

FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 기법을 이용한 바위솔속 식물의 분류학적 유연관계 예측 및 판별

권용국 · 김석원 · 서정민 · 우태하 · 유장렬

Prediction and discrimination of taxonomic relationship within *Orostachys* species using FT-IR spectroscopy combined by multivariate analysis

Yong Kook Kwon · Suk Weon Kim · Jung Min Seo · Tae Ha Woo · Jang Ryol Liu

Received: 4 March 2011 / Accepted: 14 March 2011

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract To determine whether pattern recognition based on metabolite fingerprinting for whole cell extracts can be used to discriminate cultivars metabolically, leaves of nine commercial *Orostachys* plants were subjected to Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). FT-IR spectral data from leaves were analyzed by principal component analysis (PCA) and Partial least square discriminant analysis (PLS-DA). The dendrogram based on hierarchical clustering analysis of these PLS-DA data separated the nine *Orostachys* species into five major groups. The first group consisted of *O. iwarenge* ‘Yimge’, ‘Jeju’, ‘Jeongsun’ and *O. margaritifolius* ‘Jinju’ whereas in the second group, ‘Sacheon’ was clustered with ‘Busan,’ both of which belong to *O. malacophylla* species. However, ‘Samchuk’, belong to *O. malacophylla* was not clustered with the other *O. malacophylla* species. In addition, *O. minuta* and *O. japonica* were separated to the other *Orostachys* plants. Thus we suggested that the hierarchical dendrogram based on PLS-DA of FT-IR spectral data from

leaves represented the most probable chemotaxonomical relationship between commercial *Orostachys* plants. Furthermore these metabolic discrimination systems could be applied for reestablishment of precise taxonomic classification of commercial *Orostachys* plants.

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

Abbreviations Fourier transformation - infrared spectroscopy (FT-IR), Hierarchical clustering analysis (HCA), Partial least square discriminant analysis (PLS-DA), Principal component analysis (PCA), Unweighted pair group method with arithmetic mean analysis (UPGMA)

서론

국내에 자생하는 바위솔 (*Orostachys japonica* (Maxim.) A. Berger)은 들나물과의 다육식물로서 환경에 대한 적응성이 뛰어나 특히 내건성 및 내한성이 강하고 (Kim 1996^b) 관상적 가치가 높아 원예 품종으로 상업적 활용이 이루어지고 있는 식물종이다. 또한 바위솔 추출물은 항산화 활성 및 암세포 증식 억제 효과를 가지고 있으며 (Kim et al. 2003) flavonol glycoside 유도체들의 함량이 높아 (Jang et al. 2005) 약용식물로서 활용이 기대되는 식물이다. 그러나 국내 자생 바위솔속 식물은 식물 계통분류학적 유연관계 분석이 미미하여 잎의 형태나 색깔 그리고 주로 발견지역에 따른 지역명으로 유통이 이루어지고 있다.

Y. K. Kwon · J. R. Liu (✉)
한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터
(Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research
Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 125
Gwahak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, South Korea)
e-mail: jrliu@kribb.re.kr

S. W. Kim
한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터
(Biological Resources Center, Korea Research Institute of
Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 125 Gwahak-ro,
Yuseong-gu, Daejeon 305-806, South Korea)

Y. K. Kwon · J. M. Seo · T. H. Woo
(주)오믹시스
(Omicisis Co. 125 Gwahak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-806,
South Korea)

아울러 외국에서 도입된 바위솔 속 식물들이 국내 원예 시장에 혼입되고 있다. 또한 Ohba (2003)는 돌나물과 식물 전체에 대한 분류학적 연구를 통해 국내에서 신종으로 보고된 바위솔속 식물에 대하여 동종이명으로 처리하고 있다. 따라서 자생 바위솔 속 식물의 보다 심층적인 계통분류학적 유연관계 연구를 통하여 자생 품종의 분류, 식별 및 정확한 품종화가 요구되고 있는 실정이다.

식물의 계통분류학적 연구는 형태적 특징이나 분자생물학적 DNA marker를 이용하여 주로 이루어지고 있다. 자생 바위솔 속 식물의 염색체 조사 (Kim 1996^a) 및 RAPD를 이용한 유연관계 분석이 보고 된 바 있다 (Lee et al. 2001). 또한 바위솔속 식물의 형태적 특징에 기초한 수리분류학적 보고 (Lee et al. 2003) 및 동위효소 분석을 통한 유전적 변이 (Kim and Park 2005) 조사가 이루어진 바 있다. 그러나 분석 방법에 따라 자생 바위솔속 식물의 유연관계 분석 결과가 일치하지 않으며 약간씩 차이를 보이고 있다. 따라서 보다 정확한 바위솔 식물의 분류체계 확립이 요구되고 있다.

대사체 분석기술은 시료의 전세포추출물로부터 다양한 다변량 통계분석 기법을 이용하여 대사체 수준에서 시료간의 양적, 질적 패턴 차이를 조사하는 연구 분야로 분석 장비는 주로 FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy), HNMR (proton nuclear magnetic resonance spectroscopy) 및 MS (mass spectrometry) 등이 사용되고 있다 (Krishnan et al. 2005). 특히 Fourier 변환 적외선 분광분석법 (FT-IR)은 물질의 분자 진동에 의한 에너지 변화를 측정하여 대사산물의 정성·정량 분석에 이용하는 기술로서 감수도가 높고 비파괴적이며 다수의 시료에 적용하기 쉽고 간편하게 스펙트럼을 조사할 수 있다. 이와 같은 장점으로 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 선발 (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 가능하다.

따라서 본 연구에서는 바위솔속 식물체의 전세포추출물의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 이용하여 바위솔의 유연관계를 분석하고 아울러 대사산물 패턴분석을 통해 바위솔속 식물의 신속한 종 식별 예측 체계를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용된 바위솔속 식물종은 바위솔 (*Orostachys japonica* (Maxim.) A.Berger), 쯤바위솔 (*O. minuta* (Kom.)

A.Berger) 그리고 각각의 지역명이 붙여진 삼척바위솔 (*O. malacophylla* (Pall.) Fisch. 'Samchuk') 제주바위솔 (*O. iwarenge* (Makino) Hara 'Jeju'), 정선바위솔 (*O. iwarenge* 'Jeongsun'), 임계바위솔 (*O. iwarenge* 'Yimge'), 진주바위솔 (*O. margaritifolius* Y. N. Lee 'Jinju'), 사천바위솔 (*O. malacophylla* 'Sacheon') 및 부산바위솔 (*O. malacophylla* 'Busan') 등 총 9종의 바위솔 식물을 사용하였다. 바위솔, 쯤바위솔, 삼척바위솔, 제주바위솔, 정선바위솔, 사천바위솔 및 부산바위솔의 경우 9개의 식물체를 확보하였으며, 임계바위솔과 진주바위솔의 경우 4개 식물체를 확보하였다 (Fig. 1). 배양환경 차이에 따른 대사산물 패턴의 차이를 최소화하기 위하여 모든 식물체는 동일한 조건에서 생육되고 있는 동일 농장 (충청남도 논산시)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 식물체 상층부의 어린 잎을 제외하고 최대로 신장이 이루어진 성숙 잎을 각각 채취하였다. 대사체 분석을 위한 최소 시료 확보를 위해 제주바위솔, 삼척바위솔, 정선바위솔, 사천바위솔, 부산바위솔, 임계바위솔 및 진주바위솔처럼 비교적 넓은 잎을 가진 식물체는 각 개체당 2~4장의 잎을 절취하였으며, 중간 크기의 잎을 가진 바위솔은 잎 5~7장, 쯤바위솔처럼 잎이 작은 경우 12~15장의 잎을 절취하였다. 절취된 각 개체 별 잎 시료는 액체질소에 급속 냉동시킨 다음 동결건조 전까지 -70°C 초저온 냉동고에 보관하였다.

바위솔 잎 전세포추출물 제조 및 FT-IR 스펙트럼 조사

동결건조가 이루어진 각각의 바위솔 시료는 막자사발을 이용하여 잘게 분쇄하였다. 분쇄된 powder는 추출물 건

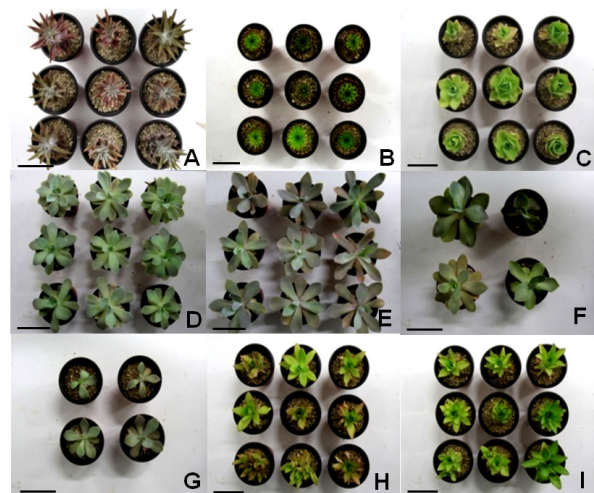


Fig. 1 Mature plants of *Orostachys* used in the study.

A: *O. japonica*; B: *O. minuta*; C: *O. malacophylla* 'Samchuk'; D: *O. iwarenge* 'Jeju'; E: *O. iwarenge* 'Jeongsun'; F: *O. iwarenge* 'Yimge'; G: *O. margaritifolius* 'Jinju'; H: *O. malacophylla* 'Sacheon'; I: *O. malacophylla* 'Busan'. Scale bars represent 5 cm

조건까지 -70°C 초저온냉동고에 보관한 다음 사용하였다. 바위솔 전세포추출물을 제조하기 위하여 바위솔 개체 별로 분쇄된 powder를 각각 10 mg을 취해 1.5 ml Eppendorf tube에 넣고 20% MeOH용액 200 μl 을 첨가하여 잘 섞어 주었다. 시료가 첨가된 tube를 50°C 수조에 넣고 20분간 방치 한 다음 13,000 rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. Tube 바닥의 침전물이 혼합되지 않도록 상층액을 조심스럽게 새 tube로 옮긴 후 FT-IR 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료 별 상층액 5 μl 를 FT-IR 스펙트럼 조사용 silicon plate 위에 도말하여 FT-IR 스펙트럼을 조사하였다. FT-IR 스펙트럼은 FT-IR spectrometer (Bruker Tensor27)에 장착된 HTS-XT 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 IR global 광원을 이용하여 DTGS 검출기로 분석 하였으며 스펙트럼은 총 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 범위, 4 cm^{-1} 간격으로 총 128회 반복 조사 후 얻어진 평균 스펙트럼을 데이터 분석에 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 조사는 각 시료당 3회 반복 조사하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab (ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다.

FT-IR 스펙트럼 데이터 가공 및 다변량 통계분석

FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램 (ver 2.5)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점 ($800 \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$)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. 이와 같이 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘 (Wold 1966)에 따라 PCA (Principal component analysis) 및 PLS-DA (Partial least squares discriminant analysis)분석을 수행하였다. PCA 및 PLS-DA 분석 결과로부터 얻어진 score를 이용하여 HCA (hierarchical clustering analysis) 분석을 수행하였으며 유사도 지수로 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean analysis)를 이용한 euclidean distance를 측정하여 각 시료의 유연관계를 덴드로그램으로 표시하였다. 아울러 FT-IR 스펙트럼 데이터를 이용하여 PLS-DA의 바위솔 중 판별 예측력을 조사하기 위해 총 213개의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 무작위로 training set (170개)와 test set (43개)로 나눈 다음 cross validation test를 수행하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 바위솔 잎으로부터 전세포추출물의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 다변량 통계분석 기법을 이용하여 신속하고 간편한 종 구분 및 예측 체계를 확립하였다. 바위솔, 쯤바위솔, 제주바위솔 및 사천바위솔 잎추출물의 FT-IR 스펙트럼을 비교한 결과 $1700 \sim 1800$, $1500 \sim 1700$, 그리고 $950 \sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ 부위에서 스펙트럼의 양적, 질적 패턴 변화가 크게 이루어짐을 알 수 있다 (Fig. 2). FT-IR 스펙트럼의 이 부위는 각각 lipids, amide I, II 그리고 carbohydrates 계열의 화합물들의 양적, 질적인 정보를 반영하는 부위로 따라서 이들 계열의 전반적인 대사산물이 국내에 자생종인 바위솔속 식물간에 차이가 있음을 의미하는 결과라 사료된다.

바위솔 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PCA 분석 결과 score 1과 2의 설명력은 각각 35.9%와 21.3%로 전체 변이량의 57.2%를 반영하고 있어 전체 데이터 set에서 이루어지는 변이량을 충분히 반영하지 못함을 알 수 있다 (Fig. 3A). 또한 PCA score plot에서 동일 종에 속하는 각각의 개체들의 분포가 넓게 퍼져서 이루어져 각 집단의 경계가 겹쳐짐을 알 수 있었다 (Fig. 3A). 제주바위솔의 경우 삼척바위솔과 거의 겹치며 사천바위솔 역시 정선바위솔 및 부산바위솔과 집단 경계가 겹쳐짐을 알 수 있었다. 이 결과는 바위솔의 동일 집단 내 변이가 이종 집단 사이의 변이보다 크다는 것을 의미하며 궁극적으로 PCA 분석만으로는 바위솔속 식물의 종 구분이 불가능 함을 의미한다. PCA 분석 데이터를 이용한 HCA dendrogram 역시 바위솔이 쯤바위솔이나 등근바위솔 및 연화바위솔과 다르게 집단을 형성하지만 RAPD (Lee et al. 2001), 형태적 특징 (Lee et al. 2003) 및 동위효소 (Kim and Park 2005)를 기초로 한 바위솔속 식물간의 분류학적 유연관계와 일치하지 않았다 (Fig. 3B).

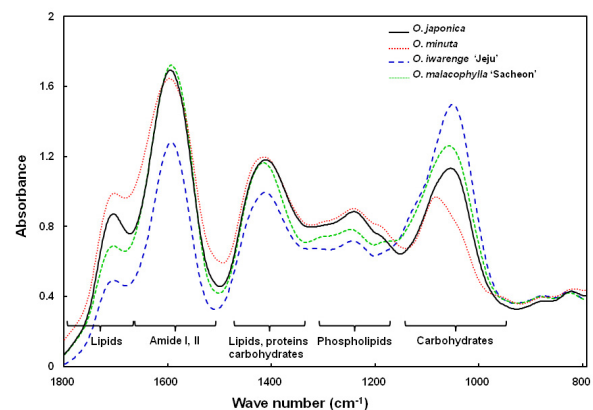


Fig. 2 Spectral comparison of representative FT-IR spectra from leaves of *O. japonica*, *O. minuta*, *O. iwarenge* 'Jeju' and *O. malacophylla* 'Sacheon'

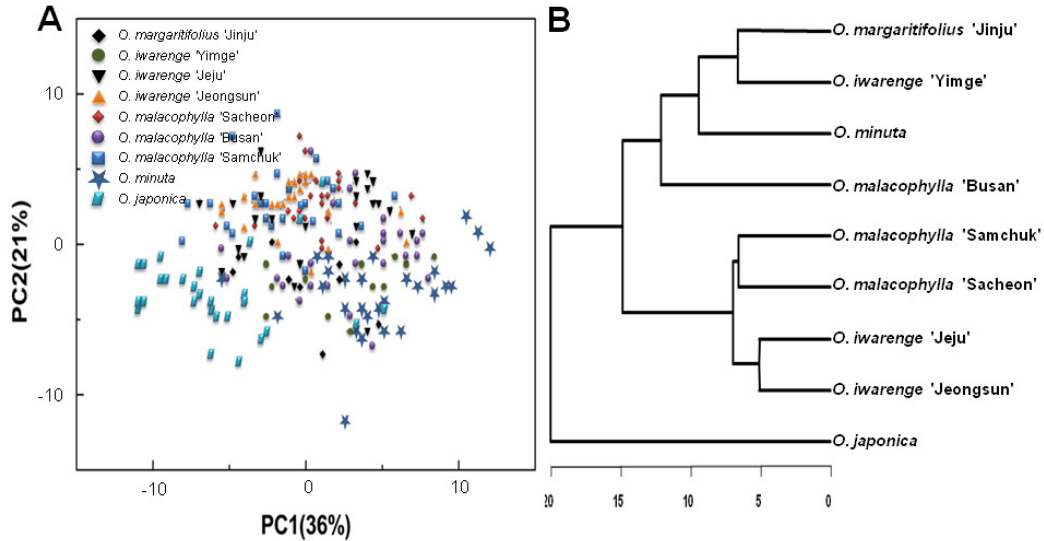


Fig. 3 PCA score plot (A) and HCA dendrogram (B) of FT-IR data from leaves of nine *Orostachys* plants. A: Two-dimensional PCA score plot of FT-IR data from nine *Orostachys* plants. The first two principal components are displayed, accounting for 35.9% and 21.3% (57.2% total) of the total variation. B: A dendrogram based on HCA of FT-IR data of nine *Orostachys* plants

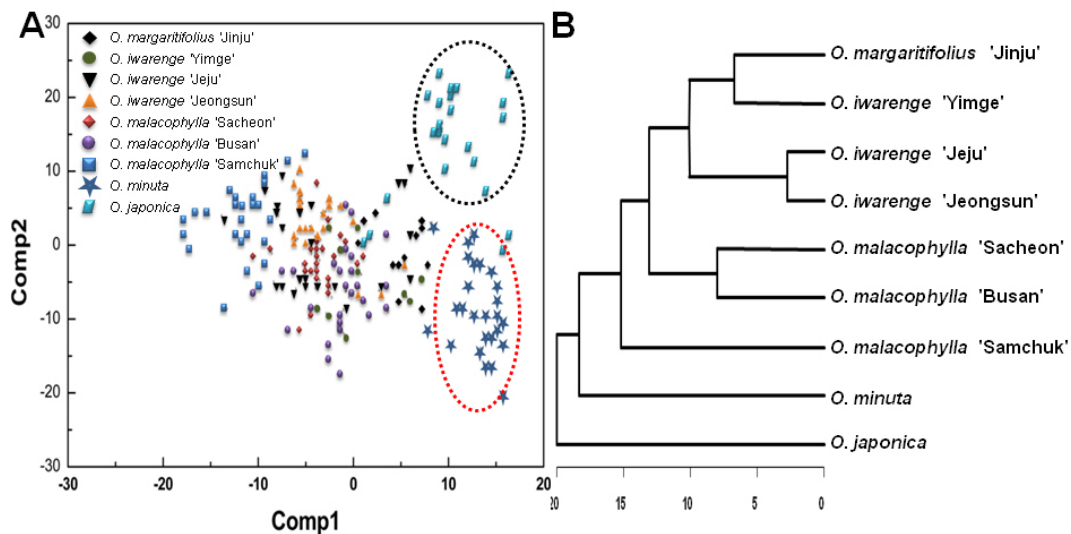


Fig. 4 PLS-DA score plot (A) and HCA dendrogram (B) of FT-IR data from leaves of nine *Orostachys* plants. A: Two-dimensional PLS-DA score plot of FT-IR data from nine *Orostachys* plants. B: A dendrogram based on HCA of FT-IR data of nine *Orostachys* plants. Black and red circles represent leaves of *O. japonica* and *O. minuta*, respectively

PLS-DA 분석의 경우 PCA 분석에 비해 동일 집단내 변이가 작아져 이종 집단간의 구분이 가능하였다 (Fig. 4). PLS-DA plot을 보면 제주바위솔을 제외하고 대부분 바위솔속 식물들이 동일 종끼리 집단을 형성하며 집단간의 경계가 더욱 분명해짐을 알 수 있었다 (Fig. 4A). 특히 바위솔과 좀바위솔 집단의 공간적 거리가 연화바위솔이나 둥근바위솔에 비해 매우 크게 나타났다. 이 결과는 바위솔속 식물의 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PLS-DA 분석을 통해 바위솔속 식물의 집단 구분이 가능함을 의미하는 것이다. PLS-DA 데이터로부터 얻어진 HCA dendrogram을

보면 총 9개의 바위솔속 식물들이 5개의 소집단으로 구분이 이루어짐을 알 수 있었다 (Fig. 4B). 바위솔이 가장 외곽에 위치하며 그사이에 좀바위솔이 위치하고 연화바위솔로 분류되어 있는 임계바위솔, 제주바위솔, 및 정선바위솔이 하나의 소그룹으로 집단을 구성하고 있음을 알 수 있었다. 한편 둥근바위솔로 분류되어 있는 사천바위솔 및 부산바위솔은 동일 소그룹에 집단 형성이 이루어지지만 삼척바위솔은 둥근바위솔 집단에서 벗어나 별도의 그룹을 형성함을 알 수 있었다. 진주바위솔의 경우 별도의 종으로 구분되고 있으나 본 연구 결과에서는 연화

바위솔 집단에 그룹을 형성함을 알 수 있었다. RAPD (random Amplification of Polymorphic DNA)를 이용한 바위솔속 식물의 집단 구분 결과를 보면 연화바위솔과 둥근바위솔이 유연관계가 높으며 바위솔과 좀바위솔은 비교적 유연관계가 높지 않음을 보고한바 있다 (Lee et al. 2001). 본 연구 결과에서도 삼척바위솔을 제외하고 보면 RAPD를 이용한 연구 결과와 유사한 패턴을 보임을 알 수 있었다. 또한 23개의 형태적 특성의 수리분류학적 연구 결과 역시 연화바위솔과 둥근바위솔 사이의 유연관계가 높지만 동일종 내에서도 지역적 특성에 따라 종내 변이가 다양하여 바위솔속 식물들을 바위솔, 좀바위솔, 연화바위솔, 둥근바위솔 그룹으로 집단구분이 이루어진다고 보고한 바 있다 (Lee et al. 2003). 아울러 동위효소를 이용한 바위솔속 식물의 유연관계 분석을 통해 한국산 바위솔속 종간에는 유전적 동질성이 낮으며 이는 지리적 종분화 과정을 통하여 점진적인 분화가 이루어짐을 시사한 바 있다 (Kim and Park 2005). 따라서 본 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PLS-DA 분석 결과는 삼척바위솔을 제외하고는 RAPD (Lee et al. 2001), 형태적 특징 (Lee et al. 2003) 및 동위효소를 기초로 한 바위솔속 식물간의 분류학적 유연관계 보고와 거의 일치 함을 알 수 있어 향후 이를 통한 바위솔속 식물의 신속한 종 구분 체계 확립이 가능

할 것으로 기대된다.

FT-IR 스펙트럼 데이터의 PLS-DA 분석을 통하여 바위솔속 식물의 종 예측이 가능한지 여부를 cross-validation test를 수행하였다. 그 결과 바위솔 종 예측의 정확도는 92.9%이었다. 그러나 본 cross-validation 결과는 random sampling에 따라서 예측을 하였으며 총 100번을 예측을 하여 정확도를 계산하였고 평균값으로 예측 정확도를 계산하였다. 첫 번째 예측을 예시로 보면, 각각 예측이 잘못된 경우는 정선바위솔 1개 시료를 제주바위솔로 예측하였으며 부산바위솔 1개 시료를 사천바위솔로 각각 예측하였다 (Table 1). 그러나 정선바위솔 및 제주바위솔은 연화바위솔에 분류되고 부산바위솔 및 사천바위솔 역시 둥근바위솔에 분류되어 동일 종 내에 속하기 때문에 대사산물의 패턴이 거의 유사하였기 때문에 예측이 실패한 것으로 사료된다. 본 연구그룹에서는 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 기법을 활용하여 고등식물의 종 구분 (Kim et al. 2004) 및 일일초 (Kim et al. 2007) 와 딸기 (Kim et al. 2009) 의 품종 식별 (2009)이 가능함을 보고한 바 있다. 향후 대사산물 추출 조건의 다양화 및 표준화 그리고 보다 다양하고 많은 수의 바위솔 시료 분석이 이루어진다면 PLS-DA 방법을 통한 종예측 함수의 신뢰도를 높일 수 있을 것으로 사료되며 이를 기반으로 바

Table 1 The PLS-DA classification results of the of nine *Orostachys* plants. The classification result of the discriminant analysis of the investigated *Orostachys* samples represented in figure 1. The discriminant functions were determined using the first 7 principal components determined by principal component analyses. In cross-validation, each case is classified by the functions derived from all other cases; 100.0% of original grouped cases, while 95.4% of cross-validated grouped cases were correctly classified

	Prediction									Total
	<i>O. iwarenge</i> (Jeongsun)	<i>O. malacophylla</i> (Busan)	<i>O. malacophylla</i> (Sacheon)	<i>O. malacophylla</i> (Samchuk)	<i>O. japonica</i>	<i>O. iwarenge</i> (Yimge)	<i>O. iwarenge</i> (Jeju)	<i>O. minuta</i>	<i>O. margaritifolius</i> (Jinju)	
Count <i>O. iwarenge</i> (Jeongsun)	3	0	0	0	0	0	1	0	0	4
<i>O. malacophylla</i> (Busan)	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3
<i>O. malacophylla</i> (Sacheon)	0	0	9	0	0	0	0	0	0	9
<i>O. malacophylla</i> (Samchuk)	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6
<i>O. japonica</i>	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5
<i>O. iwarenge</i> (Yimge)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>O. iwarenge</i> (Jeju)	0	0	0	0	0	0	5	0	0	5
<i>O. minuta</i>	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8
<i>O. margaritifolius</i> (Jinju)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Total	3	2	10	6	5	1	6	8	2	43

위술의 신속하고 정확한 유연관계 규명 및 종 예측체계 개발이 가능할 것으로 기대된다.

본 연구에서는 바위솔 잎으로부터 전세포추출물의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 PLS-DA 방법을 이용하여 신속하고 간편한 종 구분 및 95.4% 정확도를 보이는 예측 체계를 확립하였다. 본 연구그룹에서는 본 기술을 통하여 고등식물의 종 구분 (Kim et al. 2004) 및 품종 식별 (Kim et al. 2007, 2009)이 가능함을 보고한 바 있다. 따라서 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PLS-DA 분석 방법은 방법의 간편성과 신속성을 고려할 때 바위솔속 식물의 신속한 식별 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다. 아울러 본 연구에서 확립된 대사체 기반 식별체계는 현재 시장에서 유통되고 있는 바위솔속 식물들의 지역적 기반 분류체계를 보다 정확한 계통분류학적 분류체계로 재구축하는데 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 KRIBB 기관고유사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Chen L, Carpita NC, Reiter WD, Wilson RH, Jeffries C, McCann MC (1998) A rapid method to screen for cell-wall mutants using discriminant analysis of fourier transformation infrared spectra. *Plant J* 16:385-392
- Goodacre R, Timmins M, Burton R, Kaderbhai N, Woodward AM, Kell DB, Rooney PJ (1998) Rapid identification of urinary tract infection bacteria using hyperspectral whole-organism fingerprinting and artificial neural networks. *Microbiology* 144:1157-1170
- Jang SH, Kang DM, Kang JH, Park JC, Lee SG, Shin SC (2005) Changes in flavonol glycoside contents of *Orostachys japonicas* A. Berger. according to cultivation conditions. *Kor J Medicinal Crop Sci* 13:250-254
- Kim CH, Park JH, Lim JK, Lee KJ, Chung GY, Jeong HJ (2003) The activity of antioxidants and suppression of cancer cell proliferation in extracts of *Orostachys japonicas* A. Berger. *Kor J Medicinal Crop Sci* 11:31-39
- Kim HD, Park KR (2005) Genetic variation in five species of Korean *Orostachys* (Crassulaceae). *Kor J Plant Taxon* 35: 295-311
- Kim IS (1996^a) Chromosome studies of Korean *Orostachys* species (Crassulaceae). *Kor J Plant Tax* 26:183-190
- 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
- Kim TJ (1996^b) Korean resources of plants. Seoul National University Publishing Department, Seoul. pp. 67-68
- Krishnan P, Kruger NJ, Ratchliffe RG (2005) Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR. *J Exp Bot* 56:255-265
- Lee BA, Kim HH, Cho YG, Lee CH (2001) Analysis of genetic relationship among Korean native *Orostachys* species using RAPD. *Kor J Hort Sci Technol* 19:159-162
- Lee KW, Kim HD, Park KR (2003) Numerical taxonomy of Korean *Orostachys* (Crassulaceae). *Kor J Plant Taxon* 33: 359-371
- Ohba H (2003) Illustrated handbook of succulent plants: Crassulaceae. Egli U (ed.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp.186-190
- Stewart D, Yahiaoui N, McDougall GJ, Myton K, Marque C, Boudet AM, Haigh J (1997) Fourier-transform infrared and Raman spectroscopic evidence for the incorporation of cinnamaldehydes into the lignin of transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants with reduced expression of cinnamyl alcohol dehydrogenase. *Planta* 201:311-318
- Timmins EM, Howell SA, Alsberg BK, Noble WC, Goodacre R (1998) Rapid differentiation of closely related *Candida* species and strains by pyrolysis-mass spectrometry and Fourier transform-infrared spectroscopy. *J Clin Microbiol* 36:367-374
- Wenning M, Seiler H, Scherer S (2002) Fourier-transform infrared microspectroscopy, a novel and rapid tool for identification of yeasts. *Appl Environ Microbiol* 68:4717-4721
- Wold H (1966) Estimation of principal components and related models by iterative least squares. In: Krishnaiah, K. R. (Ed.), *Multivariate Analysis*, Academic Press, New York, pp. 391-420