

최 종
연구보고서

탄저병 저항성 고품질 차나무 우량계통선발 및
특성조사

Evaluation of Resistance for *Gloeosporium*
theae-sinensis in Korea Wild Tea
Population

연구 기관

경북대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “탄저병 저항성 고품질 차나무 우량계통선발 및 특성조사”에 관한 연구 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 1 월 19 일

주관연구기관명 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 박 용 구
손 두 식

세부연구책임자 : 이 준 탁

연 구 원 : 양 병 훈

연 구 원 : 송 민 정

연 구 원 : 김 현 태

요 약 문

I. 제 목

탄저병 저항성 고품질 차나무 우량계통선발 및 특성조사

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1980년대 이후 우리나라의 차나무 신규 재배 면적이 많이 늘어나고 있으나 현재 우리나라 차 재배에 여러 가지 어려운 점이 많이 있다. 국내에서 재배되는 차나무는 국내의 재배특성 및 기호에 맞게 육성된 신규 품종이 아니라 일본에서 도입된 야부기다를 제외하고 대부분이 한국재래종, 일본종 및 중국종이 섞인 종자로 조성된 차밭에서 손쉽게 종자를 얻어 차밭을 조성하여왔다. 이렇게 조성된 차밭은 실생묘인 관계로 형질이 균일치 못하며 품질 또한 균일하지 않다. 즉 무분별하게 도입되어 왔던 검증되지 않은 종자에 의해서 우리 고유 야생차 집단의 우수한 유전자가 침식당하고 있다. 그리고 품종이 다른 여러 차나무 종자를 섞어서 재배함으로써 수확의 시기가 일정치 않아 기계화에 의한 자동화가 어렵고 여러 품종이 섞이므로 품질이 저하되어 우리나라 차 산업의 경쟁력이 낮아지고 있다.

현재도 국내에서 육성되어 보급되는 품종이 없어 여러 조건에서 자연교잡으로 발생한 종자로 매년 100여ha 씩 차밭 면적이 늘어나고 있는 실정이다. 이러한 결과로 형질의 변이 및 분리가 심하게 생기는 것은 당연하며 이런 상태로는 주변 다른 나라의 차 산업과의 경쟁에서 어려움이 많이 발생하고 있어서 우리나라 차 산업의 지속적인 발전에 장애가 되고 있다.

우리나라 남부지방에 야생 차나무가 자생하고 있으며 이들에게서 유용한 형질(다수, 내병, 향, 맛, 기능성 등)을 찾아내어 우수 신품종을 육성 한다면 이들 야생차 나무는 우량 유전자원으로 이용 할 수 있게 될 것이다.

따라서 본 연구 과제의 목적은 우리나라 야생차나무 집단에서 탄저병 내성을 갖는 우량 개체를 선발하여 그중 다수확, 내재해성 및 고품질 차를 생산 할 수 있는 우량 신품종을 육성하는데 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2000년)	-탄저병 저항성 개체선발을 위한 재래품종 수집 -수집개체의 형태특성 조사 -탄저병 내성 외국품종 도입	<ul style="list-style-type: none"> ● 야생 차나무 집단선발 ● 국내 재래품종의 형태적 특성 조사 ● 외국품종 도입
2차년도 (2001년)	-선발개체의 성분분석 -외국품종과 내성특성 비교조사 -PCR기법을 이용한 탄저병내성검정	<ul style="list-style-type: none"> ● 성분함량 분석 ● 외국 도입품종에 대한 형태특성 조사 ● PCR법을 이용한 탄저병내성검정
3차년도 (2002년)	-최종 선발개체의 야외검정 -우량계통 선발	<ul style="list-style-type: none"> ● 탄저병 내성 우량개체에 대한 유용형질 검정 ● 최종 선발계통의 수확량, 내병성, 내한성, 번식의 용이성 검정 ● 성분함량 분석 등에 의한 우수 품종의 선발 ● 선발개체 증식을 위한 야외 식재 시험

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 재래종 야생 차나무 집단 선발

탄저병 저항성이 우량한 개체 선발을 위해 우리나라의 다양한 지역에 서식하는 야생 차나무 32개 집단에서 60개체를 선발하였다. 성장이 좋고 병충해의 증상이 없으며 신초(新草)의 색깔이 진한 녹색을 띠고 개엽(開葉) 시기가 빠른 대상을 선발할 수 있었다.

나. 재래종 선발개체의 형태적 특성 조사

잎의 길이는 평균 7.1cm로 조사되었는데 이들 개체중 원봉리 집단이 가장 긴 9.2cm 이었고, 북일면 성덕 집단이 가장 짧아 4.5cm이었다. 엽폭은 평균 2.9cm이었고, 가장 넓은 북암리 집단은 4.0cm, 군동 상동리 집단이 가장 좁은 2.0cm이었다. 엽면적 지수(엽장 ÷ 엽폭)는 평균 2.5이었으며, 가장 큰 집단은 내장사로 3.3 주봉리, 성덕리 집단이 가장 적은 1.8이었다. 잎의 두께는 평균 0.3cm, 가장 두꺼운 집단은 0.3cm로 보리암 등 22개 집단, 유당리와 낙안읍성이 0.1cm로 가장 얇은 집단이었다. 엽선형은 잎이 둥글면서 약간 뾰족한 소엽형이 대부분이었다. 찻잎의 숙기는 조생 집단이 15개소, 중생 집단이 35개소, 만생 집단이 10개소였다.

다. 재래종 선발개체의 성분분석

● 총질소 함량은 집단 전체 평균 4.7%이었다. 총질소 함량이 가장 높은 집단은 대원사로 5.2%, 가장 낮은 집단은 용문사 집단으로 3.4%이었다.

● 총 아미노산 함량은 집단 전체 평균 19.1mg/g였다. 최고 많은 집단은 주봉리 집단으로 27.7mg/g이며, 가장 적은 집단은 통천(영태리)집단으로 14.4mg/g으로 나타났

다.

● 탄닌(폴리페놀) 함량은 집단 전체 평균 14.4%이었다. 가장 높은 집단은 낙안 읍성으로 15.8%이었으며 가장 낮은 집단은 다압으로 11.6%이었다.

● 카페인 함량은 집단 전체 평균 2.5%이었다. 가장 높은 집단은 3.7%로 범천사 집단이었으며, 가장 낮은 집단은 다압 집단으로 1.4%이었다.

라. 탄저병 내성개체 선발을 위한 외국품종 도입

차 소비가 활발한 아시아 지역 중 보다 우수한 품종을 많이 개발한 일본의 차나무 19개의 품종(Asahi, Asanoka, Benifuki, Benikaori, Houryoku, Hatsumomiji, Izumi, Meiryoku, Minamikaori, Minamisayaka, Minekaori, NM27, Oiwase, Ryofu, Surugawase, Yamakai, Yamanami, Yamanoibuki, Z-1)을 도입하였다.

마. 외국 도입품종의 형태적 특성 조사

일본 도입품종의 엽장(葉長)의 평균길이는 8.0cm이었고, 엽폭 3.0cm, 엽면적 지수(엽장÷엽폭) 2.7, 선단장(先端長)은 1.7로 조사되었다. 엽장과 엽폭은 한국의 재래 품종에 비해 비교적 큰 것으로 나타났다.

바. 탄저병 저항성 검증

탄저병에 대한 저항성을 포장(圃場)에서 육안으로 관찰한 결과 한국 재래 품종이 일본품종보다 강한 것으로 조사되었다.

특히 득량다진(1-04-04: Deugryangdajeon), 용면통천(1-14-44: Tongcheon), 군동생동리(1-19-39: Kundongsangdongri), 범천사(2-09-03: Bubcheonsa), 금곡사(2-12-11, 2-12-30: Keumgogsa), 주봉리(2-23-11: Jubongri), 수북두정리(3-02-09: Subugdujeongri), 선암사(3-07-01, 3-08-11: Seonamsa), 대원사(3-14-12: Daewonsa), 방촌리(3-19-01, 3-20-10: Bangchonri), 낙안읍성(5-20-04, 5-21-1, 5-21-30: Naganeupseong)의 16개체 품종에서 탄저병 저항성이 강한 것으로 관찰되었다.

사. 탄저병 저항성 고품질 차나무 우량계통선발 개체의 RAPD분석

탄저병 저항성 개체에서 DNA를 추출하여 RAPD를 수행한 결과 다양한 밴드가 나타났다. OPC 1번, 2번 Primer를 사용한 PCR에서는 2개의 밴드가 뚜렷하게 나타났고, 16번, 10번, 11번 Primer에서는 1~7개의 밴드가 다양하게 나타났다.

특히 6번과 11번 Primer에서는 여러 가지의 밴드가 불규칙하게 나타나서 선발 개체 간 유전적 다양성을 찾아 볼 수 있었다.

아. 탄저병 저항성 고품질 차나무 우량 계통선발

형태적 특성 조사, 성분함량 조사, 탄저병 저항성 실험, 삼목 발근력 실험을 실시하여, 득량대전(1-04-04: Deugryangdajeon), 용면통천(1-14-44: Tongcheonyeongtaeri), 군동생동리(1-19-39: Kundongsangdongri), 주봉리(2-23-11: Jubongri), 수북 두정리(3-02-09: Subugdujeongri), 대원사(3-14-12: Daewonsa),

방촌리(3-19-01: Bangchonri), 낙안읍성(5-20-04, 5-21-30: Naganeupseong)의 9개체와 탄저병 저항성은 약간 떨어지지만 차엽 생산특성 및 유효성분 분석에 의해 고품질을 나타낸 북암리(4-06-07: Bogamri)와, 다압(4-07-19: Daap)을 선발하여 최종적으로 11개체를 확정 할 수 있었다.

2. 활용에 대한 건의사항

가. 선발된 개체의 유지

선발된 집단은 우리나라 재래종 야생차 집단으로 외래 차나무의 유전적 오염이 발생하지 않은 지역임으로 지속적 관리와 보존되어야 한다. 도입 품종의 특성을 조사하여 우리나라 재래종 차나무와 유전적 오염이 발생하지 않도록 하여야 한다.

탄저병 저항성 고품질 차나무로 선발된 개체를 효율적으로 유지·관리할 수 있는 시설이 필요하다. 인위확충이 완비된다면 아직 선발·육종되지 않은 고유의 품종을 육성할 수 있으며 일반농가 및 차재배 농가의 소득증대에 기여할 것으로 기대된다.

나. 국내 자체 품종육성

차의 성분 함량은 차의 소비와 밀접한 관계를 가진다. 차의 색(色), 향(香), 맛(味)을 좌우하는 것으로 소비자의 기호와 고품질, 경쟁력 있는 차 제배 및 제품에 큰 영향을 미친다.

차 소비가 증가하고 있는 현시점에서 국내 제다(製茶)회사들은 일본에서 선발·육종된 품종을 수입하여 식재하고 있는 실정이다. 이러한 현실에서 대량 증식이 가능한 탄저병 내성을 지닌 국내 재래종을 선발·육성하여 고유한 품종을 획득할 수 있을 것으로 기대된다.

우리나라 재래종 차나무의 형태학적 분류 연구가 필요하다. 탄저병 저항성 유전안자를 밝히는 등의 많은 유전적 연구 또한 실행되어야 한다.

다. 탄저병균에 대한 내병성 품종 육성에 대한 방법모색

차나무 탄저병균은 다른 병충해에 대한 저항성 개체의 선발·육종방법을 제시함으로써 국내 농가에 피해를 주고 있는 병원균을 효율적으로 대처 할 수 있을 것이라 사료된다. 따라서 이러한 선발 및 육종 방법을 체계화, 일원화할 수 있는 인위확충 및 소규모 실험포장 설치가 요구된다. 탄저병 저항성이 강한 품종 개발 육종으로 차 재

배 소득 및 저공해 재배 농법에 활용되어야 한다. 삼목 발근성이 우수한 탄저병 저항성 고품질 차나무를 품종 등록한 후 대량 증식하여 농가에 보급하여 차 재배 농가 소득 증대에 기여한다.

SUMMARY

The objective of this study were 1) to investigate the morphological characteristics of Korean wild tea plants; 2) to examine isolation of *Gloeosporium theae-sinensis* from infected leaves and induction of conidia; 3) to select the superior tea trees by resistance to anthracnose of tea and by high productivity of tea leaves with good components.

This study was executed to examine the morphological characteristics(10 items) of 60 wild tea trees in Tea Experiment Station(Bosung, Jeonnam, Jeonnam Agricultural Research & Extension Services, Korea). The anthracnose-infected leaves were collected at tea plantation of Youngam, Jeonnam(July, 2000). Isolation experiments were executed three methods. The one is black-small spot(sporophyte) culture(Method I), the second is co-culture(Method II) of infected parts and healthy parts of tea leaves and the third is a single-spore stock culture(Method III). Isolated fungus were subcultured onto potato dextrose agar(PDA) media every 2 weeks. The growth of mycelium and conidia induction was tested by various experiments. The first, the mycelium were cultured 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 and 6.0 pH condition. The fresh tea leaves was milled with fruit juice milling, the extracts were collected. The deposit was abandoned and only the extracts was used to make media. The extracts[15, 20 and 25%, (V/V)], sucrose[1, 2 and 3%, (W/V)] were used to make media and add to Bacto Agar powder(15g/L). Apple, tomato, carrot and grape juice were centrifuged 20min at 10,000rpm. The deposit was abandoned and only the extracts was used to make media. The 15%, 20% and 25%(V/V) extracts were used to make media and add to Bacto Agar powder(15g/L). The subcultured mycelium was cultured in 26~28°C incubator. After 5 days, the mycelium plates were plated 30min, 60min, 120min below UV lamp. Therefore, the UV-treated mycelium plates were cultured in 26~28°C incubator. The growth of mycelium and conidia induction was examined every 7 days. Evaluation of anthracnose resistance was executed by acryl inoculation stand, oasis sponge(for cutting flower) inoculation stand with conidia

suspension solution. And the mycelium disc was plated on tea leaves on petri-dish. The infected lesions was examined that length and width of the lesions by standard 3 Japanese tea populations(Asahi; very strong to anthracnose, Surugawase; medium to anthracnose, Yabukita; very weak to anthracnose). In tea leaves, the main components, total nitrogen, tannin, caffeine, amino acids and chlorophyll were analyzed for sub-selection index. Finally, the excellent tea trees were selected by resistance to anthracnose of tea and were selected by tea components.

The infected leaves from anthracnose were collected at tea plantation of Youngam, Jeonnam(July, 2000). Isolation experiments were executed three methods. The single-spore stock culture(Method III) is good for isolation of *Gloeosporium theae-sinensis*. The hypae of anthracnose is germinated in high moisture and 26~28°C temperature condition. The mycelial growth is good under 5.5 plate PDA(Potato Dextrose Agar) media. In test of by temperature grade, 25°C is good to growth of mycelium. In over 35°C condition, the growth of mycelium is impossible. Therefore, the temperature condition is adjusted 25-28°C. Conidia induction is good at tea powder agar medium, tea leaf boiled water medium and tomato juice agar medium. The tea leaves in acryl inoculation stand and oasis sponge(for cutting flower) inoculation stand were turned red-brown after 10 days. Therefore the mycelium disc inoculation is used main tool for evaluation of resistance to anthracnose. The tea trees of index 3 are 11 tea population including Bangchonri(3-19-01). The tea trees of index 2 are 15 tea population including Wonbongri(2-16-05). The tea trees of index 1 are 16 tea trees including Sanchung banchun(3-29-13). The superior 11 tea trees in both items were selected finally. This 11 trees is strong to anthracnose and the components are suitable to drink tea.

Futhermore, the 11 clones should be needed to study on provenance test and on the development of clonal mass propagation for distributing the farmers of tea plantaion.

CONTENTS

Chapter 1. A Synopsis of this Research Study	
Section 1. Objectives.....	
Section 2. Research Scope.....	
Chapter 2. The Present Situation of this Study	
Section 1. The Cytomorphology Study of the Tea.....	
Section 2. The Development Overview of Resistance to Anthracnose.....	
Section 3. The Developmental Present of RAPD Technology	
Section 4. The Analysis of Tea Components.....	
Chapter 3. Contents and Results	
Section 1. Characteristic of Korean Wild Tea Trees.....	
1. Characteristic of Classification	
2. Morphological Characteristics	
Section 2. Selection of Plus Tea Tree by Morphological Characters	
1. Selection of Korean Wild Tea Population and Introduction of Japanese Tea Cultivars.....	
2. Morphological Characters of Selection Tea Trees.....	
Section 3. Component Analysis of Selected Wild Tea Tree.....	
1. Methodology of Component Analysis.....	
2. Component Analysis for Selected Plus Tea Trees.....	
Section 4. RAPD Analysis of Selected Tea Trees.....	
Section 5. Selection of Resistance to Anthracnose.....	
1. Isolation and Culture of Mycelium (<i>Gloeosporium theae-sinensis</i>).....	
2. Effect of Circumstances for Mycelium Growth and Conidia Induction.....	

3. Index Calculation about Inoculation and Evaluation of Resistance to Anthracnose··	
4. Comparison among Korean Wild Tea Trees of Resistance to Anthracnose···	
Section 6. Selection of Resistant Tea Trees against Anthracnose··	
Chapter 4. Achievement And Contribution in This Study·····	
Chapter 5. The Application Program of the Results·········	
Chapter 6. Acquisition of the Technique and Information·····	
1. Introduction of The Japan cultivar··········	
2. Genetic distance among Korea, Japan, and China··········	
References··········	

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성
제 2 절 연구 개발의 범위
제 2 장 국내외 기술개발 현황
제 1 절 차나무 형태학적 기술개발 현황
제 2 절 탄저병 관련 기술개발 현황
제 3 절 RAPD분석의 기술개발 현황
제 4 절 성분 분석의 기술개발 현황
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
제 1 절 차나무의 일반특성
1. 차나무 분류학적 특성
2. 차나무의 식물학적 특성
제 2 절 형태적 특성을 이용한 우량개체 선발
1. 우리나라 재래 차나무집단 선정 및 일본 우량 품종 도입
2. 선발개체의 형태적 특성조사
제 3 절 야생 차나무의 성분함량 분석
1. 성분분석 방법
2. 우량개체 선발을 위한 차 성분 분석
제 4 절 선발개체의 RAPD분석
제 5 절 탄저병 저항성 개체 선발
1. 탄저병원균의 분리 및 배양
2. 균사체 생장 및 포자형성에 미치는 영향

- 3. 군사집종 및 탄저병 저항성 지수 산출.....
- 4. 우리나라 야생 차나무 집단의 탄저병 저항성 비교.....

제 6 절 탄저병 저항성 고품질 차나무 개체 선발.....

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....

제 5 장 연구개발결과의 활용계획.....

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보.....

- 1. 일본재배종의 도입
- 2. 한국·중국·일본차나무 집단간 유전변이.....

참고문헌.....

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

음료문화 속에 가장 오래된 음다풍속은 오늘날 현대인의 건강에 대한 관심이 높아지면서 차의 중요성이 대두되고 있다. 차 문화의 저변 확대는 문화 생활의 척도로 삼을 만큼 생활 곳곳에 탄탄히 뿌리 내리고 있다. 따라서 차를 즐기는 인구의 증대로 차 소비량도 점차 증가하고 있는 추세이다.

언제부터 우리나라에서 차를 마시게 된지는 확인할 수 없다. 그러나 차나무가 도입된 것은 김수로왕의 비 허왕후가 아미타국에서 가락국으로 건너올 때 차를 가져와서 김해 백월산에 심었다는 설이 가장 먼저 우리 나라에 도입된 것으로 추측하고 있다. 544년(신라 진흥왕 5년) 전남 구례 화엄사를 창건한 인도 승려 연기(緣起)가 인도로부터 차나무를 가져왔다는 설도 있지만, 문헌에 의하면 삼국유사 신라국기편에 828년 흥덕왕이 당(唐) 사신으로 다녀온 대림 공에게 왕명으로 중국에서 가져온 차 종자를 지리산일대에 심게 했다는 기록이 있어 이를 역사적으로 우리나라에 최초로 차나무가 도입된 것으로 본다.

그러나 삼국사기에 차는 선덕여왕(632-646년)때부터 차를 마셨다는 기록으로 보아 오래 전부터 차가 들어와 있었던 것으로 보여진다. 차가 중국에서 도입되어 신라를 거쳐 고려의 불교 문화와 함께 성장하여 일상다반사가 되었다. 그러나 조선시대에 들어와 억불정책과 과도한 조세에 의해 차문화가 급격히 쇠퇴하면서 승려들의 참선에 차를 이용하면서 겨우 맥(脈)이 이어져 왔다.

조선 말기 초의선사, 다산 정약용, 추사 김정희 등에 의해 차 문화의 부흥기가 시작되었으나, 한·일합방에 의해 일본 차문화가 전해졌다. 광복 이후부터 지금까지 말살된 우리의 전통 차문화 부흥에 힘쓰고 있다.

그러나 이런 차문화 연구 비해 원료가 되는 차나무에 대한 연구는 매우 미진하다. 일제 말기 일본인 이에이리(家入)가 쓴 조선의 차와 선에 대한 기록을 제외하고는 차의 재배, 품종 등에 대한 식물학적 연구나 보고서는 거의 찾아보기 어려운 형편이다. 1992년 차나무를 이식한 사실을 김(1993)이 밝혔으나, 사후관리가 제대로 되지 않아 그 흔적조차 찾을 수 없어 문헌에만 남겨져 있는 실정이다(Table 1-1).

차의 기본인 차나무에 대한 연구는 차를 어떻게 우려 마시는가하는 차문화 못지않게 중요한 연구 대상으로 보다 적극적으로 연구를 추진하여야 한다.

따라서 차나무의 신품종 육성 및 유전자원 보존에 심혈을 기울여 연구해야 할 필요성이 있다고 생각된다. 차나무는 타식성 식물로 개체간 변이가 매우 심하며 뿌리는 직근성(直根性)이어서 이식을 하면 생육에 지장을 받는 식물로 알려져 종자로만 번식하는 것(실생번식)으로 알려져 왔다.

현재 국내에서 재배되는 차나무는 국내의 재배특성 및 기호에 맞게 육성된 것이 아니라 일본에서 도입된 야부끼다를 제외하고 대부분이 일본종과 중국종 및 한국 재래종이 섞인 종자로 조성된 차재배지로 손쉽게 종자를 구득하여 차밭이 조성되어 왔다. 이렇게 조성된 차밭은 실생묘인 관계로 형질이 균일치 못하며 품질 또한 좋지 않다. 무분별하고 검증되지 않고 도입된 종자에 의해 우리 재래종 야생차 집단의 우수한 유전자가 침식당하고 있다.

현재도 국내에서 육종·보급되는 묘가 없어 자연교잡으로 발생한 종자로 매년 100여ha 씩 차밭 면적이 늘어나고 있는 현실이다. 이러한 결과로 형질의 변이 및 분리가 심하게 생기는 것은 당연하며 이런 현실로는 중국과 일본 및 대만의 차와 경쟁에서 어려움이 많을 것이다. 이로 인해 초래되는 생산량 및 품질의 저하는 우리 나라 차산업의 경쟁력을 약화시킬 것이며, 또한 차 산업의 지속적인 발전에 장애가 될 것이다.

우리나라 남부지방 각처에는 많은 야생 차나무 집단이 있다. 이들 집단에서 유용한 형질(다수, 내병성, 향, 맛, 기능성 등)을 찾아 이용한다면 우수한 품종을 육종 할 수 있으며 아울러 좋은 차나무 유전자원이 될 것이다.

우리나라 야생차나무 집단의 유래와 재배, 야생차나무의 형태적, 유전적 변이, 단저병 내성을 갖는 집단을 조사하여 다수, 내병성, 내재해성 및 고품질 등의 우리 나라 고유 차나무 품종의 우수성을 찾고 우량한 계통을 선발 육성하는데 도움이 되고자 본 과제를 수행하게 되었다.

Table 1-1. Introduction planting of tea cultivar from foreign country(Kim,1993)

Years	Import location	Plantation	Introducer	Remark
48	India	Baekwoulsan	Herhwanghu	
828	China (Dangdynasty)	Jirisan	Daeryeum	
1920	Japan (Shizuoka)	Jeollanamdo Naju gumcheon wongog	None	
1927	Japan (Shizuoka)	Jeollanamdo Goheung Hohyung	"	
1930	Japan	Jeju seohong	"	
1931	Japan (Gumamoto)	Jeollanamdo Naju nampyung	"	
	Japan (Kyoto)	Jeollanamdo Naju youngsanpo	"	
1937	Japan (Ehime)	Jeollanamdo Youngam seoho	"	
1940	Japan (Kyoto)	Jeollanamdo Bosung bongsan	"	
1971	Japan (Yabukita)	Kyeongsangnamdo uljusamnam Eonyangdawon	Junganggebal (Samsung)	50,000 Plants
1975	Japan (Yabukita)	Jeollanamdo youngam miammyon	Daecheon Food.co.	
1980	Japan (Yabukita)	Jeollanamdo gangjin, Jeju seoguipo	Jangwon industry	

* 표에서 48년과 828년에 관한 내용은 추가한 것임.

제 2 절 연구 개발의 범위

건강에 대한 관심이 높아지면서 차의 수요가 점차 증가되고 있다. 이에 따라 차나무 재배면적도 늘어나고 있다. 이는 차가 보건음료로서 중요한 자리를 차지하고 있음을 의미하며 앞으로도 그 중요성이 더 확대되리라고 판단된다. 최근 전통 녹차의 소비량 증가와 정부에서 차재배 농가 지원에 따라 재배면적의 확대되고 있으나, 차나무를 침해하는 병의 발생이 점차 문제시 되어가고 있다.

그러나 우리 나라에서는 이들 병해에 대한 체계적인 연구가 이루어지지 않았다.

본 실험에서는 국내 32여 곳에서 자생하고 있는 재래종 차나무 60개체를 수집하여 크게 조사·분석·실험을 실시하였다.

- 형태적 특성조사: 엽장, 엽폭, 엽면적 지수, 엽육의 두께, 선단장, 조만성 등을 조사·분석하여 생산량을 높일 수 있는 우량개체를 선발한다.
- 개체의 성분분석: 총 질소, 총 아미노산, 탄닌, 카페인 함량을 조사하여 우수한 개체 선발한다.
- 차나무 탄저병균의 균사를 분리·증식: 차나무 저항성 개체선발을 위한 실험을 수행한다.
- 탄저병 내성 조사: 차나무 탄저병균의 균사를 우리 나라에서 자생하는 다양한 야생차 집단에서 선발 수집된 모집단에 접종하여 탄저병 내성을 조사한다.
- 외국품종의 도입: 일본에서 식재되고 있는 품종을 도입하여 형태적 특성 및 탄저병 내성에 대해 야생 재래종 선발 개체와 비교·분석한다
- 선발 개체의 RAPD분석: 다양한 Primer를 이용한 선발개체의 PCR을 통한 RAPD를 분석한다.

위의 조사 및 실험에 따른 국내 재래 품종 및 일본 품종의 형태적 특성을 일차적으로 파악하고, 삼목 발근력, 성분분석, 탄저병 저항성을 조사하여 최종적으로 고품질 차나무 탄저병 저항성 개체를 선발을 목적으로 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 차나무 형태학적 기술개발 현황

우리나라 야생차에 대한 연구는 전남(全南)의 산림과에 근무한 일본인 이에이리(家入一雄)는 전남지방의 야생차의 분포와 당시 일부 지방에서 유종된 전통차에 관한 보고와 文一平(1939)의 차에 관한 역사기록에 대한 고찰이 있으며, 1945년에서 60년대까지의 공백기를 거쳐 70년에 들어와서 이 분야의 연구가 다시 시작되어 7개 사찰 주변의 야생차의 엽의 형태에 관한 김(1969) 등의 보고와 지리산 중심의 산사 차적지(茶蹟地)에 관한 권(1974)의 보고가 있다.

야생차의 분포 조사를 위해 예상되는 분포 가능 지역의 설문 조사와 일부지역의 현지 조사를 한 이(1977)의 보고와 차엽 가공을 위한 차엽 수집을 하면서 전남북(全南北) 거의 전역의 분포 조사를 한 서(1983)등의 보고가 있었다.

박(1997)등은 전북 3개 집단, 전남 7개 집단, 경남 2개 집단을 선정하여 야생 차나무 집단의 생태 및 잎의 형태적 특성을 보고하였다.

은(1984)등이 지역집단에 대한 형태적인 특성 연구의 결과 분포지의 환경 차이보다 유전적 차이에 영향을 크게 받는다고 보고하였다. 특히 은 등은 화기 및 꽃의 모양에 대한 연구도 같이 하였다.

또한 박(2000)은 남부지방에서 20개 집단을 선발하여 각 개체마다 그 해 자란 가지에서 5개의 잎을 무작위로 선정하여 엽폭(葉幅), 엽장(葉長), 거치밀도(据置密度), 거치빈도(据置頻度), 엽선단형(葉先端形), 엽색(葉色), 엽모형(葉毛形), 엽모밀도(葉毛密度) 등에 대해 총 3000개의 잎을 조사하였다.

제 2 절 탄저병 관련 기술개발 현황

차나무 병해에 대한 연구는 *Colletotrichum theae-sinensis*에 의한 차 탄저병(박서기, 1995)과 *Sphaceloma theae*에 의한 차 흰별무늬병(박서기, 1995), *Pestalotiopsis longiseta*에 의한 차겹둥근무늬병(박서기 등, 1996), *Glomerella cingulata*에 의한 차 붉은잎마름병에 대해서 보고하였다(박서기 등, 1996).

차 탄저병은 병반 주변이 일반적으로 다각형의 부정형이고, 차 겹둥근무늬병은 병반 위에 겹둥근무늬를 형성하는 경우가 많은데, 차 붉은잎마름병(적엽고병)은 병반이 원형인 경우가 많고 병반위에 형성된 소흑점(분생자충)도 차 탄저병의 경우에는 산발적으로 분포하고, 겹둥근무늬병의 경우에는 둥근 무늬를 형성하면서 배열되어 있는데, 차 붉은잎마름병(적엽고병)의 경우에는 방사 상으로 배열되어 있는 것이 특징적이다(박서기 등, 1996).

차나무에 발생하는 병으로 우리나라에서는 붉은잎 마름병(적엽고병)만 기록되어 있으나, 전남 지방의 다원에서는 붉은잎 마름병(적엽고병) 이외에 여러 병이 발생하고 있다. 특히, 발생이 가장 심했던 탄저병의 이병엽은 연간 계속 관찰되지만 새로운 잎에서는 6월 상순부터 성엽에 관찰되기 시작하여, 6월 하순~8월 상순에는 10%이상, 9월 상순에는 20%이상이 이병엽율을 나타낸다. 주로 성엽의 가장자리 또는 끝에 발생하는데, 초기에는 병반주변의 잎맥이 다갈색으로 변하고, 부정형의 병반을 형성한다. 후기에는 다갈색의 병반이 회갈색으로 변하는데, 그 주변은 암갈색으로 약간 부풀어 올라 건전부와 이병부의 윤곽이 뚜렷하고, 내부에는 소흑점(분생자충)이 형성된다.

현미경하에서 관찰한 결과, 기주의 표피 밑에 75~128 μ m의 분생포자가 방출된다. 분생포자는 3~7 \times 2~3 μ m(평균 4.9 \times 2.3 μ m)크기의 방추형 또는 타원형으로 격막이 없는 단세포이고, 그 양단에 유구를 형성한다(박서기, 1995).

차나무에 발생하는 병에 대한 보고는 박(1995)등에 의해서 동정·분리되었지만, 병원균을 이용한 탄저병 저항성 개체의 선발은 아직까지 국내에서는 이루어지지 않았다.

제 3 절 RAPD분석의 기술개발 현황

최근 식물의 유전자 지도 작성과 genome연구에 분자 생물학적 표식인자(Molecular marker)로 Restriction Fragment Length Polymorphism(RAPD;1989)과 Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD;1993)가 많이 이용되고 있다. 종래의 RFLP법은 genomic DNA를 제한효소로 절단하여 절단된 DNA의 길이 차이로 특정부위의 변이 유무에 의해 유전적 차이를 감지하는 방법으로 식물육종 및 기초유전연구 분야에 있어 이미 유용하게 이용되고 있다.

그러나 Southern blot hybridization 등 방법의 수행에 많은 시간과 노력이 소요되는 동위원소의 사용에 따른 위험이 있었다. 최근 Thermal cycler에서 Taq polymerase와 Primer를 사용하여 유전자 혹은 DNA의 특정 부위를 증폭시키는 Polymerase Chain Reaction(PCR;1986)기술을 이용한 유전적 변이탐색방법인 RAPD법이 유전자의 다양성 조사에 효과적으로 이용되고 있다.

RAPD법은 무작위로 인위합성한 ten-mer(10 nucleotides)혹은 그 이상의 oligonucleotides를 primer로 이용하는 방법으로 무작위 ten-mer는 $4^{10}=1,048,576$ 개의 다른 염기조합을 가질 수 있으므로 이중 몇 가지만 이용하여도 200~1,000 base-pair를 갖는 여러 DNA 절편을 관찰할 수 있다. 그러므로 제한효소를 사용하는 기존의 RFLP기술에 의해서 나타날 수 있는 DNA변이보다 훨씬 많은 polymorphism을 얻을 수 있으므로 동식물의 분유와 집단유전학 및 유전자지도 장성에 효과적으로 이용될 수 있다. 이러한 RAPD법은Martin(1991)등이 침엽수의 종간차이 분석 등에 이용하였으며Orozco-casrillo(1994,) 등은 Coffea속 식물의 유전적 다형성 분석에서 교잡종의 형질이입 정도를 조사하여 이 방법이 육종에 있어 유용한 인자의 선발에 이용될 수 있음을 보여주었다. 또한 Tao(1993) 등은 수수에서 primer에 따른 유전적 평일성 정도를 조사하였다. 다년생 상록수인 차나무는 많은 변종이 포함되어 있으며 형태적으로도 많은 차이를 보인다.

오(1995)등은 한국 자생 차나무의 RAPD-Marker에 의한 유연관계에 대해 보고한 바 있다. 이(1995)등은 RAPD merker를 이용한 한국 야생 차나무 및 일본 차품종의 동정에 관한 연구를 발표하였다. 주로 소엽계인 국내 분포종은 오랜 전과과정을 통한 혼입으로 품종을 구별하기 힘들며 종내에 다양한 형질적인 변이를 포함하고 있으리라 추측되므로 이들을 세밀하게 분류하면 유용한 유전자원으로 이용할 수 있으리라 생각

된다. 따라서 본 연구는 국내 자생지의 차나무를 공식(供試)하여 탄저병 저항성 고품질 차나무를 선발하여 RAPD분석을 수행하고자 한다.

제 4 절 성분분석 기술개발 현황

차를 마시는 가장 큰 이유는 바로 차가 갖고 있는 화학성분의 효과 때문이라고 해도 과언이 아니다. 일반적으로 차는 75~80%가 수분이고 나머지 20~25%의 고형분이다. 이 고형분의 40%가 물에 녹는 수용성 성분이고 나머지는 불용성 물질이다. 이 고형분의 생리 활성 작용에 의해서 보건·기호음료로 오랜 역사를 가지고 음용되고 있다. 특히 차의 맛을 좌우하는 아미노산(amino acid), 폴리페놀(탄닌), 카페인(caffeine), 탄수화물, 비타민류, 무기질 성분등이 포함되어 있다. 따라서 차의 성분 분석은 차나무 종 선발·육종에 큰 영향을 미친다. 박(1995)등은 국내산 차엽의 생육특성과 화학성분에 관한 연구에서 무기성분, 탄닌, 카페인, 비타민 함량을 분석하였다.

문(1995) 등은 차의 기능성 성분과 생리활성 연구에서 차의 특징적인 성분으로 폴리페놀 중 카테킨(catechin)류의 생리 활성을 보고하며 이들 성분들의 생리적 기능을 밝혔다. 박(1996)등은 국내산 차엽의 유리아미노산(free-amino acid), 테아닌, 카테킨 함량에 관한 연구에서 차의 맛과 영양면에 크게 관여하는 아미노산과 여러 가지 약리작용이 알려져 있는 카테킨에 관한 조사 및 일본 우수 녹차 품종인 야부키다(Yabukita)와의 비교검토를 하였다.

박(1997) 등은 한국 자생차엽의 유리아미노산, 유기산, 지방산 함량에 관한 연구에서 유리아미노산과 지방산의 함량은 높고 유기산의 함량이 작은 것이 우수한 품종이라고 밝혔다. 또한 박은(1998)등은 화학성분으로 본 각국 시판 녹차의 품질 연구에서는 국산 녹차 26종의 화학적 성분 및 관능적 특성을 외국산 녹차와 비교 분석하였다.

김(2000)등은 동서방향(東西方向) 식재 다원에서 신아(新芽)의 생육 및 성분함량 변화에 따른 적채(摘採)시기의 결정연구에서 토양의 유실과 관리의 편리성 때문에 대부분 동서방향 식재하는데 남북방향의 차나무의 생육과 화학성분의 함량 변화를 조사·보고하였다.

따라서 차나무의 성분분석은 국내 고유한 우수한 품종 선발·육종에 중요한 인자이다. 차나무는 생육이 진전됨에 따라 차의 주요 맛 성분의 함량 변화가 일어난다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 차나무의 일반 특성

1. 차나무 분류학적 특성

차나무(*Camelia sinensis*)는 동백나무과에 속하는 사철 잎이 푸른 다년생 종자식물이다. 잎은 어긋나기의 긴 타원형이고 끝이 뾰족하며 잎 둘레에 톱니가 있다. 또 잎은 약간 두터우며 윤기가 있고 질기다. 차나무의 품종은 전세계 수천 종에 이르지만, 찻잎의 크기에 따라 분류학적으로 나누면 온대지방의 소엽종(중국종 var. *sinensis*)과 열대지역의 대엽종(앗삼종 var. *assamica*)의 두 변종으로 대별한다. 그러나 중간형도 많이 있으며 잎의 형태와 크기, 또는 나무형태나 형질변이가 심한 특징을 가지고 있다. 그러므로 차 학명 하나를 가지고도 분류학상 여러 가지 혼란이 일어나서 분류학상의 종, 변종, 품종, 동의(同義)등을 포함해서 차나무의 학명은 백여 종에 달하고 있다. 단 한 종의 식물에 대해 세계의 많은 식물학자들이 여러 가지 학명을 붙인 것을 볼 때 차나무가 얼마나 많은 잡다한 형질을 가지고 있으며, 이용면에서도 여러 사람들이 주목해 온 식물이라는 것을 알 수 있다.

최근에 네덜란드의 식물학자인 스튜어트(Cohen Stuart)는 4개의 변종으로 분류했다. 중국 소엽종, 중국 대엽종, 미얀마 소엽종(삼종)과 인도 대엽종(앗삼종) 으로 구분하였다.

● 중국 소엽종 (var. *bohea*)은 여러 개의 줄기로 된 키가 크지 않은 2~3m정도의 관목으로 가지가 많다. 잎 길이(엽장)가 4~5cm로 작고, 잎의 결줄기(측맥)는 6~8쌍로 단단하고 잎의 빛깔은 짙푸르다. 겨울철 추위에도 비교적 강한 편이라 품종을 개량하여 다량 생산할 수 있는 좋은 수종이다. 재배할 때는 수익성 때문에 줄기와 가지를 잘라 1m 정도로 키운다. 중국 동남부, 한국, 일본, 타이완 등지에서 많이 재배되고 주로 녹차용으로 이용된다.

● 중국 대엽종(var. *macrophylla*)은 나무 모양은 중국 소엽종과 같으나, 수고가 5~32m까지 자라는 큰 나무이다. 엽장이 12~14cm, 넓이는 5~6.5cm의 타원형의 큰 잎을 가지고 있으며 측맥은 8~9쌍이다. 중국의 호북, 사천, 운남성 지방에서 자생, 재배된다. 청차, 오룡차, 철관음차, 보이차등을 만든다.

● 미얀마 소엽종(var. *burmensis/shanform*)은 수고는 4~10m에 달하는 교목으로 엽장이 15cm내외로 비교적 넓고 측맥은 10쌍내외로 잎의 빛깔은 짙은 녹색이다. 잎의 모양은 타원형이며 톱니는 작고 많다. 통킹, 라오스, 타이 북부지역 및 버마 북부

지역등에 자라며 앓삼 지방에도 자란다.

● 인도 대엽종(*var. assamica*)은 수고가 10~20m의 줄기가 하나인 대형 교목과 여러 변종이 있다. 엽장이 20~30cm로 넓고 측맥은 12~16쌍이고, 엽질은 얇고 부드러우며 약간 연한 녹색을 띤다. 잎의 표면은 주름이 많고 꽃이 작다. 인도의 앓삼, 마니푸르 지방에서 자란다. 주로 홍차를 만든다.

우리 나라에서 자생하는 차나무는 대부분 중국 소엽종으로 사시사철 푸른 잎을 한 관목으로 자연 성장하여도 대체로 3~4m를 넘지 않는다. 온대성 기후에 알맞고 추위에도 강한 품종으로 수입연대는 정확히 알 수 없는 재래종 차나무이다. 전남 일부 다원에서 대량으로 재배하고 있는 차나무는 일본에서 수입산 야부끼다종 차나무로서 생산량이 많고 비교적 추위에 잘 견디는 편이다. 그러나 추위에 가장 강하고 동사율이 낮은 차종은 재래종 차나무이다. 따라서 우리 나라의 기후나 토양에 맞는 품종 개발과 보급이 필요하다.

2. 차나무의 식물학적 특성

차나무 꽃은 한곳으로 모여들었다가 흩어져 나가는 집산 화서로써 1~3개의 꽃이 피고 꽃잎이 보통 5매 꽃받침 5개의 홑꽃이지만 꽃잎이 퇴화된 것도 있고 때로는 6-8매인 것도 적지 않다. 수술의 수는 꽃마다 다르나 200~300개이다. 암술은 한 개로 주두 부분이 3~4갈래로 나누어져 있다. 개화기는 지역에 따라 다소 다르지만 9월부터 12월까지 길며 늦게 피는 것은 1월의 추운 한풍에도 견디며 개화하는 것도 있다. 꽃눈은 4 월경에서부터 형성되기 시작하여 가을에 개화한 후 약 5일 만에 꽃잎이 떨어진다. 이듬해 가을에 열매가 영글어 하나의 꽃봉우리에서 열매가 되어, 이듬해 피는 꽃과 만나는 실화상봉의 특성을 지닌 아열대성 식물이다.

종자는 자방의 외부는 털로 쌓여 있고 내부에는 3개방이 있으며 각 실에는 3-6개의 배주가 있다. 열매는 추운 겨울을 지내고 자라 8월말에는 성숙하여 새 꽃이 피는 10월이 되어서야 과실 껍질이 벌어져 그 속에서 1~3개의 씨가 떨어져 나온다. 1과 1粒의 과실은 다갈색으로 지름은 1cm정도의 구형이지만 과실 하나에 여러 개의 종자가 들어 있는 것은 편평(扁平)한 모양을 나타내며 기름을 짜서 쓰기도 한다. 보통은 과실 하나에 종자 하나를 가진 것이 대부분이다. 종자 수명은 매우 짧아서 채종 후 건조 상태에 따라서 약 10일정도 지나면 발아력이 떨어진다.

뿌리는 세근(細根)이 적고 깊이 흙 속에 내리며 주근은 2~5m까지 곧게 뿌리를 내리는 직근성(直根性)과 심근성(深根性)이어서 이식이 어렵다.

차나무 생육에는 13~15℃가 적합한데 최고 온도가 35℃를 이상이거나, -5℃이하가 되면 성장을 멈추는 현상이 나타난다. 특히 어린 유목에서는 -15℃이하로 오랜 시간 지속되면서 바람이 불면 동해가 촉진된다. 토양에 관계없이 잘 자라며, 질소 성분을 포함한 여러 가지 영양 성분이 필요하여 표토가 깊고 부식이 충분하여 하층에 자갈이 깔려 배수가 잘되고 보수력이 좋은 산 중턱의 경사지가 적당하다.

차나무 분포는 남위 23°~북위 45°사이이며, 최근 들어 재배 지역이 점차 확대되어 가고 있다. 지구상 최북단의 차 재배지는 흑해 연안의 구루지아 공화국으로 북위 42~43°부근에 위치하고 있다. 또한 이 부근의 앗시리아 지역에는 476ha의 차밭에서 차를 생산하고 있다. 적도부근의 케냐에서는 국가 주요 수출 작물로 지정되어 대대적으로 재배 및 연구되고 있다. 최남단은 남회귀선(남위 23°27')을 한계로 하고 있으며 브라질, 호주 및 뉴질랜드에서 차를 재배하고 있다.

인도의 앗삼 지방과 같이 년 평균 기온 22℃를 넘는 더운 곳에서는 차밭에 햇볕을 가릴 수 있게 해 주거나 해가림 나무를 혼식 해주어야 한다.

또한 토양조건은 관수가 용이하고 배수가 양호하며 강우량이 많은 지역에서 양질의 차가 생산되고 있다.

제 2 절 형태적 특성을 이용한 우량개체 선발

1. 우리나라 재래 차나무집단 선정 및 일본 우량 품종 도입

가. 한국 재래종 야생 차나무 집단의 선발

우량개체 선발을 위해 우리 나라의 다양한 지역에 서식 중인 야생차나무 32개 집단에서 60개 개체를 선발하였다. 전체적으로 전남지방에서 25개 집단, 경남에서 6개 집단 그리고 전북에서 1개 집단으로 총 32개 집단에서 60개체를 선발하였다(Figure 3-1).

집단내의 개체선발을 위한 조사대상은 사전답사를 통해 성장이 좋고(엽각이 둔각으로 햇빛의 수광량이 좋고 잎의 착생 밀도가 높은 개체), 병해충의 증상이 없으며, 신초(新草)가 진한 녹색을 띄고 있으며, 개엽 시기가 빠른 개체를 대상으로 선발하였다. 선발조사 대상 집단은 우리나라 야생차의 집단으로 외래 차나무의 유전적 오염이 되어 있지 않는 지역을 대상으로 선정하였다



Figure 3-1. The location of selected wild tea population in Korea

1.Imchonri	9.Songgwangsa	17.Yongsanri	25.Bogamri
2.Boriam	10.Seonamsa	18.Borimsa	26.Bongwhangangol
3.Yongmoonsa	11.Naganeupseong	19.Keumgogsa	27.Wolyadeogsan
4.Ssangkyesa	12.Daewonsa	20.Kundongsangdongri	28.Bulgabsa
5.Sancheongshicheon	13.Deugryang-dajeon	21.Daeheungsa	29.Yootangri
6.Sancheongbancheon	14.Wonbongri	22.Haenamgohyeonri	30.Tongcheon(yeongtaeri)
7.Cheoneunsa	15.Jubongri	23.Bugilseongdeogri	31.Subugdujeongri
8.Daap	16.Bangchonri	24.Bubcheonsa	32.Naejangsa

나. 일본의 우량 품종 도입

일본의 19개 차나무품종(Asahi, Asanoka, Benifuki, Bennikaori, Hatsumomiji, Houryoku, Izumi, Meiryoku, Minamikaori, Minamisayaka, Minekaori, NM27, Oiwase, Ryofu, Surugawase, Yamakai, Yamanami, Yamanoibuki, Z-1)을 도입하여 육성하고 있다. 이를 차나무 탄저병의 내성 지표로 사용함과 동시에 다양한 우수 형질의 비교 품종으로 사용하였다(Figure 3-2).



Figure 3-2. Inducted tea population from the Japan (Yamakai, Asanoka, Meiryoku, NM27, NM27, Benikaori)

2. 선발개체의 형태적 특성조사

차나무의 엽 형태 특성으로 생산력과 중요한 관계를 가지고 있는 맹아기 및 조만성(早晚性), 엽장(葉長), 엽폭(葉幅), 엽면적지수(葉面積指數), 엽육(葉肉)두께, 선단장(先端長) 등 7개 항목 및 신규 다원 조성시 중요한 인자인 삼목 발근성 등에 대해 조사하였는데 그 결과는 다음과 같다.

● 신엽(新葉)의 맹아기는 신품종 선발에 가장 중요한 요소로써 만상의 피해를 줄일 수 있는 선발 기준이 된다. 신엽의 맹아기는 평균 4월 24일이면 발생하고, 일본 품종이 4월 28일 경으로 나타나 일본 품종에 비해 우리나라 재래 품종의 맹아기가 4일 정도 빠른 것으로 나타났다. 우리나라 재래품종은 4월 말경이면 거의 대부분이 맹아가 움트며 일본 선발품종에서는 대부분 4월 말경이면 맹아가 발생하였다. 일본 품종 중에서 가장 늦은 품종이 5월 4일이 되어서야 비로소 맹아가 발생하는 품종도 조사되었다.

● 맹아기에 따른 조만성(早晚性)의 고려는 품종 선택과 차엽 생산에 있어서 중요한 항목 중의 하나이다. 차나무에서 새싹이 돌아나는 맹아기는 조생, 중생, 만생종으로 구분하는데 품종간 그 시기가 넓게는 20일 정도 차이가 난다. 조만성 조사에서, 우리나라 재래품종이 조생종 또는 중생종의 비율이 일본 품종에 비해 높은 것으로 밝혀졌다. 이에 비해 일본 품종은 만생종이 월등히 높게 나타난 것으로 조사되었다.

● 엽형(葉形)은 차엽 생산량을 결정하는 중요한 요소이다. 우리나라 재래품종은 중국 소엽계에 속하지만 집단에 따라 또 개체에 따른 변이가 심하다. 우리나라 야생 차나무 선발개체의 엽장(葉長) 평균이 7.1cm 이고 엽폭(葉幅)이 2.9cm으로 나타났으며, 일본 선발 우수 장려 품종의 엽장은 7.5cm 엽폭은 2.7cm으로 조사되었다. 엽장은 일본 품종이 더욱 길고, 엽폭에 있어서는 우리나라 재래품종이 다소 넓었다. 일본 품종은 폭이 좁고 길이가 긴 특성을 나타냈다. 그러나 두 나라 차나무의 엽형 변이는 크게 나타나지 않았으며 중국 소엽계의 특성을 가지고 있는 것으로 분류되었다.

● 전체 차나무 개체중 엽면적 지수는 우량의 차 잎 생산을 위해 중요한 요소인데, 우리나라 재래품종은 2.5이었고 일본 품종은 2.7로 나타났다. 일본품종의 엽면적 지수가 약간 높게 나타나서 우리나라 재래종 보다 높은 생산력을 가지는 것으로 추정되었

다.

● 엽육(葉肉)이 두꺼운 것이 생산량이 높으며 선발 기준이 되는데, 우리나라 재래품종이 0.2cm, 일본 선발품종이 0.3cm로 조사되었다. 일본 선발품종이 대체적으로 우리나라 재래품종에 비해 엽육이 두꺼운 것으로 나타났으며 일본 품종의 생산력이 높은 인자로 생각되었다.

● 선단장(先端長)은 둥글면서 작은 것을 0, 야부끼다형을 3, 뽕족한 것을 5, 더 뽕족한 것을 7의 가중치를 주어 조사한 결과 우리나라 재래품종이 4.3으로 나타났으며 일본 선발품종을 3.1로 조사되었다. 이러한 결과는 엽형 형태와 관련된 것으로 분류상의 특성 인자로 이용 할 수 있을 것으로 생각된다.

선발된 우량계통의 차나무 개체를 증식·보급하기 위해서는 그 번식법이 중요한 요소이다. 증식하고자 하는 품종과 동일한 개체특성을 가진 차나무를 대량으로 증식하기 위해서는 흔히 영양번식법인 삽목묘(挿木苗)를 많이 이용한다. 삽목묘로 조성된 다원은 맹아기가 똑같기 때문에 기계화된 수확을 할 수 있어서 이러한 삽목 발근성이 높아야 하기 때문에 이에 대한 조사를 실시하였다. 60개체의 차나무 개체 모두 삽목묘를 증식하여 보급하는데 용이한 품종으로 평가되었다.

이상의 7개 항목에 대한 조사 결과, 득량다진 1개체, 통천용면 3개체, 군동생동 1개체, 주봉리 1개체, 보림사 1개체, 수북 두정리 1개체, 선암사 1개체, 북일 성덕리 1개체, 방촌리 1개체, 내장사 1개체, 쌍계사 1개체, 산천 신천 1개체, 북암리 2개체, 다압 3개체, 용산리 1개체, 봉황안골 1개체, 낙안 읍성 1개체의 22개체를 선발할 수 있었다. 또한 조사결과 일본 품종과 우리나라 재래품종의 형태 특성에 있어서는 그렇게 많은 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 환경 요인에 좌우되는 차 잎의 크기나 형태에 중점을 두었기 때문인 것으로 생각된다(Table 3-1).

Table 3-1. Morphological characteristics of Korea wild tea population

Population	mature leaf					germinal day of Immature leaf	Skipping time	selection value
	leaf length (cm)	leaf width (cm)	leaf size index (%)	margin al shape	leaf thickness (cm)			
Deugryangdajeon	8.0	3.0	2.7	5	0.3	4.24	M	+++
Boriam	6.5	3.1	2.1	3	0.3	4.24	M	++
Bulgabsa	7.0	2.8	2.5	3	0.3	4.24	M	++
Tongcheon (yeongtaeri)	9.0	3.5	2.6	3	0.2	4.24	M	+++
Tongcheon (yeongtaeri)	7.3	3.0	2.4	5	0.2	4.26	M	+++
Tongcheon (yeongtaeri)	8.0	3.5	2.3	3	0.3	5.08	L	+++
Kudong-sangdongri	5.5	2.0	2.8	0	0.3	4.24	M	+
Kudong-sangdongri	7.7	3.2	2.4	3	0.3	4.26	M	+++
Songgwangsa	8.1	2.8	2.9	7	0.2	4.22	M	++
Bubcheonsa	7.2	2.6	2.8	5	0.2	4.25	M	++
Keumgogsa	5.9	2.6	2.3	5	0.2	4.20	E	+
Keumgogsa	8.2	2.9	2.8	5	0.3	4.22	E	++
Wonbongri	9.2	2.8	3.3	7	0.2	4.24	M	++
Jubongri	6.9	2.4	2.9	3	0.2	4.27	M	+
Jubongri	8.5	4.7	1.8	3	0.2	4.20	E	+++
Borimsa	7.2	3.2	2.3	5	0.3	4.25	M	+++
Yongmoonsa	6.6	2.4	2.8	5	0.3	4.28	M	+
Subugdujeongri	6.0	2.7	2.2	5	0.2	4.20	E	+
Subugdujeongri	8.0	3.8	2.1	3	0.2	4.24	M	+++
Yootangri	6.6	2.9	2.3	5	0.1	5.03	L	-
Seonamsa	7.2	3.1	2.3	5	0.2	4.22	E	+++
Seonamsa	7.2	2.6	2.8	3	0.2	4.30	M	++
Seonamsa	6.1	2.6	2.3	5	0.2	4.23	M	+
Seonamsa	6.2	2.5	2.5	7	0.2	4.20	E	+
Seonamsa	6.5	2.5	2.6	5	0.3	4.25	M	++
Bugilseongdeogri	4.5	2.5	1.8	7	0.2	5.03	L	+++
Daewonsa	6.1	2.5	2.4	5	0.3	4.24	M	+

Marginal shape : small-round(0), large-round(1), sharp(3), tailing and sharp(5), large and sharp(7) Selection index : Selection value : +, ++, +++, Reservation : -, +, ++, Skipping time : Early : >4. 20, Middle : 4.23~4.30 Lately : <5. 1

Population	Leaf					Immature leaf germinal day	Skipping time	selection value
	leaf length (cm)	leaf width (cm)	leaf size index(%)	marginal shape	leaf thickness (cm)			
Bangchonri	7.8	3.0	2.6	5	0.2	4.24	M	+++
Bangchonri	6.8	2.7	2.5	5	0.2	4.24	M	+
Bangchonri	6.6	2.7	2.4	5	0.2	4.26	M	+
Daeheungsa	5.5	2.5	2.2	3	0.3	4.23	M	+
Naejangsa	8.1	3.5	2.3	3	0.3	4.24	M	+++
Naejangsa	6.5	2.0	3.3	7	0.3	5.08	L	+
Ssangkyesa	8.5	3.6	2.4	7	0.3	4.20	E	+++
Ssangkyesa	7.2	2.5	2.9	7	0.2	4.22	E	++
Sancheongshicheon	6.8	2.7	2.5	3	0.2	4.20	E	+
Sancheongshicheon	6.9	2.7	2.6	3	0.3	4.20	E	+
Sancheongbancheon	7.9	3.6	2.2	5	0.2	5.08	L	+++
Bogamri	7.5	3.1	2.4	3	0.3	4.27	M	+++
Bogamri	8.7	4.0	2.2	5	0.3	4.23	M	+++
Daap	5.7	2.4	2.4	5	0.2	5.13	L	+
Daap	7.8	3.0	2.6	5	0.2	4.21	E	+++
Daap	7.9	3.6	2.2	5	0.3	5.08	L	+++
Daap	7.2	2.7	2.7	3	0.2	4.24	M	++
Daap	6.8	2.3	3.0	3	0.2	4.26	M	+
Daap	7.6	3.3	2.3	0	0.2	4.22	E	+++
Imchonri	7.7	2.6	3.0	5	0.2	5.08	L	++
Wolyadeogsan	6.0	3.1	1.9	5	0.3	4.22	E	++
Haenamgohyeonri	7.8	2.5	3.1	5	0.2	5.04	L	++
Haenamgohyeonri	7.1	2.8	2.5	5	0.3	5.02	L	++
Haenamgohyeonri	6.7	2.4	2.8	3	0.2	4.28	M	+
Yongsanri	8.2	3.8	2.2	7	0.3	4.28	M	+++
Bongwhangangol	6.4	2.6	2.5	3	0.2	4.22	E	+
Bongwhangangol	7.9	3.3	2.4	5	0.2	4.19	E	+++
Naganeupseong	6.8	2.3	3.0	3	0.2	4.29	M	+
Naganeupseong	5.6	2.5	2.3	5	0.1	4.25	M	-
Naganeupseong	6.7	2.2	3.0	5	0.2	4.23	M	++
Naganeupseong	6.0	2.3	2.6	3	0.2	4.20	E	+
Naganeupseong	7.8	3.2	2.4	0	0.2	4.27	M	+++
Cheoneunsa	5.7	2.6	2.2	7	0.2	4.21	E	+
Mean	7.1	2.9	2.5	4	0.2	-	-	

Marginal shape: small-round(0), large-round(1), sharp(3), tailing and sharp(5), large and sharp(7) Selection index: Selection value: +, ++, +++, Reservation: -, +, ++, Skipping time: Early: >4. 20, Middle: 4.23~4.30 Lately: <5. 1

Table 3-2. Morphological characteristics of Japan tea populations

Population	Leaf							Cutting efficiency
	leaf length (cm)	leaf width (cm)	leaf size index (%)	marginal shape	leaf thickness (cm)	Immature leaf germinal day	Skipping time	
Asahi	6.6	3.1	2.1	3	0.3	4.29	L	3
Asanoka	7.2	3.3	2.1	0	0.3	4.27	L	2
Benifuki	7.4	3.0	2.5	7	0.3	5.04	L	3
Benikaori	7.8	3.6	2.2	7	0.3	5.03	L	3
Hatsumomiji	7.9	2.2	3.6	3	0.2	4.24	M	3
Houryoku	7.8	3.1	2.5	3	0.3	4.28	L	3
Izumi	6.7	2.4	2.8	0	0.3	4.27	L	2
Meiryoku	7.5	2.5	3.0	3	0.2	4.26	L	3
Minamikaori	7.9	2.2	3.6	3	0.3	4.25	M	3
Minamisayaka	7.9	3.2	3.6	3	0.3	4.27	L	3
Minekaori	7.6	2.9	2.6	3	0.3	4.28	L	3
NM27	7.1	2.3	3.1	0	0.3	4.26	L	3
Oiwase	7.8	2.6	3.0	3	0.3	4.25	M	3
Ryofu	6.6	3.4	1.9	3	0.4	4.29	L	3
Surugawase	7.3	2.4	3.0	3	0.3	4.24	M	3
Yamakai	7.8	3.2	2.4	3	0.3	4.25	M	3
Yamanami	7.7	3.1	2.5	3	0.3	4.28	L	3
Yamanoibuki	8.3	4.2	2.0	3	0.3	4.29	L	3
Z-1	6.9	3.0	2.3	5	0.4	5.01	M	2
Mean	7.5	2.9	2.7	3	0.3	-	-	3

제 3 절 야생 차나무의 성분함량 분석

1. 성분분석 방법

가. 시료조제

국내 32여 곳에서 자생하고 있는 재래종 차나무 60개체를 수집하여 당년에 자란 신초심 [(芯), 제 1엽, 제 2엽, 제 3엽이 부착된 줄기 끝] 을 채취하여 저온(-25℃)에 저장 후 분말화 하여 분석용 시료로 사용하였다.

나. 차의 무기 성분 분석 방법

1) 총 질소

총 질소량은 비색법(Indophenol-Blue method)에 따라 시험관에 혼합시약(Alkaline phenolate 50ml+Na-nitroprusside 100ml+4% EDTA 5ml) 3ml와 시료액 1ml(시료액이 산성일 때 10배 정도 희석)을 넣어 37℃ 항온수조에서 5분간 항온 후 혼합시약(Phosphate buffer 200ml+Na-hypochlorite 50ml) 5ml를 가한 후 잘 흔들어 주었다. 그 후 20분간 실온에서 발색시켜 665nm(Milton Roy Spectronic 3,000)에서 흡광도를 측정하고 표준물질로 (NH₄)₂SO₄를 사용하였고, 총 질소함량을 아래 식으로 계산한다.

*T-N 량 : 표준곡선에서 얻은 mg/kg 수×희석배수=시료중의 mg/kg 수

다. 차의 유기성분 분석 방법

1) Tannin

시료 분말 0.1g과 80℃ 열수 70ml를 mass flask에 넣고 80℃ 항온수조에서 30분간 가온 추출하였다. 방냉 후 100ml로 정량 하여 여과하였다. 이때 최초 20ml를 버리고 20ml 이후의 여액을 측정용 시료 용액으로 사용하였다. 차의 분석법에 따라 조제된 여액 5ml와 주석산철시약(FeSO₄ 7H₂O 100mg+Rochelle salt 500mg/100ml H₂O) 5ml를 25ml volumetric flask에 넣고 pH 7.5로 조절된 Sorensen's phosphate buffer solution(0.066M Na₂HPO₄ 2H₂O + 0.066 MKH₂PO₄ /1ℓ)으로 정용 하여 발색시킨 후 spectrophotometer (MiltonRoy Spectronic 3000)로 540mm에서 흡광도를 측정하고, Ethyl - gallate(Wako Chemical Industries, Japan)로 표준곡선을 구해 다음 식으로 Tannin양을 계산하였다.

$$*Tannin(\%) = G \times 1.5 \times 100 / W$$

G = 시료용액 흡광도에 대한 ethyl gallate량

W = 100ml중의 시료 건물중(mg)

2) Caffeine

茶 粉末 0.2g과 80℃ 물 70ml를 messflask에 넣고 80℃ 항온수조에서 30분간 가운 추출한 후 방냉하여 100ml로 정용 하여 여과(Wattman No. 2)하였다. Ikegaya分析法에 따라 여과 여액을 0.45 μ m membrane filter에 통과시켜 HPLC 분석을 위한 여액으로 사용하였고 이대 HPLC 분석조건은 Table 3-3과 같으며 Caffeine 함량은 다음 식으로 계산하였다.

$$*Caffeine(\%) = \frac{A \text{ mg}}{\text{시료중량(mg)}} \times 100 \times \text{무수물 환산계수}$$

A : 검량선에 의한 10ml중의 caffeine중량

무수물 환산계수 : $100 \div (100 - \text{수분}\%)$

Table 3-3. Specification of HPLC instrument

Instrument	Jasco LC-900(Japan)
Column	Finepak SIL C ₁₈ S(4.6mm I.D. ×15mm)
Mobile Phase	Methanol : H ₂ O = 30 : 70(v/v%)
Detector	UV/VIS
Wavelength	260NM
Flow rate	1.0ml/Min
Column temp.	35°C
Chartspeed	5mm/Min

3) Amino acids

10ml volumetric flask에 粉末試料 0.1g과 80℃ 열수 70~80ml을 가해 80℃ 항온수조에서 30분간 가온 후 방냉하여 여과지(Wattman No.2)로 신속히 여과하였다.

여액에 polyvinyl-polyrrrolidone (PVPP)300mg을 가해 진탕하여 30분간 방치 후 여과하여 분석용액으로 사용하였다.

茶의 分析法에 따라 20ml test tube에 시료용액 1ml + ninhydrin 0.5ml를 가해 잘 혼합한 후 80℃ 항온수조에서 30분간 가온한 후 신속히 냉각하여 희석액(isopropyl alcohol : H₂O = 1 : 1)을 잘 흔들어 준 후 570nm 흡광도에서 측정하였다.

표준용액으로 glutamic acid를 사용했고 이때 amino acid량은 glutamic acid를 이용해 검량선을 작성한 후 환산하였다(Table 3-4, Table 3-5, Table 3-6).

Table 3-4. Composition of reagent solutions for physiological
no acid analysis

Items	Reagent	
	HYPO soln.	OPA soln.
Boric acid(g)	24.7	24.7
KOH(g)	23.0	23.0
Na ⁺ Hypochlorite(ml)	0.1	—
O-Phthalaldehyde(g)	—	1.6
2-Mercaptoethanol(ml)	—	2.0
Brij-35(30% Soln.)(ml)	—	2.0
H ₂ O(ml)	980	980

* Dissolve in 10ml methanol

Table 3-5. Composition of eluants for physiological amino acid analysis

Items	Order					
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
pH	2.97	3.28	4.25	3.75	4.55	—
Li ⁺ Concentration(M)	0.15	0.20	0.30	0.90	1.30	0.30
Lithium Citrate(g)	14.1	14.1	28.2	42.3	61.1	—
Perchloric Acid(ml)	13.3	11.7	15.3	26.2	19.2	—
Lithium Chloride(g)	—	2.12	—	19.1	24.6	—
Methanol(ml)	30	—	—	—	—	—
Thiodiglycol(ml)	—	—	2.0	2.0	2.0	—
n-Caprylic Acid(ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	—
Lithium Hydroxide(g)	—	—	—	—	—	12.6
Water(ml)	960	980	970	930	930	1000

Table 3-6. HPLC conditions for physiological amino acid analysis

Instrument	Jasco LC-900(Japan)
Column	AApak Li ⁺ (100mm×6mm I.D). AEC pak(125mm×4.6mm I.D.)
Eluant	1st. Lithum citrate buffer, 0.15M Li ⁺ . pH 2.97(0 ~ 13min)
(time programming)	2st. Lithum citrate buffer 0.20M Li ⁺ . pH 3.28(13 ~ 52min)
	3rd. Lithum citrate buffer 0.30M Li ⁺ . pH 4.25(52 ~ 88min)
	4th. Lithum citrate buffer 0.90M Li ⁺ . pH 3.75(88 ~ 128min)
	5th. Lithum citrate buffer 1.20M Li ⁺ . pH 4.55(128 ~ 168min)
	6th. 0.3M Lithium hydroxide(168~178 min)
Eluent pump	PU-980
Detector	FP-920(Ex : 345nm, GAIN : 10)
Flow Rate	0.6mℓ/min
Column temp	40℃
Reagemt pump	885-PU
Reagent 1	Sodium hypochlorite solution/0.4M Potassium borate buffer (pH 10.5)
Reagent 2	OPA/0.4M Potassium borate buffer(pH 10.5)
Flow rate	0.4mℓ/min(each)
Reaction coil 1	1m×0.5 I.D.
Reaction coil 2	2m×0.5 I.D.
Reaction temp.	40℃

2. 우량개체 선발을 위한 차 성분 분석

한국 야생차나무 우수개체 선발을 위해 각 집단별 총 질소 함량, 총 아미노산 함량, 탄닌 함량 및 카페인 함량 등을 조사하였다.

차나무의 성분은 집단마다 함량 변이를 보였다. 성분조성은 Table 3-7과 같다.

가. 총질소 함량

총질소 함량은 집단 전체 평균 4.7%이었으며 총질소 함량이 가장 많은 집단은 대원사로 5.2%, 가장 적은 집단은 용문사 집단으로 3.4%이었다. 총질소 함량은 맛과 밀접한 관련을 갖고 있기 때문에 총질소 함량을 많이 보유한 개체를 우수 개체로 보고 육종에서는 선발하고 있다. 총질소 함량이 높은 집단은 득량 다전 집단(5.1%), 수북 두정리 집단(5.2%), 대원사 집단(5.2%), 방촌리 집단(5.0%), 대흥사 집단(5.0%) 등이다.

이러한 총질소 함량이 많은 집단은 차나무의 형질이 좋고 다수확이며 내병성 등 모든 우량한 특성을 고루 갖추고 탄닌과 카페인 함량이 적은 계통을 선발하여 신품종으로 육성해야 한다.

나. 총 아미노산 함량

녹차의 좋은 맛은 아미노산 및 당류에 의하며 아미노산을 제거 할 경우 좋은 맛이 1/3 정도로 감소한다고 보고하였다(中川致之), 이렇듯 아미노산은 녹차에서 중요하다. 총아미노산 함량은 집단 전체 평균 19.1mg/g이었으며, 최고 많은 집단은 주봉리 집단으로 27.7mg/g이었으며 가장 적은 집단은 통천(영태리)집단으로 14.4mg/g으로 나타났다. 그러나 같은 영태리 집단에서도 18.3mg/g를 보유한 개체도 있었다. 이는 개체간의 차이라고 본다.

총아미노산 함량은 맛을 좌우하기 때문에 육종에서는 아미노산 함량을 많이 간직한 차나무를 선택하고 있다. 총아미노산 함량이 높은 집단은 금곡사(27.4mg/g), 수북 두정리(27.2, 23.3mg/g), 선암사(26.5mg/g), 대원사(27.2mg/g), 방촌리(23.4, 26.5mg/g), 대흥사 (26.9mg/g), 쌍계사(22.9mg/g), 다압(26.8, 26.4, 25.2mg/g) 등이다.

이러한 총아미노산 함량이 많은 집단은 차나무의 형질이 좋고 다수확이며 내병성 등 모든 우량한 특성을 고루 갖추고 탄닌과 카페인 함량이 적은 계통을 선발하여 신품종

으로 육성해야 할 것이다

다. 탄닌 함량

탄닌(폴리페놀) 함량은 집단 전체 평균 14.4%이었으며, 가장 많은 집단은 낙안읍성으로 15.8%이었으며 가장 낮은 집단은 다압으로 11.6%이었다.

탄닌 함량이 많으면 맛이 떫기 때문에 차를 기피하는 사례가 많아 육종에서는 탄닌 함량이 적은 나무를 선발하고 있다. 탄닌 함량이 낮은 집단은 득량면 다전 집단(12.7%), 불갑사 집단(12.8%), 선암사 집단(12.4%), 낙안읍성 집단(12.4, 12.1%)등이다.

이러한 탄닌 함량이 적은 집단은 차나무의 형질이 좋고 다수확이며 내병성 등 모든 우량한 특성을 고루 갖추었지만 탄닌 함량이 많아 선발되지 못할 때 인공교배를 통하여 신품종을 만들어내야 할 것이다

라. 카페인 함량

카페인 함량은 집단 전체 평균 2.5%이었으며, 가장 많은 집단은 3.7%로 법천사 집단이었으며, 가장 적은 집단은 다압 집단으로 1.4%이었다.

녹차내의 테아닌, 카테킨이 카페인의 흡수를 저해하고 카페인 활성을 억제하여 소변으로 배출하기 때문에 커피의 카페인과는 질적으로 다르다.

카페인에 민감한 사람은 소비자가 싫어하기 때문에 카페인을 적게 함유한 나무를 육종에서는 선발하고 있다.

카페인 함량이 낮은 집단은 선암사 집단(1.5%), 대흥사 집단(1.6%), 해남 고현리 집단(2.0%), 다압집단(1.8%), 낙안읍성 집단(1.7, 1.6%)등이었다.

이러한 카페인이 적은 집단은 차나무의 형질이 좋고 다수확이며 내병성 등 모든 우량한 특성을 고루 갖추었지만 카페인 함량이 많아 선발되지 않을 때 인공교배를 통하여 신품종을 만들어내야 할 것이다

Table 3-7. Component analysis of wild tea population

Population	Number of plant	Total nitrogen (%)	Total aminoacid (mg/g)	Tannin (%)	Caffeinne (%)	selection index
Deugryang-dajeon	(1-04-04)	5.1	19.5	12.7	2.5	++++
Boriam	(1-08-23)	4.9	17.5	13.6	2.1	+++
Bulgabsa	(1-10-14)	4.5	18.2	12.8	2.3	++++
Tongcheon (yeongtaeri)	(1-14-12)	4.8	18.3	13.4	2.1	+++
Tongcheon (yeongtaeri)	(1-14-30)	4.6	14.4	15.5	2.4	++
Tongcheon (yeongtaeri)	(1-14-44)	4.5	16.0	15.2	2.1	+
Kudong-sangdongri	(1-19-15)	4.2	15.7	14.3	3.2	+
Kudong-sangdongri	(1-19-39)	4.3	16.4	13.4	3.3	+
Songgwangsa	(2-08-03)	4.5	17.2	14.8	2.3	++
Bubcheonsa	(2-09-03)	4.6	18.3	15.5	3.7	++
Keumgogsa	(2-12-11)	4.6	27.4	14.8	2.6	+++
Keumgogsa	(2-12-30)	4.5	15.4	15.1	3.4	+
Wonbongri	(2-16-05)	4.8	19.2	14.7	3.5	++
Jubongri	(2-22-04)	4.8	27.7	13.5	2.7	+++
Jubongri	(2-23-11)	4.5	18.3	15.7	3.2	++
Borimsa	(2-30-03)	4.6	16.6	15.2	2.6	+
Yongmoonsa	(3-01-13)	3.4	16.2	15.2	3.5	++
Subugdujeongri	(3-02-06)	5.0	27.2	13.5	2.6	+++
Subugdujeongri	(3-02-09)	5.2	23.3	13.7	2.3	+++
Yootangri	(3-06-14)	3.8	19.3	14.6	2.4	++
Seonamsa	(3-07-01)	4.7	15.2	15.6	3.3	+
Seonamsa	(3-08-06)	4.5	18.3	13.7	2.4	+++
Seonamsa	(3-08-11)	4.6	16.3	14.7	3.6	++
Seonamsa	(3-08-13)	5.0	26.5	12.4	1.5	++++
Seonamsa	(3-08-20)	4.6	16.5	14.3	3.5	+
Bugil-seongdeogri	(3-12-03)	4.7	15.8	13.8	3.4	+
Daewonsa	(3-14-12)	5.2	27.2	13.3	2.2	++++
Bangchonri	(3-19-01)	5.0	23.4	15.5	2.3	+++
Bangchonri	(3-20-02)	5.0	26.5	13.4	2.5	+++
Bangchonri	(3-20-01)	4.8	17.4	14.1	2.9	++

Selection index : T/N , >4.5%, Total amino acid : >18.0mg/g, Tannin, <13%,

Caffeine <3%, Selection : +, ++, +++, Reservation : -, +, ++, +, +++

Population	Number of plant	Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg/g)	Tannin (%)	Caffeine (%)	selection index
Daeheungsa	(3-21-14)	5.0	26.9	13.5	1.6	+++
Naejangsa	(3-28-08)	4.7	18.6	14.0	2.4	++
Naejangsa	(3-28-09)	5.0	18.1	13.3	2.5	+++
Ssangkyesa	(3-24-15)	4.9	22.9	14.1	2.7	++
Ssangkyesa	(3-24-23)	4.8	16.8	14.7	2.9	++
Sancheong-shicheon	(3-26-01)	4.8	17.0	15.4	2.6	++
Sancheong-shicheon	(3-26-02)	4.6	15.7	13.6	2.3	++
Sancheong-bancheon	(3-29-13)	4.5	15.2	14.6	2.5	+
Bogamri	(4-06-07)	4.7	17.3	13.0	2.7	+++
Bogamri	(4-06-10)	4.8	16.7	14.4	2.3	++
Daap	(4-07-17)	4.8	26.8	11.6	1.4	++++
Daap	(4-07-19)	4.8	16.1	13.3	2.6	+++
Daap	(4-08-07)	4.6	17.6	15.0	2.4	++
Daap	(5-11-11)	4.7	26.4	14.6	2.1	+++
Daap	(5-11-25)	4.6	25.2	13.7	2.2	+++
Daap	(5-11-45)	4.3	16.8	13.7	1.8	++
Imchonri	(4-22-07)	4.5	18.2	15.6	2.5	+++
Wolyadeogsan	(4-27-04)	4.4	17.4	14.5	2.5	+
Haenam-gohyeonri	(5-01-10)	4.6	15.8	15.6	2.9	++
Haenam-gohyeonri	(5-01-12)	4.7	19.7	13.2	2.0	+++
Haenam-gohyeonri	(5-01-28)	4.8	18.0	15.4	2.5	+++
Yongsanri	(5-17-60)	4.7	17.3	15.8	2.3	++
Bongwhang-angol	(5-19-15)	4.4	17.6	14.1	2.3	+
Bongwhang-angol	(5-19-27)	4.2	17.9	14.7	2.3	+
Naganeupseong	(5-20-04)	4.7	18.1	15.8	1.7	+++
Naganeupseong	(5-21-01)	4.6	17.6	15.0	2.4	++
Naganeupseong	(5-21-10)	4.8	16.9	15.4	2.4	++
Naganeupseong	(5-21-25)	4.7	17.8	12.4	2.2	+++
Naganeupseong	(5-21-30)	4.8	18.9	12.1	1.6	++++
Cheoneunsa	(5-26-16)	4.9	16.2	13.5	2.3	++
Mean		4.7	19.1	14.4	2.5	

Selection index : T/N , >4.5%, Total amino acid : >18.0mg/g, Tannin, <13%,
Caffeine <3%, Selection : +++++, Reservation : -, +, ++,+++

제 4 절 선발개체의 RAPD분석

선발된 개체를 RAPD 분석을 위하여 오페론 테크놀로지사(Kit CI-20)에서 시판되는 20종 Primer를 사용하여 실시하였다.(Table 3-8).

PCR 반응을 위한 반응액 25 μ l에 다음의 시약을 혼합하였다(Table 3-9).

대략 25ng 정도의 주형 DNA량에 대해 2.5pM dATP, dCTP, dGTP, dTTP(Promega, Madison, Wis.)와 5pM 단일가닥 10-base primer, 0.5 DynaZymeTM polymerase (Finnzymes Oy,) buffer(10mM Tris-HCL, pH 8.8, 25 $^{\circ}$ C, 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0.1% Triton x-100)를 사용하였다.

사용한 전체 20종 Primer 중에 단편이 증폭되어 밴드로 나타난 것은 5종 Primer(OPC-01, OPC-06, OPC-08, OPC-10, OPC-11)에서 밴드가 나타났다.

Primer(OPC-01)를 제외한 4개의 Primer(OPC-06, OPC-08, OPC-10, OPC-11)는 200bp부터 2000bp 사이에서 증폭되었으며, 다형적 밴드도 관찰되었다.

OPC-1에서는 선발된 11개체 중 변이를 나타낸 밴드가 없었으며 일본 도입종 18개체 간에도 변이가 나타나지 않았다(Figure 3-3).

그러나 OPC-6에서는 500bp에서 통천, 낙안읍성(5-21-30) 개체가 밴드가 나타나지 않았으며, 982bp에서는 통천, 군동상동리 개체가 밴드가 나타나지 않았고, 982bp와 2kb사이에서는 득량 다전, 통천, 낙안읍성(5-21-30) 개체 그리고 2kb에서는 득량다전, 대원사, 방촌리, 낙안읍성(5-21-30) 개체 밴드가 나타나지 않았다. 이에 비해 18개 일본 도입종에서는 Benikaori와 Z-1개체에서 밴드가 변이가 나타났다 (Figure 3-4).

OPC-8에서는 선발 품종 11개체 중 2kb에서 득량다전, 통천, 군동상동리, 주봉리 및 대원사 개체가 밴드가 나타나지 않아 변이를 보였으며, 일본 개체 18개중에는 2kb 밴드에서 Asanoka, Benikaori, Z-1과 Yabukita 개체가 변이가 나타나지 않아서 차이를 보였다(Figure 3-4).

OPC-10에서는 보암리 개체에서 변이를 나타냈고 일본 18개체 중에는 Minamisayaka에서 변이를 보였다(Figure 3-5).

OPC-11에서는 우량개체로 선발된 11개체 중에 2kb 밴드에서는 통천, 주봉리, 방촌리에서 변이가 나타났으며, 982bp 밴드에서는 방촌리 개체에서 변이가 나타났다.

도입된 18개 일본 개체 중에서는 982bp 밴드에서는 Houryoku와 Yamanami개체에서 2kb에서는 Benifuki, Houryoku, Minamisayaka, Minekaori, NM27, Surugawase, Yamanami 개체에서 변이가 나타났다(Figure 3-5).

이상의 결과에서 한국 선발 개체 수는 일본 도입종 18개체보다 그 수가 적었으나 변이 폭이 크게 나타난 것은 원 모집단이 천연분포집단이었기 때문에 유전적인 변이 폭이 크게 나타난 것으로 관찰 되었다.

Table 3-8. Random primer sequences used in this study

Code	Sequence	Code	Sequence
OPC-01*	5' TTC GAG CCA G 3'	OPC-11	5' AAA GCT GCG G 3'
OPC-02	5' GTG AGG CGT C 3'	OPC-12	5' TGT CAT CCC C 3'
OPC-03	5' GGG GGT CTT T 3'	OPC-13	5' AAG CCT CGT C 3'
OPC-04	5' CCG CAT CTA C 3'	OPC-14	5' TGC GTG CTT G 3'
OPC-05	5' GAT GAC CGC C 3'	OPC-15	5' GAC GGA TCA G 3'
OPC-06	5' GAA CGG ACT C 3'	OPC-16	5' CAC ACT CCA G 3'
OPC-07	5' GTC CCG ACG A 3'	OPC-17	5' TTC CCC CCA G 3'
OPC-08	5' TGG ACC GGT G 3'	OPC-18	5' TGA GTG GGT G 3'
OPC-09	5' CTC ACC GTC C 3'	OPC-19	5' GTT GCC AGC C 3'
OPC-10	5' TGT CTG GGT G 3'	OPC-20	5' ACT TCG CCA C 3'

* OPC : Operon Technology Co.

Table 3-9. Buffer solution chemicals for PCR

Genomic DNA (3 ng/ μ l)	10 μ l
10 x Buffer	2.5 μ l
dNTP (1 mM)	8.0 μ l
dH ₂ O	0.5 μ l
Taq Pol.(1 u/ μ l)	2.0 μ l
Primer (2.5 pmol/ μ l)	2.0 μ l

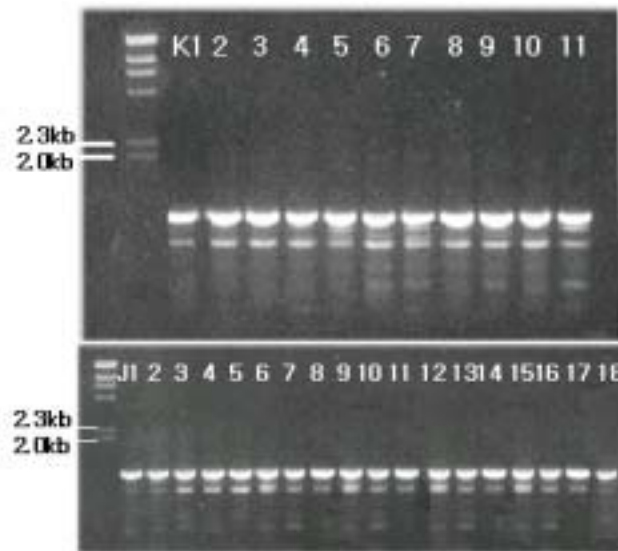
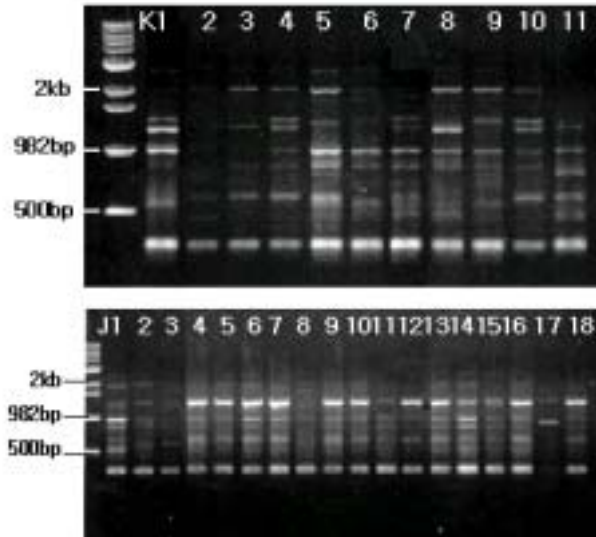
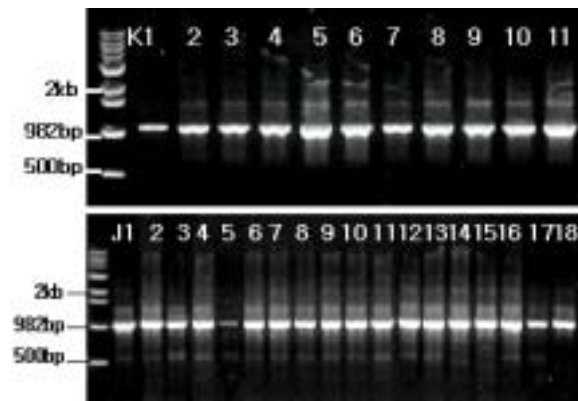


Figure 3-3. Gel electrophoresis of PCR products using **OPC 1** primers
(Maker: λ /HindIII)

Lane K 1: Deugryangdajeon,	Lane J 5 : Izumi,
K 2 : Tongcheon(yeongtaeri)	J 6 : Meiryoku
K 3 : Kundongsangdong,	J 7 : Minamikaori,
K 4 : Jubongri	J 8 : Minamisayaka
K 5 : Subugdujeongr,	J 9 : Minekaori
K 6 : Daewonsa	J10 : NM27
K 7 : Bangchonr,	J11 : Oiwase
K 8 : Bogamri	J12 : Ryofu,
K 9 : Daap	J13 : Surugawase
K10 : Naganeupseong(5-20-04)	J14 : Yamakai
K11 : Naganeupseong(5-20-30)	J15 : Yamanami
J 1 : Asanoka	J16 : Yamanoibuki
J 2 : Benifuki,	J17 : Z-1
J 3 : Benikaori	J18 : Yabukita
J 4 : Houryoku	

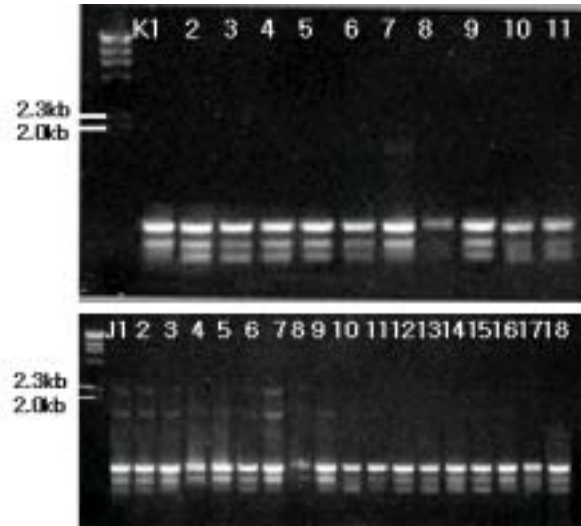


OPC 6

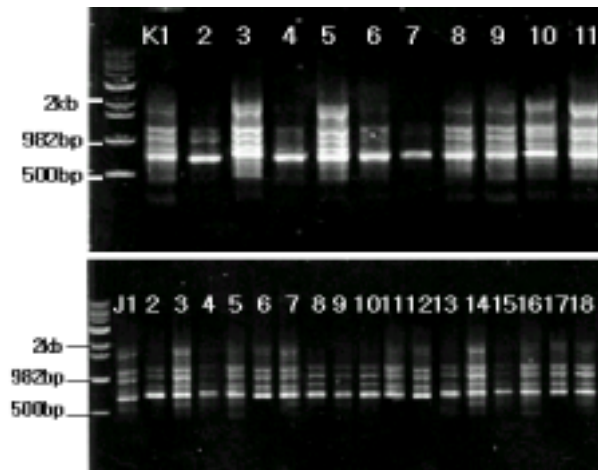


OPC 8

Figure 3-4. Gel electrophoresis of PCR products using OPC 6, 8 primers



OPC 10



OPC 11

Figure 3-5. Gel electrophoresis of PCR products using OPC 10, 11primers

제 5 절 탄저병 저항성 개체 선발

1. 탄저병원균의 분리 및 배양

탄저병 균주 분리는 전남 강진군 성전면 월남리 장원산업 포장에 식재되어 있는 야부끼다 차나무에 탄저병이 발병된 잎을 채취하여 3가지 방법으로 분리하였다(Figure 3-6, Figure3-7).

● 첫 번째 분리법 : 탄저병이 확산되도록 적은 및 높은 습도 하에서 탄저병에 이병(移病)된 잎을 7일간 유도한 다. 이후 형성된 작고 검은 점(포자퇴)을 백금으로 분리하여 PDA 배지에 치상하였다.

● 두 번째 분리법 : 이병부(移病部)와 건전엽(健全葉)의 경계 부분을 기준으로 하여 디스크 질편(5×5mm)을 만들어 2% NaOCl로 1분간 소독한 후, 75% 에탄올에 30초간 소독하여 멸균수로 수회 세척한 후 질편을 PDA 배지에 치상하여 분리하였다.

● 세 번째 분리법 이병엽을 각각 분리하여 막자사발에 넣고 유발로 갈아서 현탁액을 만들어 petri-dish에 일정액을 부어 희석시킨 후 희석된 포자 현탁액을 PDA배지에 소량 치상하여 시간의 경과에 따라 성장하는 균사 디스크(Disc)를 코르크 보러로 째은 뒤, 다시 PDA배지에 치상하여 분리하였다.

각 방법으로 분리한 균사 성장과 포자 형성을 위해 PDA 배지에 계대 배양하였으며, 26±2℃에서 incubation하였다. 2주 후 균사 성장과 포자 형성을 관찰하여 탄저병을 공시하였다.

병원균 분리에서는 탄저병에 이병된 잎을 일정 온도 하에서 확산된 병반을 백금으로 분리하는 포자퇴 분리 방법이 가장 효율적이었다. 건전엽과 병엽의 경계부에서는 적엽고병이 먼저 분리되어 탄저병원균 분리에 적절하지 못하였다. 또한 단포자 분리 방법은 탄저병원균 분리에 효율적인 방법으로 나타났다.

포자퇴 분리 방법에 의해 분리된 병원균을 현미경 관찰 결과 기존에 알려진 차나무 탄저병원균과 포자의 크기(4~6µm), 균사의 성장 등이 일치하였다. 이렇게 분리한 탄저병원균은 PDA 배지에 2주 단위로 계대배양을 하였다.



Figure 3-6. The infected leaves of *Gloeosporium theae-sinensis* in Jangwon tea garden(Gangjin, Jeollanamdo)



Figure 3-7. The infected leaves of *Gloeosporium theae-sinensis* in Mongjungsan tea garden (Bosung, Jeollanamdo)

2. 균사체 성장 및 포자형성에 미치는 영향

가. pH의 영향

분리한 균은 매 2주마다 계대 배양을 수행하였다. 균사 성장과 포자 형성을 유도하기 위해 다양한 배지 조건에서 실험을 수행하였다.

pH는 1N HCl, 1N NaOH을 사용하여 pH 4.5~6.5으로 다양하게 조정하였으며, 배지는 PDA 배지(PDA powder 39g/ℓ)를 사용하였다.

성장한 균사는 직경 5mm의 디스크를 만들어 각각의 pH를 조정된 배지에 치상하여 병반의 확산 및 진진 정도를 2주 후에 육안으로 측정하였다. 그 결과 균사 성장에 가장 최적의 pH는 5.5에서 가장 높게 나타났다. 균사의 성장은 배지의 pH에 영향을 받는 것을 알 수 있다. 탄저병원균은 배지의 pH가 높은 것(pH6.0~6.5)보다 낮을수록(pH4.5~5.0) 성장이 활발한 것을 알 수 있다(Figure 3-8).

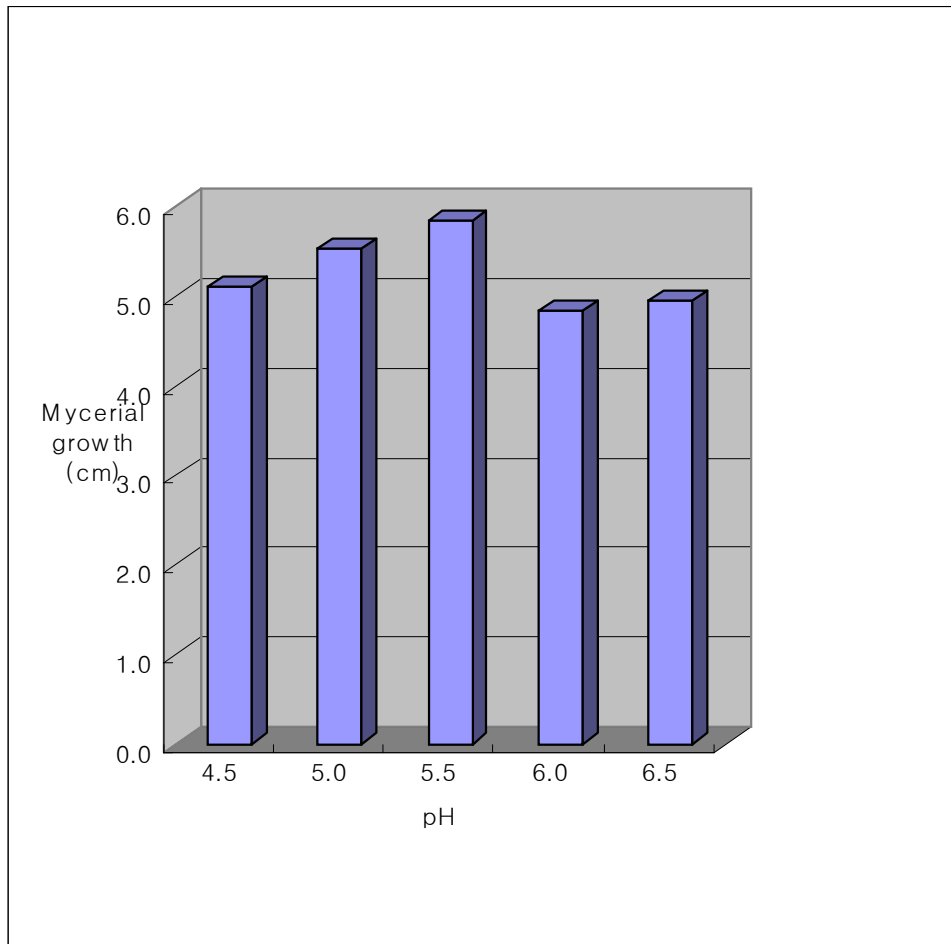


Figure 3-8. The effects of pH concentration on the mycelial growth (14 days after cultured)

나. 차 추출물의 영향

차 추출물이 균사 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 차 추출물을 크게 차즙액과 차가루로 나누어 4가지의 조건으로 실험하였다. 신선한 차잎을 시료로 사용하였다.

● 첫 번째 차즙액 조제는 차잎을 분쇄기에 갈아서 그 즙액을 사용하였다. 차즙액(15, 20 and 25%, v/v)은 10,000 rpm, 20min분간 원심 분리하여 상층 액을 회수한 후 배지 조제에 사용하였다(Tea extract I).

● 두 번째는 차즙액(15, 20 and 25%, v/v)에 3% sucrose(w/v) 그리고 15g/l의 Bacto Agar powder(Sigma)를 사용하여 pH는 5.5로 조정한 후 고압멸균기에서 소독 후 분주하여 사용하였다.

● 세 번째는 차즙액의 일부는 membrane filter(0.45 μ m, diameter 47 mm, MFS)를 이용하여 무균 여과로 15g/l의 Bacto Agar powder와 3%의 sucrose(w/v)가 첨가된 고압멸균을 마친 배지에 첨가하였다(Tea extract II).

● 네 번째는 차엽(茶葉)을 70 $^{\circ}$ C 건조기에서 24시간 말린 후 믹서기를 이용하여 곱게 분쇄하여 체(No. 140, 106 μ m)를 통과한 미세분말 [15, 20 and 25g(w/v) powder] 을 이용하여 배지를 만들어 이용하였다(Tea powder).

균사의 생장의 결과 Tea powder가 가장 좋게 나타났다. 이것은 차즙액과 차를 끓인 것은 차의 수용성분만 추출되었지만 차분말의 경우는 수용성분 뿐 만 아니라 지용성 성분까지 포함되어 있기 때문이라 생각된다(Table 3-10, 3-11).

그러나 추출물은 농도를 높게 하면 오히려 균사 생장 억제 현상이 나타났다. 차 끓인 물의 첨가도 균사의 생장을 촉진하는 것으로 나타났다. 그러나 무균 여과된 차 즙액 첨가 시에는 타 처리구에 비해 균사생장이 좋지 않았다.

이것은 차의 주성분인 카테킨이 열에 의해 파괴되지 않았기 때문이라 생각된다. 한편 Hamaya와 Ando(1985)는 차나무에는 탄저병균의 생장을 촉진하는 성분이 있다고 보고하였다.

또한 균사의 생장은 온도의 변화에 따라 매우 민감하게 나타났다.

균사 생장에 있어서 온도는 35 $^{\circ}$ C 이상이 되면 균사의 생장이 되지 않았으며 저온에서도 생장이 잘 이루어지지 않았다(Table 3-12).

Table 3-10. Effects of tea extracts containing media on mycelial growth
(21 days after cultured)

Tea extracts I	Treatment	150 ml/L	200 ml/L	250 ml/L
	Growth(mm)	68.5	62.1	58.4
Tea extracts II	Treatment	150 ml/L	200 ml/L	250 ml/L
	Growth(mm)	58.0	49.8	46.8
Tea powder	Treatment	15 g/L	20 g/L	25 g/L
	Growth(mm)	74.3	72.0	66.7
Tea leaf boiled water	Treatment	20 g/L	40 g/L	60 g/L
	Growth(mm)	74.0	71.7	73.0

Table 3-11. Effects of culture media on mycelial growth(mm) and conidia induction(21 days after cultured)

Culture media	Mycelial growth (mm)	Conidia induction
Tea extracts I	68.5	—
Tea extracts II	58.0	—
Tea powder	74.3	+
Tea leaf boiled water	74.0	+
Apple Juice	51.8	—
Carrot Juice	38.5	—
Grape Juice	66.0	—
Tomato Juice	51.3	+
PDA	75.3	—
Oatmeal	45.6	—

Table 3-12. The effects of incubating temperature(°C) on the mycelial growth of *Gloeosporium theae-sinensis* on PDA medium(pH. 5.5)

Temperature (°C)	Mycelial growth(mm)	
	After 7 days	After 14 days
15	11.5 ¹ d	24.3 d
20	29.3 c	41.8 bc
25	46.8 a	58.6 a
30	32.2 b	43.5 b
35	0 e	0 e

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. ¹⁾The values are the means of 5 replicates

다. 다양한 배지 첨가제의 영향

시중에 시판되고 있는 사과, 토마토, 당근, 포도 주스류를 10000rpm으로 20분간 원심 분리하여 그 상층 액을 추출하였다. 이들 각각의 주스를 membrane filter (0.45 μ m, diameter 47mm, MFS)를 이용하여 무균 여과한 후 15g의 Bacto Agar powder 배지에 첨가하였다.(pH는 5.5).

각각 주스가 첨가된 배지에 생장한 균사 디스크(disc, 직경 5mm)를 치상하여 2주간 병반의 확산 및 진전 정도 육안으로 조사하였다(Figure3-9).

그 결과 토마토 주스를 첨가한 배지에서 탄저균의 성장이 가장 양호하였다(Table 3-13, Figure 3-10).

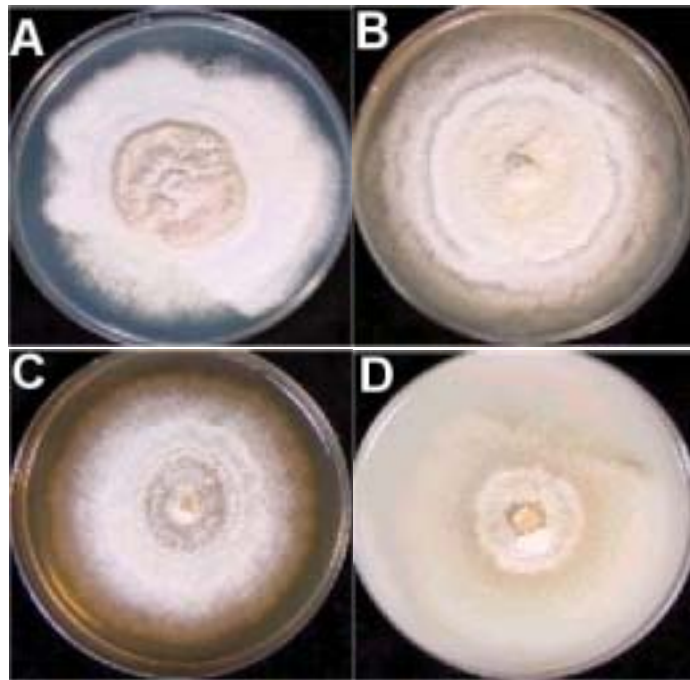


Figure 3-9. Effects of medium type on the mycelium growth type (21 days after cultured)

A : PDA medium

B : Tomato juice agar medium

C : Tea extracts medium

D : Oatmeal agar medium

Table 3-13. Effects of juice media on mycelial growth(mm)
(21 days after cultured)

Culture media	Addition before autoclaving			Addition after autoclaving		
	15%	20%	25%	15%	20%	25%
Apple Juice	51.8	40.2	31.1	36.0	32.4	26.7
Carrot Juice	35.6	32.7	32.8	38.5	37.3	38.5
Grape Juice	64.8	50.5	57.5	66.0	55.8	47.8
Tomato Juice	46.2	39.9	39.8	51.3	40.1	40.3

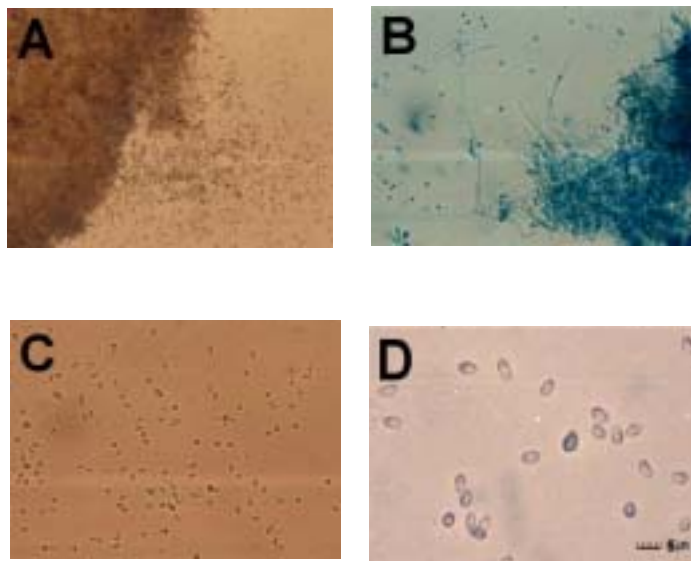


Figure 3-10. Sporophyte, mycelium, conidia
from tomato juice agar medium.

A : Sporophyte ×100

B : Mycelium ×200

C : Conidia ×200

D : Conidia ×400

3. 군사접종 및 탄저병 저항성 지수 산출

군사 접종 후 병원균의 전반(全般) 및 잎의 상태 등을 통하여 저항성 검정을 수행하였다. 이때 사용된 대조구의 차나무는 탄저병 저항성 여부가 확실히 검정된 3개의 일본 품종(Asahi, Surugawase, Yabukita)을 대조구로 하여 조사하였다.

탄저병의 저항성 지수를

- 저항성 지수 1 : 저항성이 매우 약하여 잎 전면에 걸쳐 흰색 군사가 확대되고 검은 포자퇴 형성한 것.
- 저항성 지수 3 : 저항성이 보통으로 접종한 군사 disc의 일부에 국한되어 전반 되고 잎 전체로 확산되지 않은 것.
- 저항성 지수 5 : 저항성이 매우 뛰어나고 강한 것으로 병원균의 전반이 거의 발견되지 않으며, 잎이 건전하고 양호한 상태의 것
- 저항성지수 2는 저항성 지수 1과 3의 중간정도, 저항성 지수 4는 저항성 지수 3과 5의 중간형태로 표시하여 각각 조사 분석하였다.

그 결과 대조구로 사용한 3개의 일본 품종은 야부끼다(Yabukita) 잎에서는 접종 후 7일 이내에 잎 표면의 1/2 이상이 쉽게 전반 되는 것을 확인하였으며, 수루가와제(Surugawase) 잎에서는 10일 이후 국소적으로 흰색의 군사가 접종한 군사disc의 경계 부위에 나타나는 것을 관찰하였다.

아사히(Asahi)는 탄저병에 대하여 매우 강한 저항성을 보여 처음 접종 20일 이후에도 큰 변화 없이 신선한 상태를 유지하였다(Figure 3-11, Figure 3-12).

국내 재래종 집단에서는 산청 반천 집단의 차나무는 야부끼다(Yabukita)와 비슷한 양상을 보였는데, 병원균의 전반 정도가 야부끼다(Yabukita) 보다는 다소 늦게 전반됨을 알 수 있었다.

탄저병이 차나무 잎에 침입하여 잎의 절반까지 확산은 7일 이내, 잎 전체에 퍼지는 것은 14일 정도 소요되었다.

저항성 지수 5인 개체는 득량대전(1-04-04), 통천(1-14-44), 법천사(2-09-03), 금곡사(2-12-11,2-12-30), 주봉리(2-23-11), 수북 두정리 (3-02-09), 선암사

(3-07-01,3-08-11), 대원사(3-14-12), 방촌리(3-19-01, 3-20-10), 낙양읍성(5-20-04, 5-21-1, 5-21-30)으로 모두 16개체 집단이 탄저병에 매우 강한 것으로 조사되었다 (Figure3-13).

저항성지수 3인 집단은 원봉리를 포함하여 10개 개체집단이 해당되었다.

저항성지수 2를 보이는 집단은 17개 개체 집단, 저항성지수 1은 산청 반천을 포함하여 4곳의 개체 집단으로 조사되었다(Table 3-14).



Figure 3-11. The inoculated leaves of Asahi
(21days after inoculated)



Figure 3-12. The inoculated leaves of Yabukita
(21days after inoculated)



Figure 3-13. The inoculated leaves of Bangchon
(Resistance index to anthracnose is 3)

4. 우리나라 야생 차나무 집단의 탄저병 저항성 비교

탄저병 대한 병해 저항성을 포장에서 육안으로 관찰한 결과 탄저병 저항성은 한국 재래종에서는 모두 강하게 나타났으며, 일본 품종에서는 중 또는 약한 것으로 나타났다.

차나무 우량 계통 선발을 위한 기초 자료는 Table 3-14에서와 같으며 선발 기준은 다양하며 외부적으로 보았을 때 형태적으로 직립이며, 세력이 강하고, 조생, 중생, 만생종 중에서 선발하였다.

국내에 자생하는 재래품종을 32여 곳에서 선발·수집해서 모집단을 구성하여 탄저병 균을 접종한 결과, 60개의 재래종 개체 중에서 탄저병에 강한 개체를 선정할 수 있었다. 탄저병 저항성 개체를 선발하기 위해서 탄저병균 확산 속도·범위를 기준으로 선발지수를 1~5 까지의 점수를 부여하여 선발에 이용하였다.

선발된 60개의 재래종 품종 중 보리암, 군동 생동리, 송광사, 선암사, 대흥사, 쌍계사 2개체, 산청 신천 2개체, 복암리, 다압 2개체, 임촌리, 월야덕산, 해남 고현리, 용산리, 봉황안골 2개체, 낙양 읍성 2개체, 천은사, 21개체는 2점 이하로 탄저병에 가장 약한 것으로 나타났다.

불감사, 통천 2개체, 원봉리, 주봉리, 보림사, 용문사, 수북 두정리, 유당리, 선암사 2개체, 북일 성덕리, 방촌리, 내장사, 산청 신천, 내장사, 복암리, 다압 4개체, 해남 고현리 2개체의 23개 품종이 4점 이하 나타났다.

반면에 60개 재래종 품종 중 16개의 품종인 득량 다전, 통천, 군동 생동리, 법천사, 금곡사 2개체, 주봉리, 수북 두정리, 선암사 2개체, 대원사, 방촌리 2개체, 낙양 읍성 4개체가 5점을 받아 탄저병균에 저항성이 큰 것으로 나타나 최종적으로 선발되었다. 전체 개체 중 26.7%가 탄저병균에 대한 저항성이 상대적으로 큰 것으로 나타났다.

Table 3-14. Evaluation of Resistance to anthracnose and efficiency of cutting

Population	Resistance index to Anthracnose		Cutting efficiency	
	Degree	Selection	Degree	Selection
Deugryangdajeon	5	+++	5	+++
Boriam	2	+	5	+++
Bulgabsa	4	++	3	++
Tongcheon(yeongtaeri)	4	++	3	++
Tongcheon(yeongtaeri)	3	++	5	+++
Tongcheon(yeongtaeri)	5	+++	5	+++
Kundongsangdongri	2	+	3	++
Kundongsangdongri	5	+++	5	+++
Songgwangsa	2	+	3	++
Bubcheonsa	5	+++	3	++
Keumgogsa	5	+++	3	++
Keumgogsa	5	+++	3	++
Wonbongri	3	++	5	+++
Joobongri	4	++	5	+++
Joobongri	5	+++	5	+++
Borimsa	3	++	5	+++
Yongmoonsa	3	++	3	++
Subugdujeongri	3	++	3	++
Subugdujeongri	5	+++	5	+++
Yootangri	4	++	3	++
Seonamsa	5	+++	3	++
Seonamsa	4	++	3	++
Seonamsa	5	+++	5	+++
Seonamsa	4	++	3	++
Seonamsa	2	+	3	++
Bugilseongdeogri	3	++	3	++
Daewonsa	5	+++	5	+++
Bangchonri	5	+++	5	+++
Bangchonri	3	++	3	++
Bangchonri	5	+++	3	+++
Daeheungsa	2	+	5	+++

Population	Resistance index to Anthracnose		Cutting efficiency	
	Degree	Selection	Degree	Selection
Naejangsa	3	++	5	+++
Naejangsa	4	++	3	++
Ssangkyesa	2	+	5	+++
Ssangkyesa	2	+	3	++
Sancheongshicheon	4	++	3	++
Sancheongshicheon	2	+	5	+++
Sancheongbancheon	1	+	5	+++
Bogamri	3	++	5	+++
Bogamri	2	+	5	+++
Daap	2	+	3	++
Daap	4	++	5	+++
Daap	3	++	5	+++
Daap	2	+	3	++
Daap	4	++	5	+++
Daap	4	++	5	+++
Imchonri	2	+	3	++
Wolyadeogsan	2	+	5	+++
Haenamgohyeonri	4	++	3	++
Haenamgohyeonri	4	++	5	+++
Haenamgohyeonri	1	+	3	++
Yongsanri	1	+	5	+++
Bongwhangangol	1	+	3	++
Bongwhangangol	2	+	3	++
Naganeupseong	5	+++	5	+++
Naganeupseong	5	+++	3	++
Naganeupseong	2	+	3	++
Naganeupseong	2	+	3	++
Naganeupseong	5	+++	5	+++
Cheoneunsa	2	+	3	++

Number: 5; high 3; medium, 1; low, and 4, 2 between medium

Selection index: Anthracnose Resistance < 5, Cutting efficiency: < 5

Selection: +++, Reservation: +,++

제 6 절 탄저병 저항성 고품질 차나무 개체 선발

차나무 탄저병 저항성 개체의 선발 지표로는 탄저병 저항성에 대한 가중치와 성분함량의 가중치, 형태적 특성, 삼목율을 평균하여 최종 선발을 실시하였다. 국내에서 자생하는 재래종 60개체 중에서 11개체를 선발하였다. 탄저병 저항성 및 성분함량에 대한 선발점수를 1-5점으로 나누어 평균에 대한 반응 및 성분함량에 따라 점수를 부여하여 선발 지표로 이용하였다.

군사 집중 후 저항성 검정은 탄저병 저항성이 강한 3개 품종(Asahi, Surugawase, Yabukita)을 이용하여 국내 재래 집단과 비교 조사하였다. 국내 야생차 집단중 산청 반천 집단은 야부끼다(Yabukita)와 비슷한 이병 양상을 보였지만, 병원균의 전반정도가 야부끼다(Yabukita) 보다는 다소 늦게 전반됨을 알 수 있었다.

차나무 우량 계통 선발을 위해서는 형태적 특성, 성분함량, 탄저병 저항성, 삼목 발근성 등이 평가되어야 한다.

형태적 특성을 잎의 길이를 7cm 이상, 폭을 3cm 이상, 엽 두께를 0.2cm 이상의 집단을 선발하고 마지막으로 우수 항목이 3개 이상 해당되는 집단을 선발하였다.

● 성분 함량은 총질소 4.5% 이상, 총아미노산 1,800 mg/100g 이상, 탄닌 13%이하, 카페인 3%이하로 하여 3개 이상의 성분 함량을 갖는 집단을 선발하였다.

● 우수한 특성과 형질을 가진 집단으로는 득량 다전 집단, 통천(영태리)집단, 군동 상동리 집단, 주봉리 집단, 수북 두정리 집단, 방촌리 집단, 북암리 집단, 낙안읍성 집단 등 8개 집단 각각은 형태적 특성이 우수하고, 탄저병에 저항성이며, 성분함량은 약간 부족하지만 삼목 발근성이 우수한 집단으로 판명되었다(Table 3-14, Table 3-15)

● 삼목 발근성은 특성을 파악하였지만 모든 조건의 기본으로 하여 바탕에 깔고 형태적으로 우수하고, 탄저병에 내성이며, 성분 함량을 고루 함유한 집단 중에서 3개 이상 좋은 여건을 보유한 11개 집단을 최종적으로 선발하였다. (Table 3-16)

다압 집단은 형태적 특성이 양호하고, 차 성분 함량이 고루 갖추었으며, 삼목 발근성이 양호한 집단으로 판명되었다.

낙안읍성 집단은 형태적 특성은 약간 부족하지만 탄저병 내성과 차 성분 함량을 고루 갖추고 삼목 발근성이 양호한 집단으로 판명되었다.

특히 수북 두정리 집단, 방촌리 집단, 낙안 읍성 집단은 형태적 특성, 탄저병 내성, 성분함량도 고루 갖추고, 삼목 발근성도 양호한 극히 우수한 집단으로 판명되었다. 이러한 집단에서 선발된 개체는 지역 적응 시험을 거치거나 소규모 작목으로 지역 적응 시험을 생략 할 수 있어, 품종 등록 후 농가에 보급하여 농가 소득증대는 물론 소비자의 기호에 대응하고 국제 경쟁력 증대에 기여하게 될 것이다.

Table 3-15. Selection of tea cultivars based on several selection criteria

Population	Morphological character	Resistance to anthracnose	Tea* components	Cutting efficiency	Choice
Deugryangdajeon	+++	+++	++++	+++	C.S
Boriam	++	+	+++	+++	R
Bulgabsa	++	++	++++	++	R
Tongcheon(yeongtaeri)	+++	++	+++	++	R
Tongcheon(yeongtaeri)	+++	++	++	+++	R
Tongcheon(yeongtaeri)	+++	+++	+	+++	C.S
Kundongsangdongri	+	+	+	++	R
Kundongsangdongri	+++	+++	+	+++	C.S
Songgwangsa	++	+	++	++	R
Bubcheonsa	++	+++	++	++	R
Keumgogsa	+	+++	+++	++	R
Keumgogsa	++	+++	+	++	R
Wonbongri	++	++	++	+++	R
Jubongri	+	++	+++	+++	R
Jubongri	+++	+++	++	+++	C.S
Borimsa	+++	++	++	+++	R
Yongmoonsa	+	++	++	++	R
Subugdujeongri	+	++	+++	++	R
Subugdujeongri	+++	+++	+++	+++	C.S
Yootangri	-	++	++	++	R
Seonamsa	+++	+++	+	++	R
Seonamsa	++	++	+++	++	R
Seonamsa	+	+++	++	+++	R
Seonamsa	+	++	++++	++	R
Seonamsa	++	+	+	++	R
Bugilseongdeogri	+++	++	+	++	R
Daewonsa	+	+++	++++	+++	C.S
Bangchonri	+++	+++	+++	+++	C.S
Bangchonri	+	++	+++	++	R
Bangchonri	+	+++	++	+++	R
Daeheungsa	+	+	+++	+++	R
Naejangsa	+++	++	++	+++	R
Naejangsa	+	++	+++	++	R
Ssangkyesa	+++	+	++	+++	R
Ssangkyesa	++	+	++	++	R

Population	Morphological character	Resistance to anthracnose	Tea components	Cutting efficiency	Choice
Sancheongshicheon	+	++	++	++	R
Sancheongshicheon	+	+	++	+++	R
Sancheongbancheon	+++	+	+	+++	R
Bogamri	+++	++	+++	+++	C.S
Bogamri	+++	+	++	++	R
Daap	+	+	+++	++	R
Daap	+++	++	++++	+++	C.S
Daap	+++	++	++	+++	R
Daap	++	+	+++	++	R
Daap	+	++	+++	+++	R
Daap	+++	++	++	+++	R
Imchonri	++	+	+++	++	R
Wolyadeogsan	++	+	+	+++	R
Haenamgohyeonri	++	++	++	++	R
Haenamgohyeonri	++	++	+++	+++	R
Haenamgohyeonri	+	+	+++	++	R
Yongsanri	+++	+	++	+++	R
Bongwhangangol	+	+	+	++	R
Bongwhangangol	+++	+	+	++	R
Naganeupseong	+	+++	+++	+++	C.S
Naganeupseong	-	+++	++	++	R
Naganeupseong	++	+	++	++	R
Naganeupseong	+	+	+++	++	R
Naganeupseong	+++	+++	++++	+++	C.S
Cheoneunsa	+	+	++	++	R
Total					C.S=11

Selection index: Choice(C.S): +++, +++++ 3 Times, Others: Reservation(++,+,-)

*The data of tea components were shown at chapter 3 (Table 3-7).

Table 3-16. Final Selection of 11 cultivars based on several selection criteria

Population	Morphological character	Resistance to anthracnose	Tea* components	Cutting efficiency	Choice
Deugryangdajeon (1-04-04)	+++	+++	++++	+++	C.S
Tongcheon(yeongtaeri) (1-14-44)	+++	+++	+	+++	C.S
Kundongsangdongri (1-19-39)	+++	+++	+	+++	C.S
Jubongri (2-23-11)	+++	+++	++	+++	C.S
Subugdujeongri (3-02-09)	+++	+++	+++	+++	C.S
Daewonsa (3-14-12)	+	+++	++++	+++	C.S
Bangchonri (3-19-01)	+++	+++	+++	+++	C.S
Naganeupseong (5-20-04)	+	+++	+++	+++	C.S
Naganeupseong (5-21-30)	+++	+++	++++	+++	C.S
Bogamri (4-06-07)	+++	++	+++	+++	C.S
Daap (4-07-19)	+++	++	++++	+++	C.S
Total					C.S=11

Selection index: Choice(C.S): +++, +++++ 3 Times, Others: Reservation(++,+,-)

*The data of tea components were shown at chapter 3 (Table 3-7)



A



B



C



D



E



F



G



H



I



J



K

Figure 3-14. Selected 11 cultivars

- | | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| A : Deugryangdajeon(1-04-04) | B : Tongcheon(yeongtaeri)(1-14-44) |
| C : Kundongsangdongri(1-19-39) | D : Jubongri(2-23-11) |
| E : Subugdujeongri(3-02-09) | F : Daewonsa(3-14-12) |
| G : Bangchonri(3-19-01) | H : Naganeupseong(5-20-04) |
| I : Naganeupseong(5-21-30) | J : Bogamri(4-06-07) |
| K : Daap(4-07-19) | |



A



B

Figure 3-15. Stem cuttings of 11 tea selected cultivars

A : Stem cuttings

B : Acclimation of rooting

제 4 장 목표달성도 및 관련분야의 기여도

1년차

탄저병 저항성 개체선발을 위해 우리나라 남부지방을 중심으로 우선적으로 32곳의 야생 차나무집단을 선정하여 야생 차나무 집단의 유래, 재배, 형태적 특징, 유전적 병이, 탄저병 내성을 가진 우수한 품종을 지닌 집단을 조사하여 60개체를 1차년도에 선발·수집하였다.

선발 조사된 집단은 외래 차나무의 유전적 오염이 발생하지 않은 지역으로 우리나라 고유의 재래종 차나무의 유전적 보존연구가 필요하다. 또한 우리나라 야생 재래종 차나무와 다양한 우수 형질의 비교와 탄저병의 내성 지표로 사용하기 위해 일본에서 널리 식재되고 있는 탄저병 내성 품종 19개체를 도입하여 국내 재래품종의 형태적 특성을 조사·비교하였다.

차나무 육종분야에서 우리나라 고유의 재래종 품종의 형태적 특성과 지형, 토양 특성 등의 물리적 환경과 생육 환경과의 관계를 밝히는 기초 연구가 된다.

2년차

선발된 재래 품종 60개체의 성분함량 분석(총 질소, 총 아미노산, 탄닌, 카페인)을 하였고, 탄저병 내성 품종으로 알려진 19개체의 일본 도입 품종의 형태 특성 조사와 PCR 기법을 이용하여 탄저병 내성 검정을 실시하였다.

차 성분분석에서 질소함량과 아미노산 함량은 차의 맛과 밀접한 관련을 갖으며, 차나무 형질과 다수확, 내병성에 큰 영향을 미친다. 탄닌의 함량은 차의 생리적 활성에 따른 약리 작용과 밀접한 관계가 있어서 매우 중요하다. 차의 성분 함량은 차의 소비 증대, 차 재배 농가의 소득 증대, 차문화 저변확대 등에 여러 분야에 연구 이용된다.

또한 도입 품종의 형태적 특성을 조사하여 우리나라 재래종의 형태적 특성과 비교하여 차나무 분류학의 기본 자료로 이용되며, RAPD분석에 의해 탄저병 내성을 지닌 유전자 연구에 기초가 되어 품종 개발 육종에 기여한다.

3년차

1년차 연구 조사 결과와 2년차 연구 조사 결과를 바탕으로 하여 최종적으로 탄저병 저항성 및 우수 성분 함량을 보유하고 형태적으로 우수한 고품질 차나무를 11개체 선발하였다. 최종 선발된 11개체의 품종을 증식을 위한 야외 식재 시험을 실시하였으며, 우수한 품종의 유전적 보존으로 위해 삼목묘로도 식재 하였다.

본 연구 과제의 최종 목표인 탄저병 저항성 고품질 차나무 11개체를 선발하였다. 선발된 11개 품종을 지역 적응 시험을 거치거나 품종 등록을 한 후 농가에 보급하여 농가 소득 증대는 물론 소비자의 기호에 맞는 제품화와 2004년 농산물 개방에 따른 국제 경쟁력 증대에 기여하게 될 것이다. 환경보존 연구에서는 병충해 방제에 사용되는 화학약품 살포를 감소로 인한 저공해 방제 연구의 기초가 된다. 육종학 연구에서는 우수한 유전자원의 보유와 유전적 특성을 밝히는 기초 연구이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

야생차 집단의 형태적 특성 파악

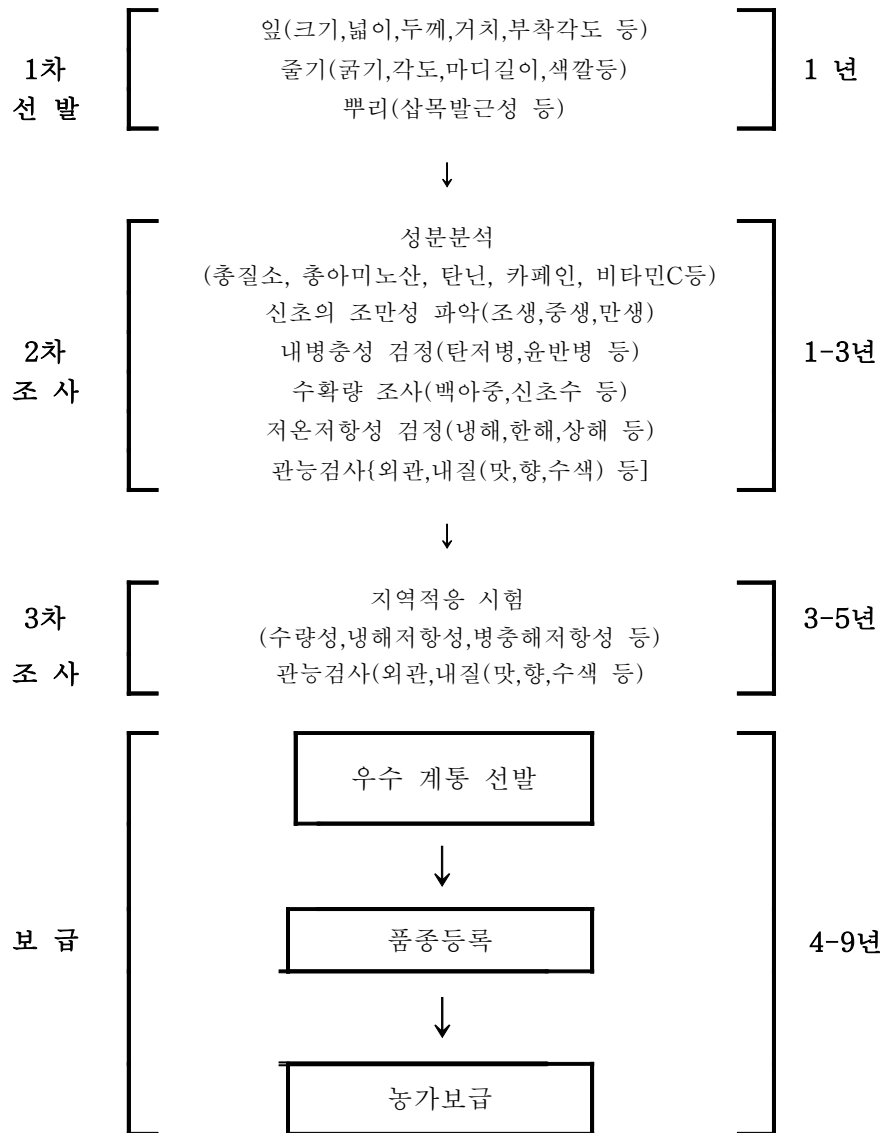


Figure 5-1. Process of selection breeding method of tea cultivar

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

1. 한국 · 중국 · 일본차나무집단간유전변이

우리나라(14집단)와 대만(5종)과 일본(8종)의 차나무 27집단 및 품종에 대한 RAPD polymorphism을 UPGMA 및 Jaccard's 분석법으로 유전분석을 행하였다 (Table 6-1, Table 6-2).

PCR 결과 사용된 50 Primer 중에서 DNA의 band pattern을 보인 것은 33개였다. Primer 당 다중형 밴드 수는 1~6개까지 다양하였는데, 평균 밴드 수는 3~4개이었다 (Figure 6-1).

Primer KBC27과 OPC02는 특히 흥미로웠는데 K05(보림사), K09(방촌) 집단과 매우 비슷하게 나타났다. 이와 비슷한 Primer OPC15와 OPC16을 이용하여 RAPD분석을 했을 때 일본 품종 J03(Shunmei)과 J07(Okuyutaka)에서 다른 밴드 형태를 보였다.

Primer OPC-02, OPC-16, KBC-01을 이용한 분석에서는 27개의 차나무 집단이 분명하게 다른 밴드 형태로 나타났다. 다형 밴드의 출현비율은 일본과 대만 그룹에서 유사하였으며, 한국산 차나무는 이들보다 매우 높은 다형성밴드의 비율을 보였다(Table 6-3, Table 6-4).

17개 primer를 사용한 3개국의 차나무 집단은 다양성이 다르게 나타났다. 다양성 지수의 평균은 일본 0.5, 대만 0.6, 한국 0.6였다.

각각의 다형성 밴드는 각 유전자 중심의 우세한 형질이 나타나며 각 샘플에서 1(나타남)과 0(나타나지 않음)으로 기록하였으며 Jaccard's coefficient method(1908)을 사용하였다.

$S_j = a / (a + b + c)$, a: 복수로 나타난 밴드 수(1과 2), b: 1로 나타난 밴드 수(2는 아님), c: 2로 나타난 밴드 수(1은 아님), 비슷하지 않는 값(D) 계산은, 1로부터(예: $D_j = 1 - S_j$) S_j 값과 일치하는 값을 공제하고 계산하였다.

결과적으로 같지 않는 분석은 계층 군집 분석법(UPGMA: Unweigh ted Pair Group Method and Arithmetic Average)을 이용하였다, 군집과 계승이 일치되는 분석은

STATTTTC 5.0 소프트웨어(ITCF, Paris)를 사용하였다. 계승이 상이한 것은 Shannon's의 지수(Chakraborty & Rao, 1991; Wachira et al., 1995)에 의해 계산하였다.

$$H = - \sum_{i=1}^k \pi_i \ln \pi_i$$

H: 주어진 집단에서 주어진 primer와 함께 결합하는 다양성,
 π_i : marker i 의 빈도, K: primer에 의해 발생하는 RAPD marker 의 수

Table 6-1. Origin of the tea 11 used in this study

Code	Cultivar	Origin	Country
J01	Yaeho	Seed selection(shizuoka)	Japan
J02	Fushun	Z-1× Kanayamidori	Japan
J03	Shunmei	Yutakamidori × Tanamidori	Japan
J04	Yabukita	Seed selection(shizuoka)	Japan
J05	Saemidori	Yabukita × Asatsuyu	Japan
J06	Kurasawa	Yabukita seedling	Japan
J07	Okuyudaka	Yutakamidori × NN8	Japan
J08	Komakage	Seed selection(Tokyo)	Japan
T01	Qingxinwulong	Native Seed selection	Taiwan
T02	Sijichun	Not available	Taiwan
T03	Taicha 17	Tainong335 × Tainong 1958	Taiwan
T04	Taicha 29	Not available	Taiwan
T05	Taicha 12	Tainong8 × Yingzihongxin	Taiwan
K01	Hoeryong	Seed selection(Boseonggunhoeryong) Cultivated	Korea
K02	Shinwon	Seed selection(Gwangyanggunshinwon) Cultivated	Korea
K03	Shinwon	Seed selection(Gwangyanggunshinwon) Cultivated	Korea
K04	Hwaeumsa	Seed selection(GuryegunHwaeumsa) Abandoned	Korea
K05	Boriam	Seed selection(Jangheunggunborimsa) Abandoned	Korea
K06	Seonwunsa	Seed selection(Gochanggunseonwunsa) Abandoned	Korea
K07	Nejangsa	Seed selection(Jeongeupsi nejangsa) Abandoned	Korea
K08	Baegyangsa	Seed selection(Jangsunggunbaegyangsa) Abandoned	Korea
K09	Bangchonri	Seed selection(Boseonggunbangcheonri) Abandoned	Korea
K10	Jawonsa	Seed selection(Boseonggunjawonsa) Abandoned	Korea
K11	Weolnamri	Seed selection(Gangjingunweolnamri) Cultivated	Korea
K12	Hoecheonri	Seed selection(Boseonggunhoechonri) Cultivated	Korea
K13	Hyanglimsa	Seed selection(Suncheonsihyanglimsa) Abandoned	Korea
K14	Daewonsa	Seed selection(Boseonggundaewonsa) Abandoned	Korea

Table 6-2. Random primer sequences used in this study

Code	Sequence	Code	Sequence
KBC-01*	5' CAG GCC CTT C 3'	KBC-16	5' CTG AGA CGG A 3'
KBC-02	5' AGG GGT CTT T 3'	KBC-17	5' TAC AAC GAG G 3'
KBC-03	5' GAA ACG GGT G 3'	KBC-18	5' TGG ATT GGT C 3'
KBC-04	5' GTG ACG TAG G 3'	KBC-19	5' TCG GTC ATA G 3'
KBC-05	5' GGG TAA CGC C 3'	KBC-20	5' TAC CTA AGC G 3'
KBC-06	5' GTG ATC GCA G 3'	KBC-21	5' GAT CAT AGC G 3'
KBC-07	5' GTT TCG CTC C 3'	KBC-22	5' GGT ACT CCA C 3'
KBC-08	5' GGA CTG GAG T 3'	KBC-23	5' CAG GCG GCG G 3'
KBC-09	5' TGC TCT GCC C 3'	KBC-24	5' CTG GCG GCT G 3'
KBC-10	5' GTC CAC ACG G 3'	KBC-25	5' TGC GCC GCG G 3'
KBC-11	5' AAT CGG GCT G 3'	KBC-26	5' GAC ATC TCG C 3'
KBC-12	5' CAA TCG CCG T 3'	KBC-27	5' TGA CGC GCT C 3'
KBC-13	5' TCG GCG ATA G 3'	KBC-28	5' TGG GCT CGC T 3'
KBC-14	5' AGC CAG CGA A 3'	KBC-29	5' CCC GCC GTT G 3'
KBC-15	5' TCC GCT CTG G 3'	KBC-30	5' GCC ACC TCC T 3'
OPC-01*	5' TTC GAG CCA G 3'	OPC-11	5' AAA GCT GCG G 3'
OPC-02	5' GTG AGG CGT C 3'	OPC-12	5' TGT CAT CCC C 3'
OPC-03	5' GGG GGT CTT T 3'	OPC-13	5' AAG CCT CGT C 3'
OPC-04	5' CCG CAT CTA C 3'	OPC-14	5' TGC GTG CTT G 3'
OPC-05	5' GAT GAC CGC C 3'	OPC-15	5' GAC GGA TCA G 3'
OPC-06	5' GAA CGG ACT C 3'	OPC-16	5' CAC ACT CCA G 3'
OPC-07	5' GTC CCG ACG A 3'	OPC-17	5' TTC CCC CCA G 3'
OPC-08	5' TGG ACC GGT G 3'	OPC-18	5' TGA GTG GGT G 3'
OPC-09	5' CTC ACC GTC C 3'	OPC-19	5' GTT GCC AGC C 3'
OPC-10	5' TGT CTG GGT G 3'	OPC-20	5' ACT TCG CCA C 3'

* KBC : Bioneer, OPC : Operon Technology Co.

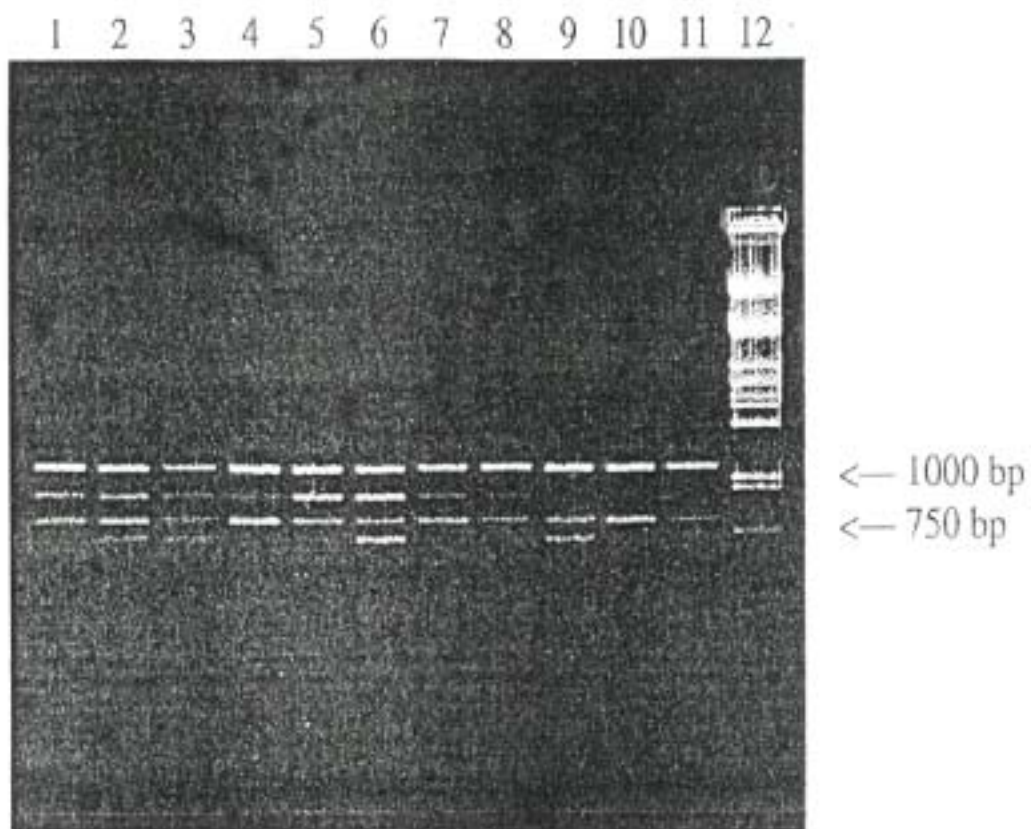


Figure 6-1. Two reproducible RAPD's(indicated by arrows)obtained with primer OPC-13 from left to right, lanes 1 to 11 ; K01, K2, K3, K4, J1, J02, J03, J04, T01, T02, T03 (lane 12 ; Lamda/Pst1 DNA ladder)

Table 6-3. Amplification products obtained with 17 arbitrary 10 mer primers applied in geographical groups of tea accessions

Primers	Total no. of reproducible bands	Total no. of polymorphic band	No. of polymorphic bands			Percentage of polymorphic bands
			Japan	Taiwan	Korea	
KBC-01	8	6	4	3	6	75.0
KBC-02	6	3	0	2	2	50.0
KBC-16	3	3	3	2	3	100.0
KBC-24	9	4	3	3	4	44.4
KBC-27	5	4	3	1	3	80.0
KBC-28	4	3	2	2	3	75.0
KBC-30	2	1	0	1	0	50.0
OPC-02	9	5	4	3	4	55.6
OPC-04	4	1	0	1	1	25.0
OPC-05	8	5	3	2	3	62.5
OPC-11	8	5	1	2	4	62.5
OPC-12	4	1	1	0	1	25.0
OPC-13	5	2	2	2	2	40.0
OPC-14	7	6	4	3	6	85.7
OPC-15	8	5	2	4	2	62.5
OPC-16	6	3	1	2	3	50.0
OPC-18	3	1	0	1	0	33.3
Total	99	58	33	34	47	-
poly-morphism (%)	-	-	56.9	56.6	81.0	57.4

Table 6-4. Estimates of genetic diversity(H0) within three geographical
of tea for 17 primers

Primers	H0 Japan	H0 Taiwan	H0 Korea
KBC-01	1.04	0.85	1.51
KBC-02	0.00	0.61	0.26
KBC-16	1.01	0.67	0.87
KBC-24	0.64	1.10	0.76
KBC-27	0.95	0.37	0.70
KBC-28	0.38	0.61	0.45
KBC-30	0.00	0.31	0.00
OPC-02	1.05	0.81	1.00
OPC-04	0.00	0.31	0.19
OPC-05	0.74	0.50	0.50
OPC-11	0.26	0.69	0.70
OPC-12	0.26	0.00	0.19
OPC-13	0.43	0.69	0.69
OPC-14	1.14	0.82	1.59
OPC-15	0.43	1.13	0.56
OPC-16	0.29	0.50	0.91
OPC-18	0.00	0.31	0.00
Mean	0.51	0.60	0.64

Table 6-5. Partitioning of the overall diversity into within and between groups for the 17 primers

Primers	Htot	Hpop	Hpop/Htot	Htot-Hpop/Htot
KBC-01	1.66	1.13	0.68	0.32
KBC-02	0.47	0.29	0.62	0.38
KBC-16	0.99	0.85	0.86	0.14
KBC-24	1.02	0.83	0.82	0.18
KBC-27	0.88	0.67	0.77	0.23
KBC-28	0.61	0.48	0.78	0.22
KBC-30	0.24	0.10	0.42	0.58
OPC-02	1.32	0.95	0.72	0.28
OPC-04	0.28	0.16	0.58	0.42
OPC-05	0.70	0.58	0.82	0.18
OPC-11	0.92	0.58	0.59	0.41
OPC-12	0.19	0.15	0.78	0.22
OPC-13	0.67	0.60	0.91	0.09
OPC-14	1.51	1.18	0.78	0.22
OPC-15	0.87	0.71	0.81	0.19
OPC-16	0.79	0.57	0.72	0.28
OPC-18	0.24	0.10	0.42	0.58
Mean	0.79	0.58	0.71	0.29

H의 평균은 각 집단에서 산출한다. 집단의 다양성(H0) 계산은 모든 primer의 평균값이 H 수준을 넘는다. 모든 집단(Hpop)을 통한 평균값의 다양성은 계산에서 H0을 의미한다.

n 집단을 넘는 모든 다양성(Htot)은 모든 집단 안에서 표현형의 빈도수로부터 계산된다, 집단 내에서 다양성의 비율은 Hpop/Htot를 분할하는 것을 포함하고 있으며 집단(1-Hpop/Htot)사이의 다양성과 비교된다(Table 6-5).

Dendrogram을 보면 가장 거리가 먼 것은 Sijichun과 강진 장원산업 집단이었다. 일본의 8개 집단과 우리나라의 12개 집단은 다른 cluster로 분류되었다.

일본의 J3(Shunmei), J8(Komakake) 집단의 양친은 Yutakamidori에서 유래한 것으로 추정된다. 일본의 J04(Yabukita), J08(Komakake), J06(Kurasawa) 집단은 우리나라 집단과 유사한 집단으로 나타났다. K11(장원산업 집단)과 J05(Saemidori)와 J01(Yaeho)이 0.46 수준으로 가깝게 나타났다. 이는 장원산업이 일본에서 야부끼다 품종을 도입하여 식재한 것으로 알려져 있다.

우리나라 차인 K01(보성 회천), K02(광양 다압 신원), K03(광양 다압 신원)집단은 하나의 cluster로서 일본 집단과는 다르며 대만의 5개 집단과 비슷하다. 이것은 1940년대부터 1980년대 이전까지 일본인들과 우리나라 사람들에 의해 종자를 도입한 것 중에서 베니호마래 계통 등 중국계통의 종자가 섞여 들어와 차밭이 조성되고 그 조성된 차밭에서 종자를 수집하여 심어 확산된 것으로 추정된다.

K07(정읍 내장사), K12(보성 회천), K14(보성 대원사), K08(장성 백양사), K10(보성 자원사) 집단은 일본 품종과는 분리되어있었다. 이 지역은 아직도 우리고유의 재래종이 외국 품종과 교잡이 이루어지지 않은 순수한 집단으로 사료된다.

이러한 현상들을 볼 때 우리나라에 최근에 다원 조성을 위해 종자로 식재된 차나무들은 대부분 우리나라 고유의 차나무가 아니라 일본에서 도입된 차나무 집단 [일본종과 중국(대만)종 혼합] 과 일부 한국 야생차 집단과 교잡이 이루어져서 3개국 교잡의 신 종자가 새로운 다원 조성지로 확산되었다고 본다. 그래서 주변의 우리나라 야생차가 매년 급속도로 침식당하여 가고 있는 실정이다. 우리 고유의 야생차 집단은 아직 남아 있는 지역이 많이 있다. 이러한 지역을 보존하고 유전자원으로서 보존해야 할 가치가 충분히 있다고 본다.

한국(14집단), 대만(5종), 일본(8종)의 차나무 27집단 및 품종을 가지고 RAPD's의 비교와 UPGMA 및 Jaccard 분석법을 이용한 Dendrogram을 보면 가장 거리가 먼 것은 T02(사계춘)과 K11(장원산업) ($F=0.18$)로서 28 loci가 떨어져 있었다. K05(보림사) 집단과 K09(방촌) 집단은 56개의 밴드 값 가운데서 유전적으로 가장 가까운 관계에 있다($S_j=0.90$).

UPGMA 방법과 Jaccard's distance($1-S_j$)에 기초를 둔 계층집단분석은 Figure 6-2과 같다. 이 집단은 두 그룹으로 나누어지는데, 대만의 5개 차나무와 한국의 K01(회룡)과 K02(신원)가 한 그룹이고 일본의 8개와 남은 한국의 12 집단이 다른 한 그룹으로 분류되었다.

일본의 J03(Shunmei)과 J07 (Okuyataka)은 0.13 수준으로 나타났다. 이는 J03은 Yutakamidori×Tanamidori의 교잡종이고 J07은 Yutakamidori×NN8로 모계가 Yutakamidori에서 유래한 것이 증명되었다. 일본의 J04(Yabukita), J08(Komakake), J06(Kurasawa) 집단은 우리나라의 장원집단과 비슷한 집단으로 추정된다.

K11(장원집단)과 J05(Saemidori)와 J01(Yaeho)은 0.46 값으로 유연 관계가 매우 가깝게 나타났다. 이것은 장원산업이 1980년대에 도입한 품종이 “야부끼다”라고 하는데 J04(Yabukita)가 같거나 비슷하지 않고 오히려 J01, J05와 유연관계가 매우 가깝다는 것은 설득력이 적으며 앞으로 더 많은 연구를 해보아야 하리라고 본다. 그 이유는 J05 (Saemidori)는 양친이 Yabukita×Asatsuyu에서 육성된 품종이며 J01 (Yaeho)은 일본 시즈오카 현의 야생차에서 선발한 품종이기 때문이다.

K01(회천), K02(신원), K03(신원)집단은 일본 집단과는 다르며 대만의 5개 집단과 비슷하였다. 이는 K01인 보성군 회천면 회령의 대한다원 포장의 차나무 집단으로 이 다원은 1970년대 초 조성되었다.

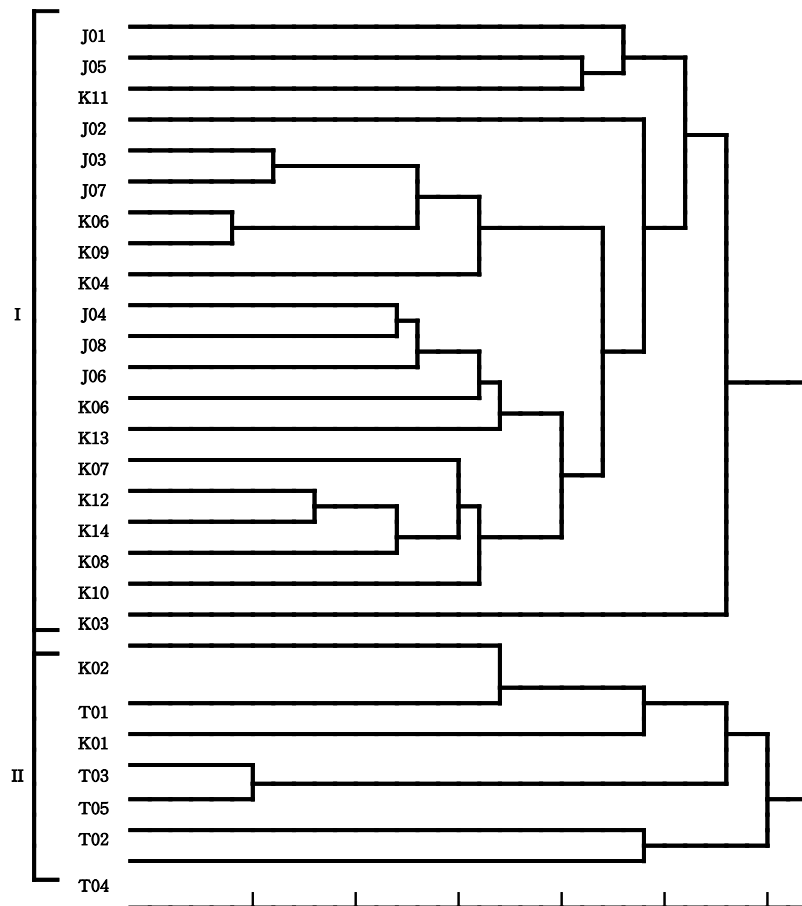


Figure 6-3. Dendrogram constructed using UPGMA and based on Jaccard's dissimilarity value(1-S_j) from pairwise comparisons of RAPD between 27 tea accessions

K07(내장사), K12(회천), K14(대원사), K08(백양사), K10(자원사) 집단은 일본 품종과는 다르게 분류되었다(Figure 6-3, Figure 6-4).

이는 박(2000)의 보고한 것과 일치하는 것이다. 전반적으로 보았을 때 차나무의 다중형(polymorphism) 밴드비율은 일본과 대만 그룹이 같았고, 우리나라 자생 차나무 집단은 매우 높았다, 이는 우리나라는 일본, 중국 등으로부터 차나무의 도입이 비교적 적은 데에 기인한 것으로 사료된다.

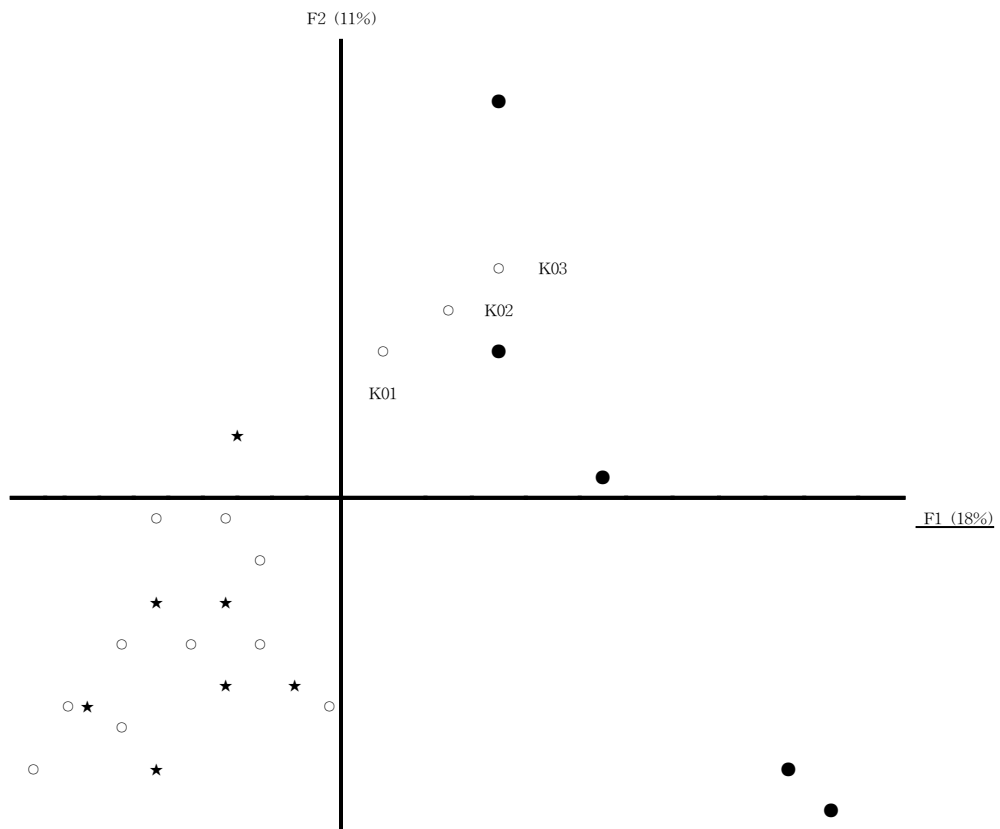


Figure 6-4. F1×F2 plane of the Factorial Correspondence Analysis carried out on 27 tea accessions and 58 RAPD bands

Empty circles, full circles and asterisks represent Korean, Taiwan and Japanese accessions, respectively.

참고문헌

1. 권태원, 1974. 차고사의 고찰과 현황. 충남대학교논문집. 13(1).
2. 김명배, 1993, 다도학. 학문사
3. 김재성, 김종만. 1969. 한국산 차나무의 형태에 관한 연구. 진주농과대학논문집 4.
4. 김주희. 2002. 신품종 육성을 위한 한국 야생차나무 집단들의 형태·유전적 형질 분석. 경북대학교 박사논문집
5. 박서기. 1995. 차나무의 병해 I. *Collectotrichum theae-sinensis*에 의한 차 탄저병. 식물병과 농업. 1(2):26-28.
6. 박서기. 1995. 차나무의 병해 II. *Sphaceloma theae*에 의한 차 흰별무늬병. 식물병과 농업. 1(2):26-28.
7. 박서기, 박기범, 차광홍. 1995. 차나무의 병해 III. *Pestalotiopsis longiseta*에 의한 차 겹둥근무늬병. 한국식물병리학회지. 12(4):463-465.
8. 박서기, 최용수, 차광홍. 1998. 차나무의 병해 IV. *Glomerella cingulata*에 의한 차 붉은잎 마름병. 한국차학회지. 4(1):59-65.
9. 박용구. 2000. 차의 식물지. 우리나라 야생차 집단 유전학적 연구. 제 1회 심포지움 차의 과학과 문화 발표논문집. p.41-70.
10. 박용구, 안인숙, BOZHKOV Peter. 1997. 차나무 잎과 배 배양에 있어서 식물 생장조절 물질이 형태형성에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회.24(3):129-135.
11. 박용구, 김주희, Ikeda Namiko, 신동일. 2001. 한국과 일본 야생차나무의 도입경로와 기원에 관한 연구. I. 형태적 및 유전적 변이를 중심으로. 한국차학회 7(1):143-161.
12. 박인협, 김례화, 이선하. 1997. 야생 차나무 집단의 생태 및 잎의 형태적 특성. 한국차학회 3(2):125-134.
13. 박장현, 김주희, 최형국, 김태석, 김정운, 김광식. 1995. 국내산 차엽의 생육특성과 화학성분에 관한 연구. 한국차학회지 1(1):161~173
14. 박장현 김광식, 김주희, 최형국, 김선우. 1996. 국내산 차엽의 유리아미노산, 테아닌, 카테킨 함량에 관한 연구. 한국차학회지 2(2):197~207
15. 박장현 김광식, 최형국. 1997. 한국자생차엽의 유리아미노산, 유기산, 지방산 함량에 관한 연구. 한국차학회지. 3(2) 73~87

16. 박주용. 2001. Evaluation of Resistance for *Gloeosporium theae-sinensis* in Korean Wild Tea Population. 경북대학교 석사논문집
17. 문제학, 박근형 1995. 차의 기능성 성분과 생리활성, 한국차학회지 1(1): 175~191
18. 이선하, 최학순, 김례화, 이효연, 모일섭. 1995. RAPD marker를 이용한 한국 야생 차나무 및 일본 차품종의 동정. 한국차학회 1(1):129-148.
19. 오미정, 공병희. 1995. 한국 자생 차나무의 RAPD-Marker에 의한 유연관계. 한국 육종학회 27(2):140-147.
20. 이지보. 1977. 한국차업에 관한 지리학적 연구. 지리학과 지리교육 7.
21. 최철원, 서양원. 1983. 우리 차의 재조명. 삼양출판사. p.62.
22. 家入一雄 1938. 朝鮮の茶と禪. 日本のお茶社.
23. 古野鶴吉, 吉留浩, 間曾龍一, 佐藤邦彦, 上野貞一, 平川令夫, 安部二生. 煎茶用品種 さきみどりの育成. 茶研報 87:67-76.
24. 久保井徹. 鍛治將之. 1994. 増殖能の高いチャ細胞培養系の確立. 茶研報. 80:1-8.
25. 内野博司, 田中江里, 岡野信雄, 船越昭治, 京極英雄, 中島健太, 本多勇介, 淵之上康元, 田中萬吉, 米丸忠, 北田嘉一. 2000. 煎茶用品種 むさしかおりの育成. 茶研報 89 : 45-58.
26. 大前英. 葉位の違いか茶葉の耐冬性, 水分含量及び化學成分に与える影響 82:16-17.
27. 詹梓金, 林茂鋒. 1990. 福建野生茶樹的地理分布与生態型研究 閩台茶葉學術討論會論文 p.29-36.
28. 塗木裕一郎, 田中淳一, 伊藤陽子, 近藤貞昭. チャ炭そ病と關聯の認められる DNA マーカー. 茶研報 84:50-51.
29. 渡邊明, 安間舜, 勝尾清, 増田清志, 築瀬好充, 山口聰. 煎茶用中晩生品種 りょうふうの育成. 茶研報 87:21-38.
30. 山口聰, 武弓利雄, 池田奈實子, 武田善行, 渡邊明, 安間舜. 1992. 煎茶用新品種 ふうしゅの育成. 茶研報. B(茶業)5:1-13.
31. 山口聰, 田中淳一. 1994. チャの起源と傳播について. I.Gaolu 類型の分布・日本育種學會誌 44(1):151.
32. 山口聰, 田中淳一, 朴龍求. 1994. チャの起源と傳播について. II.韓國野生茶の分布及び Gaolu類型の調査.日本育種學雜誌 44(別1):152, 16:1-6.
33. 山口聰, 田中淳一, 齊藤格久. 1994. 茶育種の年限短縮-4. 香りセンサー お用いた玉露型 素材の早期選抜. 茶研報. 79(別冊):38-39.

34. 武田善行, 和田光正, 根角厚司, 武弓利雄. 1993. 茶遺傳資源における新葉毛茸特性の變異. 茶研報 78:11-21.
35. 武田善行. 1992. チャの育種に関する研究. 茶研報 76:63-71.
36. 武田善行, 根角厚司. 1997. チャの低カフェイン系統の選抜. 茶研報 85: 8-9.
37. 武田善行, 佐波哲次. 低カフェインチャの育成(2). 茶研報 81:8-9.
38. 浜屋悦次. 1982. チャ炭そ病菌の感染経路. 茶研報 63:33-38.
39. 松元哲, 竹内敦子. 1996. 茶中國種の phenylalanine ammonia-lyase(PAL) cDNA 利用 RFLP 解析. 茶研報 84:42-43.
40. 松元 哲, 竹内敦子, 山口 聰. 1997. RFLP 解析 韓國茶の分類 評價. 茶研報 85: 20-21.
41. 松元哲, 竹内敦子, 山口聰, 朴龍求. 1998. 韓國の茶の RFLP解析. 茶研報 87:38-40.
42. 松元哲, 切岩祥和, 武田善行. 1999. チャ在來種の遺傳的 多様性について. 茶研報 88:12-13.
43. 松元 哲, 竹内敦子, 山口 聰. 1997. RFLP 解析 韓國茶の分類とその 評價. 茶研報 85: 20-21.
44. 松元哲, 竹内敦子, 山口聰, 朴龍求. 1998. 韓國の茶の RFLP解析. 茶研報 87:38-40.
45. 水野直米. 1997. 小肥適性系統の選抜法の開発. 茶研報 85:10-11.
46. 勝尾清, 渡辺明, 増田清志. 1975. 煎茶用新登録品種おくみどり. 茶研報 42:1-12.
47. 安間舜. 1987. 茶の毛茸密度, 形態の品種間差. 茶研報 57:61.
48. 烏屋尾忠之. 1998. チャの種および種内分類の基準について. 茶研報 67: 82-83.
49. 烏屋尾忠之, 武田善行. 1995. 茶の L形 花器形態の分布と類縁關係. 茶研報 82:34-35.
50. 尾忠之, 武田善行. 1999. チャの花器形態の地理的變異と數値分類. 茶研報 87:39-57.
51. 屋尾忠之, 武田善行, 松下繁. 1976. チャ病抵抗性の品種間差異と遺傳力. 茶研報 50:1-8.
52. 日高保. 1994. チャ品種の雌蕊, 雄蕊の形態的差異. 茶研報. 第79號(別冊).
53. 日本静岡縣茶業會請. 1988. 新茶業全書. 三協印制 p.77.
54. 池田奈實子, 根角厚司, 朴龍求. 1998. 韓國 遺傳資源の毛茸の特性. 茶研報 第88號. 10-11.
55. 池田奈實子, 村雲昌久, 角貫, 伊藤陽子. 1989. 人工接種によるチャ炭そ病抵抗性の検定. 茶研報. 70(別冊):13-14.

56. 中淳一, 齊藤格久, 山口聰. 1994. RAPDによる茶の品種識別. 茶研報 75:32-33.
57. 田中淳一, 太田さくら. チャ品種やぶきたの細胞質標識するDNAマーカー. 茶研報 87:40-41.
58. 田中淳一, 黄波正則, 山口聰. 1995. 新品種カラのDNAの検出と遺傳的多様性關. 茶葉 88:12-13.
59. 田中淳一, 黄波正則, 切岩祥和, 武田善行. 1999. 茶在來種の遺傳的多様性關. 茶葉 88:12-13.
60. 中國茶葉學會. 1994. 中國高茶樹. 中國高茶樹遺產保存 研討會論文集. p.1~126.
61. 倉貫幸一, 柴田眞里子. 1992. チャの莖頂培養における植物生長調節物質の違いか生長に及ぼす影響. 静岡茶試年報 16:1-6.
62. 倉貫幸一, 柴田眞里子, 中村順行, 日高保. 1994. 煎茶用新晩生種さわみずか. 茶研報. 18:1-11.
63. 安間舜. 1987. 茶の毛茸密度, 形態の品種間差. 茶研報. 第57號. p.61.
64. Carlson JE, Tulsieram LK, Glaubitz JC, Luk VWK, Kauffeldt C, Rutledge R. 1991. Segregation of random amplified DNA markers in F1 progeny of conifers. Theor. Appl. Genet. 83:194-200.
65. Dweikat I, Mackenzie S, Levy M, Ohm H 1993. Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. Theor. Appl. Genet. 85:497-505.
66. Gebhardt C, Blomendahl U, Debener T, Salamini F, Ritter E 1989. Identification of 2n breeding lines and 4n varieties of potato (*Solanum tuberosum* spp. *Tuberosum*) with RFLP fingerprints. Theor. Appl. Genet. 78:16-22.
67. Martin GB, Williams JGK, Tanksley SD 1991. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:2,336-2,340.
68. Mullis KB, Faloona FA, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H 1986. Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: The polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263-273.
69. Smith ML, Anderson JB 1989. Restriction fragment length polymorphisms in mitochondrial DNAs of *Amillaria*: identification of north American biological species. Mycological Res. 93(3): 247-256.

70. Tao Y, Manners JM, Ludlow MM, Henzell RG 1993. DNA polymorphisms in grain sorghum [*Sorghum bicolor*(L.) Moench] Theor. Appl. Genet. 86:679-688.
71. Wilkie SE, Isaac PG, Slater RJ 1993. Random amplified polymorphic DNA(RAPD) markers for genetic analysis in Allium. Theor. Appl. Genet. 86:497-504.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.