



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0067979

(43) 공개일자 2015년06월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01H 5/00 (2006.01) A01H 1/02 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0153646

(22) 출원일자 2013년12월11일

심사청구일자 2013년12월11일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

임용표

대전광역시 유성구 상대남로 26, 903동 1602호 (상대동, 도안신도시9블록 트리폴시티아파트)

박종태

세종특별자치시 누리로 59, 503동 1301호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최규환

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 환원당 함량이 증가된 고감미 배추 품종 및 이의 육종방법

(57) 요약

본 발명은 환원당 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 배추 품종은 환원당의 함량이 기존의 배추에 비해 현저히 높은바, 단맛이 증진되어 소비자의 기여도를 증가시킬 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 육종 방법을 통해 환원당 함량이 크게 향상된 배추품종의 개발이 가능한바, 농가의 수익 창출에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도3

(A)



(B)



(72) 발명자

최수련

대전광역시 중구 태평로 55 삼부아파트4단지 408동 141호

조만현

충청남도 천안시 서북구 봉서산로 85 호반리젠시빌 아파트 109동 801호

함인기

충청남도 천안시 서북구 충무로 124-24 현대홈타운 아이파크아파트 115동 1102호

김태일

충청남도 논산시 체육로 30 놀피아파트 2동 606호

이은모

대전광역시 서구 청사로 70 누리아파트 109동 708호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 213002-04-1-CGX10

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물식품기술기획평가원

연구사업명 GSP채소종자사업

연구과제명 성분분석 및 분자마커검정 서비스

기 여 율 8/10

주관기관 충남대학교

연구기간 2013.07.25 ~ 2017.05.02이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2009-0062558

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 연구소재지원사업

연구과제명 한국배추계놈소재은행

기 여 율 2/10

주관기관 충남대학교

연구기간 2009.04.01 ~ 2014.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

환원당(reducing sugar)의 함량이 증가된 배추(*Brassica rapa*) 식물체로서, 상기 식물체는 수탁번호 KACC98031P 또는 KACC98032P인 것을 특징으로 하는 배추 식물체.

청구항 2

제1항에 있어서, 환원당의 함량이 식물 건조중량 1g당 280mg 이상인 것을 특징으로 하는 배추 식물체.

청구항 3

제1항에 따른 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리, 근단(root tip), 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 배추 식물의 일부.

청구항 4

제3항에 따른 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물.

청구항 5

제1항에 따른 배추 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는, 환원당의 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법.

청구항 6

- (a) 품종명이 경추려(80-3)특선대백채(京秋呂(80-3)特選大白菜)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;
- (b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및
- (c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 환원당 함량이 건조중량 1g당 280mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 환원당 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 (c) 단계에서 선별된 식물체는 수탁번호 KACC98031P 또는 KACC98032P인 배추(*Brassica rapa*)인 것을 특징으로 하는, 환원당 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001]

본 발명은 환원당 함량이 증가된 고감미 배추 품종 및 이의 육종방법에 관한 것으로, 구체적으로는 환원당 함량이 증가된 배추 식물체, 상기 식물의 일부, 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물, 상기 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는 환원당 함량이 증가된 식물체 종자의 제조방법 및 환원당 함량이 증가된 식물체의 육종방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

배추과(Brassicaceae family)는 350속(genera)에 속하는 약 3,700종(species)을 포함하며, 다양한 배추과 식물이 농업적으로 중요한 채소, 양념, 사료 및 유지 작물로 이용되고 있다. 경제적으로 볼 때 배추과 식물은 세계 채소 생산량의 약 10%와 식용유 생산량의 약 12%를 담당하고 있다. 배추과는 13~19개의 족(族)으로 구분할 수 있는데, 배추족(Brassicaceae tribe)은 약 240개 종을 포함한다. 작물로서 중요한 종들은 채소작물인 배추(*Brassica rapa*)와 양배추(*B. oleracea*), 유지작물인 유채(*B. napus*)와 갯(*B. juncea*), 그리고 양념작물인 흑겨자(*B. nigra*) 등이 있다. 배추과 식물은 현재 이용되는 것 외에도 중간 교잡 등을 통한 새로운 채소작물의 개

발은 물론 산업용 오일 등 물질 생산을 위한 분자농업 (molecular farming) 기주식물로도 이용되고 있다. 또한 야생종들은 핵 및 세포질 융성불임, 병충 저항성, 기상 스트레스 저항성 등 농업적으로 유용한 형질을 보유하고 있는 중요한 자원이다.

[0003] 환원당(reducing sugar)은 환원력을 나타내는 당으로 글루코스(glucose)를 비롯한 단당류는 전부 환원당이다. 환원력은 알도스의 C1 위치의 헤미아세탈기 또는 케토스(ketose)의 C2 위치의 헤미케탈기의 존재에 의한다. 헤미아세탈이나 헤미케탈의 수산기는 α , β 의 배치가 가능하므로 환원당의 수용액은 변선풐을 나타낸다. 글리코시드결합을 형성하면 이들 기가 없어지지만 맥아당(maltose)이나 젖당(lactose)의 경우, 글루코스 잔기의 알데히드기(헤미아세탈)가 글리코시드 결합의 형성에 관여하지 않으므로 환원력을 나타내고, 따라서 환원당이다. 식품의 환원당은 감미 등 식품의 단맛에 중요한 기여를 하게 된다.

[0004] 한편, 한국등록특허 제1076208호에는 '붉은 배추를 이용한 안토시아닌 김치의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 안토시아닌 김치'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제1248548호에는 '곰보 배추 추출물, 플라바논 화합물 및 그 제조방법, 이로부터 제조된 화장료 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 환원당 함량이 증가된 배추 품종 및 이의 육종방법에 대해서는 개시된 바가 전혀 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 품종명이 경추려(80-3)특선대백채(京秋呂(80-3)特選大白菜)인 배추의 F1 종자를 수집하고, 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생한 후, 재생된 식물체 중 환원당 함량이 건조중량 1g당 280mg 이상인 식물체를 식물체를 선별함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 환원당(reducing sugar)의 함량이 증가된 배추(*Brassica rapa*) 식물체로서, 상기 식물체는 수탁번호 KACC98031P 또는 KACC98032P인 것을 특징으로 하는 배추 식물체를 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 상기 환원당 함량이 증진된 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리 근단, 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 식물의 일부를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 배추 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는 환원당 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은

[0011] (a) 품종명이 경추려(80-3)특선대백채(京秋呂(80-3)特選大白菜)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;

[0012] (b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및

[0013] (c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 환원당 함량이 건조중량 1g당 280mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 환원당 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명에 따른 배추 품종은 환원당의 함량이 기존의 배추에 비해 현저히 높은바, 단맛이 증진되어 소비자의 기여도를 증가시킬 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 육종 방법을 통해 환원당 함량이 크게 향상된 배추품종의 개발이 가능한 바, 농가의 수익 창출에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 배추 소포자 배양법의 과정을 도시한 흐름도이다.

도 2는 배추 소포자 배양 시 소포자의 발달 단계를 나타낸 그림이다.

도 3은 실시예에 따라 생산된 증가된 환원당 함량을 갖는 배추의 생육 사진이다. (A) KACC98031P 품종, (B)

KACC98032P 품종

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 환원당(reducing sugar)의 함량이 증가된 배추(*Brassica rapa*) 식물체로서, 상기 식물체는 수탁번호 KACC98031P 또는 KACC98032P인 것을 특징으로 하는 배추 식물체를 제공한다.
- [0017] 본 발명의 KACC98031P 또는 KACC98032P 품종은 경추려(80-3)특선대백채(京秋呂(80-3)特選大白菜) 품종의 소포자 배양을 이용하여 육종한 품종이다. 일반적으로 교배를 통해 유전적으로 균일한 계통을 만들기 위해서는 4~5년 정도의 시간이 소요되는데 비해, 이러한 반수체를 동질배수화를 유도하여 유전적으로 고정된 이배체를 만드는 방법을 이용한 육종은 단시일내에 순수한 계통을 만들 수 있는 장점이 있다.
- [0018] 본 발명의 KACC98031P 또는 KACC98032P 품종은 종래의 상업 배추 품종의 평균 환원당 함량의 3배 이상이 증가된 배추 품종이다(실시예 2 참조). 상기 2가지 품종을 국립농업과학원 농업유전자원센터(Korean Agricultural Culture Collection)에 2013년 10월 15일자로 기탁하였다.
- [0019] 본 발명의 일 구현 예에 따른 상기 식물체에 있어서, 상기 환원당의 함량은 식물 건조중량 1g당 280mg 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기 배추 식물체의 배아, 분열조직, 떡잎, 화분, 잎, 꽃밥, 뿌리, 근단(root tip), 암술, 꽃, 종자 및 대로 구성된 군으로부터 선택되는 식물의 일부를 제공한다.
- [0021] 또한, 본 발명은 상기 식물의 일부의 세포 또는 원형질체를 포함하는 조직 배양물을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 배추 식물체를 다른 배추과 식물체와 교배시키는 단계를 포함하는, 환원당의 함량이 증가된 식물체 종자의 제조 방법을 제공한다.
- [0023] 본 발명의 일 구현 예에 따른 제조 방법에 있어서, 상기 다른 배추과 식물체는 배추, 청경채, 겨자채, 흑겨자, 적채, 갓, 양배추, 브로콜리, 케일, 유채, 열무 및 무일 수 있고, 바람직하게는 배추일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0024] 또한, 본 발명은
- [0025] (a) 품종명이 경추려(80-3)특선대백채(京秋呂(80-3)特選大白菜)인 배추의 F1 종자를 수집하는 단계;
- [0026] (b) 상기 F1 종자로부터 소포자를 추출하여 식물체로 재생하는 단계; 및
- [0027] (c) 상기 (b)단계에서 재생된 식물체 중 환원당 함량이 건조중량 1g당 280mg 이상인 식물체를 선별하는 단계를 포함하는, 환원당 함량이 증가된 배추 식물체의 육종 방법을 제공한다.
- [0028] 본 발명의 일 구현 예에 따른 육종 방법에서, 상기 (c) 단계에서 선별된 식물체는 종자 수탁번호 KACC98031P 또는 KACC98032P인 기탁된 배추(*Brassica rapa*)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0029] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 실시예 1. 소포자 배양법을 이용한 배추 품종 육종

[0031] 중국 북쪽지역(장강 위쪽)에서 京秋呂(80-3)特選大白菜 품종의 자원을 도입하여 그 F1 종자를 유전자원으로 이용하였다. 상기 F1 유전자원을 소포자 배양법을 이용하여 식물체를 재증하였다. 상기 소포자 배양법의 대략적인 과정은 도 1에 나타난 것과 같이 진행하였다.

[0032] 1-1. 소포자의 추출

[0033] 먼저 수집된 유전자원을 토양에 심고, 식물을 5℃ 저온실에서 약 30일 동안 춘화처리한 후 큰 화분에 정식하여 온실(비닐하우스)에서 재배하면서 개화를 유도하였다. 소포자의 추출을 위해, 유도된 꽃봉오리를 채취하여 주두

가 꽃잎보다 긴 꽃봉오리(화뢰)만을 선별하였다. 선별된 꽃봉오리를 1% 차아염소산 나트륨 용액(Sodium Hypochlorite Solution)에서 15분 동안 표면살균 한 후, 멸균수로 3분씩 3회 이상 행구어 주었다. 소독한 꽃봉오리를 막자사발에 넣고 수크로오스가 13% 첨가된 B5배지 2~3ml와 함께 부드럽게 간 후 45 μ m 체에 소포자 용액을 여과하였다. 여과된 용액에 13% 수크로오스가 첨가된 B5배지를 더 첨가하여 10ml씩 부피를 맞춰 튜브에 넣고, 1,000rpm에서 3분 동안 원심분리한 후 상등액을 버리고 다시 B5배지로 세정하는 과정을 2회 반복하였다. 세정을 마친 소포자 용액을 50ml 튜브로 옮겨 10% 수크로오스가 첨가된 NLN(Lichter, 1982) 액체배지(대량요소만 1/2농도)로 부피 30ml로 맞추고, 잘 혼합된 소포자 용액은 피펫으로 페트리디시(60 $\times$ 15 mm)에 3ml씩 분주한 다음 파라필름(Parafilm)으로 1중 감고, 3M 마이크로포어(Micropore)로 2중으로 감아 밀봉하여 주었다.

1-2. 식물체로의 재생

추출을 마친 소포자 용액들을 암처리하였는데, 이는 초기배양온도 32.5 $^{\circ}$ C에서 1일간 처리하여 준 후, 25 $^{\circ}$ C 상온에서 9일 동안 배의 발생을 유도하여 주었다. 암배양을 마친 소포자 용액들은 배의 발생여부를 확인한 후, 진탕 배양기로 옮겨 70~80rpm 명상태로 10일 동안 추가로 배양하여 주었다. 형성된 배는 0.25% 젤라이트가 첨가된 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본 고체배지에 옮겨 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C에서 16시간/일 광주기로 3~4주 배양하여 유식물체를 유도하였다. 유도된 유식물체는 원예용 상토가 든 8cm 화분에 심고, 순화상(119cm $\times$ 35cm $\times$ 74cm)을 이용하여 3주간 순화를 시켰다.

1-3. 정식 및 채종

순화된 식물체는 개화를 유도하기 위하여 5 $^{\circ}$ C에서 30일 동안 저온 처리한 후, 원예용 상토를 넣은 큰 화분(30.5cm $\times$ 26.2cm $\times$ 20cm)에 정식하여 비닐하우스에서 재배하면서, 개화된 개체 중 화분이 있는 개체를 선발하여 뇌수분으로 자식시킨 후 임성 여부를 조사한 다음 채종하였다.

실시에 2. 환원당 함량이 증가된 배추 품종 선별

상기 소포자 배양법으로 육종된 실시에 1의 채종 종자들을 노지에 정식하고 재배하였다(도 3). 각 품종당 3포기 이상의 배추를 확보하여 잘게 썰어 동결건조한 후, 전체 환원당 함량을 하기와 같은 방법으로 2회 이상 반복 측정하였다.

2-1. 시료의 전처리

먼저, 튜브에 블랜더를 이용해 잘게 파쇄한 배추 0.1g 을 담고, 1.5ml의 5% TCA(Trichloroacetic acid) 용액을 넣은 뒤 1분 동안 볼텍싱하였다. 원심분리를 4 $^{\circ}$ C, 10,000 $\times$ g에서 15분 동안 진행하여 얻은 상등액을 필터(PTFE, 13mm, 0.2 μ m; Advantec, 미국)를 통과시켜 최종적으로 분석시료를 준비하였다.

2-2. 액체크로마토그래피를 이용한 환원당 정량분석

환원당 함량은 CarboPacTM (PAI (4 * 250mm), P/N 35391, 미국)을 장착한 고속액체크로마토그래피 시스템을 이용하여 분석하여 정량하였다. 이동상 A는 150mM NaOH를, B는 150mM NaOH, 600mM 아세트산나트륨(Sodium Acetate)을 이용하였다. 분리조건은 0~5분, 0% B; 5~15분, 10%; 15~20분, 100% B; 20~30, 0% B로 하였으며 유속은 분당 1ml로 하였다. 정량은 위한 표준품은 글루코스(glucose), 프락토스(fructose), 수크로스(sucrose), 말토스(maltose)를 이용하여 환원당의 함량을 정량하였다.

그 결과, 11696 품종(KACC98031P) 및 11698 품종(KACC98032P)의 환원당의 함량이 각각 식물 건조중량 1g당 336.6 및 330.3 mg임을 확인할 수 있었다. 즉, 본 발명에 따른 식물체는 환원당의 함량이 식물 건조중량 1g당 280mg 이상으로서, 종래의 배추 품종 대통 또는 옥황씨알의 평균 환원당 함량보다 최소 3배 이상 증가했음을 확인할 수 있었다(표 1). 상기 결과로부터, 본 발명에 따른 식물체, 즉 배추 품종은 환원당의 함량이 기존의 배추

에 비해 현저히 높은바, 이를 섭취하면 단맛으로 인한 기호도 증가를 유용하게 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

표 1

소포자 배양법에 의해 육종된 품종들의 환원당 함량

순번	품종	농도(mg/g dry matter)
1	11641	219.6
2	11642	202.05
3	11695	242.1
4	11696 (KACC98031P)	336.6
5	11697	281.7
6	11698 (KACC98032P)	330.3
7	11699	224.1
8	11700	306
9	대통	75
10	옥황씨알	81.75

수탁번호

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC98031P

수탁일자 : 20131015

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

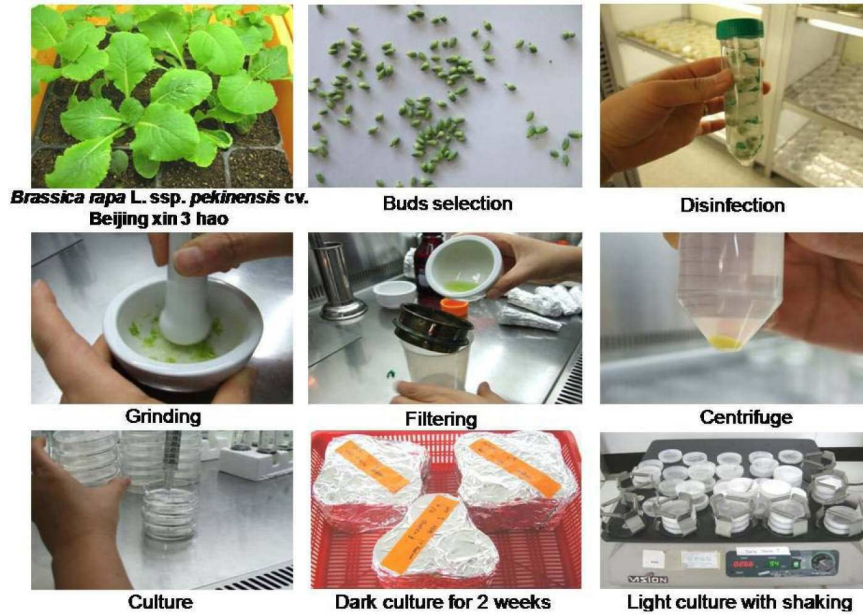
수탁번호 : KACC98032P

수탁일자 : 20131015

도면

도면1

Microspore culture of Chinese cabbage



도면2

Plants derived from microspore



도면3

(A)



(B)

