

## FT-IR 스펙트럼 기반 다변량통계분석기법에 의한 두과작물의 대사체 수준 식별체계 확립

송승엽 · 하태정 · 장기창 · 김인중 · 김석원

### Establishment of rapid discrimination system of leguminous plants at metabolic level using FT-IR spectroscopy with multivariate analysis

Seung Yeob Song · Tae Joung Ha · Ki Chang Jang · In-Jung Kim · Suk Weon Kim

Received: 17 July 2012 / Accepted: 2 August 2012  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** To determine whether FT-IR spectroscopy combined with multivariate analysis for whole cell extracts can be used to discriminate major leguminous plant at metabolic level, seed extracts of six leguminous plants were subjected to Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). FT-IR spectral data from seed extracts were analyzed by principal component analysis (PCA), partial least square discriminant analysis (PLS-DA) and hierarchical clustering analysis (HCA). The PCA could not fully discriminate six

leguminous plants, however PLS-DA could successfully discriminate six leguminous plants. The hierarchical dendrogram based on PLS-DA separated the six leguminous plants into four branches. The first branch was consisted of all three *Vigna* species including *Vigna radiata* var. *radiata*, *Vigna angularis* var. *angularis* and *Vigna unguiculata* subsp. *Unguiculata*. Whereas *Pisum sativum* var. *sativum*, *Glycine max* L and *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris* were clustered into a separate branch respectively. The overall results showed that metabolic discrimination system were in accordance with known phylogenetic taxonomy. Thus we suggested that the hierarchical dendrogram based on PLS-DA of FT-IR spectral data from seed extracts represented the most probable chemotaxonomical relationship between six leguminous plants.

S. Y. Song  
한국생명공학연구원 그린바이오센터  
(Green Bio Research Center, Korea Research Institute of  
Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 125 Gwahakro,  
Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea)

S. W. Kim (✉)  
생명자원센터  
(Biological Resource Center, Korea Research Institute of  
Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 125 Gwahakro,  
Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea)  
e-mail: kimsw@kribb.re.kr

S. Y. Song · I.-J. Kim  
제주대학교 생명공학과  
(Department of Biotechnology, Jeju National University, Jeju  
690-756, Korea)

T. J. Ha  
농촌진흥청 연구정책국 연구성과관리과  
(Research Policy Bureau, R&D Performance Evaluation &  
Management Division, RDA, 126 Suin-ro, Suwon, 441-707,  
Republic of Korea)

K. C. Jang  
국립식량과학원 기능성작물부 신소재개발과  
(Department of Functional Crop, National Institute of Crop  
Science (NICS), Rural Development Administration (RDA),  
Miryang 627-803, Republic of Korea)

**Keywords** Fourier transformation - infrared spectroscopy, leguminous plants, metabolic discrimination, Partial least square discriminant analysis (PLS-DA), Principal component analysis (PCA)

**Abbreviations** Fourier transformation - infrared spectroscopy (FT-IR), Partial least square discriminant analysis (PLS-DA), Principal component analysis (PCA)

## 서론

두과작물은 전세계적으로 48%의 기름 생산량을 차지하고 있는 경제적으로 중요한 작물이다(Singh and Hymowitz 1988). 또한 두과작물은 단백질 40%, 탄수화물 30% 그리

고 지방 20%를 함유하는 고기능성 식량작물이다(Jang et al. 2010). 두과작물은 우리나라 전역에서 재배되고 있으며, 오랜 세월 지역적 특성에 따라 다양한 품종들이 농가에서 재배되고 있다(Kim et al. 1993; Lee and Kim 1993). 최근 국산 콩을 이용하는 소비자가 증가하면서 국산 콩에 대한 관심이 급증하고 있지만 우리나라의 콩 재배면적 감소에 따른 생산량 감소로 식용콩 자급률은 32.5%에 불과하여 외국산 수입콩의 비중이 크게 증가하고 있는 실정이다(Im and Lee 2011). 이와 더불어 유전자 변형 농산물에 대한 소비자의 식품 안정성에 대한 우려도 크게 증가하고 있어서 국산 콩과 수입 콩의 원산지 식별은 물론 다양한 기능성 두과작물의 신품종 개발을 위해서도 신속한 품종 및 계통 식별방법의 개발이 요구되고 있다.

콩의 품종 및 변종의 식별 방법으로 RFLP, RAPD, SSR, AFLP와 같은 분자마커를 이용한 구분 방법들이 개발되어왔다(Keim and Shoemaker 1988; Thompson and Nelson 1998; Kim et al. 2006; Choi et al. 2000). 또한 유전적 다양성 분석과 품종 구분을 위한 분자마커로 SNP 마커들이 활용되고 있다(Yoon et al. 2007). 그러나 콩에 함유되어 있는 불포화지방산, 식이섬유, 올리고당, 이소플라본, 피틴산, 사포닌, 피니톨 및 티아민과 같은 다양하게 대사물질들을 대사체 마커로 이용하여 품종 선별이 이루어지고 있으나 아직 대사체 수준에서 식별 기술 개발에 대한 연구는 진행된 바가 없다(Jang et al. 2010; Hong et al. 2010). 최근 기기분석의 발달에 힘입어 대사체 분석기술에 대한 관심이 고조되고 있으며 급진적인 기술발전이 이루어지고 있다. 특히 대사체지문분석기술(metabolite fingerprinting)은 시료의 전세포추출물 대사체 정보로부터 다양한 다변량통계분석기법을 이용하여 대사체 수준에서 시료간의 양적, 질적 패턴 차이를 규명하는 연구 분야로 주로 FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy), HNMR(proton nuclear magnetic resonance spectroscopy) 및 MS(mass spectrometry) 등의 분석 데이터를 이용하여 시료의 식별에 활용이 되고 있다(Krishnan et al. 2005). 특히 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 기술은 유연관계가 높은 미생물종의 식별(Goodacre et al. 1998; Timmins et al. 1998; Wenning et al. 2002), 식물세포벽 돌연변이주 선별(Stewart et al. 1997; Chen et al. 1998), 고등식물의 종 구분(Kim et al. 2004) 및 품종 식별(Kim et al. 2007, 2009)에 활용이 가능함이 보고된 바 있다.

따라서 본 연구에서는 FT-IR 스펙트럼의 다변량통계분석 기법을 이용하여 국내에서 재배되고 있는 주요 두과작물들의 대사체 수준에서 신속한 구분 및 식별체계를 확립함으로써 재배환경에 따른 대사물질의 질적, 양적 변화를 규명하고 더 나아가 기능성 성분의 함량이 우수한 계통 선별을 위한 신속 품종식별 기술 발판을 구축하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

본 연구에 사용된 두과작물은 농촌진흥청 국립식량과학원에서 분양 받은 6종의 두과작물 건조종자를 사용하였다. 실험에 사용된 두과작물은 대두(*Glycine max* L.; Deawon, Eunha, Sohuk), 완두(*Pisum sativum* var. *sativum*; Ol, Cheongmi, Sacheol), 강낭콩(*Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris*; Kangnang-1ho, 3ho), 팥(*Vigna angularis* var. *angularis*; Yenkum, Chilbo, Chungju), 녹두(*Vigna radiata* var. *radiata*; Eooul, Jangan, Dasun) 그리고 동부(*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*; Kochang, Hwaseong, Kimje)이며 강낭콩 2종을 제외하고는 각 종별로 3개의 품종을 대사체 분석에 사용하였다(Fig. 1). 각각의 종자시료는 막자와 막자사발을 이용하여 분말형태로 분쇄하였다. 분쇄된 콩 종자시료는 -70°C 초저온냉동고에 보관하여 사용하였다.

### 두과작물 전세포추출물 제조

대두, 완두, 강낭콩, 팥, 녹두, 동부의 각 종자 분말 20 mg을 1.5 ml Eppendorf tube에 넣고 20%(v/v) methanol 용액을 200 µL씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50°C water bath에서 20분간 반응시킨 다음 13,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 새로운 tube에 옮긴 시료는 다시 한번 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 찌꺼기가 들어가지 않도록 상층액을 조심스럽게 새로운 tube에 옮겼다. 추출된 추출물은 -20°C에서 보관하여 FT-IR 스펙트럼 분석에 사용하였다.



**Fig. 1** The seeds of leguminous plants used in the study (A) *Glycine max* L. (B) *Pisum sativum* var. *sativum*. (C) *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris* (D) *Vigna radiata* var. *radiata*. (E) *Vigna angularis* var. *angularis* (F) *Vigna unguiculata* subsp. *Unguiculata* Scale bars represent 1 cm

## FT-IR 스펙트럼과 데이터 전처리 및 다변량 통계분석

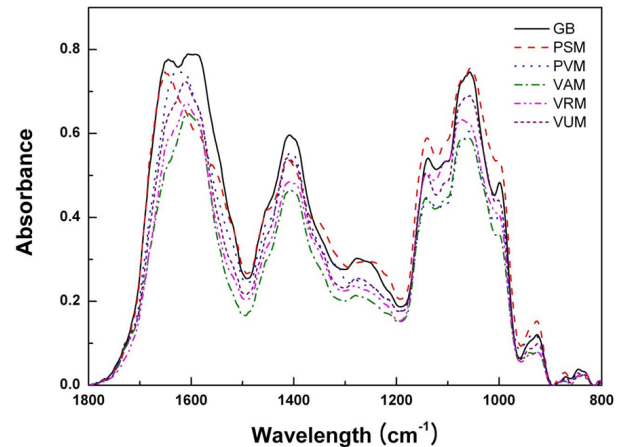
FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)을 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료를 5  $\mu$ L씩 384-well ZnSe plate에 분주하여, 37°C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 ZnSe plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 측정하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$  범위에서 그리고 4  $\text{cm}^{-1}$  간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료는 각각 3반복으로 FT-IR 스펙트럼을 반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker 에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램 (version 2.13.2)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(800~1800 $\text{cm}^{-1}$ )의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 2차 미분한 다음 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다.

가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘 (Wold 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.13.2)을 사용하여 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis)분석을 수행하였다(Fiehn et al. 2000; Trygg et al. 2007). PCA 및 PLS-DA 분석을 통해 얻어진 score를 이용하여 HCA(hierarchical clustering analysis) 분석하였으며 유사도 지수로 UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic mean analysis)를 사용한 euclidean distance를 측정하여 각 시료의 유연관계를 덴드로그램으로 나타냈다.

## 결과 및 고찰

### 주요 두과작물의 FT-IR 스펙트럼 비교 분석

두과작물로부터 전세포추출물의 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량통계분석을 통해 주요 두과작물의 대사체 수준에서 유연관계 규명 및 식별체계를 확립하였다. 대두, 완두, 강낭콩, 팥, 녹두, 동부 등 주요 두과작물은 FT-IR 스펙트럼상의 1500 ~ 1700, 1300 ~ 1500, 950 ~ 1100  $\text{cm}^{-1}$  부위에서 대사체의 양적, 질적 패턴 변화가 크게 이루어짐을

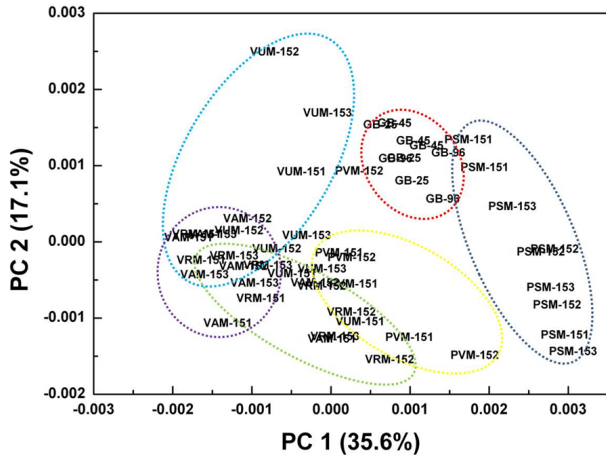


**Fig. 2** Representative FT-IR spectra from leguminous plants (A) GB : *Glycine max* L. (B) PSM : *Pisum sativum* var. *sativum* (C) PVM : *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris* (D) VAM : *Vigna angularis* var. *angularis* (E) VRM : *Vigna radiata* var. *radiata* (F) VUM : *Vigna unguiculata* subsp. *Unguiculata*

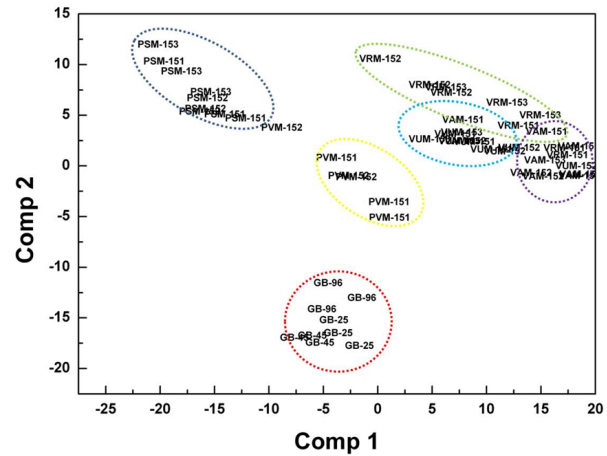
알 수 있었다(Fig. 2). FT-IR 스펙트럼의 1500 ~ 1700, 1300 ~ 1500 그리고 950 ~ 1100  $\text{cm}^{-1}$  부위는 각각 Amide I과 II 을 포함하는 아미노산 및 단백질계열의 화합물, phosphodiester group을 포함한 핵산 및 인지질 그리고 단당류나 복합 다당류를 포함하는 carbohydrates 계열의 화합물들의 질적, 양적 정보를 반영하는 부위이다(Parker 1983; Dumas and Miller 2003; Wolkers et al. 2004; Yee et al. 2004; D'Souza et al. 2008; Lopez-Sanchez et al. 2010). 즉 FT-IR 스펙트럼상의 질적, 양적 차이는 각 두과작물별로 종자내에 함유되어 있는 아미노산이나 단백질, 지방산, 그리고 탄수화물계통의 화합물들의 질적, 양적 차이가 현저하게 나타남을 의미한다. 따라서 FT-IR 스펙트럼 분석은 두과작물의 주요 대사체의 질적, 양적 변화를 예측하고 함량이 높은 계통의 선발 수단으로 신속한 활용이 가능할 것으로 기대된다.

### 두과작물의 FT-IR 스펙트럼 다변량 통계분석 및 대사체 수준 유연관계 비교

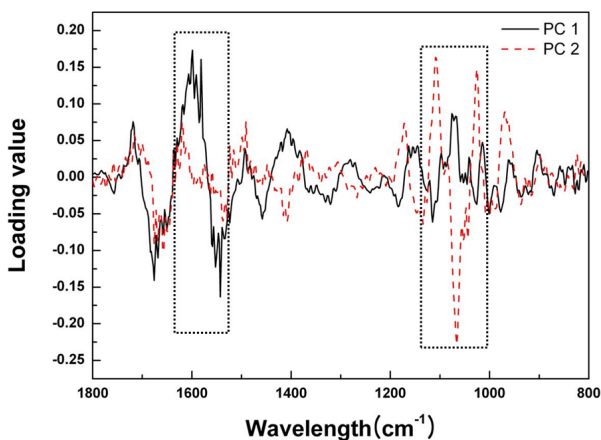
6종의 두과작물 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PCA 분석 결과 PC 1과 2 score는 각각 35.6%, 17.1%의 설명력을 갖고 있으며 전체 변이량의 약 52.7%를 반영하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 3). 비록 전체 변이량 전부를 설명할 수는 없었지만 각 두과작물 종의 영역내에 각각의 반복구는 물론 각 종에 속하는 3개 품종시료들이 분포하는 것으로 보아 대사체 수준에서 각 두과작물의 종 식별이 이루어지고 있음을 알 수 있었다. 대두콩, 강낭콩 및 완두콩의 경우 각 종의 영역이 중첩되지 않고 별도의 그룹을 형성하였으나 반면에 팥, 녹두, 동부는 그룹의 중첩이 이루어지면서 각 종별로 완전한 식별이 불가능하였다. 이는 팥,



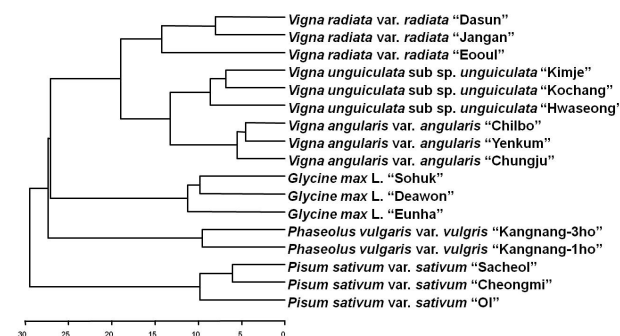
**Fig. 3** PCA score plot of FT-IR data from leguminous plants (A) GB : *Glycine max* L. (B) PSM : *Pisum sativum* var. *sativum* (C) PVM : *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris* (D) VAM : *Vigna angularis* var. *angularis* (E) VRM : *Vigna radiata* var. *radiata* (F) VUM : *Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata* Dot circles in figure represent boundary of each leguminous plant



**Fig. 5** PLS-DA score plot of FT-IR data from leguminous plants (A) GB : *Glycine max* L. (B) PSM : *Pisum sativum* var. *sativum* (C) PVM : *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris* (D) VAM : *Vigna angularis* var. *angularis* (E) VRM : *Vigna radiata* var. *radiata*. (F) VUM : *Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata* Dot circles in figure represent boundary of each leguminous plant



**Fig. 4** Loading value plot of PCA analysis from FT-IR data of leguminous plants. Dot rectangles represent significant FT-IR spectral region for metabolic discrimination of each leguminous plant



**Fig. 6** Hierarchical dendrogram of FT-IR data from leguminous plants

녹두, 동부의 경우 대사체 수준에서 유연관계가 콩보다는 매우 높음을 의미하는 것이다. 따라서 이 결과는 팥, 녹두, 동부가 분류체계상 동일한 속에 포함되는 계통분류학적 유연관계가 높은 식물종들이라는 사실과 일치하는 것으로 대사체 수준에서 유연관계가 계통분류학적 유연관계를 반영하고 있으며 대사체 수준에서 마커 탐색을 통하여 두과작물의 식별체계 확립이 가능할 것으로 기대된다.

각 두과작물의 대사체 수준 식별에 있어 중요한 FT-IR 스펙트럼 부위를 조사하였다(Fig. 4). FT-IR loading value를 보면 PC 1과 2의 분류하는 기준을 확연히 볼 수 있다. 두과작물의 식별에 있어 중요한 FT-IR 스펙트럼 부위는 1650 ~ 1550과 1150 ~ 1000  $\text{cm}^{-1}$  부위임을 알 수 있었다(Fig. 4). 이 부위는 FT-IR 스펙트럼상에서 차이를 보였던

부위(Fig. 2)와 거의 일치하는 것으로 amide I, II와 carbohydrates 계열의 화합물들의 질적, 양적 차이가 두과작물의 대사체 수준 식별에 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 4).

PLS-DA 분석의 경우 PCA 분석 보다 두과작물의 중간 식별이 뚜렷하게 나타났다(Fig. 5). PLS-DA score plot을 보면 대두콩, 완두, 강낭콩은 각각 별도의 그룹을 형성하지만 녹두, 팥, 동부는 하나의 그룹을 형성하였다. 즉 녹두, 동부, 팥이 콩에 비하여 상대적으로 대사체 수준에서 유연관계가 높음을 알 수 있었다(Fig. 5). 이처럼, FT-IR 스펙트럼 데이터 이용한 PLS-DA 분석으로 두과작물 간의 종 구분이 가능함을 알 수 있었다. HCA dendrogram 분석 결과를 보면 총 17개의 두과작물 시료들이 4개의 주요 그룹으로 구분이 이루어짐을 알 수 있었다(Fig. 6). 녹두, 동부, 팥이 하나의 그룹을 형성하고 있고, 대두콩, 강낭콩, 완두콩이 각각 그룹을 형성하고 있었다. 이상의 연구 결과로 볼 때 두과작물의 FT-IR 스펙트럼 다변량통계분



석을 통해 대사체 수준에서 두과작물의 식물 종 구분이 가능함을 알 수 있었다. SSR 마커를 이용한 야생콩의 유전적 다양성과 유연관계를 분석한 결과를 보면, 한국, 일본, 중국에서 수집된 야생콩의 유연관계는 중국 야생콩이 단독적으로 그룹을 형성하고, 한국, 일본 야생콩이 그룹간에 경계가 중첩되는 패턴을 볼 수 있었고, 중국 야생콩보다 일본 야생콩이 유전적으로 유사도가 높다는 것이 보고된 바 있다(Kim et al. 2010). 그리고 최근 콩에 존재하는 mannose와 galactose 함량비가 지리적 경향, 환경적 요인에 변화될 수 있으며 육종을 통해 고함유 계통의 선발이 가능함이 보고된 바 있다(Kim 2011). 또한, FT-IR 스펙트럼 데이터를 이용하여 바위술을 PLS 분석을 통해서 중간 유연관계를 조사한 보고에 따르면 개체간에 대사물질에 대한 차이를 알 수 있었고, 분류학적 유연관계가 거의 일치하고, 예측의 정확도가 92.9% 높게 나타났다고 보고된 바 있다(Kim et al. 2011).

따라서 본 연구에서 확립된 대사체 수준에서 두과작물의 식별 기술은 각 두과작물로부터 유용 기능성 물질의 함량이 높은 품종, 계통의 신속한 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대되며 육종을 통한 기능성 품종개발 가속화에 기여 할 수 있을 것으로 예상된다. 아울러 본 기술은 타작물의 기능성 품종 육성에도 효과적인 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

## 적 요

본 연구에서는 국내에서 재배중인 대표적인 두과작물(대두, 완두, 강낭콩, 팥, 녹두, 동부)종자로부터 전세포추출물의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 다변량통계분석(PCA, PLS-DA, HCA)을 이용하여 신속하고 간편한 종 구분체계를 확립하였다. 대사체수준에서 팥, 녹두, 동부는 유연관계가 높음을 알 수 있었으며 대두, 완두, 강낭콩은 비록 두과작물이지만 차이가 매우 큼을 알 수 있었다. 아울러 본 연구에서 얻어진 대사체 정보의 다변량통계분석에 의한 유연관계분석은 흥미롭게도 두과작물의 계통분류학적 유연관계와 밀접한 상관관계를 나타내었다. 따라서 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량통계분석은 방법의 간편성과 신속성을 고려할 때 두과작물의 계통이나 품종의 신속한 식별 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다. 또한 두과작물의 기능성 성분 함량 정보가 성공적으로 연계된다면 본 연구에서 확립된 대사체 기반 신속식별체계는 기능성 성분의 함량이 높은 계통이나 품종의 조기 선발수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

## 사사

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21 연구사업(PJ00832901)의 지원으로 수행되었습니다.

## 인용문헌

- Choi IY, Lim SH, Kim DW, Shin YS, Kim NS (2000) Classification of diverse soybean germplasm with morphological characters and molecular markers. *Kor J Genetics* 22:87-100
- Dumas P, Miller L (2003) The use of synchrotron infrared micro-spectroscopy in biological and biomedical investigations. *Vib Spec* 32:3-21
- D'Souza L, a Devi P, Shridhar MPD, Naik CG (2008) Use of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Study Cadmium-Induced Changes in *Padina Tetrastromatica* (Hauck) *Anal Chem. Insights* 3:135-143
- Fiehn O, Kopka J, Drmann P, Altmann T, Trethewey R, Willmitzer L (2000) Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol* 18:1157-1161
- Hong SB, Lee SJ, Hwang YH, Yoon KH, Lee SI, Nam MY, Song LS, Chung MG (2010) Variation of Anthocyanin, and Isoflavone Contents in Korean Black Soybeans Grown at Different Latitudinal Locations. *Kor J Environ Agri* 29: 129-137
- Im JB, Lee T (2011) Situation of International Production and Trade of Non-GM Dietary Soybean and Policy Implication. *Kor J Intl Agri* 23(1):115-122
- Jang SJ, Park SJ, Piao XM, Song HL, Hwang TY, Cho YG, Liu XH, Woo SH, Kang JH, Kim HS (2010) Genetic diversity and relationships of Korean, Japanese, and Chinese Jilin provincial wild soybeans (*Glycine soja* Sieb. And Zucc.) based on SSR markers. *Kor J Breed Sci* 42:87-99
- Kein P, Olsin T, Shoemaker R (1988) A rapid protocol for isolating soybean DNA. *Soybean Genet Newsletter* 15:150-152
- Kim CH (2011) Intraspecific Variation of *Glycine max* According to the Ratio of Mannose to Galactose in the Seeds. *Kor J Env Eco* 25:295-301
- Kim CH, Lee HJ, Kim YO (1993) Electrophoretic variation of seed proteins in *Robinia pseudo-acacia*. *Kor J Ecol* 16:515-526
- Kim SH, Jung JW, Moon JK, Woo SH, Cho YG, Jong SK, Kim HS (2006) Genetic Diversity and Relationship by SSR Markers of Korean Soybean Cultivars. *Kor J Crop Sci* 51:248-258
- Kim SW, Kwon YK, Seo JM, Woo TH, Liu JR (2011) Prediction and discrimination of taxonomic relationship within *Orostachys* species using FT-IR spectroscopy combined by multivariate analysis. *J Plant Biotechnol* 38:9-14
- Kim SW, Ban SH, Chung H, Cho SH, Chung HJ, Choi PS, Yoo OJ, Liu JR (2004) Taxonomic discrimination of higher plants by multivariate analysis of Fourier transform infrared spectroscopy data. *Plant Cell Rep* 23:246-250

- Kim SW, Cho SH, Chung H, Liu JR (2007) Genetic discrimination between *Catharanthus roseus* cultivars by multivariate analysis of fourier transform infrared spectroscopy data. *J Plant Biotechnol* 34:201-205
- Kim SW, Min SR, Kim JH, Park SK, Kim TI, Liu JR (2009) Rapid discrimination of commercial strawberry cultivars using fourier transform infrared spectroscopy data combined by multivariate analysis. *Plant Biotechnol Rep* 3:87-93
- Lee HJ, Kim CH (1993) Sees germination and thermal adaptation of seedlings in *Robinia pseudo-acacia*. *Kor J Ecol* 16:501-514
- Lopez-Sanchez M, Ayora-Canada MJ, Molina-Diaz A (2010) Olive Fruit Growth and Ripening as Seen by Vibrational Spectroscopy. *J Agric Food Chem*. 58:82-87
- Parker FS (1983) Applications of infrared, Raman and resonance Raman spectroscopy in biochemistry Plenum Press New York
- Singh RJ, Hymowitz T (1988) The genomic relationships between *Glycine max* (L.) Merr. and *G. soja* Sieb. and Zucc. as revealed by pachytene chromosome analysis. *Theor Appl Genet* 67: 705-711
- Thompson J, Nelson RL (1988) Core set primers to evaluate genetic diversity in soybean. *Crop Sci* 38:1356-1362
- Trygg J, Holmes E, Londstedt T (2007) Chemometrics in metabolomics. *J Proteomes Res* 6:467-479
- Wold H (1966) Estimation of principal components and related models by iterative least squares. In: K. R. Krishnaiah (ed.). *Multivariate Analysis*. Academic Press New York pp 391-420
- Wolkers WF, Oliver AE, Tablin F, Crowe JH (2004) A fourier transform infrared spectroscopy study of sugar glasses. *Carb Res* 339:1077-85
- Yee N, Benning LG, Phoenix VR, Ferris FG (2004) Characterization of metal-Cyanobacteria sorption reactions: A combined Macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environ Sci Technol* 38:775-82
- Yoon MS, Lee JR, Kim CY, Cho GT, Cho YH, Choi YM, Park SG, Lee DJ, Lee GB, Baek HJ (2007) Genetic Diversity of Wild Soybean(*G. soja*) by Collecting Distance and Elevation in S. Korea using SSR Markers. *Kor J Intl Agri* 19:101-105