

최 종
연구보고서

차나무 한해경감을 위한 내동성 및 품질특성
검정과 시설재배 체계 확립

Development of Simple Testing Method for Freezing
Resistance and High Quality, and Establishment of
A Greenhouse Cultivation System for Tea

차나무 내동성, 품질관련 인자확인 및 간이검정법 개발
Identification of Factors and Development of Simple Testing
Method Related to Freezing Resistance and High Quality in Tea

차 시설재배 체계 확립
Establishment of A Greenhouse Cultivation System for Tea

연구기관
순천대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “차나무 한해경감을 위한 내동성 및 품질특성 검정과 시설재배 체계확립” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001년 10월 16일

주관연구기관명 : 순천대학교

총괄연구책임자 : 천 종 은

연 구 원 : 이 선 하

연 구 원 : 최 형 국

연 구 원 : 이 도 진

연 구 원 : 송 동 석

연 구 원 : 최 정

연 구 원 : 정 인 호

여 백

요 약 문

I. 제 목

차나무 한해경감을 위한 내동성 및 품질특성 검정과 시설재배 체계확립

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 지역별 자생 재래종의 분포조사

1999년 현재 차 재배 면적은 약 1,400 ha에서 1,920 M/T이 생산되고 있으며, 70%이상이 재래종을 주로 산기슭이나 사찰부근에서 야생하는 차나무에서 채종한 종자를 파종하여 실생으로 보급된 것이다. 또한 야생상태로 여러 지역에서 자생하여 왔다. 차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물이므로 우리나라 자생종에는 내한성, 내충성, 내병성 또한 품질이 우수한 우량개체가 자생지에서 산재되고 자연도태에 의해서 환경 스트레스에 강한 것들이 생존한 유전자원 보고(gene pool)역할을 할 수 있다고 사료된다. 특히 내한성(내동성)이 강하고 품질이 우수한 개체를 선발하여 교배모본이나 순계분리에 의해서 새로운 품종의 육성이 가능할 것으로 예견되므로, 이 두 형질에 대하여 개발된 간이검정법으로 평가하기 위해서 사전에 자생 재래종의 분포, 특성 등에 대해서 조사하였다.

2. 내동성 인자 검정법 개발

일반적으로 차나무 생육적온은 연평균기온은 14~16℃ 범위이며, 겨울철 최저기온이 -2℃이하에서는 신초가 동해를 받으며, -13~-14℃ 이하인 지역에서는 가지가 고사하는 동해를 받게 된다. 전남 지역은 우리나라 차 재배면적의 60%를 차지하나 최저극기온이 -10℃(보성)~-15℃(광양)로 동해 피해 가능성이 상존한다. 따라서 내동성 인자를 탐색하여 교배모본으로 이용해야 하는데,

차나무는 타가수정작물이므로 개체간 유전인자가 다를 것으로 예측되므로 적은 시료로 재현성이 높은 내동성 인자 평가방법의 개발이 절실히 필요하다. 따라서 많은 자생 재래종을 검정하기 위해서 각 개체의 동위염을 이용하여 내동성 인자를 검정하는 간이검정법을 개발코자 실험을 실시하였다.

3. 저온과 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석

추파성 내동성 화곡류는 낮은 온도(0~5℃)에서 일정기간 순화된 후에 내동성이 최대로 된다. 광합성은 월동기의 저온에 의해서 영향을 받아 저온과 높은 강도에서(광저해 현상) 크게 저하된다. 내동성인 품성은 광합성의 광저해 현상에 대하여 내성이 강한 특성이 있다. 또한 엽록소 형광측정법은 신속, 정확, 비파괴적이고 여러 stress 연구에 적용 할 수 있는 장점이 있다. 따라서 차나무 잎을 이용하여 저온과 강한 광도에서 유기된 광저해 현상을 조사하여 광저해 정도를 지표로 내동성 간이검정법을 개발코자 실험을 하였다.

4. Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석

작물의 내동성은 유전자 및 여러 환경요인에 의해서 지배된다. 최근에 월동기에 저온에 의한 작물체의 순화과정 중에 세포간극에서 특수단백질인 결빙방지 단백질(antifreeze proteins)의 기능에 대한 연구가 활발하여 결빙방지 단백질의 농도 및 발현량은 여러 월동작물에서 내동성과 상관관계가 높다고 보고하였으며 이 단백질의 식품에의 이용이 연구되고 있다. 상록수인 차나무에서 결빙방지 단백질의 기능과 내동성과의 관계를 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

5. 품질특성 간이검정법 개발

차의 품질은 여러 가지 요인에 의해서 결정되며, 이들 성분 중 탄닌(카테킨

류), 카페인, 아미노산, 총질소 등이 주요성분이며, 기존의 일반성분분석법은 시간과 노력이 많이 들고, 분석자의 능력에 따라서 분석결과간 차이가 인정되며 최종적으로 분석시약에 의한 오염물질이 발생하게 된다. 최근에 근적외선을 이용하여 분자진동에 의한 구조해석 및 분석방법으로 근적외분광분석기를 활용하는 분야가 확대되고 있는 추세이다. 이 방법의 장점은 화학약품이 필요 없고, 시료의 조제가 간단하여 다량의 시료를 신속하게 분석이 가능하며 시료의 반복사용으로 재현성 있는 분석과 동시 多成分의 분석이 가능하다. 따라서 차의 양질 우량품종을 육성하기 위한 유전자원 및 교잡 초기세대의 생엽의 특성 조사에 대한 객관적인 평가 방법으로 대처하고자 실험을 실시하였다.

6. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발

개발된 내동성 및 품질 특성에 대한 간이검정방법을 이용하여, 유용한 개체를 선발하여 육종재료로 이용하고자 실험을 실시하였다.

7. 차재배에 적합한 시설재배 환경의 분석

채소나 화훼류의 초본 작물은 시설재배가 일반화되어 있어 그에 관한 연구가 활발하게 이루어져 있으나 목본류에서는 시설재배가 드문 실정으로 연구도 미진한 상태이다. 시설재배는 노지재배와 비교해서 재배의도에 따라서 환경을 조절할 수 있는 이점을 가지고 있다. 주로 노지재배로 이루어지고 있는 차나무를 시설재배에 이용하기 위해서는 차나무의 각 환경조건에 대한 반응을 기초자료로서 확보하는 것이 중요하다. 차재배의 환경요인으로는 온도, 광, 수분, 가스, 토양, 비료 등이 있으며 그 중 온도는 조기생산과 동해 회피면에서 광은 육로차 등 품질 향상면에서 중요한 요인으로 연구의 중요성이 요구된다. 가온 방법과 적절한 시기 선택으로 조기 생산을 효율적으로 실시할 수 있도록 온도에 관한 생육 반응에 관한 연구와 광합성 효율에 관한 연구를 추진하고자

하였다.

8. 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사

시설재배에서는 집약적인 고비용의 재배관리로 고품질, 다수확, 조기생산을 통하여 고소득을 목표로 한다. 한번 식재하면 30년 가까이 경제재배가 가능한 차재배에 있어서 품종의 선택은 중요한 요소라고 할 수 있다. 시설재배에 적합한 품종은 조기 생산성, 다수성, 다비성, 품질의 우수성 등이 요구된다. 차 연구가 짧은 우리 실정에서는 외국의 우수한 품종을 도입하여 특성을 조사하고 적응시험을 거쳐서 우리 실정에 맞는 품종으로 육성하는 방법에서 출발할 수 밖에 없는 실정이다. 장기적으로는 우리 고유의 품종육성에 연구 노력을 기울여야 함은 강조할 필요가 없는 중요한 사항이다.

9. 시설재배의 생산성 및 차 성분 분석

상록 관목성인 차나무의 수확 대상 부위는 맹아 후 신장하는 신초의 줄기와 새로 전개하는 2-3매의 연한 잎이다. 일반적으로 노지재배에서는 차 생산은 4월 하순부터 9월 중순까지 년 4회 수확이 가능하나 처음 수확하는 1번차가 수량이 많고 품질이 좋아 차재배에서 중요한 비중을 차지한다. 그런데 맹아기에 서리로 인한 동해의 피해로 첫물차의 수확에서 품질이 떨어지고 수량이 감소하는 경우가 빈번하다. 가온을 하여 재배되는 시설재배에서 차 생산성은 연료비, 시설비를 보전하고 얼마나 높은가 하는 점은 시설재배의 성패의 관건이라고 할 수 있다. 차는 일교차가 높은 곳에서 품질이 좋은 차가 생산되고 수확기에 지속적인 고온은 품질을 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다. 시설재배에서 생산된 차의 성분 분석은 시설재배시 온도관리의 방향을 정하여 주는 지침이 될 수 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 지역별 자생 재래종의 분포조사

보성, 담양, 구례 지역에서 자생하는 자생 재래종의 분포, 밀도, 특성 등을 월동 전·후에 조사하고, 시험용 시료를 시기별로 채취하여 사용하였다.

2. 내동성 인자 검정법 개발

지역별, 시기별로 채취한 시료를 대조구(+3°C), 월동 전·월동 중에는 대조구(3°C), -14°C ~ -24°C에서 2시간씩 동결 처리하였다. 월동 후에는 대조구(3°C), -2°C ~ -9°C에서 2시간씩 저온처리 후에 대조구 및 동해처리한 시료를 같은 크기(직경 15 mm)로 절단하여 시험관에 넣고 증류수에서 electrolyte leakage의 전기전도도를 측정하고, boiling구와의 비교치로 동해 정도를 판정하였다. 또한 대조구 및 동결처리한 시료를 0.05M sodium phosphate buffer로 0.7% TTC용액을 만들어 15시간 암기에서 방치한 후에 95% ethanol에서 추출하여 분광광도계로(A530 nm) 흡광도를 측정하여, 대조구와 비교하여 동해 정도를 판정하고 2 분석치와 내동성과의 관계를 산출하였다.

3. Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석

지역, 시기별로 채취한 시료를 3~4 cm로 절단하여 추출 완충용액(20 mM ascorbic acid + 20 mM CaCl₂, pH 3)에서 30분간 vacuum infiltration 후 저온에서 2,500rpm으로 30분간 원심분리하여 apoplast extracts를 획득하였으며, 단백질의 농도는 Bradford 방법 즉, dye reagent concentrate를 무이온수에 희석하여(1:4) sample 과 diluted dye를 wells에 넣은 후 590 nm에서 absorbance 측정하고, 전기영동은 15% SDS-PAGE gels에서 분리하고 Coomassie brilliant blue로 염색하였다. Immunoblotting은 전기영동 후에 단백질을 0.45 μm nitrocellulose막에 전이하고, blots는 25 mM Tris-HCl(pH

7.6), 140 mM NaCl과 1% skim milk powder에서 24시간 blocking한 후에 anti-GLP antiserum, anti-TLP antiserum, anti-CLP antiserum에서 2시간 또는 24시간 처리하였다.

4. 저온하 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석

광저해 처리는 지역별로 채취한 시료를 5°C cold chamber에서 강한 광선 ($1,500 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)을 0, 3, 5, 7시간 처리하고 실온에서 30분간 암적응 후 chlorophyll fluorescence(F_0 , F_m , F_v/F_m) 측정하여 대조구와 비교하여 품종간 광저해에 대한 내성 차이를 조사하였다.

5. 품질특성 간이검정법 개발

지역 및 시기별로 시료를 채취, 건조하여 40 mesh이하의 분말로 분쇄하여 total-N, tannin, caffeine, total free amino acid 등을 일반성분분석법으로 분석하고, 동일한 시료를 NIRs의 sample transport module에 차입 분말을 장착하여 얻어진 spectrum을 WINISI 프로그램으로 미분전환 및 다중회귀로 검량식을 유도하고 검량식을 확인하였다.

6. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발

개발된 간이 내동성 및 품질 검정법에 의해서 많은 germplasm과 교잡 초기 세대의 계통에 대하여 내동성 및 품질 특성을 검정하였다. 시험장의 유전자원 포에서 수집종 및 교잡 후기세대의 계통의 생엽 200g를 2001년 5~7월 사이에 채취하여 열풍, 건조하여 40 mesh이하의 분말로 만들어 5g을 충전하여 NIRsystem으로 성분을 분석하였다. 또한 저온에서 강한 광 조건에서 광저해를 3시간 동안 유기시켜 PAM-2000을 이용하여 광저해 정도를 측정하여 내동성 정도를 추정하였다.

7. 차재배에 적합한 시설재배 환경 분석

시설내 온도변화를 알아보기 위하여 반자동 하우스에 지중가온 시설을 설치하고 온도변화를 측정하였다.

20℃, 25℃, 30℃의 온도조건에 16시간 일장, 70% 상대습도, $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 광조건으로 장치한 growth chamber에, 20cm pot에 식재한 1년생 삼목묘를 5품종 각 처리온도별 10본씩 입실하여 일주일 간격으로 생육을 조사하였다.

온도변화에 따른 광합성을 측정하기 위하여 15℃에서 35℃까지, 5℃간격으로 5처리구를 설정하여 각 밀폐된 용기에 차나무의 pot 식물을 넣어 독일의 Heinz Walz GmbH사의 Gas Exchange Measuring Station을 이용하여 CO₂량의 변화를 측정하여 광합성율을 조사하였다. Portable 광합성측정기로 포장상태에서 시기별, 차광막설치, 미설치상태에서 6개 품종의 광합성율을 측정하였다.

적합한 토양실험은 황토, 마사토, 질석을 각각 1:1로 섞은 배합토를 직경 20cm pot에 넣고 삼목묘 2년생을 심고 신초장, 엽장, 엽폭, 생체중, 건물중을 측정하였다. 질소시비량에 관한 실험은 질소량이 10a당 10kg, 30kg, 50kg, 75kg, 90kg, 110kg이 되도록 요소로 계산하여 시비하고 신초생장을 조사하였다. 엽면시비의 효과를 알아보기 위하여 2년생 삼목묘에 요소 0.5, 1, 1.5, 2, 3%액을 2일에 한번씩 4회 앞에 분무 처리하였다.

8. 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사

일본에서 육성된 9개 품종, Fukumidori, Fushun, Makinoharawase, Meiryoku, Saemidori, Oiwase, Okumidori, Sunmei, Yabukita와 우리나라 향림사 집단의 재래종 3년생 삼목묘를 시설하우스에 180cm x 30cm 간격으로 식재하고 수형, 수세, 수고, 신초장, 엽장, 엽폭, 엽두께, 분지수 등의 형태적 특성과 맹아기, 신초신장, 개화시기 등 생태적 특성, 그리고 삼목을 통한 번식력을 조사하였다.

유전적 특성을 알아보기 위하여 수집종을 포함하여 37종의 품종과 동백속

식물의 DNA를 추출하여 AFLP(amplified fragment length polymorphism)분석을 실시하였다. DNA는 0.1g의 차잎을 채취하여 액체질소를 사용하여 마쇄하고 Nucleon phytopure kit(Amersham Life Science)를 이용하여 추출하였다. AFLP 분석을 위한 DNA PCR 증폭은 AFLP analysis system (Life Technologies, USA)을 이용하였다. Selective 증폭은 *EcoRI*/*MseI* primer의 10개 조합 primer를 사용하였다. AFLP 산물은 6% polyacrylamide gel 에 전기영동 후 EtBr로 염색하였다. Gel에 나타난 DNA band로 cluster 분석을 하여 유연관계를 밝혔다.

9. 시설재배의 생산성 및 차 성분의 분석

시설하우스내에서 일정기간 가온을 실시하여 6개 차 품종 Fushun, Meiryoku, Saemidori, Okumidori, Yabukita, 재래종의 생엽의 생산량을 첫물차, 두물차, 세물차의 수확기별로 조사하였다.

6개 재배종의 차 성분을 분석하기 위하여 시기별로 시료를 채취하여 건조하고 60 mesh이하의 분말로 분쇄하여 근적외분광분석기(NIRS-6500 NIR system, USA)를 이용하여 전질소, 아미노산, 테아닌, 카페인, 카테킨, 비타민 C, 회분 함량을 측정하였다. 다시 카테킨은 종류별로 HPLC 분석을 실시하였다.

10. 종합적 시설재배 모델

3년간의 연구 결과의 data와 재배농가의 방문을 통한 현장재배조사, 그리고 문헌조사를 통하여, 시설재배상의 제요소를 포함하는 종합적인 재배 모델을 수립하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 지역별 자생 재래종의 분포조사

자생 재래종의 분포상태는 보성 지역은 14개소에 4.1 ha, 구례 지역은 4개

소에 1.3 ha, 담양 지역은 12개소에 1.8 ha가 자생하고 있으며 주로 대밭이나 잡목사이에 자생하고 있었다. 이곳 포장의 광도는 대조구(노지) 광도의 5~6% 상태에 불과하였으며, 겨울철과 이른봄에 동해나 상해 피해 가능성이 적었으나 신초의 발생시기가 늦었다. 이들 지역에서 자생 재래종의 특성을 면밀하게 조사하여 우수한(elite) 계통을 선발하는 것이 새로운 품종의 육성에 도움이 클 것으로 생각된다.

자생 재래종의 관리상태가 소홀하여 자원의 유실이 심하고, 보다 체계적인 수집과 보존이 필요하다. 또한 자생종의 분포가 대부분 대나무 밭이나 잡목사이에서 성장하고 있기 때문에 유용한 형질의 평가 및 선발은 다각적인 평가방법의 개발이 필요하다고 생각된다.

2. 내동성 인자 검정법 개발

동결조직에서 유출되는 電解質을 측정하는 전기전도도 검정법(electrical conductivity : EC)과 효소에 의한 TTC의 환원력 정도를 측정하는 방법(TTC test)을 이용하여 실험을 실시한 결과, 전해질의 최초 流出量은(EC1) 저온처리 온도가 낮아질수록 점진적으로 증가하다가 -5℃에서 LT50을 보였으며, 0.7% TTC용액에서 동결조직을 환원시킨 결과는 -5~-6℃에서 동사온도(LT50)를 보여 두 방법의 결과가 비슷하였다. TTC검정의 경우에 시험재료의 양과 TTC용액의 처리농도가 증가함에 따라 TTC 환원액의 흡광도는 증가되었으며, 흡광 파장은 530 nm가 적절하였다. 본 연구는 EC test와 TTC test는 차나무 내동성을 검정하는데 재현성이 높은 검정방법으로 생각된다.

특히 TTC 검정은 적은 시료량을 이용할 수가 있어서 유전자재료의 선발 및 교잡초기세대의 검정에 유용하게 이용될 수 있다고 생각된다. 그러나 본 결과의 활용에 있어서 조직의 동결 처리시에 시료의 동질성, 동결처리온도, 동결속도, 해빙속도, 수분증발 방지 등에 대한 세심한 주의와 해결방법을 각 실험실

의 여건에 맞게 설정해야한다.

3. 저온하 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석

차나무는 타가수정을 하므로 차나무 종자는 종자간 유전적 구성이 다소 다르므로 耐凍性 및 기타 형질을 검정할 때에, 검정용 시료의 충분한 확보가 문제가 된다. 저온에서 강광에 의한 光阻害 程度(F_v/F_m)는 광처리 시간이 길어질수록 직선적으로 작아졌다. 저온처리한 차나무 잎의 F_v/F_m 값은 $-5^{\circ}\text{C} \sim -8^{\circ}\text{C}$ 까지 처리온도가 낮아질수록 서서히 감소되었으며, -9°C 에서 급격히 감소되어 $-9^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 에서 조직이 광합성능을 상실하여, 이때가 조직의 凍死溫度 (LT_{50})라고 생각된다. 設定溫度에서 2시간 저온처리가 끝난 후에 3°C 에서 24시간 解氷한 것과 비교해서, 실온과 광조건($300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 4시간 光回復한 것의 F_v/F_m 값이 낮고 특히 -9°C 보다 낮은 온도에서 차이가 컸다. 遮光이 없는 대학 포장의 F_v/F_m 값이 차광이 심한 것 보다 매우 높았다. 따라서 저온조건에서 강한 광선에 의한 광저해현상은 음지에서 생육된 식물체에서 크게 나타났으며, 양지에서 생육된 식물체는 강한 광에 대한 耐性을 어느 정도 보였다. 6시간 광저해구의 광저해 정도(F_v/F_m)는 -5°C 처리구의 TTC용액 환원액의 吸光度와 높은 정의 상관($0.709^{**} \sim 0.801^{**}$)을 보였다. 특히 Spearman's rank correlation에 의한 상관은 매우 높은 정의 상관($r_s = 0.910^{**}$)을 보여, TTC 검정에서 환원력이 높은 계통은 F_v/F_m 값도 높았다. 6시간 光阻害區의 光阻害 (F_v/F_m : X)는 TTC 환원력(Y) 變異의 64%를 설명함으로써, chlorophyll fluorescence의 F_v/F_m 비율은 차나무의 내동성을 평가하는데 간단하고, 비파괴적이며, 객관적인 방법이 될 수 있어 육종재료 및 초기세대의 내동성 계통 선발에 효과적인 간이방법으로 이용될 수 있다고 생각된다.

본 연구결과를 활용할 때에 유의사항은 시험용 시료가 자연상태처럼 신선해야하고, 저온과 강한 광선을 처리 할 때에 온도의 상승억제와 과도한 광에 의

한 조직의 고사방제에 유의해야 한다. 30분마다 관찰하여 수분을 적당하게 주입하여 주어야 한다.

4. Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석

차잎에서 결빙방지 단백질의 농도는 계절적 변화를 보이고, immunoblotting에서 3종류의 단백질이 검출되었으나 활성이 없었다. 차나무의 내동성에 대한 AFPs의 역할은 회의적이므로 당함량이나 기타 요인에 대한 연구가 필요하다. 현 단계에서 AFPs 발현량 및 활성에 의한 내동성 정도의 결정은 회의적이며, 연구가 더 필요하다.

5. 품질특성 간이검정법 개발

차엽의 일반성분 분석결과에서 총질소 함량은 묵은 잎의 경우 평균 2.66%, 첫물차는 4.80%, 두물차는 2.99%, 세물차는 2.99%로 각각 나타났으며, 첫물차의 평균함량이 높고 다음이 두물차 순으로 채엽 시기가 늦어질 수록 감소하는 경향이였다. 총아미노산 함량은 묵은 잎의 경우 평균 699 mg /100g, 첫물차는 1723 mg/100g, 두물차는 1,003 mg/100g, 세물차는 836 mg /100g로 각각 결과를 보여, 첫물차의 평균함량이 가장 높게 나타났다. 탄닌 함량은 묵은 잎의 경우 평균 5.41%, 첫물차는 13.54%, 두물차는 10.00%, 세물차는 7.81%로 각각 결과를 보였다. 카페인함량은 묵은 잎의 경우 평균 0.78%, 첫물차는 3.21%, 두물차는 2.80%, 세물차는 2.45%로 결과를 보였으며, 첫물차에서 평균함량이 높게 나타났다. 일반성분분석의 결과와 근적외분광분석기에 의한 측정치간의 상관에서 검량식의 결정 계수(R^2)를 보면 카페인(0.98), 총질소(0.94), 탄닌(0.94), 총아미노산(0.88)순으로 높았고, 각 성분에서 높은 정의 상관이 인정되었다. 일반성분 분석치와 NIRs 분석치에 대한 검량식의 유도 결과, NIRs분석방법으로 총질소, 총아미노산, 탄닌, 카페인의 성분분석이 매우 높은 재현성 및 정밀도로 檢量式을 얻어 앞으로 유전자원 및 교잡초기 세대에서 많은 개체의 생엽 특성 파악 및 품질을

쉽고, 간단하게 동시 多成分 분석이 가능하였다.

본 결과의 활용은 다음과 같은 조건에 유의해야 한다 ; 1) 시료의 건조가 충분해야 하고, 변성이 되지 않아야 한다. 2) 시료분쇄가 균일해야 한다. 3) 미리 5~6점의 시료를 일반분석하여 NIRs에 의한 분석 결과와 비교한 후에 본 결과를 이용한다.

6. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발

내동성이 중간정도인 Yabukita에 비해서 광저해에 대한 내성인 계통이 차 시험장의 경우 3계통, 강진 다산초당의 경우 2계통, 대원사의 경우 1계통, 순천대 포장의 경우 1계통이 선발될 수 있었다. NIRs에 의한 품질검정 결과, 교잡후기세대 및 수집종 중 36계통이 Yabukita 보다 우수하였으며, 유전자원 포장에서는 7계통이 우수하였다. “야부기다”보다 특히 우수한 품질을 가진 계통을 선발할 수 있었다.

Chlorophyll fluorescence(Fv/Fm)이나 NIRSystem을 이용한 내동성 및 품질 특성의 검정은 검정용 시료가 동일한 조건에서 생육된 경우에 그 평가의 효율성 및 정밀도가 높다.

7. 차재배에 적합한 시설재배 환경 분석

지중 50cm 깊이에 ϕ 13mm plastic 연질호스를 23cm 간격으로 각 이랑에 2줄씩 설치했을 때 지중온도는 15℃~27℃의 변화를 보였다. 보일러를 10℃로 조절했을 때 23℃ 평균온도 범위를 유지할 수 있었다.

온도에 대한 반응은 온도가 높을수록 빨리 그리고 단시일내에 맹아가 신속하게 진행되었다. 30℃ 처리에서는 11일부터 맹아가 시작되어 15일에 완료되었다. 25℃에서는 30℃에서와 마찬가지로 11일부터 맹아가 시작되어 20일에 100%에 이르렀다. 20℃에서는 가장 지연되어 맹아가 시작되었다. 시설재배에서 조기 shooting은 높은 온도를 요구하는 것을 알 수 있었다. 자연상태에

서 휴면이 타파되어 온도를 가하면 shooting이 가능한 시기는 1월 5일 전후에 해당하고 이 맹아에 소요되는 일수는 20일 간격으로 5일 정도씩 단축되었다. 자연상태에서는 4월 10일이 맹아기에 속하였다. 품종별로 온도에 대한 반응은 모두 비슷한 경향으로 엽장이나 초장에 있어서 25℃ 생육상태가 가장 양호하였다. 20℃에서는 생육이 지연되는 결과를 나타내고 있으며 30℃에서는 초기 생장은 빠르게 진전되었으나 시간이 지날수록 지연되는 결과를 보였다.

광량에 따른 광합성율을 보면 차나무는 20-40 PPF에서 보상점을 나타내고 900 PPF이상에서 포화점이 있음을 예상할 수 있다. 온도의 영향에서 광합성율은 25℃까지는 온도가 올라 갈수록 광합성율이 증가하였다. 그러다가 30℃에서는 오히려 감소하여 순광합성율에서는 15℃처리보다 낮은 결과로 나타났다. 호흡은 온도가 높아질수록 빠른 속도로 증가함을 알 수 있었다. 공중습도는 증가할수록 광합성율이 감소하는 것으로 나타났다. 탄산가스는 200 ppm에서 보상점으로 나타나고 포화점은 1,300 ppm이상인 것으로 예상된다. 하우스재배에서 광합성측정 결과는 Meiryoku가 광합성 효율이 높은 것으로 나타났고 오전중 광합성율이 오후보다 높았다. 40% 차광막 설치는 광합성율을 20% 감소시키는 결과를 가져 왔다.

토양은 마사토: 질석 1:1의 배합토에서 생육이 좋은 것으로 나타나, 물빠짐이 좋은 토양에서 차나무 재배가 적당한 것을 알 수 있었다. 질소비료는 10a 당 50kg, 70kg 처리가 양호한 결과를 보이고 있으나, 시비의 효율면에서 50kg 시비가 적당한 시비량인 것으로 판단되었다. 요소의 엽면시비는 1% 처리가 효과적이었다.

8. 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사

대체적으로 품종 고유의 특성을 하우스 재배에서도 그대로 나타나는 경향이 있었다. 수세는 대부분 강하고 수형이 개장형이고 많고 직립형은 Meiryoku, Saemidori, Yabukita였다. 잎이 큰 품종은 장타원형인 Meiryoku(122.4 mm)와

Yabukita(115 mm)였고 작은 잎은 재래종(72.5 mm)과 Fushun(87.5 mm)이었다. 조기생산성의 지표가 되는 맹아기가 빠른 품종은 Makinoharawase(4월 6일), Saemidori(4월 8일)였으며 늦은 것은 재래종(4월 20일)과 Okumidori(4월 19일)였다. 신초 길이는 품종별로 127.1 mm~164.4 mm의 범위에 속하며 Meiryoku가 가장 길고 재래종이 짧았다. 신엽은 3-4장이었고 잎은 53.8 x18.9 mm~79.4x24.6 mm의 범위에 속하고 큰 품종은 성숙엽에서와 마찬가지로 Meiryoku와 Yabukita였다. 분지수는 2.0~3.0의 범위였다. 맹아증은 수확량에 영향을 주는 요소라고 할 수 있는데 재래종이 33.5g인 것에 비하면 다른 품종은 55.9~72.7g에 분포하고 있었다. 발근율이 높은 품종은 Meiryoku(92.7%), Saemidori(86.1%), Yabukita(85.3%)였다. 하우스재배에 적응성을 나타내는 품종은 조기생산성에서 Saemidori, 다수확성에서는 Meiryoku와 Yabukita였다.

37개 차 품종 및 동백속 식물의 AFLP분석 결과 *EcoRI* 과 *Mse I* 의 64 primer 조합중 10개조합의 primer로 최종 selective PCR 증폭을 실시하였는데 *EcoRI* AAG primer와 *Mse I* 의 CAG primer 조합에서 다형성이 가장 높았고 *EcoRI* ACT primer와 *Mse I* 의 CAG primer 조합에서 다형성이 가장 낮았다. Cluster 분석한 결과는 5개 그룹으로 나누어지며 하우스 재배종은 주로 Yabukita group에 속하는 것으로 나타났다. 특이적 밴드의 출현은 Fushun 품종에서 많이 나타났다.

9. 시설재배의 생산성 및 차 성분의 분석

하우스에 가온을 1월부터 실시한 결과 3월 20일에 채엽이 가능하였다. 노지 재배에서는 5월 10일에 수확하게 되어 50일 앞당기는 효과를 가져왔다. 수량은 Meiryoku가 첫물차에서 415kg/10a 두물차는 537kg/10a, 세물차는 542 kg/10a을 생산하여 총 1,494kg/10a을 생산하였다. 노지재배에서 총 1,060kg /10a을 생산하여 하우스 재배로 약 41% 증수하는 효과를 가져왔다. 우리나라 평균생산량에 비교하면 2.4배 증수하는 결과였다. 경제성에 있어서는 질이 좋

은 조기 생산량이 많아 kg당 12,000원으로 계산하면, 10a당 17,928천원의 수익이 예상되어 노지재배 보다 2.3배의 수익 증대를 가져오는 결과였다.

하우스에서 재배하는 차 품종들의 맛과 기능성에 관여하는 화학성분들을 근적외분광분석법을 이용하여 분석하고 카테킨 종류는 HPLC로 분석하였다. 새순에서 분석한 결과를 보면, 전질소는 3.87~6.40%, 유리 아미노산은 0.98~4.26%, 테아닌은 0.83~2.65%, 카페인은 2.26~3.92%, 카테킨은 10.33~13.85%, 비타민 C는 50.1~225.516 mg/g, 회분은 11.54~23.05% 범위의 함량을 나타냈다. 첫물차는 두물차, 세물차에 비해서 전질소, 유리 아미노산, 테아닌 함량이 높았고, 카페인, 카테킨 함량이 적게 나타났다. 한국 재래종을 일본 차품종과 비교하면 카페인, 카테킨이 많고 유리아미노산, 테아닌이 적었다. 묵은 잎에는 유리아미노산, 테아닌, 카페인, 카테킨이 새 잎보다 적게 함유되어 있는 것으로 나타났다. 전반적으로 하우스에서 조기에 생산된 차는 고급녹차에서 요구되는 아미노산, 테아닌 성분이 많은 것으로 분석되었다. HPLC 분석에서 나타난 총카테킨 함량은 첫물차에서 현저하게 적었고 늦어질수록 평균적으로 증가하였다. 카테킨 종류중에서는 (-)EGCg이 차지하는 비율이 절반 이상으로 높고 시기별로 증가폭도 커졌다. 하우스재배를 통해서 고농도 기능성 카테킨 생산도 가능하다고 할 수 있다.

10. 종합적 시설재배 체계 모델

차 시설재배에 필요한 시설 및 장비, 적합한 품종선택, 온도관리, 차광관리, 시비관리, 병해충 방제관리, 탄산가스처리, 수확관리면에서 복합적인 차 시설재배 체계의 모델을 수립하였다.

이 시설재배 체계는 기존의 차재배 농가나 새로 차재배를 시도하고자 하는 농가가 시설재배를 처음 시작하고자 할 때 효과적으로 활용할 수 있는 모델이 될 것이다.

SUMMARY

1. Survey of Distribution of Native Land Races

The current cultivated area of tea tree was about 1,400 ha, showing that the area is increasing steadily, but the land relief was 5~40° that was main reason for non-mechanized cultivation and problem for extension of management scale. The native land races were distributed at 14 sites with total area of 4.1 ha in Bosung, at 4 sites with 1.3 ha in Gure and at 12 sites with 1.8 ha in Damyang, respectively. The land races grow within bamboo trees or shrubs, and the light intensity in those sites was only 5~6% compared with the control(no shading place). Those environmental conditions caused the plants to be protected from cold damage in winter or frost damage in early spring. However, new shoots emerge lately compared with no shading field. So, it is possible to select elite lines having freezing resistance and high quality in tea.

2. Development of Simple Testing Method for Freezing Resistance

Simple reproducible procedures are described for assessing freezing injury of tea leaf involving controlled freezing of excised leaves and measurements of leached electrolytes and reduction of 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride(TTC) to a water-insoluble red formazan. The results showed that two methods had highly significant linear regression($R^2 = 0.757^{**}$), suggesting TTC test had an advantage that a small amount of tissue(30~80 mg) is required. The two methods can be used in selecting

and breeding elite lines for freezing resistance in tea.

3. A Simple Method for Testing Freezing Resistance with Use of Chlorophyll Fluorescence

As for increasing cultivation area of tea, and stable production of high quality tea, the freezing resistance is very important character. Almost of farmers have planted out-pollinated seeds that are not genetically pure. So, it requires a little sample, and quick simple method to test freezing resistance for lots of germplasm and early generation of hybrids. The absorbance(A530 nm) of TTC reduction solution at -5°C plot was positively correlated with resistance to photoinhibition of PSII in 6h photoinhibitory plot, and significantly fitted by simple linear regression($R^2 = 0.64^{**}$). Chlorophyll fluorescence measured by Fv/Fm has been found to be very useful in evaluating relative levels of freezing resistance in tea.

4. The Seasonal Variation of Antifreeze Proteins

The seasonal variation of antifreeze proteins in tea leaves was remarkable and three kinds of proteins were detected with immunoblotting, but they had no antifreeze activities from extracts. Even if the protein concentrations were increased highly according to cold-acclimation in winter, the antifreeze activities were extremely low, suggesting that those proteins from tea leaves would not be correlated with freezing resistance in tea.

5. Establishment of A Simple Method for Analysis of Chemical Components Using Near-Infrared Spectroscopy

A traditional analysis of tea chemical components is time-consuming, difficult and sometimes the analysis results are affected with some factors ; for example, methods of analysis and kinds of chemicals. As for screening and testing quality in lots of germplasm, and early generation of hybrids, a simple method for analysing contents of total nitrogen, amino acids, tannin and caffeine is needed. Tea leaves of 115 lots collected from different sites, picking times, varieties were dried, ground, and the chemical components were analyzed by near infrared spectroscopy(NIRs).

The total nitrogen contents with laboratory analyses ranged 1.62~4.14% with mean of 2.66% in old leaves(Feb.28~Mar.3) , 2.92~5.53% with mean of 4.80% in the first harvested leaves(Apr.30~May 13), 2.88~5.34% with mean of 2.99% in the second harvested leaves(June 19~28), and 2.27~3.59% with mean of 2.99% in the third harvested leaves(Aug.8~18), respectively. The earlier harvested leaves had higher contents of nitrogen than old leaves did. The total amino acid contents with laboratory analyses ranged 531~861 mg/100g with mean of 699 mg/100g in old leaves, 750~2,930 mg/100g with mean of 1,723 mg/100g in the first harvested leaves, 230~2,020 mg/100g with mean of 1,003 mg/100g in the second harvested leaves, and 747~1,014 mg/100g with mean of 836 mg/100g in the third harvested leaves, respectively. The earlier harvested leaves had higher contents of amino acid than old leaves did. The tannin contents with laboratory analyses ranged 2.99~8.62% with mean of 5.41%

in old leaves, 8.74~18.92% with mean of 13.54% in the first harvested leaves, 5.12~18.22% with mean of 10.0% in the second harvested leaves, 6.80~9.93% with mean of 7.81% in the third harvested leaves, respectively. Also, earlier harvested leaves had higher tannin contents than old leaves did. The caffeine contents with laboratory analyses ranged 0.21~1.66% with mean of 0.78% in old leaves, 2.61~4.14% with mean of 3.21% in the first harvested leaves, 0.99~3.76% with mean of 2.80% in the second harvested leaves 1.56~3.29% with mean of 2.45% in the third harvested leaves, respectively. The earlier harvested leaves had higher caffeine contents than old leaves did. The relationship between laboratory analysis and NIR spectroscopy was highly significant in caffeine($R^2 = 0.98^{**}$), total nitrogen($R^2 = 0.94^{**}$), tannin($R^2 = 0.94^{**}$), and total amino acids($R^2 = 0.88^{**}$), respectively.

The correlation of validation(1-VR) showed high coefficients ($0.91^{**} \sim 0.97^{**}$). Accuracy and precision of NIRs predictions were adequate for quality assurance to analyse the four components in tea leaves. It is concluded that NIRs method is very suitable for the determination of tea leaf component contents.

6. Identification of Useful Factors with Use of Chlorophyll Fluorescence and NIRsystem

Lots of lines in native land races were distributed in natural conditions with greater freezing resistance compared with Yabukita investigated by 3h photoinhibition. Also, lines with higher quality could be selected from hybrids and germplasm by NIRsystem in very short

time. Similar growing conditions are required to evaluate elite lines having freezing resistance and high quality with chlorophyll fluorescence and NIRsystem.

7. The Influence of Environmental Conditions for Greenhouse Cultivation of Tea

The influence of environmental conditions, light intensity, temperature, CO₂, humidity, and fertilization, was studied for greenhouse cultivation of tea. The greenhouse could be kept at an average temperature of 23°C by heating from the underground. Heating was done by circulating hot water from a boiler set at 10°C through Ø13 mm plastic pipeline that was located 50 cm beneath the surface.

The bud breaking of tea was increased as the temperature went up. The buds of all cuttings were broken in 15 days when the cuttings had been placed in a growth chamber at 30°C. It took 27 days for the cuttings kept at 20°C. Under the natural condition, the buds of tea plants broke at April 10th. When the cuttings were moved from the field into a growth chamber at 25°C starting from December 25th at 10 days' interval, the time required for bud breaking could be decreased by 5 days for every 20 days kept at the growth chamber. The shooting responses of the 5 varieties tested to temperature were similar to each other. The optimum temperature for the shooting of the tea was found to be 25°C.

The influence of various factors on the photosynthesis rate of tea plants were studied using Gas Exchange Measuring Station(Heinz Walz GmbH, Germany). The photosynthesis rate increased significantly as the

temperature went up to 25°C, then decreased at temperatures higher than 30°C. In the greenhouse, more photosynthesis was done in the morning hours than in the afternoon. When the light intensity was decreased to 40% by using a shading curtain, the photosynthesis rate was decreased by 20%. Meiryoku showed relatively higher photosynthetic ability than other varieties collected. Carbon dioxide showed more significant influence on the photosynthesis rate, and the rate was increased as the supply of CO₂ increased to 1200 ppm. The rate of photosynthesis decreased as the humidity went up from 40% to higher humidity. Tea plants were shown to grow well on well-draining soil(masato : vermiculite = 1 : 1). Nitrogen fertilization at 50kg/10a and 1% foliage fertilization was more effective for shooting of tea than other dosages of nitrogen fertilization.

8. Collection and Genetic Analysis of Tea Cultivars for Greenhouse Cultivation

Ten varieties of tea were collected from Japan(9) and Korea(1) for greenhouse cultivation of tea, Fukumidori, Fushun, Makinoharawase, Meiryoku, Oiwase, Okumidori, Saemidori, Sunmei, Yabukita, and Korean native tea. Meiryoku(122.4 mm in length), Yabukita(115 mm) could be grouped into the large leaf group by their leaf sizes, whereas, Native tea(72.5 mm) and Fushun(90.4 mm) into the small leaf group. Meiryoku and Yabukita produced long shoots, and Native tea, Makinoharawase, Sunmei produced short shoots. Makinoharawase and Saemidori shooted earlier than other varieties, and Okumidori and Native tea shooted was lately to

shoot. The cuttings of Meiryoku and Yabukita showed higher rooting ability than other varieties. Meiryoku, Saemidori, Yabukita appeared to be most suitable for greenhouse cultivation. Genetic relationship of the 37 varieties of tea plants were studied by AFLP(amplified fragment length polymorphism) analysis using AFLP analysis system I kit(Life Technologies, USA). Among the 64 primers, the combination primer of AAG/EcoRI and CAG/MseI showed most polymorphism, where as ACT primer/EcoRI and CAG primer/MseI showed least polymorphism. The 37 varieties could be divided into 5 groups by cluster analysis. Most of the varieties collected for greenhouse cultivation belonged to the Yabukita group.

9. Productivity and Chemical Components of Tea Cultivated in Greenhouse

When the greenhouse was heated beginning from January 5, the first crop of Saemidori could be harvested starting from March 20th. That was 50 days earlier than the field crop which was harvested starting from May 10. The second crop could be harvested starting from May 7, 50 days after the first crop. The amount of the first crop was equivalent to 415 kg per 10a, the second and the third being 537 kg and 542 kg per 10a, respectively. The total harvest of the greenhouse tea, 1,494 kg per 10a, was 41% higher than that of the field crop. The advantage of cultivating tea in greenhouse was more remarkable when the price of the tea at the time of harvest was considered. Due to the high price of the early harvested tea crop, the total amount of sales from the greenhouse -

cultivated tea was 2.3 times of that from the field crop harvest from the same acreage. The chemical compositions of the tea were analyzed using NIR(Near Infrared Spectroscopy). Tea leaves cultivated in greenhouse contained 3.87~6.40% total nitrogen, 0.95~4.56% total free amino acid, 0.68~2.65% theanine, 2.16~3.92% caffeine, 9.55~15.5% catechin, 32.1~318.3 mg% vitamin C, and 11.01~23.05% ash on dry weight basis. The first crop contained more total nitrogen, total free amino acid, theanine, and caffeine, and less vitamin C and ash than the second and the third crops. Korean wild tea plants had more caffeine and catechin, and less total free amino acid and theanine than the Japanese varieties. Old leaves contained less total free amino acid, theanine, caffeine and catechin than new leaves.

10. A Proposed Model of Greenhouse Cultivation of Tea

A model for greenhouse cultivation of tea was proposed in order to provide valuable information to farmers. Various data from the results of this study and previous studies were used to establish the proposed model. The proposed model includes a design of greenhouse, cultivation facilities, temperature control, shading, CO₂ supply fertilization, insect and disease control and harvesting.

CONTENTS

Heading	1
Summary in Korean	3
Summary in English	18
Contents in English	26
Contents in Korean	30
Text	33
Chapter 1. Introduction	33
Section 1. Background of Research	33
Section 2. Need for Research and Development	34
Section 3. Research Objectives and Goals	37
Chapter 2. Survey of Distribution of Native Land Races	42
Section 1. Introduction	42
Section 2. Materials and Methods	42
Section 3. Results and Discussion	43
Section 4. Conclusion	52
Chapter 3. Development of Simple Testing Method for Freezing Resistance	53
Section 1. Introduction	53
Section 2. Materials and Methods	54
Section 3. Results and Discussion	55
1. Electrical conductivity test	55
2. Tetrazolium test	57
3. Relationship among tests	65

Section 4. Conclusion	66
Chapter 4. A Simple Method for Testing Freezing Resistance	
with Use of Chlorophyll Fluorescence	68
Section 1. Introduction	68
Section 2. Materials and Methods	69
Section 3. Results and Discussion	70
1. Change in Fv/Fm of tea leaves according to freezing	
temperatures and durations of photoinhibition	70
2. Comparison of Fv/Fm of tea leaves grown in different	
growing conditions	75
3. A simple method to test freezing resistance	79
Section 4. Conclusion	83
Chapter 5. The Seasonal Variation of Antifreeze Proteins	86
Section 1. Introduction	86
Section 2. Materials and Methods	87
Section 3. Results and Discussion	88
1. Variation and identification of antifreeze proteins	88
2. Variation of freezing resistance	96
Section 4. Conclusion	100
Chapter 6. Establishment of A Simple Method for Analysis of Chemical	
Components Using Near-Infrared Spectroscopy	101
Section 1. Introduction	101
Section 2. Materials and Methods	102
Section 3. Results and Discussion	105
1. Variation of general components with laboratory analyses	

according to different harvested tea leaves	105
2. Establishment of simple analysis method of tea leaves with NIRsystem	107
3. Identification of useful factors with use of chlorophyll fluorescence and NIRsystem	121
Section 4. Conclusion	127
Chapter 7. The influence of environmental conditions for greenhouse cultivation of tea	129
Section 1. Introduction	129
Section 2. Materials and Methods	130
Section 3. Results and Discussion	134
Section 4. Conclusion	153
Chapter 8. Collection and genetic analysis of tea cultivars for greenhouse cultivation	155
Section 1. Introduction	155
Section 2. Materials and Methods	156
Section 3. Results and Discussion	158
Section 4. Conclusion	178
Chapter 9. Productivity and chemical components of tea cultivated in greenhouse	179
Section 1. Introduction	179
Section 2. Materials and Methods	180
Section 3. Results and Discussion	182
Section 4. Conclusion	192

Chapter 10. A proposed model of greenhouse cultivation of tea	
.....	193
Section 1. Introduction	193
Section 2. Materials and Methods	194
Section 3. Results and Discussion	194
Section 4. Conclusion	201
References	204

목 차

제출문	1
요약문	3
영문요약문	18
영문목차	26
목차	30
본문	33
제 1 장 서론	33
제 1 절 연구배경	33
제 2 절 연구개발의 필요성	34
제 3 절 연구개발의 목적과 범위	37
제 2 장 지역별 자생 재래종의 분포조사	42
제 1 절 서론	42
제 2 절 연구 방법	42
제 3 절 연구결과 및 고찰	43
제 4 절 결론	52
제 3 장 내동성 인자 검정법 개발	53
제 1 절 서론	53
제 2 절 연구 방법	54
제 3 절 연구결과 및 고찰	55
1. 전기전도도 측정	55
2. Tetrazolium test	57
3. 검정방법간 상관	65
제 4 절 결론	66

제 4 장 저온하 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석	68
제 1 절 서론	68
제 2 절 연구 방법	69
제 3 절 연구결과 및 고찰	70
1. 광저해 처리시간 및 저온처리에 따른 Fv/Fm 비율의 변화	70
2. 차나무 재배조건에 따른 Fv/Fm 값의 비교	75
3. 차나무에서 내동성 간이검정법	79
제 4 절 결론	83
제 5 장 Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석	86
제 1 절 서론	86
제 2 절 연구 방법	87
제 3 절 연구결과 및 고찰	88
1. 결빙방지단백질의 변이성 및 동정	88
2. 내동성의 변이성	96
제 4 절 결론	100
제 6 장 품질특성 간이검정법 개발	101
제 1 절 서론	101
제 2 절 연구 방법	102
제 3 절 연구결과 및 고찰	105
1. 채엽시기별 차엽 일반성분 분석	105
2. 근적외분광광도계에 의한 차엽 성분분석	107
3. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발	121
제 4 절 결론	127
제 7 장 차재배에 적합한 시설재배 환경 분석	129
제1 절 서론	129

제 2 절 연구 방법	130
제 3 절 연구결과 및 고찰	134
제 4 절 결론	153
제 8 장 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사	155
제 1 절 서론	155
제 2 절 연구 방법	156
제 3 절 연구결과 및 고찰	158
제 4 절 결론	178
제 9 장 시설재배의 생산성 및 차 성분의 분석	179
제 1 절 서론	179
제 2 절 연구 방법	180
제 3 절 연구결과 및 고찰	182
제 4 절 결론	192
제 10 장 종합적 시설재배 체계 모델	193
제 1 절 서론	193
제 2 절 연구 방법	194
제 3 절 연구결과 및 고찰	194
제 4 절 결론	201
참고문헌	204

제 1 장 서 론

제 1절 연구배경

일본, 대만, 인도 등에서는 그 지역에 가장 적합한 양질의 차 품종이 육성되어 보급되고 있으나, 우리나라와 같이 겨울철 내동성이 문제시되는 경우에 우리 지역에서 교배, 선발된 신품종의 보급이 절실히 필요하다. 겨울철 저온기에 강한 광선에서 광합성에 관련된 PSII에서 여기된 많은 에너지가 광합성 작용을 교란시키는데 이 때에 과도한 에너지는 형광으로 전환된다. 이 원리를 이용하여, 캐나다 B.C. Ministry of Forests에서 spruce(*Picea sitchensis*)의 내동성을 chlorophyll fluorescence의 측정으로 간단하게 검정할 수 있는 기법이 개발되고, 맥류(호밀, 밀, 보리)의 저온순화과정에서 antifreeze proteins의 발현이 내동성과 깊게 관련된다는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 우선 양질, 내동성 차나무계통을 분리육종법에 의해서 우량계통을 선발, 증식, 보급해야 하며, 다음 단계는 내동성이 강한 계통을 육종 모본으로 선발하여 교배, 후대 선발, 순도고정, 비교시험을 거쳐서 신품종을 육성해야 한다. 따라서 양질, 내동성 계통의 간단하고 재현성 높은 선발기준 방법을 개발해야 한다.

월동기 작물의 내동성이 저온기에 강한 광선하에서 광합성의 광저해 내성과 상관이 높고, 또한 antifreeze proteins의 발현 정도와도 상관이 높기 때문에 이 두 요인에 대한 연구를 통해서 내동성의 기작을 규명할 뿐 아니라 선발방법을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

동절기의 동해로부터 적극적인 회피방법의 하나는 시설재배라고 할 수 있다. 차와 같은 목본류의 시설재배는 포도 등 관목성에서 시도되고 있는 형편이고 차의 시설재배는 전혀 연구가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 차나무는 관목성 상록수이며 신초를 생산의 대상으로 하고 있는 점에서 시설재배의 효

과가 클 것으로 예상된다.

이제까지 차 재배는 주로 경사지에 재식하여 왔던 점에서 시설재배에 대한 고려가 별로 없었다. 그리고 차재배의 경우는 한번 식재하면 30-40년 경제재배를 하게 되므로, 시설재배의 경우 여러가지 해결해야 할 점들이 많아 확신이 서지 않는 한 시도하기가 쉽지 않은 측면이 있었다. 그러나 이제 녹차재배도 평지에서 재배면적이 증가하는 추세이고 수확, 병충해 방제, 관수, 냉해의 예방 등의 해결점으로 시설재배에 대한 요구가 증대될 것이다. 일본에서 차의 시설재배는 극히 일부의 재배농가가 시험적인 시도를 하고 있으나 체계적인 연구는 이루어지지 않고 있는 실정이다. 한해의 피해가 그리 큰 문제가 되지 않는 점도 시설재배에 관한 연구가 활발하게 이루어지지 않은 이유 중 하나라고 할 수 있다.

제 2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

전남지역이 전체 차 재배면적의 61%를 차지하고 있으며, 전남지역 차 재배지의 최저극저온은 광주 -12℃, 보성 -10℃, 강진 -12℃, 광양 -15℃로 대부분의 지역이 -5℃ 이하이므로 다수, 양질의 차를 생산함에 있어 耐凍性에 관한 연구가 시급하다. 차나무는 연평균 기온이 13℃이상은 되어야 노지에서 재배가 가능하다. 내한성이 약하여 차 재배지역에서 조차도 때때로 맹아기에 한파로 인하여 1번차 수확 감소의 피해를 입는 경우가 적지 않으므로 시설재배를 통해서 동해를 방지하여 조기에 차를 수확할 수 있으며 재배지역을 확대할 필요가 있다. 우리나라의 다원 조성은 주로 산간경사지(남, 서 방향)에 되어 있어 凍害, 霜害에 의한 피해가 간헐적으로 발생하여 안정적인 생산이 어렵다. 우리나라 차 재배면적의 약 30%(태평양(주)에서 제주도, 강진, 영암, 해

남 일대에 200 ha를 재배하고 있음)가 내한성이 중 정도인 “야부기다”이고, 나머지 70%은 자생종 재래종이다. 차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물임을 고려하면 우리나라 자생종에는 내한성 및 내동성이 강한 많은 유전자원이 존재할 것이다. 따라서 국내 자생종 중에서 내한성 및 내동성 인자의 탐색과 이를 이용한 품종육성이 필요하다. 차나무의 내동성에 관여하는 요인 중에서 세포질내 전당함량, 가용성 단백질함량, 수분함량, phosphorylase의 활성 등이 관계하고, 특히 겨울철 저온에서 상대적으로 강한 광선에 의한 광합성의 광저해 현상에 대한 내성과 겨울철 저온순화과정에서 세포 apoplast내 抗結氷蛋白質(antifreeze proteins)의 축적이 내동성의 증가에 크게 작용한다는 연구가 활발하다. 그러므로 이 두 요인의 생리, 화학적 연구가 필요하다. 차나무의 내동성 기작을 규명하고, 내동성 germplasm을 선발하여 우수 계통간의 교잡에 의하여 후대를 육성한 후 이것을 소재로 하여 재현성 높고, 간단한 내동성 선발 방법을 개발할 필요가 있다. 차엽(생엽, 제품)의 품질특성(카페인, 탄닌, 아미노산 등) 분석에 많은 시간, 인력, 경비가 소요되므로 NIR system을 이용한 재현성 높은 품질 검량식을 유도하여 품질특성에 관한 간이 검정법을 개발할 필요가 있다.

차의 시설재배를 효과적으로 추진하기 위해서는 차재배에 적합한 환경조성, 시설재배에 적합한 품종선택, 품질과 수량면에서 확실한 우위성과 경제성 등을 고려한 종합적인 재배체계의 확립이 필요하다.

2. 경제·산업적 측면

세계 무역기구의 출범으로 값싼 양질 차류(녹차, 홍차)의 수입이 증가되어 국산차의 자급과 증산이 요망된다. 내동성에 대한 기작의 규명과 선발기법의 개발로 내동성 차나무의 선발, 육성이 용이하여 차 재배 면적이 확대되고 안정적 고품질의 차 재배가 필요하다. 양질, 다수성 품종의 개발과 보급으로 외

화낭비를 줄이고 농가소득을 향상시킨다. 우리나라의 차생산량은 일본의 1/100 정도로 소비량이 연간 90 천ton으로 녹차 소비시장은 연간 2,050억원에 이르고 있다. 우리나라의 전체 차 수입액은 1조 7000억원이고 녹차만은 2,854 ton을 수입하여 146억원을 지불하였다. 최근 우리나라도 녹차 소비의 급속한 증가 추세(연간 140% 증가율)로 연간 650억원 녹차 소비시장 규모로 발전하게 되어 소비자의 요구에 합당한 생산을 충족하지 못하면 농산물의 개방화로 중국에서 값싼 차의 수입, 일본으로부터는 고품질의 차가 수입될 가능성이 높아지고 있다. 우리나라의 경우 차 농사는 타 작목에 비하여 소득지수가 2~5배 높다. 시설재배를 통한 차 재배면적의 확대는 적당한 재배작물을 찾지 못하고 유휴되고 있는 재배시설을 효율적으로 이용되는 효과도 얻을 수 있다. 그리고 시설내에서 차재배는 병충해방제, 시비, 차광재배, 수확 등에서 기계화가 용이하도록 한다.

3. 사회·문화적 측면

국민의 건강 및 농가소득 향상을 위해서 커피보다는 국산 차류의 지속적 소비 및 증산이 요망된다. 상대적으로 지역발전이 낙후된 전남 남부지역의 차 재배의 안정적 증가로 지역발전에 크게 기여할 것이다. 차에 대한 약리적인 기능성 효능에 대한 연구가 활발히 진행되어 차 성분 중 polyphenol성 화합물인 catechin이 항산화작용, 항암작용, 항혈전, 혈압강화작용, 콜레스테롤의 재흡수 억제, 충치예방, 환경호르몬 흡수억제 등에 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있다. 녹차의 산업화(음용, 육종, 재배, 사료첨가, 식품첨가, 미용제, 환경친화형 관광농업 등)는 전통 문화를 지속·발전시키는 계기가 된다.

제 3절 연구개발의 목적과 범위

1. 지역별 자생 재래종의 분포조사

1999년 현재 차 재배 면적은 약 1,400 ha에서 1,920 M/T이 생산되고 있으며, 70%이상이 재래종을 주로 산기슭이나 사찰부근에서 야생하는 차나무에서 채종한 종자를 파종하여 실생으로 보급된 것이다 또한 야생상태로 여러 지역에서 자생하여 왔다. 차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물이므로 우리나라 자생종에는 내한성, 내충성, 내병성 또한 품질이 우수한 우량개체가 자생지에서 산재되고 자연도태에 의해서 환경 스트레스에 강한 것들이 생존한 유전자원 보고(gene pool)역할을 할 수 있다고 사료된다. 특히 내한성(내동성)이 강하고 품질이 우수한 개체를 선발하여 교배모본이나 순계분리에 의해서 새로운 품종의 육성이 가능할 것으로 예견되므로 이 두 형질에 대하여 개발된 간이 검정법으로 평가하기 위해서 사전에 자생 재래종의 분포, 특성 등에 대해서 조사하였다.

2. 내동성 인자 검정법 개발

일반적으로 차 생육적온은 연평균기온은 14~16℃ 범위이며, 겨울철 최저기온이 -2℃이하에서는 신초가 동해를 받으며, -13~-14℃ 이하인 지역에서는 가지가 고사하는 동해를 받게 된다. 전남 지역은 우리나라 차 재배면적의 60%을 차지하나 최저극기온이 -10℃(보성)~-15℃(광양)로 동해 피해 가능성이 생존한다. 따라서 내동성 인자를 탐색하여 교배모본으로 이용해야 하는데, 차나무는 타가수정작물이므로 개체간 유전인자가 다를 것으로 예측되므로 적은 시료로 재현성이 높은 내동성 인자 평가방법의 개발이 절실히 필요하다. 따라서 많은 자생 재래종을 검정하기 위해서 각 개체의 동위염을 이용하여 내동성 인자를 검정하는 간이검정법을 개발코자 실험을 실시하였다.

3. 저온하 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석

추파성 내동성 화곡류는 낮은 온도(0~5℃)에서 일정기간 순화된 후에 내동성이 최대가 된다. 광합성은 월동기의 저온에 의해서 영향을 받아 저온과 높은 강도에서(광저해 현상) 크게 저하된다. 내동성인 품성은 광합성의 광저해 현상에 대하여 내성이 강한 특성이 있다. 또한 엽록소 형광측정법은 신속, 정확, 비파괴적이고 여러 stress 연구에 적용할 수 있는 장점이 있다. 따라서 차나무 잎을 이용하여 저온과 강한 광도에서 유기된 광저해 현상을 조사하여 광저해 정도를 지표로 내동성 간이검정법을 개발코자 실험을 하였다.

4. Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석

작물의 내동성은 유전자 및 여러 환경요인에 의해서 지배된다. 최근에 월동기에 저온에 의한 작물체의 순화과정 중에 세포간극에서 특수단백질인 결빙방지 단백질(antifreeze proteins)의 기능에 대한 연구가 활발하여 결빙방지 단백질의 농도 및 발현량은 여러 월동작물에서 내동성과 상관관계가 높다고 보고하였으며 이 단백질의 식품에의 이용이 연구되고 있다. 상록수인 차나무에서 결빙방지 단백질의 기능과 내동성과의 관계를 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

5. 품질특성 간이검정법 개발

차의 품질은 여러 가지 요인에 의해서 결정되며, 이들 성분 중 탄닌(카테킨류), 카페인, 아미노산, 총질소 등이 주요 성분이며, 기존의 일반성분분석법은 시간과 노력이 많이 들고, 분석자의 능력에 따라서 분석결과간 차이가 인정되며 최종적으로 분석시약에 의한 오염물질이 발생하게 된다. 최근에 근적외선을 이용하여 분자진동에 의한 구조해석 및 분석방법으로 근적외분광분석기를 활용하는 분야가 확대되고 있는 추세이다. 이 방법의 장점은 화학약품이

필요 없고, 시료의 조제가 간단하여 다량의 시료를 신속하게 분석이 가능하며 시료의 반복사용으로 재현성 있는 분석과 동시 다성분의 분석이 가능하다. 따라서 차의 양질 우량품종을 육성하기 위한 유전자원 및 교잡 초기세대의 생엽의 특성 조사에 대한 객관적인 평가 방법으로 대처하고자 실험을 실시하였다.

6. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발

개발된 내동성 및 품질 특성에 대한 간이검정방법을 이용하여, 유용한 개체를 선발하여 육종재료로 이용하고자 실험을 실시하였다. 시험장의 유전자원포에서 수집종 및 교잡 후기세대의 계통 생엽 200g을 2001년 5~7월 사이에 채취하여 열풍, 건조하여 40 mesh이하의 분말로 만들어 5g를 충전하여 NIRsystem으로 성분을 분석하였다. 또한 저온에서 강한 광 조건에서 광저해를 3시간 동안 유지시켜 PAM-2000을 이용하여 광저해 정도를 측정하여 내동성 정도를 추정하였다.

7. 차재배에 적합한 시설재배 환경 분석

채소나 화훼류의 초본작물은 시설재배가 일반화되어 있어 그에 관한 연구가 활발하게 이루어져 있으나 목본류에서는 시설재배가 드문 실정으로 연구도 미진한 상태이다. 시설재배는 노지재배에 비교해서 재배의도에 따라서 환경을 조절할 수 있는 이점을 가지고 있다. 주로 노지재배로 이루어지고 있는 차나무를 시설재배에 이용하기 위해서는 차나무의 각 환경조건에 대한 반응을 기초자료로서 확보하는 것이 중요하다. 차재배의 환경요인으로는 온도, 광, 수분, 비료, 토양 등이 있으며 그 중 온도는 조기생산과 동해 회피면에서 광은 육로차 등 품질 향상면에서 중요한 요인으로 연구의 중요성이 요구된다. 가온 방법과 적절한 시기 선택으로 조기생산을 효율적으로 실시할 수 있도록 온도에 관한 생육 반응에 관한 연구와 광합성 효율에 관한 연구를 추진하고자 하

였다.

8. 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사

시설재배에서는 집약적인 고비용의 재배관리로 고품질, 다수확, 조기생산을 통하여 고소득을 목표로 한다. 한번 식재하면 30년 가까이 경제재배가 가능한 차재배에 있어서 품종의 선택은 중요한 요소라고 할 수 있다. 시설재배에 적합한 품종은 조기 생산성, 다수성, 다비성, 품질의 우수성 등이 요구된다. 차 연구가 일천한 우리 실정에서는 외국의 우수한 품종을 도입하여 특성을 조사하고 적응시험을 거쳐서 우리 실정에 맞는 품종으로 육성하는 방법에서 출발할 수 밖에 없는 실정이다. 장기적으로는 우리 고유의 품종육성에 연구 노력을 기울여야 함은 강조할 필요가 없는 중요한 사항이다.

9. 시설재배의 생산성 및 차 성분의 분석

상록 관목성인 차나무의 수확 대상 부위는 맹아 후 신장하는 신초의 줄기와 새로 전개하는 3-5매의 연한 잎이다. 일반적으로 노지재배에서는 차 생산은 4월 하순부터 9월 초순까지 연 4회 수확이 가능하나 처음 수확하는 1번차가 수량이 많고 품질이 좋아 차재배에서 중요한 비중을 차지한다. 그런데 맹아기에 서리로 인한 동해의 피해로 1번차의 수확에서 품질이 떨어지고 수량이 감소하는 경우가 빈번하다. 가온을 하여 재배되는 시설재배에서 차 생산성은 연료비, 시설비를 본전하고 얼마나 높은가 하는 점은 시설재배의 성패의 관건이라고 할 수 있다. 차는 일교차가 높은 곳에서 품질이 좋은 차가 생산되고 수확기에 지속적인 고온은 품질을 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다. 시설재배에서 생산된 차의 성분 분석은 시설재배시 온도관리의 방향을 정하여 주는 지침이 될 수 있다.

10. 종합적 시설재배 체계 모델

차는 한번 재식하면 30년이상 재배가 가능한 작물로 시설재배를 실시할 경우 장기적인 안목에서 종합적인 고려가 필요하다. 그리고 시설재배 경험이 거의 없는 실정이다. 그래서 일선 농가가 차 시설재배를 시도하고자 할 때 이용할 수 있도록 연구 결과와 각종 자료를 토대로 시설재배의 표준화적인 차 재배모델을 제시하고자 하였다.

차 시설재배에 필요한 시설 및 장비, 적합한 품종선택, 온도관리, 차광관리, 시비관리, 병해충 방제관리, 수확 관리면에서 복합적인 차 시설재배 체계의 모델을 수립하였다.

제 2 장 지역별 자생 재래종의 분포조사

제 1절 서론

차나무를 분류학적으로 나누면 온대지방의 소엽종(중국종 var. *sinensis*)과 열대지방의 대엽종(앗삼종 var. *assamica*)의 두 變種으로 대별한다. 그러나 그 중간형도 많이 있으며 잎의 형태와 크기, 또는 나무형태나 형질변이가 개체간에 심하게 나타나고 있다(박, 2000).

우리나라에서 자생하고 있는 차나무는 잎이 작고, 엽육이 두꺼우며, 側脈數가 10여개, 鋸齒수가 30개 이상인 중국 소엽종이 대부분을 차지하고 있다. 현재 농가에서 재배하고 있는 차나무의 재배종은 주로 산기슭이나 사찰 부근에서 야생하는 차나무로부터 종자를 파종한 실생에서 보급된 것이다. 또한, 차나무는 강한 자가불화합성을 나타내어 실생번식으로 순계유지가 불가능하므로 농가의 차나무를 순계로 갱신해야 한다. 우리나라 차 재배면적의 약 30%가 내한성이 중 정도이며 내병성이 약한 “야부기다”를, 나머지 70%는 재래종이 식재되었거나 자연상태에서 자생하는 자생 재래종이다. 차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물이므로 우리나라 자생종에는 내한성, 내병성, 내충성 또한 품질이 우수한 우량개체가 자생지에서 산재되어 우수한 유전자원 보고(gene pool)로 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

제 2절 연구 방법

우리나라 차 재배면적 및 재배환경 등에 대한 정보를 문헌 및 internet을 통해 수집하였으며 보성, 구례, 담양의 3개 지역에서 자연상태로 자생하는 재래종의 밀도, 면적, 혼생, 차나무 잎의 특성 등을 조사하였다. 또한 월동 후

에 시기별로 광도를 측정하여 비교하였다.

제 3절 연구결과 및 고찰

최근 차 재배면적은 전국 약 1,400 ha에서 전남이 60%인 840 ha, 경남이 28.2%인 395 ha, 제주도가 11.1%인 155 ha를 재배하고 있으며, 차 재배 농가 호수는 전남이 45.5%인 902농가이고 경남이 1,074농가가 차 재배를 하고 있다 (표 2-1).

이·박(2000)에 의하면(표 2-2), 최초로 전북 익산지역이 차나무 분포지로 조사되었으며 그 위도는 36 ° 03이었으며, 고문헌(세종실록, 동국여지승람)에 토공지로 기록되었으나 현재 확인 할 수 없는 단성, 함양지역 등은 그 동안 기후와 풍토조건으로 인하여 차나무가 소멸된 것으로 추정된다고 하였다. 승주의 낙안을 비롯, 진주, 진해, 고성, 밀양 등은 여러가지 여건으로 보아 차나무가 성장하고 있는 지역으로 판단되고, 우리나라 야생차나무는 주로 절(터)주변에 많이 야생하고 있었으며 대부분이 완경사, 남향, 양지바른 곳에서 자라고 있었다. 또한 우리나라 야생차나무 북방한계선은 익산, 순창, 곡성, 산청, 창원, 밀양, 울산에 잇는 선이라고 보고하였다.

Table 2-1. Cultivated area and product of tea.

지 역	재면적(ha)	생산량(M/T)	농가수	
광 주	10	5.0	1	
소 계	10	5.0	1	
보 성	392.0	369.1	136	
강 진	53.0	215.0	2	
해 남	35.0	40.5	8	
영 암	23.7	34.9	2	
구 례	111.2	17.2	406	
광 양	45.0	36.5	255	
전 남	장 성	3.0	6.9	1
	순 천	135.0	10.0	53
	고 흥	2.0	-	2
	화 순	5.0	-	8
	장 흥	25.0	-	5
	무 안	4.2	-	19
	완 도	6.0	0.2	5
	소 계	840.1 (60.0)	730.0 (61.2)	902 (45.5)
경 남	사 천	8.5	6.0	2
	하 동	354	150.0	985
	산 청	32	5.2	87
	소 계	394.5	161.2	1,074
제 주	서귀포	48	100	2
	남제주	107	196	(1)
	소 계	155	296	2
합 계	1,399.6	1,192.5	1,979	

* 최형국 등(2000)

Table 2-2. Survey of distribution in Korean tea native land races.

시 도	시·군	A	B	C	D	비고	시 도	시·군	A	B	C	D	비고
전 북	김제				●		전 남	담양	○	○	○	●	
	고부	○	○		●	정읍		해남		○	○	●	
	옥구	○	○					능성		○	○	●	화순
	부안	○			●			화순		○	○	●	
	정읍	○			●	정주		곡성			○	●	
	고창	○	○		●			나주				●	
	홍덕	○	○		●	고창		여수				●	
	순창	○	○		●			진도			○	●	
	무장	○	○		●	고창		소계	19	20	23	25	
	태인		○		●	정읍		부산				●	
	익산				●			울산	○	○	○	●	
	소계	8	7	-	10			진주	○	○			
전 남	나주	○	○	○	●		부산 경남	담양	○		○		
	영암	○	○	○	●			고성	○	○			
	강진	○	○	○	●			하동	○	○	○	●	
	함평	○	○	○	●			산음	○	○		●	산청
	남평	○	○	○	●	나주		진해	○	○			
	무안	○	○	○	●			밀양	○	○			
	구례	○		○	●			양산		○	○	●	
	광양	○	○	○	●			곤양		○		●	사천
	무진	○	○	○	●	광산 광주		단성		○			산청
	보성	○	○	○	●			거제				●	
	낙안	○	○	○	●	승주	남해				●		
	고흥	○	○	○	●	홍양	사천				●		
	동북	○	○	○	●	화순	통영				●		
	진원	○	○	○	●	장성	소계	8	10	4	10		
	영광	○	○	○	●		제주	남제주			(○)	●	(한림)
	장성	○		○	●			서귀포				●	
	순천	○	○	○	●	승주		소계				2	
	장흥	○	○	○	●		합계		35	37	28	47	

* 이형석, 박용구(2000), A: 세종실록 지리지, B: 신증동국여지승람, C: 조선의 차선, D: 이형석(2000)

우리나라의 주요 차 생산지는 전남과 경남 및 제주지역으로 비교적 기온이 높고 강수량이 많은 지역에 분포되어 있으나 표 2-3에서 보는 바와 같이 경사도가 5~40°로 급경사의 산간지역에 주로 위치하고 있으며, 식재 방향은 동·서 및 남향이고, 토성은 주로 양토 및 화산회토 지역에 분포되어 있다. 일반지역으로 산간지역 및 곡간지역이 품질이 양호한 반면에 기상재해를 받기 쉽고 수량성이 낮으며 경사지가 많아서 재배의 기계화가 어렵고 경영규모를 확대하기가 어렵다.

Table 2-3. Environmental conditions in major tea cultivated regions.

지역	경사도	토성	식재방향	비고
광주	40°	양토	동, 서	무등산하 중심사 주변, 표고 200m
장성, 남면	10~15°	양토	동, 서	표고 100m
보성, 회천	10~40°	양토	남, 동	바닷가에 위치, 따뜻하고 안개가 많음
강진, 월남	10°	"	남, 서	월출산 밑에 위치, 겨울철 북풍방지
광양, 다압	10~40°	"	남, 동	백운산 자락 말단, 섬진강 인접
구례, 마산	10~40°	"	동	지리산 자락 말단, 섬진강 주변
, 토지	10°	"	남, 서	지리산 피아골 계곡, 섬진강 주변
영암, 덕진	5°	양토	남, 서	평야지대의 산록
경남, 하동	10~40°	양토	남, 서	지리산 자락 말단, 섬진강변에 위치,
, 산청	30~50°	"	남, 동	지리산 자락에 위치, 안개가 많음
제주, 서귀포	5°	화산	남	한라산 자락에 위치, 표고 100m
, 도순	5°	회토	남	바닷가에 위치, 표고 250m

* 최형국 등(2000)

자생 재래종의 분포상태를 표 2-4(1, 2, 3)에서 보면, 보성군에서는 14개소에 자생 면적은 4.1 ha, 구례군에서는 4개소에 1.3 ha, 담양군은 12개소에 1.8 ha이었다. 식생밀도 및 상태를 보면, 보성 지역은 평당(3.3 m²) 0.3~2주 정도가 잡목사이나 대밭사이에 자생하고 있었다. 엽의 특성은 엽장 8.1~12.8 cm 엽폭 3.2~4.8 cm로 지역과 개체간에 차이가 컸다. 또한 엽색은 녹색~농녹색을 띄고 있었다. 구례 지역은 평당 1주 정도가 대밭이나 잡목사이에 자생하고 있으며, 엽장 4.9~8.5 cm, 엽폭 0.9~3 cm 이었고, 엽색은 담녹~농녹색을 띄고 있었다. 담양 지역은 평당 2~7주가 주로 대밭사이에 자생하고, 엽장 10.7~14.4 cm, 엽폭 3.6~5.6 cm로, 엽색은 담녹~농녹색을 띄고 있었다.

Table 2-4. Distribution, area, density and leaf characteristics of native land races in three regions.

1. Bosung

자 생 지 역	특성					
	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽색	혼생 상태	식생밀도 (주/평)	면적 (ha)
문덕면 죽산리 대원사	8.1	3.2	담녹	잡목, 대밭	1.0	0.2
보성읍 동운동	11.5	3.8	농녹색	대밭	0.5	0.1
보성읍 주봉리	11.0	3.8	농녹색	대밭	0.5	0.1
보성읍 원당리	11.8	3.7	농녹색	대밭	0.5	0.3
보성읍 징광	8.5	3.0	농녹색	대밭	1.5	2.0
벌교읍 원동	9.7	3.7	농녹색	대밭	1.0	0.1
북내면 당촌	12.0	4.0	녹색	대밭	0.3	0.2
북내면 봉천리	10.7	4.8	농녹색	대밭	1.0	0.1
북내면 개산리	11.2	4.7	농녹색	대밭	1.0	0.1
겸백면 도안리	12.0	4.7	농녹색	대밭	1.0	0.1
울어면 울어리	11.3	4.2	농녹색	대밭	1.0	0.1
득량면 다전	12.8	4.2	녹색	대밭	0.5	0.5
노동면 옥마리 월림사	11.4	3.7	녹색	잡목	0.5	0.1
노동면 신천	11.3	4.5	농녹색	잡목	2.0	0.1
소 계						4.1

2. Gure

자 생 지 역	특 성					
	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽색	혼생 상태	식생밀도 (주/평)	면적 (ha)
마산면 황전리 화엄사	4.9	2.2	담녹	대발	1.0	0.1
광의면 방광리 천은사	6.3	2.8	담녹	잡목	1.0	0.1
구례읍 봉남리	8.5	3.0	농녹색	대발	1.0	1.0
토지면 내동리 연곡사	7.0	0.9	농녹색	대발	1.0	0.1
소 계						1.3

잡목사이와 대밭에서 자생하는 차나무의 광 조건을 보기 위한 광도 측정결과는 표 2-5와 같다. 월동 후 대조지역(노지 상태)은 담양이 32.44 klux(변이계수, 50%), 천은사가 41.93 klux 이었으나, 자생지역은 담양이 1.93 klux, 천은사가 2.21 klux로 조사지역의 광도가 대조구의 5.3~5.9%에 불과 하였다. 자연상태에서 자생하는 차나무는 추운 겨울철에도 주위 환경조건 때문에 보온 상태가 되어 월동 중이거나 월동 후에도 동해나 상해의 가능성이 매우 낮다. 반면에 광합성작용이 미약하고 어린 싹의 발생시기가 매우 늦은 조건이다.

시료 채취지역의 차나무 잎의 특성을 표 2-6에서 보면, 엽장은 담양(11.8 cm)의 것이 가장 길고, 다음은 천은사(9.8 cm), 대원사(7.4 cm), 회천(4.5 cm) 순위이었으며, 월동 후 싹의 크기는 회천(43.6 mm) 천은사(구례) 순위로 대원사(보성)는 4월 20일 기준으로 아직 어린 잎이 전개되지 않은 상태였다.

3. Damyang

자 생 지 역	특 성					
	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽색	혼생 상태	식생밀도 (주/평)	면 적 (ha)
담양읍 양각 1구	11.7	4.5	녹색	대발	3	0.2
담양읍 향교 1구	10.7	3.7	담녹	대발	3	0.2
금성면 비내동	12.0	4.8	담녹	대발	5	0.1
대덕면 금산 1구 요동	13.0	4.5	담녹	대발	3	0.1
무정면 정성리	12.0	5.0	농녹	대발	2	0.1
무정면 덕곡리	12.0	4.5	녹색	대발	2	0.2
용면 매월리	12.1	5.6	녹색	대발	2	0.2
용면 봉천 3구	14.4	5.0	담녹	대발	2	0.1
월산면 삼다리 다전	12.0	5.0	담녹	대발	2	0.1
월산면 신평리	11.9	4.8	담녹	대발	2	0.1
수북면 오정리	10.9	3.6	녹색	대발	5	0.3
담양읍 상도리	11.5	4.1	녹색	대발	7	0.1
소 계						1.8

자생 차나무의 분포지역은 주로 잡목사이나 민가주위 대나무밭에 위치하여 자연상태로 방치하거나 여러가지 이유로 훼손되어 가고 있었다. 따라서 철저한 특성 조사와 유용한 개체를 선발하여 보존해야 한다고 생각된다.

Table 2-5. Comparison of light Intensity in Cheoneunsa and Damyang.

위치	대조구 (klux)	조사지역 (klux)	비율(%)	측정시각	조사시기
담양 금성	14.7	0.95	6.5	11:00	2월 23일
구례 천은사	17.5	1.49	8.5	14:00	
담양 금성	9.88	0.95	9.6	11:00	3월 9일
구례 천은사	11.06	0.83	7.5	14:00	
담양 금성	38.50	2.05	5.3	11:00	3월 23일
구례 천은사	50.70	1.72	3.4	14:00	
담양 금성	51.72	1.37	2.6	11:00	4월 7일
구례 천은사	59.14	2.32	3.9	14:00	
담양 금성	41.82	2.66	6.4	11:00	4월 20일
구례 천은사	53.54	2.77	5.1	14:00	
담양 금성	38.0	3.61	9.5	11:00	5월 5일
구례 천은사	59.64	4.14	6.9	14:00	
평균	32.44/	1.93/	5.9/		
	41.93	2.21	5.3		
변이계수 (%)	50.0/	54.9/			
	51.9	52.5			

* Left values for means and CVs are for Damyang, and right values for Gure.

Table 2-6. Variation in leaf characteristics in different regions.

시기 위치	1998 11. 25				1998 12. 14				1999 4. 20				1999 5. 5			
	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	비율 (%)	거치 수 (개)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	비율 (%)	거치 수 (개)	신초 장 (mm)	제2엽 길이 (mm)	생엽중 량 (g/10)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	엽록소 함량 (SPAD)	수분 함량 (%)	
천은사	9.8	4.0	41	26.5	10.2	4.3	42	29.9	24.6	14.3	3.5	0.40	35.0	14.0	31.8	74
금성	11.8	4.6	39	31.1	11.1	4.3	39	28.9	24.7	17.8	5.0	0.44	40.3	15.8	38.2	71
대원사	7.4	3.0	41	26.9	8.2	3.3	40	28.3	Too young to measure fresh shoot			39.7	14.9	28.3	71	
회천	4.5	2.4	53	21.3	5.5	2.7	49	24.3	43.6	25.4	10.2	1.9	41.4	18.2	34.6	75

* 비율 = 엽폭/엽장

제 4절 결론

최근 차 재배 면적은 약 1,400 ha로 재배면적이 계속적으로 증가되고 있으나 재배지의 경사도가 5~40° 로 재배의 기계화 및 경영규모의 확대가 어려운 실정이다. 자생 재래종의 분포상태는 보성 지역은 14개소에 4.1 ha, 구례 지역은 4개소에 1.3 ha, 담양 지역은 12개소에 1.8 ha가 자생하고 있으며 주로 대밭이나 잡목사이에 자생하고 있었다. 이곳 포장의 광도는 대조구(노지) 광도의 5~6% 상태에 불과하였으며, 겨울철과 이른 봄에 동해나 상해 피해 가능성이 적었으나 신초의 발생시기가 늦었다. 이들 지역에서 자생 재래종의 특성을 면밀하게 조사하여 우수한(elite) 계통을 선발하는 것이 새로운 품종의 육성에 도움이 클 것으로 생각된다. 또한 유실되어 가는 유전자원을 보존해야 한다고 생각된다.

제 3장 내동성 인자 검정법 개발

제 1절 서 론

내동성 차나무를 육성하기 위해선 육종재료 중에서 내동성 인자를 탐색하고, 확인하여 교배모본으로 이용해야 하는데 개체간 유전인자가 다를 것으로 예측되기 때문에 개체간 내동성 유전인자를 확인하는데 사용될 시료가 매우 제한된다. 따라서 적은 시료로 재현성이 높은 내동성 인자 평가방법의 개발이 시급하다. 조직의 생사검정은 주로 triphenyl tetrazolium chloride(TTC) 용액을 환원시키는 조직의 능력을 검정하는 방법(Bennett & Loomis, 1949; Parker, 1953; Towill & Mazur, 1975)과 凍結 후 조직에서 流出된 이온의 전기전도도(electrical conductivity ; EC)를 측정하는 방법 등(Dexter et al., 1932; Van den Driessche, 1976)이 많이 이용된다.

TTC 용액의 환원은 목본류에서 凍害 정도를 양적으로 평가하는데 사용되어 왔다(Steponkus, 1971). Tetrazolium은 여러 종류의 dehydrogenase에 의해서 환원될 수 있는 diaphorase(인공적인 전자수용제)라고 하는 flavo-protein 중간 대사물에 의해 환원된다. 조직절편에서 TTC 환원력 감소와 동해 정도간에 높은 상관관계는 여러 요인 즉 dehydrogenase의 변성, 산화적 인산화작용의 uncoupling(脫共役), 기질과 보조인자의 용출 등에 기인된다고 하였다. 동결에 의한 조직의 피해정도와 TTC 용액의 환원력의 감소와의 높은 상관관계는 dehydrogenase의 변성보다는 기질과 보조인자의 제한에 기인된 것으로 보고되었다(Steponkus, 1971). 비록 TTC 환원에 필요한 dehydrogenase는 동결된 조직에서도 기능성이 있지만, 동결된 상태에서는 기질과 보조인자의 공급이 제한되어 TTC의 환원작용이 이루어지지 않는다. 따라서, 이 두 물질의 外生的 처리가 없다면, 동해정도와 TTC 환원력의 감소간의 높은 상관은

dehydrogenase의 비활성화 보다는 기질과 보조인자의 제한에 기인된 것으로 본다.

Dexter 등(1932)에 의해 채택된 전기전도도 측정(EC)은 실험실에서 동해 정도를 평가하는데 가장 널리 이용되는 양적 평가방법으로, 동결 처리된 조직에서 流出된 이온의 전해질의 전기전도도를 측정하며 여러 변경된 방법(Calkins & Swanson, 1990; Stergios & Howell, 1973)이 보고되었다. 만일 半透性膜인 세포막이 동결 중에 또는 후에 파괴된다면(Steponkus, 1984), 세포는 流出性이 높아진다. 동결 후 녹인 조직이 물에 수 시간 沈積될 때에 전해질이 조직에서 용액으로 확산되어 전기전도도를 증가시킨다. EC 및 TTC test를 이용하여 차나무의 내동성을 검정하고자 본 실험을 실시하였다.

제 2절 연구 방법

전기전도도 측정(electrical conductivity)은 Dexter 등(1932)의 방법을 변형하여 사용하였다. 담양군 금성면 비내동의 대나무밭에서 1999년 6월 중순에 엽위별로 채취한 차나무 잎을 대조구(+3℃) 및 동해처리구로 구분하고, 동해 처리는 設定溫度 -2℃, -3℃, -4℃, -5℃, -6℃에서 2시간씩 각각 처리하고, 동해처리한 차 잎을 같은 크기(10 mm)로 절단하여, 절단 잎 500 mg과 증류수 10 mL를 시험관에 넣어, 4℃에 22시간 교반시킨 후에 실온에서 EC₁을 측정하였다. 또한 동일 시료가 들어 있는 시험관을 전기오븐에서(90℃) 2시간 처리하고, 4℃에 22시간 교반시킨 후에 실온에서 EC₂를 측정하여, EC₁/EC₂ 비율로 동해 정도를 판정하였다.

TTC 검정은 Steponkus & Lanphear(1967)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 설정온도에서 동결 처리한 시료 약 30 mg을(직경 10mm 엽편 3개를 반으로 자른다) 시험관에 넣고, 0.5 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)에 TTC 및

Triton X-100(2 droplets)을 용해시켜 0.7%(w/v) TTC 용액을 만들어 3.0 mL를 시료를 포함한 시험관에 넣었다. 시료를 5분간 진공 여과한 후에 30°C와 암기 상태에서 22시간 방치한 다음에 시험관에서 잎을 꺼내서 2차 증류수로 수세한 후에 95% ethanol 10 mL을 넣고 끓는 수조에서 5분간 boiling한 후에 실온으로 냉각시킨 후에 분광광도계(A530 nm)로 흡광도를 측정하여, 대조구와 비교하여 동해 정도를 판정하였다. 본 시험의 통계적인 처리는 SAS를 이용하여 분석하였다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 전기전도도 검정(Electrical conductivity test)

1999년도 6월에 담양 금성면에서 채취한 차 잎을 대조구(+3°C), -2°C, -3°C, -4°C, -5°C, -6°C에서 2시간씩 저온 처리하여, 電解質의 流出量을 분석한 결과는 표 3-1과 같다. 처리온도 및 채취 엽위에 따라 최초 전기전도도(EC₁) 및 비율(EC₁/EC₂)은 처리별로 통계적 유의성이 인정되었다(표 3-1, 그림 3-1). 2시간 저온처리 후 전해질의 최초 유출량은(EC₁) 온도가 낮아질수록 점진적으로 증가하다가 -5°C에서 크게 증가되었다. 또한 유출량의 비율도 비슷한 경향을 보여 -5°C 처리구에서의 EC₁/EC₂ 비율이 51%가 되어 조직의 동사온도(LT₅₀)로 생각된다. -6°C에서 2시간 처리구에서 전해질 유출량의 비율은 81%로 크게 증가되었다. Kolar 등(1991)은 보리 Dicktoo의 유전자형의 경우 -11.8°C에서의 LT₅₀을 보고하였다. 추파성 소맥 Norstar의 유전자형은 -12.8°C에서 LT₅₀이 보고되었으며, 서부 캐나다 지역보다 동부 지역에서의 냉해 저항성이 상당히 낮았다고 하였다(MeKersie & Hunt, 1987). 또한 신엽의 엽위별로 전기전도도를 보면 최초 전기전도도는 제 1~3엽과 제 4엽간에 차이가 인정되었고, 전기전도도의 비율은 제 1엽, 제 2~3엽 및 제 4엽간에 유의적인

차이가 있었다. 따라서 차나무의 耐凍性を 검정하기 위한 EC의 검정용 시험재
 료는 엽위에 따른 변이성의 제거에 유의해야 한다.

**Table 3-1. Mean squares of initial(EC₁), after boiling(EC₂)
 electrical conductivities($\mu\text{s}/\text{cm}$) and ratios in tea leaves
 treated with different low temperatures.**

Source of variation	DF	Mean square		
		EC ₁	EC ₂	Ratio (EC ₁ /EC ₂)
Replication	1	ns	ns	ns
Low temp. (A)	5	655129.4**	3924.8ns	0.655**
Error (a)	5	969.9	2866.4	0.00041
Leaf No. (B)	3	7344.7**	61842.7**	0.0177**
A×B	15	782.7ns	7510.7**	0.0020**
Error (b)	18	347.0	2281.3	0.00016
Temp. (A)	1. Control(3°C)	109c	1021a	0.11d
	2. -2°C	128c	997a	0.13cd
	3. -3°C	144c	1045a	0.14cd
	4. -4°C	164c	984a	0.17c
	5. -5°C	516b	1025a	0.51b@
	6. -6°C	805a	1002a	0.81a
Leaf No. (B)	1	330a	919c	0.36a
	2	324a	1086a	0.30b
	3	314a	1046ab	0.30b
	4	275b	997b	0.27c

** Significant at the 1% level, ns ; not significant. In a column,
 means followed by a common letter are not significantly different at
 the 5% level by DMRT. ※ Tea leaves were sampled at Damyang on June
 16, 1999. @ LT₅₀ ; lethal temperature for 50% dead tissues

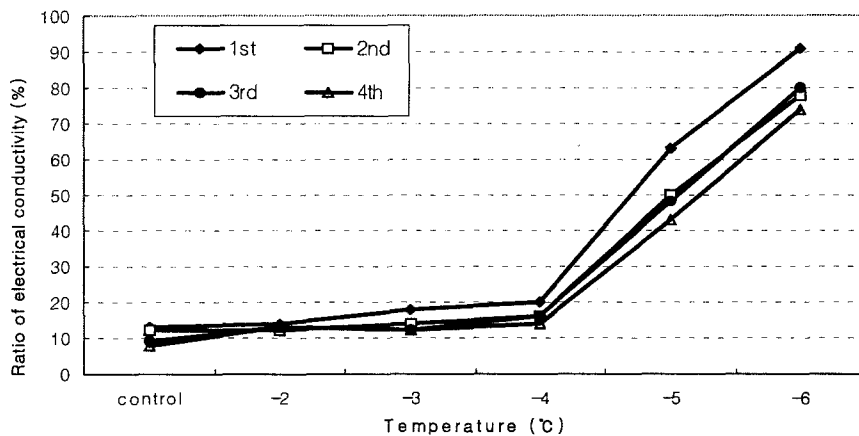


Figure 3-1. Change in ratios of electrical conductivity with different temperatures in different positions of tea leaves.

2. Tetrazolium test

전기전도도 검정에서와 같은 온도범위에서 2시간씩 저온 처리한 후 0.7% TTC용액에 환원시킨 후, 95% ethanol 추출물의 흡광도를 표 3-2 및 그림 3-2에서 보면, TTC 환원액의 흡광도는 처리온도가 낮아질수록 적어졌으며, 대조구에 비해 -5°C구에서 54%, -6°C구에서 43%로 -5°C~-6°C가 차나무 조직의 凍死溫度(LT50)로 추정된다. 이 온도는 동결조직의 전해질 유출량을 측정한 전기전도도의 결과와 비슷하였다. Steponkus & Lanphear(1967)는 담쟁이덩굴에서 TTC용액을 처리한 후 동사온도(LT50)를 추정하였는데 줄기조직은 -6.5°C, 엽조직은 -8.1°C를 보였다고 하였다. 또한 TTC 환원액의 흡광도의 엽위별 차이는 제 1엽과 제 2~4엽간에는 차이가 있었으나, 제 2~4엽내에는 차이가 없었다.

TTC 처리농도에 따른 조직의 활성정도를 표 3-3에서 보면, TTC 농도가 0.2%에서 1.0%로 증가할수록 환원액의 흡광도는 0.29에서 0.60으로 증가되었다. 일반적으로 사용되는 TTC 0.6%를 기준으로 하였을 때, 0.2%에서 39%가 감소되었고, 0.8%에서 6.4%, 1.0%에서 28%가 각각 증가되었다. 또한 엽위간에(제 1엽과 제 2엽)도 차이가 인정되었다. TTC농도에 따른 환원액의 흡광도는 직선 회귀에 잘 적용되었으며($Y = 0.253 + 0.354X$, X: TTC의 처리농도), 決定係數가 76.1%이었다(그림 3-3). 시료량에 따른 환원액의 흡광도 차이를 표 3-4 및 3-5에서 보면, 시료량 20 mg(직경 9 mm cork borer로 절단한 葉片 2개)에서 흡광도가 0.08, 40 mg에서 0.15, 60 mg에서 0.28, 80 mg에서 0.37이었다. 대조구(+3℃ 처리)에서 시료량의 증가에 따라서 흡광도는 크게 증가되었고, 대조구에서 시료량 40 mg을 기준으로 하였을 때 60 mg에서 1.94배, 80 mg에서 2.53배가 증가되었고 -4℃와 -6℃구에서도 1.72~2.03배 및 2.26~2.52배로 증가되었다.

Table 3-2. Mean squares of absorbance(A530 nm) of TTC reduction solution from tea leaves treated with different low temperatures.

Source of variation		DF	Absorbance (A530 nm)
Replication		2	ns
Low temp. (A)		5	0.068**
Error (a)		10	0.00042
Leaf No. (B)		3	0.0048**
A×B		15	0.0022**
Error (b)		36	0.00049
Temp. (A)	1. Control		0.37a (100)
	2. -2°C		0.28b (76)
	3. -3°C		0.28b (76)
	4. -4°C		0.23c (62)
	5. -5°C		0.20d (54)@
	6. -6°C		0.16e (43)
Leaf No. (B)	1		0.28a
	2		0.25b
	3		0.25b
	4		0.24b

** Significant at the 1% level, ns : not significant. In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. ※ Tea leaves were sampled at Damyang on June 16, 1999. @ LT₅₀, () for ratio of low temperature plot to the control.

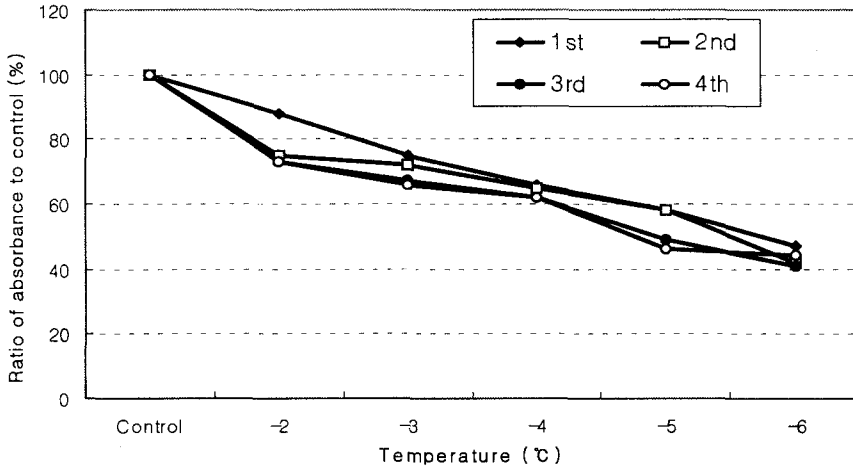


Figure 3-2. Change in ratios of absorbance with different temperatures in different positions of tea leaves.

TTC 환원액의 파장별 흡광도는 그림 3-4와 같다. 저온처리 하지 않은 대조구의 시료를 0.7% TTC 용액에 24시간 처리한 후에, 95% ethanol을 넣어 끓는 수조에서 10분(A) 및 5분간 처리(B) 하였으며, 한편 대조구 시료에 TTC용액을 처리하지 않은 시료를 10분(C) 및 5분(D) 동안 끓인 후에 파장별 흡광도를 조사하였다. 시간에 따른 浸出程度는 다소 차이가 있었으나 경향은 매우 비슷하였다. TTC 용액의 환원액의 흡광도는 470 nm에서 최대치를 보였으며, 530 nm의 경우에는 거의 반 정도에 해당하였다. 반면에 TTC 용액을 처리하지 않은 시료의 흡광도는 430 nm에서 최대치를 보였으며, 490 nm이상의 파장에서부터 최소치를 보였다. 따라서 보통 TTC 용액의 흡광도를 470 nm에서 측정하는 경우는 어느 정도 엽록소의 영향을 받으므로 530 nm에서 측정하는 것이 엽록소의 영향을 최소화하면서 흡광도의 차이를 관찰할 수 있다고 생각된다. 또한 Towill & Mazur(1975)는 은단풍나무 뿌리 조직배양을 통한 추출액에서 TTC용액의 환원액 흡광도는 485 nm에서 최대치를 보였으며, 이 파장에서

특별히 흡수하는 물질은 없다고 하였으나 본 연구에서는 이 파장에서 엽록소가 다소 관찰되었다.

Table 3-3. Mean squares of absorbance(A530nm) of TTC reduction by tea leaves treated with different TTC concentrations.

Source of variation	DF	Absorbance(A530 nm)
Replication	2	ns
Concentration (A)	4	0.074**
Error (a)	8	0.0004
Leaf No. (B)	1	0.0024*
A×B	4	0.024**
Error (b)	10	0.00038
<hr/>		
Concen. (A)	1. 0.2%	0.29c
	2. 0.4%	0.47b
	3. 0.6%	0.47b
	4. 0.8%	0.50b
	5. 1.0%	0.60a
<hr/>		
Leaf No. (B)	1	0.46b
	2	0.47a

** Significant at the 1% level, ns : not significant. In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. * Tea leaves were sampled at Damyang on June 16, 1999.

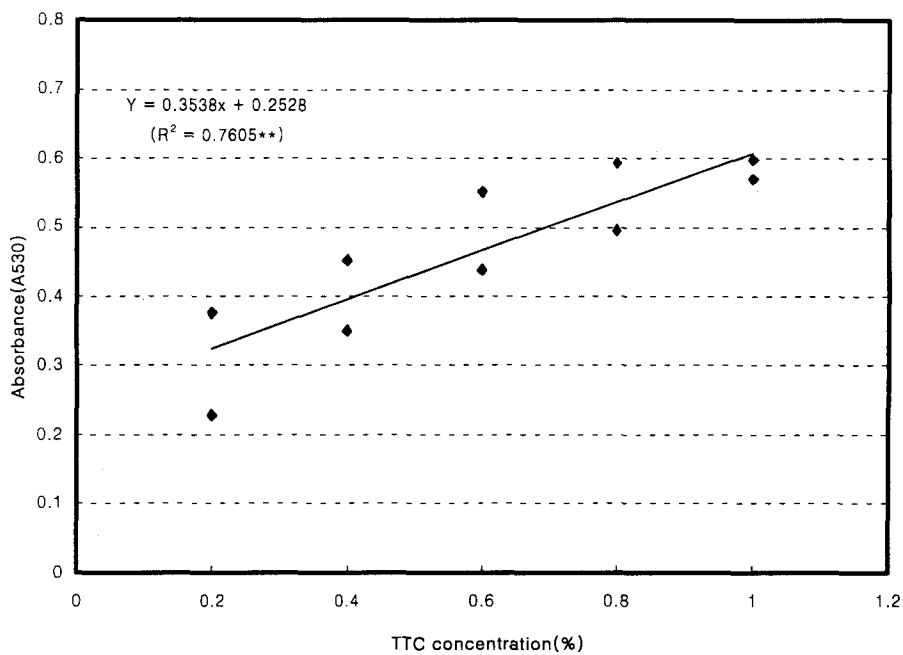


Figure 3-3. Relationship with absorbance and TTC solution concentrations in tea leaves.

Table 3-4. Mean squares of absorbance(A530nm) of TTC reduction by tea leaves treated with different low temperatures and leaf amount.

Source of variation	DF	Absorbance (A530 nm)
Replication	1	ns
Low temp. (A)	2	0.0744**
Error (a)	2	0.00027
Leaf amount (B)	3	0.10037**
A×B	6	0.0072**
Error (b)	9	0.000067
<hr/>		
Temp. (A)	1. Control	0.33a
	2. -4°C	0.19b
	3. -6°C	0.14c
<hr/>		
Leaf amount (B)	20 mg	0.08d
	40	0.15c
	60	0.28b
	80	0.37a

** Significant at the 1% level, ns : not significant. In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. * Tea leaves sampled at Hyanglymsa, Suncheon on June 22.

Table 3-5. Means of absorbance(A530 nm) and ratios of TTC reduction by tea leaves treated with different temperatures and amount of leaves.

Treatment	Leaf amount (mg)	Absorbance	
		A530 nm	Ratio
1. Control	20	0.116	0.53
	40	0.218	1.00
	60	0.422	1.94
	80	0.552	2.53
2. -4°C	20	0.072	0.51
	40	0.140	1.00
	60	0.241	1.72
	80	0.316	2.26
3. -6°C	20	0.051	0.55
	40	0.092	1.00
	60	0.187	2.03
	80	0.232	2.52

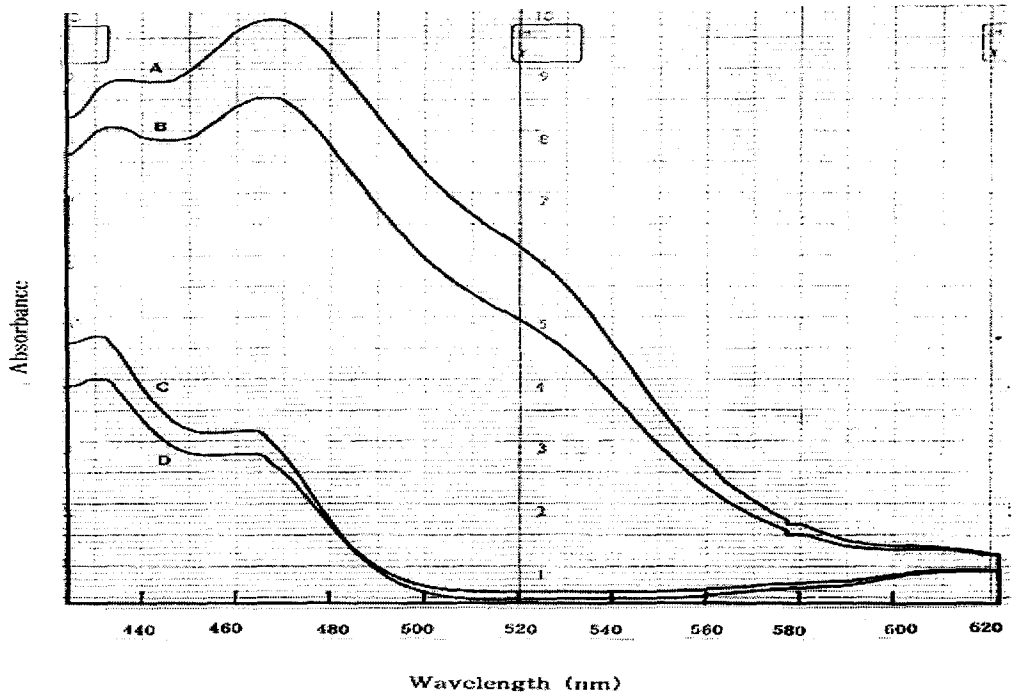


Figure 3-4. Absorbance of TTC reduction solution with different wavelengths in the tea leaves treated with different boiling temperatures. A: TTC treatment, 10 min. boiling, B: TTC treatment, 5 min. boiling, C: TTC non-treatment, 10 min. boiling, D: TTC non-treatment, 5 min. boiling.

3. 검정방법간 상관

저온처리 온도와 전기전도도 및 TTC 환원액의 흡광도에 의한 검정방법간의 상관관계는 표 3-6과 같다. 전기전도도는 저온처리 온도가 낮을수록 높고, 처리온도에 따라 전해질 유출의 변화가 직선회귀를($R^2 = 0.749^{**}$) 보여, 온도 1°C 씩 낮아짐에 따라 $10.78 \mu\text{S}/\text{cm}$ 가 증가되었다. TTC 용액의 흡광도는 저온

처리 온도가 높아질수록 증가되어 직선회귀에 잘 적용되어($R^2 = 0.989^{**}$), 온도가 1°C 높아짐에 따라 0.109정도 증가되었다(표 3-6). 또한 전기전도도와 TTC간에도 직선회귀 관계($R^2 = 0.757^{**}$), 잎 표면의 포피세포를 neutral red로 20분간 염색하여 조사한 현미경 검경 결과와 전기전도도 검정간에도 직선회귀 관계($R^2 = 0.930^{**}$)를 보였다.

본 연구결과에서 차나무의 내동성 정도를 검정하는데 EC 검정이나 TTC 검정 방법이 매우 높은 신뢰성과 재현성을 보여 두 방법이 내동성 검정에 매우 유용하며, 시료량이 극히 제한적인 경우에 TTC test의 채택이 바람직하다고 생각된다.

제 4절 결 론

차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물이므로 지역간 개체간 유전적 造成의 차이가 있으므로 내동성 유전인자의 탐색, 선발 및 잡종초기세대에서 선발과정이 매우 어렵다. 凍結組織에서 유출되는 電解質을 측정하는 전기전도도 검정법(electrical conductivity : EC)과 효소에 의한 TTC의 환원력 정도를 측정하는 방법(TTC test)을 이용하여 실험을 실시한 결과, 전해질의 최초 流出量은(EC_i)은 저온처리 온도가 낮아질수록 점진적으로 증가하다가 -5°C 에서 LT50을 보였으며, 0.7% TTC용액에서 동결조직을 환원시킨 결과 $-5\sim-6^{\circ}\text{C}$ 에서 동사온도(LT50)를 보여 두 방법의 결과가 비슷하였다. TTC검정의 경우에 시험 재료의 양과 TTC용액의 처리농도가 증가함에 따라 TTC 환원액의 흡광도는 증가되었으며, 흡광 파장은 530 nm가 적절하였다. 본 연구는 EC 및 TTC test은 차나무 내동성을 검정하는데 재현성이 높은 검정방법으로 생각된다. 특히 TTC 검정은 적은 시료량을 이용할 수가 있어서 유전재료의 선발 및 교잡초기세대의 검정에 유용하게 이용될 수 있다고 생각된다.

Table 3-6. Simple linear regression equations among the characteristics in tea leaves treated with different low temperatures.

Simple linear regression equation	R ²
1. $EC = -3.275 - 10.782^{**}LT$	0.749
2. $TT = 1.259 - 0.109^{**}LT$	0.989
3. $EC = 121.716 - 99.247^{**}TT$	0.757
4. $NR = -9.990 + 0.821^{**}EC$	0.930

EC : ratio of electrical conductivity, LT ; low temperature, TT ; absorbance of TTC reduction, NR ; survival rate with neutral red test(DD water : neutral red dye = 10,000 : 1) observed in stain solution for 20 min. ** Significant at the 1% level.

제 4 장 저온하 강한 광선에 의한 광합성의 광저해현상 분석

제 1절 서론

우리나라 차 재배면적의 약 30%가 내한성이 중간인 “야부기다”와 자생종이 식재되거나 자생하고 있으며, 차나무는 자가불화합성을 갖는 타가수정작물임을 고려하면 우리나라 자생종에는 내한성 및 내동성이 강한 유전자원이 다수 존재할 것으로 생각된다. 국외 품종 및 국내의 자생종 중에서 내한성 및 내동성 인자의 탐색과 이를 이용한 새로운 품종의 육성이 필요하다. 차나무의 내동성은 여러 요인에 의해서 좌우되는데, 유전적 요인 외에 세포질내 당함량, 단백질함량, 수분함량, phosphorylase의 활성 등이 관계하고 이들 요인간의 상호작용도 있다.

추파성 밀과 호밀 같은 내동성 화곡류는 낮은 온도(0~5℃)에서 일정기간 순화된 후에 내동성이 최대로 증가된다(Levitt, 1980). 광합성은 월동기의 저온에 의해서 영향을 받으며, 광합성은 저온과 높은 광도에서 크게 저하된다(전형적으로 光阻害現象으로 표현된다; Ort & Baker, 1998; Powles, 1984). 저온에서 유인되는 광합성작용의 광저해현상은 보통 PSII 광화학의 quantum yield의 감소로 표현되며, 이것은 전자전달과 CO₂ 고정에 흡수된 photons(光子) 에너지를 이용하기 위하여 엽록체가 과도한 양의 광을 흡수할 때 항상 일어난다. 저온에서 추파성 호밀의 발육이 광저해에 대한 抵抗性を 높이기 위해서 필요하다고 하였다. 20℃에서 생육한 완전히 전개된 호밀의 잎은 5℃에서 3주간 재배하여도 저온에서 광저해의 내성이 증가하지 않았다. 5℃에서 18일간 처리한 호밀의 F_v/F_m 비율은 0.80에서 0.44로 감소되었다(Boese & Huner, 1990). 저온에서 전개된 잎만이 저온에서 광저해에 대한 내성이 증가되

었다. 이러한 현상은 일장과는 관계가 없으나 광도, 조사시간 및 葉壽命에 좌우되고 충분히 전개된 잎이 가장 큰 감수성을 보였다. 최근에 저온에서 유기된 광저해 현상의 내성에 대한 연구가 고온 및 저온에서 재배된 식물체에서 수행되었다(Lapointe etc., 1991; Öquist & Huner, 1991).

저온과 같은 나쁜 환경조건은 CO₂고정의 감소로 광합성, 전자전달을 감소시키고 또한 주어진 광도에서 여기압(excitation pressure)을 증가시켜 결과적으로 잎의 광저해를 증가시킨다(Hurry et al., 1992). 千 등(1997)에 의하면, 밀 엽색체치환계통을 이용한 연구에서 저온 및 광 stress에서 chlorophyll fluorescence의 Fv/Fm 비율의 측정은 밀 내동성을 평가하는데 매우 유용한 방법이라고 보고하였다.

침엽수의 저온 저항성의 평가 방법은 여러 가지가 있으며, 표준화된 평가 방법이 필요하고 시간과 노력이 많이 든다. 엽록소형광 측정방법은 암기상태에서 조직을 저온처리 후 점차적으로 녹인 후 정상적인 조건에서 형광을 측정하여 내동성과의 관계를 추정한다(Binder Fielder, 1996; Lindgren & Hallgren, 1993). 엽록소 형광측정법은 신속, 정확, 비파괴적이고 작동이 쉽고 경제적이며, 고온, 저온, 한발, 고염분, 공해, 제초제 및 영양결핍과 같은 stress 연구에 적용 될 수가 있다(Mohammed et al., 1995).

따라서, 본 연구는 차나무의 잎을 이용하여 저온에서 유기된 광저해 현상을 조사하고, 광저해 정도를 지표로 내동성 간이검정법을 개발하는데 목적이 있다.

제 2절 연구 방법

시험용 재료는 동일한 부위에서 채취한 차나무 잎을 대조구(+3℃) 및 동해 처리구로 구분하고, 동해 처리구는 programmed cold chamber에서 시간 당 3℃

씩 하강시켜 설정온도에서 2시간 저온을 처리하였다. TTC test는 千 등(2000)의 방법을 이용하였다. 광저해 처리는 시험용 재료를 동일한 부위에서 채취한 차나무의 잎을 cork borer(No. 11; 직경 15mm)로 punching하여, 切斷 잎의 표면이 위를 향하게 샐레안에 적신 여과지 위에 놓고, 잎을 치상한 샐레를 5℃의 cold chamber에 넣고, 잎 표면을 high pressure sodium lamp로(400W, SON-T AGRO 400, Philips) 0, 1, 3, 5, 7 시간씩 조사하였으며 이 때에 광도는 $1,300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (PAR)정도였다. 잎의 乾燥를 방지하기 위해서 30분마다 여과지에 물을 가하였다. 일정한 저온(5℃)을 유지하기 위해서 저온순환수조를 사용하였고, 광저해를 量的化하기 위해서 Fv/Fm 비율의 변화를 조사하였다. 실온에서 chlorophyll fluorescence 측정은 modulated fluorescence (Portable Chlorophyll Fluorometer PAM-2000; H. Walz Effeltrich, Germany)를 이용하여 Genty et al.(1989) 방법에 의하여 측정하였다. 또한 대조구 및 동해 처리구의 절단 잎은 실온에서 최소한 30분간 암기에 처리한 후에 Fo, Fm, Fv 및 Fv/Fm ratio을 2~3회 반복하여 측정하였으나 Fo, Fm값은 변이가 컸다. 여기에서 Fo은 암적응 후에 측정되는 최소형광 yield, Fm은 암적응 후에 측정되는 최대형광 yield, Fv은 (Fm-Fo)이며, Fv/Fm은 PSII 中心의 photochemical quantum yield을 나타낸다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 광저해 처리시간 및 저온처리에 따른 Fv/Fm 비율의 변화

Chlorophyll fluorescence(CF)는 식물 광합성체계에서 光系II(PSII)의 광흡수의 효율을 측정하는데 사용된다. 광계II는 광에너지를 받아서 화학에너지로 전환시키고, 광계 I은 대기중의 CO₂를 당으로 환원시키는데 이 화학에너지를 이용한다. 방출되는 螢光量과 양상은 식물의 정상적 생육과 외부환경 stress

의 유·무를 측정(Mohammed et al., 1995)하는데, 이용될 수 있다. CF의 측정
은 CO₂ 흡수의 측정에 비해서 보다 빠르고, 외부환경의 조절이 적고 엽면적의
측정 없이 쉽게 작동할 수 있는 장점이 있다. 따라서 작물의 내동성 및 외부
환경 stress가 광합성에 미치는 영향을 추정할 수 있다. 여러 parameter중
서 Fv/Fm ratio가 동해의 피해정도를 검사하는데 매우 유용한 특성으로 사용
된다(Binder & Fielder, 1996).

전 실험을 통해서 PSII의 광화학의 최대 yield는 cork borer(No.11: 직경
15mm)로 절단한 차나무 잎을 광 또는 저온처리 후 실온의 암기에서 30분간 처
리한 다음에 Fv/Fm 값으로 측정하였다. 저온에서 순화되기 전에(10월 12일 채
취) 차나무의 광저해(Fv/Fm ratio)의 변화는 그림 4-1과 같다. Fv/Fm값의 평
균치는 무처리구는 0.790~0.801, 2시간 처리구 0.675~0.716, 3시간 처리구
0.474~0.506, 4시간 처리구 0.397~0.426, 5시간 처리구 0.274~0.283, 6시
간 처리구 0.266~0.269, 7시간 처리구 0.139~0.178로 저온에서 光處理 시간
이 길어질수록 Fv/Fm 값이 작아졌다. 엽위간 Fv/Fm값은 통계적인 유의성이 없
었다.

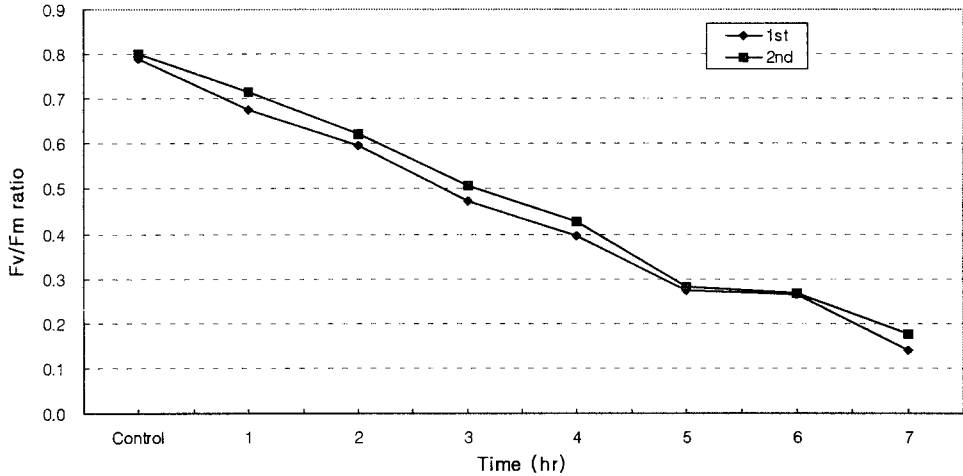


Figure 4-1. Changes in chlorophyll fluorescence(Fv/Fm) of the first and second tea leaves photoinhibited for different durations. They were sampled on 12 October in 1999 at Hyanglymsa, Suncheon.

저온처리가 끝난 후 3℃의 온도 및 암기에서 24시간 解氷한 후 조직의 광합 성능에 따른 조직의 生·死를 추정한 결과는 그림 4-2, 4-3과 같다. 온전한 차나무 잎을 저온 처리하여 3℃에서 解氷시킨 후 측정한 Fv/Fm값이(A) 光回復 처리한 것(B, C)보다 수치가 다소 높았으며, 특히 -10℃~-12℃ 처리구에서 차이가 컸다. 저온에 순화되기 전(10월 29일 채취) 차나무의 잎을 저온을 처리한 결과에서 -5℃~-8℃까지 처리온도가 낮아질수록 서서히 Fv/Fm값은 감소 되었으며, -9℃에서 급격히 감소되어 -9℃~-10℃에서 조직이 광합성능을 상실한 것으로 생각된다. Fv/Fm값이 대조구에서 0.775~0.803, -8℃구에서 0.648~0.710 이었으나 -9℃구에서 0.244~0.466(30~58%)로 -9℃~-10℃사이

가 조직의 凍死溫度(LT₅₀)라고 생각된다. 설정온도에서 2시간 동안 저온처리가 끝난 후에 3℃에서 24시간 解氷한 것과 비교해서, 실온과 광조건(300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 4시간 광회복한 것의 Fv/Fm값이 낮고 특히 -9℃보다 낮은 온도에서 차이가 컸다. 이는 해빙 후 시간이 지남에 따라 동결된 조직의 파괴가(죽음) 계속되기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 시간이 지남에 따라 Fv/Fm 값은 다소 낮아지는 경향을 보였다. 그림 4-3은 차나무 잎을 저온을 처리할 때 cork borer(No. 11)로 미리 切片으로 만들어 시험관에 넣어서 저온을 처리한 결과로서 완전한 잎을 비닐백에 넣어서 동결 처리한 것에 비해서 Fv/Fm값이 다소 낮은 경향을 보였다. 이러한 결과는 저온을 처리할 때 잎을 편칭하여 미리 절편을 만들어 사용하는 경우에 조직의 수분증발에 기인한 것으로 생각되므로, 절편의 乾燥防止가 매우 중요하였다. 따라서 작업상 미리 切片을 만들어 저온 처리 하는 것이 편리하나, 건조방지를 강구해야 한다.

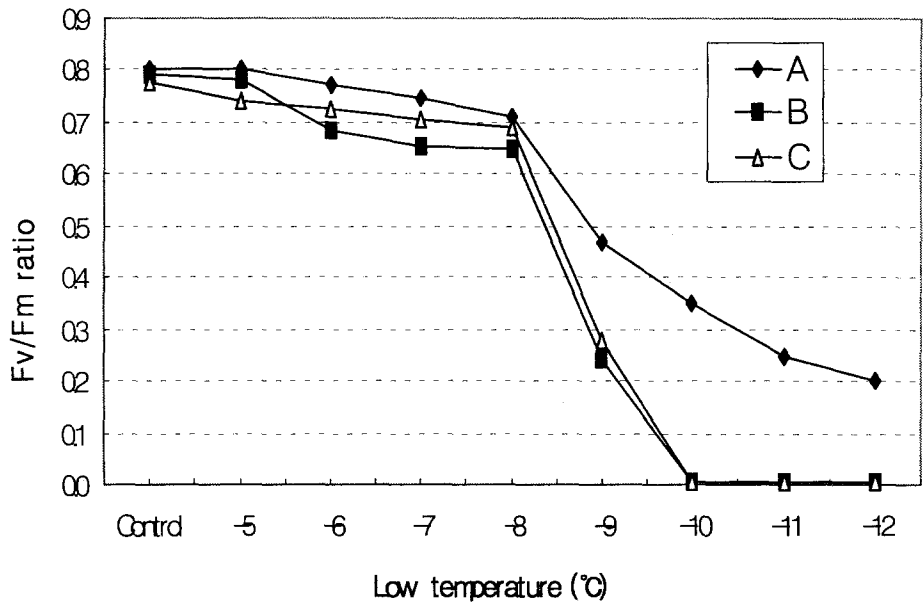


Figure 4-2. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) of whole tea leaves treated with different low temperatures for 2 hours. They were sampled on 29 October in 1999. A: low temp. (2h) & 3°C overnight in dark, B: low temp. (2h) & 3°C overnight & recovery (4h) in light, C: low temp. (2h) & 3°C overnight & recovery (4h) in light & dark treatment(30 min).

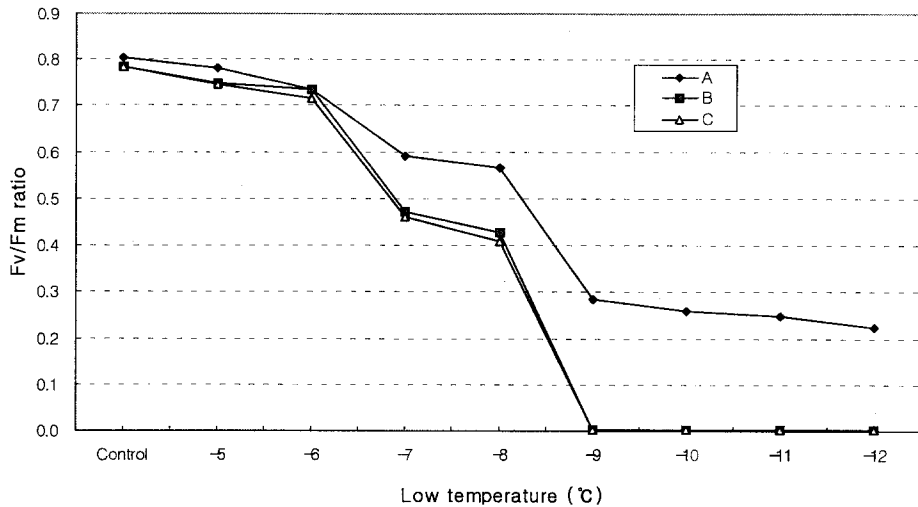


Figure 4-3. Changes in chlorophyll fluorescence(Fv/Fm) of disc tea leaves treated with different low temperatures for 2 hours. They were sampled on 29 October in 1999. A: low temp.(2h) & 3℃ overnight in dark, B: low temp.(2h) & 3℃ overnight & recovery (4h) in light, C: low temp.(2h) & 3℃ overnight & recovery(4h) in light & dark treatment(30 min).

2. 차나무의 재배조건에 따른 Fv/Fm값의 비교

차나무의 재배종의 분포는 재배종의 식재 조건에 따라 매우 다양하여, 주로 잡목이나 대나무밭 사이에 식생하는 경우가 대부분이다. 따라서 성장 및 광합성에 필요한 광 조건이 매우 다르다. 자연상태에서 遮光이 전혀 없는 본 대학 차나무 포장(UF), 대나무밭이 광을 70~80% 遮光하는 담양, 옥과(DY, OK)에서 6월 22일에 잎이 완전히 전개되고 硬化된 차나무 제 2엽을 채취하여 실험에 사용하였다.

재배조건별(지역) 광저해 처리시간에 따른 Fm(maximal fluorescence yield) 값을 그림 4-4에서 보면, 强光 1시간 처리에서 Fm값은 32~42%까지 감소되었

으며, 그 후에는 처리시간이 길어질수록 서서히 감소되었다. F_m 값은 차광이 전혀 없는 대학 포장과 70~80% 차광되는 담양 및 옥과의 것과의 차이가 크고, 변화 양상이 달랐다. 그림 4-5에서 F_v/F_m 값을 비교하여 보면, F_m 값의 변화와는 다소 다르게, 광저해 처리 시간이 길어질수록 직선적인 감소를 보였다 ($r = -0.99^{**} \sim -1.0^{**}$). 차광이 없는 식물체의 F_v/F_m 값이 차광이 심한 것 보다 매우 높았다. 따라서 저온조건에서 강한 광선에 의한 光阻害現象은 음지에서 생육된 식물체에서 크게 나타났으며, 陽地에서 생육된 식물체는 강한 광에 대한 耐性を 어느 정도 보였다. 그러므로 露地에서 생육된 차나무의 내동성이 陰地에서 자란 것 보다 강하게 나타났다.

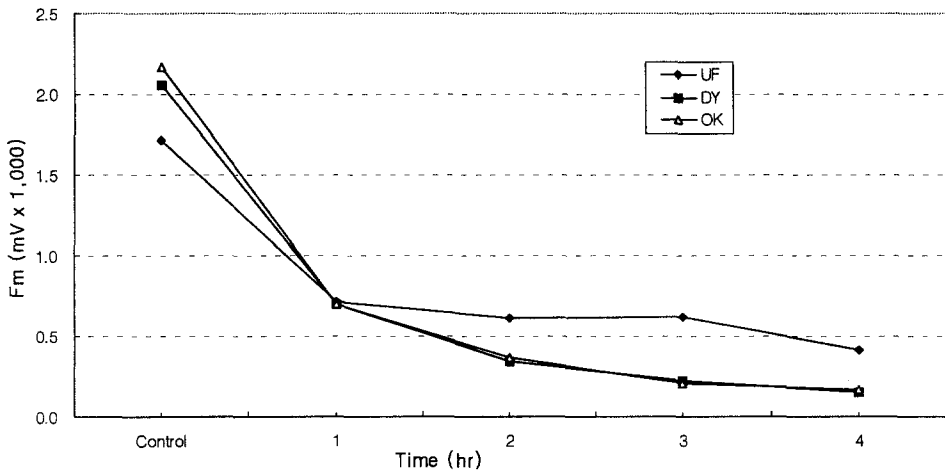


Figure 4-4. Comparison of maximal fluorescence yield(F_m) in tea leaves sampled from different growth conditions on 22 June in 2000. Tea leaves were photoinhibited with different durations under strong light intensity($1,500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). UF: University farm field, no shading, DY: Damyang, 70~80% shading. OK: Okkwa, 70~80% shading.

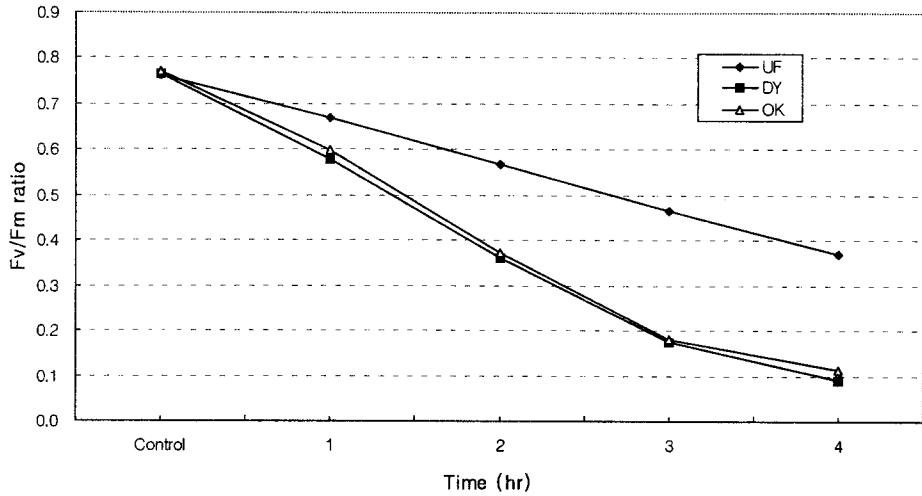


Figure 4-5. Comparison of Fv/Fm ratios in tea leaves sampled from different growth conditions on 22 June in 2000. UF: University farm field, no shading, DY: Damyang, 70~80% shading. OK: Okkwa, 70~80% shading.

그림 4-6은 차나무의 잎을 저온에서 2시간 처리하여 3℃에서 24시간 해빙시킨 후 측정된 Fv/Fm 값을 나타내고 있다. -2 및 -3℃의 처리구에서는 재배조건별 Fv/Fm값의 차이는 적었다. -4℃~-6℃의 처리구에서 재배조건간 차이가 현저하여, 대학 농장 포장의 것은 -6℃구에서도 16%의 감소를 보인 반면, 담양과 옥과의 것은 74~80%의 감소를 보였다. 따라서 차광이 전혀 없는 대학 농장의 차나무는 -6℃구에서도 생존이 가능하였으나, 차광이 70~80%인 담양, 옥과의 것은 -4℃(LT₅₀)에서 동사한 것으로 생각된다. 또한 그림 4-7에서 보는 바와 같이, TTC test에서도 비슷한 경향을 보여 대학 농장의 것은 -6℃구에서 대조구에 비해 34%의 감소를 보인 반면, 담양, 옥과의 것은 -4℃구에서도 대조구에 비해 56~68%의 감소를 보여 이 온도가 凍死溫度(LT₅₀)로 추정된다. 본

연구결과에서 차나무의 내동성은 품종간(유전적) 차이의 탐색과 재배환경에 대한 연구도 병행되어야 한다고 생각된다. 특히 상록수인 차나무는 온도와 광조건이 limiting factor이하로 떨어지지 않는다면, 저온기에도 극히 적은 양일지라도 짧은 기간 동안 광합성작용이 이루어져 탄수화물의 축적에 의해서 내동성이 다소 증가될 것으로 생각된다.

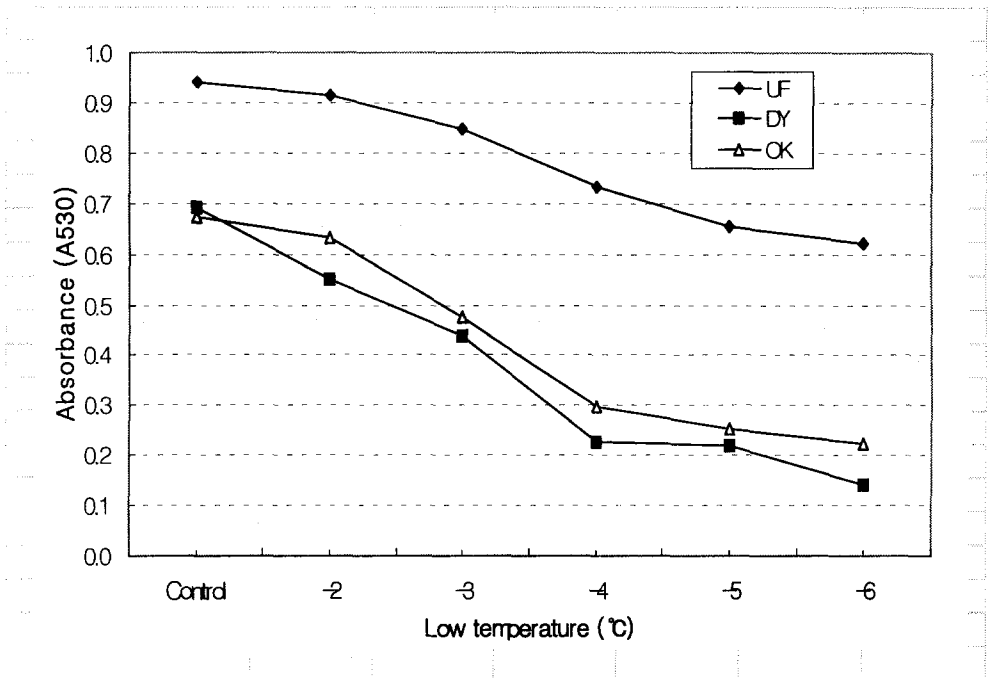


Figure 4-6. Comparison of Fv/Fm ratios by tea leaves treated with different low temperatures for 2 hours on 22 June in 2000. UF; University farm field, no shading, DY; Damyang, 70~80% shading, OK; Okkwa, 70~80% shading.

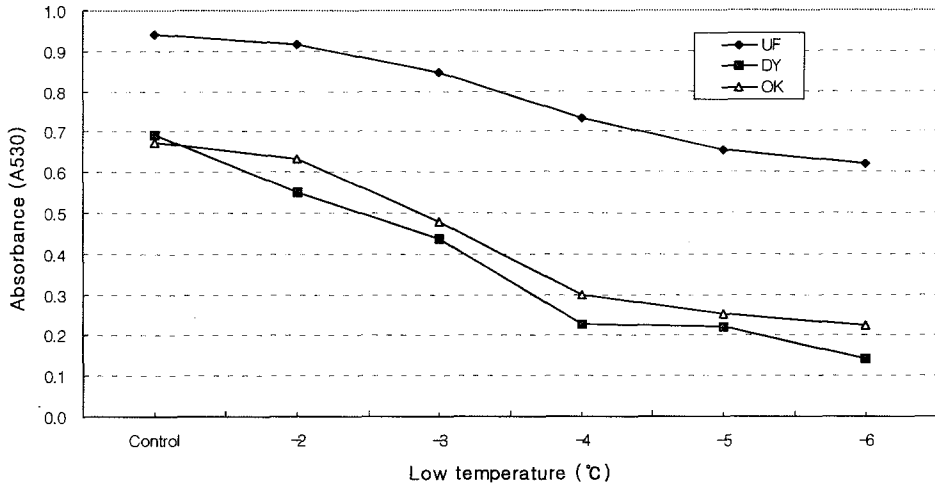


Figure 4-7. Comparison of absorbance(A530 nm) by tea leaves treated with different low temperatures on 22 June in 2000. Tea leaves were treated with different low temperatures(2hr), and overnight(3℃) and dark-adapted(30 min) under room temperature. UF : University farm field, no shading, DY: Damyang, 70~80% shading. OK: Okkwa, 70~80% shading.

3. 차나무에서 내동성 간이검정법

현재 차나무 밭을 開園할 때에 종자를 直播하는 경우가 대부분인데, 차나무는 자가불화합성 식물로 타가수정을 하므로 차나무 종자는 종자간 유전적 구성이 다소 다르다. 그러므로 내동성 및 기타 형질을 검정할 때에, 검정용 시료의 충분한 확보가 문제가 된다. 내동성 차나무의 육성과정에서 품종간 교잡을 하여, F1 잡종 식물체를 영양번식하여 개체를 증식, 평가하므로 다양한 변이를 확보하기 위해서 F1 교잡종의 식물체가 많아야 우수한 개체의 선발 가능

성이 높다. 초기세대에서 내동성을 검정하여 우수한 잡종을 선발, 증식해야 선발의 효율성을 높일 수가 있다. 따라서 가능한 적은 시료량으로 재현성이 높은 내동성 검정법 개발이 필요하다.

보성차시험장에서 새로운 우수한 신품종을 육성하기 위해서 교잡종 20계통을 선발하여 저온에서 광저해 및 저온처리를 실시하여 TTC 용액의 환원력, TTC test(Chun et al., 2000) 및 chlorophyll fluorescence(Fv/Fm, Chun et al., 1997)를 측정하였다(표 4-1).

Table 4-1. Means, standard deviations(SD) and CVs of absorbance of TTC reduction and Fv/Fm ratio in 20 tea hybrids grown up for 5 years and sampled on 30 May, 2000.

Treatment	Absorbance(A530 nm)				Fv/Fm ratio			
	Mean	SD	CV(%)	Ratio (%)	Mean	SD	CV(%)	Ratio (%)
Control	0.663	0.080	12.1	100	0.739	0.017	2.3	100
-3℃	0.510	0.088	17.3	76.9	0.588	0.123	21.0	79.6
-4℃	0.402	0.054	13.4	60.6	0.345	0.090	26.1	46.7
-5℃	0.341	0.046	13.6	51.4	0.219	0.069	31.6	29.0
-6℃	0.272	0.044	16.0	41.0	0.155	0.037	23.8	21.0

TTC 검정에서는 -5℃구에서 대조구의 51%, -6℃구에서 대조구의 45%이었고, CV는 13.6~16%이었다. Fv/Fm값은 -4℃구에서 대조구의 47%, -5℃에서 대조구의 30%이었으며 CV는 -5℃구에서 31.6%이었다. 또한 저온(X)이 TTC 용액의 흡광도 및 엽록소형광(Fv/Fm) 변이의 74~76%정도를 설명하고 있으며, 두 방법간 상관성이 매우 높았다(表 4-2). 대학 농장 포장에서 자연상태로 교잡된 차

나무 종자를 직파하여 3년생인 식물체 중에서 식물체간 변이가 다소 있는 20 개체를 선정하여, 동일부위(제2엽)의 잎을 채취하여 TTC 검정 및 chlorophyll fluorescence(Fv/Fm)를 측정하였다. 따라서 시료량을 최소화하기 위해서 TTC 검정의 경우에 대조구 및 -5℃구를, chlorophyll fluorescence 검정의 경우는 대조구 및 6시간 광처리구를 실시하였다. 표 4-3에서 6시간 광처리해 처리시, 광처리해 정도(Fv/Fm)는 TTC 용액 환원액의 흡광도와 높은 상관(0.709**~ 0.801**)관계를 보였다.

Table 4-2. Simple linear regression equations for low temperatures, absorbance of TTC reduction and chlorophyll fluorescence(Fv/Fm) in 20 tea hybrids grown up for 5 years and sampled on 30 May, 2000.

Simple regression equation	R ²
TTC = 0.562 + 0.041**LT	0.757
CHL = 0.600 + 0.064**LT	0.740
TTC = 0.204 + 0.571**CHL	0.784

** Significant at 1% level. TTC: absorbance of TTC reduction, LT:low temperature, CHL: chlorophyll fluorescence(Fv/Fm).

Table 4-3. Simple correlation coefficients(r) and Spearman's rank correlation(r_s) between absorbance of TTC reduction(TTC) and chlorophyll fluorescence(CHL) in 20 native tea trees grown up for 3 years with naturally pollinated seeds.

Characteristic	Correlation coefficient			
	CHL	CHC	TTC	TTR
CHL: Fv/Fm photoinhibited for 6 hr	-	0.994**	0.709**	0.801**
CHC: CHL ratio to control		-	0.723**	0.799**
TTC: Absorbance of -5°C plot			-	0.870**
TTR: TTC ratio to control				-
Rank correlation with CHL				0.910**

** Significant at 1% level.

Spearman's rank correlation에 의한 상관은 매우 높은 정의 상관($r_s = 0.910^{**}$)을 보여, TTC 검정에서 환원력이 높은 계통은 Fv/Fm값도 높았다. 따라서 두 특성간 직선회귀관계를 그림 4-8에서 보면, 6시간 光阻害(Fv/Fm; X)는 TTC 환원력(Y) 변이의 64%를 설명함으로서, chlorophyll fluorescence의 Fv/Fm 비율은 차나무의 내동성을 평가하는데 간단하고, 비파괴적이며, 객관적인 방법이 될 수 있어 육종재료 및 초기세대의 내동성 계통 선발에 효과적인 간이방법으로 이용될 수 있다고 생각된다. 본 결과는 千 등(2000; 1997), Binder & Fielder(1996) 등의 연구와 비슷한 결과를 보였으며, 특히 상록수인 차나무의 육종재료 및 교잡종의 耐凍性을 평가할 때에 차나무 한 잎을 사용하여 다량의 재료를 짧은 시간에 평가할 수 있는 장점이 있다.

제 4절 결론

내한성 및 내동성이 강한 고품질의 차나무 품종육성은 차 재배면적의 확대, 안정적 재배를 위해서 매우 중요한 특성이며, 차나무 발을 개원할 때에 종자를 직파하는 경우가 대부분인데, 차나무는 타가수정을 하므로 차나무 종자는 종자간 유전적 구성이 다소 다르다. 그러므로 내동성 및 기타 형질을 검정할 때에, 검정용 시료의 충분한 확보가 문제가 된다. 또한 다양한 변이를 확보하기 위해서 F1 교잡종의 식물체가 많아야 우수한 개체의 선발 가능성이 높으며, 초기세대에서 내동성을 검정하여 우수한 잡종을 선발, 증식해야 선발의 효율성을 높일 수가 있다. 따라서 가능한 적은 시료량으로 재현성이 높은 내동성 검정법의 개발이 필요하다. 저온에서 强光에 의한 광저해 정도(F_v/F_m)는 광처리 시간이 길어질수록 직선적으로 작아졌다. 저온처리한 차나무 잎의 F_v/F_m 값은 $-5^{\circ}\text{C} \sim -8^{\circ}\text{C}$ 까지 처리온도가 낮아질수록 서서히 감소되었으며, -9°C 에서 급격히 감소되어 $-9^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 에서 조직이 광합성능을 상실하여, 이때가 조직의 凍死溫度(LT_{50})라고 생각된다. 설정온도에서 2시간 저온처리가 끝난 후에 3°C 에서 24시간 해빙한 것과 비교해서, 실온과 광조건($300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 4시간 광회복한 것의 F_v/F_m 값이 낮고, 특히 -9°C 보다 낮은 온도에서 차이가 컸다.

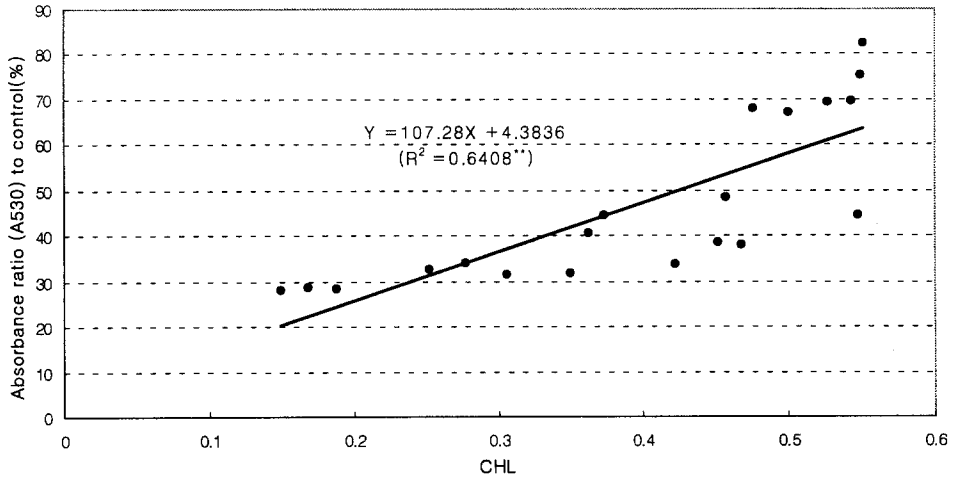


Figure 4-8. Relationship between absorbance(A530 nm) of TTC reduction and chlorophyll fluorescence(Fv/Fm; CHL) in 20 native tea leaves.

이는 해빙 후 시간이 지남에 따라 동결된 조직의 破壞(죽음)가 계속되기 때문인 것으로 생각된다. 遮光이 없는 대학 포장의 Fv/Fm값이 遮光이 심한 것 보다 매우 높았다. 따라서 저온조건에서 강한 광선에 의한 광저해 현상은 음지에서 생육된 식물체에서 크게 나타났으며, 양지에서 생육된 식물체는 강한 광에 대한 耐性を 어느 정도 보였다. 6시간 光沮害區의 光沮害 정도(Fv/Fm)는 -5℃처리구의 TTC용액 환원액의 흡광도와 높은 정의 상관(0.709**~0.801**)관계를 보였다. 특히 Spearman's rank correlation에 의한 상관은 매우 높은 정의 상관($r_s = 0.910^{**}$)을 보여, TTC 검정에서 환원력이 높은 계통은 Fv/Fm값도

높았다. 6시간 광저해구의 광저해(F_v/F_m ; X)는 TTC 환원력(Y) 변이의 64%를 설명함으로서, chlorophyll fluorescence의 F_v/F_m 비율은 차나무의 내동성을 평가하는데 간단하고, 비파괴적이며, 객관적인 방법이 될 수 있어 육종재료 및 초기세대의 내동성 계통선발에 효과적인 간이방법으로 이용될 수 있다고 생각된다.

제 5 장 Antifreeze proteins의 계절적 변이성 분석

제 1절 서론

작물의 내동성은 유전자 및 여러 환경요인에 의해서 지배된다. 최근에 월동기에 저온에 의한 작물체의 순화과정 중에 세포간극(apoplast)에 특수 단백질인 結氷防止蛋白質(antifreeze proteins: AFPs)의 기능에 대한 연구가 활발하다(Antikainen et al., 1996; Chun et al., 1998; Griffith & Antikainen, 1996; Hon et al., 1994). 맥종 및 품종간 내동성의 차이가 현저하고 이러한 내동성의 차이와 antifreeze proteins의 발현과의 관계가 매우 깊다. 또한 밀의 염색체치환계통에서 결빙방지단백질은 많은 유전자에 의해서 지배되며, AFPs의 발현이 루黴, ABA 등의 외부적 조건(Chun & Griffith, 1998)에 의해서도 영향을 받으므로 AFPs은 量的遺傳을 한다고 볼 수가 있다.

저온 순화과정에서 내동성이 강한 식물은 조직의 細胞外 結氷에서 생존할 수 있는 여러 기작, 결빙방지단백질의 축적, 당분비 및 세포벽의 변형 등이 일어난다. AFPs는 얼음 결정의 표면에 흡착되어 얼음 생성을 변형시키는 기능이 있다(DeVries, 1986). 또한 얼음 결정에 AFPs의 흡착은 결정의 녹는 온도에 영향을 주지 않고 결정의 생성온도를 낮춘다. 따라서 저온순화 과정에서 식물체의 AFPs의 증가는 식물체의 내동성을 증가시킨다. 추파성 호밀은 저온순화 과정에서 조직내 얼음 생성을 변형시킬 수 있는 apoplast proteins를 축적한다(Hon et al., 1994). 앞에서 추출된 AFPs의 증가는 호밀의 내동성 증가와 관계가 있다. 이 단백질의 축적위치는 엽육세포의 細胞間隙內에 얼음이 형성되는 위치와 같다(Pearce & Ashworth, 1992). 따라서 이들 형질에 대한 유전 분석을 통해서 내동성 인자에 대한 보다 넓은 이해와 유전분석을 통하여 내동성 품종의 선발 및 육성에 중요한 정보를 제공하기 위해서 실험한 결과이다.

제 2절 연구 방법

Apoplasic proteins 추출은 지역별, 시기별로 채취한 잎을 처리 당 잎 10개의 생체중을 측정 한 후에 3~4cm 길이로 절단하여 증류수로 3회 수세한 후에 추출 완충용액(20 mM ascorbic acid + 20 mM CaCl₂, pH 3)에서 30분간 vacuum infiltration시킨 후 저온에서 2,500 rpm로 30분간 원심분리하여 획득하고, 단백질의 농도는 표준단백질 BSA로 하여 Bradford protein assay(1976)에 준하였다. 차잎의 apoplast에서 추출한 추출액의 일정량을 Laemmli(1970) 방법에 의해 15% SDS polyacrylamide gels에서 분리하였으며, 겔은 Coomassie brilliant blue로 염색하였다. Immunoblotting을 위해서 전기영동 후에 단백질을 0.45 μm nitrocellulose막에 전이하고, blots는 25 mM Tris-HCl(pH 7.6), 140 mM NaCl 과 1% skim milk powder에서 24시간 blocking한 후 anti-glucanase-like protein(GLP) antiserum(dilution 1:3,000), anti-thaumatol-like protein(TLP) antiserum(dilution 1:15,000)과 chitinase-like protein(CLP) antiserum(dilution 1:2,000)에서 2시간 또는 24시간 처리하였다. 면역반응은 alkaline phosphatase-conjugated goat anti-rabbit IgG (Sigma Chemical Co.)로 검색하였으며, 기타 사항은 Antikainen et al.(1997)과 Hon et al.(1994)의 방법에 준하였다. Antifreeze proteins활성의 측정은 각 표본(10 μl)을 위상차광현미경의 silver sample holder의 wells에 loading 하여, Nanoliter osmometer(Clifton Technical Physics, USA)로 -40℃까지 급속히 냉각시킨 후 well에 단지 하나의 얼음 결정이 남을 때까지 녹인 다음에 온도를 서서히 낮추면서 얼음 결정의 형태를 관찰하였다. 얼음 결정의 형태를 용액에서 얼음 결정 형성과정을 관찰하여 Devries(1986)와 Hon et al.(1994)에 의해서 결정하였다. 순수한 물의 얼음의 결정은 圓形(활성이 없음), 묽은 AFPs용액에서 얼음 결정은 hexagonal discs, 중위의 AFPs용액에서 얼음 결정은

hexagonal column, 진한 AFPs 용액에서 얼음 결정은 hexagonal bipyramid 형태이다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 결빙방지단백질의 변이성 및 동정

지역별로 경시적인 결빙방지단백질(AFPs)의 변화를 표 5-1에서 보면, 우선 지역별로 이 단백질의 농도의 차이는 컸으며, 저온에서 순화가 시작되어 순화가 완성된 경우에 최대치를 보였다. 구례 천은사는 12월 5일($81.7 \mu\text{g/ml}$), 담양은 1월 5일($106.2 \mu\text{g/ml}$), 대원사는 1월 5일($109 \mu\text{g/ml}$), 회천은 1월 5일($147.2 \mu\text{g/ml}$)에 최대 농도를 보였다. 반면에 월동 후 3월경이 되면 단백질 농도는 급격히 낮아졌다. 수분 함량 및 엽록소 함량의 변화는 월동 전·후에 매우 낮았다. 다윈의 조건이 裸地인 회천에서 단백질의 농도가 가장 높았으며 잡목사이에서 생육하는 천은사에서 가장 낮은 농도를 보였다(그림 5-1 & 5-2). 결빙방지단백질은 식물체가 저온에 순화될 때에 세포간극에 서서히 축적되어 순화가 완성될 때에 최대농도를 보이다가 월동 후 기온이 상승하면, 단백질 농도는 낮아져 식물체의 내동성과 밀접한 관계가 있을 것으로 추측된다.

시기별로 차나무의 잎에서 추출한 apoplast 단백질을 전기영동 및 immunoblotting한 결과(그림 5-3), anti-GLP antisera에서 2개(39-, 32-kD)가, anti-CLP antisera에서 1~2개(39-, 32-kD)가, anti-TLP antisera에서 1개(25-kD)의 polypeptides가 검출되었다. 추출 시기별로 band의 농도의 차이는 있었으나 지역(자생 재래종)간에 차이가 없었다. 또한 차잎에서 추출한 apoplastic 단백질의 활성도를 측정한 결과는 표 5-2 및 그림 5-4에서 보는 바와 같다. 차잎에서 추출한 단백질의 농도는 $144\sim172 \mu\text{g/ml}$ 이었고, 40분간 농축한 경우에는 $275\sim317 \mu\text{g/ml}$ 로 1.8~1.9배로 증가되었으나 이 단백질의

활성은 거의 없었다. 동보리1호(내한성이 강함)는 비농축구에서 272 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 활성은 극히 높았다. 그러나 차잎의 경우는 antifreeze proteins (AFPs)가 동정되었으나 농축한 경우에도 AFPs활성이 없어서 맥류와 다른 결과를 보였다. 자연상태에서 겨울철에 비록 AFPs의 농도가 낮았지만 계절적으로 변화를 보였으며 전기영동과 immunoblotting에서 polypeptides가 검출되어 차나무의 내동성에 관계가 깊을 것으로 추측되었으나, AFPs의 활성이 없어서 그러한 추측은 회의적이다. 따라서 상록수인 차잎의 내동성에 관여되는 요인에 대한 연구는 다각적으로 검토되어야 한다고 생각된다.

Table 5-1. Variation of antifreeze protein concentration, fresh leaf weight, moisture and chlorophyll content of tea leaves in the different sites and dates.

Site	Sampled date	Protein concen. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Fresh leaf wt. (g)	Protein amount ($\mu\text{g}/\text{gFW}$)	Moisture content (%)	Chlorophyll content (SPAD)
Gure Cheoneunsa	1998-11-11	15.0	11.7	1.53	-	52.4
	11-25	42.2	18.0	6.39	63.3	57.4
	12-14	62.7	20.7	7.23	56.3	61.7
	1999-1-05	81.7	23.0	8.62	57.4	54.7
	2-23	45.6	20.5	5.78	60.1	53.5
	3-09	24.7	20.8	3.51	56.0	62.1
	3-23	18.2	20.0	2.64	55.3	52.7
	4-08	12.3	19.2	1.80	52.4	55.0
	4-21	7.0	16.7	0.84	69.8	-
	Mean	34.4	19.0	4.30	58.8	56.2
CV(%)	74.1	17.2	65.30	19.4	6.9	
Damyang Keumseong	1998-11-11	18.9	14.5	1.81	-	55.1
	11-25	49.3	19.9	6.64	64.0	58.3
	12-14	72.5	21.6	6.29	59.1	60.5
	1999-1-05	106.2	23.3	14.52	55.9	58.9
	2-23	53.1	22.9	7.66	57.6	54.2
	3-09	43.4	21.1	6.37	60.5	57.3
	3-23	39.1	16.7	7.74	55.6	56.5
	4-08	29.5	22.0	4.02	55.5	55.2
	4-21	22.5	16.7	3.71	68.2	-
	Mean	48.3	19.9	6.50	59.6	57.0
CV(%)	56.5	15.8	55.40	7.6	3.8	
Bosung Daewonsa	1998-11-11	45.0	9.2	8.03	-	65.2
	11-25	69.9	20.1	8.67	57.9	69.6
	12-14	85.8	22.5	8.85	56.7	64.5
	1999-1-05	109.0	25.1	10.13	54.5	61.8
	2-23	60.0	20.5	8.20	55.9	61.6
	3-09	42.4	21.1	5.63	56.6	57.4
	3-23	34.3	21.0	5.39	49.1	60.3
	4-08	22.0	21.3	3.45	54.4	51.8
	4-21	13.9	16.8	2.00	70.4	-
	Mean	53.6	19.7	6.71	57.0	59.3
CV(%)	57.3	22.9	40.70	9.4	7.7	

(Table 5-1 continues)

Site	Sampled date	Protein concn. ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	Fresh leaf wt. (g)	Protein amount ($\mu\text{g}/\text{gFW}$)	Moisture content (%)	Chlorophyll content (SPAD)
Bosung Hoechun	1998-11-11	46.6	8.4	1.66	-	69.0
	11-25	89.5	16.0	8.90	59.1	73.9
	12-14	94.9	25.6	9.66	56.8	72.9
	1999-1-05	147.2	25.1	11.67	55.7	75.2
	2-23	65.3	23.1	10.33	53.9	70.6
	3-09	54.2	20.6	4.47	54.7	69.8
	3-23	42.9	20.0	3.97	52.1	71.1
	4-08	39.7	20.8	3.62	52.9	70.4
	4-21	later sprouting			-	-
	Mean	72.5	19.9	6.79	55.0	71.6
CV(%)	50.5	28.1	55.30	4.4	3.0	

** $Y = 0.041 + 1.865X(R^2 = 0.994^{**})$; Linear regression equation for BSA standard, Y; absorbance(A530 nm) X; protein concentration($\mu\text{g}/\text{m}\ell$).

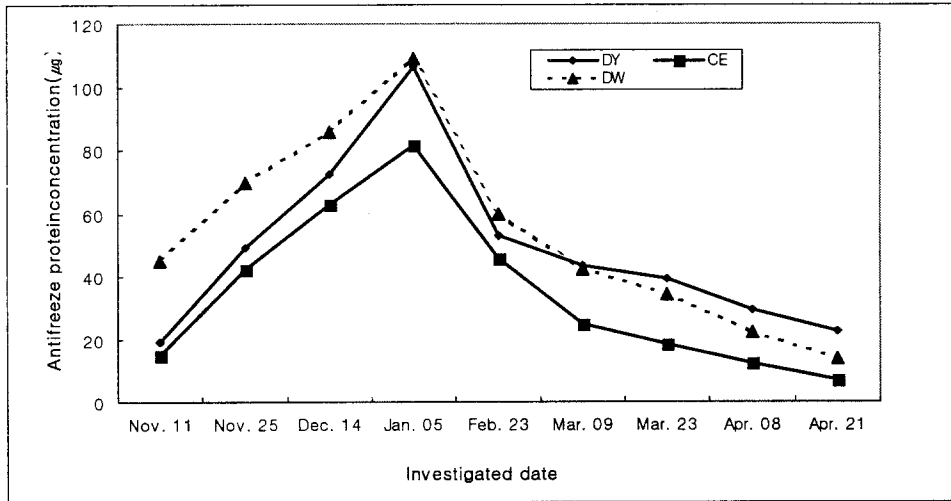


Figure 5-1. Seasonal change of antifreeze protein concentrations in three native teas in 1998-1999. DY: Damyang, CE: Cheoneunsa, DW: Daewonsa

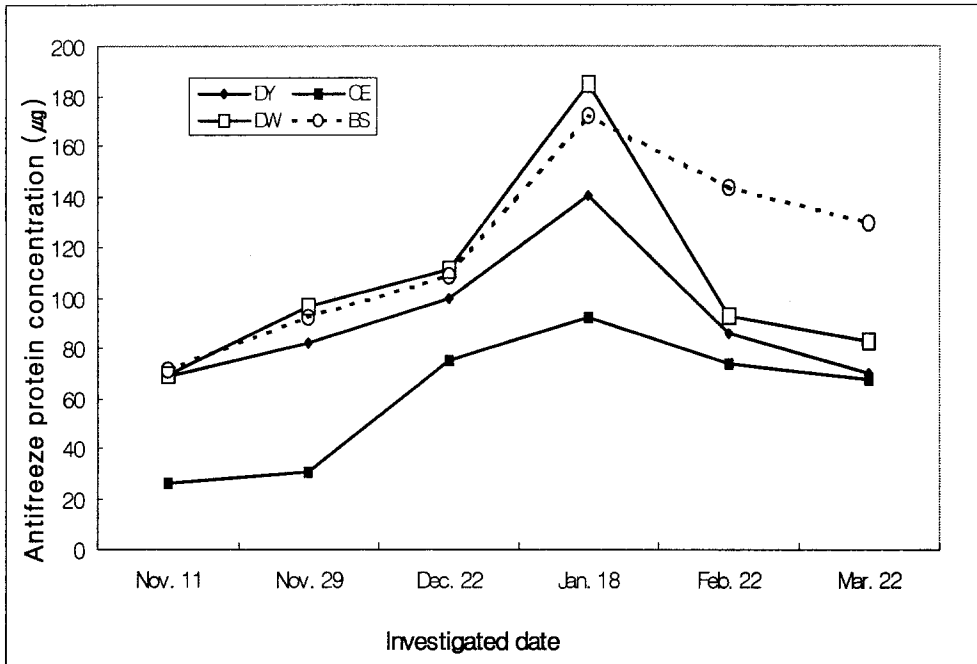


Figure 5-2. Seasonal change of antifreeze protein concentrations in four native teas in 1999-2000. DY: Damyang, CE: Cheoneunsa, DW: Daewonsa, BS: Bosung Tea Experimental Station.

Table 5-2. Comparison of antifreeze protein activities between tea and barley.

Crpos	Variety	Site	Sampled date	AFPs Concen. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	AFPs Concen. Concentrated ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	AFPs activity
Tea	Native	Damyang	Jan.18	0.144	0.275	-
Tea	Native	Daewonsa	Jan.18	0.172	0.317	-
Barley	Dongbori 1	Sunchon	Dec.28	0.272	-	+++

AFPs: Antifreeze proteins, - : no activity(0), +++ : very high activity(5). Concentrated : vacuum centrifuge about 40 min under low temperature.

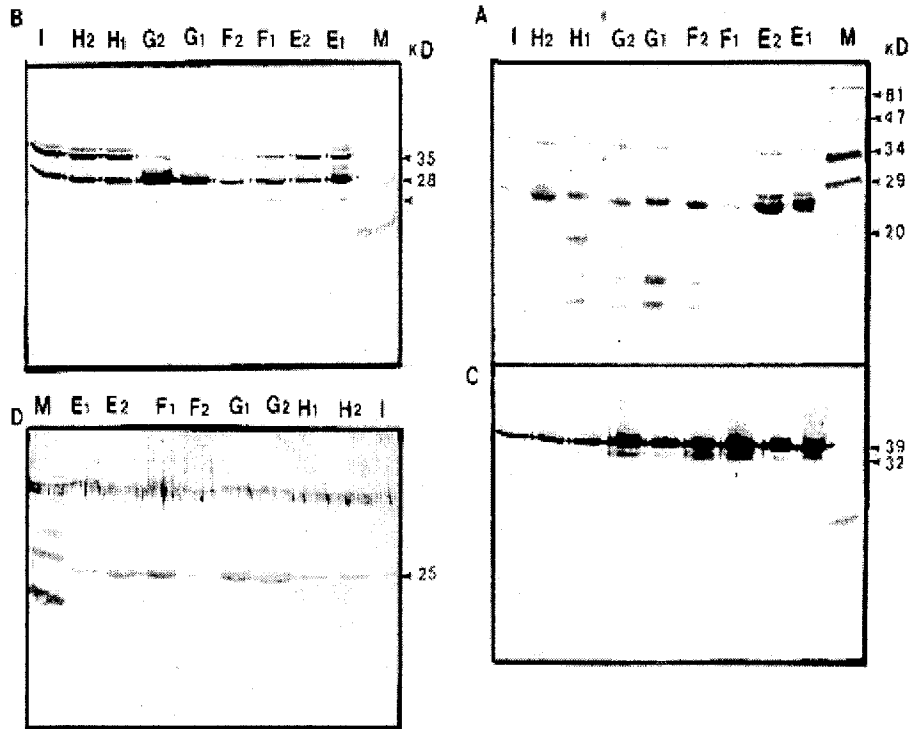


Figure 5-3. Accumulation of apoplastic polypeptides and immuno-detection of antifreeze proteins in native tea leaves sampled from different sites and dates. A: polypeptides were separated from an equal volume($30\mu\text{l}$) of each apoplastic extract in a SDS-polyacrylamide gel stained with Coomassie brilliant blue. B: Immunoblot of apoplastic extracts probed with anti-GLP antiserum. C: Immunoblot of apoplastic extracts probed with anti-CLP antiserum. D: Immunoblot of apoplastic extracts probed with anti-TLP antiserum. M: Prestained protein standard; E1: 14 Dec. Hyanglymsa, E2: 5 Jan. Hyanglymsa, F1: 14 Dec. Cheoneunsa, F2: 5 Jan. Cheoneunsa, G1:14 Dec. Damyang, G2: 5 Jan. Damyang, H1: 14 Dec.Hoecheon, H2: 5 Jan. Hoecheon, I: 14 Dec. Daewonsa.

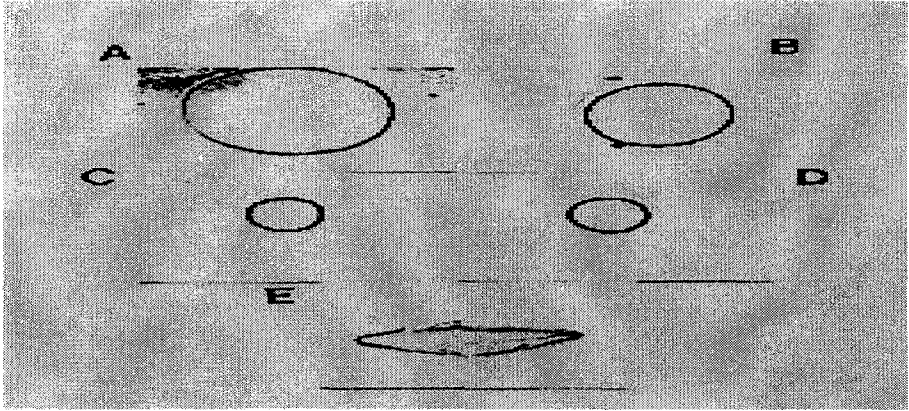


Figure 5-4. AFPs activities in tea and barley leaves. A: AFPs of nonconcentrated tea leaves in Daewonsa, B: AFPs of nonconcentrated tea leaves in Damyang, C: AFPs of concentrated tea leaves in Daewonsa, D: AFPs of concentrated tea leaves in Damyang, E: AFPs from Dongbori 1 cold-accumulated.

2. 내동성의 변이성

지역별 경시적인 TTC 환원액의 흡광도 및 F_v/F_m 값은 그림 5-5, 5-6, 5-7, 5-8과 같다. 동결처리(2시간) 온도가 낮아질수록 TTC 환원액의 흡광도 및 F_v/F_m 값은 크게 낮아졌다. 월동 중에는 식물조직의 동사온도는 담양, 천은사의 것은 $-22 \sim -24^\circ\text{C}$ 전·후 이었고, 월동 후에는 -5°C 로 추정되며(그림 5-5, 5-6), 대원사 및 시험장의 것은 이들 온도보다 각각 $1 \sim 2^\circ\text{C}$ 가 더 낮은 온도에서 동사하였다. F_v/F_m ratio(LT_{50})에 의한 조직의 동사온도는 TTC 환원액의 흡광도에 비해서 다소 높게 나타났다.

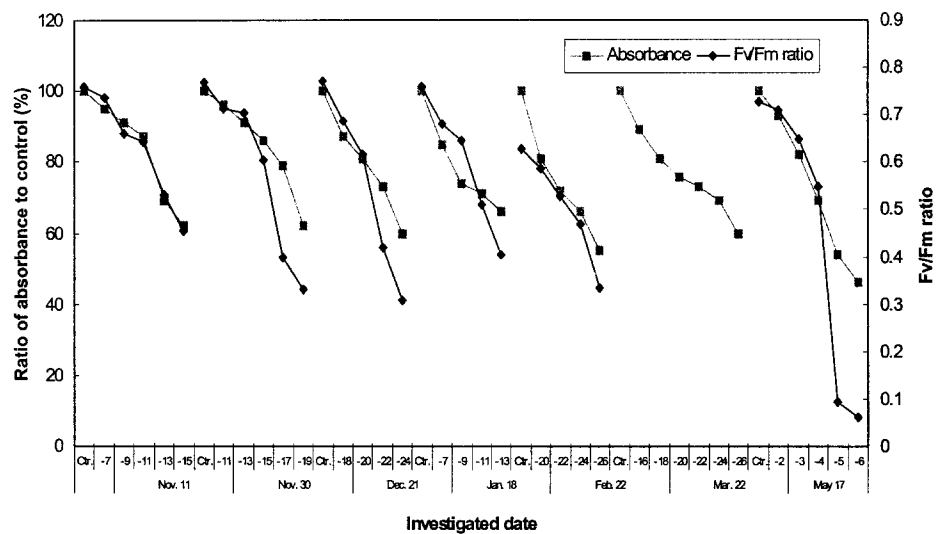


Figure 5-5. Changes in relative ratios of absorbance to the control and Fv/Fm ratios vs time for native tea leaves treated with different low temperatures in Damyang.

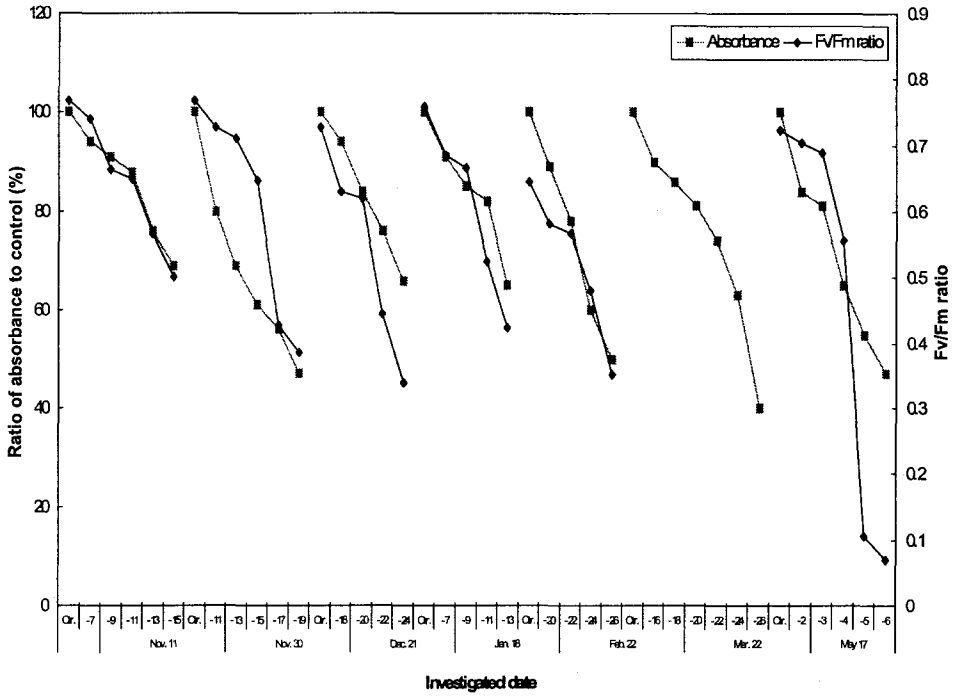


Figure 5-6. Changes in relative ratios of absorbance to the control and Fv/Fm ratios vs time for native tea leaves treated with different low temperatures in Cheoneunsa.

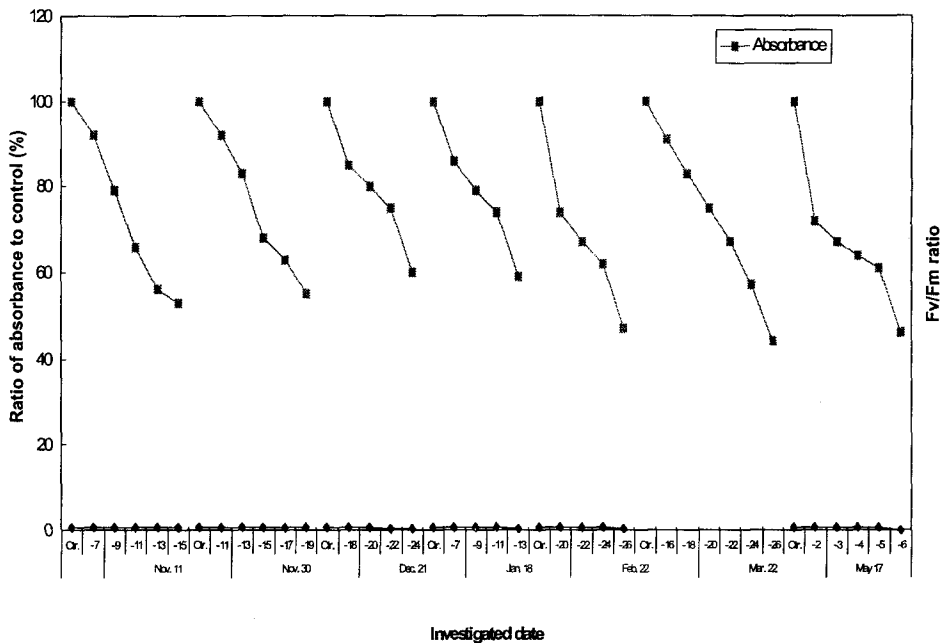


Figure 5-7. Changes in relative ratios of absorbance to the control vs time for native tea leaves treated with different low temperatures in Daewonsa.

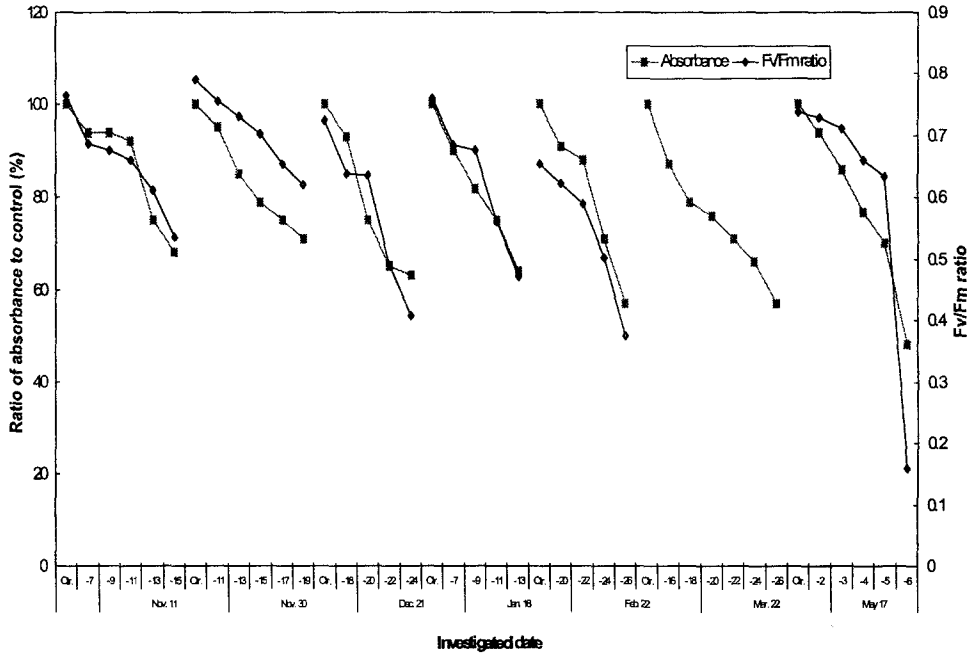


Figure 5-8. Changes in relative ratios of absorbance to the control and Fv/Fm ratios vs time for native tea leaves treated with different low temperatures in Bosung Tea Experimental Station.

제 4절 결론

차잎에서 결빙방지단백질의 농도는 계절적 변화를 보이고, immunoblotting에서 3종류의 단백질이 검출되었으나 활성이 없었다. 차나무의 내동성에 대한 AFPs의 역할은 회의적이므로 당의 함량이나 기타 요인에 대한 연구가 필요하다.

제 6 장 품질특성 간이검정법 개발

제 1절 서론

차는 차나무의 어린순이나 잎을 원료로 가공해 만든 기호음료로써 품종, 생산지, 계절, 製茶法, 형태, 풍미 등에 따라 수많은 이름이 존재하며 이들을 정확히 분류하기란 쉬운 일이 아닐 뿐 아니라 그 분류 기준 또한 다양하다. 차의 품질은 채엽 시기가 빠를수록 양호하며 또 동일 채엽 시기의 경우에도 비교적 초기의 어린 잎이 후기의 경화된 잎보다 양호하다(原, 1999; 박, 1997; 박 등, 1997). 채엽 시기나 채엽 부위, 차엽의 성숙도에 따라 품질을 좌우하는 화학성분의 차이가 있다. 차의 독특한 맛의 주성분 중 주로 쓴맛과 떫은맛은 카테킨류에 기인하지만 카페인과 사포닌도 쓴맛에 약간 영향을 주며 감칠맛과 단맛, 신맛 등은 주로 아미노산류에 기인한다. 아미노산류에 비해 적게 들어 있는 핵산물질과 설탕, 포도당, 과당 등의 당류도 감칠맛과 단맛을 내는 데 관여한다(大石, 1988; 박 등, 1995; 김, 1996; 최 등, 1997). 차 품평회를 할 때 과학적으로 근거가 되는 성분의 유무나 함량에 의해 차의 품질을 결정할 수 있다면 매우 바람직할 것이나, 품질을 판정할 때는 차의 외관, 색깔, 향기, 찻물색 및 맛 등을 官能審査 및 일반성분분석으로 종합하여 정한다. 따라서 성숙도에 따른 차엽의 성분차이를 구명하는 방법으로 기존의 성분분석방법(池ヶ谷賢 등, 1990)은 시간과 노력, 분석자의 분석능력에 따라 분석결과간 차이가 인정되며, 최종적으로 분석시약에 의한 오염물질이 발생하게 된다. 그래서 최근에 近赤外線을 이용하여 分子振動에 의한 구조해석 및 분석방법으로 근적외분광 분석기를 활용하는 분야가 점점 확대되고 있는 추세이다. 근적외분광분석방법의 장점을 보면 화학약품이 필요 없고, 시료조제가 간단하여 다량의 시료를 신속하게 분석하는 것이 가능하며, 시료의 반복사용으로 재현성 있는 분석과 동시

다성분 분석을 실시간 현장에서 분석이 가능하여 생산성을 높일 수 있다. 그러므로 이런 장점을 살려 차산업 관련분야에서 근적외분광분석법은 차 생육 시기별 합리적인 비배관리와 지역별 생엽 특성 파악 및 현장으로 사항을 신속하게 해결할 수 있게 할 뿐만 아니라, 차 우량품종 육성을 위한 유전자원 및 초기세대의 생엽 특성조사 등에 대한 객관적인 품질평가방법으로 官能審査 및 일반성분 분석에 대치될 수 있을 것이다.

제 2절 연구 방법

시험재료 : 본 실험에 사용된 시료는 차시험장 다윈 및 유전자원 수집포, 그리고 제다업체별 다윈에서 묵은 잎(old leaf)은 2000년 2월 28일~3월 3일까지 40점을 채엽하였고, 첫물차는 4월 30일~5월 13일까지 38점, 두물차는 6월 19일~6월 28일까지 24점, 세물차는 8월 8일~8월 18일까지 13점을 각각 0.2~0.3 kg씩 채취 한 후 70℃에서 열풍 건조시켜 분쇄기로 분쇄 후 40 mesh체에 통과시켜 밀봉 냉장 보관하여 분석시료로 사용하였다(표 6-1).

Table 6-1. Lines, sites and dates of tea leaves sampled.

Classification	No. of lines	Site	Date
Old leaf	40	18	Feb. 28~Mar. 3
First harvested leaf	38	12	Apr. 30~May 13
Second harvested leaf	24	11	June 19~June 28
Third harvested leaf	13	8	Aug. 8~Aug. 18
Total	115	49	

일반성분분석: Total nitrogen은 비색법(Indophenol-bule method; 김, 1988; 池ヶ谷賢 등, 1990)에 따라 시험관에 혼합시약(alkaline phenolate 50 ml + Na-nitroprusside 100 ml + 4% EDTA 5 ml) 3 ml와 시료액 1 ml(시료액이 산성일 때 10배 정도 희석)을 넣어 37℃ 항온조에서 5분간 항온 후 혼합시약(phosphate buffer 200 ml + Na-hypochlorite 50 ml) 5 ml를 가한 후 잘 흔들어 주었다. 그 후 20분간 실온에서 발색시켜 665 nm에서 흡광도를 측정하고 표준물질로 (NH₄)₂SO₄를 사용하였고, 총질소 함량은 표준곡선에서 얻은 ppm수×희석배수 = 시료의 ppm수의 식으로 계산하였다. Amino acid는 차 공정분석법(池ヶ谷賢 등, 1990)에 따라 100 ml volumetric flask에 분말시료 0.1g과 80℃ 熱水 70~80 ml 을 가해 80℃ 항온수조에서 30분간 가온 후 放冷하여 여과지(Whatman No. 2)로 신속히 여과하였다. 여액에 polyvinylpoly-pyrrolidone(PVPP) 300 mg을 가해 진탕하여 30분간 放置後 여과하여 분석용액으로 사용하였다. 차의 분석법(池ヶ谷賢 등, 1990)에 따라 20 ml test tube에 시료용액 1 ml + ninhydrin 0.5 ml 를 가해 잘 혼합한 후 80℃ 항온수조에서 30분간 가온한 후 신속히 냉각하여 희석액(isoprophylalcohol : H₂O = 1:1)을 5 ml 가해 잘 흔들어 준 후 570 nm의 흡광도에서 측정하였다. 표준용액으로 glutamic acid를 사용했고 이때 amino acid량은 glutamic acid를 이용해 검량선을 작성한 후 환산하였다. Tannin은 시료 분말 0.1 g과 80℃ 열수 70 ml을 mess flask에 넣고 80℃ 항온수조에서 30분간 가온 추출하였다. 放冷 후 100 ml로 定容하여 여과하였다. 이때 최초 20 ml를 버리고 20 ml 이후의 여액을 측정용 시료 용액으로 사용하였다. 차 분석법(池ヶ谷賢 등, 1990)에 따라 이렇게 조제된 여액 5 ml와 주석산철시약 (FeSO₄·7H₂O 100mg + Rochelle salt 500 mg/100 ml H₂O) 5 ml를 25 ml volumetric flask에 넣고 pH 7.5로 조절된 phosphate buffer solution(0.066M Na₂HPO₄ · 2H₂O + 0.066M KH₂PO₄/1 l)으로 定容하여 발색시킨 후 spectrophotometer(Milton Roy Spectronic 3000)로 540 nm에서 흡광도를 측

정하고, ethyl gallate(Wako Chemical Industries, Japan)로 표준곡선을 구해서 tannin함량 (%) = $G \times 1.5 \times 100 / W$ (G = 시료용액 흡광도에 대한 ethyl gallate량, W = 시료여액 100 ml의 건물중(mg))식으로 계산하였다. Caffeine은 차분말 0.2 g과 80℃ 물 70 ml를 mess flask에 넣고 80℃ 항온수조에서 30분간 가온 抽出한 후 放冷하여 100 ml로 定容하여 여과하였다. 차 공정분석법(池ヶ谷賢 등, 1990)에 따라 여과 여액을 0.45 μ m membrane filter에 통과시켜 HPLC 분석을 위한 여액으로 사용하였고, 이때 HPLC 분석조건은 detector는 UV detector (Jasco LC-900, Japan)를, column은 Finepak SIL C₁₈S(I.D. 4.6×150 mm)를 사용했고, 이동상은 methanol : H₂O = 25 : 75(v/v, %)를, 측정파장은 260nm, column 온도는 35℃로 하였다. Caffeine 함량(%)은 = $A \text{ mg} / \text{시료중량(mg)} \times 100 \times \text{무수물 환산계수}$ (A :검량선에 의한 100 ml중의 caffeine중량, 무수물 환산계수 : $100 / (100 - \text{수분}\%)$) 식으로 계산하였다.

근적외분광분석: 모든 시료는 근적외분광광도계(NIR spectrophotometer, Model 6500, Foss NIRsystems, U.S.A)로 측정하였고, 근적외분광분석 스펙트럼 측정은 400~2500 nm범위에서 분쇄된 시료 약 5 g을 standard sample cup에 넣어 실온에서 scanning한 후 얻은 스펙트럼을 standard normal variance와 detrend로 粒度차이에서 오는 적난을 보정하였으며, 각 성분의 중첩에서 기인하는 오차를 최소화하기 위해 1차 미분으로 스펙트럼을 처리하여 데이터 분석 및 각각의 성분에 대한 검량식을 작성하고 이를 미지의 시료에 적용하여 그 결과를 얻었다. 실험치와 NIR 데이터의 통계적인 모집단 분포의 해석과 그 상관관계에 의한 통계분석은 Infracsoft International Software WINISI I (Ver. 1.04)로 사용 계산하였다. NIR 영역에서는 각 성분의 흡수가 서로 중첩되기 때문에 다른 성분의 영향을 고려해야 한다. 그러기 위해서는 수처리방법, 산란효과 보정, 기준선 변위를 최소화(미분법), 통계처리에 의한 중회귀 분석 등을 사용하여 검량식을 작성하였다. 다음에 미지의 sample에 대한 일상

분석(prediction)을 실시하여 매우 간단하고 신속하게 분석결과를 얻을 수 있었다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 채엽시기별 차엽 일반성분 분석

가. 총질소 함량 : 총질소는 차의 맛에 관여하며, 차의 품질, 차잎의 硬化度와 높은 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다(大石, 1988; 池ヶ谷賢, 1988; 後藤, 1992; 김, 1996; 최 등, 1997; 박, 1997). 총질소 함량은 묵은 잎(old leaf)의 경우 범위가 1.62~4.14%로 평균 2.66%, 첫물차에서는 범위가 2.92~5.53%로 평균 4.80%, 두물차는 범위가 2.88~5.34%로 평균 3.92% , 세물차는 범위가 2.27~3.59%로 평균 2.99%이었다. 총질소 함량은 시기별로 총괄하여 보면 첫물차의 평균함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순위로 채엽시기가 늦어질 수록 감소하는 경향이었다(표 6-2). 총질소 함량은 묵은 잎에서 계통, 채엽시기 및 장소간에 변이성이 다소 크게 나타났고, 첫물차에서는 계통, 채엽시기, 장소간에 변이성이 적었다.

나. 총아미노산 함량 : 아미노산은 차의 감칠맛을 나타내는 성분으로 카페인의 쓴맛, 카데친의 떫은맛과 더불어 차의 맛을 형성하며, 차의 飲用時 부드러운 맛과 정의 상관관계를 가지고 있다고 한다(大石, 1988; 池ヶ谷賢, 1988; 김, 1996; 최 등, 1997; 박, 1997). 총아미노산 함량은 묵은 잎(old leaf)의 경우 범위가 531~861 mg/100g로 평균 699 mg/100g이었으며, 첫물차에서는 범위가 750~2,930 mg /100g로 평균 1,723 mg/100g, 두물차는 범위가 230~2,020 mg/100g로 평균 1,003 mg/100g, 세물차에서는 범위가 747~1,014 mg/100g로 평균 836 mg/100g였다. 총아미노산 함량은 시기별로 총괄하여 보면 첫물차의 평균함량이 가장 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순위로 채엽시기가 늦어질수록 감소하는 경향이었다(표 6-2). 총아미노산 함량은 두

물차에서 변이성이 가장 크고, 묵은 잎에서는 가장 작았다. 따라서 성분이 다양한 것들을 얻기 위해서는 6월 중·하순에 채엽하는 것이 적당하다고 생각된다.

다. 탄닌 함량 : 탄닌은 차 맛을 좌우하는 성분의 일부분으로 색 및 향에 깊이 관여하는 중요 성분으로 지나치게 많은 양이 함유되면 감칠맛이 적고, 쓰고 떫은맛이 강해 風味가 떨어진다고 한다(大石, 1988; 池ヶ谷賢, 1988; 김, 1996; 최 등, 1997; 박, 1997). 탄닌 함량은 묵은 잎(old leaf)의 경우 범위가 2.99~8.62%로 평균 5.41%, 첫물차에서는 범위가 8.74~18.92%로 평균 13.54%, 두물차는 범위가 5.12~18.22%로 평균 10.00%, 세물차는 범위가 6.80~9.93%로 평균 7.81%이었다. 탄닌 함량은 시기별로 총괄해 보면 첫물차의 평균 함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순위로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였다(표 6-2). 탄닌 함량은 6월 중·하순에 채취한 잎에서 변이가 컸으며, 세물차 잎에서 가장 적었다.

라. 카페인 함량 : 카페인은 재배조건, 차잎 따는 시기 그리고 분석방법 등에 따라 차이가 큰 것으로 보고되고 있다. 카페인은 차를 상징하는 중요 성분으로 상쾌한 쓴맛을 내는데 생체 내에서 각성, 이뇨, 강심, 혈관 확대, 기억력 증진 등의 작용을 한다(大石, 1988; 池ヶ谷賢, 1988; 김, 1996; 최 등, 1997; 박, 1997; 박 등, 1997). 더욱이 차잎 중에는 커피에 함유되어 있지 않는 카테킨과 데아닌이라는 성분에 의해 caffeine 흡수가 저해되고 생리적 작용이 억제되기 때문에 커피와 같은 부작용이 적은 것도 차만이 갖는 특징이라 할 수 있다. 카페인 함량은 묵은 잎의 경우 범위가 0.21~1.66%로 평균 0.78%, 첫물차에서는 범위가 2.61~4.14%로 평균 3.21%, 두물차는 범위가 0.99~3.76%로 평균 2.80%, 세물차는 범위가 1.56~3.29%로 평균 2.45%이었다. 카페인 함량은 시기별로 총괄해 보면 첫물차에서 평균함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순으로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였

다(표 6-2).

이상의 차잎 성분분석 결과로 보아 차의 품질에 영향을 주는 중요한 성분 중 총질소 함량을 보면 첫물차의 평균함량은 4.80%로 가장 높게 나타났고, 두물차는 3.92%, 세물차는 2.99%, 목은 잎은 2.66% 순으로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였다. 또한 변이성은 목은 잎에서 18.30%로 가장 높았고, 두물차는 16.74%, 세물차는 14.50%, 첫물차는 10.45%순으로 나타났다. 이것은 채엽 시기가 빠를수록 각각의 성분분석 결과간 차이가 크지 않다는 것을 알 수 있다. 총아미노산 함량은 첫물차의 평균함량은 1,723 mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 두물차는 1,003 mg/100g, 세물차는 836 mg/100g, 목은 잎은 699 mg/100g순으로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였다. 또한 변이성은 두물차에서 45.54%로 가장 높았고, 첫물차는 34.22%, 세물차는 16.78%, 목은 잎은 12.90%순으로 나타났으며, 목은 잎에서 가장 낮은 것으로 보면 성분변화가 안정되어 있는 것으로 판단된다.

탄닌 함량은 첫물차의 평균함량은 13.54%로 가장 높았고, 두물차는 10.0%, 세물차는 7.81%, 목은 잎은 5.41%순으로, 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였다. 또한 변이성은 두물차가 31.22%로 가장 높았다. 카페인 함량은 첫물차의 평균함량은 3.21%로 가장 높았고, 두물차는 2.80%, 세물차는 2.45%, 목은 잎은 0.78%순으로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향이였다. 또한 변이성은 목은 잎에서 42.29%로 가장 높았고, 세물차는 20.10%, 두물차는 19.03%, 첫물차는 13.0%으로 첫물차에서 가장 낮게 나타난 것은 시료간 성분함량의 차이가 크지 않다는 것을 알 수 있다.

2. 근적외분광광도계에 의한 차엽 성분분석

가. 채엽 시기 및 품종별 차엽의 NIR 스펙트럼

그림 6-1에서 보는 바와 같이 400 nm에서 2500 nm 대역의 스펙트럼을 얻

었다. 가시광 대역인 400 nm에서 700 nm는 주로 색도와 관련된 영역으로 향후 색차계에 의해 brightness L, green/brown A, yellow/blue B값과 연관지어 색도를 분석하는데 유용할 것이다. 700 nm에서 2500 nm의 대역은 근적외 영역으로서 흡광도의 차이가 큰 것은 일반 화학성분의 變位보다도 입도 및 물성의 변위에 기인하는 기준선의 변동이 더 심하기 때문에 2500 nm 대역으로 갈수록 이 변위가 심화되는 것은 다중산란(multiplicative scatter)현상에 의해 흡광도가 증가하기 때문이다. 따라서 이러한 요인들을 제거하기 위해 미분 및 회귀분석 등이 이용된다. 근적외분광분석법을 이용하여 일반적으로 스펙트럼을 얻게 되면 입도 등 物性에 의한 차이 때문에 흡광도의 변위가 크므로 우리가 얻고자 하는 화학성분의 변위를 잘 파악 할 수가 없다.

이들 스펙트럼의 변화를 같은 흡광도 수준에서 상호 비교하기 위하여 기본 스펙트럼을 1차 미분한 결과는 그림 6-2와 같다. 이와 같이 1차 미분하여 산란 보정 및 수처리를 하게 되면 더 확연한 분리로 원치 않은 기준선의 변위를 최소화함으로써 데이터 해석에 정확도를 기할 수가 있다. 그림 6-2에서 보면 1900nm 부근에서 가장 큰 peak가 나타나고, 1970~2400 nm 부근에서 2차적인 peak가 나타남을 관찰할 수 있어, 이러한 파장대역에서 차의 주요성분을 측정할 수 있음을 판단할 수 있었다.

Table 6-2. The means, ranges, standard deviations and CVs in the total nitrogen, amino acids, tannin and caffeine of tea leaves with laboratory analyses.

Sampled date		Component				Remark
		Total nitrogen (%)	Amino acid (mg/100g)	Tannin (%)	Caffeine (%)	
Old leaf (Feb. ~ Mar.)	Mean	2.66	699	5.41	0.78	n=40
	Range	1.62~4.14	531~861	2.99~8.62	0.21~1.66	
	SD	0.49	90.21	1.44	0.33	
	CV	18.30	12.90	26.70	42.29	
First harvested (Apr. ~May)	Mean	4.80	1723	13.54	3.21	n=38
	Range	2.92~5.53	750~2930	8.74~18.92	2.61~4.14	
	SD	0.50	589.70	2.81	0.42	
	CV	10.45	34.22	20.78	13.00	
Second harvested (June)	Mean	3.92	1003	10.00	2.80	n=24
	Range	2.88~5.34	230~2020	5.12~18.22	0.99~3.76	
	SD	0.66	456.89	3.13	0.53	
	CV	16.74	45.54	31.32	19.03	
Third harvested (Aug. ~Sep.)	Mean	2.99	836	7.81	2.45	n=13
	Range	2.27~3.59	747~1014	6.80~9.93	1.56~3.29	
	SD	0.43	140.24	0.98	0.49	
	CV	14.50	16.78	12.55	20.10	
Total	Mean	3.66	1117	9.32	2.19	n=115
	Range	1.62~5.53	230~2930	2.99~18.92	0.21~4.14	
	SD	1.06	596.18	4.13	1.14	
	CV	28.96	53.37	44.31	52.05	

* SD: standard deviation, CV: coefficient of variation, n: sample number

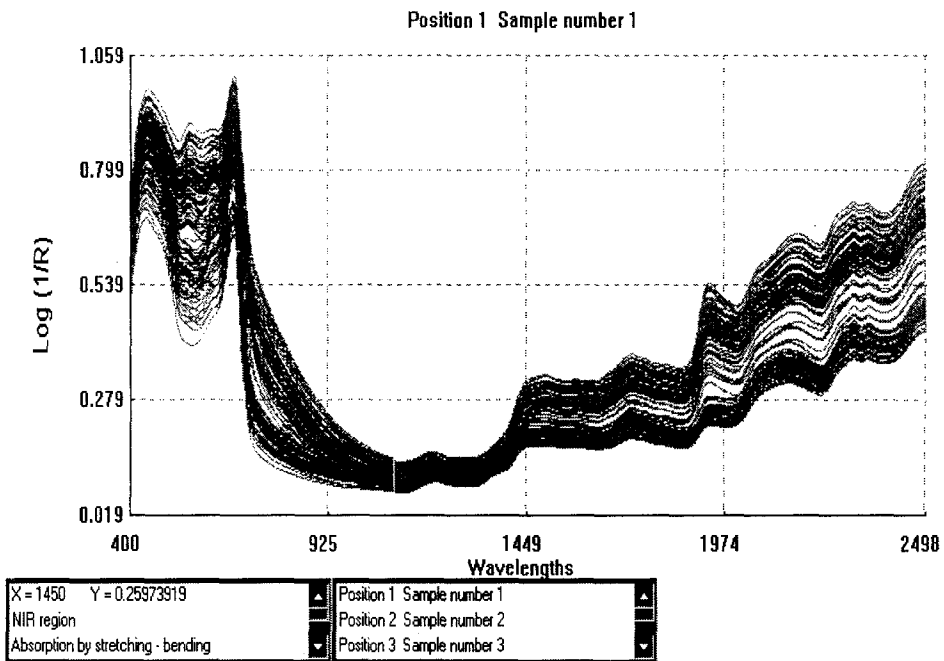


Figure 6-1. Absorbance spectra of tea leaf powder sampled from different lines, sites and dates(n=115).

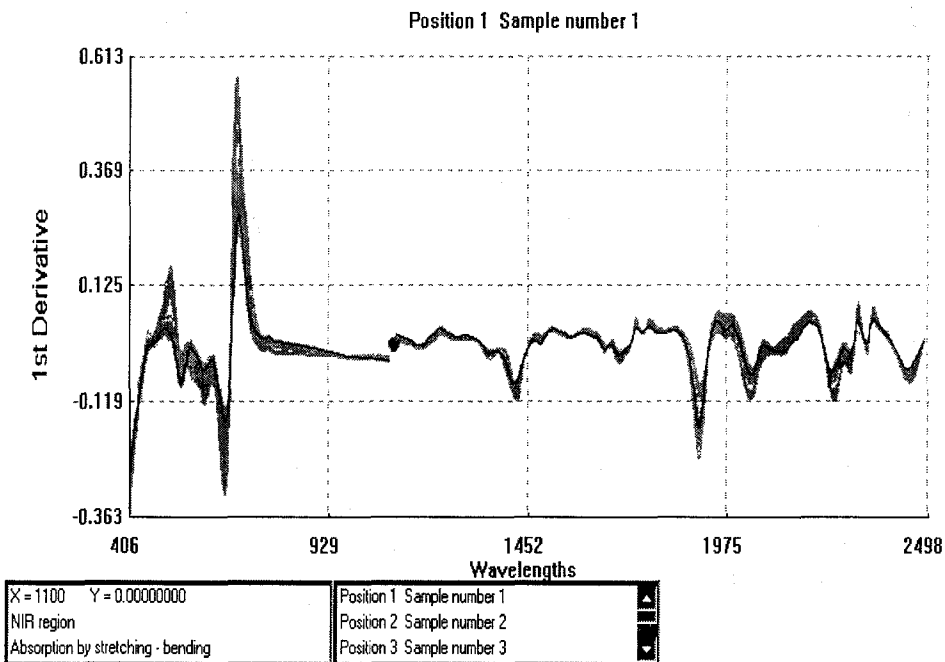


Figure 6-2. The first derivative absorbance spectra in tea leaf powder(n=115).

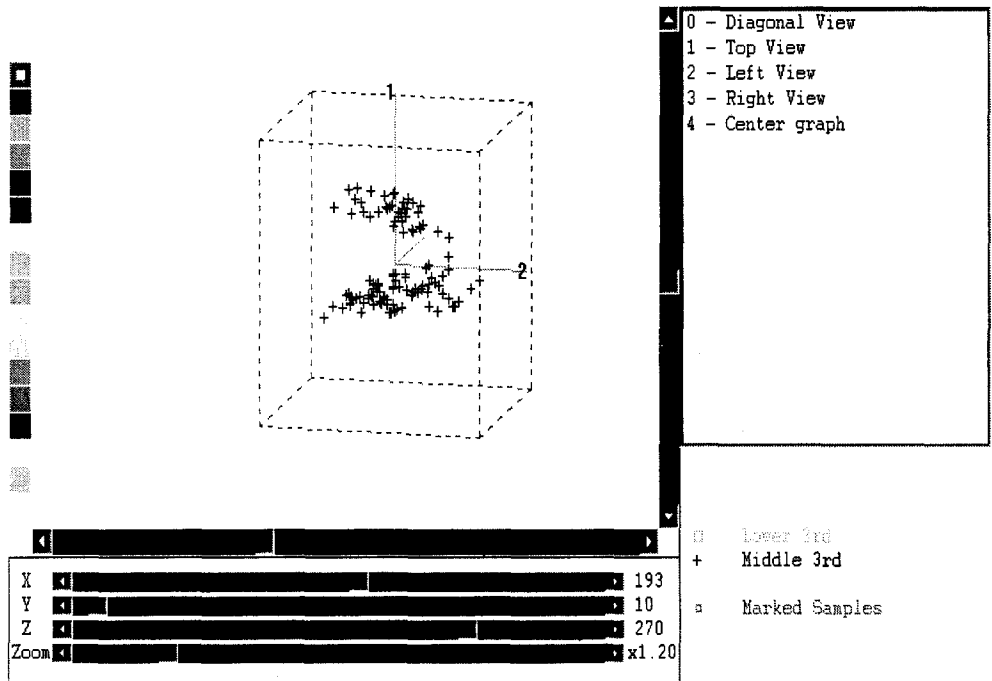


Figure 6-3. Three dimensional display with 3 major principal component analyses in tea leaf powder(n=115).

위에서 얻어진 스펙트럼을 이용하여 115점의 시료를 기본요소분석(principal component analysis)을 수행하여 각 기본요소를 중심으로의 거리(Maharanobis distance)를 구해 모집단을 분석한 결과, 그림 6-3과 같은 모집단 분포의 3차원 圖式을 얻을 수 있었다. 여기에서 각 축 1, 2, 3 은 주성분을 나타내 크게 두 부분으로 분류되는 모집단 분포를 보여주는데 이러한 분포의 특이성은 차생육시기에서 유래되는 차이 및 여러 가지 다양한 가능성을 시사하고 있다. 각 집단별로 살펴보면 중앙에 군집이 형성된 것을 알 수가 있고 이러한 정규분포

의 양상은 자연계에서 흔하게 나타나는 대표적인 시료군의 형태로서 스펙트럼의 차이만을 가지고 모집단의 분포를 나타낸 것이 기존 분석 방법으로 분석한 결과의 실험치 분포 그림과 비교할 때 거의 일치함을 볼 수가 있다. 본 그림에서 2개의 군집으로 sample이 구분이 되는 데 이것은 채엽시기에 따른 표본 및 粒度의 차이에 기인된 것으로 생각된다.

나. 근적외분광분석법에 의한 검량식 유도

근적외분광분석법을 이용하여 검량선을 작성하기 위해서는 고른 분포를 갖는 시료군이 필요하나 자연에 존재하는 시료는 이를 인위적으로 조작 할 수가 없어 장기간에 걸쳐 꾸준히 다양한 표본을 확보해야 할 필요성이 있으며 이렇게 되면 넓은 범위의 검량선을 작성할 수 있다. 각 성분별 작성된 검량식을 살펴보면 대체로 기존의 분석방법에 의존하여 유도되므로 그 정확도 및 오차도 이에 준하여 결과를 얻었다.

1) 총질소 함량

그림 6-4는 검량선 작성시 총질소 함량의 일반 성분분석법에 의한 분석치와 NIRs에서 도출 해낸 분석치와의 상관관계를 나타낸 것이다. 총질소 함량은 총 표본수 115중 檢量式 작성에 이용된 것은 112개였고, 검량식의 평균은 3.65%, 검량식 표준오차(SEC)는 0.253, 검량식확인 표준오차(SECV)는 0.268, 검정시 상관계수(1-VR)는 0.94로 검량식에서 측정 정확도가 높았다. 두 분석치 간의 결정계수(R^2)가 0.94로 검량식 작성이 매우 적당하였다(표 6-3).

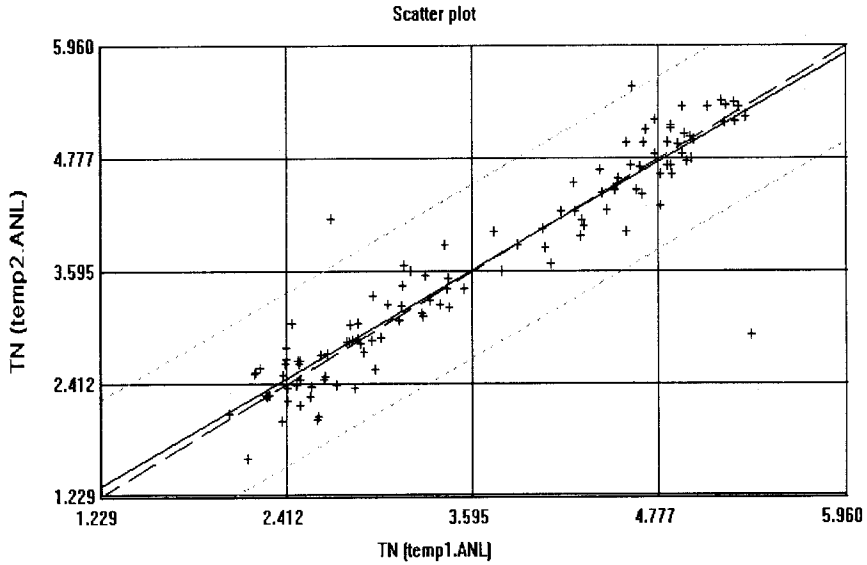


Figure 6-4. Relationship between predicted total-nitrogen(TN) contents acquired by NIRs and lab. analyses in tea leaf powder.

Goto(1992)는 차엽성분 총질소 함량의 분석결과, 중상관계수(R) 및 표준오차는 0.988과 0.139%로 높았으며, Sada 등(1993)은 차잎을 분말로 만들지 않고 그대로 분석원료로 하여 NIRs 검정을 수행한 결과, 총질소 함량에서 높은 상관관을 보여($r = 0.961^{**}$) 분석시간을 절약할 수 있다고 하였다. 또한 Ikegaya 등(1998)은 NIR 분광계를 이용하여 sencha와 maccha의 총질소를 분석하여 매우 높은 결정계수를 (sencha에서 0.982, maccha에서 0.959) 보여 분석의 신뢰성이 높았으며, 본 연구결과도 대체로 비슷하였다.

2) 총아미노산 함량

그림 6-5는 검량선 작성시 아미노산 함량의 일반 성분분석치와 NIRs 분석치와의 상관관계를 나타낸 것이다. 총아미노산 함량은 총표본수 115개중 108개를 검량

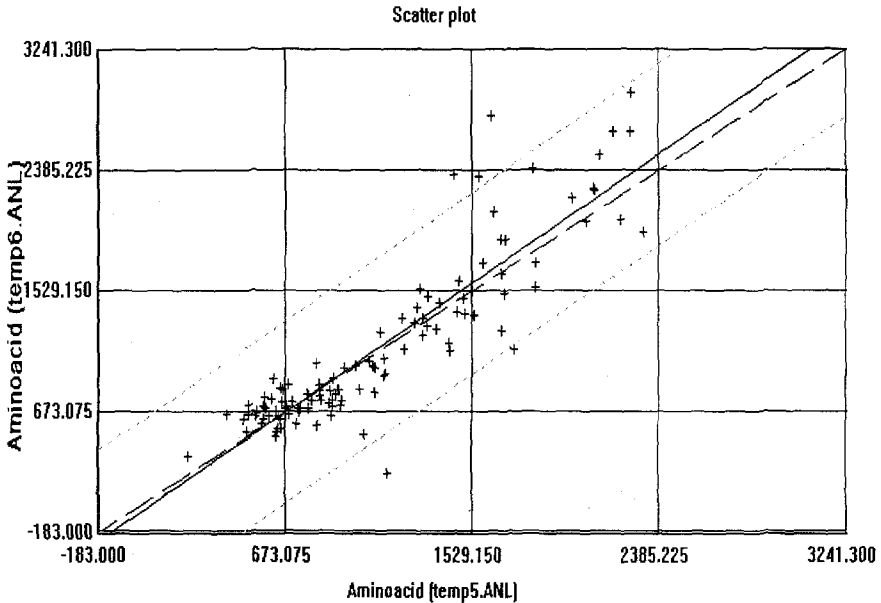


Figure 6-5. Relationship between predicted total amino acid contents acquired by NIRs and lab. analyses in tea leaf powder.

식 작성에 이용하였고, 검량식의 평균은 1058.05, 검량식 표준오차는 180.87, 검량식 확인 표준오차는 244.52, 검정시 상관계수는 0.80으로 검량식에서 측정 정확도가 높게 나타났다. 두 분석치간의 결정계수가 0.88로 검량식 작성이 매우 적당하였다(표 6-3). 다른 성분에 비해서 변이가 다소 크게 나타났으며, 시료가 묵은 엽의 경우에는 시료간 변이의 폭이 매우 적었다(CV = 12.9 %, 표 6-2). 앞으로 총아미노산 함량이 높은 시료를 채취하여 보완하면 결정계수(R^2)를 크게 높일 수가 있을 것이다. Ikegaya 등(1998)은 NIRs 분광계를 이용하여 sencha와 maccha의 총아미노산을 분석하여 매우 높은 결정계수를(sencha에서 0.947, maccha에서 0.904) 보여 분석의 신뢰성이 높았으며, 본 연구결과도 대체로 비슷하였다.

3) 탄닌 함량

그림 6-6은 검량선 작성시 탄닌 함량의 일반 성분분석법에 의한 분석치와 NIRs에서 도출 해낸 분석치와의 상관관계를 나타낸 것이다. 탄닌 함량은 총표본수 115개 중 112개를 검량식 작성에 사용하였으며, 검량식의 평균은 9.25, 검량식 표준오차는 0.994, 검량식 확인 표준오차는 1.202, 검량식 상관계수는 0.91로 검량식에서 높은 측정 정확도를 나타냈다. 두 분석치간의 결정계수가 0.94로 검량식 작성이 매우 적당하였다(표 6-3). Ikegaya 등(1998)은 NIRs 분광계를 이용하여 sencha와 maccha의 탄닌를 분석하여 매우 높은 결정계수를 (sencha에서 0.852, maccha에서 0.938) 보여 분석의 신뢰성이 높았으며, 본 연구결과도 대체로 비슷하였다.

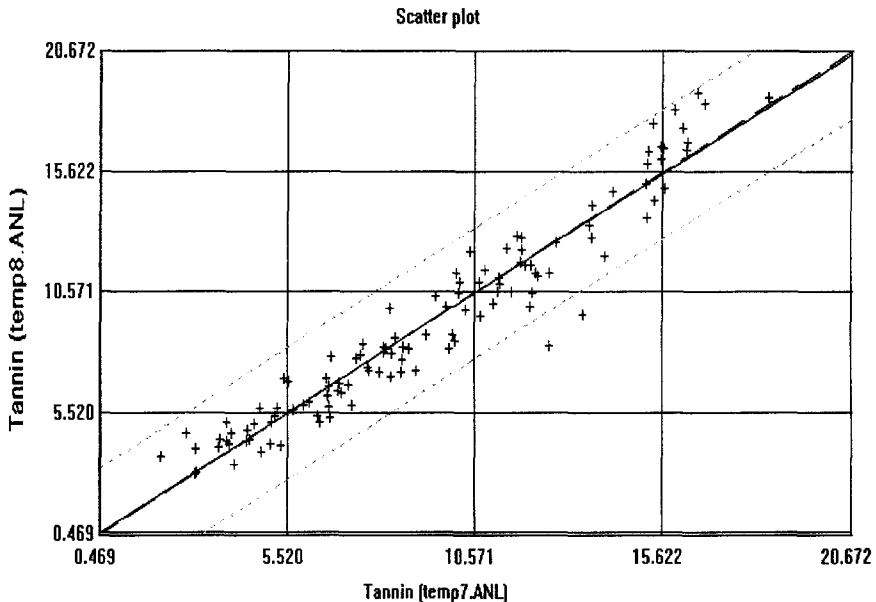


Figure 6-6. Relationship between predicted tannin contents acquired by NIRs and lab. analyses in tea leaf powder.

4) 카페인 함량

그림 6-7은 검량선 작성시 카페인 함량의 일반 성분분석법에 의한 분석치와 NIRs에서 도출 해낸 분석치와의 상관관계를 나타낸 것이다. 카페인 함량은 총 표본수 115개 중 114개를 사용하였으며, 검량식의 평균은 2.20, 검량식 표준 오차는 0.144, 검량식 확인 표준오차는 0.204, 검량식 상관계수는 0.97로 검량식에서 다른 성분에 비해 가장 높은 측정 정확도를 나타냈다.

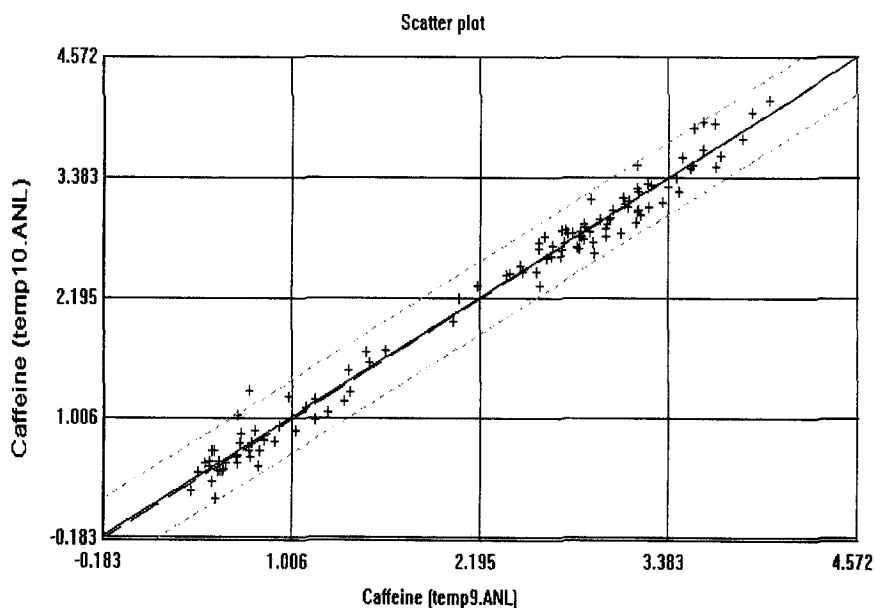


Figure 6-7. Relationship between predicted caffeine contents acquired by NIRs and lab. analyses in tea leaf powder.

두 분석치 간의 결정계수가 0.98로 검량식 작성이 매우 적당하였다(표 6-3). Ikegaya 등(1998)은 NIRs 분광계를 이용하여 sencha와 maccha의 카페인을 분석하여 매우 높은 결정계수를 (sencha에서 0.912, maccha에서 0.919) 보여 분석의 신뢰성이 높았으며, 본 연구결과도 대체로 비슷하였다. 본 연구에서 분

석한 4개의 성분 중 카페인 함량은 목은 잎과 신엽간의 차이가 현저하여 목은 잎에서 극히 낮았으며, 총아미노산 함량도 목은 잎에서 매우 낮은 편으로 분포되어 있었다.

Table 6-3. Comparison of equation statistics for the prediction of four variables in tea leaves using WINISI program.

Variable	N	Mean	SEC	R ²	SECV	1-VR	Math Treatment
Total-nitrogen(%)	112	3.65	0.253	0.94	0.268	0.94	1, 4, 4, 1
Amino acid (mg/100g)	108	1058.05	180.87	0.88	244.52	0.80	"
Tannin(%)	112	9.25	0.994	0.94	1.202	0.91	"
Caffeine(%)	114	2.20	0.144	0.98	0.204	0.97	"

N: sample numbers, SEC: standard error of calibration, SECV: standard error of cross validation, 1-VR: percentage of variation in the reference method values explained by NIRs, R²: coefficient of determination of calibration.

다. NIRs에 의한 차엽 성분분석

1) 총질소 함량

총질소 함량은 목은 잎의 경우 범위가 2.05~3.20%로 평균 2.60%, 첫물차에서는 범위가 3.73~5.36%로 평균 4.80%, 두물차는 범위가 2.49~5.20%로 평균 3.95%, 세물차는 범위가 2.28~3.78로 평균 3.06%이었다. 총질소 함량은 시기 별로 총괄하여 보면 첫물차의 평균함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 목은 잎 순위로 채엽 시기가 늦어질 수록 감소하여 일반성분분석 결과와 같은 경향으로 나타났다(표 6-4).

2) 총아미노산 함량

총아미노산 함량은 묵은 잎의 경우 범위가 391~1,052 mg/100g로 평균 693 mg/100g이었으며, 첫물차에서는 범위가 844~2,365 mg/100g로 평균 1,654 mg/100g, 두물차는 범위가 299~2,264 mg/100g로 평균 1,133 mg/100g, 세물차에서는 범위가 393~1,240 mg/100g로 평균 843 mg/100g였다. 총아미노산 함량은 시기별로 총괄하여 보면 첫물차의 평균함량이 가장 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순위로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하여, 일반성분분석 결과와 같은 경향으로 나타났다(표 6-4).

3) 탄닌 함량

탄닌 함량은 묵은 잎(old leaf)의 경우 범위가 2.51~9.07%로 평균 5.42%, 첫물차에서는 범위가 9.43~18.40%로 평균 13.46%, 두물차는 범위가 4.64~16.27%로 평균 9.86%, 세물차는 범위가 5.38~12.53%로 평균 8.27%이었다. 탄닌 함량은 시기별로 총괄해 보면 첫물차의 평균함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순위로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하여, 일반성분분석 결과와 같은 경향으로 나타났다(표 6-4).

4) 카페인 함량

카페인 함량은 묵은 잎의 경우 범위가 0.36~1.47%로 평균 0.76%, 첫물차에서는 범위가 2.65~4.01%로 평균 3.29%, 두물차는 범위가 1.15~3.85%로 평균 2.83%, 세물차는 범위가 1.49~3.38%로 평균 2.44%였다. 카페인 함량은 시기별로 총괄해 보면 첫물차에서 평균함량이 높고, 다음이 두물차, 세물차, 묵은 잎 순으로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하여, 일반성분분석 결과와 같은 경향으로 나타났다(표 6-4).

Hara(1994)에 의하면 시중의 녹차의 가격이 총질소 및 아미노산 함량과 상관성이 있으며, 이 두 특성이 차의 품질을 판단하는 좋은 지표라 하였고 첫물차와 두물차의 구별도 탄닌, 카페인 및 아미노산에 의한 구별이 가능하다고 하였

으며, Horie 등(1992)은 일본 녹차에서 관능검사와 NIRs 검정을 비교한 결과 총질소 함량과 아미노산만 다소 높은 상관을 보였다($r=0.553^{**}$, 0.553^{**}). 본 결과에서 수확 시기별로 총질소, 아미노산 함량 및 탄닌의 성분 차이가 컸다. 또한 일반분석치와 NIRs 분석치와도 매우 높은 상관을 보였다. Sada 등(1993)은 차잎을 분말로 만들지 않고 그대로 분석원료로 하여 NIRs 검정을 수행한 결과 수분 및 총질소 함량은 높은 상관을 보여($r = 0.934^{**}$, 0.961^{**}), 분석시간을 절약할 수 있다고 하였다. 또한 Ikegaya 등(1998)은 NIRs 분광계를 이용하여 sencha와 maccha의 총질소, 카페인, 총아미노산, 데아닌 및 탄닌을 분석하였으며, 이들 성분은 매우 높은 결정계수(R^2)를 (sencha에서 0.832~0.982, maccha에서 0.902~0.959) 보여 분석의 신뢰성이 높았으며, 본 연구결과와도 대체로 비슷하였다. 다만 본 결과에서 총아미노산이 약간 낮았으나($R^2 = 0.88^*$), Ikegaya 등의 결과는 sencha에서 탄닌 함량이 낮았다 ($R^2 = 0.832^{**}$). 그러나 maccha에서는 데아닌($R^2 = 0.902^{**}$)과 총아미노산 ($R^2 = 0.904^{**}$)은 이 약간 높았다. 본 연구결과도 총질소, 총아미노산, 탄닌, 카페인에 대한 분석결과가 상관성이 매우 높아 품질관련 성분에 대한 간이검정 방법으로 매우 좋은 방법으로 생각된다.

Table 6-4. The means, ranges, standard deviations and CVs in the total nitrogen, amino acid, tannin and caffeine of tea leaves with NIRs analyses.

Sample date	Component				Remark	
	Total nitrogen (%)	Amino acid (mg/100g)	Tannin (%)	Caffeine (%)		
Old leaf (Feb. ~Mar.)	Mean	2.60	693	5.42	0.76	n=40
	Range	2.05~3.20	391~1052	2.51~9.07	0.36~1.47	
	SD	0.28	155.79	1.75	0.29	
	CV	10.59	22.48	32.37	38.11	
First harvested (Apr. ~May)	Mean	4.80	1654	13.46	3.29	n=38
	Range	3.73~5.36	844~2365	9.43~18.40	2.65~4.01	
	SD	0.34	429.41	2.21	0.33	
	CV	7.18	25.95	16.45	10.07	
Second harvested (June)	Mean	3.95	1133	9.86	2.83	n=24
	Range	2.49~5.20	299~2264	4.64~16.27	1.15~3.85	
	SD	0.70	482.35	2.69	0.23	
	CV	17.81	42.58	27.25	8.08	
Third harvested (Aug. ~Sep.)	Mean	3.06	843	8.27	2.44	n=13
	Range	2.28~3.78	393~1240	5.38~12.53	1.49~3.38	
	SD	0.47	209.10	2.17	0.55	
	CV	15.42	24.81	26.24	22.49	
Total	Mean	3.66	1119	9.32	2.18	n=115
	Range	2.05~5.36	299~2365	2.51~18.40	0.36~4.01	
	SD	1.04	536.45	3.98	1.14	
	CV	28.42	47.94	42.70	52.29	

* SD: standard deviation, CV: coefficient of variation, n: sample number

3. Germplasm과 교잡초기세대에서 우수계통 선발

보성차시험장의 유전자원포 및 자생 재래종포에서 월동 후 신엽의 내동성 및 품질 특성을 조사한 성적은 그림 6-8, 6-9, 6-10, 6-11, 6-12와 같다. 저

온(5℃)과 강한 광도에서 유기한 광합성의 광저해 현상을 기준으로 할 때(3시간 처리), 내동성이 중간정도인 Yabukita(F_v/F_m ratio = 0.209)에 비해서 광저해에 대한 耐性이 강한 계통이(F_v/F_m ratio > 0.400) 녹차 시험장의 경우 3계통(3/22), 강진 다산초당의 경우(F_v/F_m ratio > 0.300) 2계통(2/20), 대원사의 경우(F_v/F_m ratio > 0.400) 1계통(1/20), 순천대 포장의 경우(F_v/F_m ratio > 0.400) 1계통이 선발될 수 있었다(그림 6-8). 조직 내동성은 F_v/F_m 값과 고도의 정의 상관을 갖기 때문에 chlorophyll fluorescence를 이용하여 쉽게 내동성 인자를 검정, 선발이 가능하다고 생각된다.

교잡후기세대 및 수집종을 NIRs에 의한 품질검정 결과는 그림 6-9, 6-10, 6-11, 6-12와 같으며, 유전포 및 교잡후기세대 중 Yabukita(caffeine : 2.64%, 총아미노산 2,695 mg/100g, theanine 1,108mg/100g, catechin 12.1%, 그림 6-9, 6-10) 보다 우수한 계통이 많았으며, 또한 유전자원포에서도 Yabukita(caffeine : 2.54%, 총아미노산 2,766 mg/100g, theanine 1,268mg/100g, catechin 15.6%, 그림 6-9, 6-10)에 비하여 품질 특성이 우수한 계통이 많았다. 따라서 “야부기다” 보다 특히 우수한 품질을 가진 계통을 선발할 수 있어 고품질 녹차의 육성 가능성이 크다고 생각이 된다.

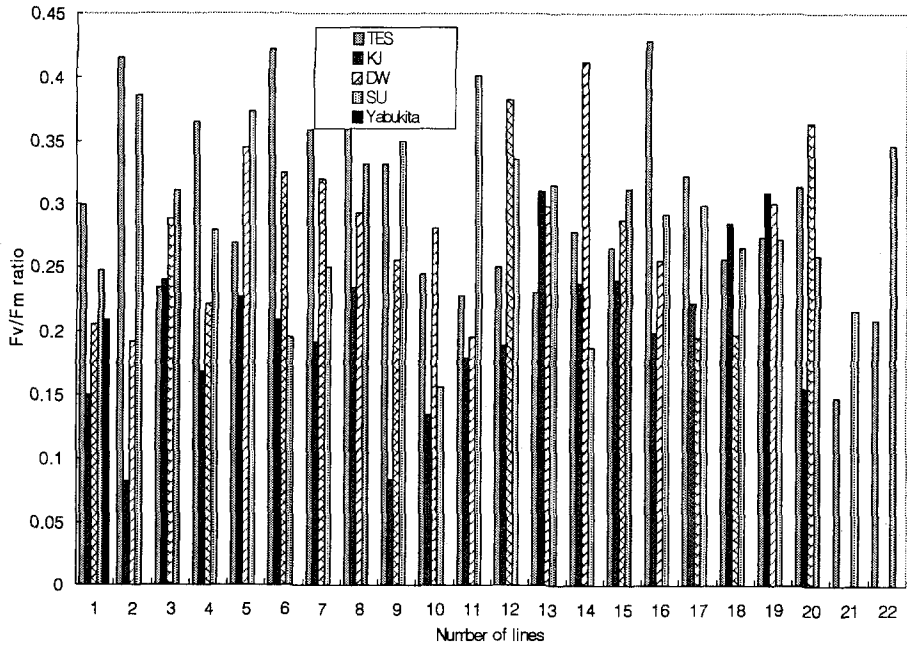


Figure 6-8. F_v/F_m ratios photoinhibited for 3hr sampled from 3 different sites in tea native land races. TES : Bosung Tea Experiment Station, KJ : Kangjin, DW : Daewonsa, SU : Sunchon Univ. farm.

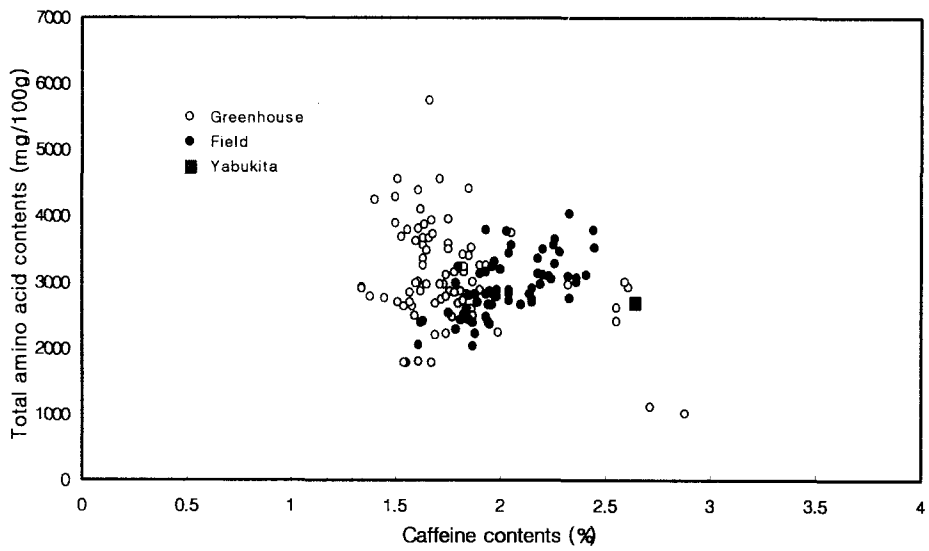


Figure 6-9. Distribution of hybrids and collected tea germplasm according to contents of total amino acid and caffeine grown at field and greenhouse in Bosung Tea Experiment Station.

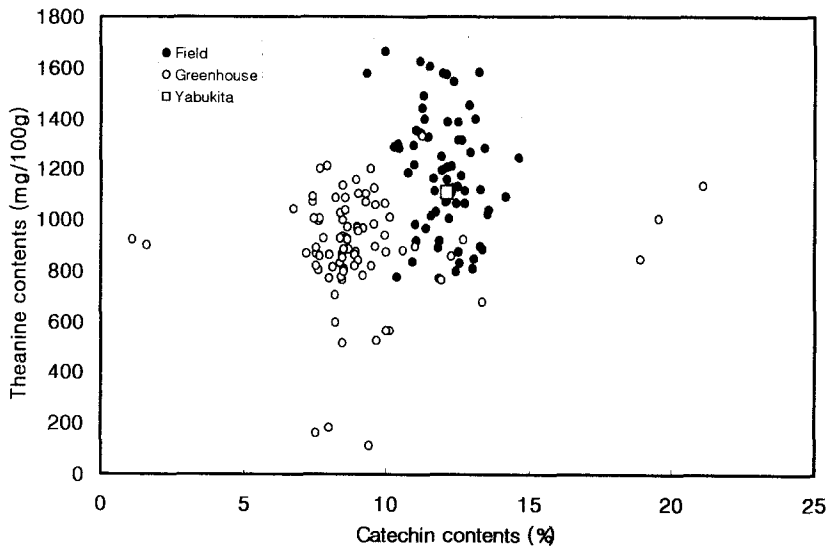


Figure 6-10. Distribution of hybrids and collected tea germplams according to contents of theanine and catechin grown at field and greenhouse in Bosung Tea Experiment Station.

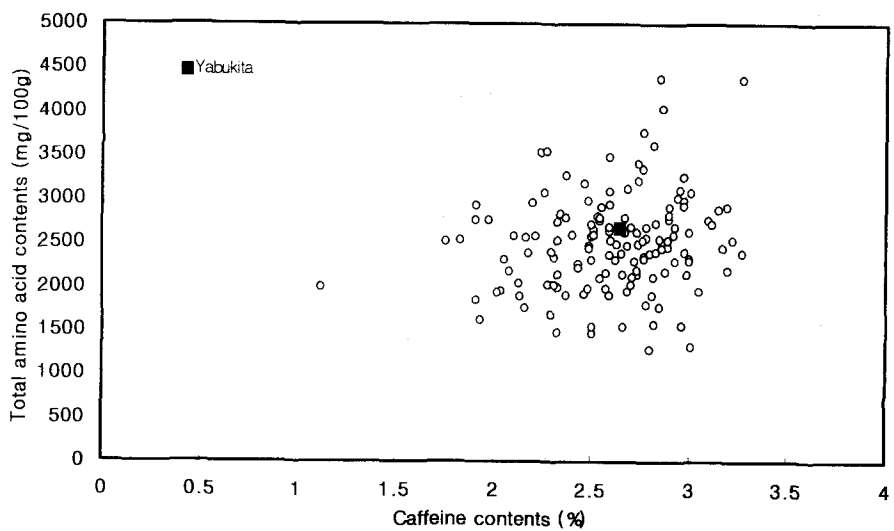


Figure 6-11. Distribution of tea germplasms according to contents of total amino acid and caffeine grown at field in Bosung Tea Experiment Station.

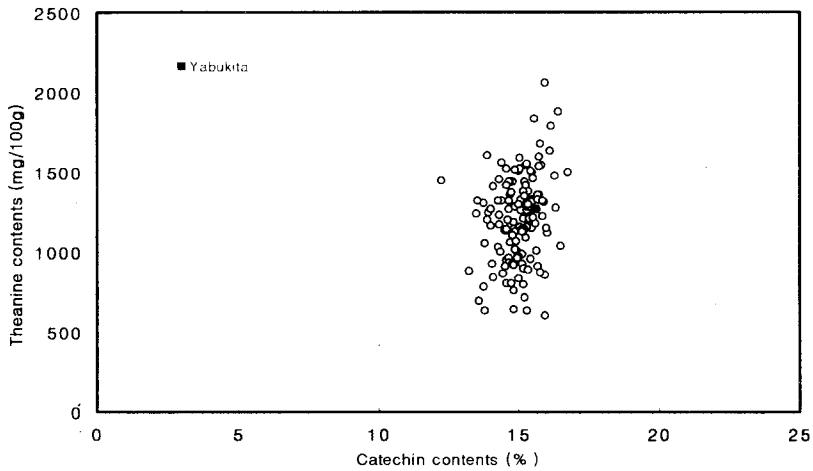


Figure 6-12. Distribution of tea germplasm according to contents of theanine and catechin grown at field and greenhouse in Bosung Tea Experiment Station.

제 4절 결 론

차잎 일반성분분석 결과에서 총질소 함량은 목은 잎의 경우 1.62~4.14%범위로 평균 2.66%, 첫물차는 2.92~5.53%범위로 평균 4.80%, 두물차는 2.88~5.34%범위로 평균 2.99%, 세물차는 2.27~3.59%범위로 평균 2.99% 각각 나타났으며, 채엽 시기가 늦어질 수록 감소하는 경향이였다. 총아미노산 함량은 목은 잎의 경우 531~861 mg/100g범위로 평균 699 mg /100g, 첫물차는 750~2930 mg/100g범위로 평균 1723 mg/100g, 두물차는 230~ 2,20 mg/100g 범위로 평균 1,003 mg/100g, 세물차는 747~1,014 mg/100g 범위로 평균 836 mg /100g로 각각 결과를 보여, 첫물차

의 평균함량이 가장 높게 나타났다. 탄닌 함량은 묵은 잎의 경우 2.99~8.62%범위로 평균 5.41%, 첫물차는 8.74~18.92%범위로 평균 13.54%, 두물차는 5.12~18.22%범위로 평균 10.00%, 세물차는 6.80~9.93%범위로 평균 7.81%로 각각 결과를 보였다. 카페인 함량은 묵은 잎의 경우 0.21~1.66%범위로 평균 0.78%, 첫물차는 2.61~4.14%범위로 평균 3.21%, 두물차는 0.99~3.76%범위로 평균 2.80%, 세물차는 1.56~3.29%범위로 평균 2.45%로 결과를 보였으며, 첫물차에서 평균함량이 높게 나타났다. 일반성분분석의 결과와 근적외분광분석기에 의한 측정치간의 상관에서 검량식 결정 계수(R^2)를 보면 카페인(0.98), 총질소(0.94), 탄닌(0.94), 총아미노산(0.88)의 순으로 높았고, 각 성분에서 높은 정의 상관이 인정되었다. 일반성분분석치와 NIRs분석치에 대한 검량식의 유도 결과, NIRs분석방법으로 총질소, 총아미노산, 탄닌, 카페인의 성분분석이 매우 높은 재현성 및 정밀도로 검량식을 얻어, 앞으로 유전자원 및 교잡초기 세대에서 많은 개체의 생엽 특성 파악 및 품질을 쉽고, 간단하게 동시 다성분 분석이 가능하다.

내동성이 중간정도인 Yabukita에 비해서 광저해에 대한 내성이 강한 계통이 차시험장의 경우 3계통, 강진 다산초당의 경우 2계통, 대원사의 경우 1계통, 순천대 포장의 경우 1계통이 선발될 수 있었다. NIRs에 의한 품질검정 결과 교잡후기세대 및 수집종, 유전자원포장에서 Yabukita 보다 품질 특성이 매우 우수한 계통이 많았다. 따라서 “야부기다” 보다 특히 우수한 품질을 가진 계통을 선발할 수 있었다. 우리나라 자생 재래종에는 내동성 및 고품질 특성을 가진 유전자원이 풍부하게 산재하여 있으므로 체계적인 조사, 검정 및 선발을 통하여 유용한 육종재료로 적극적으로 이용되어야 한다고 생각한다.

제 7 장 차재배에 적합한 시설재배 환경 분석

제1절 서론

작물을 재배하는데 있어서 환경적 요소는 온도, 광, 물, 가스, 토양을 들 수 있다. 이와같은 환경요소들은 노지재배에서는 조절이 불가능한 경우가 많으나 시설재배에서는 필요에 따라서 인위적 조절이 가능하다. 그러므로 차나무의 시설재배를 시도하기 위해서는 환경을 임의로 조절할 수 있는 시설의 설비가 필요하다. 그리고 차나무의 환경 적응에 대한 기본적인 정보를 확보하는 것이 무엇보다 중요한 사항이라고 할 수 있다. 상록수로 내한성이 약한 차나무는 한계온도가 연평균 기온 13℃이나 생육에 적합한 기온은 14~16℃라고 한다(大石千八, 1986). 시설재배에서는 조기 생산을 목적하기 위해서 가온을 실시하게 된다. 가온을 통해서 맹아를 유도하고 신초생장을 촉진하게 된다. 여기에서 언제부터 몇도가 맹아유도에 적합하고 신초생장에 적합한지, 그리고 어떤 가온 방법이 효율적인지 하는 보다 구체적인 정보가 필요하다. 시설재배에서 광량은 노지보다 부족하다. 그리고 옥로차라고 하여 고급차 생산을 목적하는 경우 일부러 차광을 하는 특수재배를 실시하기도 한다(김종태, 1996). 광합성의 정도가 차 생산물의 증감에 영향을 주므로 환경요인별로 광합성을 분석함으로써 실제 재배에 적용할 수 있을 것이다. 대기중에 0.3%정도 포함되어 있는 탄산가스는 차의 노지재배에서는 고려 항목이 되지 못하나 시설재배에서는 필요에 따라서 공급이 가능하므로 어느 정도 생장에 영향을 주는지 검토해 볼 필요가 있는 요소라고 할 수 있다. Ralph(1991)는 가온하느라고 밀폐된 하우스에서는 낮에 탄산가스 농도가 150ppm정도까지 떨어져 식물의 광합성에 절대량이 부족할 정도라고 보고하고 있다. 차나무는 한번 개원하게 되면 장기간 토양개량이 쉽지 않으므로 개원시에 적지선택을 하거나 토양개량을 실

시할 필요가 있다. 그만큼 토양의 선택이 중요함을 의미한다고 할 수 있다. 차의 생산물이 새순에 해당하는 신초가 되고 있으므로 질소의 사용이 높은 작물이라고 할 수 있다. 필요이상의 시비는 토양잔류로 토양을 오염시키는 요인이 되기도 한다. 하우스재배에서는 부족한 시비량을 보충하는 방법으로 엽면 시비를 효과적으로 시도할 수 있다.

이 연구는 주로 노지재배로 이루어지고 있는 차나무를 시설재배에 적응하기 위해서 필요한 환경조건에 대한 차나무의 반응을 기초자료로서 확보하고자 인공환경조절이 가능한 growth chamber와 광합성 측정기를 이용하여 실시하였다. 그리고 포장실험이 필요한 부분은 재배하우스를 이용하였다.

제2절 연구 방법

1. 지중가온 시설

지중가온은 온수가 지하에 설치된 파이프를 통하여 순환하면서 지온을 유지하도록 설치하였다. 285m²(12.5x22.8x4m)의 반자동화우스의 절반 면적에 50cm 깊이로 ϕ 13mm plastic 연질호스를 23cm 간격으로 Figure 7-1과 같이 설치하고 17000kcal 용량의 자동식 보일러로 온수를 강제 순환시키도록 하였다. 온도 변화를 6시간 간격으로 5곳에 설치한 온도계로 측정하였다. 이 때 자동보일러는 설정온도를 5℃와 10℃의 온도로 설정하여 가온을 실시하고, 지하 10cm, 20cm, 30cm, 40cm, 50cm의 지층별 지온과 기온, 그리고 외부 온도를 측정하여 온도변화를 비교 조사하였다.

2. 온도 변화에 따른 생장 반응

차나무가 맹아를 시작하는데 온도가 미치는 영향을 조사하기 위하여 1월15일에 온도처리별로 20분씩 삼수를 growth chamber에 넣고 액아의 맹아상태를

조사하였다. growth chamber의 조건은 20℃, 25℃, 30℃의 온도조건에 16시간 일장, 70% 상대습도, $400\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 광조건을 유지하도록 하였다. 조사는 일주일 간격으로 실시하였다.

자연 상태에서 시기별 신초신장에 대한 온도의 반응을 알아보기 위하여 12월 25일부터 10일 간격으로 10분씩 삼수를 채취하여 25℃ growth chamber에 넣고 맹아 상태를 조사하였다. 품종별 온도에 대한 반응을 알아 보기 위하여 Fushun, Meiryoku, Okumidori, Saemidori, Yabukita의 1년생 삼목묘를 20cm pot에 심어서 20℃, 25℃, 30℃ growth chamber에 넣고 일주일 간격으로 신초장, 엽장, 엽폭, 분지수 등을 조사하였다.

3. 환경요소 변화에 따른 광합성 반응

가. 광량 변화에 따른 광합성

광과장이 가시광선 영역에 들어가는 광양자가 단위시간당 단위 면적을 통과하는 수를 PPF(photosynthetic photon flux)라고 한다. 밀폐된 용기에 Yabukita 1년생 차나무의 pot 식물을 넣고 50 PPF에서 900 PPF에 걸쳐 6단계의 광량을 주어서 독일 Heinz Walz GmbH사의 Gas Exchange Measuring Station을 이용하여 CO₂량의 변화를 측정하므로 광합성율을 추정하였다.

나. 온도 변화에 따른 광합성

차나무의 생육온도 영역이라고 할 수 있는 15℃에서 35℃까지, 5℃간격으로 5치리구를 설정하여 각 밀폐된 용기에 차나무의 pot 식물을 넣고 Gas Exchange Measuring Station을 이용하여 광합성율을 측정하였다.

온도의 변화에 따른 호흡율의 반응을 보기 위하여 10℃에서 35℃까지 5℃간격으로 상승적으로 6단계의 온도를 설정하고 호흡율을 측정하였다.

다. 습도 변화에 따른 광합성

공중습도의 변화에 따른 광합성의 반응을 검토하기 위하여 공중습도 40%에

서 90%까지 변화를 주고 광합성율을 측정하였다.

라. 탄산가스 변화에 따른 광합성

탄산가스 농도가 광합성 증가에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 탄산가스를 200ppm에서 1300ppm까지 상승적으로 농도의 변화를 주면서 광합성율을 측정하였다.

마. 하우스 재배에서 각 품종의 광합성

수집된 차 품종의 하우스재배에서 광합성의 능률을 알아 보기 위하여 portable 광합성 측정기(ADC part PRD1026, UK)로 5월 12일부터 5월 20일 사이에 오전에는 9시부터 11시까지 오후는 3시부터 5시까지로 나누어 광합성을 측정하였다. 조사 품종은 Fushun, Meiryoku, Okumidori, Saemidori, Yabukita와 향림사 재래종으로 6개 품종이었다. 차광막 설치하의 광합성을 알아 보기 위하여 40% 차광막을 하우스위에 씌우고 측정하였다.

4. 토양조건에 따른 생장 반응

주로 토양의 물빠짐 정도에 대한 차나무의 반응을 검토하기 위하여 황토, 마사토, 질석, 황토+마사토(1:1), 황토+질석(1:1), 마사토+질석(1:1) 6가지의 토양을 구성하여 실험을 실시하였다. 비료는 N.P.K를 10a당 48kg, 16kg, 24kg, 퇴비 2000kg으로 계산하여 6g, 2g, 3g과 퇴비 250g을 공급하였다. 품종은 Yabukita로 2년생 삼목묘를 각각의 토양을 넣은 20cm 포트에 9주씩 심고 1번차의 신초장, 엽장, 엽폭, 생체중, 건물중을 측정하였다.

5. 질소의 시비방법에 따른 생장 반응

차 재배에서 질소비료의 시비량이 많은 점을 고려해서 주로 질소질 시비량에 관한 실험을 실시하였다. 하우스에 재식되어 있는 3년생 Yabukita 차나무에 질소량이 10a당 10kg, 30kg, 50kg, 70kg, 90kg, 110kg이 되도록 요소로 계

산하여 시비하고 신초 정지기에 신초장, 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중, 건물중을 측정하였다. 인산과 가리는 16kg/10a, 24kg/10a이 되도록 기비로 시비하였다. 시설재배에서는 엽면시기가 비교적 용이할 것을 고려하여 엽면시비에 필요한 양을 검토하기 위한 실험을 실시하였다. 토양에 재식되어 있는 2년생 유묘에 요소 0.5, 1, 1.5, 2, 3%액을 2일에 한번씩 4회 분무기로 잎 표면이 충분히 적시도록 살포하였다. 신초장, 엽수, 엽장, 엽폭, 생체중, 건물중을 측정하였다.

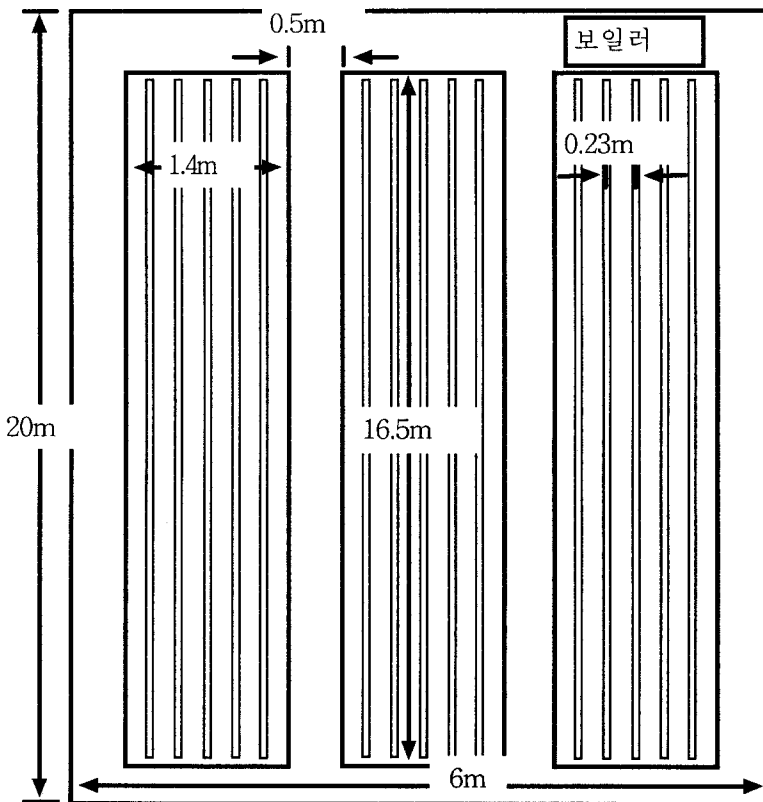


Figure 7-1. Schematic diagram of underground heating system in greenhouse.

제3절 연구결과 및 고찰

1. 지중가온 시설

시설재배에서는 지중가온이 일반적인 방법으로 많이 이용하고 있으나 차나무와 같이 관목이면서 새순이나 신엽이 수확의 대상이 되고 있는 경우는 휴면을 조기에 타파시켜 조기 수확을 피하는 면에서는 근권의 가온이 효과적이라고 할 수 있다. Fordham(1972)은 Malawi지방의 차재배에서 차의 신초생장은 뿌리의 생장과 시기별로 간격을 두고 있으며, 신초가 신장을 하기 전에 이미 뿌리의 생장은 진행하고 있다고 보고하고 있다. 봄에 조기에 신초생장을 촉진하기 위해서는 뿌리활동이 선행되어야 함을 말하고 있다. 이 실험을 위해서 50cm 깊이에 $\phi 13\text{mm}$ plastic 연질호스를 23cm 간격으로 설치하여 온도 변화를 6시간 간격으로 측정한 결과는 그림 7-2와 7-3과 같다. 그림 7-2는 보일러의 설정온도를 5°C 로 하였고, 그림 7-3은 10°C 로 하였다. 외기온도가 -5°C 에서 13°C 의 변화의 폭에서 시설하우스내 기온은 5°C 에서 32°C 의 큰 변화를 나타내는데 비해서 지중온도는 15°C ~ 27°C 의 변화를 보이고 있다. 설정온도 10°C 에서는 기온이 약 23°C 의 평균온도 범위내에서 변화를 보였다. 지중 가온은 뿌리 성장활동에 효과적인 면도 있지만 비용면에서 열효율이 높은 것으로 되어 있다(板木利隆, 1983).

2. 온도 변화에 따른 생장 반응

온도에 대한 반응은 온도가 높을수록 빨리, 그리고 단시일내에 맹아가 진행되는 것을 알 수 있었다. 30°C 처리에서는 11일부터 맹아가 시작되어 15일에 완료되었다. 25°C 에서는 30°C 에서와 마찬가지로 11일부터 삽수의 맹아가 시작되어 20일에 100% 삽수가 맹아되었다. 20°C 에서는 14일부터 맹아하는 삽수가 보이기 시작하여 22일째에서야 전 삽수의 맹아가 완성됨을 알 수 있었다(그림

7-4). 이상의 결과는 시설재배에서 조기 shooting은 비교적 높은 온도를 요구하는 것을 알 수 있었다. Elizabeth 등(1976)은 신초신장에 야간온도가 평균 20℃ 이상은 지속되어야 한다고 보고하고 있다.

자연상태에서 시기별 맹아에 소요되는 시간을 10일 간격으로 본 결과는 그림 7-5와 같다. 12월25일에 채취한 삽수를 25℃의 growth chamber에 넣었을 경우, 초기 맹아가 시작하는 시점은 16일이 걸리고 80%에 달하는 시점은 21일간 소요되었다. 이 맹아에 소요되는 일수는 1월15일이 19일, 2월5일이 16일, 2월25일이 10일, 3월15일이 8일, 4월 5일이 2일 등으로 20일 간격으로 약 5일정도씩 소요일이 단축되는 것을 알 수 있었다. 자연상태에서는 4월 10일이 맹이기에 속하였다. 맹아에서 신초신장은 그림 7-6의 모습으로 진행되었다.

20℃, 25℃, 30℃로 다르게 설정한 growth chamber에 도입종 5개 품종당 10본씩 1년생 차나무를 넣고 일주일 간격으로 엽장과 초장을 측정해 본 결과, 전반적인 특성으로 25℃ 처리구의 차나무의 엽장과 초장의 신장이 가장 양호하게 나타났고 30℃에서는 초기에는 비교적 빠른 성장 모습을 보였으나 시간이 경과할수록 지연되는 결과로 나타났다. 20℃의 차나무는 생장이 다소 부진한 모습을 보였다.

Fushun은 그림 7-7,8과 같은 결과를 보이고 있다. 엽장이나 초장에 있어서 25℃ 생육상태가 가장 양호하였다. 20℃에서는 생육이 지연되는 결과를 나타내고 있으며 30℃에서는 초기 생장은 초장에서는 빠르게 진전되었으나 시간이 지날수록 지연되는 현상을 보였다. Fushun은 일본 재래종에서 유래된 Z-1과 Yabukita의 혈통이 섞인 Kanayamidori라는 품종과 결합된 것으로 증생종이나 1번차의 다수성이 높고 내한성, 탄저병에 대한 내병성이 강한 품종으로 알려져 있다(野菜·茶業試驗場資料, 1991).

Meiryoku는 다른 품종과 마찬가지로 25℃에서 생육이 가장 양호하여 5주째

엽장은 59.2mm, 초장은 97.2mm였다. 다음은 엽장에서는 20℃, 초장에서는 30℃ 차나무가 생육이 크게 나타났다. Meiryoku는 Yabukita와 Z-1의 교배종으로 중생종의 다수확성을 보이고 탄저병, 윤반병에 강한 품종으로 알려져 있다 (藥瀨好充, 1986).

Okumidori에서도 25℃의 차나무 생장이 가장 양호한 결과로 나타났다. 5주째 25℃ 생장에서 엽장은 72.4mm, 초장은 110.8mm였다. 20℃와 30℃에서는 비슷한 생장을 보여 엽장은 각각 60.7mm, 62.2mm, 초장은 91.3mm, 90.8mm였다. Okumidori는 Yabukita와 재래종간의 교잡종으로 만생종으로 수세가 강하고 내한성이 강한 것이 특징으로 알려져 있다.

Saemidori는 온도간 차이가 초기 생육에서는 그다지 크지 않게 나타나다가 3, 4, 주에서 차이가 나타나기 시작하여 5주째에는 25℃에서 엽장, 초장이 각각 69.9mm, 123.1mm로 가장 크게 나타났고, 다음이 30℃였으나 후반기 생장이 둔화된 결과를 보이고 있었다. 20℃에서 생장 지연이 5주까지 이어졌다. Saemidori는 Asatsuyu와 Yabukita의 교배종으로 Yabukita보다 빠른 조생종이며 다수성이며 독특한 향기를 가지고 있는 품종으로 알려져 있다.

우리나라에서 재배면적이 가장 많은 Yabukita의 경우에도 다른 품종들과 비슷한 온도 반응을 보여 5주째에 가서는 25℃에서 성장상태가 가장 좋았다. 5주째의 측정결과를 보면, 25℃에서 엽장이 75.0mm, 초장이 116.1mm였다. 다음은 30℃에서 각각 62.8mm, 92.4mm로 20℃의 62.5mm, 86.4mm보다 약간 신장된 모습이었다. 이것은 30℃에서 초기 생육이 빨랐던 결과였다. Yabukita는 일본 재래종에서 선발되어 70%의 재배면적을 차지할 정도로 일반화된 품종이다. 많은 품종 육성에 교배종으로 이용되어 왔다. 특성으로는 내한성이 강하고 다수확성이 장점이나 탄저병, 겹등근무늬병에 약한 것이 단점인 것으로 알려져 있다(大石千八, 1988).

3. 환경요소 변화에 따른 광합성 반응

가. 광량의 변화에 따른 광합성

광파장이 가시광선 영역에 들어가는 광량이 단위시간당 단위 면적을 통과하는 수를 PPF(photosynthetic photon flux)라고 하는데 PPF를 달리하여 총 광합성을(gross photosynthetic rate, GPR)을 조사한 결과는 그림 7-12와 같다. 차나무의 경우 보상점이 20-40PPF에서 나타나며 포화점은 900PPF이상에서 있음을 예상할 수 있다. 이것은 차나무가 매우 낮은 광량에서도 광합성이 가능할 뿐만 아니라 상당히 높은 광에서도 지속적인 광합성율이 증가한다고 할 수 있다. 차광에 따른 고급 차 생산방법이 가능한 것은 약한 광선에서도 광합성이 가능하기 때문이라고 생각한다(김종태, 1996).

나 온도변화에 따른 광합성

탄산가스농도, 습도, 광량을 일정하게 하고 온도조건만 변화를 주어 광합성율을 측정한 결과, 25℃까지는 온도가 올라 갈수록 광합성율이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 30℃, 35℃에서는 오히려 감소하여 순광합성율에서는 15℃ 처리보다 낮은 결과로 나타났다(그림 7-13). 오이(Marcelis, 1994)와 멜론에서는 40℃ 가까이에서도 광합성율이 증가하는 것에 비하면 어느 정도 고온에서는 heating stress를 받는 것이 아닌가 생각할 수 있다. 호흡율에 있어서는 10℃에서 35℃까지 온도 상승에 따라 빠른 속도로 호흡이 증가하는 것으로 나타나 차나무는 온도 상승에 따라 에너지 소모가 많은 것으로 생각된다(그림 7-14).

다. 습도 변화에 따른 광합성

광합성 측정 chamber에 상대습도를 40%에서 90%까지 변화를 주면서 광합성율을 측정한 결과를 보면, 공중습도가 증가할수록 광합성율이 감소하는 것으로 나타났다(그림 7-15). 차나무가 호수나 해변 가까운 곳에 재배지가 많아서 습도가 높은 지역을 선호하는 것으로 알려져 있으나 안개, 비 등으로 일조량

의 부족은 생육에 지장을 초래할 수 있다고 생각된다.

라. 탄산가스 변화에 따른 광합성

Gas Exchange Measuring Station을 이용해서 광합성율을 측정하는 chamber에 탄산가스 농도를 200ppm에서 1300ppm까지 상승적으로 변화를 주면서 광합성율을 측정한 결과는 그림 7-16과 같다. 보상점이 200ppm이고 포화점이 1300ppm이상인 것을 알 수 있다. 공기중의 탄산가스 함량이 300ppm인 것을 감안한다면, 차의 경우는 보상점과 포화점이 상당히 높은 것을 알 수 있다. 오이는 보상점이 20~40ppm정도인 것으로 보고하고 있다(임준택, 1998). 가온을 위해서 하우스를 밀폐된 상태에서 재배관리를 할 경우는 탄산가스 부족이 차 생육의 제한요인으로 작용할 수 있다는 점을 시사하고 있다(Vic, 1991). 그리고 다른 하우스 작물과 마찬가지로 탄산가스 공급은 차 생육을 촉진시키는 효과를 얻을 수 있다고 생각된다.

마. 하우스 재배에서 각 품종의 광합성

하우스 재배에서 광합성측정 결과는 6개 품종중에서 Meiryoku가 오전중 광합성율이 가장 높게 나타나 $17.8\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 였으며 Fushun이 가장 낮아서 $12.3\text{umolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 였다(그림 7-17). 오후에는 모든 품종의 광합성율이 떨어져 오전의 60%정도였다. Meiryoku의 광합성율이 높은 것은 품종의 다수성의 특성과 관련이 되는 점이라고 생각되어 흥미롭다(藥瀨好充 등, 1986). 옥로차를 생산하는 경우 차광막을 설치하는데 이 때의 광합율의 변화를 알아 보고자 40%차광막을 설치하고 광합성율을 측정하였는데 품종 전반적으로 무설치 경우보다 20% 감소시키는 결과를 갖어 왔다(그림 7-18).

4. 토양조건에 따른 생장 반응

토양조건에 관한 요소는 여러 가지 있으나 주로 배수에 대한 검토를 실시하였다. 황토, 마사토, 질석을 단용과 혼용(1:1)으로 만든 토양에 심은 차의

신초생육을 비교한 결과는 표 7-1과 같았다. 단용으로 사용한 토양에서는 마사토에서 신초와 잎의 생육상태가 양호하였다. 혼용에서는 마사토와 질석을 섞은 토양에서 양호한 결과가 나타났다. 생육상태가 상대적으로 떨어진 것은 황토와 황토+질석에 심어진 차나무였다. 大石(1988)은 차나무의 유효토양으로서 최저 60cm~100cm는 토양의 물리적 성질이 좋도록 해야 한다고 하였다. 물리적 성질중에서 물빠짐이 가장 중요한 요소라고 할 수 있다.

5. 질소의 시비방법에 따른 생장 반응

질소비료의 시비량에 대한 실험결과는 표 7-2와 같았다. 10a당 기준으로 10kg에서 110kg까지 시비하고 신초생장과 잎의 신장 상태를 조사한 결과를 보면, 70kg 시비구가 신초와 잎에서 가장 신장이 좋은 것으로 나타나 있으나 50kg 시비와 비교해서 그 증가율은 그다지 크지 않았다. 말하자면 시비효율면에서 본다면 50kg 시비가 적절한 수준이라고 판단되는 결과라고 할 수 있다. 90kg 시비와 110kg 시비에서는 오히려 피해 현상이 나타났다. 박장현 등(1998)의 연구에서는 10a당 60kg 시비가 첫물차 생산에서 생엽생산량과 품질면에서 양호한 결과였다고 보고하고 있고, 박병근(1999)은 50kg의 심층시비가 효과가 높다고 보고하고 있다. 차의 적정시비는 50~60kg범위로 보는 것이 타당할 것 같다. 요소 엽면시비는 0.5%에서 3%까지 2일간격으로 분무처리로 실시하였는데 1%처리가 가장 양호한 신초와 잎의 신장 모습을 보였다. 2%처리에서는 20%, 3%액에서는 55%의 차나무에서 신초가 약해를 현상이 나타났다.

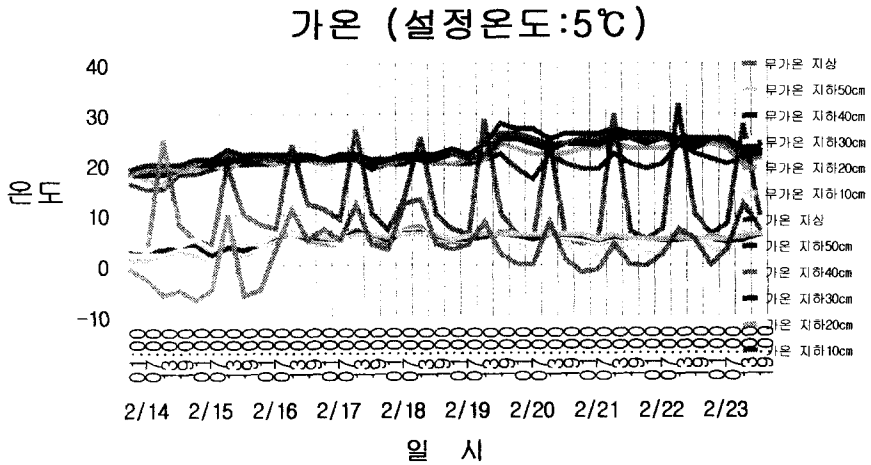


Figure 7-2. Changes of air and underground temperatures in greenhouse heating by a boiler set at 5℃.

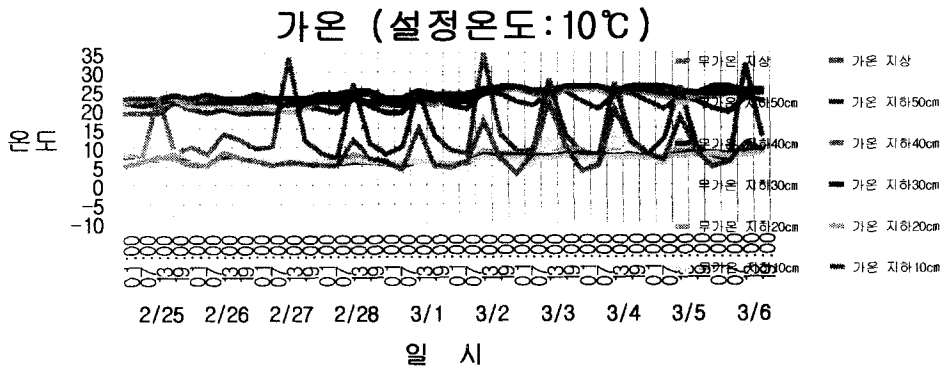


Figure 7-3. Changes of air and underground temperatures in greenhouse heating by a boiler set at 10℃.

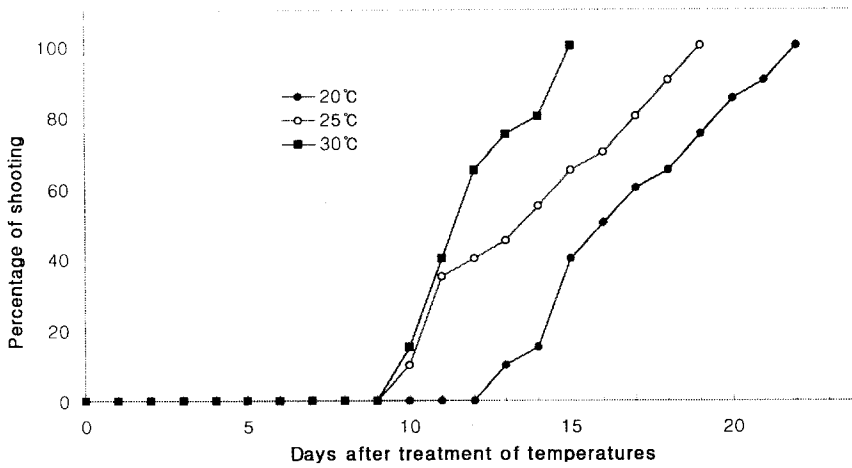


Figure 7-4. Influence of temperature on the shooting of tea.

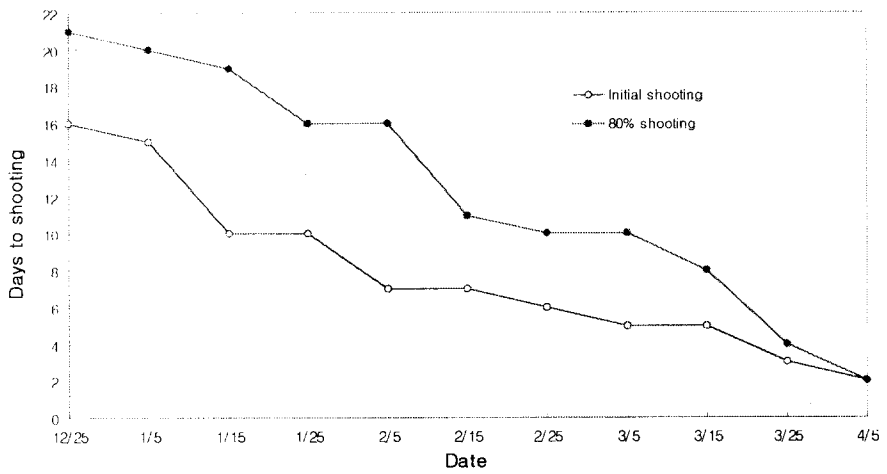


Figure 7-5. Seasonal changes of days to shooting of tea at 25°C.

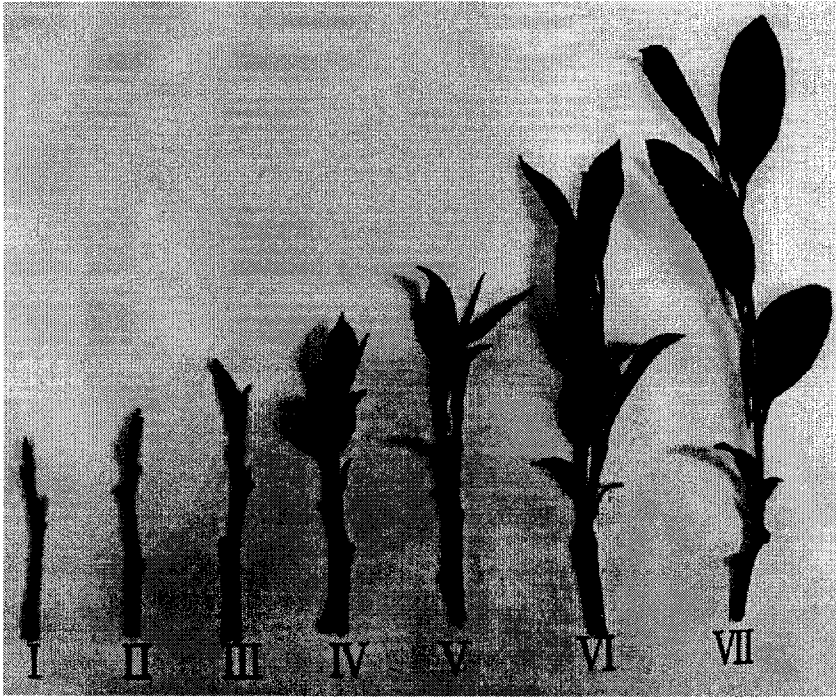


Figure 7-6. Shooting stages of tea.

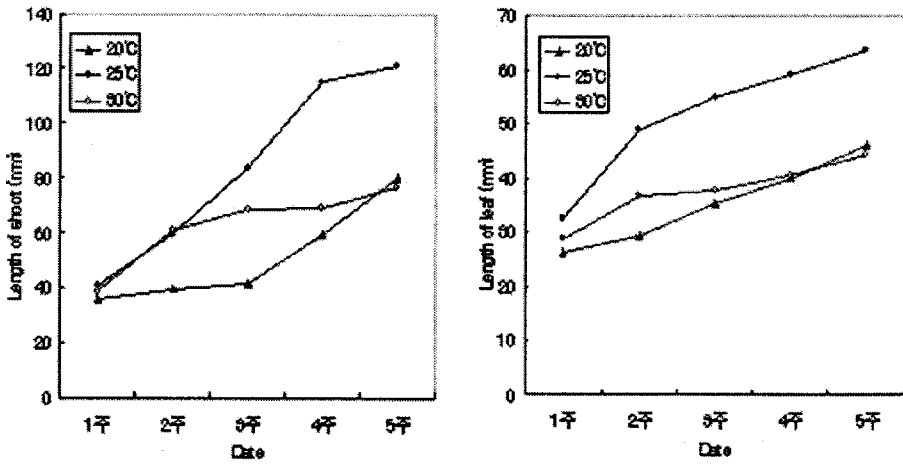


Figure 7-7. Influence of temperature on the elongation of shoot and leaf of Fushun.

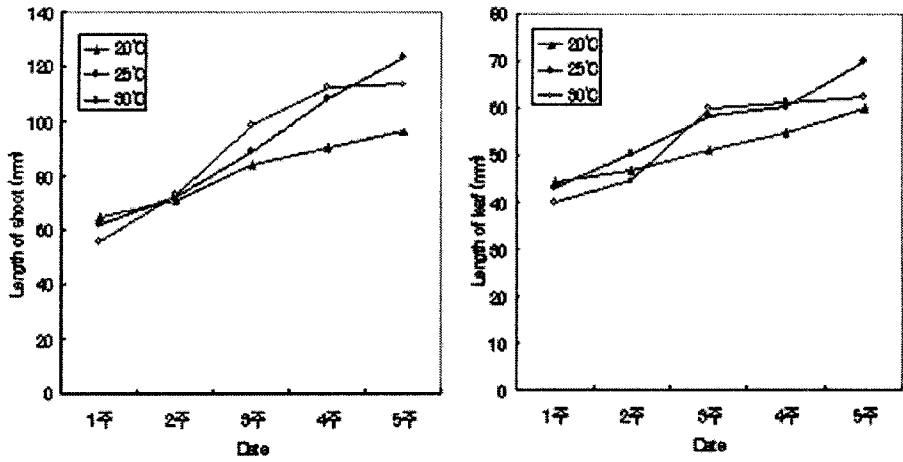


Figure 7-8. Influence of temperature on the elongation of shoot and leaf of Meiryoku.

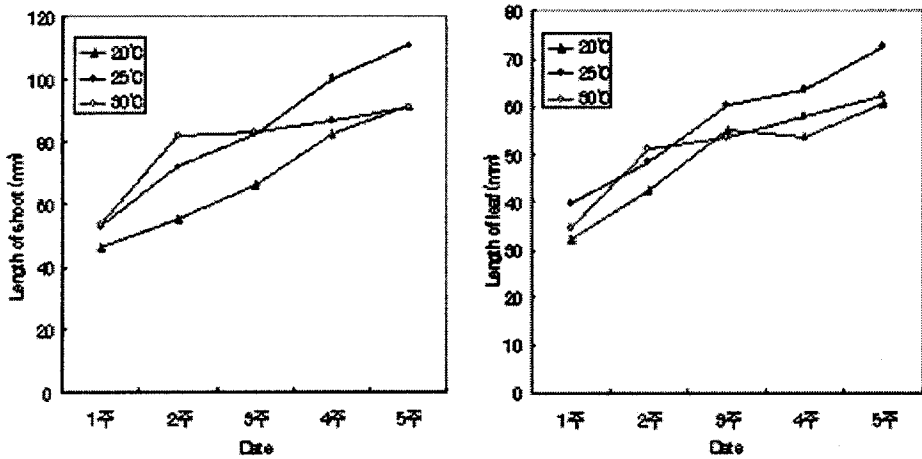


Figure 7-9. Influence of temperature on the elongation of shoot and leaf of Okimidori.

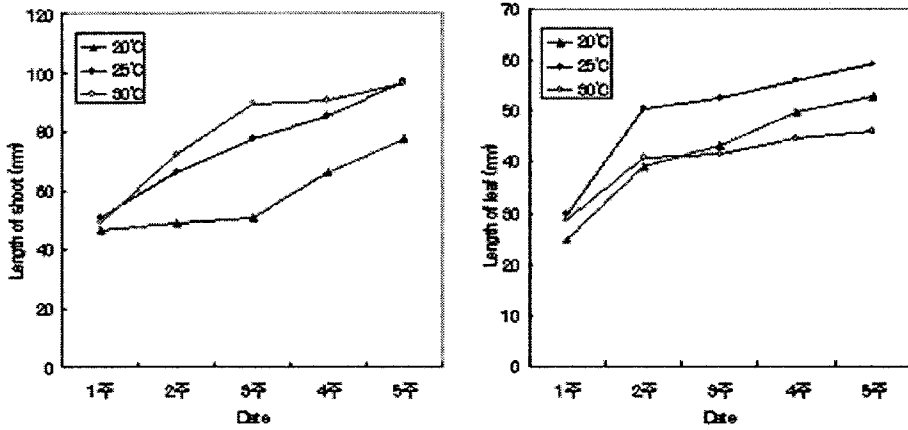


Figure 7-10. Infufluence of temperature on the elongation of shoot and leaf of Saemidori.

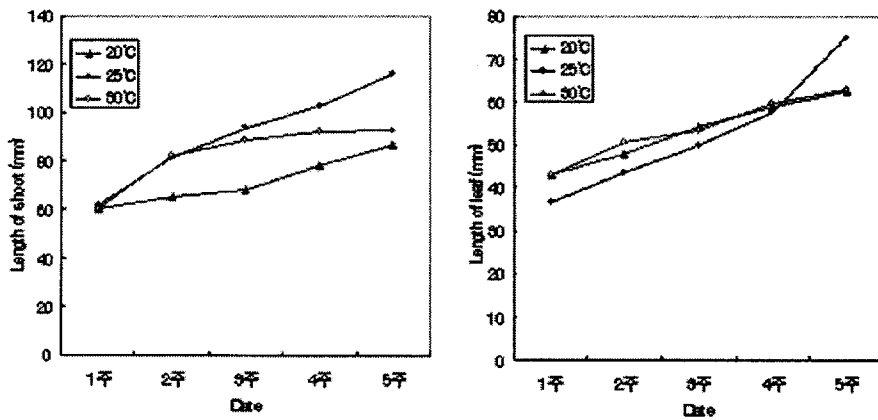


Figure 7-11. Infufluence of temperature on the elongation of shoot and leaf of Yabukita.

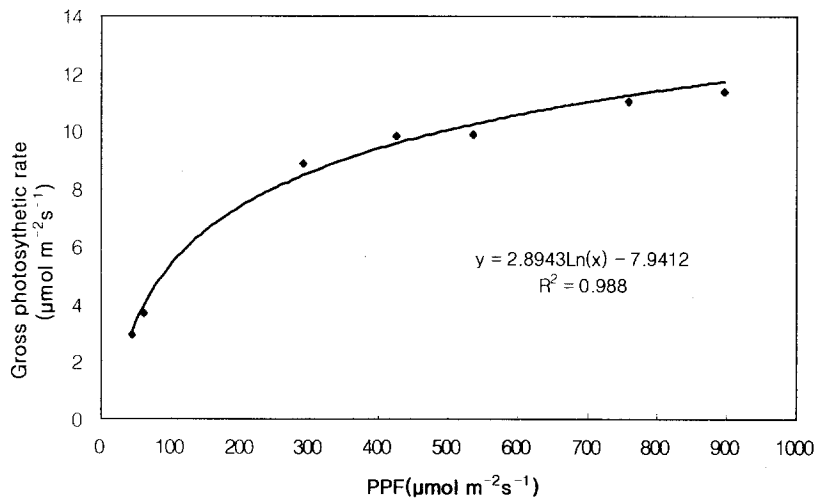


Figure 7-12. Influence of light intensity on the gross photosynthetic rate of tea.

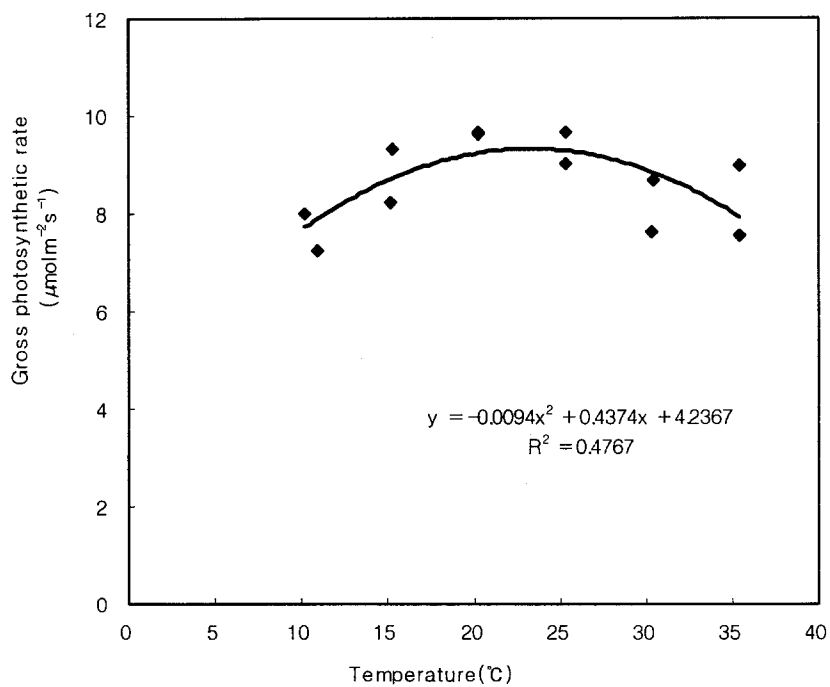


Figure 7-13. Influence of air temperature on the gross photosynthetic rate of tea.

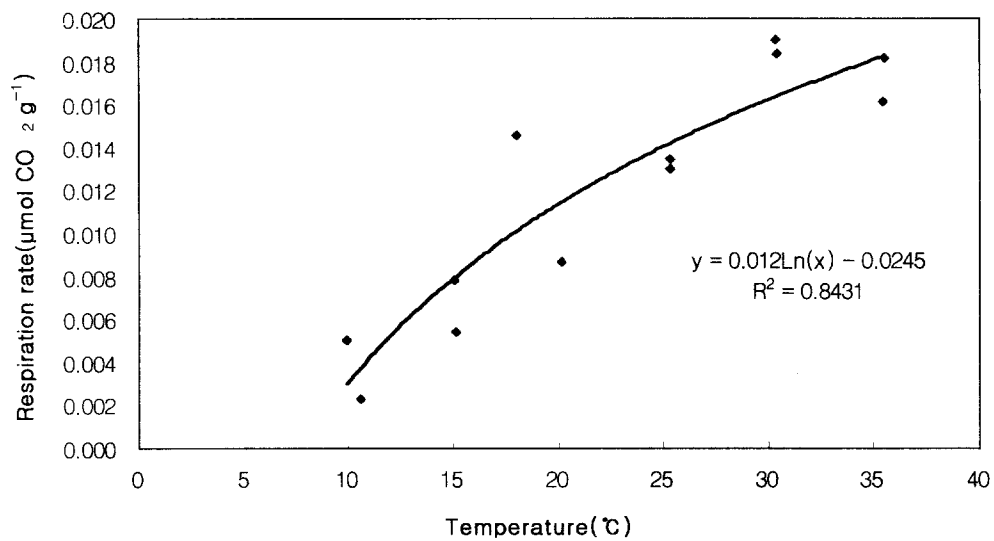


Figure 7-14. Influence of air temperature on the respiration rate of tea.

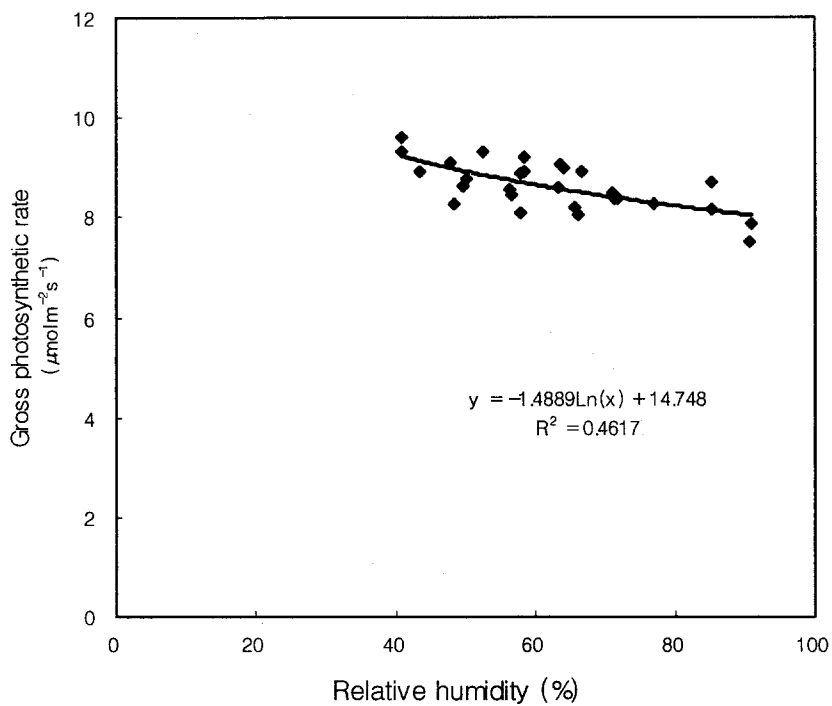


Figure 7-15. Influence of relative humidity on the gross photosynthetic rate of tea.

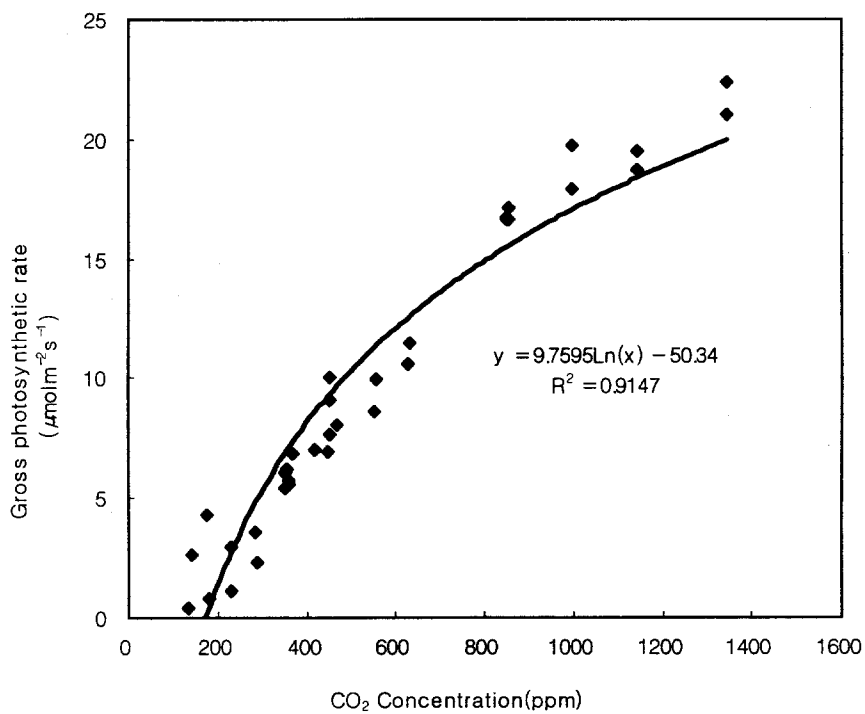


Figure 7-16. Influence of CO₂ concentration on the gross photosynthetic rate of tea.

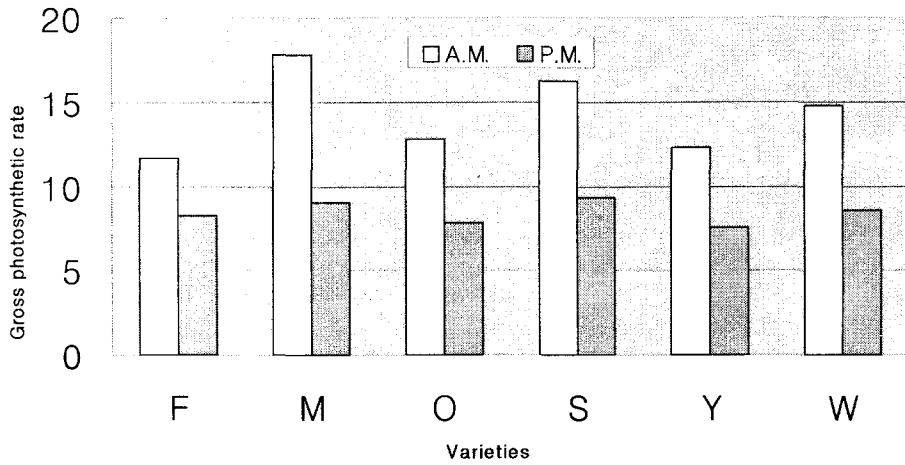


Figure 7-17. Photosynthetic rate of tea varieties in non covered greenhouse. F: Fushun, M: Meiryoku, O: Okumidori, S:Saemidori, Y: Yabukita, W: Wild tea.

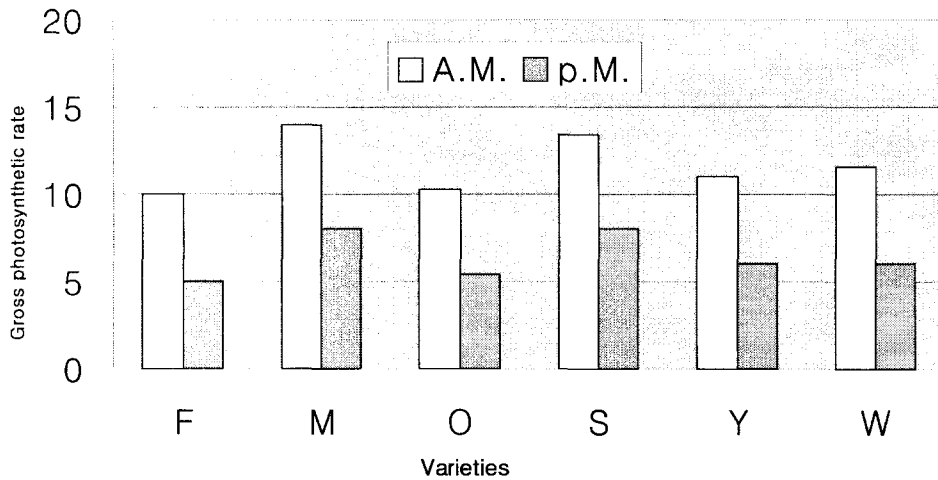


Figure 7-18. Photosynthetic rate of tea varieties in greenhouse covered by a shade polyethylene curtain. F: Fushun, M: Meiryoku, O: Okumidori, S:Saemidori, Y: Yabukita, W: Wild tea.

Table 7-1. Influence of soil on the growth of tea.

토양구성	신초장 (cm)	엽수	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	생체중 (g)	건물중 (g)
황 토	16.81 a ^z	4.3 a	8.61 bc	3.02 bc	1.92 a	0.47 a
마 사 토	19.32 c	5.4 b	9.24 c	3.19 c	2.37 bc	0.54 a
질 석	17.56 ab	4.2 a	8.32 b	2.78 ab	2.01 ab	0.49 a
황토+마사토	19.71 c	5.2 b	9.12 c	3.12 c	2.79 c	0.72 c
황토+질석	16.42 a	4.7 b	7.87 a	2.43 a	1.87 a	0.48 a
마사토+질석	18.70 bc	4.8 b	8.49 b	2.98 bc	2.12 b	0.57 a

^zMean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-2. Influence of nitro fertilization on the growth of tea.

10a 질소량	신초장 (cm)	엽수	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	생체중 (g)	건물중 (g)
질소 10 kg	13.28 a ^z	2.3 a	6.97 a	2.22 a	1.99 ab	0.31 a
질소 30 kg	17.45 b	4.5 c	9.12 b	2.78 b	2.27 b	0.55 bc
질소 50 kg	19.83 c	4.7 c	9.67 bc	3.32 c	2.89 c	0.65 c
질소 70 kg	20.42 c	5.1 c	9.92 c	3.41 c	2.96 c	0.69 c
질소 90 kg	21.07 c	4.9 c	10.21 c	3.20 c	2.55 bc	0.48 b
질소 110 kg	17.21 b	3.9 b	9.09 b	2.34 ab	1.78 a	0.29 a

^zMean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-3. Influence of urea foliage fertilization on the growth of tea.

처리농도	최장신초장 (cm)	엽수	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	생체중 (g)	건물중 (g)
무 처리	18.01 a	5.2 a	9.01 a	2.82 a	2.21 a	0.51 a
요소 0.5%	18.34 a	5.6 b	9.22 ab	3.01 a	2.56 b	0.68 b
요소 1%	23.45 c	5.3 a	9.91 b	3.42 b	3.07 c	0.76 c
요소 1.5%	21.89 b	5.6 b	9.75 b	3.53 b	3.12 c	0.71 c
요소 2%	20.56 ab	5.0 a	9.31 ab	3.12 a	2.72 ab	0.58 ab
요소 3%	19.41 a	4.7 a	8.11 a	2.51 a	2.42 a	0.48 a

²Mean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

제4절 결론

지중 50cm 깊이에 ϕ 13mm plastic 연질호스를 23cm 간격으로 각 이랑에 2줄씩 설치했을 때 지중온도는 15°C ~ 27°C의 변화를 보였다. 보일러를 10°C로 조절했을 때 23°C 평균온도 범위를 유지할 수 있었다. 온도에 대한 반응은 온도가 높을수록 빨리 그리고 단시일내에 맹아가 신속하게 진행되었다. 20°C에서는 맹아기가 지연되었다. 시설재배에서 조기 shooting은 생육시 온도보다 높은 온도를 요구하는 것을 알 수 있었다. 자연상태에서 휴면이 타파되어 온도를 가하면 shooting이 가능한 시기는 1월5일 전후에 해당하고 이 맹아에 소요되는 일수는 20일 간격으로 5일정도씩 소요일이 단축되었다. 자연상태에서는 4월 10일이 맹아기에 속하였다. 품종별로 온도에 대한 반응은 모두 비슷한 경향이나 엽장이나 초장에 있어서 25°C 생육상태가 가장 양호하였다. 20°C에서

는 생육이 지연되는 결과를 나타내고 있으며 30℃에서는 초기 생장은 빠르게 진전되었으나 시간이 경과할수록 지연되는 결과를 보였다. 광량에 따른 광합성율을 보면, 차나무는 20-40PPF에서 보상점을 나타내고 900PPF이상에서 포화점이 있음을 예상할 수 있다. 온도의 영향에서 광합성율은 25℃까지는 온도가 올라 갈수록 광합성율이 증가하였다. 그러다가 30℃이상에서는 오히려 감소하였다. 호흡은 온도가 높아질수록 빠른 속도로 증가하였다. 공중습도는 증가할수록 광합성율이 감소하였다. 탄산가스는 200ppm에서 보상점으로 나타나고 포화점은 1300ppm이상인 것으로 예상된다. 하우스 재배에서 광합성측정결과는 Meiryoku가 광합성 효율이 높은 것으로 나타났고 오전중 광합성율이 오후보다 높았다. 40%차광막 설치시 광합성율을 20% 감소시켰다. 토양은 마사토: 절석 1:1의 배합토에서 생육이 좋은 것으로 나타나, 물빠짐이 좋은 토양에서 차나무 재배가 적당한 것을 나타냈다. 질소비료는 10a당 50kg의 시비가 비료의 효율면에서 적당한 시비량이라고 생각되었다. 요소의 엽면시비는 1% 처리가 효과적이었다.

제 8 장 시설재배 적응종 수집과 생육 및 유전적 특성 조사

제1절 서론

시설재배에서는 집약적인 고비용의 재배관리로 고품질, 다수확, 조기생산을 통하여 고소득을 목표로 한다. 한번 식재하면 장기간 경제재배가 가능한 차재배에 있어서 품종의 선택은 중요한 요소라고 할 수 있다. 시설재배에 적합한 품종은 조기 생산성, 다수성, 다비성, 품질의 우수성 등이 요구된다. 우리나라는 차 문화의 오랜 역사에도 불구하고 차를 재배하는 작물로 인식하기 시작한 것은 최근의 일이다(김명배, 1989). 그래서 차재배에 관한 연구도 일천하고 차 품종의 육종에도 관심을 갖지 못하였다. 현재까지 우리 고유의 품종이 하나도 없는 실정이다. 그러나 가까운 일본은 1896년부터 차에 관한 연구가 활발하게 이루어져 현재는 등록된 품종이 48종에 이르고 있다. 차는 자가불화합성으로 자연교잡에서 생긴 종자는 대부분 잡종종자라고 할 수 있다. 그러니까 우리나라에서 절을 중심으로 여기 저기 지역적으로 분포되어 있는 야생화된 차나무 집단은 집단으로서 특성화된 통일성을 찾기가 매우 어렵다. 그러므로 차밭을 조성하는데 있어서 종자로 번식하는 것은 개체간의 맹아시기, 신초신장, 수확시기, 품질 등의 차이로 재배관리면에 있어서 불편을 초래하게 되고 수량과 품질을 저하시키는 결과를 갖어 온다. 그래서 시급한 것은 우리나라의 고유 품종을 빨리 육성하는 것이다. 차 품종 하나 육성하는데 15년에서 20년이 소요되는 것으로 알려져 있다(Yanase 등, 1986). 그러므로 차 연구가 짧은 우리 실정에서는 외국의 우수한 품종을 도입하여 특성을 조사하고 적응시험을 거쳐서 우리 실정에 맞는 품종으로 육성하는 방법에서 출발하는 것이 우선 가능한 방법이라고 할 수 있다. 우수한 품종을 육성하기

위해서는 국내외에서 유전자원을 확보하는 사업이 필요하다. 수집된 식물의 형태, 생리, 생태적 특성과 유전적 조성을 밝히는 것은 기초자료 확보면에서 중요하다. 분자적 수준에서 식물의 유전적 유연관계를 밝히는 방법으로 최근에는 AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)기법이 많이 이용되고 있다(Maughan et al, 1996, Subudhi et al, 1998). 많은 band의 출현으로 다형성이 높고 의도하는 primer로 DNA를 증폭시키므로 재현성이 높게 나타나는 점에서 RAPD와 RFLP의 보완적인 방법으로 알려져 있다(Vos, 1995).

이 연구에서는 외국에서 우수 품종을 수집해서 하우스에 재배하면서 형태적, 생육특성 및 번식특성을 조사하여 하우스재배의 적응도를 알아 보고, 차 품종의 DNA를 추출하고 AFLP분석을 실시하여 유전적 유연관계를 알아 보고자 하였다.

제2절 연구 방법

1. 수집종의 생육 특성조사

차 선호도가 우리와 비슷한 일본에서 녹차 품종으로 육성된 품종중에서 9품종과 재래종을 시설재배지에 3월10일에 재식하고 생육특성을 조사하였다. 9개 품종은 Fukumidori, Fushun, Makinoharawase, Meiryoku, Oiwase, Okumidori, Saemidori, Sunmei, Yabukita 이다. 재래종은 순천시 향림사의 집단 서식지에서 선발하였다. 형태적 특성으로 수형, 수세, 수고, 분지수, 엽장, 엽폭, 엽형지수, 엽두께, 거치수를 조사하였고 수확의 대상이 되는 신초의 특성으로 맹아기, 신초장, 신초색, 신엽의 엽수, 엽장, 엽폭, 광택유무, 백아중을 조사하였다. 수집종의 번식력을 비교하기 위하여 신초가 경화된 시기라고 판단되는 6월14일에 20본씩 마사토와 질석을 1:1로 배합한 삼목용토에 꽂고 2개월 후에 삼목상태를 조사하고 발근율, 발근수, 발근길이를 측정하여 비교하였다.

2. AFLP분석에 의한 유전적 유연관계

차 품종간의 유전적 특성을 비교하고 유연관계를 밝히기 위하여 차나무 근연종을 포함해서 37품종의 total DNA를 추출하여 AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)분석을 실시하였다.

실험에 이용된 차 품종은 일본 품종으로 Asatchuyu, Benihomare, Benitachiwase, Hatumomiji, Fukumidori Fushun, Kanayamidori, Makinoharawase, Meiryoku, Okumidori, Okuyutaka, Saemidori, Sakimidori, Sayamamidori, Sunmei, Takachiho, Unkai, Yabukita, Yaeho, Yamanami, Yamatomidori, Yutakamidori, 21종과 assam계 1종, 우롱차2종, 한국재래종 7종, 차 근연종과 교배종 6종으로 도합 37종이었다.

PCR에 적합한 DNA를 추출하기 위하여 각 종의 생잎 0.1g을 채취하여 액체질소로 분쇄하고 Amersham사의 DNA 추출 kit(Nucleon PhytoPure)를 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 spectrophotometer로 적량하여 50ng/ul이 되도록 TE buffer로 희석하였다. AFLP 분석은 AFLP Analysis System kit(Life Technologies, USA)의 방법에 따라서 3단계로 실시하였다.

첫째 단계는 DNA를 제한효소로 절단하고 adaptor를 ligation하는 과정이다. 제한 효소는 6염기를 인식하는 *EcoR* I (GAATTC 인식)과 4염기를 인식하는 *Mse* I (TTAA 인식)을 사용하였다. digestion을 위한 mixture를 2.5 μ l reaction buffer, 2.5 μ l DNA, 1 μ l enzyme(*EcoR* I /*Mse*), 6.5 μ l grade water로 만들고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 반응시킨 후 70 $^{\circ}$ C에서 15분간 정치하여 제한효소를 불활성화시켰다. 제한효소로 절단한 DNA에 adaptor의 ligation은 12 μ l ligation solution, 0.5 μ l T4DNA ligase을 첨가하여 20 $^{\circ}$ C에서 2시간 반응시키고 TE buffer로 10배로 희석하였다.

두 번째 단계는 PCR을 이용하여 DNA의 예비 증폭(pre-amplification) 과정이다. PCR을 위한 mixture를 2.5 μ adaptor ligation DNA, 20 μ pre-amplification primer, 2.5 μ PCR buffer, 0.1 μ Taq polymerase로 하고 PCR 조건을 denature 94 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing 56 $^{\circ}$ C에서 1분, extension 72 $^{\circ}$ C에서 1분로 하고 총 20cycle 실시하였다. PCR 결과물을 TE buffer로 50배 희석하였다.

세 번째 단계는 선택적으로 DNA를 증폭시키는 과정이다. 64개 *EcoR* I, *Mse* primer 조합중에서 polymorphism이 잘 나타나는 10개의 primer 조합을 선택해서 사용하였다. PCR을 위한 mixture는 2.5 μ template DNA, 0.25 μ *EcoR* I primer, 2.25 μ *Mse* I primer, 1 μ PCR buffer, 0.1 μ Taq polymerase, 3.9 μ grade water로 만들었다. PCR 조건은 touch-down 14 cycle을 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 65 $^{\circ}$ C-58 $^{\circ}$ C(매 cycle마다 -7 $^{\circ}$ C) 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 60초로 하고 normal 25 cycles을 94 $^{\circ}$ C 30초, 56 $^{\circ}$ C 30초, 72 $^{\circ}$ C 1분으로 하였다.

최종 PCR 결과물을 polyacrylamide Gel 전기영동을 하여 DNA를 분리하였다. DNA 5 μ 을 5% polyacrylamide Gel(running gel과 stacking gel)에 주입하고 수직 전기영동 장치(160x160mm plate)에서 200볼트로 4시간 실시하였다. gel 염색은 ethidium bromide로 실시하였다.

Data의 분석은 DNA band의 유무를 binary data로 전환하여 NTSYS complete program으로 처리한 후 UPGMA방법으로 clustering하여 dendrogram을 작성하였다.

제3절 연구결과 및 고찰

1. 수집종의 특성조사

10종을 하우스에 재식하여 자라고 있는 품종의 형태적 특성과 성장 특성은

표 8-1과 같다. 대체적으로 품종 고유의 특성을 하우스 재배에서도 그대로 나타나는 경향이였다. 수세는 대부분 강하고 수형이 개장형인 품종이 많고 직립형은 Meiryoku, Saemidori, Yabukita였다. 3년생의 수고는 31.5cm에서 58.9cm에 속하고 Meiryoku(58.9cm), Yabukita(56.2cm)가 크고 재래종(31.5cm), Fushun(36.6cm)이 작은 품종에 속하였다. 잎이 큰 것은 장타원형인 Meiryoku(122.4mm)와 Yabukita(115mm)였고 작은 잎은 재래종(72.5mm)과 Fushun(87.5mm)이였다. 국내 재래종의 지역별로 분포되어 있는 차잎의 형태를 조사한 연구는 김재생 등(1969)과 은종방 등(1984)이 있는데 전자는 잎의 크기를 6.9x2.9cm라고 하였고 후자는 10~14.8 x 4.0~5.6cm의 범위에 속한다고 하였다. 우리나라는 중국계 소엽종과 대엽종이 혼재되어 있는 결과라고 생각한다. 이 연구에서 재래종은 소엽종계의 일종이고 일본 품종은 대엽종계와 중간계통이 섞여 있다고 할 수 있다. 거치수는 38~61개의 범위에 속하였다(그림 8-1). 수확량의 중요한 요소가 되는 신초의 특성을 신초 발생 후 조사한 결과는 표 8-2와 같고, 신초의 특징적인 모습은 그림 8-2와 같다. 조기생산성의 지표가 되는 맹아기가 빠른 품종은 Makinoharawase(4월6일), Saemidori(4월8일)였으며 늦은 것은 재래종(4월20일)과 Okumidori(4월19일)였다. 신초길이는 품종별로 127.1mm~164.4mm의 범위에 속하며 Meiryoku가 가장 길고 재래종이 짧았다. 신엽은 3-4장이었고 잎은 53.8 x 18.9mm~79.4x24.6mm의 범위에 속하고 큰 품종은 성숙엽에서와 마찬가지로 Meiryoku와 Yabukita였다. 신초의 정아부분 100개의 무게를 백아중이라고 하는데 수확량에 영향을 주는 요소라고 할 수 있다. 재래종이 33.5g인 것에 비하면 다른 품종은 55.9~72.7g에 분포하고 있었다. 박장현 등(1998)의 조사에서는 백아중이 27g이하로 도입 품종이 2배이상의 차이를 보이고 있다.

번식력을 알아보기 위한 방법으로 삼목을 실시하여 발근력을 조사한 결과는 표 8-3과 같다. 발근율이 높은 품종은 Meiryoku(92.7%), Saemidori(86.1%)

Yabukita(85.3%)였다. 발근수는 4~8개였고 발근수가 많은 품종은 Yabukita(7.3)와 Meiryoku(7.0)였다.

Table 8-1. Morphological characteristics of tea varieties collected in greenhouse cultivation.

품종명	수형	수세	수고 (cm)	분지수	엽형	성숙엽				거치수
						엽장 (mm)	엽폭 (mm)	엽형지수	엽두께 (mm)	
Fukumidori	중간	약강	48.4	2.0	타원	92.4	40.0	2.30	0.76	43
Fushun	개장	강	36.6	2.3	타원	87.8	39.3	2.23	0.64	45
Makinoharawase	개장	중	50.3	2.2	타원	96.0	43.2	2.23	0.70	49
Meiryoku	약직립	강	58.9	3.5	장타원	122.4	38.6	3.15	0.97	48
Oiwase	중간	약강	48.8	2.7	타원	101.2	48.6	2.08	0.68	41
Okumidori	중간	약강	53.5	2.5	타원	97.2	44.6	2.17	0.91	61
Saemidori	약직립	강	51.1	3.1	타원	102.6	36.5	2.82	0.85	42
Sunmei	중간	강	50.8	2.2	타원	90.4	40.6	2.23	0.75	40
Yabukita	직립	극강	56.2	2.5	장타원	115	47.8	2.40	0.96	53
Native tea	개장	강	31.5	2.1	타원	72.5	34.8	2.08	0.61	38

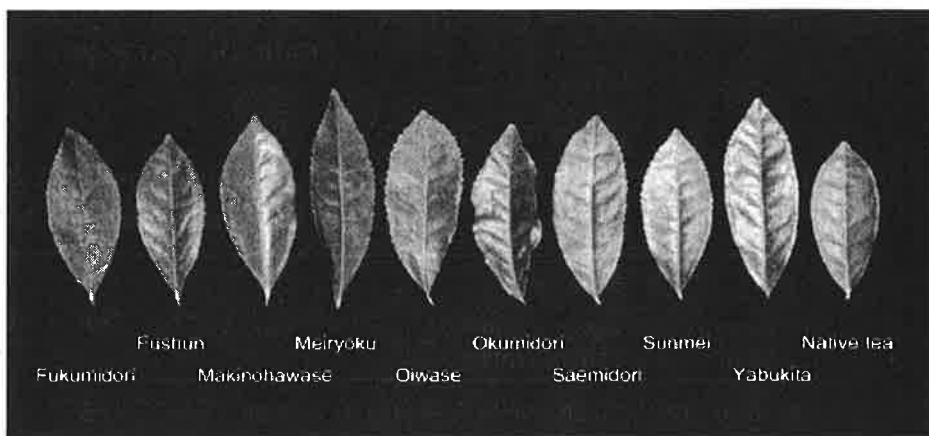


Figure 8-1. Leaves of tea varieties collected for greenhouse culture.

Table 8-2. Shooting characteristics of tea varieties collected in greenhouse cultivation.

품종명	맹아기 (월/일)	신초장 (mm)	신초색	신엽				백아중 (g)
				엽수	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	광택	
Fukumidori	4/12	140.2	농록색	3.5	59.5	24.7	중간	63.9
Fushun	4/15	134.2	녹색	3.7	61.2	22.4	약간많다	65.3
Makinoharawase	4/06	127.1	농녹색	3.4	73.1	24.6	중간	59.7
Meiryoku	4/13	164.4	농녹색	3.2	79.4	22.1	많다	72.7
Oiwase	4/09	142.7	녹색	3.2	65.7	26.2	적다	55.9
Okumidori	4/19	139.2	담녹색	3.6	62.7	24.7	많다	63.6
Saemidori	4/08	141.7	녹색	3.6	67.1	23.3	중간	69.7
Sunmei	4/09	127.5	녹색	3.4	61.7	23.6	중간	60.5
Yabukita	4/12	147.8	농녹색	3.0	73.2	27.2	약간많다	71.1
Native tea	4/20	118.9	녹색	2.8	53.8	18.9	적다	33.5

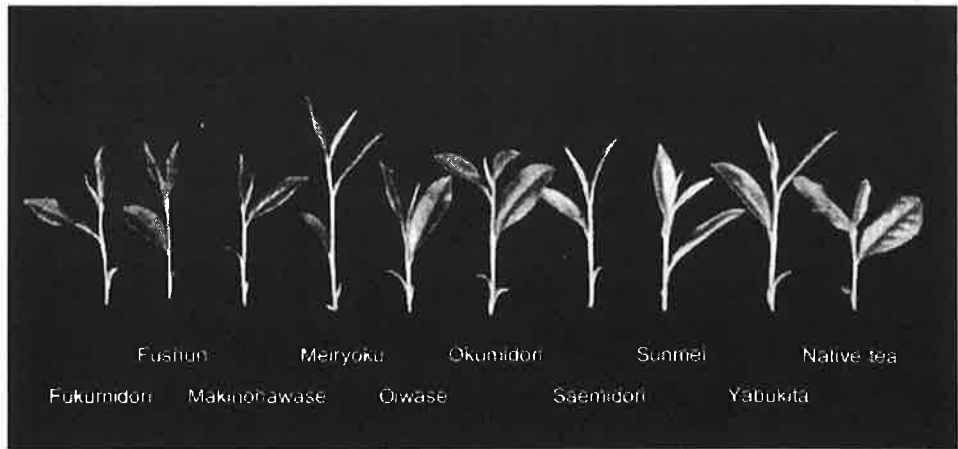


Figure 8-2. Shoots of tea varieties collected for greenhouse culture.

Table 8-3. Cutting characteristics of tea varieties.

Variety	Rooting (%)	No. of roots	Length of root (mm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
Fukumidori	83.8	5.5	37.5	0.057	0.0081
Fushun	81.7	6.9	50.6	0.071	0.0106
Makinoharawase	73.7	4.9	52.9	0.051	0.0052
Meiryoku	92.7	7.0	67.9	0.078	0.0109
Oiwase	72.5	5.3	48.8	0.053	0.0053
Okumidori	78.5	6.9	46.9	0.075	0.0112
Saemidori	86.1	5.3	42.8	0.050	0.0048
Sunmei	70.3	4.3	38.9	0.041	0.0031
Yabukita	85.3	7.3	50.8	0.083	0.0173
Native tea	76.4	4.3	40.3	0.057	0.0512

2. AFLP분석에 의한 유전적 유연관계

AFLP 분석을 통해서 수집종을 포함한 차 품종의 유전적 유연관계를 분석하기 위하여 이용된 식물은 표 8-4와 같이 37종이다. 이 중에는 차나무와 같은 속에 속하는 근연종 5종이 포함되어 있다. 예비 증폭과 선택적 증폭 결과는 spectrophotometer를 통해서 DNA를 확인할 수 있었다(그림 8-3). AFLP 분석에 적합한 primer를 선택하기 위하여 kit에서 제공하고 있는 *EcoRI* 과 *Mse I*의 64 primer 조합을 분석한 결과, 표 8-5와 같이 10개 primer조합에서 많은 bands와 다형성을 얻을 수 있었다. 이 10개를 primer 조합을 사용하여 PCR를 통하여 얻은 DNA를 polyacrylamide gel 전기영동하여 EtBr 염색으로 얻은 DNA band가 그림 8-4에서 8-14까지 10장의 그림에 나타냈다. DNA 검출에는 보통은 방사선을 이용하거나 은염색법을 이용하였으나(Vos et al, 1995). 이 연구에서 간단하고 computer에서 판별가능한 EtBr 염색법을 개발하여 이용하였다. band 출현은 primer별로 차이가 있으나 30~60개의 정도였으나 이 연구에서는 비교적 다형(Phorimorphism)이 많이 나타나는 500bp에서 50bp사이의 band를 조사하였다. 검출된 총 band수는 257개였다. band 출현이 가장 많았던 primer 조합은 *EcoRI* AAG primer와 *Mse I*의 CAG로 평균 27개 였다(그림 8-6). 다형성에 있어서도 *EcoRI* AAG primer와 *Mse I*의 CAG primer 조합에서 높게 나타났고, 가장 다형성이 낮았던 것은 *EcoRI* ACT primer와 *Mse I*의 CAG primer 조합이었다(그림 8-7). cluster 분석한 결과는 5개 그룹으로 나누어지는데 Yabukita계통 품종 그룹, 그 외 일본품종 그룹, 중국유래 종과 한국재래종 그룹, assam계통 그룹, 그리고 원종그룹이다. 한국 재래종(26)중에는 일본종 그룹에 들어간 것도 있고 일본종(11)이 중국종 그룹에 속한 것도 있다. 3개국간에는 품종이나 계통의 유입이 있음을 말해주고 있다. 하우스재배를 위해 수집된 품종은 대부분이 Yabukita계통 품종이었다. 특이적 밴드의 출현은 각 품종에서 나타났지만 특히 Fushun 품종에서 많았다. AFLP 분석은 하나의 primer 조합에서도 40개 이상의 band를 얻을 수 있어 품종의 동정, 개체의 구별에도 이용이 가능하다는 것을 알게 되었다.

Table 8-4. Origins and sources of 37 accessions used by AFLP analysis.

No.	Accessions	Species	Origin and source
1	Yabukita	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from seedlings, Shizuoka
2	Okumidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yabukita x NN29
3	Meiryoku	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yabukita x Z-1
4	Saemidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yabukita x Asatuyu
5	Kanayamidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	S6 x Yabukita
6	Okuyutaka	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yutakamitori x F1NN8(Tamamitori x S6)
7	Fushun	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Z-1 x Kanayamidori
8	Yutakamidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	selection from seedlings of Asatuyu
9	Sakimidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	NN27 x ME 52
10	Unkai	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Takachiho x F1
11	Yamanami	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from Chinese seedlings
12	Fukumidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yabukita x F1(Sayamamidori x Yabukita)
13	Yaeho	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from seedlings Yaeho, Shizuoka
14	Takachio	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from seedlings, Miyazaki
15	Makinoharawase	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	selection from seedlings, Shizuoka
16	Sayamamidori	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from seedlings, Uji
17	Asatuyu	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Selection from seedlings, Uji
18	Benihomare	<i>C. sinensis</i> var. <i>assamica</i>	Black tea, Selection from India seedlings
19	Hatumomiji	<i>C. sinensis</i> var. <i>assamica</i>	Black tea, Ai2 x NKa05
20	Benitachiwase	<i>C. sinensis</i> var. <i>assamica</i>	Black tea, Ai2 x NKa01
21	Sunmei	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Yutakamidori x NN8
22	Uron-1	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Uron Chinese var. from Taiwan
23	Uron-2	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Uron Chinese var. from China
24	Sriranka	<i>C. sinensis</i> var. <i>assamica</i>	Black tea var. from Sriranka
25	K-1	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Hyangrimsa, Jeonnam
26	K-2	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Seonamsa, Jeonnam
27	K-3	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Daeheungsa, Jeonnam
28	K-4	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Hwaumsa, Jeonnam
29	K-5	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from SSanggyesa, Kyungnam
30	K-6	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Boriam, Kyungnam
31	K-7	<i>C. sinensis</i> var. <i>sinensis</i>	Collection from Keumsansa, Jeonbuk
32	Rosaeflora	<i>C. rosaeflora</i>	Collection by IVT, Makurazaki
33	Oleifera	<i>C. oleifera</i>	Collection by IVT, Makurazaki
34	Miyagii	<i>C. miyagii</i>	Collection by IVT, Makurazaki
35	Japonica	<i>C. japonica</i>	Collection by IVT, Makurazaki
36	Sasanqua	<i>C. sasanqua</i>	Collection by IVT, Makurazaki
37	Hybrid-1	<i>C. sinensis</i> x <i>C. japonica</i>	Crossing line by IVT, Makurazaki

IVT; Institute of Vegetable and Tea Science, Japan, Ai; Native species from India.

Table 8-5. Primer pairs to be available for PCR selective amplification of *Camellia* species.

<i>Ecor</i> I primer	<i>Mse</i> I primer							
	M-CAA	M-CAC	M-CAG	M-CAT	M-CTA	M-CTC	M-CTG	M-CTT
E-AAC	-	+	+	+	+	+	-	+
E-AAG	+	+	+	++	++	+	-	-
E-ACA	+	-	+	+	-	+	-	+
E-ACC	-	-	+	-	+	+	-	++
E-ACG	++	+	+	+	-	+	-	++
E-ACT	++	+	++	+	+	-	-	+
E-AGC	-	+	++	-	++	+	-	+
E-AGG	-	-	+	+	-	+	-	++

-: bad combination of primers for Tea AFLP, +: good combination of primers, ++: better combination of primers.

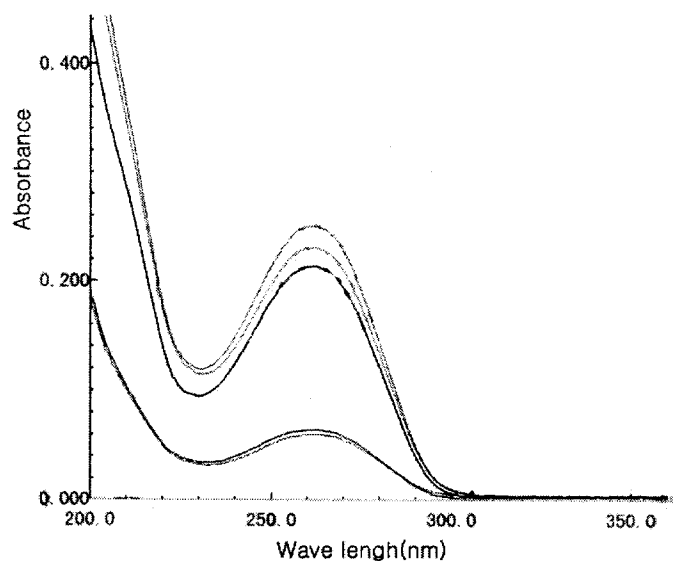


Figure 8-3. Absorbances of DNA Preamplified from genomic DNA of tea using AFLP analysis.

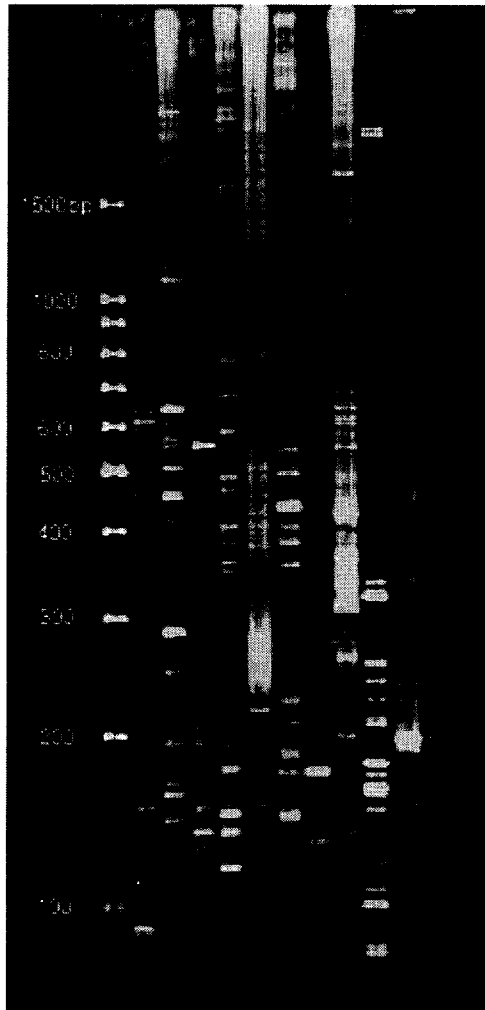


Figure 8-4. AFLP patterns of genomic Tea(Yabukita) DNA with 10 primer combinations. The primer combinations used were from left to right: 1. E-AAC + M-CTT, 2. E-AAG + M-CAG, 3. E-ACT + M-CAG, 4.. E-AGC + M-CTG, 5. E-ACA + M-CAC, 6. E-AGG + M-CAC, 7. E-AGG + M-CTT, 8. E-AGC + M-CTT, 9. E-ACG + M-CTA, 10. E-ACT + M-CAT(E and M indicate *EcorR* I and *Mse* I respectively). The molecular weight size range of the fingerprints is 40-1000 nucleotides.

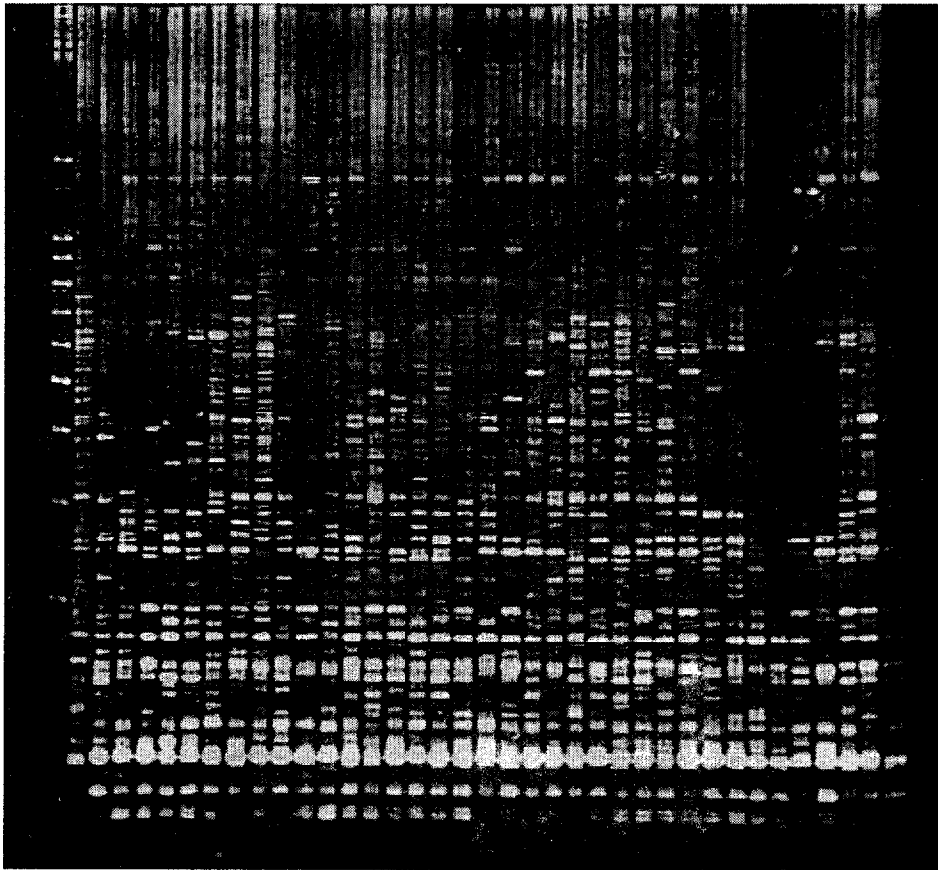


Figure 8-5. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-AAC + *Mse* I-CTT'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides. The polymorphism of DNA is shown higher than another primer combinations.

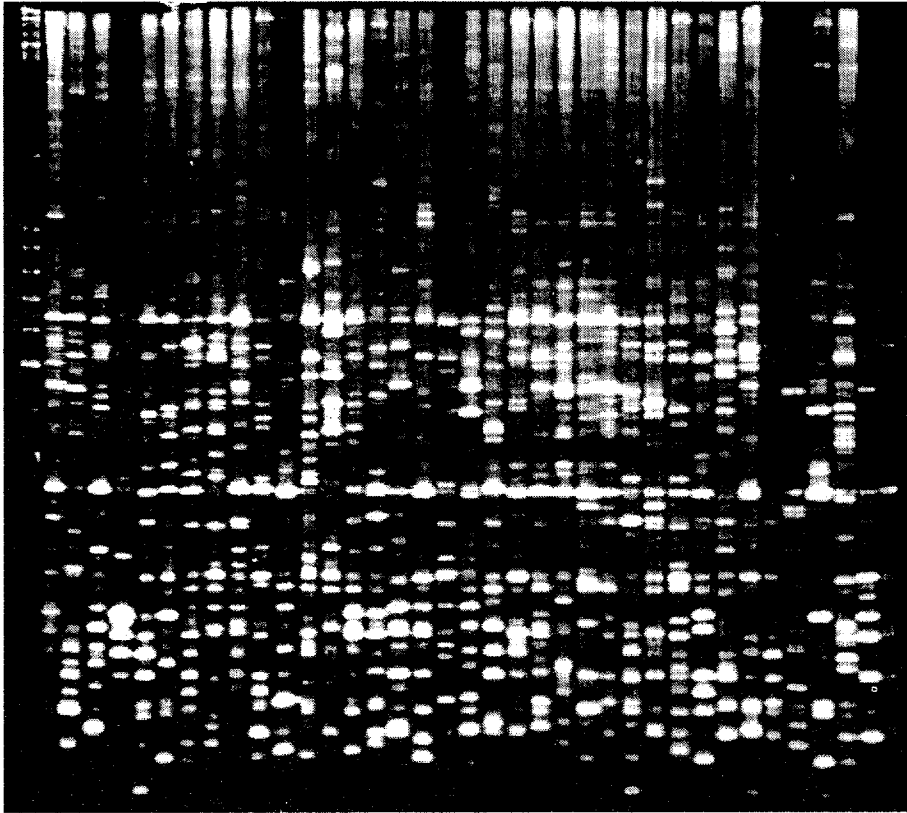


Figure 8-6. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-AAG + *Mse* I-CAG'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

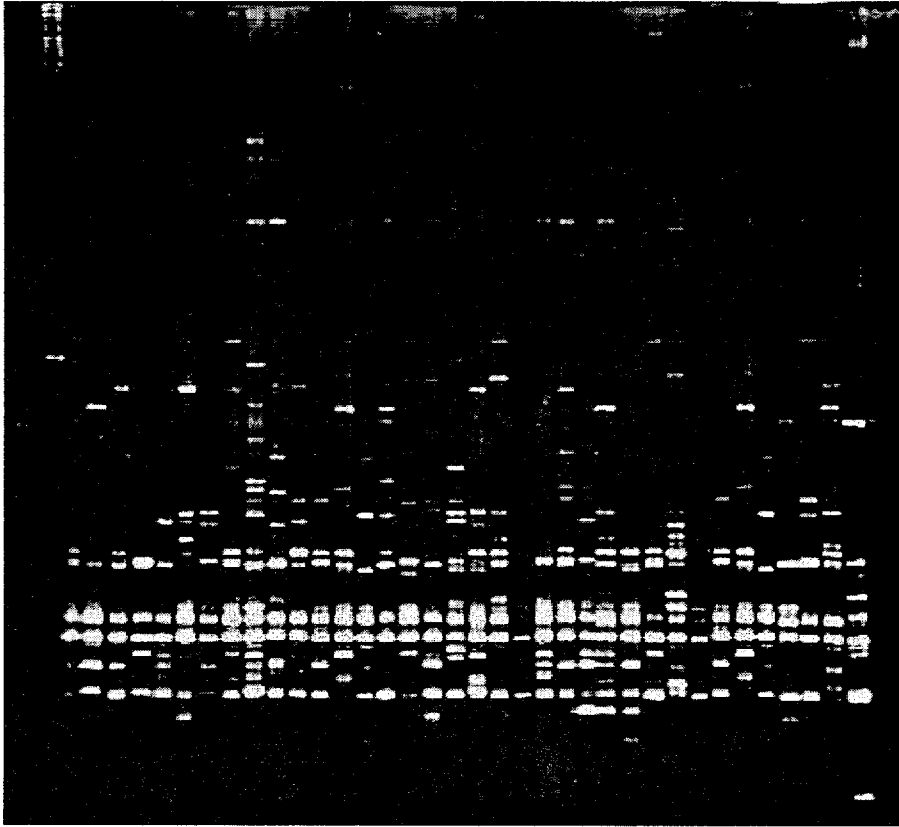


Figure 8-7. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-ACT + *Mse* I-CAG'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

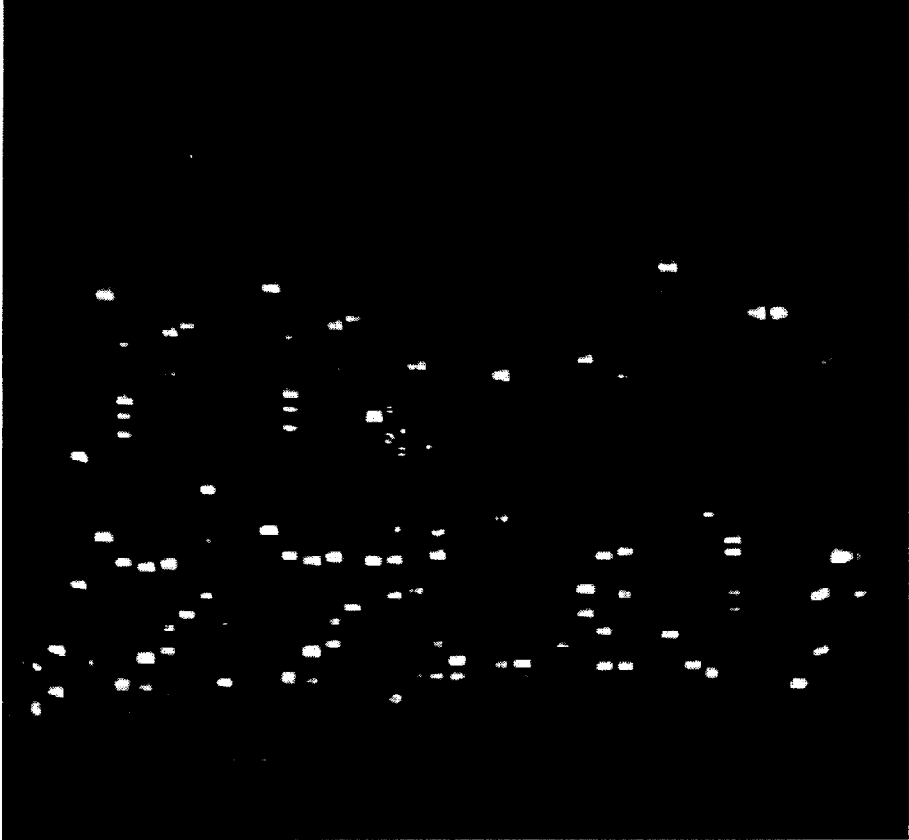


Figure 8-8. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor*I-AGC + *Mse*I-CTG'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

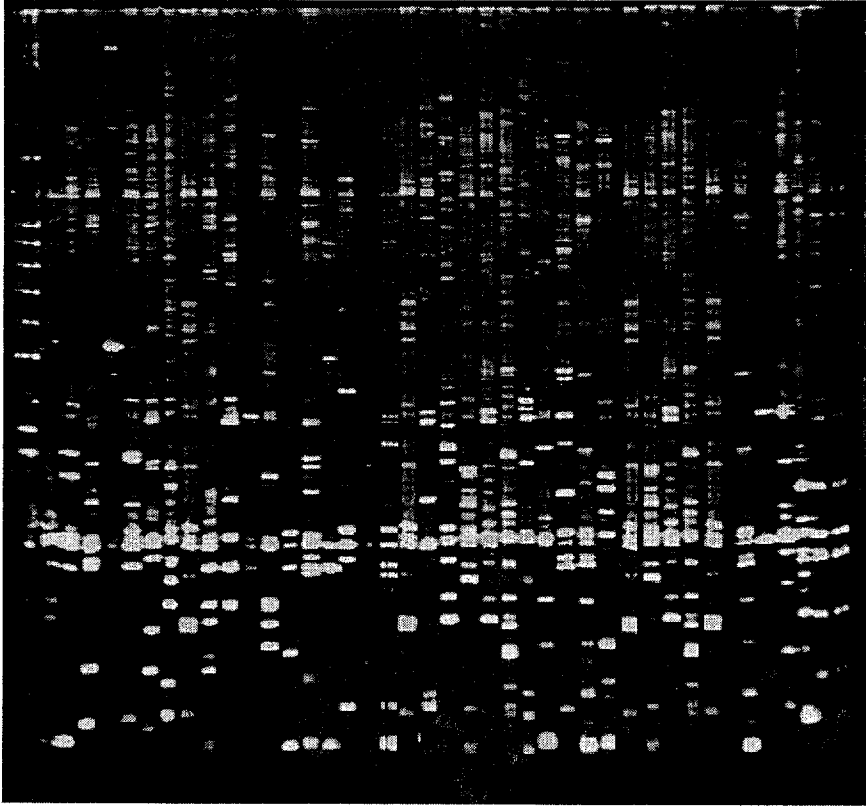


Figure 8-9. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-ACA + *Mse* I-CAC'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

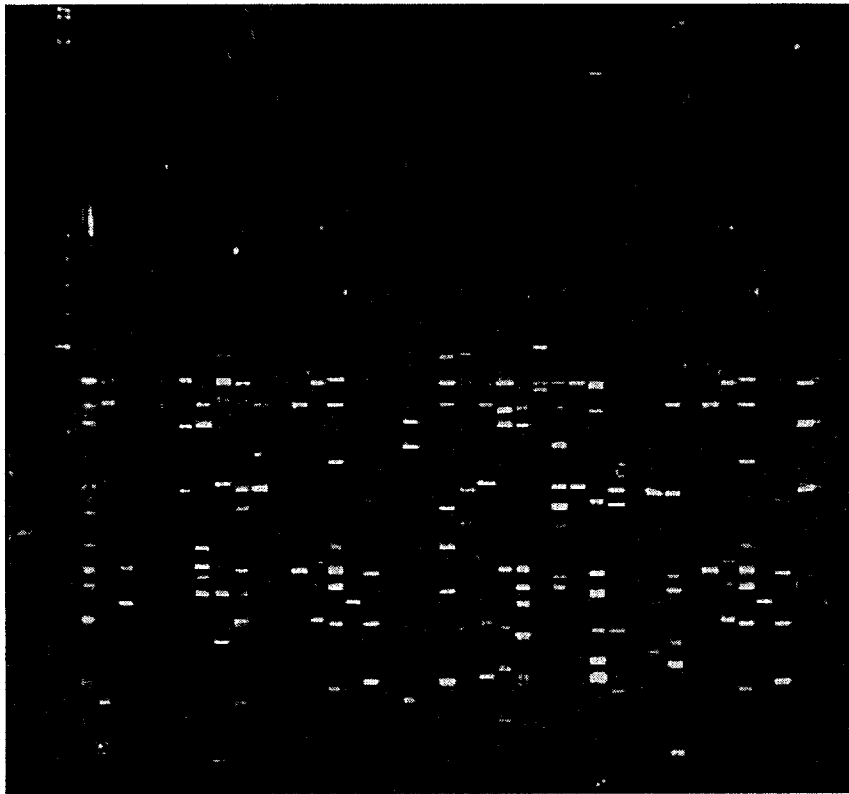


Figure 8-10. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-AGG + *Mse* I-CAC'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

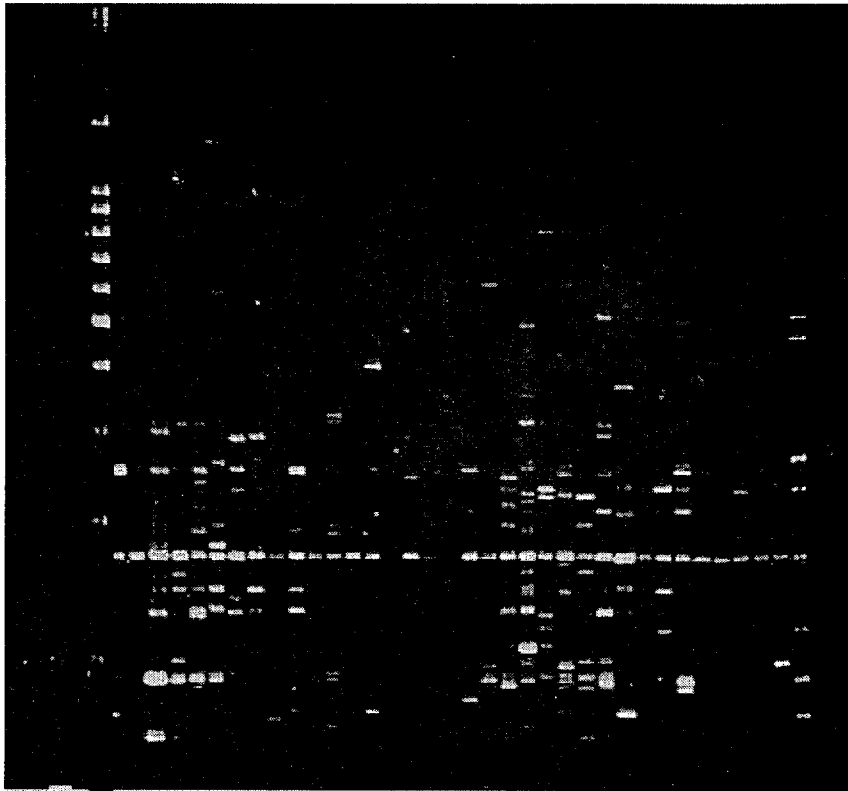


Figure 8-11. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-AGG + *Mse* I-CTT'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

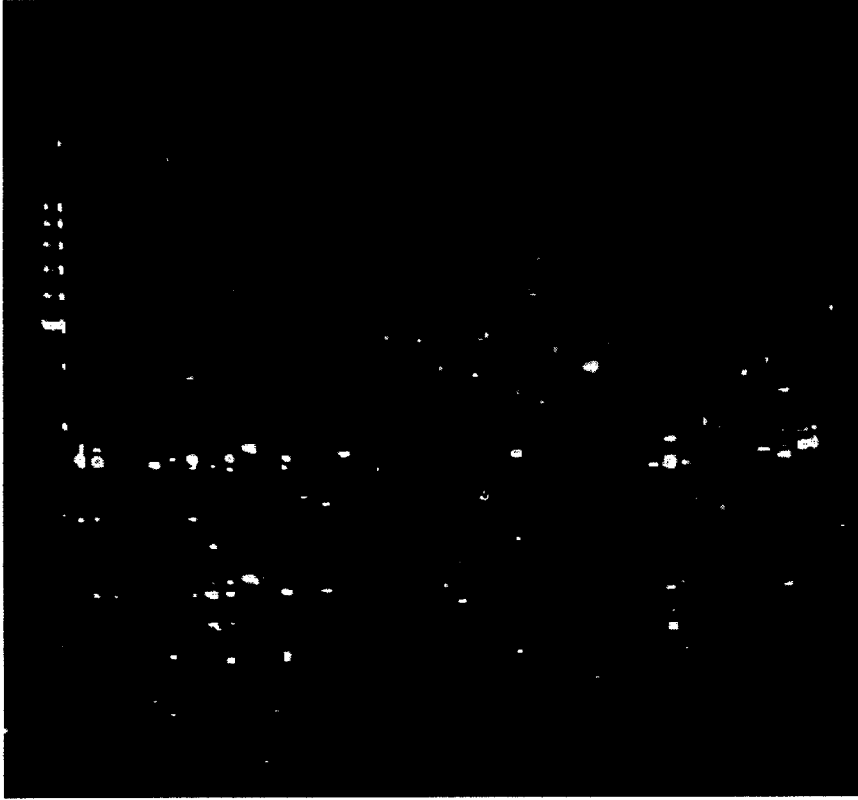


Figure 8-12. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-AGC + *Mse* I-CTT'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

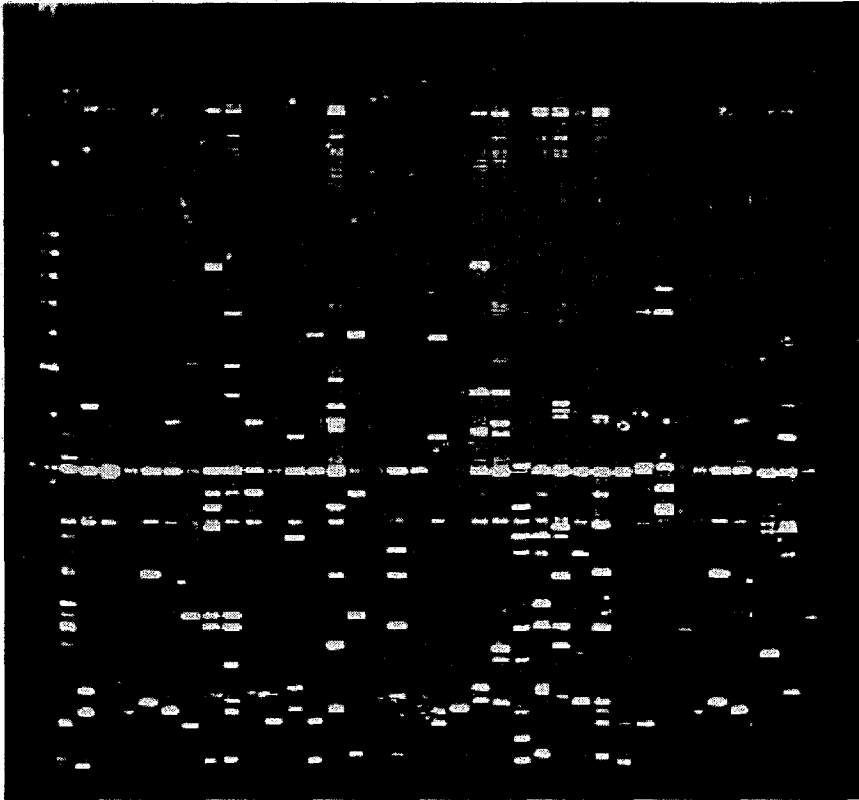


Figure 8-13. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-ACG + *Mse* I-CTA'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

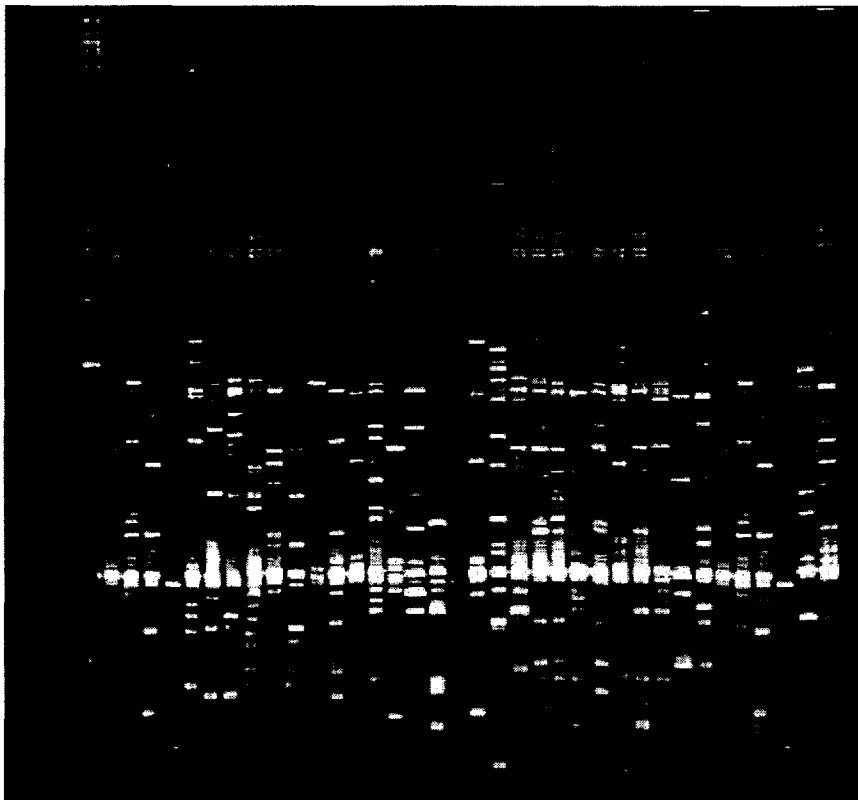


Figure 8-14. AFLP patterns of tea DNA using a primer combination '*Ecor* I-ACT + *Mse* I-CAT'. The molecular weight size range of the fingerprints is 40-600 nucleotides.

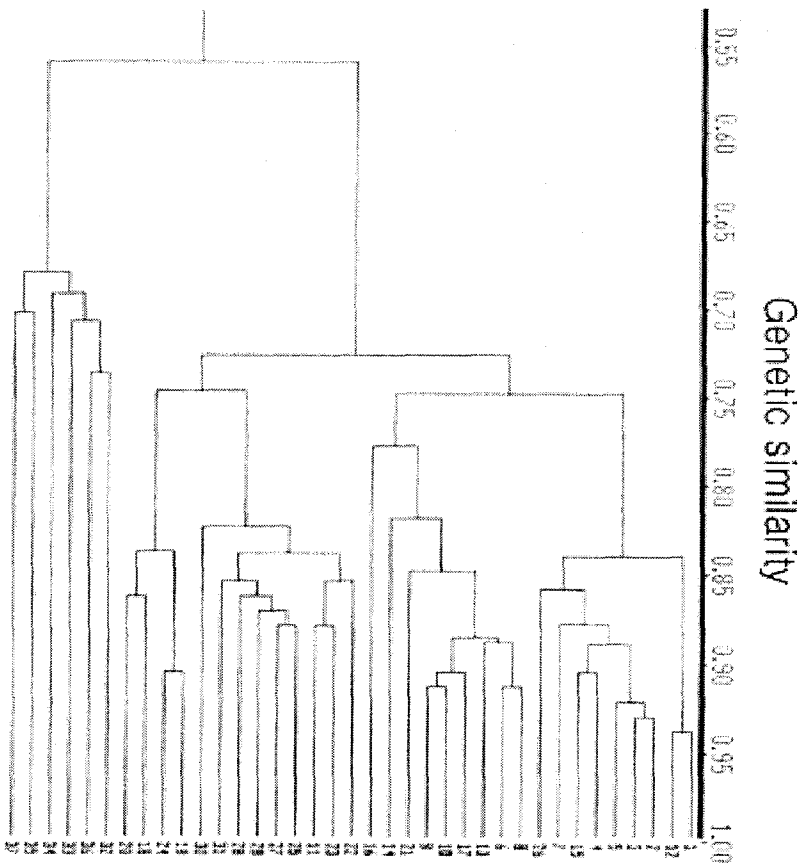


Figure 8-15. Dendrogram based on the UPGMA cluster analysis of genetic relationship among 37 accessions of *Camellia sinensis* varietes and *Camellia* species. Scale indicates coefficient of similarity. The numbers are accession numbers shown in Table 8-4.

제4절 결론

일본에서 수집한 품종과 재래종 10종의 3년생 차나무를 10본씩 시설하우스에 재식하여 하우스 재배에서 나타나는 형태적 특성, 성장 특성, 번식능력을 조사하였다. 대체적으로 품종 고유의 특성을 하우스 재배에서도 그대로 나타나는 경향이였다. 수세는 대부분 강하고 수형이 개장형이고 많고 직립형은 Meiryoku, Saemidori, Yabukita였다. 잎이 큰 품종은 장타원형인 Meiryoku(122.4mm)와 Yabukita(115mm)였고 작은잎은 재래종(72.5mm)과 Fushun(87.5mm)이였다. 조기생산성의 지표가 되는 맹아기가 빠른 품종은 Makinoharawase(4월6일), Saemidori(4월8일)였으며 늦은 것은 재래종(4월20일)과 Okumidori(4월19일)였다. 신초길이는 품종별로 127.1mm~164.4mm의 범위에 속하며 Meiryoku가 가장 길고 재래종이 짧았다. 신엽은 3-4장이었고 잎은 53.8 x18.9mm~79.4x24.6mm의 범위에 속하고 큰 품종은 성숙엽에서와 마찬가지로 Meiryoku와 Yabukita였다. 분지수는 2.0~3.0의 범위였다. 백아종은 수확량에 영향을 주는 요소라고 할 수 있는데 재래종이 33.5g인 것에 비하면 다른 품종은 55.9~72.7g에 분포하고 있었다. 발근율이 높은 품종은 Meiryoku(92.7%), Saemidori(86.1%) Yabukita(85.3%)였다. 하우스재배에 적응성을 나타내는 품종은 조기생산성에서 Saemidori, 다수확성에서는 Meiryoku와 Yabukita였다.

37개 차 품종 및 동백속 식물의 AFLP분석 결과 *EcoRI* 과 *MseI* 의 64 primer 조합중 10개조합의 primer로 최종 selective PCR 증폭을 실시하였는데 *EcoRI* AAG primer와 *MseI* 의 CAG primer 조합에서 다형성(Polymorphism)이 가장 높았고 *EcoRI* ACT primer와 *MseI* 의 CAG primer 조합에서 다형성이 가장 낮았다. cluster 분석한 결과는 5개 그룹으로 나누어지며 하우스 재배종은 주로 Yabukita group에 속하는 것으로 나타났다. 특이적 밴드의 출현은 Fushun 품종에서 많이 나타났다.

제 9 장 시설재배의 생산성 및 차 성분의 분석

제1절 서론

상록성 관목인 차나무의 생산물은 신초로 구성은 눈, 어린잎과 줄기로 되어 있다. 연간 수확은 4회까지 가능하나 보통 세물차까지 수확한다. 생산량은 시기별로 차이가 있지만 같은 시기라 할지라도 어느부위까지 채취하는가에 따라 수확량이 달라질 수 있다. 신초부위를 확대할수록 생산량은 늘어나지만 품질은 떨어지게 된다(김종태, 1996). 그러므로 수확시기는 언제하고 어느부위까지 채취할 것인가는 생산량과 품질에 따른 가격의 관계에서 결정되어진다고 볼 수 있다. 차 시설재배에서는 조기 생산성이 비증을 크게 차지하는 다른 작물과 달리, 품질의 우수성이 보다 고려되어야 할 사항이라고 생각할 수 있다. 수확시기별로 보면 첫물차의 비중이 가장 크다. 품질이 양호한 차를 생산하기 때문이다. 시설재배에서는 차재배 수익에서 비중이 높은 첫물차 생산에서 수확량을 높일 수 있는 점에서 경쟁력을 확보할 수 있다. 현재 우리나라 연간 평균생산량은 일본의 절반정도 수준인 것으로 것으로 알려져 있다(최형국, 1997). 이것은 품종의 선택과 재배방법에서 생기는 차이라고 생각한다. 그만큼 품종의 선택이 중요함을 시사하는 점이다. 시설재배에서는 노지재배와 다른 환경관리가 이루어지므로 이에 적합한 품종을 육성할 필요가 있다. 우선 가능한 것은 기존의 품종중에서 적응성이 있는 품종을 고르는 것이라고 할 수 있다. 조기생산성, 다수확성, 고온적응성, 품질의 우수성이 고려되어야 할 요소들이다. 차는 기호식품으로 이용되기 때문에 차 품질은 맛에 관한 성분에 좌우된다고 한다. 그리고 차에는 우리의 건강에 효과적으로 작용하는 기능성 성분이 많은 것으로 알려져 있다. 아미노산, 카테킨, 비타민C, 불소, 등이 그것이다(村松敬一朗, 1991). 이들 성분은 재배 시기, 방법에 따라서 달

라진다. 특히 이 중 맛을 좋게 느끼게 하는 성분은 아미노산과 테아닌으로 알려져 있다(박장현외, 1996). 시설재배에서 생산되는 차가 어떤 성분의 변화를 가져 오는지를 파악함으로써 소비자의 기호에 맞는 품질의 차를 생산하는데 필요한 정보를 제공할 수 있다.

시설재배에서 차 재배가 수익성과 연결될 수 있도록 하기 위해서 생산성을 시기별, 품종별로 조사하여 노지재배와 비교하고, 차 성분중 주요성분으로 전질소, 유리아미노산, 테아닌, 카페인, 카테킨, 회분, 비타민 C를 근적외분광 분석을 통하여 알아 보았다. 그리고 카테킨을 종류별로 HPLC를 사용하여 분석하였다.

제2절 연구 방법

1. 시설재배의 생산성

142m²(43평)면적에 180x30cm 간격으로 심어진 6년생 차나무를 각 품종당 10본씩을 생산성의 조사 대상으로 하였다. 품종은 Fushun, Meiryoku, Okumidori, Saemidori, Yabukita와 재래종으로 6종이었다. 가온은 1월5일부터 실시하였고 처음 10일간은 야간 13℃를 유지하고 다음은 야간온도 10℃를 유지하도록 하였다. 그리고 주간온도가 35℃가 넘지 않도록 환기하였다. 채엽은 출개율이 70%에 달했을 때 실시하였다. 첫물차는 조생종인 Saemidori를 3월 20일, 중생종인 Fushun, Meiryoku, Yabukita를 3월25일, Dkumidori와 재래종을 3월31일에 수확하였다. 두물차는 5월 20~30일 사이에 수확하였다. 세물차는 7월 19~30일에 채엽을 실시하였다. 수량은 주당 생산량을 측정하여 10a당 1800본으로 계산하여 10a당 생산량으로 환산하였다. 포장에 심어진 Meiryoku, Yabukita, 재래종을 대조구로 하였다.

2. 시설재배의 차 성분분석

분석에 이용된 차는 하우스에서 재배하고 있는 6종류의 차와 노지에서 재배하고 있는 2개 품종이다. 시료를 채취한 시기는 첫물차가 3월20-30일, 두물차가 5월15-20일, 세물차가 7월19일이었다. 포장에서는 첫물차를 5월10일에 두물차를 7월 15일에 세물차를 9월 10일에 채취하였다. 한번에 채취하는 채취량은 품종당 100g씩으로 하였고 채취한 시료는 -70℃의 deep freezer에 보관하였다. 보관된 시료를 분석하기 직전에 꺼내어 70℃의 dry oven에서 12시간 건조시킨 후, 막자사발로 분쇄하고 60 mesh체에 통과시킨 분말시료를 분석에 사용하였다. 성분 분석은 근적외분광도계(NIR spectro- photometer, Model 6500 FOSS NIRsystems, USA)로 실시하였다. 분석내용은 전질소, 전유리아미노산, 테아닌, 카페인, 카테킨, 회분, 비타민 C 였다. 근적외분광분석 스펙트럼은 400~2500nm범위에서 측정하였다. 분쇄한 시료 5g을 standard sample cup에 채운 후 실온에서 scanning한 후 얻은 스펙트럼을 분쇄정도 즉 입도의 차이에서 오는 산란을 보정하였다. 그리고 각 성분으로 부터의 중첩에서 기인하는 오차를 최소화하기 위해 1차 미분으로 스펙트럼을 처리하여 각각의 성분에 대한 calibration을 실시하였다. 실험치와 NIR data 모집단과의 상관관계에 관한 통계분석은 Infracsoft International Software WINISIⅡ(version 1.04)로 하였다.

카테킨 성분을 종류별로 분석하였다. 시료는 건조시킨 sample로 100mg을 채취하였다. 추출과정은 시료를 100 ml 증류수에 넣고 80℃에서 30분간 온탕 추출 후 여과시키고 이 중 10 ml를 취하여 chloroform으로 3회 정제하고 10 ml ethyl acetate 로 분획하였다. 다음 1 ml 메탄올에 용해시킨 후 0.45 um membrane filter와 C₁₈ 카트리지로 여과시켜 10 μl 분획분을 HPLC로 분석하였다. HPLC(Waters M244, USA) 분석조건은 column: HiQ sil-C₁₈ (4.6mm I.D.x150mm), 이동상: 20 mM KH₂PO₄/CH₃CN=85/15, 유속: 1.0 ml/min, 검출기:

280 nm, column 온도: 40℃였다.

제3절 연구결과 및 고찰

1. 시설재배의 생산성

각 품종별 첫물차에서 세물차까지의 하우스재배에서 생산량은 표 9-1과 같다. 그리고 노지에서 생산량은 표 9-2와 같았다. 녹차의 생산량은 채엽시기와 채엽부위에 따라서 달라질 수 있다. 채엽시기가 늦어질수록, 채엽부위가 아래 앞으로 내려갈수록 생산량은 많아지나 품질이 떨어진다. 보통 출개율이 50~80%에서 실시하나 이 실험에서는 70%정도에서 수확을 실시하였다. 채엽부위는 정아아래 2-3개엽 즉 1심2-3엽을 수확하였다. 가장 이르게 수확한 것은 Saemidori로 3월 20일에 하였고 가장 늦은 것은 Okumidori와 재래종으로 3월 31일에 하였다. 전체적으로 수확량이 많은 것은 Meiryoku로 첫물차 415kg/10a, 두물차 537kg/10a, 세물차 542kg/10a으로 총 1,494kg/10a을 생산하였다. 다음이 Saemidori (1,280kg/10a), Yabukita(1,272kg/10a)였다. 가장 적은 것은 재래종 728kg/10a으로 Meiryoku 생산량의 절반이하에 불과하였다. 품종간의 생산량의 차이가 많아 하우스재배의 적응성에서 차이가 있는 것으로 생각되었다. 비교적 적응성이 좋은 품종은 Meiryoku, Saemidori, Yabukita였다. 노지에서는 Meiryoku와 Yabukita를 5월 15일에 첫물차 수확을 할 수 있었다. 연간 수량은 각각 1060kg/10a과 947kg/10a이었다. 하우스 재배에서 생산효과는 Meiryoku가 약 41%, Yabukita가 34%의 증수를 갖어 오는 결과를 보였다. 우리나라의 연간 평균생산량이 625kg/10a에 불과하는 것에 비교하면(최형국 1997), 우수품종의 선택과 하우스재배를 통해서 약 2.4배 증수할 수 있음을 보여 주었다. 더욱이 하우스재배를 통하여 조기생산의 경우, 두물차의 수확시기가 노지재배의 첫물차에 해당하므로 가격면에서 훨씬 유리한 첫물차 시기에 2회 수확하는 효과를 갖어오는 것이다(그림 9-1). 실제 경제면에서

Meiryoku의 경우, kg당 12,000원으로 계산하면 10a당 조수익이 17,928천원으로 노지재배보다 2.3배의 수익이 얻어지는 결과를 얻었다(그림 9-1).

Table 9-1. Comparison of fresh tea yield among varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	1st harvest (kg/10a)	2nd harvest (kg/10a)	3rd harvest (kg/10a)	Total (kg/10a)
Fushun	246	341	417	1,004
Meiryoku	415	537	542	1,494
Okumidori	327	338	316	981
Saemidori	401	393	486	1,280
Yabukita	378	412	482	1,272
Native tea	205	238	285	728
Mean	281.8	323.0	361.5	966.3

Table 9-2. Fresh tea yields of plants cultivated in field.

Varieties	1st harvest (kg/10a)	2nd harvest (kg/10a)	3rd harvest (kg/10a)	Total (kg/10a)
Meiryoku	307	379	374	1,060
Yabukita	275	331	341	947
Native tea	195	226	254	675
Mean	259	312	323	894

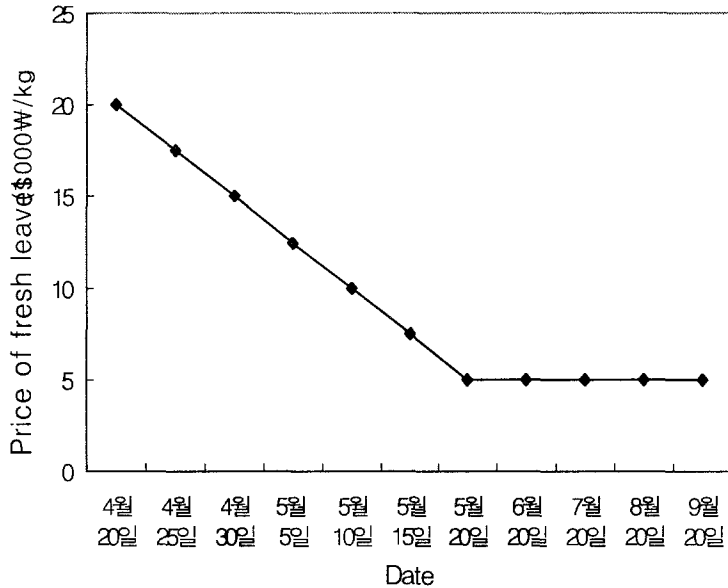


Figure 9-1. Seasonal Change of prices of fresh tea leaves during 2001.

2. 시설재배의 차 성분분석

하우스에서 재배한 6종의 차를 첫물차, 두물차, 세물차의 시기별로 채엽하여 NIRs으로 분석한 결과는 표 9-3, 표 9-4, 표 9-5와 같다. 전질소 함량은 3.87~6.26%범위에 속하고 세물차에서 평균적으로 많아 5.61%였다. 유리 아미노산은 1.98~4.26%범위로 함유되어 있고 첫물차에서 많아 평균이 3.13%였으며 품종으로는 Fushun(4.26%)이 많았다. 테아닌의 범위는 0.83~2.31%로 첫물차에서 많고 횃수로 갈수록 낮아졌으며 Fushun(2.31%)에서 많았다. 아미노산과 테아닌이 많으면 감칠 맛을 느끼게하며 고급 녹차일수록 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(山西貞, 1992). 아미노산은 온도가 낮은 곳에서 많이 생성되고 테아닌은 일조량이 적은 곳에서 많아지는 것으로 알려져 있어, 하우스 재배에서 많아지는 것은 일치되는 현상이라고 할 수 있다(Nagata and

Sakai, 1984). 카페인의 함량은 2.26~3.82%범위에 속하고 세물차에서 많았으며 Okumidori(3.641%)에 많고 재래종(2.26%)에 적게 함유되어 있었다. 각성제인 카페인은 적을수록 건강에 좋다고 한다면 조기생산 차를 고급화하는 방향과도 일치하는 결과라고 할 수 있다. 여러 가지 기능성(Shin and Seto, 1997, Ogumi and Yamada, 1997)으로 주목을 받고 있는 카테킨은 10.33~13.85%범위에 속하며 세물차(12.90%) > 두물차(12.59%) > 첫물차(11.57%) 순으로 함량이 많았다. 카테킨이 많으면 떫은 맛과 풋내를 느끼게 해서 맛을 떨어뜨리는 결과를 가져오므로 알맞은 양을 요구하고 있다. 회분은 11.54%~23.05% 범위에서 함유되어 있고 세물차(14.40%)에서 현저하게 적게 나타났다. 비타민 C는 수확이 늦어질수록 증가하는 경향이었으나 50.709mg/g에서 225.516mg/g까지 변화폭이 큰 것으로 나타났다. 표 9-6은 묵은 잎의 화학성분 조성을 나타낸 것이다. 새순과 비교하면 회분(21.74%)이 많고, 비타민 C(327.223mg/g)가 상당히 많았으나 다른 성분은 현저하게 적은 것으로 나타났다. 최정(2001)의 NIR분석에서도 묵은잎은 전질소, 아미노산, 탄닌, 카페인 성분이 새순에 비해서 적게 검출되었다. 차제품에서는 유리아미노산(3.71%)과 테아닌(1.95%)성분이 높게 분석되었다(표 9-7). 포장에서 재배된 Meiryoku와 재래종 차의 성분을 분석한 결과는 표 9-8과 같다. 하우스재배 차와 비교할 때, 회분이 많고 카페인 성분이 많은 것으로 나타났으나 나머지 성분은 적게 분석되었다.

표 9-9는 카테킨 종류의 함량을 시기별, 품종별로 구분해서 분석한 결과이다. 그림 9-2는 Meiryoku의 두물차에서 추출한 카테킨의 HPLC 결과이다. 수확이 늦을수록 전체 카테킨 함량이 높은 비율로 증가하는 것으로 나타나서 평균적으로 볼 때 첫물차가 6.934%, 두물차가 13.038%, 세물차가 21.291%로 증가하였다. 이것은 카테킨이 일조량과 온도의 영향으로 증가하고 있다는 다른 보고와도 일치하는 결과이지만 증가량이 상대적으로 많은 것은 하우스의 고온의 영향으로 생각된다. 카테킨의 구성물중에서도 기능성이 뛰어난 것으로 알려

진 (-)EGCg 함량의 증가폭이 다른 성분보다 현저한 것으로 나타나고 있다(Ogumi and Yamada, 1997). 첫물차에서 총카테킨중 차지하는 비율이 첫물차에서는 44.3%, 두물차에서는 58.2%, 세물차에서는 63.5%로 여름으로 갈수록 증가폭이 커졌다. 이 결과는 하우스에서 후반기 차생산은 카테킨의 기능성을 이용해서 첨가물로 사용하고자 할 때 고농도 카테킨 생산에 효과적일 수 있다는 점을 시사하는 결과라고 할 수 있다. 만생종인 Okumidori, 재래종에서 많은 양이 추출되었다.

하우스재배에서 조기생산인 첫물차의 아미노산과 테아닌 함량이 높고, 카페인과 카테킨 함량이 낮은 것은 것은 품질면에서 우수한 녹차를 생산할 수 있다는 점을 시사하는 점이라고 할 수 있다. 여름 수확기에 이르는 세물차에서는 상대적으로 질이 떨어지는 경향이었으나 노지재배에서 생기는 현상과 그렇게 큰 차이가 나타나지는 않았다.

Table 9-3. Comparison of chemical components of the first plucking shoots among tea varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Fushun	6.263	4.262	2.312	3.652	10.333	12.457	75.839
Meiryoku	5.825	3.509	1.936	3.542	10.728	14.212	96.049
Okumidori	4.306	2.215	1.020	2.363	12.221	21.709	203.439
Saemidori	5.601	3.184	1.700	3.328	11.513	15.343	116.332
Yabukita	6.138	3.678	2.046	3.824	11.925	11.545	50.709
Native tea	3.872	1.989	0.831	2.269	12.724	23.054	198.143
Mean	5.334	3.139	1.640	3.163	11.574	16.386	123.418

Table 9-4. Comparison of chemical components of the second plucking shoots among tea varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Fushun	5.311	2.430	1.487	3.502	13.400	15.832	72.955
Meiryoku	5.224	2.593	1.180	2.902	12.057	17.843	187.173
Okumidori	5.339	2.549	1.551	3.534	13.438	15.373	56.379
Saemidori	5.601	3.184	1.700	3.328	11.513	15.343	126.332
Yabukita	5.054	2.958	1.221	2.741	12.180	16.720	225.516
Native tea	4.976	2.081	1.267	3.221	12.964	17.799	151.363
Mean	5.250	2.632	1.401	3.081	12.592	16.485	136.619

Table 9-5. Comparison of chemical components of the third plucking shoots among tea varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Fushun	5.603	2.943	1.221	3.431	13.342	14.423	167.091
Meiryoku	5.959	3.423	1.528	3.731	12.883	12.476	131.200
Okumidori	5.381	2.492	1.175	3.641	13.857	14.453	154.244
Saemidori	5.696	3.296	1.454	3.188	11.997	14.948	188.036
Yabukita	5.540	3.014	0.899	3.239	12.174	14.982	144.118
Native tea	5.481	2.989	1.508	3.300	13.195	15.162	174.974
Mean	5.610	3.026	1.297	3.421	12.908	14.407	159.943

Table 9-6. Comparison of chemical components of mature old leaves among tea varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Fushun	4.551	1.696	1.434	1.836	9.338	21.950	329.131
Meiryoku	4.612	1.334	0.681	2.262	9.846	21.386	286.130
Okumidori	4.683	1.994	1.812	1.938	7.971	22.215	345.299
Saemidori	4.410	1.028	0.399	1.923	11.231	22.112	293.628
Yabukita	4.651	1.493	0.699	2.162	9.506	21.444	335.326
Native tea	4.893	2.212	0.947	1.866	8.382	21.340	373.824
Mean	4.633	1.626	0.995	1.997	9.379	21.741	327.223

Table 9-7. Comparison of chemical components of manufactured green teas among tea varieties cultivated in greenhouse.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Meiryoku	6.059	3.553	1.932	3.607	13.275	12.838	268.095
Saemidori	5.932	3.954	1.990	3.129	10.930	15.537	398.448
Yabukita	5.681	3.422	1.708	3.150	12.070	15.867	292.982
Native tea	6.279	3.940	2.209	3.927	12.527	13.039	122.956
Mean	5.987	3.717	1.959	3.453	12.200	14.320	270.620

Table 9-8. Contents of chemical components of old leaves and shoots in tea plants cultivated in field.

Varieties	T-nitrogen (%)	T-free amino acid(%)	Theanine (%)	Caffeine (%)	Catechin (%)	Ash (%)	Vitamin C (mg/g)
Shoots of Meiryoku	4.409	0.951	0.875	3.207	11.441	19.999	67.870
Old leaves of Meiryoku	4.278	1.256	0.491	1.477	8.538	23.983	333.237
Shoots of Native tea	5.070	1.757	1.239	3.338	11.995	16.949	124.980

Table 9-9. Compositions of Catechin in 6 varieties of tea.

Order	Varieties	(-)EGC (%)	(+)C (%)	(-)EC (%)	(-)EGCg (%)	(-)ECg (%)	Total (%)
First Plucking	Fushun	2.024	0.242	0.363	1.501	0.667	4.797
	Meiryoku	0.852	0.121	0.325	2.756	0.541	4.595
	Okumidori	2.405	0.264	0.984	4.268	1.131	9.052
	Saemidori	1.871	0.275	0.716	3.286	0.937	7.085
	Yabukita	1.673	0.229	0.456	2.725	0.879	5.962
	Native tea	3.173	0.288	1.270	3.895	1.490	10.116
	Mean	2.000	1.419	0.686	3.072	0.941	6.934
Second plucking	Fushun	2.050	0.354	0.693	6.580	1.868	11.545
	Meiryoku	2.087	0.250	1.350	7.848	1.623	13.158
	Okumidori	2.464	0.464	0.993	8.200	1.946	14.067
	Saemidori	2.398	0.525	0.489	7.562	0.652	11.626
	Yabukita	2.668	0.329	1.874	8.947	1.470	15.288
	Native tea	2.891	0.241	1.032	6.449	1.930	12.543
	Mean	2.426	0.360	1.072	7.598	1.581	13.038
Third plucking	Fushun	3.107	0.633	2.320	14.002	3.004	23.066
	Meiryoku	2.107	0.638	1.381	12.449	2.685	19.26
	Okumidori	2.767	0.471	1.489	14.520	2.815	22.062
	Saemidori	1.880	0.130	1.128	12.341	1.865	17.344
	Yabukita	4.357	0.509	2.105	12.729	2.857	22.557
	Native tea	2.516	0.489	1.873	15.163	3.415	23.456
	Mean	2.789	0.478	1.716	13.534	2.773	21.291

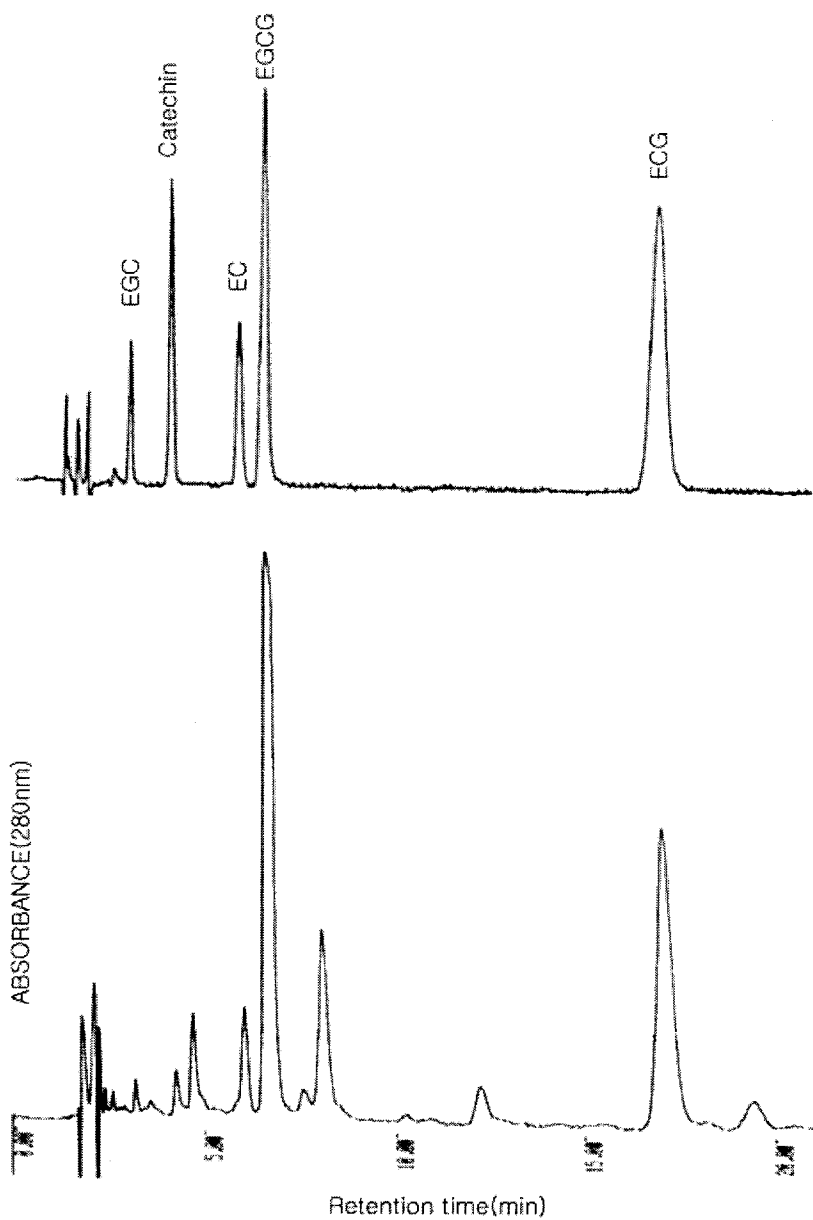


Figure 9-2. HPLC chromatogram of catechin of 2nd shoots during greenhouse cultivation of Meiryoku.

Upper: Standard catechin containing 50mg/100g

Low: Catechin of Meiryoku

제4절 결론

하우스에 가온을 1월부터 실시한 결과 3월20일에 채엽이 가능하였다. 노지 재배에서는 5월10일에 수확하게 되어 50일 앞당기는 효과를 가져왔다. 수량은 Meiryoku가 첫물차에서 415kg/10a 두물차는 537kg/10a, 세물차는 542kg/10a을 생산하여 총 1,494kg/10a을 생산하였다. 노지재배에서 총 1060kg/10a을 생산하여 하우스 재배로 약 41% 증수하는 효과를 가져왔다. 우리나라 평균생산량에 비교하면 2.4배 증수되는 결과였다. 경제성에 있어서는 질이 좋은 조기 생산량이 많아 kg당 12000원으로 계산하면 10a당 17,928천원의 수익이 예상되어 노지재배보다 2.3배의 수익증대를 가져오고 있다.

하우스에서 재배하는 차 품종들의 맛과 기능성에 관여하는 화학성분들을 근적외분광분석법을 이용하여 분석하였다. 새순에서 분석한 결과를 보면, 전질소는 3.87~6.40%, 유리 아미노산은 0.98~4.26%, 테아닌은 0.83~2.65%, 카페인은 2.26~3.92%, 카테킨은 10.33~13.85%, 비타민 C는 50.1~225.516mg/g, 회분은 11.54~23.05% 범위의 함량을 나타냈다. 첫물차는 두물차, 세물차에 비해서 전질소, 유리 아미노산, 테아닌 함량이 높았고, 카페인, 카테킨 함량이 적게 나타났다. 한국 재래종을 일본 차품종과 비교하면 카페인과 카테킨이 많고, 유리아미노산과 테아닌이 적었다. 묵은 잎에는 유리아미노산, 테아닌, 카페인, 카테킨이 새 잎보다 적게 함유되어 있는 것으로 나타났다. 전반적으로 하우스에서 조기에 생산된 차는 고급녹차에서 요구되는 아미노산, 테아닌 성분이 많은 것으로 분석되었다. HPLC 분석에서 나타난 총카테킨 함량은 첫물차에서 현저하게 적었고 늦어질수록 평균적으로 증가하였다. 카테킨 종류중에서는 (-)EGCg이 차지하는 비율이 절반이상으로 높고 시기별로 증가폭도 컸다. 하우스재배를 통해서 고농도 기능성 카테킨 생산도 가능하다고 할 수 있는 결과였다.

제 10 장 종합적 시설재배 체계 모델

제1절 서론

시설내에서 작물의 재배는 토양, 온도, 빛, 수분, 가스 등 환경에 관한 지식과 작물의 생리, 생태에 관한 생물학적인 지식을 종합적으로 이용해서, 이 정보를 효율적으로 적용하고 관리할 때 목표를 달성할 수 있다(김기선의, 2000). 그리고 효과적인 재배관리를 극대화하기 위해서 필요한 시설을 설치하게 되는 것이다. 시설재배는 노지재배와 달리 환경요소에 관한 제어가 비교적 가능하므로 재배가들이 공통적으로 이용할 수 있는 표준화된 기술이 있으면 처음 시설재배를 시도하는 재배가에게는 도움이 될 것이다. 시설재배를 위한 시설은 최근 식물공장화를 목표로 빠른 속도로 발전을 거듭해 왔다(Langhans, 1998). 발전 방향은 인간의 노력을 줄이기 위한 기계화, 자동화로 가고 있다. 기계화는 온도관리, 관수, 시비, 방제, 광량조절, 수확면에서 기계를 사용하여 노동력을 줄이고자 하는 시도이며, 자동화는 이들 작업과정을 자동제어 장치에 의해 자동으로 실행하고자 하는 시도라고 한다(장전익, 1998). 우리나라에서는 차 가공에서 기계화는 상당한 수준까지 발전되어 왔으나 차 재배면에서는 뒤져있는 상태라고 할 수 있다. 차 재배의 선진국이라고 할 수 있는 일본에서 차재배 기계화는 다른 작물보다도 상당히 발전해 있는 상황에 비교하면 그 격차가 크다고 할 수 있다(大石千八, 1988). 다른 작물과 재배양식이 다르다고 할 수 있는 차재배의 경우, 어디까지 기계화, 자동화를 할 수 있을 것인지, 어떤 양식의 시설이 필요한지 검토가 필요하다. 그리고 비용을 고려해서 시설의 단계적 설비가 요구된다고 할 수 있다. 차에서 시설재배의 이점을 살리는 방향은 생산성과 품질향상에 맞추어야 된다고 생각한다. 생산성은 노지재배에서 첫물차에 해당하는 시기까지 수확기를 2회 가지

므로 수익성이 높은 시기에 생산량을 늘리는 방법으로 높일 수 있다. 품질은 차광재배를 이용해서 고급차를 생산하는 것이다. 차의 주요 성분은 온도와 광의 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있어 재배 양식에 있어서도 품질에 미치는 영향을 고려해서 재배 설계가 이루어져야 한다고 할 수 있다.

제2절 연구 방법

시설재배에 필요한 시설 및 장비, 적합한 품종 선택, 온도관리, 차광관리, 시비관리, 병해충 방제관리, 탄산가스처리, 수확관리면에서 복합적인 차 시설재배 모델을 수립하였다. 재배면에 있어서는 반자동하우스를 시설했을 때를 기준해서 재배 설계를 세웠다. 이 모델 수립에 필요한 정보는 본 연구에서 얻어진 data, 문헌조사, 현장재배농가의 체험적 지식을 근거로 하였다.

제3절 연구결과 및 고찰

1. 차 시설재배용 시설 모델

일반적으로 시설재배를 위한 시설이 지향하는 목표는 작물재배의 기계화, 자동화와 능률적인 환경조절에 의한 효율화에 두고 있다(장전익, 1997). 재배 시설은 태양광선을 투과시킬 수 있는 자재로 피복한 기본 구조물과 이 구조물 내에서 생산환경의 제요소를 조절하기 위한 기계기구를 포함해서 말하는 것이 일반적이다. 우리나라 시설재배는 주로 원예작물의 주년공급의 추세에 부응하면서 양적, 질적으로 많은 발전을 갖어 왔다. 시설의 발전 방향은 유리 온실화, 대형화, 연동화, 자동화 쪽으로 가고 있다. 차는 가공해서 이용하는 작물이므로 생체나 생과를 이용하는 다른 시설재배 작물과 달리 조기 생산의 수익성이 그다지 높지 않을 것이라고 본다면, 차재배 시설은 다른 각도에서 설비 계획이 세워져야 한다고 할 수 있다. 조기 생산의 경쟁이 치열한 시설원에

작물의 경우는 고비용을 들여서라도 우수한 시설로 고수익의 작물을 생산하고자 하는 경향이 심하나 차 생산의 경우는 조기 생산으로 이루어지는 수익성의 한계가 있으므로 시설에서 비용이 많이 드는 것은 바람직하지 않다. 그래서 저비용, 고효율에 초점을 두고 다음 사항을 고려하여 시설을 설계하도록 하였다(그림 10-1, 10-2, 10-3).

첫째 차성분의 변화에 있어서 과도한 광과 높은 온도는 품질을 저하시키는 결과를 가져오므로 기본 구조물에 있어서 유리온실보다 필요에 따라 노지재배로 전환이 가능한 비닐하우스를 택한다(中山仰外, 1979).

둘째 시설은 재배 규모에 따라서, 수익성에 따라서 단계적으로 확대하도록 한다.

셋째 지중가온과 수막시설로 연료비가 적게 들도록 한다(三原義秋, 1980).

넷째 노동력이 적게 들도록 환기, 관수, 방제, 수확 등이 기계화가 가능하도록 한다.

다섯째 장기적으로는 컴퓨터 제어시스템에 의하여 자동화가 가능하도록 한다(장전익, 1998)

하우스 시설로는 비교적 가격이 저렴한 아연 파이프 $\phi 25\text{mm}$ (기둥은 $\phi 48\text{mm}$) 골조로 반원형 반자동화 비닐하우스를 설계하였다. 폭은 차나무 재식과 견고성을 고려해서 6m로 하고 높이는 4m로 하였다. 환기와 작업의 효율을 고려해서 2 연동이 기본이나 면적에 따라서 다연동도 가능하다고 할 수 있다. 난방 효율을 높이기 위하여 이중 비닐과 이중커튼, 수막장치도 필요하다. 비닐피복은 여름에 감아서 보존하는 방법으로 재활용이 가능하다. 장기적으로 자동제어가 가능하도록 기본시설을 갖추는 필요가 있다.

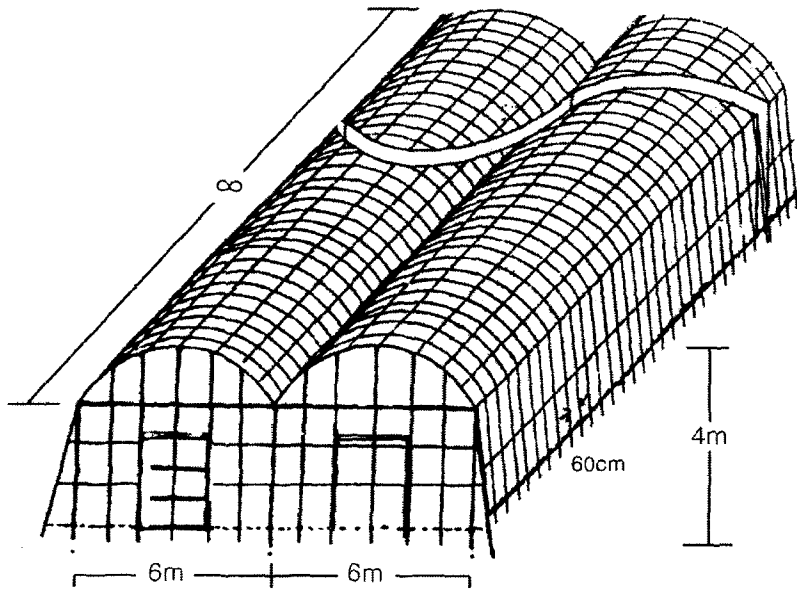


Figure 10-1. A perspective drawing of model greenhouse for tea cultivation.

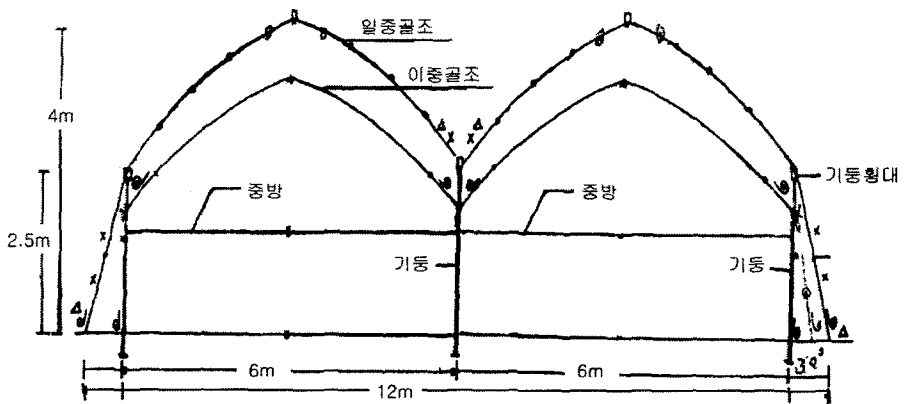


Figure 10-2. The front view of model greenhouse for tea cultivation.

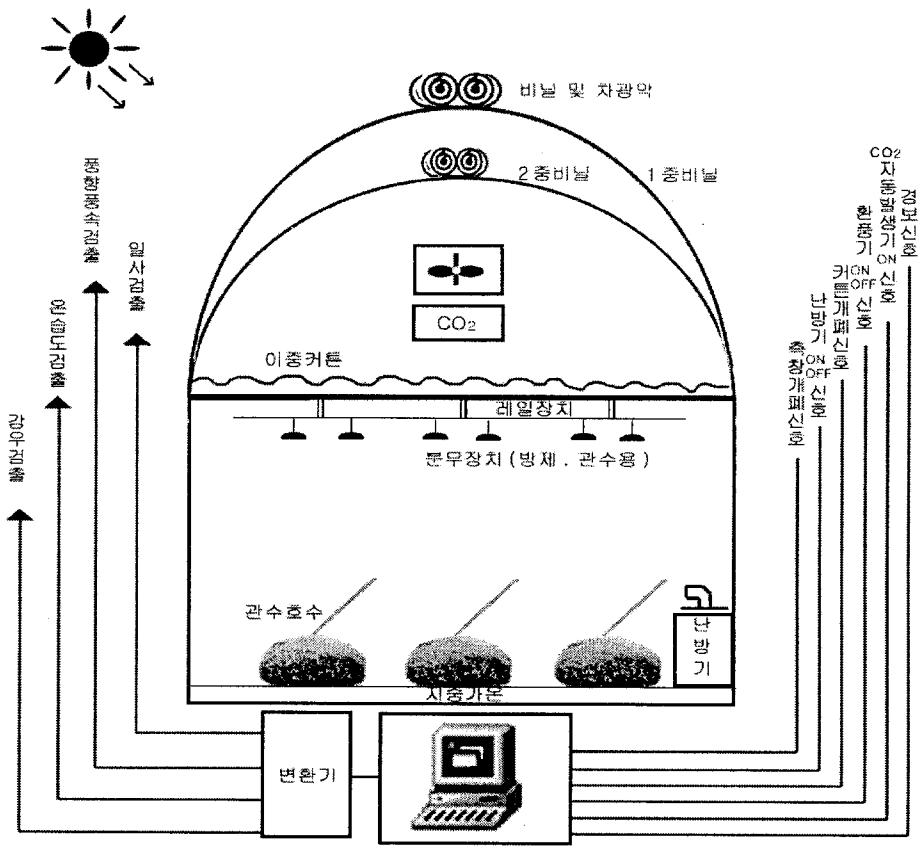


Figure 10-3. A model of greenhouse and facilities for cultivation of tea.

Table 10-1. Facilities for greenhouse cultivation of tea.

시설명	기본시설	1차 추가시설	2차 추가시설	3차 추가시설
반자동화 하우스	_____			
자동개폐시설	_____			
관수시설	_____			
지하가온장치	_____			
지상가온시설	_____			
환기시설	_____			
CO ₂ 발생장치		_____		
방제 및 엽면시비장치		_____		
수동수확기		_____		
수막시설		_____		
녹차냉동보관시설			_____	
기계식수확기			_____	
녹차제조기			_____	
녹차포장시설				_____
자동환경시스템시설				_____
시설 가능 상황	시설재배 개원시 설비	수익이 안정 기에 진입시	차 재배면적 의 확대시	고소득체계 진입시

2. 시설재배의 연중 재배관리 모델

시설재배에서 차생산의 재배관리는 노지재배와 마찬가지로 개원시의 재식, 토양, 시비, 관배수, 방제, 전정, 수확관리가 필요하고 추가로 온도관리, 차 광관리, 탄산시비관리가 필요하다.

하우스재배에 적합한 차 품종은 조기생산성, 다수확성, 품질의 우수성이 우선 요구되는 형질이고 다음 내한성, 내병성, 다비성 등이 고려되어야 하겠다. 연구 결과에 따라 적합한 품종은 다수성으로는 Meiryoku이고 조기생산성은 Saemidori라고 할 수 있다. 장기적으로는 우리나라의 고유 품종과 하우스전용 품종이 육성되는 것이 바람직하다.

재식거리는 개체당 차지하는 면적과 생산능력, 그리고 토지 조건을 고려하게 되는데 차시험장(최형국, 1997)에서는 외줄심기와 두줄심기로 10a당 1235본~4,444본의 재식방법을 제시하고 있다. 하우스 재배에서는 150cm 이랑, 45cm 고랑에 외줄심기로 포기사이 30cm간격으로 심어 10a당 약 1800본을 기준하였다(그림 10-4).

차 시설재배에서 종합적인 재배 관리 모델을 그림 10-5에 제시하였다.

시설재배에서 연간 생산은 시기적으로 보면 4회까지 충분히 가능하나 나무의 세력을 고려해서 3회까지 수확하도록 한다. 수확시기는 두물차 생산을 노지재배의 첫물차 생산과 일치하도록 계획하는 것이 판매면에서 유리하다. 그렇게 되면 첫물차가 3월 20일경, 두물차가 5월 20일경, 세물차가 7월 10일경이 된다.

시설재배에서 온도관리는 1차적으로 중요한 관리라고 할 수 있다. 언제를 수확시기로 하느냐에 따라서 가온시기와 가온방법이 달라지게 된다. 이 모델에서는 두물차의 수확시기가 노지재배 첫물차와 비슷한 시기가 되도록 설계하였다. 1월 5일에 가온을 시작하는데 처음에는 휴면을 타파하고 맹아를 출발하도록 야간온도를 13℃가 유지하도록 하여 10일간 지속한다. 10일 후 부터는 맹아가 고르게 진행하도록 야간온도를 10℃로 조절하여 가온하도록 한다. 전체가 맹아되기까지는 30일정도 소요되어 2월5일경에는 맹아기에 이르게 된다. 낮에는 태양열의 집적으로 하우스가 고온의 위험이 있는데, 차재배에서 고온은 품질을 떨어뜨리는 원인이 되므로 환기를 철저히 하여 35℃이상은 오르지 않도록 관리한다(靑野英也, 1983).

차는 질소질 비료의 요구도가 높은 다비성 작물이며 비교적 산성토양에서도 잘 자라는 식물로 알려져 있다(村松敬一郎, 1991). 그러나 과다한 시비량은 염류 집적을 높게 하여 장기적으로 토양의 황폐화를 가져와 생산성을 떨어뜨리게 된다. 노지재배에서는 질소 인산 가리질 비료를 각각 10a당 60kg, 20kg,

20kg을 제시하고 있으나 하우스재배에서는 50kg, 20kg, 25kg을 표준으로 하고 질소의 부족분을 엽면시비로 보충하고자 한다(최형국, 1997). 그리고 마그네슘, 철, 아연 등 미량원소의 결핍증이 우려되므로 기비로 시용하고 필요시는 엽면시비한다. 요소엽면시비는 신초에서 2-3개 유엽이 출현시 1%액을 2일 간격으로 3-4회 살포한다. CO₂발생기를 이용한 탄산가스시비는 1200ppm정도로 신초신장기에 오전중 실시하는 것이 적당하다(Ralph, F. 1991).

우리나라에서 잘 발생하는 해충에는 응애, 애모무늬잎말이나방, 동백가는나방, 초록매미충, 각지벌레 등이 있으며, 병해에는 탄저병, 붉은잎마름병, 겹동무늬병, 딱병 등이 알려져 있다(이승찬, 1998, 村松敬一郎, 1995). 시설재배에서는 가능하면 하우스 측장에 방충망을 설치하여 외부로부터 유입을 차단하여 화학적 방제를 최소화하고 약제살포는 채엽 2주전까지는 완료하여 수확하는 차에 잔류 농약이 없도록 한다.

차나무는 목본성임에도 불구하고 신초발생력이 뛰어난 식물이다. 신초가 신장하여 어느정도 경화한 뒤 전정해 주면 다시 신초가 발생하여 연간 4-5회 신장하게 되는 것이다. 중요한 전정은 첫물차 생산을 위한 가을전정 혹은 봄전정이다. 가을전정을 하게 되면 첫물차가 빨라지고 생산량이 높으나 동해를 입을 염려가 있다, 반면 봄전정은 동해피해를 줄일수 있으나 첫물차가 늦어지고 생산력이 떨어지는 문제가 있다. 시설재배의 경우는 조기생산을 하게 되므로 9월30일경에 전정을 하게 된다. 생육중에 이루어지는 전정은 신초가 일제히 나오도록 하는데 목적이 있다.

시설재배에서는 차광재배를 통한 고급차인 옥로차 생산이 용이하다. 시기적으로 보면 두물차 생산에서 옥로차 생산을 시도하는 것이 적합하다. 방법은 첫물차가 끝나고 두물차인 신초가 발생하여 새잎이 1매정도 전개하기 시작하면 65-70%차광막으로 측면까지 차광을 하고 7-10일 경과 후 2엽전개시에 90%차광막을 다시 씌워 차광율이 98%되게 한다. 기간은 차광시작하여 20-25일 정

도가 소요된다(김종태, 1996).

제4절 결론

차 시설재배에 필요한 시설 및 장비, 적합한 품종선택, 온도관리, 차광관리, 시비관리, 병해충 방제관리, 탄산가스처리, 수확관리면에서 복합적인 차 시설재배 체계의 모델을 수립하였다.

이 시설재배 체계는 기존의 차재배 농가나 새로 차재배를 시도하고자 하는 농가가 시설재배를 처음 시작하고자 할때 효과적으로 활용할 수 있는 모델이 될 것이다.

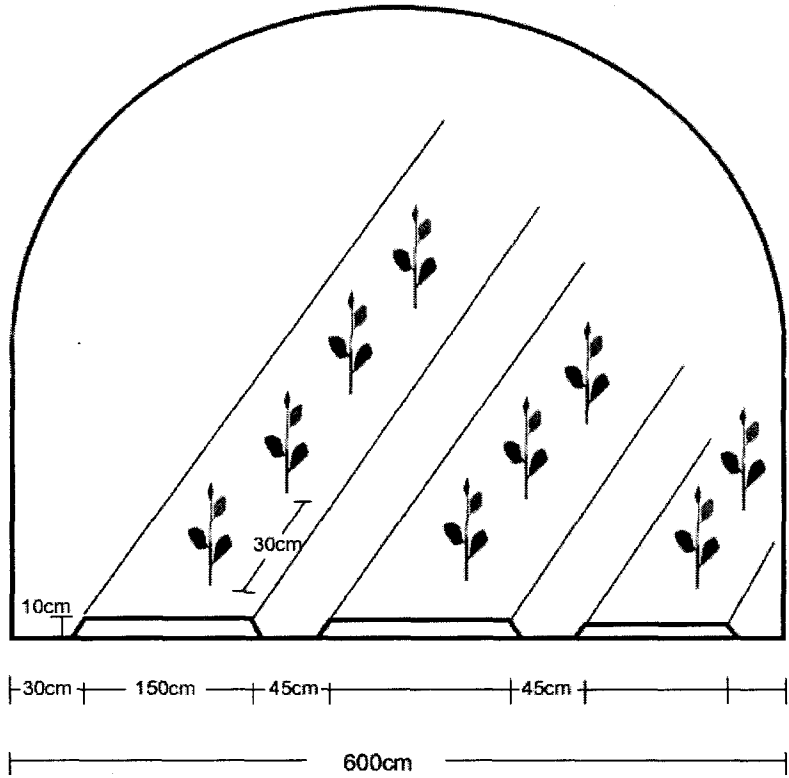


Figure 10-4. A planting model of tea in greenhouse.

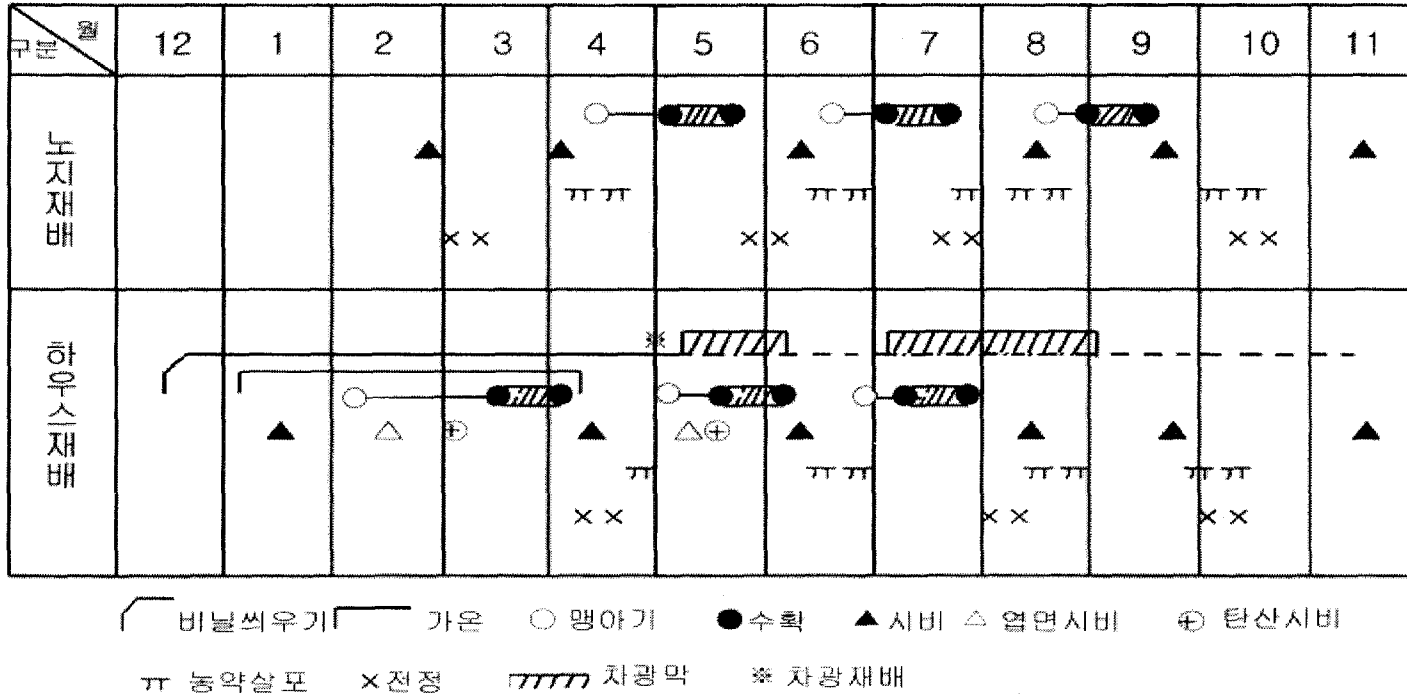


Figure 10-5. Comparison of tea growing managements between field and greenhouse cultivation.

참 고 문 헌

제 2장

1. 최형국 외 7인. 2000. 차 재배와 가공 기술. 전남농업기술원 차시험장. p. 215. 호산문화사.
2. 김정운, 신길호, 김위희, 김영선, 한재석, 최형국. 1996. 우리 나라 차재배 실태. 한국차학회 2(2): 209~216.
3. 김정운, 광수년, 최형국, 신길호, 한재석. 2001. 한국자생차(*Camellia Sinensis* L.)의 주요 특성조사. 한국차학회지 7(1): 123-133.
4. 이형석, 박용구. 2000. 우리나라 차나무 분포에 관한 연구. 북한지를 중심으로. 제 1회 심포지움. 차의 과학과 문화 발표논문집 p. 14-40.
5. 오미정. 1994. 한국자생 차나무의 유전적 유연관계 및 녹차의 이화학적 특성에 관한 연구. 고려대학교 대학원 박사학위논문. p. 125.
6. 오미정, 홍병희. 1995. 한국자생 차나무의 RAPD-Marker에 의한 유연관계. 한국육종학회 27(2): 140-147.
7. 박인협, 김례화, 이선화. 1997. 야생차나무 집단의 생태 및 잎의 형태적 특성. 한국차학회지 3(2): 125-134.
8. 박인협, 유석봉, 이선화. 1998. 야생차나무 집단의 임분구조와 물질 현존량. 한국임학회지 87(2): 173-178.
9. 박장현. 1997. 한국자생차의 성분조성에 관한 연구. 전남대박사 학위논문.
10. 박용구. 2000. 차의 식물지. 우리나라 야생화 야생차 집단유전학적 연구. 제 1차 심포지움. 차의 과학과 문화 발표논문집. p. 4-70.

제 3장

1. Bennett N. and Loomis W.E. 1949. Tetrazolium chloride as a test

- reagent for freezing injury of seed corn. *Plant Physiol.* 24: 162-174.
2. Calkins J.B. and Swanson B.T. 1990. The distinction between living and dead plant tissue-viability tests in cold hardiness research. *Cryobiology* 27: 194-211.
 3. 최형국 외 7인. 2000. 차 재배와 가공 기술. 전남농업기술원차시험장. p. 215. 호산문화사.
 4. Dexter S.T., Tottingham W.E., and Grabetr L.F. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* 7: 63-78.
 5. Duke S.H., Kake Fuda G., and Harvey T.M. 1983. Differential leakage of intracellular substances from imbibing soybean seeds. *Plant Physiol.* 72: 919-924.
 6. 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.
 7. McKersie B.D. and Hunt L. A. 1987. Genotypic differences in tolerance of ice encasement, low temperature flooding, and freezing in winter wheat. *Crop Sci.* 27 : 860-863.
 8. Palta J.P., Levitt J., and Stadelman E.J. 1977. Freezing injury in onion bulb cells.I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux from injured cells. *Plant Physiol.* 60: 393-397.
 9. Palta J.P. and Li P. H. 1980. Alterations in membrane transport properties by freezing injury in herbaceous plants: Evidence against rapture theory. *Physiol. Plant* 50: 169-175.

10. Parker J. 1953. Some applications and limitations of tetrazolium chloride. *Science* 118: 77-79.
11. SAS Institute. 1987. SAS user's guide: Statistics. SAS Inst. Cary, NC.
12. Steponkus P.L. 1971. Effect of freezing on dehydrogenase activity and reduction of triphenyl tetrazolium chloride. *Cryobiology* 8: 570-573.
13. Steponkus P.L. 1984. The role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 35: 543-584.
14. Steponkus P.L. and Lanphear G.O. 1967. Refinement of triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiol.* 42: 1423-1426.
15. Stergios B.G. and Howell G.S. 1973. Evaluation of viability tests for cold stressed plants. *J. Ann. Soc. Hort. Science* 98: 325-330.
16. Sukumaran N.P. and Weiser C.J. 1972. An excised leaflet test for evaluating potato frost tolerance. *HortScience* 7(5): 465-468.
17. Towill L.E. and Mazur P. 1975. Studies on the reduction of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride as a viability assay for plant tissue cultures. *Can. J. Bot.* 53: 1097-1102.
18. Van den Driessche R. 1976. Prediction of cold hardiness in Douglas fir seedlings by index of injury and conductivity methods. *Can. J. For. Res.* 6: 511-515.

제 4장

1. Binder W.D. and Fielder P. 1996. Chlorophyll fluorescence as an

- indicator of frost hardiness in white spruce seedlings from different latitudes. *New Forests* 11: 233-253.
2. Boese S.R. and Huner N.P.A. 1990. Effect of growth temperature and temperature shifts on spinach leaf morphology and photosynthesis. *Plant Physiol.* 94: 1830-1836.
 3. Chun J.U., Kang S.S., Song D.S., and Choi J. 2000. Establishment of simple method for freezing resistance with use of electrical conductivity and 2,3,5-triphenyl chloride in tea (*Camellia sinensis* L.). *J. Kor. Tea Soc.* 6(3): 121-133.
 4. Chun J.U., Jeong I. H., and Griffith M. 1997. Differences in photoinhibition of photosynthesis in wheat chromosome substitution lines for freezing resistance. *Korean J. Breed.* 29(3): 359-367.
 5. Genty B., Briantais J.-M., and Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.
 6. Guy C.L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance : role of protein metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 187-223.
 7. Hurry V.M. and Huner N.P.A. 1991. Low growth temperature effects a differential inhibition of photosynthesis in spring and winter wheat. *Plant Physiol.* 96: 491- 497.
 8. Hurry V.M., Krol M., Öquist G., and Huner N.P.A. 1992. Effect of long-term photoinhibition on growth and photosynthesis of cold-hardened spring and winter wheat. *Planta* 188: 369-375.

9. Krause G.H. and Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis : The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 313-349.
10. Kyle D.J. 1987. The biochemical basis for photoinhibition of photosystem II. *In* Photoinhibition, p. 197-226. Kyle D.J., Osmond C.B., and Arntzen, C.J. eds. Elsevier, Amsterdam.
11. Lapointe L., Huner N.P.A., Carpentier R., and Ottander C. 1991. Resistance to low temperature photoinhibition is not associated with thylakoid membranes in winter rye. *Plant Physiol.* 97: 804-810.
12. Levitt J. 1980. Chilling, freezing, and high temperature stresses. *In* Responses of Plants to Environmental Stresses, Ed. 2, Vol 1. Academic Press, New York.
13. Lindgren K. and Hallgren J.-E. 1993. Cold acclimation of *Pinus contorta* and *Pinus sylvestris* assessed by chlorophyll fluorescence. *Tree Physiology* 13: 97-106.
14. Mohammed G.H., Binder W.D., and Gillies S.L. 1995. Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scand. J. For. Res.* 10: 383-410.
15. Öquist G. and Huner N.P.A. 1991. Effects of cold acclimation on the susceptibility of photosynthesis to photoinhibition in Scots pine and in winter and spring cereals : a fluorescence analysis. *Funct. Ecol.* 5: 91-100.
16. Ort D.R. and Baker N.R. 1988. Consideration of photosynthetic efficiency at low light as a major determinant of crop photosynthetic performance. *Plant Physiol. Biochem.* 26: 555-565.

17. Powles S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 15-44.
18. Somersalo S. and Krause G.H. 1990. Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold acclimated spinach leaves in the field. A fluorescence study. *Physiol. Plant.* 79: 617-622.

제 5장

1. Antikainen M., Griffith M., Zhang J., Hon W-C., Yang D.S.C., and Pihakaski-Maunsbach K. 1996. Immunolocalization of antifreeze proteins in winter rye leaves, crowns and roots by tissue printing. *Plant Physiol.* 110: 845-857.
2. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 341-374.
3. Chun J.U., Yu X.M., and Griffith M. 1998. Genetic studies of antifreeze proteins and their correlation with winter survival in wheat. *Euphytica* 102: 219-226.
4. Chun J.U. and Griffith M. 1998. Variation of antifreeze proteins during cold acclimation among winter cereals and their relationship with freezing resistance. *Korean J. Crop Sci.* 43(3): 172-178.
5. Chun J.U. and Griffith M. 1998. Effects of artificial stresses on expression of antifreeze proteins in barley and rye. *Korean J. Breed.* 30(3): 258-266.
6. Chun J.U., Kang. SW, Song D.S., and Choi J. 2000. Establishment of

- simple method for freezing resistance with use of electrical conductivity and 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride in tea(*Camellia sinensis* L.). J. Kor. Tea Soc. 6(3): 121-133.
7. DeVries A.L. 1986. Antifreeze glycopeptides and peptides: interactions with ice and water. Methods Enzymol. 127: 293-303.
 8. Griffith M., Ala P., Yang D.S.C, Hon W.-C., and Moffatt BA 1992. Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves. Plant Physiol. 100: 593-596.
 9. Griffith M., and Antikainen M 1996. Extracellular ice formation in freezing-tolerant plants. Adv. Low-Temp. Biol. 3: 107-139.
 10. Hon W.-C., Griffith M., Chong P., and Yang D.S.C. 1994. Extraction and isolation of antifreeze proteins from winter rye(*Secale cereale* L.) leaves. Plant Physiol. 104: 971-980.
 11. Hon W.-C., Griffith M., Mlynarz A., Kwok Y.A., and Yang D.S.C. 1995. Antifreeze proteins in winter rye are similar to pathogenesis-related proteins. Plant Physiol. 109: 879-889.
 12. Huner N.P.A., and Macdowall F.D.H. 1976. Chloroplastic proteins of wheat and rye grown at cold-hardening temperatures. Can. J. Biochem. 54: 848-853.
 13. Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.
 14. Leshem Y.Y., and Kuiper P.J.C. 1996. Is there a GAS(general adaptation syndrome) response to various types of environmental stress? Biol. Plant. 38(1): 1-18.
 15. Pearce R.S., and Ashworth E.N. 1992. Cell shape and localization of

- ice in leaves of overwintering wheat during frost stress in the field. *Planta* 188: 324-331.
16. Steponkus P.L., and Lanphear G.O. 1967. Refinement of triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiol.* 42:1423-1426.
17. Sutka J. 1994. Genetic control of frost tolerance in wheat(*Triticum aestivum*). *Euphytica* 77: 277-282.

제 6장

1. Ben-Gera I. and Norris K. H. 1968. Determination of moisture content in soybeans by direct spectrophotometry. *Israel J. Agr. Res.* 18: 125-132.
2. 조규채. 1998. 근적외선분광분석법 (near infrared spectroscopy)의 농업분야 적용. *한국농업기계학회지* 23(2): 195-205.
3. 조규채, 김용호. 1995. 작물 품질관련 정밀기기 작동방법. *한국작물학회*. p 143-180. 광일문화사.
4. 조승용, 최성길, 이철. 1994. 근적외분광분석법에 의한 밥의 노화도 측정. *한국식품과학회지* 26(5): 579-584.
5. 최형국 외 7인. 2000. 차 재배와 가공 기술. 전남농업기술원 차시험장. p. 215. 호산문화사
6. 大石千八. 1988. 新茶業全書. 静岡縣茶業會議所. p. 471-490.
7. 後藤 正. 1992. 近赤外法による茶生葉及び荒茶の成分分析及品質評価に関する研究. *茶研報* 76: 51-61.
8. 後藤 正, 岩澤秀晃, 柴田隆夫. 1989. 近赤外法による茶の總纖維の定量分析. *茶研報* 70: 67-80.
9. 後藤 正, 中村順行, 夏賀元康, 増田英明, 藁科二郎. 1999. チャ單葉測定 可能

- な近赤外分光 装置用いた成分育種システムの開発. 茶研報 88(別冊): 148-149.
10. 原利男. 1999. 近赤外分光法による一番茶の品質調査. 茶研報 88(別冊): 146- 147.
 11. 原利男. 1996. 近赤外分光法の緑茶品質管理への利用. 茶研報 82: 29-34.
 12. 原利男, 松村正弘. 1994. 近赤外分光法による緑茶の成分特性 調査. 茶研報 79: 25-30.
 13. 堀江秀樹, 深津修一, 向井俊博, 後藤哲久. 1992. 官能審査と近赤外分析法による市販 煎茶の品質平價. 茶研報 76: 39-44.
 14. 黃興九, 趙來光, 孫再根, 李壽寬. 1994. 近赤外分光分析法에 의한 米質관련 성분측정. 韓作誌 39(1): 7-14.
 15. 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正. 1990. 茶の 公定分析法. 茶研報 71: 43-74.
 16. 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正, 岩元睦夫, 漁住純, 西成勝好, 趙來光. 1988. 近赤外分光法による煎茶およびまっ茶の全窒素・カフェイン・全遊離アミノ酸類・テアニンおよびタンニンの定 量. 野菜茶業試験 場研究報告 2: 47-90.
 17. Jung C. S., Kim B. J., Kwon Y. C., Han W. Y., and Kwack Y. H. 1998. Analysis of protein and moisture contents in pea(*Pisum sativum* L.) using near-infrared reflectance spectroscopy. Korea J. Crop Sci. 43(2): 101-104.
 18. 정희일, 김효진. 2000. 근적외선분광법의 원리. Analytical Science and Technology. 3(1): 1-14.
 19. 金炳壽, 徐得龍, 徐亨洙. 1994. 近赤外分光分析法과 Micro- Kjeldahl法間의 麥酒보리 種實의 蛋白質含量分析 比較. 韓作誌 39(5): 489-494.
 20. 김병주, 박의호, 서형수. 1995. 보리종실 성분분석을 위한 근적외선분 광분석계의 이용방법. 韓作誌 40(6): 716-722.
 21. Kim Y. S., Scotter C., Voyiagis M., and Hall M. 1997. Potential of NIR spectroscopy for discriminating geographical origin of green tea from Korea and Japan. Foods and Biotechnology 6(2): 74-78.

22. 김영수. 1997. 녹차의 원산국 판별을 위한 NIR분석. 식품기술 10(1): 94- 101.
23. 金龍昊, 尹洪台, 鄭愚鄉, 金奭東. 1995. 近赤外分光分析法을 이용한 콩一般成分의 非破壞 分析. 農業論文集 37(2): 91-94.
24. 김동수. 1988. 토양화학분석법. 농촌진흥청농업기술연구소 p 61-62. 삼미인쇄소.
25. 김용옥, 정한주, 백순옥, 김기환. 1995. 근적외분광법을 이용한 버어리 토스트엽의 화학성분 분석. Tobacco Science. 17(2): 177-183.
26. 김종태. 1996. 茶의 科學과 文化. 보림사 출판사. p. 168-177.
27. 李孝遠, 金珍東, 한건준, 金東岩. 1996. NIRs를 이용한 牧草의 品質評價. 韓國放送大學校論文集 22: 375-385.
28. 이형석, 박용구. 2000. 우리나라 차나무 분포에 관한 연구. 제1회 심포지움 차의 과학과 문화 발표 논문. p. 19-40.
29. Miura T. and Ozaki Y. 1990. 광역화된 근적외분석기의 응용. 월간일본 화학공업 141(6): 1-9.
30. Oh S. L., Cho R. K., Min B. Y., Chung D. H., Kawano S., and Ikegaya K. 1989. Determination of nitrogen compounds in green tea infusion by near infrared reflectance spectroscopy. The 2nd International NIRs Conference. p. 376-385.
31. 朴章炫. 1997. 茶樹의 葉位別 화학성분에 관한 연구. 韓國茶學會誌 3(1): 47-56.
32. 朴章炫, 金廣植, 金善雨, 崔炯局, 金相喆. 1997. 한국자생차의 몇 가지 화학성분 비교분석. 藥作誌 5(3): 217-224.
33. 박용구. 2000. 차의 식물지-우리나라 야생차 집단 유전학적 연구. 제1회 심포지움 차의 과학과 문화 발표 논문. p. 41-70.
34. 朴章炫, 金育禧, 崔炯局, 金台錫, 金廣植. 1995. 國內產茶葉의 生育特性과 化學成分에 관한 研究. 한국차학회지 1(1): 161-173.
35. 吳相龍. 1988. 近赤外 分光 分析法에 의한 綠茶의 迅速 品質測定. 中

央大學校 大學院 論文.

36. Ryu G. H., Walker C. E., and Lee C. H. 1994. Prediction of wheat flour-extrudate properties by using near infrared reflectance(NIR) analysis. Food and Biotechnology 3(1): 1-5.
37. 佐田康稔, 小柳津勳, 松浦健雄, 後藤正, 中村順行, 岸本浩志, 坪井邦 利. 1993. 近赤外分光法による茶葉成分分析の簡易化. 茶研報 77: 35-38.
38. 田中伸三, 岩淺 潔, 深津修一. 1989. 茶の葉摘採時期と製茶品質との關係. 野菜茶業報告 3: 55-64.
39. Takeo T. and Okamoto N. 1989. Quality control of tea by near infrared reflectance spectroscopy. The 2nd International NIRs Conference. p. 157-165.
40. 吉川聰一郎. 1998. 近赤外分光光度計による茶の品質評價. 茶研報 87(別冊): 114-115.
41. 増田英昭, 藁科二郎. 1994. 近赤外分析計茶生葉成分迅速測定. 茶研報 79 (別冊): 112-113.
42. Willams P. C., Preston K. R., Norris K. H., and Starkey P. M. 1984. Determination of amino acids in wheat and barley by near-infrared reflectance spectroscopy. J. of Food Sci. 49: 17-20.

제 7장

1. 김명배. 1997. 勝雪 金正喜의 茶道 研究. 한국차학회지, 3(1): 1-35.
2. 김정운, 신길호, 김주희, 김영신, 한재석, 최형국. 1997. 차나무 정지시기 가 수량 및 품질에 미치는 영향. 한국차학회지 3(1): 75-81.
3. 김종태. 1996. 차의 과학과 문화. 보림사. p.15-66.
4. 박남창. 1997. 야생차 임간 재배법 개발. 농림부. p.3-23.
5. 박병근. 1999. 저 투입 지속성 환경보전형 농법을 응용한 청정녹차 재배 기술 체계화. 한국차학회지, 5(2): 77-88.

6. 박장현, 김용웅, 김정봉, 최정, 최형국. 김상철, 1998. 질소 비료 사용량에 따른 세물차의 수량 및 품질. 한국차학회지, 4(2): 69-81.
7. 박장현, 최형국, 김용웅. 1998. 질소 비료 사용량에 따른 첫물차의 수량 및 품질. 한국 차학회지, 4(1): 67-80.
8. 임준택. 1998. 시설재배 오이의 생육모형과 최적 환경제어 소프트웨어 개발. 농림부. p.79-92.
9. 大石貞男. 1985. 茶 栽培全科. 農産漁村文化協會 p. 50-75
10. 大石千八. 1988. 新茶業全書. 靜岡縣 茶議會議所 p.38-40, p.471-508.
11. 板木利隆. 1983. 施設園藝・裝置と栽培技術. 誠文堂新光社. p.133-153.
12. 三原義秋. 1980. 溫室設計の基礎と實際. 養賢堂. p.198-203.
野菜・茶業試驗場資料, 1991. 新品種命名登録候補に 關する 資料. 農林水産省.p.1-8.
13. 築瀨好充, 渡辺明, 武田善行. 1986. 煎茶用新品種めいりよく. 茶試研報. p.22.
14. Elizabeth M. H., Squire, G. R. 1976. Observations on the winter dormancy of tea(*Camellia sinensis* L.) in Malawi. J. Hort. Sci. 51:267-279.
15. Fordham, R. 1972. Observations on the growth of roots and shoots of tea(*Camellia sinensis* L.) in southern Malawi. J. Hort. Sci. 47:221-229.
16. Marcelis, L., F.M. 1994. Effects of fruit growth, temperature and irradiance on biomass allocation to the vegetative parts of cucumber. Neth. J. Agri. Sci.42: 115-123.
17. Ralph F. 1991. The importance of carbon dioxide. J. Ball publishing. p.229-236.

18. Vic ball. 1991. greenhouse growing. Geo. J. Ball publishing.
p.229-236.

제 8장

1. 김명배. 1989. 六大 茶類에 대하여(제3보 조선시대). 한국식문화학회지 4(3): 221-227
2. 박장현, 최형국, 김용웅.1998. 질소 비료 시용량에 따른 첫물차의 수량 및 품질. 한국차학회지 4(1):67-80.
3. 박인협, 김혜화, 이선하. 1997. 야생 차나무 집단의 생태 및 잎의 형태적 특성. 한국임학회지 3(2):125-134.
4. 은종방, 이정석, 김동연. 1984. 한국 야생차의 유연성에 관한 연구. 한국 임학회지 66:54-63.
5. Demeke, T., Adams, R.P. and Chibbar, R. 1992. Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA(RAPD): a case study in *Brassica*. Theor. Appl. Genet. 84: 990-994.
6. Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. Studies in genetics VII. Univ. Texas Publ. 7213: 145-153.
7. Yanase Y., Watanabe A. and Takeda Y. 1986. New registered tea cultivar "Meiryoku". Bulletin of the National Research Institute of Tea 22: 1-17.
8. Welsh, J. and McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18: 7213-7218
9. SAS. 1988. SAS/STAT user's guide. SAS Inst. Inc., NC USA. p.1028.
10. Chang, H.T. and Bartholomew, B. 1984. *Camellias*. B.T. Batsford, London.

11. Sealy, J.R. 1958. A revision of the genus *Camellia*. Royal Hort. Soc. London. 239 pp.
12. Vos, P., Horgers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

제 9장

1. 김동연, 정지석, 김권, 이종욱, 박근형. 1979. 한국산 차엽의 특수성분에 관한 연구. *한국농화학회지* 22: 97-100.
2. 김종태. 1996. 차의 과학과 문화. 보림사 p.95-100.
3. 박장현, 김광식, 김주희, 최형국, 김성우. 1996. 국내차 차엽의 유리아미노산, 데아닌, 카테킨, 함량에 관한 연구. *한국차학회지* 2(2): 197-207.
4. 최정. 2001. 근적외분광분석법을 이용한 차엽성분 간이분석에 관한 연구. 순천대 석사학위논문.p.12-16.
5. 신미경. 1984. Studies on the quality of Korean liquid green tea. *한양대학교 대학원 학위논문* p.3-4.
6. 村松敬一郎. 1991. 茶の科學. 朝倉書店(日本) p.32-40, p.85-93.
7. 山西 貞. 1992. お茶の科學. 裝華房 p.33-40.
8. 高柳博次. 1977. Relation between the contents of manganese and
9. Vitamin C in the leaves of shading tea field. *茶業技術研究* 52:50-51.
10. 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正. 1990. 茶の分析法. *茶研報* 71:43-74.
11. 中川致之, 阿南豊正, 石間紀男. 1981. 綠茶の呈味成分の綜合分析. *茶業試驗場 研究* 17:70.
12. Ogumi, I. and Yamada, M. 1997. Protection against cancer risk by

- green tea and antibacterial activity of tea catechin against *Helicobacter pylori*. 2 제4회 국제 심포지움. p.69-77.
13. Anan T. 1991. Clarification of changes in chemical components during development of tea shoots and manufacture of green tea. Study of Tea. 74: 25-30.
 14. Ikeda N., Horie H., Mukai T., Goto T. 1993. Varietal difference of chemical constituents in the first and autumn flushes of tea plants. Study of Tea 77: 13-21.
 15. Ikegaya K., Takayanagi H. and Anan T. 1990. Quantitative analysis of tea constituents. Study of Tea 71: 43-74.
 16. Nagata T. and Sakai S. 1984. Differences in caffeine, flavanols and amino acids contents in leaves of cultivated species of Camellia. Japan J. Breed. 34: 459-467.
 17. Saijo R. 1980. Effect shade treatment on biosynthesis of catechins in tea plants. Plant and Cell Physiol. 21: 989-998.

제 10장

1. 김정운, 신길호, 김주희, 김영신, 한재석, 최형국. 1997. 차나무 정지시기 가 수량 및 품질에 미치는 영향. 한국차학회지 3(1): 75-81.
2. 장전익. 1998. 원예시설학의 기초지식. 제주대학교출판부. p.109-262.
3. 이승찬. 1998. 차해충의 종합관리에 대하여. 한국차학회지 4(1): 99-120.
4. 최형국. 1997. 차재배와 가공기술. 보성차시험장. p.9-12.
5. 김기선외 2000. 시설원예와 관리(I). 향문사, p.264-273.
송현갑외 1993. 시설원예 자동화. 문운당, p.179-204.

6. 大石千八. 1988. 新茶業全書. 静岡縣 茶議會議所 p.16-28.
7. 中山仰外. 1979. 茶樹の生育に及ぼす光質に関する研究. 茶研究報15:1-49.
8. 三原義秋. 1980. 温室設計 基礎 實際. 養賢堂. p.200-205.
9. 青野英也. 1983. 地上部の温度條件が茶樹の生育および体内成分の消長に及ぼす影響. 茶技研 65:33-24.
10. 山西 貞. 1992. お茶の科學. 裝華房 p.33-40.
11. 村松敬一郎. 1991. 茶の科學. 朝倉書店 p.21-31.
12. Robert, W.L. 1980. Geenhouse management. Halcyon Press of Ithaca, p.1-30.
13. Ralph, F. 1991. The importance of carbon dioxide. Ball redbook, p.229-236.
14. Vic B. 1991. Controlling the greenhouse atmosphere. Ball redbook, p.37-44.
15. Okada, M.1990. The heating load of greenhouse. J.Agri. Met. 35(4), p.235-242.
16. Mastalerz, J.W. 1978. The greenhouse environment. John Wiley and Sons, p.1-629.