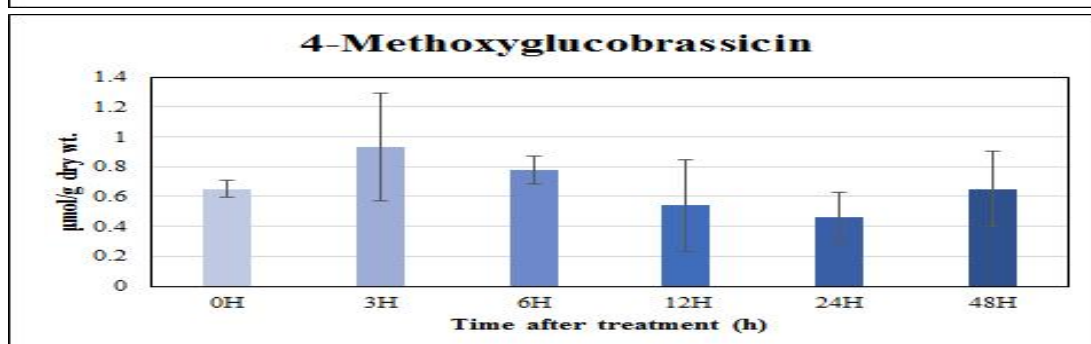
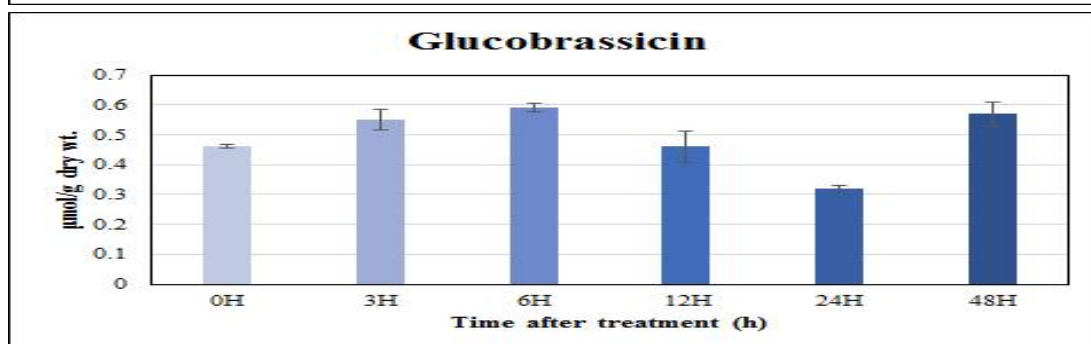
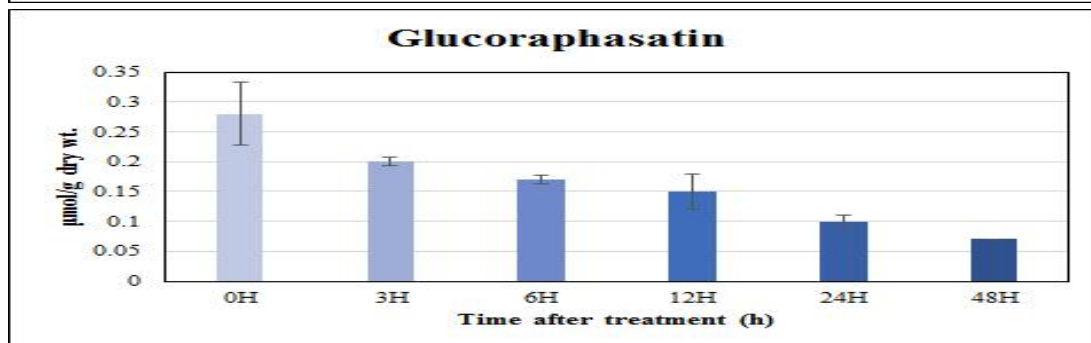
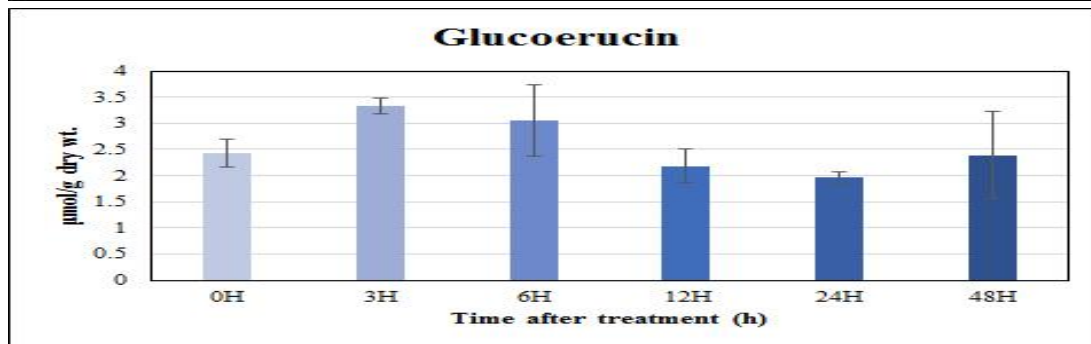
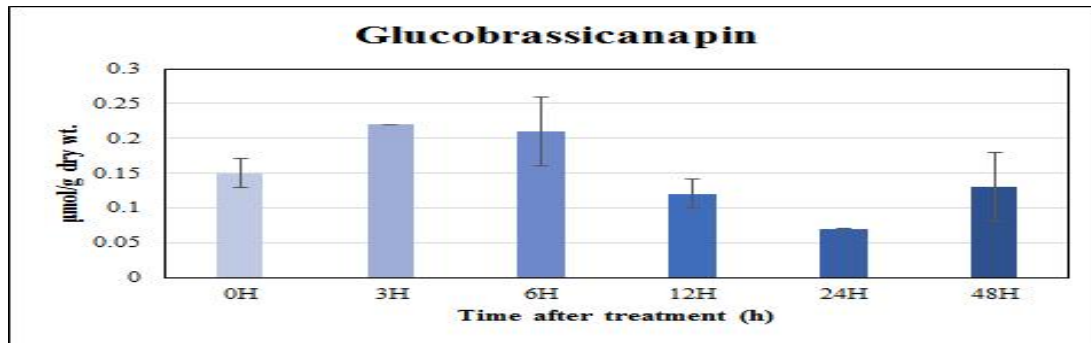
마. 식물공장에서 UV 처리에 따른 배추 sprouts 에서의 glucosinolate 함량 분석

(1) 식물공장에서 UV 처리에 따른 배추 sprouts 에서의 glucosinolate 함량 분석

UV 처리 하에 재배된 배추 sprouts 에서 고기능성 물질인 glucosinolate 물질의 합성을 촉진하는 재배 조건을 확립하고자 하였다. 버미큘레이트에서 배추 및 케일을 파종하고 성장상에서 25도 그리고 16/8시간의 광주기 조건으로 14 일간 재배하였다. 배양된 케일 및 배추 sprouts 들은 UV 광원이 장착된 성장상에서 0H, 3H 6H, 12H, 24H, 48H 동안 UV가 조사되었다.

HPLC 분석결과를 통하여 UV 조사 후 3시간 후에 glucosinolate 총 함량이 대조군에 비하여 1.26 배 증가한 것으로 나타났으며 그 다음으로는 6시간 후에 1.19배 증가하였고 그 이후부터





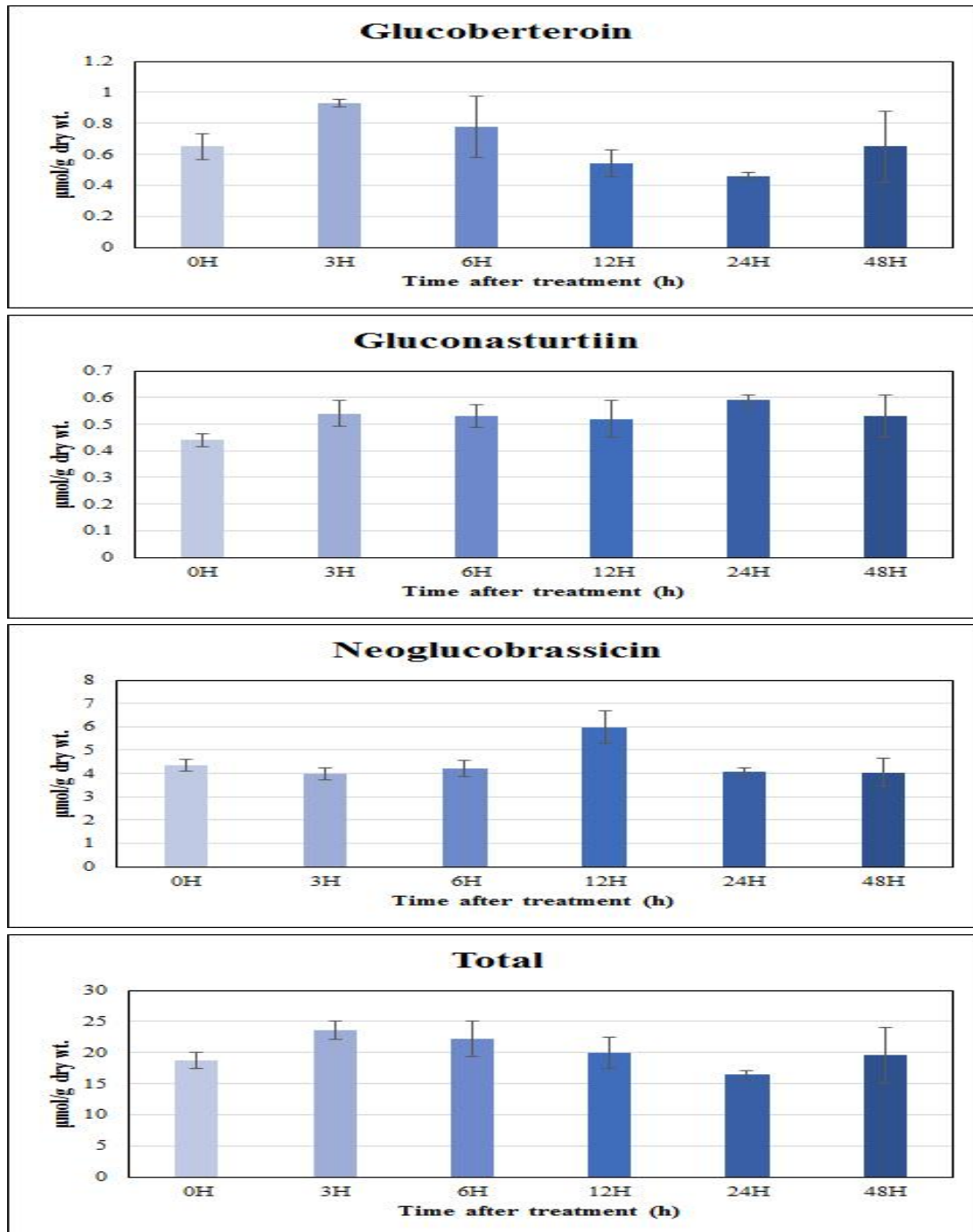


Figure 3. Glucosinolate HPLC analysis in kale sprouts irradiated with UV light.

는 감소하는 것으로 나타났다. 특히, UV 조사 3 시간 후에 gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoerucin, glucobrassicin, glucoberteroin, gluconasturtiin 은 대조군에 비하여 각각 1.73, 1.32, 1.46, 1.37, 1.20, 1.43. 1.23 배 증가한 것으로 나타났으며, 나머지 개별의 glucosinolate는 대조군과 비슷한 수준으로 축적되는 것을 확인하였다. UV 조사 6 시간 이후에는 gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoerucin, glucobrassicin., 4-Methoxyglucobrassicin, gluconasturtiin의 함량이 대조군에 비하여 각각 1.45, 1.23, 1.40, 1.26, 1.28, 1.12, 1.20 배 증가한 것으로 나타났다. 특히, 4-Methoxyglucobrassicin, 의 경우 UV 조사 24시간 이후 까지 지속적으로 증가하는 경향을 보였다.

본 연구에서는 qRT-PCR을 이용한 관련유전자 발현 조사 및 HPLC 물질 분석을 통하여 UV 조사 6시간 이후에 케일 sprouts의 glucosinolate 생합성 및 물질 축적을 촉진하였다가 감소하는 경향을 보였으며, UV 조사 24시간 이후 carotenoid 합성 및 물질 축적을 촉진하였다. glucosinolate의 경우 생합성에 관련하는 전사인자 중 UV 조사 6시간 후 MYB28 또는 MYB29가 반응하는 것으로 보이며, glucosinolate의 관련 유전자 발현이 증가되어 축적 또한 증가된 것으로 사료된다. 게다가, glucobrassicin은 indole-3-carbinol의 전구체로써, UV 처리 후 감소된 glucobrassicin 함량은 UV 처리 이후 증가된 Indole-3-carbinol의 함량에 의해 설명되어진다. Carotenoid의 경우에는 생합성 경로 최초 3가지 유전자 중 ZDS의 유전자 발현 및 다른 2 가지 유전자의 발현 또한 UV조사 24시간 이후에 꾸준히 높았기 때문에 물질 축적 또한 증가한 것으로 보이며, 특히 lutein만이 UV 조사 이후 큰 폭으로 증가하였기 때문에 UV의 처리에 반응하는 biomarker로써의 가능성 또한 예측된다. Phenylpropanoid의 경우에는 UV 조사 기간이 길어짐에 따라 물질의 축적 증가한다는 것을 확인하였다. 배추 sprouts의 경우에는 UV 조사 3시간 이후에 glucosinolate 함량이 최대값을 보였으며, 그 이후로 감소하는 경향을 보였다. 특히, indolic glucosinolate 중 하나인 4-Methoxyglucobrassicin은 UV 처리 시간이 24시간 까지 증가하는 경향을 보였다.

식물공장에서 식물재배의 인위적인 Stress 처리를 통한 식물의 이차대사산물의 생산의 증가는 상업적 또는 경제적 이윤을 창출 할 것이라 사료된다. 본 연구결과는 식물공장에서 배추과 식물의 sprouts 재배의 경우 UV 처리를 통한 인위적인 stress 처리를 거쳐 식물체의 이차대사산물의 생산을 증가시키는 재배조건을 확립하였으며 본 연구결과에서 확립한 재배조건은 차후의 식물공장에서 고품량 기능성물질의 생산을 위한 배추과 식물의 sprouts 재배에 기여할 것이라 사료된다.

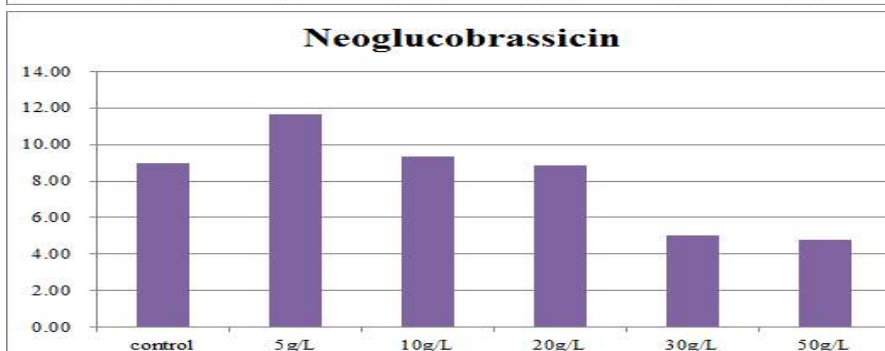
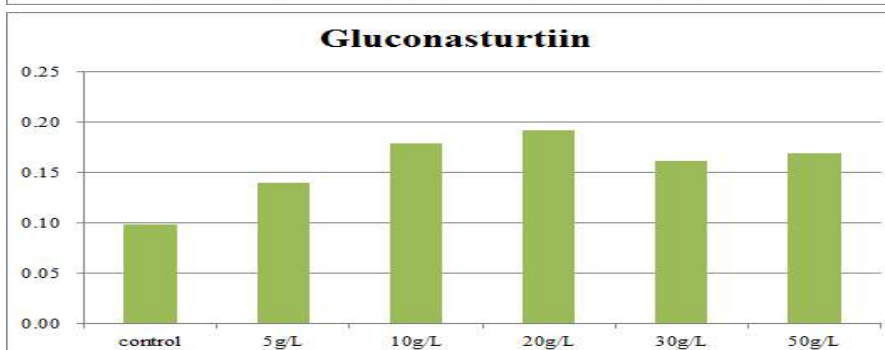
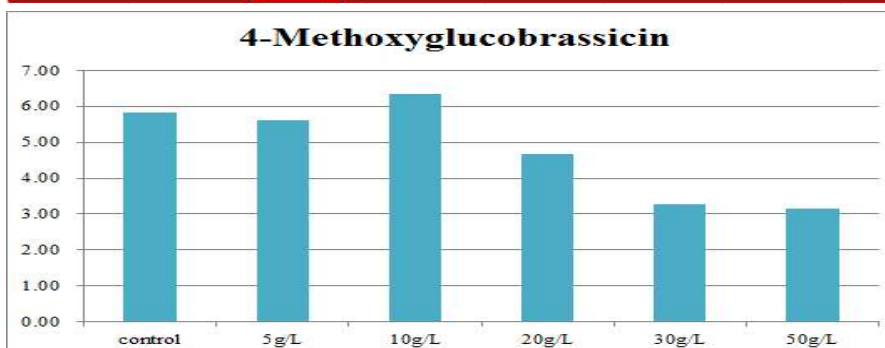
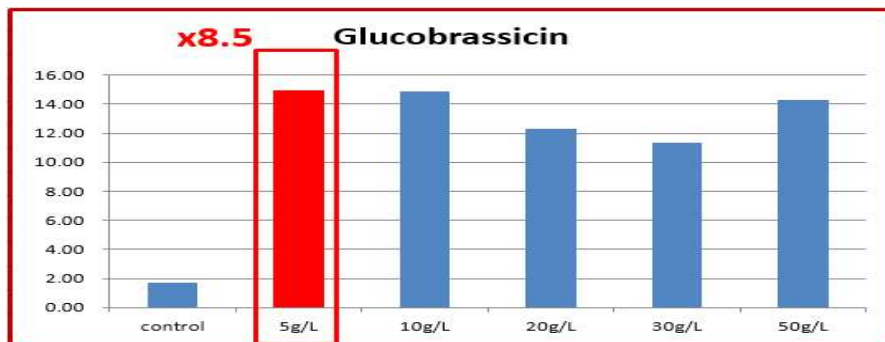
11. 기능성물질 함량 증대에 관여하는 인자 분석

가. 연구의 필요성

식물체에 환경인자(biotic 또는 abiotic 스트레스)의 적용은 이차대사산물의 생산성을 증가시키는 가장 효율적인 방법 7종의 하나로 알려져 있다. 다양한 종류의 환경인자(biotic 또는 abiotic 스트레스)를 적용하여 생리활성물질 생산에 미치는 영향을 연구하여 최적 인자를 선발할 수 있다. 선발된 환경인자를 효과적으로 이용함으로써 생산성 향상에 큰 기여를 할 수 있다. 1차적으로 배양에 투여하는 최적 환경인자의 농도를 알아야 한다. 과도한 환경인자 농도는 세포 성장에 부정적인 효과를 보이기도 한다. 세포의 성장 단계 중에서 환경인자를 투여하는 최적 시기를 밝혀냄으로써 생산성 향상에 효과를 볼 수 있다. 본 연구과제를 통하여 환경인자 (biotic 또는 abiotic 스트레스)를 처리하여 배추과 작물에서 기능성물질 생산에 미치는 영향을 살펴보았다.

나. 배추와 케일 유식물체에 yeast extract 처리 후 glucosinolate 생합성 조사

배추 유식물체에 yeast extract 농도별로 처리 후 7일간 재배 후 glucosinolate 함량을 조사한 결과 특히 glucobrassicin 함량이 yeast extract 5g/l 처리에서 8.5배 높게 나타나는 것으로 나타났으며, 4-methoxyglucobrassicin와 neoglucobrassicin의 경우는 농도가 높아지면 함량이 줄어드는 경향을 보였다(그림 1). Gluconasturtiin함량은 yeast extract 20 g/l 처리에서 2배 정도 높게 나타나는 것으로 나타났다. 배추 유식물체에 yeast extract 농도별로 처리 후 총 glucosinolate 함량을 조사한 결과 yeast extract 5g/l 처리에서 2배 정도 높게 나타나는 것으로 보아, yeast extract 5g/l 처리로 배추에서 glucosinolate 함량을 높일 수 있을 것으로 판단된다.



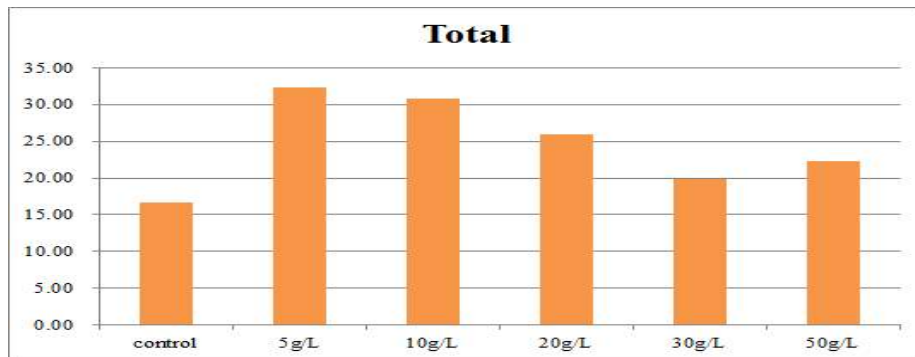
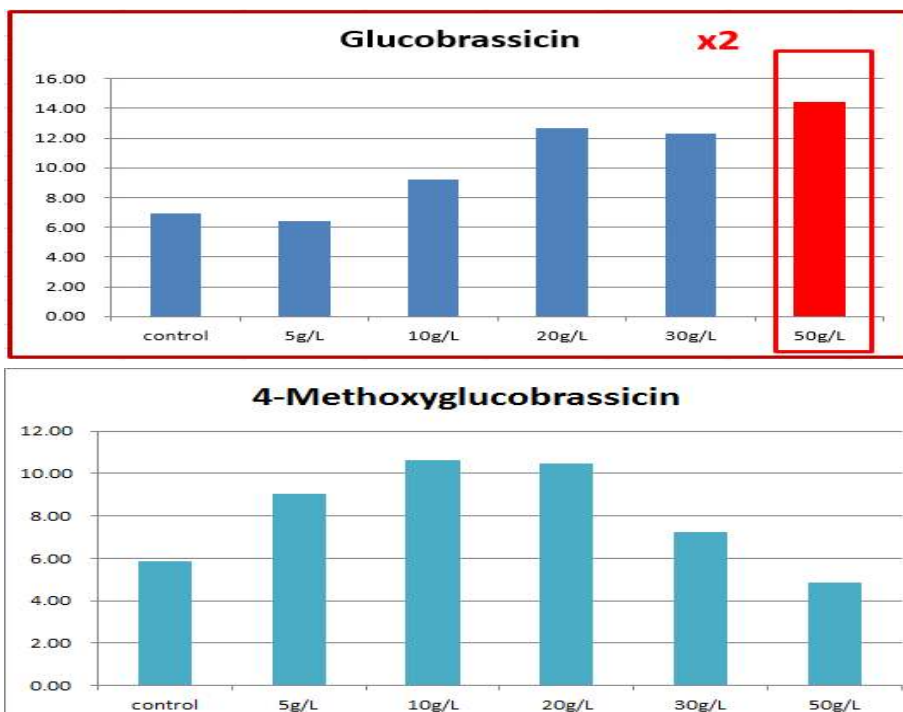


Figure 1. Effect of yeast extract concentrations on glucosinolate biosynthesis in Chinese cabbage.

케일 유식물체에 yeast extract 농도별로 처리 후 7일간 재배 후 glucosinolate 함량을 조사하였다(그림 2). glucobrassicin 함량은 yeast extract 50 g/l 처리에서 대조군에 비하여 2배 높게 나타나는 것으로 나타났으며, 4-methoxyglucobrassicin 함량은 yeast extract 10, 20 g/l 처리에서 대조군에 비하여 1.7배 정도 높게 나타났다. 4-hydroxyglucobrassicin 함량은 yeast extract 10 g/l 처리에서 가장 높게 나타났고, neoglucobrassicin의 경우는 yeast extract 처리가 부정적인 영향을 미쳐 함량이 줄어드는 경향을 보였다. 케일 유식물체에 yeast extract 농도별로 처리 후 총 glucosinolate 함량을 조사한 결과 yeast extract 20g/l 처리에서 가장 높게 나타나는 것으로 보였다.



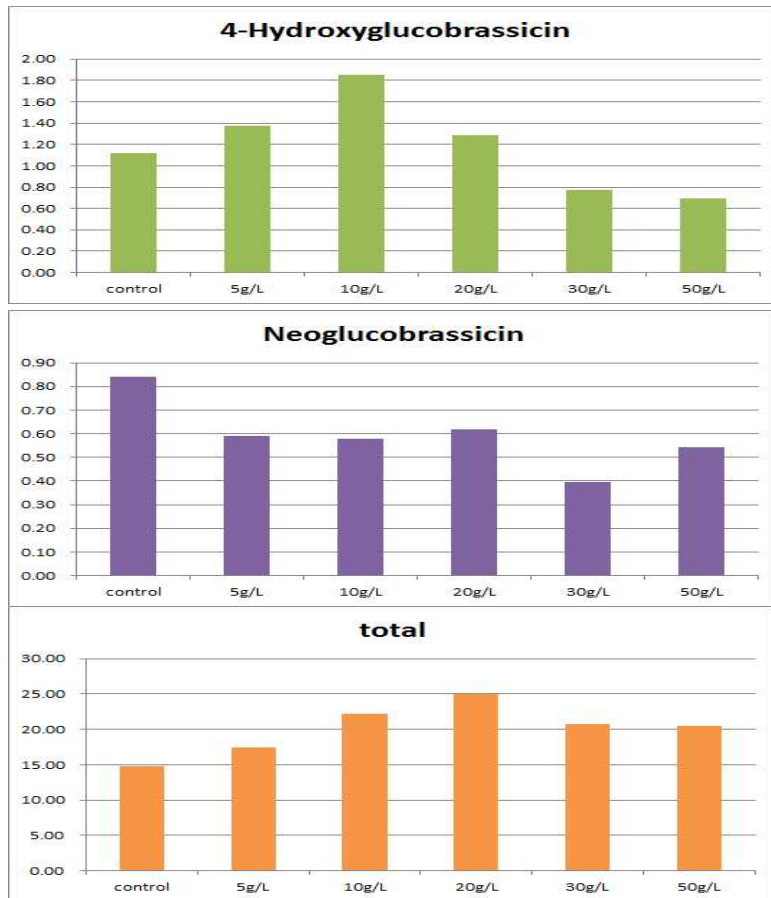
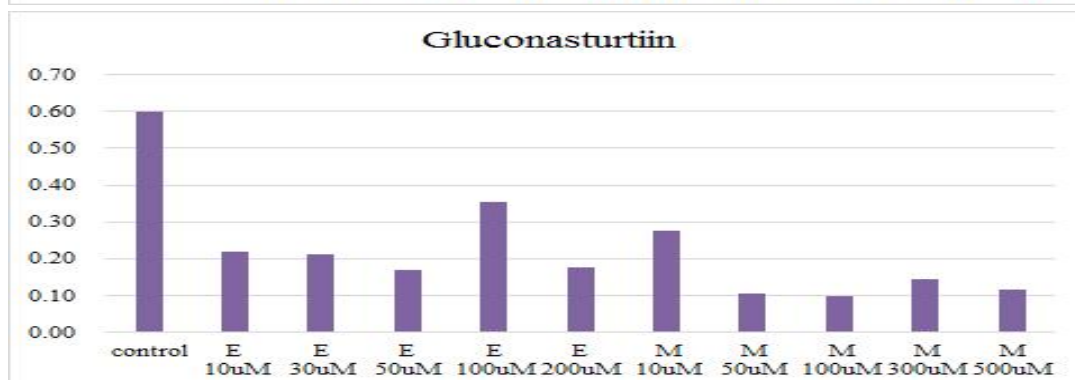
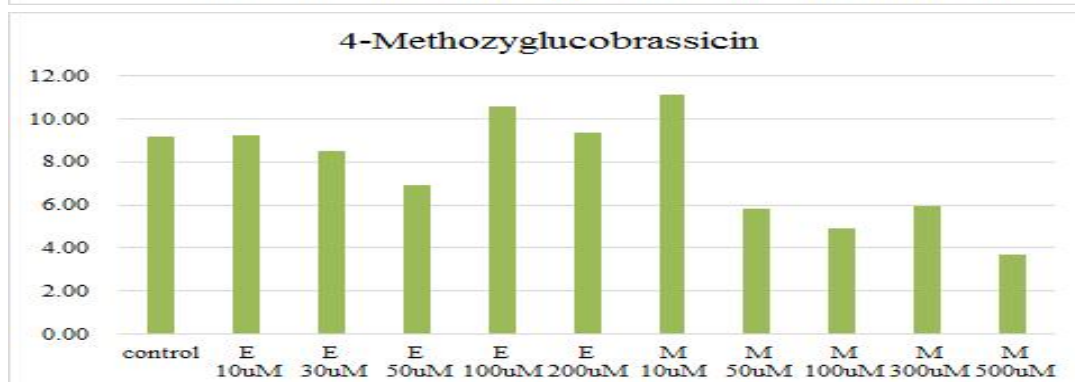
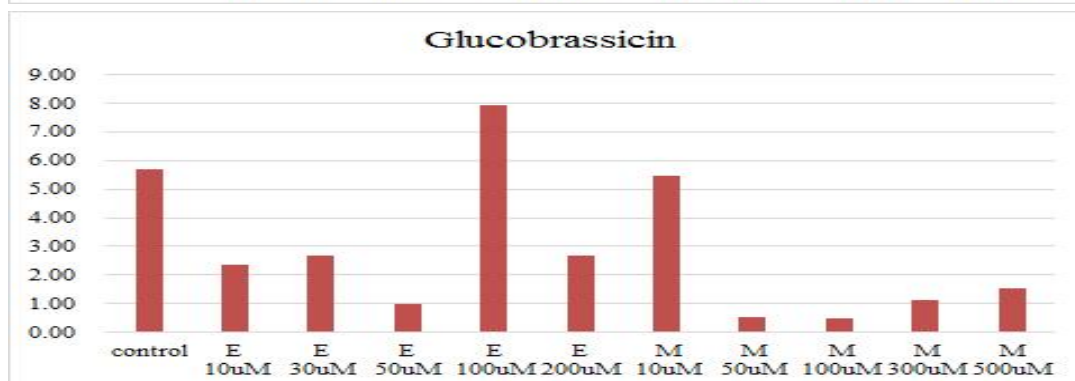
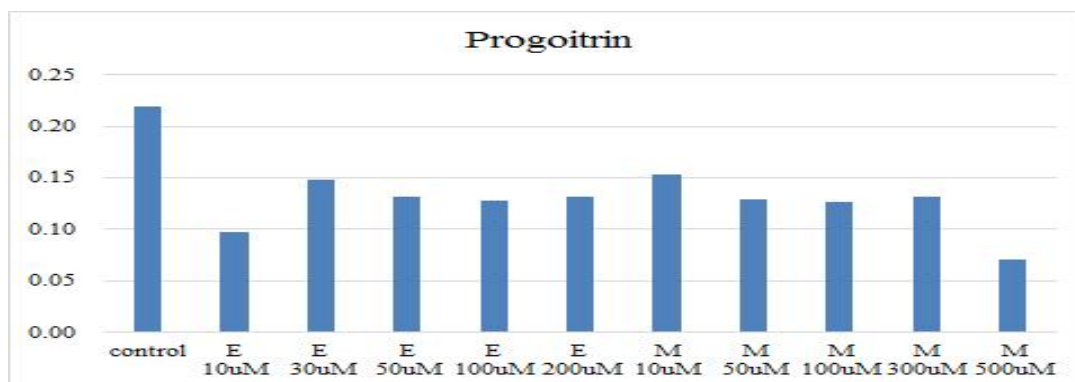


Figure 2. Effect of yeast extract concentrations on glucosinolate biosynthesis in kale

나. 배추 유식물체에 ethephon과 methyl jasmonate 처리 후 glucosinolate 생합성 조사

배추 유식물체에 ethephon (E)과 methyl jasmonate (M) 농도별로 처리 후 7일간 재배 후 glucosinolate 함량을 조사하였다(그림 3). 전반적으로 ethephon (E)과 methyl jasmonate (M) 농도별 처리는 glucosinolate 함량 변화에 큰 영향을 미치지 못하였다. 특히 ethephon 100um과 methyl jasmonate 10uM 처리에서 대조군 보다 약간 증가된 glucosinolate 함량이 나타났다. 이 결과를 통하여 ethephon (E)과 methyl jasmonate (M) 농도별 처리는 배추 유식물체에서 glucosinolate 함량 변화에 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다.



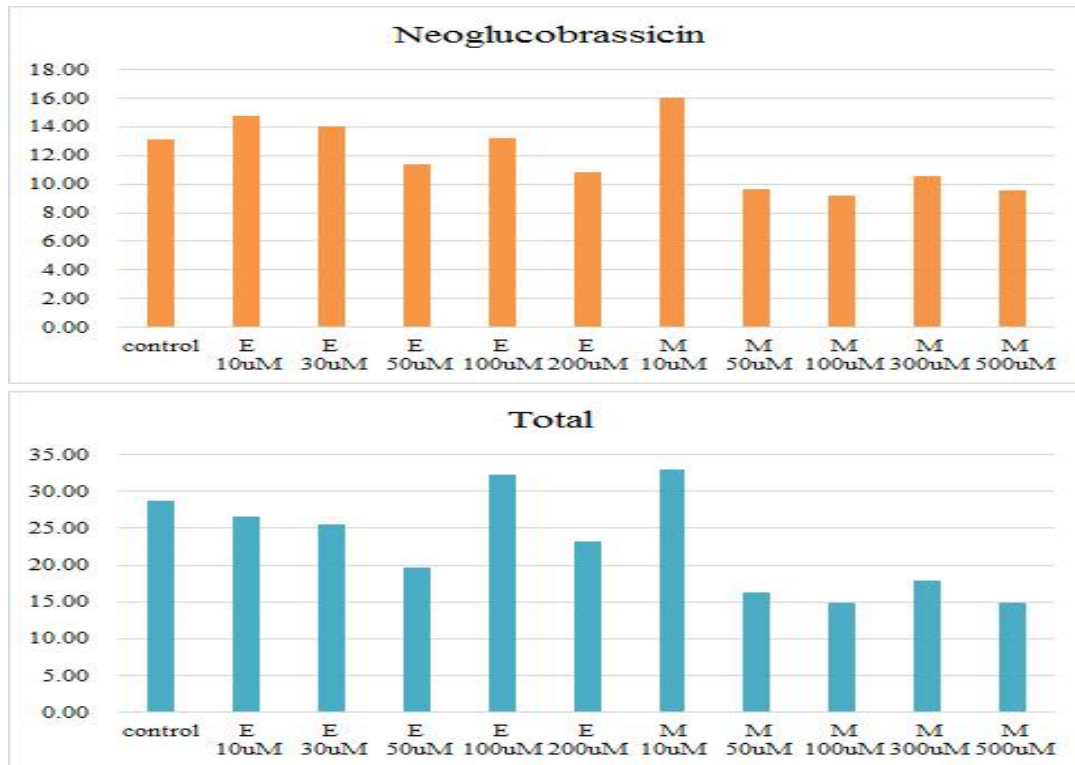


Figure 3. Effect of ethephon and methyl jasmonate concentrations on glucosinolate biosynthesis in Chinese cabbage

다. 배추 유식물체에 NaCl 농도별 처리 후 glucosinolate와 카로티노이드 생합성 조사

배추 유식물체를 광과 암처리 조건에서 재배하면서 NaCl 농도별 처리 후 7일간 재배 후 glucosinolate 함량을 조사하였다(표 1, 2). 전반적으로 NaCl 농도별 처리는 glucosinolate 함량 변화에 큰 영향을 미치지 못하였다. 광과 암처리 조건에서 모두 NaCl 처리가 glucosinolate 함량을 낮추는 효과가 나타났다. 특이할 점은 인돌 계통의 glucosinolate인 glucobrassicin과 4-hydroxyglucobrassicin은 NaCl 처리가 glucosinolate 함량을 높이는 것으로 나타났다.

Table 1. Effect of NaCl concentrations on glucosinolate biosynthesis in Chinese cabbage with light treatment

No.	Trivial name	NaCl 0	NaCl 50	NaCl 100	NaCl 150	NaCl 200
1	Glucoraphanin	48.15±0.01	14.48±2.84	14.15±0.68	14.00±0.61	9.99±0.68
2	Sinigrin	0.95±0.02	0.86±0.32	0.96±0.06	0.89±0.01	0.66±0.07
3	Glucoalyssin	1.36±0.09	1.07±0.30	1.21±0.07	1.23±0.03	0.94±0.17
4	Unknown	1.64±0.06	1.07±0.45	1.13±0.06	0.96±0.00	ND ^{a)}
5	Gluconapin	54.55±0.20	13.61±1.64	13.44±1.85	18.15±1.54	21.51±1.55
6	Unknown	21.43±1.28	15.62±5.36	17.70±1.67	10.50±0.39	2.82±0.30
7	4-Hydroxyglucobrassicin	0.24±0.05	0.29±0.07	0.47±0.02	0.57±0.01	0.77±0.01
8	Glucobrassicinapin	8.74±0.78	1.90±0.50	1.62±0.54	2.50±0.11	2.18±0.13
9	Glucoerucin	4.98±0.18	2.35±0.67	2.54±0.07	3.07±0.36	1.98±0.03
10	Unknown	4.08±0.34	2.33±0.66	2.62±0.02	2.71±0.25	1.66±0.12

11	Glucobrassicin	1.20±0.20	0.93±0.25	1.27±0.04	1.98±0.10	3.25±0.03
12	4-Methoxyglucobrassicin	5.96±0.38	5.47±0.43	5.63±0.45	3.98±0.32	3.18±0.01
13	Gluconasturtiin	2.52±1.51	0.95±0.01	1.00±0.01	1.66±0.64	1.58±0.73
14	Neoglucobrassicin	11.26±0.67	5.94±0.33	5.34±0.82	4.41±0.63	3.70±0.25
Total		167.07±2.47	66.88±13.85	69.03±2.57	66.63±1.65	54.22±3.78

^{a)}ND, not detected.

Table 2. Effect of NaCl concentrations on glucosinolate biosynthesis in Chinese cabbage with dark treatment

No.	Trivial name	NaCl 0	NaCl 50	NaCl 100	NaCl 150	NaCl 200
1	Glucoraphanin	31.29±6.48	11.30±1.33	11.43±0.82	9.74±0.23	15.51±0.73
2	Sinigrin	0.64±0.15	1.17±0.21	1.18±0.27	1.00±0.04	1.12±0.17
3	Glucoalyssin	1.28±0.00	1.83±0.21	1.87±0.28	1.57±0.02	1.53±0.05
4	Unknown	1.10±0.05	0.82±0.13	0.77±0.13	ND	0.71±0.04
5	Gluconapin	40.02±10.21	9.33±2.21	10.25±3.47	12.20±1.66	32.21±0.70
6	Unknown	26.19±1.74	24.50±1.27	24.33±0.64	16.42±0.63	6.41±1.27
7	4-Hydroxyglucobrassicin	0.24±0.01	0.30±0.08	0.24±0.04	0.52±0.04	0.60±0.18
8	Glucobrassicinapin	5.59±0.53	1.28±0.62	1.42±0.11	1.71±0.78	3.72±0.03
9	Glucoruciferin	4.63±1.15	3.54±0.25	3.48±0.23	3.02±0.79	2.15±0.45
10	Unknown	5.62±1.47	3.79±0.15	3.97±0.12	3.40±0.76	2.43±0.46
11	Glucobrassicin	0.89±0.12	1.02±0.02	0.96±0.15	1.62±0.27	4.06±0.78
12	4-Methoxyglucobrassicin	3.77±1.94	4.49±0.03	3.81±0.11	3.30±0.43	3.76±0.96
13	Gluconasturtiin	1.45±0.50	1.89±0.07	2.39±0.74	3.60±2.59	2.63±0.08
14	Neoglucobrassicin	13.19±4.64	5.09±2.36	5.68±2.28	4.50±1.43	11.06±1.69
Total		135.89±19.26	70.36±8.93	71.79±6.68	62.60±9.64	87.91±2.99

배추 유식물체를 광과 암처리 조건에서 재배하면서 NaCl 농도별 처리 후 7일간 재배 후 carotenoid 함량을 조사하였다(표 3). 전반적으로 NaCl 농도별 처리는 carotenoid 함량 변화에 큰 영향을 미치지 못하였다. 광과 암처리 조건에서 모두 NaCl 처리 농도가 높아지면 carotenoid 함량은 더 줄어드는 것으로 나타났다.

Table 3. Effect of NaCl concentrations on carotenoid biosynthesis in Chinese cabbage

No.	Trivial name	Dark NaCl 0	Dark NaCl 50	Dark NaCl 100	Dark NaCl 150	Dark NaCl 200	Light NaCl 0	Light NaCl 150	Light NaCl 100	Light NaCl 150	Light NaCl 200
-----	--------------	-------------	--------------	---------------	---------------	---------------	--------------	----------------	----------------	----------------	----------------

1	violaxanthin	2.20	1.67	1.60	1.46	0.91	3.02	2.16	1.75	1.23	0.60
2	lutein	47.57	56.19	45.64	37.71	32.4	111.47	104.35	93.23	74.88	57.41
3	zeaxanthin	0.51	0.60	0.50	0.36	0.22	0.25	0.23	0.21	0.2	0.2
4	13-cis-beta-carotene	1.57	1.11	1.14	1.16	0.79	7.2	6.31	5.51	5.33	5.85
5	alpha-carotene	0.76	0.13	0.34	0.20	0.1	0.96	0.77	0.68	0.65	0.85
6	beta-carotene	6.99	5.58	5.03	4.16	4.03	99.94	84.11	74.1	64.09	52.2
7	9-cis-beta-carotene	2.45	1.82	1.83	1.41	1.3	20.12	15.63	14.2	13.64	12.77
Total		62.05	67.10	56.08	46.46	39.75	242.96	213.56	189.68	160.02	129.88

2절. 케일

1. 케일 transcriptome reference 제작

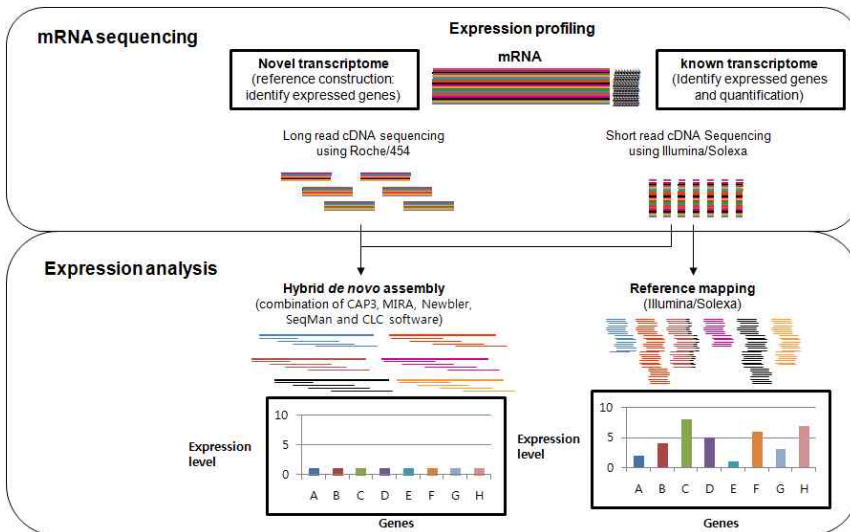
가. 서론

두 품종 (적케일과 만추콜라드 케일)의 케일 종자를 아시아 종묘회사로부터 구입하고 받아 후 약 일주일이 지난 후 sprout로부터 Total RNA를 추출한 후 NGS (next generation sequencing)를 하기 위해 서울대학교 NICEM에 분석을 의뢰하였다.

Transcriptome reference 제작은 *de novo* assembly로 수행하므로 *de novo* assembly error를 줄이는 것이 가장 중요한 단계 중 하나이다. 이것은 전체 지놈에서 발현된 cDNA를 shotgun 방식으로 sequencing 할 때 현재 가능한 NGS 장비중 read length를 가장 길게 읽음으로서 가장 경제적이고 효과적으로 assembly 할 수 있다.

Read length를 가장 길게 분석 할 수 있는 Roche/454 sequencer 장비로 분석한 total sequence data와 assembly 할 때 contig수와 contig length를 높이는데 경제적으로 효과적인 sequencing 양을 많이 확보할 수 있는 Illumin/Solexa sequence data를 합하여 Trinity software를 이용하여 *de novo* assembly를 수행하여 제작 (그림 1)

Figure 1. scheme of transcriptome expression analysis through massively parallel signature sequencing (MPSS) technology and bioinformatics: The identification of expressed genes through hybrid *de novo* assembly with Roche/454 and Illumian/Solexa data (left) and Expressed level profiling through mapping Illumina/Solexa sequence to the EST reference.



나. 재료 및 방법

(1) NGS를 이용한 DNA sequencing 방법

(가) Roche/454 DNA sequencing

Roche/454 pyrosequencing 시스템을 이용한 transcriptome 분석은 장비회사에서 개발한 kit와 방법을 이용하여 수행함 (그림 2)

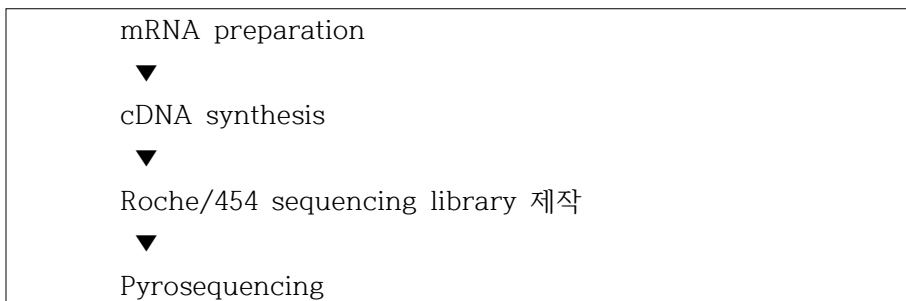


Figure 2. Experimental flow for Roche/454 pyrosequencing을

추출한 total RNA로부터 mRNA를 추출하여 6mer random primer를 이용하여 reverse transcriptase로 cDNA를 합성하여 Roche/454 sequencing library 제작 후 pyrosequencing 수행. Total RNA로부터 mRNA 추출하여 cDNA 제작 및 Roche/454 pyrosequencing library 제작은 실험 전체 단계중에서 가장 중요한 요소중 하나로서 첫단계에 initial 200ng mRNA를 갖고 reverse transcriptase로 first strand cDNA 및 2nd strand 합성하여 high quality 수준의 blunt end 단계의 phosphorylation을 만들어 adapter를 붙여서 emPCR 전단계의 library 수행 (그림 3).

(2) Pyrosequencing은 Emulsion PCR을 거쳐서 bead enrichment를 만들어 PTP (PicoTiterPlate)에서 수행한다.

(가) Live Amplification Mix 준비

dNTPs, PCR buffer, primer, Taq polymerase, PPIase를 32개 emulsion tube에 맞게 각각을 혼합

하여 premix 용액을 만든다.

(나) DNA library capture

위에서 결정된 DNA를 beads 600,000와 혼합 후 Beads에 single stranded DNA를 annealing 하기 위해 PCR에서 온도를 80°C 에서 20°C 까지 순차적으로 내리는 반응을 수행한다.

(다) Emulsification

50~100um의 직경을 갖는 ‘microreactors’ 를 형성하기 위해 water와 oil를 혼합하여 shaking한다. 이러한 microreactors 안에는 한 개 이상의 beads가 들어갈 수 없다.

(라) Amplification

DNA captured Beads와 Emulsion을 분주하여 PCR 반응한다. 반응이 일어난 bead에는 전형적으로 30 X 10⁶의 DNA fragment가 존재한다.

(마) Beads Recovery

화학적으로 emulsion을 깨뜨려 beads를 회수한다.

(사) DNA library beads enrichment

반응이 일어난 beads만을 회수하기 위해 streptavidin-coating되어 있는 beads로 회수하고 melting solution으로 beads를 회수한다. 회수된 DNA-beads는 sequencing primer로 annealing 하여 sequencing 준비시료를 만든다.

cDNA Rapid Library Protocol – From mRNA to 400 bp transcripts

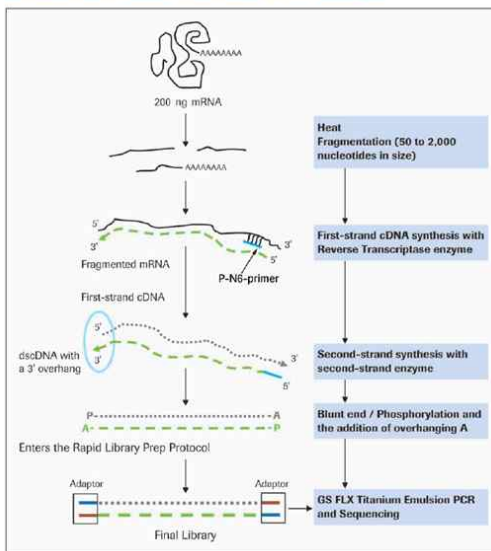


Figure 3. Roche/454 mRNA sequencing library protocol – from mRNA to 400pb transcript

Genome sequencer FLX system을 이용한 sequencing은 emPCR product의 bead를 PTP plate에 deposit하여 합성할 때 생기는 2개의 phosphate를 ATP로 전환하여 luciferase에 의해서 발생되는 빛의 신호를 확인하는 방법으로 염기를 분석.

Pre-wash 분석하고자 하는 시료의 양을 고려하여 Picotiter plate를 선택하고, 그에 해당하는 cartridge를 장착한 후 기기의 내부 세척과 기기 상태를 점검하기 위한 pre-run을 수행한다.

B. Sequencing run를 위한 용액과 DNA-beads 준비 및 기기 분석 시작

Pyrosequencing은 주형 DNA에 대하여 polymerase 반응에 의해 상보적인 strand가 합성되면서 분리되는 phosphate가 substrate 분해 효소의 energy원으로 변환되어 발광반응이 일어나는 것을 camera가 인지하여 염기서열을 인지하는 방식으로 packing beads layer, enzyme beads layer, DNA beads layer를 각각 준비하여야 한다. 준비된 layer들을 DNA beads layer, packing beads layer, enzyme beads layer 순으로 picotiter plate에 loading 하고 cartridge에 PTP를 장착하여 7시간 동안 기기분석을 한다.

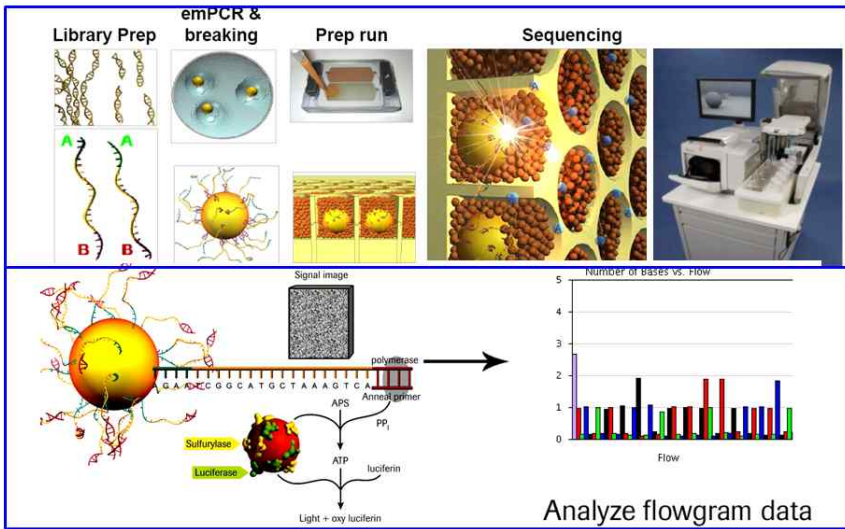


Figure 4. Roche/454 pyrosequencing 원리. Sample preparation: The fragmentation DNA treated with hydro shearing were isolated into 500-800bp. The fractioned DNA were made as single-strand fragments library after short adapters (A and B) composing for purification, amplification and sequencing steps. Clonal amplification of single strand DNA on bead on called emulsion PCR: Single-strand DNA B adapters were binding to beads then were amplified to surface of bead on emulsified bubble of water and oil mixed. The beads of amplified DNA were isolated through emulsion breaking and bead washing. 454 Pyrosequencing: The amplified DNA bead were layered on to the 454 PicoTiterPlate device and were sequenced with signal strength by extends nucleotides in a single-nucleotide flow.

(3) Illumina/Solexa sequencing

Illumina/Solexa sequencing system 방법은 single base synthesis 방식으로 이루어지며 아래 그림과 같은 모식도로 수행함.

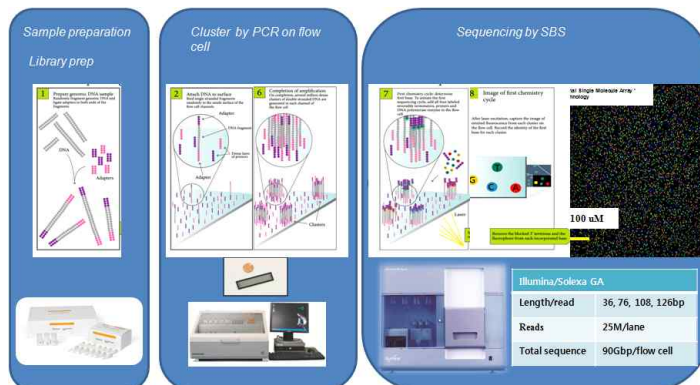


Figure 5. DNA sequencing using Illumina SBS(single base synthesis)

만들어진 library를 flow cell에서 PCR을 수행한 후 single base synthesis 방식으로 4가지 oligo의 fluorescence의 색깔을 laser로 detection하는 방식으로 이루어진다.

(4) Transcriptome *de novo* assembly 방법

(가) Quality trimming

- NGS raw sequence data를 quality score가 20이하이거나 read length가 50이하로 짧은 것들은 제거하고 high quality data만을 수집한다.

(나) *De novo* assembly 전략

- 신규 transcriptome 분석을 위한 assembly는 read length가 긴 것을 포함한 454 pyrosequencing data와 sequencing 양을 늘리기 위한 Solexa data를 합하여 분석한다. 이러한 데이터는 trimming한 high quality data만을 갖고 하는데, 방대한 data를 한번에 처리할 수 있는 Trinity RNA sequencing assembly software를 이용하여 분석한다. (<http://TrinityRNASeq.sourceforge.net>)

(다) Reference 제작을 위한 raw sequence data

Plant reference를 위해서 Roche/454와 Illumin/HiSeq sequencing data의 quality가 자료를 추출하여 분석하였다.

표 1은 Roche/454와 Illumina/HiSeq로 분석한 reference 제작용 raw sequence data를 summary한 것이다.

Table 1. Roche/454 data

Read	
total Number of Reads	618,489
total Number of Bases	242,554,044
number Assembled	460,867
number Partial	64,269
number Singleton	64,923
number Repeat	353
number Outlier	21,695
number TooShort	6,382

Illumina data

Trim Info	ManchooCollard (만추콜라드) Kale		Red Kale (적케일)	
	Reads	Length	Reads	Length
Before Trim	184,820,646	18,666,885,246	216,964,232	21,913,387,432
After Trim	159,183,602	15,609,054,086	184,640,400	18,087,070,817
Trim percentage	86.13%	83.62%	85.10%	82.54%
Mapping info				

Mapped reads	131,775,125	82.78%	140,424,998	76.05%
Coverage info				
Mapped nucleotides	12,706,800,185	81.41%	13,417,211,939	74.18%
Total sites	19,273,022		19,273,022	
Average coverage	659.29		696.16	

(라) Reference용 de novo assembly 결과

총 15 Gbp로 reference 제작을 위해 Trinity software로 분석한 contig 정보는 전체 약 96,663 개 나왔지만 이중 500bp 이상의 contig 개수는 51,116개로 나타났고 전체 약 82Mb정도로 나타났다.

Table 2. De novo assembly using Roche/454 data for reference EST construction

all Contig Metrics	
number of Contigs	18,790
number of Bases	16,369,594
largest Contig Size	7,848

(마) Expression profiling

- 총 18,790개 contig중 16,200개 유전자에 대해서 발현 유전자 종류 및 양을 비교 하였다. Manchoo에 비해서 Red에서 2배 이상 발현된 유전자수는 1542개이고 반대로 Red보다 Manchoo에서 2배 이상 발현된 것은 1,510개로 서로 비슷한 숫자로 발현조절이 있는 것으로 관찰되었다. 추후 non model transcriptome의 정교한 분석을 위해 Illumina data와 합산하여 de novo assembly 분석을 수행 할 것이고 케일의 유전자 분류 및 expression profiling을 분석 수행 중에 있음.

다. 연구 결과

(1) 케일에서 Carotenoid biosynthesis에 관련된 유전자 발굴

서울대학교 NICEM에 의뢰한 NGS(next generation sequencing) data를 바탕으로 carotenoid 생합성에 관련된 유전자 9개를 찾을 수 있었다. 그 중에 세 개의 유전자 (PDS, ZDS, ZEP)가 full-length로 존재하였다. Full-length로 존재하는 유전자들을 다른 식물들과 비교하고 phylogenetic tree를 제작하였다. 그림 17은 PDS (phytoene desaturase)의 Alignment를 한 결과이다. 십자화과 식물들과 90% 이상 비슷한 아미노산 sequence를 보였다. PDS, ZDS, ZEP 유전

자들의 아미노산 서열을 이용하여 계통수(Phylogenetic tree)를 그려 본 결과 식물과 나무의 두 그룹으로 명백하게 서로 분리되었다. PDS, ZDS, ZEP의 아미노산 sequence는 다른 식물과 비교했을 때 80% 이상의 상동성을 보였고, 90% 이상의 similarity를 보였다.

2. 만추콜라드, 적케일의 전사체 분석

가. 연구결과

아시아 종묘를 통해 분양받은 잎의 색이 붉은 케일 품종을 대상으로 케일의 고기능성 물질 합성과 관련된 유전자를 분리하고 물질 합성 경로의 조절 기작을 연구하고자 하였다. 대조군으로는 일반적으로 많이 재배되는 케일 품종인 만추콜라드를 사용하였다. 버미큘라이트에 과중한 케일 종자를 16/8시간의 광주기를 갖는 생장상에서 재배하여 출아 후 9일째에 샘플을 채취하여 RNA 추출 후 illumina sequencer를 이용하여 NGS 분석을 수행하였다. Sequencing된 케일의 short read를 이용하여 RPKM 분석을 통해 유전자 발현양을 비교 하였고 발현에 유의한 차이를 보이는 유전자를 선별하고 그것의 기능을 분석하기 위해 annotation, Functional Category(GO)를 수행하였다. 예로 만추콜라드를 sequencing한 ManchooCollard_kale_1.fastq의 read 길이는 각 101bp이며, 총 92,410,323 reads가 포함되어 있음을 확인할 수 있었다. Sequencing된 만추콜라드와 적케일의 총 read 수는 401,784,878 reads이며, 총 길이는 40,580,272,678 bp으로 확인되었다. 케일의 raw 데이터의 quality에 따른 trimming을 수행한 결과 sequencing read의 quality에 따른 trimming된 데이터의 paired end 정보는 표 1과 같았다.

ManchooCollard_kale_1.fastq의 paired end read의 평균 길이는 88.88 bp이며 83,508,931 read를 포함하고 있었고 분석에 사용된 만추콜라드와 적케일의 paired end data의 총 길이는 31,910,709,534bp이며, raw data의 총 길이 대비 71.38%가 확보된 결과를 얻을 수 있었다 (표 2).

Table 1. 전처리후의 short reads 통계치

No	trimmed	# of reads	Length aver (bp)	Sum (bp)	Aver. Sum(pb)
1	ManchooCollard_kale_1.fastq	92,410,323	89.96	7,759,153,238	83.13%
	ManchooCollard_kale_2.fastq	92,410,323	81.88	7,567,000,113	81.07%
2	red_kale_1.fastq	108,482,116	83.21	9,026,625,562	82.38%
	red_kale_2.fastq	108,482,116	80.76	8,760,719,916	79.96%
	Total	33,561,255,054		33,113,498,829	81.60%

Table 2. Paired end data의 short reads 통계치

No	trimmed	# of reads	Length aver (bp)	Sum (bp)	Aver. Sum (pb)
1	ManchooCollard_kale_1.fastq	83,508,931	88.88	7,422,174,108	79.52%
	ManchooCollard_kale_2.fastq	83,508,931	88.27	7,370,965,571	78.97%
2	red_kale_1.fastq	97,073,290	88.60	8,600,693,807	78.50%
	red_kale_2.fastq	97,073,290	87.74	8,516,876,048	77.73%
	Total	361,164,442		31,910,709,534	78.64%

Trinity 프로그램을 사용하여 모든 clean read를 어셈블리 후 49,471 개의 contigs를 획득하였다. 분석 후 가장 짧은 전사체의 길이는 500 bp 였으며, 가장 긴 전사체의 길이는 14,386 bp, 전사체의 평균 길이는 1,068 bp, N50은 1,178 bp였다. Bowtie2 소프트웨어와 DESeq 라이브러리를 사용하여 expression abundance를 측정하였으며 총 37,149 개의 annotated unigene을 획득할 수 있었다 (표 3).

Table 3. 만추콜라드 어셈블된 시퀀스의 정리

	Transcript
Number of sequences	49,471
Minimum length (bp)	500
Maximum length (bp)	14,386
Mean length (bp)	1,068
N50	1,178
Annotated sequences	37,149

Arabidopsis 유전자를 이용하여 annotation을 수행한 결과 그림 1과 같이 다양한 cellular process에 관련된 유전자에 대한 발현 정보를 확보하였다.

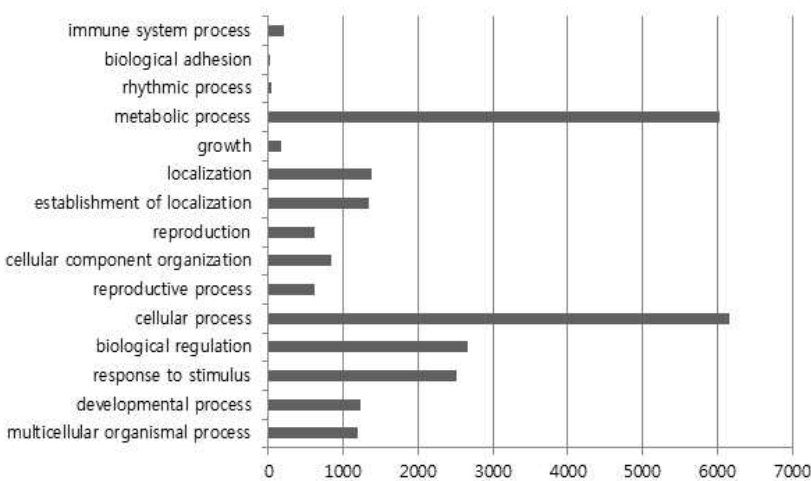


Figure 1. Kale 유전자의 Biological Process Functional Category

추콜라드와 적케일간 발현 차이는 DEG 분석을 통해 수행하였고 (그림 2), 분석 결과 후 biological process 분류에 따라 다양한 기능을 가진 유전자의 발현이 적케일에서 유의하게 증가된 것을 확인할 수 있었다.

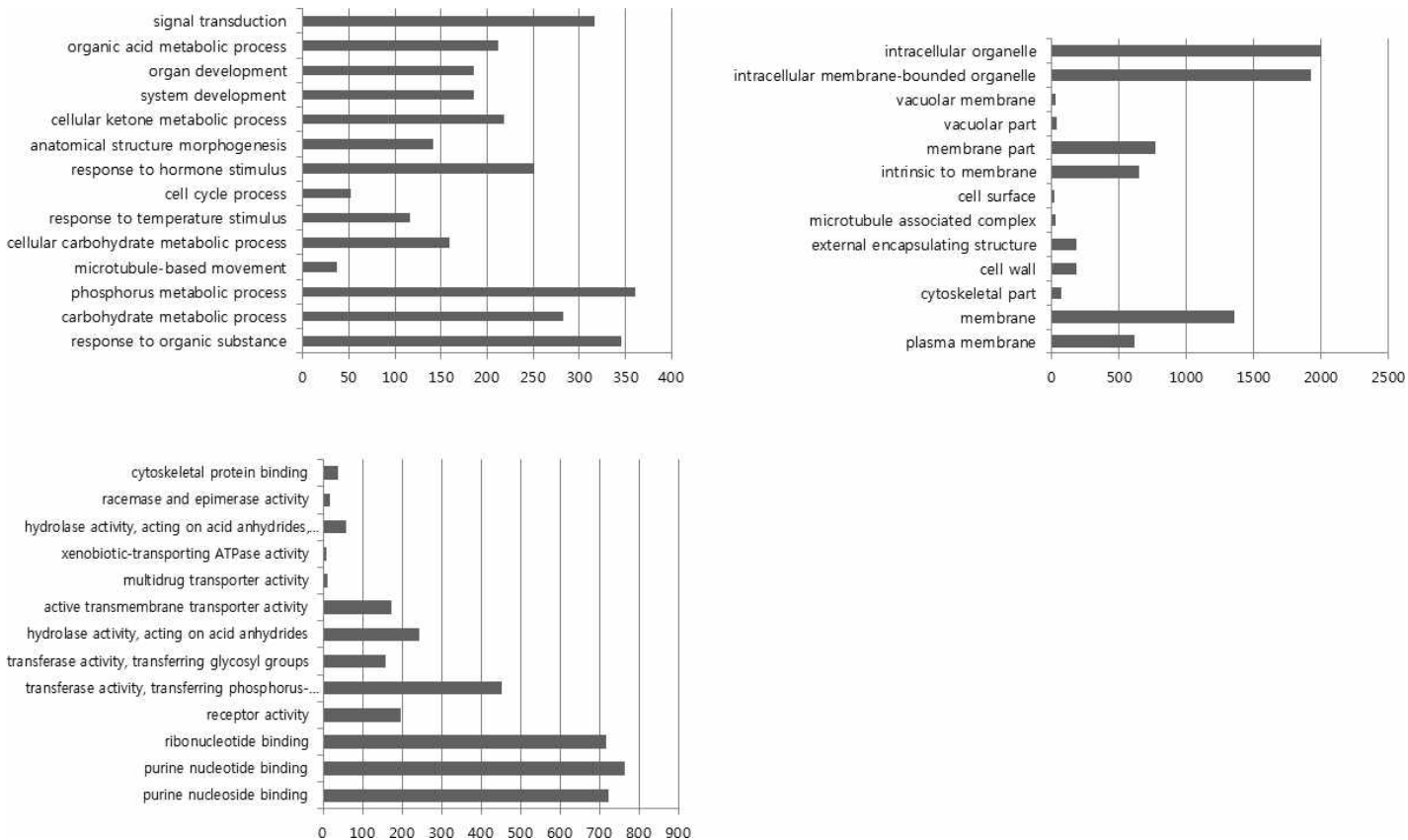


Figure 2. 유의하게 발현되는 유전자 후보군의 Molecular Function Category

적케일의 고기능성 물질 합성과 관련된 유전자를 분리하고 물질 합성 경로의 조절 기작을 연구하고자 blast 프로그램과 TAIR 웹사이트를 기반으로 글루코시놀레이트 생합성 경로에 관련된 효소를 생성하는 26개의 유전자를 확인하였다 (표 4). *BAT5*, *IPMDH1*, *IPMDH3*, *BCAT3*, *CYP79B2*, *CYP79B3*, *CYP83B1*, *CYP79F1*, *CYP83A1*, *CYP81F2*, *GSTF10*, *GSTF11*, *GGPI*, *SUR1*, *SOT16*, *SOT17*, *SOT18*, *GSTU20*, *UGT74B1*, *UGT74C1*, *APK1*, *APK2*, *GSH1/PAD2*, *FMOGS-OX5*, *AAO4*, *CHY1* 와 같은 글루코시놀레이트 생합성 관련 유전자들이 확인되었으며 이들 중 *GSTU20*와 *UGT74C1* 같은 지방족 계열의 글루코시놀레이트 생합성 관련 유전자들은 만추콜라드에 비해 적케일에서 3배이상 발현이 증가되었다.

또한 *PAL1*, *PAL2*, *PAL3*, *PAL4*, *C4H*, *C3H*, *4CL1*, *4CL2*, *4CL3*, *4CL5*, *CHS*, *CHI*, *F3H*, *F3' H*, *FLS1*, *FLS3*, *HCT*, *COMT1*, *CCOAOMT7*, *IFR*, *DFR*, *UGT79B1*, *UGT84A2*와 같은 페닐프로파노이드 생합성 관련 유전자들을 케일 총전사체 분석에서 확인할 수 있었다 (표 5). 이와 같은 유전

자 중 플라보놀, 안토시아닌, 프로안토시아닌 생합성의 주요 조절유전자인 *F3H*와 *F3' H*는 만추콜라드에 비해 적케일에서 15배이상 발현이 증가되었고, 안토시아닌 생합성에 중요한 *DFR*, *UGT79B1*, *UGT84A2*와 같은 유전자는 만추콜라드에 비해 적케일에서 5배이상 발현이 증가되었다. 특히 dihydroquercetin, dihydrokaempferol, dihydromyricetin과 같은 dihydroflavonol의 환원과정을 통해 leucoanthocyanidin을 생성하는데 관여하는 *DFR* 경우 만추콜라드에 비해 적케일에서 발현이 32배 이상 증가하였다.

Table 4. 케일 총전사체 분석에서 확인된 잠정적 글루코시놀레이트 생합성 유전자

Table 5. 케일 총전사체 분석에서 확인된 잠정적 페닐프로파노이드 생합성 유전자

다양한 식물체로부터 분리된 600개 이상의 천연 카로티노이드 중 십자화과 식물에 풍부하게 들어있는 카로티노이드는 대략 50개정도 된다고 알려져 있다. 케일 내 카로티노이드 물질 합성과 관련된 유전자를 확인하고자 케일 총전사체를 분석하였고 *DXS1*, *DXS3*, *DXR*, *CMS*, *CMK*, *HMS*, *IDI2*, *GGPS1*, *GGR*, *PSY*, *PDS*, *ZDS*, *CRTISO*, *LCYB*, *LUT2*, *CHY1*, *CHY2*, *ZEP*, *VDE1*, *NCED1*, *NCED3*, *NCED4*와 같은 약 22개의 카로티노이드 생합성 관련 유전자를 확인할 수 있었다 (표 6).

Table 6. 케일 총전사체 분석에서 확인된 잠정적 카로티노이드 생합성 유전자

Gene name	Gene ID	At Gene ID	MC kale 1	MC kale 2	Red kale 1	Red kale 2	Fold Change	pval
BAT5	comp21381	AT4G12030	145	144	305	312	2.0186	2.04E-14
isopropylmalate dehydrogenase1 (IPMDH1)	comp5213	AT5G14200	2701	2723	4705	4765	1.6534	1.1E-78
isopropylmalate dehydrogenase3 (IPMDH3)	comp5213	AT1G31180	2727	2744	4754	4798	1.6536	3.7E-79
branched-chain aminotransferase3 (BCAT3)	comp4355	AT3G49680	2948	2938	1926	1966	0.6261	4.77E-51
cytochrome P450, family79, subfamilyB, polypeptide2 (CYP79B2)	comp873	AT4G39950	6143	6080	4133	4136	0.6407	8.93E-76
cytochrome P450, family79, subfamilyB, polypeptide3 (CYP79B3)	comp16472	AT2G22330	577	587	1107	1097	1.7941	7.73E-33
cytochrome P450, family83, subfamilyB, polypeptide1 (CYP83B1)	comp146	AT4G31500	63206	62981	82398	81485	1.2299	2.06E-38
glutathione S-transferase PHI10 (GSTF10)	comp330	AT2G30870	3957	3927	7833	7946	1.8953	1.31E-165
Class I glutamine amidotransferase-like superfamily protein (GGP1)	comp232	AT4G30530	36555	36462	20364	20149	0.5254	6.45E-303
tyrosine transaminase family protein (SUR1)	comp3033	AT2G20610	6099	6067	7021	7089	1.0983	0.0000271
sulfotransferase16 (SOT16)	comp131	AT1G74100	12907	12820	10131	10154	0.7467	5.36E-50
cytochrome p450, family79, subfamilyF, polypeptide1 (CYP79F1)	comp26905	AT1G16410	100	98	0	0	0.0108	6.68E-37
cytochrome P450, family83, subfamilyA, polypeptide1 (CYP83A1)	comp30629	AT4G13770	184	190	505	523	2.605	1.18E-36
glutathione S-transferase F11 (GSTF11)	comp19807	AT3G03190	266	266	395	405	1.4227	2.56E-06
glutathione S-transferase TAU 20 (GSTU20)	comp5200	AT1G78370	1841	1861	5757	5814	2.9601	0
UDP-glucosyl transferase 74B1 (UGT74B1)	comp1784	AT1G24100	6866	6824	5234	5395	0.7353	4.41E-41
UDP-glucosyl transferase 74C1 (UGT74C1)	comp1432	AT2G31790	1982	2131	10007	9885	4.5801	0
sulfotransferase17 (SOT17)	comp5327	AT1G18590	3204	3172	1627	1610	0.4808	2.45E-117
sulfotransferase18 (SOT18)	comp6605	AT1G74090	695	708	152	141	0.198	2.46E-104
APS kinase1 (APK1)	comp2320	AT2G14750	1624	1667	776	791	0.4509	2.98E-79
APS-kinase2 (APK1)	comp9182	AT4G39940	930	922	480	480	0.491	3.89E-40
glutamate-cysteine ligase (GSH1/PAD2)	comp77	AT4G23100	118389	117935	77723	76726	0.6189	1.21E-201
cytochrome P450, family81, subfamilyF, polypeptide2 (CYP81F2)	comp429	AT5G57220	12438	12409	4752	4724	0.3612	0
flavin-monoxygenase glucosinolate S-oxygenase5 (FMOGS-OX5)	comp9369	AT1G12140	1274	1272	1008	1045	0.7635	1.62E-10
aldehyde oxidase4 (AAO4)	comp23153	AT1G04580	71	74	220	240	2.9922	2.37E-21
beta-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase1 (CHY1)	comp16571	AT5G65940	217	211	511	490	2.2172	6.26E-27

Gene name	Gene ID	At Gene ID	MC kale 1	MC kale 2	Red kale 1	Red kale 2	Fold Change	pval
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase1 (DXS1)	comp1050	AT4G15560.1	1362	1378	2890	2920	2.0077	3.13E-98
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase3 (DXS3)	comp17507	AT5G11380.1	163	164	333	324	1.9035	2.44E-13
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase (DXR)	comp12876	AT5G62790.1	724	693	1323	1317	1.7648	1.63E-36
4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol synthase (CMS)	comp26954	AT2G02500.1	215	212	184	192	0.833	0.0583

Gene name	Gene ID	At Gene ID	MZ41	MZ57	RetB80	Ret406	Fold864	2.98E-52
Gene name	Gene ID	At Gene ID	kale219	kale233	kale232	kale255	Change	pval
4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase (CMK)	comp7063	AT2G26930.1	1950	1972	3324	3383	1.6186	2.29E-57
1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl-4-diphosphate synthase (HMS)	comp766	AT5G60600.1	10408	10437	3324	3383	1.6186	0.0293
phenylalanine ammonia-lyase1 (PAL1)	comp4886	AT3G02780.1	30389	29904	35874	35435	1.1273	3.41E-61
phenylalanine ammonia-lyase2 (PAL2)	comp136902	AT4G33890.1	2232	2250	2025	2020	0.8547	1.42E-72
phenylalanine ammonia-lyase3 (PAL3)	comp4397	AT5G04330.1	6874	6735	7681	7486	1.0465	3.86E-09
phenylalanine ammonia-lyase4 (PAL4)	comp13760	AT7G07490.1	39237	39326	20045	19925	0.4728	6.42E-08
phenylethanoyl hydroxyase (PEH)	comp4887	AT4G34290.1	941	962	587	606	0.5936	9.72E-25
β-carotene desaturase (ZDS)	comp10391	AT3G04870.1	33669	3348	2383	2346	0.6652	1.69E-42
4-coumarate:CoA ligase1 (4CL1)	comp2937	AT1G68890.1	3366	3349	2381	2346	0.6667	1.66E-43
4-coumarate:CoA ligase2 (4CL2)	comp2932	AT3G1240.1	1055	1089	351	331	1.844	0.000408
lycopene β-cyclase (LUT1)	comp2282	AT3G10230.1	50	50	74	74	1.3999	0.059
4-coumarate:CoA ligase3 (4CL3)	comp45840	AT1G65060.1	1429	1452	1192	1198	0.7858	1.33E-09
lycopene ε-cyclase (LUT2)	comp3587	AT3G57030.1	320	317	1300	1306	3.875	2E-143
4-coumarate:CoA ligase5 (4CL5)	comp15656	AT3G1230.1	428	428	193	208	0.4426	4.64E-123
β-ring carotene hydroxylase1 (CHY1)	comp29651	AT4G3700.1	87	87	33	43	0.4101	6.72E-25
chalcone synthase (CHS)	comp744	AT5G27570.1	2544	2533	445	416	0.1607	5.06E-07
β-ring carotene hydroxylase2 (CHY2)	comp11504	AT3G5120.1	46859	46664	40000	40166	0.8117	9.82E-37
chalcone isomerase (CHI)	comp11877	AT3G5120.1	99	92	1709	1714	17.5991	0.994
zeaxanthin epoxidase (ZEP)	comp314	AT5G67030.1	53	53	906	892	15.5369	8.87E-236
flavanone 3-hydroxylase (F3H)	comp3588	AT3G5120.1	585	593	1374	1366	2.2027	3.66E-65
violaxanthin de-epoxidase1 (VDE1)	comp7183	AT1G08550.1	53	58	97	108	1.716	0.000431
flavonoid 3-hydroxylase (F3H)	comp46815	AT3G07990	482	486	85	83	1.5952	1.65E-17
9-cis epoxycarotenoid dioxygenase1 (NCED1)	comp11226	AT3G63520.1	31	26	821	810	2.7664	6.38E-08
flavonol synthase1 (FLS1)	comp40199	AT3G08640.1	21178	21126	307742	311671	0.8823	4.8E-112
9-cis epoxycarotenoid dioxygenase3 (NCED3)	comp14815	AT3G14440.1	6194	6742	742	742	0.473	9.97E-12
flavonol synthase3 (FLS3)	comp42781	AT5G63590.1	6994	6967	7494	7480	1.0157	0.475
9-cis epoxycarotenoid dioxygenase4 (NCED4)	comp391	AT4G19170.1	60	65	27	31	0.4412	0.0000715
hydroxycinnamoyl CoA:shikimate/quinic acid transferase (HCT)	comp391	AT4G19170.1	71	67	230	235	3.1789	3.1E-23
caffeic O-methyltransferase1 (COMT1)	comp2481	AT5G54160.1	176	177	6026	6007	32.2732	0
caffeoyl Co A ester O-methyltransferase7 (CCOAMT7)	comp42437	AT4G26220.1	53	55	379	371	6.5959	2.99E-69
isoflavone reductase (IFR)	comp24981	AT1G75280.1	654	653	4009	3951	5.7664	0
dihydroflavonol reductase (DFR)	comp24963	AT5G42800.1						
UGT79B1	comp32518	AT5G54060						
UDP-glucosyl transferase 84A2 (UGT84A2)	comp19087	AT3G21560.1						

유전자의 발현에 따른 대사산물 합성 경로의 변화를 분석하고자 GC-TOF-MS 분석을 이용하여 일차대사산물 합성 경로를 분석하고자 하였다. 일차대사산물 프로파일링을 수행하였고 PCA 분석 결과 만추콜라드와 적케일 간에 뚜렷한 일차대사산물 프로파일의 차이를 확인할 수 있었다 (그림 3).

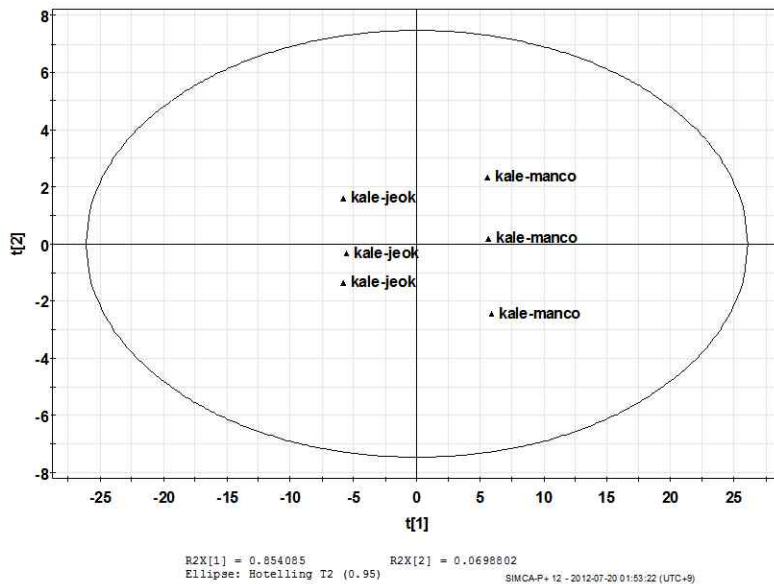


Figure 3. 만추콜라드와 적케일에서 GC-TOF-MS 결과의 PCA 분석

특히 만추콜라드에 비해 적케일에서 특히 당대사와 관련된 물질 합성이 증가된 반면 아미노산 합성은 감소되어 있는 것을 확인할 수 있었다 (그림 4, 표 7).

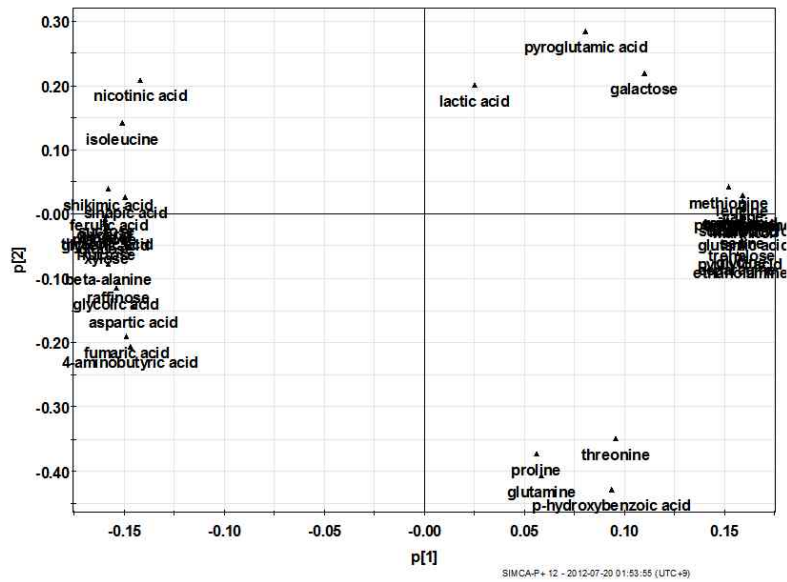


Figure 4. 만추콜라드와 적케일에서 GC-TOF-MS 결과의 PCA 분석

Table 7. 만추콜라드와 적케일에서 일차대사산물의 함량 비교 분석

	kale-manchoo	kale-jeok	Ratio (Jeok High -> Manchoo low)	p.value
inositol	0.249587	1.196103	4.792329	0.0000
sucrose	0.616239	2.815853	4.569421	0.0004
mannose	1.669379	7.114279	4.261631	0.0000
xylose	0.032596	0.136512	4.187957	0.0002
ferulic acid	0.004017	0.010692	2.661518	0.0013
glycerol	3.575974	8.941988	2.500574	0.0001
raffinose	0.008276	0.017866	2.158755	0.0017
glucose	6.799816	14.66275	2.156345	0.0007
fructose	12.25711	24.97467	2.037566	0.0002
glyceric acid	0.123961	0.242063	1.952729	0.0000
aspartic acid	0.292162	0.512814	1.755243	0.0318
beta-alanine	0.028293	0.048339	1.708542	0.0006
threonic acid	0.86251	1.35734	1.57371	0.0006
sinapic acid	0.258993	0.375142	1.448464	0.0070
shikimic acid	0.039137	0.053879	1.376686	0.0020
nicotinic acid	0.057405	0.07399	1.288907	0.0633
fumaric acid	0.346421	0.425989	1.229686	0.0061
isoleucine	0.129651	0.154479	1.191502	0.0122
4-aminobutyric acid	1.48397	1.7128	1.154202	0.0078
glycolic acid	0.201582	0.226101	1.121632	0.0114
lactic acid	0.038921	0.03782	0.971706	0.7805
glutamine	28.50888	26.56771	0.93191	0.5061
pyroglutamic acid	30.32068	27.43526	0.904836	0.3151
threonine	0.968663	0.872799	0.901035	0.2343
proline	0.051556	0.0434	0.841816	0.5303
galactose	0.184056	0.154816	0.841137	0.1477
ethanolamine	0.376926	0.279217	0.740773	0.0010
p-hydroxybenzoic	0.003839	0.002782	0.724854	0.2480

acid				
quinic acid	0.027022	0.018442	0.682461	0.0010
glycine	2.101978	1.287333	0.612439	0.0036
methionine	0.336908	0.204883	0.608128	0.0031
asparagine	7.480321	4.529694	0.605548	0.0099
serine	7.253567	4.011312	0.553012	0.0009
glutamic acid	4.194635	2.185292	0.520973	0.0001
malic acid	10.41579	5.162297	0.495622	0.0000
valine	1.66502	0.821368	0.493308	0.0000
tryptophan	0.513191	0.234365	0.456681	0.0002
phenylalanine	0.863421	0.360244	0.417229	0.0000
trehalose	0.211679	0.086992	0.410961	0.0016
citric acid	0.953485	0.356943	0.374356	0.0000
pyruvic acid	0.056464	0.02077	0.367837	0.0074
arginine	1.083487	0.247337	0.228278	0.0000
succinic acid	2.405274	0.348654	0.144954	0.0002
mannitol	0.638153	0.063175	0.098997	0.0000
alanine	3.029834	0.23443	0.077374	0.0000
leucine	0.149416	0.01	0.066927	0.0005

HPLC 분석을 통해 만추콜라드에서는 11개의 글루코시놀레이트, 적케일에서는 14개의 글루코시놀레이트를 분석할 수 있었다 (표 8). 14개의 글루코시놀레이트 중 3개의 unknown을 포함한 9개의 글루코시놀레이트 (progoitrin, glucoraphanin, gluconapin, glucobrassicin, gluconasturtiin, neoglucobrassicin) 가 만추콜라드보다 적케일에서 높은 함량을 보였으며 나머지 5개의 글루코시놀레이트 (glucoiberin, sinigrin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucoerucin, 4-methoxyglucobrassicin)는 만추콜라드에서 더 높은 함량을 보였다. 글루코시놀레이트 중 적케일에서는 progoitrin이 가장 높은 함량을 보였으며 이는 만추콜라드보다 6.1배 높은 함량이다. 총 글루코시놀레이트 함량은 만추콜라드보다 적케일에서 약 1.42배 함량이 높았다.

Table 8. 만추콜라드와 적케일에서 글루코시놀레이트 함량 비교 분석 ($\mu\text{mol/g}$ 건중량)

No.	$\mu\text{mol/g}$	Manchoo kale	Red kale
1	Glucoiberin	0.21 \pm 0.03	0.1 \pm 0.18
2	Progoitrin	10.44 \pm 2.46	63.15 \pm 7.37
3	Glucoraphanin	0.35 \pm 0.06	0.47 \pm 0.13
4	Unknown1	0 \pm 0	0.98 \pm 0.16
5	Sinigrin	35.35 \pm 5.24	0.38 \pm 0.05
6	Unknown2	0 \pm 0	0.83 \pm 0.2
7	Gluconapin	0.74 \pm 0.12	1.14 \pm 0.21
8	4-Hydroxyglucobrassicin	6.48 \pm 0.31	3.85 \pm 0.23
9	Glucoerucin	0.32 \pm 0.07	0.18 \pm 0.02
10	Unknown3	0 \pm 0	0.88 \pm 0.22
11	Glucobrassicin	5.1 \pm 0.24	9.87 \pm 1
12	4-Methoxyglucobrassicin	3.35 \pm 0.55	2.17 \pm 0.35
13	Gluconasturtiin	0.3 \pm 0.04	0.62 \pm 0.14
14	Neoglucobrassicin	2.08 \pm 0.25	7.63 \pm 1.14
	Total	64.72 \pm 8.14	92.25 \pm 10.26

HPLC 분석을 통하여 만추콜라드와 적케일에서 chlorogenic acid, ferulic acid, quercetin과 같은 페닐프로파노이드 유래 물질을 분석하였다 (표 9). 적케일에서 ferulic acid의 함량은 746.91 μ g/g으로 이는 만추콜라드내 ferulic acid 함량의 74.7배에 해당한다. Chlorogenic acid 경우 적색일보다 만추콜라드에서 1.2 배 정도 함량이 높았으며, quercetin 경우 적케일에서만 확인되었다.

Table 9. 만추콜라드와 적케일에서 페닐프로파노이드 함량 비교 분석

Phenylpropanoid (μ g/g)	Chlorogenic acid	Ferulic acid	Quercetin
Manchoo kale	29.76 \pm 2.56	10 \pm 0.56	0 \pm 0
Red kale	25.04 \pm 1.5	746.91 \pm 23.41	12.14 \pm 3.4

적케일 내의 붉은색이 안토시아닌에서 유래되었는지 확인하기 위해 HPLC 분석을 통해 만추콜라드와 적케일 내 안토시아닌 성분을 분석하였다. 만추콜라드 경우 총 4 종류의 안토시아닌이 추출되었으며, 적케일 경우 14 종류의 안토시아닌이 추출되었다 (표 10). 총 안토시아닌 함량은 적케일이 만추콜라드에 비해 7.6배 정도 높았다. 케일에서 확인된 주된 안토시아닌은 *p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, sinapinic acid와 같은 여러 아실그룹이 cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside에 결합된 구조이다. 1번 peak 경우 cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside 기본 구조만을 가진 안토시아닌이며 이는 적케일에서만 확인되었다. 적케일에서 분석된 14개의 안토시아닌 중에서 9번 peak인 cyanidin 3-(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside은 건중량 1g 당 0.39 μ mol로 모든 안토시아닌 중 가장 높은 함량을 보였다.

Table 10. 만추콜라드와 적케일에서 안토시아닌 함량 비교 분석

Peak No.		Manchoo kale	Red kale
1	Cyanidin 3-diglucoside-5-glucoside	ND	0.01 \pm 0.00
2	Cyanidin 3-(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	ND	0.01 \pm 0.00
3	Cyanidin 3-(caffeoyl)(<i>p</i> -coumaroyl)diglucoside-5-glucoside	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00
4	Unknown	ND	0.03 \pm 0.00
5	Unknown	ND	0.06 \pm 0.00
6	Unknown	ND	0.03 \pm 0.00
7	Cyanidin 3-(sinapoyl)glucoside-5-glucoside	ND	0.06 \pm 0.00
8	Cyanidin 3-(<i>p</i> -coumaroyl)diglucoside-5-glucoside	ND	0.14 \pm 0.01
9	Cyanidin 3-(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	ND	0.39 \pm 0.02
10	Unknown	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00
11	Cyanidin 3-(<i>p</i> -coumaroyl)(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	0.07 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00
12	Cyanidin 3-(feruloyl)(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	0.05 \pm 0.00	0.10 \pm 0.00
13	Cyanidin 3-(sinapoyl)(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	ND	0.10 \pm 0.01
14	Cyanidin 3-(feruloyl)(sinapoyl)diglucoside-5-glucoside	ND	0.11 \pm 0.01
Total		0.14 \pm 0.01	1.07 \pm 0.05

HPLC를 사용하여 만추콜라드와 적케일에서 카로티노이드를 분석한 결과 lutein, 13-*cis*- β -carotene, α -carotene, β -carotene, 9-*cis*- β -carotene, lycopene과 같은 총 6 종류의 카로티노이드가 분석되었다 (표 11). 전체 카로티노이드 함량은 적케일보다 만추콜라드에서 약 1.4 배

정도 높았으며 모든 카로티노이드 중 lutein의 함량이 가장 높았다. 만추콜라드의 lutein 함량은 건중량 1g 당 569.12 ug으로 적케일보다 약 1.6배 높은 수치이며, lycopene을 제외한 나머지 카로티노이드는 만추콜라드가 적케일에 비해 많거나 비슷한 상황이다.

Table 11. 만추콜라드와 적케일에서 카로티노이드 함량 비교 분석

Carotenoid (µg/g)	Lutein	13-cis-β-Carotene	α-Carotene	β-Carotene	9-cis-β-Carotene	Lycopene*
Manchoo kale	569.12 ± 31.62	22.75 ± 0.87	5.67 ± 0.14	288.56 ± 2.92	36.84 ± 0.35	2.85 ± 1.29
Red kale	364.16 ± 21.78	16.52 ± 0.99	5.7 ± 0.19	234.54 ± 18.5	34.51 ± 2.32	4.44 ± 1.88

기존 보고들은 페닐프로파노이드와 안토시아닌과 같은 물질의 합성에 당 합성 경로가 중요한 영향을 미친다는 것을 보고하고 있다. 또한 페닐프로파노이드와 안토시아닌의 이차대사산물의 합성이 식물체내 탄소와 질소의 함량비에 의해 결정되는 C/N ratio에 의해서도 조절된다고 알려져 있다. 따라서 적케일에서 당 합성이 증가되도록, 혹은 아미노산의 합성을 저해하도록 영향을 미친 유전자를 발굴하고 이것에 의해 일차대사산물 합성 경로의 변화가 페닐프로파노이드와 안토시아닌과 같은 이차대사산물의 합성에 어떻게 영향을 미쳤는지 연구하고 전사체 분석 결과를 자세히 분석하여 당, 아미노산 대사와 관련된 유전자 중 적케일에서 발현이 현저하게 증가/감소한 유전자를 분리하여 케일에서 당, 아미노산 대사와 관련된 핵심 유전자를 분리하는 실험을 수행하고자 한다. 이와 같은 연구를 통해 고기능성 물질 고함유 케일 품종 개발에 사용될 수 있는 유전자 후보군을 선발하고자 한다.

3. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 케일에서의 glucosinolate, carotenoid, phenylpropanoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

가. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 케일 sprouts에서의 glucosinolate 생합성 경로 변화 및 함량 분석

각기 다른 LED 광원 하에 재배된 케일 sprouts에서 고기능성 물질인 glucosinolate 생합성에 관여하는 전사인자(Transcription factors) 발현 변화를 조사하고 각각의 물질의 합성을 촉진하는 재배 조건을 확립하고자 하였다. 버미쿨레이트에서 케일을 파종하고 백색, 청색, 적색 LED가 부착된 성장상에서 25도 그리고 16/8시간의 광주기 조건으로 재배하였다. LED 처리 10일 후 시료를 수확하였고 액체질소를 이용하여 동결한 후 RNA 추출 및 물질분석에 이용하였다.

본 연구에서는 기존에 보유하고 있던 transcriptome 분석 data를 이용하여 blast를 수행한 후 총 7가지의 전사인자 (MYB28-1, MYB28-2, MYB28-3, MYB29, MYB34, MYB51, MYB122)들의 염기서열을 확보하였고, 이를 이용하여 RT-PCR 전용의 primer을 제작하였다 (Table 1). 이와 함께 qRT-PCR을 이용하여 kale sprouts에서 glucosinolate 생합성에 관여하는 전사인자들의 발현 양상을 확인하였고 그 결과는 아래의 Figure 5 과 같다.

Table 1. A primer list

Primer name	Sequence (5' - 3')
RT-BoGAPDH (F)	CACTATGCACCCTGCTGTAACTG
RT-BoGAPDH (R)	TGCATCTCTGCCACTGTAGG
RT-BoMyb28-1 (F)	CATGGACCATTGAGGAAGACAAG
RT-BoMyb28-1 (R)	ATGGAGCATGATGATAATCTGTTCC
RT-BoMyb28-2 (F)	TATCATCATGCTTCATGCTTCTCG
RT-BoMyb28-2 (R)	GGAATGCAAATTCTCAGGTACAG
RT-BoMyb28-3 (F)	ATGCATCTAGTCCGACAAGCG
RT-BoMyb28-3 (R)	TGATGGTAGTGGCCTTAGCAGC
RT-BoMyb29 (F)	GGACCATCGAAGAAGACAAGAAAC
RT-BoMyb29 (R)	AGCGTGAAGCATGATGATAATCTG
RT-BoMyb34 (F)	ATGTGGGAAGAGTTGTAGGCTGAG
RT-BoMyb34 (R)	CGTTCTTGAGATTCGTGTTCC
RT-BoMyb51 (F)	AGCTTGTCTCCTACGTCAACCG
RT-BoMyb51 (R)	CCCATTTGTTGCCATGAAGG
RT-BoMyb122 (F)	CTGCAGAGCAGAAGGGTTGAAG
RT-BoMyb122 (R)	CCTCTTGGCTAAACTCACCAG

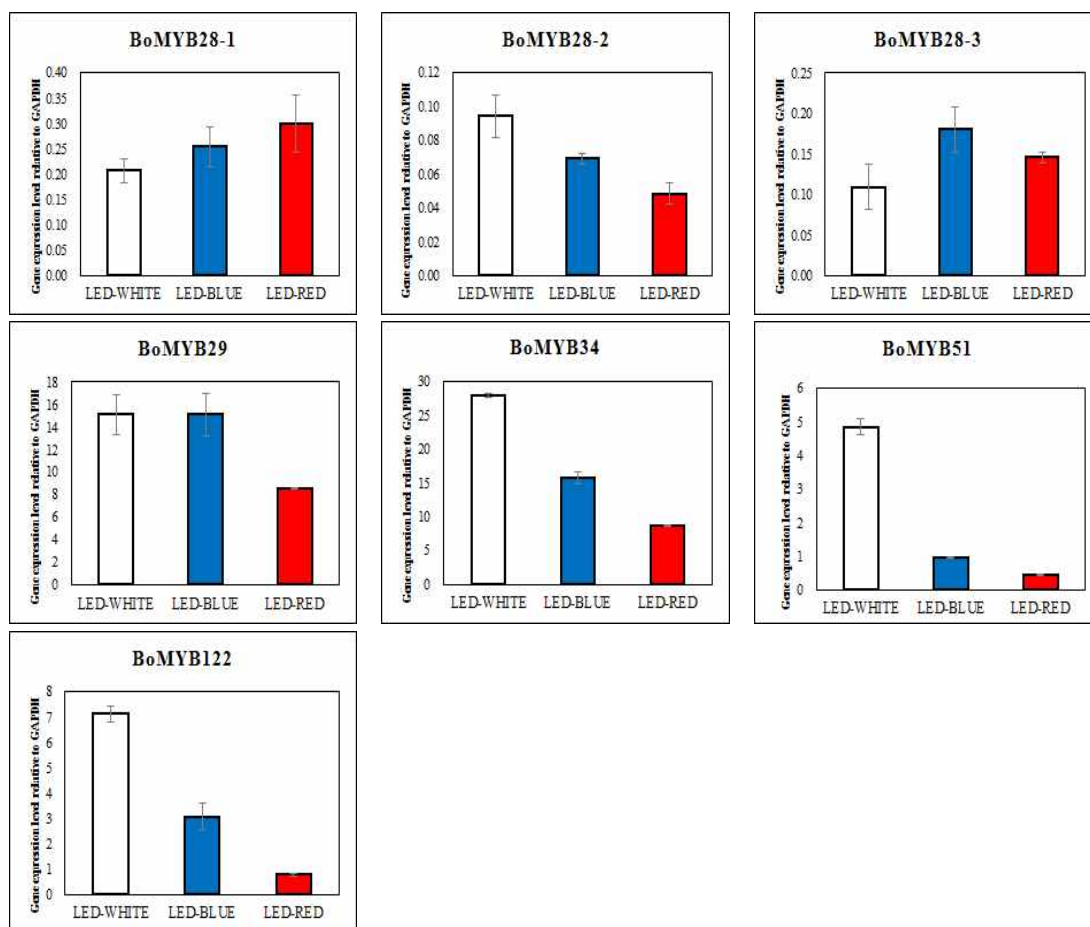


Figure 1. Expression of glucosinolate biosynthesis genes in kale sprouts irradiated with White, Blue, and Red LED Light

백색 LED 조사에 의하여 glucosinolate 생합성에 관여하는 대부분의 전사인자들의 발현이 증가됨을 확인하였다. 특히, MYB28-2, MYB34, MYB51, MYB34, MYB51, MYB122가 다른 조건에 비하여 상대적으로 증가되었으며, 반면에, MYB28-3의 경우에는 청색 LED 처리 후 증가되었고, MYB29는 백색 LED 처리와 비슷한 수준의 유전자 발현을 나타냈다. 적색 LED 처리의 경우에는 모든 유전자 발현에서 최소값을 나타내는 것을 확인하였다 (Figure 1). 유전자 발현의 결과는 glucosinolate 물질 분석의 결과와 일치하는 경향을 보였다 (Table 2).

Glucosinolate의 HPLC 분석결과를 통하여 백색 LED 광원이 glucosinolate의 축적의 촉진에 적합한 것으로 나타났다. 백색 LED 광원 처리 후 총 글루코시놀레이트 함량이 청색 및 적색 LED 처리에 비하여 대략 1.03 배 증가하였다. LED 백색 조사 후 gluconapin, 4-Hydroxyglucobrassicin, glucobrassicinapin, glucohirsutin 함량이 상대적으로 높았으며, LED 청색 처리 후에는 Glucoraphanin, Glucoalyssin, Gluconapoleiferin, Glucoraphasatin., Gluconasturtiin의 함량이 상대적으로 높았다. 즉, 백색 및 청색 조사 후에는 대부분의 aliphatic glucosinolates의 함량이 상대적으로 증가됨을 확인 할 수 있었다. 반면에, LED 적색 조사 후에는 glucoerucin, glucobrassicin, 4-Methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin 등 대부분의 indolic glucosinolates의 함량이 증가되었다 (Table 5). 사실상, LED 광원 별 케일 sprouts의 glucosinolate 생합성에 미치는 영향은 크게 차이가 나지 않았다. 하지만 총 glucosinolate 함량에 초점을 맞추어서는 백색 LED 광원이 적합한 것으로 보이며, indolic glucosinolate의 합성에 있어서는 LED 적색 광원이 LED 식물공장의 광원으로써 적합한 것으로 사료된다.

Table 2. Glucosinolate contents in kale sprouts irradiated with White, Blue, and Red LED Light (μ mol/g DW)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
Glucobrassicin	0.36 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.36 ± 0.00
Progoitrin	27.31 ± 0.12	27.93 ± 0.49	23.57 ± 0.06
Glucoraphanin	0.89 ± 0.01	0.97 ± 0.02	0.72 ± 0.02
Glucoalyssin	0.82 ± 0.04	0.90 ± 0.01	0.68 ± 0.01
Gluconapoleiferin	1.33 ± 0.01	1.39 ± 0.01	1.24 ± 0.01
Gluconapin	1.69 ± 0.01	1.53 ± 0.02	1.04 ± 0.01
4-Hydroxyglucobrassicin	2.07 ± 0.39	1.03 ± 0.56	1.68 ± 0.25
Glucobrassicinapin	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.00
Glucoerucin	0.70 ± 0.11	0.60 ± 0.02	0.80 ± 0.02
Glucohirsutin	0.25 ± 0.13	N.D ^a	0.17 ± 0.02
Glucoraphasatin	0.02 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.03 ± 0.00
Glucobrassicin	5.87 ± 0.09	4.96 ± 0.15	6.92 ± 0.19
4-Methoxyglucobrassicin	3.62 ± 0.11	3.37 ± 0.19	5.51 ± 0.28
Glucobrassicin	0.50 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.53 ± 0.00
Gluconasturtiin	0.50 ± 0.03	0.53 ± 0.05	0.44 ± 0.00
Neoglucobrassicin	2.30 ± 0.01	2.74 ± 0.13	3.20 ± 0.00
Total	48.59 ± 0.41	47.13 ± 0.21	47.21 ± 0.67

^a,Not detected

나. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 케일 sprouts 에서의 carotenoid 생합성 경로 변화 및 함량 분석

동일한 transcriptome 분석 data를 이용하여 blast를 수행한 후, carotenoid 생합성 경로에 관여하는 최초 3 가지 관련 유전자 phytoene synthase (PSY), phytoene desaturase (PDS), ζ -carotene desaturase (ZDS)의 염기서열을 확보하였고, 이를 이용하여 RT-PCR 전용의 primer을 제작하였다 (Table 3). 각각의 primer를 이용한 qRT-PCR 분석을 통하여 kale sprouts에서 carotenoid 생합성에 관여하는 유전자들의 발현 양상을 확인하였고 그 결과는 아래의 Figure 2 과 같다.

Table 3. A primer list

Primer name	Sequence (5' - 3')
RT-BoPSY (F)	ATCAGAGACTCAACACT
RT-BoPSY (R)	CAGATCATCAAGGTC
RT-BoPDS (F)	ATGTTCTACCAGCACCCCTTAAACG
RT-BoPDS (R)	CTCATCAGTCACGCGATCAGG
RT-BoZDS (F)	ACTCAAGCCCTATGACAAGCTGAG
RT-BoZDS (R)	AACCGAGTGCATAAGCAACAGG
RT-BoGAPDH (F)	CACTATGCACCCTGCTGTAACTG
RT-BoGAPDH (R)	TGCATCTCTGCCCACTGTAGG

Figure 2는 각각의 LED 광원 조사 후 qRT-PCR의 분석 결과로, 백색 LED 조사 후 carotenoid 생합성 관련 유전자 PDS 와 ZDS가 다른 조건에 비하여 월등히 증가되었음을 확인할 수 있었다. 반면에, 합성 경로의 최초유전자인 PSY의 경우에는 모든 조건에서 상대적으로 일정하게 발현되는 것으로 나타났다. 생합성 초기 유전자들은 백색 LED 조사에 다른 조건에 비하여 민감하게 반응하는 것으로 보이며, 이 결과는 HPLC를 통한 carotenoid 물질 분석 결과와 일치하는 것으로 나타났다. (Table 4).

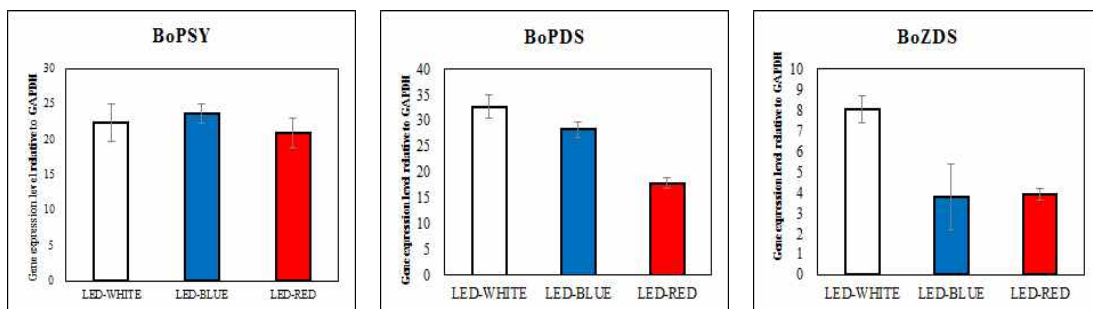


Figure 2. Expression of carotenoid biosynthesis genes in kale sprouts irradiated with White, Blue, and Red LED Light.

Table 4. Carotenoid contents in sprouts of chinese cabbage irradiated with White, Blue, and Red LED Light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
Violaxanthin	59.38 \pm 2.45	41.43 \pm 6.75	71.20 \pm 1.52
Lutein	1034.72 \pm 83.26	947.49 \pm 48.97	1052.06 \pm 2.46
Zeaxanthin	16.05 \pm 10.18	22.06 \pm 8.19	53.70 \pm 0.92
13-cis- β -carotene	148.08 \pm 10.08	114.60 \pm 4.46	113.50 \pm 3.63
α -carotene	31.05 \pm 1.66	28.45 \pm 1.44	25.69 \pm 0.40
β -carotene	1935.13 \pm 110.21	1809.35 \pm 58.44	1678.86 \pm 26.10
9-cis- β -carotene	116.86 \pm 9.79	104.24 \pm 5.81	96.45 \pm 0.68
Total	3341.27 \pm 206.96	3067.64 \pm 116.37	3091.44 \pm 27.87

Carotenoid의 HPLC 분석결과를 통하여 백색 LED 광원이 carotenoid의 축적의 촉진에 가장 적합한 것으로 나타났다. 백색 LED 광원 조사 후 총 carotenoid 함량이 적색 및 청색 LED 처리에 비해 각각 1.08 배 및 1.09 배로 상대적으로 높았다. 청색 및 적색 LED 조건 간 총 carotenoid 함량은 유의적으로 차이가 없는 것으로 나타났다. 개별의 carotenoids의 경우에는 백색 LED 조사 후 Lutein은 최소값을 보이는 LED 청색 처리에 비하여 1.09배 증가하였고, 13-cis- β -carotene의 경우 최소값을 나타내는 LED 적색 처리에 비하여 1.30 배, α -carotene은 1.21배, β -carotene은 1.15 배, 9-cis- β -carotene 1.21 배 증가하였다. 반면에, 적색 LED 조사 후 violaxanthin은 최소값을 나타내는 LED 청색 조사에 비하여 1.43 배 그리고 zeaxanthin은 최소값을 보이는 LED 백색 조사에 비하여 3.35 배 증가한 것으로 나타났다 (Table 5).

다. LED 식물공장에서 다른 LED 광원에 따른 케일 sprouts 에서의 phenylpropanoid 물질함량 분석

Table 5. Phenylpropanoid contents in kale sprouts irradiated with White, Blue, and Red LED Light ($\mu\text{g/g}$ Dry Wt.)

	LED-White	LED-Blue	LED-Red
Chlorogenic acid	39.78 \pm 0.73	39.63 \pm 0.56	42.01 \pm 0.81
Ferulic acid	4.84 \pm 0.05	5.35 \pm 0.43	4.80 \pm 0.11
Benzoic acid	7.48 \pm 5.02	N.D ^a	N.D
Total	52.10 \pm 5.71	44.98 \pm 0.78	46.81 \pm 0.83

^a,Not detected

총 phenylpropanoid 의 함량이 가장 크게 증가한 조건은 백색 LED 이었으며 적색 LED 광에 비하여 1.11 배 증가하였으며, 청색 LED 광에 대해 1.16 배 증가하였다. 게다가, benzoic acid의 경우에는 오직 LED 백색 처리 후에만 HPLC 시스템에서 탐지가 되었다. ferulic acid는 LED 적색 처리와 유의적으로 차이가 없었으며, 오히려, Chlorogenic acid의 함량은 LED 적색광 조사 후에 최대값을 나타냈다 (Table 5).

본 연구에서는 qRT-PCR을 이용한 관련유전자 발현 조사 및 HPLC 물질 분석을 통하여 백색 LED 조사가 케일 sprouts의 glucosinolate 및 carotenoid, phenylpropanoid 생합성 및 물질 축적

을 촉진한다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 glucosinolate 생합성 및 물질 축적의 경우 LED 적색 및 청색 조사에 비하여 상대적으로 증가되기는 하나 그 정도가 상당히 크지는 않는 것으로 나타났다. Indolic glucosinolate의 경우에는 오히려 LED 적색 처리 후 물질 합성이 증가됨을 또한 확인할 수 있었다. 추가적으로, Phenylpropanoid의 Benzoic acid는 오직 LED 백색 조사 후에만 물질이 축적되는 것으로 나타났다.

식물공장에서 식물재배의 경우 인공광이 절대적으로 필요하게 된다. 그러므로 광원으로써 LED (Light Emitting Diode)는 식물체가 성장하는 데 있어서 최적의 과장을 생산하는 반면 열이 적게 발생한다는 장점을 바탕으로 식물공장에 적합한 새로운 광원의 소재로써 이용되고 있다. 본 연구결과는 식물공장에서 배추과 식물의 sprouts 재배의 경우 인공광의 광원으로써 LED광원이 식물체의 이차대사산물의 생산에 적합성을 보여주고 있으며, 본 연구결과에서 확립한 재배조건은 차후의 식물공장에서 고함량 기능성물질의 생산을 위한 배추과 식물의 sprouts 재배에 기여할 것이라 사료된다.

LED 조사결과 식물체내 기능성분 증가(2~5배)는 교배육종과 같은 효과인데 두 방법 간 경제성 검토한 결과 육종은 시간을 많이 요하는 연구임으로 LED 조사를 최적화하여 기능성성분 증대를 시키는 방법이 경제성이 높을 것으로 판단된다.

자외선조사, 고온재배, LED재배로 기능성증폭과 경제성분석 결과 장기적으로는 LED 재배가 경제적인 것 같으며 단기적으로는 자외선조사 방법이 더 경제성이 뛰어난 것으로 판단된다.

배추, 케일에서 기능성물질 증폭을 위한 통합조건 제시를 하면 LED 재배의 최적화를 통하여 기능성물질을 향상시키는 방안을 마련하여 수확 전 자외선조사를 단기간 처리를 하여 기능성물질을 극대화 후 출하하는 방법이 최선책일 것으로 판단된다.

연구결과에 대한 구체적인 활용가능성 및 활용분야는 재배 시 배추와 케일에 기능성물질의 축적을 극대화 할 수 있는 방법을 개발하여 기능성 강화 배추과 채소를 생산하게 되면 국민 건강 증진에 기여할 것으로 판단된다.

<제 2세부과제 : 기능성 및 내서성 유전자원 분석 및 활용기술 개발>

제 2 절 기능성 및 내서성 유전자원 분석 및 활용기술 개발

■ 1차년도(2011.08-2012.08)

1. 배추 및 케일 품종수집 및 재배 시험

가. 50종 이상의 배추 계통 수집 및 재배

- 배추 50계통은 배추분자마커사업단으로부터 분양받음.

erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	新乡抗病小卷
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	河北当家菜
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	精品87-114
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	喜诺热炕45
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	真好吃饺子王
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	高抗铁头
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	胶白八号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	胶春二号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	早熟五号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	胶白六号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	喜诺优夏王
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	改良青杂三号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	奶白菜3号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	胶白一号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	改良山东19号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	改良早熟五号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	秋福
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	秋冠6克
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	新三号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	酸莱王
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	金能 F1
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	四季王
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	新改良快菜
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	金田91-12
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	大连91-12
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	橘红2号
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	精青帮核
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	沈新 91-18
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	沈新 冬储王
erae	<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	배추	Chinese cabbage	突东 菜神

나. 20종 이상의 케일 계통 수집 및 재배

○ 케일 21계통은 배추분자마커사업단으로부터 분양받음.

<i>Brassica</i> Acephala
<i>Brassica</i> Acephala
<i>Brassica</i> L. convar acephala
<i>Brassica</i>
<i>Brassica</i> L. var. sabellica
<i>Brassica</i> L.
<i>Brassica</i> L.
<i>Brassica</i> L. var. <i>alboglabra</i> (L.H. Bailey) V.G. Sun
<i>Brassica</i> L. var. <i>alboglabra</i> (L.H. Bailey) V.G. Sun
<i>Brassica</i> L. var. <i>alboglabra</i> (L.H. Bailey) V.G. Sun
<i>Brassica</i> L. ssp. <i>capitata</i> (L.) DC. Convar. <i>acephala</i> (DC.) Alef
<i>Brassica</i> L. ssp. <i>capitata</i> (L.) DC. Convar. <i>acephala</i> (DC.) Alef
<i>Brassica</i> L. ssp. <i>capitata</i> (L.) DC. Convar. <i>acephala</i> (DC.) Alef

- 각 배추(50), 케일(21)은 국립원예특작과학원 온실에서 105공-트레이에 각 21립씩 파종(2012년 8월 9일)하였음.
- 파종 26일후(days after sowing, DAS)에 각 배추, 케일을 이식($n=4$)하였음.
- 29 DAS에 배추와 케일 중 상태가 좋지 못한 것은 보식하였음.
- 각 배추, 케일은 92 DAS 수확함(2012년 11월 23일).
- 배추는 일정하게 등분(크기에 따라 1/8 또는 1/16)하고, 대칭하는 두 부분을 글루코시놀레이트(glucosinolates, GSLs) 추출에 사용하였음.
- 카로티노이드(carotenoids)성분은 배추 속 노란 부분과 그 외 부분을 나누어 분석하였음.



<배추, 케일 재배>



<배추 수확>



<케일 수확>(2012년11월23일)

※ 케일의 재배 시험은 1차년도 연구목표인 배추, 케일의 품종수집 및 재배에 따라서 각 배추와 함께 재배하였으나, 수집된 케일(3차년도 연구목표) 내 글루코시놀레이트, 카로티노이드 분석은 3차년도(2014)에 진행.

2. 배추와 케일의 glucosinolates/carotenoids 분석 방법 개발

가. Glucosinolate 추출기술법 확립

○ 분말시료 0.1 g을 칭량하여 2.0 mL-ependorf tube에 추출용매(Table 1) 약 1.5 mL 넣음. 그리고

진동혼합(vortex)을 한 다음, 70° C 항온수조 및 초음파 추출기에서 조(crude) GSLs를 추출 (Table 2)하여 12,000 rpm, 10 min, 4° C의 조건에서 원심분리 한 후 상층액을 수거하고, 동일한 과정을 2번 더 반복하여 상층액을 합함.

Table 1. 추출용매 종류 및 농도 비교

Solvent	Treatments
Methanol	Boiling 50% (v/v)
	Boiling 70% (v/v)
	Boiling 100% (v/v)
	Without boiling 70% (v/v)
Ethanol	Boiling 50% (v/v)
	Boiling 70% (v/v)
	Boiling 100% (v/v)
	Without boiling 70% (v/v)
Water	Boiling 100% (v/v)
	Without boiling 100% (v/v)

Table 2. 물중탕과 초음파기 추출 효율 비교

Solvent	Treatments
Methanol	Boiling 70% (v/v) in water bath for 5 min
	Boiling 70% (v/v) in sonicator for 5 min
	Boiling 70% (v/v) in sonicator for 10 min

○ Mini-column 충전용 DEAE-Sephadex A-25(30 g dry wt.)는 초순수에 녹여 분액여두에 넣고, 약 1.5배 (v/v)의 초순수를 넣고 거의 빠져나가면 sodium acetate(102 g/1.5 L)를 넣어 H⁺ 형태로 활성화시킴. 1,000 μL micro pipet tip의 끝을 탈지면으로 막고, 활성화된 DEAE-Sephadex A-25를 넣은 후 조 GSL 추출물(crude extract)을 pasteur pipette을 이용하여 로딩함. 추출물이 다 빠져나가면 초순수로 세척(1 mL × 3회)한 다음에 mini-column 하단을 파라핀 필름(paraffin film)으로 막고 aryl sulfatase solution(115 mg/5 mL) 75 μL를 넣어 desulfation 시킴. 그리고 mini-column 상단을 파라핀 필름으로 막고 0시간, 6시간, 16시간 동안 실험실 상온에서 정치(Table 3)하고, 2.0 mL-Eppendorf tube에 desulfo-glucoisnolates를 초순수로(0.5 mL × 3회) 용출하였음.

Table 3. Desulfation을 위한 효소(aryl sulfatase)의 반응시간 비교

Solvent	Reaction times
Boiling 70% (v/v) methanol	0 h
	6 h
	16 h

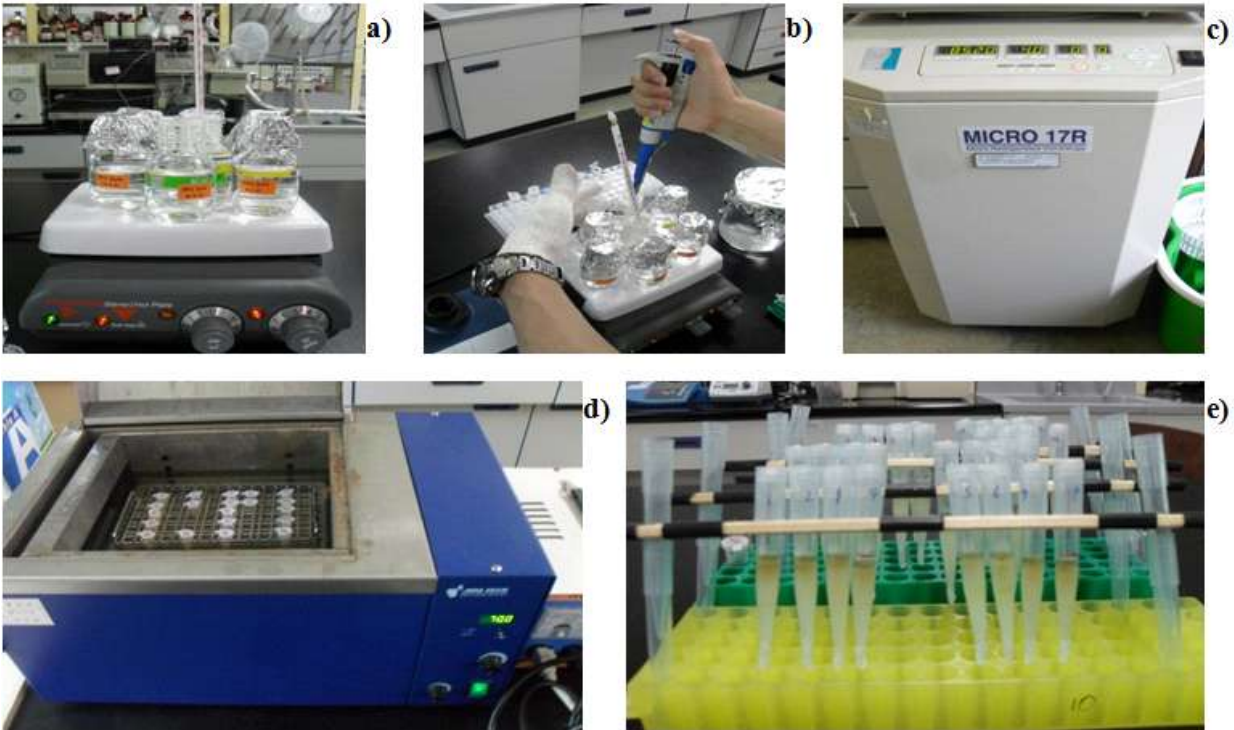


Fig. 2. 글루코시놀레이트 추출. a), 열탕 추출용매; b), 용매 추출; c), 원심분리; d), 물증탕에서 추출; e), 시료 로딩 및 효소처리 후 상온 정치(16~18h).

나. Glucosinolte 분석기술법 확립

(1) 컬럼 종류에 따른 글루코시놀레이트 분석

○ Glucosinolates의 HPLC 분석 방법 확립을 위하여

① Inertsil ODS-3 column(3.0 × 150 mm i.d., particle size 3 μm)과 Inertsil ODS-2 cartridge 가드 컬럼 E(2.0 × 10 mm i.d., particle size 5 μm)(GL Science, Tokyo, Japan)에 이동상으로 (A) 초순수, (B) acetonitrile을 사용하였고, 유량(flow rate)은 0.2 mL/min로, solvent B를 0~18분까지는 7→24%까지 증가시키고 32분까지 24%를 유지하고, 32.01분에서 7%로 감소시킨 후 40분까지 7%를 유지시킴.

② Inertsil ODS-2 column(4.6 × 250 mm i.d., particle size 5 μm)에 이동상으로 (A) 초순수, (B) 20% acetonitrile(v/v)를 사용하였고, 유량은 1.0 mL/min로, solvent B를 0~18분까지는 1→ 99%까지 증가시키고, 29분까지 99%를 유지하다가 32분에서 1%로 감소시킨 후 40분까지 1%를 유지시켰음. 두 가지 조건 모두 컬럼 온도는 40° C, 검출파장(detection wavelength)은 227 nm로 설정하였음.

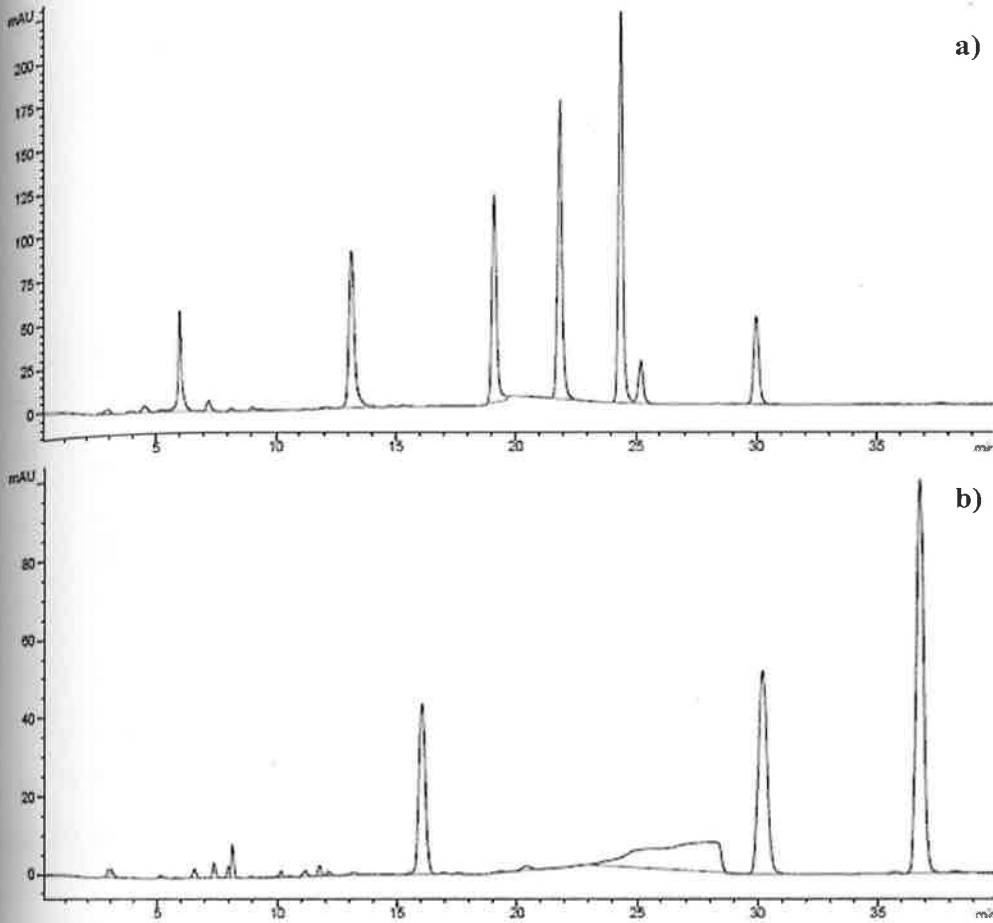


Fig. 3. 배추 내 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램. a), Inertsil ODS-3 with 100% acetonitrile; b), Inertsil ODS-2 with 20%(v/v) acetonitrile.

○ 분석 결과 Inertsil ODS-2 column에서는 40분에 분석이 끝나지 않아 향후 분석실험 시 비효율적이라 생각되어 Inertsil ODS-3 column으로 분석을 실시하기로 결정함. 상기의 glucosinolate 추출 시료들을 Inertsil ODS-3 column의 분석 조건으로 분석함.

Table 4a. 메탄올(MeOH) 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트 함량 ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.)

No	Trivial names	Boiling MeOH			Without boiling MeOH
		50%	70%	100%	70%
1	Glucoraphanin	5.13±0.59	7.32±0.95	7.04±1.56	5.78±0.28
2	Sinigrin	0.58±0.06	0.95±0.15	2.28±0.48	0.95±0.06
3	Glucoalyssin	0.50±0.27	0.38±0.05	ND	0.28±0.02
4	Gluconapin	16.39±3.78	21.33±0.18	26.20±3.52	19.38±0.70
5	Gluco Brassicanapin	21.10±3.02	24.30±0.47	30.61±3.66	21.54±0.89
6	Gluco Brassicinin	6.09±0.46	4.53±0.99	4.49±0.81	4.78±0.07
7	4-Methoxygluco Brassicinin	6.11±0.39	5.31±1.56	5.77±1.33	5.64±0.26
8	Gluconasturtiin	3.56±0.88	3.92±0.05	2.85±0.65	5.37±1.54
9	Neoglucobrassicin	1.12±0.02	3.41±1.74	0.69±0.19	1.56±0.10
Total		60.66±8.62	71.58±2.74	80.18±7.16	65.29±0.64

Table 4b. 에탄올(EtOH) 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트 함량 ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.)

No	Trivial names	Boiling EtOH			Without boiling EtOH
		50%	70%	100%	70%
1	Glucoraphanin	3.35±1.40	7.88±2.20	0.38±0.08	7.32±0.02
2	Sinigrin	0.58±0.04	1.60±0.06	0.15±0.03	1.35±0.11
3	Glucoalyssin	0.45±0.02	0.41±0.00	ND	0.37±0.03
4	Gluconapin	10.62±0.18	26.87±3.17	3.88±0.07	23.40±0.75
5	Glucobrassicinapin	16.55±0.95	28.96±4.80	5.69±0.00	23.53±0.66
6	Glucobrassicin	6.18±0.93	5.38±0.99	ND	4.81±0.03
7	4-Methoxyglucobrassicin	7.17±1.06	5.14±0.49	ND	5.63±0.60
8	Gluconasturtiin	1.51±0.02	4.08±0.39	1.04±1.01	2.93±0.04
9	Neoglucobrassicin	0.70±0.06	1.30±0.25	ND	1.46±0.13
Total		47.10±4.48	81.63±11.85	11.14±0.99	70.81±0.60

Table 4c. 물 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트 함량 ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.)

No	Trivial names	Water	
		Boiling	Without boiling
1	Glucoraphanin	4.02±0.52	1.86±0.40
2	Sinigrin	2.15±2.62	ND
3	Glucoalyssin	ND	ND
4	Gluconapin	3.74±1.58	ND
5	Glucobrassicinapin	5.42±2.61	ND
6	Glucobrassicin	3.35±0.57	ND
7	4-Methoxyglucobrassicin	6.44±0.57	1.87±0.08
8	Gluconasturtiin	0.93±0.69	ND
9	Neoglucobrassicin	0.49±0.29	ND
Total		26.54±4.19	3.73±0.32

○ 추출용매 간 비교(Table 4a, b, c)에서는 메탄올(methanol) 추출에서는 50, 70, 100%(v/v)로 비율이 높아질수록 추출효율이 높아진 것을 볼 수 있었고, 에탄올(ethanol) 추출에서는 70%에서 추출효율이 가장 높았지만, 100%에서는 검출되지 않는 peak가 많이 나타났고 함량도 줄어들었음. 물 추출에서는 끓인 물에서는 methanol과 ethanol에 비해 추출효율이 현저히 낮았고, 특히 끓이지 않은 물에서는 glucoraphanin, 4-methoxyglucobrassicin외에는 전혀 검출되지 않았고, 또한 추출 시 원심분리 후에도 시료가 다 가라앉지 않는 현상이 나타남(Fig. 4a, b, c).

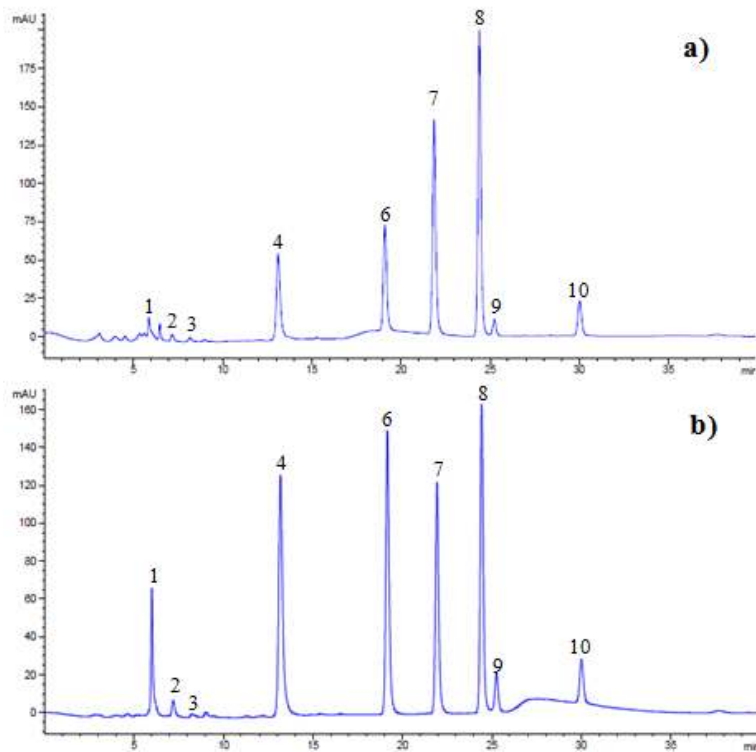


Fig. 4a. 메탄올(MeOH) 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램. a), boiling 100% MeOH; b), without boiling 70% MeOH.

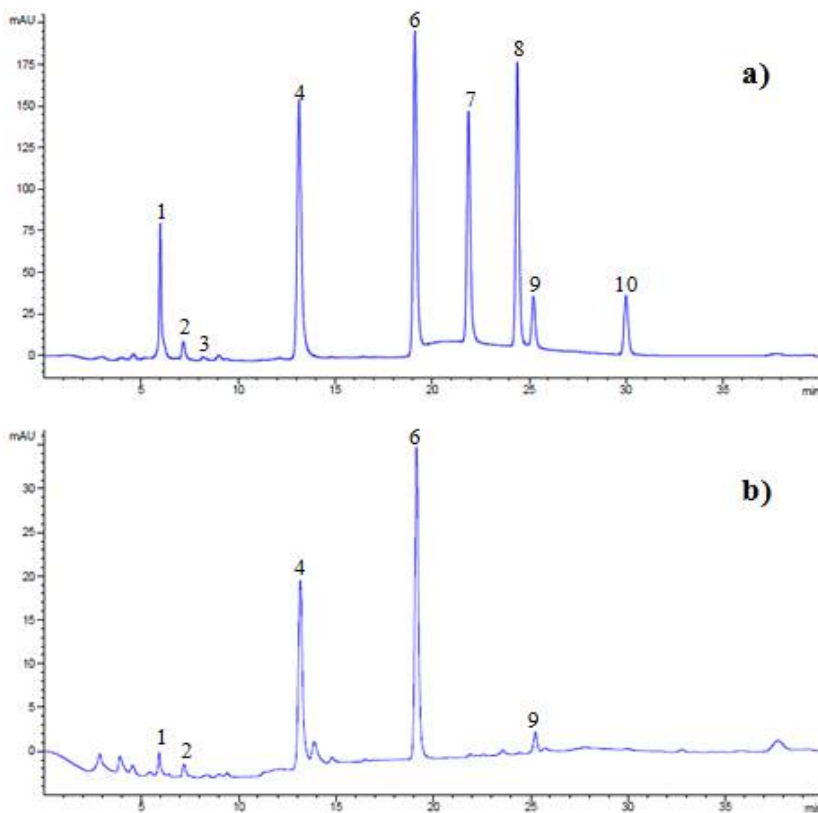


Fig. 4b. 에탄올(EtOH) 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램. a), boiling 70% EtOH; b), without boiling 100% EtOH.

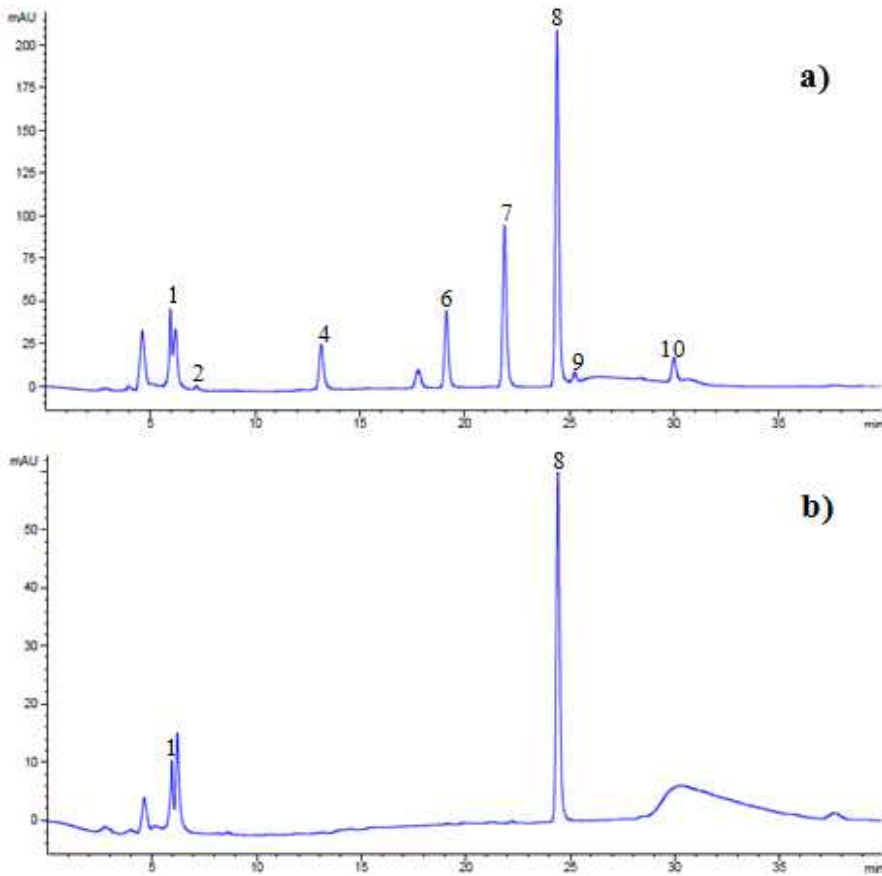


Fig. 4c. 물 추출방법에 따른 배추 내 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램.
 a), boiling water; b), without boiling water.

○ 70° C 항온수조 및 초음파 추출기에서의 비교(Table 5)에서는 초음파 추출기에 비해 항온수조에서의 진탕이 추출효율이 더 좋은 것으로 나타났으며, 초음파 추출 시간을 늘릴수록 함량이 낮아지는 것으로 보아 초음파 추출 중, glucosinolate 물질이 분해되는 것으로 생각됨.

Table 5. 물 증탕과 초음파기에 추출한 글루코시놀레이트 함량 (μmol/g dry wt.)

No	Trivial names	Water bath	Sonication	Sonication
		5 min	5 min	10 min
1	Glucoraphanin	7.32±0.95	5.59±0.19	4.81±0.17
2	Sinigrin	0.95±0.15	0.74±0.08	0.72±0.03
3	Glucoalyssin	0.38±0.05	0.33±0.00	0.27±0.01
4	Gluconapin	21.33±0.18	20.99±1.85	16.32±0.21
5	Glucobrassicinapin	24.30±0.47	24.22±2.03	17.86±0.00
6	Glucobrassicin	4.53±0.99	4.32±0.39	4.23±0.91
7	4-Methoxyglucobrassicin	5.31±1.56	4.99±0.47	5.65±1.23
8	Gluconasturtiin	3.92±0.05	3.89±0.30	2.99±0.13
9	Neoglucobrassicin	3.41±1.74	1.64±0.80	1.33±0.20
Total		71.58±2.74	66.97±6.13	54.17±1.47

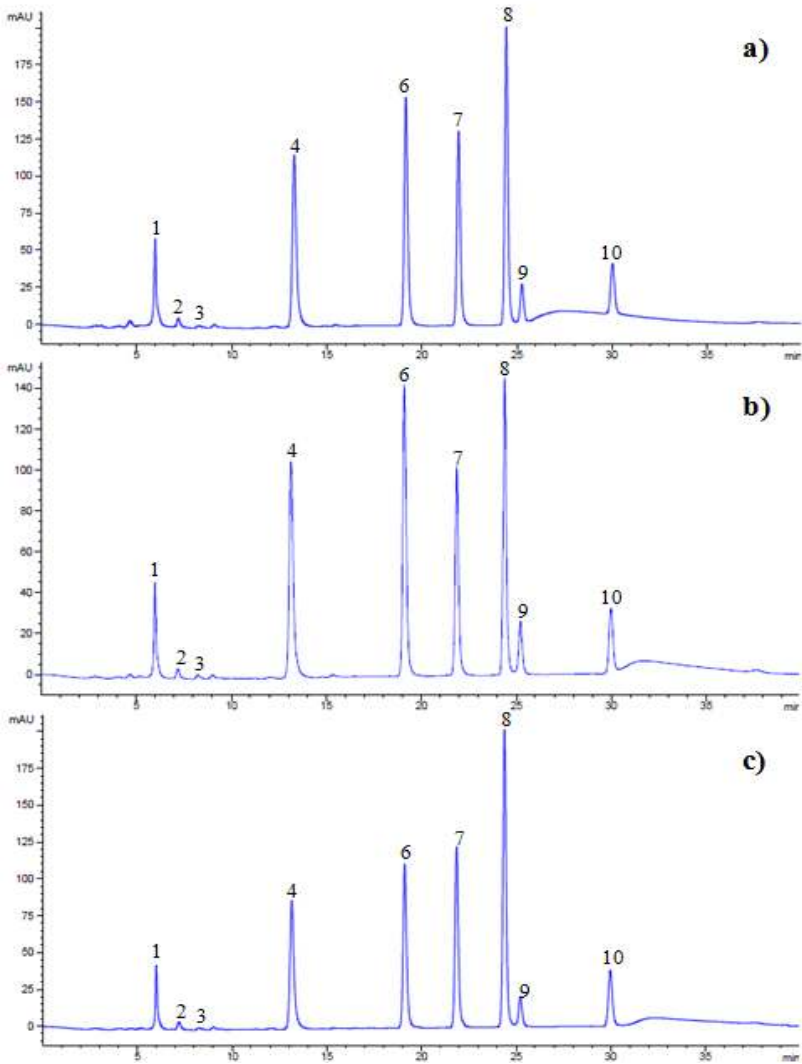


Fig. 5. 물 중탕과 초음파기에서 추출한 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램. **a)** water bath for 5 min; **b)** sonicator for 5 min; **c)** sonicator for 10 min.

○ Glucosinolate 정량분석은 EU에서 결정한 ISO 9167-1(1992)에 의한 방법이 전 세계적으로 가장 많이 쓰이고 있음. 효소(sulfatase)를 이용한 desulfo형태의 glucosinolate 변환(conversion)에 의한 안정된 분석과정과 표준품이 없으므로 sinigrin에 의한 정량을 위한 response factor가 공시되어 있는 것이 그 이유임. 그렇지만 효소반응시간이 16~18시간으로 상당히 길어 급한 시료분석에는 적합하지 않다는 의견이 있음. 따라서 효소(sulfatase) 처리시간(0, 6, 16시간)을 비교한 결과(**Table 6**), 상온에서 16시간 처리하였을 때 glucosinolate 함량이 가장 높은 것으로 보아, 효소와 반응하여 활성을 나타낼 때 까지 충분한 시간이 필요한 것으로 생각됨.

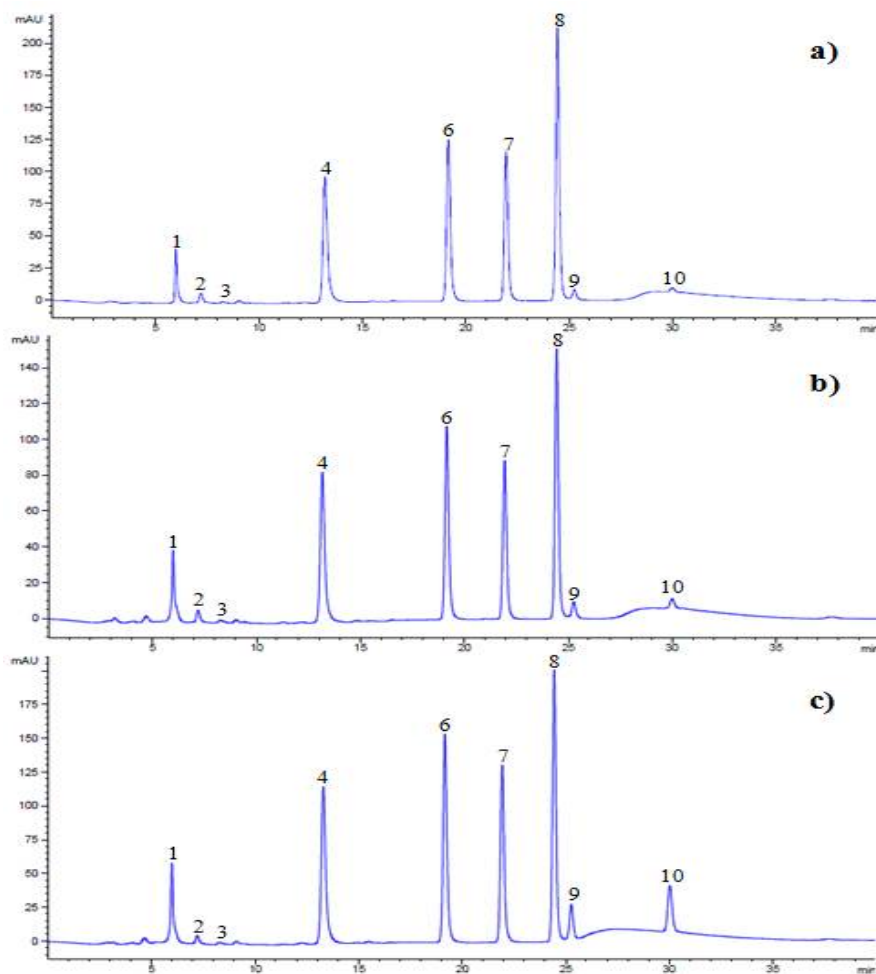


Fig. 6. 효소(aryl sulfatase)반응 시간에 따른 글루코시놀레이트의 HPLC 크로마토그램.
 a), aryl sulfatase 0 h; b), aryl sulfatase 6 h; c), aryl sulfatase 16 h.

Table 6. Desulfation를 위한 효소(aryl sulfatase) 처리시간에 따른 글루코시놀레이트 함량 ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.)

No	Trivial names	Aryl sulfatase		
		0 h	6 h	16 h
1	Glucoraphanin	3.65±0.46	4.64±0.91	7.32±0.95
2	Sinigrin	0.91±0.27	0.75±0.33	0.95±0.15
3	Glucoalyssin	0.21	0.36±0.06	0.38±0.05
4	Gluconapin	19.19±1.10	17.36±2.61	21.33±0.18
5	Glucobrassicinapin	21.01±1.00	19.27±2.76	24.30±0.47
6	Glucobrassicin	3.93±0.92	3.48±0.04	4.53±0.99
7	4-Methoxyglucobrassicin	5.52±1.81	4.14±0.97	5.31±1.56
8	Gluconasturtiin	1.23±0.05	1.37±0.05	3.92±0.05
9	Neoglucobrassicin	2.53±0.20	1.49±1.66	3.41±1.74
Total		58.07±1.76	52.86±1.47	71.58±2.74

○ 이상으로 배추 내 glucosinolates의 용매 추출 및 HPLC분석 결과,

① 추출용매(methanol, ethanol, 물; Table 4a, b, c):

- Boiling 70%(v/v), 100% methanol과 70%(v/v) ethanol에서 glucosinolate함량이 높게 검출되었으나, 통계적인 유의차가 없으므로 ISO 9167-1(1992)에 따른 boiling 70%(v/v) methanol에 의한 추출이 용이하다고 사료됨. 그 이유는 glucosinolate를 정량할 때, 각 glucosinolate 표준품이 판매되지 않고, sinigrin만이 판매되고 있으므로 sinigrin과 비교한 각 glucosinolate 성분의 response factor가 ISO 9167-1에 의하여 결정되어 있으므로 정량이 용이함.

② 물중탕(5분)과 초음파기(5분과 10분) 비교(Table 5):

- 물중탕(5분)과 초음파기(5분)간 유의차가 없으므로 기존의 방법대로 물중탕을 사용하는 것이 바람직함.

③ 효소(aryl sulfatase) 처리시간(0, 6, 16시간) (Table 6):

- 효소처리는 충분한 반응시간이 필요하므로 16시간이 좋음.
- 이 효소는 글루코시놀레이트를 desulfated 글루코시놀레이트로 전환시켜주고, 현재 세계적으로 가장 보편적인 글루코시놀레이트 분석방법임.

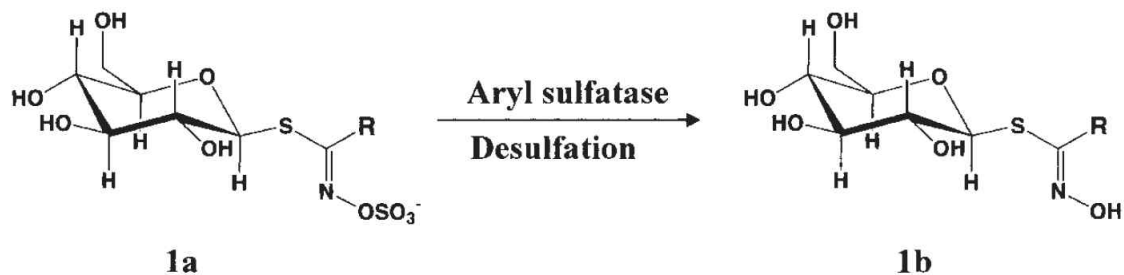


Fig. 7. 글루코시놀레이트의 효소적 desulfation 반응.

1a, 글루코시놀레이트; 1b, desulfated 글루코시놀레이트.

다. Carotenoid 추출기술법 확립

- 카로티노이드 4성분(루테인, 제아크산틴, 알파카로틴, 베타카로틴) 분석법 개발은 Tuan 등 (2012)을 참고하여 조건을 달리하였다.
- 본 연구실에서 사용하는 주요 실험재료인 배추의 시료량, 4가지 추출 용매의 첨가량, 에탄올과 KOH로 추출 시에 향한 수조에서의 추출 온도 및 시간 조건에 따라 시료를 추출하여 HPLC로 분석하였다.
- 배추 시료를 각각 100, 200, 500 mg, 1, 2, 5 g씩 6가지로 칭량하고, 에탄올, KOH, water, hexan 등 추출 용매 첨가량(시료량별 2가지)을 다르게 하였다(Table 7). 그 결과, 1 g 이상의 시료에서는 시료량이 많아 시료와 용매가 충분하게 혼합되지 않았다. 따라서 추출이 잘 되지 않는 1 g 이상의 시료를 추출방법에서 제외하였다. 또한, 500 mg-II는 hexane의 양(5 mL)이 많아 농축 시 시간이 오래 걸려 다량 추출방법으로 적당하지 않아 제외하였다.

Table 7. Extraction conditions of carotenoids in vegetables

Sample weight	Extraction solvent volume (mL)				
	EtOH	KOH	Water	Hexane	Total
100 mg-I	1.0	0.3	0.5	0.5	2.3
100 mg-II	1.5	0.5	0.8	0.8	3.6
200 mg-I	2.0	0.6	1.0	1.0	4.6
200 mg-II	4.0	1.2	2.0	2.0	9.2
500 mg-I	5.0	1.5	2.5	2.5	11.5
500 mg-II	10.0	3.0	5.0	5.0	23.0
1 g	10.0	3.0	5.0	5.0	23.0
2 g	10.0	3.0	5.0	5.0	23.0
5 g	10.0	3.0	5.0	5.0	23.0

Extraction temperatures (75, 80, 85 °C) for EtOH and KOH in the water-bath.

Extraction time periods: 5, 10, 15 min for EtOH and 10, 20 min for KOH.

- 최적 추출 조건은 HPLC 분석 정량결과(Table 8)를 바탕으로 500 mg의 시료를 에탄올 (5.0), KOH(1.5), 물(2.5), 헥산(2.5 mL)에 추출한 것이 다른 시료에 비해 오차가 적고 추출 및 농축 시에 원활할 것으로 생각되어 이 방법으로 결정하였다. 단, 200 mg-II 시료 결과가 더 좋았으나 농축 시에 어느 정도의 양이 필요하므로, 헥산의 양이 충분한 500 mg 시료를 사용하기로 하였다.

Table 8. Carotenoid contents as extraction solvent volume and sample weight (mg/kg dry wt.) (n=3)

No.	RT (min)	Trivial names	100 mg-I	100 mg-II	200 mg-I	200 mg-II	500 mg-II
1	11.95	Lutein	6.01±2.77	6.51±3.71	6.58±0.60	12.25±1.31	13.75±0.44
2	12.47	Zeaxanthin	0.32±2.28	0.07±0.06	0.09±0.02	0.09±0.08	0.14±0.02
3	26.10	α -Carotene	0.19±0.09	0.31±0.15	0.10±0.06	0.37±0.34	0.16±0.07
4	27.99	β -Carotene	0.525±0.26	0.61±0.27	0.51±0.01	1.02±0.04	0.99±0.22
Total			7.03±2.87	7.49±4.21	7.30±0.55	19.73±1.71	15.04±0.55

라. Carotenoid 분석기술법 확립

- Carotenoids HPLC 분석 방법은 YMC carotenoid column(4.6 × 250 mm i.d., particle size 3 μ m)에 이동상으로 (A) 초순수:methanol, 25:75(v/v), (B) ethyl acetate를 사용하였고, 유량(flow rate)은 1.0 mL/min로, solvent B를 0~20분까지는 0→70%까지 증가시키고, 24분까지 100%로 증가시킨 후, 24.1분에 0%로 감소시킨 후 30분까지 0%를 유지시킴. 컬럼 온도는 40° C, 검출과장(detection wavelength)은 450 nm로 설정함.

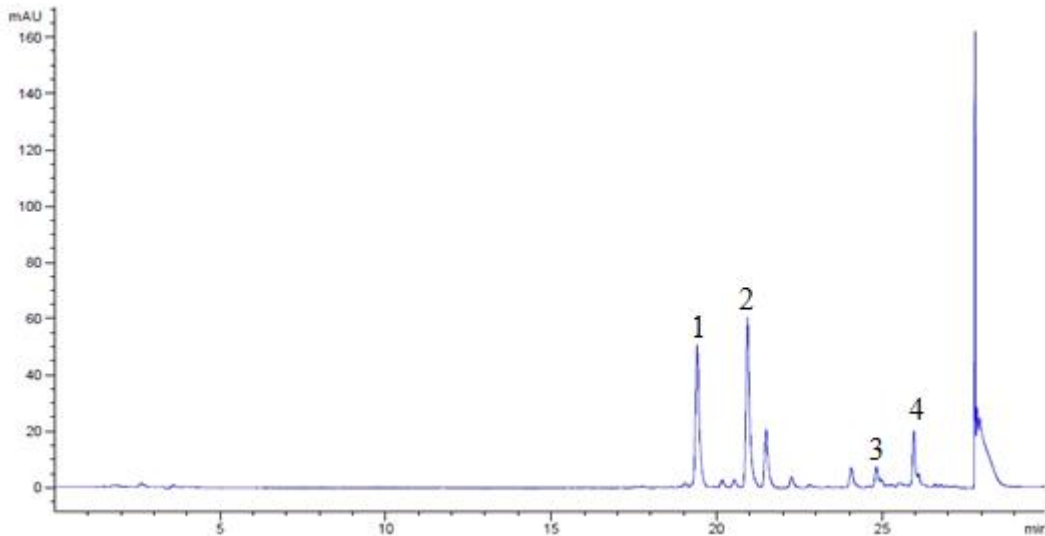


Fig. 8. 배추 내 카로티노이드의 HPLC 크로마토그램.

1, lutein; 2, zeaxanthin; 3, α -Carotene; 4, β -Carotene.

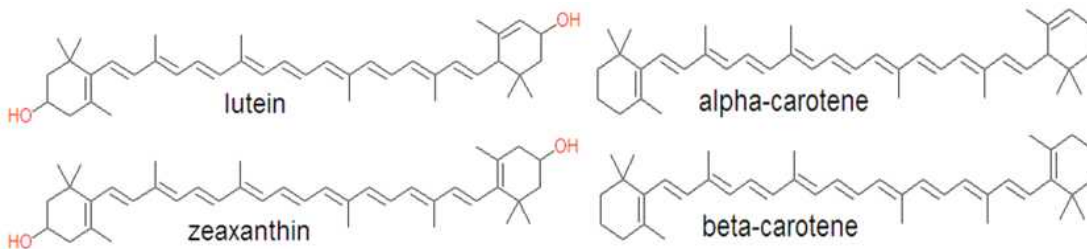


Fig. 9. 배추 내 카로티노이드의 구조식.

■ 2차년도(2012.08-2013.08)

3. 수집한 배추 품종 및 계통의 glucosinolates/carotenoids 계통 물질의 성분 분석 및 대량 분석 방법 확립

가. 다량의 시료에 대비하여 추출 및 분석방법의 간소화

(1) 글루코시놀레이트 계통 물질의 성분 분석 및 대량 분석 방법 확립

- 글루코시놀레이트 추출 방법은 ISO 9167-1(1992)에 의하여 DEAE-Sephadex A-25를 통하여 H⁺ 형태로 활성화 한 뒤, aryl sulfatase에 의해 desulfation하여 분석하는 방법이 널리 알려져 있기 때문에 본 과제의 연구에서도 위와 같은 방법을 이용하여, 다음과 같은 추출 방법을 확립하였음. 2.0 mL eppendorf tube에 100 mg씩 평량한 분말시료에 boiling(약 70° C) 70%(v/v) MeOH(1.5 mL)를 넣고 진동혼합(vortex)을 한 후 향온수조(water bath)(70° C)에 2분 동안 넣어둠. 2분 후에 진동혼합을 한 번 더하고 향온수조에 3분 동안 넣어둔 후 원심분리(12,000 rpm, 10 min, 4° C)하여 상층액을 수거함. 이 과정을 2번 더 반복하여 각 상층액을 합함.
- Mini-column 충전용 DEAE-Sephadex A-25(30 g dry wt.)는 초순수에 녹여 분액여두에 넣은 다음 약 1.5배(v/v)의 초순수를 흘려 보내고 거의 빠져나간 후, sodium acetate(0.5 M, 102 g/1.5 L)를 넣어 H⁺ 형태로 활성화 시키고, 다시 초순수로 세척함. Mini-column 제작은 1,000 μ L pipette tip 끝을 탈지면으로 막고 상기의 활성화된 DEAE-Sephadex A-25(약 40 mg dry wt.)를 기포가 생기지 않게 주의

하면서 pasteur pipette으로 조금씩 넣은 다음(약 4cm) GSL 조추출물을 pasteur pipette으로 로딩 함. 추출물이 모두 빠져나가면, 초순수로 세척하여 중성 및 양이온을 세척하여 흘러 보낸 다음, column 아래 부분을 paraffin film으로 막고 aryl sulfatase solution(115 mg/5 mL, desulfation) 75 μ L을 수평으로 로딩함. 그리고 column 윗부분을 paraffin film으로 막고 충분한 효소반응을 위하여 실험실 상온에서 다음 날(약 16 ~ 18시간)까지 정치한다. 초순수를 0.5 mL씩 흘려서 desulfo-GSLs를 2.0 mL eppendorf tube에 용출(0.5 mL씩 총 3회)시킴. 용출시킨 시료는 0.45 μ m hydrophilic PTFE millipore filter(직경 13 mm)로 필터한 후 HPLC용 vial병에 넣어 냉장보관함.

(2) 카로티노이드 계통 물질의 성분 분석 및 대량 분석 방법 확립

- 카로티노이드 추출은 건조된 시료 0.5 g에 ethanol 5 mL을 넣고 항온수조(75° C)에서 5분간 진탕 추출함.
- 80% Potassium hydroxide(v/v) 1.5 mL를 넣고 항온수조(75° C)에서 10분간 진탕 추출한 후 얼음에 5분간 넣어 반응을 정지시킴.
- 초순수와 hexane를 각각 2.5 mL씩 넣고 진동혼합하고 원심분리(3,000 rpm, 3 min)하여 상층액(hexane 층)을 수거함(상층액을 수거하는 과정을 3회 반복). 수거한 hexane층은 농축하고 methanol:dichloromethane, 50:50(v/v) 1 mL로 녹인 후, HPLC로 분석함.

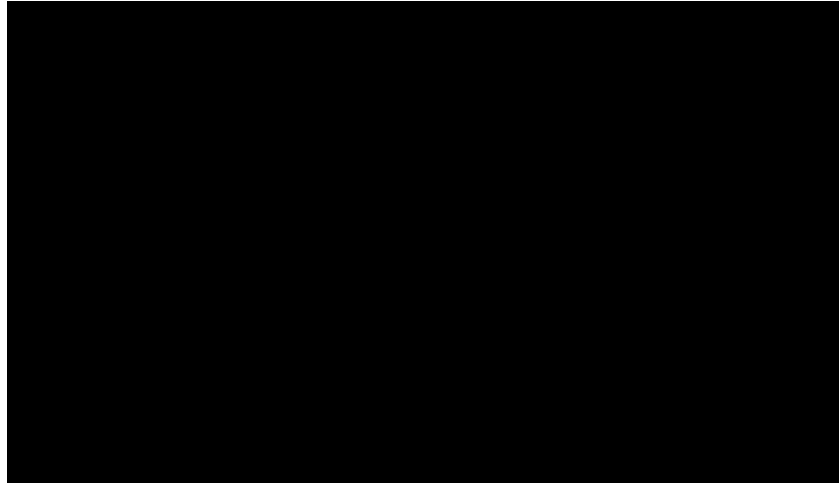
4. HPLC, LC-MS 등 분석기기를 이용한 분석 방법의 매뉴얼

가. HPLC 및 LC-MS를 이용한 성분 물질 분리 및 동정

(1) 글루코시놀레이트 분석

Table 9. Glucosinolates identified in Chinese cabbage

Table 10. HPLC analysis for glucosinolates in Chinese cabbage



○ 배추 내 글루코시놀레이트 HPLC 분석 조건(Table 10)을 통하여 총 10종류의 GSL가 분리됨

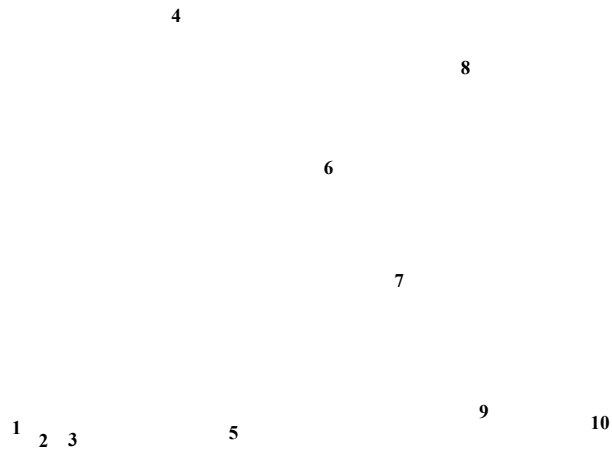
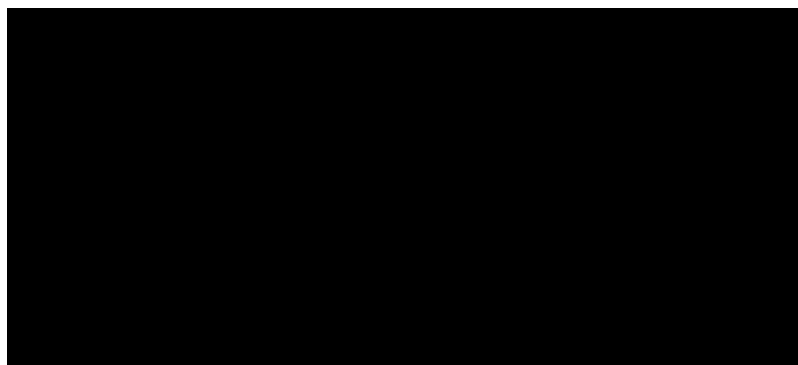


Fig. 10. HPLC chromatogram of glucosinolates in Chinese cabbage.

○ LC-MS 분석을 통하여 10가지 글루코시놀레이트 성분을 동정하였음

Table 11. LC-ESI-MS analysis conditions for glucosinolates in Chinese cabbage



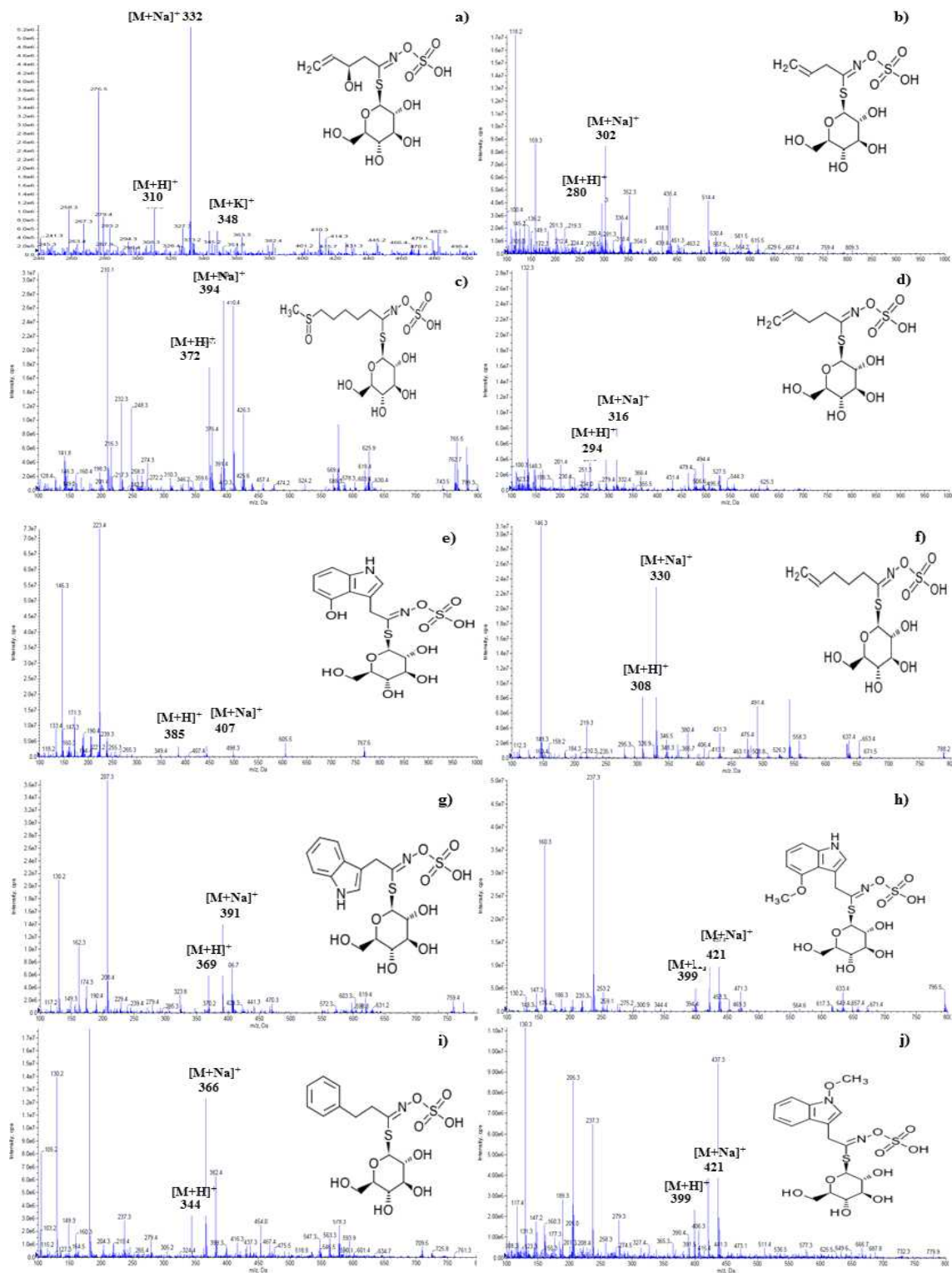


Fig. 11. LC-ESI-MS spectra and structures of glucosinolates. **a)**, progoitrin; **b)** sinigrin; **c)**, glucoalyssin; **d)**, gluconapin; **e)**, 4-hydroxyglucobrassicin; **e)**, glucobrassicinapin; **f)**, glucobrassicin; **g)**, 4-methoxyglucobrassicin; **g)**, gluconasturtiin; **h)**, neoglucobrassicin.

(2) 글루코시놀레이트 분석 방법 재확립

- 기존의 분석방법 (총 40분)에서는 배추과 채소 내 주요 향암 성분인 glucoraphanin(5.97분) 과 쓴 맛 유발 물질인 progoitrin(6.12분)이 retention time이 거의 같아 겹치는 현상이 발견 되었다.

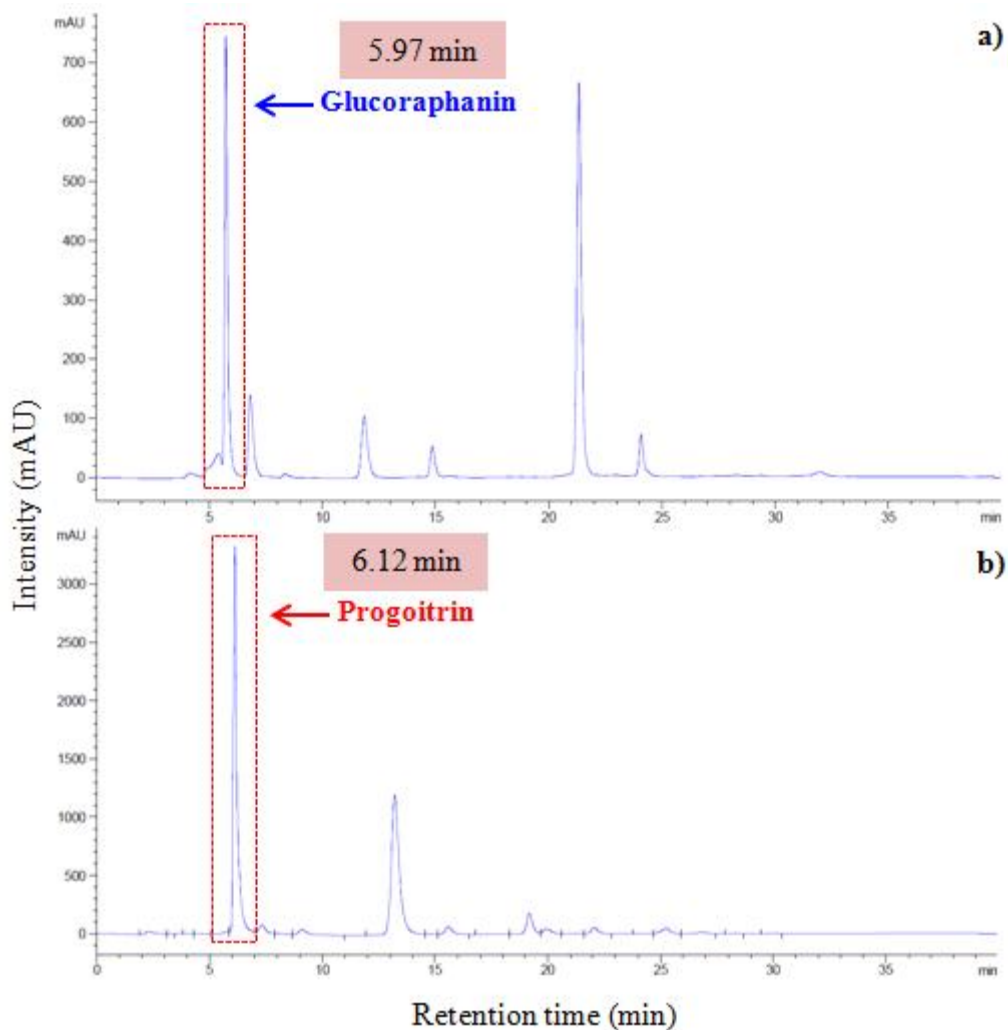


Fig. 12. HPLC chromatograms of glucosinolates in *Brassica* vegetable.

- 배추와 같이 계통에 따라 glucoraphanin이 미량 함유되어 있을 경우, 두 성분이 동시에 존재할 때에는 정성 또는 정량 평가에 대한 오류가 생길 수 있다. 단, 케일은 glucoraphanin이 전혀 검출되지 않았음.
- 따라서, 두 성분의 겹침 현상을 해결하기 위해 새로운 분석방법을 정립하였다.
- 이동상 용매의 비율을 기존 40분 최고 용매B 24%에서 개선된 방법에서는 27분 최고 용매B 31%으로 조정하였다.

Table 12. HPLC analysis for glucosinolates in *Brassica* vegetables

HPLC	Agilent Technologies 1200 series	
Column	Inertsil ODS-3 column (150 × 3.0 mm i.d., particle size 3 μm)	
Guard Column	Inertsil ODS-2 Cartridge Guard column E (10 × 2.0 mm i.d., particle size 5 μm)	
Wavelength	227 nm	
Oven temperature	40°C	
Mobile phase	Solvent A (Water) Solvent B (ACN)	
Flow rate	0.4 mL/min	
Gradient conditions	0 min solvent B 0 %	0 min solvent B 0 %
	2 min solvent B 0 %	2 min solvent B 0 %
	7 min solvent B 10 %	7 min solvent B 10 %
	16 min solvent B 31 %	16 min solvent B 31 %
	19 min solvent B 31 %	19 min solvent B 31 %
	21 min solvent B 0 %	21 min solvent B 0 %
	27 min solvent B 0 %	27 min solvent B 0 %
		0.0 min solvent B 7%
		18.0 min solvent B 24%
		32.0 min solvent B 24%
		32.1 min solvent B 7%
		40.0 min solvent B 7%

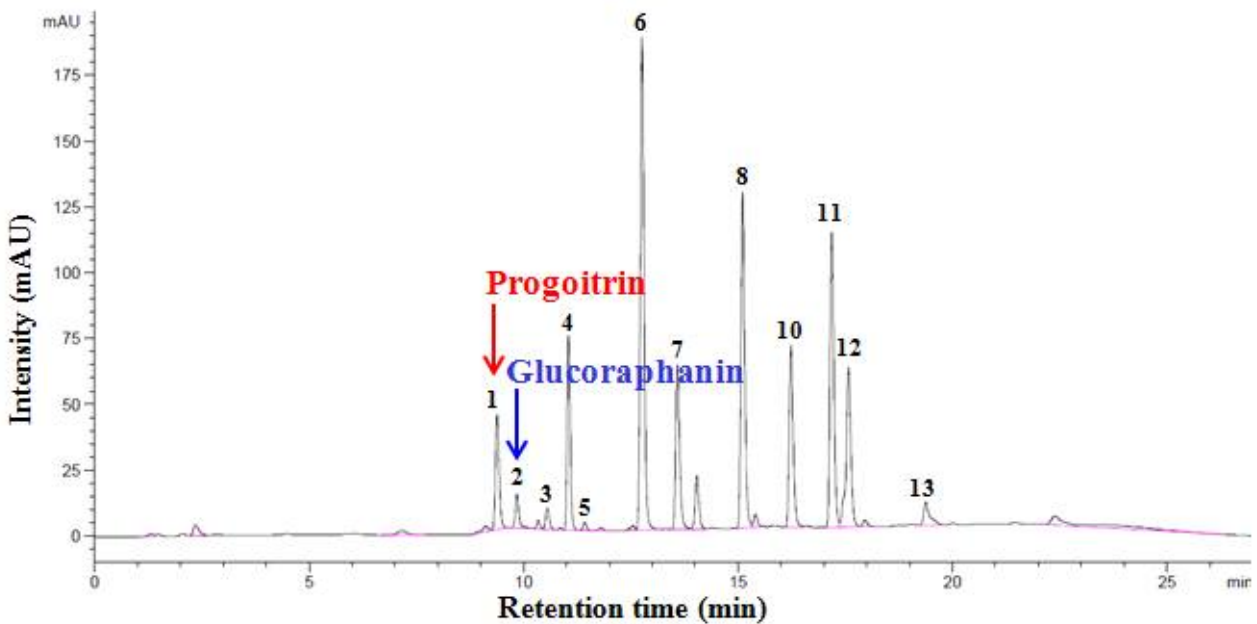


Fig. 13. HPLC chromatograms of glucosinolates in *Brassica* vegetable.

- 개선된 분석방법을 통하여 progoitrin과 glucoraphanin의 peak가 겹치는 현상을 개선하였고, LC-MS 분석을 통하여 각 성분을 동정/확인하였다.

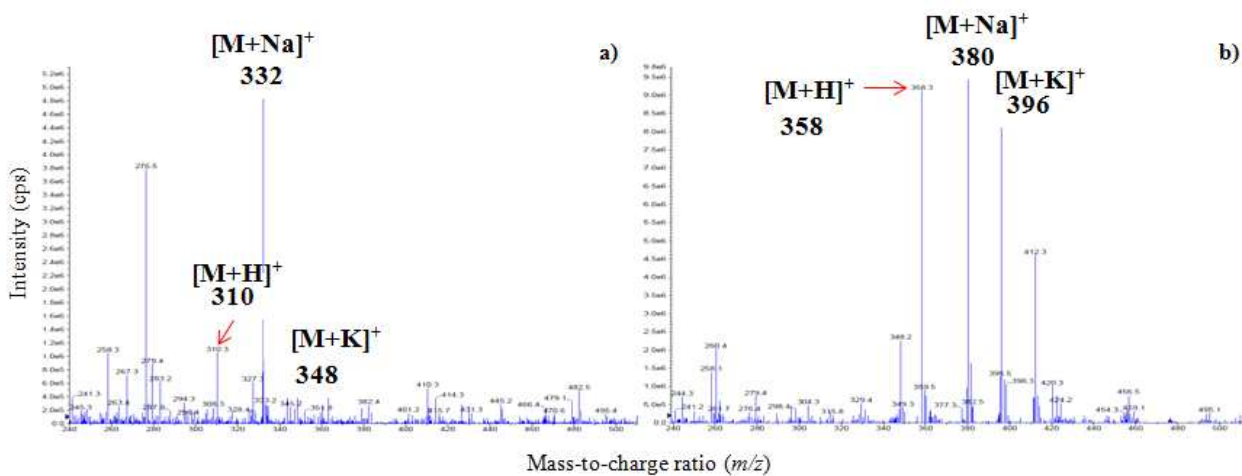


Fig. 14. Mass spectra of desulfo-glucosinolates ($[M+H]^+$) in *Brassica* vegetable.
a), progoitrin, b), glucoraphanin.

Table 13. Glucosinolates identified in *Brassica* vegetables

a) No., the elution order of glucosinolates from HPLC chromatograms in **Fig.**

b) RT, retention time. ^[1] As a desulfo GSL. Richard N et al., 2004. *J. Agric. Food Chem.* 52, 428-438.

^[2] International Organization for Standardization (ISO 9167-1, 1992).

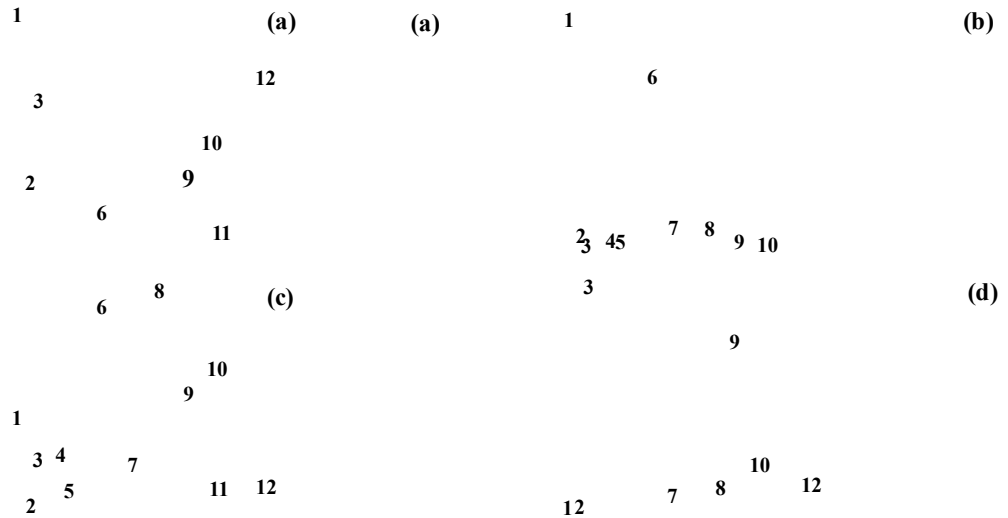


Fig. 15. HPLC chromatograms of glucosinolates.
 (a), cabbage; (b), rapeseed; (c), Chinese cabbage; (d), kale.

(3) 카로티노이드 분석 방법 재확립

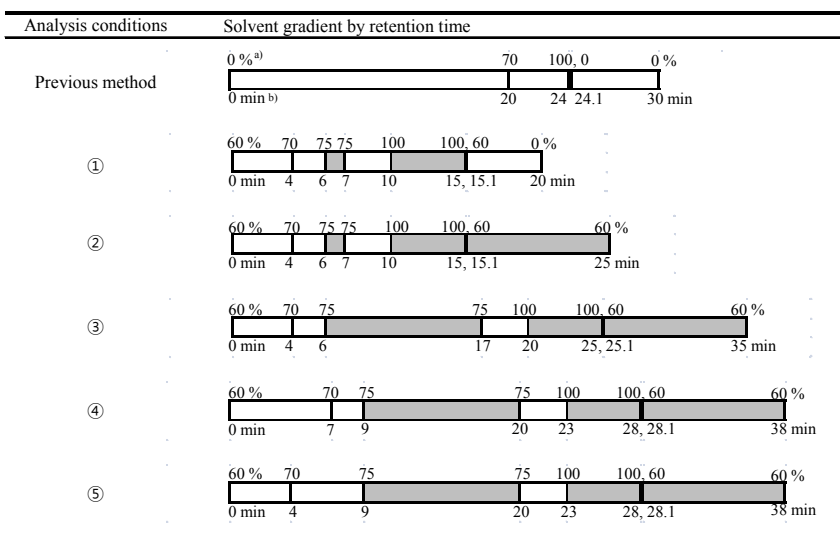
- 분석 칼럼은 carotenoid 전용 칼럼인 YMC carotenoid C30 column(250 × 4.6 mm i.d., particle size 3.0 μm)을 장착하였고, 이동상 용매는 water: methanol=25: 75(v/v)(A)와 ethyl acetate(B)를 사용하였다. 검출 파장은 454 nm, 온도는 40° C, 유량은 1.0 mL/min으로 설정하였다. 이동상 용매 B는 0분에 0%로 시작하여 20분에 70%로 증가시켰다. 24분에는 100%로 증가시킨 후, 24.1분에 0%로 급격히 감소시켜 30분까지 유지시켰다. 배추 시료를 분석한 결과, 라이코펜을 제외한 카로티노이드 4성분(lutein, zeaxanthin, α-carotene, β-carotene)의 피크가 모두 분리되어 이 방법을 카로티노이드 분석법으로 선택함.
- 상기 배추 내 카로티노이드 분석법을 바탕으로 이동상 용매 구배조건과 분석시간을 조절하면서 카로티노이드 4성분(lutein, zeaxanthin, α-carotene, β-carotene)을 동시에 분석할 수 있는 HPLC 분석법을 확립함.
- 카로티노이드 4가지 성분의 분석법 개발 과정은 다음과 같다. HPLC의 이동상 용매 구배조건과 분석시간을 조절하면서 [분석조건 ① - ⑤] 5가지 방법을 검토함(Fig. 16).
 - ① 기존에 선택한 분석법에서 라이코펜을 제외한 카로티노이드 4가지 성분의 피크가 모두 20분 이후에 분리되므로, 이동상 용매 B(ethyl acetate)에 변화를 주어 총 분석 시간을 단축시켰다. 이동상 용매 B를 60%로 시작하여 4분에 70%로 증가시킨 후, 6분에 75%로 증가시켜 7분까지 유지시켰다. 10분에는 100%까지 증가시켜 15분까지 유지시킨 후, 15.1분에 60%로 급격히 감소시키고 20분에는 0%로 감소시켜 주었다. 그 결과 라이코펜의 피크가 19.78분에 나타남.
 - ② [분석조건 ①]로 분석한 결과, 분석 시간이 충분히 길지 않아 라이코펜의 피크가 분석 도중 끊겨 분석 시간을 증가시켰다. 이동상 용매 B를 60%에서 4분에 70%로 증가시키고, 6분에 75%로 증가시켜 7분까지 유지시켰다. 10분에는 100%까지 증가시켜 15분까지 유지시킨 후, 15.1분에 60%까지 급격하게 감소시키고 25분까지 유지시켜 주었다. 그 결과 라이코펜이 19.67분에 분리되었음.

③ : [분석조건 ②]에서 완전히 분리되지 않은 루테인과 제아크산틴의 피크를 분리시키기 위해, 이동상 용매 구배조건을 변화시킴과 동시에 총 분석 시간을 증가시켰다. 이동상 용매 B를 60%로 시작하여 4분에 70%로 증가시키고, 6분에 75%로 증가시켜 17분까지 유지시켜주었다. 그 후에 20분에 100%까지 증가시켜 25분까지 유지한 후, 25.1분에 60%로 감소시켜 35분까지 유지하였음.

④ : [분석조건 ③]에서도 분리되지 않은 루테인과 제아크산틴 피크를 분리하기 위해, 이동상 용매 B를 60%에서 7분에 70%로 증가시키고, 9분에 75%까지 증가시킨 후, 20분까지 유지시켰다. 23분에는 100%까지 증가시켜 28분까지 유지하고, 28.1분에 60%로 감소시켜 38분까지 유지시켰으나, 루테인과 제아크산틴 피크는 완전히 분리되지 않았다.

⑤ : 이동상 용매 B를 60%로 시작하여 4분에 70%까지 증가시키고, 9분에 75%로 증가시켰다. 20분까지 유지시킨 후, 23분에 100%로 증가시켜 28분까지 유지시켰다. 28.1분에는 60%로 급격히 감소시켜 38분까지 유지하였다. 그 결과, 루테인은 11.60분, 제아크산틴은 12.23분, 알파카로틴은 26.25분, 베타카로틴은 27.99분, 라이코펜은 36.42분에서 분리됨(Fig. 17).

○ 이동상 용매 B의 구배조건에 변화(60 → 100%)를 주어 분석한 결과, 카로티노이드 5성분 표준품의 피크가 모두 잘 분리된 [분석조건 ⑤]로 분석법을 확립하였다. 기 보고된 다른 분석법들은 여러 가지 용매를 혼합하여 제조하는 불편함이 있는 반면(Dias et al., 2010; Jennifer et al., 2003), 이 분석법은 이동상 용매 제조가 비교적 간편하다는 장점이 있다. 또한 [분석조건 ⑤]는 총 분석시간이 38분으로 분석시간이 50~60분 소요되는 기존 분석법들(Gomez-prieto et al., 2003; Tuan et al., 2012)보다 상대적으로 짧다는 장점이 있어 다량의 시료 분석 시에 유리하다. [분석조건 ⑤]보다 분석시간이 짧은 분석법도 보고되었지만(Dias et al., 2010; Rao et al., 1998), 분석 가능한 카로티노이드의 종류(3종류: 크립토잔틴, 라이코펜, 베타카로틴)가 본 실험에서 확립한 카로티노이드 분석법(5종류: 루테인, 제아크산틴, 알파카로틴, 베타카로틴, 라이코펜)보다 적었다.



^{a)}Solvent B gradient; ^{b)}Retention time

Fig. 16. Retention time and solvent B gradient of HPLC analysis for carotenoids.



Fig. 17. HPLC chromatograms of 4 carotenoid standards by the analysis condition ⑤. Peak **1**, lutein; **2**, zeaxanthin; **3**, α -carotene; **4**, β -carotene.

(4) 카로티노이드 분석

Table 14. HPLC analysis for carotenoids in Chinese cabbage

○ Carotenoid 분석은 4종류의 표준물질을 구매하여 HPLC 용출시간과 표준물질 주입 실험으로 동정이 가능하므로 별도의 LC-ESI-MS 분석은 하지 않았음.

5. 배추 품종간 성분분석과 우수 품종에 대한 조직별 함량 측정

가. 배추 품종(50종) 간 글루코시놀레이트 함량 비교

○ 배추 내 글루코시놀레이트(GSLs)는 HPLC, LC-ESI-MS 분석결과와 문헌조사를 통하여, 총 10종 류(progoitrin, sinigrin, glucoalyssin, gluconapin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicinapin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, gluconasturtiin, neoglucobrassicin)를 분리·동정하였음.

Table 15. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in different lines of Chinese cabbage ($n=2$)

No	Trivial names	1	2	3	4	5	6
1	Progoitrin	3.34±1.87	8.93±5.63	3.67±2.05	1.85±0.26	1.93±0.29	5.98±3.15
2	Sinigrin	0.44±0.44	2.85±2.19	0.62±0.19	0.20±0.03	0.21±0.06	3.26±4.12
3	Glucoalyssin	0.13±0.02	1.76±1.47	0.33±0.07	0.38±0.07	0.39±0.04	1.10±0.06
4	Gluconapin	1.97±0.88	0.90±1.08	0.44±0.21	0.21±0.00	0.24±0.09	0.43±0.15
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.01	ND ^{a)}	0.03±0.03	0.02±0.00	0.02±0.01	0.02±0.00
6	Glucobrassicinapin	4.66±0.10	5.27±6.43	1.07±0.34	0.82±0.10	0.97±0.40	1.85±0.36
7	Glucobrassicin	2.18±0.36	2.57±1.57	4.75±1.08	0.94±0.50	1.00±0.43	0.95±0.69
8	4-Methoxyglucobrassicin	2.82±1.60	2.76±0.50	3.47±1.94	2.78±0.45	2.95±0.44	0.91±1.01
9	Gluconasturtiin	1.71±0.00	3.72±2.89	2.75±0.02	0.65±0.15	0.68±0.08	1.63±0.91
10	Neoglucobrassicin	0.28±0.14	0.64±0.42	0.73±0.38	0.14±0.06	0.12±0.04	1.57±1.99
Total		17.56±0.30	29.39±21.19	17.87±5.49	7.97±0.41	8.51±1.89	17.70±5.08
No	Trivial names	7	8	9	10	11	12
1	Progoitrin	2.45±0.64	2.79±0.11	1.79±0.10	1.86±0.48	3.27±1.00	3.59±0.09
2	Sinigrin	0.24±0.16	0.38±0.02	0.31±0.08	0.19±0.01	0.42±0.06	0.61±0.04
3	Glucoalyssin	0.46±0.02	0.55±0.24	0.31±0.03	0.14±0.02	0.61±0.13	0.59±0.15
4	Gluconapin	1.04±0.32	0.17±0.11	0.15	0.12±0.02	0.14±0.03	1.64±0.11
5	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	0.04	0.04±0.00	0.03	0.05±0.01
6	Glucobrassicinapin	2.98±0.10	0.59±0.20	0.73±0.01	0.26±0.05	0.94±0.07	4.08±0.56
7	Glucobrassicin	2.70±1.91	1.40±1.22	1.73±1.58	0.76±0.18	1.25±0.38	2.59±0.32
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.97±0.73	1.48±1.15	2.10±0.32	1.90±0.20	1.84±0.35	2.16±0.49
9	Gluconasturtiin	1.32±0.00	2.18±0.17	0.85±0.53	1.02±0.41	0.81±0.13	1.58±0.52
10	Neoglucobrassicin	0.56±0.04	0.45±0.39	0.34±0.34	0.10±0.04	0.37±0.07	0.36±0.33
Total		13.71±1.95	9.98±2.79	8.37±2.63	6.39±0.49	9.68±2.11	17.24±1.60
No	Trivial names	13	14	15	16	17	18
1	Progoitrin	2.71±0.48	1.64±0.23	1.84±1.06	2.74±0.14	1.55±0.11	2.11±0.30
2	Sinigrin	1.03±0.06	0.23±0.09	0.28±0.11	0.90±0.19	0.23±0.00	0.21±0.07
3	Glucoalyssin	0.44±0.14	0.27±0.08	0.23±0.10	0.30±0.01	0.18	0.46±0.09
4	Gluconapin	0.49	0.16±0.03	0.62	0.31±0.00	0.11	0.20±0.01
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.02±0.00	0.03±0.01	0.03±0.01	0.04	ND	0.05±0.03
6	Glucobrassicinapin	1.28±0.91	0.64±0.08	0.84±0.97	0.73±0.02	0.31±0.25	1.10±0.24
7	Glucobrassicin	2.23±0.88	0.63±0.01	1.57±1.12	0.36±0.15	0.29±0.17	1.01±0.49
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.24±0.05	2.09±0.04	2.50±0.69	0.74±0.07	0.81±0.17	2.48±0.39
9	Gluconasturtiin	0.77±0.42	0.62±0.29	0.81±0.31	1.08±0.29	0.44±0.32	0.74±0.02
10	Neoglucobrassicin	0.08±0.03	0.04±0.00	0.24±0.27	0.06±0.01	0.04±0.03	0.12±0.09
Total		10.29±3.32	6.35±0.22	8.97±5.08	7.28±0.85	3.97±0.87	8.48±1.60

No	Trivial names	19	20	21	22	23	24		
1	Progoitrin	1.64±0.29	1.76±0.40	2.47±2.06		2.23±0.41	5.07±0.89		
2	Sinigrin	0.14±0.04	0.23±0.02	0.28±0.18		0.53±0.23	0.95±0.26		
3	Glucoalyssin	0.25±0.07	0.44±0.09	0.55±0.43		1.31±0.28	1.13±0.06		
4	Gluconapin	0.35±0.10	0.16±0.05	0.44±0.26		0.22±0.01	0.54±0.62		
5	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.04±0.00	0.00±0.00		0.03±0.00	0.02		
6	Glucobrassicinapin	1.11±0.16	0.93±0.19	1.50±0.98		2.49±0.20	2.01±1.64		
7	Glucobrassicin	0.93±0.23	1.13±0.81	1.88±0.43		1.15±0.38	1.74±0.53		
8	4-Methoxyglucobrassicin	2.22±0.37	2.50±0.18	1.82±0.75		2.08±0.26	1.85±0.86		
9	Gluconasturtiin	0.43±0.09	0.79±0.06	0.98±0.74		1.46±0.63	1.21±0.38		
10	Neoglucobrassicin	0.68±0.27	0.39±0.46	0.37±0.26		0.13±0.00	0.42±0.40		
Total		7.76±1.17	8.37±2.05	10.29±4.58		11.62±2.37	14.94±1.18		
No	Trivial names	25	26	27	28 ^{b)}	29	30		
1	Progoitrin	2.42	3.43±0.55	1.13	1.31	3.00±0.00	2.72±0.13		
2	Sinigrin	ND	0.98±0.77	0.53	0.26	1.32±0.92	1.01±0.11		
3	Glucoalyssin	0.20	0.61±0.14	0.12	0.13	0.14±0.04	0.92±0.14		
4	Gluconapin	6.29	0.13±0.03	0.25	0.17	0.42±0.28	0.12±0.01		
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03	ND	0.02	0.15	0.12	0.06		
6	Glucobrassicinapin	0.24	0.72±0.01	0.69	0.34	0.47±0.06	1.31±0.71		
7	Glucobrassicin	0.46	0.43±0.23	1.16	1.47	1.41±0.68	1.36±0.53		
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.28	0.87±0.15	1.57	2.42	1.24±0.09	0.82±0.17		
9	Gluconasturtiin	0.34	0.51±0.07	0.53	0.47	0.83±0.68	0.27±0.17		
10	Neoglucobrassicin	0.36	0.06±0.00	0.23	0.47	0.20±0.02	0.19±0.19		
Total		10.63	7.74±1.17	6.22	7.18	9.16±0.56	8.78±0.14		
No	Trivial names	31	32	33 ^{b)}	34	35	36		
1	Progoitrin	2.13±0.04	4.00±0.93	3.27	3.10±0.49	1.29±0.56	2.33±1.37		
2	Sinigrin	0.63±0.36	1.01±0.65	0.82	1.01±0.24	0.24±0.01	0.49±0.30		
3	Glucoalyssin	0.80±0.19	0.29±0.01	0.92	0.74±0.10	0.10±0.00	0.33±0.18		
4	Gluconapin	ND	3.12	0.15	ND	0.40±0.09	0.30±0.26		
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.00	ND	ND	0.08	0.03±0.01	ND		
6	Glucobrassicinapin	0.90±0.27	0.37±0.01	1.04	0.70±0.34	0.38±0.20	1.96±1.17		
7	Glucobrassicin	1.08±0.31	0.92±0.07	0.45	0.73±0.42	1.36±0.15	1.58±0.64		
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.46±0.86	0.64±0.66	1.57	1.30±0.37	1.78±0.09	1.92±0.95		
9	Gluconasturtiin	1.09±0.03	0.45±0.22	1.11	0.71±0.01	0.62±0.31	0.47±0.22		
10	Neoglucobrassicin	0.23±0.14	0.08±0.08	0.07	0.06±0.03	0.07±0.02	0.10±0.04		
Total		8.34±1.42	10.88±2.08	9.39	8.42±0.33	6.27±0.67	9.47±1.61		
No	Trivial names	37	38	39	40	41	42		
1	Progoitrin	2.26±0.81	5.08±0.63	1.89±0.80	0.60±0.35	2.62±0.40	1.70±0.14		
2	Sinigrin	0.25±0.10	1.74±0.47	0.26±0.06	48.76±9.16	0.47±0.09	0.41±0.08		
3	Glucoalyssin	0.88±0.10	1.49±0.10	0.46±0.00	ND	1.50±0.06	0.53±0.09		
4	Gluconapin	0.17±0.04	0.40±0.09	0.15±0.04	0.29±0.01	0.39±0.35	0.65±0.16		
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.08	0.46±0.41	ND	0.50±0.14	0.07±0.02	ND		
6	Glucobrassicinapin	1.44±0.24	2.32±0.69	0.81±0.15	ND	3.03±1.68	0.75±0.15		
7	Glucobrassicin	1.35±0.70	2.27±2.47	1.87±0.51	0.29±0.17	1.11±0.10	1.78±0.37		
8	4-Methoxyglucobrassicin	2.20±0.09	1.56±1.12	3.16±2.85	0.53±0.47	1.45±0.13	2.40±1.14		
9	Gluconasturtiin	0.59±0.12	0.94±0.76	0.61±0.05	0.70±0.23	1.62±0.01	0.92		
10	Neoglucobrassicin	0.09±0.00	0.41±0.33	0.98±1.21	0.06±0.04	0.14±0.06	0.09±0.03		
Total		9.32±0.11	16.67±4.86	10.20±1.15	51.73±9.85	12.38±2.79	9.24±0.22		
No	Trivial names	43	44	45	46 ^{b)}	47	48	49	50
1	Progoitrin	2.18±0.14	2.64±2.06	1.35±0.56	3.97	2.96±0.29	1.96±0.33	1.72±0.64	1.39±0.07
2	Sinigrin	0.23±0.04	0.49±0.40	0.24±0.13	0.54	0.59±0.56	0.53±0.06	0.39±0.27	0.26±0.01
3	Glucoalyssin	0.37±0.10	0.86±0.73	0.51±0.26	1.85	0.47±0.18	0.19±0.02	0.23±0.08	0.29±0.05
4	Gluconapin	0.32±0.28	0.18±0.06	0.39±0.13	2.25	0.05±0.07	0.91±0.15	0.59±0.39	0.24±0.17
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.05	ND	0.04	0.05	0.02	ND	ND	0.17
6	Glucobrassicinapin	0.50±0.04	1.59±1.19	0.85±0.81	8.50	0.50±0.09	0.54±0.16	0.54±0.02	0.59±0.10
7	Glucobrassicin	1.19±0.09	1.48±0.68	1.57±0.99	1.11	1.57±0.15	1.71±0.49	0.91±0.59	0.40±0.04
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.94±0.36	1.30±0.31	1.53±0.07	1.48	1.36±0.88	1.60±0.42	1.52±0.28	1.53±0.00
9	Gluconasturtiin	0.86±0.24	0.65±0.40	0.59±0.44	2.72	0.86±0.11	0.48±0.04	0.69±0.10	0.22±0.02
10	Neoglucobrassicin	0.13±0.06	0.33±0.34	1.34±1.64	0.20	0.08±0.05	0.14±0.01	0.08±0.01	0.03±0.01
Total		7.75±0.78	9.53±5.53	8.39±4.92	22.67	8.46±0.19	8.05±0.21	6.67±2.23	5.07±5.00

^{a)}ND, not detected, ^{b)}n=1

○ 배추 50 품종 간 글루코시놀레이트 함량 비교 (22번 품종은 배추 수확 과정 중 시료 손상이 너무 심하여 분석을 하지 않음)에서 '40-12038' 에서 51.73 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 가장 높았으며,

‘17-11141’에서 3.97 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 가장 낮았음. 40-12038에서는 sinigrin의 함량이 총 함량의 약 94%를 차지하였음.

- 기능성 성분으로 알려진 glucobrassicin의 경우 ‘3-11113’, ‘7-11117’에서 각각 4.75, 2.70 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 함량이 가장 높았기 때문에 기능성 품종 육성에 선별되어야 할 것으로 판단되는 반면, 강한 쓴 맛을 내고, 갑상선 유발 물질로 알려진 progoitrin의 경우 ‘2-11112’, ‘6-11116’에서 각각 8.93, 5.98 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 로 높은 함량을 보여 향후 품종 육성 시 함량을 저감하는 것을 목표로 두어야 할 것으로 사료됨.

나. 배추 품종(50종) 간 카로티노이드 함량 비교

- 수집된 배추 50종 중 결구가 된 35종(결손 번호 제외)을 선별한 후, 배추 속 노란 부분만 분석에 사용하였음.

Table 16. Carotenoid contents(mg/kg dry wt.) in different lines of Chinese cabbage ($n=2$)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6	7
1	Lutein	4.40±2.45	3.13±2.85	5.74±2.24	5.21±2.93	4.24±1.82	10.56±7.72	5.24±0.17
2	Zeaxanthin	0.14±0.04	0.05±0.01	0.07±0.00	0.07±0.06	0.04±0.02	0.10±0.08	0.23±0.10
3	α -carotene	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	β -carotene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total		4.54±2.41	3.18±2.84	5.81±2.24	5.28±3.00	4.29±1.80	10.66±7.63	5.47±0.27
No.	Trivial names	8	9	11	12	14	18	20
1	Lutein	10.24±7.08	6.27±1.49	5.22±2.44	5.06±2.08	4.11±0.38	8.84±6.70	4.91±0.34
2	Zeaxanthin	0.31±0.00	0.27±0.27	0.13±0.05	0.08±0.03	0.07±0.00	1.55±2.07	0.08±0.08
3	α -carotene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	β -carotene	ND	ND	ND	ND	ND	2.84±0.00	ND
Total		10.54±7.48	6.55±1.76	5.35±2.49	5.14±2.11	4.18±0.38	11.82±10.79	4.99±0.43
No.	Trivial names	23	26	27	28	29	30	31
1	Lutein	7.12±2.71	4.26±0.25	7.11±3.80	3.42±0.52	4.58±0.82	1.93±1.19	1.60±0.93
2	Zeaxanthin	0.39±0.30	0.08±0.00	0.26±0.24	0.08±0.04	0.10±0.01	0.14±0.06	ND
3	α -carotene	0.13±0.07	0.12±0.03	0.14±0.17	0.15±0.04	0.09±0.03	0.05±0.01	ND
4	β -carotene	0.51±0.41	0.29±0.07	0.50±0.13	1.68±0.81	0.70±0.59	0.67±0.50	ND
Total		8.15±3.50	4.71±0.08	8.02±4.00	5.33±0.29	5.47±1.45	2.79±0.76	2.21±1.37
No.	Trivial names	32	33	34	37	38	41	42
1	Lutein	ND	6.31±1.92	3.82±1.04	6.90±0.64	11.00±0.43	4.54±0.70	8.73±5.81
2	Zeaxanthin	ND	0.21±0.10	0.25±0.19	0.12±0.01	0.23±0.04	0.43±0.00	0.11±0.00
3	α -carotene	ND	0.11±0.02	0.08±0.00	0.12±0.01	0.05±0.01	0.06±0.04	0.04±0.00
4	β -carotene	ND	7.66±0.00	0.35±0.34	0.13±0.00	2.03±0.20	0.81±0.86	4.60±4.97
Total		ND	10.47±7.46	4.51±1.19	7.26±0.66	13.31±0.68	5.62±0.52	13.47±10.78
No.	Trivial names	43	44	46	47	49	50	
1	Lutein	8.31±6.27	58.53±6.40	4.50±1.11	5.80±0.18	6.92±1.02	5.13±1.52	
2	Zeaxanthin	0.08±0.00	0.11±0.01	0.24±0.27	0.31±0.17	0.24±0.27	0.32±0.42	
3	α -carotene	0.02±0.00	4.89±0.00	0.05±0.01	0.05±0.02	ND	ND	
4	β -carotene	2.14±2.19	123.95±23.28	2.38±1.44	1.42±0.56	0.88±0.00	ND	
Total		10.55±8.45	187.48±31.72	7.17±2.81	7.58±0.55	7.60±0.12	5.45±1.94	

^{a)}ND, not detected

- 배추에는 2종류 카로티노이드(lutein, β -carotene)가 풍부하며, 그 중 β -carotene은 배추 신선 중 당 0.01-0.03 mg/100 g fresh wt.이 함유되어 있다고 알려짐. 또한 zeaxanthin은 함량이 매우 적거나 없다고 보고됨 (Kim et al., 2007).
- 배추 50종 중 결구가 된 35종을 선별하여 카로티노이드 함량을 비교한 결과, 배추 내 4종류 카로티노이드 중에서 lutein함량이 가장 높았으며(44번 배추를 제외), 이는 총 카로티노이드 함량의 약 80%를 차지함.
- 44-29008번 배추에서 주로 2종류 카로티노이드(lutein, β -carotene)가 많이 함유되어 있었으며,

β -carotene은 총 카로티노이드 함량의 약 67%를 차지함. 총 카로티노이드 함량은 44-29008에서 187.48 mg/kg dry wt.로 가장 높았으며, 31-12029에서 2.21 mg/kg dry wt.로 가장 낮았음.

다. 배추 조직별 함량 측정

(1) 글루코시놀레이트

○ 배추를 통째로 사용하여 조직별 함량은 측정하지 않았음.

(2) 카로티노이드

○ 배추 내 조직별 카로티노이드 함량을 측정하기 위하여 배추 속(노란부분)과 그 외(바깥 잎, 노란부분을 제외한 outer leaves) 부분으로 나눔. 상태가 좋지 못한 가장 바깥쪽 잎(보통 5~6장)을 떼어내고, 노란색 부분을 제외한 부분만 카로티노이드 분석에 사용함.

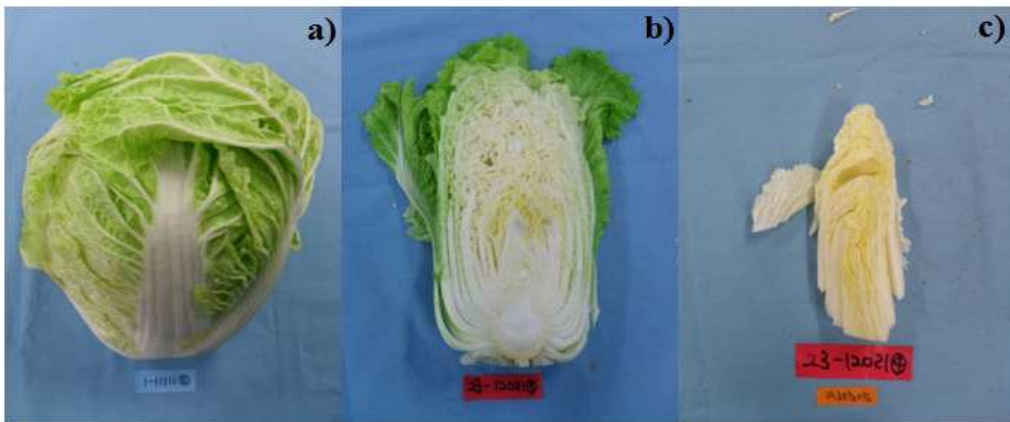


Fig. 18. 배추(8-11118). a), 전체; b), 단면; c), 속(카로티노이드 분석용).

Table 17. Carotenoid contents(mg/kg dry wt.) in outer leaves of Chinese cabbage

No.	Trivial names	3	8	26
1	Lutein	142.92	125.07	43.47
2	Zeaxanthin	2.39	6.85	1.86
3	α -carotene	4.08	3.18	0.04
4	β -carotene	169.40	98.09	36.01
Total		318.79	233.19	81.39

- 3, 8, 26 품종을 비교한 결과, 바깥 잎(배추 노란 부분 제외한 나머지)에서 318.79, 233.19, 81.39 mg/kg dry wt.로 배추 속(노란색 부분)과 비교하여 최고 약 31배 높았음.
- 향후 배추 속(노란부분)과 바깥 잎을 구별하지 않고 배추 전체를 사용한 카로티노이드 함량 측정이 중요할 것으로 판단됨.

Table 18. Glucosinolate contents in Chinese cabbage ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) ($n=3$)

No	Trivial name	12 6048	12 6163-2	12 6048-1x6033-1	11 5022x5021	12 5154-1	12 5162-1
1	Progoitrin	0.69±0.22	0.61±0.10	0.90±0.20	0.51±0.09	0.12±0.03	0.44±0.07
2	Glucoalyssin	ND ^{a)}	0.08±0.01	0.06±0.05	0.06±0.05	ND	ND
3	Gluconapoleiferin	0.11±0.05	0.14±0.05	0.20±0.11	0.39±0.04	ND	0.11±0.03
4	Gluconapin	2.51±0.97	0.54±0.05	1.06±0.53	0.16±0.08	1.47±0.08	1.81±0.54
5	Glucocochlearin	ND	ND	ND	0.06±0.05	ND	ND
6	Glucobrassicinapin	4.00±1.74	1.70±0.12	2.37±0.90	0.64±0.26	2.49±0.19	3.56±0.80
7	Glucobrassicin	0.47±0.09	2.39±0.09	0.71±0.14	0.62±0.17	1.53±0.33	1.43±0.10
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.27±0.24	2.32±0.42	1.44±0.44	1.39±0.20	1.49±0.08	1.67±0.16
9	Gluconasturtiin	0.17±0.05	1.85±0.24	0.52±0.04	0.47±0.20	0.81±0.07	0.66±0.12
10	Neoglucobrassicin	0.26±0.11	0.33±0.05	0.36±0.23	0.50±0.31	0.43±0.10	0.36±0.06
Total		9.48±3.32	9.97±0.93	7.61±1.85	4.74±0.21	8.34±0.25	10.05±1.59

No	Trivial name	12 2009-2x2012-1-1	12 5162-1x5154-1	13-SB 31	13-SB 32	13-SB 33	13-SB 34	13-SB 35
1	Progoitrin	0.30±0.02	0.40±0.04	0.93±0.10	1.00±0.13	0.88±0.10	0.57±0.36	0.49±0.12
2	Glucoalyssin	ND	ND	0.14±0.03	0.21±0.01	0.03±0.05	0.12±0.11	ND
3	Gluconapoleiferin	0.11±0.03	0.11±0.02	0.56±0.03	0.69±0.02	2.02±0.24	0.62±0.33	0.82±0.15
4	Gluconapin	0.85±0.21	1.40±0.74	ND	0.14±0.03	0.19±0.05	0.17±0.15	0.12±0.04
5	Glucocochlearin	ND	ND	0.14±0.03	ND	ND	ND	ND
6	Glucobrassicinapin	2.73±0.19	3.27±1.20	0.27±0.13	0.53±0.03	3.60±0.55	0.69±0.29	1.32±0.04
7	Glucobrassicin	0.50±0.06	1.10±0.28	0.65±0.10	0.90±0.20	0.93±0.21	0.85±0.23	1.98±0.37
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.53±0.08	1.35±0.31	1.28±0.25	1.18±0.19	1.02±0.07	1.29±0.55	1.70±0.35
9	Gluconasturtiin	0.29±0.03	0.98±0.38	0.85±0.20	0.87±0.23	0.38±0.04	0.33±0.15	0.31±0.04
10	Neoglucobrassicin	0.20±0.10	0.65±0.23	0.69±0.19	1.03±0.50	1.24±0.69	1.46±1.11	1.24±0.25
Total		5.53±0.37	9.25±1.89	5.37±0.36	6.55±0.89	10.28±1.02	6.11±2.09	7.98±0.87

^{a)}Not detected.

7. 케일의 glucosinolates/carotenoids 분석 방법의 매뉴얼화 및 성분분석

가. 케일 재배 시험

- 각 계통의 케일은 국립원예특작과학원 온실에서 105공-트레이에 각 21립씩 파종(2012년 8월 9일) 하였음.
- 파종 26일 후(days after sowing, DAS)에 각 케일을 이식($n=4$)하였음.
- 각 계통의 케일은 92 DAS 수확하였음(2012년 11월 23일).
- 케일은 줄기를 제거하였고, 가식부인 잎만 GSL 추출에 사용함. 각 케일 잎은 크기가 큰 순서부터 나열한 후 홀수 번 잎(약 8~10장 사용)을 사용하였음.
- 카로티노이드(carotenoids) 추출의 경우, 케일은 잎 전체를 사용하였음.
- 각 계통의 케일은 국립원예특작과학원 온실에서 105공-트레이에 각 21립씩 파종(2012년 8월 9일) 하였음.



<케일 각 계통 파종>



<케일 육묘>



<케일 수확>

나. 케일 품종(21종)간 글루코시놀레이트 함량 비교

Table 19. Glucosinolate contents in kale ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) (n=2)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6	7
1	Progoitrin	0.73±0.00	0.40±0.01	0.92±0.03	0.72±0.00	0.75±0.03	0.54±0.01	0.20±0.01
2	Sinigrin	1.25±0.00	2.60±0.51	5.09±0.01	ND	0.08±0.00	0.04±0.01	1.05±0.01
3	Glucoalyssin	0.08±0.00	0.17±0.07	ND ^{a)}	0.03±0.00	0.04±0.00	0.10±0.00	0.05±0.00
4	Gluconapin	0.03±0.00	0.13±0.15	0.09±0.00	0.23±0.12	0.50±0.01	0.31±0.01	0.08±0.00
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.00	0.05±0.02	0.53±0.00	0.09±0.00	0.18±0.00	0.08±0.00	1.09±0.00
6	Glucobrassicinapin	0.06±0.00	0.08±0.01	0.05±0.00	ND	0.06±0.03	0.09±0.00	0.04±0.00
7	Glucobrassicin	0.39±0.00	4.61±0.01	2.22±0.00	1.57±0.00	1.30±0.01	2.90±0.01	1.61±0.00
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.08±0.00	0.19±0.13	0.65±0.00	0.27±0.00	0.05±0.00	0.75±0.00	0.37±0.34
9	Gluconasturtiin	0.06±0.00	0.06±0.03	0.10±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.53±0.02	0.04±0.02
10	Unknown	0.57±0.00	0.93±0.02	0.57±0.02	0.17±0.00	0.41±0.07	0.68±0.01	0.17±0.05
11	Neoglucobrassicin	0.04±0.00	0.15±0.03	0.06±0.00	0.02±0.00	0.16±0.00	0.13±0.01	0.11±0.02
Total		3.31±0.02	9.36±0.87	10.28±0.04	3.11±0.12	3.54±0.08	6.15±0.04	4.82±0.44

No.	Trivial names	8	9	10	11	12	13	14
1	Progoitrin	1.86±0.28	0.74±0.18	1.20±0.19	1.00±0.00	0.37±0.04	0.30±0.01	0.78±0.04
2	Sinigrin	0.14±0.08	0.07±0.08	0.09±0.07	7.64±0.01	3.13±0.04	0.65±0.00	0.77±0.03
3	Glucoalyssin	0.02±0.02	0.04±0.02	0.07±0.04	0.17±0.00	0.10±0.02	0.03±0.00	0.03±0.01
4	Gluconapin	0.17±0.18	0.73±0.87	0.71±0.82	0.02±0.00	0.73±0.01	0.35±0.00	0.60±0.00
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.06±0.01	0.25±0.01	0.08±0.03	0.31±0.00	0.15±0.00	0.04±0.00	0.02±0.00
6	Glucobrassicinapin	0.07±0.06	0.02	0.04±0.03	0.13±0.00	0.07±0.00	0.08±0.00	0.07±0.06
7	Glucobrassicin	0.10±0.05	0.11±0.02	0.18±0.09	3.13±0.00	1.64±0.00	0.64±0.00	1.37±0.00
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.06±0.00	0.08±0.05	0.05±0.01	0.22±0.00	0.16±0.00	0.04±0.00	0.26±0.00
9	Gluconasturtiin	0.06±0.04	0.10±0.07	0.03±0.01	0.07±0.00	0.03±0.00	0.07±0.01	0.07±0.00
10	Unknown	0.57±0.23	0.66±0.10	1.33±0.67	0.74±0.00	0.86±0.01	0.49±0.02	0.54±0.00
11	Neoglucobrassicin	0.16±0.07	0.23±0.04	0.23±0.06	0.28±0.01	0.18±0.00	0.11±0.00	0.18±0.00
Total		3.27±0.29	3.03±0.91	4.02±0.05	13.71±0.03	7.42±0.13	2.80±0.04	4.71±0.14

No.	Trivial names	15	16	17	18	19	20	21
1	Progoitrin	0.64±0.00	0.15±0.00	2.50±0.00	1.06±0.30	0.49±0.01	1.02±0.15	1.86±0.00
2	Sinigrin	1.76±0.15	1.25±0.00	0.01±0.00	ND	ND	ND	0.01±0.00
3	Glucoalyssin	0.13±0.00	0.06±0.00	0.08±0.00	0.10±0.02	0.07±0.00	0.10±0.00	0.11±0.00
4	Gluconapin	0.08±0.00	ND	0.14±0.00	0.21±0.08	0.17±0.00	ND	ND
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.02±0.00	0.01±0.00	0.37±0.00	0.09±0.07	0.08±0.00	0.26±0.04	0.66±0.00
6	Glucobrassicinapin	ND	0.02±0.00	0.02±0.00	ND	ND	ND	ND
7	Glucobrassicin	0.97±0.00	0.66±0.00	1.14±0.00	1.64±0.10	1.11±0.00	2.82±0.05	4.07±0.00
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.34±0.01	0.09±0.00	0.60±0.00	0.21±0.08	0.29±0.00	0.30±0.04	0.20±0.00
9	Gluconasturtiin	ND	0.14±0.00	0.11±0.00	ND	ND	ND	0.03±0.00
10	Unknown	0.51±0.12	0.60±0.29	0.16±0.00	0.24±0.08	0.30±0.00	0.18±0.02	0.19±0.00
11	Neoglucobrassicin	0.13±0.02	0.17±0.00	0.17±0.00	0.10±0.06	0.11±0.00	0.06±0.01	0.11±0.00
Total		4.59±0.02	3.16±0.29	5.29±0.00	3.65±0.15	2.62±0.01	4.74±0.31	7.23±0.01

^{a)}ND, not detected

- 케일 내 기능성 성분으로 알려진 glucobrassicin과 gluconasturtiin 함량의 합의 범위는 0.16-4.66 $\mu\text{mol/g}$ DW로, 2-10037(4.66) > 21-28335(4.10) > 6-26033(3.43) > 11-28253(3.19) $\mu\text{mol/g}$ DW)계통 순으로 높았음.
- 반면, 8-27272 계통의 glucobrassicin과 gluconasturtiin 함량의 합은 0.16 $\mu\text{mol/g}$ DW로, 최대 함량을 보였던 2-10037 계통에 비해 약 29배 낮은 함량을 보였음.
- Progoitrin 함량은 17-28331(2.50) > 8-27272(1.86), 21-28335(1.86) > 11-28253(1.00) > 6-26033(0.54) 계통 순으로 나타남.
- 따라서 우수한 케일 계통을 선발할 때에는 위해성을 갖는 성분의 함량을 낮추고, 기능성(항암효과)을 갖는 성분의 함량을 높이는 것을 고려해야 하는데, 본 실험에서는 2-10037과 6-26033 계통은 progoitrin 함량이 낮고, glucobrassicin과 gluconasturtiin 함량이 높아 우량품종 개발에 이용될 수 있는 소재로 보여짐.

다. 케일 품종(21종)간 카로티노이드 함량 비교

Table 20. Carotenoid contents in kale(mg/kg dry wt.)

(n=2)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6	7
1	Lutein	339.76±13.98	266.60±21.88	401.79±17.53	296.90±41.44	314.87±24.47	369.50±38.06	140.06±34.37
2	Zeaxanthin	177.65±26.11	139.58±26.50	110.14±4.92	22.38±18.51	153.49±5.87	25.47±0.00	0.86±0.88
3	α -carotene	31.00±4.56	50.01±3.45	34.83±5.43	52.52±15.27	113.21±2.42	17.96±0.52	4.54±2.80
4	β -carotene	761.41±78.26	934.95±149.03	745.84±80.14	879.35±18.20	2125.12±130.94	466.22±12.43	103.99±57.76
Total		1309.82±122.91	1391.15±104.10	1292.61±108.02	1251.16±26.48	2706.69±158.85	879.15±54.45	249.45±25.31
No.	Trivial names	8	9	10	11	12	13	14
1	Lutein	454.39±81.95	433.72±22.60	427.77±39.99	370.04±28.80	418.38±12.64	303.30±166.45	443.00±47.44
2	Zeaxanthin	44.96±10.24	50.26±9.16	60.38±6.80	ND ^{a)}	52.54±30.59	56.95±0.00	61.37±16.69
3	α -carotene	9.11±0.13	22.87±5.82	14.50±5.11	22.30±2.99	52.18±6.36	47.86±8.09	41.43±2.16
4	β -carotene	307.35±73.80	593.68±71.24	413.41±44.56	494.16±19.65	1007.24±73.41	687.67±233.11	865.36±147.11
Total		815.77±18.52	1100.54±108.82	916.05±96.46	913.63±10.99	1530.34±123.01	1095.79±7.14	1411.15±85.13
No.	Trivial names	15	16	17	18	19	20	21
1	Lutein	290.71±348.60	488.92±7.04	375.48±140.42	415.17±38.97	309.11±35.87	50.77±3.32	586.09±20.41
2	Zeaxanthin	60.85±57.35	66.04±0.00	55.98±13.78	209.57±9.76	106.72±13.12	291.75±132.22	169.89±10.67
3	α -carotene	98.47±10.89	30.46±1.35	36.09±8.66	91.89±5.89	67.61±9.06	58.53±12.21	87.97±3.03
4	β -carotene	1633.10±496.67	680.27±8.27	836.19±134.59	1791.07±75.10	1223.56±51.20	1259.83±135.71	1744.11±79.79
Total		2083.13±101.62	1265.69±4.02	1303.75±10.95	2507.70±110.20	1707.00±91.13	1660.87±12.38	2588.05±113.89

- 케일에서 2종류 카로티노이드(lutein, β -carotene)함량과 관련된 기능성성분 연구가 많으며, 2종류 카로티노이드(lutein, β -carotene)함량도 중요하지만 총 카로티노이드 함량 또한 항산화활성에 매우 중요함.
- 케일 내 카로티노이드 4성분 중에서 β -carotene이 가장 높았으며(7, 8, 10번 제외), 이는 총 카로티노이드 함량의 약 65%를 차지함. 총 카로티노이드 함량은 5-28261 계통에서 2706.69 mg/kg dry wt.로 가장 높았으며, 반대로 7-26034 계통에서 249.45 mg/kg dry wt.로 가장 낮았음.

라. 케일 품종 간 성분분석과 우수 품종에 대한 조직별 함량측정

(1) 케일 품종 간 성분분석

- 케일 종자는 제2 협동프로젝트로부터 받아, 2013년 11월 5일 파종함.
- 2013년 11월 5일 상토가 담긴 화분에 육묘를 이식하여 재배를 진행하였고, 2014년 1월 28일 수확하여 재배기간은 총 116일.



<에스터케일>

<진홍쌈케일>

<건강케일>

<케일>

<케일 TBC>

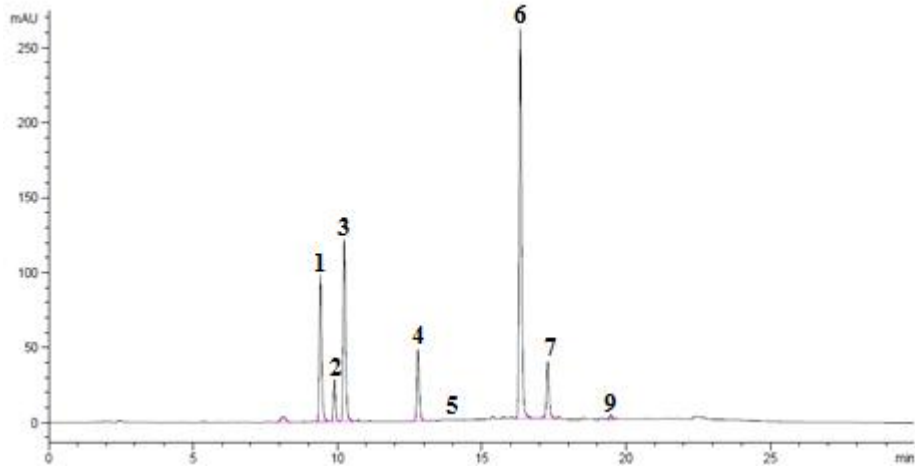


Fig. 20. HPLC chromatograms of glucosinolates in kale.

Table 21. Glucosinolate contents in kale ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) ($n=3$)

No	Trivial name	Ester kale	Jinheung kale	Kunkang kale	Kale	Kale TBC
1	Progoitrin	1.25±0.94	2.51±1.67	1.12±0.47	0.93±0.53	1.75±0.84
2	Glucoraphanin	ND ^{a)}	0.45±0.44	ND	ND	ND
3	Sinigrin	4.04±1.05	3.11±0.86	3.76±1.83	3.00±2.04	4.97±0.83
4	Gluconapin	0.99±0.83	1.42±0.68	0.53±0.25	0.60±0.26	1.35±0.65
5	4-Hydroxyglucobrassicin	0.05±0.04	0.06±0.06	ND	ND	ND
6	Glucobrassicin	2.39±0.26	2.62±0.11	2.21±0.44	2.80±1.19	3.32±0.79
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.31±0.08	0.33±0.11	0.17±0.05	0.28±0.07	0.29±0.05
8	Gluconasturtiin	0.03±0.04	ND	0.04±0.07	ND	ND
9	Neoglucobrassicin	0.09±0.04	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.03	1.26±0.45
Total		9.14±1.71	10.53±3.41	7.87±2.76	7.64±1.98	12.94±3.52

^{a)}Not detected.

- 총 글루코시놀레이트 함량은 ‘Kale TBC’ 에서 12.94 $\mu\text{mol/g}$ DW로 가장 높았으며, ‘Kale’ 에서 7.64 $\mu\text{mol/g}$ DW로 가장 낮았음.
- 기능성 성분인 sinigrin의 경우 ‘Kale TBC’ (4.97), ‘Ester Kale’ (4.04)순으로 높았고, glucobrassicin의 경우 ‘Kale TBC’ (3.32), ‘Kale’ (2.80 $\mu\text{mol/g}$ DW)순으로 높았음. *세 간에서 ‘항암배추’ 에 많이 들어 있다는 gluconasturtiin은 일부 계통에서 가장 적은 함량이었음.

(2) 케일 조직별 함량측정

- ‘케일 TBC’ 종자를, 2014년 02월 20일 파종하였다. 2014년 03월 25일 상토가 담긴 화분에 육묘를 이식하여 재배를 진행하였고, 2014년 04월 29일 수확하여 재배기간은 총 68일 이었다.
- 케일 조직별 함량측정은 ‘Kale TBC’ 시료를 화분의 하단부터 순차적으로 상, 중, 하 3부분으로 나누어 글루코시놀레이트 함량을 측정하였다.



Table 22. Glucosinolate contents in 'Kale TBC' ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) ($n=3$)

No ^{a)}	Trivial name	상	중	하
1	Progoitrin	1.75±0.84	0.77±0.24	0.22±0.19
2	Sinigrin	4.97±0.83	2.82±0.50	0.91±0.36
3	Gluconapin	1.35±0.65	0.87±0.25	0.23±0.22
4	Glucobrassicin	3.32±0.79	1.60±0.55	0.84±0.52
5	4-Methoxyglucobrassicin	0.29±0.05	0.19±0.03	0.27±0.13
6	Neoglucobrassicin	1.26±0.45	0.36±0.07	0.18±0.02
Total		12.94±3.52	6.61±1.52	2.64±1.35

○ 글루코시놀레이트 함량은 상층(12.94 $\mu\text{mol/g}$ DW)에서 가장 높았으며, 중층 (6.61), 하층 (2.64)으로 갈수록 낮아졌음. 상층은 하층의 약 4.9배 높았으며, 중층의 약 1.95배 높았음.

■ 4차년도(2014.08-2015.08)

8. 기능성 배추의 후대 검증

가. 선발된 배추 품종의 후대 glucosinolates 물질 분석

- 배추는 제 1, 제 2 협동 프로젝트에서 재배 된 것으로, 2014년 11월 11일에 각 16 (FH 및 FA), 20 (1-20) 계통씩의 시료를 받아 글루코시놀레이트와 카로티노이드를 정량 분석 하였음 (모든 시료는 3차년도 과제 평가 지적에 따라 6반복으로 진행하였음).
- 배추 시료는 분석에 필요한 만큼 크기에 따라 1/8 또는 1/16으로 절단하여 즉시 냉동 후 동결건조하여 수행하였음.



배추 시료



배추 1/8



동결건조

(1) 제 1 협동 프로젝트

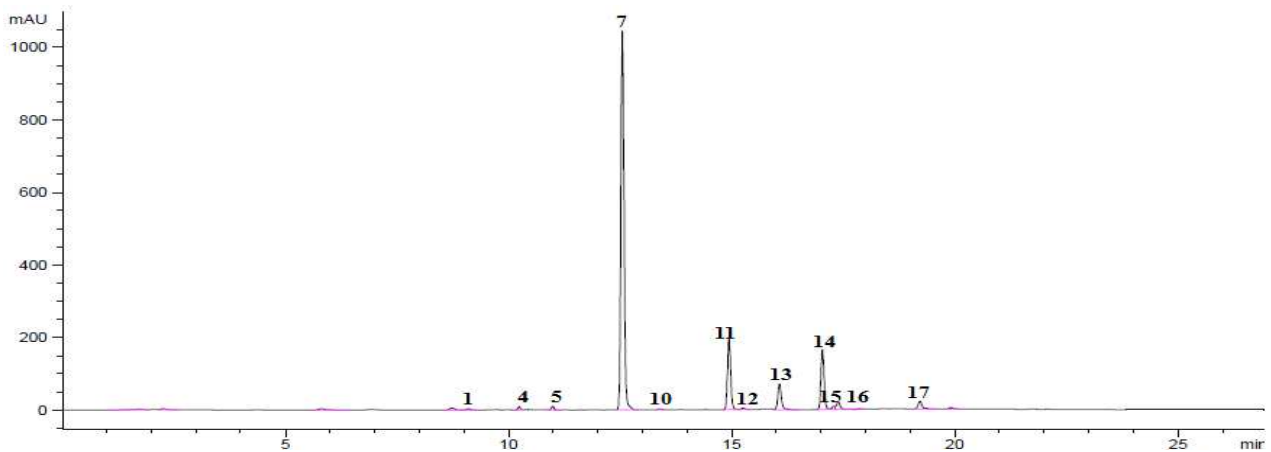


Fig. 21. HPLC chromatogram of glucosinolates in Chinese cabbage (제1 협동프로젝트 배추 'FH 05').

Table 23. Glucosinolate contents (μ mol/g dry wt.) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	FH 05	FH 32	FH 111	FH 112	FH 113	FH 114
1	Progoitrin	0.09±0.01	3.52±0.36	0.50±0.03	1.77±0.14	0.31±0.11	0.18±0.02
2	Glucoraphanin	0.04	0.06±0.02	ND	0.05±0.02	ND	ND
3	Sinigrin	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND	ND
4	Unknown 1	0.12±0.03	0.22±0.04	0.13±0.03	0.18±0.05	0.05±0.01	0.07±0.01
5	Glucoalyssin	0.21±0.02	1.03±0.16	0.18±0.03	0.96±0.10	0.05±0.02	0.15±0.03
6	Gluconapoleiferin	ND	1.04±0.09	0.17±0.01	0.65±0.05	0.06±0.01	ND
7	Gluconapin	17.22±5.38	2.61±0.66	0.50±0.10	0.15±0.06	0.04±0.00	6.86±0.80
8	Unknown 2	ND	0.10±0.02	0.08±0.02	0.15±0.06	0.10±0.01	0.15±0.06
9	4-Hydroxyglucobrassicin	0.04	0.40±0.07	ND	0.04±0.02	0.10±0.01	0.12±0.03
10	Glucocochlearin	0.08±0.04	0.07±0.01	ND	ND	ND	ND
11	Glucobrassicinapin	6.39±2.32	8.34±0.94	1.55±0.24	0.79±0.19	0.08±0.02	3.61±0.66
12	Glucoerucin	0.08±0.03	0.18±0.03	0.05±0.00	0.17±0.01	0.05±0.00	0.07±0.01
13	Glucobrassicin	0.54±0.10	1.30±0.11	0.69±0.06	4.18±0.79	1.64±1.01	2.13±0.71
14	4-Methoxyglucobrassicin	0.78±0.14	1.24±0.23	2.47±0.14	2.83±0.28	1.17±0.48	2.89±0.25
15	Glucoberteroin	0.18±0.02	1.74±0.42	ND	1.39±0.17	ND	0.10±0.03
16	Gluconasturtiin	0.71±0.32	1.33±0.26	0.94±0.15	0.98±0.19	0.48±0.13	0.44±0.16
17	Neoglucobrassicin	0.14±0.04	0.06±0.01	0.15±0.01	0.31±0.02	0.91±0.90	0.26±0.05
Total		26.63±5.53	23.22±2.31	7.41±0.43	14.60±0.89	5.04±2.78	17.05±1.16

No.	Trivial name	FH 115	FH 116	FH 117	FH 118	FH 119	FH 120
1	Progoitrin	0.99±0.09	0.17±0.02	0.55±0.03	1.28±0.25	0.46±0.16	0.61±0.06
2	Glucoraphanin	0.09±0.01	ND	0.10±0.03	0.08±0.03	0.04±0.00	ND
3	Sinigrin	ND	ND	ND	0.13	ND	ND
4	Unknown 1	0.06±0.01	0.06±0.01	0.15±0.03	0.16±0.03	0.17±0.01	0.17±0.02
5	Glucoalyssin	0.65±0.03	0.27±0.03	0.33±0.10	0.62±0.24	0.27±0.11	0.44±0.10
6	Gluconapoleiferin	0.28±0.08	ND	0.04±0.01	0.25±0.13	0.07±0.02	0.10±0.01
7	Gluconapin	0.48±0.19	1.04±0.36	3.08±0.99	1.30±1.21	1.94±0.39	3.16±0.89
8	Unknown 2	0.10±0.03	0.11±0.02	0.45±0.10	0.35±0.03	0.34±0.02	0.62±0.33
9	4-Hydroxyglucobrassicin	0.06±0.03	0.04±0.01	0.07±0.03	0.10±0.08	0.02±0.01	0.02±0.00
10	Glucocochlearin	0.57±0.02	ND	0.80±0.11	0.05±0.01	ND	0.04±0.01
11	Glucobrassicinapin	1.09±0.11	1.31±0.38	1.73±0.54	1.79±1.08	2.35±0.54	7.23±1.65
12	Glucoerucin	0.25±0.04	0.06±0.01	0.15±0.07	0.18±0.02	0.15±0.03	0.08±0.01
13	Glucobrassicin	2.25±0.49	0.75±0.08	0.33±0.02	0.89±0.45	0.41±0.10	0.70±0.15
14	4-Methoxyglucobrassicin	2.77±0.15	1.84±0.14	0.35±0.02	1.37±0.76	1.10±0.07	0.82±0.19
15	Glucoberteroin	1.24±0.22	0.31±0.10	ND	0.56±0.10	0.48±0.18	0.42±0.06
16	Gluconasturtiin	0.71±0.09	0.34±0.05	1.21±0.29	0.44±0.10	0.46±0.02	1.01±0.12
17	Neoglucobrassicin	0.21±0.01	0.09±0.01	0.28±0.14	0.23±0.10	0.06±0.01	0.12±0.03
Total		11.82±0.65	6.37±1.00	9.65±1.89	9.78±1.78	8.33±1.50	15.53±2.29

No.	Trivial name	FH 121	FH 122	FH 300	FA 2	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.22±0.01	0.67±0.05	0.30±0.02	0.36±0.04	0.72±0.86	6.6
2	Glucoraphanin	ND	ND	0.04±0.01	0.07±0.02	0.06±0.02	0.6
3	Sinigrin	ND	ND	ND	ND	0.13	1.2
4	Unknown 1	0.07±0.03	0.09±0.03	0.09±0.03	0.10±0.02	0.12±0.05	1.0
5	Glucoalyssin	0.25±0.01	0.14±0.05	0.52±0.18	0.62±0.17	0.42±0.29	3.7
6	Gluconapoleiferin	0.07±0.00	0.18±0.05	0.05±0.01	0.05±0.01	0.23±0.29	2.0
7	Gluconapin	0.04±0.00	0.26±0.04	1.80±0.14	1.04±0.35	2.60±4.27	22.8
8	Unknown 2	0.08±0.03	0.16±0.07	0.08±0.02	0.11±0.01	0.20±0.17	1.8
9	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.03±0.01	0.03±0.02	0.06±0.02	0.08±0.10	0.7
10	Glucocochlearin	ND	0.05	0.04±0.00	ND	0.22±0.30	1.9
11	Glucobrassicinapin	0.14±0.02	0.64±0.24	3.34±0.34	0.80±0.11	2.57±2.58	22.6
12	Glucoerucin	ND	0.07±0.01	0.08±0.01	0.12±0.03	0.12±0.06	1.0
13	Glucobrassicin	1.70±0.21	1.07±0.80	0.67±0.24	0.48±0.14	1.23±0.99	10.9
14	4-Methoxyglucobrassicin	0.54±0.06	2.49±0.44	1.82±0.35	1.15±0.15	1.60±0.86	14.1
15	Glucoberteroin	0.05±0.00	0.11±0.10	0.48±0.03	0.39±0.21	0.57±0.51	5.0
16	Gluconasturtiin	0.07±0.01	0.13±0.07	0.69±0.09	0.83±0.23	0.67±0.36	5.9
17	Neoglucobrassicin	0.28±0.14	0.05±0.02	0.20±0.07	0.38±0.07	0.23±0.20	2.1
Total		3.53±0.28	6.16±1.81	10.25±0.80	6.54±0.86	11.37±6.54	100.0

○ 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 16계통에서는 총 17가지의 glucosinolate 성분을 분리 (10개의 aliphatic: progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, glucoalyssin, gluconapoleiferin,

gluconapin, glucocochlearin, glucobrassicinapin, glucoerucin, glucoberteroin; 4개의 indolyl: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1개의 aromatic: gluconasturtiin; 2개의 unknown)하였다.

- 16계통 배추의 glucosinolate 함량 범위는 3.53 ('FH121')-26.63 ('FH05') 이었으며, 평균은 11.37 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 이었고,
- 배추에서 항암효과를 나타내는 기능성 성분인 glucobrassicin이 전체 함량 대비 약 11% (1.23 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)를 차지하였으며, 'FH112' (4.18)계통에서 최대치였으며, gluconasturtiin의 경우 전체의 약 6% (0.67)로 'FH32' (1.33 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)계통에서 최대치를 나타냄.
- 쓴맛을 나타내는 성분인 gluconapin, glucobrassicinapin이 전체 함량의 각각 22.8, 22.6%를 차지함.

(2) 제 2 협동 프로젝트

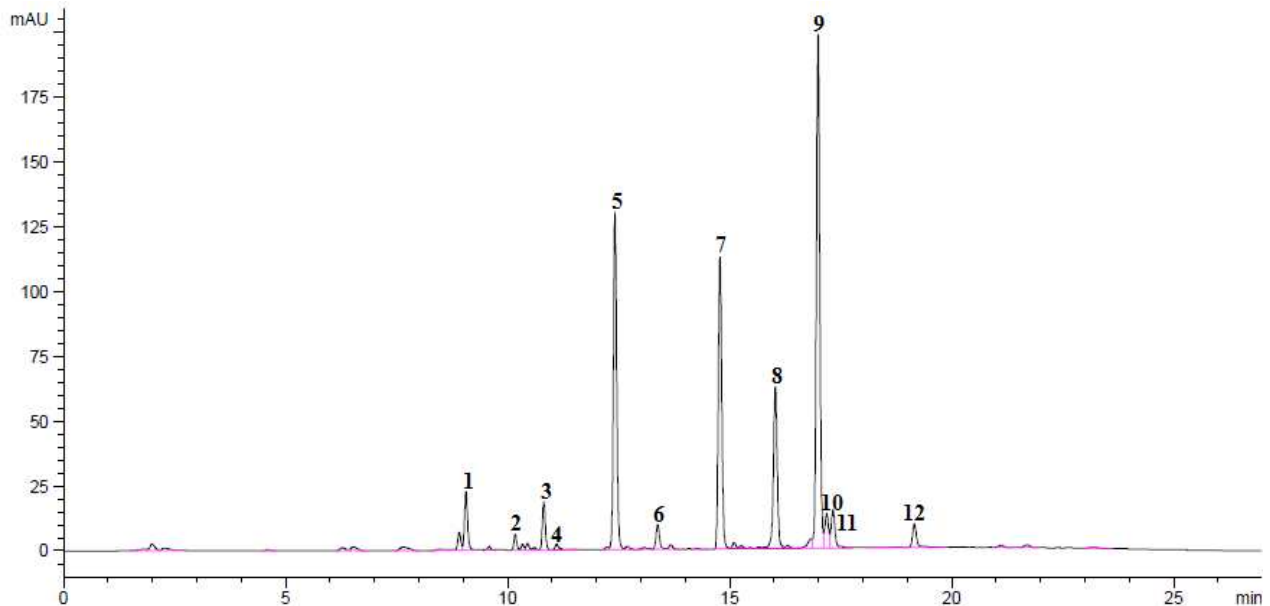


Fig. 22. HPLC chromatogram of glucosinolates in Chinese cabbage
(제2 협동프로젝트 배추 '16').

Table 24. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	1	2	3	4	5	6	7	
1	Progoitrin	0.86±0.17	0.21±0.08	1.12±0.26	1.39±0.20	1.98±0.66	0.64±0.06	0.25±0.13	
2	Unknown 1	0.02±0.01	0.04±0.03	0.03±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.13±0.02	
3	Glucoalyssin	0.44±0.12	0.33±0.04	0.36±0.06	0.24±0.06	0.35±0.09	0.42±0.02	0.43±0.13	
4	Gluconapoleiferin	0.12±0.01	0.01±0.00	0.25±0.07	0.15±0.04	0.27±0.06	0.05±0.00	ND ^{a)}	
5	Gluconapin	0.89±0.35	2.63±0.24	0.40±0.12	1.82±0.27	1.30±0.43	4.40±0.27	1.79±0.71	
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.02	0.00±0.00	0.03±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	ND	
7	Glucobrassicinapin	1.73±0.61	3.24±0.19	1.16±0.40	2.06±0.06	2.01±0.57	3.97±0.44	3.58±1.24	
8	Glucobrassicin	0.55±0.17	0.81±0.10	0.97±0.26	0.35±0.38	0.73±0.17	0.69±0.25	0.85±0.24	
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.29±0.33	1.52±0.12	2.06±0.32	1.83±0.17	2.08±0.29	1.37±0.11	2.02±0.52	
10	Glucoberteroin	0.16±0.00	0.17±0.11	0.30±0.15	0.13±0.13	0.45±0.26	0.16±0.15	0.41±0.14	
11	Gluconasturtiin	0.22±0.23	0.45±0.15	0.75±0.43	0.27±0.10	0.37±0.40	0.34±0.13	0.47±0.13	
12	Neoglucobrassicin	0.05±0.01	0.07±0.01	0.28±0.07	0.09±0.00	0.13±0.02	0.14±0.07	0.31±0.15	
Total		6.35±1.99	9.47±0.43	7.71±1.79	8.41±0.46	9.76±2.51	12.25±0.50	10.24±2.17	
No.	Trivial name	8	9	10	11	12	13	14	
1	Progoitrin	0.84±0.41	0.37±0.11	0.93±0.18	0.43±0.14	0.27±0.04	1.13±0.46	1.03±0.21	
2	Unknown 1	0.14±0.02	0.18±0.05	0.14±0.04	0.12±0.01	0.15±0.02	0.15±0.03	0.15±0.01	
3	Glucoalyssin	0.47±0.06	0.53±0.20	0.41±0.06	0.19±0.04	0.22±0.06	0.37±0.03	0.13±0.02	
4	Gluconapoleiferin	0.18±0.08	0.09±0.00	0.40±0.08	0.28±0.08	ND	0.16±0.09	0.30±0.04	
5	Gluconapin	1.13±0.26	1.14±0.19	0.40±0.03	0.18±0.03	0.58±0.04	1.40±0.06	0.84±0.25	
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.04	0.02	0.04±0.00	ND	ND	0.03±0.00	0.06±0.03	
7	Glucobrassicinapin	2.10±0.25	1.41±0.20	1.64±0.21	0.91±0.23	0.85±0.01	1.87±0.39	3.12±0.85	
8	Glucobrassicin	0.47±0.12	0.23±0.06	0.61±0.15	0.40±0.08	0.50±0.08	0.37±0.10	0.98±0.17	
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.90±0.50	1.90±0.34	1.91±0.20	1.08±0.06	1.71±0.22	1.42±0.14	2.33±0.27	
10	Glucoberteroin	0.37±0.10	0.34±0.10	0.39±0.15	0.15±0.01	0.12±0.04	0.41±0.08	ND	
11	Gluconasturtiin	0.46±0.17	0.34±0.11	0.30±0.07	0.40±0.13	0.18±0.09	0.40±0.11	0.39±0.10	
12	Neoglucobrassicin	0.13±0.01	0.09±0.03	0.33±0.04	0.10±0.01	0.09±0.02	0.06±0.03	0.07±0.01	
Total		8.23±1.44	6.64±1.09	7.52±0.71	4.25±0.76	4.67±0.13	7.78±1.37	9.40±1.78	
No.	Trivial name	15	16	17	18	19	20	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.63±0.13	0.66±0.16	0.40±0.07	1.17±0.60	0.71±0.07	1.02±0.17	0.80±0.44	10.0
2	Unknown 1	0.13±0.01	0.15±0.01	0.12±0.07	0.15±0.03	0.12±0.02	0.13±0.05	0.11±0.05	1.3
3	Glucoalyssin	0.24±0.07	0.55±0.07	0.37±0.08	0.25±0.07	0.17±0.03	0.34±0.09	0.34±0.12	4.3
4	Gluconapoleiferin	0.20±0.04	ND	0.10±0.02	0.17±0.10	0.22±0.02	0.17±0.01	0.18±0.10	2.3
5	Gluconapin	0.48±0.13	4.13±1.05	0.34±0.05	1.30±0.15	0.70±0.05	0.50±0.12	1.32±1.18	16.5
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.10±0.05	0.03±0.00	0.03±0.00	0.03±0.01	ND	0.04±0.02	0.5
7	Glucobrassicinapin	1.70±0.44	3.93±0.87	0.81±0.12	1.77±0.55	2.53±0.22	1.00±0.34	2.07±1.01	25.9
8	Glucobrassicin	0.47±0.24	0.71±0.08	0.43±0.13	0.29±0.03	0.82±0.20	1.14±0.10	0.62±0.25	7.7
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.73±0.32	1.86±0.30	2.29±0.33	1.49±0.33	1.87±0.15	1.44±0.05	1.75±0.34	22.0
10	Glucoberteroin	0.33±0.15	0.44±0.11	0.44±0.09	0.34±0.12	0.10±0.03	0.20±0.02	0.28±0.13	3.6
11	Gluconasturtiin	0.15±0.09	0.51±0.08	0.19±0.07	0.29±0.09	0.34±0.05	0.87±0.15	0.39±0.18	4.8
12	Neoglucobrassicin	0.13±0.05	0.07±0.01	0.19±0.04	0.06±0.01	0.13±0.08	0.26±0.10	0.17±0.09	1.7
Total		6.20±1.65	13.11±2.76	5.71±0.84	7.28±2.00	7.75±0.39	7.06±0.88	7.99±2.26	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 20계통에서는 12종류의 glucosinolate 성분을 분리 (6종류 aliphatic: progoitrin, glucoalyssin, gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoberteroin; 4종류 indoly: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic: gluconasturtiin; 1종류 unknown)하였음.
- 20계통 배추의 glucosinolate 함량 범위는 4.25 ('11')-13.11 ('16') 이었으며, 평균은 7.99 $\mu\text{mol/g}$ dry wt. 이었고, 배추에서 항암효과를 나타내는 기능성 성분인 glucobrassicin이 전체 함량의 약 8%(평균 0.62 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)를 차지하였으며, '20' 계통(1.14) gluconasturtiin의 경우 전체의 약 5% (0.39)로 '20'계통(0.87)에서 최대, 배추의 쓴맛을 나타내며, 해충으로부터 식물의 방어체계에 관여하는 성분인 glucobrassicinapin과 gluconapin은 각각 총 함량 대비 약 26 %(평균 2.07 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.), 17% (1.32)로 글루코시놀레이트의 주요 성분으로 나타났고, '16' (3.93; 4.13)과 '6' (3.97; 4.40) 계통에서 높은 값을 보임.
- 동물 (소)이 섭취하였을때, 갑상선 염을 유발한다고 알려진 progoitrin의 경우 총 함량 대비

10% (0.80 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)를 차지하였고, '5' (1.98)계통에서 최대값을 나타냈는데, 따라서 이를 저감시킬 필요가 있음.

나. 선발된 배추 품종의 후대 carotenoids 물질 분석

(1) 제 1 협동 프로젝트

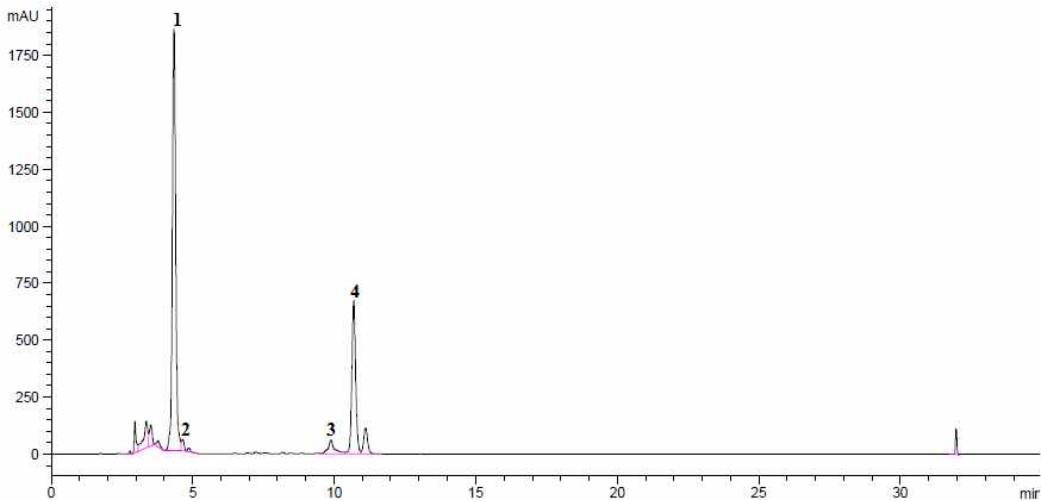


Fig. 23. HPLC chromatogram of carotenoids in Chinese cabbage

(제1 협동프로젝트 배추 'FH121').

Table 25. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial names	FH 05	FH 32	FH 111	FH 112	FH 113	FH 114
1	Lutein	189.02±29.28	2.52±0.92	24.84±9.60	16.11±14.49	91.42±77.13	34.22±23.35
2	Zeaxanthin	6.10±0.93	ND	1.06±0.27	0.96±0.84	2.81±2.33	1.91±0.09
3	α -Carotene	18.78±5.87	2.32±1.38	2.56±0.96	4.99±1.06	15.58±9.14	5.11±0.42
4	β -Carotene	151.12±20.45	14.83±8.72	20.01±5.17	22.71±16.11	78.52±69.33	25.65±16.40
Total		365.03±55.46	19.67±9.60	48.47±16.80	44.76±33.12	188.33±159.46	66.89±43.54
No.	Trivial names	FH 115	FH 116	FH 117	FH 118	FH 119	FH 120
1	Lutein	16.12±7.42	17.26±12.02	85.87±19.60	45.44±21.51	20.41±9.06	15.71±4.96
2	Zeaxanthin	ND	1.02±0.14	2.58±0.44	1.74±0.98	1.10±0.05	0.74±0.20
3	α -Carotene	ND	2.26±0.28	10.47±3.85	3.57±2.07	1.76±0.29	2.38
4	β -Carotene	12.00±2.11	14.86±9.04	75.80±18.53	35.42±19.82	11.48±5.44	12.85±4.43
Total		28.12±8.69	35.40±22.60	174.72±42.22	86.17±44.35	34.75±15.92	31.67±10.49
No.	Trivial names	FH 121	FH 122	FH 300	FA 2	Ave	Ration (%)
1	Lutein	39.45±5.09	12.80±3.78	11.15±4.79	54.72±51.69	42.31±46.90	42.5
2	Zeaxanthin	36.54±4.77	0.82±0.30	ND	3.31±0.31	4.67±9.69	4.7
3	α -Carotene	41.08±6.06	ND	ND	10.19±8.43	9.31±11.03	9.3
4	β -Carotene	186.62±18.65	10.04±2.27	8.75±2.54	55.23±49.56	45.99±53.33	46.1
Total		303.69±29.63	23.66±5.73	19.90±6.18	123.45±111.63	99.67±106.34	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 16계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene)을 검출하였음.
- 16계통 배추의 카로티노이드 함량 범위는 19.67 (FH32)-365.03 (FH05) 이었으며, 평균은 99.67 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 43%, 항산화 활성을 지닌 β -carotene이 46%를 차지하였음.

(2) 제 2 협동 프로젝트

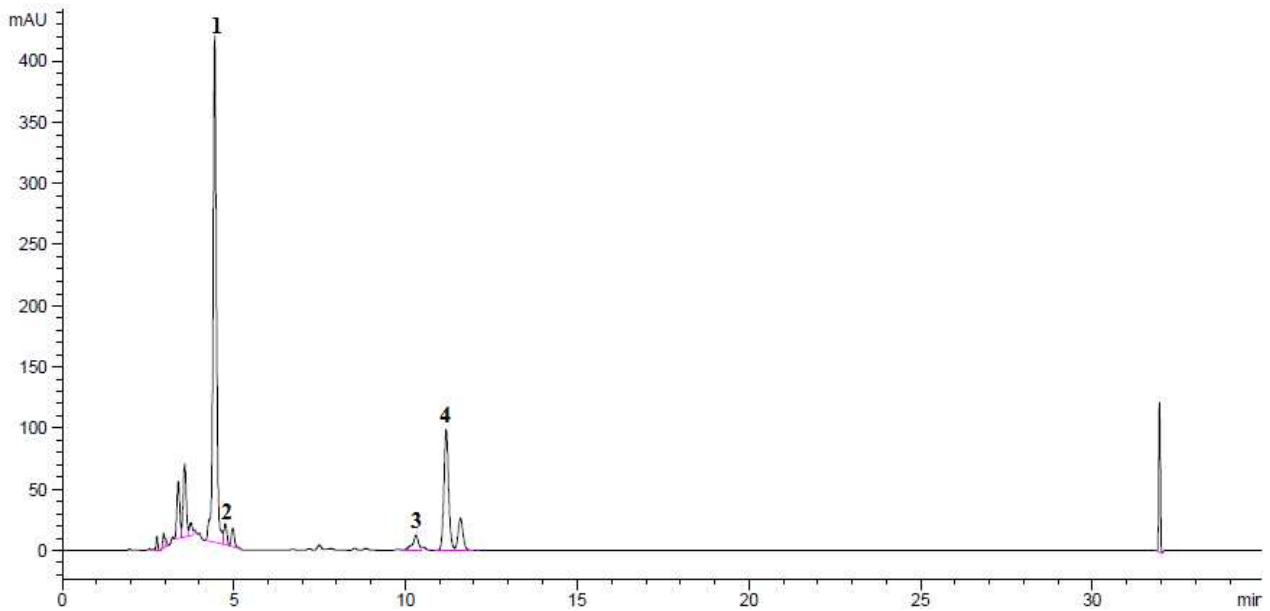


Fig. 24. HPLC chromatogram of carotenoids in Chinese cabbage (제1 협동프로젝트 배추 '20').

Table 26. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage (n=6)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6	7	
1	Lutein	30.73±7.08	35.46±22.02	30.29±3.34	17.45±6.90	4.29±0.86	20.84±17.75	33.49±9.70	
2	Zeaxanthin	0.87±0.14	0.44±0.71	ND ^{a)}	ND	2.30±0.74	ND	ND	
3	α -Carotene	1.82±1.04	1.99±2.30	2.47±0.47	0.98±1.08	1.55±1.22	1.80±1.98	2.98±1.83	
4	β -Carotene	26.42±7.47	29.02±19.71	21.78±1.84	12.80±6.13	18.77±3.36	19.84±18.39	25.62±9.51	
Total		59.84±15.58	66.91±44.64	54.54±5.56	31.23±14.08	26.90±5.72	42.48±38.11	62.10±20.94	
No.	Trivial names	8	9	10	11	12	13	14	
1	Lutein	44.97±10.32	43.04±14.26	28.38±20.70	37.84±7.61	36.08±3.66	9.98±1.14	49.32±10.82	
2	Zeaxanthin	ND	1.12±1.02	ND	1.92±0.64	2.43±0.64	ND	0.38±0.92	
3	α -Carotene	4.77±1.67	3.91±1.73	1.85±2.04	3.65±1.08	2.52±0.31	ND	4.07±1.07	
4	β -Carotene	35.25±10.14	32.04±14.30	18.25±15.91	34.99±9.17	26.01±4.95	5.35±1.47	34.11±10.94	
Total		84.99±22.00	80.11±31.26	48.49±38.51	78.39±18.31	67.04±8.52	15.33±2.58	87.88±23.45	
No.	Trivial names	15	16	17	18	19	20	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	2.55±1.18	11.46±0.88	12.58±13.48	9.70±1.01	37.85±4.99	140.48±64.77	32.12±29.22	49.6
2	Zeaxanthin	2.32±0.90	0.64±0.06	4.12±3.19	ND	1.66±0.39	ND	1.65±1.12	2.6
3	α -Carotene	0.84±0.94	ND	4.66±4.73	ND	3.44±0.34	18.77±10.44	3.67±4.07	5.7
4	β -Carotene	19.68±10.22	6.49±1.03	44.64±34.00	5.99±0.97	28.97±3.50	122.57±52.77	28.61±24.46	44.2
Total		25.39±13.22	18.59±1.86	65.99±55.28	15.69±1.98	71.91±8.98	281.82±127.65	64.77±56.34	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 20계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene)을 검출하였음.
- 20계통 배추의 카로티노이드 함량 범위는 15.33 (13)-281.82 (20) 이었으며, 평균은 64.77 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 50%, 항산화 활성을 지닌 β -carotene이 44%를 차지하였음.

9. 선발된 케일 품종의 기능 검정

가. 선발된 우량 케일 품종의 후대 glucosinolates 성분분석

- 케일은 제 1 협동 프로젝트에서 재배 된 것으로 6 계통 (양배추 3계통), 제 2 협동 프로젝트 38 계통에서의 시료를 받아 글루코시놀레이트와 카로티노이드를 정량 분석 하였다 (모든 시료는 3차년도 과제 평가 지적에 따라 6반복으로 진행하였음).
- 케일 시료는 전체 잎을 크기 순으로 나열한 뒤, 순서에 따라 홀수 잎만 취하여 분석하였 음.
- 양배추 시료는 분석에 필요한 만큼 1/4으로 절단하여 즉시 냉동 후 동결건조하여 기능성 성분 분석을 하였음.



케일 시료 선별



양배추 시료

(1) 제 1 협동 프로젝트

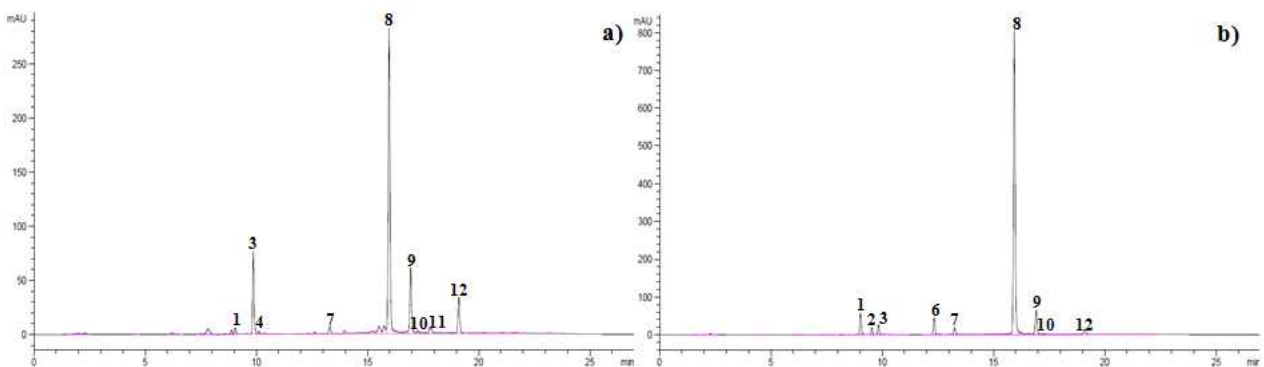


Fig. 25. HPLC chromatograms of glucosinolates in kale ('15 FA 50') and cabbage ('15 FA 52').

Table 27. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in kale and cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	Kale				
		15 FA 50	15 FA 57	15 FA 58	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.12±0.07	0.18±0.04	0.25±0.06	0.19±0.07	4.72
2	Glucoraphanin	ND ^{a)}	0.20±0.03	0.51±0.09	0.35±0.21	9.03
3	Sinigrin	1.63±0.45	ND	ND	1.63	41.49
4	Unknown 1	0.06±0.00	0.06±0.00	0.09±0.04	0.07±0.02	1.73
5	Gluconapoleiferin	ND	ND	ND	ND	ND
6	Gluconapin	ND	ND	ND	ND	ND
7	4-Hydroxyglucobrassicin	0.04±0.02	0.03±0.01	0.11±0.06	0.06±0.04	1.54
8	Glucobrassicin	2.69±0.08	0.80±0.24	1.31±0.05	1.60±0.98	40.69
9	4-Methoxyglucobrassicin	0.59±0.11	0.33±0.06	0.62±0.18	0.51±0.16	13.08
10	Gluconasturtiin	0.10±0.04	ND	ND	0.10	2.47
11	Unknown 2	0.28±0.04	0.17±0.02	0.15±0.05	0.20±0.07	5.02
12	Neoglucobrassicin	0.22±0.01	0.64±0.11	0.62±0.17	0.49±0.24	12.54
Total		5.73±0.43	2.41±0.14	3.65±0.38	3.93±1.68	100.00

No.	Trivial name	Cabbage				
		15 FA 51	15 FA 52	15 FA 60	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	1.64±0.41	1.83±0.33	0.06±0.00	1.18±0.97	12.62
2	Glucoraphanin	0.26±0.10	0.39±0.19	ND	0.32±0.10	3.48
3	Sinigrin	0.21±0.04	0.73±0.16	3.04±0.25	1.33±1.51	14.22
4	Unknown 1	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.00	0.64
5	Gluconapoleiferin	0.10±0.03	ND	ND	0.10	1.11
6	Gluconapin	1.23±0.32	1.49±0.20	ND	1.36±0.18	14.59
7	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.10±0.07	0.07±0.01	0.09±0.02	0.94
8	Glucobrassicin	4.15±0.87	7.64±1.12	3.14±0.11	4.98±2.36	53.39
9	4-Methoxyglucobrassicin	0.34±0.08	0.50±0.09	0.34±0.02	0.39±0.09	4.23
10	Gluconasturtiin	ND	0.07±0.01	ND	0.07	0.76
11	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	ND
12	Neoglucobrassicin	0.25±0.11	0.15±0.05	0.05±0.00	0.15±0.10	1.61
Total		8.23±1.80	12.96±2.06	6.77±0.38	9.32±3.23	100.00

^{a)}ND, not detected.

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 및 양배추 시료 6계통에서는 12종류의 glucosinolate 성분을 분리 (5종류 aliphatic: progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapoleiferin, gluconapin; 4종류 indolyl: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic: gluconasturtiin; 2종류 unknown)하였음.
- 3계통 케일의 glucosinolate 함량 범위는 2.41 (15 FA 57)–5.73 (15 FA 50) 이었으며, 평균은 3.93 $\mu\text{mol/g}$ dry wt. 이었고, 향암효과를 가진다고 알려진 성분인 sinigrin 과 glucobrassicin이 전체 함량의 41.5, 40.7%를 차지하였음.
- 3계통 양배추의 glucosinolate 함량 범위는 6.77 (15 FA 60)–12.96 (15 FA 52) 이었으며, 평균은 9.32 $\mu\text{mol/g}$ dry wt. 이었고, 향암효과를 가진다고 알려진 성분인 glucobrassicin이 전체 함량의 53.4%를 차지하였음.

(2) 제 2 협동 프로젝트

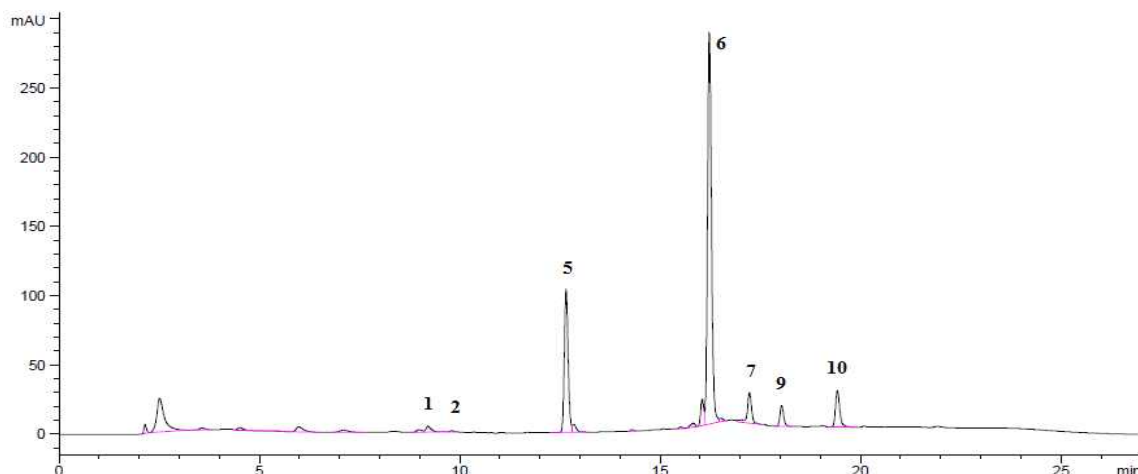


Fig. 26. HPLC chromatograms of glucosinolates in kale.

(제2 협동프로젝트 케일 ‘Kale 82’).

Table 28. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in kale ($n=6$)

No.	Trivial name	Kale 51	Kale 52	Kale 53	Kale 54	Kale 55	Kale 56	Kale 57
1	Progoitrin	ND	0.68±0.05	0.07±0.01	ND	ND	ND	1.01±0.22
2	Glucoraphanin	0.54±0.08	0.27±0.03	0.07±0.01	0.06±0.01	0.03±0.01	0.13±0.06	0.40±0.08
3	Sinigrin	ND	0.36±0.03	0.20±0.03	ND	ND	ND	ND
4	Unknown 1	0.07±0.03	0.08±0.02	0.05±0.03	0.10±0.01	ND	0.02±0.03	0.03±0.01
5	Gluconapin	1.26±0.56	0.71±0.06	1.10±0.50	0.77±0.08	0.13±0.04	0.16±0.06	0.57±0.10
6	Glucobrassicin	2.16±0.12	1.20±0.05	0.56±0.02	0.88±0.07	1.13±0.28	0.99±0.29	2.55±0.44
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.20±0.04	0.16±0.01	0.07±0.01	0.11±0.01	0.20±0.07	0.26±0.24	0.24±0.05
8	Gluconasturtiin	0.09±0.05	0.03±0.00	0.03±0.02	0.02±0.02	ND	0.01±0.01	0.04±0.02
9	Unknown 2	0.03±0.03	0.12±0.03	0.20±0.10	0.07±0.06	0.06±0.12	0.12±0.26	ND
10	Neoglucobrassicin	0.16±0.02	0.19±0.01	0.07±0.02	0.19±0.01	0.20±0.07	0.16±0.06	0.16±0.03
Total		4.51±0.54	3.79±0.20	2.42±0.66	2.17±0.10	1.75±0.57	1.85±0.78	5.01±0.90
No.	Trivial name	Kale 58	Kale 59	Kale 60	Kale 61	Kale 62	Kale 67	Kale 68
1	Progoitrin	0.13±0.01	ND	ND	ND	0.01±0.04	0.07±0.02	0.56±0.03
2	Glucoraphanin	0.06±0.01	0.06±0.01	0.04±0.03	0.03±0.00	0.10±0.10	0.04±0.01	0.06±0.00
3	Sinigrin	ND	ND	ND	0.06±0.00	ND	0.03±0.00	0.01±0.01
4	Unknown 1	0.02±0.01	0.02±0.00	0.08±0.04	ND	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.12±0.03	0.09±0.02	ND	0.09±0.01	0.09±0.11	0.11±0.03	0.13±0.01
6	Glucobrassicin	0.82±0.04	1.01±0.03	0.38±0.12	0.51±0.02	3.04±1.93	0.79±0.04	2.37±0.08
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.11±0.01	0.19±0.01	0.26±0.08	0.11±0.01	0.25±0.35	0.26±0.07	0.21±0.05
8	Gluconasturtiin	0.05±0.01	0.04±0.02	0.04±0.02	0.06±0.01	0.02±0.01	ND	ND
9	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	0.06±0.16	0.34±0.03	0.32±0.03
10	Neoglucobrassicin	0.11±0.01	0.02±0.00	0.02±0.02	0.04±0.00	0.09±0.06	0.06±0.00	0.03±0.00
Total		1.41±0.09	1.44±0.06	0.82±0.20	0.90±0.03	3.83±2.97	1.69±0.09	3.69±0.13

No.	Trivial name	Kale 69	Kale 70	Kale 71	Kale 72	Kale 73	Kale 74	Kale 75
1	Progoitrin	0.10±0.01	ND	0.06±0.03	0.06±0.00	0.12±0.01	0.08±0.03	0.08±0.04
2	Glucoraphanin	0.15±0.01	ND	0.35±0.02	0.05±0.01	0.05±0.00	ND	0.05±0.01
3	Sinigrin	0.04±0.00	ND	ND	ND	0.62±0.03	ND	ND
4	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.14±0.01	0.13±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01	2.91±0.19	0.27±0.03	0.11±0.06
6	Glucobrassicin	0.58±0.05	0.53±0.03	2.64±0.08	2.07±0.05	1.05±0.04	0.90±0.04	1.39±0.22
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.28±0.05	0.13±0.02	0.24±0.01	0.82±0.47	0.29±0.02	0.14±0.00	0.16±0.04
8	Gluconasturtiin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	Unknown 2	0.82±0.18	0.26±0.03	0.20±0.02	0.39±0.07	0.23±0.04	0.02±0.02	0.29±0.07
10	Neoglucobrassicin	0.07±0.01	0.10±0.01	0.34±0.02	0.08±0.00	0.28±0.02	0.02±0.00	0.06±0.01
Total		2.17±0.15	1.14±0.08	3.94±0.10	3.59±0.48	5.55±0.19	1.43±0.05	2.13±0.26

No.	Trivial name	Kale 76	Kale 77	Kale 78	Kale 79	Kale 80	Kale 81	Kale 82
1	Progoitrin	0.11±0.08	0.09±0.01	0.09±0.03	0.09±0.05	0.09±0.02	0.13±0.01	0.16±0.02
2	Glucoraphanin	0.04±0.00	ND	0.10±0.01	0.14±0.02	ND	ND	0.03±0.01
3	Sinigrin	ND	ND	ND	ND	0.19±0.01	ND	ND
4	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.34±0.55	0.10±0.02	0.10±0.01	0.12±0.01	0.09±0.01	0.10±0.02	2.93±0.17
6	Glucobrassicin	1.16±0.05	0.57±0.07	0.72±0.05	2.70±0.06	0.85±0.05	0.86±0.03	2.34±0.18
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.24±0.06	0.14±0.03	0.33±0.05	0.09±0.03	0.23±0.02	0.16±0.02	0.16±0.03
8	Gluconasturtiin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	Unknown 2	0.14±0.03	0.22±0.12	0.12±0.04	0.20±0.04	0.47±0.05	0.26±0.06	0.33±0.07
10	Neoglucobrassicin	0.04±0.01	0.10±0.02	0.03±0.00	0.08±0.01	0.11±0.00	0.12±0.01	0.15±0.01
Total		2.30±1.06	1.22±0.23	1.48±0.13	3.41±0.07	2.03±0.07	1.63±0.09	6.10±0.34

No.	Trivial name	Kale 83	Kale 84	Kale 85	Kale 86	Kale 87	Kale 88	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.17±0.02	0.14±0.04	0.11±0.02	0.77±0.12	0.77±0.05	0.62±0.04	0.17±0.04	6.6
2	Glucoraphanin	0.13±0.03	0.05±0.03	0.38±0.03	ND	ND	0.02±0.03	0.09±0.02	3.5
3	Sinigrin	ND	ND	ND	1.12±0.17	0.71±0.06	1.13±0.09	0.12±0.03	4.6
4	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01±0.01	0.5
5	Gluconapin	1.32±0.16	2.67±0.54	0.08±0.01	0.50±0.08	0.31±0.02	0.85±0.06	0.49±0.16	19.1
6	Glucobrassicin	1.05±0.08	1.32±0.14	1.93±0.06	1.19±0.06	1.39±0.08	1.16±0.04	1.18±0.31	46.1
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.16±0.04	0.17±0.03	0.61±0.02	0.17±0.02	0.09±0.00	0.17±0.03	0.19±0.10	7.6
8	Gluconasturtiin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01±0.01	0.4
9	Unknown 2	0.15±0.03	0.12±0.03	0.22±0.04	0.27±0.06	0.48±0.04	0.44±0.08	0.18±0.06	7.2
10	Neoglucobrassicin	0.06±0.01	0.07±0.01	0.15±0.01	0.19±0.03	0.18±0.01	0.19±0.02	0.10±0.02	4.1
Total		3.04±0.27	4.54±0.73	3.48±0.13	4.21±0.42	3.94±0.26	4.58±0.19	2.56±0.51	100.0

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 38계통에서는 10종류의 glucosinolate 성분을 분리 (4종류 aliphatic GSL: progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin; 3종류 indolyl GSL: glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic GSL: gluconasturtiin; 2종류 unknown) 하였다.
- 38계통 케일의 글루코시놀레이트 함량 범위: 0.82 ('60') ~ 6.10 ('82') → 평균 2.56 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 항암효과를 가진다고 알려진 성분인 glucobrassicin이 전체 함량 대비 46% (1.18 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)를 차지하였고, 쓴맛을 내는 gluconapin이 19% (0.49 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)를 차지함.
- 항암 효과가 있는 glucobrassicin: '79'계통에서 최대 (2.70 $\mu\text{mol/g dry wt.}$), 쓴맛을 내는 gluconapin: '82'계통에서 최대 (2.93 $\mu\text{mol/g dry wt.}$), 갑상선염을 유발하는 progoitrin: '86', '87'계통에서 최대 (0.77 $\mu\text{mol/g dry wt.}$) 값을 나타냄.

나. 선발된 우량 케일 품종의 후대 carotenoids 성분분석

(1) 제 1 협동 프로젝트

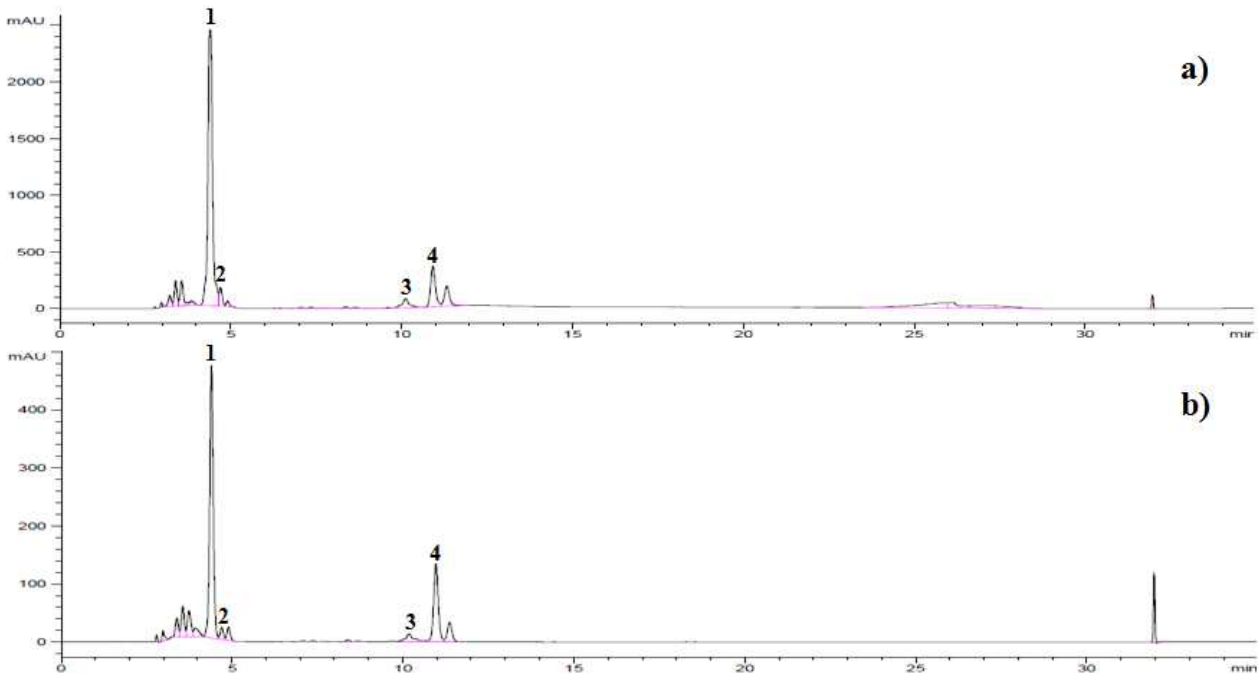


Fig. 27. HPLC chromatogram of carotenoids in kale ('15 FA 50') and cabbage ('15 FA 52').

Table 29. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale and cabbage (n=6)

No.	Trivial name	Kale				
		15 FA 50	15 FA 57	15 FA 58	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	244.00±8.42	315.46±18.03	354.58±48.02	304.68±56.07	50.4
2	Zeaxanthin	10.08±0.97	36.86±21.71	23.88±6.03	23.61±13.39	3.9
3	α-Carotene	39.02±4.92	45.45±7.23	58.28±21.79	47.59±9.81	7.9
4	β-Carotene	213.37±71.20	224.70±50.47	247.92±123.25	228.66±17.61	37.8
Total		506.47±81.48	622.47±57.07	684.66±176.92	604.53±90.44	100.0
No.	Trivial name	Cabbage				
		15 FA 51	15 FA 52	15 FA 60	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	10.74±1.51	59.28±13.70	27.43±5.19	32.48±24.66	48.8
2	Zeaxanthin	0.51±0.07	3.20±0.77	1.07±0.23	1.59±1.42	2.4
3	α-Carotene	2.05±0.42	8.30±2.07	2.65±0.70	4.33±3.45	6.5
4	β-Carotene	10.09±1.86	46.77±11.80	28.16±6.66	28.34±18.34	42.6
Total		22.62±3.95	117.56±27.98	59.32±12.68	66.50±47.87	100.0

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 및 양배추 시료 6계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α-carotene, β-carotene)을 검출하였음.
- 3계통 케일의 카로티노이드 함량 범위는 506.47 (FA 50)-684.66 (FA 58) 이었으며, 평균은 604.53 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 50%, 항산화 활성을 지닌 β-carotene이 38%를 차지함.
- 3계통 양배추의 카로티노이드 함량 범위는 22.62 (FA 51)-117.56 (FA 52) 이었으며, 평균은 66.50 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 49%, 항산화 활성을 지

닌 β -carotene이 43%를 차지함.

(2) 제 2 협동 프로젝트

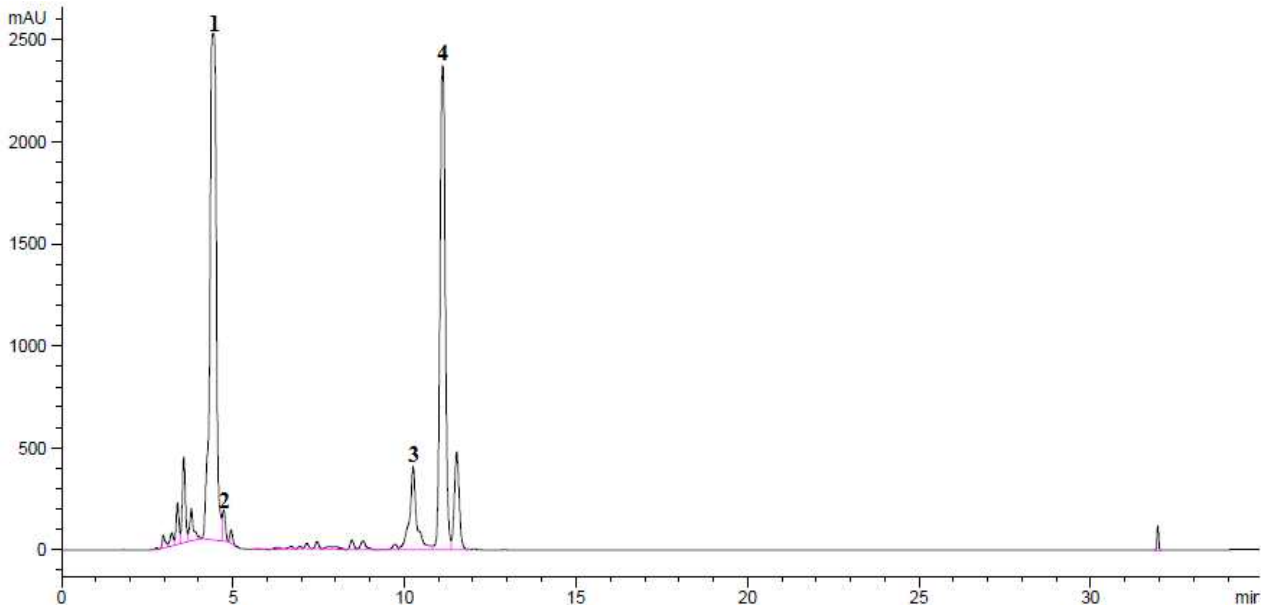


Fig. 28. HPLC chromatogram of carotenoids in kale
(제2 협동프로젝트 케일 ‘Kale 75’).

Table 30. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale

(n=6)

No.	Trivial names	Kale 51	Kale 52	Kale 53	Kale 54	Kale 55	Kale 56
1	Lutein	414.26±70.16	412.53±14.21	384.78±15.58	407.68±9.76	413.21±35.70	433.36±23.49
2	Zeaxanthin	28.30±6.44	23.35±2.39	19.31±1.91	27.81±2.21	19.08±3.84	26.09±3.07
3	α -Carotene	76.88±30.75	77.09±19.90	67.53±13.29	97.86±16.61	75.74±16.94	66.88±24.54
4	β -Carotene	137.64±56.99	113.94±27.64	201.50±114.41	348.70±197.39	230.59±141.41	184.21±56.44
Total		657.08±90.74	626.91±46.47	673.12±135.66	882.05±206.31	738.61±157.79	710.54±59.02
No.	Trivial names	Kale 57	Kale 58	Kale 59	Kale 60	Kale 61	Kale 62
1	Lutein	396.42±35.06	416.41±34.80	425.41±12.24	400.19±14.79	371.28±11.90	439.94±24.34
2	Zeaxanthin	18.63±6.29	24.55±6.05	21.02±2.88	15.42±2.33	16.71±4.26	24.59±3.82
3	α -Carotene	80.57±15.74	80.28±17.88	96.46±20.92	96.38±15.49	51.40±5.79	81.18±34.51
4	β -Carotene	281.58±194.97	280.38±172.90	279.41±164.07	371.94±145.71	189.76±55.67	225.55±117.70
Total		777.21±178.05	801.61±169.30	822.31±161.35	883.93±158.85	629.15±63.09	771.25±168.39
No.	Trivial names	Kale 63	Kale 64	Kale 65	Kale 66	Kale 67	Kale 68
1	Lutein	414.46±9.55	410.90±13.76	379.42±43.15	375.71±6.49	438.78±48.06	327.77±36.79
2	Zeaxanthin	18.36±2.05	14.82±3.45	12.48±3.16	13.53±0.84	19.40±3.53	16.21±1.67
3	α -Carotene	72.18±13.55	75.70±3.90	71.24±6.85	68.00±4.32	99.56±15.73	44.17±10.86
4	β -Carotene	152.28±18.44	435.08±23.30	396.58±11.40	409.51±21.38	482.33±94.90	276.78±33.14
Total		657.28±27.07	936.50±32.31	859.73±61.70	866.75±30.10	1040.07±98.10	664.93±42.10
No.	Trivial names	Kale 69	Kale 70	Kale 71	Kale 72	Kale 73	Kale 74
1	Lutein	372.09±12.05	389.13±10.06	399.34±5.35	395.94±22.18	345.52±14.41	411.43±49.89
2	Zeaxanthin	16.70±2.31	17.40±1.34	14.13±1.45	11.73±1.25	11.98±2.14	10.32±2.78
3	α -Carotene	59.36±7.10	75.98±5.29	101.94±9.13	73.16±7.39	57.38±11.70	85.69±5.45
4	β -Carotene	388.84±52.36	456.09±67.48	537.99±26.45	406.81±37.39	314.19±102.98	379.94±85.40
Total		836.99±61.62	938.60±71.62	1053.40±37.18	887.64±57.98	729.06±93.29	887.39±107.75

No.	Trivial names	Kale 75	Kale 76	Kale 77	Kale 78	Kale 79	Kale 80
1	Lutein	454.08±34.08	433.01±32.11	427.42±14.74	422.79±39.18	416.99±18.69	410.14±31.50
2	Zeaxanthin	18.85±2.44	17.60±2.79	19.17±3.07	17.51±3.36	25.32±2.65	26.86±3.49
3	α -Carotene	134.28±28.10	98.73±17.05	103.92±14.97	82.95±6.86	77.28±29.70	71.34±34.68
4	β -Carotene	554.15±125.12	426.11±164.21	478.79±86.52	360.27±82.99	250.08±120.78	282.89±81.71
Total		1161.36±163.29	975.46±178.56	1029.29±109.73	883.52±97.40	769.67±164.59	791.23±72.72

No.	Trivial names	Kale 81	Kale 82	Kale 83	Kale 84	Kale 85	Kale 86
1	Lutein	397.18±15.63	413.45±8.02	391.57±12.85	387.52±18.36	358.16±13.58	341.07±10.61
2	Zeaxanthin	21.46±5.73	11.23±1.10	9.58±2.32	9.05±2.50	13.45±1.70	10.62±2.15
3	α -Carotene	60.93±11.81	81.54±21.17	88.78±12.23	66.05±4.31	62.41±12.36	65.12±6.56
4	β -Carotene	289.99±125.40	260.34±126.49	356.27±85.56	367.35±20.73	304.27±55.63	348.34±29.11
Total		769.56±129.35	766.56±132.43	846.20±82.52	829.97±39.13	738.29±72.96	765.16±45.45

No.	Trivial names	Kale 87	Kale 88	<i>Ave</i>	<i>Ratio (%)</i>
1	Lutein	341.33±15.10	348.13±9.80	397.56±30.60	48.6
2	Zeaxanthin	9.78±1.63	11.11±1.49	17.46±5.56	2.1
3	α -Carotene	59.93±6.92	66.41±8.88	77.69±17.27	9.5
4	β -Carotene	277.20±57.15	327.40±82.14	325.40±107.14	39.8
Total		688.23±39.53	753.05±89.67	818.41±125.73	100.0

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 시료 38계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α -Carotene, β -Carotene)을 검출함.
- 38계통 케일의 카로티노이드 함량 범위는 626.97 (52)-1161.36 (75) 이었으며, 평균은 818.41 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 49%, 항산화 활성을 지닌 β -Carotene이 40%를 차지함.

■ 5차년도(2015.08-2016.08)

10. 기능성 케일의 후대 검증

가. 선발된 케일 품종의 후대 glucosinolates 물질 분석

- 케일(양배추)은 제 1, 제 2 협동 프로젝트에서 재배 된 것으로, 제 1 협동 프로젝트 양배추 2 계통(2015년 12월 02일), 제 2 협동 프로젝트 33 계통(2015년 11월 10일 수령)의 시료를 받아 글루코시놀레이트와 카로티노이드를 정량 분석 하였음.
- 양배추 시료는 분석에 필요한 만큼 1/4으로 절단하여 즉시 냉동 후 동결건조하여 상기 기능성 성분을 분석함.
- 케일 시료는 전체 잎을 크기순으로 나열한 뒤, 순서에 따라 흡수 잎만 취하여 분석함.



양배추 시료



케일 시료

(1) 제 1 협동 프로젝트

Table 31. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	15 FK 217	15 FK 218	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.33±0.21	0.09±0.10	0.21	0.4
2	Sinigrin	0.09±0.09	ND	0.09	0.2
3	Glucoalyssin	0.15±0.05	0.14±0.03	0.14	0.3
4	Gluconapoleiferin	0.15±0.05	0.14±0.04	0.15	0.3
5	Gluconapin	0.14±0.05	ND	0.07	0.1
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.15±0.09	0.49±0.13	0.32	0.6
7	Glucobrassicinapin	0.28±0.05	0.35±0.13	0.31	0.6
8	Glucoerucin	ND ^{a)}	0.28±0.17	0.28	0.5
9	Glucobrassicin	24.08±13.62	75.46±3.20	49.77	88.8
10	4-Methoxyglucobrassicin	2.00±0.70	5.83±3.61	3.92	7.0
11	Gluconasturtiin	0.09±0.10	ND	0.09	0.2
12	Neoglucobrassicin	0.32±0.13	1.52±0.34	0.92	1.6
Total		27.78±14.86	84.29±7.26	56.04	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 양배추 2계통에서는 12종류의 glucosinolate 성분을 분리 (7종류 aliphatic GSL: progoitrin, sinigrin, glucoalyssin, gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoerucin; 4종류 indolyl GSL: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic GSL: gluconasturtiin)하였다.

○ 양배추의 총 GSL 함량 범위는 27.78 ('FK 217') ~ 84.29 ('FK 218') 이었고, 평균값은 56.04 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 이었고, 기능성 성분으로 알려진 glucobrassicin은 총 GSL 함량 대비 약 89%를 차지하였음.

(2) 제 2 협동 프로젝트

Table 32. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g dry wt.}$) in kale ($n=6$)

No.	Trivial name	101	102	103	104	105	106	107
1	Progoitrin	ND ^{a)}	1.09±0.11	0.60±0.03	0.22±0.10	0.12±0.10	0.53±0.06	0.28±0.03
2	Glucoraphanin	2.52±0.17	0.46±0.08	0.87±0.04	0.30±0.13	0.00±0.00	0.30±0.02	1.31±0.05
3	Sinigrin	0.17±0.02	0.36±0.07	1.16±0.06	0.12±0.06	0.05±0.04	0.09±0.06	0.12±0.04
4	Gluconapin	1.19±0.25	0.95±0.05	0.84±0.09	0.83±0.25	0.81±0.13	0.80±0.07	0.63±0.10
5	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.11±0.04	0.06±0.03	0.40±0.03	0.10±0.02	ND	0.04±0.05	ND
7	Glucobrassicin	9.17±0.33	1.11±0.17	8.35±0.17	3.28±0.36	0.52±0.03	4.11±0.17	11.53±0.17
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.77±0.03	0.49±0.01	0.68±0.01	0.44±0.04	0.19±0.01	0.36±0.01	0.94±0.02
9	Gluconasturtiin	0.18±0.14	0.65±0.12	0.55±0.02	0.58±0.05	0.76±0.08	0.45±0.37	0.46±0.05
10	Neoglucobrassicin	0.44±0.07	1.01±0.06	0.57±0.03	0.85±0.05	0.18±0.03	0.69±0.08	0.16±0.01
Total		14.54±0.73	6.20±0.47	14.03±0.34	6.72±0.89	2.63±0.22	7.38±0.42	15.43±0.31
No.	Trivial name	108	109	110	111	112	113	114
1	Progoitrin	0.28±0.04	0.24±0.07	0.42±0.06	0.40±0.02	0.40±0.07	1.01±0.05	0.15±0.15
2	Glucoraphanin	1.15±0.07	0.21±0.13	0.36±0.01	0.65±0.05	0.42±0.03	0.71±0.07	0.76±0.04
3	Sinigrin	0.09±0.05	0.28±0.15	0.17±0.03	0.22±0.03	0.13±0.03	0.64±0.04	0.04±0.05
4	Gluconapin	0.97±0.17	1.12±0.43	1.34±0.16	1.11±0.24	0.95±0.34	0.45±0.23	0.44±0.21
5	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	0.26±0.03	0.22±0.07	ND	0.07±0.04	0.16±0.03
7	Glucobrassicin	4.56±0.09	2.80±0.13	5.77±0.16	5.39±0.23	3.16±0.20	2.24±0.08	2.74±0.09
8	4-Methoxyglucobrassicin	1.42±0.03	0.57±0.02	0.42±0.01	0.35±0.02	0.36±0.03	0.46±0.01	0.60±0.01
9	Gluconasturtiin	0.78±0.09	1.13±0.20	1.10±0.13	1.06±0.19	0.70±0.06	0.46±0.10	0.87±0.07
10	Neoglucobrassicin	0.18±0.01	0.60±0.07	0.32±0.01	0.38±0.03	0.32±0.04	0.55±0.04	0.49±0.01
Total		9.43±0.24	6.95±0.83	10.16±0.43	9.77±0.61	6.45±0.51	6.58±0.41	6.25±0.39
No.	Trivial name	115	116	117	118	119	120	121
1	Progoitrin	0.25±0.25	0.76±0.07	0.02±0.05	0.30±0.04	0.00±0.00	0.19±0.22	0.15±0.07
2	Glucoraphanin	0.13±0.01	0.09±0.02	0.49±0.03	0.67±0.14	1.37±0.09	0.37±0.01	ND
3	Sinigrin	0.09±0.05	0.04±0.04	0.11±0.00	0.15±0.05	0.00±0.00	0.05±0.07	0.40±0.02
4	Gluconapin	0.79±0.16	0.51±0.17	0.65±0.16	0.77±0.21	0.40±0.25	0.14±0.16	ND
5	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.12±0.04
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.17±0.04	0.20±0.02	0.39±0.03	0.09±0.03	0.03±0.02	0.29±0.02	0.15±0.05
7	Glucobrassicin	3.71±0.04	4.41±0.12	8.20±0.12	2.94±0.28	3.57±0.05	14.14±0.29	1.05±0.05
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.58±0.03	0.15±0.00	0.55±0.02	0.33±0.01	0.30±0.02	2.77±0.06	0.53±0.02
9	Gluconasturtiin	0.96±0.09	0.75±0.05	0.67±0.02	2.57±0.41	0.79±0.20	0.57±0.10	0.01±0.02
10	Neoglucobrassicin	0.46±0.02	0.29±0.02	0.52±0.02	0.54±0.05	0.73±0.07	0.40±0.01	0.61±0.02
Total		7.14±0.37	7.20±0.39	11.61±0.25	8.35±0.96	7.19±0.38	18.92±0.58	4.03±0.17

No.	Trivial name	122	123	124	125	126	127	128
1	Progoitrin	0.25±0.06	0.32±0.27	0.17±0.08	0.24±0.11	0.16±0.09	0.33±0.03	0.70±0.03
2	Glucoraphanin	ND	0.08±0.01	0.01±0.02	0.21±0.01	0.22±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02
3	Sinigrin	0.25±0.07	0.17±0.11	0.13±0.03	0.08±0.04	0.14±0.03	0.12±0.02	0.08±0.06
4	Gluconapin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.08±0.01
5	Unknown 1	0.49±0.05	ND	ND	0.64±0.21	0.80±0.19	0.44±0.06	0.34±0.13
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.21±0.09	0.50±0.74	0.15±0.05	0.29±0.12	0.19±0.09	0.12±0.00	0.21±0.08
7	Glucobrassicin	1.78±0.18	3.46±0.31	2.22±0.07	5.32±0.16	2.15±0.08	4.10±0.16	2.43±0.05
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.27±0.02	0.29±0.03	0.38±0.01	0.33±0.02	0.48±0.01	0.83±0.37	0.49±0.03
9	Gluconasturtiin	0.07±0.00	0.09±0.04	0.07±0.01	0.30±0.02	ND	0.73±1.43	0.07±0.01
10	Neoglucobrassicin	0.34±0.21	0.08±0.02	0.34±0.02	0.20±0.02	0.24±0.03	0.86±0.07	0.57±0.02
Total		3.66±0.43	4.98±1.43	3.46±0.20	7.59±0.32	4.37±0.24	7.63±1.14	5.10±0.24

No.	Trivial name	129	130	131	132	133	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.16±0.03	0.18±0.16	0.39±0.32	2.41±0.15	3.25±0.14	0.48	5.9
2	Glucoraphanin	0.16±0.03	0.23±0.09	0.32±0.10	0.10±0.02	0.10±0.04	0.45	5.4
3	Sinigrin	0.13±0.06	0.09±0.08	0.13±0.06	3.71±0.28	2.32±0.10	0.36	4.3
4	Gluconapin	7.77±0.78	2.18±1.54	1.07±1.56	2.36±0.19	2.45±0.11	0.96	11.6
5	Unknown 1	0.42±0.13	0.50±0.17	0.67±0.33	0.69±0.31	0.37±0.18	0.20	2.4
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.06±0.03	0.08±0.07	0.03±0.04	ND	0.01±0.01	0.14	1.7
7	Glucobrassicin	3.86±0.19	0.72±0.08	0.80±0.14	2.47±0.20	4.27±0.13	4.13	50.0
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.59±0.03	0.36±0.10	0.51±0.13	0.59±0.03	0.70±0.02	0.58	7.0
9	Gluconasturtiin	0.07±0.01	ND	ND	0.06±0.01	0.11±0.01	0.53	6.5
10	Neoglucobrassicin	0.35±0.03	0.16±0.03	0.19±0.04	0.22±0.01	0.51±0.02	0.43	5.3
Total		13.59±1.10	4.49±1.35	4.11±1.43	12.61±1.02	14.09±0.46	8.26	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 2 협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 33계통에서는 10종류의 glucosinolate 성분을 분리 (4 종류 aliphatic GSL: progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin; 4종류 indolyl GSL: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic GSL: gluconasturtiin; 1종류 unknown)하였다.
- 33계통 케일의 글루코시놀레이트 함량 범위: 2.63 ('105') ~ 18.92 ('120') → 평균 8.26 $\mu\text{mol/g}$ dry wt. 향암효과를 가진다고 알려진 성분인 glucobrassicin이 전체 함량 대비 50% (4.13 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)를 차지하였고, 쓴맛을 내는 gluconapin이 12% (0.96 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)를 차지하였다.
- 향암 효과가 있는 glucobrassicin: '120'계통에서 최대 (14.14 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.), 쓴맛을 내는 gluconapin: '129계통에서 최대 (7.77 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.), 갑상선염을 유발하는 progoitrin: '133' 계통에서 최대 (3.25 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.) 값을 나타냈다.

나. 선발된 케일 품종의 후대 carotenoids 물질 분석

(1) 제 1 협동 프로젝트

Table 33. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in cabbage (n=6)

No.	Trivial names	FK 217	FK 218
1	Lutein	16.13±1.52	150.86±80.10
2	Zeaxanthin	ND	4.76±5.23
3	α -Carotene	ND	3.20±3.54
4	β -Carotene	ND	107.48±50.92
Total		16.13±1.52	266.31±139.52

^{a)}ND, not detected.

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 양배추 2계통의 카로티노이드 함량은 각 16.13 (‘FK 217’), 266.31 (‘FK 218’)이었으며, ‘FK 217’ 에서는 lutein만 검출되었음.
- ‘FK 218’ 계통에서는 사람의 눈 건강에 좋은 lutein이 전체의 약 57%, 항산화 활성이 뛰어난 β -carotene이 40%를 차지하였다.

(2) 제 2 협동 프로젝트

Table 34. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale (n=6)

No.	Trivial names	Kale 101	Kale 102	Kale 103	Kale 104	Kale 105
1	Lutein	518.25±21.89	512.17±19.64	518.59±104.74	553.75±26.42	629.78±197.56
2	Zeaxanthin	41.67±3.55	29.70±5.12	21.13±11.09	17.47±7.63	15.50±8.06
3	α -Carotene	31.05±2.51	30.79±13.20	25.40±7.75	29.33±3.96	25.97±8.48
4	β -Carotene	459.97±46.56	449.74±172.65	331.11±230.11	332.84±164.18	246.61±167.55
Total		1050.94±59.54	1022.40±200.09	896.23±289.74	933.39±188.63	917.86±270.96
No.	Trivial names	Kale 106	Kale 107	Kale 108	Kale 109	Kale 110
1	Lutein	536.10±47.34	610.75±50.14	561.48±17.49	598.70±269.05	576.54±67.49
2	Zeaxanthin	15.56±6.23	24.34±6.73	35.59±7.09	21.68±6.89	28.88±7.01
3	α -Carotene	20.43±3.22	21.57±4.92	23.08±2.97	22.94±5.91	37.47±12.35
4	β -Carotene	292.55±150.15	279.51±135.12	302.31±125.37	251.00±182.26	363.60±292.55
Total		864.65±152.53	936.18±103.99	922.47±131.80	894.32±315.44	1006.50±359.45
No.	Trivial names	Kale 111	Kale 112	Kale 113	Kale 114	Kale 115
1	Lutein	580.82±18.00	662.24±10.69	593.63±69.90	589.23±12.94	563.50±19.58
2	Zeaxanthin	38.67±3.28	34.56±2.76	22.31±3.71	23.39±2.80	37.93±4.85
3	α -Carotene	28.44±2.37	40.47±4.73	27.16±4.60	25.82±2.43	35.98±1.86
4	β -Carotene	450.46±33.53	610.02±28.98	466.81±196.84	507.34±24.45	584.04±32.21
Total		1098.38±53.47	1347.29±30.54	1109.92±266.05	1145.79±33.32	1221.45±55.26
No.	Trivial names	Kale 116	Kale 117	Kale 118	Kale 119	Kale 120
1	Lutein	351.96±17.10	583.69±12.05	515.43±15.63	648.27±104.72	545.86±39.29
2	Zeaxanthin	15.15±1.37	23.25±0.61	18.54±1.36	37.47±26.75	23.27±3.46
3	α -Carotene	10.63±0.82	30.44±2.69	20.97±1.91	27.86±13.94	21.21±6.52
4	β -Carotene	204.59±12.52	462.55±123.85	393.83±20.89	400.44±183.18	262.62±81.75
Total		582.33±28.67	1099.93±134.66	948.75±38.60	1114.04±122.43	852.96±123.08
No.	Trivial names	Kale 121	Kale 122	Kale 123	Kale 124	Kale 125
1	Lutein	539.08±105.38	559.46±80.63	655.10±28.32	586.43±57.96	594.74±67.38
2	Zeaxanthin	12.82±4.29	11.00±4.54	50.35±13.94	21.18±9.23	21.83±1.92
3	α -Carotene	24.03±7.22	26.00±11.29	35.07±5.98	26.22±3.32	25.85±3.08
4	β -Carotene	267.97±123.83	416.18±223.32	388.45±194.84	446.77±48.29	445.07±168.00
Total		843.90±205.41	1012.63±302.05	1128.97±193.09	1080.59±103.50	1087.48±234.33
No.	Trivial names	Kale 126	Kale 127	Kale 128	Kale 129	Kale 130
1	Lutein	590.99±56.18	492.28±56.88	489.89±17.73	580.86±35.00	597.62±30.47
2	Zeaxanthin	26.34±2.71	23.57±2.31	6.55±1.09	11.63±2.12	11.71±2.25
3	α -Carotene	23.90±2.21	21.07±1.20	15.18±2.17	27.18±4.18	22.67±1.53
4	β -Carotene	443.02±15.64	369.83±125.49	340.38±117.56	526.28±56.70	394.07±131.21
Total		1084.25±59.70	906.75±147.54	852.01±115.14	1145.96±97.43	1026.07±101.86
No.	Trivial names	Kale 131	Kale 132	Kale 133	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	528.32±23.77	525.80±52.90	567.19±45.05	531.45±139.36	51.64
2	Zeaxanthin	18.85±2.36	12.62±3.35	10.11±1.84	23.34±10.11	2.27
3	α -Carotene	20.94±2.42	17.52±7.79	22.19±6.47	49.67±99.37	4.83
4	β -Carotene	370.35±62.78	344.97±161.90	300.90±244.52	424.78±189.31	41.27
Total		938.45±89.31	900.91±219.26	900.40±265.15	1029.25±141.10	100.0

○ 제 2 협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 케일 시료 33계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene)을 검출함.

○ 33계통 케일의 카로티노이드 함량 범위는 582.33 ('116') - 1,347.29 ('112') 이었으며, 평균은 1,029.25 mg/kg dry wt. 이었고, 사람의 눈에 이로운 작용을 하는 lutein이 전체의 약 25%, 항산화 활성을 지닌 β -carotene이 41%를 차지함.

11. 최적 재배조건에 따른 기능성 물질 조사

가. 식물공장을 통해 재배된 배추/케일 품종의 glucosinolates 함량 조사

○ 배추 및 케일은 제 3 세부 프로젝트에서 재배 된 것으로, 배추는 '신흥쌈 배추', '잎쌈배'

추', 케일은 '만추콜라드', '에스테케일', '케일 TBC' 품종을 사용하였음.

(1) 광주기, 광량 및 광원에 따른 배추 내 글루코시놀레이트 및 카로티노이드 함량

Purpose	Precision of environment condition for cabbage (intensity, photoperiod, light type)					
	Bed 1	Bed 4	Bed 7	Bed 10	Bed 13	Bed 16
Items	Bed 1	Bed 4	Bed 7	Bed 10	Bed 13	Bed 16
Light source	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Fluorescent
Intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	160	160	160	130	190	160
Photoperiod (on/off hour)	12/12	14/10	16/8	14/10	14/10	14/10
EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Temperature ($^{\circ}\text{C}$) (Day/Night)	26/20	26/20	26/20	26/20	26/20	26/20
Humidity (%) (Day/Night)	55/45	55/45	55/45	55/45	55/45	55/45
CO ₂ (ppm) (Day/Night)	1000/700	1000/700	1000/700	1000/700	1000/700	1000/700

Table 35. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in Chinese cabbage

No.	Trivial name	'아시아 잎쌈배추'					
		Bed1	Bed4	Bed7	Bed10	Bed13	Bed16
1	Progoitrin	0.16±0.03	0.27±0.04	0.25±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01	0.26±0.03
2	Sinigrin	0.12±0.02	0.21±0.03	0.23±0.00	0.21±0.01	0.17±0.02	0.16±0.02
3	Glucoalyssin	ND ^{a)}	0.11±0.01	0.21±0.05	0.17±0.01	ND	ND
4	Gluconapoleiferin	ND	ND	0.11±0.01	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.30±0.02	0.28±0.02	0.16±0.01	0.14±0.01	ND	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.14±0.01	0.14±0.00	0.24±0.03	0.23±0.00	0.08±0.00	0.15±0.00
7	Glucobrassicinapin	ND	0.17±0.01	0.57±0.07	0.21±0.02	ND	ND
8	Glucoerucin	ND	0.08±0.01	0.09±0.03	0.07±0.02	ND	ND
9	Glucobrassicin	1.13±0.06	0.65±0.06	1.03±0.15	1.42±0.01	0.56±0.06	1.36±0.49
10	4-Methoxyglucobrassicin	1.19±0.07	1.23±0.14	1.64±0.20	1.64±0.02	0.67±0.06	2.38±0.35
11	Gluconasturtiin	0.02±0.04	ND	0.07±0.01	0.11±0.01	ND	ND
12	Neoglucobrassicin	0.52±0.40	0.56±0.02	1.15±0.07	0.46±0.01	0.29±0.05	0.44±0.12
Total		3.58±0.23	3.69±0.17	5.74±0.42	4.90±0.06	2.01±0.15	4.76±0.28

No.	Trivial name	'노랑속잎배추'					
		Bed1	Bed4	Bed7	Bed10	Bed13	Bed16
1	Progoitrin	0.22±0.19	ND	0.08±0.13	0.29±0.13	0.25±0.02	0.26±0.02
2	Sinigrin	0.16±0.15	0.09±0.16	0.06±0.11	0.19±0.16	0.25±0.02	0.15±0.02
3	Glucoalyssin	0.09±0.08	ND	ND	0.17±0.01	ND	0.12±0.02
4	Gluconapoleiferin	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.19±0.03	ND	0.05±0.08	0.19±0.01	ND	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	Glucobrassicinapin	0.38±0.07	2.46±0.53	0.16±0.01	0.48±0.14	0.09±0.00	0.16±0.02
8	Glucoerucin	0.15±0.05	0.13±0.22	ND	0.14±0.04	ND	ND
9	Glucobrassicin	0.82±0.17	0.98±0.50	0.80±0.07	0.45±0.00	0.88±0.03	0.53±0.01
10	4-Methoxyglucobrassicin	2.47±0.55	1.40±0.43	0.76±0.07	1.88±0.01	1.21±0.04	1.96±0.02
11	Gluconasturtiin	0.09±0.08	ND	0.04±0.07	0.10±0.01	0.09±0.01	ND
12	Neoglucobrassicin	0.39±0.04	0.16±0.03	0.25±0.05	0.20±0.00	0.24±0.02	0.32±0.03
Total		4.95±0.93	5.21±0.68	2.19±0.42	4.09±0.47	3.01±0.07	3.51±0.10

^{a)}ND, not detected.

- 아시아 잎쌈배추' 에서는 광주기가 16/8일 때 글루코시놀레이트 함량이 가장 높았지만, '노랑속 잎배추' 에서는 함량이 가장 낮았음.
- 상기 결과를 바탕으로, 광주기, 광량, 광원이 글루코시놀레이트 함량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료됨.

Table 36. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage

No.	Trivial name	'아시아 잎쌈배추'					
		Bed1	Bed4	Bed7	Bed10	Bed13	Bed16
1	Lutein	388.17±0.47	358.37±6.53	354.45±19.11	408.80±12.19	379.30±24.24	412.21±37.29
2	Zeaxanthin	27.37±0.81	28.35±1.44	29.00±5.31	33.32±5.39	31.85±3.22	22.78±4.47
3	α -Carotene	18.05±5.85	13.73±5.58	18.77±2.42	15.48±5.32	8.91±1.99	10.31±2.65
4	β -Carotene	182.56±53.43	259.08±60.63	236.73±99.33	278.64±190.24	69.08±15.75	108.72±27.32
Total		616.15±50.14	659.53±68.17	638.94±78.52	736.24±197.52	489.14±35.80	554.02±66.84
No.	Trivial name	'노랑속잎배추'					
		Bed1	Bed4	Bed7	Bed10	Bed13	Bed16
1	Lutein	395.91±7.11	370.32±14.57	413.63±15.45	398.01±22.41	407.16±30.64	393.24±14.98
2	Zeaxanthin	26.35±1.51	25.24±4.85	31.06±4.24	39.10±3.98	36.62±4.89	33.28±3.54
3	α -Carotene	28.13±0.69	15.32±2.96	19.94±2.78	19.68±6.25	17.62±2.99	19.90±8.80
4	β -Carotene	422.30±12.40	172.51±96.65	296.49±38.56	302.84±45.65	223.33±61.12	276.28±27.33
Total		872.70±17.31	583.40±78.97	761.13±31.67	759.62±78.05	684.74±78.90	722.70±48.80

- 배추 내 카로티노이드 함량 또한 광주기, 광량, 광원에 큰 영향을 받지 않는 것으로 사료됨.

(2) 온도, 습도, CO₂ 농도에 따른 배추 내 글루코시놀레이트 및 카로티노이드 함량

Purpose	Precision of environment condition for cabbage (temperature, humidity, CO ₂)				
	Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
Items	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White	Red : Blue : White
Light source					
Intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	160	160	160	160	160
Photoperiod (on/off hour)	14/10	14/10	14/10	14/10	14/10
EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Temperature ($^{\circ}\text{C}$) (Day/Night)	26/20	26/20	26/20	23/20	29/20
Humidity (%) (Day/Night)	55/45	55/45	65/45	55/45	55/45
CO ₂ (ppm) (Day/Night)	1300/700	400/700	1000/700	1000/700	1000/700

Table 37. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in Chinese cabbage

No.	Trivial name	'아시아 잎쌈배추'				
		Room1	Room2	Room3	Room4	Room5
1	Progoitrin	0.21±0.19	0.16±0.03	0.26±0.01	0.24±0.11	0.32±0.03
2	Sinigrin	0.15±0.15	0.12±0.01	0.16±0.00	0.13±0.12	0.22±0.02
3	Glucoalyssin	0.10±0.01	ND	ND	0.22±0.02	0.16±0.02
4	Gluconapoleiferin	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND
5	Gluconapin	0.57±0.05	0.33±0.01	0.30±0.00	0.14±0.00	0.06±0.05
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.13±0.02	0.10±0.01	0.19±0.00	0.28±0.01	0.20±0.01
7	Glucobrassicinapin	0.08±0.07	ND	ND	0.16±0.02	0.07±0.06
8	Glucorucin	0.05±0.04	ND	ND	0.05±0.04	ND
9	Glucobrassicin	0.82±0.22	0.33±0.01	0.70±0.01	1.14±0.02	0.79±0.03
10	4-Methoxyglucobrassicin	1.48±0.36	0.63±0.05	1.33±0.03	2.39±0.07	1.49±0.09
11	Gluconasturtiin	0.81±0.60	ND	ND	0.13±0.01	ND
12	Neoglucobrassicin	0.39±0.07	0.14±0.03	0.29±0.03	0.48±0.01	0.35±0.02
Total		4.80±1.38	1.80±0.14	3.22±0.06	5.40±0.13	3.65±0.25

No.	Trivial name	'노랑속잎배추'				
		Room1	Room2	Room3	Room4	Room5
1	Progoitrin	0.33±0.03	0.34±0.03	0.34±0.01	0.20±0.04	0.09±0.08
2	Sinigrin	0.18±0.04	0.19±0.01	0.20±0.00	0.10±0.08	0.08±0.07
3	Glucoalyssin	0.16±0.01	0.19±0.01	0.13±0.00	ND	ND
4	Gluconapoleiferin	0.06±0.06	0.09±0.01	0.11±0.00	ND	ND
5	Gluconapin	0.27±0.01	1.01±0.05	0.49±0.00	0.33±0.02	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND
7	Glucobrassicinapin	0.97±0.07	2.28±0.17	1.42±0.01	0.78±0.03	ND
8	Glucorucin	0.17±0.03	0.12±0.02	0.11±0.02	ND	ND
9	Glucobrassicin	1.16±0.01	1.65±0.02	1.86±0.01	1.58±0.14	0.55±0.02
10	4-Methoxyglucobrassicin	3.07±0.03	2.67±0.06	3.29±0.01	1.73±0.19	0.97±0.02
11	Gluconasturtiin	0.12±0.03	0.15±0.04	0.31±0.01	0.14±0.01	0.03±0.06
12	Neoglucobrassicin	0.40±0.04	0.66±0.03	0.76±0.01	0.69±0.04	0.25±0.01
Total		6.90±0.02	9.34±0.43	9.01±0.00	5.55±0.37	1.97±0.24

^{a)}ND, not detected.

○ '아시아 잎쌈배추' 는 온도 23/20° C, CO₂ 농도 1000/700 ppm 조건에서 글루코시놀레이트 함량이 가장 높았고, 온도 26/20° C, CO₂ 농도 400/700 ppm에서 가장 낮았음.

- 반면, ‘노랑속잎배추’ 는 온도 26/20° C, CO₂ 농도 400/700 ppm에서 글루코시놀레이트 함량이 가장 높았음.
- 온도, 습도, CO₂ 농도가 글루코시놀레이트 함량에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료됨.

Table 38. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage

No.	Trivial name	'아시아 잎쌈배추'				
		Room1	Room2	Room3	Room4	Room5
1	Lutein	375.97±39.53	324.85±14.64	353.43±12.08	305.87±27.68	343.19±64.66
2	Zeaxanthin	38.94±12.50	23.72±6.11	23.46±2.24	24.27±5.98	31.97±9.62
3	α -Carotene	10.51±2.27	11.86±5.76	6.77±1.46	10.02±0.62	10.66±3.98
4	β -Carotene	98.02±84.74	233.54±119.82	184.76±16.75	199.30±23.06	138.70±84.72
Total		523.44±47.31	593.97±145.89	568.42±12.10	539.46±56.99	524.52±36.05
No.	Trivial name	'노랑속잎배추'				
		Room1	Room2	Room3	Room4	Room5
1	Lutein	335.26±1.73	359.17±3.42	384.80±45.68	339.81±23.87	449.35±37.40
2	Zeaxanthin	26.14±1.51	26.89±1.54	33.02±7.98	26.88±4.32	31.95±5.56
3	α -Carotene	19.10±5.57	21.82±2.44	14.97±10.22	15.92±4.63	20.90±4.51
4	β -Carotene	267.27±20.37	360.73±17.43	101.53±94.55	270.00±56.32	217.40±47.77
Total		647.77±28.64	768.61±20.98	534.31±125.76	652.61±81.74	719.60±88.15

- ‘아시아 잎쌈배추’, ‘노랑속잎배추’ 모두 온도 26/20° C, CO₂ 농도 400/700 ppm에서 카로티노이드 함량이 가장 높았음.
- 그렇지만, ‘아시아 잎쌈배추’ 의 경우 실험구 간 함량차이가 크지 않았음.

(3) 광주기, 광량 및 광원에 따른 케일 내 글루코시놀레이트 및 카로티노이드 함량

Table 39. Glucosinolate contents (μ mol/g dry wt.) in kale

Purpose	Precision of environment condition for kale (intensity, photoperiod, light type)					
Items	Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
Light source	Red : White		Red : White		Fluorescent	Fluorescent
Intensity (μ mol.m ⁻² .s ⁻¹)	130	130	100	160	130	130
Photoperiod (on/off hour)	18/6	14/10	18/6	18/6	14/10	14/10
EC (mS.cm ⁻¹)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Temperature (°C) (Day/Night)	26/14	26/14	26/14	26/14	26/14	26/14
Humidity (%) (Day/Night)	55/65	55/65	55/65	55/65	55/65	55/65
CO ₂ (ppm) (Day/Night)	1600/1300	1600/1300	1600/1300	1600/1300	1600/1300	1600/1300

- ‘만추콜라드’, ‘에스테케일’, ‘케일 TBC’ 세 가지 케일 품종은 광량 130 μ mol · m⁻² · s⁻¹, 광주기 14/10에서 글루코시놀레이트 함량이 가장 높았음.

Table 40. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale

No.	Trivial name	'만추콜라드'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Progoitrin	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	Sinigrin	0.67±0.03	1.11±0.05	0.70±0.02	0.77±0.04	0.75±0.04	ND
3	Unknown 1	2.58±0.44	1.13±0.27	1.21±0.03	1.99±0.49	2.07±1.14	1.27±0.33
4	4-Hydroxyglucobrassicin	9.43±0.90	4.02±0.37	3.50±0.42	9.22±0.42	6.46±0.47	7.27±0.93
5	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	Glucobrassicin	6.00±0.33	15.55±0.80	5.34±0.43	1.15±0.01	1.69±0.05	1.62±0.09
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.22±0.01	0.30±0.01	0.57±0.00	0.33±0.01	0.28±0.02	0.39±0.02
8	Unknown 3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	Neoglucobrassicin	ND	ND	0.04±0.07	ND	ND	ND
Total		18.90±1.52	22.11±0.95	11.37±0.87	13.46±0.95	11.26±1.47	10.55±1.26
No.	Trivial name	'에스테케일'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Progoitrin	1.12±0.03	2.57±0.06	1.75±0.04	1.45±0.06	1.60±0.03	2.11±0.34
2	Sinigrin	1.48±0.05	4.56±0.09	2.54±0.05	1.86±0.07	2.11±0.08	2.49±0.42
3	Unknown 1	3.14±1.68	1.27±0.38	3.79±0.46	2.75±0.64	2.99±0.24	1.83±0.71
4	4-Hydroxyglucobrassicin	9.76±0.91	4.41±0.75	8.95±1.26	7.96±1.16	5.50±0.07	5.45±0.61
5	Unknown 2	0.93±0.04	ND	1.57±0.05	0.87±0.02	ND	0.28±0.48
6	Glucobrassicin	8.26±0.23	25.68±1.78	4.14±0.27	1.12±0.11	2.49±0.02	4.50±0.19
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.81±0.02	0.33±0.02	0.26±0.01	ND	0.43±0.01	0.51±0.02
8	Unknown 3	4.26±0.19	3.25±0.22	11.78±0.40	1.96±0.19	1.96±0.09	4.61±0.52
9	Neoglucobrassicin	0.45±0.06	1.21±0.02	3.00±0.07	0.24±0.01	0.51±0.02	3.78±0.33
Total		30.19±2.61	43.29±2.70	37.79±2.34	18.21±1.40	17.59±0.44	25.55±2.35
No.	Trivial name	'케일 TBC'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Progoitrin	1.02±0.01	1.37±0.02	1.00±0.07	ND	ND	0.89±0.06
2	Sinigrin	1.96±0.03	2.00±0.06	1.73±0.09	1.02±0.04	ND	1.69±0.11
3	Unknown 1	1.26±0.18	1.67±0.68	2.13±0.75	2.23±1.00	3.53±2.48	1.64±0.62
4	4-Hydroxyglucobrassicin	5.75±0.09	8.30±0.44	3.65±0.05	6.12±1.04	5.97±0.43	7.48±0.75
5	Unknown 2	ND	ND	0.64±0.02	0.50±0.43	0.78±0.07	1.71±0.07
6	Glucobrassicin	6.33±0.16	9.19±0.17	1.91±0.06	1.45±0.12	1.71±0.04	1.58±0.08
7	4-Methoxyglucobrassicin	ND	0.24±0.01	ND	ND	ND	ND
8	Unknown 3	2.23±0.06	1.88±0.15	3.35±0.16	1.86±0.16	3.80±0.30	9.15±0.47
9	Neoglucobrassicin	0.24±0.01	0.28±0.00	0.68±0.01	0.25±0.02	0.42±0.01	0.64±0.05
Total		18.99±0.47	24.93±0.86	15.11±1.01	13.43±1.60	16.21±2.62	24.77±1.40

^{a)}ND, not detected.

- 케일의 경우 광주기, 광량 및 광원에 따라 카로티노이드 함량은 경향성이 없음.
- '케일 TBC' 를 제외한 두 가지 품종에서는 형광등 광원에서 비교적 높은 함량을 나타냄.

No.	Trivial name	'만추콜라드'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Lutein	455.41±5.39	397.51±75.77	347.62±6.39	435.22±52.41	445.79±8.64	480.61±7.42
2	Zeaxanthin	31.22±0.45	39.82±19.25	41.03±9.60	55.05±19.55	73.35±1.89	33.91±4.95
3	α -Carotene	35.77±2.78	31.38±16.53	19.93±11.57	32.77±3.98	33.81±0.06	37.84±0.17
4	β -Carotene	504.58±94.27	504.29±104.92	151.92±27.54	467.52±23.43	491.99±46.13	587.65±6.69
Total		1026.98±102.89	973.00±216.47	560.51±31.96	990.56±99.37	1044.94±56.73	1140.01±18.89
No.	Trivial name	'에스테케일'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Lutein	457.57±79.34	542.00±14.97	561.82±34.58	508.54±9.06	533.82±18.29	553.71±4.51
2	Zeaxanthin	11.34±6.14	99.89±9.51	68.42±14.65	25.79±2.28	55.84±5.03	56.25±0.80
3	α -Carotene	31.36±0.23	33.47±4.17	32.78±2.50	22.91±10.76	31.93±0.78	32.65±0.19
4	β -Carotene	237.30±159.05	423.66±18.86	319.01±145.00	311.44±212.38	521.84±35.08	500.53±139.14
Total		737.57±244.76	1099.02±47.52	982.03±93.27	868.67±229.92	1143.43±12.54	1143.14±133.64
No.	Trivial name	'케일 TBC'					
		Bed 19	Bed 20	Bed 21	Bed 22	Bed 23	Bed 24
1	Lutein	458.32±12.89	422.42±20.33	351.75±92.18	425.91±18.60	416.24±9.94	391.80±0.20
2	Zeaxanthin	46.00±8.44	11.87±1.23	10.51±1.91	13.20±1.83	16.40±1.19	28.38±0.66
3	α -Carotene	19.44±3.72	22.08±12.10	14.51±4.50	26.70±3.59	20.73±5.16	20.10±2.61
4	β -Carotene	346.99±46.65	310.46±228.72	266.29±113.62	378.69±35.92	327.04±26.67	329.49±22.68
Total		870.76±21.60	766.83±262.38	643.05±212.22	844.50±59.94	780.40±10.39	769.77±24.82

(4) 온도, 습도, CO₂ 농도에 따른 케일 내 글루코시놀레이트 및 카로티노이드 함량

Purpose	Precision of environment condition for kale (temperature, humidity, CO ₂)				
Items	Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
Light source	Red : White	Red : White	Red : White	Red : White	Red : White
Intensity ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	130	130	130	130	130
Photoperiod (on/off hour)	18/6	18/6	18/6	18/6	18/6
EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Temperature ($^{\circ}\text{C}$) (Day/Night)	26/14	26/14	26/14	23/14	29/14
Humidity (%) (Day/Night)	55/65	55/65	45/65	55/65	55/65
CO ₂ (ppm) (Day/Night)	1600/1300	1000/1300	1600/1300	1600/1300	1600/1300

Table 41. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in kale

No.	Trivial name	'만추콜라드'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Progoitrin	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND
2	Sinigrin	0.89±0.02	1.14±0.07	1.20±0.18	1.09±0.16	1.61±0.31
3	Unknown 1	6.84±0.85	4.42±0.75	1.95±0.55	3.37±0.80	4.64±0.36
4	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND
5	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	ND
6	Glucobrassicin	9.84±0.74	10.70±0.16	2.28±0.01	3.69±0.08	3.42±0.08
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.30±0.01	0.41±0.00	0.37±0.00	0.31±0.01	0.48±0.13
8	Unknown 3	ND	ND	ND	ND	ND
9	Neoglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND
Total		17.87±1.06	16.67±0.87	5.80±0.50	8.47±0.96	10.15±0.73
No.	Trivial name	'에스테케일'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Progoitrin	1.33±0.03	1.45±0.03	1.44±0.03	2.75±0.05	2.09±0.29
2	Sinigrin	4.30±0.08	3.75±0.02	3.39±0.05	5.66±0.08	6.53±0.73
3	Unknown 1	0.74±0.64	1.19±0.01	0.33±0.57	0.00±0.00	0.44±0.76
4	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND
5	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	ND
6	Glucobrassicin	28.57±0.62	28.26±0.20	5.30±0.08	8.25±0.03	10.50±0.50
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.39±0.01	0.33±0.02	0.26±0.03	0.30±0.00	0.29±0.01
8	Unknown 3	ND	ND	ND	ND	ND
9	Neoglucobrassicin	0.98±0.58	0.92±0.02	1.15±0.05	3.45±0.13	1.37±0.27
Total		36.31±1.29	35.90±0.20	11.87±0.64	20.42±0.25	21.22±2.54
No.	Trivial name	'케일 TBC'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Progoitrin	2.35±0.22	1.13±0.02	0.81±0.08	2.66±0.04	1.50±0.22
2	Sinigrin	4.81±0.39	3.14±0.04	2.49±0.22	5.01±0.08	3.68±0.49
3	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND
4	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	ND	ND	ND	ND
5	Unknown 2	ND	ND	ND	ND	ND
6	Glucobrassicin	34.81±1.30	25.42±1.38	6.11±0.62	7.14±0.58	6.78±0.31
7	4-Methoxyglucobrassicin	0.42±0.05	0.35±0.00	0.30±0.03	0.27±0.06	0.32±0.02
8	Unknown 3	ND	ND	ND	ND	ND
9	Neoglucobrassicin	1.62±0.25	0.71±0.05	1.59±0.13	4.10±0.07	1.78±0.26
Total		44.00±1.78	30.75±1.43	11.30±1.07	19.18±0.69	14.05±1.20

^{a)}ND, not detected.

- 세 가지 케일 품종 모두 26/14° C, CO₂ 농도 1600/1300 ppm, 습도 55/65% 조건에서 글루코시놀레이트 함량이 가장 높았으며, 습도 45/65% 조건에서 글루코시놀레이트 함량이 가장 낮았음.
- 케일 재배 중 습도가 글루코시놀레이트 함량에 영향을 미친 것으로 사료됨.

Table 42. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale

No.	Trivial name	'만추콜라드'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Lutein	402.92±8.74	459.20±34.23	517.78±23.09	511.75±0.83	523.90±18.35
2	Zeaxanthin	40.26±0.48	32.48±23.08	112.94±15.50	113.45±0.93	136.11±59.01
3	α-Carotene	41.62±8.97	19.50±10.02	52.36±2.31	39.54±3.02	37.19±7.69
4	β-Carotene	522.32±18.16	180.04±72.18	629.34±42.21	553.89±26.62	169.14±70.17
Total		1007.12±36.36	691.22±4.85	1312.42±78.50	1218.64±31.40	866.33±14.88
No.	Trivial name	'에스테케일'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Lutein	492.17±8.55	458.30±15.09	416.41±21.74	428.26±7.60	450.40±1.89
2	Zeaxanthin	78.93±1.18	86.77±8.45	50.64±4.84	27.67±14.72	57.17±5.75
3	α-Carotene	26.69±0.18	37.58±2.52	26.21±2.34	30.74±3.81	35.50±3.67
4	β-Carotene	447.95±8.82	517.44±7.09	466.56±18.69	311.69±116.18	408.07±189.06
Total		1045.73±18.37	1100.09±33.15	959.82±5.55	798.36±134.69	951.15±196.60
No.	Trivial name	'케일 TBC'				
		Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
1	Lutein	396.15±159.41	520.68±14.80	508.29±12.69	411.63±108.42	460.94±9.47
2	Zeaxanthin	46.09±34.58	26.67±0.09	17.18±0.16	30.34±14.24	25.76±1.34
3	α-Carotene	34.83±5.55	36.73±1.21	48.28±0.09	14.39±7.86	31.19±2.01
4	β-Carotene	537.57±70.47	600.37±69.03	400.74±333.76	197.04±71.88	500.07±26.26
Total		1014.65±258.92	1184.44±84.95	974.48±320.82	653.40±202.40	1017.96±39.09

- '에스테케일', '케일 TBC' 품종에서는 26/14° C, CO₂ 농도 1000/1300 ppm, 습도 55/65% 조건에서 카로티노이드 함량이 가장 높고, 23/14° C, CO₂ 농도 1600/1300 ppm, 습도 55/65% 조건에서 가장 낮았으므로, CO₂ 농도에 영향을 받은 것으로 사료됨.
- '만추콜라드' 품종의 경우, 26/14° C, CO₂ 농도 1600/1300 ppm, 습도 45/65% 조건에서 가장 높았고, 다른 두 품종과 반대로 26/14° C, CO₂ 농도 1000/1300 ppm, 습도 55/65% 조건에서 가장 함량이 낮았음.

11. 기능성 배추의 후대 검증 (5차년도 추가 실험)

가. 선발된 배추 품종의 후대 glucosinolates 물질 분석

- 배추는 제 1, 제 2 협동 프로젝트에서 재배 된 것으로, 제 1협동 프로젝트 배추 16 계통(2015년 12월 02일), 제 2 협동 프로젝트 20 계통(2015년 11월 10일 수령)의 시료를 받아 글루코시놀레이트와 카로티노이드를 정량 분석 하였음.
- 배추 시료는 분석에 필요한 만큼 크기에 따라 1/8 또는 1/16으로 절단하여 즉시 냉동 후 동결건조하여 수행하였음.



제 1 협동 프로젝트 배추

제 2 협동 프로젝트 배추

(1) 제 1협동 프로젝트

Table 43. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	15 FK 10	15 FK 31	15 FK 46	15 FK 59	15 FK 60	15 FK 80
1	Progoitrin	0.84±0.45	0.66±0.02	0.88±0.32	0.54±0.06	3.64±0.21	1.73±0.17
2	Sinigrin	ND ^{a)}	0.31±0.03	0.44±0.23	0.23±0.03	0.39±0.07	0.38±0.03
3	Glucoalyssin	0.05±0.07	0.36±0.02	0.18±0.08	0.48±0.09	0.78±0.08	0.33±0.04
4	Gluconapoleiferin	0.32±0.31	0.16±0.01	0.25±0.08	0.08±0.01	0.77±0.19	0.63±0.12
5	Gluconapin	0.75±0.31	0.82±0.04	1.80±1.09	16.15±4.60	1.10±0.31	0.63±0.03
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.04±0.01	0.06±0.02	0.30±0.10	0.38±0.11	0.26±0.02
7	Glucobrassicinapin	1.23±0.66	1.47±0.06	3.67±2.11	19.05±1.13	2.08±0.66	2.02±0.24
8	Glucorucin	ND	0.26±0.00	0.04±0.06	0.19±0.02	1.43±0.49	0.24±0.03
9	Glucobrassicin	0.55±0.22	1.51±0.02	2.40±1.98	5.56±0.32	7.19±0.90	4.55±0.43
10	4-Methoxyglucobrassicin	5.58±0.53	10.92±0.12	5.56±1.40	7.85±0.36	9.23±0.24	13.06±1.01
11	Gluconasturtiin	0.32±0.08	ND	0.60±0.32	2.77±0.17	5.30±0.18	0.24±0.60
12	Neoglucobrassicin	0.65±0.15	0.17±0.00	1.92±1.48	1.51±0.11	1.31±0.04	0.68±0.19
Total		10.28±1.24	16.68±0.27	17.81±8.90	54.70±6.42	33.58±0.57	24.76±2.48

No.	Trivial name	15 FK 88	15 FK 96	15 FK 97	15 FK 98	15 FK 99	15 FK 107
1	Progoitrin	1.82±0.49	1.27±0.55	1.48±0.71	1.33±0.47	1.57±0.48	0.36±0.11
2	Sinigrin	0.50±0.02	0.13±0.08	0.15±0.08	0.26±0.05	0.32±0.11	0.14±0.11
3	Glucoalyssin	0.50±0.16	0.55±0.34	0.32±0.11	0.60±0.17	0.54±0.04	0.35±0.04
4	Gluconapoleiferin	0.33±0.03	0.10±0.02	0.56±0.22	0.28±0.13	0.58±0.31	0.09±0.02
5	Gluconapin	0.44±0.22	1.33±0.42	0.42±0.06	1.28±0.02	2.14±0.53	0.46±0.02
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.11±0.01	0.71±0.05	0.14±0.06	0.16±0.12	0.04±0.03	0.11±0.03
7	Glucobrassicinapin	1.49±0.32	1.24±0.42	1.95±0.31	2.97±0.63	7.97±0.15	1.12±0.04
8	Glucoerucin	0.28±0.03	0.07±0.02	0.20±0.02	0.25±0.05	0.22±0.08	0.11±0.02
9	Glucobrassicin	4.64±2.37	2.51±0.59	1.79±0.36	2.56±1.63	1.87±0.41	10.53±4.74
10	4-Methoxyglucobrassicin	2.92±0.18	3.98±1.06	7.30±1.04	8.67±1.78	5.34±0.83	4.90±0.24
11	Gluconasturtiin	0.26±0.10	1.23±0.29	0.67±0.21	1.13±0.66	1.75±0.10	0.49±0.13
12	Neoglucobrassicin	0.95±0.41	5.43±0.86	1.52±0.28	2.63±1.42	2.11±1.14	0.60±0.09
Total		14.22±4.16	18.55±4.54	16.49±0.49	22.11±6.97	24.46±1.93	19.26±4.94
No.	Trivial name	15 FK 126	15 FK 133	15 FK 171	15 FK 233	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	1.60±0.11	1.12±0.33	1.01±0.12	2.02±0.60	1.37	6.4
2	Sinigrin	0.20±0.10	0.20±0.23	0.22±0.17	0.25±0.04	0.27	1.3
3	Glucoalyssin	0.23±0.03	0.38±0.12	0.35±0.06	0.55±0.22	0.41	1.9
4	Gluconapoleiferin	0.57±0.09	0.21±0.07	0.68±0.16	0.52±0.12	0.38	1.8
5	Gluconapin	0.66±0.10	0.71±0.04	0.66±0.21	0.86±0.23	1.89	8.8
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.07±0.06	0.08±0.05	0.04±0.01	0.15±0.02	0.18	0.8
7	Glucobrassicinapin	2.64±0.27	1.73±0.29	3.40±0.51	2.29±0.48	3.52	16.4
8	Glucoerucin	0.25±0.06	0.26±0.03	0.19±0.07	0.17±0.09	0.28	1.3
9	Glucobrassicin	2.38±0.24	1.66±0.70	0.96±0.14	1.43±0.91	3.26	15.2
10	4-Methoxyglucobrassicin	9.31±2.88	6.74±1.07	3.77±0.51	6.15±2.74	6.96	32.4
11	Gluconasturtiin	0.75±0.10	0.66±0.46	0.68±0.13	1.86±0.82	1.25	5.8
12	Neoglucobrassicin	3.30±0.27	2.58±1.02	0.79±0.35	1.46±1.21	1.73	8.0
Total		21.96±2.77	16.32±4.03	12.76±0.34	17.70±7.37	21.48	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 1협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 16계통에서는 12종류의 glucosinolate 성분을 분리 (7종류 aliphatic GSL: progoitrin, sinigrin, glucoalyssin, gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoerucin, ; 4종류 indolyl GSL: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic GSL: gluconasturtiin)하였음.
- 총 GSL 함량 범위는 10.28 ('FK 10') ~ 54.70 ('FK 59')으로 평균값은 21.35 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 이었다. 배추 내 GSL 성분 중 항암효과가 뛰어난 glucobrassicin이 총 GSL 함량 대비 약 15% (3.26 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)를 차지하였고, 'FK 60' 계통에서 최대값인 7.19 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 이었음.
- Gluconasturtiin은 약 6% (1.25 $\mu\text{mol/g dry wt.}$)로 'FK 60' 계통에서 최대값인 5.30 $\mu\text{mol/g dry wt.}$ 이었다.
- 배추의 쓴맛 성분인 gluconapin과 glucobrassicinapin이 총 GSL 함량 대비 각각 8.8와 16.5%를 차지하였고, 4-methoxyglucobrassicin이 전체 함량의 32%를 차지하였음.

(2) 제 2협동 프로젝트

Table 44. Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	1	2	3	4	5	6	7
1	Progoitrin	0.86±0.17	0.21±0.08	1.12±0.26	1.39±0.20	1.98±0.66	0.64±0.06	0.25±0.13
2	Unknown 1	0.02±0.01	0.04±0.03	0.03±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.13±0.02
3	Glucoalyssin	0.44±0.12	0.33±0.04	0.36±0.06	0.24±0.06	0.35±0.09	0.42±0.02	0.43±0.13
4	Gluconapoleiferin	0.12±0.01	0.01±0.00	0.25±0.07	0.15±0.04	0.27±0.06	0.05±0.00	ND ^{a)}
5	Gluconapin	0.89±0.35	2.63±0.24	0.40±0.12	1.82±0.27	1.30±0.43	4.40±0.27	1.79±0.71
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.02	0.00±0.00	0.03±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	ND
7	Glucobrassicinapin	1.73±0.61	3.24±0.19	1.16±0.40	2.06±0.06	2.01±0.57	3.97±0.44	3.58±1.24
8	Glucobrassicin	0.55±0.17	0.81±0.10	0.97±0.26	0.35±0.38	0.73±0.17	0.69±0.25	0.85±0.24
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.29±0.33	1.52±0.12	2.06±0.32	1.83±0.17	2.08±0.29	1.37±0.11	2.02±0.52
10	Glucoberteroiin	0.16±0.00	0.17±0.11	0.30±0.15	0.13±0.13	0.45±0.26	0.16±0.15	0.41±0.14
11	Gluconasturtiin	0.22±0.23	0.45±0.15	0.75±0.43	0.27±0.10	0.37±0.40	0.34±0.13	0.47±0.13
12	Neoglucobrassicin	0.05±0.01	0.07±0.01	0.28±0.07	0.09±0.00	0.13±0.02	0.14±0.07	0.31±0.15
Total		6.35±1.99	9.47±0.43	7.71±1.79	8.41±0.46	9.76±2.51	12.25±0.50	10.24±2.17

No.	Trivial name	8	9	10	11	12	13	14
1	Progoitrin	0.84±0.41	0.37±0.11	0.93±0.18	0.43±0.14	0.27±0.04	1.13±0.46	1.03±0.21
2	Unknown 1	0.14±0.02	0.18±0.05	0.14±0.04	0.12±0.01	0.15±0.02	0.15±0.03	0.15±0.01
3	Glucoalyssin	0.47±0.06	0.53±0.20	0.41±0.06	0.19±0.04	0.22±0.06	0.37±0.03	0.13±0.02
4	Gluconapoleiferin	0.18±0.08	0.09±0.00	0.40±0.08	0.28±0.08	ND	0.16±0.09	0.30±0.04
5	Gluconapin	1.13±0.26	1.14±0.19	0.40±0.03	0.18±0.03	0.58±0.04	1.40±0.06	0.84±0.25
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.04	0.02	0.04±0.00	ND	ND	0.03±0.00	0.06±0.03
7	Glucobrassicinapin	2.10±0.25	1.41±0.20	1.64±0.21	0.91±0.23	0.85±0.01	1.87±0.39	3.12±0.85
8	Glucobrassicin	0.47±0.12	0.23±0.06	0.61±0.15	0.40±0.08	0.50±0.08	0.37±0.10	0.98±0.17
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.90±0.50	1.90±0.34	1.91±0.20	1.08±0.06	1.71±0.22	1.42±0.14	2.33±0.27
10	Glucoberteroiin	0.37±0.10	0.34±0.10	0.39±0.15	0.15±0.01	0.12±0.04	0.41±0.08	ND
11	Gluconasturtiin	0.46±0.17	0.34±0.11	0.30±0.07	0.40±0.13	0.18±0.09	0.40±0.11	0.39±0.10
12	Neoglucobrassicin	0.13±0.01	0.09±0.03	0.33±0.04	0.10±0.01	0.09±0.02	0.06±0.03	0.07±0.01
Total		8.23±1.44	6.64±1.09	7.52±0.71	4.25±0.76	4.67±0.13	7.78±1.37	9.40±1.78

No.	Trivial name	15	16	17	18	19	20	Ave	Ratio (%)
1	Progoitrin	0.63±0.13	0.66±0.16	0.40±0.07	1.17±0.60	0.71±0.07	1.02±0.17	0.80±0.44	10.0
2	Unknown 1	0.13±0.01	0.15±0.01	0.12±0.07	0.15±0.03	0.12±0.02	0.13±0.05	0.11±0.05	1.3
3	Glucoalyssin	0.24±0.07	0.55±0.07	0.37±0.08	0.25±0.07	0.17±0.03	0.34±0.09	0.34±0.12	4.3
4	Gluconapoleiferin	0.20±0.04	ND	0.10±0.02	0.17±0.10	0.22±0.02	0.17±0.01	0.18±0.10	2.3
5	Gluconapin	0.48±0.13	4.13±1.05	0.34±0.05	1.30±0.15	0.70±0.05	0.50±0.12	1.32±1.18	16.5
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.10±0.05	0.03±0.00	0.03±0.00	0.03±0.01	ND	0.04±0.02	0.5
7	Glucobrassicinapin	1.70±0.44	3.93±0.87	0.81±0.12	1.77±0.55	2.53±0.22	1.00±0.34	2.07±1.01	25.9
8	Glucobrassicin	0.47±0.24	0.71±0.08	0.43±0.13	0.29±0.03	0.82±0.20	1.14±0.10	0.62±0.25	7.7
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.73±0.32	1.86±0.30	2.29±0.33	1.49±0.33	1.87±0.15	1.44±0.05	1.75±0.34	22.0
10	Glucoberteroiin	0.33±0.15	0.44±0.11	0.44±0.09	0.34±0.12	0.10±0.03	0.20±0.02	0.28±0.13	3.6
11	Gluconasturtiin	0.15±0.09	0.51±0.08	0.19±0.07	0.29±0.09	0.34±0.05	0.87±0.15	0.39±0.18	4.8
12	Neoglucobrassicin	0.13±0.05	0.07±0.01	0.19±0.04	0.06±0.01	0.13±0.08	0.26±0.10	0.17±0.09	1.7
Total		6.20±1.65	13.11±2.76	5.71±0.84	7.28±2.00	7.75±0.39	7.06±0.88	7.99±2.26	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 20계통에서는 12종류의 glucosinolate 성분을 분리 (7종류 aliphatic GSL: progoitrin, glucoalyssin, gluconapoleiferin, gluconapin, glucobrassicinapin, glucoberteroiin; 4종류 indolyl GSL: 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin; 1종류 aromatic GSL: gluconasturtiin; 1종류 unknown) 하였음.
- 총 GSL 함량 범위는 4.25 ('11') ~ 13.11 ('16')으로 평균값은 7.99 $\mu\text{mol/g}$ dry wt. 이었다. 배추 내 GSL 성분 중 항암효과가 뛰어난 glucobrassicin이 총 GSL 함량 대비 약 8% (0.62 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)를 차지하였고, '20' 계통에서 최대값인 1.14 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.이었음.
- Gluconasturtiin은 약 2% (0.39 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.)로 '20' 계통에서 최대값인 0.87 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.이 었다.
- 배추의 쓴맛 성분인 gluconapin과 glucobrassicinapin이 총 GSL 함량 대비 각각 17와 26%를 차지

하였음.

나. 선발된 배추 품종의 후대 carotenoids 물질 분석

(1) 제 1 협동 프로젝트

Table 45. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage (*n*=6)

No.	Trivial names	FK 10	FK 31	FK 46	FK 59	FK 60	FK 80
1	Lutein	57.18±24.12	13.75±2.23	44.48±14.87	14.34±1.40	30.51±2.90	23.28±3.72
2	Zeaxanthin	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND	ND
3	α -Carotene	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	β -Carotene	25.34±28.01	ND	29.00±13.65	5.96±6.62	14.56±2.65	2.69±0.00
Total		82.51±52.09	13.75±3.44	73.49±28.49	20.30±6.85	45.07±5.41	25.97±5.33
No.	Trivial names	FK 88	FK 96	FK 97	FK 98	FK 99	FK 107
1	Lutein	25.94±2.57	173.35±22.51	28.32±17.49	32.78±21.42	59.42±24.16	14.82±1.65
2	Zeaxanthin	ND	6.08±1.30	ND	ND	ND	ND
3	α -Carotene	ND	3.81±0.32	ND	ND	ND	ND
4	β -Carotene	2.69±0.00	107.95±10.13	10.40±8.41	12.36±13.67	28.02±14.41	ND
Total		28.63±3.77	291.19±30.60	38.71±22.71	45.14±34.91	87.44±38.47	14.82±1.65
No.	Trivial names	FK 126	FK 133	FK 171	FK 233	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	186.86±57.05	28.11±6.03	19.24±9.70	38.09±16.98	49.40	71.72
2	Zeaxanthin	7.18±1.65	ND	ND	ND	0.83	1.20
3	α -Carotene	2.89±3.22	ND	ND	ND	0.42	0.61
4	β -Carotene	ND	1.45±0.00	ND	15.12±16.61	18.23	26.47
Total		233.12±30.25	29.56±8.41	19.24±9.70	53.22±33.04	68.88	100.00

^{a)}ND, not detected.

- 제 1 협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 16계통에서는 총 4가지 카로티노이드 성분 (lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene)을 검출함.
- Zeaxanthin, α -carotene의 경우, 2 계통 ('FK 96', 'FK 126')에서만 미량 검출됨.
- 16계통 배추의 카로티노이드 총 함량 범위는 14.82 ('FK 107') ~ 291.19 ('FK 96') 이었고, 평균값은 73.26 mg/kg dry wt. 이었다. 시력 보호 효과가 뛰어난 lutein은 총 카로티노이드 함량 대비 약 67%, 항산화 활성을 지닌 β -carotene이 31%를 차지함.

(2) 제 2 협동 프로젝트

- 제 2 협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 20계통은 카로티노이드 성분 중 lycopene을 포함하여 분석하였음.
- 배추 내 lycopene 성분 분석은 농림축산식품부 과제 작물 육종을 위한 품질분석 지원 사업단 (발간번호: 11-1543000-000473-01)을 참고하여, lycopene 추출 및 분석방법을 확립하였다.

(가) 라이코펜 추출

- 시료 2g에 hexane : acetone : ethanol (2 : 1 : 1, v/v/v) 20ml을 넣고 vortex 로 10초간 혼합 하였다. Tube를 shaker에 고정 후 250 rpm에서 10분간 추출하였다. 추출물에 10ml의 물을 가하고 다시 5분 동안 혼합해 주었다. 시료를 원심분리기로 4° C 상태에서 3,000rpm으로 5분 동안 원심 분리 하였다. 유기용매 층(상위 층)을 100ml 용량의 플라스크에 옮기고 40° C 에서 감압 농축하였다. 추출물에 MTBE 용액 1ml로 용해시키고 0.2 μ m PTFE syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC 시료로 사용함.

(나) 라이코펜 분석

○ 라이코펜 분석은 역상컬럼(Kinetex 2.6 μ m, C18 100A, 100 \times 4.60 mm; Phenomenex, USA)을 장착한 액체크로마토그래피 시스템(Agilent 1200 series)을 이용하여 분석하여 정량하였다. 이동상 A는 75%(v/v) methanol을, B는 100% ethyl acetate을 이용하였다. 분리조건은 0-10분, 70% B; 10-14분, 100% B; 14-14.01분, 0% B; 14.01-20분, 0% B로 하였으며 유속은 분당 0.8ml로 하였음.

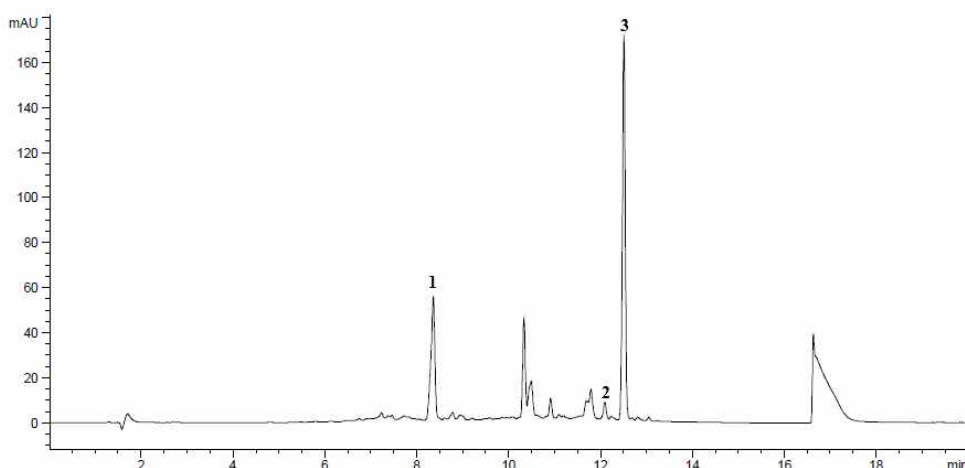


Fig. 29. HPLC chromatogram of carotenoids (contained lycopene) in Chinese cabbage. 1, lutein; 2, lycopene; 3, β -carotene.

Table 46. Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage ($n=4$)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6
1	Lutein	5.46 \pm 4.69	2.76 \pm 2.72	1.19 \pm 0.49	3.52 \pm 3.83	1.04 \pm 0.26	1.93 \pm 0.92
2	Lycopene	3.17 \pm 2.18	1.05 \pm 0.49	0.79 \pm 0.67	0.10 \pm 0.18	0.70 \pm 0.20	0.95 \pm 0.95
3	β -Carotene	20.48 \pm 5.55	15.36 \pm 5.63	16.85 \pm 13.25	18.49 \pm 9.00	4.07 \pm 1.43	8.15 \pm 3.83
Total		29.11\pm7.75	19.17\pm8.80	18.83\pm13.20	22.11\pm10.19	5.80\pm1.13	11.03\pm4.15
No.	Trivial names	7	8	9	10	11	12
1	Lutein	2.74 \pm 3.39	0.95 \pm 0.55	2.04 \pm 0.86	0.76 \pm 0.63	0.84 \pm 0.32	2.31 \pm 0.76
2	Lycopene	ND ^{a)}	0.89 \pm 0.89	2.38 \pm 1.03	0.95 \pm 1.14	0.69 \pm 0.46	0.79 \pm 0.55
3	β -Carotene	7.08 \pm 6.94	2.58 \pm 1.92	5.80 \pm 4.09	2.11 \pm 1.24	4.12 \pm 2.42	5.07 \pm 2.01
Total		9.83\pm10.21	4.41\pm2.62	10.21\pm5.83	3.81\pm2.77	5.65\pm2.97	8.18\pm1.57
No.	Trivial names	13	14	15	16	17	18
1	Lutein	32.46 \pm 15.14	6.95 \pm 0.32	16.01 \pm 1.65	26.19 \pm 5.55	32.87 \pm 3.13	12.26 \pm 3.15
2	Lycopene	0.92 \pm 0.50	0.30 \pm 0.19	0.26 \pm 0.26	0.35 \pm 0.10	0.68 \pm 0.03	0.06 \pm 0.10
3	β -Carotene	13.09 \pm 5.32	3.24 \pm 0.90	3.77 \pm 0.75	3.79 \pm 0.80	5.55 \pm 1.43	4.57 \pm 2.02
Total		46.47\pm20.24	10.50\pm1.31	20.05\pm1.60	30.33\pm5.91	39.10\pm4.26	16.89\pm3.75
No.	Trivial names	19	20	21	22	Ave	Ratio (%)
1	Lutein	26.61 \pm 14.00	22.84 \pm 5.83	8.78 \pm 4.54	17.39 \pm 1.75	10.36	54.0
2	Lycopene	0.35 \pm 0.21	0.61 \pm 0.29	0.61 \pm 0.13	ND	0.75	3.9
3	β -Carotene	8.41 \pm 2.63	7.33 \pm 2.23	4.63 \pm 0.57	12.59 \pm 4.13	8.05	42.0
Total		35.37\pm16.81	30.77\pm7.62	14.02\pm4.62	29.98\pm2.86	19.16	100.0

^{a)}ND, not detected.

- 제 2협동 프로젝트로부터 의뢰 받은 배추 시료 22계통에서는 총 3가지 카로티노이드 성분 (lutein, lycopene, β -carotene)을 검출함.
- 22계통 배추의 카로티노이드 총 함량 범위는 3.81 ('10') ~ 46.47 ('13') 이었고, 평균값은 19.16 mg/kg dry wt. 이었다. 시력 보호 효과가 뛰어난 lutein은 총 카로티노이드 함량 대비 약 54%, 항산화 활성을 지닌 β -carotene이 42%를 lycopene의 경우 4%로 미량 함유되어 있음.
- '1' 계통에서 lycopene 함량이 3.17 mg/kg dry wt.로 평균의 약 4배 높은 함량을 나타냄.

■ 본 과제 배추, 케일 작물과 관련된 실험 결과

11, 광원의 종류, 주기와 세기의 변화에 따른 ‘신흥쌈’ 배추 내 글루코시놀레이트 함량 (논문 성과 2, 86페이지)

- ‘신흥쌈’ 배추는 파종 직후 광원의 종류(RW, RBW, FL), 광합성광양자속 밀도(이하 광도, Photosynthetic Photon Flux Density, PPF)($160 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$), 광주기(12/12)를 조절하여 제 3 세부 프로젝트의 식물공장에서 2012년 3월 9일 파종 후 14일 간격으로 수확하여 56일(days after sowing, DAS)까지 줄기를 제외하고 잎을 수확하였다.
- GSL 함량이 가장 높은 광원(RBW)을 선발하여 광주기(12/12, 14/10, 16/8, 18/6, 20/4 h)와, 광도(100, 130, 160, 190, 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)를 달리하여 당해 5월 18일 파종하여 14일 간격으로 가장 큰 잎 한 장을 수확하였다. 파종 후 42일까지 재배하고 이에 따른 GSL 함량 변화를 조사하였다. 식물공장 내부의 환경을 온도는 20°C, 상대습도는 70%, 호글랜드 양액을 사용하였고 양액의 EC(Electrical Conductivity)는 2.0, pH는 5.6-6.0을 유지하였다.

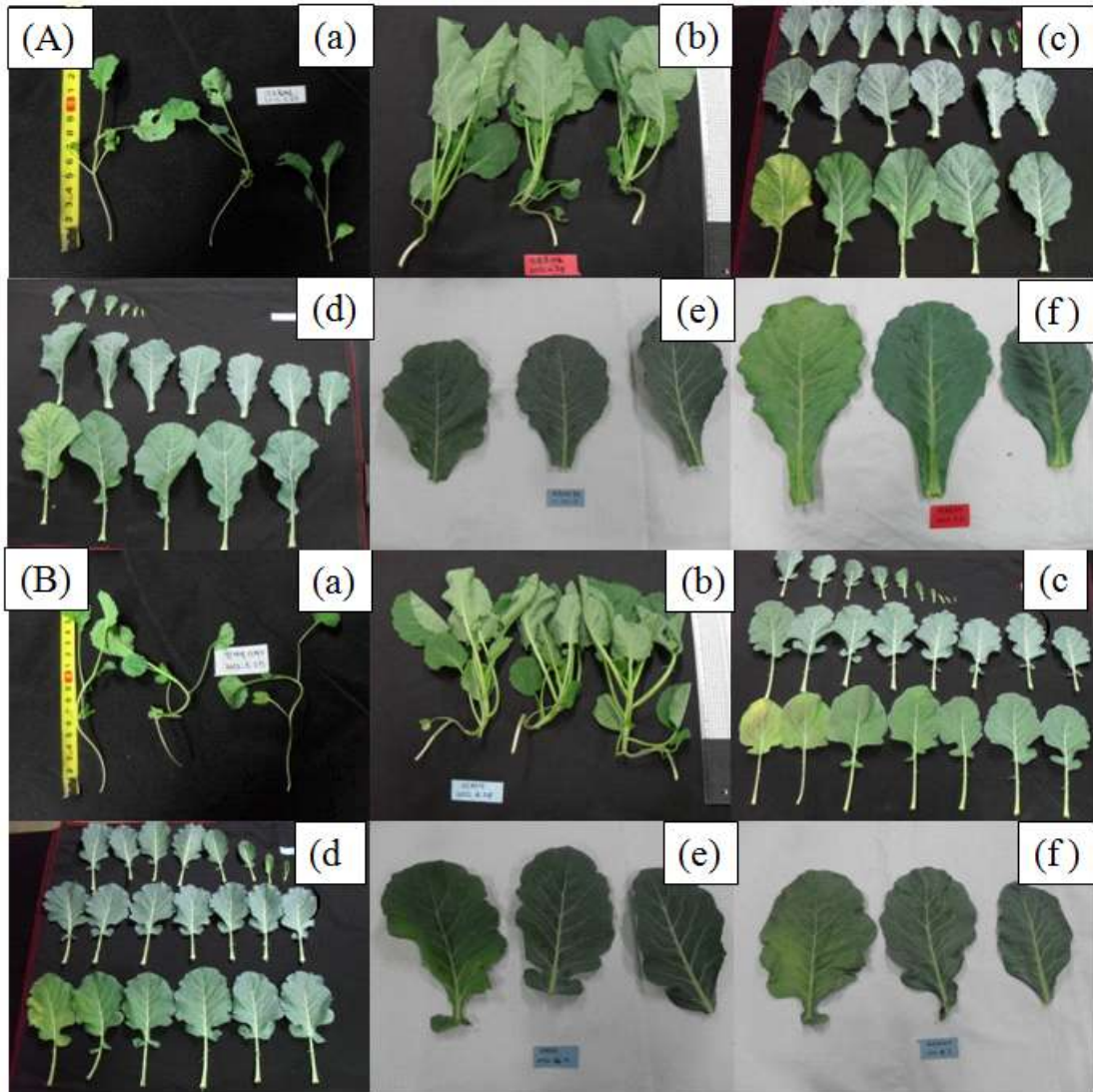


Photo. Chinese cabbage(‘Shinhong’) cultivated under various light conditions in pilot plant facility. (a), Transplanting day; (b), 28 DAS under FL; (c), 42 DAS under RW.

- 광원의 종류에 따른 GSL 함량은 RBW(36.55) > FL(36.29) > RW(27.63 $\mu\text{mol}/\text{g DW}$)순으로 높았다. 다음 2차 실험에서는 광원을 RBW로 고정하고 광주기(light/dark; 12/12, 14/10, 16/8, 18/6, 20/4 h), 광세기(100, 130, 160, 190, 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)를 조절하여 재배하였으며 총 2회 수확(28, 42 DAS)하였다.
- 광주기는 GSLs 함량이 20/4 h(58.35 $\mu\text{mol}/\text{g DW}$)에서 가장 높았다. 광세기는 160 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (34.02 $\mu\text{mol}/\text{g DW}$)일 때 GSLs 함량이 가장 높았다.
- 배추의 최적재배조건 확립 시 GSL성분들 중에서 가축의 감상선종을 유발하는 progoitrin의 함량은 낮추고, 항암예방효과가 뛰어난 glucobrassicin과 gluconasturtiin 함량을 높이는 것이 중요하다.
- Progoitrin 함량이 낮고 glucobrassicin과 gluconasturtiin 함량이 높은 광원은 FL(각각 함량 3.43, 14.11, 5.12)이며, 광주기는 12/12 h(2.11, 1.58, 0.48)이고, 광세기는 130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (2.28, 2.24, 1.51 $\mu\text{mol}/\text{g DW}$)이었다.
- 각 GSL 성분의 함량에 따른 고기능성 배추 재배조건으로 광원은 FL, 광주기는 12/12 h, 광세기가 130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 일 때 가장 적합하다고 판단된다.

12, 성장단계에 따른 케일 내 글루코시놀레이트 함량 (논문 성과 4, 86페이지)

- 성장단계에 따른 케일 내 글루코시놀레이트(glucosinolate, GSL) 함량을 조사하였다. 케일 품종은 ‘Man Choo Collard’, ‘Kale TBC’ 두 품종으로 재배기간은 2012년 2월 20일 부터 동년 7월 3일 까지 133일이었으며 수확일은 파종 후 35, 63, 91, 105, 119, 133일(days after sowing, DAS)이었다.



- 'Manchoo Collard'의 GSL함량은 133DAS에서(평균 6.12)가장 높았고, 35DAS(1.16 $\mu\text{mol/g}$ dry weight, DW)에서 가장 낮았다. 'TBC'의 GSL 함량은 91DAS(평균 13.41)에서 가장 높았고, 35DAS(0.31 $\mu\text{mol/g}$ DW)에서 가장 낮았다.
- 총 GSL 함량 중 sinigrin이 'Manchoo Collard'(133DAS)에서 57%, 'TBC'(91DAS)에서 44%로 가장 높았다. 항암효과가 뛰어난 crambene, allyl isothiocyanate, indole-3-cabinol, phenethyl isothiocyanate의 전구체인 progoitrin, sinigrin, glucobrassicin, gluconasturtiin는 'Manchoo Collard'와 'TBC'의 총 GSL 함량 중 각각 94, 78%로 나타나 두 품종 모두 항암예방효과를 가질 것으로 기대된다.

13. 수분스트레스에 의한 케일 내 글루코시놀레이트 변화 (논문 성과 5, 86페이지)

- 가을과 봄 2차례 재배한 케일('TBC')에 수분스트레스를 처리하여 글루코시놀레이트 변화를 조사하였다.
- [가을 실험] 파종 후 22일(DAS, days after sowing)에 상태가 좋은 묘를 골라내어 흙을 채운 중형 포트에 이식하였다.
- 물은 각 포트 당 2일 간격으로 400 mL씩 수돗물을 주었다. 재배기간은 총 105일로 수확은 2013년 11월 29일부터 12월 5일까지 99, 101, 103, 105DAS, 2일 간격으로 하였다.
- [봄 실험] 2014년 2월 20일에 가을실험과 같이 파종하였다. 파종 후 34일(DAS, days after sowing)에 상태가 좋은 묘를 골라내어 흙을 채운 중형포트에 이식하였다. 물 빠짐이 좋지 않아 41 DAS에 펄라이트 : 흙 = 1 : 2의 부피로 다시 채운 중형포트에 다시 이식하고 50 DAS에 복합비료를 각 1.5 g씩 추비하였다. 각 포트 당 3일 간격으로 400 mL씩 수돗물을 주었다. 재배기간은 총 89일로 2014년 4월 29일부터 5월 19일까지 69, 74, 79, 84, 89 DAS, 5일 간격으로 수확하였다.

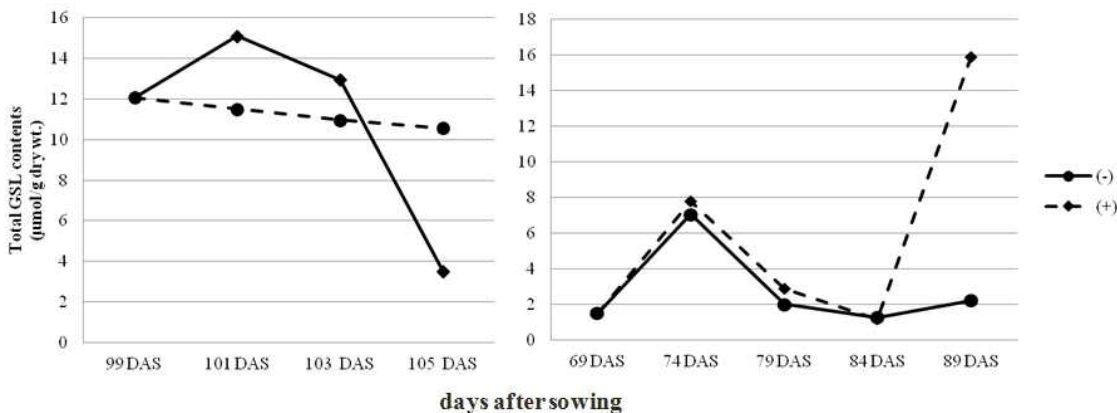


Fig. Variations of total GSL contents ($\mu\text{mol/g dry wt.}$) in kale leaves untreated (-) or treated (+) with drought-stress.

- [가을실험] 파종(8월 22일) 후, 99일을 기점으로 수분스트레스 처리구(+)과 비처리구(-)로 설정하여 2일 간격으로 99, 101, 103, 105 DAS(day after sowing, DAS)에 수확하였다.
- 처음 99 DAS와 103 DAS 사이에선 수분스트레스를 처리한 처리구(+)보다 비처리구(-)의 GSL 함량이 높았으나 105 DAS부터 비처리구의 GSL 함량이 급격히 감소하면서 처리구(+)의 GSL 함량이 비처리구(-)의 GSL 함량보다 더 높아졌다.
- [봄 실험] 파종(2월 20일) 후, 69일을 기점으로 처리구(+)와 비처리구(-)로 설정하여 5일 간격으로 69, 74, 79, 84, 89 DAS에 수확하였다.
- 처리구(+)와 비처리구(-)결과 모두 74 DAS와 84 DAS 사이까지 GSL 함량이 감소하는 경향을 보이다가 89 DAS때 처리구(+) GSL 함량이 급격히 증가하여 84 DAS 처리구(+)의 GSL 함량($1.16 \pm 0.47 \mu\text{mol/g dry wt.}$)보다 89 DAS 처리구(+)의 함량($15.88 \mu\text{mol/g dry wt.}$)이 약 15배 정도 급격히 증가하였다.

14. 토마토 종류에 따른 카로티노이드 함량 비교와 다중분석법 개발 (논문 성과 6, 86페이지)

- HPLC 분석조건으로 칼럼 온도는 40° C, 검출 파장은 454 nm, 유량은 1.0 mL/min, 주입량은 20.0 μ L로 설정하였다. 이동상 용매는 A[water: methanol=25: 75(v/v)]와 B[ethyl acetate]의 구배조건을 변화(60 \rightarrow 100%)시켜 분석하였다.
- 라이코펜을 포함한 카로티노이드 5성분(루테인, 제아크산틴, 알파카로틴, 베타카로틴, 라이코펜) 표준품의 피크가 모두 분리되는 동시분석법을 확립하였으나, 토마토에서는 루테인, 베타카로틴, 라이코펜 3성분만 검출되었다.

(a) (b) (c) (d)

Fig. Four kinds of tomatoes. (a), General tomato; (b), Cherry tomato; (c), Red date tomato; (d), Orange date tomato.

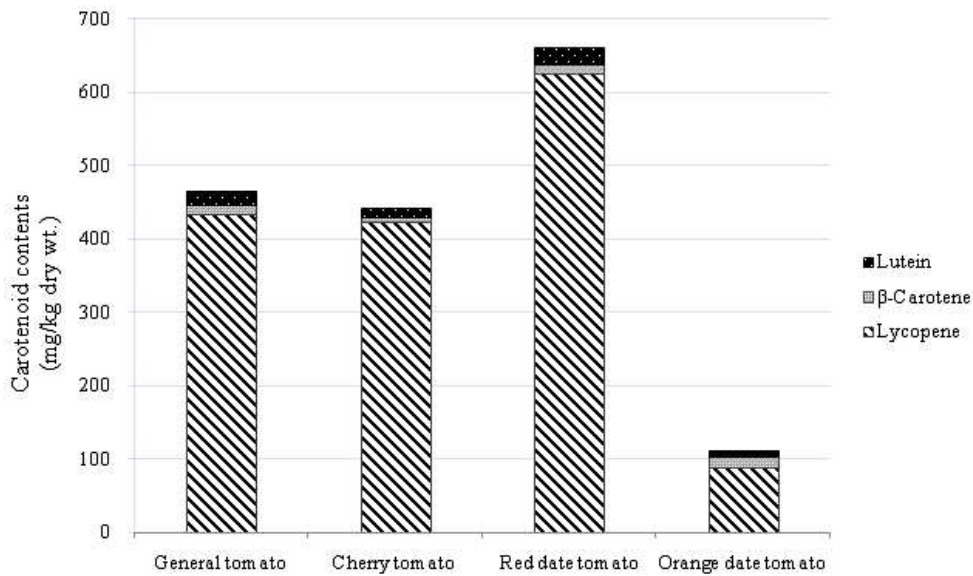
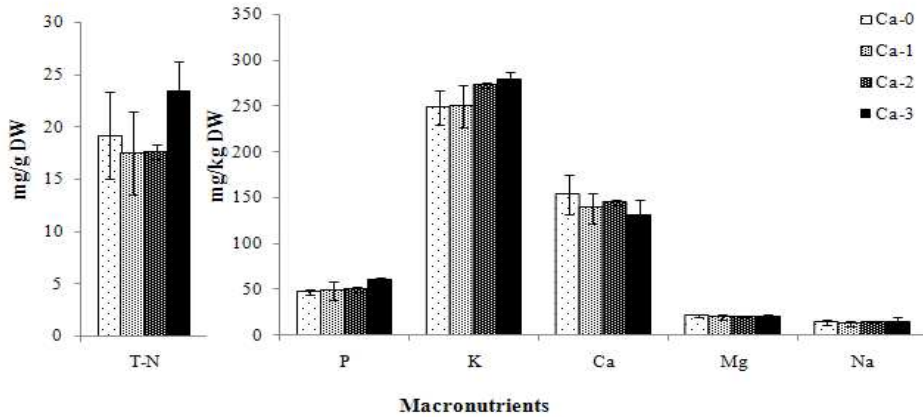


Fig. Total carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in tomatoes.

- 토마토 4종류(일반토마토, 방울토마토, 빨간색 및 주황색 대추방울토마토) 내 카로티노이드 3성분을 비교하였다. 토마토 내 총 카로티노이드 함량은 빨간색 대추방울토마토에서 661.97 mg/kg dry wt.로 가장 높았고, 주황색 대추방울토마토에서 111.27 mg/kg dry wt.로 가장 낮았다. 토마토 내 라이코펜 함량은 총 카로티노이드 함량 대비 93%이었다.

15. 생석회 시비가 배추 내 무기이온 및 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향
(논문 성과 7, 86페이지)

- ‘불암 플러스’ 배추를 생석회 시비량을 달리하여 유리온실에서 포토재배 한 후 파종 14일 후 생석회를 1주일 간격으로 8회 처리하여 배추 내 무기이온과 GSL를 조사하였다.
- 석회 처리는 배추 시비 기준을 따라 Ca-0 무처리구, Ca-1 적량구(0.28 g), Ca-2 배량구(0.56 g), Ca-3 배량구(0.84 g)로 처리하였다.



- 배추 내 다량원소 함량에서 T-N은 Ca-0 무처리구에서 Ca-1 적량구까지 감소하다 Ca-2 배량구에서 Ca-3 배량구까지 증가하는 U자 곡선을 나타냈다.
- P와 K 함량은 Ca-0 무처리구에서 Ca-3 배량구까지 증가하는 경향을 보였다. Ca는 Ca-0 무처리구에서 가장 높았고 Ca-3 배량구에서 가장 낮게 나타나 생석회 추비량은 배추 내 Ca 함량에 큰 영향을 미치지 않았다.

Table. Glucosinolates contents in Chinese cabbage ($\mu\text{mol/g DW}$) ($n=3$)

[Table content is obscured by a black box]

- GSL 함량은 progoitrin, 4-methoxyglucobrassicin, gluconasturtiin은 생석회 추비량이 많을수록 증가하는 경향을 보였다. Gluconapin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicinapin은 Ca-0 무처리구에서 Ca-2 배량구까지 증가하다 Ca-3 배량구에서 감소하는 경향을 보였다. 총 GSL 함량은 생석회 처리구들이 평균 17.92로 Ca-0 무처리구 11.95 $\mu\text{mol/g DW}$ 에 비해 약 50% 높아 생석회 추비가 배추 내 GSL 함량에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

16. LED Lights Enhance Metabolites and Antioxidants in Chinese Cabbage and Kale (논문 성과 8, 86페이지)

- 배추와 케일을 서로 다른 생육 배지 3종 (토양, 상토, 버미큘라이트)와 LED 광원 (Red, Blue, Red+Blue LED 광원)을 이용하여 글루코시놀레이트 함량과 항산화 활성 변화를 조사하였다.



- 배지별 배추, 케일 내 총 GSL 함량 범위는 각각 0.30-25.07, 2.30-30.37 $\mu\text{mol/g DW}$ 로 생육단계별로 차이가 크게 나타났다.
- 배추, 케일 내 GSLs 중 항암효과가 높은 것으로 알려진 총 indolyl GSLs의 함량은 'CR Ha Gwang' (토양, 5.37; 버미큘라이트, 3.34; 상토, 2.17) > 'Chun Gwang' (5.13, 1.81, 3.68 $\mu\text{mol g}^{-1}\text{ DW}$); 'Kale TBC' (5.33, 4.99, 2.59) > 'Man Choo Collard' (2.95, 2.39, 1.94 $\mu\text{mol/g DW}$)로 나타났다.
- LED 광원별 배추, 케일 내 총 GSL 함량 범위는 각각 0.62-5.93, 0.74-21.36 $\mu\text{mol/g DW}$ 로 나타났다. 총 indolyl GSL 함량은 'CR Ha Gwang' (Red, 2.01; Blue, 2.52; Red+Blue LED 광원, 2.21) > 'Chun Gwang' (1.43, 3.14, 1.59 $\mu\text{mol/g DW}$); 'Kale TBC' (7.63, 5.53, 1.42) > 'Man Choo Collard' (10.39, 5.78, 1.67 $\mu\text{mol/g DW}$)로 나타났다.
- 배지별, LED 광원별 배추, 케일 내 GSL 분석결과를 바탕으로 'CR Ha Gwang', 'Kale TBC'를 선발하여 항산화 활성 (DPPH, SOD)을 측정하였다.
- 양성 대조군인 ascorbic acid의 DPPH 라디칼 저해능 96.6%와 비교하여 'CR Ha Gwang' (평균 75.8), 'Kale TBC' (79.9%) 비교적 높은 DPPH 라디칼 저해능을 나타냈다.
- 총 GSLs, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과 각 항산화 활성 간의 상관관계는 낮은 것으로 나타났다.

17. 수확 전 LED, 형광등, UV-C 조사가 로켓샐러드 내 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향
(논문 성과 9, 86페이지)

- 인공 광원에 따른 rocket salad 내 GSL 함량을 조사하였다.
- 광원의 종류는 [실험 I;Control-1, Red LED, Blue LED, Mix(R+B) LED]과 [실험 II;Control-2, White LED, FL, FL+UV-C]로 구분하여 수행하였다.

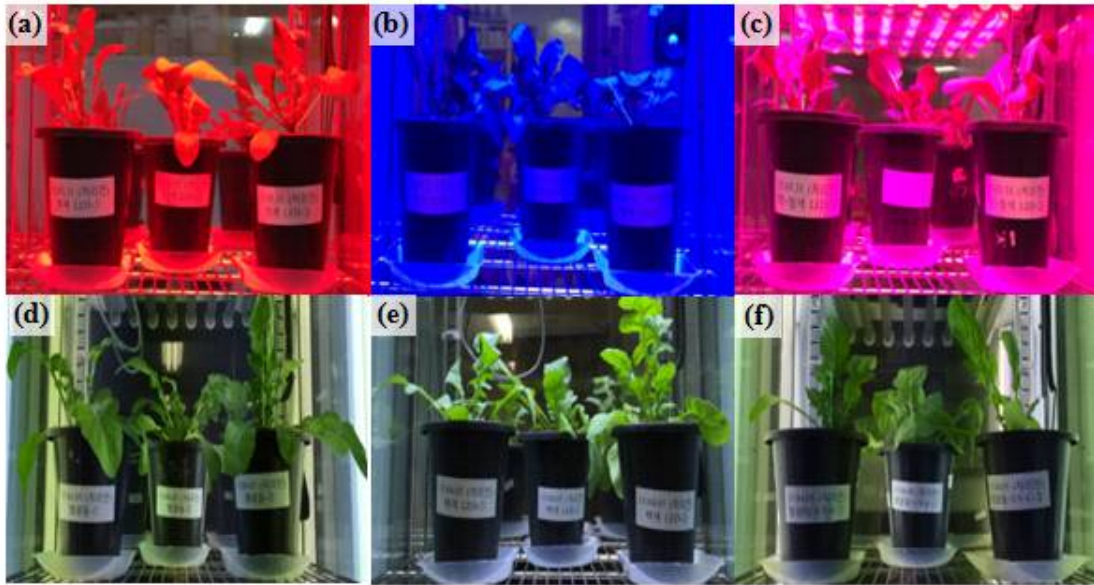


Photo. Rocket salad cultivated under various lights. (a), Red LED; (b), Blue LED; (c), Mix(R+B) LED; (d), White LED; (e), Fluorescent; (f), Fluorescent+UV-C.

- [실험 I]에서 총 GSL 함량은 Red LED(4.30)에서 가장 높고 Blue LED(0.17 $\mu\text{mol/g DW}$)에서 가장 낮았다.
- [실험 II]에서 총 GSL 함량은 FL(13.45)에서 가장 높고 FL+UV-C(0.39 $\mu\text{mol/g DW}$)에서 가장 낮았다.
- Rocket salad의 강한 향과 매운 맛을 돌아주는 dimeric 4-mercaptobutyl 함량은 [실험 II]에서 Control-2에 비해 FL과 White LED가 각각 14.9, 3.2배 증가했다.
- Red LED, White LED, FL은 rocket salad의 GSL 축적에 영향을 주었다고 판단된다. 반면 UV-C는 2차 대사산물을 축적한다는 연구 결과가 있지만 총 GSL 함량이 Control-2의 약 43.3% 수준이었다.

18. 수분스트레스가 케일 잎 내 카로티노이드 및 프롤린 함량에 미치는 영향
(투고 예정)

- 파종 후 57일 (days after sowing, DAS)부터 매일 관수한 대조구(well-watered treatment, WW)와 관수하지 않은 수분스트레스구(water stressed treatment, WS)로 나누어 실시하였다. 그리고 수분스트레스 처리 1일 후인 58 DAS(1 day)부터 67 DAS(10 days)까지 10일간 매일 총 10회 케일 잎을 수확하였다.

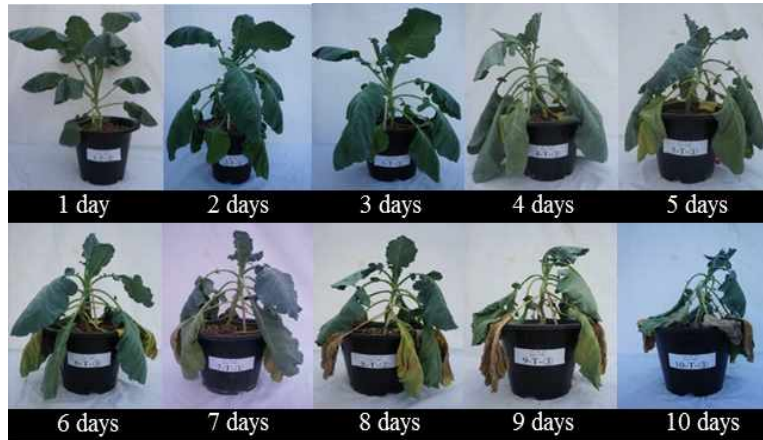


Photo. State of kale leaves with a stated duration of 1 ~ 10 days after water stress.

- 총 카로티노이드 함량 범위는 WW 대조구에서 926.9(3 days) ~ 1,173.6(2 days), WS 실험구에서 887.7(10 days) ~ 1,167.8(4 days) mg/kg dry wt.이었다. 총 카로티노이드 함량 대비 카로티노이드의 각 성분 함량 비율은 lutein이 51.4, zeaxanthin이 4.44, α -carotene 2.76, β -carotene이 41.4%로 lutein과 β -carotene이 대부분이었다.
- WW 대조구의 총 카로티노이드 함량은 일정한 경향성 없이 증감이 반복되었고, WS 실험구에서는 6 days부터 10 days까지 처리기간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다.
- WW 대조구의 루테인 함량은 재배기간 동안 통계적 유의차가 없었고, WS 실험구는 유의차는 있었지만 처리 동안 큰 변화는 없었다. WW 대조구와 WS 실험구의 α -carotene 함량은 통계적 유의차가 없었다.
- WW 대조구의 제아크산틴과 β -carotene의 함량은 재배기간 동안 유의차는 있었지만 경향성은 보이지 않았다. 그러나 WS 구의 제아크산틴 함량은 3 days부터 10 days까지 각각의 수확일에서 WW 대조구보다 높은 경향을 보였고 β -carotene 함량은 6 days부터 10 days까지 WW 대조구보다 낮은 경향을 나타내었다.
- 수분스트레스에 의한 제아크산틴의 함량 증가가 가장 뚜렷하게 나타났다.
- WW 대조구의 프롤린 함량은 재배기간 동안 통계적 유의차가 없었다. 그러나 WS 실험구에서는 7 days부터 10 days까지 처리기간이 길어질수록 증가하여 10 days에서는 WW 대조구의 함량보다 약 2.0 배 이상 높았다. 또한 3 days부터 10 days까지 각 수확일에서도 WW 대조구보다 WS 실험구의 함량이 높았다.
- 수분스트레스에 의하여 케일 잎 내 프롤린 함량의 증가가 뚜렷하게 나타났다.

○기능성성분 분석결과 연차별 계통별 변이 많은데 계통간, 연차간 차이인지 세밀한 분석이 필요할 것으로 판단되며, 연구 결과를 재분석하여 계통간, 연차간, 또는 시료를 채취한 시기별 등의 차이에 따른 기능성성분의 변화를 추적하여 해결 방안을 모색할 계획이다.

○양배추, 케일의 4차년이전 계통은 기능물질 높지 않았으나 5차년 협동1과제에서 고품량분석되나 협동2과제는 차이 없어 우수조합 여부 검토가 필요함으로 추후 분석데이터를 면밀히 분석을 하여 시료 채취의 오류인지, 분석의 오류인지를 재 검토할 계획이다.

<제 3 세부과제: 정밀농법 이용 기능성 성분 발현 기술 확립>

1절 연구 및 실험 개요

1. 식물공장 정밀재배 환경조건 시스템 개발
 - 가. 식물공장 설계 및 제작
 - 나. 제작과정
 - 다. 식물공장 성능 시험

2. 식물공장 작물재배 실험
 - 가. 각 환경요인별 1차 재배 시험
 - 나. 작물별 최적조건 2차 재배 시험
 - 다. 관행 재배와의 비교 시험

3. 광 반사도를 이용한 기능성 성분 예측
 - 가. 측정 시스템 개발
 - 나. 분석 방법
 - 다. 실험 결과 및 분석

2절 연구 내용 및 결과

1. 식물공장 정밀재배 환경조건 시스템 개발

가. 식물공장 설계 및 제작

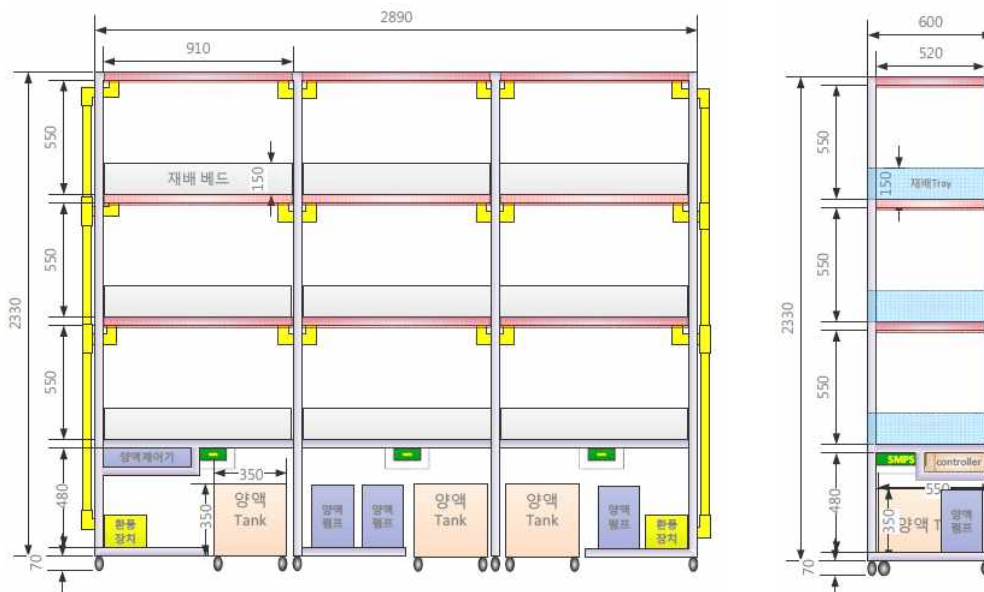
(1) 대형 재배실

(가) 재배실 크기 : 6,900×3,000×2,500 mm (L×W×H)

(나) 제어실 크기 : 2,000×3,000×2,500 mm (L×W×H)

(다) 재배 다단 설계

- ① 1 세트 크기 : 2,890×600×2,320 mm (L×W×H), 3단 3열
- ② 재배 베드 : 900×600×150 mm (L×W×H)
- ③ 재배 포트 : 베드 당 3×5 (15)포트



(2) 소형 재배실

(가) 재배구역 크기 : 6,900 × 3,000 × 2,500 mm (L×W×H)

(나) 각 재배실 크기 : 1,500 × 1,100 × 2,500 mm (L×W×H) (×5개실)

(다) 제어실 크기 : 2,000 × 3,000 × 2,500 mm (L×W×H)

(라) 재배 다단 설계

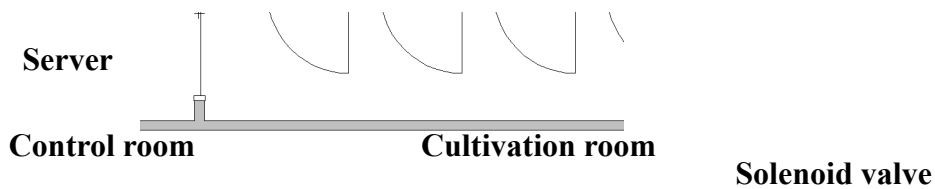
- ① 1 세트 크기 : 980 × 600 × 2,160 mm (L×W×H), 3단 1열
- ② 재배 베드 : 900 × 600 × 150 mm (L×W×H)
- ③ 재배 포트 : 베드 당 4 × 6 (24)포트
- ④ 각 수준 3반복 재배 시험 가능하도록 함
- ⑤ 온도, 습도, 이산화탄소 5수준의 환경을 유지하여 실험이 가능하도록 함
- ⑥ 무선네트워크를 통해 모니터링 및 제어 실시

아래 구성도는 식물공장 재배실과 제어실을 나타낸 것이다. 재배실은 샌드위치 판넬을 이용하여 벽을 제작하여 구역을 나누었고 재배구역(6,900×3,00 ×2,500 mm, L×W×H)에 5개의 소형재배실(1,500×1,100×2,500 mm, L×W×H)이 내부에 위치하도록 하였다. 각 소형재배실 내부는 유리창을 통하여 내부의 모습을 확인할 수 있도록 하였다. 이산화탄소 실린더는 소형재배실 외부에 위치하였고 각 소형재배실에 외경 8 mm, 내경 6 mm의 관을 이용하여 공급될 수 있도록 하였다. 각 재배실에서는 솔레노이드 밸브를 이용한 제어를 통해 이산화탄소 공급량의 농도를 조절할 수 있도록 하였다.

CO₂ gas cylinder

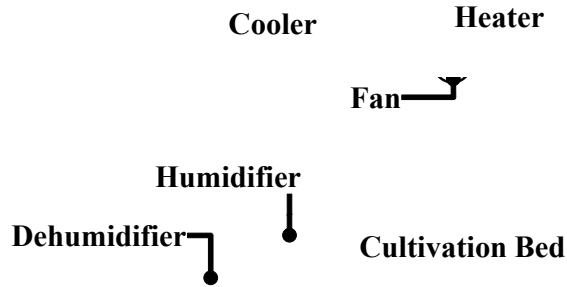
CO₂ supply line

Base node



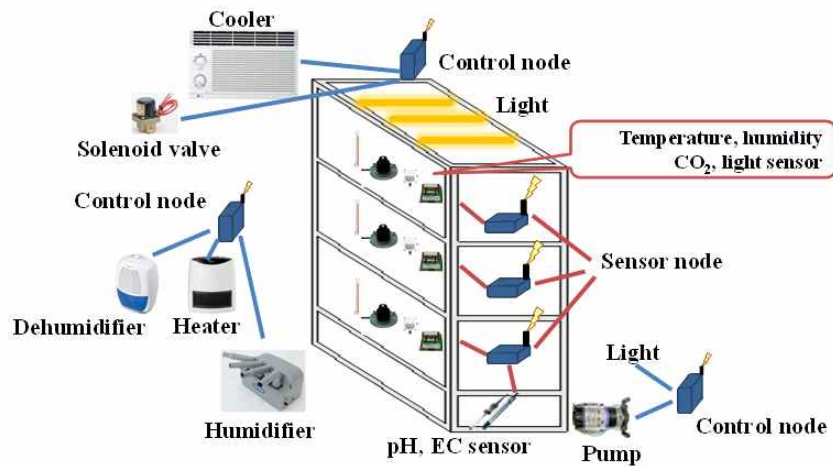
< 제어실 및 재배실 도면 >

아래 구성도는 소형재배실 1개실을 나타낸 것이다. 소형재배실(1,500 ×1,100 ×2,500 mm, L×W×H) 내부에는 온도 제어를 위한 냉방기와 난방기, 습도 제어를 위한 가습기와 제습기, 이산화탄소를 제어하기 위한 솔레노이드 밸브, 그리고 3단 1열의 재배단, 재배실 내부의 공기 순환을 위하여 교반 장치인 팬을 설치하였다. 재배단에는 LED와 형광등을 이용하여 작물에게 광을 공급할 수 있도록 하였고 수경재배 방식 중 분무경을 이용하였으며 3단의 재배 베드와 양액 공급을 위한 양액 탱크와 양액 펌프를 설치하였다.



< 소형재배실 도면 >

아래 그림은 재배실 내부의 계측 및 제어를 위한 센서와 장비, 센서 및 제어 노드를 구성한 그림이다. 재배실 내부의 환경을 계측하기 위한 센서는 온도, 습도, 이산화탄소, 조도, pH, EC이 설치 되도록 하였다. 온도, 습도, 이산화탄소, 조도는 3단의 재배단에 각각 설치되어 각 재배실에 3개의 센서 계측된 값을 평균을 내어 장비가 작동될 수 있도록 하였고 pH와 EC 센서는 양액 탱크에 설치하여 계측을 실시하였다. 각 센서는 센서 노드와 결선되었고 온도, 습도, 이산화탄소, 조도 센서는 각 단의 센서 노드에 결선되었고 1단의 센서 노드에 추가로 pH와 EC 센서가 결선되었다. 각 재배실의 제어 노드는 3개로 이루어져 있고 냉방기, 난방기, 가습기, 제습 기, 솔레노이드 밸브, 광원, 고압 펌프가 각 재배실에 설치되도록 하였다.



< 재배실 내부의 계측 및 제어 장비 >

나. 제작과정

(1) 대형 재배실



< 재배실 시공 및 전기 배선 >



< 바닥재(에폭시 코팅) 시공 >



< 재배 다단 알루미늄 프로파일 재단 >



〈 재배 다단 프레임 제작 〉

(2) 소형 재배실

샌드위치 판넬을 이용하여 각 재배실 공간을 구성하고 여닫이문을 설치하였고 창문을 통하여 내부를 직접 확인할 수 있도록 하였다. 그리고 각 소형재배실에 전력 공급을 위한 배선을 설치하였다. 소형재배실 5개실의 전력사용량을 예상하여 분전반을 새로 제작하여 안정적으로 전력이 공급될 수 있도록 하였다. 5개의 소형재배실에 각각 단상 220 V, 30 A의 용량으로 선정하여 전력이 공급되도록 하였고 메인 전력 공급은 삼상 380 V, 60 A의 용량으로 선정하여 공급하도록 하였다.



〈 소형재배실용 분전반 〉

재배단 설치를 위한 프레임은 알루미늄 프로파일을 이용하여 제작하였고 총 3개의 재배단이 설치될 수 있도록 3단 1열로 제작되었다. 3개의 재배단을 제외한 맨 밑 공간은 양액 탱크와 펌프를 놓을 수 있도록 공간을 구성하였다. 재배단은 사용의 편리를 위하여 바퀴를 장착하여 움직일 수 있도록 하였고 재배 시에는 움직이지 않게 고정할 수 있도록 하였다.



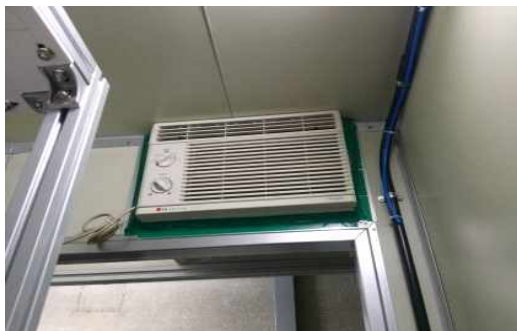
< 3단 재배 다단 프레임 재단 및 제작 >

작물에게 수분 및 양분을 공급하기 위한 방법은 순수 수경재배법이고 수경재배를 위하여 분무경(Aeroponic)을 이용하도록 하였다. 분무경의 장점은 배양액 탱크가 작아도 다른 순수수경에 비해 사용에 무리가 없으며 작물의 뿌리 발달과 생육에 유리하여 재식 밀도를 높일 수 있다. 단점으로는 노즐이 막히고 베드 누수로 인한 관리가 어렵고 단전으로 인한 작물 손실 우려가 있어 정기적으로 분무경의 상태 및 작동성능을 확인하였다. 재배트레이 1개의 내부에는 5개의 노즐을 설치하였고 1개의 노즐은 0.19 L/min의 분사량을 갖고 있으며 재배트레이 1개에 0.95 L/min의 양액이 분사되어 작물의 뿌리에 수분과 양분을 공급할 수 있도록 하였다. 양액탱크는 60 L의 용량으로 선정하였고 고압펌프를 사용하여 양액탱크보다 상층에 존재하는 노즐까지 양액이 전달되며 필요량이 분무되도록 하였다.



< 재배트레이(좌)와 내부의 분사노즐 및 배관(우) >

온도 제어를 위한 냉방기와 난방기는 광원에서 발생하는 열과 온도 유지가 보다 안전하게 될 수 있도록 재배실의 실면적인 1.65 m²보다 넓은 냉방과 난방 면적을 보유한 제품으로 선정하여 설치하였다. 아래 사진은 설치된 창문형 냉방기의 모습이고 임시로 테이프를 이용하여 고정하고 외부 공기와의 차단 및 고정을 위해 재배실 외부 먼저 실리콘처리를 해주었고 내부 역시 테이프를 제거하고 실리콘처리를 하여 외부공기 차단 및 고정되도록 하였다. 샌드위치 판넬만으로는 냉방기의 무게를 지지하지 못하고 휘어지거나 파괴될 수 있기 때문에 외부에 알루미늄 프로파일을 이용하여 지지를 시켜줄 수 있도록 하였다. 창문형냉방기는 5개의 재배실 중 4개의 재배실에 설치되었고 1개의 재배실에는 보다 낮은 온도까지 유지가 가능하도록 산업용냉방기를 설치하여 사용하였다. 설치방법은 창문형냉방기와 동일한 방법으로 외부에 알루미늄 프로파일로 지지하고 외부와 내부 모두 실리콘처리를 하여 외부공기를 차단하였고 3번째 단의 재배트레이의 작물에 직접적으로 송풍이 되는 것을 막기 위하여 포맥스를 이용하여 송풍방향을 변경해 주었다. 냉방된 공기는 아래쪽으로 향할 수 있도록 냉방기는 위쪽에 설치하였고 난방기는 위쪽으로 순환될 수 있도록 바닥에 설치하였다. 창문형냉방기, 산업용냉방기, 난방기는 모두 외부의 전자적인 제어를 할 수 있도록 전자식버튼의 장비를 사용하지 않고 기계식버튼의 장비를 사용하였다.



< 창문형냉방기 내부(좌)와 외부(우)의 설치 >



< 산업용냉방기(좌)와 난방기(우) 설치 >

습도 제어를 위한 가습기와 제습기도 온도 제어를 위한 장비와 같이 재배실면적

보다 넓은 면적까지 제어가 가능한 제품으로 선정하였다. 가습의 경우 냉방기가 작동되어 흡기를 할 경우 내부의 습기 또한 함께 흡입하기 때문에 냉방기 작동에 따른 제습량이 존재하였다. 초기 사용된 가습기(0.5 L/hr)의 경우 냉방기로 인한 제습에 대하여 목표하는 습도를 즉각적으로 보충하지 못하고 평균값 또한 유지되지 못하여 대용량가습기(2 L/hr)로 변경하였고 발생하였던 문제점이 해결되었다. 가습기는 수로를 따로 연결하여 물 보충이 자동으로 이루어지도록 하였다. 초기 사용된 제습기(0.6 L/day) 또한 작물재배 시 작물의 호흡으로 인해 높아지는 습도를 충분히 제어하지 못하여 보다 큰 용량의 제습기(6 L/day)로 변경하였다. 가습기와 제습기는 모두 외부의 전자적인 제어를 할 수 있도록 전자식버튼의 장비를 사용하지 않고 기계식버튼의 장비를 사용하였다.



< 대용량가습기(좌)와 제습기(우) >

이산화탄소의 공급을 위하여 이산화탄소 실린더를 외부에 거치하고 배관을 이용하여 각 재배실의 솔레노이드 밸브와 결속하였다. 솔레노이드 밸브를 통해 나온 이산화탄소가 공급되는 배관은 내경 6 mm의 호스이고 2 mm의 구멍을 통하여 분당 60 ppm의 이산화탄소가 공급될 수 있도록 하였고 실린더의 가스게이지도 함께 조절하였다. 솔레노이드 밸브는 전자제어를 실시하여 이산화탄소가 공급될 수 있도록 제어하였다.



< 이산화탄소 실린더(좌)와 솔레노이드 밸브(우) >

각 소형재배실의 광원은 1단과 2단에는 LED를 설치하였고 3단에는 형광등을 설치하였다. 1단의 LED는 R:B=11:7 배열, 2단의 LED는 R:B:W=11:4:3 배열의 LED를 사용하였다. 각 단의 광량은 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 이 공급될 수 있도록 조절하였다. LED는 SMPS를 통해 24 V의 전원을 공급하고 형광등은 220 V AC의 전원을 공급

도록 하였다. LED는 한단에 160 W급이고 형광등은 한단에 280 W급이다.



< LED(좌)와 형광등(우) >

소형재배실 내부의 환경을 계측하는 센서는 온도, 습도, 이산화탄소, 조도, pH, EC가 있고 각 단은 온도, 습도, 이산화탄소, 조도가 결선되고 양액탱크와 근접한 1단의 센서 노드에 pH와 EC 센서가 추가로 결선되어 있다. 온도, 습도, 이산화탄소, 조도는 센서부로 따로 제작되어 재배단의 환경을 측정할 수 있도록 각 단의 중앙 벽면에 부착되었고 배선을 통해 노드부와 연결되도록 하였다. 노드부는 Micro control 단위(MCU)인 ATmega128을 이용하였고 제어실과 무선네트워크를 통해 계측된 데이터를 전송하기 위하여 Zigbee 통신을 사용하는 Xbee pro 제품을 이용하였다. 계측되는 센서는 모두 아날로그 신호를 출력하는 센서이고 아날로그로 출력된 값은 ATmega128의 기본 기능인 ADC 기능을 이용하여 디지털 신호로 변경된다. ADC가 가능한 포트의 수는 8개이고 1단은 6개의 포트를 이용하고 2, 3단은 4개의 포트를 이용하여 센서와 결속되어 있다. ADC된 환경 측정값들은 Zigbee를 통해 제어실로 mV 단위로 전송되도록 하였다. 계측된 환경 요소 데이터는 제어실의 베이스 노드로 전송되고 전송된 데이터는 서버에 저장되고 모니터 화면으로 계측값들을 볼 수 있도록 하였다.

CO₂ sensor

Zigbee

**MCU
(ATmega128)**

**Temperature/
humidity sensor**

Light sensor

< 센서 노드의 구성 >

제어 노드 또한 센서 노드와 동일하게 ATmega128과 Zigbee통신을 이용하였다. 베이스 노드에서 제어신호인 1이 오면 사용하는 출력포트에서 5 V가 출력되고 릴레이보드에서 5 V를 입력받아 12 V로 변경시켜주고 12 V는 대용량 릴레이에 흐르게 되어 릴레이의 접점을 통하여 220 VAC를 흐르도록 제어하여 장비가 구동되도록 하였다. 220 V가 흐르게 되는 장비를 사용하여 대용량 릴레이를 사용하여 안전하게 구동을 제어할 수 있도록 하였다. 릴레이 보드에서 바로 220 V 공급이 가능하였으나 릴레이보드 내의 릴레이는 전력 허용 용량이 적어 일정 사용 시간이 지나면 릴레이의 기능을 상실하여 그에 대한 대책으로 대용량 릴레이를 이용하여 안전하게 전력이 공급될 수 있도록 하였다. 온도 센서의 계측 값에 따라 제어되는 장비는 냉방기와 난방기, 습도 센서의 계측 값에 따라 제어되는 장비는 가습기와 제습기, 이산화탄소의 계측 값에 따라 제어되는 장비는 솔레노이드 밸브가 있고 그 외 광원은 시간을 정하여 켜지고 꺼질 수 있도록 하였으며 고압펌프는 주기적으로 양약을 공급할 수 있도록 제어되었다.



< 제어노드의 구성 >

위의 센서 노드와 제어 노드는 다음과 같이 소형재배실 내부의 습도 등의 인자에 영향을 받지 않게 제작 하였고 회로를 보호할 수 있도록 하였다. 1번 제어노드는 난방기, 가습기, 제습기와 연결되어있고 2번 제어노드는 광원, 고압펌프, 3번 제어노드는 솔레노이드 밸브와 난방기에 전력을 공급하도록 하였으며 각 제어노드는 전력 부하를 고려하여 제어되는 센서를 분배시킨 것이다.



< 3개의 센서노드와 3개의 제어노드 >

위의 센서 노드와 제어 노드는 베이스 노드의 요청에 따라 센서 값을 전송하고 장비를 제어한다. 베이스 노드는 서버와 RS-232 시리얼 통신으로 연결되어 있고 재배 관리 모니터링 및 제어 프로그램을 통해 센서 값과 장비들의 제어를 요청한다. 소형재배실 모니터링 및 제어 프로그램은 총 3개의 부분으로 이루어져 있다. 모니터링 부분은 각 소형재배실의 온도, 습도, 이산화탄소, 조도, pH, EC 값을 가시적으로 확인할 수 있도록 하였고 온도, 습도, 이산화탄소, 조도는 3개의 값을 평균 내어 확인하도록 하였다. 모니터링된 값들은 설정한 시간에 따라 측정된 값들을 txt 파일로 저장을 한다. 자동 제어 부분은 센서의 값에 따라 온도, 습도, 이산화탄소를 유지하기 위하여 냉방기, 난방기, 가습기, 제습기, 솔레노이드 밸브를 제어하고 광원과 고압펌프는 시간을 설정하여 제어하도록 하여 자동 제어를 지정한 부분에서만 이루어질 수 있도록 구성하였다. 마지막으로 수동 제어 부분은 각 재배실의 7개의 작동기를 작동시킬 수 있고 비상 상황 발생시 자동 제어를 중지하고 수동으로 제어를 대처할 수 있도록 하였다.

< 소형재배실 재배 관리 프로그램 >

다. 식물공장 성능 시험

(1) 대형 재배실 성능 시험

(가) 실험 1

① 실험 방법

㉠ 온도

- 15℃에서 20℃, 20℃에서 15℃까지 경과되는 시간 측정
- 공기 교반 장치의 유무에 따른 변이의 차이 측정

㉡ 습도

- 40%에서 65%까지 경과되는 시간 측정
- 일정한 습도(65%)로 유지됨을 측정

㉔ CO₂농도

- 400 ppm에서 1000 ppm까지 경과되는 시간 측정

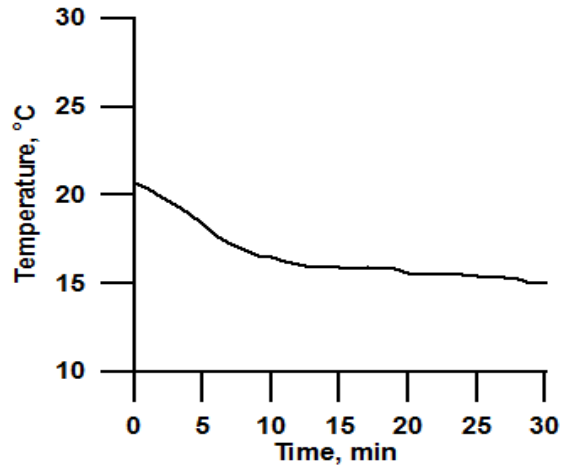
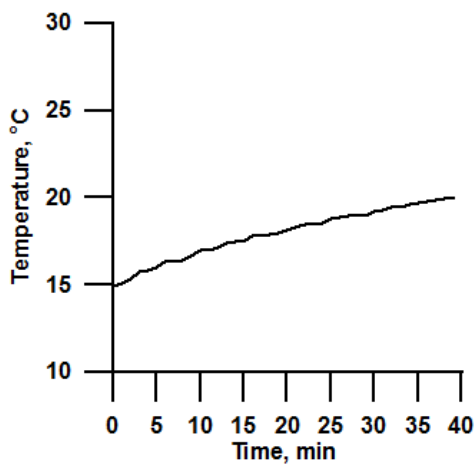
㉕ PPFd

- LED 조명과의 거리에 따른 PPFd 측정: 100 ~ 400 mm 거리를 50 mm 간격을 두어 PPFd 측정

② 결과 및 고찰

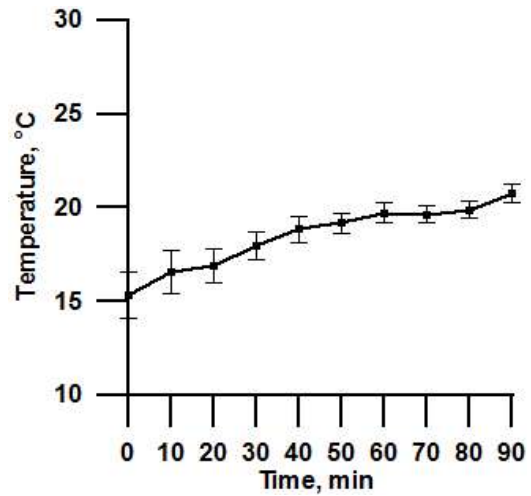
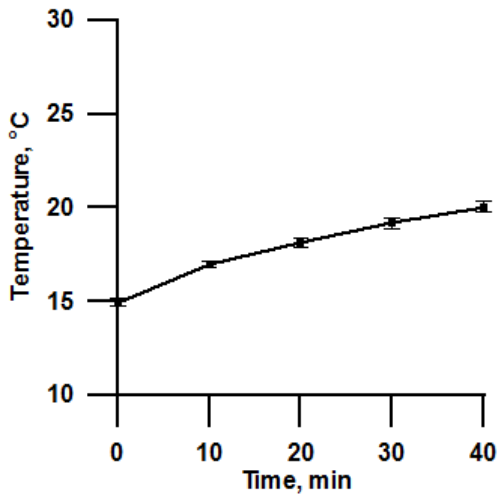
㉖ 온도

재배실 내부의 온도가 15°C에서 20°C까지 증가하는 중 시상수 온도인 16.84°C까지 8분이 경과하였고 20°C에서 15°C까지 감소하는 중 시상수 온도인 18.17°C까지 20분이 경과하였다.



< 15°C에서 20°C, 20°C에서 15°C까지 도달 시간 >

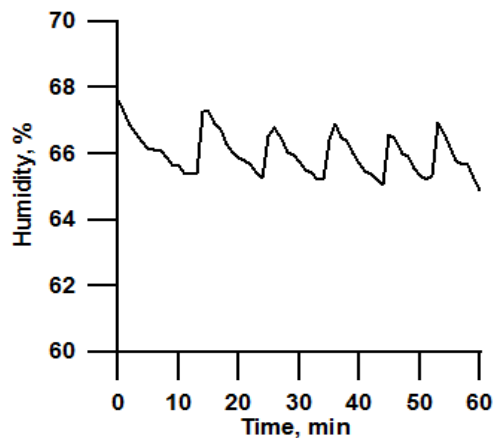
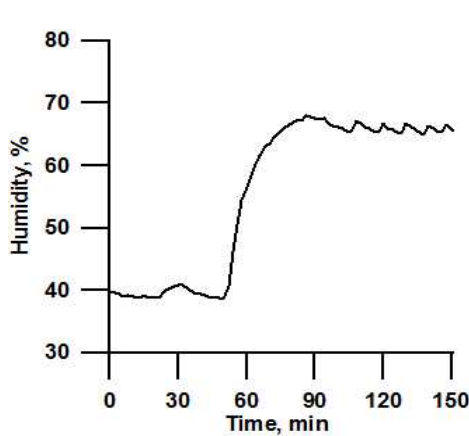
재배실 내부의 공기교반기가 가동될 경우 온도의 표준편차는 최대값은 0.60이고 최소값은 0.37이었고 공기교반기가 가동되지 않을 경우에는 표준편차의 최대값은 2.46이고 최소값 0.86으로 가동될 경우에 비해 재배실 내의 표준편차가 큰 것으로 확인하였고 시상수인 온도에 도달하는 시간도 공기교반기가 가동될 경우가 더 빨랐다.



< 공기교반기 유(왼쪽)무(오른쪽)에 따른 온도 변화 >

㊤ 습도

재배실 내부의 습도가 40%에서 65%까지 증가하는 중 시상수 습도인 55.83%까지 7분이 경과하였다.

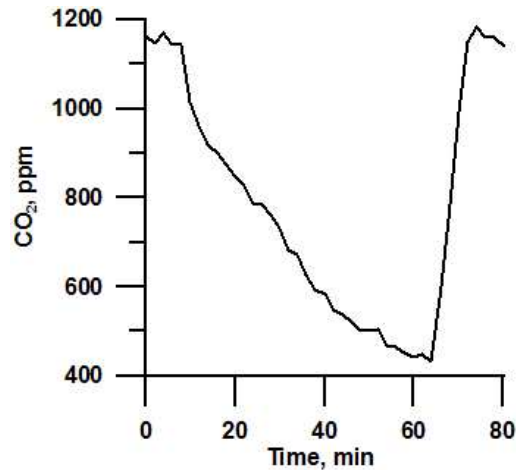


< 40%에서 65%까지 도달 시간 및 60분 동안의 습도 그래프 >

작물이 없을 때 65%의 습도를 유지할 경우 습도는 일정한 그래프로서 증가와 감소되는 모습을 보이며 유지되었다.

㊤ CO₂농도

대기 중의 CO₂농도는 400 ppm까지 내려가지 않았고 최소 434 ppm까지 내려간 후 실험을 실시하였다. 450 ppm에서 1000 ppm까지 시상수 농도인 797 ppm까지 4분이 걸렸고 선형으로 증가함을 알 수 있었다. 때문에 1000 ppm까지 6분의 시간이 경과되었다.



< CO₂농도의 감소 및 공급시 450 ppm에서 1000 ppm까지 걸리는 시간 >

㉔ PPF_D : LED 11:4:3 (R:B:W)

LED 조명과의 거리에 따른 광합성 광양자량 (Photosynthetic Photon Flux Density, PPF_D)을 측정한 결과이다. 조명과의 거리가 가까우면 PPF_D가 증가하지만 10, 15 cm의 거리에서는 재배되는 열에 따른 표준편차가 305.78, 93.77로 큰 차이를 보였다. 때문에 15~20 cm정도 성장하는 작물에게 전체적으로 균일한 광을 조사시킬 수 있을 것으로 파악하였다.

(나) 실험 2

① 실험 방법

㉔ 온도

- 24시간동안 재배실 내의 온도를 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하도록 하였다.

㉕ 습도

- 24시간동안 재배실 내의 습도를 $65 \pm 5\%$ 로 유지하도록 하였다.

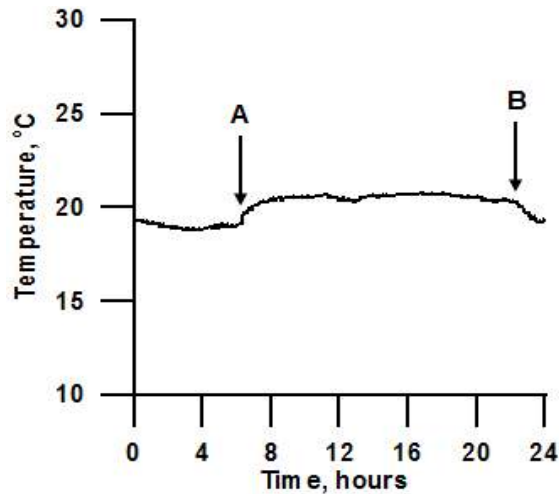
㉖ CO₂농도

- 24시간동안 재배실 내의 CO₂농도를 1100 ± 100 ppm을 유지하도록 하였다.

② 실험 결과

㉔ 온도

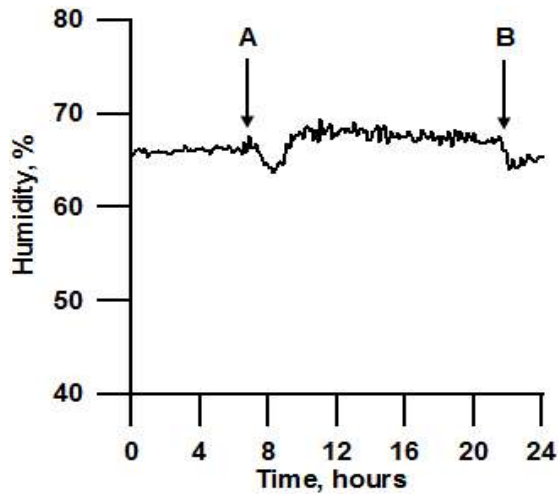
평균, 최대, 최소값은 20.06, 20.8, 18.8°C 이고 표준편차는 0.69이며 $19.8 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하는 것으로 목표 값에 근접하였다. 그림의 A와 B지점은 조명이 들어오는 6시와 꺼지는 22시로 조명에 따른 재배실의 온도의 차이를 확인할 수 있었다.



< 24시간동안 유지되는 온도 >

㉔ 습도

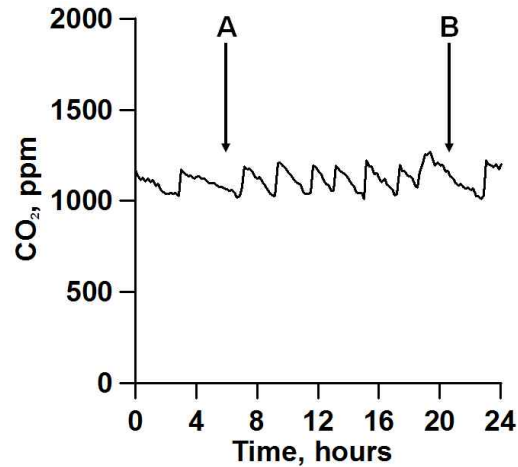
작물이 재배되는 경우 24시간동안의 습도는 평균, 최대, 최소값은 66.72, 69.37, 63.73%이고 표준편차는 1.19이며 $66.72 \pm 3\%$ 로 유지되어 목표 값에 포함되었다. 그림의 A와 B지점은 조명이 들어오는 6시와 꺼지는 22시로 조명에 따른 습도유지 모습을 확인할 수 있었다.



< 24시간동안 유지되는 습도 >

㉕ CO₂농도

작물이 재배되는 경우 24시간동안의 CO₂농도는 평균, 최대, 최소값은 1117, 1268, 1011 ppm이고 표준편차는 60.4이며 1117 ± 100 ppm으로 유지되어 목표 값에 근접하였다. 그림의 A와 B지점은 조명이 들어오는 6시와 꺼지는 22시로 조명이 들어온 후 광합성에 따른 CO₂농도 변화 주기가 다른 것을 예상할 수 있었다.



< 24시간동안 유지되는 CO₂농도 >

(2) 소형 재배실 성능 시험

(가) 실험

① 실험 방법

㉠ 온도

- 24시간동안 재배실 내의 온도를 14, 17, 20, 23, 26±1℃로 유지하도록 하였다.

㉡ 습도

- 24시간동안 재배실 내의 습도를 45, 55, 65, 75, 85±5%로 유지하도록 하였다.

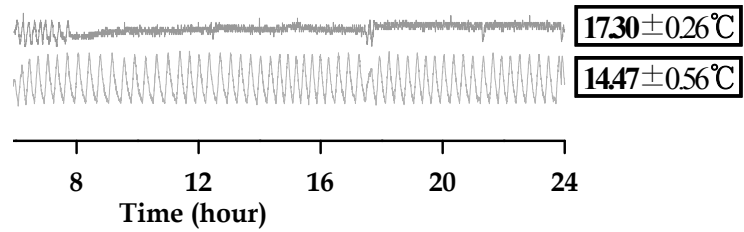
㉢ CO₂농도

- 24시간동안 재배실 내의 CO₂농도를 400, 700, 1,000, 1,300, 1,600±100 ppm을 유지하도록 하였다.

② 실험 결과

㉠ 온도

평균온도는 14.47±0.56, 17.30±0.26, 20.14±0.28, 23.27±0.32, 26.10±0.24℃로 유지되었다. 오전 0시부터 6시까지 밤 시간이고 오전 6시부터 다음 날 오전 0시까지 낮 시간이다. 이에 대해 광원에 유무에 따른 온도 유지 모습에 차이를 보이고 있으나 평균 온도는 각 재배실의 목표 값에 포함되도록 유지되었다.



< 24시간동안 유지되는 온도 >

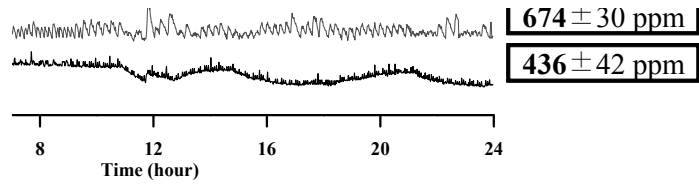
㉞ 습도

평균습도는 83.11 ± 5.04 , 75.94 ± 4.00 , 66.96 ± 4.47 , 57.86 ± 4.26 , $48.77 \pm 11.09\%$ 로 유지되었다. 습도는 냉방기에 흡수되는 양을 보충하기 위하여 작동되어 변화량이 심하여 표준편차가 크게 나타났지만 평균적으로 목표 값에 유지됨을 확인하였다.

< 24시간동안 유지되는 습도 >

㉞ CO₂농도

평균 이산화탄소 농도는 436.37 ± 41.74 , 673.82 ± 29.86 , 1044.60 ± 74.91 , 1361.44 ± 97.62 , 1567.90 ± 42.59 ppm으로 유지되었다. 이산화탄소의 유지는 목표한 값으로 유지가 되었고 습도와 마찬가지로 냉방기로 흡수되는 공기의 양에 따라 감소되고 다시 공급되는 주기가 발생하였다.



< 24시간동안 유지되는 CO₂농도 >

2. 식물공장 작물재배 실험

가. 각 환경요인별 1차 재배 시험

(1) 배추

(가) 광원

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신흥쌈 배추	습도 (%)	65 ± 5
목표	광원	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
광원	R : B : W R : W Fluorescent	광주기 (h)	16/8
온도 (°C)	20 ± 1	pH	6.0 ± 0.5
광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	160	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1

② 실험 방법

광원은 형광등(36W * 4)과 LED를 11:4:3, 11:7:0, 11:0:7 (Red:Blue:White)로 조합을 하여 총 4수준의 광원으로 실험을 하였다. 육묘용 스펀지에 파종 후 육묘를 하는 기간에는 형광등에서 모두 재배를 하였고 정식할 때 4수준의 광으로 구분을 해주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한번씩 실시하였고 각 광에서 3반복을 하였으며 총 2, 4, 6주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.

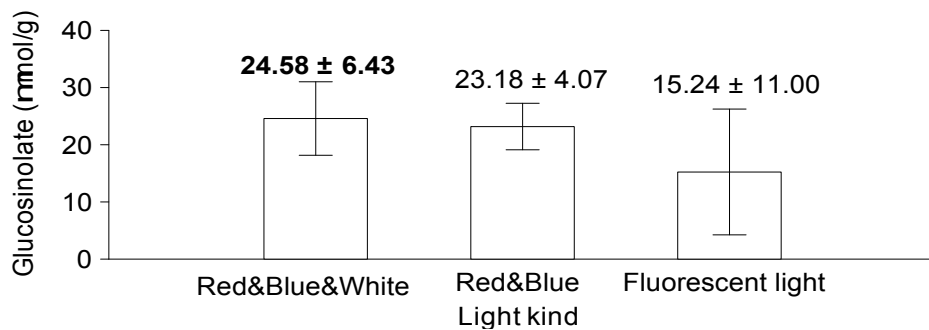
③ 실험 결과

정식 후 2, 4, 6주의 샘플 채취한 배추의 한포기의 평균 길이와 잎만의 무게를 기록하였다. 두 LED 수준에 비해서 형광등은 길이 성장은 비슷하지만 잎의 무게에서 2배 이상 차이 나는 결과를 보였다. 정식 후 2주에서는 거의 비슷한 길이와 무게를 보였지만 시간이 지날수록 형광등 보다는 LED에서 성장이 더욱 왕성한 것을 확인할 수 있었다.

정식 후 기간	11:4:3(R:B:W)		11:7(R:W)		형광등	
	세로 길이 (mm)	잎 무게 (g)	세로 길이 (mm)	잎 무게 (g)	세로 길이 (mm)	잎 무게 (g)
2주	96	2.6	89	1.5	85	1.2
4주	195	26.9	175	20.6	170	13.2
6주	220	77.5	225	87.0	180	33.1

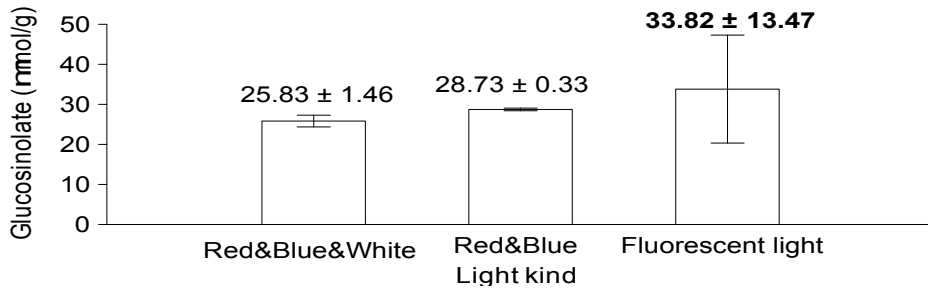
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

Type	Avg.	Std.	Max.	Min.
LED R&B&W	24.58	6.43	29.12	20.03
LED R&W	23.18	4.07	26.05	20.30
Fluorescent light	15.24	11.00	23.01	7.46



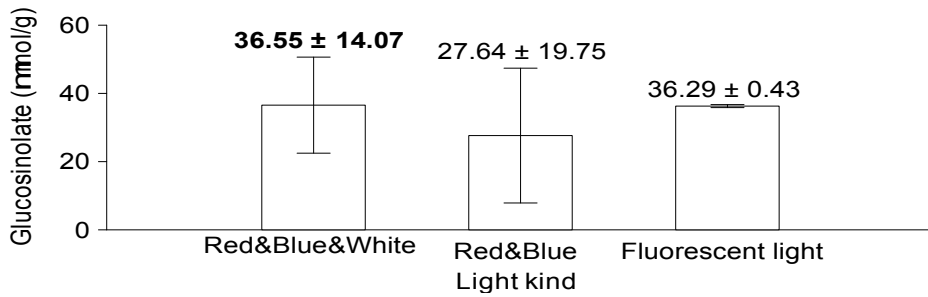
⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

Type	Avg.	Std.	Max.	Min.
LED R&B&W	25.83	1.46	26.86	24.80
LED R&W	28.73	0.33	28.96	28.49
Fluorescent light	33.82	13.47	43.34	24.29



⑥ 6 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

Type	Avg.	Std.	Max.	Min.
LED R&B&W	36.55	14.07	46.50	26.60
LED R&W	27.64	19.75	41.60	13.67
Fluorescent light	36.29	0.43	36.59	35.98



(나) 광주기

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신흥쌈 배추	광주기 (h)	12/12; 14/10; 16/8; 18/6; 20/4
목표	광주기	pH	6.0 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 ($\mu\text{mol/m}^2 \times \text{s}$)	160
습도 (%)	65 ± 5	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100

② 실험 방법

기본 광주기는 16/8(day/night) hours로 유지시켜 주었고 각 재배 배드는 광주기는 20/4, 18/6, 16/8, 14/6, 12/12(day/night) hours로 다르게 조사시켜 주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한번씩 실시하였고 각 재배 배드 3반복 하였으며 총 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.

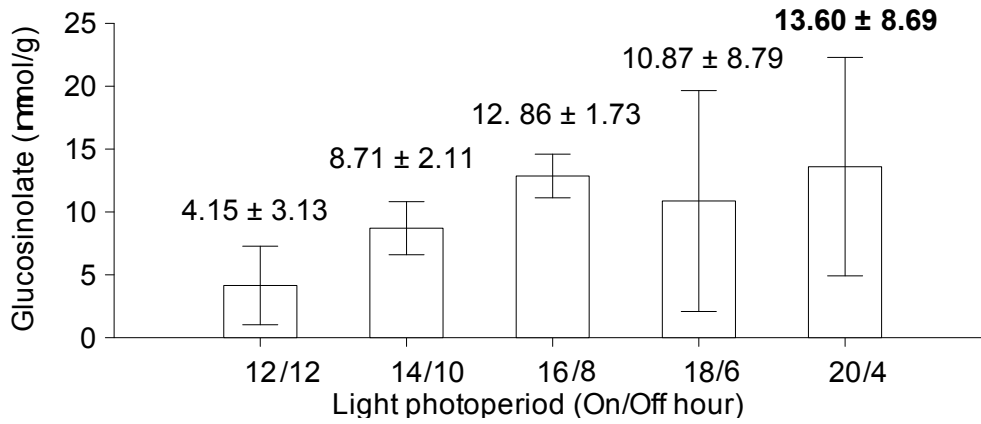
③ 실험 결과

정식 후 2, 4주의 샘플 채취한 배추 잎의 평균 길이와 무게를 기록하였다. 2주 후의 배추의 경우 큰 차이를 보이지는 않았지만 20/4시간에서 세로 길이가 길고 무게가 많이 나갔다. 4주 후의 배추의 경우 낮의 길이에 따라서는 20/4에서 세로 길이가 길고 무게가 많이 나갔다.

정식 후 기간	12/12 (day/night) hours 160 μ mol/m ² .s		14/10 (day/night) hours 160 μ mol/m ² .s		20/4 (day/night) hours 160 μ mol/m ² .s	
	세로 길이(mm)	잎 무게(g)	세로 길이(mm)	잎 무게(g)	세로 길이(mm)	잎 무게(g)
2주	9.6	2.13	8.3	3.07	11.8	4.13
4주	11.0	7.58	12.4	3.18	14.3	4.72
정식 후 기간	16/8 (day/night) hours 160 μ mol/m ² .s		18/6 (day/night) hours 160 μ mol/m ² .s			
	세로 길이 (mm)	잎 무게(g)	세로 길이 (mm)	잎 무게(g)		
2주	10.5	3.41	11.1	3.41		
4주	12.6	3.75	15.2	4.99		

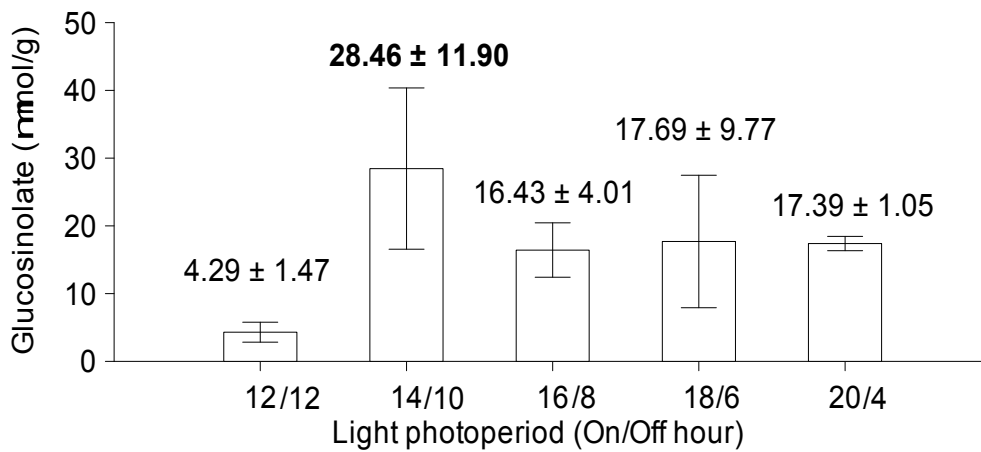
④ 2 주차 (단위 : μ mol/g)

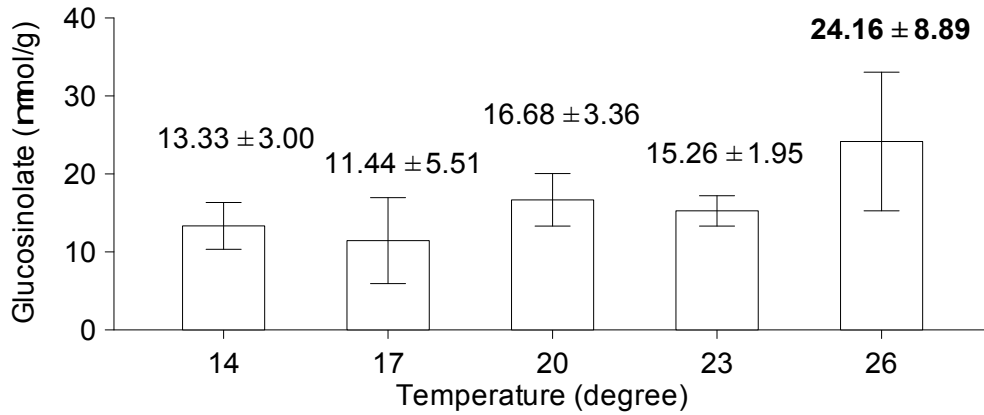
Light photoperiod	Avg.	Std.	Max.	Min.
on 12h / off 12h	4.15	3.13	7.76	2.22
on 14h / off 10h	8.71	2.11	10.73	6.52
on 16h / off 8h	12.86	1.73	14.75	11.34
on 18h / off 6h	10.87	8.79	21.01	5.42
on 20h / off 4h	13.60	8.69	22.60	5.26



⑤ 4 주차 (단위 : μ mol/g)

광주기	Avg.	Std.	Max.	Min.
on 12h / off 12h	4.29	1.47	5.99	3.37
on 14h / off 10h	28.46	11.90	38.25	15.21
on 16h / off 8h	16.43	4.01	21.03	13.70
on 18h / off 6h	17.69	9.77	27.21	7.69
on 20h / off 4h	17.39	1.05	18.56	16.51





(다) 광량

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신홍삼 배추	광주기 (h)	16/8
목표	광량	pH	6.0 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	100; 130; 160; 190; 220
습도 (%)	65 ± 5	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100

② 실험 방법

기본 광량과 광주기는 $160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 16/8(day/night) hours로 유지시켜 주었고 각 재배 배드는 광량은 PPF로 재배 배드 평균 100, 130, 160, 190, 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 로 다르게 조사시켜 주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한번씩 실시하였고 각 재배 배드 3반복 하였으며 총 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.

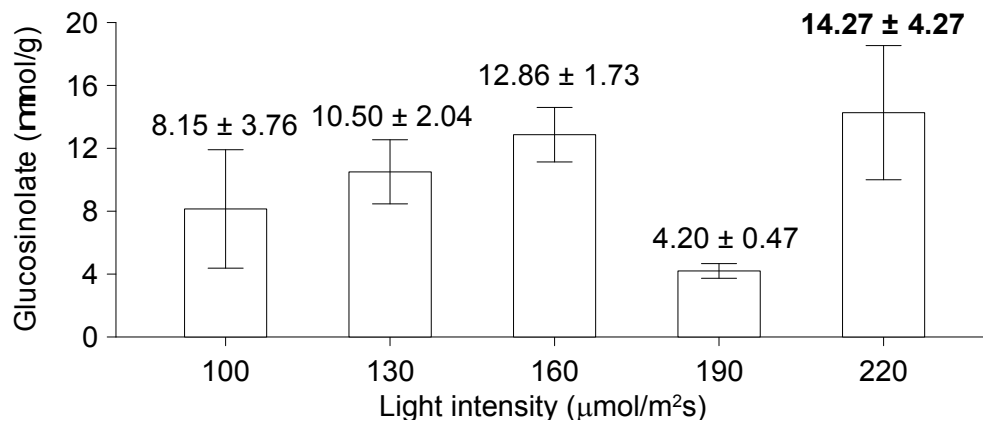
③ 실험 결과

정식 후 2, 4주의 샘플 채취한 배추 잎의 평균 길이와 무게를 기록하였다. 2주 후의 배추의 경우 큰 차이를 보이지는 않았지만 광량이 가장 센 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 에서 세로 길이가 길고 무게가 많이 나갔다. 4주 후의 배추의 경우 광량에 따른 차이는 130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 에서 세로 길이가 길고 잎 무게도 많이 나갔다.

정식 후 기간	16/8 (day/night) hours 130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$		16/8 (day/night) hours 160 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$			
	세로 길이 (mm)	잎 무게 (g)	세로 길이 (mm)	잎 무게(g)		
2주	10.8	3.10	10.5	3.41		
4주	16.2	7.48	12.6	3.75		
정식 후 기간	16/8 (day/night) hours 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$		16/8 (day/night) hours 190 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$		16/8 (day/night) hours 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$	
	세로 길이 (mm)	잎 무게 (g)	세로 길이 (mm)	잎 무게(g)	세로 길이 (mm)	잎 무게(g)
2주	11.5	3.45	10.1	3.12	11.5	3.72
4주	14.2	5.07	13.9	4.62	13.3	3.52

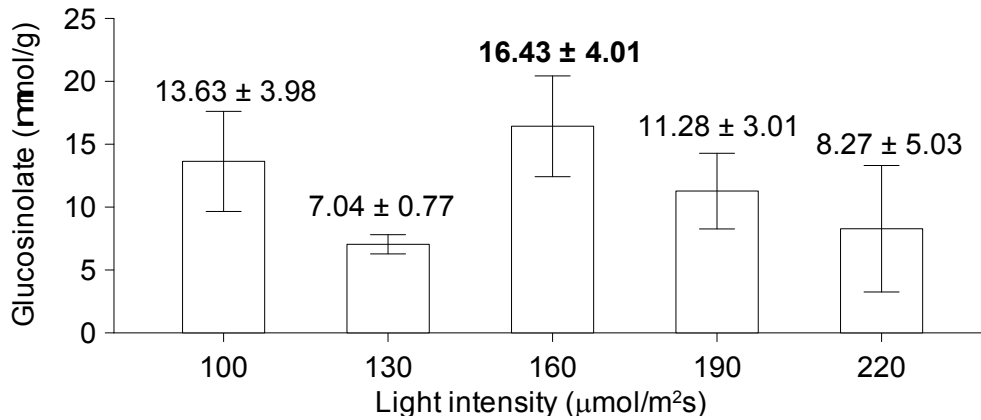
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol}/\text{g}$)

Light intensity ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$)	Avg.	Std.	Max.	Min.
100	8.15	3.76	10.39	3.80
130	10.50	2.04	12.44	8.37
160	12.86	1.73	14.75	11.34
190	4.20	0.47	4.74	3.92
220	14.27	4.27	18.81	10.34



⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol}/\text{g}$)

Light intensity ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$)	Avg.	Std.	Max.	Min.
100	13.63	3.98	18.03	10.27
130	7.04	0.77	7.80	6.27
160	16.43	4.01	21.03	13.70
190	11.28	3.01	14.45	8.47
220	8.27	5.03	13.95	4.39



(라) 온도

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신흥쌈배추	습도 (%)	65 ± 5
목표	온도5수준에 따른 작물 재배 실험	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
광원	R : B : W	광주기 (h)	16/8
온도 (°C)	14; 17; 20; 23; 26	pH	6.5 ± 0.5
광량 (μmol/m ² ×s)	200	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1

② 실험 방법

온도는 5개의 수준으로 기준 온도인 20°C에서 3°C씩 증감하여 14, 17, 20, 23, 26 ±1°C로 설정하였다. 파종은 1월 25일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 3월 11일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한 번씩 실시하였고 각 온도 수준에서 2반복을 하였으며 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

③ 실험 결과

신흥쌈배추는 정식 후 2주차의 경우 23°C에서 엽폭, 엽장, 엽무게 모두 높았고 4주차에서는 20°C에서 엽폭, 엽장, 엽무게가 높았다. 생육량으로 판단하였을 경우 정식 2주까지는 23°C에서 성장하는 것이 좋고 그 후 4주까지는 20°C에서 성장하는 것이 좋을 것으로 판단하였다.

작물	정식 후 기간	온도 수준	엽폭(mm)	엽장(mm)	엽무게(g)
신홍쌈배추	2주차	14°C	78.8	106.5	4.1
		17°C	101.9	137.9	6.0
		20°C	112.9	144.7	6.9
		23°C	114.8	151.4	7.5
		26°C	111.5	143.3	5.5
	4주차	14°C	207.7	144.0	10.7
		17°C	261.3	168.7	16.3
		20°C	274.0	171.7	16.4
		23°C	242.3	161.7	11.9
		26°C	272.0	147.7	11.3

④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

번호	명칭	26°C	23°C	20°C	17°C	14°C
1	glucoraphanin	1.30	0.87	1.04	1.14	1.22
2	sinigrin	ND	ND	ND	ND	ND
3	glucoalyssin	ND	ND	ND	ND	ND
4	gluconapin	ND	ND	ND	ND	ND
5	glucobrassicinapin	ND	ND	0.61	0.55	ND
6	glucobrassicin	0.87	0.18	0.89	0.86	0.25
7	4-methoxyglucobrassicin	1.57	1.21	1.81	1.54	0.93
8	gluconasturtiin	ND	ND	ND	0.20	ND
9	neoglucobrassicin	1.03	0.58	1.09	0.66	0.53
계		4.14	2.85	5.42	4.96	2.93

⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

번호	명칭	26°C	23°C	20°C	17°C	14°C
1	glucoraphanin	5.14	4.79	6.15	4.67	2.51
2	sinigrin	ND	ND	ND	ND	ND
3	glucoalyssin	ND	ND	ND	ND	ND
4	gluconapin	0.24	ND	ND	ND	ND
5	glucobrassicinapin	3.33	1.12	1.08	ND	1.36
6	glucobrassicin	3.32	1.69	2.22	1.53	2.26
7	4-methoxyglucobrassicin	5.87	2.04	2.33	1.18	1.84
8	gluconasturtiin	0.33	ND	ND	0.77	0.20
9	neoglucobrassicin	5.92	5.61	4.91	3.29	4.79
계		24.15	15.26	16.69	11.43	13.33

2주차 신홍쌈배추의 Glucosinolate 함량은 20°C 에서 5.42 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높았고 4주차에서는 26°C 에서 24.15 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높은 함량을 보였고 그 다음 순

으로 20℃에서 높은 함량을 보였다.

(마) 습도

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신흥쌈 배추	광주기 (h)	16/8
목표	습도5수준에 따른 작물 재배 실험	pH	6.5 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	200
습도 (%)	45; 55; 65; 75; 85 ± 5	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100

② 실험 방법

습도는 5개의 수준으로 기준 습도인 65%에서 10%씩 증감하여 45, 55, 65, 75, 85 ±5%로 설정하였다. 파종은 4월 25일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 5월 13일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 작물의 성장이 20일정도면 노화가 진행되고 크기가 커지기 때문에 그 이후 실험은 적합하지 않다고 판단하여 정식 후 10일에 한 번씩 실시하였고 각 온도 수준에서 2반복을 하였으며 10, 20일차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

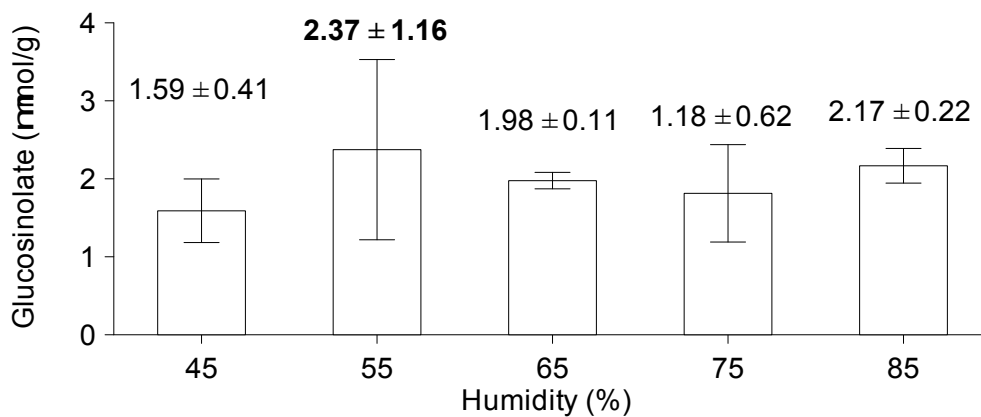
③ 실험 결과

신흥쌈배추는 10일차까지의 생육량은 크게 차이를 보이지 않았고 45%에서 높게 측정되었지만 전체적으로 높은 습도에서 성장이 좋았다. 20일차에서의 생육량은 75%에서 엽폭, 엽장, 엽무게가 모두 높았고 생육량으로 판단할 경우 정식 후 10일차까지 높은 습도와 생육 20일차까지 75%로 유지되는 것이 좋다고 판단되어 습도는 75%로 유지시키는 것이 좋을 것으로 파악하였다.

작물	정식 후 기간	습도 수준	엽폭(mm)	엽장(mm)	엽무게(g)
신홍쌈배추	10일차	85%	103.3	175.7	4.4
		75%	103.0	164.7	4.2
		65%	104.0	163.3	4.4
		55%	98.7	151.3	3.9
		45%	106.3	176.3	4.4
	20일차	85%	165.0	225.7	11.7
		75%	188.3	260.0	15.4
		65%	174.3	235.0	13.1
		55%	169.0	212.7	11.6
		45%	172.7	251.7	13.0

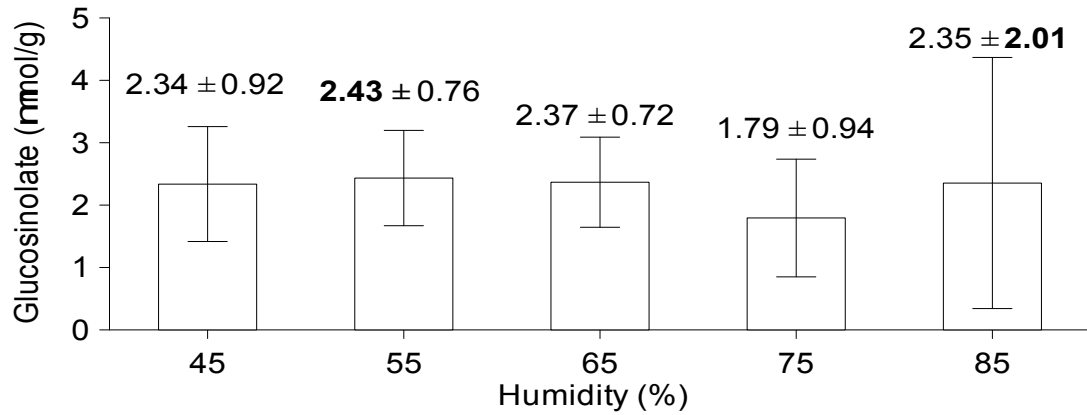
④ 10 일차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

습도(%)	Avg.	Std.	Max.	Min.
45	1.59	0.41	2.02	1.21
55	2.37	1.16	3.61	1.32
65	1.98	0.11	2.09	1.88
75	1.81	0.62	2.33	1.12
85	2.17	0.22	2.30	1.91



⑤ 20 일차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

습도(%)	Avg.	Std.	Max.	Min.
45	2.34	0.92	3.31	1.48
55	2.43	0.76	3.23	1.71
65	2.37	0.72	3.11	1.67
75	1.79	0.94	2.49	0.72
85	2.35	2.01	3.57	0.03



10일차 신흥쌈배추의 Glucosinolate 함량은 55%에서 2.37 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높았고 20일차에서도 마찬가지로 55%에서 2.44 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높은 함량을 보였다.

(바) CO₂

① 실험 결과

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	신흥쌈 배추	광주기 (h)	16/8
목표	이산화탄소5수준에 따른 작물 재배 실험	pH	6.5 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 ($\mu\text{mol/m}^2 \times \text{s}$)	200
습도 (%)	65 ± 5	CO ₂ (ppm)	400, 700, 1000, 1300, 1600 ± 100

② 실험 방법

이산화탄소 농도는 5개의 수준으로 기준 이산화탄소 농도인 1000 ppm에서 300 ppm씩 증감하여 400, 700, 1,000, 1,300, 1,600 ± 100 ppm으로 설정하였다. 파종은 5월 20일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 6월 7일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 성장량을 확인 후 샘플 채취가 가능할 것으로 판단하여 정식 후 1주에 한번 씩 실시하였고 각 이산화탄소 수준에서 3반복을 하였으며 1, 2주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

③ 실험 결과

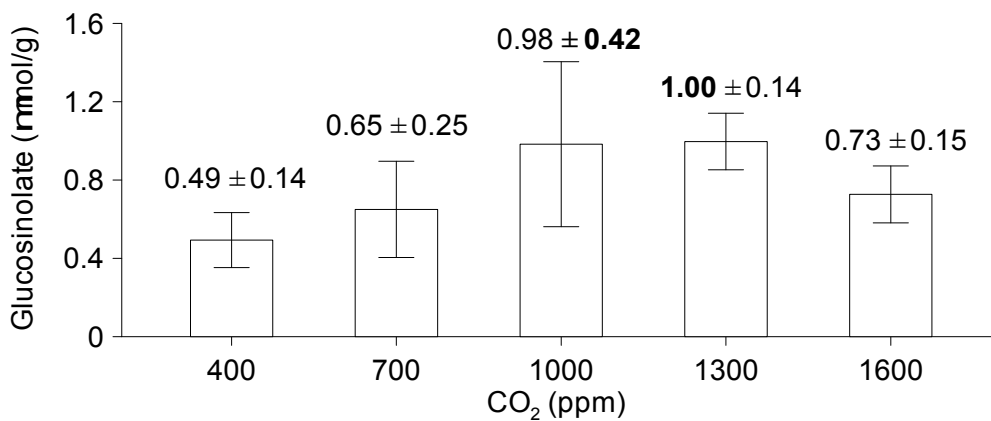
신흥쌈배추는 정식 후 1주차 1,000 ppm에서 엽폭, 엽장, 엽무게가 모두 높았고

2주차에는 엽폭만 1,300 ppm이 높고 엽장과 엽무게는 1,000 ppm에서 높게 확인되었다. 생육량으로 확인된 결과로 생육기간 모두 1,000 ppm에서 생육량이 가장 높은 것으로 판단하였다.

작물	정식 후 기간	이산화탄소 수준	엽폭(mm)	엽장(mm)	엽무게(g)
신흥쌈배 추	1주차	400 ppm	84.7	119.3	2.2
		700 ppm	85.7	124.0	2.5
		1,000 ppm	92.7	141.3	3.2
		1,300 ppm	81.3	121.7	2.3
		1,600 ppm	83.3	116.0	2.2
	2주차	400 ppm	121.0	176.3	5.1
		700 ppm	128.7	181.3	6.2
		1,000 ppm	137.0	209.7	8.1
		1,300 ppm	138.3	178.0	6.1
		1,600 ppm	119.3	170.7	5.3

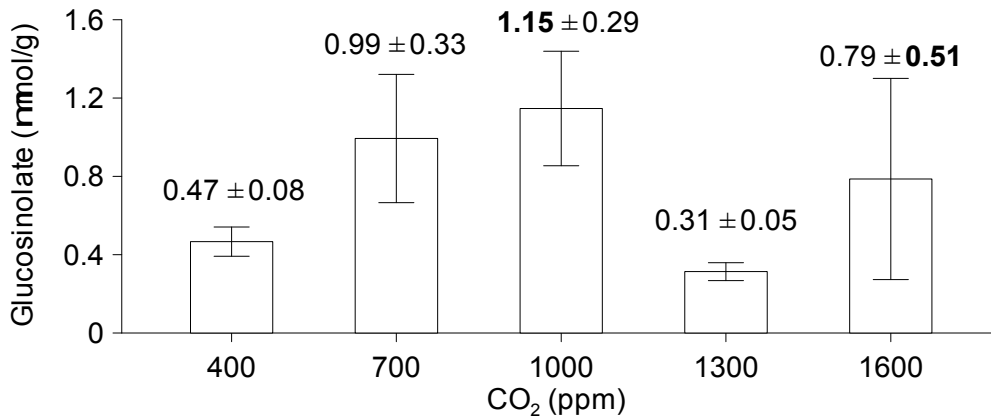
④ 1 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

CO ₂ (ppm)	Avg.	Std.	Max.	Min.
400	0.47	0.18	0.64	0.29
700	0.65	0.25	0.83	0.37
1000	0.98	0.42	1.46	0.66
1300	1.00	0.14	1.08	0.83
1600	0.73	0.15	0.87	0.58



⑤ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

CO ₂ (ppm)	Avg.	Std.	Max.	Min.
400	0.47	0.08	0.54	0.39
700	0.99	0.33	1.34	0.69
1000	1.15	0.29	1.46	0.88
1300	0.31	0.05	0.34	0.26
1600	0.79	0.51	1.37	0.40



1주차 신흥삼배추의 Glucosinolate 함량은 1,300 ppm에서 1.00 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높았고 2주차에서도 마찬가지로 1,300 ppm에서 1.11 $\mu\text{mol/g}$ 로 가장 높은 함량을 보였다.

(2) 케일

(가) 광원

① 성장 조건

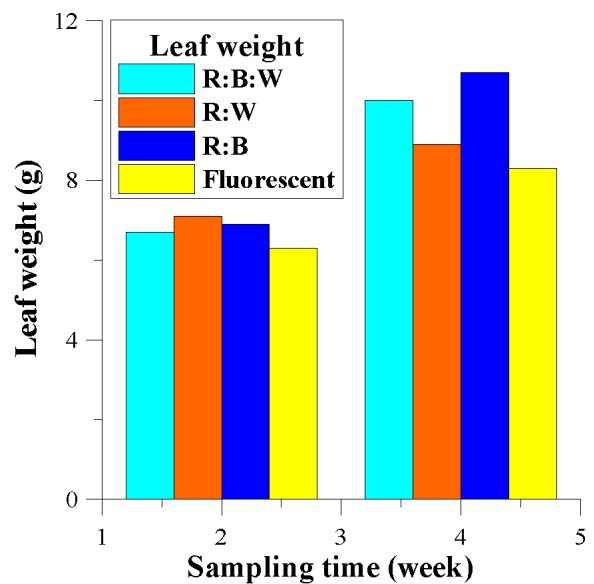
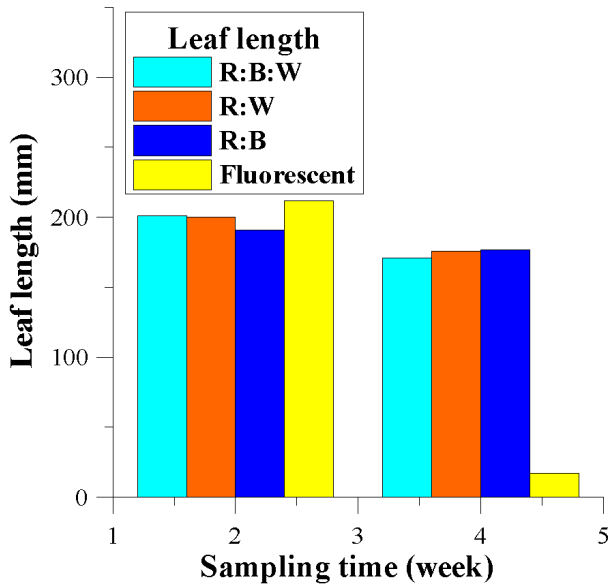
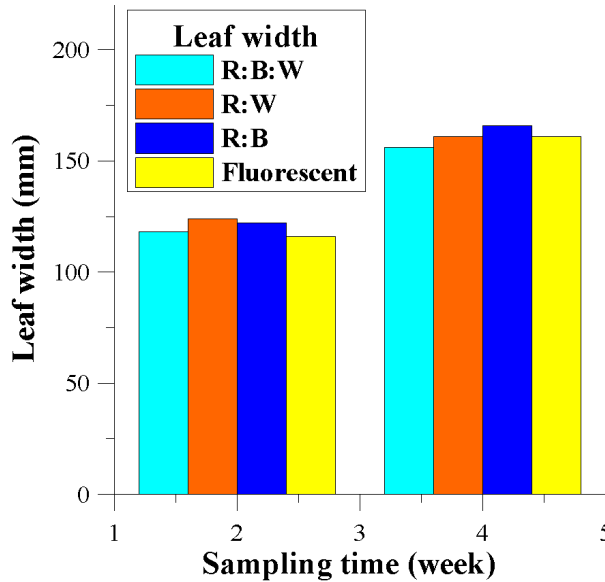
항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	습도 (%)	65 \pm 5
목표	광원	CO ₂ (ppm)	1000 \pm 100
광원	R : B : W R : B R : W Fluorescent	광주기 (h)	16/8
온도 (°C)	20 \pm 1	pH	6.0 \pm 0.5
광량 ($\mu\text{mol/m}^2 \times \text{s}$)	160	EC (dS/m)	1.2 \pm 0.1

② 실험 방법

광원은 형광등(36W * 4)과 LED를 11:4:3, 11:7:0, 11:0:7 (Red:Blue:White)로 조합을 하여 총 4수준의 광원으로 실험을 하였다. 육묘용 스펀지에 파종 후 육묘

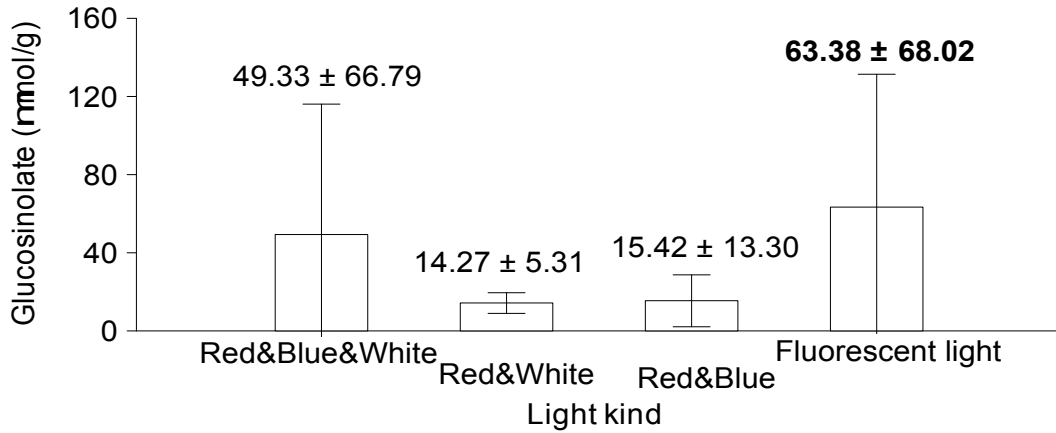
를 하는 기간에는 형광등에서 모두 재배를 하였고 정식할 때 4수준의 광으로 구분을 해주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한번씩 실시하였고 각 광에서 3반복을 하였으며 총 2, 4, 6주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.

③ 실험 결과



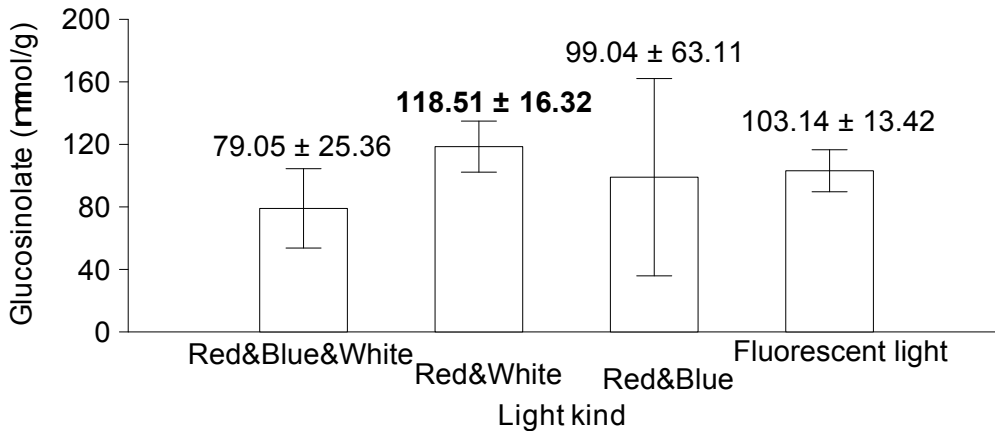
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

종류	Avg.	Std.	Max.	Min.
LED R&B&W	49.33	66.79	126.38	7.80
LED R&W	14.27	5.31	19.99	9.51
LED R&B	15.42	13.30	30.12	4.21
형광등	63.38	68.02	140.54	12.10



⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

종류	Avg.	Std.	Max.	Min.
LED R&B&W	79.05	25.36	105.18	54.53
LED R&W	118.51	16.32	136.06	103.78
LED R&B	99.04	63.11	150.89	28.77
형광등	103.14	13.42	116.33	89.50



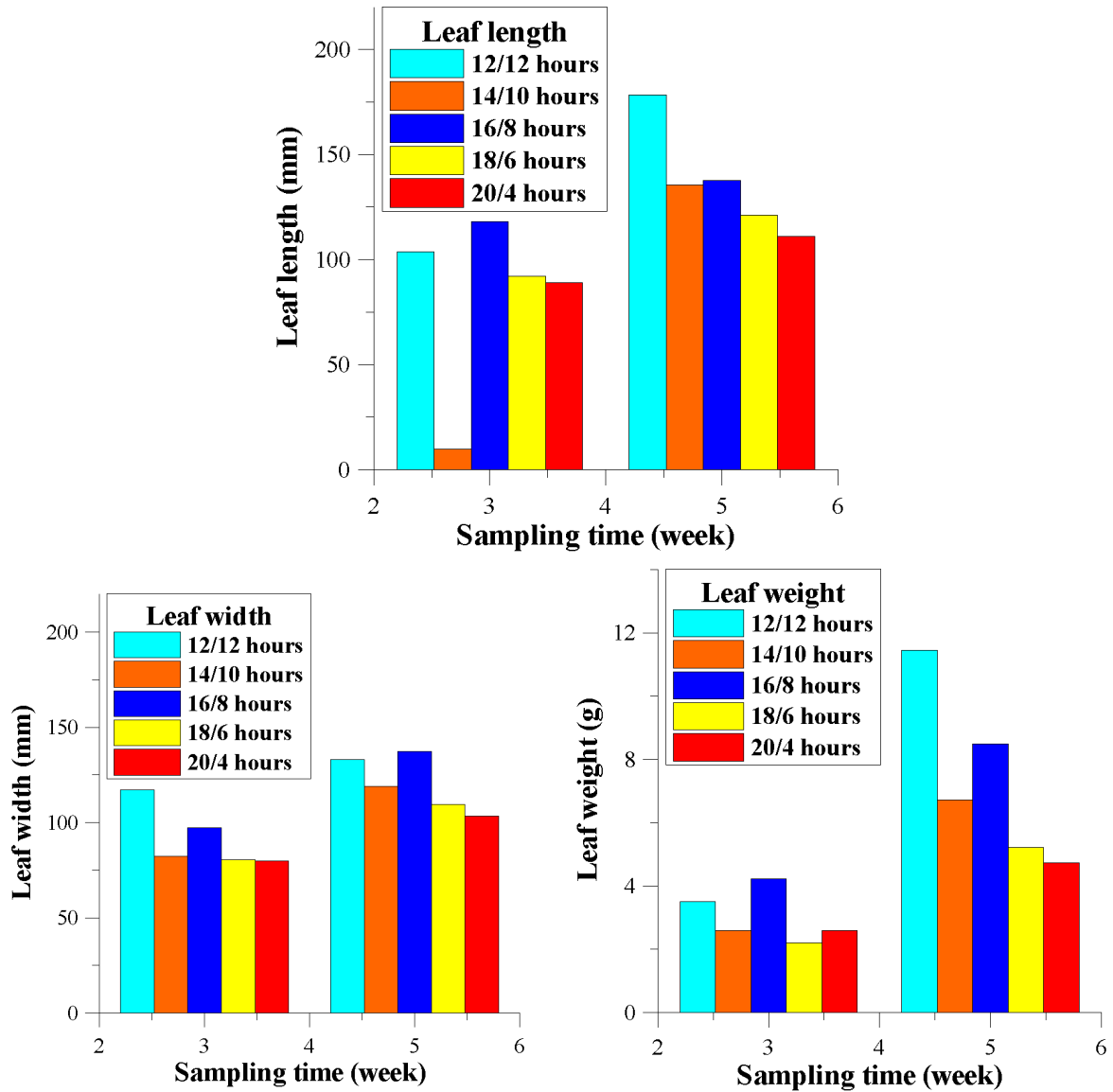
(나) 광주기

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
목표	광주기	광주기 (h)	12/12; 14/10; 16/8; 18/6; 20/4
광원	R : B : W	pH	6.0 ± 0.5
온도 (°C)	20 ± 1	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
습도 (%)	65 ± 5	광량 ($\mu\text{mol/m}^2 \times \text{s}$)	160

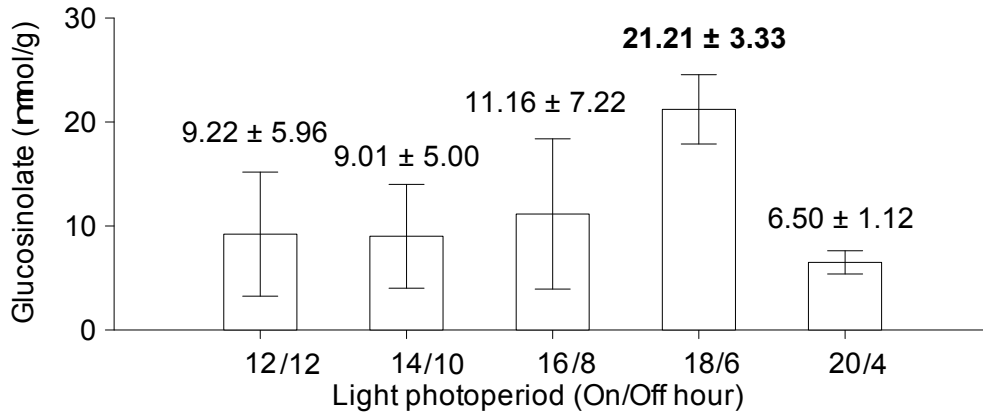
② 실험 방법

기본 광주기는 16/8(day/night) hours로 유지시켜 주었고 각 재배 배드는 광주기는 20/4, 18/6, 16/8, 14/6, 12/12(day/night) hours로 다르게 조사시켜 주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한 번씩 실시하였고 각 재배 배드 3반복 하였으며 총 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.



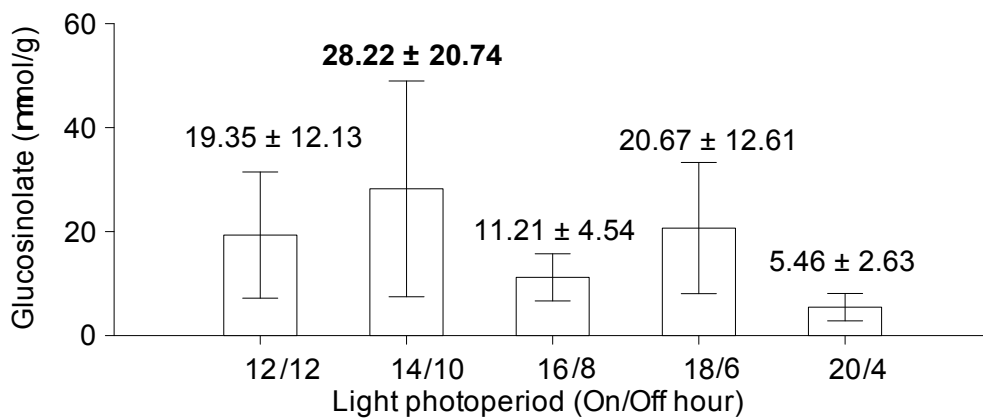
③ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

광주기	Avg.	Std.	Max.	Min.
on 12h / off 12h	9.22	5.96	14.13	2.58
on 14h / off 10h	9.01	5.00	14.54	4.82
on 16h / off 8h	11.16	7.22	17.16	3.14
on 18h / off 6h	21.21	3.33	23.20	17.37
on 20h / off 4h	6.50	1.12	7.68	5.46



④ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

광주기	Avg.	Std.	Max.	Min.
on 12h / off 12h	19.35	12.13	27.06	5.36
on 14h / off 10h	28.22	20.74	52.16	15.58
on 16h / off 8h	11.21	4.54	14.40	6.01
on 18h / off 6h	20.67	12.61	29.59	11.75
on 20h / off 4h	5.46	2.63	8.22	2.98



(다) 광량

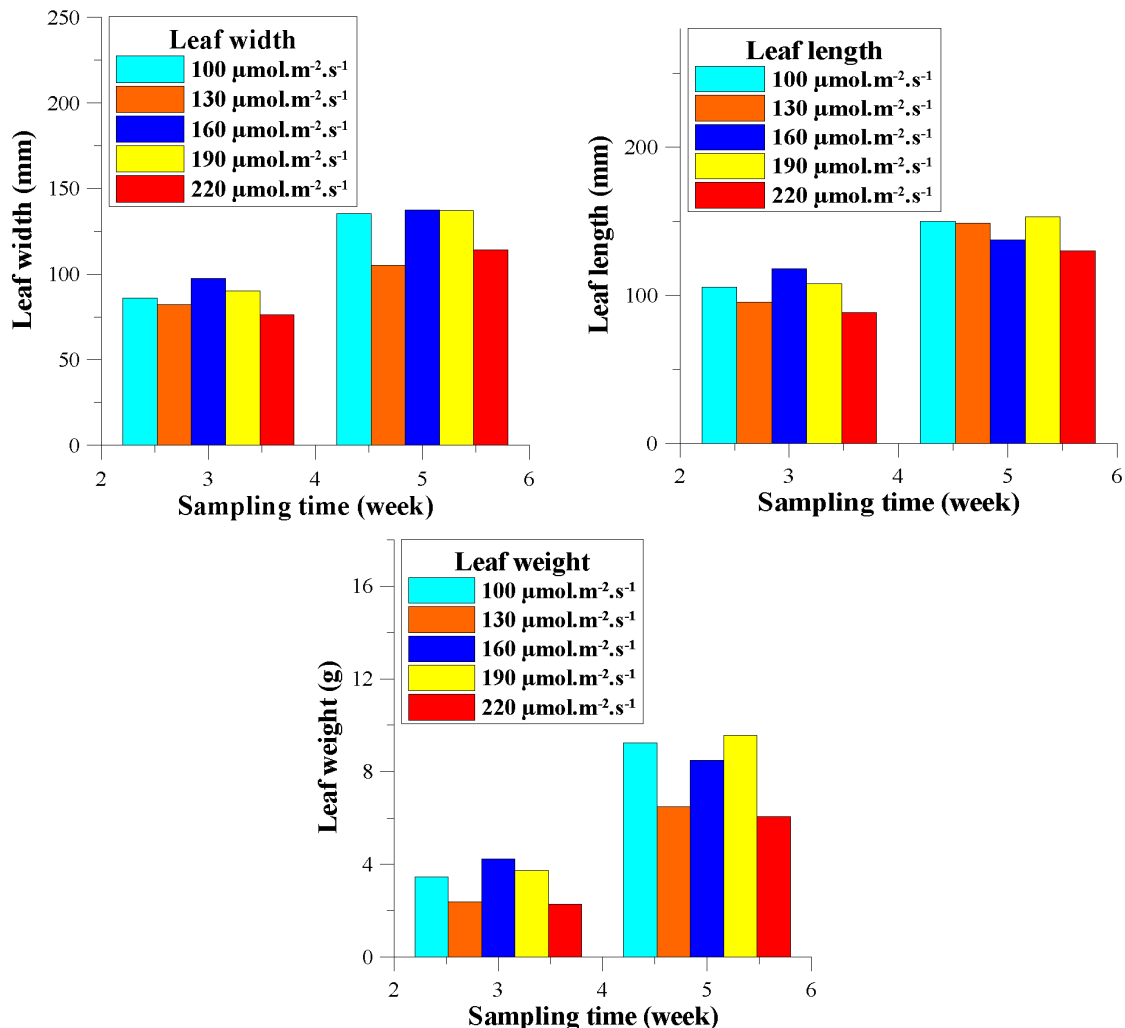
① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
목표	광량	광주기 (h)	16/8
광원	R : B : W	pH	6.0 ± 0.5
온도 (°C)	20 ± 1	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
습도 (%)	65 ± 5	광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	100; 130; 160; 190; 220

② 실험 방법

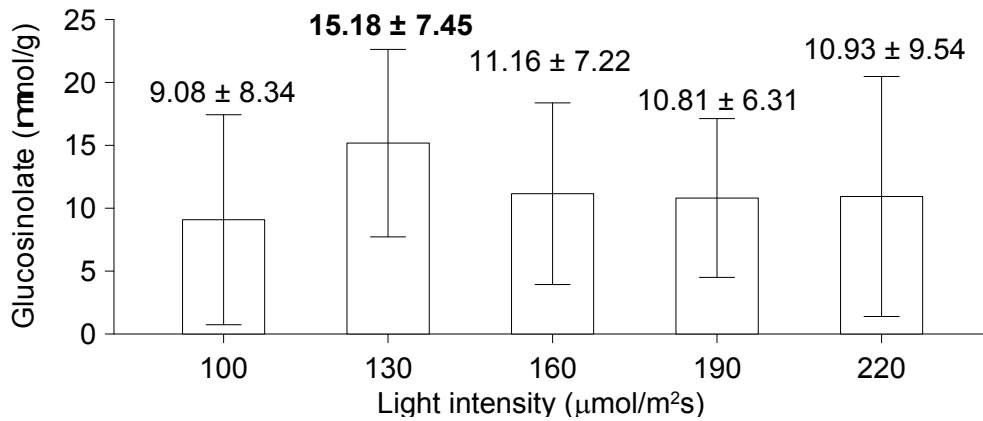
기본 광량과 광주기는 $160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 16/8(day/night) hours로 유지시켜 주었고 각 재배 배드는 광량은 PPF로 재배 배드 평균 100, 130, 160, 190, 220 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 로 다르게 조사시켜 주었다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한번씩 실시하였고 각 재배 배드 3반복 하였으며 총 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 하였다.

③ 실험 결과



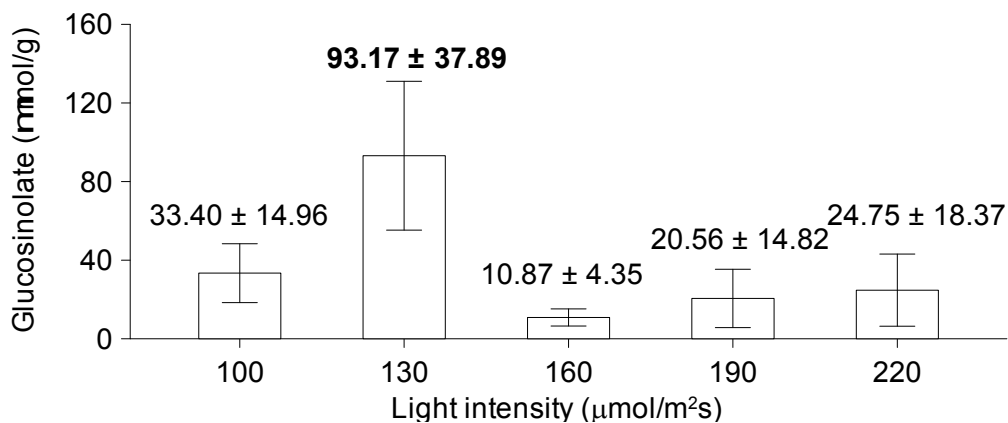
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

광량 ($\mu\text{mol/m}^2\text{s}$)	Avg.	Std.	Max.	Min.
100	9.08	8.34	18.63	3.18
130	15.18	7.45	21.75	7.08
160	11.16	7.22	17.16	3.14
190	10.81	6.31	18.06	6.57
220	10.93	9.54	21.92	4.83



⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

광량 ($\mu\text{mol/m}^2\text{s}$)	Avg.	Std.	Max.	Min.
100	33.40	14.96	48.34	18.43
130	93.17	37.89	131.53	55.77
160	10.87	4.35	14.40	6.01
190	20.54	14.82	37.22	8.88
220	24.75	18.37	36.05	3.55



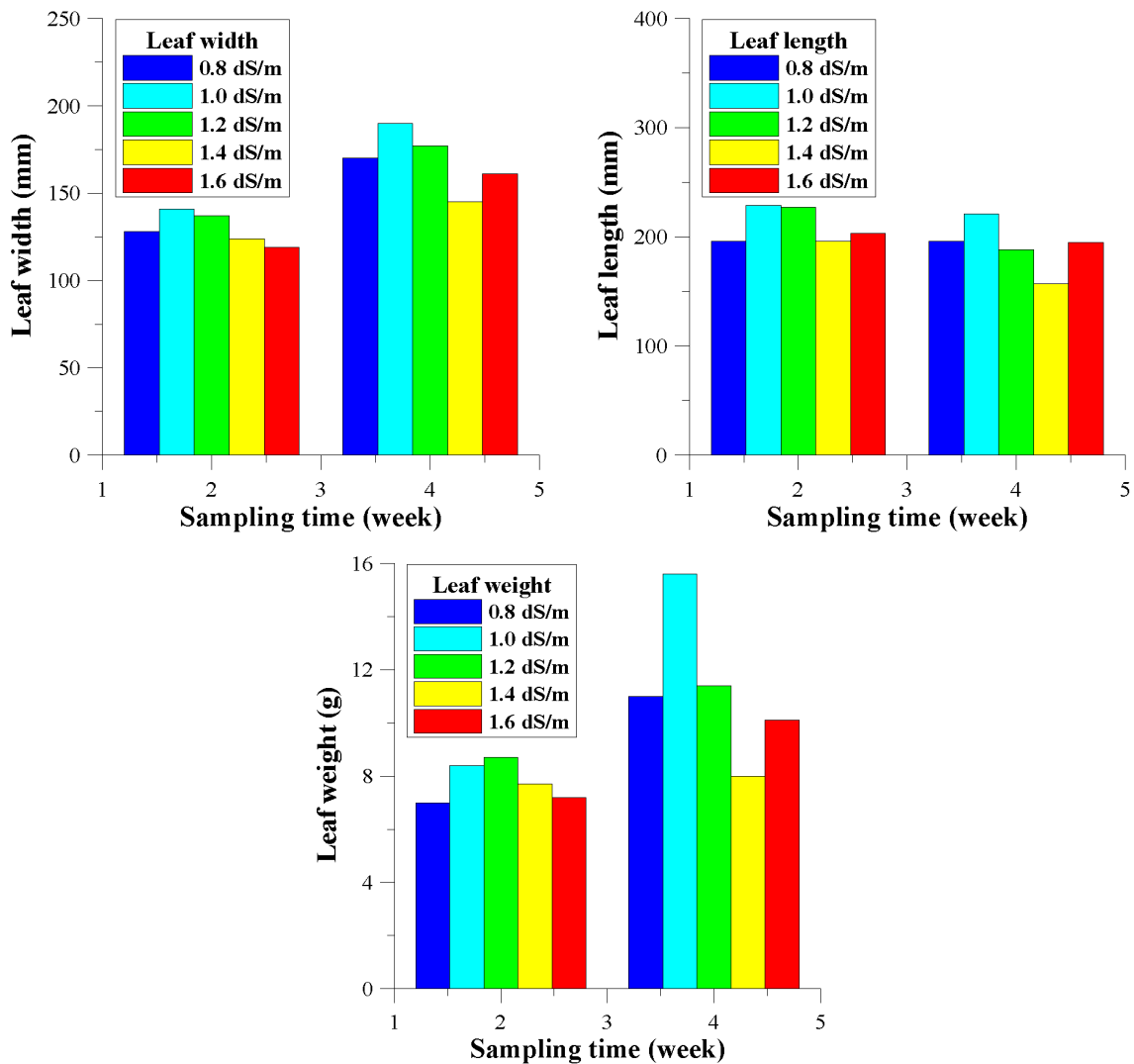
(라) 전기 전도도

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
목표	EC 5수준	광주기 (h)	16/8
광원	R : B : W	pH	6.0 ± 0.5
온도 (°C)	20 ± 1	EC (dS/m)	0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 ± 0.1
습도 (%)	65 ± 5	광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	160

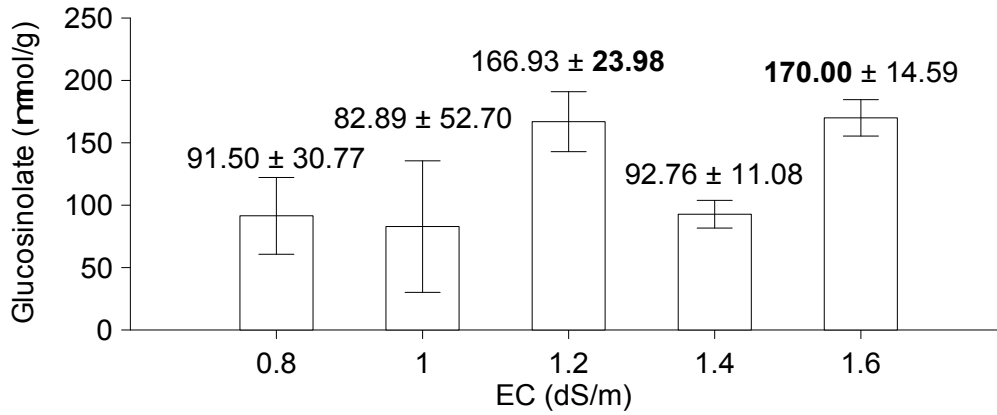
② 실험 방법 : 전기전도도의 5가지 단계인 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 dS/m 케일의 전기전도도를 측정하기 위해 유지했다.

③ 실험 결과



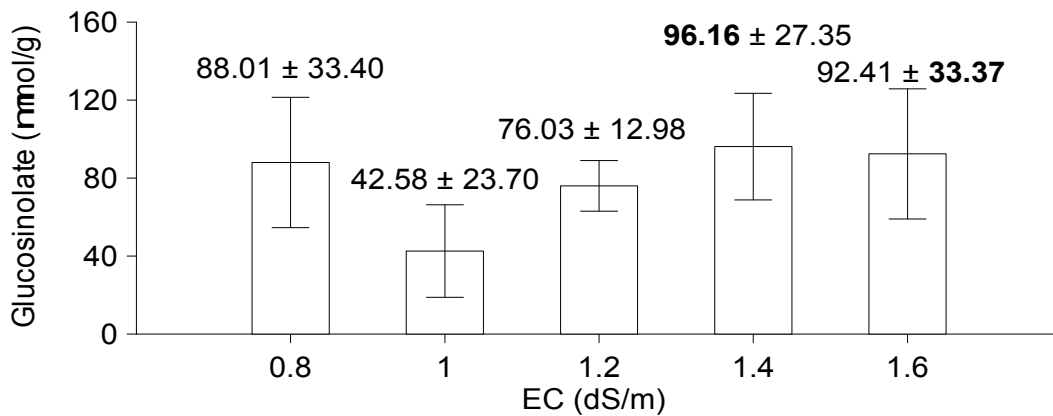
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

전기 전도도 (dS/m)	Avg.	Std.	Max.	Min.
0.8	91.50	30.77	111.42	56.06
1.0	82.89	52.70	139.44	35.16
1.2	166.93	23.98	188.28	140.99
1.4	92.76	11.08	104.34	82.26
1.6	170.00	14.59	183.20	154.33



⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

전기전도도 (dS/m)	Avg.	Std.	Max.	Min.
0.8	88.01	33.40	126.50	66.68
1.0	42.58	23.70	68.11	21.28
1.2	76.03	12.98	84.93	61.14
1.4	96.16	27.35	112.80	64.59
1.6	92.41	33.37	122.23	56.37



(마) 온도

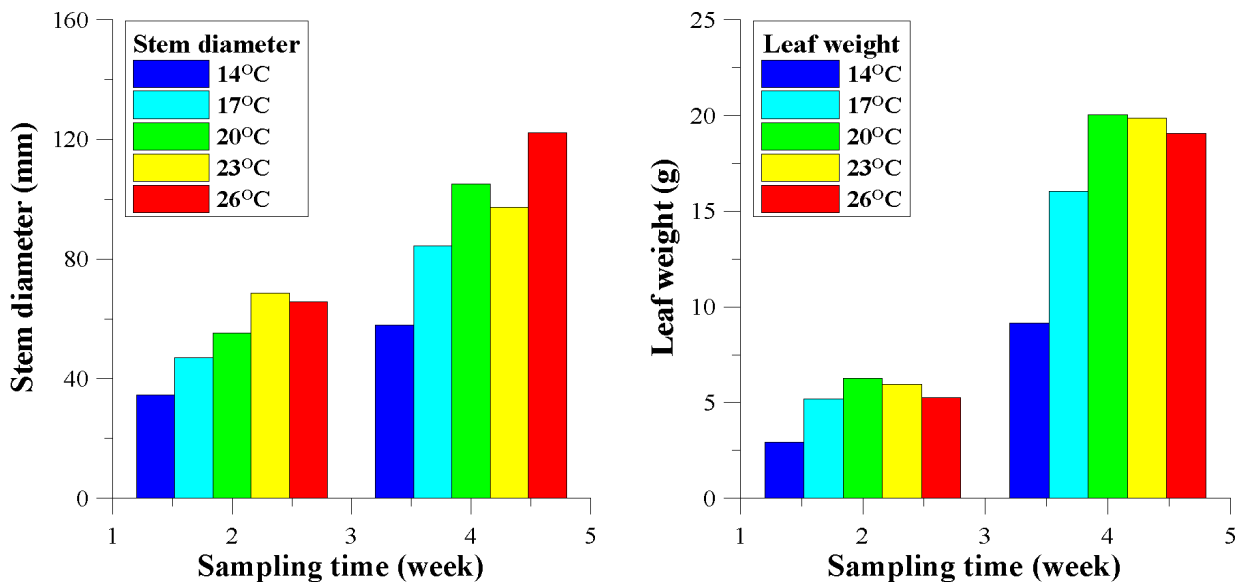
① 성장 조건

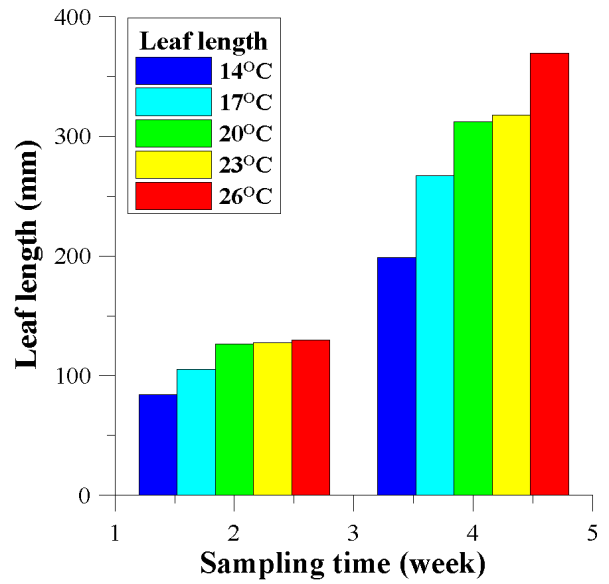
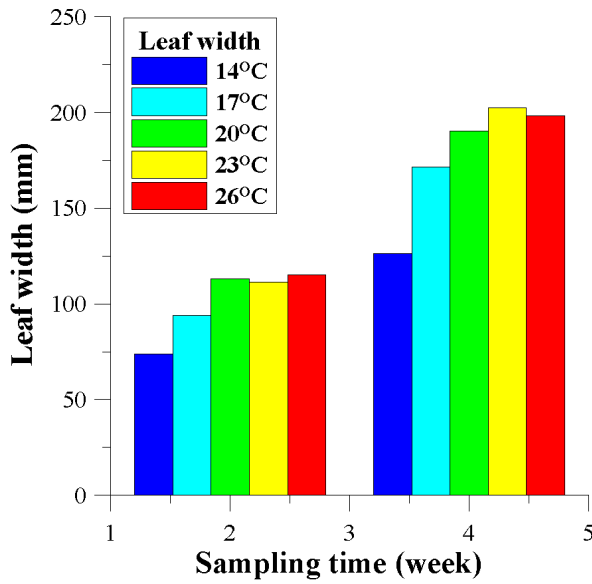
항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	습도(%)	65 ±5
목표	온도 5수준에 따른 작물 재배 실험	CO ₂ (ppm)	1000 ±100
광원	R : B : W	광주기(h)	16/8
온도(°C)	14; 17; 20; 23; 26	pH	6.5 ±0.5
광량(μmol/m ² ×s)	200	EC (dS/m)	1.2 ±0.1

② 실험 방법

온도는 5개의 수준으로 기준 온도인 20°C에서 3°C씩 증감하여 14, 17, 20, 23, 26 ±1°C로 설정하였다. 파종은 1월 25일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 3월 11일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 정식 후 2주에 한 번씩 실시하였고 각 온도 수준에서 2반복을 하였으며 2, 4주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

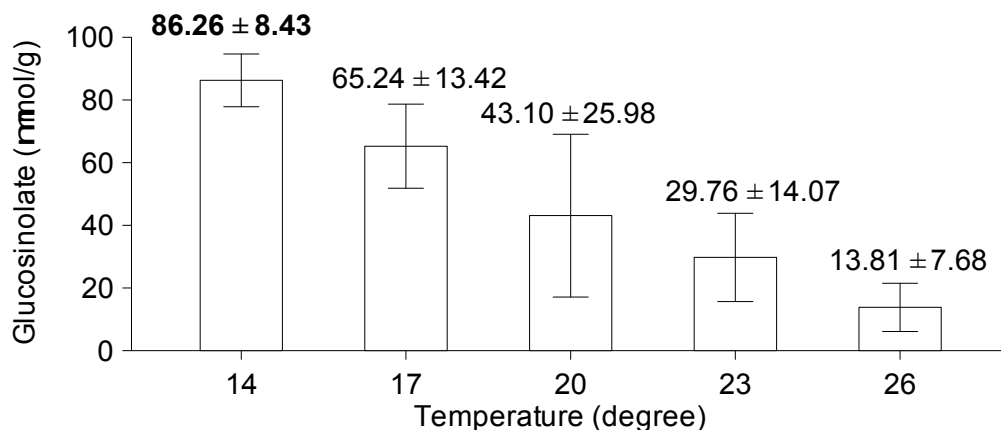
③ 실험 결과





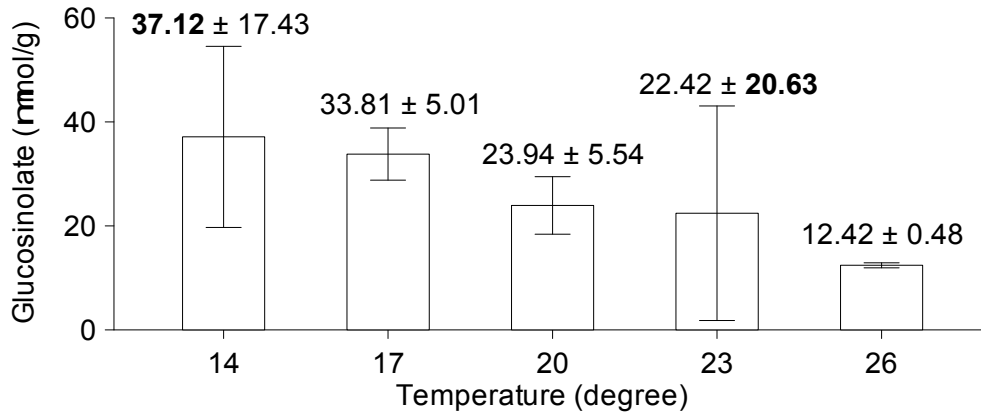
④ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

온도 (°C)	Avg.	Std.	Max.	Min.
14	86.26	8.43	92.22	80.30
17	65.24	13.42	76.78	50.52
20	43.10	25.98	61.47	24.73
23	29.76	14.07	45.42	18.17
26	13.81	7.68	22.68	9.36



⑤ 4 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

온도(°C)	Avg.	Std.	Max.	Min.
14	37.12	17.43	50.51	17.42
17	33.81	5.01	37.49	28.10
20	30.07	19.31	23.94	5.54
23	22.42	20.63	41.18	0.33
26	12.42	0.48	12.96	12.04



(바) 습도

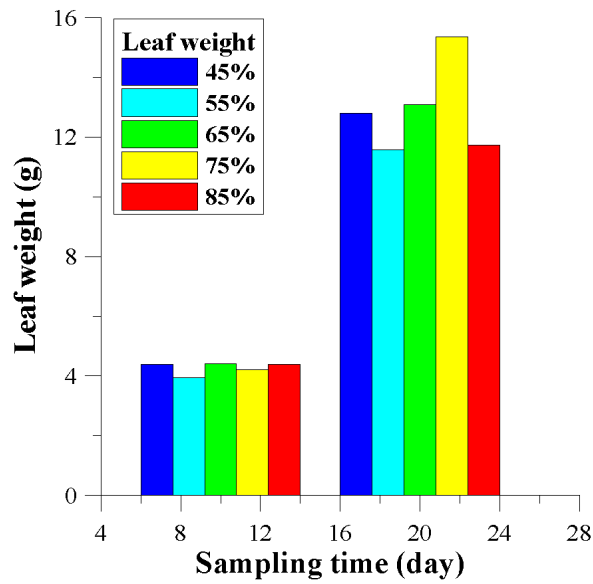
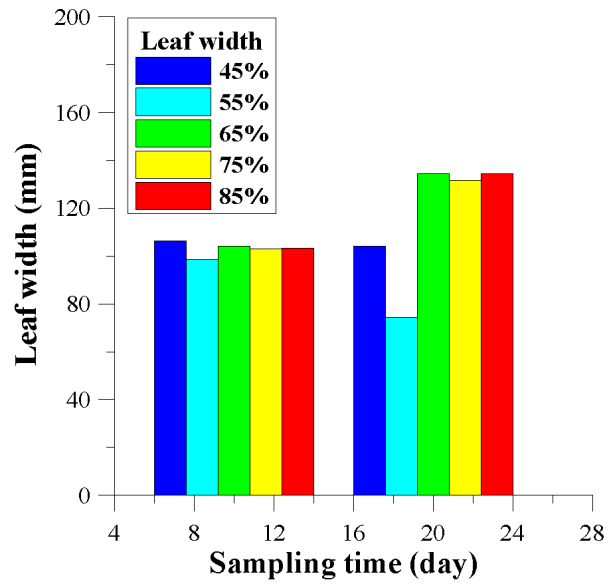
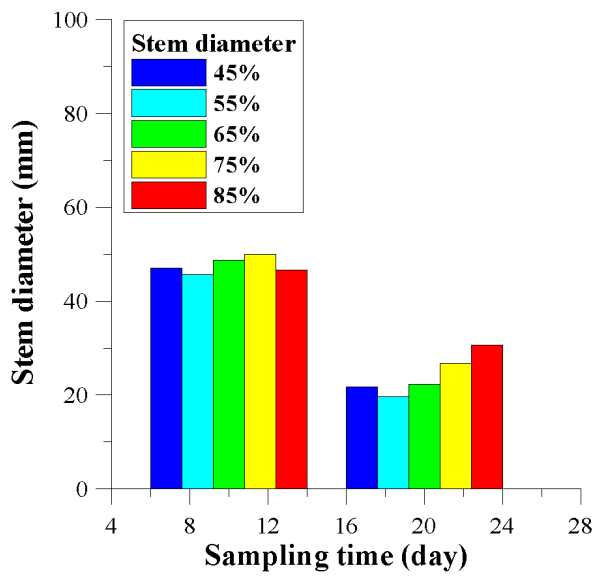
① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	광주기 (h)	16/8
목표	습도 5수준에 따른 작물 재배 실험	pH	6.5 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 (μmol/m ² ×s)	200
습도 (%)	45; 55; 65; 75; 85 ± 5	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100

② 실험 방법

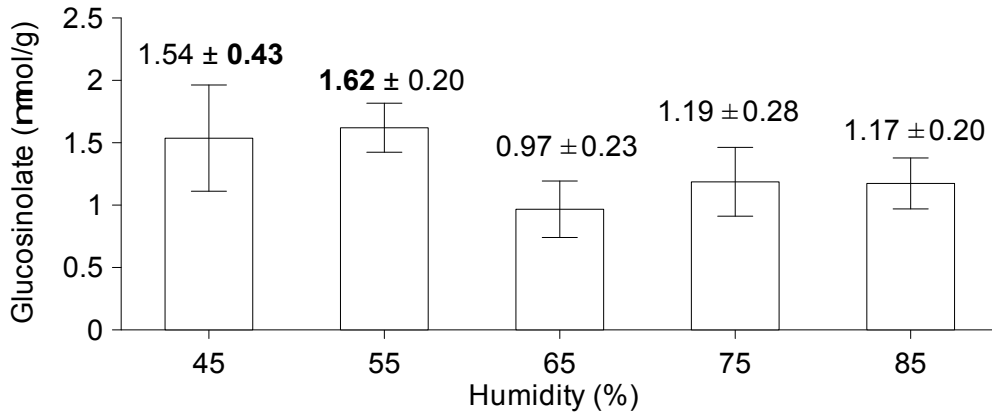
습도는 5개의 수준으로 기준 습도인 65%에서 10%씩 증감하여 45, 55, 65, 75, 85±5%로 설정하였다. 파종은 4월 25일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 5월 13일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 작물의 생장이 20일정도면 노화가 진행되고 크기가 커지기 때문에 그 이후 실험은 적합하지 않다고 판단하여 정식 후 10일에 한 번씩 실시하였고 각 온도 수준에서 2반복을 하였으며 10, 20일차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

③ 실험 결과



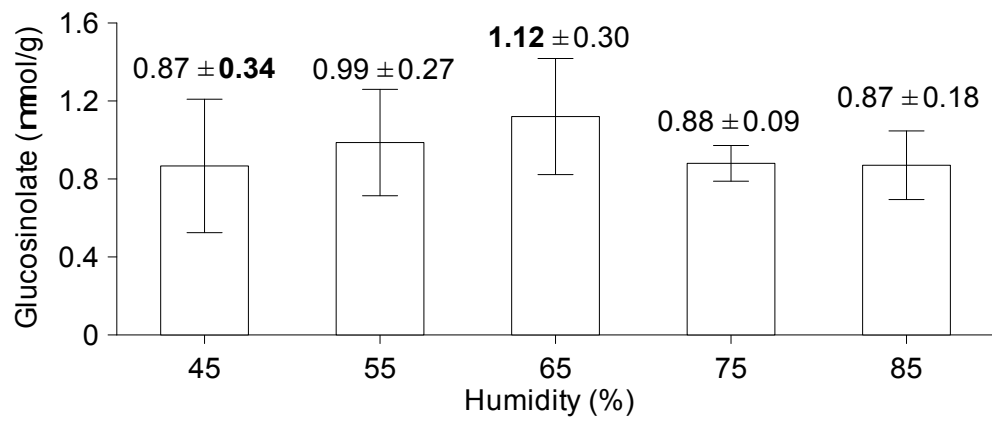
④ 10 일차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

습도(%)	Avg.	Std.	Max.	Min.
45	1.54	0.43	1.84	1.05
55	1.62	0.20	1.80	1.41
65	0.97	0.23	1.18	0.73
75	1.19	0.28	1.50	0.98
85	1.17	0.20	1.32	0.94



⑤ 20 일차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

습도(%)	Avg.	Std.	Max.	Min.
45	0.87	0.34	1.26	0.64
55	0.99	0.27	1.30	0.80
65	1.12	0.30	1.45	0.87
75	0.88	0.09	0.96	0.78
85	0.87	0.18	1.00	0.67



(사) CO₂

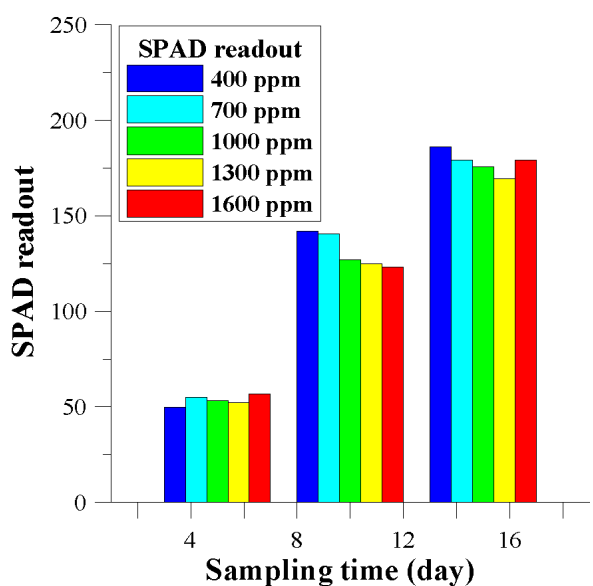
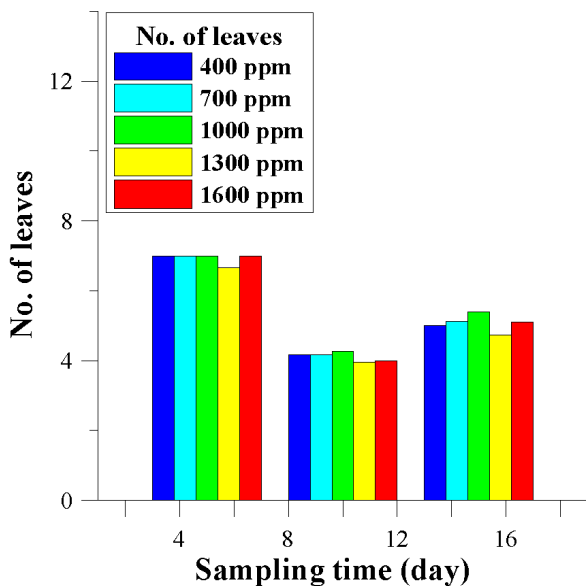
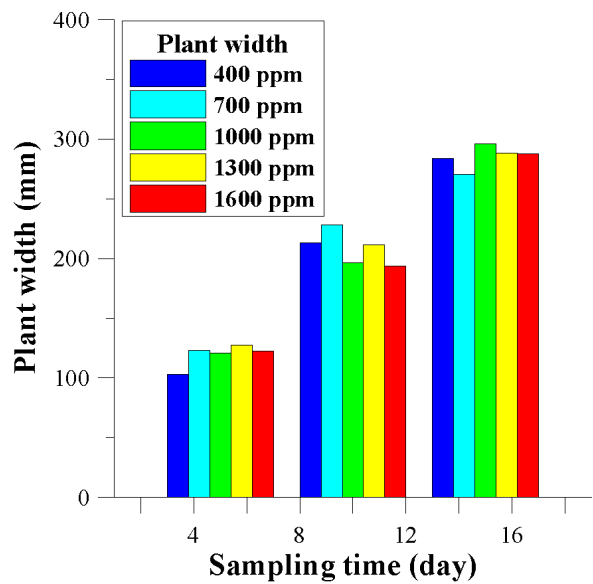
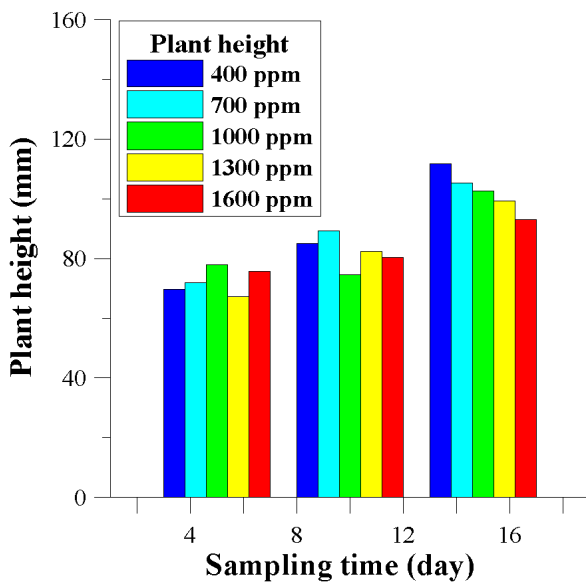
① 성장 조건

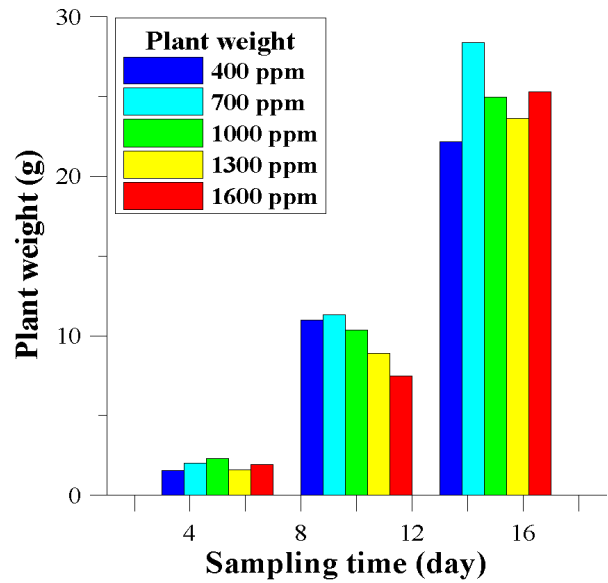
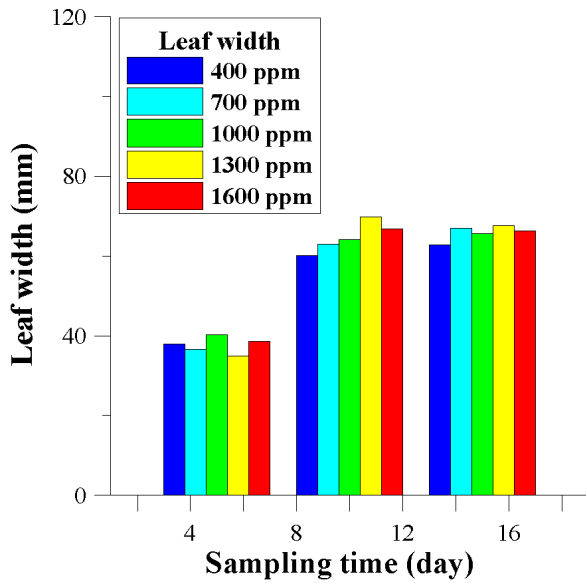
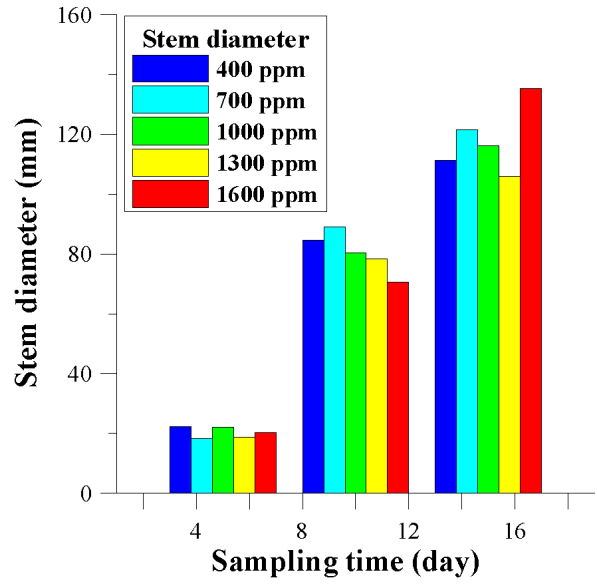
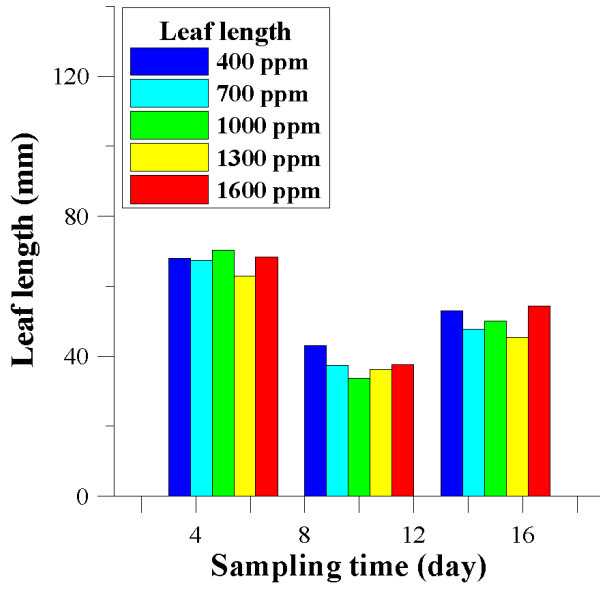
항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱 케일	광주기 (h)	16/8
목표	이산화탄소 5수준에 따른 작물 재배 실험	pH	6.5 ± 0.5
광원	R : B : W	EC (dS/m)	1.2 ± 0.1
온도 (°C)	20 ± 1	광량 ($\mu\text{mol/m}^2 \times \text{s}$)	200
습도 (%)	65 ± 5	CO ₂ (ppm)	400, 700, 1000, 1300, 1600 ± 100

② 실험 방법

이산화탄소 농도는 5개의 수준으로 기준 이산화탄소 농도인 1000 ppm에서 300 ppm씩 증감하여 400, 700, 1,000, 1,300, 1,600±100 ppm으로 설정하였다. 파종은 5월 20일에 실시하여 11:4:3(Red:Blue:White) 조합의 LED에서 육묘를 실시하였고 정식은 6월 7일에 각 재배단에 신흥쌈배추 12포기와 슈퍼맛짱 12포기를 정식하였다. 샘플 채취는 성장량을 확인 후 샘플 채취가 가능할 것으로 판단하여 정식 후 1주에 한번 씩 실시하였고 각 이산화탄소 수준에서 3반복을 하였으며 1, 2주차에 샘플 채취를 하였다. 각 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정을 실시하였다.

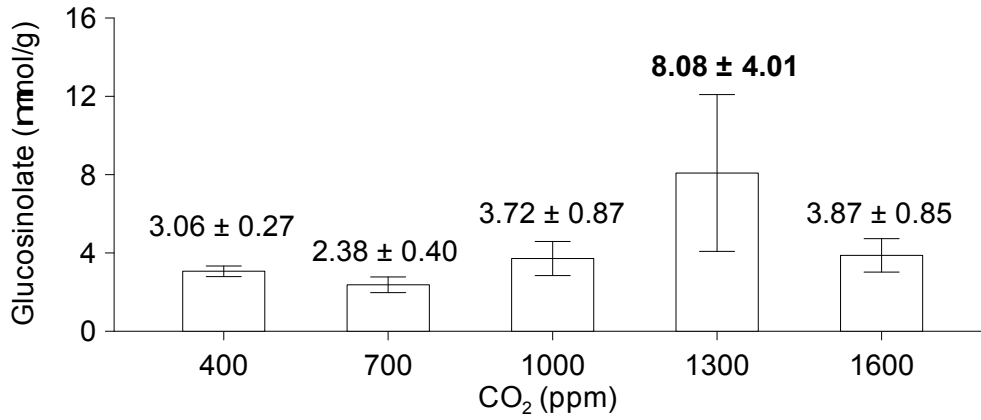
③ 실험 결과





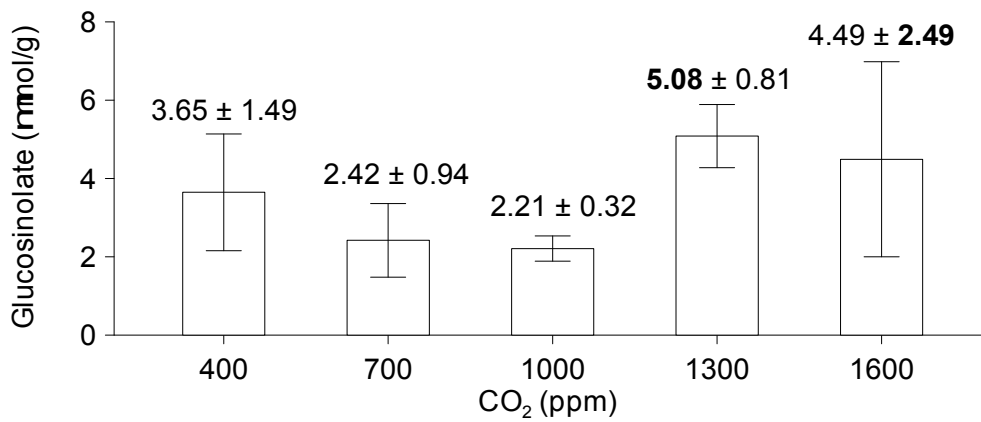
④ 1 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

CO ₂ (ppm)	Avg.	Std.	Max.	Min.
400	3.06	0.27	3.26	2.75
700	2.38	0.40	2.81	2.02
1000	3.72	0.87	4.72	3.13
1300	8.08	4.01	12.57	4.86
1600	3.87	0.85	4.81	3.14



⑤ 2 주차 (단위 : $\mu\text{mol/g}$)

CO ₂ (ppm)	Avg.	Std.	Max.	Min.
400	3.65	1.49	5.37	2.75
700	2.42	0.94	3.49	1.74
1000	2.21	0.32	2.47	1.85
1300	5.08	0.81	6.01	4.54
1600	4.49	2.49	7.33	2.68



나. 작물별 최적조건 2차 재배시험

(1) 배추

(가) 광 조건

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	배추 13-SB31 13-SB32 13-SB33 13-SB34 13-SB35	습도 (%)	55 ± 5
목표	광량, 광주기, 광원	CO ₂ (ppm)	1000 ± 100
광원	R : B : W Fluorescent	광주기 (h)	12/12; 14/10; 16/8
온도 (°C)	26 ± 1	pH	6.5 ± 0.5
광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	130, 160, 190	EC (dS/m)	1.4 ± 0.1

② 실험 방법

실험 환경으로는 130, 160, 190 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 광량과 그리고 12/12, 14/10, 16/8 시간의 광주기로 설정하였고, 5가지 유형의 배추 품종을 사용하였다. 2종류(형광등, LED)의 광원이 적용된 배추는 2013년 12월 19일 파종하여 20일 후인 2014년 1월 15일 정식하였다. 총 288개의 배추의 모종을 정식하였으며 샘플 채취는 정식 후 4주 후에 실시하였다. 샘플 채취 전, 스펙트럼 반사광 측정과 배추의 무게, 길이 너비 측정을 진행하였다.

③ 실험 결과

	조건	배추 종류	식물 무게 (g)	리프 무게 (g)	리프 폭 (mm)	리프 길이 (mm)
광원	형광	13-SB31	32.46	5.62	103.50	209.67
		13-SB32	85.05	10.68	155.00	275.00
		13-SB33	54.02	11.56	155.00	255.00
		13-SB34	61.07	15.71	204.00	273.50
		13-SB35	46.18	8.56	145.00	250.00
	Red:Blue:White	13-SB31	89.92	16.47	195.00	300.00
		13-SB32	240.67	20.56	218.50	315.50
		13-SB33	94.22	12.14	168.00	249.00
		13-SB34	107.33	16.26	205.00	320.00
		13-SB35	94.67	8.20	147.00	217.00
광량	130 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	13-SB31	59.18	8.94	143.00	250.00
		13-SB32	240.00	15.65	209.00	276.50
		13-SB33	84.00	12.17	169.50	236.00
		13-SB34	100.00	14.69	185.00	298.00
		13-SB35	99.00	5.60	127.50	187.50
	160 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	13-SB31	89.92	16.47	195.00	300.00
		13-SB32	240.67	20.56	218.50	315.50
		13-SB33	94.22	12.14	168.00	249.00
		13-SB34	107.33	16.26	205.00	320.00
		13-SB35	94.67	8.20	147.00	217.00
	190 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	13-SB31	48.40	8.28	155.5	243.50
		13-SB32	196.00	10.02	162.00	277.50
		13-SB33	95.34	6.90	145.00	202.50
		13-SB34	115.00	7.36	142.50	202.50
		13-SB35	31.66	8.35	145.00	240.00
광주기	12/12 hours	13-SB31	32.39	4.95	126.50	231.50
		13-SB32	95.00	8.38	153.50	255.50
		13-SB33	32.48	5.52	127.00	191.50
		13-SB34	237.00	5.86	135.50	210.50
		13-SB35	47.52	5.05	131.50	198.50
	14/10 hours	13-SB31	89.92	16.47	195.00	300.00
		13-SB32	240.67	20.56	218.50	315.50
		13-SB33	94.22	12.14	168.00	249.00
		13-SB34	107.33	16.26	205.00	320.00
		13-SB35	94.67	8.20	147.00	217.00
	16/8 hours	13-SB31	22.28	5.53	126.50	221.00
		13-SB32	63.24	15.95	203.00	312.50
		13-SB33	81.00	9.35	146.50	235.00
		13-SB34	118.00	9.96	171.50	250.00
		13-SB35	69.00	9.88	162.50	234.50

(나) 대기 온도 (온도, 습도, CO₂)

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	배추 13-SB31 13-SB32 13-SB33 13-SB34 13-SB35	습도 (%)	45, 55, 65 ± 5
목표	온도, CO ₂ , 습도	CO ₂ (ppm)	700, 1000, 1300 ± 100
광원	R : B : W	광주기 (h)	14/10
온도 (°C)	23, 26, 29 ± 1	pH	6.5 ± 0.5
광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	160	EC (dS/m)	1.2; 1.4; 1.6 ± 0.1

② 실험 방법

실험 방법으로는 700, 1000, 1300 ppm 의 CO₂농도와 45, 55, 65%의 습도에 따라 배추의 생육 정도를 측정하였고, 5가지 유형의 배추 품종을 사용하였다. 실험에 사용된 배추는 2013년 12월 19일 파종하여 20일 후인 2014년 1월 15일 정식하였다. 총 450개의 배추의 모종을 정식하였으며 샘플 채취는 정식 후 4주 후에 실시하였다. 샘플 채취 전, 스펙트럼 반사광 측정과 배추의 무게, 길이 너비 측정을 진행하였다.

본 실험에서는 식물 공장에서 종류의 배추를 재배하기 위해 3단계 수준의 온도를 설정하였다. 배추는 6월 1일에 파종하였고 모종은 20 일 후 (7월 15일)에 재배 침대에 정식하였다. 총 96개의 배추모종을 정식하였다. 샘플 채취는 정식 후 4주차에 하였다. 채취 전에는 각 샘플의 무게와 스펙트럼 반사광 측정, 잎의 무게, 길이, 너비를 측정하였다.

③ 실험 결과

	조건	배추품종	무게 (g)	잎 무게 (g)	너비 (mm)	길이 (mm)
온도	23 ^o C	13-SB31	70	3.56	95	150
		13-SB32	66.50	4.58	87	155
		13-SB33	58.97	4.46	95	162
		13-SB34	60.33	5.05	101	149
		13-SB35	60	5.64	98	159
	26 ^o C	13-SB31	76.85	5.23	105	162
		13-SB32	74	6.49	110	171
		13-SB33	60.13	6.48	113	168
		13-SB34	61.25	4.90	94	148
		13-SB35	64	6.37	90	175
	29 ^o C	13-SB31	72.72	5.19	93	149
		13-SB32	88	3.98	79	153
		13-SB33	64	6.37	98	160
		13-SB34	54.13	6	90	171
		13-SB35	61.38	4.84	89	154
CO ₂	700 ppm	13-SB31	34.63	9.12	154	230
		13-SB32	71.15	9.25	156	230
		13-SB33	41.72	13.86	200	280
		13-SB34	63.21	15.71	208	320
		13-SB35	26.78	8.34	145	232
	1000 ppm	13-SB31	76.85	13.10	198	280
		13-SB32	118.00	13.69	170	315
		13-SB33	114.00	20.72	230	321
		13-SB34	120.00	13.73	196	275
		13-SB35	114.00	9.44	150	220
	1300 ppm	13-SB31	74.00	11.50	146	270
		13-SB32	88.00	6.37	140	230
		13-SB33	52.00	18.39	223	300
		13-SB34	46.56	12.91	195	253
		13-SB35	144.00	8.18	144	200
습도	45%	13-SB31	32.40	8.46	154	247
		13-SB32	92.00	6.44	148	207
		13-SB33	48.28	8.10	146	227
		13-SB34	166.00	13.71	190	270
		13-SB35	51.00	8.52	145	260
	55%	13-SB31	76.85	13.10	198	280
		13-SB32	118.00	13.69	170	315
		13-SB33	114.00	20.72	230	321
		13-SB34	120.00	13.73	196	275
		13-SB35	114.00	9.44	150	220
	65%	13-SB31	58.97	6.48	130	252
		13-SB32	186.00	15.07	202	316
		13-SB33	54.13	10.78	158	223
		13-SB34	112.00	7.92	135	247
		13-SB35	112.00	8.19	146	240

(2) 케일

(가) 광 조건

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱케일	습도 (%)	65 ± 5
목표	광량, 광주기, 광원	CO ₂ (ppm)	1300 ± 100
광원	R : W Fluorescent	광주기 (h)	12/12; 14/10; 16/8
온도 (°C)	17 ± 1	pH	6.5 ± 0.5
광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \times \text{s}$)	100; 130; 160	EC (dS/m)	1.4 ± 0.1

② 실험 방법

식물 공장에서 케일을 재배하기 위해 광량은 3 단계 수준 (100, 130, 160 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 광주기는 (주야간: 12/12, 14/10, 16/8 시간) 으로 설정하였다. 광원은 형광등과 LED Red : White (11:7) 가 사용되었다. 케일은 6월 5일에 파종하였고 모종은 15일 후 (7월 15일) 정식하였다. 총 192개의 케일모종이 정식되었으며, 샘플 채취는 정식 후 4주차에 하였고 샘플 채취 전에는 스펙트럼 반사광 측정과 잎 무게, 길이, 너비, 무게를 측정하였다.

③ 실험 결과

	조건	무게 (g)	잎 무게 (g)	너비 (mm)	길이 (mm)
광원	형광등	41.76	4.36	136	150
	Red:White	54.13	4.64	123	151
광량	100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	48.28	3.35	112	142
	130 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	52.65	3.54	127	163
	160 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	45.25	3.46	115	145
광주기	12/12 hours	60	4.14	124	147
	14/10 hours	62.76	4.30	141	161
	16/8 hours	64	4.12	133	170

(나) 대기 온도

① 성장 조건

항목	목표 조건	항목	목표 조건
재배 품종	슈퍼맛짱케일	습도 (%)	55, 65, 75 ± 5
목표	온도, CO ₂ 습도	CO ₂ (ppm)	1000, 1300, 1600 ± 100
광원	R : W	광주기 (h)	14/10
온도 (°C)	14, 17, 20 ± 1	pH	6.5 ± 0.5
광량 (μmol/m ² ×s)	130	EC (dS/m)	1.4 ± 0.1

② 실험 방법

본 실험에서는 식물 공장에서 케일을 재배하기 위해 3단계 수준의 CO₂(1000,1300,1600 ppm)와 습도 (55, 65, 75%)를 설정하였다. 케일은 6월 1일에 파종하였고 모종은 15 일 후 (6월 15일)에 재배 침대에 정식하였다. 총 75개의 케일모종을 정식하였다. 샘플 채취는 정식 후 4주차에 하였다. 채취 전에는 각 샘플의 무게와 스펙트럼 반사광 측정, 잎의 무게, 길이, 너비를 측정하였다.

③ 실험 결과

	조건	무게 (g)	잎 무게 (g)	너비 (mm)	길이 (mm)
CO ₂	1000 ppm	76.85	5.14	141	176
	1300 ppm	74	6.36	156	173
	1600 ppm	71.15	5.64	137	171
습도	55%	64	4.64	114	147
	65%	72	5.35	126	145
	75%	63.21	5.2	117	14
온도	140C	54.13	6.20	140	195
	170C	58	6.37	140	230
	200C	51	5.19	115	180

(3) 기능 구성 요소의 요약 결과

(가) Glucosinolates

항목	양배추				
	13-SB31	13-SB32	13-SB33	13-SB34	13-SB35
광 종류	형광등	형광등	R:B:W	형광등	형광등
광량($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	160	190	190	130	160
광주기 (on/off hour)	14/10	12/12	14/10	16/8	12/12
EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1.6	1.6	1.6	1.2	1.6
온도($^{\circ}\text{C}$)	-	-	-	-	-
습도(%)	55	55	55	55	65
CO ₂ (ppm)	700	700	1000	1000	700

(나) Carotenoids

항목	양배추				
	13-SB31	13-SB32	13-SB33	13-SB34	13-SB35
광 종류	R:B:W	형광등	형광등	R:B:W	R:B:W
광량($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	160	190	130	160	160
광주기(on/off hour)	14/10	12/12	12/12	14/10	12/12
EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1.4	1.2	1.2	1.4	1.4
온도($^{\circ}\text{C}$)	-	-	-	-	-
습도(%)	-	-	-	-	-
CO ₂ (ppm)	-	-	-	-	-

다. 관행 재배와의 비교 시험

(1) 재배조건

재배환경		온도($^{\circ}\text{C}$)	습도(%)	광원	CO ₂ (ppm)
식물공장	배추	26 ± 1	55 ± 5	Red : Blue : White (11:4:3)	1000 ± 100
	케일	17 ± 1	65 ± 5	Red : White (11:7)	1300 ± 100
온실		23 ± 1	60 ± 8	-	390 ± 83
노지		18 ~ 23	55 ~ 68	-	-

(2) 재배품종

앞선 실험들과 마찬가지로 재배에 사용된 배추는 품종은 내서성F1, 이서성F1, 신흥쌈배추 3종류로 하였고, 케일의 품종은 슈퍼맛짱, 케일티비시, 에스테 케일을 사용하여 생육 및 기능성 성분에 대한 분석을 진행하였다.

(3) 실험방법

재배는 식물공장, 온실, 노지 세 가지 환경에서 이루어졌으며, 다섯 종

류의 배추와 케일을 사용하였다. 배추와 케일은 4월 25일에 파종하였고 모종은 5월 15일 (20일후)에 정식하였다. 샘플채취는 모종을 정식한지 20일 후에 실시하였고 채취 전 샘플의 무게와 스펙트럼 반사광 측정, 잎의 무게, 길이, 폭을 측정하였다.

(4) 재배과정



< 케일 재배환경: 식물공장(좌), 온실(중간), 외부환경(우) >

정식 후 20일에 배추와 케일의 상태를 확인하였다. 온실에서 자란 배추와 케일이 노지에서 자란 배추가 케일보다 큰 것을 육안으로 확인할 수 있었다. 배추 (신흥쌈배추)는 세가지 재배환경 (식물공장, 온실, 노지)에서 모두 잘 자랐다. 내서성F1, 이서성F1은 두 가지 재배환경 (식물공장, 온실)에서 잘 자랐다. 케일 (슈퍼맛짱)은 세 가지 재배환경 (식물공장, 온실, 노지)에서 모두 잘 자랐다. 케일 티비시, 에스테 케일은 한 가지재배환경 (식물공장)에서 잘 자랐다.





< 배추와 케일 재배환경: 식물공장(좌), 온실(우), 외부환경(아래) >

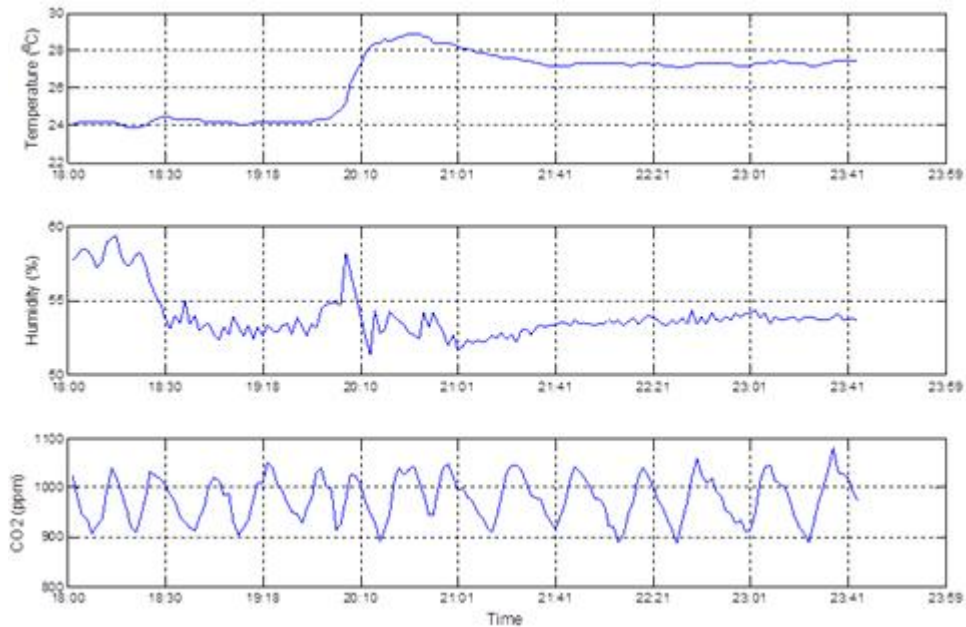
(5) 작물생육

본 실험에서는 재배한 배추와 케일의 상태를 확인하였다. 노지에서 재배한 배추는 온실에서 재배한 배추보다 크기와 무게가 적었다. 세 가지 재배환경 (노지, 식물공장, 온실)에서 재배한 배추 중 신흥쌈배추가 생육이 가장 좋았다. 케일 생육의 경우, 잎의 무게, 길이, 폭이 노지보다 식물공장에서의 생육이 더 좋았다.

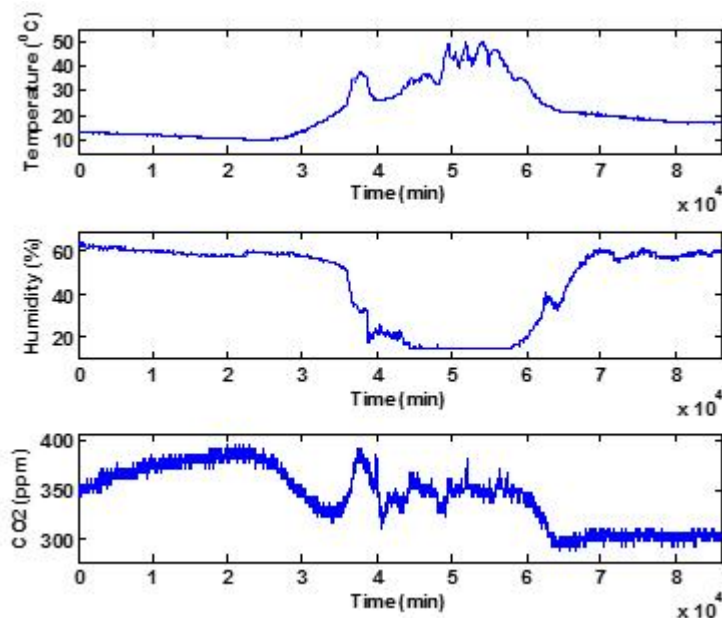
재배환경	배추종류	엽무게(g)	엽폭(mm)	엽장(mm)	SPAD
식물공장	신흥쌈배추	5.88	120	152	33.5
	내서성F1	5.60	108	135	32.5
	이서성F1	5.77	100	200	34.6
온실	신흥쌈배추	5.80	103	175	33.8
	내서성F1	4.55	104	181	33.8
	이서성F1	3.14	115	160	35.3
노지	신흥쌈배추	4.77	116	152	33.2
	내서성F1	3.87	101	143	32.9
	이서성F1	3.72	82	108	30.4
재배환경	케일종류	엽무게(g)	엽폭(mm)	엽장(mm)	SPAD
식물공장	케일티비시	2.82	90	110	47.8
	슈퍼맛짱	3.84	95	120	46.3
	에스테	2.13	67	94	40.6
온실	케일티비시	1.69	68	98	46.1
	슈퍼맛짱	3.11	87	116	43.2
	에스테	2.52	87	112	47.1
노지	케일티비시	1.84	68	87	41.9
	슈퍼맛짱	1.50	66	90	41
	에스테	2.5	87	110	44.9

(6) 환경제어 및 유지성능

24시간동안 재배실 내의 환경은 배추의 경우, 온도 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, CO_2 농도 1000 ± 100 ppm로 유지하였고, 케일의 경우, 온도 $17 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $65 \pm 5\%$, CO_2 농도 1300 ± 100 ppm로 유지하였다.



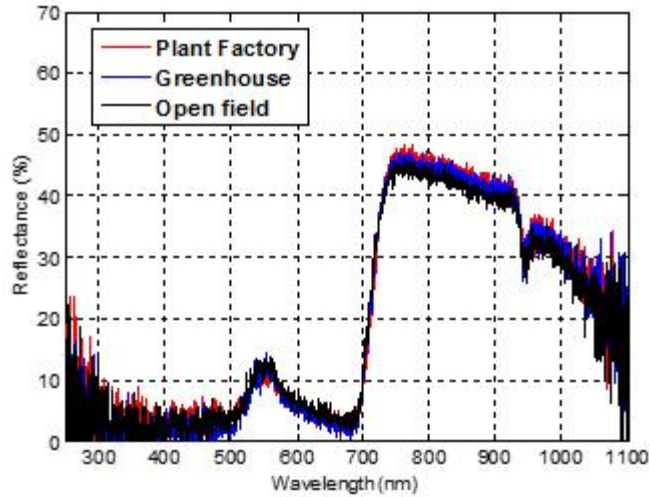
< 24시간동안 유지되는 온도, 습도, CO_2 -식물공장 >



< 24시간동안 유지되는 온도, 습도, CO_2 -온실 >

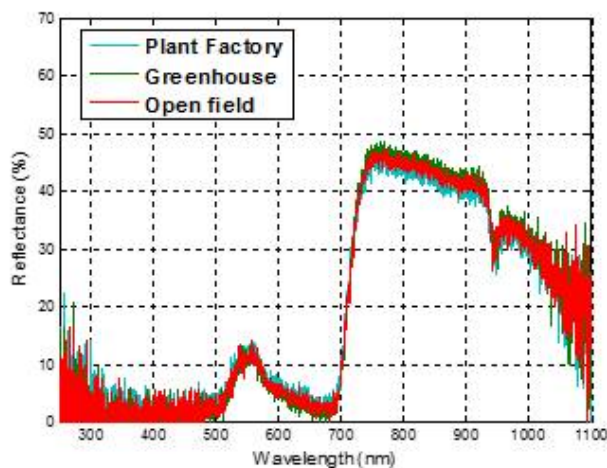
(7) 스펙트럼 반사광 측정결과

재배조건에 따른 반사광 측정비교: 재배환경에 따른 반사광 측정은 Ultraviolet/Visible (UV/VIS)의 범위 190~890 nm와 Near-infrared (NIR)의 범위470~1130 nm로 2개의 범위에서 측정하였다. 3종류의 재배환경에서 배추 반사율 측정 결과, 700 nm 이후에서 식물공장의 반사율이 가장 높았지만 뚜렷한 반사율의 차이는 나타나지 않았다.



< 배추비교: 식물공장, 온실, 노지 >

3종류의 재배환경에서 케일 반사율 측정결과, 700 nm 이후에서 식물공장의 반사율이약 2% 차이로 가장 높았으며, 배추의 분석결과보다 뚜렷한 반사율의 차이를 확인할 수 있었다.



< 케일비교: 식물공장, 온실, 노지 >

3. 기능성 성분 측정 시스템 개발

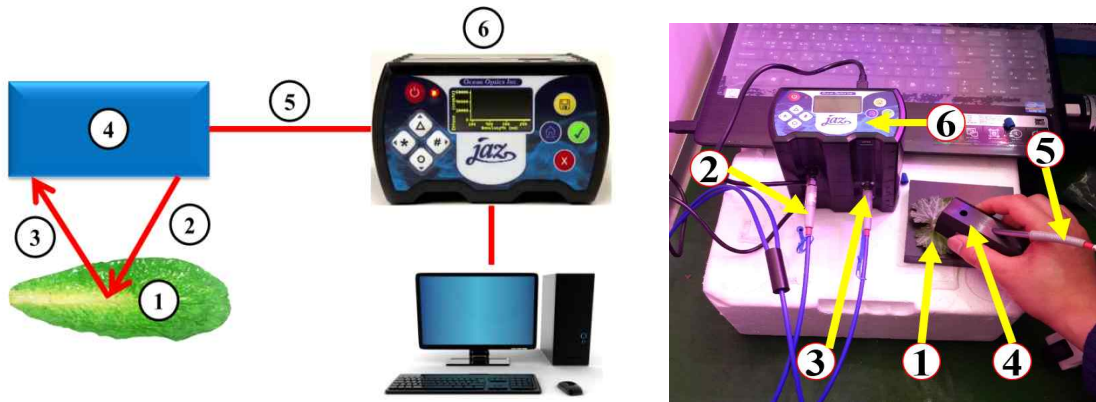
가. 시험방법

식물공장에 두 가지 품종의 배추를 재배하였다. 하나는 잎쌈배추 (*Brassica campstris* L. spp. *pekinensis* Pupr.), 나머지 하나는 싹배추 (*Brassica rapa* L. spp. *pekinensis*) 이다. 씨앗의 성장 상태에 따라 파종하였고, 파종 후 15~20일 뒤에 모종하였다. 그리고 샘플링은 이식을 한 뒤, 2주와 4주에 수행하였다. 우선, 분광반사율은 세 잎의 샘플에서 측정을 하였고, 측정 후 세 잎을 사용하여 성분분석 하였다. 각각의 실험 조건에서 측정된 값의 평균값을 결과 값으로 하였고, 총 102개의 포인트를 측정하였다.

< 식물공장의 환경조건에 따른 기준 및 제어환경에서의 배추 성장 >

환경 요소	참고 조건	제어 조건
광원 (LED color ratio)	Red (R) : Blue (B) : White (W) (11 : 4 : 3)	R:B:W, R:B, R:W, 형광등
PPFD ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)	160	100, 130, 160, 190, 220
광 주기 (Day/Night hours)	16 / 8	12/12, 14/10, 16/8, 18/6, 20/4
CO ₂ (ppm)	1,000±100	400, 700, 1000, 1300, 1600
습도 (%)	55±5	45, 55, 65, 75, 85
온도 (°C)	20±1	14, 17, 20, 23, 26
pH	6.5±0.5	6.5±0.5
EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1,200±90	1,200±90

샘플 잎들이 수확된 이후 즉시 각 잎들의 확산 반사율 스펙트럼은 0.38 nm증가한 190 nm에서 1,130 nm 파장 범위에서 UV/VIS/NIR 분광계(USB2000, Ocean Optics, 플로리다, 미국) 에 의해 측정 되었다. 분광계는 두개의 CCD검출기로 구성되어있으며 하나는 190 nm에서 890 nm(UV/VIS) 범위이고 다른 하나는 470 nm에서 1,130 nm(NIR)이다. 분광계는 에너지 손실을 최소화하여 샘플 잎의 반사광을 수신하도록 설계되었다. 반사율 데이터는 100 ms를 적분하는 소프트웨어를 제공하는 제조업체를 통해 수집하였다. 계산한 측정 프로브의 직경은 4.91 mm²이었다. 이전 연구에서 보고된 바와 같이 잎 분광 반사율 데이터는 전체 상단 표면에 균일하게 분포되어있었던 12번의 위치들을 수집하였고 세 잎들의 스펙트럼 반사율 데이터는 각 실험 조건의 대표성을 위해 평균을 내었다.



< 데이터 수집 시스템 구성도 및 사진 >

나. 분석 방법

(1) PLSR 분석 (Partial Least Square Regression)

아래 표는 파장 범위내의 PLSR 회귀 분석의 결과이다. 대부분 반사율 변환은 독립 변수로 설정하였고, 특히 carotenoid에서 좋은 결과가 나왔다 ($R^2 \geq 0.94$). for fructose, sucrose, maltose, total carotenoid, β -carotene, zeaxanthin, lutein에서 좋은 모델을 확인하였다 ($R^2 \geq 0.80$). total sugar, glucose, total glucosinolate, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin, glucoraphanin에서는 꽤 괜찮은 모델 ($R^2=0.60\sim 0.79$)을 얻을 수 있었다. 하지만 cystein, alanine의 PLSR 과정의 결과는 저조하였다. (≤ 0.60).

< 전체 파장 영역에 걸친 PLSR 회기분석 결과(300 - 1050 nm) >

기능성 성분	변환 식	요소	Calibration	Validation	RMSE	
			R^2	R^2		
Sugar (mg/mL)	Total sugar	8	0.68	0.66	1.51	
	Glucose	Ln(Ref)	3	0.75	0.70	0.87
	Fructose	8	0.87	0.84	0.47	
	Sucrose	Ref	10	0.88	0.84	0.002
	Maltose	Ref	10	0.89	0.86	0.22
Amino acid ($\mu\text{mol/g FW}$)	Cystein	8	0.42	0.39	0.51	
	Alanine	Ref	7	0.57	0.54	0.02
Glucosinolate s ($\mu\text{mol/g DW}$)	Total glucosinolate	Ref	6	0.85	0.79	0.82
	Glucobrassicin	Ln(Ref)	3	0.75	0.72	0.19
	4-methoxyglucobras s sicin	eRef	10	0.72	0.68	0.20
	Neoglucobrassicin	Ln(Ref)	7	0.80	0.76	0.31
	Glucoraphanin	4	0.73	0.69	0.65	
Carotenoid (mg/kg DW)	Total carotenoid	Ln(Ref)	3	0.98	0.92	32.16
	β -carotene	Ln(Ref)	3	0.98	0.95	10.79
	Lutein	3	0.94	0.91	14.46	
	Zeaxanthin	Ln(Ref)	3	0.98	0.94	2.19

(2) SMLR 분석 (Stepwise Multiple Linear Regression)

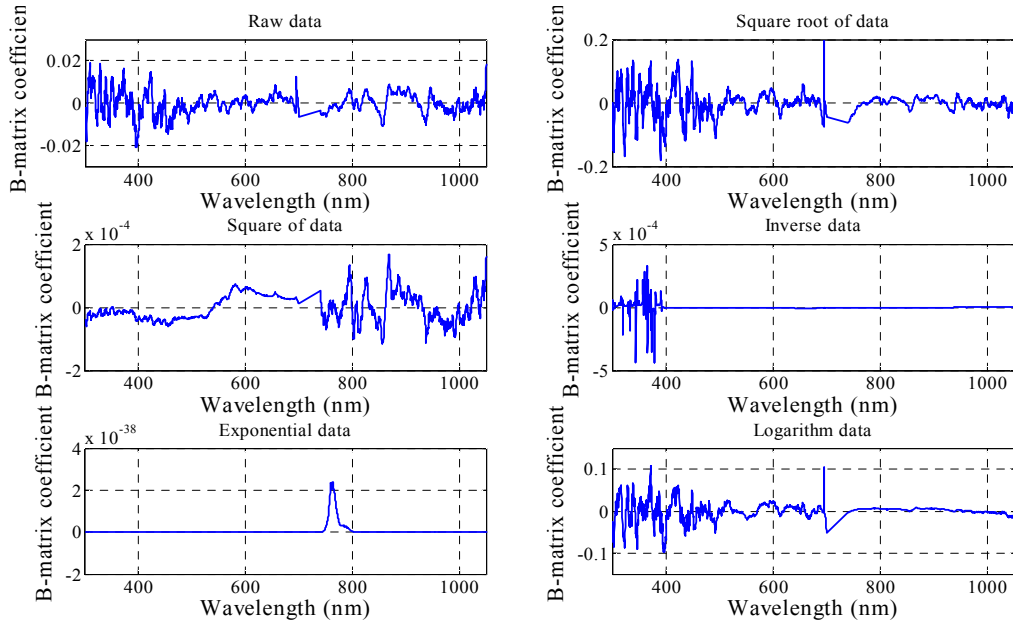
아래 표는 SMLR 과정의 결과를 정리한 것이며, 수학적 변환, 선택한 파장의 구간, 결정 계수, 모델의 RMSE 값이 정리되었다. 가장 좋은 예측 모델 ($R^2 \geq 0.90$)은 sucrose ($R^2=0.90$, 반사율의 제곱근)와 lutein ($R^2=0.92$, 반사율의 로그 눈금 10을 기준)에서 얻었다. glucose, total carotenoid, β -carotene, total glucosinolate, 4-methoxyglucobrassicin의 결정계수 계수는 0.80~0.90의 범위 내에 있었다. 괜찮은 모델 ($0.5 \leq R^2 \leq 0.7$)은 fructose과 neoglucobrassicin에서 얻었고 반면 좋지 않은 예측 모델 ($R^2 \leq 0.5$)은 각각 amino acid 과 zeaxanthin에서 얻었다.

< 전체 스펙트럼 영역에 걸친 SMLR 모델의 결과(300~1500 nm) >

기능성 성분	Transform	No. of wavelength	Calibration R^2	Validation R^2	RMSE	
Sugar (mg/mL)	Total sugar	Ln(Ref)	6	0.79	0.76	2.11
	Glucose	Ln(Ref)	6	0.89	0.88	1.36
	Fructose		5	0.53	0.50	1.29
	Sucrose		17	0.91	0.90	0.02
	Maltose	Ref2	8	0.79	0.78	0.44
Carotenoid (mg/kg DW)	Total carotenoid	Ln(Ref)	18	0.82	0.80	45.25
	β -carotene	1/Ref	14	0.86	0.84	9.28
	Lutein	Ln(Ref)	29	0.93	0.92	21.15
	Zeaxanthin	1/Ref	5	0.42	0.38	4.59
Amino acid (μ mol/g FW)	Cystein	Ref	1	0.08	0.05	1.04
	Alanine	Ref	3	0.25	0.22	0.08
Glucosinolate s (μ mol/g DW)	Total glucosinolate	1/Ref	11	0.90	0.89	2.02
	Glucobrassicin		14	0.81	0.79	0.22
	4-methoxyglucobrassicin	Ref	12	0.83	0.80	0.24
	Neoglucobrassicin	Ln(Ref)	5	0.60	0.56	0.82
	Glucoraphanin	1/Ref	11	0.74	0.71	0.38

(3) PLSR과 SMLR을 통한 파장 선정

기능성 성분과 분광 반사율의 본 데이터 간의 상관관계가 적기 때문에, 변환된 반사율 데이터와 PLSR에 의해 결정된 B 행렬계수 값으로 주요 파장이 결정되었다. 그림 1은 본 (raw) 반사 스펙트럼과 maltose의 PLSR모델로 변환된 스펙트럼을 사용한 B 행렬계수 값의 예를 보여준다. 결과적으로, 본 반사 스펙트럼과 반사 스펙트럼의 제곱근을 사용한 B 행렬계수의 그래프는 전 파장에 걸쳐 다르게 변환된 스펙트럼에 비해 기능적 요소와 관련된 피크를 다수 포함하였다. 본 데이터의 B 행렬계수 그래프에서 확인된 파장은 395, 422 nm를 포함하였고, B 행렬 계수보다 0.02 작았다. 반면, B 행렬계수 값은 제곱근 데이터에서 0.17 상승하였다.



< 말토오스의 형질 전환 된 반사율과 원래 반사율을 이용한 PLSR 절차가 제공하는 B-계수 값의 예 >

나. 성분 분석

PLSR과 SMLR 과정의 주요 파장을 이용하여 분석 하였다. 당도의 경우, 846, 874, 902, 930 nm에서의 초미분흡광도와 멜론의 당도는 높은 상관관계가 있고, glucobrassicin은 222, 246 nm, 4-methoxyglucobrassicin은 278 nm, neoglucobrassicin과 glucoraphanin은 222 nm에서 높은 상관관계를 문헌고찰을 통해 확인하였다. 식물공장에서 배추 재배를 통한 glucosinolates, chlorophyll, carotenoids 와 파장과 높은 상관관계를 알 수 있었다. PLSR과 SMLR 과정을 통해 얻은 carotenoids 파장 450, 550, 640, 720 nm은 chlorophyll와 높은 상관관계가 있었다. Amino acid 파장의 경우, chlorophyll와 carotenoid 성분과 상관관계가 있다. Alanine은 229, 230, 280 nm, cystein은 232~236 nm 파장에서 높은 상관관계가 있다고 확인하였지만 연구 결과 Alanine($R^2=0.22$ SMLR, $R^2=0.57$ PLSR), cystein ($R^2=0.05$ SMLR, $R^2=0.42$ PLSR)이 부족하였다.

다. 실험 결과

본 연구에서는 실험군인 식물공장에서 자라온 배추의 기능성 성분들과 확산 반사율 값들 사이의 관계들이 조사되었고 기능성 성분 변화를 설명하는데에 유용하고 중요한 파장 대역도 확인되었다. 두 회귀 방법 (즉, PLSR과 SMLR)들은 다중 공선성 문제를 최소화하기 위해 적용되어졌다. 확산 반사율을 사용한 기능성 성분의 양의 잠재적 추정치를 나타내는 반사 스펙트럼은 기능성 성분들의 수준에 의한 변화를 보였다. 많은 경우에, 변형된 반사율 데이터는 기능성 성분들과 확산 반사율 사이의 관계가 선형적이지 않다는 것을 보여주는 동시에 회귀 방법에 의해 선택되어진다. 또한 많은 경우, PLSR 및 SMLR절차를 비교할 때 PLSR절차가 SMLR절차보다 데이터 세트에서 공선성을 감소시키는 능력 때문에 더 낫은 결과를 보였다. PLSR절차와 β -carotene을 위한 로그 눈금 10을 기준으로 사용할 때, 가장 좋은 결과가 얻어졌다.

몇 가지 중요한 파장과 수학적 변환은 PLSR 및 SMLR 방법에 의해 확인되었다. 당을 사용한 PLSR과 SMLR 두 분석 모두 약 317 nm, 390 nm, 888 nm, 940 nm 파장에서 확인되었다. Amino acid의 경우, 520 nm, 960 nm가 표 6에서 나타난다. 위 결과에서 보고된 것처럼 Glucosinolate는 385 nm, 860 nm, 945 nm 파장과 관련이 있다. 결론적으로, carotenoid는 454 nm, 472 nm, 530 nm 파장을 사용함으로써 인해 예측될 수 있다. 이러한 파장들은 anthocyanin, chlorophyll 그리고 질소 농도에 관련이 있는 것으로 보고되어진다. 대부분의 기능성 성분들의 최대 흡수는 자외선 영역 안에 존재했다. Glucosinolates는 230 nm 파장 주위에서 강하게 흡수하는 질소, 탄소 함유 화합물로 구성되어 있다. 본 연구에서는 몇 가지 파장들이 문헌에 제안된 파장들과 유사한 것으로 나타났다. 그러나 전구물질 이온의 분열 스펙트럼과 관련하여 몇 가지 새로운 파장들이 확인되었다. 이러한 결과는 식물공장에서 재배된 작물들의 기능성 성분들의 현장 평가에 적합한 다중 파장 적정 센서를 위한 의미 있는 디자인 지침을 제공하는 것에 유용할 것이다.

○기능성 우수계통의 물질함량 증폭을 위한 보편적 정밀농업 재배조건을 위하여 다양한 광처리로 기능성물질 축적에 유리한 적정한 광을 선택하고 습도, 이산화탄소 공급등을 제어하여 최적의 조건 확립이 중요하다.

○정밀농업재배에 의한 성분함량 편차가 육성계통의 성분함량보다 높은 요인분석을 해보면 기능성물질 생합성은 유전적인 특성에 의해 그 생산이 결정되지만 특히 기능성물질 축적은 환경에 더 많이 변화가 일어남으로 기능성물질 증대를 위한 최적의 조건 확립이 중요하다.

○주요 파장 활용한 성분분석 함량예측 시스템 지속발전 필요함으로 추후 지속적인 광의 파장처리 실험으로 기능성물질 증대를 위한 최적의 파장처리 조건을 확립할 계획이다.

○육성계통과 일반품종간 정밀농업재배시 기능성 함량 증가량 차이 여부 확인을 위하여 추후 본 연구를 통하여 육성된 배추, 케일과 시중에 보편적으로 유통되는 배추, 케일을 비교 실험 후 기능성성분 함량 증가량 차이 여부를 확인할 계획이다.

<제 1 협동과제: 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성>

[1차년도]

- 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성
 - 국내 외 도입 배추 95점의 노지 가을 재배로 속잎색이 노란 11점 선발
 - 2010년 예비시험 결과 선발된 16점의 F₂ 세대 특성 평가 결과 속잎이 노란 7점 선발
 - 선발 계통은 뇌수분에 의한 세대 진전 및 소포자 배양 실시

[2차년도]

- 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성
 - 자원의 수집 및 평가를 위해 2013년 일본 자원 25점 신규 수집, 2012년까지 확보된 한국 및 일본 자원 34점의 평가 및 선발 완료하였으며, 선발자원 세대진전 후대 및 소포자 배양 유래 계통 66점의 평가 및 재선발 완료
 - 선발 및 육성 자원의 종자 증식을 위해 2010년 선발자원 7점 및 2011년 선발자원 5점의 후대 종자를 증식 완료 하였으며, 소포자 배양 유래 개체 54점의 종자 증식 완료 (채종량은 점당 100립 이상)
 - 소포자 배양에 의한 신규 배추과 계통 육성을 위해 2012년 선발자원 12점의 소포자 배양을 실시하여 약 3,000개체를 획득하였으며, 이들을 춘화처리하여 약 2,000개체를 화분에 정식 하였음

[3차년도]

- 국내외 자원 수집 및 평가
 - 자원의 수집 및 평가를 위해 중국 우한에서 신규 자원 6점 및 중국 운남에서 5점, 총 11점 수집
 - 일본 수집 자원 25점 특성 평가 후 3점 선발
- 선발 및 육성 자원 종자 증식
 - 전년도 선발 자원 등 10점의 종자 증식 결과 8점의 종자 증식 성공
 - 소포자 배양에 의해 획득된 식물체의 종자 증식 : 49개체의 종자 증식
- 선발 자원 소포자 배양
 - 배추의 소포자 배양에 비교적 효과적인 배지 조건 : 1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl
 - 배추, 케일, 브로콜리, 양배추 배양 결과 배추와 양배추에서 배상체 획득

[4차년도]

- 국내외 자원 수집 및 평가
 - 자원의 수집 및 평가를 위해 중국 청두에서 신규 자원 8점 수집
 - 수집자원 11점의 원예적 특성 평가 결과 3점 선발
- 선발 및 육성 자원 종자 증식
 - 중국 도입 품종 소포자 배양 유래 계통 15점 개발 및 평가 : 2계통 선발
 - 소포자 배양에 의해 획득된 식물체의 종자 증식 : 35계통, 증식자원 노지 가을 포장 재배 및 품평회 결과 3계통 공동 선발 → 품종보호 출원을 위한 종자 증식 중
- 선발 자원 소포자 배양
 - 배추의 소포자 배양에 효과적인 9조합 선발

- 다양한 배추과 작물에서 배상체 획득

[5차년도]

- 국내외 자원 수집 및 평가
 - 자원의 수집 및 평가를 위해 일본에서 신규 자원 7점 수집
 - 미국 및 중국 수집자원 10점의 원예적 특성 평가 결과 모두 열악하여 도태
- 선발 및 육성 자원 종자 증식
 - 소포자 배양 유래 자원 19점의 특성조사 : 2계통 공동 선발
 - 기존 선발 계통(교배 및 배양 포함) 114점의 내서성 조사 : 4점 선발
- 선발 자원 소포자 배양
 - 배양 결과 유래된 배상체의 순화 및 종자 증식 완료하여 특성 조사에 활용

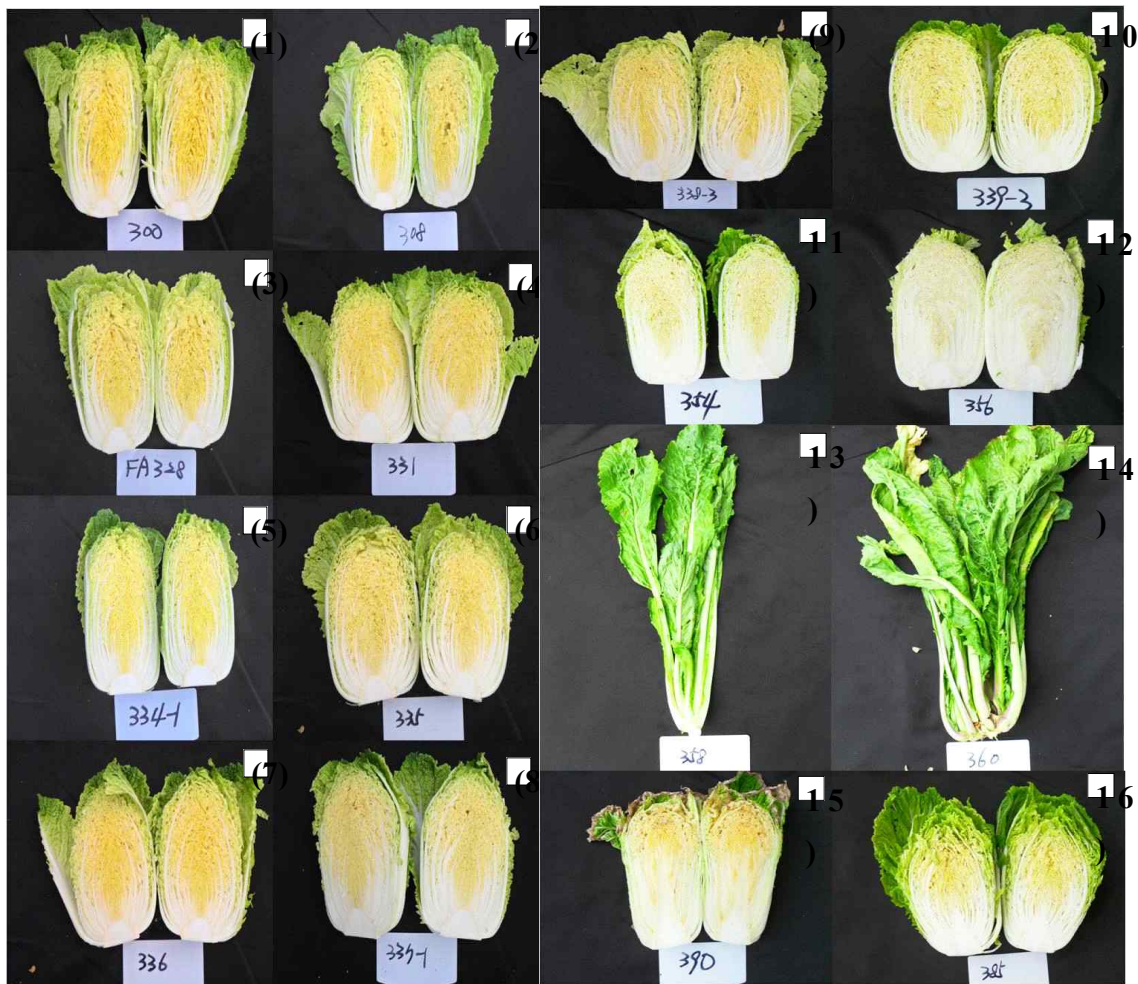
[1차년도]

- 국내외 배추과 자원 수집 및 평가
 - 수집 : 국내 자원은 원예원 보유 자원 및 신규 육성 품종의 구매, 국외 자원은 본 과제 및 타 과제 해외 출장 시 구매
 - 평가 : 2011년 가을 파종기 이전 수집된 자원은 노지 재배를 통하여 평가
 - 노지 봄 재배 일정 : 파종(2011. 3. 18) → 정식(2011. 4. 27) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2011. 6. 21) → 선발 (2011. 6. 22)
 - 노지 가을 재배 일정 : 파종(한국자원 2011. 8. 8/ 중국자원 2011. 8.20) → 정식(한국자원 2011. 9. 1, 중국 자원 2011. 9. 14) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2011.11.17 ~ 21) → 선발 (2011.11.22)

<표 1> 봄 노지 재배 품종 목록

11라벨	교배번호(품종명)	11라벨	교배번호(품종명)	11라벨	교배번호(품종명)
11-FA300	매력배추	11-FA331	춘광봄배추	11-FA362	10-NA46(10-SE29-1)
11-FA301	탐나라38배추	11-FA332	춘복배추	11-FA363	10-NA47(10-SE30-1)
11-FA302	예쁜노랑이	11-FA333	하우스금가락배추	11-FA364	07-2-1
11-FA303	선그린배추	11-FA334	태청봄배추	11-FA365	07-2-3
11-FA304	셋노랑배추	11-FA335	싱싱봄배추	11-FA366	07-2-13
11-FA305	강력여름배추	11-FA336	대통배추	11-FA367	07-2-14
11-FA306	진청	11-FA337	춘황봄배추	11-FA368	07-2-15
11-FA307	개나리배추	11-FA338	력광배추	11-FA369	07-2-16
11-FA308	옥황씨알배추	11-FA339	춘광배추	11-FA370	07-2-17
11-FA309	하우스금가락배추	11-FA340	강한배추	11-FA371	07-2-18
11-FA310	CR황록	11-FA341	겨울명품배추	11-FA372	07-2-19
11-FA311	승승장구	11-FA342	월동장군배추	11-FA373	07-2-20
11-FA312	CR요시마사	11-FA343	겨울진명배추	11-FA374	07-2-21
11-FA313	여름대형가락배추	11-FA344	겨울노랑배추	11-FA375	07-2-22
11-FA314	CR미락쌈배추	11-FA345	영웅맛자랑배추	11-FA376	07-2-23
11-FA315	고산지여름	11-FA346	09-FK266-1	11-FA377	07-2-24

11-FA316	CR-노랭이봄	11-FA347	09-FK267-2	11-FA378	07-2-25
11-FA317	노랑관동배추	11-FA348	09-FK268-1	11-FA379	07-2-26
11-FA318	내서가락배추	11-FA349	09-FK281-3	11-FA380	07-2-27
11-FA319	금방울쌈배추	11-FA350	09-FK283-1	11-FA381	07-2-28
11-FA320	서울배추	11-FA351	09-FK284-1	11-FA382	07-2-29
11-FA321	정상배추	11-FA352	09-FK74-3	11-FA383	07-2-30
11-FA322	하복배추	11-FA353	09-FK244-1	11-FA384	07-2-31
11-FA323	노랑쌈배추	11-FA354	10-NA35(10-SE18-1)	11-FA385	07-2-32
11-FA324	노랑봄배추	11-FA355	10-NA36(10-SE19-1)	11-FA386	07-2-33
11-FA325	CR농심	11-FA356	10-NA37(10-SE20-1)	11-FA387	07-2-34
11-FA326	CR황금	11-FA357	10-NA38(10-SE21-1)	11-FA388	07-2-35
11-FA327	필그림	11-FA358	10-NA39(10-SE22-1)	11-FA389	07-2-36
11-FA328	춘향봄배추	11-FA359	10-NA42(10-SE25-1)	11-FA390	07-2-37
11-FA329	고냉지여름배추	11-FA360	10-NA43(10-SE26-1)	11-FA391	07-2-41
11-FA330	쌈노랭이배추	11-FA361	10-NA44(10-SE27-1)	11-FA392	07-2-42



<그림 1> 선발된 배추 품종 단면 사진

※ 선발된 품종은 타과제에서 성분 분석을 수행. 성분 분석 결과는 추후 후대 계통 선발에 활용.

<표 2> 가을 노지 재배를 위해 신규 도입된 품종의 목록

라벨	품종명 (도입번호)	도입처	라벨	품종명 (도입번호)	도입처
11-FF156	가을항배추	신젠타종묘	11-FF197	서울배추	흥농종묘
11-FF157	가락60일배추	중앙종묘	11-FF198	맛나배추	서울종묘
11-FF158	설봉배추	중앙종묘	11-FF199	대형50일	서울종묘
11-FF159	조생미호배추	흥농종묘	11-FF200	영웅맛자랑배추	사카타
11-FF160	흑진주배추	한농종묘	11-FF201	겨울노랑배추	사카타
11-FF161	조생가락배추	중앙종묘	11-FF202	겨울진명배추	사카타
11-FF162	셋노랑배추	농우바이오	11-FF203	월동장군배추	사카타
11-FF163	삼진배추	중앙종묘	11-FF204	겨울명품배추	사카타
11-FF164	불암3호	흥농종묘	11-FF205	강한배추	농우바이오
11-FF165	추광배추	사카타코리아	11-FF206	태청봄	신젠타종묘
11-FF166	CR통일배추	흥농종묘	11-FF207	싱싱봄	동부한농종묘
11-FF167	노란자배추	농우종묘	11-FF208	춘황봄	사카타코리아
11-FF168	조생가락배추	중앙종묘	11-FF280	07-2-1	중국(무한)
11-FF169	진노랑배추	서울종묘	11-FF281	07-2-3	중국(무한)
11-FF170	동풍배추	흥농종묘	11-FF282	07-2-13	중국(무한)
11-FF171	겨울노랑배추	사카타	11-FF283	07-2-14	중국(무한)
11-FF172	CR그린배추	농우종묘	11-FF284	07-2-15	중국(무한)
11-FF173	CR명품배추	사카타	11-FF285	07-2-16	중국(무한)
11-FF174	겨울명품배추	사카타	11-FF286	07-2-17	중국(무한)
11-FF175	승승장구	한국다끼이	11-FF287	07-2-18	중국(무한)
11-FF176	CR항록	한국다끼이	11-FF288	07-2-19	중국(무한)
11-FF177	CR묘시마사	한국다끼이	11-FF289	07-2-20	중국(무한)
11-FF178	CR가을배추	아시아종묘	11-FF290	07-2-21	중국(무한)
11-FF179	신동풍배추	흥농종묘	11-FF291	07-2-22	중국(무한)
11-FF180	휘모리배추	아시아종묘	11-FF292	07-2-23	중국(무한)
11-FF181	장생3호배추	아시아종묘	11-FF293	07-2-24	중국(무한)
11-FF182	신통노랑	현대종묘	11-FF294	07-2-25	중국(무한)
11-FF183	CR항태자배추	현대종묘	11-FF295	07-2-26	중국(무한)
11-FF184	가락신1호배추	중앙종묘	11-FF296	07-2-27	중국(무한)
11-FF185	금가락배추	중앙종묘	11-FF297	07-2-28	중국(무한)
11-FF186	탐복배추	서울종묘	11-FF298	07-2-29	중국(무한)
11-FF187	진노랑배추	서울종묘	11-FF299	07-2-30	중국(무한)
11-FF188	노란자배추	농우종묘	11-FF300	07-2-31	중국(무한)
11-FF189	아시아미니배추	아시아종묘	11-FF301	07-2-32	중국(무한)
11-FF190	CR맛배추	농우바이오	11-FF302	07-2-33	중국(무한)
11-FF191	노란자배추	농우바이오	11-FF303	07-2-34	중국(무한)
11-FF192	장미배추	농우바이오	11-FF304	07-2-35	중국(무한)
11-FF193	영농1호	경신종묘	11-FF305	07-2-36	중국(무한)
11-FF194	겨울노랑배추	사카타	11-FF306	07-2-37	중국(무한)
11-FF195	단맛배추	흥농종묘	11-FF307	07-2-41	중국(무한)
11-FF196	내서백로배추	흥농종묘	11-FF308	07-2-42	중국(무한)

<표 3> 2010년 예비시험 결과 선발 자원 F₂의 가을 노지재배용 목록

포장라벨	계통번호	10년 평균 속잎색 [♂]	11년 평균 속잎색 [♂]
------	------	-------------------------------	-------------------------------

11-FF505	10-FP6-5	4	4
11-FF506	10-FP29-1	4	5
11-FF507	10-FP31-6	4	4
11-FF508	10-FP32-5	3.8	4
11-FF509	10-FP43-1	4	3
11-FF510	10-FP44-4	4	5
11-FF511	10-FP73-1	4	3
11-FF512	10-FP87-4	7	6
11-FF513	10-FP105-2	4	3.5
11-FF514	10-FP146-1	4.3	4
11-FF515	10-FP147-1	4.3	3.5
11-FF516	10-FP81-2	4	4
11-FF517	10-FP106-1	4	5
11-FF518	10-FP120-2	5	4.5
11-FF519	10-FP121-2	4.7	4
11-FF520	10-FP149-2	3.8	4.5



♣속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

※ 속잎색은 각각 가을 재배 후 3주를 조사하여 평균을 내었음. 2010년 예비실험에서 속잎색이 노란 개체를 선발하여 그 후대를 증식하여 2011년에 재배하였음.

<표 4> 2011 신규 도입 자원의 엽색 조사 결과

포장라벨	속잎색♣	겉잎색♣	포장라벨	속잎색♣	겉잎색♣	포장라벨	속잎색♣	겉잎색♣
11-FF156	3	4	11-FF182	3	5	11-FF284	3	4
11-FF158	3	3	11-FF183	3	3	11-FF285	4	6
11-FF159	3	4	11-FF185	4	4	11-FF286	2	3
11-FF161	3	4	11-FF186	2	4	11-FF287	2	4
11-FF162	3	4	11-FF187	결구x	6	11-FF288	3	5
11-FF163	2	3	11-FF188	4	4	11-FF289	2	5
11-FF164	4	4	11-FF189	2	4	11-FF290	1	4
11-FF165	3	5	11-FF190	3	4	11-FF291	3	5
11-FF166	3	5	11-FF191	4	5	11-FF292	2	4
11-FF167	3	5	11-FF192	3	4	11-FF293	2	3
11-FF168	3	4	11-FF193	3	4	11-FF294	2	4
11-FF169	결구x	3	11-FF194	4	5	11-FF295	2	4
11-FF170	3	3	11-FF195	3	4	11-FF296	3	5
11-FF171	4	4	11-FF196	2	4	11-FF297	3	5
11-FF172	3	4	11-FF197	3	1	11-FF298	2	5
11-FF173	4	4	11-FF200	4	3	11-FF299	2	4
11-FF174	4	4	11-FF201	4	4	11-FF300	4	4
11-FF175	3	4	11-FF202	4	4	11-FF301	3	4
11-FF176	3	3	11-FF203	4	4	11-FF302	2	4
11-FF177	3	4	11-FF204	3	3	11-FF303	2	4
11-FF178	3	3	11-FF205	3	4	11-FF304	2	3
11-FF178	4	4	11-FF280	2	3	11-FF305	2	5
11-FF179	3	4	11-FF281	결구x	4	11-FF306	7	4
11-FF180	4	5	11-FF282	3	4	11-FF307	2	4
11-FF181	4	4	11-FF283	3	4	11-FF308	2	5



속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355

<표 5> 2010년 선발 자원 F₂의 가을 노지 재배 생육조사 결과

포장라벨	주중 (g)	구중 (g)	구고 (cm)	구폭 (cm)	겉잎수 (개)	속잎수 (개)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	속잎색 [♠]	겉잎색 [♠]
11-FF505	4231	2596	28	18.5	17.5	84.5	51.5	32	4	4
11-FF506	4017	2588	24	19	15.5	86.5	50.5	40.5	5	4.5
11-FF507	3708	2440	22.5	19.5	13	90	51	40	4	4
11-FF508	3545	2329	27.5	18.5	9	69.5	60	47	4	3.5
11-FF509	3432	2327	26	18.5	12	69	52	35.5	3	3
11-FF510	6097	2893	30.5	18.5	15	67	56.5	39	5	4
11-FF511	4094	2882	30	19	13	77	53	37.5	3	4
11-FF512	2569	1858	27	14.5	6	43.5	51.5	34.5	6	5
11-FF513	3400	2479	23.5	18.5	9.5	86.5	47.5	36	3.5	4
11-FF514	3267	2444	27.5	17.5	11	93	42	33	4	5
11-FF515	4854	3434	28.5	22.5	13.5	93.5	52	39	3.5	4
11-FF516	5845	3323	43	17.5	10.5	53.5	63.5	39	4	5
11-FF517	5926	3023	35.5	19	16	66	71	45.5	5	4
11-FF518	3142	2003	27.5	17	11.5	64	54.5	35.5	4.5	5
11-FF519	6834	4023	36	19.5	15	63.5	68.5	53.5	4	4
11-FF520	3952	2701	28	18.5	9.5	86.5	56.5	41	4.5	3.5

♠속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

♠겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355

○ 도입 자원 및 육성 자원의 선발

<표 6> 원예적 특성이 양호하여 신규 선발 자원 4점의 모습



- 분리세대 선발 : 전체 생육 개체의 지상부 10cm 부분을 칼로 자른 후 육안으로 속잎이 노란 것을 선발 함

- 칼슘 결핍 증상 등 원예적 특성이 양호하지 못한 11-FF505등 9 계통 도태
- 선발 계통 : 11-FF512, 11-FF514, 11-FF516, 11-FF517, 11-FF518, 11-FF519, 11-FF520에
서는 속잎색이 노란 개체를 계통 당 2개체씩 선발

○ 선발 자원을 활용한 효과적 소포자 배양법 구명 및 계통 육성

<표 7> 소포자 배양에 사용된 속잎색이 노란 선발자원 15점 목록

포장라벨	품종명(계통명)	도입처(자원명)
11-FF197	서울배추	흥농종묘
11-FF203	월동장군배추	사카타
11-FF204	겨울명품배추	사카타
11-FF294	07-2-25	중국도입종자(무한)
11-FF295	07-2-26	중국도입종자(무한)
11-FF298	07-2-29	중국도입종자(무한)
11-FF302	07-2-33	중국도입종자(무한)
11-FF303	07-2-34	중국도입종자(무한)
11-FF512	10-FP87-4	07-2-37
11-FF514	10-FP146-1	휘모리
11-FF516	10-FP81-2	07-2-16
11-FF517	10-FP106-1	겨울맛
11-FF518	10-FP120-2	한동지월동
11-FF519	10-FP121-2	CR-삼광엇갈이
11-FF520	10-FP149-2	불암플러스

<표 8> 배추의 소포자 배양에 이용된 배지 종류

배지번호	처리내용
1	1/2N + AgNO3 1mg + S13%
2	1/2N + AgNO3 1mg + S13%+N+B
3	1/2N + AgNO3 1mg + S15%
4	1/2N + AgNO3 1mg + S15%+N + B
5	1/2N + M.E1mg + S13%
6	1/2N + M.E1mg + S13% + N+B
5-1	1/2N + AgNO3 1mg+M.E 1mg + S13%
6-1	1/2N + AgNO3 1mg +M.E 1mg + S13%+ N+B
10	1N + AgNO3 1mg + S13%
11	1N + AgNO3 1mg + S13%+N + B
12	1N + AgNO3 1mg + S15%
13	1N + AgNO3 1mg + S15%+N + B
14	1N +AgNO3 1mg + M.E1mg + S13%

※ N; NAA 50mg/L, B; BAP 50mg/L, M.E.; 소포자 배양용 Micro element 추가

<표 9> 11-FF197 자원을 활용한 소포자 배양 결과 (2012년 6월 15일 까지)

배양시기	배지번호	고온처리온도	고온기간(일)	치상한 디쉬수	배발생갯수	MS 배지치상갯수
2하	10	30°C	1	10	0	
2하	10	30°C	2	10	0	
3중	3	30°C	1	30	2	
3중	4	30°C	1	30	12	10
4하	11	30°C	1	20	18	11
4하	5	30°C	1	30	16	4
5상	12	30°C	1	10	14	
합계				140	62	25

<표 10> 배발생이 가장 잘 되는 11-FF303을 활용한 소포자 배양 결과 (2012년 6월 15일 까지)

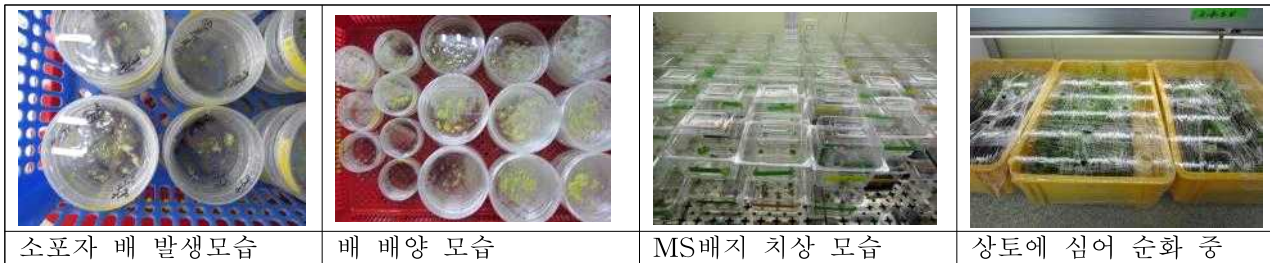
배양시기	배지번호	고온처리온도	고온기간(일)	치상한 디쉬수	배발생갯수	MS 배지치상갯수
2상	5	30°C	1	15	550	75
2상	5	30°C	2	15	650	105
2상	10	30°C	1	10	80	29
2상	10	30°C	2	10	90	10
2중	6	30°C	1	15	100	4
2중	6	30°C	2	15	110	55
2중	11	30°C	1	15	2	
2중	11	30°C	2	15	17	
2중	11	30°C	1	15	45	10
2중	11	30°C	2	15	185	155
2하	5	30°C	1	15	52	18
2하	5	30°C	2	15	63	21
2하	12	30°C	1	15	58	
2하	12	30°C	2	15	31	
3상	5-1	30°C	1	15	425	140
3상	5-1	30°C	2	15	1370	115
3상	5-1	30°C	1	15		
3상	5-1	30°C	2	15	2	2
3상	4	30°C	1	15	8	3
3상	4	30°C	2	15	16	10
3하	6-1	30°C	1	25	59	52
3하	13	30°C	1	25	24	16
4하	6	30°C	1	20	많음	
4하	6	30°C	1	30	65	60
합계				390	4,002	880

- 배추 소포자 배양 조건 : 13종류의 배지를 활용하여 2수준의 고온처리 이용
- 배추 소포자 배양 결과 : 속잎색이 노란 선발 자원 및 그 후대 15점 배양 결과 모든 자원에서 소포자 유래 식물체를 획득하였음. 각 페트리 디쉬당 1개의 어린 봉우리를 배양하는 방법으로 총 1,370

개의 페트리디쉬를 치상한 결과 7,864개의 소포자 유래 배를 획득하였고 이 중 정상 식물체로 생육이 가능한 2,613개를 MS배지에 옮겨서 생육.

- 배추 소포자 유래 계통 육성 : 상토에 심어 배양실 1차 순화 후, 하우스 2차 순화를 거쳐 생존 개체는 춘화처리 후 종자 증식.

<표 11> 배추 소포자 배양 과정 및 결과



[2차년도]

○ 국내외 배추과 자원 수집 및 평가

- 수집 : 국내 자원은 원예원 보유 자원 및 신규 육성 품종의 구매, 국외 자원은 본 과제 및 타 과제 해외 출장 시 구매
- 평가 : 2012년 파종기 이전 수집된 자원은 노지 재배를 통하여 평가
 - 노지 봄 재배 일정 : 파종(2012. 3. 16) → 정식(2012. 4. 20) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2012. 6. 21) → 선발 (2012. 6. 25)
 - 노지 가을 재배 일정 : 파종(2012. 8. 10) → 정식(2012. 9. 3) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2012. 11. 22.) → 선발 (2012. 11. 27)

<표 1> 봄 노지 재배 품종 목록

12라벨	교배번호 (품종명)	유래계통명 (회사명)	채종 및 도입 년도	조제번호
12-FK121	10-FE04	09-RFC270	2005	32
12-FK122	10-FE08	09-RFC282	2005	76
12-FK123	10-FE16	09-RFC293	2005	108
12-FK124	10-FE18	09-RFC295	2005	113
12-FK125	10-FE20	09-RFC298	2005	120
12-FK126	10-FE33	09-FK226	2009	320
12-FK127	10-FE34	09-FK244	2008	211
12-FK128	10-FE60	08-MR78-1	2009	50
12-FK129	11-FA12	아시아노랑미니	2011	(한국수집)
12-FK130	11-FA18	쌈노랑이배추	2011	(한국수집)
12-FK131	11-FA21	춘광배추	2011	(한국수집)
12-FK132	11-FA52	진청	2011	(한국수집)
12-FK133	11-FA66	예쁜노랑이	2011	(한국수집)
12-FK134	11-FA75	노랑관동배추	2011	(한국수집)
12-FK135	11-FA87	쌈노랑이배추	2011	(한국수집)
12-FK136	11-FA108	02-01-20	2011	(일본수집)
12-FK137	11-FA300	매력배추	2011	(한국수집)

12-FK138	11-FA303	썬그린배추	2011	(한국수집)
12-FK139	11-FA315	고산지여름	2011	(한국수집)
12-FK140	11-FA317	노랑관동배추	2011	(한국수집)
12-FK141	11-FA319	금방울쌈배추	2011	(한국수집)
12-FK142	11-FA323	노랑쌈배추	2011	(한국수집)
12-FK143	11-FA331	춘광봄배추	2011	(한국수집)
12-FK144	11-FA334	태청봄배추	2011	(한국수집)
12-FK145	11-FA336	대통배추	2011	(한국수집)
12-FK146	11-FA343	겨울진명배추	2011	(한국수집)
합계	26점			

<표 2> 봄 노지 재배 후 겉잎색과 속잎색 조사 결과

라벨	겉잎색*	속잎색**	라벨	겉잎색*	속잎색**
12-FK121	4	3	12-FK133	5	2
12-FK122	3	2	12-FK134	5	2
12-FK123	4	3	12-FK135	4	1
12-FK124	4	3	12-FK136	4	3
12-FK125	4	3	12-FK137	4	2
12-FK126	4	3	12-FK138	4	3
12-FK127	4	2	12-FK139	4	3
12-FK128	4	3	12-FK140	4	2
12-FK129	3	3	12-FK141	4	2
12-FK130	4	3	12-FK142	3	2
12-FK132	4	2	12-FK143	4	3



*, ** 잎의 색은 색차트를 이용함,

속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355

☞ 일부 자원의 경우 발아하지 않거나 모든 개체가 썩어버려 조사가 불가능 하였음



<그림 1> 2012년 봄 재배 후 선발된 계통 3점의 모습

☞ 선발 자원들은 점당 4개체씩 화분에 옮겨심어 5℃ 저온처리실에서 약 3개월간 춘화처리 후 2012년 8월 23일 세대단축 온실로 옮겨 추대를 유도하여 개화시키고, 뇌수분을 개체당 100화 이상 실시하여 정상적인 꼬투리를 형성한 것으로 보였으나, 12월 채종결과 종자는 없는 빈 꼬투리만 형성됨

<표 3> 국내 자원 및 교배 후대 자원의 가을 노지 재배 품종 목록

12라벨	선발자원 번호	품종명 및 설명	채종년도	조제번호
12-FA01		태청봄배추		
12-FA02		싱싱봄배추		
12-FA03		춘황봄배추		
12-FA04		추광배추		
12-FA05		삼진배추		
12-FA06		불암3호		
12-FA41	10-FP121-1	10년 선발자원 교배 후대	2011	667
12-FA42	10-FP 121-2	10년 선발자원 교배 후대	2011	668
12-FA43	10-FP 146-1	10년 선발자원 교배 후대	2011	670
12-FA44	10-FP 146-2	10년 선발자원 교배 후대	2011	671
12-FA45	10-FP 147-1	10년 선발자원 교배 후대	2011	672
12-FA46	10-FP 149-1	10년 선발자원 교배 후대	2011	674
12-FA47	10-FP 149-2	10년 선발자원 교배 후대	2011	675
12-FA48	11-FF 227-1	11년 선발자원 교배 후대	2012	277
12-FA49	11-FF 230-1	11년 선발자원 교배 후대	2012	279
12-FA50	11-FF 202-1	11년 선발자원 교배 후대	2012	275
12-FA51	11-FF 285-1	11년 선발자원 교배 후대	2012	281
12-FA52	11-FF 306-1	11년 선발자원 교배 후대	2012	283

☞ 총 18점을 재배하여 이들 중 식감이 우수하고 원예적 특성이 양호한 12-FA41 등 4점을 선발함. 선발 개체는 세대진전을 위해 가온 하우스에 이식 후 겨울동안 3℃ 정도로 가온하며 4개월 이상 충분히 저온처리를 한 후 봄이되어 개화하면 뇌수분 하여 후대 종자를 생산함



<그림 2> 2012년 가을 재배 후 선발된 4계통의 모습

<표 4> 한국, 중국 및 일본 도입 자원의 소포자 배양으로 육성된 계통 목록 (가을재배용)

12라벨	품종명 및 설명	재종년도	조제번호
12-FA86	중국 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	95
12-FA87	중국 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	101
12-FA88	중국 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	106
12-FA89	중국 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	107
12-FA90	중국 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	111
12-FA91	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	127
12-FA92	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	135
12-FA93	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	140
12-FA94	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	148
12-FA95	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	151
12-FA96	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	153
12-FA97	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	155
12-FA98	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	156
12-FA99	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	161
12-FA100	일본 도입종 소포자 배양 유래 계통	2011	162
12-FA101	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	169
12-FA102	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	175
12-FA103	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	180
12-FA104	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	182
12-FA105	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	183
12-FA106	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	185
12-FA107	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	186
12-FA108	한국 수집종 소포자 배양 유래 계통	2011	189
12-FA109	수집된 배추과 채소 소포자 배양 유래 계통	2011	201
12-FA110	수집된 배추과 채소 소포자 배양 유래 계통	2011	207

☞ 한국 수집종의 소포자 배양 유래 계통 8점, 중국 도입종의 소포자 배양 유래 계통 5점, 일본 도입종의 소포자 배양 유래 계통 10점 및 유럽 도입 배추과 채소 소포자 배양 유래 계통 2점 총 25점을 재배 함. 원예적 특성이 양호한 계통이 없어 선발하지 못함



<그림 3> 2012년 가을 재배 후 도태된 계통들의 모습

☞ 도태 계통들은 대부분 소포자배양 효율이 높았던 초기 배양 계통들로 양친의 원예적 특성을 조사하지 않고 바로 배양을 실시한 자원 유래 계통임

<표 5> 한국 및 중국 도입 자원 중 속잎색이 노란 선발 자원의 소포자 배양으로 육성된 계통 목록 (가을 재배용)

12라벨	품종명 및 설명	채종년도	조제번호
12-FA139	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	308
12-FA140	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	309
12-FA141	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	311
12-FA142	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	318
12-FA143	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	323
12-FA144	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	325
12-FA145	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	331
12-FA146	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	340
12-FA147	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	350
12-FA148	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	352
12-FA149	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	360
12-FA150	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	362
12-FA151	중국 심양 도입 속잎색이 노란 선발개체 소포자 배양 유래 계통	2011	365

12-FA152	중국 유래 심양계통 도입 속잎색이 노란 선발개체	소포자 배양	2011	366
12-FA153	중국 유래 심양계통 도입 속잎색이 노란 선발개체	소포자 배양	2011	368
12-FA154	중국 유래 심양계통 도입 속잎색이 노란 선발개체	소포자 배양	2011	370
12-FA155	한국 수집종 중 속잎색 노란 노랑쌈배추	배양 후대	2011	383
12-FA156	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암3호	배양 후대	2011	384
12-FA157	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암3호	배양 후대	2011	385
12-FA158	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암3호	배양 후대	2011	386
12-FA159	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암3호	배양 후대	2011	387
12-FA160	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암3호	배양 후대	2011	388
12-FA161	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암4호	배양 후대	2011	389
12-FA162	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암5호	배양 후대	2011	392
12-FA163	한국 수집종 중 속잎색 노란 불암6호	배양 후대	2011	394
12-FA164	한국 수집종 중 속잎색 노란 겨울노랑배추	배양 후대	2011	398
12-FA165	한국 수집종 중 속잎색 노란 진한금배추	배양 후대	2011	399
12-FA166	한국 수집종 중 속잎색 노란 진한금배추	배양 후대	2011	402
12-FA167	한국 수집종 중 속잎색 노란 진한금배추	배양 후대	2011	403

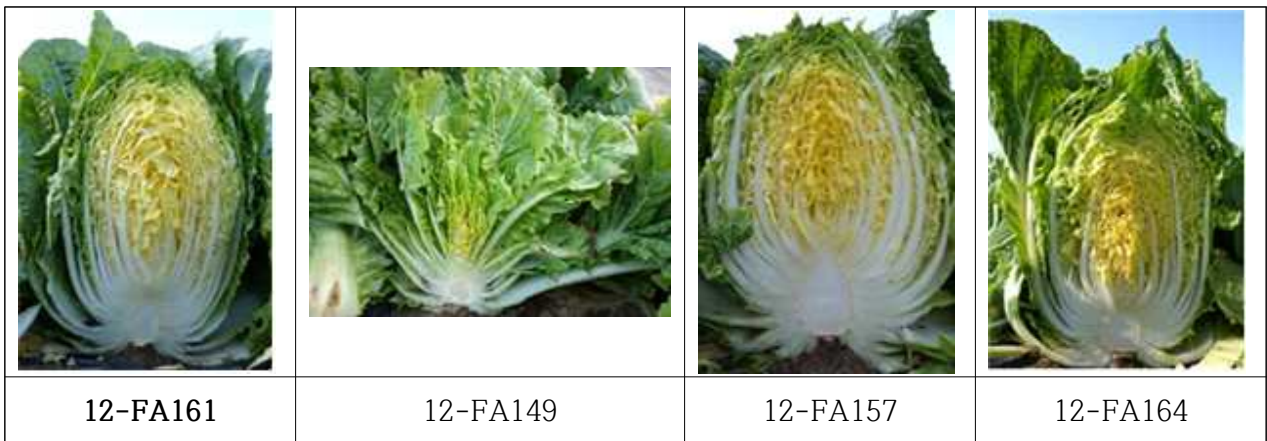
☞ 한국 수집종 중 속잎색이 노란 선발 품종 소포자 배양 유래 계통 13점 및 중국 도입 품종 중 속잎색이 노란 선발 품종 소포자 배양 유래 계통 16점 총 29점의 노지 가을 재배로 원예적 특성 조사 결과 원예적 특성이 양호한 다양한 계통을 선발하였으며, 이 중 매우 우수한 12-FA161계통을 종묘회사와 공동으로 선발하여 ‘원교10043호’ 로 신품종 육성 심의회를 통과

※ 선발된 계통은 종자를 대량 증식한 후 증식된 종자의 순도를 검정한 후 품종보호 출원 예정임, 품종 보호 출원 절차를 마친 품종은 민간 회사에 통상실시권을 처분할 계획임

<표 6> 속잎색이 노란 선발 자원 소포자 배양 유래 계통 생육조사 결과

포장라벨	주중 (g)	구중 (g)	구폭 (cm)	구고 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	겉잎수 (개)	속잎수 (개)	겉잎색	속잎색
12-FA1	3371.5	2308.5	18.5	24.5	43.5	38	9.5	83	3.5	4
12-FA2	2268	1372	16	21	38.5	29.5	12	76.5	2	5
12-FA3	2652.5	1775	18	23.5	40	35	10.5	74.5	3	5
12-FA139	4150	2337.5	15	42	57	36.5	14.5	36	4	3.5
12-FA140	3897.5	2454	14.5	36.5	46	31.5	14.5	45	4	2
12-FA141	2802	1562	15	33	42	29.5	15	45.5	3.5	3
12-FA142	2507	1177	13	28	43.5	27	14.5	39.5	2.5	1.5
12-FA143	2964	1694.5	13.5	38	50	23	17.5	47	2.5	3.5
12-FA144	4031	2197.5	14	42	49	29	16.5	34.5	3	2
12-FA145	5116.5	3006	15.5	44.5	53	32	14.5	49	4.5	3.5
12-FA146	3975.5	2757	15	42.5	50.5	31.5	10	46.5	3.5	2.5
12-FA147	2412.5	1747	14.5	27	35	29	9.5	41.5	3	1.5
12-FA148	4121.5	2358.5	15	45	50.5	39	15	27	4	2.5
12-FA149	3338.5	1760.5	16	30.5	43.5	29.5	19	48.5	4.5	5
12-FA150	3117.5	1749.5	16	31.5	42.5	28	11.5	41.5	4.5	3
12-FA151	4314	2494.5	17.5	37	50	28.5	15	49.5	4	4
12-FA152	3792	2474.5	15	35.5	48	31	11	38.5	3	3
12-FA153	3660	1926.5	15	43.5	49	33	14.5	35	4	3
12-FA154	4255	2544	18	38	46	28.5	16.5	47	4	2.5
12-FA155	3037	2454	20	26.5	37	27.5	8	65.5	5	3
12-FA156	4647.5	2764	20.5	28.5	49.5	39.5	15.5	58.5	4.5	4.5
12-FA157	3830.5	2714.5	21.5	23	43	31.5	12	63.5	5	5
12-FA158	3268.5	2122	19.5	24	41.5	28	12	64.5	5	5
12-FA159	3178.5	1940	18	25.5	40.5	30.5	17.5	63	5	4
12-FA160	4015	2652.5	22	25	39	31	18	71	4	4.5
12-FA161	3030.8	1598.3	18.3	28	44	29.5	19.8	57	4.5	4
12-FA162	2858	1567.5	15.5	28.5	43	33	12.5	43.5	4.5	3
12-FA163	3707.5	2533	21	27	46.5	34.5	11.5	55.5	3.5	4.5
12-FA164	3336	1790	18.5	26.5	51.5	34	15	58	4	5
12-FA165	3432	2340	18	26.5	40.5	34	10.5	65	4	3.5
12-FA166	2968	2141	15.5	28	41	32.5	10	47	4	3
12-FA167	3915.5	2928.5	23	27	41	34.5	9.5	61.5	4.5	4

*, ** 앞의 색은 색차트를 이용함, 자세한 내용은 <표 2>의 설명 참조



<그림 4> 2012년 가을 재배 후 선발된 소포자 유래 계통들의 모습

<표 7> 2012년 신규 유전자원 수집 (일본 출장 직원 활용, 25점 수집)

[3차년도]

○ 국내외 배추과 자원 수집 및 평가

- 수집 : 중국 우한 출장 과정에서 현지에서 유통중인 배추 품종 6점 구매 및 타인 과제 해외 출장 시 중국 운남성에서 5점 수집



(그림 1) 신규 수집 자원 모습(상 : 우한 수집, 하 : 운남 수집)

- 평가 : 2013년 파종기 이전 수집된 자원 중 일부는 노지 재배를 통하여 평가
 - 노지 가을 재배 일정 : 파종(2013. 8. 13) → 정식(2013. 9. 4) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2013. 11. 21.~) → 선발 (2012. 11. 28)

<표 1> 수집 자원의 원예적 특성 평가를 위한 노지 가을 재배 품종 목록

총라벨	주중(g)	겉잎수(개)	구중(g)	엽장(cm)	엽폭(cm)	구고(cm)	구폭(cm)	속잎수(개)	겉잎색	속잎색
13-FC222	2780.00	12.00	1811.00	58.00	35.00	31.00	15.00	49.00	3.00	2.00
13-FC223	2559.00	7.00	2000.00	55.00	35.00	29.00	15.00	71.00	3.00	3.00
13-FC224	3913.00	11.00	2917.00	51.00	39.00	32.00	20.00	55.00	3.00	2.00
13-FC225	3973.00	11.00	2974.00	63.00	29.00	32.00	20.00	64.00	3.00	3.00
13-FC226	4178.00	14.00	2993.00	56.00	36.00	30.00	20.00	74.00	4.00	2.00
13-FC227	6225.00	20.00	3778.00	67.00	44.00	37.00	23.00	75.00	3.00	4.00
13-FC228	3065.00	16.00	2021.00	56.00	31.00	31.00	18.00	54.00	3.00	3.00
13-FC229	4134.00	8.00	3086.00	61.00	42.00	36.00	18.00	49.00	3.00	4.00
13-FC230	5305.00	16.00	3170.00	64.00	37.00	36.00	19.00	49.00	3.00	4.00
13-FC231	2981.00	10.00	2302.00	50.00	32.00	25.00	19.00	82.00	4.00	3.00
13-FC232	5172.00	13.00	3513.00	60.00	36.00	36.00	20.00	56.00	4.00	4.00
13-FC233	3839.00	9.00	2742.00	60.00	37.00	37.00	16.00	58.00	3.00	3.00
13-FC234	4678.00	17.00	3056.00	57.00	34.00	34.00	20.00	63.00	3.00	5.00
13-FC235	4780.00	16.00	3001.00	58.00	40.00	37.00	17.00	46.00	2.00	3.00

13-FC236	3302.00	10.00	2513.00	54.00	33.00	37.00	18.00	52.00	3.00	3.00
13-FC237	4672.00	17.00	2681.00	68.00	44.00	35.00	19.00	59.00	3.00	2.00
13-FC238	6455.00	16.00	4599.00	60.00	39.00	41.00	20.00	70.00	3.00	3.00
13-FC239	3290.00	13.00	2257.00	55.00	37.00	32.00	17.00	66.00	4.00	4.00
13-FC240	5661.00	17.00	3686.00	73.00	40.00	39.00	19.00	61.00	3.00	4.00
13-FC241	2405.00	1.00	860.00	65.00	36.00	43.00	13.00	18.00	5.00	2.00
13-FC242	3731.00	10.00	2715.00	60.00	32.00	34.00	20.00	59.00	3.00	3.00
13-FC243	3532.00	11.00	2610.00	55.00	37.00	31.00	18.00	76.00	3.00	5.00
13-FC244	1340.00	5.00	993.00	57.00	36.00	26.00	12.00	44.00	3.00	3.00
13-FC245	3950.00	13.00	2636.00	57.00	42.00	32.00	18.00	75.00	3.00	5.00
13-FC246	6174.00	19.00	4086.00	64.00	40.00	40.00	24.00	75.00	3.00	3.00

* 앞의 색은 색차트를 이용함,

속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355



(그림 2) 도입 자원 중 속잎색과 원예적 특성이 양호하여 선발된 자원의 모습

☞ 선발된 자원은 추후 소포자 배양을 위해 노지 가을에 재배할 계획임

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

- 전년도 선발 자원 증식 : 12-FA41, 12-FA42, 12-FA46, 12-FA47 등 선발된 자원 10점 증식

<표 2> 12년 선발 자원 증식 목록

12라벨	선발자원 번호	품종명 및 설명	재종년도	조제번호	재종량
12-FA41	10-FP121-1	10년 선발자원 교배 후대	2013	-(고사)	0
12-FA42	10-FP 121-2	10년 선발자원 교배 후대	2013	573	2,600

12-FA43	10-FP 146-1	10년 선발자원 교배 후대	2013	576	645
12-FA44	10-FP 146-2	10년 선발자원 교배 후대	2013	도태	-
12-FA45	10-FP 147-1	10년 선발자원 교배 후대	2013	577	964
12-FA46	10-FP 149-1	10년 선발자원 교배 후대	2013	579	1,890
12-FA47	10-FP 149-2	10년 선발자원 교배 후대	2013	-(괴사)	0
12-FA48	11-FF 227-1	11년 선발자원 교배 후대	2013	582	1,061
12-FA49	11-FF 230-1	11년 선발자원 교배 후대	2013	589	1,331
12-FA50	11-FF 202-1	11년 선발자원 교배 후대	2013	585	530
12-FA51	11-FF 285-1	11년 선발자원 교배 후대	2013	586	2,168
12-FA52	11-FF 306-1	11년 선발자원 교배 후대	2013	도태	-

- 소포자 배양 유래 식물체의 종자 증식 : 순화 완료된 배양 유래 식물체의 준화처리(2013년 12월까지)
 → 하우스 정식(2013년 1월) → 교배(2014년 4 ~ 6월) → 채종(6 ~ 8월)

<표 3> 소포자 배양 유래 배추의 증식 종자 목록 (종자량 100립 이상)

13라벨	계통명	조제번호	종자라벨	계통명	조제번호
13-FC127	10-CFP98-1	35	13-FC152	10-CFP108-25	72
13-FC128	10-CFP100-1	36	13-FC153	10-CFP108-26	73
13-FC129	10-CFP100-4	39	13-FC154	10-CFP108-27	74
13-FC130	10-CFP100-5	40	13-FC155	10-CFP108-28	75
13-FC131	10-CFP100-10	43	13-FC156	10-CFP114-1	77
13-FC132	10-CFP100-11	44	13-FC157	10-CFP114-2	78
13-FC133	10-CFP102-1	45	13-FC158	10-CFP115-3	79
13-FC134	10-CFP102-7	48	13-FC159	10-CFP122-2	81
13-FC135	10-CFP102-8	49	13-FC160	10-CFP125-2	84
13-FC136	10-CFP102-12	51	13-FC161	10-CFP127-1	85
13-FC137	10-CFP102-13	52	13-FC162	10-CFP129-3	86
13-FC138	10-CFP107-1	54	13-FC163	10-CFP131-1	87
13-FC139	10-CFP107-2	55	13-FC164	10-CFP133-1	88
13-FC140	10-CFP107-3	56	13-FC165	10-CFP133-2	89
13-FC141	10-CFP108-3	58	13-FC166	10-CFP133-3	90

13-FC142	10-CFP108-5	59	13-FC167	10-CFP134-4	94
13-FC143	10-CFP108-6	60	13-FC168	10-CFP134-6	95
13-FC144	10-CFP108-7	61	13-FC169	10-CFP136-5	101
13-FC145	10-CFP108-12	64	13-FC170	10-CFP136-15	104
13-FC146	10-CFP108-13	65	13-FC171	10-CFP139-2	106
13-FC147	10-CFP108-14	66	13-FC172	10-CFP148-1	108
13-FC148	10-CFP108-15	67	13-FC173	10-CFP148-2	109
13-FC149	10-CFP108-17	68	13-FC174	10-CFP150-2	110
13-FC150	10-CFP108-22	69	13-FC175	10-CFP150-3	111
13-FC151	10-CFP108-24	71			

<표 4> 소포자 배양 유래 양채류의 증식 종자 목록 (증자량 100립 이상)

13라벨	계통명	조제번호	13라벨	계통명	조제번호
13-FY17	11-CFS31-60	36	13-FY30	11-CFS25-9	5
13-FY18	11-CFS31-69	38	13-FY31	11-CFS25-18	6
13-FY19	11-CFS36-2	39	13-FY32	11-CFS25-24	8
13-FY20	11-CFS47-7	40	13-FY33	11-CFS25-30	11
13-FY21	11-CFS58-7	43	13-FY34	11-CFS25-32	12
13-FY22	11-CFS58-9	44	13-FY35	11-CFS25-33	13
13-FY23	11-CFS58-13	47	13-FY36	11-CFS25-38	15
13-FY24	11-CFS58-14	48	13-FY37	11-CFS26-12	17
13-FY25	11-CFS58-16	49	13-FY38	11-CFS26-17	18
13-FY26	11-CFS58-20	51	13-FY39	11-CFS26-33	19
13-FY27	11-CFS58-28	55	13-FY40	11-CFS26-34	20
13-FY28	11-CFS25-1	1	13-FY41	11-CFS26-44	23
13-FY29	11-CFS25-6	4	13-FY42	11-CFS26-48	24

○ 선발 자원 소포자 배양

- 기선발 배추, 케일, 양배추, 브로콜리 등 다양한 배추과 자원의 소포자 배양 실시 : 배추, 양배추에서 다양한 배 발생

<표 5> 소포자 배양에 사용된 배추과 채소 파종 리스트

배양라벨	계통(도입)번호	작물명	배양라벨	계통(도입)번호	작물명
13-AC17	12-FA21	배추	13-AC24	12-FA137	배추
13-AC18	12-FA39	배추	11-FS25	08-7-2-1	양배추
13-AC19	12-FA46	배추	11-FS26	08-7-2-2	양배추
13-AC20	12-FA48	배추	11-FS31	09-24-1	브로콜리
13-AC21	12-FA49	배추	11-FS32	09-13-8	케일
13-AC22	12-FA50	배추	11-FS47	10-FX3-2(7)	양배추
13-AC23	12-FA51	배추	11-FS58	10-FX16-4	양배추

<표 6> 소포자 배양에 사용된 배지의 종류

배지 번호	배지조성
1	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%
1-A	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Kao. Vit 1mg
1-B	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Gamberg Vit 1mg
1-C	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + MS.Vit 1mg
1-D	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Micronutrient
1-E	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Macronutrient
2	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + NAA 50μl+BAP 50μl
3	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%
4	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15% + NAA 50μl+BAP 50μl
5	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%
6	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl
10	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%
11	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl
12	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%
13	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%+ NAA 50μl+BAP 50μl
14	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + Micro Element 1mg + S13%
15	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + Micro Element 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl
16	1N NLN +1N NLN Vit. + Micro Element 1mg + S13%

<표 7> 배추의 소포자 배양 결과

라벨	배지 종류	치상일	조사일	배갯수	치상 봉오리수	위상 배지	고온처리 온도	고온처리 기간(일)
13-AC17	1-A	11/21	12/17	1	30	1C	30°C	1
13-AC17	1-B	11/29	12/23	6	30	1C	30°C	1
13-AC18	2	12/12	1/3	24	30	1C	30°C	1
13-AC18	6	10/25	11/16	79	30	1C	30°C	1
13-AC18	6	12/18	1/9	1	30	1C	30°C	1
13-AC18	1-B	11/6	11/28	2	30	1C	30°C	1
13-AC18	1-B	11/29	12/23	9	30	1C	30°C	1
13-AC18	5-A	12/3	12/23	22	20	1C	30°C	1
13-AC18	5-C	11/20	12/17	7	30	1C	30°C	1
13-AC18	5-C	12/26	1/20	11	30	1C	30°C	1
13-AC19	2	11/12	12/2	7	30	1C	30°C	1
13-AC19	2	12/10	1/3	1	30	1C	30°C	1
13-AC19	5	11/25	12/17	1	30	1C	30°C	1
13-AC19	6	12/19	1/9	29	30	1C	30°C	1
13-AC19	1-B	11/17	12/9	2	30	1C	30°C	1
13-AC20	2	12/10	1/3	7	30	1C	30°C	1
13-AC20	6	10/25	11/16	24	30	1C	30°C	1
13-AC20	6	12/19	1/9	60	30	1C	30°C	1
13-AC20	1-B	11/29	12/23	23	30	1C	30°C	1
13-AC20	1-C	12/2	12/23	1	30	1C	30°C	1
13-AC20	5-A	12/6	12/27	25	30	1C	30°C	1
13-AC21	5	4/14	5/8	10	30	1C	30°C	1
13-AC21	1-A	11/21	12/17	1	30	1C	30°C	1
13-AC22	6	11/28	12/17	5	30	1C	30°C	1
13-AC22	5-A	12/5	12/27	2	30	1C	30°C	1
13-AC23	1	10/19	11/16	1	30	1C	30°C	2
13-AC23	2	12/10	1/3	62	30	1C	30°C	1
13-AC23	6	10/25	11/16	33	30	1C	30°C	1
13-AC23	6	11/28	12/17	19	30	1C	30°C	1
13-AC23	6	12/19	1/9	22	30	1C	30°C	1
13-AC23	1-B	11/17	12/9	10	30	1C	30°C	1
13-AC23	1-B	12/2	12/23	3	30	1C	30°C	1
13-AC24	1	11/9	12/2	5	30	1C	30°C	2
13-AC24	2	11/12	12/2	4	30	1C	30°C	1
13-AC24	5	11/16	12/9	14	30	1C	30°C	1
13-AC24	6	10/28	11/23	364	30	1C	30°C	1
13-AC24	6	11/28	12/17	200	30	1C	30°C	1
13-AC24	1-A	11/21	12/17	11	30	1C	30°C	1
13-AC24	1-A	12/17	1/9	12	30	1C	30°C	1
13-AC24	1-B	10/28	11/23	150	30	1C	30°C	1
13-AC24	1-D	11/4	11/23	40	30	1C	30°C	1
13-AC24	5-C	12/23	1/13	17	30	1C	30°C	1
계				1327		1C	30°C	

※ 배추의 소포자 배양에 배 발생이 잘 되는 배지는 6번 배지(1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl) 이었음

<표 8> 케일 등 양채류 소포자 배양 결과

라벨	배지 종류	치상일	배갯수	치상 봉오리 수	라벨	배지 종류	치상 일	배갯수	치상 봉오리 수
11-FS25	10	4/26	16	15	11-FS31	13	3/16	3	30
11-FS25	10	4/26	150	15	11-FS31	13	4/30	2	10
11-FS25	10	5/1	25	10	11-FS31	13	4/30	3	10
11-FS25	10	5/1	150	10	11-FS31	14	3/23	17	15
11-FS25	10	6/11	1500	30	11-FS31	14	3/23	20	15
11-FS25	11	5/7	40	10	11-FS31	14	3/26	16	15
11-FS25	11	5/7	60	10	11-FS31	14	3/26	17	15
11-FS25	11	6/14	69	30	11-FS31	15	3/23	3	15
11-FS25	12	5/15	360	10	11-FS31	15	3/23	5	15
11-FS25	12	5/15	450	10	11-FS31	15	3/26	3	15
11-FS25	12	6/18	620	20	11-FS31	15	3/26	5	15
11-FS25	13	5/29	92	20	11-FS31	16	4/2	1	15
11-FS26	10	5/1	450	10	11-FS31	16	4/2	5	15
11-FS26	10	5/1	500	10	11-FS47	10	5/1	50	10
11-FS26	10	6/11	420	30	11-FS47	10	5/1	160	10
11-FS26	10	6/14	130	20	11-FS47	11	5/16	9	15
11-FS26	11	5/7	130	15	11-FS47	11	5/16	10	15
11-FS26	11	5/7	200	15	11-FS47	12	5/29	11	20
11-FS26	12	5/16	110	10	11-FS58	10	4/26	50	15
11-FS26	12	5/16	230	10	11-FS58	10	4/26	160	15
11-FS26	12	5/29	270	20	11-FS58	10	5/2	100	10
11-FS26	12	6/18	640	20	11-FS58	10	5/2	150	10
11-FS26	13	5/16	270	10	11-FS58	10	6/11	200	30
11-FS26	13	5/16	300	10	11-FS58	11	5/7	39	15
11-FS31	10	2/3	2	15	11-FS58	11	5/7	80	15
11-FS31	10	2/3	6	15	11-FS58	11	6/21	260	20
11-FS31	11	2/3	1	15	11-FS58	12	5/16	170	10
11-FS31	11	2/3	2	15	11-FS58	12	5/16	230	10
11-FS31	12	3/14	25	20	11-FS58	13	5/29	180	20

※ 배추과 양채류 중 케일과 브로콜리에서는 배가 발생되지 않았으나, 양배추에서는 많은 배가 발생되어 추후 계통으로 육성하며, 시험 재료로 활용코자 함 (일부 자원은 케일로 도입되었으나 양배추 였음)



Metabolite profiling of phenolics, anthocyanins and flavonols in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)



Suhyoung Park ^{a,1}, Mariadhas Valan Arasu ^{b,1}, Nan Jiang ^c, Seung-Hyun Choi ^c, Yong Pyo Lim ^d, Jong-Tae Park ^c, Naif Abdullah Al-Dhabi ^b, Sun-Ju Kim ^{c,*}

^a Department of Horticultural Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science (NIHHS), Rural Development Administration (RDA), 475 Inok-dong, Jeonju-gu, Jeonju 540-706, Republic of Korea

^b Department of Botany and Microbiology, Adhryah Chair for Environmental Studies, College of Science, King Saud University, P.O. Box 2455, Riyadh 11451, Saudi Arabia

^c Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Republic of Korea

^d Department of Horticultural Science, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Republic of Korea

^{*} Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 March 2014

Received in revised form 19 May 2014

Accepted 25 May 2014

Available online 22 June 2014

Keywords:

Flavonols

Anthocyanidins

Phenolic acids

HPLC

Brassica oleracea

ABSTRACT

Metabolite profiling of phenolic acids, anthocyanidins and flavonols in *Brassica oleracea* var. *capitata* cultivated in the spring and fall seasons were evaluated. Phenolic acids (caffeic, p-coumaric, ferulic and sinapic acid), anthocyanidins (cyanidin and peonidin), and flavonols (quercetin and kaempferol) were identified and quantified by LC-MS and HPLC analyses. The total phenolic acid contents (10,633 µg/g DW) were increased 6.3-fold in red cabbages; in contrast, phenolic acids were present in significantly higher levels in the outer parts of the green cabbages in the spring sowing than in those of the fall sowing. In the case of red cabbages, the phenolic acid levels in the outer parts were higher (3147.5 µg/g DW), but the seasonal factor was not significant. Statistical analysis exhibited a significantly negative correlation between anthocyanidins and quercetin but exhibited a positive correlation between flavonols and phenolic acids in both cultivars. The most dramatic differences in the effect of the tissue position were analyzed by two-way MANOVA. The levels of anthocyanidins were 25–28% higher in the spring than those in the fall cabbages, whereas the contents were similar in the various tissue positions.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

[4차년도]

○ 국내외 자원 수집 및 평가

1) 국외 자원 수집 : 중국 청도 인근 배추 8품종 수집

※ 중국 청도 인근은 한국 배추 품종이 많이 심기고 있었으나, 최근 일본 품종의 점유율이 증가하고 있는 추세임.

※ 한국 품종 중 대부분은 중국에서 자체 생산하여 공급하는 품종이었음.

☞ 고가 품종 시장은 일본에 저가 품종 시장은 중국에 잠식당하는 상황으로 우려됨

2) 수집 자원 평가 : 전년도 수집 자원 11점의 봄 재배를 통한 평가

<표 1> 노지 봄 재배용 배추 종자 파종 목록



포장라벨	도입번호	도입처	포장라벨	도입번호	도입처
14-FA78	14-2-11	광저우	14-FA84	14-2-17	광저우
14-FA79	14-2-12	광저우	14-FA85	14-2-18	광저우
14-FA80	14-2-13	광저우	14-FS01	춘광	한국
14-FA81	14-2-14	광저우	14-FS02	아라리	한국
14-FA82	14-2-15	광저우	14-FS03	쌈노랭이	한국
14-FA83	14-2-16	광저우			



14-FA01

14-FA78

14-FA79

14-FA80,82,83

☞ 대부분 개화하여 구 특성 관찰이 불가능. 일부 구를 형성한 2품종도 특성이 열악하여 도태함

<표 2> 전년 선발 자원 및 교배 후대 내서성 평가를 위한 파종 리스트

포장라벨	계통번호	육성 및 수집내역	교배년도	조제번호	파종량
14-FA16	11-FF1-2	태청봄F2	2013	113	18
14-FA17	11-FF2-1	싱싱봄F2	2013	114	18
14-FA18	11-FF2-2	싱싱봄 F2	2013	115	18
14-FA19	11-FF3-1	춘황봄 F2	2013	116	18
14-FA20	11-FF3-2	춘황봄 F2	2013	117	18
14-FA21	11-FF19-2	배양계통	2013	137	18
14-FA22	11-FF20-3	배양계통	2013	142	18
14-FA23	11-FF21-1	배양계통	2013	144	18
14-FA78	14-2-11	광저우 도입종자			18
14-FA79	14-2-12	광저우 도입종자			18
14-FA80	14-2-13	광저우 도입종자			18
14-FA81	14-2-14	광저우 도입종자			18
14-FA82	14-2-15	광저우 도입종자			18
14-FA83	14-2-16	광저우 도입종자			18
14-FA84	14-2-17	광저우 도입종자			18
14-FA85	14-2-18	광저우 도입종자			18



FA16

FA17

FA15

FA20

FA85

※ 재배 일정 : 파종(2014. 3. 12) → 정식(2014. 4. 11) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2014. 6. 12.~)

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

1) 소포자 배양 유래 개체의 종자 증식 및 특성 평가

<표 3> 봄 종자 증식이 완료되어 원예적 특성을 조사한 15계통의 교배 내역

포장라벨	개체번호	교배년 도	조제번 호	포장라벨	개체번호	교배년 도	조제번 호
14-FS01	춘광(대조)			14-FS62	11-CFF302-72	2013	126
14-FS02	아라리(대조)			14-FS63	11-CFF302-83	2013	136
14-FS03	쌈노랭이(대조)			14-FS64	11-CFF302-88	2013	140
14-FS56	11-CFF302-6	2013	88	14-FS65	11-CFF302-96	2013	145
14-FS57	11-CFF302-13	2013	94	14-FS66	11-CFF302-100	2013	147
14-FS58	11-CFF302-16	2013	95	14-FS67	11-CFF302-103	2013	149
14-FS59	11-CFF302-18	2013	97	14-FS68	11-CFF302-104	2013	150
14-FS60	11-CFF302-59	2013	116	14-FS69	11-CFF302-106	2013	152
14-FS61	11-CFF302-68	2013	123	14-FS70	11-CFF302-119	2013	159

<표 4> 내서성 검정을 위한 초여름 파종 후 구가 형성된 자원의 생육조사 결과

총라벨	주중 (kg)	구중 (kg)	겉잎수 (개)	구고 (cm)	구폭 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	속잎수 (개)	겉잎색
14-FS1	2291	1147	11	29.5	12.5	45	28	66	3
14-FS2	2978.5	2324.5	8	29	16	42	28.5	66	4
14-FS3	2423.5	1459.5	8.5	27.5	13.5	52.5	28.5	58	4
14-FS58	1562.5	968.5	7	25.5	13	38	29.5	32.5	3
14-FS62	1313.5	831.5	6.5	18	14.5	27.5	28	21	3
14-FS64	1313	678	4	15	12	23.5	20	37	4
14-FS69	1238	579.5	5	13	11	24.5	21	29	4



☞ 2개의 DH line을 제외한 대부분의 계통은 구 특성이 열악하거나 일찍 개화하여 도태됨

※ '11년 중국 무한에서 수집된 1품종 중 선발된 3개체를 배양하여 획득된 소포자 배양체 유래 계통의 모습과 특성이 매우 다양함



FS1

FS62

FS58

FS69

56,57,60,63,65,67,70

〈표 5〉 가을 종자 증식이 완료되어 원예적 특성을 조사한 35계통의 교배 내역

포장라벨	계통 번호	교배년 도	조제 번호	포장라벨	계통 번호	교배년 도	조제 번호
14-FH194	11-CFF303-44	2013	294	14-FH212	11-CFF303-99	2013	338
14-FH195	11-CFF303-53	2013	297	14-FH213	11-CFF514-1	2013	340
14-FH196	11-CFF303-54	2013	298	14-FH214	11-CFF514-3	2013	341
14-FH197	11-CFF303-56	2013	300	14-FH215	11-CFF516-1	2013	342
14-FH198	11-CFF303-57	2013	301	14-FH216	11-CFF516-2	2013	343
14-FH199	11-CFF303-60	2013	304	14-FH217	11-CFF516-6	2013	346
14-FH200	11-CFF303-61	2013	305	14-FH218	11-CFF516-8	2013	347
14-FH201	11-CFF303-65	2013	308	14-FH219	11-CFF516-9	2013	348
14-FH202	11-CFF303-69	2013	312	14-FH220	11-CFF516-10	2013	349
14-FH203	11-CFF303-70	2013	313	14-FH221	11-CFF516-11	2013	350
14-FH204	11-CFF303-72	2013	315	14-FH222	11-CFF516-12	2013	351
14-FH205	11-CFF303-76	2013	318	14-FH223	11-CFF516-17	2013	352
14-FH206	11-CFF303-79	2013	320	14-FH224	11-CFF516-24	2013	358
14-FH207	11-CFF303-87	2013	328	14-FH225	11-CFF516-25	2013	359
14-FH208	11-CFF303-88	2013	329	14-FH226	11-CFF516-26	2013	360
14-FH209	11-CFF303-90	2013	330	14-FH227	11-CFF516-27	2013	361
14-FH210	11-CFF303-92	2013	332	14-FH228	11-CFF516-28	2013	362
14-FH211	11-CFF303-98	2013	337				

〈표 6〉 육성 계통의 가을 특성 검정 결과

포장라벨	주중(g)	구중(g)	겉잎수 (개)	구고 (cm)	구폭 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	겉잎색	속잎색	속잎수 (개)
14-FH194	1831.5	1314	11	21.5	16.5	30.5	25	1	1	29.5
14-FH195	2382	1659	9	21	17.5	36	35	3	1	24.5
14-FH196	1865	1220.5	10.5	19.5	16	30.5	26.5	2	1	30
14-FH197	1699	1213	9.5	22.5	15.5	28	17.5	1	1.5	40
14-FH198	2655.5	1541.5	17.5	24.5	15	34.5	27	1	1	41.5
14-FH199	2512	1340.5	10.5	20	16.5	33	32.5	2	1	29
14-FH200	2298.5	1552.5	6.5	23	16	31.5	34	2	1.5	34
14-FH201	3010	1629	9	21	19.5	36	34	2	1	37
14-FH204	2795	2023	8	23.5	19	41	36	2	1	26.5
14-FH205	1961	1099	11.5	22.5	15	36	30	2	1	18.5
14-FH206	2369	1417	10.5	19	16.5	36	31.5	2	1	20.5
14-FH207	2309	1195	13	32.5	13.5	38.5	31	2	1	16
14-FH208	2030.5	1368	13	20.5	17	30.5	24	3	1	23
14-FH209	2865	1886	11	23	16	39.5	30.5	4	1	24.5
14-FH210	1761	1243.5	9.5	17.5	17	25.5	25	1	1	44
14-FH211	1675.5	991.5	9.5	25.5	12.5	35	28	1.5	0	17.5
14-FH212	3072	1722.5	11	34.5	17	45.5	37.5	2	0	19.5
14-FH213	3971	2532	13	27	21	45	33	3	4	58
14-FH214	4545.5	3043	11	31	18.5	46.5	33.5	4	4	62

14-FH215	5964	2444	16	53	17	69	32	6	4	44
14-FH216	4594	1925	11	49.5	13	71	43	4.5	4	28.5
14-FH217	6075	2460	17	51.5	14.5	73	39.5	5.5	4.5	42
14-FH218	3749.5	1939	9	45.5	14	64.5	34.5	4	2.5	32
14-FH219	3788.5	1879.5	12.5	49	15	68	37.5	5	4	42.5
14-FH220	6357.5	2741	15	53.5	15.5	76.5	38	5.5	4.5	40
14-FH221	4395.5	2319.5	9	48.5	14.5	72	41.5	4.5	2	29
14-FH222	3975	2294	8.5	46	16	68.5	38	4.5	3	33
14-FH223	4048.5	2119.5	9.5	49	13	75.5	44.5	4.5	2.5	31
14-FH224	4518.5	2144.5	14.5	50	12	64.5	34	5	3	33.5
14-FH225	4155.5	1796.5	14.5	43.5	13.5	59	30.5	5	4	33
14-FH226	4575.5	1829.5	13	45	13.5	60.5	33.5	5	4	32.5
14-FH227	4492	2032	13	47	12	58	33	6	4	48
14-FH228	4979.5	1994	15	45	13.5	57.5	35.5	4	2.5	36.5

* 앞의 색은 색차트를 이용함,

속잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355



원예원, 농기평, 이마트 3자간 MOU



선발 자원의 공동 평가(이마트 채소팀)

※ 이마트와 공동 선발한 자원(글루코시놀레이트 분석은 김선주 교수와 협력)



원교20036호
(조선배추 유사)
(GSL:7 μ mol/g dry wt)



원교20037호
(기능성배추)
(GSL:42 μ mol/g dry wt)



원교20039호
(중국용 배추)
(GSL:12 μ mol/g dry wt)



원교20042호
(소형배추)
(GSL:18 μ mol/g dry wt)



순무 계통
(뿌리배추)
(GSL:45 μ mol/g dry wt)

* GSL (Glucosinolates) : 기능성 성분이 있는 글루코시놀레이트류 13종의 총 함량

○ 선발 자원 소포자 배양 : 9종류의 배지 조성으로 배양 실시

<표 7> 배추의 소포자 배양에 사용될 선발 배지 조성

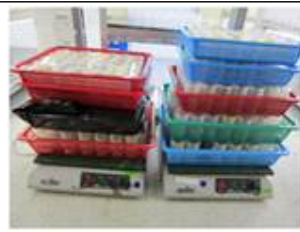
배지번호	배 지 조 성
1	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%
1-A	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Kao. Vit 1mg
1-B	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Gamberg Vit 1mg
1-C	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + MS.Vit 1mg
1-D	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Micronutrient
1-E	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Macronutrient
2	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + NAA 50 μ l+BAP 50 μ l
3	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%
5	1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO ₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%

<표 8> 케일의 소포자 배양 결과

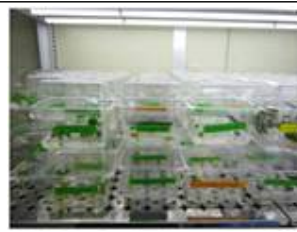
라벨	작물	소속	배양 횟수	최적 배지	개체 수	차선배 지	개체 수	배발생 개수	치상 개수
14-RM 1	케일	아시아종묘	15	10-C	310	13	108	1021	538
14-RM 2	케일	아시아종묘	6	10-C	140	10-A	29	186	159
14-RM 3	케일	충남대 도입종자	7	10-B	15	10	4	44	21
14-RM 4	꽃케일	아시아종묘	6	10-B	167	11	125	307	292
14-RM 5	케일	충남대 도입종자	8	10-B	14	13	22	44	27
14-RM 6	케일	아시아종묘	11	-	-	-	-	-	-
합계								1,602	1,037



소포자 매쇄



액체배지 배양



고체배지 순화



토양 순화

< 소포자 배양 과정 >

중부3.0. 국문과외 학사

RDA 국립원예특작과학원 **79**

수신자 농업유전자원센터장 (경유)
 제목 배추 육성완료 계통 입고 요청

1. 귀 기관의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. 국립원예특작과학원 채소과에서 QP 채소종자사업단 과제 "기능성 및 내재형성 배추과 계통 육성" 수행 과정에서 육성된 배추 계통 10 점의 종자를 봉입과 같이 입고 요청하오니 처리하여 주시기 바랍니다.

붙임 1. 종자기록 기술정보 양식 1부.
 2. 종자 10점 (별도봉투) 봉.

< 배추 육성 계통 10점 입고 >

중부3.0. 국문과외 학사

RDA 국립원예특작과학원 **농업유전자원**

수신자 박상연 귀하 (우305-764 대전 유성구 공동 충남대학교 농생대 농1호관 1217호)
 제목 농업유전자원 분양(배추 15점-충남대)

1. 관문 : 채소과-1535 (2014.09.02)
 2. 관문 호 외계 요청된 배추 20점의 종자 중 종자량이 충분하여 분양 가능한 배추 15점의 종자를 첨부와 같이 분양하오니, 연구 목적에 맞게 사용하시고 분양응답 조건을 준수하여 주시기 바랍니다.

< 배추 육성 자원 15점 분양 실시 >

식품지널 2015년 6월 24일 12면

9일과 농부소속인 국립원예특작과학원 농업유전자원기술개발사업단 12인 OCM인 원수영(과장)과 내내 우수 종자 개발 및 보급 확대를 위한 업무협약 체결했다. 14일 원예사업단 최상진(차장)이 이끄는 서울본부팀, 20일 원예특작사업단팀, 24일 농업유전자원사업단 최상진(차장)이 이끄는 서울본부팀과 업무협약 체결했다.

이마트 농진청 농기령 우수 종자 육성 나섰다

개발-보급 확대 상생협력 협약

이마트는 14일 서울 상수동 소재 이마트 본사에서 농진청(농림수산식품부) 국립원예특작과학원, 농민수산식품기술기획평가원과

지 알고 초기에 시장에 정착할 수 있도록 이마트 유통망을 적극 지원할 계획이다. 이마트는 농진청, 농기령과 함께 대규모로 소비되는 농산물 가운데 수급 부족 비중이 높은 양파, 양배추, 파

채널A(2015.06.11.)

이마트, 국산 채소종자 보급 업무협약

국산의 힘

이마트는 10일 농림수산식품기술기획평가원, 국립원예특작과학원과 우수 국산 종자의 개발 및 보급을 위한 상생협력 업무협약을 맺었다. 이날 오전 서울 영등포 이마트 성수점에서 체결된 이 국산 유통의 양배추와 양파를 소개하고 있다.

< 육성된 내서성 품종 '원교20042호'의 활용도 제고를 위한 MOU 관련 홍보 >

		
15-FK224 (가을재배 개화)	15-FK225 (2차 생장 발생)	15-FK227 (구가 터지며 개화)

☞ 미국 도입 자원은 대부분 가을 재배에서도 개화하였으며, 중국 도입 자원도 특성이 열악하여 도태

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

1) 소포자 배양 유래 개체의 종자 증식 및 특성 평가

<표 1> 소포자 배양 유래 계통 후대의 종자 증식에 성공하여 가을에 특성조사 파종 목록

15라벨	계통번호	재종년도	조제번호
15-FK117	11-CFF514-1	2015	426
15-FK118	11-CFF516-9	2015	427
15-FK132	12-CFA22-67	2015	466
15-FK171	12-CFA 39-55	2014	198
15-FK172	12-CFA 39-58	2014	201
15-FK173	12-CFA 39-60	2014	203
15-FK174	12-CFA 39-61	2014	204
15-FK175	12-CFA 39-62	2014	205
15-FK176	12-CFA 39-63	2014	206
15-FK177	12-CFA 39-64	2014	207
15-FK178	12-CFA 39-67	2014	209
15-FK179	12-CFA 39-69	2014	210
15-FK180	12-CFA 39-72	2014	212
15-FK181	12-CFA 39-73	2014	213
15-FK182	12-CFA 39-75	2014	215
15-FK183	12-CFA 39-77	2014	216
15-FK184	12-CFA 39-78	2014	217
15-FK185	12-CFA 39-79	2014	218
15-FK186	12-CFA 39-81	2014	220

<표 2> 소포자 배양 유래 계통 후대의 종자 증식에 성공하여 가을 재배로 원예적 특성 조사 결과

15라벨	주중(g)	구중(g)	구폭 (cm)	구고 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	겉잎 수	속잎 수	겉잎 색	속잎 색
------	-------	-------	------------	------------	------------	------------	---------	---------	---------	---------

							(개)	(개)		
황성	1096.7	479.3	94.7	206.0	264.3	175.0	21.0	46.7	2.7	0.0
휘파람	2323.7	1289.7	130.0	227.0	350.0	208.3	22.3	58.3	2.7	1.7
춘광	3390.0	2195.7	146.7	242.7	426.7	266.7	14.7	68.0	4.3	2.0
아라리	3030.7	1831.7	154.0	220.0	380.0	268.3	15.3	54.0	2.7	0.7
15-FK117	2636.7	1425.3	135.7	255.3	360.3	248.0	19.0	45.3	4.0	2.0
15-FK132	3504.3	1981.0	110.0	252.3	472.3	300.7	12.3	38.7	4.0	2.7
15-FK171	2587.3	1362.3	144.0	330.0	526.7	275.0	13.3	40.3	5.3	1.3
15-FK172	3179.0	1946.3	158.3	248.0	463.3	298.3	12.0	46.7	4.3	1.7
15-FK173	2491.0	1488.0	129.0	309.7	493.3	296.7	11.7	41.0	4.0	1.3
15-FK174	3125.0	1530.0	135.0	295.0	495.0	360.0	13.0	39.0	6.0	3.0
15-FK175	2622.3	1263.7	121.0	316.0	460.0	298.3	13.7	38.3	4.5	1.5
15-FK176	2729.7	1373.0	123.3	372.7	603.3	338.3	13.3	36.0	4.3	1.3
15-FK177	3038.7	1836.0	136.7	296.7	476.7	291.7	12.7	52.3	5.0	1.7
15-FK178	2807.3	1210.0	103.3	353.3	625.0	311.7	15.0	35.3	4.7	1.3
15-FK179	1986.7	1069.3	109.0	320.0	480.0	265.0	11.7	37.7	4.7	1.0
15-FK180	2166.0	1001.0	108.3	316.0	543.3	338.3	9.7	35.7	5.0	1.0
15-FK181	2573.0	674.0	103.5	278.5	600.0	309.5	16.5	33.0	4.0	0.5
15-FK182	3328.3	1193.0	124.3	309.3	581.7	385.0	15.3	31.3	5.0	1.7
15-FK183	1552.7	388.7	86.7	270.0	471.7	250.0	18.7	26.0	4.0	0.0
15-FK185	1348.3	262.7	71.7	188.7	426.7	251.7	16.3	31.7	3.0	1.0
15-FK186	2207.0	796.7	118.0	230.7	516.7	293.3	19.7	41.7	3.7	2.0

* 앞의 색은 색차트를 이용함,

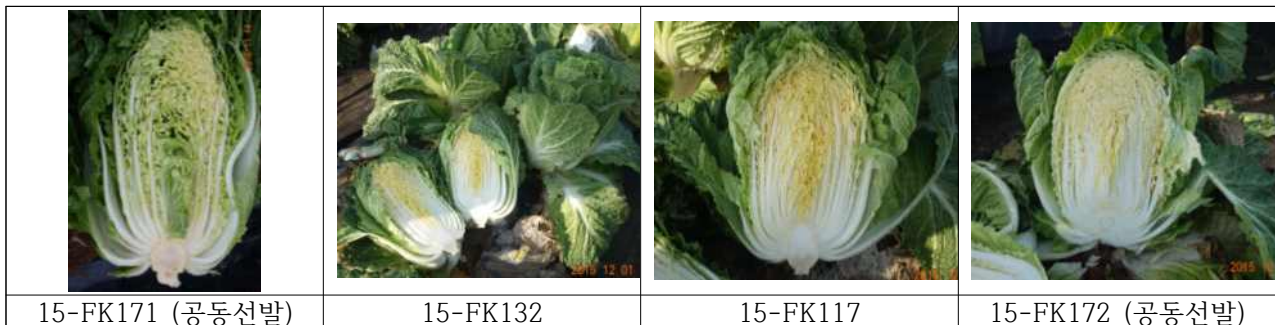
숙잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 2087, 1; DIC 2088, 2; DIC 2089, 3; DIC 2540, 4; DIC 167, 5; DIC 166, 6; DIC 86, 7; DIC 85, 8; DIC 84

겉잎색용 색차표(DIC 이용) : 0; DIC 361, 1; DIC 362, 2; DIC 246, 3; DIC 369, 4; DIC 2324, 5; DIC 2336, 6; DIC 2325, 7; DIC 2356, 8; DIC 2355



※ 재배 일정 : 파종(2015. 8. 12) → 노지 정식(2015. 9. 10) → 작물 관리(표준영농교본에 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2015. 11. 12.~)

<표 3> 일부 선발 계통의 원예적 특성



☞ 공동 선발 계통은 추가 실험을 위하여 종자를 증식코자 하우스에 정식함

<표 4> 기존 선발 자원 후대 및 유래 계통의 내서성 검정을 위한 하우스 파종 목록

15라벨	채종년도	조제번호	15라벨	채종년도	조제번호	15라벨	채종년도	조제번호
15-FD01	춘광		15-FD40	2010	361	15-FD110	2013	564
15-FD02	아라리		15-FD41	2010	362	15-FD111	2013	573
15-FD03	2012	290	15-FD42	2010	363	15-FD112	2013	576
15-FD04	2012	291	15-FD43	2010	364	15-FD113	2013	577
15-FD05	2012	293	15-FD44	2010	365	15-FD114	2013	695
15-FD06	2012	299	15-FD45	2010	366	15-FD115	2012	3
15-FD07	2013	455	15-FD46	2010	367	15-FD116	2012	20
15-FD08	2013	496	15-FD47	2010	368	15-FD117	2012	35
15-FD09	2013	517	15-FD48	2010	369	15-FD118	2012	39
15-FD10	2010	350	15-FD49	2010	370	15-FD119	2012	44
15-FD11	2012	137	15-FD50	2010	371	15-FD120	2012	51
15-FD12	2010	333	15-FD51	2010	372	15-FD121	2012	55
15-FD13	2010	334	15-FD52	2010	373	15-FD122	2012	64
15-FD14	2010	335	15-FD53	2010	374	15-FD123	2012	65
15-FD15	2010	336	15-FD54	2011	653	15-FD124	2012	69
15-FD16	2010	337	15-FD55	2011	654	15-FD125	2012	71
15-FD17	2010	338	15-FD56	2011	661	15-FD126	2012	77
15-FD18	2010	339	15-FD57	2011	662	15-FD127	2012	79
15-FD19	2010	340	15-FD58	2011	663	15-FD128	2012	86
15-FD20	2010	341	15-FD59	2011	664	15-FD129	2012	110
15-FD21	2010	342	15-FD60	2011	665	15-FD130	2013	4
15-FD22	2010	343	15-FD61	2011	666	15-FD131	2013	6
15-FD23	2010	344	15-FD62	2011	667	15-FD132	2013	7
15-FD24	2010	345	15-FD63	2011	668	15-FD133	2013	690
15-FD25	2010	346	15-FD64	2011	674	15-FD134	2013	701
15-FD26	2010	347	15-FD65	2011	675	15-FD135	2013	702
15-FD27	2010	348	15-FD66	2012	113	15-FD136	2013	719
15-FD28	2010	349	15-FD67	2012	114	15-FD137	2013	720
15-FD29	2010	350	15-FD68	2012	115	15-FD138	2013	97
15-FD30	2010	375	15-FD69	2012	116	15-FD139	2013	140
15-FD31	2010	352	15-FD70	2012	117	15-FD140	2013	328
15-FD32	2010	353	15-FD71	2012	275	15-FD141	2013	338
15-FD33	2010	354	15-FD72	2012	276	15-FD142	2013	340
15-FD34	2010	355	15-FD73	2012	277	15-FD143	2013	392
15-FD35	2010	356	15-FD74	2012	278	15-FD144	2013	400





15-FD36	2010	357	15-FD75	2012	279	15-FD145	2013	411
15-FD37	2010	358	15-FD76	2012	280	15-FD146	2013	418
15-FD38	2010	359	15-FD77	2012	281	15-FD147	2012	260
15-FD39	2010	360	15-FD78	2012	282			

※ 재배 일정 : 파종(2015. 8. 12) → 하우스 정식(2015. 9. 10) → 작물 관리(표준영농교본에
 준하여 관리) → 수확 및 조사 (2015. 11. 12.~)

<표 5> 육성 계통 중 도태된 자원의 모습

		
15-FD94 (내부 생리장애)	15-FD115 (생육불량, 괴사)	15-FD116 (월예적 특성 불량)

<표 6> 육성 계통 중 선발된 자원의 모습

			
15-FD126	15-FD133	15-FD145	15-FD135

☞ 선발 계통은 종자를 증식하기 위해 하우스에 정식

○ 선발 자원 소포자 배양 : 전년도까지 발생된 배상체의 순화 및 종자 생산에 주력

<p>2016. 6. 28(화) 전주KBS "뉴스9"</p> <p>폭염 끄떡없는 신종종 채소 개발</p>			<p>농촌진흥청이 폭염에도 견딜 수 있는 품종 개발에 주력하는 이유입니다.</p>
	<p>[앵커멘트] 한 여름 쉼통디워는 농작물에도 치명적 피해를 입대요. 최근 폭염에도 끄떡없는 채소들이 속속 개발되고 니다. 이처럼 기사가 취재했습니다.</p>		<p>여기에 함암 같은 기능성과 역산 당도 등을 개선해 상 품성도 높일 계획입니다.</p>
	<p>[리포트] 30도 안팎의 무더위 속, 겉보기에도 시들시들한 풀 같아보이니 속이 누렇게 썩어있습니다. 반면 폭염에 견딜 수 있게 개발된 품종들은 겉과 모두 싱싱합니다.</p>		<p>[인터뷰]박수형/농촌진흥청 연구개발소 연구실 박사 "더위에 강할 뿐만 아니라 빨간색, 초록색 다양한 색깔 채종도 육성하고요. 함암 등 기능성 성분이 많은 품종 을 개발하고 있습니다."</p>

<홍보 성과> 더위에 강한 내서성 배추 품종 육성 내용 및 소포자 배양법 홍보

<표 7> DH계통개발

DH계통개발				
구분	계통명	계통특성	분양처	기타
1	원교20044호	고순도 DH inbred, 주황속색	이마트	채 소 과 -30(15.01.06.)
2	원교20039호	고순도 DH inbred, 조숙종	이마트	채 소 과 -30(15.01.06.)
3	원교20037호	고순도 DH inbred, 고기능성	이마트	채 소 과 -30(15.01.06.)
4	원교20042호	고순도 DH inbred, 고품질	이마트	채 소 과 -30(15.01.06.)

함께해요 출자연습 농촌핵심 국가안보!

국립농업과학원 농업유전자원센터

농촌진흥청

수신 국립원에 특작과 학원질(채소과갈)
(경유)

제목 농업생명자원 기탁내용 알림-국립원에특작과학원(박수*)

1. 관련: 채소과-1871 (2016. 07. 25.),
2. 귀 기관에서 기탁하신 농업생명자원을 접수하고 불임과 같이 임시번호를 부여하였음을 알려드리니 참고하시기 바랍니다.
가. 기탁작물: 배추 품 27자원
나. 임시번호: K256569 ~ K256595

붙임 농업생명자원 접수내역 1부, 끝.

<배추 27점 자원 기탁 완료>

농업과학연구

J. Agr. Sci. Camb. Natl. Inst. Res. 139-144 (2015)

속잎이 노랗고 뿌리혹병에 저항성인 배추 계통 '원교 20034호' 육성

박수형 · 장희영 · 서영훈 · 박민영 · 문우경 · 이철주*

국립농업과학원 채소과, 국립중앙원 농촌보호과
*국립농업과학원 지상농장연구소
(영수일: 2015년 10월 12일, 수일: 2015년 10월 26일, 게재확정일: 2015년 10월 26일)

Developing Inbred Line of 'Wonkyo20034ho' Showing Clubroot Resistance and Yellow Inner Leaf Color in Kimchi Cabbage (Chinese Cabbage) (*Brassica rapa*, L.)

Sahyong Park, Ha-Young Jang, Myeong-Whoon Seo, Min young Park, Moo-Kyung Yoon*, and Jang-Soo Lee*

Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Wanju 55365, South Korea
*Plant Variety Protection Division, KS375, Wanju 560-580, South Korea
*Pondharoot Research Team, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Wanju 55365, South Korea
(Received: 12. Oct. 2015, Revised: 26. Oct. 2015, Accepted: 26. Oct. 2015)

<비SCI논문 게재>

<제 2 협동과제: 기능성 및 내서성 품종 종자 개발 및 사업화>

(1) 유전자원간 F2 집단 선발

뿌리혹병에 강하고 내서성이 강하면서 만추대성이 있는 B Type을 개량하기 위해 2013년 봄에 CR대노CR춘이xCR대노CR탐영, CR대노CR춘이xCR대명노우, 하노CR노xCR대노CR탐영, 하노CR노xCR대명노우, 하노CR노노평xCR대명노우 등 5조합이 만들어졌고 이들은 2013년 7월 1일 128구 육묘포트에 파종하고 동년 7월 15일에 쇼케이스에서 50일간 저온처리 한 후 가온 이중하우스에 정식하였다.

그리고 인공교배를 하여 F2 종자를 만들었다. (그림.1-4)



그림.1 모본 파종



그림.2 저온처리



그림.3 가온하우스 정식



그림.4 인공교배

이들 F2 종자를 2013년 12월 7일 전열온상에서 72구 연결포트에 파종하여 2014년 1월 6일에 이중 수막하우스에 정식해서 2014년 3월 26일에 만추대성 모본 35개체를 선발하여 교배하였다. 이들을 2014년 12월 2일에 72구 연결포트에 파종하여 2014년 12월 30일에 수막 2중 하우스에 정식 후, 성능이 우수한 F3 개체를 선발하여 교배하였다. 그리고 2015년 12월 3일에 파종하여 2016년 같은 방법으로 재배하여 F4 40개체를 선발하여 교배하였다. (그림.5-8)



그림.5 전열온상 파종전경



그림.6 이중하우스 정식전경



그림.7 정식포 선발전경



그림.8 선발된 모본들

2) F1 작성 및 성능검정

내서성이 강한 계통 CR대명CR노, 우황, CR대명노우, CR대노CR탐영 등과 추대가 안정된 계통 일춘, 춘광, 영진대하춘일, 지대지부춘일, CR대명노우춘일 등을 2015년 6월 20일에 128구 육묘포트에 파종하고 동년 7월 7일에 쇼케이스에서 50일간 저온처리한 후 가온 이중 하우스에 정식하였다.

그리고 인공교배를 하여 조합을 작성하였다.(표.1)

조합작성 주요 계통 특성표(표.1)

품 종 명	계 통 명	주요 특 성							
		Type	결구형	결구력	내엽색	숙기	추대성	내서성	CR
CR대명노우춘일	30032c1	A	포피	중약	노랑	중만	만	중강	강
영진대하춘일	YM237c1	A	포피	약	노랑	만	극만	중	약
일춘	Ch1	A	반포피	중약	노랑	중만	만	중강	약
지대지부춘일	W53c1	A	포피	중	노랑	중	중만	중강	약
춘광	314212	A	포피	약	노랑	만	극만	중강	약
영진대하노일	866237N1	A	포피	중약	노랑	중만	만	중강	약
우황	744151	B	포피	중강	노랑	중조	중만	강	강
CR대명CR노	2751	B	포피	강	노랑	중조	중만	중강	강
CR대명노우	2951	B	포피	강	노랑	조	만	강	강
하노CR노노평	57MH52	B	포피	중강	노랑	중조	극만	강	강
우황	744152	AB	반포피	중	노랑	중	만	강	강
하노CR노	1042S510	B	포피	강	노랑	조	만	중	강
CR대노CR춘이	520c2	B	포피	강	노랑	조	만	중강	강
CR대명탐영	32S553	B	포합	중강	노랑	중조	중	강	강
CR대노CR	S510	B	포피	강	노랑	조	만	중강	강

새로 작성된 조합들과 2015년에 선발된 조합들의 고온결구력 및 내서성 등을 검정하기 위해 2016년 4월 14일 105구에 파종하고 2016년 5월 11일에 강원도 평창군 방림면 계촌리 고랭지 포장에 정식을 하여 성능검정을 실시하였다. (표.2-4, 그림.9-12)



그림.9 고랭지 검정포장 배추 재배장면

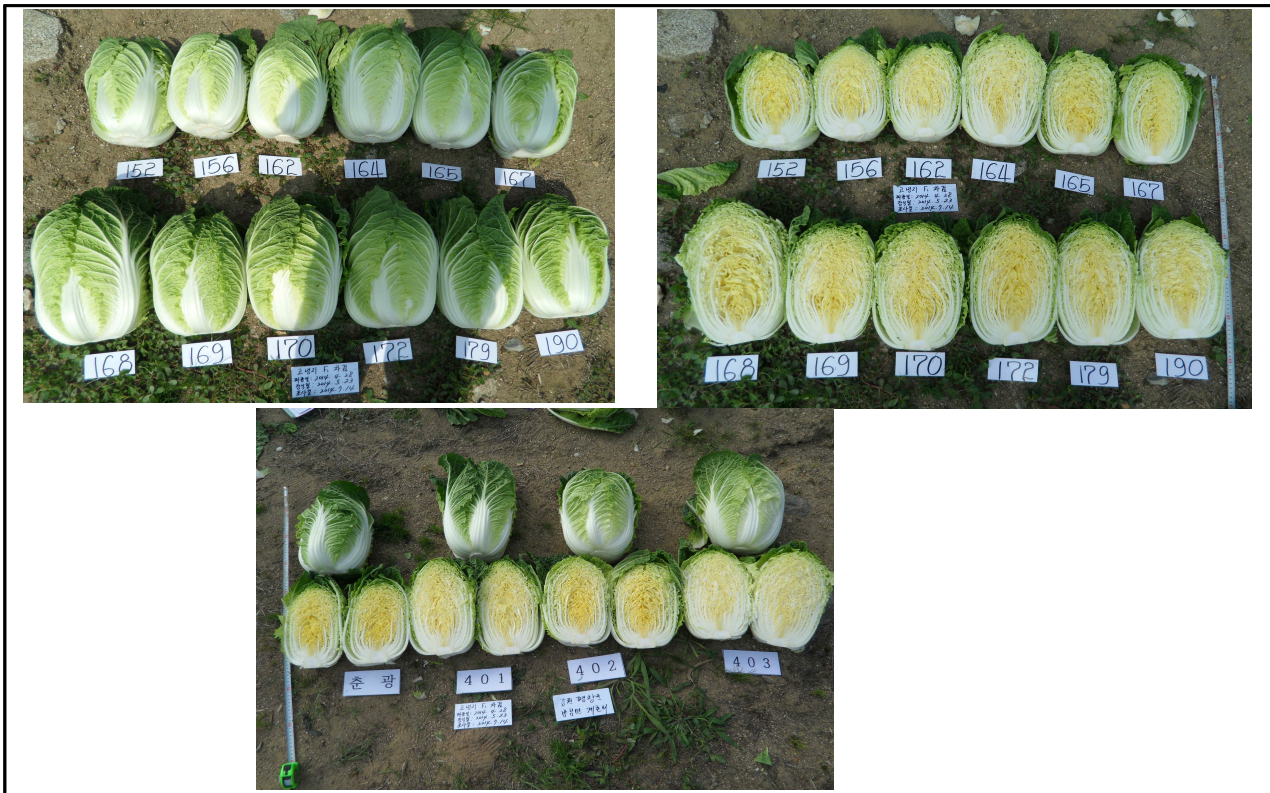


그림.10 2014년 고랭지 시교 성능검정 특성사진

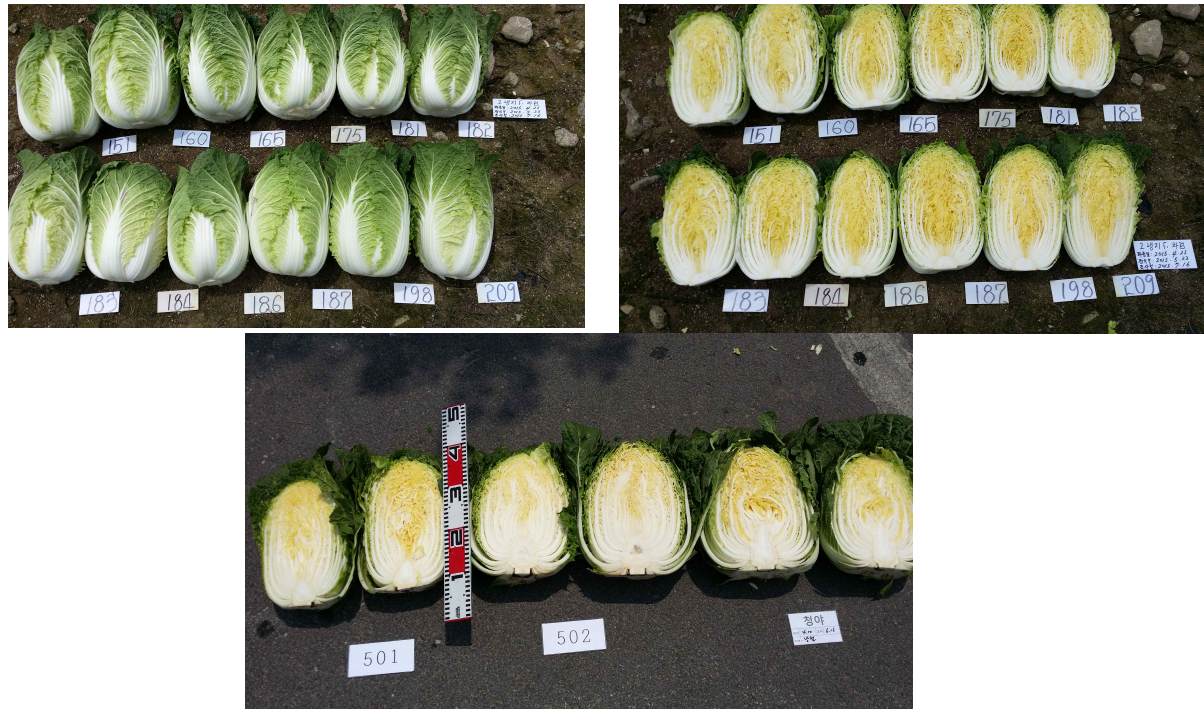


그림.11 2015년 고랭지 시교 성능검정 특성사진



그림.12 2016년 고랭지 시교 성능검정 특성사진



그림.13 농가 시교채종 장면

표2. 고랭지 성능검정 특성 검정표(2014년)

검정번호	엽색	결구형	엽장 (Cm)	엽폭 (Cm)	내엽색	구고 (Cm)	구폭 (Cm)	구중 (Kg)	숙기	노균병	내서 성	뿌리 혹병
152	농록	반포피	38	26	노랑	30	19	2.8	중	강	중강	강
156	농록	반포피	37	26	노랑	28	18	2.6	중	강	중강	약
162	농록	포피	36	25	노랑	27	17	2.9	중조	강	중강	강
164	농록	포파	37	25	노랑	29	18	2.7	중	강	강	강
165	농록	포피	38	26	노랑	27	17	2.7	중	강	강	강
167	농록	포피	39	26	노랑	28	18	2.8	중	중강	중강	강
168	농록	포피	38	28	노랑	29	18	2.9	중만	중강	중강	강
169	농록	반포피	37	27	노랑	27	18	2.8	중	강	강	강
170	농록	반포피	38	28	노랑	29	18	2.9	중	강	강	강
172	농록	포피	39	29	노랑	30	18.5	2.9	중만	강	강	강
179	농록	포피	38	27	노랑	27	17.5	2.9	중조	강	강	강
190	농록	포피	37	26	노랑	28	17.5	2.8	중	강	강	강

표3. 고랭지 성능검정 특성 검정표(2015년)

검정번호	엽색	결구형	엽장 (Cm)	엽폭 (Cm)	내엽색	구고 (Cm)	구폭 (Cm)	구중 (Kg)	숙기	노균병	내서성	뿌리혹병
151	농록	반포피	37	25	노랑	28	19	2.7	중	강	강	강
160	농록	반포피	37	26	노랑	27	18	2.7	중	강	강	강
165	농록	포피	35	25	노랑	26	17	2.7	중조	강	중강	강
175	농록	반포피	38	28	노랑	29	18	2.8	중	중강	강	강
181	농록	반포피	38	27	노랑	27	18	2.7	중	강	중강	약
182	농록	포피	39	28	노랑	28	18	2.8	중	강	중강	강
183	농록	포피	39	28	노랑	29	18	2.9	중	중강	중강	강
184	농록	반포피	38	27	노랑	27	18	2.6	중	강	강	강
186	농록	반포피	36	27	노랑	27	18	2.8	중고	강	강	강
187	농록	포피	38	28	노랑	28	18	2.9	중	강	강	강
198	농록	반포피	37	27	노랑	28	18	2.8	중조	강	강	강
209	농록	반포피	37	27	노랑	29	17.5	2.7	중조	강	강	강

표4. 고랭지 성능검정 특성 검정표(2016년)

검정번호	엽색	결구형	엽장 (Cm)	엽폭 (Cm)	내엽색	구고 (Cm)	구폭 (Cm)	구중 (Kg)	숙기	노균병	내서성	뿌리혹병
154	농록	반포피	38	27	노랑	29	18	2.7	중조	강	강	강
155	농록	반포피	37	27	노랑	28	18	2.8	중	강	강	강
172	농록	포피	37	27	노랑	28	18	2.9	중	강	강	강
174	농록	포피	37	26	노랑	28	18	2.7	중	강	강	강
176	농록	포피	38	27	노랑	28	18	2.9	중	강	강	강
181	농록	포피	39	28	노랑	30	18	2.9	중	강	강	강
183	농록	포피	50	28	노랑	31	19	2.9	중	중강	중	약
185	농록	반포피	37	26	노랑	28	18	2.9	중	강	중	강
199	농록	반포피	38	28	노랑	28	18	2.8	중	강	강	강
200	농록	포피	37	28	노랑	27	175	2.9	중조	강	중	강
201	농록	포피	38	28	노랑	28	18	2.9	중	강	중	약

2013년 선발된 3조합을 2014년 지역연락시험을 한 결과, 시교 No. 401과 402 이들 2조합이 봄노지 및 고랭지에서 성능이 우수하게 나와 각각 안심봄(CR1,극만추성 내서성 대구형), 춘강세(CR1,2, 만추성, 내서성)로 2015년에 생산판매 신고 및 품종보호 출원을 하였음.

2014년 고랭지 현지 성능검정에서 BN170,172 2조합이 구가 크면서 내서성이 강하여 선발되었음.

이는 2015년 시험채종을 하였으며, 2015년에 봄노지 및 고랭지 성능 검정 시험을 하여 BN 187(2014년BN172)이 재차 성능이 우수하게 나타나 스마트배추로 생산판매신고 및 품종보호 출원을 하였음.

2016년 고랭지 성능검정에서 BN 154, BN 181이 선발되었음. 이는 차년도에 재 성능시험을 하여 판단할 예정임.(그림.13-14)

4) 성분분석

배추의 라이코펜 성분분석을 위하여 기 보유중인 22재료를 제 2세부 프로젝트에 분석의뢰 하였음.(표.7, 그림.15)



포장번호	품종명	계통명	포장번호	품종명	계통명	포장번호	품종명	계통명
1	서울오전로켓권지 x 하오노일	S8531H1 x 9130325N1	10	하오노일 x 평하CR대노쌈	9130325S1 x 66632S9	19	불암플러스	한농
2	서울오전로켓권지 x 한오	S8531H1 x 9230252	11	하오노일 x 로켓오담	9130325S1 x 244533	20	남도장군	사카다
3	울오전로켓권지 x 신월오전	S8531H1 x 111533	12	KN1풍전 x 탐영한오	YM232KN! 1994 x	21	KN1CR대명황고 x 탐영	KN132S x YM232
4	서울오전로켓권지 x 탐영한오	S8531H1 x YM232	13	베타프레쉬	한농	22	KN1CR대명황고 x 탐영	KN132S1 x YM232
5	서울오전로켓권지 x CR대한오	S8531H1 x 32S955	14	추록75	중국			
6	서울오전로켓권청 x 신월오전	S8533H1 x 111533	15	춘광	사카다			
7	서울오전로켓권청 x 탐영한오	S8533H1 x YM232	16	청옥	우리			
8	서울오전로켓권청 x CR대한오	S8533H1 x 32S955	17	영진대하노일 x 노평CR대노C R노평	866--237 T1 x 579MN52			
9	하오노일 x 경하R대노쌈	9130325S1 x 953NS0	18	불암3호	한농			

그림.15 배추 라이코펜 성분분석 재료 사진

그리고 카로티노이드 및 글루코시놀레이트 성분을 분석하기 위해 배추 20 계통을 제2 세부 프로젝트에 의뢰하였음.(표.6, 그림.16)

포장 번호	분석 번호	계통명	포장 번호	분석 번호	계통명	포장 번호	분석 번호	계통명
231	1	S2415 x BA2	250	8	Bulamplus	278	15	111533 x YM23292
232	2	S2415 x OH259	251	9	Namdojanggung	279	16	YM232HN x 32S137
233	3	KN132 x W23	252	10	Hyparamgold	287	17	91303 x 244533
240	4	YM232 x KN132	257	11	pukkyongsin No.3	290	18	KN1S2 x YM232HN
247	5	KN1994 x YM232	265	12	Bul1 x 32S9	295	19	Woldong x 32S91
248	6	Bul1 x 32S137	272	13	KN1S2 x YM232	296	20	Churok 75
249	7	BULampNo.3	274	14	Woldong x 32S9			



그림.16 성분분석용 배추 특성 사진

케일 카로티노이드 및 글루코시놀레이트 성분을 분석하기 위해 33 계통을 제2 세부프로젝트에 의뢰하였음.(표.5.8,9, 그림.17))



그림.17 성분분석용 케일 성능검정 사진

표.5 성분분석용 케일 성능검정 조사표

포장 번호	분석 번호	품종명	계통명	엽장 (Cm)	엽폭 (Cm)	중륵장 (Cm)	엽중 (g)	엽연 결각 (1:약, :강)	엽면 파상 (1:약, :강)
401	101	Cury Kale x Kale	10054-51-51 x 26033-52-51	31	12	27	145	4	4
402	102	Cury Kale x Chinese Kale	10054-51-51 x 27272-51-51	52	14	26	200	2	2
403	103	Cury Kale x CR2179	10054-51-51 x 28262-51-51	47	14	29	170	3	2
404	104	Cury Kale x K7923	10054-51-51 x 28333-51-51	43	12	22	150	3	3
405	105	Cury Kale x BRA1905	10054-52-51 x 28334-51-51	41	8	12	140	3	3
406	106	Cury Kale x Chinese Kale	10054-52-51 x 8-1-51	47	14	22	150	2	3
407	107	Kale x BRA2846	26033-52-51 x 28332-52-51	40	13	22	145	3	4
408	108	Kale x BRA1905	26033-52-51 x 28334-51-51	45	14	24	150	3	4
409	109	CR2179 x K7923	28262-51-51 x 28333-51-51	45	15	25	165	2	3
411	110	BRA2846 x BRA1906	28332-51-51 x 28335-51-51	41	8	21	130	3	2
412	111	BRA2846 x Chinese Kale	28332-52-51 x 10-1-51	41	15	19	155	3	2
413	112	BRA2846 x K7294	28332-52-51 x 17-1-51	42	14	23	160	2	3
414	113	BRA1905 x Chinese Kale	28334-51-51 x 9-2-51	37	15	20	165	2	1
415	114	BRA1905 x K7294	28334-51-51 x 17-1-51	45	15	24	170	3	2
416	115	BRA1906 x Curly Kale	28335-51-51 x 3-2-51	46	14	25	150	3	2
417	116	BRA1906 x Chinese Kale	28335-51-51 x 9-1-51	19	7	10	70	2	2
418	117	BRA1906 x K7294	28335-51-51 x 17-1-51	39	12	22	135	2	3
419	118	Curly Kale Halfall	10036-51-51	24	7	15	80	3	3
420	119	Cury Kale	10054-51-51	27	7	12	100	2	3
421	120	Kale	26033-52-51	24	13	18	115	2	4
422	121	Chinese Kale	27272-51-51	32	16	20	125	1	1
423	122	ChineseKale	27272-52-51	30	15	19	130	2	1
425	123	BRA2846	28332-52-51	28	10	18	100	3	2
426	124	K7923	28333-51-51	29	12	16	110	4	3
428	125	BRA1906	28335-51-51	29	11	15	110	3	2
429	126	BRA2846	2833226034-51	30	14	18	120	1	1
430	127	Curly Kale	3-2-51	31	12	25	115	5	5
431	128	Chinese Kale	8-1-51	26	15	15	110	2	1
432	129	Chinese Kale	9-1-51	26	16	15	110	2	1
433	130	Chinese Kale	10-2-51	26	156	24	105	3	1
434	131	K7294	17-1-51	32	16	25	135	3	3
438	132	에스테	사카다	32	15	21	130	1	2
439	133	선망케일	그린하트바이오	31	17	16	135	2	2

표.6 배추 내 글루코시놀레이트 함량 (제2세부프로젝트 자료제공)

배추는 총 20계통의 시료를 분석하였다.

Glucosinolate contents($\mu\text{mol/g dry wt.}$) in Chinese cabbage ($n=6$)

No.	Trivial name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Progoitrin	0.86±0.17	0.21±0.08	1.12±0.26	1.39±0.20	1.98±0.66	0.64±0.06	0.25±0.13	0.84±0.41	0.37±0.11	0.93±0.18	0.43±0.14
2	Unknown 1	0.02±0.01	0.04±0.03	0.03±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.13±0.02	0.14±0.02	0.18±0.05	0.14±0.04	0.12±0.01
3	Glucalyssin	0.44±0.12	0.33±0.04	0.36±0.06	0.24±0.06	0.35±0.09	0.42±0.02	0.43±0.13	0.47±0.06	0.53±0.20	0.41±0.06	0.19±0.04
4	Gluconapoleiferin	0.12±0.01	0.01±0.00	0.25±0.07	0.15±0.04	0.27±0.06	0.05±0.00	ND ^{a)}	0.18±0.08	0.09±0.00	0.40±0.08	0.28±0.08
5	Gluconapin	0.89±0.35	2.63±0.24	0.40±0.12	1.82±0.27	1.30±0.43	4.40±0.27	1.79±0.71	1.13±0.26	1.14±0.19	0.40±0.03	0.18±0.03
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.03±0.02	0.00±0.00	0.03±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	ND	0.04	0.02	0.04±0.00	ND
7	Glucobrassicinapin	1.73±0.61	3.24±0.19	1.16±0.40	2.06±0.06	2.01±0.57	3.97±0.44	3.58±1.24	2.10±0.25	1.41±0.20	1.64±0.21	0.91±0.23
8	Glucobrassicin	0.55±0.17	0.81±0.10	0.97±0.26	0.35±0.38	0.73±0.17	0.69±0.25	0.85±0.24	0.47±0.12	0.23±0.06	0.61±0.15	0.40±0.08
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.29±0.33	1.52±0.12	2.06±0.32	1.83±0.17	2.08±0.29	1.37±0.11	2.02±0.52	1.90±0.50	1.90±0.34	1.91±0.20	1.08±0.06
10	Glucoberteroin	0.16±0.00	0.17±0.11	0.30±0.15	0.13±0.13	0.45±0.26	0.16±0.15	0.41±0.14	0.37±0.10	0.34±0.10	0.39±0.15	0.15±0.01
11	Gluconasturtiin	0.22±0.23	0.45±0.15	0.75±0.43	0.27±0.10	0.37±0.40	0.34±0.13	0.47±0.13	0.46±0.17	0.34±0.11	0.30±0.07	0.40±0.13
12	Neoglucobrassicin	0.05±0.01	0.07±0.01	0.28±0.07	0.09±0.00	0.13±0.02	0.14±0.07	0.31±0.15	0.13±0.01	0.09±0.03	0.33±0.04	0.10±0.01
Total		6.35±1.99	9.47±0.43	7.71±1.79	8.41±0.46	9.76±2.51	12.25±0.50	10.24±2.17	8.23±1.44	6.64±1.09	7.52±0.71	4.25±0.76

No.	Trivial name	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Mean	%
1	Progoitrin	0.27±0.04	1.13±0.46	1.03±0.21	0.63±0.13	0.66±0.16	0.40±0.07	1.17±0.60	0.71±0.07	1.02±0.17	0.80±0.44	10.0
2	Unknown 1	0.15±0.02	0.15±0.03	0.15±0.01	0.13±0.01	0.15±0.01	0.12±0.07	0.15±0.03	0.12±0.02	0.13±0.05	0.11±0.05	1.3
3	Glucalyssin	0.22±0.06	0.37±0.03	0.13±0.02	0.24±0.07	0.55±0.07	0.37±0.08	0.25±0.07	0.17±0.03	0.34±0.09	0.34±0.12	4.3
4	Gluconapoleiferin	ND	0.16±0.09	0.30±0.04	0.20±0.04	ND	0.10±0.02	0.17±0.10	0.22±0.02	0.17±0.01	0.18±0.10	2.3
5	Gluconapin	0.58±0.04	1.40±0.06	0.84±0.25	0.48±0.13	4.13±1.05	0.34±0.05	1.30±0.15	0.70±0.05	0.50±0.12	1.32±1.18	16.5
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.03±0.00	0.06±0.03	ND	0.10±0.05	0.03±0.00	0.03±0.00	0.03±0.01	ND	0.04±0.02	0.5
7	Glucobrassicinapin	0.85±0.01	1.87±0.39	3.12±0.85	1.70±0.44	3.93±0.87	0.81±0.12	1.77±0.55	2.53±0.22	1.00±0.34	2.07±1.01	25.9
8	Glucobrassicin	0.50±0.08	0.37±0.10	0.98±0.17	0.47±0.24	0.71±0.08	0.43±0.13	0.29±0.03	0.82±0.20	1.14±0.10	0.62±0.25	7.7
9	4-Methoxyglucobrassicin	1.71±0.22	1.42±0.14	2.33±0.27	1.73±0.32	1.86±0.30	2.29±0.33	1.49±0.33	1.87±0.15	1.44±0.05	1.75±0.34	22.0
10	Glucoberteroin	0.12±0.04	0.41±0.08	ND	0.33±0.15	0.44±0.11	0.44±0.09	0.34±0.12	0.10±0.03	0.20±0.02	0.28±0.13	3.6
11	Gluconasturtiin	0.18±0.09	0.40±0.11	0.39±0.10	0.15±0.09	0.51±0.08	0.19±0.07	0.29±0.09	0.34±0.05	0.87±0.15	0.39±0.18	4.8
12	Neoglucobrassicin	0.09±0.02	0.06±0.03	0.07±0.01	0.13±0.05	0.07±0.01	0.19±0.04	0.06±0.01	0.13±0.08	0.26±0.10	0.17±0.09	1.7
Total		4.67±0.13	7.78±1.37	9.40±1.78	6.20±1.65	13.11±2.76	5.71±0.84	7.28±2.00	7.75±0.39	7.06±0.88	7.99±2.26	100.0

- 총 GSL 함량은 N0.16‘YM232HN x 32S137’에서 13.11 $\mu\text{mol/g dry wt}$ 로 가장 높았으며, No.12 (Bull x 32S9)에서 4.67 $\mu\text{mol/g dry wt}$ 로 가장 낮았다.
- 배추 내 GSL 성분 중, progoitrin과 glucobrassicinapin, gluconapin이 총 함량의 높은 비중을 차지하였는데, progoitrin은 갑상선종을 유발하고, glucobrassicinapin, gluconapin의 경우 쓴 맛을 나타내는 물질이기 때문에, 품종 육성단계에서부터 함량이 적은 품종 선별이 반드시 필요할 것으로 사료된다.

표.7 배추 내 카로티노이드 함량

Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in Chinese cabbage ($n=4$)

No.	Trivial names	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Lutein	5.46±4.69	2.76±2.72	1.19±0.49	3.52±3.83	1.04±0.26	1.93±0.92	2.74±3.39	0.95±0.55	2.04±0.86	0.76±0.63	0.84±0.32
2	Lycopene	3.17±2.18	1.05±0.49	0.79±0.67	0.10±0.18	0.70±0.20	0.95±0.95	ND ^{a)}	0.89±0.89	2.38±1.03	0.95±1.14	0.69±0.46
3	β -Carotene	20.48±5.55	15.36±5.63	16.85±13.25	18.49±9.00	4.07±1.43	8.15±3.83	7.08±6.94	2.58±1.92	5.80±4.09	2.11±1.24	4.12±2.42
Total		29.11±7.75	19.17±8.80	18.83±13.20	22.11±10.19	5.80±1.13	11.03±4.15	9.83±10.21	4.41±2.62	10.21±5.83	3.81±2.77	5.65±2.97

No.	Trivial names	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	Lutein	2.31±0.76	32.46±15.14	6.95±0.32	16.01±1.65	26.19±5.55	32.87±3.13	12.26±3.15	26.61±14.00	22.84±5.83	8.78±4.54	17.39±1.75
2	Lycopene	0.79±0.55	0.92±0.50	0.30±0.19	0.26±0.26	0.35±0.10	0.68±0.03	0.06±0.10	0.35±0.21	0.61±0.29	0.61±0.13	ND
3	β -Carotene	5.07±2.01	13.09±5.32	3.24±0.90	3.77±0.75	3.79±0.80	5.55±1.43	4.57±2.02	8.41±2.63	7.33±2.23	4.63±0.57	12.59±4.13
Total		8.18±1.57	46.47±20.24	10.50±1.31	20.05±1.60	30.33±5.91	39.10±4.26	16.89±3.75	35.37±16.81	30.77±7.62	14.02±4.62	29.98±2.86

^{a)}ND, not detected.

- 배추의 카로티노이드(lutein, β -carotene, Lycopene)성분을 분석한 결과, No.1이 상대적으로 Lycopene 및 β -carotene 함량이 높게 나왔음. 이는 “금봉배추”로 품종보호출원을 하였음.

표.8 케일 내 카로티노이드 함량

Carotenoid contents (mg/kg dry wt.) in kale (n=6)

No.	Trivial names	Kale 101	Kale 102	Kale 103	Kale 104	Kale 105	Kale 106	Kale 107	Kale 108
1	Lutein	518.25±21.89abc	512.17±19.64abc	518.59±104.74abc	553.75±26.42ab	629.78±197.56ab	536.10±47.34ab	610.75±50.14ab	561.48±17.49ab
2	Zeaxanthin	41.67±3.55ab	29.70±5.12bcdefgh	21.13±11.09fghijk	17.47±7.63hijk	15.50±8.06hijk	15.56±6.23hijk	24.34±6.73cdefghij	35.59±7.09abcdef
3	α-Carotene	31.05±2.51abcde	30.79±13.20abcd	25.40±7.75bcdef	29.33±3.96abcde	25.97±8.48bcdef	20.43±3.22efg	21.57±4.92defg	23.08±2.97cdefg
4	β-Carotene	459.97±46.56abc	449.74±172.65abc	331.11±230.11abc	332.84±164.18abc	246.61±167.55c	292.55±150.15abc	279.51±135.12bc	302.31±125.37abc
Total		1050.94±59.54ab	1022.40±200.09ab	896.23±289.74bc	933.39±188.63bc	917.86±270.96bc	864.65±152.53bc	936.18±103.99bc	922.47±131.80bc
No.	Trivial names	Kale 109	Kale 110	Kale 111	Kale 112	Kale 113	Kale 114	Kale 115	Kale 116
1	Lutein	598.70±269.05ab	576.54±67.49ab	580.82±18.00ab	662.24±10.69a	593.63±69.90ab	589.23±12.94ab	563.50±19.58ab	351.96±17.10c
2	Zeaxanthin	21.68±6.89efghijk	28.88±7.01bcdefgh	38.67±3.28abc	34.56±2.76abcdefg	22.31±3.71defghijk	23.39±2.80cdefghij	37.93±4.85abcd	15.15±1.37hijk
3	α-Carotene	22.94±5.91cdefg	37.47±12.35ab	28.44±2.37abcdef	40.47±4.73a	27.16±4.60abcdef	25.82±2.43bcdef	35.98±1.86abc	10.63±0.82g
4	β-Carotene	251.00±182.26c	363.60±292.55abc	450.46±33.53abc	610.02±28.98a	466.81±196.84abc	507.34±24.45abc	584.04±32.21ab	204.59±12.52c
Total		894.32±315.44bc	1006.50±359.45ab	1098.38±53.47ab	1347.29±30.54a	1109.92±266.05ab	1145.79±33.32ab	1221.45±55.26ab	582.33±28.67bc
No.	Trivial names	Kale 117	Kale 118	Kale 119	Kale 120	Kale 121	Kale 122	Kale 123	Kale 124
1	Lutein	583.69±12.05ab	515.43±15.63abc	648.27±104.72ab	545.86±39.29ab	539.08±105.38ab	559.46±80.63ab	655.10±28.32ab	586.43±57.96ab
2	Zeaxanthin	23.25±0.61cdefghij	18.54±1.36hijk	37.47±26.75abcde	23.27±3.46cdefghij	12.82±4.29ijk	11.00±4.54ijk	50.35±13.94a	21.18±9.23fghijk
3	α-Carotene	30.44±2.69abcde	20.97±1.91efg	27.86±13.94abcde	21.21±6.52efg	24.03±7.22cdefg	26.00±11.29bcdef	35.07±5.98abcd	26.22±3.32bcdef
4	β-Carotene	462.55±123.85abc	393.83±20.89abc	400.44±183.18abc	262.62±81.75bc	267.97±123.83bc	416.18±223.32abc	388.45±194.84abc	446.77±48.29abc
Total		1099.93±134.66ab	948.75±38.60abc	1114.04±122.43ab	852.96±123.08bc	843.90±205.41bc	1012.63±302.05ab	1128.97±193.09ab	1080.59±103.50ab
No.	Trivial names	Kale 125	Kale 126	Kale 127	Kale 128	Kale 129	Kale 130	Kale 131	Kale 132
1	Lutein	594.74±67.38ab	590.99±56.18ab	492.28±56.88abc	489.89±17.73bc	580.86±35.00ab	597.62±30.47ab	528.32±23.77ab	525.80±52.90ab
2	Zeaxanthin	21.83±1.92efghijk	26.34±2.71bcdefghi	23.57±2.31cdefghij	6.55±1.09k	11.63±2.12ijk	11.71±2.25ijk	18.85±2.36ghijk	12.62±3.35ijk
3	α-Carotene	25.85±3.08bcdef	23.90±2.21bcdefg	21.07±1.20efg	15.18±2.17fg	27.18±4.18abcd	22.67±1.53cdefg	20.94±2.42efg	17.52±7.79efg
4	β-Carotene	445.07±168.00abc	443.02±15.64abc	369.83±125.49abc	340.38±117.56abc	526.28±56.70abc	394.07±131.21abc	370.35±62.78abc	344.97±161.90abc
Total		1087.48±234.33ab	1084.25±59.70ab	906.75±147.54bc	852.01±115.14bc	1145.96±97.43abc	1026.07±101.86ab	938.45±89.31bc	900.91±219.26bc
No.	Trivial names	Kale 133	Mean	%					
1	Lutein	567.19±45.05ab	531.45±139.36	51.64					
2	Zeaxanthin	10.11±1.84jk	23.34±10.11	2.27					
3	α-Carotene	22.19±6.47defg	49.67±99.37	4.83					
4	β-Carotene	300.90±244.52abc	424.78±189.31	41.27					
Total		900.40±265.15bc	1029.25±141.10	100.0					

- 케일에는 2종류 카로티노이드(lutein, β-carotene)가 풍부하며, zeaxanthin, α-carotene은 미량 검출되었다.
- Kale 112(BRA2846 x K7294)에서 카로티노이드 함량이 가장 높았으며 (1347.29mg/kg dry wt.), Kale 116(BRA1906 x Chinese Kale)에서 가장 낮았다 (582.33 mg/kg dry wt.). 향후 Kale 112(BRA2846 x K7294)의 계통들을 개량하여 활용할 계획임.

표.9 케일 내 글루코시놀레이트 함량

Glucosinolate contents ($\mu\text{mol/g}$ dry wt.) in kale (n=6)

No.	Trivial name	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111
1	Progoitrin	ND ^{a)}	1.09±0.11	0.60±0.03	0.22±0.10	0.12±0.10	0.53±0.06	0.28±0.03	0.28±0.04	0.24±0.07	0.42±0.06	0.40±0.02
2	Glucoraphanin	2.52±0.17	0.46±0.08	0.87±0.04	0.30±0.13	0.00±0.00	0.30±0.02	1.31±0.05	1.15±0.07	0.21±0.13	0.36±0.01	0.65±0.05
3	Sinigrin	0.17±0.02	0.36±0.07	1.16±0.06	0.12±0.06	0.05±0.04	0.09±0.06	0.12±0.04	0.09±0.05	0.28±0.15	0.17±0.03	0.22±0.03
4	Gluconapin	1.19±0.25	0.95±0.05	0.84±0.09	0.83±0.25	0.81±0.13	0.80±0.07	0.63±0.10	0.97±0.17	1.12±0.43	1.34±0.16	1.11±0.24
5	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.11±0.04	0.06±0.03	0.40±0.03	0.10±0.02	ND	0.04±0.05	ND	ND	ND	0.26±0.03	0.22±0.07
7	Glucobrassicin	9.17±0.33	1.11±0.17	8.35±0.17	3.28±0.36	0.52±0.03	4.11±0.17	11.53±0.17	4.56±0.09	2.80±0.13	5.77±0.16	5.39±0.23
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.77±0.03	0.49±0.01	0.68±0.01	0.44±0.04	0.19±0.01	0.36±0.01	0.94±0.02	1.42±0.03	0.57±0.02	0.42±0.01	0.35±0.02
9	Gluconasturtiin	0.18±0.14	0.65±0.12	0.55±0.02	0.58±0.05	0.76±0.08	0.45±0.37	0.46±0.05	0.78±0.09	1.13±0.20	1.10±0.13	1.06±0.19
10	Neoglucobrassicin	0.44±0.07	1.01±0.06	0.57±0.03	0.85±0.05	0.18±0.03	0.69±0.08	0.18±0.01	0.18±0.01	0.60±0.07	0.32±0.01	0.38±0.03
Total		14.54±0.73	6.20±0.47	14.03±0.34	6.72±0.89	2.63±0.22	7.38±0.42	15.43±0.31	9.43±0.24	6.95±0.83	10.16±0.43	9.77±0.61
No.	Trivial name	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122
1	Progoitrin	0.40±0.07	1.01±0.05	0.15±0.15	0.25±0.25	0.76±0.07	0.02±0.05	0.30±0.04	0.00±0.00	0.19±0.22	0.15±0.07	0.25±0.06
2	Glucoraphanin	0.42±0.03	0.71±0.07	0.76±0.04	0.13±0.01	0.09±0.02	0.49±0.03	0.67±0.14	1.37±0.09	0.37±0.01	ND	ND
3	Sinigrin	0.13±0.03	0.64±0.04	0.04±0.05	0.09±0.05	0.04±0.04	0.11±0.00	0.15±0.05	0.00±0.00	0.05±0.07	0.40±0.02	0.25±0.07
4	Gluconapin	0.95±0.34	0.45±0.23	0.44±0.21	0.79±0.16	0.51±0.17	0.65±0.16	0.77±0.21	0.40±0.25	0.14±0.16	ND	ND
5	Unknown 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.12±0.04	0.49±0.05
6	4-Hydroxyglucobrassicin	ND	0.07±0.04	0.16±0.03	0.17±0.04	0.20±0.02	0.39±0.03	0.09±0.03	0.03±0.02	0.29±0.02	0.15±0.05	0.21±0.09
7	Glucobrassicin	3.16±0.20	2.24±0.08	2.74±0.09	3.71±0.04	4.41±0.12	8.20±0.12	2.94±0.28	3.57±0.05	14.14±0.29	1.05±0.05	1.78±0.18
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.36±0.03	0.46±0.01	0.60±0.01	0.58±0.03	0.15±0.00	0.55±0.02	0.33±0.01	0.30±0.02	2.77±0.06	0.53±0.02	0.27±0.02
9	Gluconasturtiin	0.70±0.06	0.46±0.10	0.87±0.07	0.96±0.09	0.75±0.05	0.67±0.02	2.57±0.41	0.79±0.20	0.57±0.10	0.01±0.02	0.07±0.00
10	Neoglucobrassicin	0.32±0.04	0.55±0.04	0.49±0.01	0.46±0.02	0.29±0.02	0.52±0.02	0.54±0.05	0.73±0.07	0.40±0.01	0.61±0.02	0.34±0.21
Total		6.45±0.51	6.58±0.41	6.25±0.39	7.14±0.37	7.20±0.39	11.61±0.25	8.35±0.96	7.19±0.38	18.92±0.58	4.03±0.17	3.66±0.43
No.	Trivial name	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133
1	Progoitrin	0.32±0.27	0.17±0.08	0.24±0.11	0.16±0.09	0.33±0.03	0.70±0.03	0.16±0.03	0.18±0.16	0.39±0.32	2.41±0.15	3.25±0.14
2	Glucoraphanin	0.08±0.01	0.01±0.02	0.21±0.01	0.22±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02	0.16±0.03	0.23±0.09	0.32±0.10	0.10±0.02	0.10±0.04
3	Sinigrin	0.17±0.11	0.13±0.03	0.08±0.04	0.14±0.03	0.12±0.02	0.08±0.06	0.13±0.06	0.09±0.08	0.13±0.06	3.71±0.28	2.32±0.10
4	Gluconapin	ND	ND	ND	ND	ND	0.08±0.01	7.77±0.78	2.18±1.54	1.07±1.56	2.36±0.19	2.45±0.11
5	Unknown 1	ND	ND	0.64±0.21	0.80±0.19	0.44±0.06	0.34±0.13	0.42±0.13	0.50±0.17	0.67±0.33	0.69±0.31	0.37±0.18
6	4-Hydroxyglucobrassicin	0.50±0.74	0.15±0.05	0.29±0.12	0.19±0.09	0.12±0.00	0.21±0.08	0.06±0.03	0.08±0.07	0.03±0.04	ND	0.01±0.01
7	Glucobrassicin	3.46±0.31	2.22±0.07	5.32±0.16	2.15±0.08	4.10±0.16	2.43±0.05	3.86±0.19	0.72±0.08	0.80±0.14	2.47±0.20	4.27±0.13
8	4-Methoxyglucobrassicin	0.29±0.03	0.38±0.01	0.33±0.02	0.48±0.01	0.83±0.37	0.49±0.03	0.59±0.03	0.36±0.10	0.51±0.13	0.59±0.03	0.70±0.02
9	Gluconasturtiin	0.09±0.04	0.07±0.01	0.30±0.02	ND	0.73±1.43	0.07±0.01	0.07±0.01	ND	ND	0.06±0.01	0.11±0.01
10	Neoglucobrassicin	0.08±0.02	0.34±0.02	0.20±0.02	0.24±0.03	0.86±0.07	0.57±0.02	0.35±0.03	0.16±0.03	0.19±0.04	0.22±0.01	0.51±0.02
Total		4.98±1.43	3.46±0.20	7.59±0.32	4.37±0.24	7.63±1.14	5.10±0.24	13.59±1.10	4.49±1.35	4.11±1.43	12.61±1.02	14.09±0.46

^{a)}ND, not detected.

○ 총 GSL 함량은 '케일'(120)에서 18.92 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.로 가장 높았으며, 케일(105)에서 2.63 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.로 가장 낮았다.

기능성 성분으로 알려진 glucobrassicin의 경우 '케일'(120)에서 14.14 $\mu\text{mol/g}$ dry wt.로 가장 높았다.

총 GLS 함량과 glucobrassicin의 함량이 높은 케일(120(26033-52-51) 계통을 이용하여 기능성 케일 육성을 할 계획임.

○ 기능성 품종으로 육성한 금봉배추 기능성 성분 함량 강화를 위하여 금봉배추의 기능성 성분을 증대시킬 수 있는 최적의 재배법 개발을 위한 연구를 추진할 계획이다.

○ 종자사업화 과제 배추 내재해성 품종 육성 성과 우수한 반면 케일 품종 육성 미흡함으로 추후 보강 연구를 통하여 기능성 성분 함량이 높고, 내재해성 케일 품종 개발을 위하여 노력할 계획이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

<제 1세부>

제 1 절 연구목표의 달성도

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2012)	기능성물질 생합성관련 유전자 발굴	100	배추 및 케일의 glucosinolates 및 carotenoids 생합성 관련 유전자 발굴
	기능성물질 관련 유전자의 기능 분석	100	- 선발된 유전자의 기본 발현 정보 확인 - 클로닝된 유전자의 유전체 서열 분석
2차년도 (2013)	내서성(내서성) 관련 유전자발굴	100	- 배추와 케일의 내서성과 연관된 유전자 선별 - 선발된 유전자의 기본 발현 정보 확인
3차년도 (2014)	발굴 유전자의 기능검증	100	재배환경에 따른 기능성 물질 (glucosinolates/carotenoids)의 함량차이를 보이는 배추와 케일 품종에 대한 선발 유전자의 발현양상 조사
	유전자 검증시스템 구축	100	선발 유전자의 발현 변화 요인 분석으로 기능성물질 함량 변화 조사
4차년도 (2015)	발굴유전자 네트워크 조절인자 규명	100	- 내서성 처리를 통한 선발 유전자의 발현 양상 측정 - 내서성에 따른 유전자 발현조사 (식물공장의 재배조건에 이용)
5차년도 (2016)	재배환경에 따른 유전자발현조사	100	- 노지재배와 온실재배에 따른 발굴 유전자의 발현양상 비교 조사 - 식물공장 및 온실의 재배 조건별 발굴유전자의 발현양상 조사 (glucosinolates/ carotenoids 함량과 비교 분석)

제 2절. 관련 분야에의 기여도

1. 배추, 케일 이차대사 및 내서성 관련 기능유전체학 시도

- 배추와 케일에서 glucosinolates 및 carotenoids 생합성 관련 유전자의 발현을 식물체 자체와 환경적 조건에 따라 조사하였음
- 내서성 배추의 특성 조사 및 glucosinolates 및 carotenoids 생합성 관련 유전자의 발현과 기능성물질의 변화를 같이 조사하여 고온에서의 기능성물질 생합성변화를 모니터링하여 재배에 응용 가능할 것으로 사료됨.
- Glucosinolates 및 carotenoids의 생합성 조절이 가능한 인자들을 조사하여 재배시 고기능성 배추 또는 케일 생산에 응용 가능할 것으로 판단됨.

<제 2세부>

제 1 절 연구목표의 달성도

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2011)	배추 및 케일 품종수집 및 재배 시험	100	- 50종 이상의 배추 계통 수집 및 재배 - 20종 이상의 케일 계통 수집 및 재배
	배추와 케일의 glucosinolates/carotenoids 분석 방법 개발	100	- Glucosinolates 추출기술법 확립 - Glucosinolates 분석기술법 확립 - Carotenoids 추출기술법 확립 - Carotenoids 분석기술법 확립
2차년도 (2012)	수집한 배추 품종 및 계통의 glucosinolates/carotenoids 계통 물질의 성분 분석 및 대량 분석 방법 확립	100	- 다량의 시료에 대비하여 추출 및 분석방법의 간소화
	HPLC, LC-MS 등 분석기기를 이용한 분석 방법의 매뉴얼	100	- HPLC 및 LC-MS를 이용한 성분 물질 분리 및 동정
	배추 품종간 성분분석과 우수 품종에 대한 조직별 함량 측정	100	- 어린 잎, 늙은 잎 등 부위별 함량 측정
3차년도 (2014)	선발된 배추 품종의 기능 검정	100	- 선발된 우량 배추 품종의 후대 기능성 성분분석
	케일의 glucosinolates/carotenoids 분석 방법의 매뉴얼화 및 성분분석	100	- 수집된 케일 품종의 glucosinolates/carotenoids 계통 물질의 성분 분석 및 대량 분석 방법 확립 - 케일 품종간 성분분석과 우수 품종에 대한 조직별 함량측정
4차년도 (2015)	기능성 배추의 후대 검증	100	- 선발된 배추 품종의 후대 glucosinolates 물질 분석 - 선발된 배추 품종의 후대 carotenoids 물질 분석
	선발된 케일 품종의 기능 검정	100	- 선발된 우량 케일 품종의 후대 기능성 성분 (glucosinolates/carotenoids) 분석
5차년도 (2016)	기능성 케일의 후대 검증	100	- 선발된 케일 품종의 후대 glucosinolates 물질 분석 - 선발된 케일 품종의 후대 carotenoids 물질 분석
	최적 재배조건에 따른 기능성 물질 조사	100	- 식물공장을 통해 재배된 배추/케일품종의 glucosinolates/carotenoids 함량 조사

제 2절. 관련 분야에의 기여도

1. 배추, 케일 유전자원 수집
 - 계통 수집한 배추, 케일은 향후 육종 parents로 활용 가능
2. Glucosinolates 및 carotenoids의 추출/분석법
 - 응용 또는 개발된 분석법은 배추, 케일뿐만 아니라 배추과 작물(채소)의 기능성성분 함량 평가시 유용
 - 특히 carotenoids의 추출/분석법은 다량의 시료에 대비하여 추출 및 분석방법의 간소화
3. Glucosinolates 및 carotenoids의 LC-MS/MS분석
 - 당 분석 결과는 다른 연구자들의 glucosinolates 및 carotenoids 동정 기초 자료로 활용 가능
4. 선발된 배추, 케일의 계통 분석
 - 육종 시작 단계에서 기능성 품종 육성의 척도로서 활용 가능

<제 3세부>

1절 연도별 연구목표 및 목표 달성도

1. 1차년도

가. 연구 목표

(1) 식물공장형 정밀 재배 환경 조절시스템 개발

- (가) 재배실 및 제어실을 구축하고 제어실에서 재배실의 환경을 모니터링 하고 제어 할 수 있음
- (나) 재배실 : 대형 1개실(온도, 습도, CO₂ 조절형)을 구축하여 조명, 온도, 습도, CO₂, 양분 수준을 조절할 수 있음
- (다) 다중 재배단으로 시험수준을 극대화 하였고, 각 재배단별로 광 및 양액을 조절할 수 있음

(2) 작물 재배 시험

- (가) 기능성 유전자 배추, 케일 품종에 대하여 3 반복 재배 실시
- (나) 광원 4수준(LED 3수준, 형광등), 광량 5수준, 광주기 5수준의 재배실시
- (다) 양액, 배지 재배를 통하여 재배 방법에 따른 기능성 유전자 발현차이 구명

나. 연구 수행 방법 및 연구개발목표의 달성도

(1) 식물공장형 정밀 재배 환경 조절시스템 개발

- (가) 문헌조사, 실험적 방법 : 100%

- ① 문헌조사, 산업동향 조사 실시
- ② 식물공장 제작
- ③ 성능평가 실험

(2) 작물 재배 시험

(나) 실험적 방법 : 100%

- ① 재배시험 1 : 광원종류
- ② 재배시험 2 : 광량 5수준
- ③ 재배시험 3 : 광주기 5수준

2. 2차년도

가. 연구 목표

(1) 식물공장형 정밀 재배 환경 조절시스템 개발

(가) 재배실: 소형 5개실(온도, 습도, CO₂ 조절형)을 구축하여 1년차에서 구명된 광, 양분조건에서 온도, 습도, CO₂ 농도를 변화시키면서 최적 조건을 구명하도록 구성함

(나) 다중 재배단으로 시험수준을 극대화할 수 있도록 하고, 각 재배단별로 광, 수분, 양분을 조절함

(2) 작물 재배 시험

(가) 기능성, 유전자 배추, 케일 품종에 대하여 3반복 재배시험 실시

(나) 온도, 습도, CO₂ 농도 변화 조건에서 재배

(다) 양액, 배지 재배를 통하여 재배 medium에 따른 기능성 유전자 발현정도 차이 구명

나. 연구 수행 방법 및 연구개발목표의 달성도

(1) 식물공장형 정밀 재배 환경 조절시스템 개발

(가) 실험적 방법 : 100%

- ① 소형 5개실 식물공장 제작
- ② 성능평가 실험

(2) 작물 재배 시험

(나) 실험적 방법 : 100%

- ① 재배시험 1 : 온도 5수준
- ② 재배시험 2 : 습도 5수준

- ③ 재배시험 3 : CO₂ 농도 5수준
- ④ 재배시험 4 : 양액, 배지 비교

3. 3차년도

가. 연구 목표

(1) 식물공장 작물 재배 시험

- (가) 기능성, 내재해성 유전자 배추, 케일 품종
- (나) 1 세부과제에서 탐색된 신품종에 대한 시험 추가
 - ㉠ 광 (광원, 세기, 주기 등) 환경별 재배
 - ㉡ 온도, 습도, CO₂ 농도별 재배
 - ㉢ 양액 농도별 재배
 - ㉣ 양액, 배지 재배 비교

(2) 관행 재배와 비교 시험

- (가) 준 온실재배와 차이점 구명을 위하여 온도, 습도, CO₂ 농도 제어가 어려운 온실에서 재배시험을 실시하고 광 및 양분 수준에 따른 기능성, 내재해성 성분변화를 고찰하고 정밀 환경 시스템과 비교
- (나) 표준 노지재배와 차이점 구명을 위하여 환경 변수 제어가 되지 않는 노지에서 재배시험을 실시하고 정밀 환경 시스템 및 온실재배와 기능성, 내재해성 성분을 비교

나. 연구 수행 방법 및 연구개발목표의 달성도

(1) 식물공장 작물 재배 시험 및 관행재배와 비교 시험

- (가) 실험적 방법 : 100%
 - ① 재배시험 1 : 식물공장의 최적조건 제시 - 광원의 종류, 세기, 주기 및 배추의 적정 전기전도도(EC)
 - ② 재배시험 2 : 습도와 CO₂ 의 최적조건 제시를 위한 실험
 - ③ 재배시험 3: 배추 및 케일의 최적 재배환경 결정
 - ④ 재배시험 4: 케일의 최적 재배환경 결정 (광원, 광량, 광주기, EC)
 - ⑤ 재배시험 5: 배추와 케일의 최적 온도환경 결정
 - ⑥ 재배시험 6: 케일 재배를 위한 최적의 CO₂ 와 습도 제시

4. 4차년도

가. 연구 목표

(1) 식물공장 작물 재배 시험

- (가) 기능성, 내재해성 유전자 배추, 케일 품종
- (나) 1 세부과제에서 탐색된 신품종에 대한 시험 추가
 - ① 광 (광원, 세기, 주기 등) 환경별 재배
 - ② 온도, 습도, CO₂ 농도별 재배
 - ③ 양액 농도별 재배
 - ④ 양액, 배지 재배 비교

(2) 관행 재배와 비교 시험

- (가) 준 온실재배와 차이점 구명을 위하여 온도, 습도, CO₂ 농도 제어가 어려운 온실에서 재배시험을 실시하고 광 및 양분 수준에 따른 기능성, 내재해성 성분 변화를 고찰하고 정밀 환경 시스템과 비교
- (나) 표준 노지재배와 차이점 구명을 위하여 환경 변수 제어가 되지 않는 노지에서 재배시험을 실시하고, 정밀 환경시스템 및 온실재배와 기능성, 내재해성 성분을 비교

나. 연구 수행 방법 및 연구개발목표의 달성도

(1) 식물공장 작물 재배 시험 및 관행재배와 비교 시험

- (가) 실험적 방법 : 100%
 - ① 재배시험 1 : 배추의 최적 재배환경 결정 (광원, 광주기, 광량)
 - ② 재배시험 2: 배추의 최적 재배환경 결정 (온도, 습도, CO₂)
 - ③ 재배시험 3: 케일의 최적 재배환경 결정 (광원, 광주기, 광량)
 - ④ 재배시험 4: 케일의 최적 재배환경 결정 (온도, 습도, CO₂)
 - ⑤ 재배시험 5: 배추 및 케일의 재배환경 (식물공장, 온실, 노지) 비교실험

5. 5차년도

가. 연구 목표

(1) 식물공장 작물 재배 시험

- (가) 기능성, 내재해성 유전자 배추, 케일 품종
- (나) 인자간 복합 효과 시험 재배
 - ① 인자별 조건 교차시험
- (다) 기능성 성분 목표 함량을 달성하기 위한 재배조건을 검증함

(2) 관행 재배와 비교 시험

- (가) 재배시험 결과를 종합적으로 분석하여 기능성, 내재해성 성분 조절을 위한 최적 재배조건 조합 확립
- (나) 환경 모니터링 및 제어 개선으로 최적 재배조건 정밀 환경조절 성능 향상

(다) 배추, 케일의 성분별 재배 환경 조절 매뉴얼 작성

나. 연구 수행 방법 및 연구개발목표의 달성도

(1) 식물공장 작물 재배 시험 및 관행재배와 비교 시험

(가) 실험적 방법 : 100%

- ① 재배시험 1 : 배추의 최적 재배환경 결정 (광원, 광주기, 광량)
- ② 재배시험 2: 배추의 최적 재배환경 결정 (온도, 습도, CO₂)
- ③ 재배시험 3: 케일의 최적 재배환경 결정 (광원, 광주기, 광량)
- ④ 재배시험 4: 케일의 최적 재배환경 결정 (온도, 습도, CO₂)

2절 관련분야에의 기여도

본 연구에서는 식물공장을 대형 재배실, 소형 재배실로 제작하여, 환경 조건에 따라 배추와 케일 기능성 성분들의 관계를 조사하였다. 그리고 광량, 광원, 양액 농도, CO₂ 농도와 같은 환경 인자에 따른 기능성 성분 분석, 노지 재배와 식물공장 내 재배 시 기능성 성분 비교 등의 실험을 통해 배추와 케일의 최적의 성장 조건과 해당 조건에서의 기능성 성분을 분석하였다. 설정한 실험 목표는 모두 100%를 달성하였고, 온실과 다른 의미로 채소를 재배할 수 있는 공간인 식물공장 내에서 기능성 성분이 극대화 될 최적의 환경을 찾았으며, 이를 통해 정밀농법을 활용한 대량생산의 가능성을 확인하였다.

<제 1협동>

[1차년도]

○ 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성

- 국내 외 도입 배추 95점의 노지 가을 재배로 속잎색이 노란 11점 선발
- 2010년 예비시험 결과 선발된 16점의 F₂ 세대 특성 평가 결과 속잎이 노란 7점 선발
- 선발 계통은 뇌수분에 의한 세대 진전 및 소포자 배양 실시

[2차년도]

○ 기능성 및 내서성 배추과 계통 육성

- 자원의 수집 및 평가를 위해 2013년 일본 자원 25점 신규 수집, 2012년까지 확보된 한국 및 일본 자원 34점의 평가 및 선발 완료하였으며, 선발자원 세대진전 후대 및 소포자 배양 유래 계통 66점의 평가 및 재선발 완료
- 선발 및 육성 자원의 종자 증식을 위해 2010년 선발자원 7점 및 2011년 선발자원 5점의 후대 종자를 증식 완료 하였으며, 소포자 배양 유래 개체 54점의 종자 증식 완료 (채종량은 점당 100립 이상)
- 소포자 배양에 의한 신규 배추과 계통 육성을 위해 2012년 선발자원 12점의 소포자 배양을 실시하여 약 3,000개체를 획득하였으며, 이들을 춘화처리하여 약 2,000개체를 화분에 정식

하였음

[3차년도]

○ 국내외 자원 수집 및 평가

- 자원의 수집 및 평가를 위해 중국 우한에서 신규 자원 6점 및 중국 운남에서 5점, 총 11점 수집
- 일본 수집 자원 25점 특성 평가 후 3점 선발

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

- 전년도 선발 자원 등 10점의 종자 증식 결과 8점의 종자 증식 성공
- 소포자 배양에 의해 획득된 식물체의 종자 증식 : 49개체의 종자 증식

○ 선발 자원 소포자 배양

- 배추의 소포자 배양에 비교적 효과적인 배지 조건 : 1/2N NLN + 1/2N NLN Vit + CaNO₃ 0.5g + Micro Element 1mg + S13%+ NAA 50μl+BAP 50μl
- 배추, 케일, 브로콜리, 양배추 배양 결과 배추와 양배추에서 배상체 획득

[4차년도]

○ 국내외 자원 수집 및 평가

- 자원의 수집 및 평가를 위해 중국 청두에서 신규 자원 8점 수집
- 수집자원 11점의 원예적 특성 평가 결과 3점 선발

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

- 중국 도입 품종 소포자 배양 유래 계통 15점 개발 및 평가 : 2계통 선발
- 소포자 배양에 의해 획득된 식물체의 종자 증식 : 35계통, 증식자원 노지 가을 포장 재배 및 품평회 결과 3계통 공동 선발 ➡ 품종보호 출원을 위한 종자 증식 중

○ 선발 자원 소포자 배양

- 배추의 소포자 배양에 효과적인 9조합 선발
- 다양한 배추과 작물에서 배상체 획득

[5차년도]

○ 국내외 자원 수집 및 평가

- 자원의 수집 및 평가를 위해 일본에서 신규 자원 7점 수집
- 미국 및 중국 수집자원 10점의 원예적 특성 평가 결과 모두 열악하여 도태

○ 선발 및 육성 자원 종자 증식

- 소포자 배양 유래 자원 19점의 특성조사 : 2계통 공동 선발
- 기존 선발 계통(교배 및 배양 포함) 114점의 내서성 조사 : 4점 선발

○ 선발 자원 소포자 배양

- 배양 결과 유래된 배상체의 순화 및 종자 증식 완료하여 특성 조사에 활용

<제 2협동>

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2012)	기능성 및 내재해성 품종 종자 개발 및 사업화	유전자원 10점이상 수집	110	유전자원수집: 15점
		수집 유전자원 및 보유 소재 성능검정	100	기존 및 수집재료 특성검정: 62점
		수집 유전자원 및 기 보유한 소재 30점 이상 성분분석	120	기존 및 수집재료 성분분석: 62점
2차년 (2013)	기능성 및 내재해성 품종 종자 개발 및 사업화	선발된 고정계통을 이용하여 F1 10개 이상 작성	110	선발된 고정계통을 이용 20조합 작성
		5계통 선발 유전자원간의 교배	100	B Type간에 6조합이 만들어졌음
		내서성이 강한 2개 조합 선발	110	3조합 선발됨
		선발된 F1 조합 성분분석	100	분석완료
3차년도 (2014)	기능성 및 내재해성 품종 종자 개발 및 사업화	유전자원간 F2 집단 선발	100	F2 (하노CR노노평xCR대명노우 등 5집단) 과종하여 추대성을 보면서 35개체 선발하여 교배하였음.
		F1 작성 및 성능검정	100	지대지부춘일xCR대명노우 등 15개 F1 조합작성 및 성능 검정 중에 있음.
		선발조합 시교체종 및 지역적응성 시험	100	하노CR노노평x영진대하춘일 등 선발된 3조합 시교체종 및 지역 적응성 시험 하였음
		기능성 배추 개발을 위한 라이코펜 성분분석	100	기 보유한 배추 재료 26점이 라이 코펜 함량 분석 하였음
		수집된 케일종자 성분분석	100	유전자원 30점이 성분분석 완료
4차년도 (2015)	기능성 및 내재해성 품종 종자 개발 및 사업화	유전자원간 F2 집단 선발	100	하노CR노평xCR대명노우 등 5집단에서 선발된 F2들을 교배 후 과종하여 추대성을 보면서 F3 40개체 선발하여 교배하였음.
		조합작성 및 성능검정, 품종보호출원, 선발조합 해외시험	110	-영진대하춘일 등 15계통 간에 인공교배하여 20조합 각 작형별로 성능 검정함 -안심봄, 춘강새 2품종을 품종보호 출원 하였음 -중국 산동성에서 가을 현지시험에서 BN60번을 선발함.
		재료 및 조합 라이코펜 함량 분석 및 선발	100	배추 26점을 충남대에 분석 의뢰 하여 성분분석 중임
		수집된 케일종자 성분분석 및 조합 작성	100	케일 39점) 충남대에 분석 의뢰하여 성분분석 함. 조합 작성하고 종자 확보중.
5차년도 (2016)	기능성 및 내재해성 품종 종자 개발 및 사업화	유전자원간 F2 집단 선발 및 순화	100	유전자원간 F2 집단 선발계통 내서성 재료 선발(10계통이상)
		조합작성 및 성능검정, 시교종자 생산	100	10개 이상 F1 작성 및 성능 검정, 2015년 선발된 조합 시교종자 생산
		재료 및 조합 라이코펜 함량 분석 및 선발	100	기 보유한 배추 재료 및 조합 라이코펜 함량 분석(20점이상)
		수집된 케일종자 성분분석 및 조합 선발	100	유전자원 성분분석 및 조합선발

연구사업을 수행하여 내재해성 배추 3품종, 기능성 배추 1품종 및 기능성 성분이 함유된 계육성을 함으로써, 배추의 안정적 생산과 국민건강 및 농가소득 향상에 기여할 것으로 기대됨.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

<제 1 세부>

1 절. 연구개발 성과

성과목표	품종개발			특허		논문		분자 마커 개발	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 보고서	인력 양성
	생산수입 판매신고	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI		수 집	등 록					
최종목표						5									5
1차년도	목표					1									1
	실적					3									0
2차년도	목표					1									1
	실적					2									1
3차년도	목표					1									1
	실적					2									3
4차년도	목표					1									1
	실적					1									6
5차년도	목표					1									1
	실적					1									3
합 계						8									13

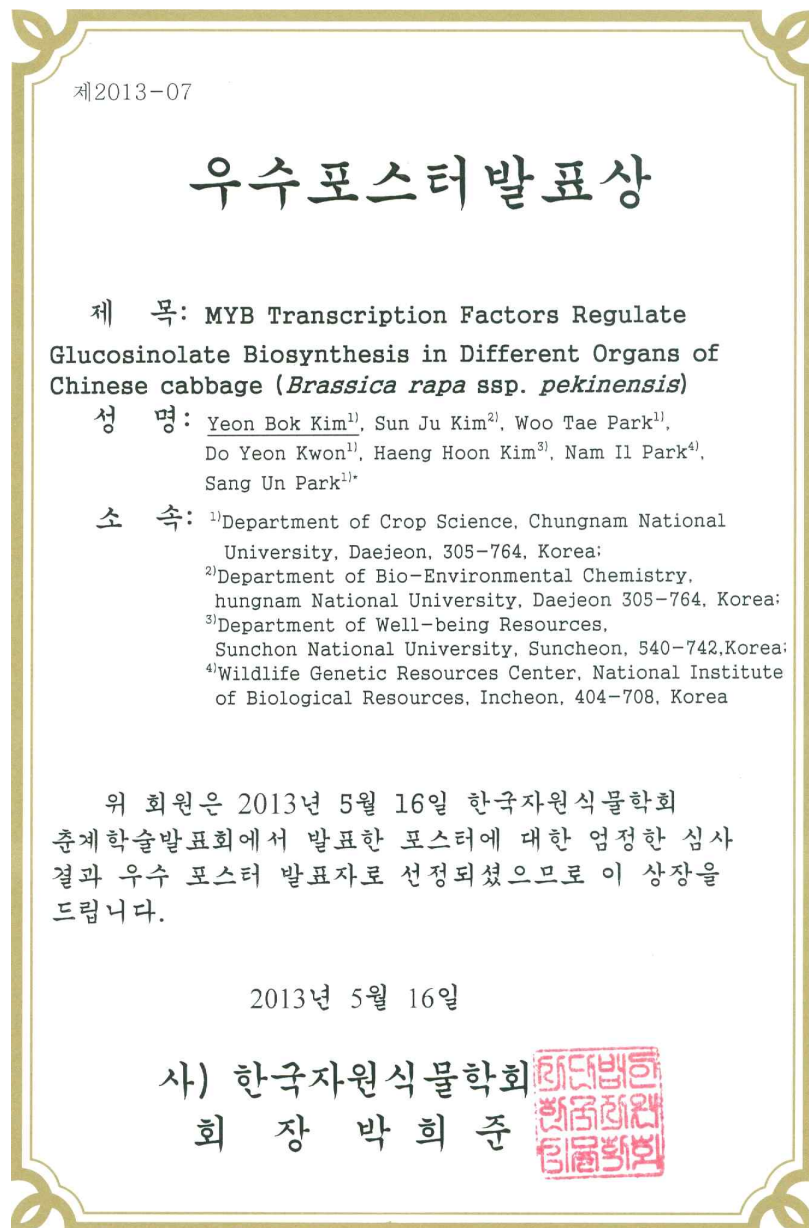
1. 논문

1. Jae Kwang Kim, Sang Un Park (2016.4.28) Current results on the potential health benefits of lutein. EXCLI Journal. 15: 308-314
2. Yeon Jeong Kim, Yeon Bok Kim, Xiaohua Li, Su Ryun Choi, Suhyoung Park, Jong Seok Park, Yong Pyo Lim, Sang Un Park (2015.8.5) Accumulation of Phenylpropanoids by White, Blue, and Red Light Irradiation and their Organ-specific Distribution in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63(30): 6772-6778
3. Yeon Bok Kim, Jin-Hyuk Chun, HyeRan Kim, Sun-Ju Kim, Yong Pyo Lim, Sang Un Park (2014.4.30.) Variation of Glucosinolate Accumulation and Gene Expression of Transcription Factors at Different Stages of Chinese Cabbage Seedlings under Light and Dark Conditions. Natural Product Communication. 9(4): 533-537
4. Sun-Ju Kim, Md. Romij Uddin, Sang Un Park (2013. 11.1) Glucosinolate accumulation in three important radish (*Raphanus sativus*) cultivars. Australian Journal of Crop Science 7(12): 1843-1847
5. Yeon Bok Kim, Xiaohua Li, Sun-Ju Kim, Haeng Hoon Kim, Jeongyeo Lee, HyeRan Kim, Sang Un Park (2013.7.22) MYB Transcription Factors Regulate Glucosinolate Biosynthesis in Different Organs of Chinese Cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). Molecules. 18(7): 8682-8695
6. Pham Anh Tuan, Jae Kwang Kim, Jeongyeo Lee, Woo Tae Park, Do Yeon Kwon, Yeon Bok Kim, Haeng Hoon Kim, Hye Ran Kim, Sang Un Park (2012.8.22) Analysis of carotenoid accumulation and

expression of carotenoid biosynthesis genes in different organs of Chinese cabbage (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*). EXCLI Journal 11:508-516

7. Woo Tae Park, Jae Kwang Kim, Suhyoung Park, Sang-Won Lee, Xiaohua Li, Yeon Bok Kim, Md Romij Uddin, Nam Il Park, Sun-Ju Kim, Sang Un Park (2012.8.22) Metabolic Profiling of Glucosinolates, Anthocyanins, Carotenoids, and Other Secondary Metabolites in Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(33): 8111-8116
8. Pham Anh Tuan, Nam Il Park, Woo Tae Park, Yeon Bok Kim, Jae Kwang Kim, Jonghoon Lee, Suh-hee Lee, Tae-Jin Yang, Sang Un Park (2012.3.31) Carotenoids accumulation and expression of carotenogenesis genes during seedling and leaf development of Chinese cabbage (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*). Plant Omics 5(2):143-148

2. 학술대회 수상



3. 인력양성

번호	기관명	성명	학위	년도	학교
1	충남대학교	김연복	박사 후 연구원	2015	충남대학교
2	충남대학교	김연정	박사 후 연구원	2015	충남대학교
3	충남대학교	팜안튜안	박사	2013	충남대학교
4	충남대학교	에에똌	박사	2015	충남대학교
5	충남대학교	박우태	박사	2015	충남대학교
6	충남대학교	권도연	석사	2014	충남대학교
7	충남대학교	김예지	석사	2014	충남대학교
8	충남대학교	신유진	석사	2014	충남대학교
9	충남대학교	박윤지	석사	2015	충남대학교
10	충남대학교	조세성	석사	2015	충남대학교
11	충남대학교	여선경	석사	2016	충남대학교
12	충남대학교	봉선주	석사	2016	충남대학교
13	충남대학교	박창하	석사	2016	충남대학교

2절. 성과활용 계획

1. 실용화, 산업화 계획(기술실시 등)

- 재배시 glucosinolates 및 carotenoids의 함량 증진이 가능한 물질을 재배 시 활용하면 고 기능성 배추 또는 케일 생산에 응용 가능할 것으로 판단됨.

2. 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획 등

- 배추과 작물 기능유전체에 관심 있는 산업체에 기술지도 또는 지원으로 공동 연구 추진

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

- 논문 : 배추과 작물 기능유전체에 관련 기초 자료로 활용
- 특허 : glucosinolates 및 carotenoids의 함량 증진이 가능한 물질을 재배 시 활용하여 고 기능성 배추 또는 케일 새싹 생산에 관한 내용 특허 준비 중

4. 인력 양성

- 배추과 작물 기능유전체에 관련 대학원생을 배출하여 관련 산업에 필요한 인력양성

<제 2세부>

제 1 절. 연구개발 성과

성과목표	품종개발			특허		논문		분자 마커 개발	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	생산수입 판매신고	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI		수 집	등 록					
최종목표						2	3		70						3
1차년도	목표								70						
	실적								71						
2차년도	목표														
	실적														
3차년도	목표					1	1								1
	실적					2	1								2
4차년도	목표					1	1								1
	실적					1	1								1
5차년도	목표					0	1								1
	실적					1	2								0
합 계						4	4		71						3

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				성분분석	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표				2			
당해 연도	목표			2			
	실적			2			
달성율(%)				100			

1. 논문

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Variation of glucosinolates in 62 varieties of Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i>) and their antioxidant activity	LWT - Food Science and Technology	Min-Ki Lee	58(1)	네덜란드	ELSEVIER	SCI
2	광원의 종류, 주기와 세기의 변화에 따른 '신흥쌈' 배추 내 글루코시놀레이트 함량	CNU 농업 과학연구지	이건령	41(2)	한국	충남대농업 과학연구소	비SCI
3	Metabolite profiling of phenolics, anthocyanins and flavonols incabbage (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	Industrial Crops and Products	Suhyoung Park	60		ELSEVIER	SCI
4	생장단계에 따른 케일 내 글루코시놀레이트 함량	원예과학 기술지	이현학	33(2)	한국	한국원예학회	SCIE
5	수분스트레스에 의한 케일 내 글루코시놀레이트 변화	CNU 농업 과학연구지	정나래	42(3)	한국	충남대농업 과학연구소	비SCI
6	토마토 종류에 따른 카로티노이드 함량 비교와 다중분석법 개발	한국환경 농학회지	김한결	34(2)	한국	한국환경농 학회	비SCI
7	생석회 시비가 배추 내 무기이온 및 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향	CNU 농업 과학연구지	김영진	42(4)	한국	충남대농업 과학연구소	비SCI
8	LED Lights Enhance Metabolites and Antioxidants in Chinese Cabbage and Kale	BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY	Min-Ki Lee	42(4)	브라질	SciELO	SCI
9	수확 전 LED, 형광등, UV-C 조사가 로켓샐러 드 내 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향	원예과학 기술지	이혜진	게재 예정 (Accepted 16.07.25)	한국	한국원예학회	SCIE

2. 학술발표

번호	제목	학술지명	주저자명	발표일	활용년도
1	배추의 품종 및 계통에 따른 glucosinolate 함량	한국원예학회	천진혁	2012.05.18	2012
2	배추·케일의 배지별 글루코시놀레이트 함량	한국환경농학회	이민기	2012.07.06	2012
3	21계통 케일 내 글루코시놀레이트 함량	한국환경농학회	천진혁	2013.07.05	2013
4	생석회 시비가 배추 내 무기이온 및 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향	한국환경농학회	천진혁	2014.07.04	2014
5	Quantification and identification of Glucosinolates by HPLC and LC-ESI-MS in Brassicaceae plants	GLUCOSINOLATES & BEYOND	김선주	2014.10.13	2014
6	배추 내 Glucosinolate와 Carotenoid의 생합성	한국환경농학회	천진혁	2015.09.17	2015
7	배추 및 케일 계통에 따른 Glucosinolate, Carotenoid 함량	한국환경농학회	천진혁	2015.09.17	2015
8	배추과 채소의 계통에 따른 Glucosinolate, Carotenoid 함량	한국환경농학회	천진혁	2015.09.17	2015
9	수분 스트레스에 따른 케일 내 카로티노이드 및 프롤린 함량	한국환경농학회	이효준	2016.06.07	2016

3. 인력양성

번호	기관명	성명	학위	년도	학교	인력양성년도
1	충남대학교	이민기	석사	2014	충남대학교	2013
2	충남대학교	서정민	석사	2014	충남대학교	2013
3	충남대학교	천진혁	석사	2015	충남대학교	2014

2절 성과 활용계획

1. 실용화, 산업화 계획(기술실시 등)

- 영세 중소기업(육종회사, 김치회사 등)에 기술실시(database 제공 가능)
- 육종 시작 단계에서 특정한 기능성 성분 추적시 본 기능성 성분 분석 기술 활용

2. 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획 등

- 국제 표준 glucosinolates 분석법은 현재 국내 연구 기관/육종 회사 또는 타 대학 기관의 연구자들에게 그 분석기술을 지도/확산시키고 있고, 필요할 때에는 분석 의뢰를 받고 있다.

- Carotenoids 분석은 국제 표준화된 분석법이 없지만, 실험실 수준에서 대량 시료를 분석할 수 있도록 체계화하였으므로 향후 국내 연구 기관/육종 회사 또는 타 대학 기술확산이

가능하다.

3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

- 논문 : 배추과 채소의 glucosinolates 및 carotenoids 분석 관련 기초 자료로 활용
- 특허, 논문 : 해당사항 없음

4. 추가연구, 타 연구에 활용 계획 등

- 가능하다면 유전자원센터에 있는 배추과 채소 중, 국내 생산/소비가 많은 배추, 무 등을 중심으로 유전자원의 기능성 성분(glucosinolates 및 carotenoids 등) database 작성 이 필요하다.

5. 배추, 케일 유전자원 수집

- 계통 수집한 배추, 케일은 향후 육종 parents로 활용 가능

6. 인력 양성

- 농업 분야 기능성 성분 분석 및 육종 개발에 공헌

<제 3세부>

1절 연구개발 성과

1. 특허 출원 2건, 논문 SCI 4건, 논문 비SCI 7건, 논문 기타 10건

가. 주요 성과: 특허출원 (식물공장 내 식물 기능성 성분 측정 시스템)

본 연구를 통해 출원한 특허는 두 건인데 한 건은 기능성 성분에 관련한 특허이고, 다른 한 건은 식물공장 내의 식물 베드에 관련된 특허이다. 최종적으로 본 연구에서의 목표가 반영된 것이 기능성 성분에 관련한 특허 (식물공장 내 식물 기능성 성분 측정 시스템)라 볼 수 있다. 해당 특허는 식물공장 내에서 식물의 생육 정도 및 품질을 저렴하고, 편리한 방법으로 측정하기 위해 비파괴적인 방법의 시스템을 이용하여 기능성 성분을 측정할 수 있도록 한 시스템을 목표로 한 것이다. 기존의 기술로 식물의 크기를 측정하고 이를 통해 생육 정도를 예측하는 시스템, 식물의 성장 환경을 측정해 식물의 성장을 예측하는 시스템이었다. 이들로는 식물의 직접적인 생육 정도와 품질을 측정하기에는 한계를 갖고 있었다. 이외에 잎을 분쇄하여 측정하는 기술도 있지만 고가의 장비로 보급에 한계가 있었다. 따라서 이러한 문제를 해결하기 위해 식물공장 내에서 배추의 생육 정도와 품질을 저렴하고 편리한 방법으로 측정하기 위해 비파괴적인 방법인 시스템을 발명하였다. 본 발명은 앞서 언급한 것처럼 저렴하고 편리한 방법으로 생육을 측정할 수 있기 때문에 일반 농가에 충분히 보급될 수 있을 거라 판단한다.

2절 성과 활용계획

최근 지구온난화로 인한 잦은 자연재해로 농업생산량감소 및 농업인구의 고령화, 종자와 재배방법 개발을 통한 단위 생산성 향상의 한계와 소비자의 안전식품

에 대한 요구도가 증가함에 따라 식물공장의 필요성이 증대되고 있다. 작물재배는 생육환경과 밀접한 관련이 있다. 생육환경에 따라 생산성 및 품질이 달라지며 이는 곧 농가소득으로 이어지기 때문에 경제성에도 영향을 미친다. 따라서 세계적으로 많은 연구진들은 온도, CO₂, pH, EC 등과 작물의 성장, 형성, 발아의 관계에 대한 많은 연구를 진행하고 있다. 위 요소는 사실상 모든 생리학상의 속도에 직접적으로 영향을 끼친다. 따라서 향후 지속적으로 다양한 환경조건을 제어할 수 있는 식물공장에 대한 관심도가 증가할 것이다. 본 연구를 통해 식물공장을 제작하고 다양한 환경 요인 제어를 통해 국내 식물공장 가능성을 확인하였고, 향후 본 연구를 통해 갖춘 특허 기술 및 연구 지식 등을 바탕으로 향상된 식물공장 개발을 위해 노력할 것이다.

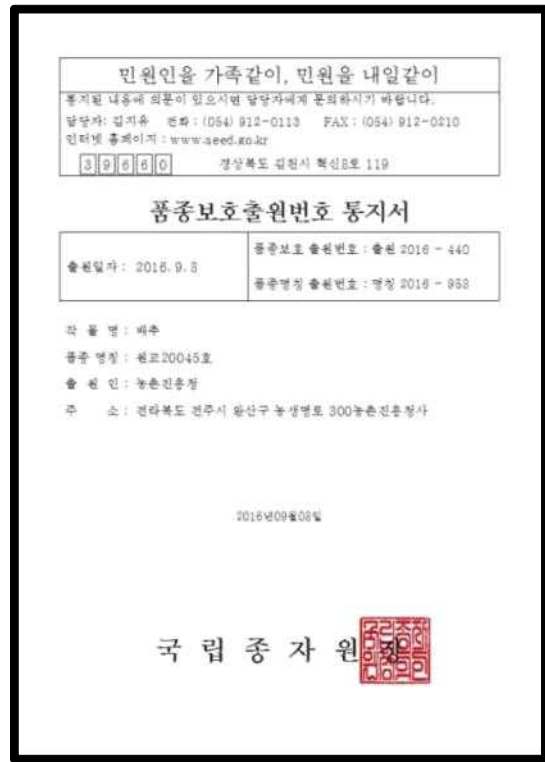
<제 1협동>

성과목표	품종개발			특허		논문		분자마커개발	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	생산수입 판매신고	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표		2				1	1			50			1		
1차년도	목표									10					
	실적														
2차년도	목표									10					
	실적														
3차년도	목표							1		10					
	실적		1							15					
4차년도	목표		1							10			1		
	실적					1				10			1		
5차년도	목표		1			1				10					
	실적		1		(1)		1			27					
계	목표		2			1	1			50			1		
	실적		2			1	1			52			1		

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				성분분석	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표		3					
당해년도	목표	3					
	실적	4					
달성율(%)		133					

가. 품종 개발 결과 및 활용 계획

1) 품종보호 출원 2건의 지속적 통상(전용) 실시를 통한 농업 기반 조성



※ 원교 20042호는 2015년 대형마트로 전용실시권이 체결되어 농가 계약재배를 위한 소재로 활용



< 계약재배 농가에서 생산한 ‘원교20042호’ >

< 원교20042호 품질 관련 홍보 모습 >

2) 육성 완료 품종의 지속적인 통상 실시권 설정 및 홍보로 농업 기반 조성

- 전용실시는 농가 계약 재배를 통한 특화 작목 개발로 활용
- 통상 실시는 민간 회사에 일대잡종 품종의 모본으로 활용

3) 원예원, 농기평, 이마트와의 MOU 후속 조치로서, 현재 육성중인 기능성 품종의 소비자 반응 조사를 위한 소재 발굴 협력 지속, 과제 종료 후 추진되는 공동 사업은 GSP 채소종자 사업 단 과제로 이관하여 수행

나. 특허 : 양배추 소포자 배양 기술 관련 특허 진행 중 (16년 9월 현재)

[서식 6] 명세서 및 도면

【명세서】

【발명의 명칭】
양배추 소포자 배양방법(Method for microspore culturing of Cabbage)

【기술분야】
본 발명은 양배추 소포자 배양방법에 관한 것으로, 구체적으로 최소 개화일부터 개화일 이후 14일까지의 기간 동안 양배추 식물체로부터 소포자를 수확하여 배양하는 것을 특징으로 하는 양배추 소포자 배양방법에 관한 것이다.

【발명이 속하는 기술】
배추과 채소는 소포자 배양이 용이하여 최초로 유전자에 성공한 주(Lichter, 1982)의 배양 보다 배양 노력이 적게 필요한 장점으로 인하여 다양한 배추과 채소에서 배양이 시도되었다. 예디오코라거지 (Brassica carinata BRALIN) (Chung and Swendsen, 1985), 양배추(B. oleracea L.) (Takahata and Keller, 1991), 양구배추(B. napus ssp. pekinensis) (Sato et al., 1989), 깍초이(B. napus ssp. chinensis) (Cao et al., 1994), 그리고 무(Aphanan salsora L.) (Takahata et al., 1996)에서 소포자 배양의 성공 하였다. 국내에서 도 배추는 무의 변종으로 알려진 배추무(Brassicaphanus)의 소포자 배양을 시작(Hong and Lee, 1995)하여 배양기술을 성공하였으며, 배추 무종류 특성상 순계 육성(Lee et al., 2001)을 위한 소포자 배양과 Hong et al.(2005)에 의해 배추의 배양을 특성화했다는 보고가 있다.

배추과 채소의 소포자 배양은 식물의 배양, 배양조건배양, 배양온도, 고온처리

자 배양에 관한 연구가 수행되어 오고 있다.

하지만, 아직까지 양배추 소포자 배양을 효율적으로 수행할 수 있는 방법이 개발되어 있지 않아 이에 대한 지속적인 연구가 있어 왔다. 특히 양배추 소포자를 배양하여 정상적인 식물체로까지 분화시키는 것이 어려워 기존에는 양배추 소포자 배양을 위해 개화시기 전체에 걸쳐 소포자를 수확해왔기 때문에 개화시기 내외 수행해야 하는 다른 작업을 포기해야 하는 경우가 많았다.

이에 본 발명자는 양배추의 소포자를 배양하여 정상적인 식물체로까지 효율적으로 분화시킬 수 있는 방법을 개발하고자 지금까지의 노력을 바탕으로 다양한 연구를 시도하였으며, 이인 결과 성공적인 양배추 소포자 배양을 위해서는 소포자를 수확하는 시기가 매우 중요하며, 특히 개화 초기에 소포자를 수확하면 다른 시기에 비해 월등히 높은 성공률을 기대할 수 있다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

【선행기술문헌】
【비특허문헌】
Lichter R (1982) Induction of Haploid Plants from Isolated Pollen of Brassica napus. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 105:427-434.
Takahata Y, Keller WA (1991) High frequency embryogenesis and plant regeneration in isolated microspore culture of Brassica oleracea L. Plant Science 78:235-242.
Hong SY, Lee SS (1995) Microspore culture of «Brassicaphanus. J. Kor. Soc. Hort. Sci 36(4):453-459.

【발명의 내용】
【특권하고자 하는 과제】
따라서 본 발명의 주된 목적은 양배추 소포자로부터 식물체를 효율적으로 수확하기 위한 방법을 제공하는데 있다.

【과제의 해결 수단】

☞ 양배추 등 배추과 채소의 육종 연한 단축을 위한 배양 및 교배 시기 관련 기술 제공

다. 기술이전 : 고순도 모본의 신속한 육성을 위한 기술을 민간에 이전함으로써 경쟁력 향상

KOREGON

농업회사법인 (주) 코 레 곤

서울 강남구 테헤란로 11, 15, 15-15
 TEL 02-552-1710 FAX 02-552-1711
 홈페이지 http://www.koregon.com/

소포자 배양 기술이전 결과보고 (코레곤중보)

2015. 06. 17일자 보고서 | 농림연구자 박순중

1. 기술이전 현황
 ○ 기술이전 대상: 배스프-2097 (2015. 06. 19)
 ○ 일시 및 장소: 2015. 06. 23(목), 국립원예특작과학원 5층 소포자배양실
 ○ 기술이전 당사 및 담당자: 코레곤중보 박순중

2. 기술이전 내용
 ○ 배양 및 수확용 소포자 배양 방법
 - 식물체 관리: 개화당 3번씩, 총 6번의 12주, 10번의 15주
 - 물고의 처리: 약 2-5mm의 어린 물고의 30% 수확, 5% 후 제거에 저장
 - 물고의(20% 1-2일), 5%배양(20%, 15일), 1%배양(20%, 7~10일) 진행
 ○ 코레곤중보 생산 품종의 배양에 효과적인 배지 조성
 - 배양용 배지 조성: 배지 조성의 1번 배지(4-9523)
 - 3번 배지 (14-9523, 15-9523, 14-9524), 1번 배지(4-9523)
 - 1번 배지 1번 배지 조성: 사용된 95%의 배지 조성

3. 향후 계획
 ○ 회사 고장 후 배양이 어려운 품종은 배지 조성 등 세부 사항 추후 논의

국립원예특작과학원장 귀하

☞ 일대잡종 품종의 부가가치 향상을 위한 기반 조성을 위해 과제 종료 후에도 수요 발생 시 대응

라. 연구 과정 선발 및 육성된 계통 : 현재 수행중인 GSP배추 기반과제로 이관하여 종자 증식, 원예적 특성 평가, 내병성 및 내서성 평가 등을 거쳐 우수할 경우 신품종으로 육성하여 활용도 제고

<제 2협동>

- 품종보호를 신청한 배추 4품종(안심봄,춘강세,스마트,금봉)을 기술실시를 하였고, 이를 활용하 국내판매 및 수출에 노력할 계획임.
- 추후 협동1, 협동2 육성계통별 분석 결과치에 따른 육성조합작성 연계성 강화를 노력할 계획임

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

<제 1세부>

1. 배추과 작물의 기능유전체

2011년 배추의 전체 유전체가 국내 연구진이 참여한 국제컨소시엄에 의해 세계 최초로 완전히 해독됐다. 중국 소채화훼연구소와 영국 JIC연구소 등과 함께 배추의 10개 염색체와 DNA 염기 서열을 완전 해독하는 데 성공했으며, 배추 유전체 해독 연구논문은 세계적인 학술지인 ‘네이처 제네틱스(Nature Genetics)’ 10월호에 <배수체 작물인 배추의 유전체 해독>이라는 제목으로 게재되었다.

사실 배추 유전체 분야도 중국이 우위를 지키고 있으며, 따라서 배추 기능유전체학도 중국 소채화훼연구소를 중심으로 여러 대학과 연구기관에서 활발히 진행 중에 있다. 배추 genome 해독 결과 배추는 총 4만1000여개의 유전자를 가지고 있으며, 이 가운데 약 1000개의 유전자군은 배추에만 존재하는 것으로 확인됐다. 특히 배추에 다량 함유돼 있는 항암성분인 글루코시놀레이트의 생합성에 참여하는 모든 유전자가 해독 과정에서 밝혀져, 앞으로 기능유전체학의 집중적인 연구는 고품질, 병해충저항성, 기능성 배추를 개발할 수 있는 길이 열릴것으로 기대하고 있다.

<제 2세부>

1. 유전자원

- 배추 : 한국, 일본, 중국에서 많이 소비되고 연구/생산/품종 육성되고 있지만, 배추김치의 원재료로서 한국배추(Kimchi cabbage)의 품종 육성이 필요
- 케일 : 기능성 채소로서 짬, 녹즙용, 샐러드용으로 세계적으로 널리 이용되고 있는데, 품종뿐만 아니라 그 계통의 수가 적고, 수집하는 것이 매우 어려웠다. 따라서 케일 품종 육성은 세계적 시장을 노릴 수 있는 채소 중의 하나라고 생각된다.

2. Glucosinolates 및 carotenoids의 분석

- Glucosinolates : 추출법은 거의 국제 표준에 따라 동일하게 수행되지만, HPLC 분석법은 분석 기기, 분석재료 종류 등에 따라 다르므로 database화 한 자료 공유가 필요한 부분이다. 이 부분에 대해서는 당 [식물환경생리학실험실] 가장 많은 database자료를 가지고 있다고 생각된다. 그렇지만, 향후 다양한 배추과 채소의 유전자원 수집을 통하여 더 폭넓은 database자료 확보가 필요 하다.
- Carotenoids : 이 성분 분석은 매우 복잡한 추출과정과 농축과정을 거치므로 숙련된 연구자가 필요하고, 배추와 같이 저농도 함유 채소에서는 더욱 어려운 분석대상이다. 그렇지만 본 연구과정에서 개발한 분석방법은 몇 개의 국내/해외 논문을 참고로 해서 변형한 분석법이다.

<제 3세부>

1. 해외 원예, 원예시설, 정밀농업 학회, 세미나 참석 및 자료 수집

가. 12th International Conference of Precision Agriculture (미국): 현재 해외 식물공장은 완전제어형과 태양광병용형으로 나누어지며 미국, 영국, 폴란드, 스웨덴 등 유럽 대부분 태양광병용형 식물공장시스템을 활용하고 있다. 재배 자동이송시스템, 자동제식거리조정방식 등을 이용한 연구가 진행되고 있다. 또한, 엽채류(상추, 케일) 뿐만 아니라 과채류(토마토, 파프리카)의 생산성 향상에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. ICPA 참석을 통해 현재 식물공장 시스템 동향 및 최신 정보를 수집하였다.



나. Plant Factory Conference (일본): 일본 1970년부터 식물공장 연구를 추진, 상업화가 많이 진전되어 있으며 정부의 식물공장 건설비 지원 등 많은 사업 지원을 활성화하고 있다. 또한, 식물공장의 채소는 밀폐된 청결한 환경에서 무농약으로 재배되기 때문에 안전농산물로 여겨, 소비자 선호도가 일반채소보다 1.5배 정도 높은 것으로 조사되었다. Plant Factory Conference를 통해 선진국의 기술 수준 동향 및 정보를 수집하였다.



다. 종자전시회 참석 (중국): 중국 종자시장 규모는 2002년 225억 위안에서 2006년

의 310억 위안으로 연평균 9.4% 증가하였으며 전체 종자 생산액 가운데 가장 큰 비중을 차지하는 작목은 옥수수(32.9%)이며, 채소(31.6%), 벼(20.6%), 목화(7.5%) 등의 순이다. 또한, 중국의 채소 재배면적은 꾸준히 증가 하고 있으며, 채소류 중 과채류가 가장 큰 비중을 차지하고 있지만 배추 재배면적이 꾸준히 확대되고 있으며 보급형 품종 재배비중이 높아지고 있다. 종자전시회 참석을 통해 배추, 케일 등 다양한 배추과 품종의 종자 전시회 참석으로 기능성 및 내재해성 자료를 수집하였으며 중국 현지 배추과 품종을 파악하고, 다양한 품종의 종자 자료 수집하였다.

제 7 장 참고문헌

<제 1세부 >

1. Adam, Z.; Clarke, A. K., Cutting edge of chloroplast proteolysis. *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, (10), 451-456.
2. Agarwal, M.; Katiyar-Agarwal, S.; Sahi, C.; Gallie, D. R.; Grover, A., Arabidopsis thaliana Hsp100 proteins: kith and kin. *Cell Stress Chaperones* **2001**, 6, (3), 219-224.
3. Alvim, F. C.; Carolino, S. M.; Cascardo, J. C.; Nunes, C. C.; Martinez, C. A.; Otoni, W. C.; Fontes, E. P., Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. *Plant Physiology* **2001**, 126, (3), 1042-1054.
4. Artemyeva, A.; Solovyeva, A.; Vavilov, N., Quality evaluation of some cultivar types of leafy Brassica rapa. *Acta Horticulturae* **2006**, 706, 121.
5. Audran, C.; Borel, C.; Frey, A.; Sotta, B.; Meyer, C.; Simonneau, T.; Marion-Poll, A., Expression studies of the zeaxanthin epoxidase gene in *Nicotiana plumbaginifolia*. *Plant Physiology* **1998**, 118, (3), 1021-1028.
6. Auldridge, M. E.; McCarty, D. R.; Klee, H. J., Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2006**, 9, (3), 315-321.
7. Baniwal, S. K.; Bharti, K.; Chan, K. Y.; Fauth, M.; Ganguli, A.; Kotak, S.; Mishra, S. K.; Nover, L.; Port, M.; Scharf, K.-D., Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors. *J. Biosci. (Bangalore)* **2004**, 29, (4), 471-487.
8. Bartley, G. E.; Scolnik, P. A., Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell* **1995**, 7, (7), 1027.
9. Basha, E.; O' Neill, H.; Vierling, E., Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. *Trends Biochem. Sci.* **2012**, 37, (3), 106-117.
10. Boston, R. S.; Viitanen, P. V.; Vierling, E., Molecular chaperones and protein folding in plants. In *Post-transcriptional control of gene expression in plants*, Springer: 1996; pp 191-222.
11. Bruch, E. M.; Rosano, G. L.; Ceccarelli, E. A., Chloroplastic Hsp100 chaperones ClpC2 and ClpD interact in vitro with a transit peptide only when it is located at the N-terminus of a protein. *BMC plant biology* **2012**, 12, (1), 1.
12. Buchner, J., Hsp90 & Co.-a holding for folding. *Trends Biochem. Sci.* **1999**, 24, (4), 136-141.
13. Bukau, B.; Horwich, A. L., The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* **1998**, 92, (3), 351-366.
14. Celenza, J. L.; Quiel, J. A.; Smolen, G. A.; Merrikh, H.; Silvestro, A. R.; Normanly, J.; Bender, J., The Arabidopsis ATR1 Myb transcription factor controls indolic glucosinolate homeostasis. *Plant physiology* **2005**, 137, (1), 253-262.
15. Cheynier, V., Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American*

journal of clinical nutrition **2005**, 81, (1), 223S-229S.

16. Cong, L.; Wang, C.; Chen, L.; Liu, H.; Yang, G.; He, G., Expression of phytoene synthase1 and carotene desaturase crtI genes result in an increase in the total carotenoids content in transgenic elite wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* **2009**, 57, (18), 8652-8660.
17. Cunningham, F. X., Regulation of carotenoid synthesis and accumulation in plants. *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, (8), 1409-1417.
18. Cunningham Jr, F.; Gantt, E., Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual review of plant biology* **1998**, 49, (1), 557-583.
19. Dixon, R. A.; Paiva, N. L., Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell* **1995**, 7, (7), 1085.
20. Dobrowolska, A., Molecular view on the carotenogenesis in plants—a mini review. *Polish journal of food and nutrition sciences* **2006**, 15, (4), 385.
21. Fahey, J. W.; Haristoy, X.; Dolan, P. M.; Kensler, T. W.; Scholtus, I.; Stephenson, K. K.; Talalay, P.; Lozniewski, A., Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo [a] pyrene-induced stomach tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, 99, (11), 7610-7615.
22. Fahey, J. W.; Zhang, Y.; Talalay, P., Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, 94, (19), 10367-10372.
23. Falk, K. L.; Vogel, C.; Textor, S.; Bartram, S.; Hick, A.; Pickett, J. A.; Gershenzon, J., Glucosinolate biosynthesis: demonstration and characterization of the condensing enzyme of the chain elongation cycle in *Eruca sativa*. *Phytochemistry* **2004**, 65, (8), 1073-1084.
24. Food; Staff, N. B.; Antioxidants, P. o. D.; Staff, I. o. M., *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids: A Report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine*. National Academies Press: 2000.
25. Fraser, P. D.; Pinto, M. E. S.; Holloway, D. E.; Bramley, P. M., Application of high-performance liquid chromatography with photodiode array detection to the metabolic profiling of plant isoprenoids. *The Plant Journal* **2000**, 24, (4), 551-558.
26. Frydman, J., Folding of newly translated proteins in vivo: the role of molecular chaperones. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, 70, (1), 603-647.
27. Gigolashvili, T.; Berger, B.; Mock, H. P.; Müller, C.; Weisshaar, B.; Flügge, U. I., The transcription factor HIG1/MYB51 regulates indolic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **2007**, 50, (5), 886-901.
28. Gigolashvili, T.; Engqvist, M.; Yatusевич, R.; Müller, C.; Flügge, U. I., HAG2/MYB76 and HAG3/MYB29 exert a specific and coordinated control on the regulation of aliphatic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* **2008**, 177, (3), 627-642.

29. Gigolashvili, T.; Yatusovich, R.; Berger, B.; Müller, C.; Flügge, U. I., The R2R3-MYB transcription factor HAG1/MYB28 is a regulator of methionine-derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **2007**, 51, (2), 247-261.
30. Giovannoni, J. J., Genetic regulation of fruit development and ripening. *The plant cell* **2004**, 16, (suppl 1), S170-S180.
31. Giovannucci, E., Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**, 91, (4), 317-331.
32. Giuliano, G.; Bartley, G. E.; Scolnik, P. A., Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development. *The Plant Cell* **1993**, 5, (4), 379-387.
33. Green, B.; Durnford, D., The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Annual review of plant biology* **1996**, 47, (1), 685-714.
34. Grubb, C. D.; Abel, S., Glucosinolate metabolism and its control. *Trends Plant Sci.* **2006**, 11, (2), 89-100.
35. Guo, X.; Yang, L.; Hu, H.; Yang, L., Cloning and expression analysis of carotenogenic genes during ripening of autumn olive fruit (*Elaeagnus umbellata*). *Journal of agricultural and food chemistry* **2009**, 57, (12), 5334-5339.
36. Halkier, B. A.; Gershenzon, J., Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2006**, 57, 303-333.
37. Hartl, F. U., Molecular chaperones in cellular protein folding. **1996**.
38. Havaux, M., Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sci.* **1998**, 3, (4), 147-151.
39. Hirai, M. Y.; Sugiyama, K.; Sawada, Y.; Tohge, T.; Obayashi, T.; Suzuki, A.; Araki, R.; Sakurai, N.; Suzuki, H.; Aoki, K., Omics-based identification of *Arabidopsis* Myb transcription factors regulating aliphatic glucosinolate biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, 104, (15), 6478-6483.
40. Howe, J. A.; Tanumihardjo, S. A., Evaluation of analytical methods for carotenoid extraction from biofortified maize (*Zea mays* sp.). *Journal of agricultural and food chemistry* **2006**, 54, (21), 7992-7997.
41. Howitt, C. A.; Pogson, B. J., Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant, Cell Environ.* **2006**, 29, (3), 435-445.
42. Jongen, W. M., Glucosinolates in Brassica: occurrence and significance as cancer-modulating agents. *Proceedings of the Nutrition Society* **1996**, 55, (1B), 433-446.
43. Keeler, S. J.; Boettger, C. M.; Haynes, J. G.; Kuches, K. A.; Johnson, M. M.; Thureen, D. L.; Keeler, C. L.; Kitto, S. L., Acquired thermotolerance and expression of the HSP100/ClpB genes of lima bean. *Plant Physiology* **2000**, 123, (3), 1121-1132.
44. Khan, E. U.; Fu, X.-Z.; Wang, J.; Fan, Q.-J.; Huang, X.-S.; Zhang, G.-N.; Shi, J.; Liu, J.-H., Regeneration and characterization of plants derived from leaf in vitro culture of two sweet

orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cultivars. *Scientia Horticulturae* **2009**, 120, (1), 70–76.

45. Krumbein, A.; Schonhof, I.; Schreiner, M., Composition and contents of phytochemicals (glucosinolates, carotenoids and chlorophylls) and ascorbic acid in selected Brassica species (*B. juncea*, *B. rapa* subsp. *nipposinica* var. *chinoleifera*, *B. rapa* subsp. *chinensis* and *B. rapa* subsp. *rapa*). *Journal of applied botany and food quality* **2005**, 79, (3), 168–174.
46. Ono, K.; Hibino, T.; Kohinata, T.; Suzuki, S.; Tanaka, Y.; Nakamura, T.; Takabe, T., Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* enhances the high-temperature tolerance of tobacco during germination and early growth. *Plant Sci.* **2001**, 160, (3), 455–461.
47. Latterich, M.; Patel, S., The AAA team: related ATPases with diverse functions. *Trends Cell Biol.* **1998**, 8, (2), 65–71.
48. Ledesma, N.; Kawabata, S.; Sugiyama, N., Effect of high temperature on protein expression in strawberry plants. *Biol. Plant.* **2004**, 48, (1), 73–79.
49. Ledford, H. K.; Niyogi, K. K., Singlet oxygen and photo-oxidative stress management in plants and algae. *Plant, Cell Environ.* **2005**, 28, (8), 1037–1045.
50. Lee, G. J.; Vierling, E., A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein. *Plant Physiology* **2000**, 122, (1), 189–198.
51. Levy, M.; Wang, Q.; Kaspi, R.; Parrella, M. P.; Abel, S., Arabidopsis IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense. *The Plant Journal* **2005**, 43, (1), 79–96.
52. Li, M.-Y.; Wang, F.; Jiang, Q.; Li, R.; Ma, J.; Xiong, A.-S., Genome-wide analysis of the distribution of AP2/ERF transcription factors reveals duplication and elucidates their potential function in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Plant Molecular Biology Reporter* **2013**, 31, (4), 1002–1011.
53. Lindquist, S., The heat-shock response. *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, 55, (1), 1151–1191.
54. Lindquist, S.; Craig, E., The heat-shock proteins. *Annu. Rev. Genet.* **1988**, 22, (1), 631–677.
55. Malitsky, S.; Blum, E.; Less, H.; Venger, I.; Elbaz, M.; Morin, S.; Eshed, Y.; Aharoni, A., The transcript and metabolite networks affected by the two clades of Arabidopsis glucosinolate biosynthesis regulators. *Plant Physiology* **2008**, 148, (4), 2021–2049.
56. Manici, L. M.; Lazzeri, L.; Palmieri, S., In vitro fungitoxic activity of some glucosinolates and their enzyme-derived products toward plant pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, 45, (7), 2768–2773.
57. Martínez-Andújar, C.; Ordiz, M. I.; Huang, Z.; Nonogaki, M.; Beachy, R. N.; Nonogaki, H., Induction of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase in Arabidopsis thaliana seeds enhances seed dormancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, 108, (41), 17225–17229.
58. Maruyama-Nakashita, A.; Nakamura, Y.; Tohge, T.; Saito, K.; Takahashi, H., Arabidopsis SLIM1 is a central transcriptional regulator of plant sulfur response and metabolism. *The Plant Cell* **2006**, 18, (11), 3235–3251.

59. Mayne, S. T., Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal* **1996**, 10, (7), 690-701.
60. Mendes, A. F.; Chen, C.; Gmitter, F. G.; Moore, G. A.; Costa, M. G., Expression and phylogenetic analysis of two new lycopene β -cyclases from *Citrus paradisi*. *Physiol. Plant.* **2011**, 141, (1), 1-10.
61. Middleton, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T. C., The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* **2000**, 52, (4), 673-751.
62. Miller, G.; Mittler, R., Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? *Ann. Bot.* **2006**, 98, (2), 279-288.
63. Mithen, R., Glucosinolates-biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation* **2001**, 34, (1), 91-103.
64. Nambara, E.; Marion-Poll, A., Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2005**, 56, 165-185.
65. Nover, N.; Bharti, K.; Döring, P.; Mishra, S. K.; Ganguli, A.; Scharf, K.-D., Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? *Cell Stress and Chaperones* **2001**, 177-189.
66. Parker, R. S., Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *The FASEB Journal* **1996**, 10, (5), 542-551.
67. Pedras, M. S. C.; Okanga, F. I.; Zaharia, I. L.; Khan, A. Q., Phytoalexins from crucifers: synthesis, biosynthesis, and biotransformation. *Phytochemistry* **2000**, 53, (2), 161-176.
68. Pizarro, L.; Stange, C., Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Ciencia e investigación agraria* **2009**, 36, (2), 143-162.
69. Pratt, W. B.; Krishna, P.; Olsen, L. J., Hsp90-binding immunophilins in plants: the protein movers. *Trends Plant Sci.* **2001**, 6, (2), 54-58.
70. Queitsch, C.; Hong, S.-W.; Vierling, E.; Lindquist, S., Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in Arabidopsis. *The Plant Cell* **2000**, 12, (4), 479-492.
71. Queitsch, C.; Sangster, T. A.; Lindquist, S., Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* **2002**, 417, (6889), 618-624.
72. Richter, K.; Buchner, J., Hsp90: chaperoning signal transduction. *J. Cell. Physiol.* **2001**, 188, (3), 281-290.
73. Römer, S.; Fraser, P. D., Recent advances in carotenoid biosynthesis, regulation and manipulation. *Planta* **2005**, 221, (3), 305-308.
74. Schwartz, S. H.; Tan, B. C.; Gage, D. A.; Zeevaart, J. A.; McCarty, D. R., Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science* **1997**, 276, (5320), 1872-1874.
75. Silver, J. T.; Noble, E. G., Regulation of survival gene hsp70. *Cell Stress and Chaperones* **2012**, 17, (1), 1-9.

76. Simkin, A. J.; Schwartz, S. H.; Auldridge, M.; Taylor, M. G.; Klee, H. J., The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal* **2004**, 40, (6), 882–892.
77. Skirycz, A.; Reichelt, M.; Burow, M.; Birkemeyer, C.; Rolcik, J.; Kopka, J.; Zanon, M. I.; Gershenzon, J.; Strnad, M.; Szopa, J., DOF transcription factor AtDof1. 1 (OBP2) is part of a regulatory network controlling glucosinolate biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Journal* **2006**, 47, (1), 10–24.
78. Smirnoff, N., Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2000**, 3, (3), 229–235.
79. Smith, T. K.; Lund, E. K.; Johnson, I. T., Inhibition of dimethylhydrazine-induced aberrant crypt foci and induction of apoptosis in rat colon following oral administration of the glucosinolate sinigrin. *Carcinogenesis* **1998**, 19, (2), 267–273.
80. Sønnerby, I. E.; Geu-Flores, F.; Halkier, B. A., Biosynthesis of glucosinolates—gene discovery and beyond. *Trends Plant Sci.* **2010**, 15, (5), 283–290.
81. Sønnerby, I. E.; Hansen, B. G.; Bjarnholt, N.; Ticconi, C.; Halkier, B. A.; Kliebenstein, D. J., A systems biology approach identifies a R2R3 MYB gene subfamily with distinct and overlapping functions in regulation of aliphatic glucosinolates. *PLoS One* **2007**, 2, (12), e1322.
82. Talalay, P.; Fahey, J. W., Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *The Journal of Nutrition* **2001**, 131, (11), 3027S–3033S.
83. Talalay, P.; Zhang, Y., Chemoprotection against cancer by isothiocyanates and glucosinolates. *Biochem. Soc. Trans.* **1996**, 24, (3), 806–810.
84. Tanaka, Y.; Sasaki, N.; Ohmiya, A., Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* **2008**, 54, (4), 733–749.
85. Textor, S.; Bartram, S.; Kroymann, J.; Falk, K. L.; Hick, A.; Pickett, J. A.; Gershenzon, J., Biosynthesis of methionine-derived glucosinolates in Arabidopsis thaliana: recombinant expression and characterization of methylthioalkylmalate synthase, the condensing enzyme of the chain-elongation cycle. *Planta* **2004**, 218, (6), 1026–1035.
86. Thompson, A. J.; Jackson, A. C.; Parker, R. A.; Morpeth, D. R.; Burbidge, A.; Taylor, I. B., Abscisic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and abscisic acid. *Plant Mol. Biol.* **2000**, 42, (6), 833–845.
87. Thwe, A. A.; Kim, Y. B.; Li, X.; Seo, J. M.; Kim, S.-J.; Suzuki, T.; Chung, S.-O.; Park, S. U., Effects of light-emitting diodes on expression of phenylpropanoid biosynthetic genes and accumulation of phenylpropanoids in Fagopyrum tataricum sprouts. *Journal of agricultural and food chemistry* **2014**, 62, (21), 4839–4845.
88. Tian, L.; Magallanes-Lundback, M.; Musetti, V.; DellaPenna, D., Functional analysis of β - and ϵ -ring carotenoid hydroxylases in Arabidopsis. *The Plant Cell* **2003**, 15, (6), 1320–1332.
89. Traka, M.; Mithen, R., Glucosinolates, isothiocyanates and human health. *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, (1), 269–282.

90. Underhill, E.; Wetter, L.; Chisholm, M. In *Biosynthesis of glucosinolates*, Biochem. Soc. Symp., 1973; p 303.
91. Veinger, L.; Diamant, S.; Buchner, J.; Goloubinoff, P., The small heat-shock protein IbpB from *Escherichia coli* stabilizes stress-denatured proteins for subsequent refolding by a multichaperone network. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, (18), 11032-11037.
92. Verhoeven, D. T.; Goldbohm, R. A.; van Poppel, G.; Verhagen, H.; van den Brandt, P. A., Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **1996**, *5*, (9), 733-748.
93. Verhoeven, D. T.; Verhagen, H.; Goldbohm, R. A.; van den Brandt, P. A.; van Poppel, G., A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem.-Biol. Interact.* **1997**, *103*, (2), 79-129.
94. Vierling, E., The roles of heat shock proteins in plants. *Annual review of plant biology* **1991**, *42*, (1), 579-620.
95. Wang, F.; Dong, Q.; Jiang, H.; Zhu, S.; Chen, B.; Xiang, Y., Genome-wide analysis of the heat shock transcription factors in *Populus trichocarpa* and *Medicago truncatula*. *Mol. Biol. Rep.* **2012**, *39*, (2), 1877-1886.
96. Wang, H.; Wu, J.; Sun, S.; Liu, B.; Cheng, F.; Sun, R.; Wang, X., Glucosinolate biosynthetic genes in *Brassica rapa*. *Gene* **2011**, *487*, (2), 135-142.
97. Wang, L.; Yu, X.; Wang, H.; Lu, Y.-Z.; de Ruiter, M.; Prins, M.; He, Y.-K., A novel class of heat-responsive small RNAs derived from the chloroplast genome of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). *BMC Genomics* **2011**, *12*, (1), 289.
98. Wang, W.; Vinocur, B.; Altman, A., Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* **2003**, *218*, (1), 1-14.
99. Wang, W.; Vinocur, B.; Shoseyov, O.; Altman, A., Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci.* **2004**, *9*, (5), 244-252.
100. Waters, E. R.; Lee, G. J.; Vierling, E., Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. *J. Exp. Bot.* **1996**, *47*, (3), 325-338.
101. Welsch, R.; Maass, D.; Voegel, T.; DellaPenna, D.; Beyer, P., Transcription factor RAP2. 2 and its interacting partner SINAT2: stable elements in the carotenogenesis of *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiology* **2007**, *145*, (3), 1073-1085.
102. Wu, C., Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **1995**, *11*, (1), 441-469.
103. Wu, M.-C.; Hou, C.-Y.; Jiang, C.-M.; Wang, Y.-T.; Wang, C.-Y.; Chen, H.-H.; Chang, H.-M., A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chem.* **2007**, *101*, (4), 1753-1758.
104. Wittstock, U.; Halkier, B. A., Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends Plant Sci.* **2002**, *7*, (6), 263-270.
105. Yamamizo, C.; Kishimoto, S.; Ohmiya, A., Carotenoid composition and carotenogenic gene

expression during Ipomoea petal development. *J. Exp. Bot.* **2010**, 61, (3), 709–719.

106. Yan, P.; Gao, X.; Shen, W.; Zhou, P., Cloning and expression analysis of phytoene desaturase and ζ -carotene desaturase genes in *Carica papaya*. *Mol. Biol. Rep.* **2011**, 38, (2), 785–791.
107. Yatusевич, R.; Mugford, S. G.; Matthewman, C.; Gigolashvili, T.; Frerigmann, H.; Delaney, S.; Koprivova, A.; Flügge, U. I.; Kopriva, S., Genes of primary sulfate assimilation are part of the glucosinolate biosynthetic network in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **2010**, 62, (1), 1–11.
108. Ye, X.; Al-Babili, S.; Klöti, A.; Zhang, J.; Lucca, P.; Beyer, P.; Potrykus, I., Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* **2000**, 287, (5451), 303–305.
109. Young, J. C.; Moarefi, I.; Hartl, F. U., Hsp90: a specialized but essential protein-folding tool. *J. Cell Biol.* **2001**, 154, (2), 267–274.
110. Yoo, S. D.; Greer, D. H.; Laing, W. A.; McManus, M. T., Changes in photosynthetic efficiency and carotenoid composition in leaves of white clover at different developmental stages. *Plant Physiol. Biochem.* **2003**, 41, (10), 887–893.
111. Zhang, Y.; Talalay, P.; Cho, C.-G.; Posner, G. H., A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proceedings of the national academy of sciences* **1992**, 89, (6), 2399–2403.

<제 2세부 >

- International Standards Organization (ISO). 1992. Rapeseed: Determination of glucosinolates content - Part 1: Method using High performance liquid chromatography. ISO 9167-1:1992 (E). pp. 1–9. Geneva, Switzerland.
- Dias MG, Oliveira L, Filomena M, Camoes GFC, Nunes B, Versloot P, Paul JM, Hulshof. 2010. Critical assessment of three high performance liquid chromatography analytical methods for food carotenoid quantification. *Journal of Chromatography A* 1217:3494–3502.
- Jennifer B, Paul DF, Peter MB. 2003. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry* 62:939–947.
- Gomez-prieto MS, Caja MM, Herraiz M, Santa-maria G. 2003. Supercritical Fluid Extraction of all-trans-Lycopene from Tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:3–7.
- Tuan PA, Park NI, Park WT, Kim YB, Kim JK, Lee JH, Lee SH, Yang TJ, Park SU. 2012. Carotenoids accumulation and expression of carotenogenesis genes during seedling and leaf development in Chinese cabbage. *Plant Omics Journal* 5(2):143–148.
- Rao AV, Wasseem Zeeshan, Agarwal Sanjiv. 1998. Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International* 31:737–741.
- Kim YN, Giraud DW, Driskell JA. 2007. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruit and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:458–465.

<제 3세부 >

1절 국내 논문

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
원예과학기술지	2016	LED 식물공장에서 산란 유리 이용에 의한 상추(Lactuca Sativa L.)의 균락 광분포, 광합성 및 성장 향상	강우현
시설원예.식물공장	2016	식물공장 인공광원이 방풍나물의 생육 및 수량에 미치는 영향	이광재
시설원예.식물공장	2016	식물공장 인공광원이 케일의 생육 및 글루코시놀레이트 함량에 미치는 영향	이광재
원예과학기술지	2016	NFT 수경재배 방식의 식물공장에서 생육단계별 실시간 작물 생체중 정밀 측정 방법	김지수
한국환경생태학회 학술발표논문집	2015	식물공장에서 LED광 처리에 따른 인삼(Panax ginseng)의 생리, 생태학적 반응 효과	임진혜
한국식품과학회지	2014	광 조건에 따른 식물공장 재배 쌈 배추의 기능성 성분 변화	정선옥
생명과학회지	2014	LED 처리가 상추의 생육 및 품질에 미치는 영향	Shin Yong Seub
원예과학기술지	2014	완전제 어형 식물 생산 시스템에서 선형 지수 함수를 이용한 썬바귀의 생육 모델	차미경
생태와 환경	2014	완전제어형 식물공장에서 광원, 광질에 따른 엽채류 6종의 생육반응	김상범
한국태양에너지학회 논문집	2014	식물공장 근로자의 작업 환경개선을 위한 현장실측 연구	권혁민
생태와 환경	2014	완전제어형 식물공장에서 광원, 광질에 따른 엽채류 6종의 생육반응	김상범
한국농업기계학회	2014	식물공장용 자동 파종기 개발에 따른 경제성 분석	한충수
한국농업기계학회	2014	식물공장 재배작물 관찰을 위한 카메라 이동장치 개발	김동익
한국농업기계학회	2014	식물 성장용 LED 램프의 안정성 향상을 위한 USN 모니터링 시스템 개발	이재수
생명과학회지	2014	LED 처리가 상추의 생육 및 품질에 미치는 영향	Yong-Seub Shin
시설원예.식물공장	2014	LED광 파장이 상추생육과 비타민 C 및 안토시아닌 함량에 미치는 영향	최만권
시설원예.식물공장	2014	선형, 쌍곡선과 Beta 함수를 이용한 상추의 주요 온도 비교	차미경
시설원예.식물공장	2014	정식시기별 성장점 제거가 아티초크(Cynara scolymus L.)의 생육 및 수량에 미치는 영향	성기철
시설원예.식물공장	2014	토마토 접목묘의 순화과정에서 적색LED광조사가 접목 활착율과 묘소질에 미치는 영향	Ngoc-Thang Vu

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
J. of Biosystems Eng.	2013	Utilization Efficiencies of Electric Energy and Photosynthetically Active Radiation of Lettuce Grown under Red LED, Blue LED and Fluorescent Lamps with Different Photoperiods	Hye In Lee
한국산학기술학회 논문지	2013	식물공장을 위한 회전형 조명시스템 시제품의 광합성유효광양자속 분석 식물공장을 위한 회전형 조명시스템 시제품의 광합성유효광양자속 분석	이원섭
원예과학기술지	2013	식물공장 내 EC 농도가 쌈채소의 생육과 품질에 미치는 영향	이상규
원예과학기술지	2012	식물공장을 이용한 무 품종 및 광원 선발 LED 광원을 이용한 식물공장 딸기의 생리활성 화합물 함량 특성	임양숙
원예과학기술지	2012	식물공장 자동화를 위한 공압 실린더를 이용한 육묘베드 이송장치의 이송력 특성	최효원
한국농업기계학회지	2012	식물공장 내 광도와 온도가 쌈채소의 생육과 품질에 미치는 영향	민영봉
원예과학기술지	2012	식물공장 이중장호의 하절기 열전달 성능 분석	이상규
한국설비공학 논문집	2012	식물공장의 재배환경이 씬바귀 생육에 미치는 영향	소재현
원예과학기술지	2012	식물공장에서의 적절한 엽채소류의 선발과 재식밀도와 광도 설정	이상우
아열대농업생명과학연구지	2012	외부전극 형광램프(EEFL)의 광주기가 식물공장 상추의 생육과 광합성률에 미치는 영향	차미경
원예과학기술지	2012	LED 식물공장에서 산란필터를 이용한 산란광의 효과	조경진
원예과학기술지	2012	식물공장에서 양액농도에 따른 상추와 청경채 육묘 특성	강우현
원예과학기술지	2012	폐쇄형 식물공장 내 광도에 따른 잎상추 품종별 생육특성, 총 안토 시아닌 함량 및 틱번 발생을 평가	최효길
한국육종학회	2010	식물공장시스템에 의한 무병주 감자 줄기 및 씨감자 급속대량 생산	이준구
한국원예학회	2007	화훼-시설원예 ; 장미식물공장에서 Single-node cutting 장미의 생육 모델링	김재훈
한국원예학회	2007	식물공장에서 GDD(Growing degree-days)에 따른 single-node cutting 장미의 신초발달	여경환
한국생물환경조절학회	2005	식물생산공장의 농작업기 및 재배장치 배치	김현환
한국생물환경조절학회	2005	식물공장용 체인 컨베이어식 작물 조건 조절장치 개발	장유섭

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
한국생물환경조절학회	2005	한국형 식물생산 공장의 모델 설정	김현환
한국원예학회	2004	장미 식물공장에서 무기이온 조절이 SNC(single-node Cutting)의 광합성 반응에 미치는 영향	여경환
한국원예학회	2004	장미 식물공장에서 무기이온 조절이 SNC(single-node Cutting)의 양분흡수 반응에 미치는 영향	여경환
한국원예학회	2004	식물공장에서 SNC(Single-node Cutting) 장미의 적정 재식밀도 구명	여경환
상명대학교 산업과학연구소	2004	식물공장의 내부 환경관리를 위한 제어시스템 구성	김영식
한국원예학회	2004	장미 식물공장에서 무기이온 조절이 SNC(single-node Cutting)의 생육, 품질 및 비료이용효율에 미치는 영향	여경환
한국원예학회	2003	식물 공장에서 반결구 상추와 잎상추의 잎끝마름 발생에 미치는 온도의 영향	최기영
한국원예학회	2001	식물공장용 상추 품종 선발	이용범
한국원예학회	1999	식물공장내 CO2 농도, 광도, 배양액농도가 잎상추 생육에 미치는 영향	박미희

2절 국외 논문

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
Frontiers in Plant Science	2016	Improving light distribution by zoom lens for electricity savings in a plant factory with light-emitting diodes	Kun Li
Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering	2016	Design and test of LED surface light source used in plant factory with water-cooling system	Xiaoying Liu
Acta horticulturae	2016	Seven dimensions of light in regulating plant factory	Yong Xu
Agriculture and Agricultural Science Procedia	2015	The latest development of laser application research in plant factory	Harahiko Murase
Journal of Internet Computing and Services	2015	Improvement of energy efficiency of plants factory by arranging air circulation fan and air flow control based on CFD	Seung Mi Moon
Materials	2015	Plant growth absorption spectrum mimicking light sources	Jou Jwo Huei

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
Environmental Control in Biology	2015	Plant factory system construction: cultivation environment profile optimization	Bolaji Oguntoyinbo
Environmental Control in Biology	2015	Quantitative relationship of the nutritional quality of spinach with temperature and duration in root area chilling treatment	Ayana Ito
한국원예학회	1999	식물공장내 CO2 농도, 광도, 배양액농도가 잎상추 생육에 미치는 영향	박미희
Plant Physiology	2014	Leaf oil body functions as a subcellular factory for the production of a phytoalexin in arabidopsis	Takashi L. Shimada
Cluster Computing	2014	Design and implementation of an integrated management system in a plant factory to save energy	Kwon Sook Youn
Applied Mechanics and Materials	2014	Research and design of embedded intelligent monitoring system for plant factory	Leng Jian Wei
The Scientific World Journal	2014	Minimization of temperature ranges between the top and bottom of an air flow controlling device through hybrid control in a plant factory	Moon Seung Mi
Environmental Control in Biology	2014	Evapotranspiration model analysis of crop water use in plant factory system	Agung Putra Pamungkas
Environmental Control in Biology	2014	The optimal harvesting time of vaccine-producing transgenic lettuce cultivated in a closed plant factory	Okamura Ken-ichi
Applied Energy	2014	On application of a new hybrid maximum power point tracking (MPPT) based photovoltaic system to the closed plant factory	Jiang Joe Air
The Review of Laser Engineering	2014	Topical papers on application of lasers to plant factory. Proposal of a laser plant factory	Takatsuji Masamoto
HORTICULTURE ENVIRONMENT AND BIOTECHNOLOGY	2012	Growth characteristics of sowthistle (Ixeris dentata Nakai) under different levels of light intensity, electrical conductivity of nutrient solution, and planting density in a plant factory	Young Yeol Cho
Procedia Engineering	2012	Wireless Sensor Network Applications: A Study in Environment Monitoring System	Mohd Fauzi Othman
Horitotechnology	2012	Augmentation of antioxidant constituents by drought stress to roots in leafy vegetables	Koyama, Ryohei

학술지명	개재년도	논문 제목	저자
Plant Cell Tissue and organculture	2012	In vitro evaluation of tipburn resistance in lettuce (<i>Lactuca sativa</i> . L)	Koyama Ryohei
Journal of Consumer Protection and Food Safety	2011	The vertical farm: controlled environment agriculture carried out in tall buildings would create greater food safety and security for large urban populations	Dickson Despommier
Plant Cell Rep	2011	Ubiquitin promoter-terminator cassette promotes genetically stable expression of the taste-modifying protein miraculin in transgenic lettuce	Tadayoshi Horai
Sensors and materials	2010	Bioelectric potential of pothos under light-emitting diode	Shin-ichi Shibata
Proteomics	2009	Unintended molecular interactions in transgenic plants expressing clinically useful proteins: The case of bovine aprotinin traveling the potato leaf cell secretory pathway	Badri M. Amine
Ice transactions on electronic	2008	Analyzing bioelectric potential response of plants related to photosynthesis under blinking irradiation	Ando, Ki
Automatica	2000	Optimal control of crop spacing in a plant factory	Ilya Ioslovich
Agricultural systems	1999	Optimal spacing and cultivation intensity for an industrialized crop production system	I. Segimer
Control engineering practice	1995	Optimal control of physiological processes of plants in a green plant factory	T. Morimoto

<제 1협동 >

<양배추의 Metabolic profiling of phenolics, 관련>

Arapitsas, P., Turner, C., 2008. Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage. *Talanta* 74, 1218-1223.

Charron, C.S., Saxton, A.M., Carl, E.S., 2005. Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate-myrosinase system. I. Glucosinolate content in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons. *J. Sci. Food Agric.* 85, 671-681.

Dixon, R.A., Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7, 1085-1097.

Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M., 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.* 13, 79-106.

Franke, A.A., Custer, L.J., Arakaki, C., Murphy, F.P., 2004. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *J. Food Compos. Anal.*

17,1-35.

- Ghosh, D., Konishi, T., 2007. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 16, 200-208.
- Han, Q., Katahata, S., Kakubari, Y., Mukai, Y., 2004. Seasonal changes in the xanthophyll cycle and antioxidants in sun-exposed and shaded parts of the crown of *Cryptomeria japonica* in relation to rhodoxanthin accumulation during cold acclimation. *Tree Physiol.* 24, 609-616.
- Harborne, J.B., 1989. General procedures and measurement of total phenolics. In: Dey, M., Harborne, J.B. (Eds.), *Methods in Plant Phenolics*. Academic Press, London, pp. 2-9.
- Heo, H.J., Lee, C.Y., 2004. Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress-induced neurodegeneration. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7514-7517.
- Huang, H., Johannings, G.L., O'Dell, B.L., 1986. Phenolic acid content of food plants and possible nutritional implications. *J. Agric. Food Chem.* 34, 48-51.
- Hung, H.C., Joshipura, K.J., Jiang, R., Hu, F.B., Hunter, D., Smith-Warner, S.A., 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic diseases. *J. Natl. Cancer Inst.* 96, 1577-1584.
- Jansen, M.A.K., van den Noort, M.Y., Adillah Tan, M.Y., Prinsen, E., Lagrimini, L.M., Thorneley, R.N.F., 2001. Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from ultraviolet-B radiation stress. *Plant Physiol.* 126, 1012-1023.
- Kim, D.O., Padilla-Zakour, O.I., Griffiths, P.D., 2004. Flavonoid and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. *J. Food Sci.* 69, C685-C689.
- Lucier, G., Plummer, C., 2003. *Vegetables and Melon Outlook*. Economic Research Service, USDA. VGS-297.
- Luthria, D.L., Mukhopadhyay, S., 2006. Influence of sample preparation on assay of phenolic acids from eggplant. *J. Agric. Food Chem.* 54, 41-47.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 727-747.
- Maria, P., Davide, B., Francesca, M., 2006. Extraction and identification by GC-MS of phenolic acids in traditional balsamic vinegar from Modena. *J. Food Compos. Anal.* 19 (1), 49-54.
- Mattila, P., Hellstrom, J., 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J. Food Compos. Anal.* 20, 152-160.
- Mattila, P., Kumpulainen, J., 2002. Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode array detection. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3660-3667.
- McDougall, G.J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart, D., 2007. Anthocyanins from red cabbage—stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry* 68, 1285-1294.
- Miean, K.H., Mohamed, S., 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3106-3112.
- Ness, A.R., Powles, J.W., 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int. J. Epidemiol.* 26, 1-13.
- Nielsen, J.K., Olsen, C.E., Petersen, M.K., 1993. Acylated flavonol glycosides from cabbage leaves. *Phytochemistry* 34, 539-544.
- Park, S., Arasu, M.V., Lee, M.-K., Chun, J.-H., Seo, J.-M., Lee, S.-W., Al-Dhabi, N.A.,

- Kim, S.-J., 2014a. Quantification of glucosinolates, anthocyanins, free amino acids, and vitamin C in inbred lines of cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Food Chem.* 145: 77-85.
- Park, S., Arasu, M.V., Lee, M.-K., Chun, J.-H., Seo, J.-M., Al-Dhabi, N.A., Kim, S.-J., 2014b. Analysis and metabolite profiling of glucosinolates, anthocyanins and free amino acids in inbred lines of green and red cabbage (*Brassica oleracea* L.). *LWT - Food Sci. Technol.* 58 (1), 203-213.
- <배추 뿌리혹병 저항성 품종 육종 관련>
- Braselton, J.P. 1995. Current status of the plasmodiophorids. *Crit. Rev. Microbiol.* 21: 263-275.
- Cao, M.Q., Y. Li, F. Liu, and C. Dore. 1994. Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via in vitro isolated microspore culture. *Plant Cell Rep.* 13: 447-450.
- Castlebury, L.A. and L.L. Domier. 1998. Small subunit ribosomal RNA gene phylogeny of *Plasmodiophora brassicae*. *Mycologia.* 90: 102-107.
- Cheah, L.H., S. Veerakone, and G. Kent. 2000. Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces*. *Spp. Organics and Biocontrol.* 53: 18-21.
- Datnoff, L.E., T.K. Kroll, and G.H. Lacy. 1987. Efficacy of chlorine for decontaminating water infected with resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Disease.* 71: 734-736.
- Down, G.J., L.J. Grenville, and M.J. Clarkson. 2002. Phylogenetic analysis of *Spongospora* and implications for the taxonomic status of the plasmodiophorids. *Mycological Research.* 106: 1060-1065.
- Kang, W.J., M.K. Yoon, D.H. Kim, J.S. Kim, J.S. Harn, and Y.H. Om. 2000. Classification and selection for resistance to clubroot in Cruciferous vegetables. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 18: 187. (Abstr.)
- Kim, A.R., H.M. Lim, S.H. Park, H.S. Ji, U.H. Yoon, T.H. Kim, J.I. Cho, C.K. Kim, and G.S. Lee. 2014. Molecular characterization of a putatively stress-related gene *BrTSR53* isolated from Chinese cabbage (*Brassica rapa*). *Kor. J. Breed. Sci.* 46: 143-151.
- Kim, S.J., J.H. Kwak, K.R. Do, and H.Y. Na. 2013. Developmental stage and density of microspore by flower structure in Broccoli lines. *Kor. J. Breed. Sci.* 45: 19-25.
- Korea Meteorological Administration. 2015. Surface observational data. KMA, Seoul.
- Korea Seed Association. 2015. Export status of vegetable for 2014. KOSA, Seongnam.
- Ku, J.H., M.T. Kim, B.Y. Son, J.S. Lee, J.T. Kim, J.J. Hwang, S.B. Baek, J.K. Moon, and Y.U. Kwon. 2012. Change of Seed Yield, Germination Rate and Hard Seed Rate with Harvest Time in Hairy Vetch (*Vicia villosa* Roth). *J. Kor. Grassl. Forage Sci.* 32: 157-164.
- Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 105: 427-434.
- Ministry for Agriculture, Food and Rural Affairs. 2015. The statistics of vegetable production. MAFRA, Government Complex-Sejong. p.308.
- Nitsch, N. and J.P. Nitsch. 1967. The induction of flowering in vitro in stem segments of *Plumbago indica* L. I.&II. The production of vegetative buds. *Planta.* 72: 355-384.
- Park, S.H., M.K. Yoon, and Y.P. Lim. 2011. Development of clubroot race4 resistant inbreds using conventional breeding and microspore culture method in Chinese cabbage. *CNU J. Agri. Sci.* 38: 613-618.

- Sato, T., T. Nishio, and M. Hirai. 1989. Plant regeneration from isoland microspore cultures of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*). *Plant Cell Rep.* 8: 486-488.
- The International Union for the Protection of New Varieties of Plants. 2003. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability (Chinese Cabbage). UPOV, Geneva. p. 7-21.
- Van de Peer, Y., S.L. Baldauf, W.F. Doolittle, and A. Meyer. 2000. An updated and comprehensive rRNA phylogeny (crown) of eukaryotes based on rate-calibrated evolutionary distances. *J. Mol. Evol.* 51: 565-576.
- Yeoung, Y.R., J.H. Kim, B.S. Kim, J.Y. Jeon, and C.S. Yoon. 2003. Effects of beneficial antagonists (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Trichoderma* sp.) on control of club root of Chinese cabbage. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21: 194-198.

※ 보고서 겉표지 뒷면 하단에 다음 문구 삽입

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.