



고위도 지역에서 내한성 차나무 육성을 위한 국내외 수집종의 생육 및 특성분석

허남기* · 이광재 · 김희연 · 임상현 · 함헌주 · 김경희 · 이철훈¹ · 한상섭²
강원도농업기술원, ¹고성군농업기술센터, ²전북대학교 농생명과학대학

Analysis on Growth and Features of Varieties Collected in Korea and Abroad for Growing Tea Trees with Cold Hardiness at High Altitudes

Nam-kee Heo*, Kwang-Jae Lee, Hee-yeon Kim, Sang-hyen Leem, Heon-Joo Ham,
Kyeng-Hee Kim, Cheol-Hun Lee¹, and Sang-seob Han²

Gangwondo Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 200-822, Korea

¹Goseong Agricultural Technology Center, Goseong 219-803, Korea

²Agriculture & Life Science, Chonbuk National University, Cheonju, 561-756, Korea

Abstract This study investigated the genetic characteristics of tea tree lines collected both in Korea and abroad via a functional analysis of growing features such as cold hardiness. The purpose of this study was to determine the conditions required for the stable cultivation of tea trees in Goseong at high altitudes and under climatic conditions less favorable than those in southern regions. In accordance with the analysis, 8 lines including GS 1 showed stronger cold hardiness than Yabukida, the standard variety, and the harvest period was faster by 1 to 4 days compared to Yabukida. The number of leaves per stock was 102 to 155 in 6 lines. In accordance with the analysis on indoor freezing (EC), 16 lines had high resistance to freezing with LT_{50} (winter killing temperature) from -10.15 to -12.42°C . The total catechin content was 4.79 to 7.16%, similar to or lower than that of Yabukida. However, GS 8 and GS 15 had higher GCg and ECg values, respectively. The GS 7 and GS 18 lines had lower caffeine content, whereas the tannin content was lower in the G21 line. RAPD classified the varieties into 3 groups based on 75% similarity. It was found that 3 lines, GS 15, GS 19 and GS 21, were genetically very similar. It was estimated that 5 lines, GS 15, 16, 19, 21 and GS 22, which were selected according to strong cold hardiness, can be grown as promising lines at high altitudes.

Key words: green tea, high altitude, freezing resistance, RAPD, selection

서 론

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntze)는 아열대성 상록식물로서 재배적지는 연평균 온도가 $13\sim 16^{\circ}\text{C}$ 이며, 겨울철 최저 평균온도는 $-5\sim -6^{\circ}\text{C}$ 이상의 지역으로 최저 $-13\sim -14^{\circ}\text{C}$ 이하가 되면 재배가 어려운 작목이라고 알려져 있다. 따라서 우리나라 차 재배는 연 평균 기온이 13°C 이상 되는 동쪽지역으로는 울산, 서쪽으로는 변산반도를 잇는 따뜻한 지역에서 재배되고 있으며 차 주요산지로는 제주도를 비롯한 전남지역에서 재배가 이루어지고 있

다(1-3).

기후 변화에 관한 정부간 패널에 의하면 지구는 지난 1세기 동안 약 0.74°C 상승하였고, 향후 1세기 동안 최대 6.4°C 상승될 것으로 예상하고 있으며 우리나라의 경우도 연평균 기온도 2071~2100년까지 $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 정도 상승하여 서해안과 동해안 지역을 비롯한 한반도가 아열대의 기후로 변화 될 것으로 예측하고 있다(4).

최근 들어 이러한 지구 온난화 진행과 더불어 차나무 재배가 남부지방에서만 가능하다는 고정관념에서 탈피하여, 강원도 동해안에서는 산, 바다, 호수가 어우러진 천혜의 자연관광 조건과 수도권의 접근성을 바탕으로 새로운 관광 작목으로 육성하기 위하여 2004년부터 차 재배를 시작하였다. 2010년 현재 재배 가능성이 확인되는

*Corresponding author: Nam-kee Heo
Tel: 82-33-248-6530
Fax: 82-33-248-6555
E-mail: windows@korea.kr

등 일부 가시적인 효과를 나타내고 있지만 위도가 높은 강원도 고성지역은 남부지방보다 불리한 기후조건에서 좀 더 안정적인 재배를 위하여 국내는 물론 국외로부터 다양한 유전자원 수집과 유망계통의 선발을 통하여 내한성 품종육성이 시급히 요구되고 있는 실정이다. 이에 본 연구는 그동안 국내외에서 수집한 다양한 계통들을 강원(고성)지역에 공시하여 각종 생육특성과 기능성 성분분석 및 유전적 형질 등을 조사하여 고품질 내한성 차나무 육성 기초 자료로 활용하고자 수행하였다

재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 사용된 차나무는 2006년 국내외에서 자생하는 차나무를 중심으로 종자를 채취하여(Table 1) 1년간 육묘 후 각 계통에 GS (Go Seong)명칭을 부여하여 강원도 고성군 현내면 산학리(북위 38° 28' 동경 128° 29' 해발 40 m)에 소재한 농가포장에 재식거리 180 cm × 30 cm로 순위배열 단반복으로 정식하였고, 그 후 3년째 시험포장에서 조사 분석하였다.

차나무는 자가불화합성인 타가수정작물이므로 같은 지역에서 수집한 계통일지라도 개체간 유전적 조성의 차이가 있다(5). 따라서 금후 우수계통 선발 시 영양계 증식의 모본으로 활용코자 공시된 같은 계통 중에서 개체의 유전적 연속성을 위하여 생육이 우수한 1 개체를 선발하여 Tagging을 하고 그 개체를 조사하였다.

2. 수집종의 생육 및 일반특성

시험포장에서의 생육 및 일반특성 조사는 농촌진흥청 표준조사방법에 준하였다. 내한성은 주당 잎의 적고발생 비율로서 0: 무반병, 1: 1% 미만, 3: 1~10%, 5: 10.1~30%, 7: 30.1~50%, 9: 50.1% 이상 등 1~9의 수준으로 조사하였으며, 수확기는 출개도가 40~70%에 도달한 시기를 관찰 조사하였다. 새싹길이는 수확면 부터 심의 기부까지의 길이, 새싹 수확수는 주당 전체아수, 100아중, 수량은 주당으로 조사하였다.

3. 내동성 검정

Dexter 등의 내동성 분석을 위한 전기전도도검정(electrical conductivity) 방법(6)과 천 등의 방법(7)을 사용하였는데, 시료 채취 시 엽위별 변이성이 있으므로 이를 최소화하기 위하여 차나무에서 상위 3엽의 잎을 채취하여 4°C, -10°C, -15°C, -20°C, -25°C, -30°C에서 2시간씩 동해처리하고, 동해 처리한 차잎을 같은 크기 leaf disk (지름 6 mm)로 절단하여 각각의 튜브에 20개씩(약 0.2 g)

Table 1. Location of tea tree (*Camellia sinensis* L.) population

No.	Location	Collection site or source
GS 1	Jeonnam	Sunchang Ingue
2	Jeonnam	Yuengkwang Bulgab (Bulgabsa I)
3	Jeonnam	Gurye Kangyeu (Cheoeunsa)
4	Jeonnam	Suncheon SongKwang (Songgwangsa)
5	Chungnam	Nonsan Kanggueng
6	Jeonnam	Suncheon juam
7	Jeonnam	Yeonggwang Bulgab (Bulgabsa II)
8	Jeonnam	Naju Dado (Unhungsa I)
9	Jeonnam	Suncheon Sangsa
10	Jeonnam	Naju Dado (Unhungsa II)
11	Jeonnam	Suncheon Seungju (Seonamsa)
12	China	Habukseong Seokgajang (I)
13	China	Habukseong Seokgajang (II)
14	China	Habukseong Seokgajang (III)
15	Jeonbuk	Jeongeub heungdeok (I)
16	Jeonbuk	Jeongeub heungdeok (II)
17	Jeonbuk	Jeongeub Sannae
18	Jeonnam	Jangheung pansan (Cheongwansa)
19	Jeonbuk	Gunsan Hoihyun
20	Jeonnam	Gurye Ganjeon (piagol)
21	Jeonnam	Goksung Osan (gwaneumsa)
22	Jeonnam	Damyang yong (Boriam)
23	Jeonnam	Gurye Masan (hwaeumsa)
Yabukita	Jeonnam	Munan Cheonggye

넣은 후 증류수 10 mL를 가해 4°C에서 22시간 교반시킨 후 EC meter를 이용하여 실온에서 EC₁을 측정하였다. 동일 시료가 들어 있는 시험관을 전기오븐에서 90°C에서 2시간 처리하고, 4°C에서 22시간 교반시킨 후 실온에서 EC₂를 측정하였다. EC₁/EC₂ 비율로 2차원 그래프를 그려 EC₁/EC₂ 비율이 0.5가 되는 LT₅₀ (동사온도)를 통해 동해 정도를 판정하였다.

4. 기능성 성분 분석

본 실험에 사용된 차잎은 2008년 강원도 고성군 현내면 산학리 시험포장에 정식된 차나무에서 2010년 5월 18일부터 5월 19일까지 신초부터 상위 3엽까지를 채취하여 동결건조 후 분말로 조제하여 시료로 사용하였다.

1) 카테킨류, 갈릭엑시드, 카페인 분석

차잎 동결건조 분말시료 0.1 g에 2% H₃PO₄:50% EtOH 10 mL를 첨가한 후 상온에서 2시간 추출 후 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 μm

Table 2. Operation condition of HPLC instrument

Classification	Condition		
Instrument	HPLC/PDA (Waters 2690/996, Waters Co., USA)		
Column	YMC-Pak ODS-AM 303 (250 mm × I.D 4.6 mm, 5 μm)		
Mobile phase	A, 0.1% phosphoric acid; B, methanol		
Column temperature	35°C		
Injection volume	5 μL		
Detector	PDA (235 nm)		
Gradient table			
Time	Flow rate (mL/min)	A (%)	B (%)
initial	1.0	90	10
5	1.0	90	10
7	1.0	80	20
15	1.0	80	20
17	1.0	75	25
45	1.0	75	25
48	1.0	90	10

membrane filter로 여과하여 gallic acid (GA), caffeine, (-)-gallocatechin (GC), (+)-catechin (C), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epicatechin (EC), (-)-gallocatechin gallate (GCG), (-)-epicatechin gallate (ECG)를 Table 2와 같은 조건으로 분석하였다(8).

2) 폴리페놀함량 분석

차잎 동결건조 분말시료 0.04 g과 증류수 40 mL를 tube 에서 60°C 초음파 추출기에서 30분간 추출한 후 0.45 μm membrane filter로 여과시켰다. 여과액은 0.2 mL에 증류수 1.8 mL를 가한 후 0.2 mL의 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 3분 후 70°C에서 녹인 Na₂CO₃ 포화 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 경과 후 UV spectrophotometer (Uvikon 943)로 725 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid로 표준곡선을 구해 정량하였다(8-9).

3) 탄닌 함량 분석

차잎 동결건조 분말시료 0.1 g과 80°C 열수 70 mL를 용량 flask에 넣고 80°C 항온수조에서 30분간 가온 추출하였다. 방냉 후 100 mL로 정용하고 여과한 후, 여액 5 mL와 주석산철시약 5 mL를 25 mL 용량 flask에 넣고 pH7.5로 조절된 Sorensen's phosphate 완충용액으로 정용하여 발색시킨 후 UV spectrophotometer (Uvikon 943)로 540 nm

에서 흡광도를 측정하고 ethyl-gallate로 표준곡선을 구해 정량하였다(10).

5. RAPD 유연관계 분석

1) DNA 추출 및 PCR

계통별로 잎을 수집하여 액체질소를 이용하여 마쇄한 후 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Cat. No. 69104)를 이용하여 제조사의 설명서에 따라 DNA를 추출하였으며, PCR 반응조건은 Operon사의 RAPD 10 mer를 이용하여 94°C에서 1분 denaturation, 45°C에서 1분 annealing, 74°C에서 2분 extension을 1 cycle로 하여 총 35 cycle을 반응시켰으며 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 100 V로 30 분간 전기영동 한 후 EtBr로 염색하여 UV illuminator상에서 DNA band를 관찰하였다.

2) 유연관계 분석

RAPD 마커의 유연관계 분석을 위하여 각각의 primer를 이용하여 증폭시킨 band는 UVP Bioimaging system (SVP4200, USA)을 이용하여 다형성을 확인하였으며 밴드의 유무에 따라 Clustering을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 수집종의 생육특성

정식 후 3년차 성엽기 차잎의 생육특성을 2010년 4월 15일부터 5월 19일까지 비교한 결과(Table 3) 내한성 정도가 비교적 동해에 약한 것으로 알려져 있는 야부기다 품종에 비하여 전반적으로 공시된 계통들이 우수였으며 특히 GS 1 등 8계통이 강한 것으로 나타났다.

수확기는 야부기다(5월 20일)에 비하여 공시된 계통들이 1~4일 정도 빨랐으며 그중 GS 4 는 5월 16일로서 가장 빠른 계통이었다. 우리나라 주요 차재배지의 평년의 수확기가 대체로 제주지역이 4월 20일, 하동지역 4월 30일, 보성지역 5월 8일을 감안하면(11) 강원도 고성지역이 상당히 늦은 것을 알 수 있다. 이는 2009년 11월~2010년 2월의 월동기간에 예년에 없었던 전국적인 한파와 봄철의 저온현상이 경과되어 남부지방 역시 차 수확기가 10여일정도 늦어지는 원인이 되기도 하였는데, 강원도 고성지역에서도 예외는 아니었다. 새싹길이는 비교품종인 야부기다(4.2 cm)에 비하여 GS 4 계통이 4.8 cm로 길었으나 그 외 계통들은 비슷하거나 짧았고, 주당 새싹수는 야부기다가 37개로서 GS 6, 7, 8 을 제외한 모든 계통에서 많았으며 특히 GS 2, 15 등 6 계통은 102~156개로 월등히 많았다.

100아중은 대비품종 야부기다 15.4 g에 비하여 GS 5

Table 3. Growth condition of tea tree leaves (May. 18, 2010)

No.	Grade of frost leaf damage* (0-9)	Harvesting season (month/day)	Bud length (cm)	Num. of Bud (num./tree)	100 buds' weight (g)	Harvesting weight (g/tree)
GS 1	1	5/17	4.2	91.7	12.1	33.4
2	1	5/18	3.9	129.0	13.5	52.3
3	3	5/17	4.1	99.0	11.5	34.2
4	3	5/16	4.8	88.3	19.3	51.2
5	5	5/19	3.0	47.7	10.7	15.4
6	3	5/19	3.6	35.3	15.6	16.5
7	5	5/17	4.1	29.7	18.8	16.7
8	3	5/17	4.1	31.7	10.7	10.8
9	5	5/17	4.1	49.7	16.8	25.0
10	3	5/17	4.0	100.0	11.8	35.5
11	3	5/17	4.0	67.0	17.1	34.5
12			withering			
13	3	5/18	3.6	38.7	11.1	12.9
14	3	5/18	3.9	90.0	13.1	35.4
15	1	5/18	3.8	155.7	14.0	51.4
16	1	5/17	4.2	120.0	11.8	42.5
17	3	5/17	4.2	85.0	12.0	30.6
18	3	5/18	3.9	65.3	11.8	23.1
19	1	5/17	4.0	107.0	19.5	62.5
20	3	5/17	4.3	51.0	16.9	25.8
21	1	5/18	3.9	138.0	19.2	79.6
22	1	5/17	4.2	102.0	14.9	45.5
23	1	5/17	4.0	47.7	17.1	24.5
Yabu.	5	5/20	4.2	37.0	15.4	17.1

*Grade of frost leaf damage: 0 (none), 1 (less than 1%), 3 (1~10%), 5 (10~30%), 7 (30~50%), 9 (more than 50%).

와 8이 10.7 g으로 가장 가벼웠으며, 이밖에 11계통이 14.9 g 이하였고, GS 19가 19.5 g으로 가장 무거웠으며, GS 4와 21이 19.2 g 이상이었으나 이밖에 7계통은 비슷하였다. 또한 주당 새싹수량은 GS 5, 6, 7, 8, 13계통은 야부기다가 17.1 g보다 적었으며, 이중 GS 8계통은 10.8 g으로 가장 적었고, GS 21 계통이 79.6 g으로 가장 많았으며, 여타 16계통은 23.1~62.5 g이었다. 이상의 결과는 계통의 다양한 유전자원 특성에서도 차이가 있겠지만 내한성이 강했던 계통들은 월동 후 생육이 양호하였기 때문에 새싹과 수량에 일부 영향을 미친 것으로 사료 되었다.

2. 내동성 검정 (Electrical Conductivity Test)

Dexter 등에 의하면 동해 처리된 식물 세포막이 동결 중에 또는 후에 파괴된다면 세포는 유출성이 높아지며 동결 후 녹인 조직이 불에 수 시간 담겨져 있을 때 전해질이 조직에서 용액으로 확산되어 전기전도도에 대한 동해정도를 평가하는데 가장 널리 이용되는 양적 평

가방법이다(6). 본 실험에서는 강원도 고성군 현내 시현 포장에 정식초기인 재식 1년차 차 잎을 4°C, -10°C, -15°C, -20°C, -25°C, -30°C에서 2시간씩 저온처리하여 전해질의 유출량을 분석한 결과(Table 4), LT₅₀ (동사온도)가 대비계통인 야부기다 품종이 -5.92 에 비하여 GS 1 등 7계통을 제외하고 나머지 16계통의 LT₅₀는 -10.15 ~ -12.42°C로 내동성이 높은 것으로 나타났으며 그중 GS 10은 -12.42°C로 24계통 중 냉동 저항성이 가장 높았다.

Kolar 등은 보리 Dicktoo의 유전자형의 경우 -11.8°C에서 LT₅₀을 보고하였으며, 추파성 소맥 Norstar의 유전자형은 -12.8°C에서 LT₅₀이 보고된 바 있다(12). 본 시험연구에서도 이러한 결과를 현지 시험포장에서 내한성 정도를 비교해 볼 때(Table 5), 정확하게 일치하지는 않았지만 대체적으로 비슷한 경향을 보였다. 따라서 실내 EC 검정과 생육현장에서 내한성을 결부시켜 고려한다면 내한성 품종을 육성하는데 유용한 자료가 될 것으로 사료되었다.

Table 4. Cold hardness test of tea leaves

No.	processing temp. (EC ₁ /EC ₂)						EC ₁ /EC ₂ graph	LT ₅₀
	4°C	-10	-15	-20	-25	-30		
GS1	0.13	0.26	0.72	0.68	0.44	0.81	$y = -0.0273x^2 + 0.245x + 0.1468$	- 9.69
2	0.14	0.24	0.65	0.64	0.79	0.83	$y = -0.0414x^2 + 0.3803x - 0.0589$	- 8.93
3	0.15	0.19	0.64	0.82	0.81	0.82	$y = -0.0761x^2 + 0.5999x - 0.3062$	-12.21
4	0.15	0.47	0.74	0.83	0.79	0.85	$y = -0.0393x^2 + 0.3167x + 0.2176$	- 8.31
5	0.14	0.15	0.76	0.76	0.85	0.87	$y = -0.0779x^2 + 0.6196x - 0.3237$	-12.22
6	0.19	0.43	0.82	0.77	0.83	0.82	$y = -0.0494x^2 + 0.3732x + 0.1571$	- 8.85
7	0.14	0.45	0.66	0.71	0.79	0.87	$y = -0.0166x^2 + 0.1979x + 0.2825$	- 7.77
8	0.13	0.29	0.72	0.79	0.78	0.84	$y = -0.0603x^2 + 0.478x - 0.0881$	-11.03
9	0.15	0.31	0.75	0.80	0.81	0.85	$y = -0.0605x^2 + 0.477x - 0.0609$	-10.75
10	0.14	0.11	0.79	0.77	0.84	0.84	$y = -0.0904x^2 + 0.6931x - 0.4131$	-12.42
11	0.15	0.58	0.80	0.78	0.85	0.85	$y = -0.0247x^2 + 0.206x + 0.427$	- 5.79
12	0.14	0.64	0.76	0.80	0.84	0.83	$y = -0.0177x^2 + 0.1516x - 0.5138$	- 4.86
13	0.14	0.25	0.80	0.80	0.80	0.81	$y = -0.0763x^2 + 0.5701x - 0.1784$	-11.29
14	0.16	0.32	0.86	0.74	0.76	0.82	$y = -0.0589x^2 + 0.4446x + 0.0141$	-10.15
15	0.15	0.18	0.76	0.74	0.77	0.79	$y = -0.076x^2 + 0.5805x - 0.2562$	-11.92
16	0.17	0.22	0.77	0.77	0.82	0.79	$y = -0.0787x^2 + 0.5914x - 0.234$	-11.65
17	0.15	0.33	0.83	0.78	0.81	0.85	$y = -0.0604x^2 + 0.4641x - 0.0049$	-10.24
18	0.13	0.33	0.74	0.77	0.78	0.84	$y = -0.0512x^2 + 0.4123x + 0.0196$	-10.28
19	0.14	0.24	0.81	0.76	0.77	0.85	$y = -0.066x^2 + 0.5155x - 0.1335$	-11.23
20	0.13	0.18	0.78	0.81	0.82	0.85	$y = -0.0829x^2 + 0.6359x - 0.3095$	-11.99
21	0.20	0.26	0.77	0.80	0.78	0.82	$y = -0.0706x^2 + 0.5368x - 0.1505$	-11.25
22	0.16	0.24	0.77	0.63	0.70	0.83	$y = -0.043x^2 + 0.3681x + 0.0006$	-10.82
23	0.12	0.30	0.79	0.74	0.78	0.78	$y = -0.0624x^2 + 0.4704x - 0.0465$	-10.64
Yabu.	0.18	0.54	0.80	0.77	0.67	0.78	$y = -0.0272x^2 + 0.1983x + 0.4163$	- 5.92

Table 5. Comparison of cold hardness in EC testing and field

No.	EC (LT ₅₀)	Grade of frost leaf damage* (0-9)	fact and discord	No.	EC (LT ₅₀)	Grade of frost leaf damage* (0-9)	fact and discord
GS1	-9.69	1	○	GS13	-11.29	3	-
2	-8.93	1	○	14	-10.15	3	-
3	-12.21	3	-	15	-11.92	1	○
4	-8.31	3	-	16	-11.65	1	○
5	-12.22	5	×	17	-10.24	3	-
6	-8.85	3	×	18	-10.28	3	-
7	-7.77	5	○	19	-11.23	1	○
8	-11.03	3	-	20	-11.99	3	-
9	-10.75	5	×	21	-11.25	1	○
10	-12.42	3	-	22	-10.82	1	○
11	- 5.79	3	-	23	-10.64	1	○
12	- 4.86	-	○	Yabu.	-5.92	5	○

*Grade of frost leaf damage: 0 (non), 1 (less than 1%), 3 (1~10%), 5 (10~30%), 7 (30~50%), 9 (more than 50%).

**GS12: withering.

3. 기능성 성분 분석

차의 맛, 향, 색에 깊이 관여하고 인체 대사작용에 효소 역할을 하기도 하는 카테킨은 혈청내에 cholesterol 저

하 효과와 항암작용에도 관여는 등 기능성 물질로서 중요한 성분으로 알려져 있다(13).

폴리페놀 성분인 epicatechin (EC), epigallocatechin

Table 6. Comparison of catechin content by lines (%)

NO.	GC ¹⁾	EGC ²⁾	C ³⁾	EGCg ⁴⁾	EC ⁵⁾	GCg ⁶⁾	ECg ⁷⁾	Total catechins
GS 1	0.04 ± 0.00	0.41 ± 0.02	0.07 ± 0.01	3.68 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.96 ± 0.01	5.67
2	0.03 ± 0.00	0.16 ± 0.01	0.08 ± 0.01	3.52 ± 0.07	0.39 ± 0.03	0.16 ± 0.01	1.11 ± 0.04	5.44
3	0.04 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.09 ± 0.00	3.66 ± 0.13	0.43 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.87 ± 0.00	5.47
4	0.04 ± 0.00	0.32 ± 0.01	0.08 ± 0.00	4.47 ± 0.01	0.48 ± 0.01	0.13 ± 0.00	0.87 ± 0.02	6.38
5	0.02 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.08 ± 0.00	3.62 ± 0.29	0.25 ± 0.01	0.14 ± 0.00	0.88 ± 0.02	5.20
6	0.03 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.07 ± 0.00	3.91 ± 0.14	0.39 ± 0.01	0.11 ± 0.01	1.23 ± 0.02	5.87
7	0.03 ± 0.00	0.24 ± 0.02	0.06 ± 0.00	3.75 ± 0.05	0.39 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.86 ± 0.03	5.42
8	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.11 ± 0.00	4.77 ± 0.18	0.40 ± 0.02	0.18 ± 0.01	1.01 ± 0.09	6.71
9	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.09 ± 0.00	3.57 ± 0.10	0.45 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.94 ± 0.03	5.39
10	0.04 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.11 ± 0.01	4.84 ± 0.03	0.48 ± 0.00	0.12 ± 0.01	1.31 ± 0.03	7.11
11	0.03 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.08 ± 0.01	3.88 ± 0.10	0.37 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.78 ± 0.01	5.48
13	0.03 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.09 ± 0.00	3.27 ± 0.10	0.36 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.79 ± 0.03	4.79
14	0.04 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.12 ± 0.00	4.79 ± 0.18	0.45 ± 0.02	0.16 ± 0.01	1.25 ± 0.09	7.04
15	0.03 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.12 ± 0.01	4.00 ± 0.05	0.42 ± 0.00	0.16 ± 0.01	1.36 ± 0.02	6.26
16	0.05 ± 0.00	0.29 ± 0.00	0.08 ± 0.00	4.60 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.12 ± 0.00	1.16 ± 0.00	6.79
17	0.03 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.09 ± 0.00	3.56 ± 0.04	0.38 ± 0.02	0.10 ± 0.01	1.11 ± 0.03	5.42
18	0.03 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.09 ± 0.00	3.62 ± 0.02	0.43 ± 0.01	0.14 ± 0.00	1.12 ± 0.03	5.62
19	0.04 ± 0.00	0.28 ± 0.01	0.10 ± 0.01	4.95 ± 0.11	0.48 ± 0.02	0.12 ± 0.01	1.18 ± 0.04	7.16
20	0.05 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.10 ± 0.01	4.09 ± 0.05	0.34 ± 0.00	0.12 ± 0.00	1.11 ± 0.05	5.99
21	0.05 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.10 ± 0.00	4.16 ± 0.02	0.43 ± 0.01	0.12 ± 0.01	1.31 ± 0.10	6.41
22	0.04 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.11 ± 0.00	4.49 ± 0.07	0.47 ± 0.01	0.13 ± 0.00	1.35 ± 0.09	6.80
23	0.04 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.08 ± 0.00	3.53 ± 0.07	0.37 ± 0.01	0.13 ± 0.00	1.24 ± 0.10	5.60
24	0.03 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.06 ± 0.00	2.70 ± 0.04	0.42 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.82 ± 0.05	4.32
Yabu.	0.07 ± 0.00	0.35 ± 0.01	0.11 ± 0.00	5.09 ± 0.06	0.55 ± 0.03	0.10 ± 0.01	1.08 ± 0.00	7.34

*GS12: withering.

¹⁾GC: (-)-gallocatechin. ²⁾EGC: (-)-epigallocatechin. ³⁾C: (+)-catechin. ⁴⁾EGCg: (-)-epigallocatechin gallate. ⁵⁾EC: (-)-epicatechin.⁶⁾GCg: (-)-gallocatechin gallate. ⁷⁾ECg: (-)-epicatechin gallate.

(EGC), epicatechin gallate (ECg), epigallocatechin gallate (EGCg), catechin (C), Gallocatechin (GC) 등 6가지 카테킨류와 카페인, 탄닌 성분은 공시 계통별 차잎의 기능성 성분함량은 Table 6, 7과 같다.

Gallocatechin (GC) 성분의 경우 GS 5가 0.02%로 가장 낮았으며, GS 12가 0.06%로 가장 높았으나, 공시계통 모두가 0.02~0.06%로 비교품종인 야부기다의 0.07%에 비해 낮은 함량이었다. Epigallocatechin (EGC) 성분은 GS 1이 0.41%로 높았으나 여타 계통은 비교품종인 야부기다가 0.35%보다 낮은 함량을 보였다. Catechin (C)도 GS 14, 15가 0.12%로 가장 높았으나 야부기다가 0.11%에 비하여 비슷하거나 낮은 분포(0.06~0.12%)를 보였고, epigallocatechin gallate (EGCg)와 epicatechin (EC)도 야부기다 5.09%와 0.55%에 비하여 2.70~4.94%와 0.25~0.49%로 전체적으로 낮은 함량이었다. 그러나 gallocatechin gallate (GCg)와 epicatechin gallate (ECg)는 야부기다에

비하여 비슷하거나 높은 수준을 보였는데 특히 GCg의 경우 GS 8이 0.18%로 가장 높았으며, GS 7이 0.09%로 가장 낮았고, ECg는 GS 15가 1.36%으로 가장 높았으며 GS 24는 0.09%로 가장 낮은 계통으로 분석되었다.

총 카테킨 함량은 대비품종인 야부기다(7.34%)에 비하여 공시된 계통들은 4.32~7.16%로 대체로 낮은 수준을 보였지만 ECG, GCg 등 기능성면에서 우수한 계통들은 고품질 품종육성에 유용한 유전자원으로 활용될 수 있을 것으로 사료되었다.

또한 gallic acid는 대비품종인 0.01~0.03%의 분포로서 대비품종인 야부기다(0.03%)에 비하여 낮은 함량을 나타내었다. 차의 상쾌한 맛을 내는 카페인함량은 GS 7의 경우 1.30%로 가장 낮았으며 GS 19의 경우 1.95%로 가장 높았으며 GS 1, 8, 10, 14, 15, 19, 21, 22 등 8 계통은 대비품종인 야부기다(1.58%)에 비하여 높은 함량이었으나 여타계통은 낮게 나타내었다. 녹차에는 커피

Table 7. Comparison of gallic acid, caffeine, polyphenols and tannin by lines (%)

	Gallic acid	Caffeine	Polyphenols	Tannin
GS 1	0.02 ± 0.00	1.61 ± 0.01	9.39 ± 0.08	6.89 ± 0.05
2	0.02 ± 0.00	1.55 ± 0.07	10.08 ± 0.02	7.58 ± 0.03
3	0.02 ± 0.00	1.53 ± 0.07	10.96 ± 0.28	7.97 ± 0.10
4	0.02 ± 0.00	1.52 ± 0.03	11.63 ± 0.03	8.86 ± 0.02
5	0.03 ± 0.00	1.58 ± 0.03	9.62 ± 0.14	7.68 ± 0.02
6	0.03 ± 0.00	1.58 ± 0.02	10.50 ± 0.24	8.23 ± 0.16
7	0.02 ± 0.00	1.30 ± 0.01	9.66 ± 0.01	6.91 ± 0.01
8	0.03 ± 0.00	1.75 ± 0.03	12.33 ± 0.03	9.88 ± 0.06
9	0.02 ± 0.00	1.44 ± 0.09	9.00 ± 0.04	6.48 ± 0.05
10	0.03 ± 0.00	1.70 ± 0.02	12.76 ± 0.14	10.22 ± 0.03
11	0.02 ± 0.00	1.53 ± 0.05	10.26 ± 0.20	7.65 ± 0.08
13	0.02 ± 0.00	1.57 ± 0.02	8.64 ± 0.06	6.44 ± 0.02
14	0.03 ± 0.00	1.73 ± 0.03	13.49 ± 0.26	11.18 ± 0.02
15	0.03 ± 0.00	1.70 ± 0.02	12.22 ± 0.21	9.84 ± 0.05
16	0.02 ± 0.00	1.35 ± 0.01	13.13 ± 0.11	10.01 ± 0.04
17	0.02 ± 0.00	1.47 ± 0.09	10.35 ± 0.17	7.90 ± 0.03
18	0.02 ± 0.00	1.37 ± 0.02	10.87 ± 0.23	8.25 ± 0.00
19	0.03 ± 0.00	1.95 ± 0.04	13.23 ± 0.02	10.93 ± 0.06
20	0.03 ± 0.00	1.48 ± 0.01	10.92 ± 0.18	8.70 ± 0.01
21	0.03 ± 0.00	1.80 ± 0.01	11.94 ± 0.09	9.17 ± 0.03
22	0.03 ± 0.00	1.89 ± 0.03	12.73 ± 0.12	10.11 ± 0.16
23	0.03 ± 0.00	1.52 ± 0.06	9.40 ± 0.03	7.10 ± 0.11
24	0.01 ± 0.00	1.46 ± 0.01	7.30 ± 0.06	5.40 ± 0.11
Yabu.	0.03 ± 0.00	1.58 ± 0.06	13.32 ± 0.10	10.18 ± 0.06

*GS12: withering.

에 들어있지 않은 카테킨과 테아닌이라는 아미노산 성분이 카페인과 결합하여 불용성분으로 되거나 활성이 억제되기 때문에 커피와 같이 부작용이 없다고 하였지만(13) 최근 들어 카페인 성분이 낮은 계통을 선호하는 경향이 있어 차후 저 카페인과 고 카페인 차나무 육종 교배 모본으로 그 활용도가 높을 것으로 사료 된다.

차의 색깔, 맛, 향기 등에 영향을 미친다는 폴리페놀(14) 함량은 GS 14의 경우 13.49%로 대비품종인 야부기다(13.32%) 보다 높았으나 여타계통은 8.64~13.23%로 비슷하거나 낮은 수준을 보였다. 함량이 높을수록 쓰고, 떫은맛이 강해 감칠맛이 적어 풍미를 떨어지게 하는 탄닌 성분은 5.40~11.18%로 분석되었으며, GS 10, 14, 19 등 3계통은 대비품종인 야부기다(10.18%)에 비해 높았으나, 여타 18계통은 낮게 나타났다. 박 등의 전남 보성 지역의 재래종(*Camellia sinensis* var. *sinensis*) 차나무로부터 분석한 기능성 성분의 경우 ECg 1.56~2.13%, C 0.12~0.17%, EC 0.35~0.49%, EGCg 4.63~6.77%, EGC

1.75~2.46%, caffeine 3.13~2.23%, tannin 12.6~10.6%로 분석되었는데(15) 본 실험결과와 비교해 보면 전반적으로 비슷하거나 높은 함량수준이었다. 이는 녹차성분은 동일품종에서도 녹차 침출 시 조건과 실험조건의 차이에 의하여 변동이 심하고, 추출물 시료에 의해서도 그 함량 차이가 변한다고 하였는데(16-18), 박 등이 실시한 시료는 녹차를 제조한 후의 시료를 분석한 반면 본 실험에서는 찻잎 수확직후 동결 건조된 분말을 분석시료로 사용하였기 때문인 것으로 사료되었다. 따라서 본 실험에서는 대비품종 야부기다 품종과의 비교를 통하여 내한성이 강했던 계통을 감안하여 선발하고자 하였기 때문에 우수계통 선발에는 큰 문제점이 없을 것으로 판단되며, 이러한 결과를 바탕으로 GS 15, 16, 19, 21, 22 등 5계통은 기후적으로 남부지방보다 차 재배에 불리한 고위도에서 유망한 계통으로 육성 될 수 있을 것으로 사료된다.

4. RAPD 유연관계 분석

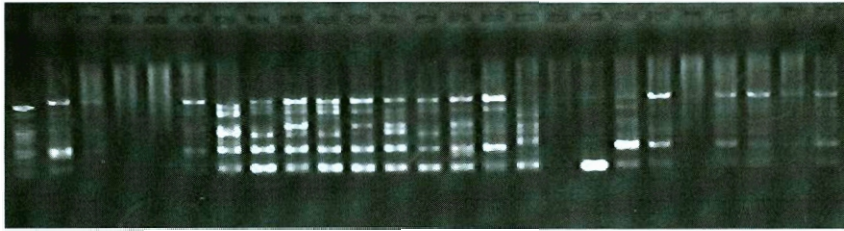
국내외에서 수집한 24개 녹차 계통 간 유전적 유사도를 분석한 결과, 4개의 그룹으로 분류되었으며 그룹 간에는 70% 이상의 유전적 유연관계를 나타냈다. Group I에는 GS 10, 11, 13, 23의 4계통이 포함되어 있었으며 대조품종으로 사용한 야부기다 품종도 이 그룹에 포함되어 있었다.

Group II에는 GS 6, 7, 8, 9계통이 포함된 그룹으로 유전적 유사도가 85% 이상인 매우 근연관계인 것으로 나타났다으며, Group III에는 GS 1을 포함한 가장 많은 13계통이 포함된 그룹으로서 70% 이상의 유전적 유사도를 보였다.

Group IV에는 78.8%의 유전적 유사도를 가진 GS 22, 23의 계통이 포함되어 있었으며(Figure 2), 그 중 내한성 등 유망 시 되는 GS 15, 19, 21 등 3계통은 계통 간 유전적 유사도가 74~89%로 Group III로 분류되며 유전적 유사도가 높은 것으로 분석되었다.

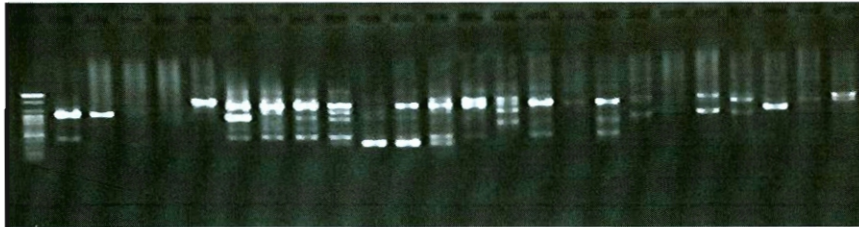
차나무의 품종간 비교는 주로 형태적 특징에 따라 구분되어 왔으며, 이와 함께 RAPD, RFLP 등 분자생물학적인 기법을 이용한 계통간, 품종간 유전적 다양성이 연구되어 왔다(19-22). 본 시험 결과와 같이 총 24계통 중 국내 2종(GS 22, 23)이 대조품종인 야부기다와 유전적으로 유사하였을 뿐 대부분의 계통은 대조품종과는 유전적으로 차이가 있는 것으로 분석되었다. 자생하는 차나무의 유전적 변이를 이용하여 유용한 유전자원으로 활용한다면 우량 신품종 개발 가능성이 높다고 하였는데(23), 본 실험에서도 이와 같이 수집된 계통들은 유전적 다양성을 가지고 있어 금후 내한성 품종 육성을 위한 유전자원으로서 가치가 있을 것으로 판단되었다.

OPA 16



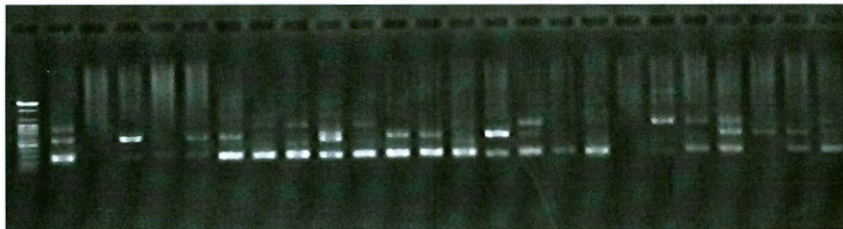
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

OPA 19



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

OPA 20



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

Figure 1. RAPD band compared by PCR using OPA 16, 19, 20 primers in tea trees (M: size maker).

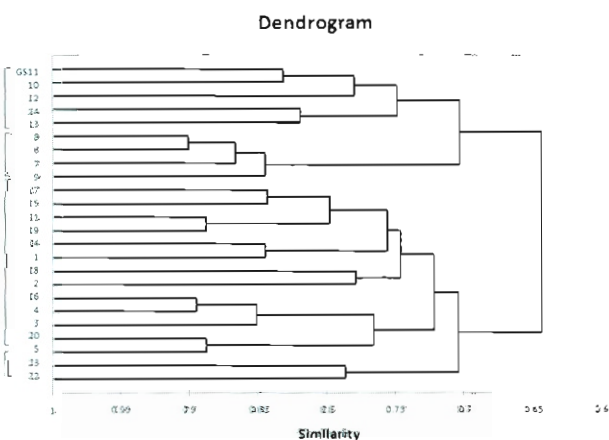


Figure 2. Phenogram generated demonstrating the relationship among camellia species based on RAPD.

적 요

남부지방보다 위도가 높고 불리한 기후 조건인 강원

도 고성 지역에서 좀더 안정적인 재배를 위하여 국내외에서 수집된 다양한 계통의 차나무를 현지재배를 통하여 내한성 등 생육특성과 각 계통들의 기능성 및 유전적 형질을 분석하여 고품질 내한성 차나무 육성 기초자료로 활용하고자 정식 후 3년째에 조사 분석한 결과는 다음과 같다.

1. 야부기다 품종에 비하여 내한성은 GS 1 등 8계통이 강했고, 수확기는 1~4일 정도 빨랐으며, 그중 GS 4 계통이 5월 16일로서 가장 빠른 계통이었다. 새싹길이는 GS 4가 4.8 cm로 가장 길었고, 주당 새싹수는 GS 2 등 6계통이 102~155개로 가장 많았다.

2. 정식초기 1년차에 실내 내동성 전기전도도 측정(EC) 결과 LT_{50} (동사온도)는 16 계통에서 $-10.15 \sim -12.42^{\circ}\text{C}$ 로 내동성이 높은 것으로 나타났으며, 현지포장에서의 내한성과 비교해 볼 때 일치하지는 않았지만 대체적으로 유사한 경향을 보여 실내 EC 측정과 현장 생육에서 내

한성을 종합적으로 고려한다면 차후 내한성품종을 육성하는데 유용한 자료가 될 것으로 사료되었다.

3. 기능성 성분 중 카테킨 총량은 대비품종인 야부기다(7.34%)에 비하여 공시된 계통들은 4.32~7.16%로 대체로 낮은 수준을 보였으나, 그 중 GCg는 GS 8이 ECg는 GS 15가 높은 계통이었으며, 카페인은 GS 7의 경우 1.30%로 가장 낮았고, 탄닌은 5.40~11.18%로 야부기다에 비하여 공시계통 대부분이 낮은 함량을 보였다.

4. 유전적 유사도 분석에 의하면 75% 수준의 유사도를 기준으로 3개 그룹으로 나눌 수 있었으며, 그 중 유망시 되는 GS 15, 19, 21의 3계통이 유전적으로 매우 근연관계가 있는 것으로 분석되었다.

5. 이상의 시험을 통하여 종합적으로 검토한 결과 GS 15, 16, 19, 21, 22 등 5계통은 고위도에서 유망시 되는 계통으로서 금후 고품질 내한성 품종육성에 유용한 유전자원으로 활용 될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 2010년도 지역농업 활성화 과제 연구의 일부분임.

참고문헌

1. 김정운, 신길호, 최형국 (1996) 우리나라 차 재배 실태. 한국차학회지 2 (2): 209-216
2. 김정운, 박수년, 최형국, 신길호, 한재석 (2001) 한국 자생차 (*Camellia sinensis* L.)의 주요 특성조사. 한국차학회지 7 (1): 123-133
3. Park YG (1995) Management of genetic resources of forest trees in Korea. ph.Baradat, W.T. Adams & G.Muller- Starck (eds.) (1995) SPB Academic publishing, Amsterdam, The Netherlands. Population Genetics and Genetic Conservation of Forest Trees, pp. 389-397
4. IPCC (2008) 기후변화2007 종합보고서. 기상청, 서울, pp. 47-50
5. 太石千八 (1988) 新茶業全書, 静岡縣 茶業會議所, 静岡, pp. 197-505
6. Dexter ST, Tottingham WE, Grabetr L.F (1932) Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. Plant Physiol. 7: 63-78
7. 천종은, 강석원, 송동석, 최정 (2000) 켈기전도도 및 Triphenyl Tetrazolium Chloride를 이용한 차나무 내동성 검정방법 확립. 한국차학회지 6 (3): 121-133

8. 정명근, 이민석 (2008) 녹차 함유 카테킨 및 카페인 동시분석을 위한 최적 HPLC 분석 조건. 한국작물학회지 53 (2): 224-232
9. 정창호, 강수태, 주옥수, 이승철, 신영희, 심기환, 조성환, 최성길, 허호진 (2009) 국내 시판 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 폴리페놀 함량, 항산화 및 아세틸콜린에스테라이스 저해 효과. 한국식품저장유통학회지 16 (2): 230-237
10. Ikegaya K, Takayamagi H, Anan T (1990) Quantitative analysis of tea constituent. Tea. Res. J. 71: 43-73
11. 정병춘, 문운호, 송연상, 한신경 (2008) 2007년도 차 연구성과 보고 및 2008년도 협력연구 협의회(차나무 육종기술 워크샵), 작물과학원 목포시험장, 무안, p. 112
12. Kolar SC, Hayes DM, Chen THH, Linderman RG (1991) Genotypic variation for cold tolerance in winter and facultative barley. Crop Sci. 31: 1149-1152
13. 정결춘, 문운호, 송연상, 한신경, 방진기, 김홍재, 김정운, 신기호, 최정, 허길현, 김길자, 윤창용, 이용호, 김용환 (2007) 차 재배. 표준영농교본-160. 농진청, 수원, 203-204
14. 食品科學大辭典 (1991) 磯談社, 東京, pp. 665
15. 박장현, 김영옥, 남승희, 김정근 (2008) 다기 및 찻잎 수확시기가 녹차의 주요 성분 함량에 미치는 영향. 한국차학회지 14 (1): 167-174
16. 寺田志保子, 前田由美恵, 増井俊夫, 鈴木裕介 (1987) 各種茶液出液およびテイードリンクス中のカフェイン, カテキン組成. 日本食品工業學會誌 34: 20
17. 前田茂, 中川致之 (1977) 各種綠茶の總合理的化學分析, 茶業研究報告, pp. 45-85
18. 장대자 (2004) 우리나라 녹차와 타국산 녹차의 차별화를 위한 특성비교 및 기능성 제품의 개발. 박사학위논문. 건국대학교, p. 21
19. 김길자, 최정, 허길현, 류재일, 배창휴, 이선하, 김홍재 (2006) 차나무 유전자원의 화학적 성분에 의한 품종군의 분류. 한국차학회지 12 (2): 209-216.
20. 김재성, 김창호 (1981) 한국산차수의내한성에 관한연구-특히 지역별 엽형태와 내한성을 중심으로-. 한국임학회지 53: 37-43.
21. 박용규, 김주희, Ikeda Namiko, 신동일 (2001) 한국과 일본 야생 차나무의 도입경로와 기원에 관한 연구: 1. 형태적 및 유전적 변이율 중심으로. 한국차학회지 7 (1): 143-161
22. 오찬진, 이슬, 유한춘, 채정기, 한상섭 (2008) 우리나라 야생 차나무(*Camellia sinensis* L.)의 유전적 다양성. 한국자원식물학회지 21 (1): 41-46
23. 이용호, 송근우, 강동주, 최주호 (2002) 자생차 수집종의 엽 특성별 RAPD 유연관계 분석. 한국차학회지 8 (3): 67-75

(투고일, 2010년 7월 14일; 수정일, 2010년 7월 27일; 게재확인일, 2010년 7월 28일)