한국 재래종 콩 유전자원의 이소플라본 함량과 수량관련형질에 대한 연차간 비교

윤혜명¹ · 이정윤¹ · 케베데 타예 데스타¹ · 신명재¹ · 이윤정¹ · 이수경¹ · 왕샤오한¹ · 최유미^{1*} · 이성우^{2*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터, ²충남대학교 농업생명과학대학 식물자원학과

Yearly Variation of Isoflavone Composition and Yield-Related Traits of 35 Korean Soybean Germplasm

Hyemyeong Yoon¹, Jungyoon Yi¹, Kebede taye Desta¹, Myong-Jae Shin¹, Yoonjung Lee¹, Sukyeung Lee¹, Xiaohan Wang¹, Yu-Mi Choi^{1*}, and Sungwoo Lee^{2*}

¹National Agrobiodiversity Center, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Jeonju 54874, Republic of Korea

²Department of Crop Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Republic of Korea

Abstract In this study, composition and agronomic traits, including yield-related traits, were investigated and compared among 35 Korean landrace germplasm for two years (2019 and 2020). The contents of 12 isoflavones were measured using high-performance liquid chromatography, and agronomic trait data were collected according to the Rural Development Administration criteria. Comparing isoflavone composition between the two years, all isoflavones, except glycitein, were generally higher in 2019. The values of yield-related and major agronomic traits decreased in most accessions in 2020. ANOVA showed highly significant differences ($p < 0.001$) in genotypes, years, and genotype-by-year interaction for all isoflavones, the number of pods per plant, and 100-seed weight. The number of seeds per pod, days to flowering, and days to maturity also showed significant differences among genotypes, as well as between the two years. Correlation analysis revealed that daidzin and genistin were positively correlated with their malonylated form. Malonyl daidzin was also positively correlated with malonyl genistin levels. The accessions with the least variation in the total isoflavone content were IT 153844 (907.5 $\mu\text{g/g}$, 898.6 $\mu\text{g/g}$) and IT 252252 (663.2 $\mu\text{g/g}$, 636.4 $\mu\text{g/g}$). Some of the evaluated landraces will be a promising genetic source for developing soybean varieties with high levels of environmental stability in isoflavone content and agronomic traits.

Keywords Landrace soybean, Germplasm, Isoflavones, Agronomic traits, Yield-Related traits, Year-to-year variation

Received on October 17, 2021. Revised on October 25, 2021. Accepted on November 4, 2021.

* Corresponding Author: Sungwoo Lee (E-mail: sungwoolee@cnu.ac.kr, Tel: +82-42-821-5727, Fax: +82-42-822-2631)

* Co-corresponding Author: Yu-Mi Choi (E-mail: cym0421@korea.kr, Tel: +82-63-238-4851, Fax: +82-63-238-4859)

서 언

콩(*Glycine max* (L.) Merr.)은 다양한 기능성 성분을 함유하고 있는 작물이다. 무기질, 비타민과 같은 부영양소뿐만 아니라 이소플라본, 소아사포닌, 트립신 인히비터, 파이토스테롤 등 2차 대사산물도 풍부하게 가지고 있어 고 기능성 콩에 대한 관심이 높다(Messina 2010). 특히, 서양 국가에서 발병률이 높은 유방암, 전립선암과 같은 질병이 콩을 많이 섭취하는 동양 국가에서는 상대적으로 발병률이 낮다는 연구결과가 나오면서 콩의 효능에 대한 연구가 활발하다(Basson et al. 2021, Isanga & Zhang 2008, Kim et al. 2021b, Lee et al. 1991). 국내에서도 기능성성분의 함량이 높은 콩에 대한 새로운 수요가 발생하면서 전통적으로 수량성과 재배에 유리한 형질 개량을 위주로 했던 콩 품종 육성도

기능성 성분의 함량을 높이는 방향으로 변화하고 있다(Baek et al. 2001, Kim et al. 2018b, Kim et al. 2021c). 특히, 검정콩에 각종 기능성 성분이 풍부하다는 것이 알려지면서 여러 관련 연구가 진행되고 있다(Jeong et al. 2021, Kim et al. 2021a, Lee et al. 2016).

식물성 에스트로겐으로 알려져 있는 이소플라본(isoflavone)은 콩에서만 섭취할 수 있는 기능성 성분으로 유방암, 전립선암 등 호르몬성 질환을 예방하며 혈관에 지방이 쌓이는 것을 억제해 고혈압, 고지혈증, 동맥경화 등의 완화에 효과적이다(Man et al. 2021, Messina 2010). 이소플라본의 성분으로는 아글리콘(aglycone), 글리코시드(glycoside), 말로닐글리코시드(malonyl glycoside), 아세틸글리코시드(acetyl glycoside)가 주로 알려져 있다.

식물성 단백질 식품 시장 확대에 의한 수요 증가, 국가 식량 안보 등의 차원에서 콩의 생산성을 더 높일 필요성이 대두되고 있다(Day 2013, Kulkarni et al. 2018). 국내 콩 재배면적이 감소하는 상황에서 수량을 안정적으로 유지하기 위해서는 단위면적당 수량이 높은 품종의 개발이 필수적이다. 국내 콩 생산량은 1961년 약 0.6 MT/ha에서 2009년 2.0 MT/ha까지 증가하였으며 그 뒤로 꾸준히 1.7 MT/ha를 유지하였다. 이는 중국과 일본의 생산량인 1.8, 1.7 MT/ha와 유사한 수준이다. 이에 반해, 미국은 3.3 MT/ha로 단위면적당 생산량이 앞서 언급한 아시아 국가들에 비해 1.5~2배 높은데, 이는 품종 개량과 향상된 재배 기술을 통해 국내 콩 생산량도 현재보다 향상될 수 있음을 시사한다(Li et al. 2020). 특히, 콩의 단위면적당 수량성을 결정하는 개체당 꼬투리수, 꼬투리당 종자수, 분지수 등 각 수량 구성 요소를 개량하는 정밀한 콩 육종 목표 설정과 전략이 필요하다(RDA 2017, Shin et al. 2009). 최근 분지수, 꼬투리수, 종자수와 같이 수량관련형질에 관여하는 양적형질유전자(QTL)에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있어 콩 육종에 필요한 정보를 제공하고 있다(Fox et al. 2015, Li et al. 2018, Shim et al. 2017).

작물 재배 환경은 개화기, 성숙기, 생육기간 등의 주요 농업 형질뿐만 아니라 작물 생산량과 특정 성분의 함량에도 차이를 초래한다. 이러한 형질들은 보통 다수의 미동 유전자(minor genes)에 의해 조절되기 때문에 유전자의 효과 또는 재배환경에 따라 표현형의 변이가 클 수 있다(Gutierrez-Gonzalez et al. 2010, Liang et al. 2010, Pei et al. 2018, Primomo et al. 2005a, Zeng et al. 2009). 꼬투리당 종자수는 등숙기의 환경에 따라 변화하는 등 재배 환경에 따라 수량이 다르게 나올 수 있다(Lee et al. 2020, Shin et al. 2009). Eldridge & Kwolek (1983)에 따르면 동일한 방법으로 재배한 단일 콩 품종의 이소플라본 함량이 4개의 다른 환경에서 4배 정도 차이가 났고, 같은 지역에서 일정한 방법으로 재배한 경우에도 연차간 그 함량에 차이를 보였다. 우리나라 주요 콩 품종의 이소플라본 함량은 연차간 고도로 유의한 차이를 보였고 국내 콩 172 품종에 대해 생육 및 수량 구성형질의 변이계수를 조사한 결과, 경장, 분지수, 100립중, 개체당 종실무게 등 수량 관련 형질의 변이계수가 높았다는 연구도 보고된 바 있다(Kim et al. 2019, Lee et al. 2015). 이상 고온 등의 급격한 재배 환경 변화는 개발된 콩 품종의 안정적인 이소플라본 함량과 종실성분구성 및 균일한 수량성에 변화를 초래하고 결과적으로 이소플라본 함량과 수량 관련 형질이 안정적인 콩 품종을 선발하려면 여러 재배 환경에서 반복 평가하는 과정이 필수적이다(Seo et al. 2017).

본 연구에서는 한국 재래종 콩 유전자원을 대상으로 이소플라본 함량, 수량관련형질인 개체당 꼬투리수, 꼬투리당 종자수, 100립중, 주요농업형질인 개화일수, 성숙일수를 연차간 비교하여 유전자원을 선발하고 신품종 육종 소재로 사용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험 재료

국립농업과학원 농업유전자원센터에서 보존하고 있는 콩 유전자원 35자원을 재료로, 청자2호를 표준품종으로 사용하였다(Supplementary Table 1). 농업유전자원센터 유전자원정보시스템에 등록된 기초형질조사 결과를 토대로 다양성이 높은 자원들을 선발하여 조사 분석한 자원들에 대한 활용도를 높이고자 하였다.

재배 방법 및 수량관련형질 조사

실험대상자원은 2019년, 2020년에 전주시 덕진구에 위치한 농업유전자원센터 노지포장에서 재식거리 90 × 15 cm, 자원당 15주, 1주 1본으로 파종하여 재배하였다. 꼬투리당 종자수(the number of seeds per pod), 개체당 꼬투리 수(the number of pods per plant), 100립중(100-seed weight) 등 수량관련형질과 개화일수(days to flowering), 성숙일수(days to maturity) 등 주요 농업 형질을 농업유전자원센터 유전자원 특성조사기준 및 농촌진흥청 농업과학기술 연구조사기준에 따라 조사하였다.

기상환경분석

기상청 기상자료개방포털(<https://data.kma.go.kr/cmmn/>)의 전주시역 기후통계분석자료를 기반으로 재배기간의 기상 환경을 분석하였고, 최근 30년(1991~2020년)을 기준으로 평년값을 산정하였다.

이소플라본 분석

이소플라본 함량은 Wu et al. (2017)의 방법을 일부 변형하여 분석하였다. 이소플라본 표준물질은 다이드제인(daidzein), 제니스테인(genistein), 글리시테인(glycitein) 3성분의 아글리콘(aglycone)과 각 성분의 글리코시드(glycoside), 말로닐글리코시드(malonyl glycoside), 아세틸글리코시드(acetyl glycoside) 등 총 12가지 성분을 분석에 사용하였다. 표준물질은 말로닐다이드진(malonyl daidzin), 말로닐제니스테인(malonyl genistin), 아세틸제니스테인(acetyl genistin), 아세틸글리시틴(acetyl glycitin), 아세

틸다이드진(acetyl daidzin)의 경우 Syntho (Ontario, Canada), 말로닐글리시틴(malonyl glycitin)은 Fujifilm (Osaka, Japan), 나머지 표준물질은 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 모든 표준물질의 순도는 > 98.9%이었다. 총 이소플라본 함량은 각 성분의 함량을 합산하여 계산하였다.

채로 거른 종실 분쇄시료 0.5 g을 80% methanol 10 mL에 용해시켜 2분 동안 교반하고 25°C, 15분간 수조에서 초음파분해(sonication) 후 4,000 rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 원심 분리된 상층액으로 추출 사이클을 1회 반복하여 얻은 상층액을 0.45 µm PTFE syringe filter로 여과한 high performance liquid chromatography (HPLC) 분석에 이용하였다. HPLC 분석을 위해 1260 Infinity Quaternary system (Agilent, Santa Clara, CA, USA)에서, reverse-phase (RP) Inertsil ODS-3 (250 × 4.6 mm, 5 µm) column (GL Sciences, Tokyo, Japan)과 water/acetic acid (A, 99.9/0.1 vol%)와 acetonitrile (B)으로 구성된 이동상을 이용하였다.

컬럼내 구배 농도는 18% B (t=0 min), 20% B (t=20 min), 50% B (t=59 min), 50% B (t=60 min), 유속은 1.0 mL/min, 시료 주입량은 0.5 µL, 검출 파장은 254 nm, 컬럼 온도는 25°C를 조건으로 60분간 분석하였다. 검출된 12개 이소플라본 함량을 ChemStation Rev. B. 04.03 (Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다.

이소플라본 성분 및 농업형질에 대한 통계 분석

농업형질 및 종실성분의 연차간, 자원간 변이의 통계적 유의성을 분석하기 위해 R 프로그램(R Core Team 2021)으로 기술 통계, 분산분석(ANOVA) 및 상관분석(Correlation analysis)을 실시하였다. 수확된 각 자원의 종자에서, 이소플라본 함량은 시료를 3회 복원 추출하였으며 꼬투리당 종자수는 10회, 개체당 꼬투리 수, 100립중은 해당 형질에 대해 각각 3회 반복 측정하였다.

결과 및 고찰

이소플라본 함량 및 성분 구성 변화 비교

한국 재래종 콩 35자원을 2019년, 2020년 2년간 동일한 방법으로 재배하고 종실 수확 후 6개월 이내에 HPLC를 이용하여 12가지 이소플라본 함량을 분석하였다(Supplementary Table 2). 분석 결과는 총합량을 비롯하여, 12성분을 아글리콘, 글리코시드, 말로닐글리코시드, 아세틸글리코시드의 4개의 그룹으로

묶어 그룹별로 비교하였다(Tables 1, 2). 그 결과, 총합량 평균은 2019년에 비해 2020년에 크게 감소한 것으로 나타났다. 아글리콘, 글리코시드, 말로닐글리코시드, 아세틸글리코시드의 경우 2019년보다 2020년에 성분 함량이 전체적으로 감소하였다. 12가지 이소플라본 중 두 해 모두 말로닐글리코시드의 비율이 가장 높았으며, 그 중 말로닐제니스틴의 비율이 2년간 가장 높았다. 말로닐글리코시드는 콩 종자에 가장 풍부하게 함유되어 있는 이소플라본으로 알려져 있으며(Kim et al. 2018a, Kim et al. 2019) 본 연구의 결과 또한 이전 연구와 유사한 결과를 얻었다. 성분 비율이 가장 낮은 그룹은 모두 아세틸글리코시드였으며, 그 중 2019년에는 아세틸글리시틴이, 2020년에는 아세틸다이드진과 아세틸글리시틴이 가장 적은 비율을 차지했다. 아글리콘의 경우 2019년 모든 자원에서 검출되었으나 2020년에는 1자원(IT 252252)을 제외하고는 검출되지 않았으며 2020년 분석 재료에서는 아세틸글리코시드가 거의 검출되지 않았다. 일반적으로 아세틸글리코시드와 아글리콘의 경우 매우 낮은 농도로 발견된다는 연구결과가 있다(Kim et al. 2018a). 그룹 내 성분 조성은 2년 모두 글리코시드와 말로닐글리코시드에서 다이드진과 제니스틴, 말로닐다이드진과 말로닐제니스틴의 함량이 글리시틴과 말로닐글리시틴의 함량보다 많았다. 그러나 아글리콘과 아세틸글리시틴의 경우 2019년에는 다이드제인과 제니스테인, 아세틸다이드진과 아세틸제니스틴의 함량이 더 많았으나 2020년에는 아글리콘에서 글리시테인의 함량이 더 많았으며 아세틸글리코시드는 매우 소량 검출되었다. 선행연구에서는 4개 그룹에서 다이드제인, 제니스테인과 그 글리코시드 함량의 비율이 글리시테인과 그 글리코시드 함량의 비율보다 높다고 보고하였는데(Choung et al. 2006, Kim et al. 2019) 본 연구에서는 글리코시드와 말로닐글리코시드에서만 같은 결과를 확인할 수 있었다.

콩 유전자원간 연차간 차이를 확인하기 위해 분산분석을 수행하였다(Table 2). 그 결과 모든 이소플라본 성분 함량에서 자원간 고도로 유의한 차이를 보였다($p < 0.0001$). 유전형과 재배연도, 그리고 유전형과 재배연도의 상호작용 또한 전체 성분에서 고도로 유의한 차이를 나타냈다. 이는 콩 유전자원의 이소플라본 함량이 유전적, 환경적, 그리고 그 둘의 상호작용에 영향을 받는다는 것을 나타낸다. 이소플라본은 2차대사산물로서 기온차, 병 발생 등 환경 변화에 따라 함량 및 구성 비율에 변화가 나타난다는 연구결과가 있다(Wang & Murphy 1994). 또한 Kim et al. (2019)은 콩 품종 종실의 이소플라본 함량은 유전적, 환경적 요인에 영향을 받으며 표현형 발현에 대한 각 성분의 기여도가 다르다고 보았다.

Table 1. Yearly variation in contents of 4 isoflavone subgroups among 35 soybean germplasm in 2019 and 2020.

IT Number	Isoflavone subgroup content (μg/g)									
	Aglycone		Glycoside		Malonyl glycoside		Acetyl glycoside		Total isoflavone	
	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020
24099	16±0.0	1±0.0	52±0.8	44±1.2	468±8.4	235±15.3	22±1.0	-	557±10.2	281±16.5
104690	8±0.1	2±0.2	55±1.5	77±0.4	553±14.2	451±18.1	20±0.1	-	635±15.1	530±18.1
113218	16±0.1	1±0.5	72±1.7	99±1.8	659±22.4	534±11.7	21±0.2	-	768±23.5	634±10.9
143347	17±0.2	1±0.1	104±4.8	143±4.0	846±24.7	654±15.0	22±0.3	-	990±27.4	799±18.9
153844	17±0.1	9±0.5	67±1.9	153±1.8	794±16.7	736±13.2	29±0.6	-	908±17.8	899±15.3
154351	17±0.2	2±0.3	65±2.1	79±1.6	857±29.4	425±3.8	11±0.1	-	950±30.7	507±3.6
154724	9±0.1	3±0.2	59±0.2	81±6.4	729±9.4	411±12.1	-	-	796±9.2	494±17.7
161904	16±0.1	-	56±0.9	25±1.3	325±4.1	162±5.3	-	-	397±4.9	188±6.3
177271	9±0.4	1±0.1	54±0.4	82±2.3	606±10.1	541±9.4	-	-	669±9.6	625±11.3
177573	8±0.1	2±0.2	66±0.9	77±0.9	603±10.5	460±12.3	-	-	676±11.2	539±11.7
177709	8±0.0	-	68±0.9	45±3.0	650±7.1	363±23.2	-	-	725±7.8	408±26.2
178054	8±0.1	2±0.8	100±0.2	58±2.0	1138±32.4	618±19.9	12±0.2	-	1258±32.8	679±20.4
178160	16±0.0	-	81±0.1	39±1.4	598±14.8	340±5.7	10±0.0	-	705±14.8	380±7.1
186048	9±0.1	3±0.2	77±1.7	37±0.1	579±7.3	271±15.8	-	-	665±8.9	311±15.6
186183	8±0.0	-	63±0.8	59±3.1	606±2.4	375±12.5	10±0.1	-	687±1.7	434±14.6
189215	18±0.2	2±0.2	65±0.8	70±2.2	758±3.5	470±2.7	9±0.0	-	850±4.1	542±3.7
194558	18±0.1	-	58±1.5	57±2.5	806±16.6	462±9.2	11±0.2	-	892±18.2	519±11.5
194560	19±0.2	3±0.4	65±1.8	47±1.2	640±13.7	439±8.0	9±0.0	-	734±15.5	490±8.5
195514	17±0.1	2±0.2	47±1.3	37±1.8	378±3.8	300±5.8	9±0.0	-	451±2.7	339±7.4
224192	17±0.2	2±0.3	40±0.6	79±2.9	524±2.0	393±5.0	-	-	581±2.7	474±8.0
228822	9±0.0	-	39±0.9	53±1.9	450±13.0	274±6.3	-	-	498±13.9	327±4.5
231360	20±0.0	-	100±1.2	51±2.5	869±13.4	488±7.3	10±0.1	-	999±14.1	539±8.4
231544	8±0.1	1±0.0	50±0.8	40±1.9	520±9.1	372±5.7	10±0.1	-	588±9.9	412±7.5
239896	8±0.1	3±0.4	43±1.1	43±2.3	633±32.7	369±10.7	-	-	684±33.2	415±9.8
252252	8±0.0	1±0.3	63±1.7	89±2.9	701±23.4	545±20.5	-	1±0.6	772±24.4	636±23.0
252748	8±0.1	2±0.5	39±1.1	38±2.3	477±8.1	260±14.1	10±0.3	-	534±9.4	300±16.7
252768	8±0.1	-	60±1.6	95±3.7	595±12.8	525±4.0	-	-	663±14.6	620±7.4
263852	18±0.1	-	60±1.9	93±1.8	859±30.7	467±19.8	10±0.1	-	948±32.4	560±20.9
263853	17±0.1	2±0.5	54±1.3	119±0.8	760±10.1	549±10.2	10±0.1	-	842±11.2	670±10.7
274515	18±0.3	4±0.3	79±1.4	74±4.8	891±15.6	524±29.4	10±0.3	-	998±16.9	602±34.3
274571	17±0.6	2±0.7	73±1.3	46±3.8	929±12.1	319±7.0	10±0.3	-	1029±14.1	366±10.9
274592	28±1.3	2±0.2	47±2.4	50±2.0	613±17.8	320±9.0	31±0.9	-	720±21.8	373±10.8
275005	27±0.9	2±0.5	52±2.3	83±2.2	704±22.4	477±1.4	31±1.0	-	814±23.7	563±3.7
308619	26±0.5	-	47±0.8	37±0.3	619±13.0	231±10.4	10±0.2	-	702±13.4	268±10.5
311261	8±0.0	2±0.2	47±1.0	54±1.2	602±16.0	283±7.5	10±0.3	-	667±16.7	338±8.2
Cheongja 2	19±0.2	-	67±1.7	79±2.1	719±10.7	397±3.5	10±0.1	-	816±12.3	475±5.2

²Hyphen (-) indicates that no isoflavone was detected.

이소플라본 성분 함량 간 관계를 분석하기 위하여 상관분석을 실시하였으며 일부 이소플라본 성분 간 상관관계가 있음을 확인하였다(Fig. 1). 두 해 모두 높은 상관관계를 가지는 성분 중

다이드진과 말로닐다이드진(2019년 $r=0.79$, $p<0.0001$, 2020년 $r=0.80$, $p<0.0001$, 이하 순서 동일), 제니스틴과 말로닐제니스틴($r=0.69$, $p<0.0001$, $r=0.80$, $p<0.0001$)이 높은 양의 상관관계를

Table 2. ANOVA for the 12 isoflavones of 35 soybean germplasm in 2019 and 2020.

Group	Components	Year	Mean	SD ^z	F value (LSD, <i>p</i> <0.05) ^y		
					Year	Genotype	Year*Geno
Aglycone	Daidzein	2019	5.2	4.4	36693.3***	947.0***	932.7***
		2020	0.3	0.6	(0.1)	(0.3)	
	Genistein	2019	8.4	0.5	256487.5***	35.0***	22.5***
		2020	0	0.2	(0.0)	(0.2)	
	Glycitein	2019	0.9	2.9	130.2***	200.8***	216.4***
		2020	1.3	1.7	(0.1)	(0.4)	
	Total	2019	14.4	5.8	55494.0***	403.0***	367.6***
		2020	1.6	1.7	(0.1)	(0.6)	
Glycoside	Daidzin	2019	21.9	8.4	1410.6***	398.6***	226.2***
		2020	27.8	13.8	(0.4)	(1.7)	
	Genistin	2019	27.5	7.7	170.9***	328.8***	212.7***
		2020	29.9	14.1	(0.4)	(1.9)	
	Glycitin	2019	12.7	3.4	1662.3***	368.2***	67.2***
		2020	9.9	4.7	(0.2)	(0.7)	
	Total	2019	62.1	16.1	236.6***	328.2***	209.6***
		2020	67.7	29.1	(0.9)	(3.9)	
Malonyl glycoside	Malonyl daidzin	2019	166.3	55.1	653.0***	499.9***	100.5***
		2020	189.1	74.5	(2.4)	(10.2)	
	Malonyl genistin	2019	486.5	120.4	27913.3***	274.9***	91.7***
		2020	194.1	63.4	(4.6)	(19.0)	
	Malonyl glycitin	2019	15.5	21.9	2976.9***	213.3***	176.4***
		2020	34.6	17.6	(0.9)	(3.8)	
	Total	2019	668.3	163.9	9870.4***	335.7***	76.7***
		2020	417.8	125.8	(6.5)	(27.3)	
Acetyl glycoside	Acetyl daidzin	2019	2.4	5	7198.0***	894.0***	894.0***
		2020	0	0	(0.1)	(0.3)	
	Acetyl genistin	2019	6.9	4.6	107276.0***	1446.0***	1512.0***
		2020	0	0.2	(0.1)	(0.2)	
	Acetyl glycitin	2019	0.6	2.3	2720.0***	1320.0***	1320.0***
		2020	0	0	(0.1)	(0.1)	
	Total	2019	9.9	8.9	57618.0***	1403.0***	1428.0***
		2020	0	0.2	(0.0)	(0.5)	
Total isoflavone content	2019	754.7	178.5	9559.6***	364.0***	85.64***	
	2020	487.2	151.7	(7.1)	(29.7)		

^zSD denotes standard deviation.^yLeast significance difference (LSD) by Fisher's student test was performed for mean separation. Asterisks (*) indicate statistical significance as follows: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

보였으며, 말로닐다이드진과 말로닐제니스틴($r=0.61$, $p<0.0001$, $r=0.67$, $p<0.0001$)이 다소 높은 양의 상관관계를 보였다. 말로닐 글리코시드는 글리코시드가 말로닐 트랜스퍼라아제에 의해 글리코실화 되면서 생성되는 성분이다. 따라서 글리코시드와 말로

닐글리코시드의 함량은 말로닐트랜스퍼라아제의 작용에 따라 높은 상관관계가 나타날 수 있다. 말로닐다이드진과 말로닐제니스틴은 말로닐글리코시드에서 높은 비율을 차지하는 성분이며 Naringenin chalcone 성분에서 시작되는 합성 과정이 하나의

Fig. 1. Correlation among yield-related trait, agronomic trait, and isoflavone in 2019 (a) and 2020 (b). NPP, number of pods per plant; NSP, number of seeds per pod; 100 SW, 100-seed weight; DTF, days to flowering; DTM, days to maturity; DZ, daidzein; GE, genistein; GL, Glycitein; DZG, daidzin; GEG, genistin; GLG, glycitin; MDZG, malonyl daidzin; MEGEG, malonyl genistin; MGLG, malonyl glycitin; ADZG, acetyl daidzin; AGEAG, acetyl genistin; AGLG, acetyl glycitin; MaGlc, malonyl glycoside; AcGlc, acetyl glycoside; Total, total isoflavone

Fig. 2. Phenotypic distribution of yield-related traits and major agronomic traits of the 35 soybean germplasm. a, the number of pods per plant; b, the number of seeds per pod; c, 100-seed weight; d, days to flowering; e, days to maturity

효소를 제외하고는 동일하게 이루어지므로(Gupta et al. 2017), 각각의 성분 합성 시 상대 성분의 함량에 영향을 주게 될 것으로 보인다.

수량관련형질과 주요농업형질의 연차간 표현형 변이
재래종 콩 유전자원 35자원에 대해 개체당 꼬투리수, 꼬투리당 종자수, 100립중, 개화일수, 성숙일수를 2019년, 2020년 2년간 조사하여 형질을 비교하였다(Fig. 2, Tables 3, 4). 개체당 꼬투리

Table 3. Yearly variation of yield-related and main agronomic traits among 35 soybean germplasm in 2019 and 2020.

IT Number	Yield-related traits						Main agronomic traits			
	The number of pods per plant		The number of seeds per pod		100-seed weight (g)		Days to flowering (days)		Days to maturity (days)	
	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020
24099	214±35.5	110±25.7	2.3±0.5	2.4±0.5	22.97±0.31	21.8±0.3	50	46	126	128
104690	260±14.4	490±71.1	2.2±0.4	2.0±0.8	11.80±0.22	10.0±0.4	52	49	133	126
113218	332±107.7	215±74.1	2.2±0.4	2.0±0.0	13.07±0.17	12.3±0.0	52	53	124	124
143347	240±11.6	115±11.1	2.4±0.5	1.9±0.5	28.10±0.08	24.1±0.1	51	49	139	132
153844	318±39.9	190±29.8	2.7±0.5	2.3±0.5	20.25±0.04	18.6±0.2	52	53	137	126
154351	183±36.7	188±52.0	2.3±0.5	2.2±0.8	34.00±0.57	22.5±0.2	51	47	134	121
154724	178±19.0	137±23.8	2.2±0.4	2.0±0.0	46.47±0.41	30.5±1.1	51	49	144	132
161904	151±6.5	52±16.1	2.8±0.4	1.9±0.5	19.63±0.29	21.1±5.1	38	39	106	126
177271	279±67.0	52±18.4	2.1±0.3	1.9±0.5	42.13±0.09	32.9±0.5	63	59	141	145
177573	151±32.4	94±14.4	2.3±0.5	1.9±0.5	34.93±0.47	28.3±0.6	48	46	132	126
177709	509±77.2	232±29.2	2.3±0.5	1.7±0.5	9.93±0.09	9.8±0.1	57	56	124	118
178054	111±19.8	94±8.1	2.0±0.0	1.9±0.8	30.00±0.43	27.1±0.2	69	67	145	143
178160	278±20.1	73±13.0	2.0±0.0	1.9±0.5	32.37±0.25	26.3±0.3	55	49	137	128
186048	312±40.6	145±31.5	2.3±0.5	1.7±0.5	35.30±0.00	31.1±0.8	51	47	124	118
186183	358±21.4	145±19.3	2.4±0.5	2.3±0.8	12.33±0.19	10.7±0.3	63	59	139	132
189215	131±21.3	89±38.5	2.0±0.0	2.0±0.5	39.57±0.40	30.7±0.5	63	59	137	137
194558	223±37.9	79±5.0	2.2±0.4	1.8±0.5	43.80±0.57	39.4±0.6	61	59	139	139
194560	119±7.1	108±63.9	2.0±0.0	1.9±0.5	55.00±0.36	43.7±0.4	57	59	150	137
195514	79±15.9	50±9.5	2.6±0.5	1.7±0.8	29.80±0.14	30.9±0.2	43	42	124	130
224192	124±12.2	39±9.7	2.0±0.0	1.7±0.5	39.50±0.29	32.5±0.6	63	59	146	137
228822	440±5.4	178±20.9	2.3±0.5	2.0±0.0	14.67±0.19	12.4±0.2	63	59	137	132
231360	230±36.6	172±13.6	2.6±0.5	2.3±0.5	16.87±0.17	18.6±0.3	48	43	123	126
231544	497±52.3	245±27.9	2.2±0.4	2.3±0.5	13.10±0.14	11.2±0.2	58	59	137	132
239896	336±34.3	333±37.7	2.3±0.5	2.0±0.8	11.13±0.17	9.3±0.2	55	53	124	118
252252	297±27.6	95±11.9	2.0±0.0	1.9±0.8	39.93±0.88	31.6±0.4	63	56	145	143
252748	278±27.7	227±15.3	2.1±0.3	1.7±0.5	11.57±0.09	9.2±0.2	55	53	133	118
252768	653±85.6	214±17.2	2.7±0.5	1.8±0.5	13.60±0.08	12.0±0.2	55	49	133	126
263852	210±46.0	146±49.8	2.2±0.4	1.7±0.5	25.73±0.12	26.5±0.5	48	49	116	118
263853	124±4.5	54±3.3	2.1±0.3	1.9±0.5	38.00±0.08	31.9±0.3	63	61	153	145
274515	166±9.0	121±16.6	2.3±0.5	1.8±0.5	24.33±0.45	20.7±0.4	51	47	130	122
274571	233±34.7	114±9.1	2.0±0.0	2.3±0.8	34.53±0.34	25.4±0.6	55	53	137	128
274592	226±5.9	89±25.5	3.0±0.4	1.8±0.8	30.10±0.51	25.1±0.2	51	49	126	123
275005	413±29.4	211±61.7	2.1±0.3	2.2±0.5	12.40±0.22	9.3±0.1	63	59	124	132
308619	362±49.2	106±23.1	2.3±0.5	2.2±0.5	15.10±0.45	11.4±0.2	63	59	137	132
311261	696±42.4	216±41.1	2.2±0.4	1.9±0.5	14.70±0.24	9.9±0.2	63	56	137	132
Cheongja 2	205±20.0	134±65.6	2.4±0.5	2.0±0.0	33.00±0.68	29.1±0.3	48	49	123	118

수는 2019년 평균 277.5개(78.7~695.7개), 2020년 평균 149.1개(38.7~489.7개)였다(이하 순서 동일). 꼬투리당 종자수는 평균 2.3개(2.0~3.0개), 2.0개(1.7~2.4개)로 2020년이 더 적게 나타났으며

100립중은 평균 28.4 g (9.9~55.0 g), 평균 22.2 g (9.2~43.7 g)으로 2019년 100립중의 평균보다 6.2 g 더 적어졌다. 대체적으로 2020년의 수량관련형질이 2019년보다 낮게 나타났는데 Kim

Table 4. ANOVA for the yield-related and main agronomic traits of 35 soybean germplasm in 2019 and 2020.

Group	Traits	Year	Mean	SD ²	F value (LSD, $p<0.05$) ³		
					Year	Genotype	Year*Geno
Yield-related traits	The number of pods per plant	2019	275.1	140.9	431.9***	31.8***	12.6***
		2020	146.3	88	(16.1)	(67.5)	
	The number of seeds per pod	2019	2.3	0.2	60.1**	2.0**	1.9**
		2020	2	0.2	(0.1)	(0.4)	
	100-seed weight (g)	2019	26.6	12	4293.0***	3261.0***	110.0***
		2020	22.4	9.5	(0.2)	(0.7)	
Main agronomic traits	Days to flowering (days)	2019	55.1	6.8	2.81*	13.8***	-
		2020	52.5	6.3	(4.2)	(6.8)	
	Days to maturity (days)	2019	133.4	9.6	3.60*	4.29***	-
		2020	129.2	7.8	(5.6)	(15.2)	

²SD denotes standard deviation.³Least significance difference (LSD) by Fisher's student test was performed for mean separation. Asterisks (*) indicate statistical significance as follows: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

& Toung (1983)은 콩의 수량이 감소하는 이유로 7월에 발생하는 폭우로 인한 습해, 일조시간 단축으로 인한 일조량 감소, 고온으로 인한 도장 등과 함께 8월 초중순에 발생하는 한발로 인한 개화기 지연이 원인이라고 보고한 바 있다. 또한 Egli & Wardlaw (1980)와 Gibson & Mullen (1996)은 콩의 등숙기간 동안 발생하는 주야간 온도차 변화가 콩의 수량에 영향을 끼칠 수 있다고 설명하였다. 주요농업형질의 경우 개화일수는 평균 55.1일(38~69일), 52.5일(39~67일)이었으며 성숙일수도 평균 133.4일(106~153일), 129.2일(118~145일)로 두 형질 모두 2020년도에 일수가 더 적었다. 개화기는 개화 전후 재배지의 기상환경에 영향을 받으며 그 결과 100립중에 영향을 주기 때문에 콩의 수량에 중요한 요소 중 하나이다(Lee et al. 2020, Shin et al. 2009).

앞서 살펴본 수량관련형질 및 주요농업형질에 대해 분산분석을 통해 자원간 또는 연차간 변이를 분석하였다(Table 4). 꼬투리당 종자수, 100립중은 연도, 유전형, 연도와 유전형의 상호작용 모두 통계적으로 고도로 유의한 차이($p<0.0001$)를 보였다. 개체당 꼬투리수는 연도, 유전형, 두 형질의 상호작용에서 모두 유의한 차이($p<0.001$)를 보였다. 해당 형질 모두 2020년보다 2019년에 높은 평균값을 나타냈다. 작물 수확량의 변동성은 전 세계 대부분의 국가에서 60% 이상을 기후변화로 설명할 수 있으며(Ray et al. 2015), 가뭄, 일조시간 등 콩 생장에 부적절한 환경은 수확량의 감소에 많은 영향을 준다고 보고된 바 있어(Zanon et al. 2016) 본 연구에서 나타난 연도간 유의미한 차이와 같은 결과를 보였다. 개화일수, 성숙일수의 경우 연도간 통계적으로 유의한 차이($p<0.05$)를 보였으며 유전형은 고도로 유의한 차이

를 보였다($p<0.0001$). 또한 두 형질 모두 2019년의 평균이 더 높았다. 본 연구에서 주요농업형질의 경우 연도 및 연도와 유전형의 상호작용에 비해 유전형에 의한 유전자원의 차이가 크므로 개화일수, 성숙일수에 대한 유전율의 증가를 기대할 수 있다.

각 수량관련형질 및 주요농업형질의 상관관계를 분석하기 위하여 상관분석을 실시하였으며 상관관계가 있는 형질을 확인하였다(Fig. 1). 두 해 모두 높은 상관관계를 보이는 형질 중 개체당 꼬투리수와 100립중은 2019년($r=-0.62$, $p<0.0001$)과 2020년($r=-0.69$, $p<0.0001$) 모두 비교적 높은 부의 상관관계를 보였다. 작물의 수량 관련 형질은 부의 상관관계가 존재하는 경우가 많으며(KNOU 2013), Guh et al. (1983)은 콩의 개체당 꼬투리수와 100립중이 부의 상관관계를 가진다고 보고하였다.

수량관련형질 및 주요농업형질과 이소플라본 함량 간에 낮은 상관관계나 무상관을 보였다. 2019년의 경우 개체당 꼬투리수는 다이드제인($r=-0.48$, $p<0.0001$), 제니스틴($r=-0.32$, $p<0.0001$), 아세틸글리코시드($r=-0.33$, $p<0.01$)와 낮은 부의 상관관계를 보였으나 2020년의 경우 3가지 성분에서 상관관계가 없었다($r=-0.12$, $p<0.5$, $r=-0.05$, $p<1$, $r=-0.10$, $p<1$). 선행 연구와 달리, 2019년, 2020년에 모두 성숙일수와 이소플라본 함량간 상관관계를 보이지 않았다. 이전 연구에서는 성숙일수와 이소플라본 총합량 간 양의 상관관계를 보였고 특히 아글리코나 높은 양의 상관관계를 보였다(Murphy et al. 2009, Primomo et al. 2005b, Ribeiro et al. 2007). 한편 제니스테인의 경우 성숙일수와 음의 상관관계를 보인다는 결과도 있었다(Wang et al. 2000). 본 연구에서 사용된 자원인 IT 263853은 2019년, 2020년 모두 성숙일수가

가장 길었는데(2019년 150일, 2020년 145일), 두 해 모두 다이드 제인의 함량이 평균보다 높았으며(9, 2 $\mu\text{g/g}$) 제니스테인의 함량은 평균보다 낮았고(8 $\mu\text{g/g}$, 미검출) 총합량은 평균보다 높았다(842, 670 $\mu\text{g/g}$).

재배기간 연차간 기상 조건변화 비교

2년에 걸친 시험수행기간 동안 콩 유전자원 과중 날짜와 재배 조건을 동일하게 설정하고 각 연도별 기상을 비교해 콩의 이소플라본 성분함량, 수량관련형질 및 주요농업형질에 대한 연차변이를 확인하였다(Supplementary Fig. 1). 콩 유전자원의 개화가 시작된 7월 중순부터 개화가 종료된 8월 상순까지의 강수량은 2019년 196 mm, 2020년 930 mm로 평년(274 mm)에 비해 차이가 있었다. 콩은 과습 조건에서 총 이소플라본 함량이 감소한다고 보고되었으며(Lee et al. 2011, Vantoai et al. 2012) Kim et al. (2018a)의 연구에서는 과습 조건(50 mL/1일)에서 가뭄 조건(50 mL/9일)보다 더 낮은 이소플라본 함량이 관찰되었다. Barion et al. (2021)은 종자 형성 중의 저온과 많은 강수량은 글리코시드과 말로닐글리코시드 함량의 증가와 관련이 있으며 고온 및 적은 강수량은 아글리콘 함량의 증가와 관련 있다고 하였다. 본 연구에서는 2019년, 2020년 이소플라본 함량 비교 결과 총합량은 35% 감소하였으며 아글리콘은 88%, 아세틸글리코시드는 99%, 말로닐글리코시드는 37% 감소하였다. 그러나 글리코시드는 8% 증가한 결과가 나타났다. 총합량과 각 성분들의 함량 감소는 선행연구와 대체로 일치하였다. 콩 재배시의 과습은 초기 영양생장기와 개화기의 생장에 가장 영향을 주며(Lee & Woong 2007, Lee et al. 2010, Linkemer et al. 1998) 토양의 통기성을 낮춰 식물체에 산소결핍을 초래한다(Armstrong et al. 1994). 2020년의 경우에는 개화기인 7~8월에 비가 집중되었다. Koo et al. (2014)은 과도한 수분 스트레스가 7일 이상 지속되면 콩의 수량이 약 5% 감소하며 14일 이상 지속될 시 7~10% 감소한다고 보고하였다. 본 연구에서는 2019년에 비해 2020년의 개체당 꼬투리수는 총 46%, 꼬투리당 종자수는 총 13%, 100립중은 총 16% 감소하여 이전의 연구보다 수량이 더 큰 폭으로 감소하였다. 이는 7~8월 동안 30일 이상 내린 강우로 이전의 연구조건들에 비해 수분 스트레스가 더욱 누적되었기 때문으로 추정된다.

6월~9월의 일조시간합은 평년의 경우 620.7 시간이었는데, 2019년에는 672.5 시간으로 평년에 비해 일조시간합이 51.8 시간 길었으며 2020년에는 585.3 시간으로 일조시간합이 평년에 비해 35.4 시간 짧았다. 일조시간이 길수록 이소플라본 함량이

증가하는 것으로 알려져 있는데(Li et al. 2004, Sun et al. 1998), 본 연구에서도 2020년의 일조시간합이 2019년에 비해 87.2 시간 짧아 이소플라본 함량의 감소로 이어졌을 가능성이 높다. 일장은 수량에도 영향을 주는데 Raper Jr & Thomas (1978)는 콩 재배 시 단일 처리한 그룹보다 장일 처리한 그룹의 종자 크기가 증가하였다고 하였으며 Kantolic & Slafer (2005)는 착엽기부터 성숙기까지 일장을 인위적으로 늘렸을 때 개체당 꼬투리가 증가하는 결과를 얻었다. 짧은 광주기는 조기개화의 원인이 되며 이는 종자 수확량 손실을 초래한다(Board & Hall 1984). 이번 연구에서는 2019년에 비해 2020년의 100립중 평균(26.6 g, 22.4 g)과 개체당 꼬투리수의 평균(275.1, 146.3)이 감소하였는데 이는 7~8월 계속된 강우로 인한 일조시간 부족으로 발생한 결과로 추측된다.

주야간 온도차의 경우 개화기 전후인 7월 중순~8월 상순에는 2019년이 7.4°C, 2020년 5.7°C로 평년(8.2°C)에 비해 주야간 온도차가 적었고, 2019년에는 최대 9.7°C (7월 17일), 최소 3.4°C (7월 11일)의 온도차를 보였고, 2020년에는 최대 9.0°C (7월 21일), 최소 2.2°C (8월 8일)의 온도차를 보였다. 평년 최대/최소 온도차(9.3°C/7.3°C)와 비교해 보았을 때 최대 온도차는 큰 차이를 보이지 않았지만 최소 온도차는 평년에 비해 지난 2년간 모두 온도차가 적었다. 기온은 6월~9월의 평년 기온이 24.5°C이었는데 2019년의 같은 기간 평균 기온은 24.3°C, 2020년은 24.1°C로 평년 기온에 비해 각각 0.2°C, 0.4°C 낮아 별 차이를 보이지 않았다.

시험수행기간 동안 강수량, 일조시간은 평년의 기상에 비해 큰 차이를 보였는데, 이들은 작물의 생장에 관여하여 이소플라본 함량, 구성 및 수량관련형질에 영향을 줄 수 있다(Egli & Wardlaw 1980, Gibson & Mullen 1996, Kim et al. 2019, Kim & Toung 1983, Wang & Murphy 1994). 이는 기후변화로 인해 이소플라본 함량, 구성과 수량관련형질이 변화할 수 있음을 보여주며 이와 같은 변화에도 안정적인 형질을 유지하는 콩 유전자원 발굴의 중요성을 시사한다.

위의 결과를 토대로 이소플라본 함량과 수량관련형질의 연간 변이가 적은 재래종 콩 유전자원을 선발하였다. 이소플라본 총합량의 변화가 적은 자원은 IT 153844 (907.5, 898.6 $\mu\text{g/g}$), IT 252252 (663.2, 636.4 $\mu\text{g/g}$)이었다. 수량구성요소는 개체당 종자 중량(개체당 꼬투리수 $\times$ 꼬투리당 종자수 $\times$ 100립중/100)으로 변환하여 비교한 결과 IT 178054 (66.6, 48.6 g), IT 231360 (100.9, 73.6 g)이 가장 변이가 작은 자원이었다. 이러한 결과를 대조품종과 비교해보면(Table 1, 3) 청자2호의 경우 이소플라본 총합량(815.8, 475.3 $\mu\text{g/g}$)이 42% 감소한데 반해 IT 153844는

1%, IT 252252는 4%의 감소를 보여 연간 변이가 대조품종보다 낮았다. 개체당 종자중량은 청자2호(161.0, 77.7 g)가 51% 감소한데 반해 IT 178054와 IT 231360은 27% 감소에 그쳤다. 품종의 경우 연간변이를 줄여나간다면 일정한 이소플라본 함량과 수량을 확보할 수 있게 될 것이며 이번 연구에서 선발된 유전자원과 같은 우수한 유전자원을 통해 품종을 개량하여 형질의 안정성을 높이는 방안을 마련할 수 있을 것이다.

적 요

국내 재래종 콩 35자원을 2년간 재배하여 이소플라본 함량과 구성, 수량관련형질 및 주요농업형질을 조사하였으며 연간 차이를 비교하여 유전자원 활용의 기초자료로 사용하고자 하였다. 이소플라본의 총합량은 2019년에 비해 2020년에 크게 감소하였으며 아글리콘, 글리코시드, 말로닐글리코시드, 아세틸글리코시드 그룹의 함량도 모두 감소하였다. 두 해 모두 가장 비율이 높은 그룹은 말로닐글리코시드, 낮은 그룹은 아세틸글리코시드였다. 분산분석 결과 모든 이소플라본 성분 함량의 유전형, 재배연도, 그리고 유전형과 재배연도의 상호작용에서 고도로 유의한 차이를 나타냈다. 상관분석 결과 다이드진과 말로닐다이드진($r=0.79$, $p<0.0001$, $r=0.80$, $p<0.0001$), 제니스틴과 말로닐제니스틴($r=0.69$, $p<0.0001$, $r=0.80$, $p<0.0001$)이 높은 양의 상관관계를 보였다. 개체당 꼬투리수(277.5, 149.1개), 꼬투리당 종자수(2.3, 2.0개), 100립중(28.4, 22.2 g) 등 수량관련형질은 2019년 평균이 더 높았다. 개화일수(55.1, 52.5일), 성숙일수(133.4, 129.2일)의 경우도 모두 2019년의 평균이 더 높았다. 분산분석 결과 꼬투리당 종자수, 100립중은 연도간 통계적으로 고도로 유의한 차이를 보였으나 개체당 꼬투리수는 유의미한 차이를 보이지 않았다. 유전형, 연도, 유전형과 연도의 상호작용은 개체당 꼬투리수, 꼬투리당 종자수, 100립중에서 모두 유의한 차이를 보였다. 개체당 꼬투리수와 100립중은 두 해 모두 비교적 높은 부의 상관관계를 보였다($r=-0.62$, $p<0.0001$, $r=-0.69$, $p<0.0001$). 수량관련형질 및 주요농업형질과 이소플라본 함량 간에는 낮은 양의 상관관계나 무상관을 보였다(Fig. 1). 분산분석 결과 연도간 통계적으로 유의한 차이($p<0.05$)를 보였으며 유전형은 고도로 유의한 차이를 보였다($p<0.0001$). 위의 결과를 바탕으로 이소플라본 함량과 수량관련형질의 연간 변이가 적은 재래종 콩 유전자원을 선발하였으며 선발된 유전자원들은 앞으로 형질변이에 안정적인 콩 품종 육성에 사용될 수 있을 것이라 기대된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(공동과제명: 콩 핵심자원의 이소플라본 함량 비교와 농업형질 평가, 과제번호: PJ014172032021)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사합니다.

보충자료

본문의 Supplementary Tables 1, 2와 Supplementary Fig. 1은 한국육종학회지 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

REFERENCES

1. Armstrong W, Brändle R, Jackson MB. 1994. Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Bot Neerl* 43: 307-358.
2. Baek IY, Kang ST, Shin DC, Choung MG, Han WY, Kwack YH, Moon HP. 2001. A new soybean variety: black seed coat color, green cotyledon, early maturity, high 100-seeds weight "Cheongja". *Korean J Breed Sci* 33: 240-241.
3. Barion G, Hewidy M, Panozzo A, Aloia A, Vamerali T. 2021. Effects of light orientation and mechanical damage to leaves on isoflavone accumulation in soybean seeds. *Agron* 11: 589.
4. Basson AR, Ahmed S, Almutairi R, Seo B, Cominelli F. 2021. Regulation of intestinal inflammation by soybean and soy-derived compounds. *Foods* 10: 774.
5. Board J, Hall W. 1984. Premature flowering in soybean yield reductions at nonoptimal planting dates as influenced by temperature and photoperiod 1. *J Agron* 76: 700-704.
6. Choung MG, Kang ST, Han WY, Baek IY, Kim HK, Shin DC, Kang NS, Hwang YS, An YN, Lim JD. 2006. Variation of isoflavone contents in Korean soybean germplasms. *Korean J Crop Sci* 51: 146-151.
7. Day L. 2013. Proteins from land plants-potential resources for human nutrition and food security. *Trends Food Sci Technol* 32: 25-42.
8. Egli D, Wardlaw I. 1980. Temperature response of seed growth characteristics of soybeans 1. *J Agron* 72: 560-564.
9. Eldridge AC, Kwolek WF. 1983. Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. *J Agric Food Chem* 31: 394-396.
10. Fox CM, Cary TR, Nelson RL, Diers BW. 2015. Confirmation of a seed yield QTL in soybean. *Crop Sci* 55: 992-998.

11. Gibson L, Mullen R. 1996. Influence of day and night temperature on soybean seed yield. *Crop Sci* 36: 98-104.
12. Guh J, Rhee C, Lee Y. 1983. Basic studies on the native colored-soybean cultivars. *Kor J Crop Sci* 28: 345-350.
13. Gupta OP, Nigam D, Dahuja A, Kumar S, Vinutha T, Sachdev A, Praveen S. 2017. Regulation of isoflavone biosynthesis by miRNAs in two contrasting soybean genotypes at different seed developmental stages. *Front Plant Sci* 8: 567.
14. Gutierrez-Gonzalez JJ, Wu X, Gillman JD, Lee J-D, Zhong R, Yu O, Shannon G, Ellersieck M, Nguyen HT, Slepier DA. 2010. Intricate environment-modulated genetic networks control isoflavone accumulation in soybean seeds. *BMC Plant Biol* 10: 1-16.
15. Isanga J, Zhang GN. 2008. Soybean bioactive components and their implications to health—a review. *Food Rev Int* 24: 252-276.
16. Jeong EW, Park SY, Yang YS, Baek YJ, Yun DM, Kim HJ, Go GW, Lee HG. 2021. Black soybean and adzuki bean extracts lower blood pressure by modulating the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats. *Foods* 10: 1571.
17. Kantolic AG, Slafer GA. 2005. Reproductive development and yield components in indeterminate soybean as affected by post-flowering photoperiod. *Field Crops Res* 93: 212-222.
18. Kim HM, Jang EK, Gwak BS, Hwang TY, Yun GS, Hwang SG, Jeong HS, Kim HS. 2018a. Variation of isoflavone contents and classification using multivariate analysis in Korean soybean varieties released from 1913 to 2013. *Korean J Breed Sci* 50: 50-60.
19. Kim HS, Kang BK, Seo JH, Ha TJ, Kim HT, Shin SO, Park CH, Kwak DY. 2019. Quantitative variation of total seed isoflavone and its compositions in Korean soybean cultivars (*Glycine max* (L.) Merr.). *Korean J Crop Sci* 64: 89-101.
20. Kim HT, Han WY, Seo JH, Kang BK, Shin SO, Kim HS, Lee YH, Lee BW, Yun HT, Park CH. 2018b. Pod shattering tolerant black soybean cultivar ‘Cheongja4’ with green cotyledon and without seed coat cracking. *Korean J Breed Sci* 50: 289-295.
21. Kim HY, Wo SY, Yang JY, Song SY, Seo WD, Lee MJ, Choi MS. 2021a. Antioxidant activities of various black soybean tissues (*Glycine max* L.) harvested from different cultivation regions. *Korean J Food & Nutr* 34: 331-339.
22. Kim IS, Kim CH, Yang WS. 2021b. Physiologically active molecules and functional properties of soybeans in human health—a current perspective. *Int J Mol Sci* 22: 4054.
23. Kim JM, Shin I, Lee JD, Ha BK, Lee J, Choung MG, Moon JK, Kang S. 2021c. Soybean cultivar ‘Noksim’ with green cotyledons and a black seed coat for cooking with rice. *Korean J Breed Sci* 53.
24. Kim S, Toung T. 1983. The relationship between growth duration and yield in soybean in the sub-tropics. *Korean J Crop Sci* 28: 469-472.
25. KNOU (Korea National Open University). 2013. Plant breeding. pp. 338.
26. Koo SC, Kim HT, Kang BK, Lee YH, Oh KW, Kim HY, Baek IY, Yun HT, Choi MS. 2014. Screening of flooding tolerance in soybean germplasm collection. *Korean J Breed Sci* 46: 129-135.
27. Kulkarni KP, Tayade R, Asekova S, Song JT, Shannon JG, Lee J-D. 2018. Harnessing the potential of forage legumes, alfalfa, soybean, and cowpea for sustainable agriculture and global food security. *Front Plant Sci* 9: 1314.
28. Lee CY, Woong CJ. 2007. Comparisons in anatomical morphology between soybean cultivars of different flooding tolerance under early vegetative flooding conditions. *Korean J Crop Sci* 52: 320-324.
29. Lee H, Lee J, Gourley L, Duffy S, Day N, Estève J. 1991. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet* 337: 1197-1200.
30. Lee HJ, Kim BH, Kim W, Park SJ. 2020. 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.
31. Lee JE, Kim HS, Kwon YU, Jung GH, Kim SL. 2011. Changes of leaf nitrogen and petiole ureide content in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] under waterlogging condition. *Korean J Crop Sci* 56: 385-393.
32. Lee JE, Kim HS, Kwon YU, Jung GH, Lee CK, Yun HT, Kim CK. 2010. Responses of photosynthetic characters to waterlogging in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Korean J Crop Sci* 55: 111-118.
33. Lee JH, Hwang SR, Lee YH, Kim K, Cho KM, Lee YB. 2015. Changes occurring in compositions and antioxidant properties of healthy soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] and soybean seeds diseased by *Phomopsis longicolla* and *Cercospora kikuchii* fungal pathogens. *Food Chem* 185: 205-211.

34. 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 Biotechnol* 4: 441-452.
35. Li C, Zou J, Jiang H, Yu J, Huang S, Wang X, Liu C, Guo T, Zhu R, Wu X. 2018. Identification and validation of number of pod-and seed-related traits QTL s in soybean. *Plant Breed* 137: 730-745.
36. Li MW, Wang Z, Jiang B, Kaga A, Wong FL, Zhang G, Han T, Chung G, Nguyen H, Lam HM. 2020. Impacts of genomic research on soybean improvement in East Asia. *Theor Appl Genet* 133: 1655-1678.
37. Li WD, Zhen LH, Lu WG, Wang SF, Yang QC, Yang CY. 2004. Studies on the correlations between isoflavone contents in soybean seed and the eco-physiological factors. *Agric Sci China* 3: 340-348.
38. Liang HZ, Yu YL, Wang SF, Yun L, Wang TF, Wei YL, Gong PT, Liu XY, Fang XJ, Zhang MC. 2010. QTL mapping of isoflavone, oil and protein contents in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Agric Sci China* 9: 1108-1116.
39. Linkemer G, Board JE, Musgrave ME. 1998. Waterlogging effects on growth and yield components in late-planted soybean. *Crop Sci* 38: 1576-1584.
40. Man B, Cui C, Zhang X, Sugiyama D, Barinas-Mitchell E, Sekikawa A. 2021. The effect of soy isoflavones on arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Nutr* 60: 603-614.
41. Messina M. 2010. A brief historical overview of the past two decades of soy and Isoflavone research. *J Nutr* 140: 1350S-1354S.
42. Murphy SE, Lee EA, Woodrow L, Seguin P, Kumar J, Rajcan I, Ablett GR. 2009. Association of seed and agronomic traits with isoflavone levels in soybean. *Can. J Plant Sci* 89: 477-484.
43. Pei RL, Zhang JY, Tian L, Zhang SR, Han FX, Yan SR, Wang LZ, Li B, Sun JM. 2018. Identification of novel QTL associated with soybean isoflavone content. *Crop J* 6: 244-252.
44. Primomo VS, Poysa V, Ablett GR, Jackson C-J, Gijzen M, Rajcan I. 2005a. Mapping QTL for individual and total isoflavone content in soybean seeds. *Crop Sci* 45: 2454-2464.
45. Primomo VS, Poysa V, Ablett GR, Jackson C-J, Rajcan I. 2005b. Agronomic performance of recombinant inbred line populations segregating for isoflavone content in soybean seeds. *Crop Sci* 45: 2203-2211.
46. Raper Jr CD, Thomas JF. 1978. Photoperiodic alteration of dry matter partitioning and seed yield in soybeans 1. *Crop Sci* 18: 654-656.
47. Ray DK, Gerber JS, Macdonald GK, West PC. 2015. Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nat Commun* 6: 1-9.
48. RDA (Rural Development Administration). 2017. Soybean. pp. 87.
49. Ribeiro M, Mandarino J, Carrao-Panizzi M, De Oliveira M, Campo C, Nepomuceno A, Ida E. 2007. Isoflavone content and β -glucosidase activity in soybean cultivars of different maturity groups. *J Food Compos Anal* 20: 19-24.
50. Seo MJ, Park MR, Yun HT, Park CH. 2017. Analysis on variation and stability of agricultural characteristics in soybean landraces and cultivars. *Korean J Crop Sci* 29: 271-281.
51. Shim SR, Kim MY, Ha JM, Lee YH, Lee SH. 2017. Identification of QTLs for branching in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Euphytica* 213: 1-9.
52. Shin SO, Kim HT, Han WY, Ko JM, Baek IY, Lee SC, Park KY. 2009. Variation of yield and dry matter production among planting dates in soybean. *Korean J Agric Sci* 21: 33-43.
53. Sun JM, Ding AL, Shen LM. 1998. Light effect on the tissue contents and distribution of isoflavones in the developing seedling of soybean. *J Integr Plant Biol* 40: 1015-1021.
54. Vantoai TT, Lee JD, Goulart PF, Shannon JG, Alves JD, Nguyen HT, Yu O, Rahman M, Islam R. 2012. Soybean (*Glycine max* L. Merr.) seed composition response to soil flooding stress. *JFAE* 10: 795.
55. Wang CY, Sherrard M, Pagadala S, Wixon R, Scott RA. 2000. Isoflavone content among maturity group 0 to II soybeans. *J Am Oil Chem Soc* 77: 483-487.
56. Wang HJ, Murphy PA. 1994. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year, and location. *J Agric Food Chem* 42: 1674-1677.
57. Wu HJ, Deng JC, Yang CQ, Zhang J, Zhang Q, Wang XC, Yang F, Yang WY, Liu J. 2017. Metabolite profiling of isoflavones and anthocyanins in black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds by HPLC-MS and geographical differentiation analysis in Southwest China. *Anal Methods* 9: 792-802.
58. Zanon AJ, Streck NA, Grassini P. 2016. Climate and management factors influence soybean yield potential in

- a subtropical environment. J Agron 108: 1447-1454.
59. Zeng GL, Li DM, Han YP, Teng WL, Wang J, Qiu LQ, Li WB. 2009. Identification of QTL underlying isoflavone contents in soybean seeds among multiple environments. Theor Appl Genet 118: 1455-1463.