Microplate법에 의한 수박 라이코핀 고함유 유전자원 선발

이우문 · 권민정 · 송이슬 · 김수* · 이희주 · 양은영 · 최학순 · 허윤찬 · 박동금 · 윤무경

농촌진흥청 국립원예특작과학원 채소과

Screening of Lycopene-rich Germplasms using Microplate Method in Watermelon (*Citrullus Lanatus* (thunb.) Matsum. & Nakai)

Woo-Moon Lee, Min Jung Kwon, Lee-Seul Song, Su Kim*, Hee Ju Lee, Eun-Young Yang,

Hak-Soon Choi, Yun-Chan Huh, Dong Kum Park, and Moo kyoung Yoon

Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, 475 Imok-dong, Jangan-gu, Suwon, Gyeonggi-do, 440-706, Korea

Abstract : Recent researches focused on breeding lycopene-rich watermelon varieties are active since lycopene content in watermelon is 60% higher than in tomato. We developed a new microplate method using a UV spectrophotometer to select genetic resources of watermelon containing high lycopene content. The microplate method showed more accurate analysis (about 97% positive correlation) than HPTLC, suggesting the microplate method is a reliable analytical technique for the rapid and simple selection of watermelon resources. Lycopene contents of 96 watermelon accessions using the new microplate method was a wide variation of 3.2-98.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ to assess, allowing selection of 15 high-lycopene watermelon accessions. Lycopene contents of the 15 watermelon accessions was 4.4~9.6 fold higher than lycopene content of a commercial cultivar 'Speedplus'. These results suggest that the watermelon accessions selected using a novel microplate method can be used for breeding of lycopene-rich cultivars.

Keywords : Microplate method, Breeding, UV spectrophotometer, Watermelon, Lycopene

서 언

인간에 대한 많은 질병관련 연구에서 과일과 채소는 특정한 암이나 심장병의 증상을 경감 또는 예방하는 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(Hasler et al. 1998). 이것은 과일이나 채소를 섭취할 경우 lycopene과 β -carotene과 같은 carotenoid류가 암 증상을 경감하는 것으로 확인되었다(Gerster 1997, Giovannucci et al. 1995, Giovannucci et al. 1999, Rao & Agarwal 1998). 최근에는 라이코핀이 macular degeneration을 감소시키는 역할을 하며, 특히 전립선암을 예방하는 효과가 있다고 보고되기도 하였다(Stahl & Sies 1996, Gerster 1997). 라이코핀은 붉은색 계열로 식물과 조류에서만 생성되

며 높은 항산화능을 가지며, 일반적으로 잘 익은 토마토에 많이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다(Di Mascio 1989). 이것은 토마토가 전세계적으로 식품에 다양하게 이용되고 있으며 관련 연구가 많이 진행 되었기 때문인 것으로 생각된다. 이에 반해 수박의 라이코핀 관련 분석 및 품종육성 연구는 미미한 실정이다. 하지만 수박의 라이코핀 함량은 평균 45.1~53.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh weight (FW)으로 토마토의 평균 30.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW에 비하면 60% 가량 높은 값이다(USDA-NCC 2001). 이러한 이유로 최근 라이코핀이 많이 함유된 수박 품종개발에 관심이 집중되고 있으며, 라이코핀 고함유 품종 육성을 위한 유전자원의 선발이 필요한 실정이다.

성분과 관련한 형질의 경우 분석방법이 선발의 정확성을 결정하는 중요한 요소이다. 라이코핀 함량은 생산시기나 지역에 따라 변화하기 때문에(Perkins-Veazie 2001), 분석의 일반화가 어려워 품종육성 중 계통이나 자원의 평가에 어려움이 있다. 라이코핀 함량 분석에 주로 이용되는 방법으로는 UV

*Corresponding author (E-mail: kimsu25@korea.kr, Tel: +82-31-240-3471, Fax: +82-31-240-3669)

(Received on October 24, 2013. Revised on February 13, 2014.
Accepted on February 20, 2014.)

spectrophotometer를 이용하는 방법(Liu & King 2010), HPTLC (high-performance thin-layer chromatography) (Vasta and Sherma 2008), HPLC (high-performance liquid chromatography) (Arias et al. 2000, Tee et al. 1991) 방법이 주로 이용되고 있다. 그러나 이들 방법은 많은 분리세대 개체를 대상으로 한 육종프로그램 진행 시 분석시간 및 비용의 측면에서 효율성이 떨어지는 단점이 있다. 이러한 이유로 간편하고 대량분석에 용이한 분석방법이 절실히 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 수박의 라이코핀 고함유 품종개발을 위한 다수의 육성재료 및 초기 선발세대 개체를 대상으로 신속하고 간편하게 lycopene 함량을 측정하기 위한 새로운 분석기술의 개발과 라이코핀 고함유 유전자원을 선발하고자 수행되었다.

재료 및 방법

식물재료 및 재배

수박 라이코핀 함량 분석을 위하여 이용된 12WG116등 유전자원, 계통 96점과 시판품종 ‘스피드플러스’, ‘삼복꿀’을 대비종으로 이용하였다. 재배는 2012년 4월 7일 파종하여 5월 8일에 비닐하우스에 단구제로 계통별 5~7주를 정식하였다. 수확은 교배 후 45일 경에 하여 라이코핀 분석을 위하여 과육 채취하였고 원예적 특성조사를 실시하였다. 채취된 시료는 -70℃에 보관하였고 분석에 이용하였다. 원예적 특성조사는 과중, 과장, 과폭, 과피두께, 당도, 과육색, 과피색, 숙기를 조사하였다.

라이코핀 성분 분석

Liu & King (2010)이 보고한 UV spectrophotometer를 이용한 라이코핀 분석방법을 보완하여 96well ELIZA plate에 시료를 분주하여 대량시료를 동시에 측정하는 방법으로 라이코핀 함량 분석을 수행하였다(Microplate법). 수박 라이코핀 추출은 -70℃에 보관 중이던 동결시료 30 ml을 조직분쇄기로 분쇄 후 1 ml를 취하여 2 ml Hexane 을 가한 후 shaking 하였다. 이후 시료는 spin down 하여 0.45 μ m syringe filter로 여과하였다. 전처리 된 시료는 96 well에 200 μ l 분주하여 Eon™ Microplate Spectrophotometer (BioTek Instrument, USA)를 이용하여 503 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 라이코핀 표준시약(L9879 Sigma, USA)을 25, 50, 100, 200, 250 ppm으로 희석하여 503 nm 흡광도에서 3반복으로

측정하여 작성하였다.

Microplate법을 이용한 라이코핀 분석의 적용성을 파악하기 위하여 HPTLC를 이용한 분석 값을 비교하였다. HPTLC를 이용한 라이코핀 분석은 -70℃에 보관 중이던 시료 30 ml을 마쇄하여 1 ml를 취하고 2 ml hexane (67150-1280 Junsei, Japan)과 혼합하여 라이코핀을 추출하였다. 추출된 시료는 spin down 하여 0.45 μ m syringe filter로 여과하였다. 전처리가 완료된 시료는 Automatic TLC sampler 4 (Camag, Switzerland)를 이용하여 20 $\times$ 10 cm silica gel 판(HPTLC silica gel 60 F254 Merck, Germany)에 loading하고 Automatic developing chamber (Camag, Switzerland)를 이용하여 4.5 cm 전개하였다. 전개용액은 heptane (246654 Sigma, USA): dichloromethane (154792 Sigma, USA) (4:1)을 이용하여 lycopene 성분을 다른 carotenoid 성분과 구분하였다. 전개가 완료된 silica gel 판은 CH/HPTLC scanner 3 (Camag, Switzerland)에서 이미지를 scan하여 Image J Ver. 1.42q (NIH, USA) 프로그램을 이용하여 라이코핀 함량을 측정하였다. 검량선은 라이코핀 표준시약(L9879 Sigma, USA)을 25, 50, 100, 200, 250 ppm으로 희석하여 시료 측정방법과 동일한 방법으로 진행하였다. 성분추출, 표준시약 준비 등 분석 전 단계는 빛에 민감한 라이코핀의 특성을 고려하여 호일로 빛을 차단하여 수행하였다.

통계분석

Microplate법과 HPTLC를 이용한 분석의 라이코핀 함량을 환산하기 위한 표준곡선은 표준시약의 희석배수 별로 두 분석방법 각각의 측정값을 이용하여 작성하였다. 분석 방법간의 상관관계 분석은 피어슨 상관계수를 이용하였다. 원예적 특성은 유전자원 및 계통, 품종간의 비교를 위하여 Duncan 검정을 실시하였다(SAS V 7.0, Cary, NC).

결과 및 고찰

Microplate법을 이용한 수박 라이코핀 분석

Microplate법을 이용한 라이코핀 분석의 적용성을 분석하기 위하여 표준시약의 희석배수와 측정값의 정확성을 파악한 결과 r^2 가 0.99로 매우 높은 측정효율을 보였으며 HPTLC의 분석치와의 상관분석을 실시한 결과 약 97%로 높은 정의 상관을 보였다(Fig. 1). HPTLC는 최근 HPLC와 함께 성분분석에 많이 이용되는 방법이며 기존의 TLC와 방법적으로는 유사

하지만 전개 길이가 짧고(3~5 cm) UV/Visible/ Fluorescence scanner를 이용하여 이미지화하여 분석이 가능한 방법으로 최근 HPLC와 더불어 많이 이용되는 방법으로(Andola & Purohit 2010), Vasta & Sherma (2008)는 HPLC와 HPTLC의 분석치에 대한 정확성과 재현성을 입증한 바 있다. 따라서 microplate법은 대량 분석을 하여야 하는 품종육성에 적합한 분석방법이라고 판단되었다. 그러나 microplate법을 이용한 방법은 정성적인 분석이 어려워 정량적인 분석에 적합하다고 할 수 있다. 한편 라이코핀은 시료를 1년 이상 장기간 저장하는 경우 보관온도가 높을수록 함량이 감소하며 -80℃에서 손실률이 가장 낮은 것으로 알려져 있으나(Fish & Angela 2003), 분석 중 온도 및 빛에 노출되는 시간에 따른 라이코핀 손실 가능성에 대한 연구는 미비하여 이에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다. 이와 관련하여 본 연구에서 개발된 microplate법은 추출 등 일련의 분석과정을 간편화하여 시료 분쇄에서 측정까지의 시간이 96시료의 경우 35분이며 샘플당 0.37분으로 단시간에 분석을 완료할 수 있어 라이코핀의 손실을 최소화 할 수 있을 것으로 판단되었다. 아울러 당도와 관련하여 Brix를 이용한 방법이 대중화된 예와 같이 microplate법을 이용한 방법은 다른 carotenoid 성분의 간섭이 있지만 대량 시료의 분석에 사용할 수 있을 것으로 판단되었다. 아울러 추출과 측정의 간편함으로 인하여 HPTLC나 HPLC에 비해 시간과 노력이 감소되므로 라이코핀 고함유 품종 육성을 위한 분석에 효율적인 방법이라고 생각된다. 아울러 수박의 라이코핀 분석에 UV spectrophotometer를 이용하는 방법은 Liu 등 (2010)이 보고한 바 있으나, Microplate법은 여러 개의 시료

를 대상으로 동시에 라이코핀 함량을 측정하여 대량 분석 체계를 마련한 것은 처음이다.

라이코핀 고함유 수박 유전자원 및 계통 선발

Microplate법을 이용한 수박 유전자원 및 계통 98점을 대상으로 라이코핀 고함유 유전자원 선발을 위한 분석을 실시한 결과(Table 1), 과육색이 백색과 황색인 자원에서는 라이코핀 성분이 검출되지 않았으며, 과육색이 적색인 자원에서는 라이코핀 함량이 생체중 1g 당 3.2~98.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 의 넓은 변이를 보였고 함량 평균은 32.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW이었다(Table 1). 수박의 일반적인 라이코핀 평균함량45.1~53.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW (USDA-NCC 2001)에 포함되거나 그 이상인 함량을 보인 유전자원은 12WG116 (98.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG057 (85.9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG045 (70.1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG113 (68.9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG028 (64.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG110 (61.9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG117 (61.0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG037 (52.7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG068 (50.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG112 (48.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG026 (47.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG111 (47.0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG118 (45.8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW)의 13점이었다. 이들은 시판품종인 ‘스피드플러스’의 라이코핀 함량 10.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW에 비하여 4.4~9.6배 높은 함량이었다(Table 1). 그러나 라이코핀 함량이 재배조건 등에 따라 다양하게 변화하는 것(Perkins-Veazie 2001)과 유전자원의 순도가 명확하지 않은 점(Yang et al. 2012)을 감안할 때 선발된 유전자원의 개체 별 선발이 필요할 것으로 판단되었다. 따라서 개체 별 라이코핀 함량을 살펴본 결과(Table 2), 평균 함량 평가에

Fig. 1. Comparison of measurement value using lycopene standard curve to verify the accuracy of microplate method. Microplate (a), HPTLC (b), correlation analysis between Microplate and HPTLC (c).

서 포함되지 않은 계통에서 12WG027-1 ($63.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG034-7 ($70.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG62-5 ($62.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW), 12WG106-2 ($61.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW)가 추가적으로 높은 라이코펜 함량을 보였다. 한편 12WG112, 12WG118은 라이코펜 함량이 일반적인 평균함량($45.1 \sim 53.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW; USDA-NCC, 2001) 이상의 수준이지만 $60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW 평가할 경우

개체 별 최종 선발에서는 제외되었다. 12WG110은 $60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW이상의 함량을 보였으나 당도 등 원예적 형질이 열악하여 최종 선발에서는 제외되었다. 따라서 최종적으로 라이코펜 고함유 유전자원은 자원별 평균함량과 개체 별 평가를 종합하여 12WG116 등 15계통 20개체를 선발하였다.

선발자원의 대부분은 과피색이 진한 녹색의 흑피계 자원들

Table 1. Content of lycopene using microplate method in watermelon inbred line.

Accession	Lycopene ($\mu\text{g/g}$ FW) ^z		Accession	Lycopene ($\mu\text{g/g}$ FW)		Accession	Lycopene ($\mu\text{g/g}$ FW)	
12WG116	98.3 ^a	-	12WG122	35.0 ^{eu}	-	12CV004	11.3 ^{nv}	± 12.0
12WG057	85.9 ^{ab}	± 2.4	12CV003	33.8 ^{eu}	± 50.9	12CV007	10.8 ^{ov}	± 6.5
12WG045	70.1 ^{bc}	-	12WG067	32.5 ^{ev}	± 9.9	12WG097	10.6 ^{ov}	± 18.4
12WG113	68.9 ^{bd}	± 6.9	12WG053	32.1 ^{ev}	± 0.4	12WG038	9.6 ^{pv}	± 5.6
12WG028	64.4 ^{bd}	± 25.6	12WG017	31.5 ^{fv}	± 7.1	12WG043	8.6 ^{qv}	± 2.7
12WG110	61.9 ^{bf}	± 23.2	12WG063	29.8 ^{fv}	± 20.4	12CV008	4.6 ^{sv}	± 2.1
12WG117	61.0 ^{bg}	± 30.5	12WG010	29.6 ^{fv}	-	12WG077	4.6 ^{tv}	± 3.2
12WG037	52.7 ^{ch}	± 23.5	12WG004	29.6 ^{fv}	± 6.2	12WG014	3.2 ^{uv}	± 1.2
12WG068	50.2 ^{ci}	± 30.1	12WG013	29.3 ^{fv}	± 17.7	12WG001	0.0 ^v	± 0.0
12WG112	48.6 ^{cj}	-	12WG015	29.2 ^{fv}	± 7.7	12WG003	0.0 ^v	-
12WG026	47.4 ^{ck}	± 28.5	12WG064	29.1 ^{fv}	± 4.7	12WG006	0.0 ^v	± 0.0
12WG111	47.0 ^{ck}	± 21.4	12WG115	28.5 ^{gv}	± 23.1	12WG007	0.0 ^v	-
12WG118	45.8 ^{cl}	-	12WG086	28.1 ^{gv}	± 23.7	12WG009	0.0 ^v	± 0.0
12WG029	44.8 ^{cm}	± 5.7	12WG035	27.7 ^{hv}	± 5.3	12WG012	0.0 ^v	± 0.0
12WG061	44.8 ^{cm}	± 1.5	12WG052	27.5 ^{hv}	± 11.2	12WG031	0.0 ^v	± 0.0
12WG120	44.5 ^{cn}	-	12WG020	25.1 ^{hv}	± 5.5	12WG044	0.0 ^v	± 0.0
12WG046	43.1 ^{co}	± 19.8	12WG107	23.3 ^{hv}	± 13.0	12WG049	0.0 ^v	± 0.0
12WG062	42.2 ^{cp}	± 18.7	12WG039	21.7 ^{hv}	± 12.4	12WG050	0.0 ^v	± 0.0
12WG022	42.0 ^{cp}	± 14.4	12WG072	20.9 ^{hv}	± 27.2	12WG054	0.0 ^v	± 0.0
12WG024	41.1 ^{cq}	± 14.4	12WG040	19.3 ^{iv}	-	12WG055	0.0 ^v	± 0.0
12WG034	40.8 ^{cq}	± 28.4	12WG104	17.5 ^{iv}	± 11.8	12WG060	0.0 ^v	± 0.0
12WG019	40.6 ^{cq}	± 10.3	12WG008	17.3 ^{iv}	± 11.7	12WG073	0.0 ^v	± 0.0
12WG002	40.3 ^{cq}	± 14.0	12WG042	17.0 ^{iv}	± 2.9	12WG075	0.0 ^v	± 0.0
12WG030	39.2 ^{cq}	± 7.2	12CV016	16.7 ^{jv}	-	12WG078	0.0 ^v	± 0.0
12WG027	38.9 ^{cq}	± 35.4	12WG082	15.0 ^{kv}	± 3.0	12WG079	0.0 ^v	± 0.0
12WG065	38.9 ^{cq}	± 15.2	12WG069	15.0 ^{kv}	± 3.6	12WG084	0.0 ^v	± 0.0
12WG047	38.4 ^{cq}	± 10.6	12CV006	12.9 ^{lv}	± 10.1	12WG085	0.0 ^v	± 0.0
12WG066	38.3 ^{cr}	± 10.2	12WG041	12.5 ^{mv}	± 7.7	12WG096	0.0 ^v	± 0.0
12WG018	37.8 ^{cs}	± 9.2	12WG011	12.3 ^{mv}	± 14.4	12WG100	0.0 ^v	± 0.0
12WG023	37.7 ^{ct}	± 3.8	12WG025	12.1 ^{mv}	± 10.3	12WG105	0.0 ^v	± 0.0
12WG036	37.1 ^{dt}	± 9.2	12WG048	11.8 ^{mv}	± 5.6	Speedplus	10.3 ^{ov}	± 2.8
12WG080	36.5 ^{dt}	± 8.5	12WG005	11.6 ^{mv}	± 23.1	Sambokggul	5.1 ^{rv}	± 5.7
12WG106	35.2 ^{eu}	± 37.3	12WG058	11.4 ^{nv}	± 5.5			

^zDMRT = 0.05 level, The values given indicate mean (standard deviation)

Fig. 2. Selected watermelon germplasms with high Lycopene content in this study.

Table 2. Lycopene content and horticultural characteristics of selected lines in watermelon.

Accession	Lycopene content ($\mu\text{g/g}$ FW)	Fruit weight (kg)	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Pericarp Thickness (mm)	Sweetness (°Brix)	color of fruit flesh	Pericarp color ^z
12WG024-6	60.5	2.3 ^{df}	16.0 ^{de}	15.9 ^{be}	9.0 ^{bf}	10.6 ^{ab}	red	5
12WG026-4	67.5	2.8 ^{ce}	16.5 ^{de}	18.4 ^{ac}	12.5 ^{ad}	7.9 ^{ac}	pale red	5
12WG027-1	63.9	2.2 ^{df}	24.5 ^{ab}	14.8 ^{bf}	15.0 ^a	8.5 ^{ac}	pale red	5
12WG028-1	96.6	4.0 ^c	19.4 ^{be}	20.0 ^{ab}	12.7 ^{ad}	8.9 ^{ac}	red	5
12WG028-5	71.3							
12WG034-7	70.5	5.3 ^b	22.7 ^{ac}	19.0 ^{ac}	13.7 ^{ab}	9.7 ^{ab}	red	5
12WG037-3	72.9	2.3 ^{df}	14.9 ^{de}	15.8 ^{be}	8.3 ^{bf}	5.9 ^c	red	5
12WG045-6	70.1	3.4 ^{cd}	20.3 ^{bd}	19.9 ^{ab}	10.0 ^{af}	8.8 ^{ac}	red	5
12WG057-4	85.7							
12WG057-5	83.6	3.0 ^{ce}	17.4 ^{ce}	18.2 ^{ad}	11.7 ^{ae}	7.5 ^{bc}	red	5
12WG057-6	88.3							
12WG062-5	62.4	3.7 ^c	20.3 ^{bd}	18.5 ^{ac}	13.0 ^{ac}	8.4 ^{ac}	pale red	4
12WG068-1	81.1	1.8 ^{eg}	14.4 ^{ef}	13.6 ^{cf}	8.3 ^{bf}	9.4 ^{ab}	red	4
12WG106-2	61.5	1.4 ^{fg}	14.1 ^{ef}	13.3 ^{cf}	7.5 ^{cf}	7.6 ^{bc}	red	4
12WG111-3	60.2	1.2 ^{fg}	14.2 ^{ef}	12.1 ^{ef}	7.0 ^{df}	9.9 ^{ab}	red	3
12WG111-4	69.8							
12WG113-2	73.7	0.6 ^g	9.5 ^f	10.0 ^f	5.0 ^f	8.5 ^{ac}	red	5
12WG113-6	64.0							
12WG116-2	98.3	1.8 ^{eg}	18.1 ^{ce}	12.1 ^{ef}	14.0 ^{ab}	10.9 ^a	red	3
12WG117-7	82.6	1.4 ^{fg}	17.7 ^{ce}	12.7 ^{df}	6.3 ^f	10.3 ^{ab}	red	4
Sambokggul	5.1	7.5 ^a	27.2 ^a	22.4 ^a	11.0 ^{ac}	10.9 ^a	red	4
Speedplus	10.3	6.9 ^a	26.2 ^a	22.6 ^a	11.0 ^{ac}	10.6 ^{ab}	red	4

DMRT = 0.05 level

^zPericarp color: 1 = white, 2 = yellow, 3 = pale green, 4 = green, 5 = dark green

이 주를 이루었으나 과피색이 다른 자원들이 상당부분 포함 된 것으로 보아 라이코핀 함량과의 관련성은 낮을 것으로 보였다(Table 2). 이들 선발계통의 과중은 대부분 0.6~3.0 kg이었으며, 과피두께는 5.0~15.0 mm로 다양하였다(Table 2). 과육의 색은 적색과 연적색으로 라이코핀 함량이 높으면 일반적으로 외관상 적색의 농도가 진할 것으로 생각되는 것과는 차이가 있었다(Table 2, Fig. 2). 당도는 7.5~10.9 °Brix로 대비종의 10.9 °Brix에 비하여 대부분 유사한 수준으로 통계적인 차이가 없었으며 숙기는 시판종과 큰 차이가 없었다(Table 2). 따라서 라이코핀 고함유 수박품종을 육성하기 위해서는 본 연구에서 개발한 microplate법을 이용하는 등 분석적인 기술을 이용하는 것이 보다 정확할 것으로 생각된다. Arias 등(2000)은 토마토 과육색과 라이코핀 함량과의 연관성을 분석한 결과 높은 상관 관계를 보인 것으로 보고하였으나 수박의 경우와는 다소의 차이가 있는 것으로 보인다.

Olives Barba et al. (2006)은 UV spectrophotometer와 HPLC를 비교한 결과 HPLC가 정확성이나 재현성에서 라이코핀 함량 측정에 가장 적합하다고 하였다. 그러나 대량 시료를 대상으로 분석하는 기능성 성분 관련 육종 연구는 효율적인 분석방법을 이용하는 것이 중요하다고 할 수 있는데 microplate법은 이러한 요구에 적합한 방법이라고 생각된다. 아울러 본 연구에서 선발된 자원들은 계통화 과정을 진행한 후 라이코핀 고함유 품종 육성의 소재로 이용되리라고 기대한다.

적 요

수박은 토마토에 비하여 라이코핀 함량이 60% 높으며, 라이코핀 고함유 수박 품종개발에 관심이 집중되고 있다. 그러나 라이코핀 함량 분석을 위한 대량 분석 체계가 마련되지 않아 고함유 유전자원의 선발에 어려움이 있었다. 따라서 본 연구에서는 신속하고 간편한 lycopene 함량 분석기술의 개발과, 개발된 기술(microplate법)을 이용하여 라이코핀 고함유 유전자원을 선발하고자 하였다. 그 결과 UV spectrophotometer를 이용한 방법을 개선하여 Microplate법을 개발하였다. Microplate법은 HPTLC를 이용한 방법과 약 97%로 높은 정의 상관을 나타내어 분석의 정확성이 높은 방법임을 확인하였다. 따라서 Microplate법을 이용하여 수박 유전자원, 계통 및 96점을 대상으로 수박 과실의 라이코핀 함량을 분석한 결과 라이코핀 함량이 생체중 1 g 당 3.2~98.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 의 넓은 변이를 보였

다. 선발 유전자원은 시판 대비품종(스피드플러스; 10.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW)에 비하여 4.4~9.6배 높은 수준이었다. 선발된 자원들은 라이코핀 고함량 품종개발에 이용 될 수 있을 것으로 판단되었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립원예특작과학원(과제번호: PJ0008470)의 지원에 의해 수행되었음

References

1. Andola HC, Purohit VK. 2010. High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC): A modern analytical tool for biological analysis. *Nature & Science* 8: 58-61.
2. Arias R, Lee TC, Logendra L, Janes H. 2000. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1697-1702.
3. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. 1989. Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.* 274: 532-538.
4. Fish, WW, Angela RD. 2003. The effects of frozen storage conditions on lycopene stability in watermelon tissue. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3582-3585.
5. Gerster H. 1997. The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll. Nutr.* 16: 109-126.
6. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GS, Willett WC. 1995. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 87: 1767-1776.
7. Giovannucci E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiological literature. *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 317-331.
8. Gerster H. 1997. The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll. Nutr.* 16: 109-126.
9. Hasler CM. 1998. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Technol.* 52: 63-69.
10. Olives Barbaa AI, Hurtado MC, Sánchez Mata MC, Ruiz VF, Sáenz de Tejada ML. 2006. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chem.* 95: 328-336.

11. Perkins-Veazie P, Collins JK, Pair SD, Roberts W. 2001. Lycopene content differs among red-fleshed watermelon cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 81: 983-987.
12. Rao AV, Agarwal S. 1998. Bioavailability and in vitro antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr. Cancer* 31: 199-203.
13. Stahl W, Sies H. 1996. Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? *Arch. Biochem. Biophys.* 336: 1-9.
14. Tee ES, Lim CL. 1991. Carotenoid composition and content of Malaysian vegetables and fruits by the AOAC and HPLC methods. *Food Chem.* 41: 309-339.
15. Vasta JD, Sherma J. 2008. Analysis of lycopene in nutritional supplements by silica gel high-performance thin-layer chromatography with visible-mode densitometry. *Acta Chromatographica* 20: 673-683.
16. USDA-NCC. 2001. Carotenoid database for US foods 1998 [On-line]. Available: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/ [2001].
17. Yang EY, Choi SK, Chung BN, Chae SY, Lee WM, Choi HS, Park DK, Kim S. 2012. Selection of pepper germplasms resistant to tomato spotted wilt virus in high temperature. *Korean J. Breed. Sci.* 44: 559-566.