농업 형질 및 자엽의 색소 성분 특성에 기반한 녹색자엽 검정콩 자원의 유전적 다양성

이지윤¹ · 최홍집¹ · 손창기¹ · 배정숙¹ · 조현² · 이정동^{2*}

¹경북농업기술원, ²경북대학교 응용생명과학과

Genetic Diversity of Black Soybean Germplasms with Green Cotyledons Based on Agronomic Traits and Cotyledon Pigments

Ji Yun Lee¹, Hong Jib Choi¹, Chang Ki Son¹, Jeong Suk Bae¹, Hyun Jo², and Jeong-Dong Lee^{2*}

¹Gyeongsangbuk-do Agricultural Research and Extension Services, Daegu, 41404, Republic of Korea

²Department of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea

Abstract Understanding plant morphological and seed characteristics is an essential step for the utilization of genetic resources to improve targeted traits in soybean breeding programs. The purpose of this study was to evaluate the agronomic traits and seed pigments of 469 black soybean germplasms with green cotyledons to identify useful resources using multivariate analyses, correlation, principal component analysis (PCA), and cluster analyses. The results showed that the range of flowering days from planting were 37.7-71.5 days, harvesting days from planting were 112.3-153.0 days, plant height was 49.6-151.6 cm, and 100-seed weight was 9.1-49.3 g. According to the correlation analyses with agronomic traits, flowering and harvesting days were positively correlated with the plant height, number of nodes, and number of branches. Additionally, it was found that the chlorophyll *a* and total chlorophyll content had the greatest effect on the green color of the cotyledon. Based on the PCA, 13 quantitative traits were compressed into three components. The first three principal components accounted for 82.5% of the total variance. In this study, black soybean germplasms with green cotyledons were divided into four clusters by the K-means cluster analysis (non-hierarchical procedure), based on the PCA. The cluster analysis showed that chlorophyll *a* and plant height had a significant effect on the clustering of the black soybean germplasms used in this study. This study provides opportunities to easily select useful genetic resources for the development of new black soybean cultivars.

Keywords black soybean, green cotyledon, chlorophyll, lutein, agronomic traits

Received on April 23, 2021. Revised on April 24, 2021. Accepted on May 11, 2021.

* Corresponding Author (E-mail: jdlee@knu.ac.kr, Tel: +82-53-950-5709, Fax: +82-53-958-6880)

서 언

콩(*Glycine max* (L.) Merr.)은 대표적인 콩과 작물로서 벼, 밀 등과 함께 세계적인 주요 식량작물 중 하나이다(Hymowitz 2015, Harlan 1992, Kasmakoglu 2004). 기원지는 한국, 중국 등 동북아시아 지역으로(Hymowitz 2004) 우리나라에서는 기원 전 2000년경 전부터 재배된 것으로 추정된다(Lee 1988). 콩은 40% 내외의 양질의 식물성 단백질과 20% 내외의 식물성 지방을 함유하고 있어 영양학적으로 매우 우수할 뿐만 아니라 각종 미네랄, 비타민 등의 항산화물질을 함유하고 있어 건강 기능성이 뛰어난 식품이다(Sugano 2005, Tomomatsu 1994, Barnes 1998).

특히 검정콩은 골다공증, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 개선, 항산화작용 및 항암작용 등에 효과적인 생리활성 성분들이 함유되어

있어 기능성 식품으로 각광받고 있다(Yamashita et al. 2020, Cho et al. 2013, Astadi et al. 2009, Lee et al. 2020a). 검정콩은 종피의 색이 검정색으로 종실에 함유된 영양성분은 황색 종피를 가진 일반콩과 비슷하게 함유하고 있으나, 종피에 안토시아닌 등의 색소 성분이 다량 함유되어 있다(Todd & Vodkin 1993, Cho et al. 2013, Lee et al. 2009, Choung et al. 2001, Lee et al. 2016, Xu & Chang 2008).

검정콩의 자엽은 녹색과 황색으로 나뉘어 지고 클로로필, 루테인 등 색소 성분이 함유되어 있으며, 클로로필의 함량은 자엽의 색깔에 영향을 미친다(Sinnecker et al. 2002, Kang et al. 2010). 콩에서 자엽의 색깔이 녹색을 띠는 것은 ‘stay-green’ 현상으로, 엽록체(chloroplast)의 세포질 유전자인 *cytG* (cytoplasmic gene)를 가지거나, 핵 유전자인 *D1*, *D2*가 이중열성돌연변이(*d1d1d2d2*)

인 경우, 이러한 유전자들에 의해 성숙이 진행되는 동안에도 클로로필과 엽록체 구성성분의 분해가 억제되어 나타나는 돌연변이현상이다(Fang et al. 2014, Guiamét et al. 1990, 1991, Ott et al. 2013, Palmer et al. 2004, Park et al. 2007).

‘Stay-green’ 현상은 수량과도 깊은 연관성을 가지고 있다. 수량은 종실의 비대기가 길어질수록 증가하는데(Ellis et al. 2000, Frederick & Hesketh 1994, Luquez et al. 2001), ‘stay-green’ 현상에 의해 성숙이 진행되어도 잎의 광합성 능력이 저해되는 노화(senescence)가 천천히 일어나게 되므로, 종실 비대기간이 길어지게 되어 수량이 증가하게 된다. 이는 옥수수, 동부, 수수 등 다양한 작물에서 연구가 이루어 졌다(Crafts-Brandner & Poneleit 1987, Duncan et al. 1981, Egli et al. 1987, Gwathmey et al. 1992a, 1992b, Luquez et al. 2001, McBee et al. 1983). 그러나 ‘stay-green’을 일으키는 양상에 따라 수량에 다른 영향을 미친다는 보고도 있다(Thomas & Smart 1993, Thomas & Howarth 2000, Luquez et al. 2001). 콩의 경우 ‘stay-green’과 관련된 세포질 유전자인 *cytG* 유전자를 가지면 클로로필 *b*의 분해는 저해하나, 다른 엽록체의 구성성분의 분해는 막지 못하므로 잎의 광합성 능력을 유지하지 못한다고 하였다. 반면 핵유전을 하는 *d1d1d2d2* 유전자를 가진 경우 클로로필 *b* 뿐만 아니라 다양한 엽록체 구성성분들(클로로필 *a*, 루비스코 등)의 분해를 지연시켜 잎의 광합성 능력을 유지한다고 하였다(Guiamét et al. 1990, 1991, Guiamét & Gianibelli, 1994, 1996, Luquez et al. 2001). 따라서 이러한 잎의 광합성 유지 능력의 차이는 수량에도 다른 양상을 보이므로 핵유전을 하는 유전자원의 확보는 녹색자엽을 가진 검정콩 신품종 개발에 있어 매우 중요하다.

한국에서는 녹색자엽을 가진 검정콩을 ‘속청’이라 부르며, 약리작용이 우수하다고 알려져 있어 황색자엽을 가진 검정콩보다 더 선호하고 있다. 국내 육성된 녹색자엽을 가진 검정콩은 청자3호 등 11품종이 개발되었다(Ha et al. 2002, Baek et al. 2001, Yun et al. 2005, Baek et al. 2013, Kim et al. 2018, Seo et al. 2020, RDA nd.). 이들 검정콩은 농업적 형질 및 수량성은 많이 개선되었으나, 백립중이 30 g 내외 또는 그 이하의 중소립이거나, 자엽의 색깔이 연한 녹색을 띠는 등 아직까지 종실 품질 특성은 재래 서리태에 못 미친다. 그래서 농가에 재배되고 있는 대부분의 녹색자엽 검정콩은 콩 종실 품질은 우수하나 농업 형질과 수량성이 떨어지고 숙기가 매우 늦은 재래 서리태에 의존하고 있다. 따라서 증가하는 검정콩 소비 변화에 발맞춰 자엽의 색깔이 진한 녹색이고 경장, 숙기 등 농업형질이 개선된 검정콩 품종 개발이 시급한 실정으로, 이에 부합하기 위해서는

육종재료로 이용할 유용한 유전자원의 선별이 필요하다. 따라서 본 연구는 녹색자엽을 가진 검정콩 자원에 대해 농업형질 및 자엽 함유 색소 성분 특성을 평가하고, 이를 이용한 다변량 분석(multivariate analysis)을 통해 검정콩 유전자원 선별에 유용한 형질을 파악하고자 하였다. 또한 유용 형질에 따라 유전자원을 분류하여 녹색자엽 검정콩 품종육성을 위한 자료로 활용하고자 실험을 수행하였다. 본 연구의 농업형질 특성 조사는 녹색자엽 검정콩 469점과 황색콩인 우람 1점을 포함한 470점에 대해서 평가하였으며, 자엽 함유 색소의 함량 분석은 결측된 1점을 제외한 녹색자엽 검정콩 468점과 우람에 대해서 평가하였다. 주성분 분석 및 군집분석 등의 다변량 분석은 13개의 형질에서 3년동안 조사가 모두 이루어진 녹색자엽 검정콩 466점 만을 대상으로 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 포장 검정

본 연구에 사용된 시험재료는 국립농업과학원 농업유전자원센터(National agrobiodiversity center of RDA)로부터 분양 받은 1,500개의 검정콩 유전자원 중 녹색자엽을 가진 405점을 선별하였으며, 405점 중 초형, 경장, 종실 껍질의 분 유무 등 고유 및 가변 특성이 다르게 나타나는 자원을 순계분리하여 선별한 47점과, 경북지역 수집 유전자원 15점, 대조품종으로 녹색자엽 검정콩인 청자3호(Yun et al. 2005)와 청자(Baek et al. 2001)을 포함한 녹색자엽 검정콩 469점과, 황색 종피와 자엽을 가진 우람(Ko et al. 2016)을 포함하여 총 470점이 시험에 사용되었다(Jo et al. 2021). 본 연구는 경상북도농업기술원 발작물 시험연구 포장에서 2013년부터 2015년까지 3년간 포장 검정이 수행되었다. 파종일은 각각 2013년 6월 14일, 2014년 5월 29일, 2015년 6월 15일이었으며, 재식밀도는 휴간 80 cm, 주간 15 cm, 1주 2본이며, 구당 면적은 1.2 m² (0.8 m × 1.5 m)이었다. 포장배치는 유전자원당 두반복으로 심어, 수확 시 반복을 하나로 합쳐 벌크(bulk)로 수확하였으며, 시비량은 N-P₂O₅-K₂O=32-32-36 kg/ha로 전량 기비처리 하였다.

조사내용은 개화기, 성숙기, 경장, 주경절수, 분지수, 백립중 등 가변 특성과 배축색, 모용색, 화색, 신육형 등 고유 특성을 조사하였다. 도복(0-9)[(0) 무도복, (1) 5% 이하, (3) 6~10%, (5) 11~50%, (7) 51~75%, (9) 76% 이상], 탈립정도(0,1)[(0) 있음, (1) 없음] 등 내재해성과 세균병(0-9)[(0) 무발병, (1) 1% 미만, (3) 1~10%, (5) 11~30%, (7) 31~50%, (9) 51% 이상]

및 SMV (0,1)[(0) 증상없음, (1) 증상있음]에 대한 내병성은 재배시험 포장에서 외관상 달관조사를 통해 평가하였다. 조사기 준은 UPOV기준에 의거한 특성조사기준 및 농촌진흥청 농업과 학기술 연구조사분석기준에 준하거나 응용하여 조사하였다 (RDA 2012).

종실에 함유된 녹색 색소 분석

종실에 함유된 클로로필 및 루테인 함량 분석은 결측된 1점을 제외한 녹색자엽 검정콩 468점과 황색콩인 우람을 연차별로 3년동안 평가하였다. 두반복을 하나로 합쳐 벌크로 수확되었던 종자에서 시료를 두반복으로 채취하여 분석을 수행하였으며, 분석에 사용된 시료는 수분함량이 8% 이하로 건조된 종실을 사용하였다. 클로로필 및 루테인 함량은 Choung et al. (2008)의 방법을 응용하여 분석하였다(Jo et al. 2021). 시료는 종피를 제거한 자엽만을 사용하였으며, 분쇄된 자엽 1 g에 85% acetone 용액 10 mL를 첨가한 후 40℃, 110 rpm/min, 암조건 상태에서 3시간동안 추출하였다. 추출된 용매는 13,000 rpm에서 10분동안 원심분리한 후, Whatman No. 2 여과지로 1차 여과를 수행하였고, syringe filter (0.2 μ m)로 2차 여과를 실시한 후 분석에 사용하였다. 정량 분석은 High performance liquid chromatography (HPLC) (Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific Inc., USA)를 사용하였으며, 분석용 컬럼은 YMC-pack ODS-A (150 $\times$ 6.0 mm, 5 μ m, 12 nm)를 사용하였다. 분석파장은 가시광선 430 nm, 시료 주입량은 20 μ L, 컬럼 온도는 30℃, 분당 유속은 1.0 mL/min로 설정하여 분석하였으며, 이동상 용매는 HPLC 등급의 methanol (MeOH) (J.T baker, 99.8%), ethyl acetate (EtOAc) (J.T baker, 99.6%)를 사용하였다. 이동상의 구성은 75%의 MeOH (A 용매)와 100% EtOAc (B 용매)이며, 농도구배는 용매 B를 0~15분 동안 30~90%로 증가, 15~20분 동안 90~30%로 감소, 20~25분 동안 30%로 유지하게 설정하였다. 실험에 사용된 표준물질은 Santa Cruz Biotechnology사의 클로로필 *a* (Chl *a*)와 클로로필 *b* (Chl *b*), Sigma-Aldrich사의 루테인을 사용하였다.

자엽의 색소 추출물에 대한 색도 분석은 2013년도 생산된 녹색자엽 검정콩 469자원 중 색도 분석에 필요한 종실양이 충분히 확보되었던 355점에 대해 평가를 실시하였다. 클로로필 및 루테인 함량 분석을 위해서 사용되었던 추출 방법과 동일한 방법으로 자엽으로부터 색소 성분을 추출한 후 분광광도계 (spectrophotometer; CM5, Konica Minolta, Japan)를 이용하여 색도를 측정하였다. 색도는 Commission International d'Eclairage

(CIE) $L^*a^*b^*$ 값으로 표시하였으며, 명도(lightness)를 나타내는 L^* 값(0~100), 적색도(redness)를 나타내는 a^* 값 [Green (-)~Red (+)], 황색도(yellowness)를 나타내는 b^* 값 [Blue (-)~Yellow (+)]으로 나타내었다.

통계처리

본 실험의 모든 결과들은 SAS package (version 9.4 & Enterprise Guide 7.1, SAS Institute, Inc., USA)를 이용하여 통계분석 하였다. 주성분분석, 군집분석 등의 다변량 분석은 SAS Enterprise Guide 7.1과 R analysis (version 3.5.3 & R studio)를 이용하여 실시하였다. 각 요인의 유의성 검정 및 처리 평균간 비교는 유의수준 0.05에서 수행되었다.

주성분 분석(principal component analysis, PCA)

녹색자엽 검정콩 469점 중 농업형질과 종실의 녹색 색소 성분을 포함한 13개의 항목에서 3년동안 조사가 모두 이루어진 466점에 대해 표본상관행렬을 이용한 주성분 분석(principal component analysis, PCA)을 실시하여 고유값(eigenvalue)과 기여율(contribution)을 구하였다. 주성분 분석은 SAS의 PRINCOMP procedure를 사용하여 수행하였으며, 주성분 분석의 결과는 SAS와 R의 ggplot2 package를 이용하여 산포도로 나타내었다.

군집분석(cluster analysis)

녹색자엽 검정콩 469점 중 주성분 분석에 기초해 조사가 모두 이루어진 466점에 대해 군집분석을 실시하였다. 본 연구에 사용된 최적분리 군집분석(K-means cluster analysis)은 비계층적 군집분석(Non-hierarchical clustering method)의 하나로, 관측치의 수가 많을 경우 관찰 값들을 몇 개의 군집으로 구분하는 방법이다. 최적분리 군집분석을 통해 적정 군집수를 결정하기 위한 기준으로 R-Square (RSQ)값, RSQ/(1-RSQ)값, Pseudo F (PSF)값, Cubic Clustering Criterion (CCC) 등의 지표값을 사용하였다. R-Square값과 RSQ/(1-RSQ)값은 각 변수들이 군집형성에 미치는 영향력의 정도를 판단할 수 있는 지표로 사용되었으며(Ryo. 2008), 군집 개수가 적절하게 형성되었는지 판단을 위한 지표로 CCC값과 PSF값을 이용하였다(Caliński & Harabasz 1974, Milligan & Cooper 1985, Cooper & Milligan 1988, Sarle 1983). 군집분석은 SAS의 FASTCLUS procedure를 사용하여 수행하였으며, 군집분석의 결과는 SAS의 CANDISC와 GPLOT procedures를 이용한 산포도로 나타내었다.

결과 및 고찰

녹색자엽 검정콩 유전자원의 특성

본 실험에 사용된 대조 품종 2점을 포함한 녹색자엽 검정콩 469점과 황색콩인 우람에 대한 주요 농업형질 특성은 Table 1과 같다.

파종일부터 개화기까지의 개화일수는 37.7~71.5일로 평균 59.7일이었다. 파종일부터 수확기까지 생육일수는 112.3~156.0일이었고 평균 138.1일이었다. 생육일수가 120일 미만의 비교적 조생종에 속하는 자원은 11점이었고, 120~140일의 중생종은 177점, 140~150일의 만생종은 260점, 150일 이상의 극만생종은 21점이었다. 대조품종인 청자3호, 청자, 우람은 생육일수가 각각 127.7, 128.3, 130.7일이었다. 우리나라에 재배되고 있는 대부분의 콩은 단일에 감응하여 개화하는 추대두형 또는 그루콩으로 분류되는 단일식물이지만, 하대두형 또는 올콩이라 불리는 조생종의 경우는 온도에 감응하여 개화하는 감온성 콩으로 생육일수가 짧다. 국내에 재배되고 있는 품종들은 대부분 90~160일 범위의 생육일수를 가지고 있는 것으로 보고되었다(RDA 2018, Lee 2020b). 본 연구에서 평가된 녹색자엽 검정콩 자원은 생육일수가 140일 이상이 약 60% 이상으로 만생종에 집중되어 있었다. 경장은 49.6~151.6 cm의 범위를 보였고, 평균 87 cm이었다. 60 cm 이하의 단경은 42점이었고, 60~80 cm는 81점, 80~100 cm는 253점, 100 cm 이상은 93점으로, 경장이 80 cm 이상의 중·장경이 전체 자원의 73% 이상을 차지하였다. 대조품종인 청자3호, 청자, 우람의 경장은 각각 74.2 cm, 77.7 cm, 62.9 cm였다.

백립중은 9.1~49.3 g로, 평균 33.9 g이었다. 10 g 미만의 극소립종은 1점이었고, 10~20 g 미만의 소립은 54점, 20~30 g 미만의 중립은 34점, 30~40 g 미만의 대립은 272점, 40 g 이상의 극대립은 108점이었다. 대조품종인 청자3호, 청자, 우람의 백립중은 각각 38.7 g, 41.5 g, 30.3 g이었다. 우리나라 소비자들은 대립검정콩에 대한 선호도가 특히 높은 편인데, 본 연구에서 평가된 녹색자엽 검정콩 자원 중 백립중이 35 g 이상의 대립 자원은 267점으로, 대립검정콩 육종을 위한 소재로 유용하다고 판단되어진다. 종실의 길이는 6.0~11.5 cm, 평균 9.7 cm이었고, 폭은 5.5~9.4 cm, 평균 8.3 cm, 두께는 4.4~7.9 cm, 평균 6.4 cm로 다양한 크기와 모양의 자원들로 이루어져 있음을 보였다.

녹색자엽 검정콩 자원 469점과 우람에 대한 질적형질 및 내재해성에 대한 분포는 Fig. 1과 같다. 배축색은 녹색 자원이 12점, 자색 자원이 457점이었고, 꽃색은 흰색 자원이 12점, 자색 자원이 457점으로 나타나, 배축색과 꽃색의 분포가 같음을 보였다. 황색콩인 우람의 배축색은 녹색, 꽃색은 흰색이었다. 선행연구에 의하면 콩의 꽃색에 관여하는 유전자인 *W1* 등이 배축색에도 영향을 미치며, 배축색과 꽃색은 안토시아닌의 발현과 깊은 관련이 있음을 보였다(Groose & Palmer 1991, Iwashina et al. 2008). 모용색은 검정콩 자원의 경우는 모두 갈색이나, 황색콩인 우람의 경우는 회색이었다. 생장형은 유한형이 190점, 중간형이 182점, 무한형이 97점이었다. 도복 정도는 무도복이 11점, 5% 이하의 도복이 11점, 6~10% 가 86점, 11~50% 가 151점, 51~75%가 140점, 76% 이상 도복이 70점이었다. 경장이 길고 생육형이 무한형과 중간형의 자원이 많이 분포되어 있어서 도복에 약한

Table 1. Statistical data for agronomic traits of 469 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, Cheongja), and a yellow soybean check cultivar Uram over three years (2013-2015).

Trait	Mean	SD ^z	CV ^y	Maximum	Minimum	median	PCS ^x	Kurtosis ^w	Uram ^v
Flowering (days) ^u	59.7	5.6	9.3	71.5	37.7	62.0	-1.06	0.66	51.0
Harvesting (days) ^t	138.1	8.9	6.4	156.0	112.3	141.0	-0.63	-0.39	130.7
Plant height (cm)	87.0	17.0	19.5	151.6	49.6	90.7	-0.14	0.35	62.9
Number of nodes	18.5	2.2	11.8	25.9	12.3	19.0	-0.41	0.08	15.3
Number of branches	6.6	1.5	22.5	10.5	2.8	6.6	-0.01	-0.53	5.8
Seed weight (g) ^s	33.9	8.7	25.7	49.3	9.1	36.1	-1.36	1.12	30.3
Seed length (cm)	9.7	1.2	12.7	11.5	6.0	10.0	-1.68	1.94	8.8
Seed width (cm)	8.3	0.9	10.8	9.4	5.5	8.6	-1.64	1.76	7.9
Seed thickness (cm)	6.4	0.6	9.1	7.9	4.4	6.5	-1.38	1.55	7.0

^zSD: standard deviation, ^yCV: coefficient of variation, ^xPCS: Pearson's coefficient of skewness [(PCS>0, skewed to the right=positively skewed distribution), (PCS<0, skewed to the left=negatively skewed distribution), (PCS=0, normal distribution)], ^wKurtosis (K): [(K>3, narrow curved), (K<3 broad curved), (K=3, normal distribution)], ^vUram: check cultivar with yellow seed coat and cotyledon, ^uFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering), ^tHarvesting: harvesting days from planting, ^sSeed weight: 100-seed weight

경향을 보이는 것으로 판단되었다. 탈립 유무는 탈립이 없는 자원은 326점, 탈립이 되는 자원은 143점이었다. 세균병 발생 정도는 무발병이 10점, 병반면적율이 1% 미만인 62점, 1~10%가 164점, 11~30%가 159점, 31~50%가 74점이었다. 콩모자이크바이러스(SMV) 발생 유무는 무발병이 324점, 발병이 145점이었다. 검정콩 유전자원들은 재래종에 기반하여 수집된 자원으로 탈립, 내병성 등에는 약한 것으로 나타났다. 반면 청자3호, 청자, 우람의 경우 육종을 통해 농업형질이 많이 개선되어 도복, 탈립, 병 발생 등에 비교적 안정적인 모습을 보여주었다.

종피 표면의 흰색 분말 발생 유무와 종피 광택 정도에 대한 평가는 전체 자원 중 442점에 대해 조사가 이루어졌다. 종피에 분말이 존재하는 자원은 169점이었고, 분말이 없는 자원은 273점이었다. 종피에 광택이 없는 자원은 318점이었고, 부분광택을 나타내거나 약하게 나타나는 자원은 75점이었으며, 광택이 뚜렷하게 나타나는 자원은 49점이었다. 일반적으로 재래 서리태의 경우 종피 표면에 흰색 분말이 있고 종피의 광택이 없는 것이 특징으로 분말이 없고 광택이 있는 품종보다 소비자의 선호도가 높은 편이다.

녹색자엽 검정콩 자원 469점 중 색소 분석이 모두 이루어진 468자

원의 종실에 함유된 색소 성분 함량을 살펴보면(Supplementary Table 1), 루테인 함량은 42.7~59.7 µg/g, 평균 47.6 µg/g으로, 45.0 µg/g 이하는 76점, 45.1~50.0 µg/g은 302점, 51.0~55.0 µg/g은 54점, 55.1 µg/g 이상은 7점이었다. Chl *a*와 chl *b*를 합한 총클로로필 함량의 범위는 22.6~120 µg/g이었으며, 평균 55.8 µg/g이었다. 청자3호, 청자, 우람의 루테인 함량은 각각 44.3 µg/g, 43.4 µg/g, 41.6 µg/g이었고, 클로로필 함량은 34.3 µg/g, 26.7 µg/g, 0.0 µg/g이었다(Jo et al. 2021). 클로로필의 함량은 자엽의 색깔과 관련이 있는데(Sinnecker et al. 2002, Kang et al. 2010), 클로로필 함량이 낮은 청자3호와 청자는 연한 녹색자엽을 가지고 있었고, 클로로필을 함유하고 있지 않은 우람은 황색자엽을 가지고 있었다. 우리나라 소비자들은 진한 녹색자엽을 가진 검정콩에 대한 선호도가 더 높은데, 클로로필 함량이 65.1 µg/g 이상 높게 함유된 진한 녹색자엽을 가진 자원은 104점(22.2%)으로, 녹색자엽 검정콩 육종을 위한 소재로 유용하다고 판단된다.

유전자원의 다변량 분석(multivariate analysis)

1. 상관분석(Correlation analysis)

녹색자엽 검정콩 유전자원 469점의 농업형질에 대한 상관분

²Lodging: [(0) tolerant, (1) >5%, (3) 6~10%, (5) 11~50%, (7) 51~75%, (9) <76%] at field,

³Shattering: [(0) absence, (1) presence] at field,

⁴Bacterial leaf disease: [(0) tolerant, (1) >1%, (3) 1~10%, (5) 11~30%, (7) 31~50% (9) <51%] at field,

⁵SMV: [(0) no symptom, (1) symptom] at field

Fig. 1. Distribution of 469 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) according to intrinsic characteristics (hypocotyl color, flower color, plant habit, powder and luster of seed coat) and variable characteristics (lodging, shattering, leaf disease, SMV) in three years (2013-2015).

석을 한 결과는 Table 2와 같다. 개화일수와 생육일수는 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였다($r=0.774$, $p<0.001$). 또한 개화일수와 생육일수는 각각 경장($r=0.671$, 0.601 , $p<0.001$), 주경절수($r=0.689$, 0.571 , $p<0.001$), 분지수($r=0.542$, 0.457 , $p<0.001$) 등 수량구성요소와 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였으며, 생육일수는 개화일수 보다 백립중 등 종실과 관련된 수량구성요소에 더 영향을 미치는 것으로 나타났다. 선행연구에서도 콩의 개화일수와 생육일수는 서로 유의한 상관관계를 보이며, 수량과도 밀접한 관련이 있다고 하였다(Zhang et al. 2015, Cober et al. 2010, Lee et al. 2020b). 종실의 무게를 나타내는 백립중은 종실의 크기를 나타내는 길이, 폭, 두께와 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였고, 종실의 길이, 폭, 두께 사이에도 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였다.

녹색자엽과 관련된 색소 성분 함량과 농업형질 사이의 상관분석을 한 결과는 Table 3과 같다. 개화일수와 생육일수, 경장,

주경절수, 분지수는 각각 루테인($r=-0.546$, -0.524 , -0.378 , -0.381 , -0.223 , $p<0.001$), chl a ($r=-0.690$, -0.588 , -0.520 , -0.565 , -0.440 , $p<0.001$)와는 부의 상관관계를 보였고, 반대로 chl b ($r=0.480$, 0.482 , 0.432 , 0.458 , 0.446 , $p<0.001$)와는 정의 상관관계를 보였다. 종실의 무게 및 크기와 관련된 요소들은 chl b 및 총클로로필 함량과 유의한 정의 상관관계를 보였으나, 산포도 상에서는 뚜렷한 상관을 보이지는 않았다. 선행연구에 따르면 콩 종실 수량은 노화가 진행되는 동안 잎의 광합성 유지 능력과 밀접한 관련이 있다고 하였으며(Frederick & Hesketh 1994, Ellis et al. 2000, Egli et al. 1987, Luquez et al. 2001), ‘stay-green’ 유전자를 가지고 있는 동부와 수수 역시 정상적으로 노화가 진행되는 경우보다 수량이 더 증가하는 것으로 나타났다(Duncan et al. 1981, McBee et al. 1983, Gwathmey et al. 1992). 이를 통해 종실 수량은 광합성 및 ‘stay-green’ 유전자와 밀접한 관련이 있는 클로로필 함량과도 유의한 상관관계가 있을 것으로 추측할

Table 2. Simple linear correlation coefficients with 9 agronomic traits of 469 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) over three years (2013-2015).

Trait	Flowering	Harvesting	Plant height	Number of nodes	Number of branches	Seed weight	Seed length	Seed width	Seed thickness
Flowering ^z	1								
Harvesting ^y	0.774***	1							
Plant height	0.671***	0.601***	1						
Number of nodes	0.689***	0.571***	0.844***	1					
Number of branches	0.542***	0.457***	0.291***	0.397***	1				
Seed weight ^x	0.178***	0.412***	0.174***	0.046	0.137**	1			
Seed length	0.133**	0.387***	0.147**	-0.001	0.087	0.933***	1		
Seed width	0.208***	0.455***	0.173**	0.042	0.164***	0.933***	0.971***	1	
Seed thickness	-0.031	0.276***	-0.021	-0.125	0.051	0.820***	0.836***	0.883***	1

^zFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering), ^yHarvesting: harvesting days from planting, ^xSeed weight: 100-seed weight
 ***Significant at the 0.001 level of probability, **Significant at the 0.01 level, *Significant at the 0.05 level

Table 3. Simple linear correlations coefficients between 9 agronomic traits and seed pigments of 468 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) over three years (2013-2015).

Trait	Flowering ^z	Harvesting ^y	Plant height	Number of nodes	Number of branches	Seed weight ^x	Seed length	Seed width	Seed thickness
Lutein ^w	-0.546***	-0.524***	-0.378***	-0.381***	-0.223***	0.039	0.054	0.011	0.164***
Chlorophyll a^v	-0.690***	-0.588***	-0.520***	-0.565***	-0.440***	0.105*	0.132**	0.077	0.272***
Chlorophyll b^u	0.480***	0.482***	0.432***	0.458***	0.446***	0.296***	0.241***	0.327***	0.234***
Total chlorophyll ^l	-0.515***	-0.411***	-0.361***	-0.396***	-0.275***	0.219***	0.225***	0.203***	0.364***

^zFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering), ^yHarvesting: harvesting days from planting, ^xSeed weight: weight of 100 seeds,

^wLutein~Total chlorophyll: contents in cotyledon removed seed coats

***Significant at the 0.001 level of probability, **Significant at the 0.01 level, *Significant at the 0.05 level

수 있었다.

루테인과 클로로필의 함량과 조성에 따른 녹색자엽의 색깔과
의 상관관계는 Table 4와 같다. 색도 a^* 값은 루테인($r=-0.542$,
 $p<0.001$), chl a ($r=-0.812$, $p<0.001$), chl b ($r=-0.302$, $p<0.001$),
총클로로필 함량($r=-0.908$, $p<0.001$)과 모두 고도로 유의한 부의
상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 이는 색도 a^* 값과 클로로필
의 함량 간의 상관관계를 연구한 Sinnecker et al. (2002) 및
Lee et al. (2010)의 결과와 일치하였다. 녹색과 관련된 색도
 a^* 값은 음의 값이 커질수록 진한 녹색을 나타내므로, 루테인과
클로로필은 모두 녹색 자엽의 진하기와 정의 상관관계에 있음을
보였다. 특히 진한 녹색과 가장 큰 상관관계를 갖는 것은 총클로
로필 함량과 chl a 함량임을 알 수 있었다. 선행연구에서 클로로필
은 자엽의 색깔에 영향을 미친다고 하였으며, 녹색자엽의 유전형
질이 핵유전(*dld2*)을 하는 경우 세포질 유전(*cytG*)을 하는 경우
보다 더 많은 총클로로필과 chl a 를 함유하고 있음을 보였다
(Kang et al. 2010, Guiamét et al. 1991, Jo et al. 2021). 따라서
chl a 와 총클로로필의 함량이 높고 진한 녹색자엽을 갖는 자원의
경우 핵유전을 하는 유전형질과 관련성이 높을 것으로 추측되며,
유전형질과 클로로필 사이의 명확한 상관관계 구명을 위한 추가
적인 연구가 필요하다고 판단된다.

2. 주성분 분석(Principal component analysis)

녹색자엽 검정콩 469점 중 농업형질과 녹색관련 색소 성분을
포함한 13개의 양적형질에 대한 조사가 모두 이루어진 466점에
대해 표본상관행렬을 이용한 주성분 분석(PCA)을 실시하였다.
고유값(eigenvalue)이 1이상이고, 전체 분산을 대변하는 누적기
여율(cumulative proportion)이 82% 이상이며 Scree plot의 기울
기가 급격하게 변하는 점을 기점으로(자료제시 안함) 3개의 주성
분을 결정하였다. 각 주성분별 기여율을 보면 제1주성분은 고유

치 5.147로 전체 분산에 대하여 39.6% 기여율을 가지며, 제2주성
분은 고유치 4.102, 기여율 31.6%, 제3주성분은 고유치 1.483,
기여율 11.4%를 보였다(Table 5).

이들 3개의 주성분과 13개 양적형질간의 상관관계는 Table
6과 같다. 제1주성분은 개화일수, 생육일수, 경장, 주경절수 등의
순으로 유의한 정의 상관관계를 보였고, chl a , 루테인, 총클로로
필 함량과 유의한 부의 상관관계를 보였다. 특히 개화일수와
생육일수, 생장과 관련된 형질, chl a 가 제1주성분에 높은 비중을
차지하였다. 제2주성분은 콩 종실의 백립중, 길이, 폭, 두께 등과
유의한 정의 상관관계를 보여주어 종실 외형으로 정의하였다.
제3주성분은 chl a 를 제외한 루테인, chl b , 총클로로필 함량과
유의한 정의 상관관계를 보여, chl a 를 제외한 녹색 색소 성분을

Table 5. Eigenvalues and proportion of principal component to 13 quantitative traits of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja).

Principal component	Eigenvalue	Difference	Proportion	Cumulative
1	5.147	1.044	0.396	0.396
2	4.102	2.620	0.316	0.711
3	1.483	0.651	0.114	0.826
4	0.831	0.410	0.064	0.889
5	0.421	0.123	0.032	0.922
6	0.298	0.081	0.023	0.945
7	0.216	0.064	0.017	0.961
8	0.152	0.018	0.012	0.973
9	0.134	0.006	0.010	0.983
10	0.128	0.054	0.010	0.993
11	0.074	0.059	0.006	0.999
12	0.015	0.015	0.001	1.000
13	0.000		0.000	1.000

Table 4. Simple linear correlations coefficients between pigments in cotyledon and color difference of 355 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) in 2013.

Trait	Color value ^y		
	L*	a*	b*
Lutein (μg/g)	-0.663***	-0.542***	0.325***
Chlorophyll a (μg/g)	-0.786***	-0.812***	0.411***
Chlorophyll b (μg/g)	-0.382***	-0.302***	0.667***
Total chlorophyll (μg/g)	-0.919***	-0.908***	0.684***

^zAccessions with sufficient amounts of seeds were used for chromaticity analysis

^yColor value (CIE-L*a*b* system): L* [Lightness (0~100)], a* [redness (-) Green-(+) Red], b* [yellowness (-) Blue-(+) Yellow]

*** Significant at the 0.001 level of probability, **Significant at the 0.01 level, *Significant at the 0.05 level

Table 6. Three principal components among 13 quantitative traits of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja).

Trait	Principal component (Eigenvectors)		
	1	2	3
Flowering ^z	<u>0.391^w</u>	-0.058	0.103
Harvesting ^y	<u>0.386</u>	0.079	-0.028
Plant height	<u>0.340</u>	-0.038	0.228
Number of nodes	<u>0.338</u>	-0.100	0.303
Number of branches	0.259	-0.007	0.217
Seed weight ^x	0.153	<u>0.432</u>	-0.149
Seed length	0.136	<u>0.440</u>	-0.191
Seed width	0.167	<u>0.440</u>	-0.162
Seed thickness	0.064	<u>0.448</u>	-0.142
Lutein	-0.289	0.202	<u>0.455</u>
Chlorophyll <i>a</i>	<u>-0.349</u>	0.238	0.190
Chlorophyll <i>b</i>	0.228	0.143	<u>0.540</u>
Total chlorophyll	-0.266	0.295	<u>0.399</u>

^zFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering),

^yHarvesting: harvesting days from planting, ^xSeed weight: 100-seed weight

^wThe underlined values are the traits that showed the higher correlation with the principal component.

제3주성분으로 정의하였다. 제1주성분과 제2주성분에 의해 작성된 녹색자엽 검정콩의 산포도(scatter plot)는 Fig. 2와 같다. 세로축을 중심으로 오른쪽에는 대체로 경장이 크고, 개화일수와 생육일수가 긴 만생종으로, chl *b* 함량이 높은 유전자원들이 분포했으며, 왼쪽에는 상대적으로 경장이 작고, 숙기가 빠르며 루테인, 총클로로필 함량 및 chl *a* 함량이 높은 진한 녹색자엽을 가진 유전자원들이 위치해 있었다. 가로축을 중심으로 아래쪽에는 백립종과 종실 크기가 큰 유전자원들이 분포했고, 위쪽에는 백립종과 종실 크기가 상대적으로 작은 유전자원들이 분포해 있었다.

주성분분석을 통해서 녹색자엽 검정콩 유전자원의 13가지 형질을 3개의 주성분으로 압축시켜 우선순위를 설정하였다. 이는 다양한 형질들 가운데 주요 기준 형질만을 이용하여 원하는 목표에 맞게 유전자원을 신속하고 효율적으로 분류하고 평가할 수 있게 해준다. 또한 이들 압축된 형질은 품종 육종 시 계통 선별을 위한 유용한 지표로도 활용할 수 있어 주요 기준 형질 이외의 형질 조사에 드는 노력을 절감시킬 수 있을 것으로 기대된다.

3. 군집분석(K-mean cluster analysis)

앞서 작성된 3개의 주성분에 기초해 녹색자엽 검정콩 466점에

Fig. 2. Scatterplot of principal components 1 (39.6%) and 2 (31.6%) based on 13 quantitative traits of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja). Flowering: flowering days from planting (about 50% of flowering), Harvesting: harvesting days from planting, Seed weight: 100-seed weight

^zCan: canonical variables

Fig. 3. Four clusters based on three principal components of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) by K-means cluster analysis.

대한 최적분리 군집분석(K-means cluster analysis)을 실시하여, 4개의 군집으로 분류하였다(Fig. 3, Supplementary Table 1). 군집분석 결과 제1군집은 전체 자원수의 20.4%인 95점의 유전자

원을 포함하고 있으며, 다른 군집에 비해 개화일수와 생육일수가 빠르고, 경장이 62.1 ± 7.2 cm로 작으며, chl *a* 함량이 가장 높아진 녹색자엽을 가진 유전자원들로 구성되어진 것을 확인할 수 있었다. 제2군집은 16점(3.4%)의 자원으로 이루어진 가장 작은 그룹으로, 개화일수, 생육일수, 경장 등의 농업형질은 제4군집과 유사하며, chl *a* 등 녹색 색소 성분 함량은 제1군집과 대체로 유사한 자원으로 이루어져 있었다. 제3군집은 201점(43.1%)의 자원으로 이루어진 가장 큰 그룹이며, 제4군집은 154점(33.1%)의 유전자원이 포함되었다. 제3군집과 제4군집은 군집의 중심이 다른 군집에 비해 가장 가까이 위치한 그룹으로, 서로 유사한 형질을 가진 자원으로 구성되어 있었다. 두 군집에 속하는 자원들은 개화일수와 생육일수가 긴 만생종으로 비교적 경장이 크고, 루테인과 chl *a* 함량이 낮은 자엽의 색깔이 제1군집에 비해 연한 색깔을 띠는 것이 특징이었다. 제4군집은 제3군집에 비해 군집내 자원들 간의 형질 유사성이 더 높은 자원으로 구성되어 있으며, 경장이 더 큰 차이점이 있었다(Fig. 4).

R-Square (RSQ)값과 RSQ/(1-RSQ)값은 각 변수들이 군집 형성에 미치는 영향력의 정도를 판단할 수 있는 지표로 볼 수 있는데(Ryo, 2008), 본 연구에서는 chl *a*, 경장 등이 상대적으로 큰 변수값을 가지고 있어 군집 형성시 크게 기여하였음을 알

수 있었다. 특히 chl *a*의 RSQ/(1-RSQ) 변수값은 5.826으로 다른 변수들에 비해 월등히 높은 것으로 볼 때 집단 구분에 가장 큰 영향을 미친 것으로 볼 수 있었다. CCC는 관측치가 균일분포(uniform distribution)를 따른다는 가정하에 군집들의 편향 정도를 나타내는 통계량으로, CCC가 양의 큰 값을 가질수록 좋은 군집결과를 나타낸다고 하였다. 또한 PSF는 군집의 밀집 정도를 측정하는 통계량으로, 값이 클수록 좋은 결과를 나타낸다고 하였다(Caliński & Harabasz 1974, Milligan & Cooper 1985, Cooper & Milligan 1988, Sarle 1983). 본 연구의 군집분석 결과를 보면, CCC는 28이상, PSF는 293이상의 값을 보여주고 있어, 적절한 군집수로 이루어져 있다고 판단된다(Table 7).

검정콩 품종 육성시 녹색자엽, 경장, 생육일수 등은 중요한 목표형질이 되는 요소들이다. 특히 색깔이 진한 녹색자엽은 열은 색깔의 녹색자엽이나 황색자엽에 비해 소비자 선호도가 매우 높게 형성되어 있다. 경장과 생육일수는 도복 등과 같이 재배안정성과 밀접한 관련이 있다. 따라서 본 연구의 데이터는 육종가가 원하는 목표 형질에 맞게 손쉽게 자원을 선발할 수 있도록 검정콩 신품종 육성을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

^zFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering),

^yHarvesting: harvesting days from planting,

^xSeed weight: 100-seed weight

Fig. 4. Box plot of agronomical and seed composition traits in four clusters of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja), by K-means cluster analysis.

Table 7. Statistical variables for cluster of 13 quantitative traits of 466 black soybean germplasms with green cotyledons including two checks (Cheongja 3, and Cheongja) by K-means cluster analysis.

Variable	Total SD ^z	Within SD ^y	R-Square ^x	RSQ/(1-RSQ) ^w
Flowering ^t	5.587	3.342	0.644	1.813
Harvesting ^s	8.900	6.048	0.541	1.180
Plant height	17.007	8.580	<u>0.747^q</u>	<u>2.954</u>
Number of nodes	2.197	1.372	0.612	1.580
Number of branches	1.481	1.264	0.277	0.383
Seed weight ^f	8.735	8.281	0.107	0.120
Seed length	1.221	1.161	0.101	0.112
Seed width	0.897	0.850	0.107	0.120
Seed thickness	0.583	0.561	0.079	0.086
Lutein	2.736	1.906	0.518	1.074
Chlorophyll <i>a</i>	15.630	6.002	<u>0.854</u>	<u>5.826</u>
Chlorophyll <i>b</i>	5.909	4.833	0.335	0.504
Total chlorophyll	15.458	9.566	0.620	1.628
OVER-ALL	8.820	5.191	0.656	1.905

Pseudo F Statistic^v=293.43Cubic Clustering Criterion^u=28.579

^zTotal SD: standard deviation for the total sample, ^yWithin SD: pooled within cluster standard deviation, ^xR-Square: for predicting the variable from the cluster, ^wRSQ/(1-RSQ): the ratio of between-cluster variance to within-cluster variance($R^2/(1-R^2)$), ^vPseudo F Statistic: estimating the number of clusters, ^uCubic Clustering Criterion: computed under the assumption that the variables as uncorrelated, ^tFlowering: flowering days from planting (about 50% of flowering), ^sHarvesting: harvesting days from planting, ^fSeed weight: 100-seed weight, ^qThe underlined values are the traits that one of the most important elements for clustering.

적 요

본 연구에서는 녹색자엽을 가진 검정콩 469점에 대해 농업형질 및 자엽의 색깔에 관여된 색소 성분에 대한 특성 평가를 실시하였으며, 다변량 분석(multivariate analysis)을 통해 검정콩 유전자원 선별에 유용한 형질을 파악하고, 유용 형질에 따라 유전자원을 분류(classification)하였다. 농업형질에 대한 특성을 살펴보면, 생육일수가 140일 이상인 자원이 전체의 약 60% 이상으로 만생종에 집중되어 있으며, 경장이 80 cm 이상의 중·장경이 전체 자원의 73% 이상을 차지하고, 생육형이 무한형과 중간형의 자원이 59% 이상으로 분포하고 있어 도복에 약한 경향을 보였다. 또한 탈립이 잘되는 개체가 30% 이상이었으며 내병성 등에도 약한 자원이 많이 분포되어 있었다. 종신풀특성을 살펴보면, 40 g 이상의 극대립은 108점으로 23%를 차지하며, 종피 표면에 분말이 존재하는 자원은 38% 이상, 팽택이 없는 자원은 71% 이상이었다. 종실의 자엽에 함유된 색소 성분의 분포를 살펴보면, 루테인 고함유 자원은 51.0~55.0 µg/g이 54점, 55.1 µg/g 이상이 7점이었다. Chl *a*와 chl *b*를 합한 총클로로필 함량은 22.6~120 µg/g의 분포를

보였으며, 총클로로필 함량이 65.1 µg/g 이상 높게 함유된 진한 녹색자엽을 가진 자원은 104점(22.2%)이었다. 검정콩 유전자원들은 재래종에 기반하여 수집된 자원으로 도복, 탈립, 내병성 등에 약한 자원이 다수 분포하였다. 종실 특성은 클로로필 함량이 높아 진한 녹색자엽을 가지고 있으며 종피에 분말이 있고 무광택의 극대립 형질을 갖는 재래 서리태와 유사한 자원이 다수 존재하였다. 농업형질에 대한 상관관계를 살펴보면, 개화일수와 생육일수는 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였다. 개화일수와 생육일수는 각각 백립중을 포함한 수량구성요소와 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다. 종실의 자엽에 함유된 색소 성분 함량과 농업형질 사이의 상관관계를 살펴보면, 개화일수와 생육일수, 경장, 주경절수, 분지수는 각각 루테인, chl *a*와는 고도로 유의한 부의 상관관계를 보였고, chl *b*와는 고도로 유의한 정의 상관관계를 보였다. 자엽에 함유된 색소 성분의 함량 및 조성은 녹색 자엽의 색깔 간의 상관관계 구명을 통해 녹색자엽의 색깔에 가장 큰 영향을 미치는 것은 chl *a*와 총클로로필 함량을 알 수 있었다. 주성분 분석을 통해서 녹색자엽 검정콩 유전자원의 13가지 형질을 3개의 주성분으로 압축시켜 우선순위를 설정하였

다. 제1주성분은 개화일수 및 생육일수, 경장 등 생장과 관련된 형질, chl *a*가 높은 비중을 두고 있다. 제2주성분은 종실 외형으로 정의하였고, 제3주성분은 chl *a*를 제외한 녹색 색소 성분으로 정의하였다. 최적분리 군집분석(K-means cluster analysis)을 실시하여, 4개의 군집으로 분류하였다. 군집분석 결과 제1군집은 95점(20.4%)의 유전자원을 포함하고 있었다. 개화일수와 생육일수가 빠르고, 경장이 작으며, 진한 녹색자엽을 가진 유전자원들로 구성되어 있었다. 제2군집은 16점(3.4%)의 자원으로 이루어진 가장 작은 그룹으로 농업형질은 제4군집과 유사하고, 녹색 색소 성분 함량은 제1군집과 유사한 자원들로 구성되어 있었다. 제3군집(201점)과 제4군집(154점)은 가장 많은 자원이 분포하고 있는 그룹으로 서로 유사한 형질을 가진 자원들로 구성되어 있었다. 개화일수와 생육일수가 긴 만생종으로 비교적 경장이 크고, 연한 녹색 자엽을 가진 자원들로 이루어져 있었다. 본 연구에서는 chl *a*, 경장 등이 군집 형성시 크게 기여하였으며, 특히 chl *a*는 다른 변수들에 비해 집단 구분에 가장 큰 영향을 미친 것으로 나타났다.

Acknowledgments

This research was funded by a grant from the Republic of Korea Rural Development Administration New Breeding Technologies Development Program (Project No. PJ01488301).

보충자료

본문의 Supplementary Table 1은 한국육종학회지 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

REFERENCES

1. Astadi IR, Astuti M, Santoso U, Nugraheni PS. 2009. In vitro antioxidant activity of anthocyanins of black soybean seed coat in human low density lipoprotein (LDL). *Food Chem* 112: 659-663.
2. Baek IY, Kang ST, Shin DC, Choung MG, Han WY, Kwack YH, Moon HP. 2001. A New Black Soybean Variety with Green Cotyledon, Early Maturity and Large Seed Size "Cheongjakong". *Korean J Breed Sci* 33: 240-241.
3. Baek IY, Han WY, Ko JM, Kim HT, Jeon MG, Park KY, Lee BW, Lee YH, Ha TJ, Shin SO, Shim HS, Moon JK, Oh KW, Kang ST, Cho SK, Yun HT, Lee SS, Son CK. 2013. A New Black Seed Coat Soybean Cultivar, 'Socheong 2' with Green Cotyledon and Small Seed Size. *Korean J Breed Sci* 45: 55-60.
4. Barnes S. 1998. Evolution of the health benefits of soy isoflavone. *Proc Soc Exp Biol Med* 217: 386-392.
5. Caliński T, Harabasz J. 1974. A dendrite method for cluster analysis. *Commun Stat Theory* 3: 1-27.
6. Cho KM, Ha TJ, Lee YB, Seo WD, Kim JY, Ryu HW, Jeong SH, Kang YM, Lee JH. 2013. Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* L.) cultivars with varying seed coat colors. *J Funct Foods* 5: 1065-1076.
7. Choung MG, Baek IY, Kang ST, Han WY, Shin DC, Moon HP, Kang KH. 2001. Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *J Agr Food Chem* 49: 5848-5851.
8. Choung MG, Hwang YS, Lee HJ, Choi SSN, Lee SJ, Park ES. 2008. Isolation and identification of chlorophyll related pigments of black soybean with green cotyledon. Research report of RDA. Publication registration number: 11-139000 0-001889-01.
9. Cober ER, Morrison MJ. 2010. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean. *Theor Appl Genet* 120: 1005-1012.
10. Cooper MC, Milligan GW. 1988. The Effect of Measurement Error on Determining the Number of Clusters in Cluster Analysis. pp. 319-328. In: Gaul W, Schader M. (Eds). *Data, Expert Knowledge and Decisions*. Springer, Berlin, Heidelberg.
11. Crafts-Brandner SJ, Poneleit CG. 1987. Carbon dioxide exchange rates, ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activities, and kernel growth characteristics of maize. *Plant Physiol* 84: 255-260.
12. Duncan RR, Bockholt AJ, Miller FR. 1981. Descriptive comparison of senescent and nonsenescent sorghum genotypes. *Agron J* 73: 849-853.
13. Egli DB, Swank JC, Pfeiffer TW. 1987. Mobilization of leaf N in soybean genotypes with varying durations of seed fill. *Field Crop Res* 15: 251-258.
14. Ellis RH, Asumadu H, Qi A, Summerfield RJ. 2000. Effects of photoperiod and maturity genes on plant growth, partitioning, radiation use efficiency, and yield in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] 'Clark'. *Ann Bot-London* 85: 335-343.

15. Fang C, Li C, Li W, Wang Z, Zhou Z, Shen Y, Wu M, Wu Y, Li G, Kong LA, Liu C, Jackson SA. 2014. Concerted evolution of *D1* and *D2* to regulate chlorophyll degradation in soybean. *The Plant Journal* 77: 700-712.
16. Frederick JR, Hesketh JD. 1994. Genetic improvement in soybean: physiological attributes. pp. 237-286. In: Slafer GA. (Eds) Genetic improvement of field crops. Marcel Dekker Inc, NY, USA.
17. Groose RW, Palmer RG. 1991. Gene action governing anthocyanin pigmentation in soybean. *J Hered* 82: 498-501.
18. Guamét JJ, Teeri JA, Nooden LD. 1990. Effects of nuclear and cytoplasmic genes altering chlorophyll loss on gas exchange during monocarpic senescence in soybean. *Plant and cell physiol* 31: 1123-1130.
19. Guamét JJ, Schwartz E, Pichersky E, Noodén LD. 1991. Characterization of cytoplasmic and nuclear mutations affecting chlorophyll and chlorophyll-binding proteins during senescence in soybean. *Plant Physiol* 96: 227-231.
20. Guamét JJ, Giannibelli MC. 1994. Inhibition of the degradation of chloroplast membranes during senescence in nuclear 'Stay green' mutants of soybean. *Physiol Plantarum* 91: 395-402.
21. Guamét JJ, Giannibelli MC. 1996. Nuclear and cytoplasmic 'Stay-green' mutations of soybean alter the loss of leaf soluble proteins during senescence. *Physiol Plantarum* 96: 655-661.
22. Gwathmey CO, Hall AE. 1992a. Adaptation to midseason drought of cowpea genotypes with contrasting senescence traits. *Crop Sci* 32: 773-778.
23. Gwathmey CO, Hall AE, Madore MA. 1992b. Adaptive attributes of cowpea genotypes with delayed monocarpic leaf senescence. *Crop Sci* 32: 765-772.
24. Ha KS, Heo NK, Han TJ. 2002. A green seed soybean variety 'Heugcheongkong' with black seed. *Korean J Breed Sci* 34: 80-81.
25. Harlan JR. 1992. *Crops and Man*, second ed. American society of agronomy, Madison, WI, USA.
26. Hymowitz T. 2004. Speciation and cytogenetics. pp. 97-99. In: Boerma HR, Specht JE. (Eds) Soybeans: Improvement, production, and uses 3rd edition. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.
27. Hymowitz T. 2015. The history of the soybean. pp. 1-22. In: Johnson LA, White PJ, Galloway R. (Eds) Soybeans: Chemistry, production, and utilization. AOCS Press. Urbana, IL. USA.
28. Iwashina T, Oyoo ME, Khan NA, Matsumura H, Takahashi R. 2008. Analysis of Flavonoids in Flower Petals of Soybean Flower Color Variants. *Crop Sci* 48: 1918-1924.
29. Jo H, Lee JY, Cho HT, Choi HG, Son CK, Bae JS, Bilyeu K, Song JT, Lee JD. 2021. Genetic diversity of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) with black seed coats and green cotyledons in Korean germplasm. *Agronomy* 11: 581.
30. Kang ST, Seo MJ, Moon JK, Yun HT, Lee YH, Kim SJ, Hwang YS, Lee SK, Choung MG. 2010. Introduction of stay green mutant for the development of black seed coat and green cotyledon soybean variety. *Korean J Crop Sci* 55: 187-194.
31. Kasmakoglu H. 2004. *FAO production yearbook-2003*. 57. Rome, Italy.
32. Kim HT, Han WY, Seo JH, Kang BK, Shin SO, Kim HS, Lee YH, Lee BW, Yun HT, Park CH, Kwak DY. 2018. Pod shattering tolerant black soybean cultivar 'Cheongja4' with green cotyledon and without seed coat cracking. *Korean J Breed Sci* 50: 289-295.
33. Ko JM, Han WY, Kim HT, Lee YH, Choi MS, Lee BW, Shin SU, Seo JH, Oh KW, Yun HT, Jeon MG, Choi KW, Shin JH, Lee EJ, Yang S, Oh IS. 2016. Soybean cultivar for soy-paste, 'Uram' with mechanization harvesting, large seed, disease resistance and high yield. *Korean J Breed Sci* 48: 301-306.
34. Lee JH, Kang NS, Shin SO, Shin SH, Lim SG, Suh DY, Baek IY, Park KY, Ha TJ. 2009. Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. *Food Chem* 112: 226-231.
35. Lee KJ, Lee JR, Ma KH, Cho YH, Lee GA, Chung JW. 2016. Anthocyanin and isoflavone contents in Korean black soybean landraces and their antioxidant activities. *Plant Breed Biotech* 4: 441-452.
36. Lee KJ, Baek DY, Lee GA, Cho GT, So YS, Lee JR, Ma KH, Chung JW, Hyun DY. 2020a. Phytochemicals and antioxidant activity of Korean black soybean (*Glycine max* L.) landraces. *Antioxidants* 9: 213.
37. Lee HJ, Kim BH, Kim W, Park SJ. 2020b. Classification of flowering group and the evaluation of flowering characteristics for soybean (*Glycine max* Merrill) varieties from North Korea. *Korean J Crop Sci* 65: 47-55.
38. Lee LS, Park JD, Cha HS, Lee YM, Park JW, Kim SH. 2010. Physicochemical properties of powdered green teas in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 42: 33-38.
39. Lee SW. 1988. The study on the origin of soybean cultivation. *J Korean Soc Food Cult* 3: 1-5.

40. Luquez VM, Guamet JJ. 2001. Effect of the 'Stay green' genotype GGd1d1d2d2 on leaf gas exchange, dry matter accumulation and seed yield in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Ann Bot-London 87: 313-318.
41. McBee GG, Waskom RM III, Miller FR, Creelman RA. 1983. Effect of senescence and nonsenescence on carbohydrates in sorghum during late kernel maturity states. Crop Sci 23: 372-376.
42. Milligan GW, Cooper MC. 1985. An examination of procedures for determining the number of clusters in a data set. Psychometrika 50: 159-179.
43. Ott A, Yang Y, Bhattacharyya M, Horner HT, Palmer RG, Sandhu D. 2013. Molecular mapping of *D₁*, *D₂* and *ms5* revealed linkage between the cotyledon color locus *D₂* and the male-sterile locus *ms5* in soybean. Plants 2: 441-454.
44. Palmer R, Pfeiffer TW, Buss GR, Kilen TC. 2004. Qualitative genetics. pp. 137-233. In: Boerma HR, Specht JE. (Eds) Soybeans: Improvement, production, and uses 3rd edition. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.
45. Park SY, Yu JW, Park JS, Li JJ, Yoo SC, Lee NY, Lee SK, Jeong SW, Seo HS, Koh HJ, Jeon JS, Park YI, Paek NC. 2007. The senescence-induced stay green protein regulates chlorophyll degradation. The Plant Cell 19: 1649-1664.
46. Rural Development Administration (RDA). n.d. <http://www.nongsaro.go.kr/portal/ps/psz/psza/contentMain.ps?menuId=PS00112>
47. Rural Development Administration (RDA). 2012. Agricultural Science and Technology Research Survey Analysis Standards. RDA, Korea.
48. Rural Development Administration (RDA). 2018. Soybean: Agricultural technology guide 116. pp. 35-45. RDA, Korea.
49. Ryo HC. 2008. A study on the categorization of the strategy group of program provider (PP). Journal of the Korean Data and Information Science Society 19: 913-924.
50. Sarle WS. 1983. Cubic Clustering Criterion, Technical Report A-108, SAS Institute Inc.
51. Seo JH, Han WY, Baek IY, Kim HS, Kim HT, Kang BK, Ko JM, Yun HT, Lee BW, Oh JH, Shin SO, Kwak DY. 2020. Lodging and Pod Shattering Tolerance of Large-Seeded Black Soybean Cultivar 'Taechong'. Koran J Breed Sci 52: 426-432.
52. Sinnecker P, Gomes MSO, Areas JAG, Lanfer-Marquez UM. 2002. Relationship between color (Instrumental and visual) and chlorophyll contents in soybean seeds during ripening. J Agric Food chem 50: 3961-3966.
53. Sugano M. 2005. Nutritional implications of soy. pp. 1-15. In: Sugano M. (Eds) Soy in health and disease prevention. CRC Press. New York, USA.
54. Thomas H, Smart CM. 1993. Crops that stay green. Annals of Applied Biology 123: 193-219.
55. Thomas H, Howarth CJ. 2000. Five ways to stay green. J Exp Bot 51: 329-337.
56. Todd JJ, Vodkin LO. 1993. Pigmented soybean (*Glycine max*) seed coats accumulate proanthocyanins during development. Plant Physiol 102: 663-670.
57. Tomomatsu H. 1994. Health effects of oligosaccharides. Food Technol 48: 61-65.
58. Xu B, Chang SKC. 2008. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. J Agric Food Chem 56: 8365-8373.
59. Yamashita Y, Wanga L, Nakamura A, Nanba F, Saito S, Toda T, Nakagawa J, Ashida H. 2020. Black soybean improves the vascular function through an increase in nitric oxide and a decrease in oxidative stress in healthy women. Arch Biochem Biophys 68.
60. Yun HT, Park KY, Moon JK, Kim YH, Kim SL, Ku JH, Lee YH, Ryu YH, Baek IY, Han WY, Kim HT, Cho JH, Ko JM, Shin DC, Suh DY, Kim HY, Kim SK, Ha KS, Lee SS, Son CK, Kim YD. 2005. A new black soybean cultivar, Cheongja 3, with green cotyledon, medium-late maturity and high anthocyanin. Korean J Breed Sci 37: 261-262.
61. Zhang J, Song Q, Cregan PB, Nelson RL, Wang X, Wu J, Jiang GL. 2015. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm. BMC Genomics 16: 217.