

과제구분	농업기술센터 지원사업	수행시기		전반기	
증장기 Code		RIMS Code			
연구과제 및 세부과제		연구분야(Code)	수행기간	연구실	책임자
우리나라 최북단 금강산 고성다원 그린투어사업 기반조성과 내한성 차나무 선발 및 그린투어 신상품 개발		C01 IC1628	'08~'10	고성군 농업기술센터	박용한
2) 강원도 고성지역 적응성 내한성 차나무 선발		C01 IC1628	'08~'10	농산물이용 시험장	허남기
색인용어	차나무, 유전자원, 내한성, 계통선발				

## ABSTRACT

This study investigated genetic characteristics and conducted a functional analysis of each line and growing features including cold hardiness using a variety of tea tree lines collected both in Korea and abroad. The purpose of this study was to determine the conditions needed for the stable cultivation of tea trees in Goseong at high altitudes and climatic conditions less favorable than those in the southern region. 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<sub>50</sub>(winter killing temperature) from -10.15 to -12.42°C. The total catechin in the functional components 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 components and tannin was lower in 21 lines. RAPD classified the varieties into 3 groups based on a 75% similarity. It was found that 3 lines, GS 15, GS 19 and GS 21, were genetically very similar. It is estimated that 5 lines, GS 15, 16, 19, 21 and GS 22, which were selected by considering those varieties with strong cold hardiness in good lines or similar lines based on the tests above, can be grown as promising lines for high altitudes.

### 1. 연구목표

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntze)는 아열대성 상록식물로서 재배적지는 연평균 온도가 13~16°C이며 겨울철 최저 평균온도는 -5~-6°C 이상의 지역으로 최저 -13~-14°C이하가 되면 재배가 어려운 작목이라고 알려져 있다(김 등 1996, 박 1995). 따라서 우리나라에서 차 재배는 연 평균 기온이 13°C 이상 되는 동쪽지역으로는 울산, 서쪽으로는 변산반도를 잇는 지역에서

재배되고 있으며 주요산지로는 제주와 전남지역에서 재배가 이루어지고 있다(김 등 2001).

최근 들어 이러한 지구 온난화 진행과 더불어 차나무 재배가 남부지방에서만 가능하다는 인식에서 벗어나, 강원도 고성군에서 새로운 관광 작목으로 육성하기 위하여 2004년부터 차 재배를 시작하여 2010년 현재 재배 가능성이 확인되는 등 일부 가시적인 효과를 나타내고 있지만 위도가 높은 강원도 고성지역은 남부지방보다 불리한 기후조건에서 좀 더 안정적인 내한성 품종육성이 시급히 요구되고 있는 실정이다

현재 우리나라 남부지역에서 재배되고 있는 차나무 품종은 내한성이 약한 일본 야부기다 품종이 대부분이며 이외의 차 재배지에서는 야생적으로 생육하고 있는 차나무를 재배하고 있다. 국내에서 차나무 품종육성에 대한 연구는 그동안 재배가 유리한 남부지방에서만 연구가 되어 왔기 때문에, 기후적으로 재배가 불리한 위도가 높은 강원도 동해안 지역 적응성에 차이가 있을 수 있다. 따라서 지금까지 육성된 품종 특성과 전혀 다른 내한성 품종 육성이 절실히 요구되는 것이다. 이에 본 연구는 그동안 국내외에서 수집한 다양한 계통들을 강원(고성)지역에 공시하여 각각의 생육특성과 기능성 성분분석 및 유전적 형질 등을 조사하여 고품질 내한성 차나무 육성 기초 자료로 활용하고자 수행하였다

## 2. 재료 및 방법

### 가. 공시재료

본 실험에 사용된 차나무는 2006년 국내외에서 자생하는 차나무를 중심으로 종자를 채취 하여(표 1) 1년간 육묘 후 각 계통에 GS(Go Seong)명칭을 부여하여 강원도 고성군 현내면 산학리(북위 38° 28' 동경 128° 29' 해발 40m)에 소재한 농가포장에 재식거리 180cm×30cm로 순위배열 단반복으로 정식하였다(표2).

표 1. 유전자원 수집 현황

No.	국가별	도별	수 집 장 소	수집명	비고
1	국내	전북	순창군 인계면 세룡리	세룡	현지식재
2	"	전남	영광군 불갑면 모악리(불갑사)	불갑(I)	"
3	"	전남	구례군 광의면 방광리(천은사)	천은	"
4	"	전남	순천시 송광면 신평리(송광사)	송광	"
5	"	충남	논산시 강경읍	강경	"
6	"	전남	순천시 주암면 창촌리	주암	"
7	"	전남	영광군 불갑면 모악리(불갑사)	불갑(II)	"
8	"	전남	나주군 다도면 암정리(운홍사)	운홍	"
9	"	전남	순천시 상사면 은영리	상사	"
10	"	전남	나주군 다도면 암정리(운홍사)	운홍(II)	"

No.	국가별	도별	수 집 장 소	수집명	비고
11	국내	전남	순천시 승주읍 죽학리(선암사)	선암	현지식재
12	중국	하북성	석가장	석가장(I)	"
13	"	하북성	석가장	석가장(II)	"
14	"	하북성	석가장	석가장(III)	"
15	국내	전북	정읍시 흥덕면	흥덕(I)	"
16	"	전북	정읍시 흥덕면	흥덕(II)	"
17	"	전북	정읍시 산내면 능교리	산내	"
18	"	전남	장흥군 관산읍 농안리(천관사)	천관	"
19	"	전북	군산시 회현면 증석리	회현	"
20	"	전남	구례군 간전면 운천리(피아골)	피아골	"
21	"	전남	곡성군 오산면 선세리(관음사)	관음	"
22	"	전남	담양군 용면 월계리(보리암)	보리	"
23	"	전남	구례군 마산면 황전리(화엄사)	화엄	"
24	"	전남	순천	순천(I)	하우스육묘
25	"	전남	순천	순천(II)	"
26	중국	절강성	용정	용정	"
27	"	절강성	항주	항주	"
28	"	절강성	장흥	장흥	"
29	국내	강원	삼척시 근덕면 동막리	삼척	"
30	"	전남	목포시 협장(야부기다)	야부기다	대비품종

표 2. 고성군 현지 시험포장 식재계통

No	수집지역	비고	No	수집지역	비고	No	수집지역	비고
1	순창 인계		9	순천 상사		17	정읍 산내	
2	영광 모악	불갑사	10	나주 다도	운흥사	18	장흥 관산	천관사
3	구례 광의	천은사	11	순천 송주	선암사	19	군산 회현	
4	순천 송광	송광사	12	중국	석가장	20	구례 간전	피아골
5	논산 강경		13	중국	석가장	21	곡성 오산	관음사
6	순천 주암		14	중국	석가장	22	담양 용면	보리암
7	영광모악	불갑사	15	정읍 흥덕		23	구례 마산	화엄사
8	나주 다도	운흥사	16	정읍 흥덕		24	목포	야부기다

차나무는 자가불화합성인 타가수정작물이므로 같은 지역에서 수집한 계통일지라도 개체간 유전적 조성의 차이가 있다(太石千八 1988). 따라서 금후 우수계통 선발 시 영양계 증식의 모본으로 활용코자 공시된 같은 계통 중에서 개체의 유전적 영속성을 위하여 생육이 우수한 1개체를 선발하여 Tagging을 하고 그 개체를 조사하였다.

## 나. 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.

## 다. 내동성 검정

Dexter 등(1932)의 내동성 분석을 위한 전기전도도검정(electrical conductivity) 방법과 천 등(2000)의 방법을 사용하였는데, 시료 채취 시 엽위별 변이성이 있으므로 이를 최소화하기 위하여 차나무에서 상위 3엽의 잎을 채취하여 4℃, -10℃, -15℃, -20℃, -25℃, -30℃에서 2시간씩 동해처리하고, 동해 처리한 차잎을 같은 크기 leaf disk(지름 6mm)로 절단하여 각각의 튜브에 20개씩(약 0.2g) 넣은 후 증류수 10ml를 가해 4℃에서 22시간 교반시킨 후 EC meter를 이용하여 실온에서 EC<sub>1</sub>을 측정하였다. 동일 시료가 들어 있는 시험관을 전기오븐에서 90℃에서 2시간 처리하고, 4℃에서 22시간 교반시킨 후 실온에서 EC<sub>2</sub>를 측정하였다. EC<sub>1</sub>/EC<sub>2</sub> 비율로 2차원 그래프를 그려 EC<sub>1</sub>/EC<sub>2</sub> 비율이 0.5가 되는 LT<sub>50</sub>(동사온도)를 통해 동해 정도를 판정하였다.

## 라. 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% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>:50% EtOH 10 ml를 첨가한 후 상온에서 2시간 추출 후 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 μm membrane filter로 여과하여 gallic acid(GA), caffeine, (-)-gallocatechin(GC), (+)-catechin(C), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epigallocatechin gallate(EGCG), (-)-epicatechin(EC), (-)-gallocatechin gallate(GCG), (-)-epicatechin gallate(ECG)을 Table 3와 같은 조건으로 분석하였다.

표 3. HPLC 기기의 작동조건

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℃
Injection volume	5μL
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

### (2) 폴리페놀함량 분석

차잎 동결건조 분말시료 0.04g과 증류수 40 mL를 tube에서 60°C 초음파 추출기에서 30분 간 추출한 후 0.45 $\mu$ m membrane filter로 여과시켰다. 여과액은 0.2mL에 증류수 1.8mL를 가한 후 0.2mL의 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 3분 후 70°C에서 녹인 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 0.4mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 경과 후 UV/spectrophotometer (Uvikon 943)로 725 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid로 표준곡선을 구해 정량하였다.

### (3) 탄닌 함량 분석

차잎 동결건조 분말시료 0.1 g과 80°C 열수 70mL를 용량 flask에 넣고 80°C 항온수조에서 30분간 가온 추출하였다. 방냉 후 100mL로 정용하고 여과한 후, 여액 5 mL과 주석산철시약 5mL를 25mL 용량 flask에 넣고 pH7.5로 조절된 Sorensen's phosphate 완충용액으로 정용하여 발색시킨 후 UV/spectrophotometer(Uvikon 943)로 540 nm에서 흡광도를 측정하고 ethyl-gallate로 표준곡선을 구해 정량하였다.

## 마. 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 10mer를 이용하여 94°C에서 1분 denaturation, 45°C에서 1분 annealing, 74°C에서 2분 extension을 1 cycle로 하여 총 35cycle을 반응시켰으며 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 100v로 30분간 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.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 수집종의 생육특성

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

표 4. 생육특성

(조사일 : 2010. 5. 18)

No.	내한성* (0-9)	수확기 (월/일)	새싹길이 (cm)	새싹수 (개/주)	100아중 (g)	수 량 (g/주)
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			고사			
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
야부기다	5	5/20	4.2	37.0	15.4	17.1

\* 내한성 정도(적고) : 0(무), 1(1%이하), 3(1~10%), 5(10~30%), 7(30~50%), 9(50% 이상)

수확기는 야부기다(5월 20일)에 비하여 공시된 계통들이 1~4일 정도 빨랐으며 그중 GS 4는 5월 16일로서 가장 빠른 계통이었다. 우리나라 주요 차재배지의 평년의 수확기가 대체로 제주지역이 4월 20일, 하동지역 4월 30일, 보성지역 5월 8일을 감안하면(정 등 2008) 강원도 고성지역이 상당히 늦은 것을 알 수 있다. 이는 2009년 11월~2010년 2월의 월동기간에 예년에 없었던 전국적인 한파와 봄철의 저온현상이 경과되었고 남부지방 역시 차 수확기가 10여일정도 늦어지는 원인이 되기도 하였는데 강원도 고성지역에서도 예외는 아니었다. 새싹길이는 비교품종인 야부기다(4.2cm)에 비하여 GS 4 계통이 4.8cm로 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 15.4g에 비하여 GS 5와 8이 10.7g 으로 가장 가벼웠으며, 이 밖에 11계통이 14.9g 이하였고, GS 19가 19.5g으로 가장 무거웠으며, GS 4와 21이 19.2g 이상이었으나 이밖에 7계통은 이었다. 또한 주당 새싹수량은 GS 5, 6, 7, 8, 13계통은 야부기다가 17.1g 보다 적었으며, 이중 GS 8계통은 10.8g 으로 가장 적었고, GS 21 계통이 79.6g 으로 가장 많았으며, 여타 16계통은 23.1~62.5g 이었다. 이상의 결과는 계통의 다양한 유전자원 특성에서도 차이가 있겠지만 내한성이 강했던 계통들은 월동 후 생육이 양호하였기 때문에 새싹과 수량에 일부 영향을 미친 것으로 사료 되었다.

#### 나. 내동성 검정(Electrical conductivity test)

Dexter 등(1932)에 의하면 동해 처리된 식물 세포막이 동결 중에 또는 후에 파괴된다면 세포는 유출성이 높아지며 동결 후 녹인 조직이 물에 수 시간 담겨져 있을 때 전해질이 조직에서 용액으로 확산되어 전기전도도에 대한 동해정도를 평가하는데 가장 널리 이용되는 양적 평가방법이다.

표 5. 실내 내동성 검정

No.	온도처리(EC <sub>1</sub> /EC <sub>2</sub> )						EC <sub>1</sub> /EC <sub>2</sub> graph	LT <sub>50</sub>
	4℃	-10	-15	-20	-25	-30		
GS 1	0.13	0.26	0.72	0.68	0.44	0.81	y=-0.0273x <sup>2</sup> +0.245x+0.1468	- 9.69
2	0.14	0.24	0.65	0.64	0.79	0.83	y=-0.0414x <sup>2</sup> +0.3803x-0.0589	- 8.93
3	0.15	0.19	0.64	0.82	0.81	0.82	y=-0.0761x <sup>2</sup> +0.5999x-0.3062	-12.21
4	0.15	0.47	0.74	0.83	0.79	0.85	y=-0.0393x <sup>2</sup> +0.3167x+0.2176	- 8.31
5	0.14	0.15	0.76	0.76	0.85	0.87	y=-0.0779x <sup>2</sup> +0.6196x-0.3237	-12.22
6	0.19	0.43	0.82	0.77	0.83	0.82	y=-0.0494x <sup>2</sup> +0.3732x+0.1571	- 8.85
7	0.14	0.45	0.66	0.71	0.79	0.87	y=-0.0166x <sup>2</sup> +0.1979x+0.2825	- 7.77
8	0.13	0.29	0.72	0.79	0.78	0.84	y=-0.0603x <sup>2</sup> +0.478x-0.0881	-11.03

No.	온도처리(EC <sub>1</sub> /EC <sub>2</sub> )						EC <sub>1</sub> /EC <sub>2</sub> graph	LT <sub>50</sub>
	4℃	-10	-15	-20	-25	-30		
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
야부기다	0.18	0.54	0.80	0.77	0.67	0.78	$y=-0.0272x^2+0.1983x+0.4163$	- 5.92

본 실험에서는 강원도 고성군 현지 시험포장에 정식초기인 재식1년차 차 잎을 4℃, -10℃, -15℃, -20℃, -25℃, -30℃ 에서 2시간씩 저온처리 하여 전해질의 유출량을 분석한 결과(Table 5), LT<sub>50</sub>(동사온도)가 대비계통인 야부기다 품종이 -5.92 에 비하여 GS 1 등 7계통을 제외하고 나머지 16계통의 LT<sub>50</sub>는 -10.15~-12.42℃로 내동성이 높은 것으로 나타났으며 그중 GS 10은 -12.42℃로 24계통 중 냉동 저항성이 가장 높았다.

Kolar 등은 보리 Dicktoo의 유전자형의 경우 -11.8℃에서 LT<sub>50</sub>을 보고하였으며, 추파성 소맥 Norstar의 유전자형은 -12.8℃에서 LT<sub>50</sub>이 보고된 바 있다(Kolar. 1991). 본 시험연구에서도 이러한 결과를 현지 시험포장에서 내한성 정도를 비교해 볼 때(표 6) 정확하게 일치하지는 않았지만 대체적으로 비슷한 경향을 보였다. 따라서 실내 EC 검정과 생육현장에서 내한성을 결부시켜 고려한다면 내한성 품종을 육성하는데 유용한 자료가 될 것으로 사료되었다.

표 6. 실내 내동성 검정과 포장에서의 내한성 일치여부 비교

No.	EC (LT <sub>50</sub> )	내한성* (0-9)	일치 여부	No.	EC (LT <sub>50</sub> )	내한성* (0-9)	일치 여부
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	-	○	야부기다	- 5.92	5	○

#### 다. 기능성 성분 분석

차의 맛, 향, 색에 깊이 관여하고 인체 대사작용에 효소 역할을 하기도 하는 카테킨은 혈청내에 cholesterol 저하 효과와 항암작용에도 관여하는 등 기능성 물질로서 중요한 성분으로 알려져 있다(정 등, 2007). 폴리페놀 성분인 Epicatechin(EC), Epigallocatechin(EGC), Epicatechin gallate(ECg), pigallocatechin gallate(EGCg), Catechin(C), Gallocatechin(GC) 등 6가지 카테킨류와 카페인, 탄닌 성분은 공시 계통별 차잎의 기능성 성분함량은 표 7, 8과 같다.

표 7. 계통별 카테킨 함량(%)

N0.	GC <sup>1)</sup>	EGC <sup>2)</sup>	C <sup>3)</sup>	EGCg <sup>4)</sup>	EC <sup>5)</sup>	GCg <sup>6)</sup>	ECg <sup>7)</sup>	총카테킨
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

NO.	GC <sup>1)</sup>	EGC <sup>2)</sup>	C <sup>3)</sup>	EGCg <sup>4)</sup>	EC <sup>5)</sup>	GCg <sup>6)</sup>	ECg <sup>7)</sup>	총카테킨
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
이부기다	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

1) GC : (-)-gallocatechin 2) EGC : (-)-epigallocatechin 3) C : (+)-catechin

4) EGCg : (-)-epigallocatechin gallate 5) EC : (-)-epicatechin

6) GCg : (-)-gallocatechin gallate 7) ECg : (-)-epicatechin gallate

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.

표 8. 계통별 갈릭엑시드, 카페인, 폴리페놀, 탄닌성분(%)

	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
야부	0.03±0.00	1.98±0.06	13.32±0.10	10.18±0.06

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 8계통은 대비품종인 야부기다(1.58%)에 비하여 높은 함량이었으나 여타계통은 낮게 나타내었다. 녹차에는 커피에 들어있지 않은 카테킨과 데아닌이라는 아미노산 성분이 카페인과 결합하여 불용성분으로 되거나 활성이 억제되기 때문에 커피와 같이 부작용이 없다고 하였지만(정 등, 2007), 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 함량(일본 식품과학사전 1991) 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 탄닌성분은 5.40~11.18%로 분석되었으며, GS 10, 14, 19 등 3계통은 대비품종인 야부기다(10.18%)에 비해 높았으나, 여타 18계통은 낮게 나타났다. 전남 보성지역의 재래종(*Camellia sinensis*. var. *sinensis*) 차나무로 부터 분석한 기능성 성분의 경우 ECg 1.56~2.13%, C 0.12~0.17%, EC 0.35~0.49%, ECG 4.63~6.77%, EGC 1.75~2.46%, Caffeine 3.13~2.23%, Tannin 12.6~10.6% 로 분석되었는데(박 등, 2008), 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(장 등 2004, 寺田志保子 1987, 前田茂 1977), 박 등이 실시한 시료는 녹차를 제조한 후의 시료를 분석한 반면 본 실험에서는 찻잎 수확직후 동결 건조된 분말을 분석 시료로 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(표 9, 10) 기후적으로 남부지방보다 차 재배에 불리한 고위도에서 유망한 계통으로 육성 될 수 있을 것으로 사료된다.

표 9. 유망 선발 계통의 생육특성

No.	내한성* (0-9)	수확기 (월.일)	새싹길이 (cm)	새싹수 (개/주)	100아중 (g)	수 량 (g/주)
GS 15	1	5. 18	3.8	155.7	14.0	51.4
16	1	5. 17	4.2	120.0	11.8	42.5
19	1	5. 17	4.0	107.0	19.5	62.5
21	1	5. 18	3.9	138.0	19.2	79.6
22	1	5. 17	4.2	102.0	14.9	45.5
야부기다	5	5. 20	4.2	37.0	15.4	17.1

\* 내한성(적고정도) : 1(1% 미만), 3(1~10%), 5(10~30%), 7(30~50%),9(50% 이상)

표 10. 유망 선발 계통의 기능성

(성분함량 : %)

N0	총카테킨	카페인	폴리페놀	탄닌
GS 15	6.26	1.70	12.22	9.84
16	6.79	1.35	13.13	10.01
19	7.16	1.95	13.23	10.93
21	6.41	1.80	11.94	9.17
22	6.80	1.89	12.73	10.11
야부기다	6.34	1.98	12.32	10.18



<그림 1> 계통육성 시험포장



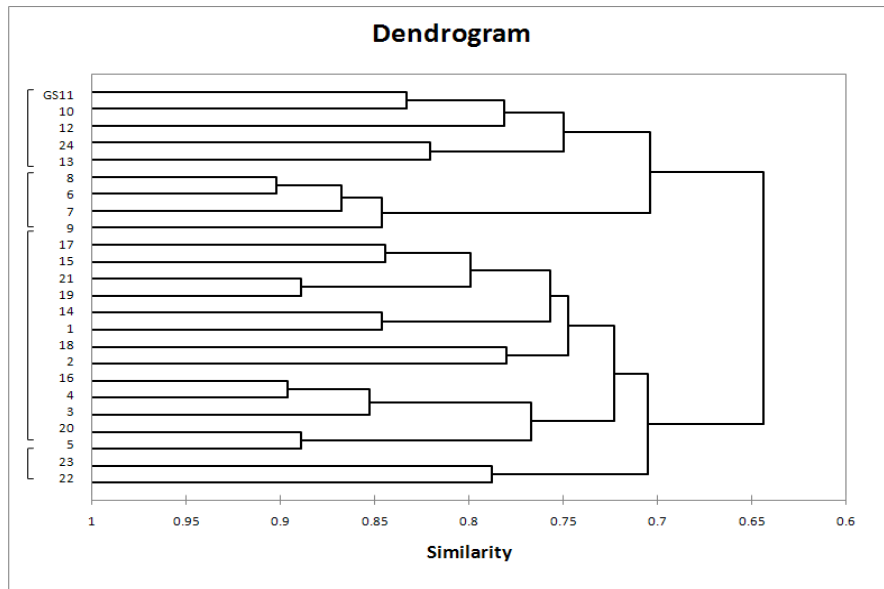
<그림 2> 선발계통 증식

#### 라. RAPD 유연관계 분석

국내외에서 수집한 현지에 공시된 24개 녹차 계통 간 유전적 유사도를 분석한 결과, 4개의 그룹으로 분류되었으며 그룹 간에는 70%이상의 유전적 유연관계를 나타냈다(그림 3). 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 나타났으며, Group III에는 GS 1을 포함한 가장 많은 13계통이 포함된 그룹으로서 70% 이상의 유전적 유사도를 보였다.

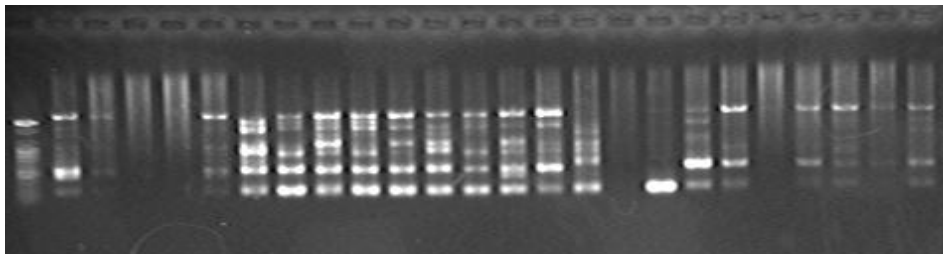
Group IV에는 78.8%의 유전적 유사도를 가진 GS 22, 23의 계통이 포함되어 있었으며(그림 3). 그 중 내한성 등 유망 시 되는 GS 15, 19, 21 등 3계통은 계통 간 유전적 유사도가 74~89%로 Group III로 분류되며 유전적 유사도가 높은 것으로 분석되었다.



<그림 3> 계통간 유전적 유사도

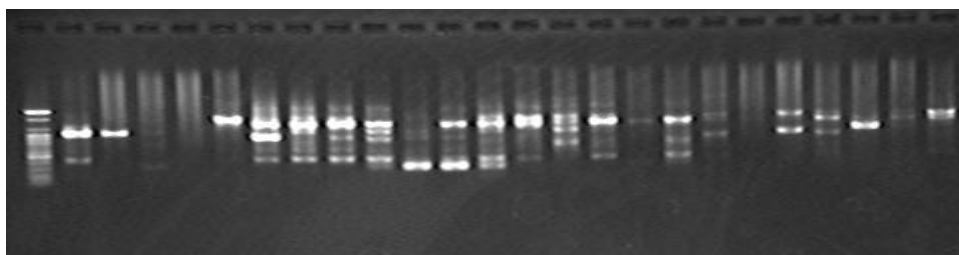
차나무의 품종간 비교는 주로 형태적 특징에 따라 구분되어 왔으며, 이와 함께 RAPD, RFLP 등 분자생물학적인 기법을 이용한 계통간, 품종간 유전적 다양성이 연구되어 왔다(김 등 2006, 김 등 1981, 박 등 2001).

#### OPA 16



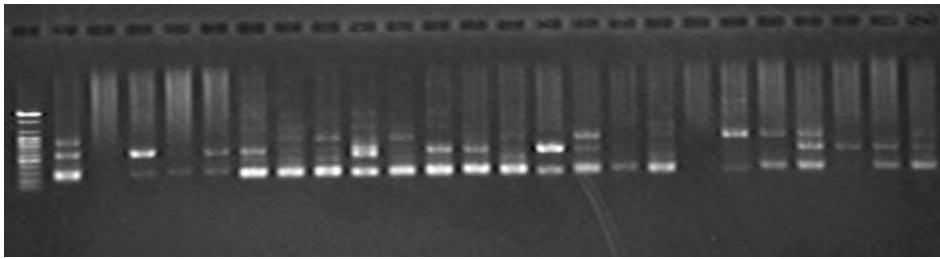
M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

#### 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

<그림 4> PCR을 통한 RAPD 밴드 비교

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(이 등, 2002), 본 실험에서도 이와 같이 수집된 계통들은 유전적 다양성을 가지고 있어 금후 내한성 품종 육성을 위한 유전자원으로서 가치가 있을 것으로 판단되었다.

## 4. 적 요

남부지방보다 위도가 높고 불리한 기후 조건인 위도가 높은 강원도 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 기초 자료로 활용하고자 정식 후 3년째에 조사 분석한 결과는 다음과 같다.

- 가. 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 cm 로 가장 길었고, 주당 새싹수는 GS 2 등 6계통이 102~155개로 가장 많았다.
- 나. 정식초기 1년차에 실내 내동성 전기전도도 검정(EC) 결과 LT<sub>50</sub>(동사온도)는 16계통에서 -10.15~-12.42℃로 내동성이 높은 것으로 나타났으며, 현지포장에서의 내한성과 비교해 볼 때 일치하지는 않았지만 대체적으로 유사한 경향을 보여 실내 EC 검정과 현장 생육에서 내한성을 종합적으로 고려한다면 차후 내한성품종을 육성하는데 유용한 자료가 될 것으로 사료되었다.
- 다. 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 GS8이 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.

- 라. 유전적 유사도 분석에 의하면 75% 수준의 유사도를 기준으로 3개 그룹으로 나눌 수 있었으며, 그 중 유망 시 되는 GS 15, 19, 21의 3계통이 유전적으로 매우 근연관계가 있는 것으로 분석되었다.
- 마. 이상의 시험을 통하여 종합적으로 검토한 결과 GS 15, 16, 19, 21, 22 등 5계통은 고위도에서 유망 시 되는 계통으로서 금후 고품질 내한성 품종육성에 유용한 유전자원으로 활용 될 수 있을 것으로 사료된다.

## 5. 인용문헌

- Dexter, S.T., Tottingham W.E., and Grabetr L.F. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* pp : 63-78
- Ikegaya, K., H. Takayamagi and T. Anan 1990. Quantitative analysis of tea constituent. *Tea. Res. J.* 71 : 43-73
- IPCC 2008. 기후변화 2007. 종합보고서. 기상청, 서울, pp. 47-50
- Kolar. S.C., Hayes D.M., Chen T.H.H., and Linderman R.G. 1991. Genotypic variation for cold tolerance in winter and facultative barley. *Crop Sci.* 31:1149-1152
- 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
- 太石千八 1988. 新茶業全書, 静岡懸 茶業會議所, 静岡, pp. 197-505
- 寺田志保子, 前田由美恵, 増井俊夫, 鈴木裕介 1987. 各種茶浸出液およびティ-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
- 前田茂, 中川致之 1977. 各種綠茶の總合的理化學分析, 茶業研究報告, pp. 45-85
- 食品科學大辭典 1991. 櫛談社, 東京, pp. 665
- 김길자, 최정, 허길현, 류재일, 배창휴, 이선하, 김홍재 2006. 차나무 유전자원의 화학적 성분에 의한 품종군의 분류. *한국차학회지* 12(2) : 209-216.
- 김재성, 김창호 1981. 한국산차수의내한성에 관한연구-지역별 엽형태와 내한성을 중심으로-. *한국임학회지* 53 : 37-43.
- 김정운, 신길호, 최형국 1996. 우리나라 차 재배 실태. *한국차학회지.* 2(2) : 209-216
- 김정운, 박수년, 최형국, 신길호, 한재석 2001. 한국 자생차(*Camella sinensis* L.)의 주요 특성 조사 *한국차학회지.* 7(1) : 123-133
- 농촌진흥청 2007. 차 재배 표준영농교본 - 160
- 박용구, 김주희, Ikeda Namiko, 신동일 2001. 한국과 일본 야생차나무의 도입경로와 기원에 관한 연구 : 1. 형태적 및 유전적 변이를 중심으로. *한국차학회지*7(1) : 143-161
- 박장현, 김영옥, 남승희, 김정근 2008. 대기 및 차잎 수확시기가 녹차의 주요 성분 함량에 미치는 영향. *한국차학회지* 14(1) : 167-174

이용호, 송근우, 강동주, 최주호 2002. 자생차 수집종의 엽특성별 RAPD 유연관계 분석. 한국차학회지. 8(3) : 67-75

장대자 2004. 우리나라 녹차와 타국산 녹차의 차별화를 위한 특성비교 및 기능성 제품의 개발. 박사학위논문. 건국대학교. pp. 21

정명근, 이민석 2008. 녹차 함유 카테킨 및 카페인 동시분석을 위한 최적 HPLC 분석 조건. 한국작물학회지 53(2) : 224-232

정병춘, 문윤호, 송연상, 한선경 2008. 2007년도 차 연구성과 보고 및 2008년도 협력 연구협의회(차나무 육종기술 워크샵), 작물과학원 목포시험장, 무안, pp. 112

정병춘, 문윤호, 송연상 2007. 차 재배. 표준영농교본-160. 농진청, 수원, pp : 203-204

정창호, 강수태, 주옥수, 2009. 국내 시판녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 폴리페놀 함량, 항산화 및 아세틸콜린에스터레이스 저해 효과. 한국식품저장유통학회지. 16(2) : 230-237

천중은, 강석원, 송동석, 최정 2000. 전기전도도 및 Triphenyl Tetrazolium Chloride를 이용한 차나무 내동성 검정방법 확립. 한국차학회지. 6(3) : 121-133

## 6. 연구결과 활용

연도 (연차)	활용구분	제 목
2010년도 (3년차)	논문게재	고위도 지역에서 내한성 차나무 육성을 위한 국내외 수집종의 생육 및 특성분석
	포스터 발표	대한민국 최북단 지역(강원 고성)에서 차나무의 생육특성

## 7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					08	09	10
책임자	농산물이용시험장	지방농업연구관	허남기	과제총괄 수행	○	○	○
공동 연구자	"	지방농업연구관	김경희	과제자문	○	○	○
	"	지방농업연구관	김경대	기상분석	○	○	○
	"	지방농업연구사	최병곤	생육조사 지원	○	○	○
	"	"	임상현	과제총괄 수행		○	○
	"	"	김희연	성분분석		○	○
	"	"	이광재	유전분석		○	○
		"	이재형	생육조사 지원			○