

밤나무 주요 4품종의 개화 및 화밀 특성 분석

김세현 · 이안도성 · 권해연 · 이욱 · 김문섭*

국립산림과학원 산림유전자원부 특용자원연구과

Analysis of Flowering and Nectar Characteristics of Major Four Chestnut Cultivars (*Castanea* spp.)

Sea Hyun Kim, Andosung Lee, Hae Yun Kwon, Uk Lee and Moon Sup Kim*

Division of Special Purpose Tree, National Institute of Forest Science, Suwon, Korea

(Received 29 June 2017; Revised 29 August 2017; Accepted 30 August 2017)

Abstract

In order to provide a basic data of *Castanea* spp. as a honey plant, flowering time and nectar characteristics were investigated using Korean prevailing chestnut cultivars: 'Daebo', 'Okkwang', 'Riheiguri' and 'Tsukuba' planted in clonal archive in Hwaseong city. There were differences among four cultivars in the beginning of flowering and the end of the flowering. In 2015, female flower bloomed approximately eight days earlier than the male flower. Also, there were differences among four cultivars in nectar volume per catkin as the values were 54.3 μ l and 6.7 μ l in 'Okkwang' and 'Daebo', respectively. On the contrary, in the sugar content, the values were 15.6 μ g/ μ l and 69.3 μ g/ μ l in Okkwang and Daebo, respectively. Therefore, it is possible to assume the sugar content per catkin using the total nectar per catkin and the total amount of free sugars. Based on the formula, we estimated the values: Tsukuba was 1401.6 μ g; Okkwang was 777.5 μ g; Riheiguri was 708.9 μ g; and Daebo was 486.4 μ g. Moreover, we investigated the amino acid content. The result was that proline, glutamic acid, asparagine, and alanine were major amino acids in four cultivars. Also, *C. spp.* showed different values in many aspects such as catkin morphology, nectar characteristics, sugar content, and amino acid content. The sugar content per catkin which determines a honey yield considered, it is believed that Tsukuba is highly valued as a honey tree. It would be needed to further study related to the nectar characteristics of female flower to exactly estimate the total nectar volume per tree and the total honey yield per tree.

Key words: Amino acid contents, Chestnut, Cultivar, Nectar secretion, Sugar contents

서 론

밤나무는 참나무과(Fagaceae) 밤나무속(*Castanea*)에 속하는 낙엽 활엽 교목으로서 아시아, 유럽을 비롯한

온대 지역에 10여 종이 분포한다. 이 중 과실 생산을 위하여 주로 재배되고 있는 밤나무는 한국밤과 일본밤(*C. crenata*), 중국밤(*C. mollissima*), 미국밤(*C. dentata*), 유럽밤(*C. Sativa*)이 있다(구 등, 2001).

*Corresponding author. E-mail: honeytree@korea.kr

우리나라 밤나무는 과거에 평양을(함중밤), 가평밤 등 지방명으로 이름이 불려졌으며 식재 방식도 조방 재배로 이루어져왔다. 그러나 1958년 충북 제천지방에서 밤나무에 치명적인 밤나무혹벌(*Dryocosmus kuriphilus*)이 발생하여 토종밤나무는 거의 전멸상태에 이르게 되었고, 이를 계기로 밤나무 품종육성 연구가 진행되었으며, 1968년 이후 산지자원화 계획의 일환으로 일본으로부터 내충성 및 대립성 품종을 도입하여 보급하게 되었다. 그 중, 우리나라 선발 품종인 '옥광' 과 교잡 품종인 '대보' 가 전국적으로 널리 식재되었으며, 특히 '대보' 는 맛이 좋아 재배면적이 지속적으로 확대되고 있다(구 등, 2001). 우리나라의 밤 생산량은 55,592톤에 달하고 중부 지역의 주산지는 공주, 부여, 청양, 충주 지역이며 남부 지역의 경우 광양, 순천, 구례, 진주, 산청, 하동 지역 등이다(산림청, 2016).

밤나무는 일반 과수와 마찬가지로 개화 및 결실, 품종개량, 품종식별을 위한 형태적 특성 등에 대한 연구가 많이 진행되어 왔다. 밤나무 개화시기에 대한 연구로는 남부와 중부지방에서 재배되는 주요 품종 및 국내 재배 품종과 외국 도입 품종을 대상으로 조사한 연구가 있다(김 등, 2003; 박 등, 2011). 또한, 일본 도입 품종 및 국내 육성 품종을 대상으로 개화기와 수확기 및 과실형질에 대한 연구결과가 보고된 바 있다(김 등, 1963; 임과 권, 1974; 이 등, 1977; 안과 황, 1993).

밤나무 꿀은 여러 논문을 통해 그 기능과 특이적 물질이 밝혀졌는데, 유럽밤인 *C. sativa*의 꿀의 경우 항염증과 항산화력을 가지는 kynurenic acid의 함유량이 특히 높은 것으로 나타났으며, 특히 수꽃의 kynurenic acid 함유량이 암꽃보다 상대적으로 높다고 보고되었다(Turski *et al.*, 2016). 또한, 1-phenylethanol과 2-aminoacetophenone은 유럽밤나무꿀에서 분별력 있는 compound 마커이며, *cis-cinnamyl alcohol*과 *p-hydroxyacetophenone*은 밤나무 꿀에서만 독점적으로 발견되었다(Alissandrakis *et al.*, 2011). 국내밤인 *C. crenata* 꿀의 경우, 항산화 효과와 헬리코박터균에 대한 항균활성이 보고된 바 있고(이 등, 2007), 6지역의 밤꿀 시료를 사용하여 높은 항산화 활성을 측정·비

교한 연구가 있다(김, 2009). 또한 국내산 밤꿀은 멜라닌 합성을 촉진하는 tyrosinase 활성을 억제하여 미백 관련 기능성 소재로의 가능성도 보고된 바 있다(한 등, 2010). 이처럼 밤나무 꿀은 우리나라 양봉 시장에서 약리적인 효능과 함께 널리 알려져 있지만, 벌꿀의 원재료인 밤나무의 꽃꿀(화밀, nectar)에 대한 정량적인 자료는 제시된 바가 없다.

꽃의 밀선(nectary)에서 분비되는 화밀은 수분이 80% 정도이며, 당(sugar)이 20%를 차지하고 그 외로는 아미노산, 유기산, 단백질, 지방, 비타민, 미네랄 등이 용해되어 있다. 그 중 화밀 구성물질 중 평균 20%를 차지하고 있는 당은 꿀벌의 섭식과 소화생리를 통하여 추후 인간이 이용할 수 있는 벌꿀 생산에 기인하기 때문에 밀원수 연구에 있어서 당 분석은 필수적이다. 또한, 화밀 아미노산은 전체 화밀 구성에 있어서 함량비가 적음에도 불구하고 수분매개자의 방문을 결정하는 중요한 역할을 한다(Nicolson *et al.*, 2007). 화밀에 대한 연구는 국외에서 1950년대 Beutler(1953)로부터 시작이 되었고, 국내에서는 정과 김(1984)이 피나무속 수종을 대상으로 Micro-capillary tube를 활용하여 화밀을 수집하면서 연구가 시작되었다. 최근에는 아까시나무를 시작으로 다양한 식물들의 개화특성 및 수분매개자의 방화와 화밀 특성 조사가 본격적으로 수행되었으며 이를 근거로 각각 식물들의 밀원적 가치를 객관적으로 평가하고 있다(김 등, 2014a, 2014b; 김 등, 2015).

본 연구는 우리나라 주요 밤나무 보급 품종인 '대보', '옥광', '이평', '축과' 4품종의 개화 조사와 수꽃차례에서 분비되는 화밀량, 화밀 내 유리당 함량 및 유리아미노산을 분석하여 밤나무의 밀원적 가치를 객관적으로 평가하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

공시재료

본 연구의 공시품종은 경기도 화성시 매송면 어천리에 소재한 국립산림과학원 밤나무 품종보존원에

Table 1. The names, pedigrees and origins of four major chestnut cultivars (*Castanea* spp.) used in this study

Cultivar name		Pedigree	Origin
Korean	English		
대보	Daebo	<i>C. crenata</i> × (<i>C. crenata</i> × <i>C. mollissima</i>) hybrid	Korea
옥광	Okkwang	<i>C. crenata</i>	Korea
이평	Riheiguri	<i>C. crenata</i> × <i>C. mollissima</i>	Japan
축파	Tsukuba	<i>C. crenata</i> hybrid (Ganne × Hayadama)	Japan

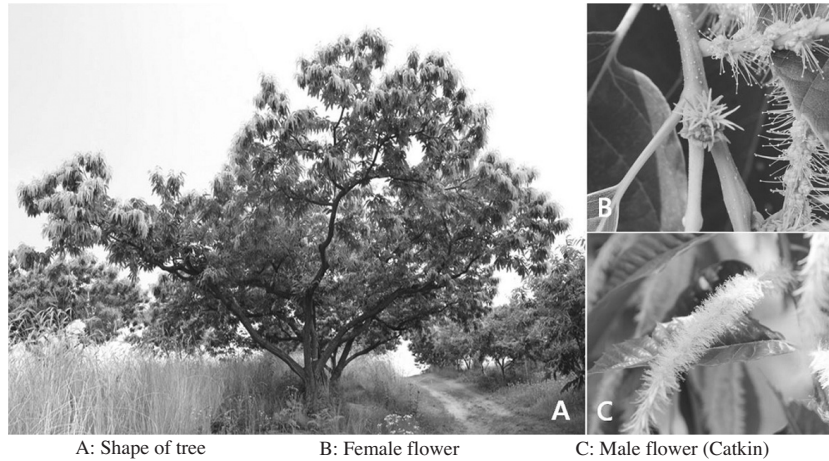


Fig. 1. Pictures of a chestnut tree including male and female flowers.

식재되어 있는 평균수고 8m, 흉고직경이 30cm인 밤나무 4품종(대보, 옥광, 이평, 축파)에서 각각 3본을 조사목으로 선정하였다. 총 12본의 조사목에서 수꽃과 암꽃 개화시기를 조사하였으며, 화밀특성에 대한 조사는 개화기간 중 전체 수관을 중심으로 개화율이 60~80%일 때 조사를 실시하였다. 연구 공시 품종의 육성내역은 Table 1과 같다.

개화 및 꽃 특성 조사

밤나무 주요 품종별 개화시기를 구명하기 위하여 수꽃과 암꽃의 단계별 개화시기를 조사하였고(Fig. 1), 개화 단계는 화아발생부터 개화종료까지 수관 전체를 육안으로 판단하여 4단계로 구분하였다(Table 2). 또한, 수꽃차례(catkin)의 형태적 특성조사는 선정된 조사목별로 4방위에서 완전히 개화한 수꽃차례를 20개씩 채취하여 길이와 직경을 디지털 캘리퍼스(NA500-150S)로 측정하였다.

화밀 분비량 조사 및 수집

꿀벌 및 방화 곤충에 의한 밤나무 화밀 손실을 방지하기 위해 교배봉투를 조사목 당 3개씩 씌웠으며, 화밀 분비량을 정량하기 위해서 개화한 수꽃차례를 수집하여 수술을 제거한 후 원심분리기(Microfuge 16, Beckman Coulter, USA)를 이용하여 2,000 rpm으로 6분간 처리하여 화밀을 분리하였다. 500µl microliter syringe(Hamilton, USA)를 이용하여 화밀을 정량화하고 채취한 양을 기록한 후 품종별 수꽃차례 하나의 화밀량을 추정하였으며 휴대용당도계(GMK-703T, Giwonhitech, Korea)를 이용하여 화밀 당도를 측정하였다.

또한, 유리당과 유리마이노산 분석을 위해 HPLC 분석 전까지 화밀을 0.45µm membrane filter(Whatman, UK)에 필터링한 후, 정제된 화밀을 80% 에탄올로 10배 희석하여 Eppendorf vial에 화밀을 고정한 다음 초저온냉장고(-70°C)에 보관하였다.

Table 2. The criteria based on the flowering stages of female and male flowers

Gender	Flowering stages	Criteria
Female flower	Flowering beginning	When a main pistil projects out and styles grow almost 4mm.
	Full bloom beginning	When a size of side pistil is larger than 4 mm and a plant flowers approximately 30% among a whole flower bud of plant.
	Full bloom end	When a plant flowers approximately 70%.
	Flowering end	When the color of a stigma turns black, styles are browning and staminate flower abscise.
Male flower	Flowering beginning	When anthers emerge from staminate flower and some of them flower.
	Full bloom beginning	When a plant flowers approximately 30% among a whole flower bud of plant.
	Full bloom end	When a plant flowers approximately 70%.
	Flowering end	When the color of staminate flowers turns brown, staminate flower abscise.

Table 3. Flowering period of female and male flowers from the major four chestnut cultivars in 2015

Cultivar	Female flower				Male flower			
	FB ^z	FBB	FBE	FE	FB	FBB	FBE	FE
Daebo	6/3	6/8	6/12	6/16	6/13	6/15	6/17	6/22
Okkwang	6/3	6/7	6/13	6/17	6/10	6/13	6/15	6/21
Riheiguri	6/3	6/6	6/11	6/15	6/8	6/10	6/12	6/17
Tsukuba	5/31	6/2	6/8	6/14	6/11	6/13	6/15	6/21

^z: Abbreviations flower characteristics; FB: Flowering beginning, FBB: Full bloom beginning, FBE: Full bloom end, FE: Flowering end.

유리당 함량 분석

수집된 화밀 시료는 HPLC(Dionex ultimate 3000, Dionex, USA)를 이용하여 분석하였다. 이동상으로는 3차 증류수를 사용하였고, 유속은 0.5 ml/min으로 하였으며, 온도는 80°C로 설정하였다. Ri-101 detector (Shodex, Japan)로 검출하였으며, Aminex 87P column (Bio-rad, USA)을 사용하였다. 함량은 적분계에 의한 외부표준법으로 계산하였으며, 표준품으로는 Sucrose, Glucose, Fructose, Galactose(Sigma, USA)를 사용하였다.

유리아미노산 분석

채취된 화밀 시료의 아미노산을 O-phthalaldehyd(OPA)-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOC) 유도체화하여 분석하였다. Borate buffer, OPA/Mercaptopropionic acid(MPA), FMOC 시약에 시료를 단계적으로 혼합한 다음, HPLC(1200 series, Aglient, USA)를 이용하여 분석하였다. 이동상은 10mM Na₂HPO₄, 10mM

Na₂B₄O₇ · 10H₂O가 포함된 A용액(pH8.2)과 Water: Acetonitrile:Methanol=10:45:45로 혼합된 B용액에 대하여 A용액:B용액으로 초기 100:0 (v/v,%)에서 26~28분에 55:45, 28~30.5분에 0:100, 30.5분부터는 100:0으로 구배 조건을 설정하였다. 유속은 1.5ml/min.로 하였고 주입량은 1ml 설정하였으며 컬럼 온도는 40°C로 설정하여 Inno column C18 (Innopiatech, Korea)을 사용하였다. 검출기는 자외선 검출기와 형광 검출기를 연결시켜, 자외선은 338nm에서, OPA유도체는 방출 파장은 450nm, 여기파장은 340nm, FMOC유도체의 방출 파장은 305nm, 여기 파장은 266nm에서 검출하였다.

통계 분석

조사된 자료는 SPSS program(Statistical Package for Social Science, ver. 12.)을 이용하여, 수꽃차례 형태적 특성과 화밀 특성에 대한 Spearman 상관분석을 실시하였으며, 품종 간 또는 요인 간 차이를 검정하기 위해 ANOVA 분석을 실시한 후, 유의미한 차이를 보인

요인에서 Duncan의 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

개화 특성

암꽃과 수꽃의 개화시기를 개화시작(FB; Flowering beginning), 만개시작(FBB; Full bloom beginning), 만개종료(FBE; Full bloom end), 개화종료(FE; Flowering end) 4단계로 구분하여(박 등, 2011) 국립산림과학원 산림유전자원부 어천 시험림에 식재된 밤나무 4품종에 대해 조사한 결과는 Table 3과 같다.

조사된 암꽃의 경우 ‘축파’가 5월 31일에 가장 빨리 개화하였으며, 다른 3품종은 모두 6월 3일에 개화를 시작하였다. 4품종 모두 암꽃이 먼저 개화를 시작하고, 이후 수꽃이 개화를 시작하였으며 그 차이는 평균 8일이었다. 수꽃의 개화개시부터 종료까지 기간은 품종에 따라 약간의 차이는 있으나 평균 9일 내외로 나타났는데, ‘이평’의 수꽃 개화시작이 6월 8일로 가장 빨랐고, 이후 ‘옥광’, ‘축파’, ‘대보’ 순으로 개화를 시작하였다. 대체로 수꽃의 만개종료(FBE) 시점에서 암꽃은 개화종료(FE) 단계에 접어드는 양상을 나타냈다. 전체 4품종의 암꽃 개화시간은 평균 14일, 수꽃은 평균 11일의 개화기간을 나타냈으며 암꽃과 수꽃의 개화시기를 모두 고려하면 4품종의 밤나무는 평균 19일의 개화기간을 나타냈다.

밤나무의 개화 특성은 식재 지역과 당해년도 기후 등에 의해 영향을 받는다는 것이 여러 논문에서 보고된 바 있다(김 등, 2003; 박 등, 2011). 김 등(2003)에 의하면, 본 연구 대상지와 동일한 어천시험림에 식재한 밤나무 27품종에 대한 조사결과 대부분 암꽃이 먼저

개화하는 것으로 관찰되어 본 연구결과와 동일한 경향을 나타냈으며, 박(2011)은 남부 지역의 밤나무 개화시기가 경기도 화성 지역보다 약 10일 이상 빠르다고 보고하였고, 암꽃이 수꽃에 비해 저온에 더 민감하게 반응한다고 보고한 바 있다. 본 연구는 수꽃보다 암꽃의 빠른 개화 시기로 조사되어 기존의 연구결과들과 유사하였으나, 밤나무 품종 고유의 개화시기 특성을 정확히 파악하기 위해서는 지역별, 품종별로 기후인자를 고려한 개화시기 모니터링이 지속적으로 필요하다고 판단된다.

수꽃차례(catkin)과 화밀 분비 특성

주요 밀원수종인 쉬나무는 수꽃 한 개당 평균 $2.73 \pm 0.63 \mu\text{l}$, 암꽃 한 개당 $0.63 \pm 0.49 \mu\text{l}$ 의 화밀이 분비됨을 보고된 바 있고(김 등, 2014a), *Silene*속의 속하는 3종(*S. alba*, *S. dioica*, *S. nutans*)의 수꽃은 암꽃보다 화밀 농도가 높은 것으로 보고된 바 있다(Witt *et al.*, 1999). 이와는 달리, *Cucurbita pepo*, *Euterpe precatatoria*와 같이 암꽃 화밀 농도가 수꽃보다 더 높은 수종들에 대해서도 연구된 바 있다. 이러한 결과들은 식물 종마다 수꽃과 암꽃의 화밀특성 차이가 있는 것을 의미한다. 밤나무의 경우 암꽃보다 수꽃에서 화밀이 주로 분비되며, 한 본에서 수꽃이 약 90% 이상, 암꽃이 10% 이내의 비율을 차지하기 때문에 수꽃차례의 형태적 특성과 화밀 분비량을 조사·분석하였다(Table 4).

분산분석과 Duncan 검정을 통해 조사된 모든 형질에서 품종 간 차이를 확인할 수 있었다. 밤나무 수꽃차례의 길이는 4품종에서 평균 $17.1 \pm 2.0 \text{cm}$ 을 나타냈고, 수꽃차례의 직경은 $2.7 \pm 0.5 \text{mm}$, 수꽃차례 당 꽃수는 평균 101.2 ± 16.9 개로 나타냈다. Catkin 당 화밀 분

Table 4. The morphological characteristics of catkins and their nectar from the major four chestnut cultivars

Cultivar	Length of catkin (cm)	Diameter of catkin (mm)	Number of flower per catkin (ea)	Total nectar per catkin (μl)	Soluble solid content (%Brix)
Daebo	18.1 ± 1.7 a ^z	2.4 ± 0.4 b	105.6 ± 16.2 a	6.7 ± 4.3 b	57.1 ± 0.9 a
Okkwang	17.4 ± 1.7 ab	3.0 ± 0.7 a	101.9 ± 8.7 ab	54.3 ± 30.9 a	18.2 ± 4.2 d
Riheiguri	16.6 ± 1.7 b	2.3 ± 0.4 b	97.0 ± 8.1 b	9.2 ± 5.0 b	49.9 ± 4.1 b
Tsukuba	16.3 ± 2.9 b	3.1 ± 0.5 a	95.6 ± 20.8 b	37.0 ± 25.7 ab	33.9 ± 9.7 c
Mean	17.1 ± 2.0	2.7 ± 0.5	101.2 ± 16.9	26.8 ± 16.5	39.8 ± 4.7

^z: Duncan's multiple range test (Significant at $p=0.05$).

Table 5. Correlation coefficients by Spearman between catkin and nectar characteristics from the major four chestnut cultivars

Characteristics	Length of catkin	Diameter of catkin	Total nectar per catkin	Soluble solid content
Diameter of catkin	n.s.	–	–	–
Total nectar per catkin	n.s.	0.844**	–	–
Soluble solid content	n.s.	-0.776**	-0.725**	–
Number of flower per catkin	0.950**	n.s.	n.s.	n.s.

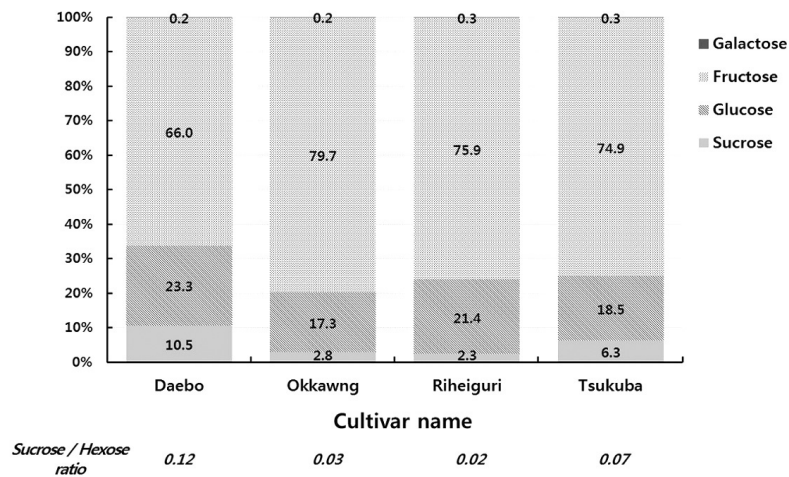
** , n.s.: Significant at $p=0.01$ and non-significant, respectively.

Table 6. Total amount and composition of sugars in floral nectar of staminate flower from major four chestnut cultivars

Cultivar	Sucrose ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Glucose ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Fructose ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Galactose ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Total amount of free sugars ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Sugar content per catkin ^Y ($\mu\text{g}/\text{catkin}$)
Daebo	7.26 ± 0.87	16.13 ± 2.03	45.77 ± 6.43	0.17 ± 0.04	69.32 ± 9.25 a ^Z	486.4
Okkawang	0.47 ± 0.20	2.86 ± 1.14	13.07 ± 4.91	0.05 ± 0.02	16.44 ± 6.20 b	777.5
Riheiguri	1.42 ± 0.15	13.06 ± 1.10	46.18 ± 2.51	0.18 ± 0.00	60.84 ± 3.76 a	708.9
Tsukuba	1.78 ± 0.24	5.31 ± 1.40	21.32 ± 3.54	0.09 ± 0.02	28.50 ± 5.21 b	1401.6
Mean	2.96 ± 3.04	9.37 ± 6.13	31.15 ± 16.39	0.13 ± 0.06	43.60 ± 24.81	801.3

^Z: Duncan's multiple range test (Significant at $p=0.05$).

^Y: Sugar content per catkin ($\mu\text{g}/\text{catkin}$) = Total nectar per catkin \times Total amount of free sugars.

**Fig. 2.** Ratio of sugar composition in nectar from the major four chestnut cultivars.

비량은 '옥광' 이 $54.3 \pm 30.9 \mu\text{l}$ 로 가장 많은 화밀량이 분비된 반면 '대보' 는 가장 적은 $6.7 \pm 4.3 \mu\text{l}$ 의 화밀 분비량을 나타냈다. 휴대용 당도계로 수꽃차례의 화밀 당도를 측정된 결과, '대보' 가 57.1%Brix로 가장 높은 수치를 나타냈고 '옥광' 이 18.2%Brix로 가장 낮은 수치를 보였다.

주요 밀원수종으로 분류되는 밤나무의 분당 총 화밀량을 추정하기 위해서는, 표준적인 재배지침에 의

해 관리된 밤나무의 수꽃차례 개수 조사가 필요하다. 본 연구에서는 수꽃차례 당 화밀량만을 제시했기 때문에, 분당 총 화밀량을 계산하기 위해서는 총 수꽃차례 개수에 대해서 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

수꽃차례 특성과 화밀분비 특성을 Spearman의 상관관계를 이용해 분석한 결과는 Table 5와 같다. 분석 결과, 밤나무의 화밀 분비에 있어서 영향을 끼치는 인

Table 7. The composition of amino acids in nectar of male flowers from the major four chestnut cultivas

Amino acid (%)	Cultivar name	Daebo	Okkwang	Riheiguri	Tsukuba	Mean	ANOVA p value
Aspartic acid		3.8±0.5 c ^z	5.7±0.2 b	5.0±1.1 bc	8.5±0.1 a	5.5±1.8	p=0.00
Glutamic acid		5.9±0.9 c	6.5±0.4 c	8.2±0.6 b	10.8±0.5 a	7.5±2.0	p=0.00
Asparagine		14.2±3.7 a	16.6±1.2 a	14.2±1.3 a	6.5±1.1 b	13.4±4.2	p=0.02
Serine		5.3±0.3 b	7.5±0.6 ab	7.1±1.8 ab	9.8±2.0 a	7.2±1.9	p=0.03
Glutamine		5.6±1.0	5.3±0.3	5.2±0.4	5.7±0.5	5.4±0.6	-
Histidine		2.1±0.3	1.6±0.2	1.7±0.0	2.2±0.6	1.9±0.4	-
Glycine		1.6±0.0	2.4±0.3	3.3±1.1	3.6±1.2	2.6±1.0	-
Threonine*		1.4±0.1 bc	2.1±0.2 a	1.2±0.1 c	1.9±0.5 ab	1.7±0.5	p=0.01
Arginine		0.8±0.1	1.1±0.3	0.9±0.0	1.2±0.2	1.0±0.2	-
Alanine		10.8±2.4 a	4.0±0.5 b	8.4±0.4 a	8.1±0.6 a	7.8±3.0	p=0.01
GABA		4.7±0.1 d	10.1±1.0 a	8.1±0.4 b	6.7±0.1 c	7.4±2.3	p=0.00
Tyrosine		0.6±0.3	1.1±0.2	1.1±0.1	1.1±0.1	0.9±0.3	-
Valine*		3.9±0.7	2.9±0.2	3.8±0.2	3.5±0.1	3.5±0.5	-
Phenylalanine*		2.5±0.0 a	0.9±0.2 d	2.0±0.1 b	1.5±0.2 c	1.7±0.7	p=0.00
Isoleucine*		1.9±0.1 ab	2.2±0.2 a	1.9±0.2 ab	1.6±0.1 b	1.9±0.2	p=0.02
Leucine*		1.0±0.0	1.4±0.2	1.5±0.1	1.4±0.2	1.3±0.2	-
Lysine*		0.6±0.3	0.6±0.1	1.3±0.6	0.9±0.4	0.8±0.4	-
Proline		33.4±0.9	27.9±1.5	25.5±4.7	25.5±5.1	28.6±4.3	-
Methionine*		0	0.1±0.0	0	0.1±0.1	0.0±0.1	-
Tryptophan*		0	0	0	0	0	-

^z: Duncan's multiple range test (Significant at p=0.05).

*: Essential amino acid.

자는 수꽃차례의 직경으로 판단된다. 수꽃차례당 꽃수는 수꽃차례의 길이와 고도의 정의 상관($r=0.950$, $p=0.01$)을 나타냈으나, 수꽃차례의 직경과는 상관이 없음을 알 수 있었다. 수꽃차례 당 화밀 분비량은 수꽃차례의 길이와 상관이 없으나, 수꽃차례의 직경과 높은 정의 상관($r=0.844$, $p=0.01$)을 나타내었다. 또한 화밀 분비량과 화밀 당도는 높은 부의 상관($r=-0.725$, $p=0.01$)을 나타냈다. 이러한 결과는 김 등(2014a)이 쉬나무 꽃에서 총 화밀량과 화밀 당도는 부의 상관관계($r=-0.746$, $p=0.01$)를 보였다는 보고와 유사한 경향을 나타냈다.

유리당 함량 분석

HPLC에 의해 조사된 밤나무의 주요 유리당 함량과 수꽃차례 당 당함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다.

화밀 내 유리당 함량은 벌꿀 생산량을 간접적으로 추정할 수 있어 밀원수종으로서 가치 평가에 유용할 뿐만 아니라, 화밀의 당 구성은 수분매개자들의 화밀

섭식에 영향을 준다고 알려져있다(Pacini *et al.*, 2003). HPLC를 이용하여 유리당 분석을 수행한 결과, '대보'가 4품종 중에서 가장 높은 유리당 함량을 보였다. 유리당 함량과 화밀 당도 값은 4품종 모두 동일한 경향을 나타냈고, 화밀 당도와 부의 상관을 가지는 수꽃차례 당 화밀 분비량은 유리당 함량과 반대의 경향을 보였다. 또한, 단위용량 당 유리당 함량과 수꽃차례 당 화밀 분비량을 고려하면, '축파'가 1401.6 μ g, '옥광'이 777.5 μ g, '이평'이 708.9 μ g, '대보'가 486.4 μ g의 순서로 수꽃차례 당 당함량을 산출할 수 있다. 이 결과에서는 수분을 포함한 수꽃차례 당 화밀 분비량과 벌꿀 생산과 관련되는 화밀 내 유리당 함량을 고려하였을 때, 4품종 중에서 '축파'가 밀원적 가치가 높다고 판단된다. 하지만 이 결과는 수꽃차례 하나만을 고려한 결과 값이기 때문에 수확 가능한 꿀의 양을 추정하기 위해서는 품종별 본당 수꽃차례 개수 조사와 꿀벌 방화 활동 요인 등을 고려한 연구가 추가적으로 필요하다.

Fig. 2는 HPLC에 의해 분석된 주요 유리당 함량을 비율로 나타낸 그래프이다. 분석된 4품종 모두 Hexose (glucose, fructose, galactose) 함량이 Sucrose보다 우세했고, Hexose 중에서도 특히 fructose가 전체 화밀 유리당 함량의 71.4%를 차지했다. Sucrose/Hexose ratio는 '대보'가 0.12를 나타냈고, '대보'를 제외한 3품종은 0.1 이하의 값을 나타내어 전체적으로 밤나무 화밀은 단당류가 많은 함량비를 차지하는 hexose-dominant 등급을 보였다(Baker and Baker, 1982). 이러한 결과는 Kim *et al.*(2012)이 보고한 피나무 화밀에서 fructose 함량이 44.3~77.9%로 전체적으로 높았던 결과와 유사한 경향을 나타냈으나, 0.22(hexose-rich)와 0.72(sucrose-rich)를 나타낸 피나무 화밀 등급과는 다른 결과를 보였다. 또한, 김 등(2014a)이 보고한 쉬나무 수꽃과 암꽃 화밀에서는 fructose의 함량은 12.1%와 19.6%를 나타냈고, sucrose 함량은 각각 71.4%, 52.8%를 나타냈으며, 화밀 등급은 2.5, 1.2(sucrose-dominant)를 나타낸 결과와 비교하였을 때, 밤나무 화밀 유리당 구성과 상반된 결과를 나타냈다.

아미노산 함량 분석

HPLC에 의해 조사된 밤나무 4품종 수꽃 화밀의 아미노산 비율을 분석한 결과는 Table 7과 같다.

수꽃차례 화밀에서는 proline, glutamic acid, asparagine, alanine 등이 평균적으로 우점하는 아미노산이었다. '대보'는 proline, asparagine, alanine, glutamic acid, glutamine 순으로 많은 함량비를 차지하였으며, 전체 화밀 아미노산의 69.9%를 차지하였다. '옥광'은 proline, asparagine, GABA(Gamma aminobutyric acid), serine, glutamic acid 순으로 전체 화밀 아미노산의 68.5%를 차지했다. '이평'은 proline, asparagine, alanine, glutamic acid, GABA 순으로 64.4%의 누적 함량을 나타냈고, '축파'는 proline, glutamic acid, serine, aspartic acid, alanine 순으로 62.6%의 함량을 나타냈다. proline, asparagine 순으로 우점하는 '대보', '옥광', '이평'과 달리 '축파'는 proline에 이어 glutamic acid가 높은 함량을 나타냈다. 특히 모든 품종에서 proline 함량비가 평균 28.1%로 가장 높은 아미노산 구성 비율

을 나타냈다. proline은 여왕벌의 산란을 위해 필요하고 곤충의 발달과 날개근육의 빠른 산화를 위해 필요하기 때문에 proline이 풍부한 화밀이 꿀벌에게서 높은 선호도를 보인다(Hrassnigg *et al.*, 2003). 또한, 4품종 모두 tryptophan은 검출되지 않았으며, methionine은 '옥광'과 '축파'에서 미량 검출되었다. 아미노산 구성 비율에 대한 품종 간 유의성을 검정하고자 분산분석을 실시한 결과, 품종 간에 aspartic acid, glutamic acid, asparagine, serine, threonine, alanine, GABA, phenylalanine, isoleucine 등 9개 아미노산 구성 비율에서 유의적인 차이가 확인되었다. 특히 '대보', '이평', '축파'에서는 alanine 함량이 '옥광'에 비해 유의적으로 높았으며, 반대로 '옥광'은 다른 품종들보다 유의적으로 높은 GABA 함량을 나타냈다. GABA와 phenylalanine은 지중해 지역 식물의 화밀 아미노산에서 꿀벌과 가위벌과의 선호도에 큰 비중을 차지하고 있는 것으로 알려져 있다(Petanidou *et al.*, 2006). 본 연구에서는 GABA가 평균 7.4% 함량비를 나타냈고, phenylalanine이 1.7%의 낮은 함량비를 나타냈다. 특히 phenylalanine은 쉬나무 수꽃과 암꽃 화밀에서는 검출되지 않았고, 때죽나무 화밀 내에서는 1.0%의 낮은 함량을 나타낸 반면, 황칠나무 화밀에서는 67.2%의 함량을 나타내 상반된 결과를 나타냈다(김 등, 2014a; Kim *et al.*, 2015; 김 등, 2015). 본 연구에서는 밤나무 주요 품종 간 수꽃 화밀의 아미노산 구성과 함량 정도에 차이가 있음을 확인함과 동시에 밤나무 수꽃 화밀에서 우점하는 아미노산의 종류를 확인할 수 있었다.

적 요

본 연구는 밤나무의 밀원수종으로서 가치 평가를 위한 기초 자료를 확보하고자 국립산림과학원 클론보존원에 식재된 밤나무 4품종('대보', '옥광', '이평', '축파')을 대상으로 개화 및 화밀분비 특성 등을 조사하였다. 밤나무 개화는 품종 간 개화 시기의 차이가 있었으며, 품종별 평균 19일의 개화기간을 나타냈다. 수꽃차례 길이는 4품종 평균 17.1cm였고, 직경은 2.7mm를 나타냈다. 또한, 수꽃차례 당 화밀 분비량은

‘옥광’이 54.3 μ l, ‘대보’가 6.7 μ l의 화밀 분비량을 나타내 품종 간 차이가 있었다. 반면 유리당 함량에 있어서는 ‘옥광’이 16.4 μ g/ μ l, ‘대보’가 69.3 μ g/ μ l로 나타났다. 단위용량당 유리당 함량과 수꽃차례 당 화밀 분비량을 고려하면, ‘축파’가 1401.6 μ g, ‘옥광’이 777.5 μ g, ‘이평’이 708.9 μ g, ‘대보’가 486.4 μ g의 순서대로 수꽃차례 당 당함량을 산출할 수 있었다. 밤나무 화밀 유리당 구성은 단당류인 fructose의 비율이 평균 71.4%로 가장 높았으며 화밀등급은 hexose-dominant로 나타났다. 또한 아미노산 분석 결과, proline, glutamic acid, asparagine, alanine이 상대적으로 우점하는 아미노산이었다. 본 연구에서 밤나무 4품종은 화밀 분비 특성, 유리당 함량, 아미노산 함량에서 품종 간 차이를 보였고, 벌꿀 생산량에 기인하는 수꽃차례 당 당함량을 고려하였을 때, ‘축파’가 밀원적 가치가 높다고 판단된다. 이 결과는 수꽃차례 하나에서만 결과를 나타낸 것이고, 한 본에서 채밀할 수 있는 화밀량과 꿀 수확량을 추정하기 위해서는 밤나무 한 본당 수꽃차례 개수 등 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다.

감사의 글

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 농생명산업기술개발 사업의 지원을 받아 연구되었음(No. 314009-3).

인용 문헌

구교상, 김갑영, 김경희, 김만조, 김선창, 박재복, 신상철, 안창영, 이문호, 이상현, 전현선, 정진현, 주린원, 최광식, 황명수. 2001. 밤나무 재배관리기술. 임업연구원 pp.16.

김만조, 이욱, 황명수, 김선창, 이문호. 2003. 밤나무 재배품종의 개화, 결실 및 과실특성. 한국임학회지 92(4): 321-332.

김문섭, 김세현, 송정호, 김혜수. 2014a. 밀원수종 쉬나무 수꽃과 암꽃의 화밀 분비량, 당 함량 및 아미노산 분석. 한국임학회지 103(1): 43-50.

김문섭, 김세현, 송정호, 김혜수, 오득실. 2014b. 광나무 꽃의 꿀벌 방화과 화밀 분비 특성. 한국양봉학회지 29(4): 279-285.

김문섭, 김혜수, 김소담, 박상진, 송정호, 김세현. 2015. 황철나무 꽃의 곤충 방화, 화밀의 분비 특성과 당 함량 및 아미노산 분석. 한국양봉학회지 30(4): 307-314.

김태욱. 1963. 전남 광양지구의 밤나무 품종별 개화기 및 과실의 숙기와 증량조사. 한국임학회지 3: 36-42.

김혜경, 이명렬, 이만영, 최용수, 김남숙, 홍인표, 변규호, 이광길, 진병래. 2009. 우리나라 지역별 밤꿀의 항산화 활성. 한국양봉학회지 24(2): 115-120.

박준호, 황명수, 조민기, 최명석, 김종갑, 문현식. 2011. 밤나무 재배품종의 개엽과 개화특성에 관한 연구. 농업생명과학연구 pp. 49-58.

산림청. 2016. 임업통계연보. pp. 282.

안창영, 황명수. 1993. 밤나무 주요품종의 수확기, 과실형질에 대한 연구. 임업연보 29: 89-95.

임경빈, 권기원. 1974. 밤나무 우량품종의 형태적 특징과 증식에 관한 연구. 한국임학회지 22: 49-62.

이명렬, 김혜경, 이만영, 최용수, 김현복, 정현관, 김세현. 2007. 우리나라 밤꿀의 항산화와 항균 활성. 한국양봉학회지 22(2): 147-152.

이용수, 강귀동, 김학록, 홍천유. 1977. 밤나무 주요 15개 품종의 재배적 특성조사 연구. 한국원예학회지 18(1):17-21.

정영호, 김기중. 1984. 한국산 피나무속 식물의 개화과정과 수분기작. 한국식물학회지 27: 107-127.

한상미, 이광길, 여주홍, 우순옥, 권해용, 남성희, 조유영, 김원태. 2010. 국내산 벌꿀의 멜라닌 생성 억제 효과. 한국양봉학회지 25(1): 39-43.

Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A., Pappas, C., Harizanis, P.C. and Polissiou, M. 2011. Investigation of organic extractives from unifloral chestnut (*Castanea sativa* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) honeys and flowers to identification of botanical marker compounds. Food Science and Technology 44: 1042-1051.

Baker, H.G. and Baker, I. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanism and phylogeny. In: M.H. Nitechi (Ed.), University of Chicago Press. Biochemical Aspects of Evolutionary Biology 131-171.

Beutler, R. 1953. Nectar. Bee World. 34: 106-116, 128-136, 156-162.

Hrassnigg, N., Leongard, B. and Crailsheim, K. 2003. Free amino acids in the hemolymph of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). Amino Acids 24: 205-212.

Kim, M.S., S.H. Kim, J. Han and J.S. Kim. 2012. Analysis of secretion quantity and sugar composition of nectar from *Tilia amurensis* Rupr. Journal of Apiculture 27(1): 79-85.

Kim, M.S., S.H. Kim, J.H. Song, H.Y. Kwon, H. Kim and Y.S. Choi. 2015. Honeybee visiting and floral nectar characteristics of *Styrax japonicus* Sieb. & Zucc. Journal of apiculture 30(1): 13-20.

Nicolson, S.W., Nepi, M. and Pacini, E. 2007. Nectar production and presentation. Nectaries and Nectar pp. 167-214.

Pacini, E., Nepi, M. and J.L. Vesprini. 2003. Nectar biodiversity: a short review. Plant Systematics and Evolution 238: 7-

- 21.
- Petanidou, T., Van Laere, A.J., Ellis, W.N. and Smets, E. 2006. What shapes amino acid and sugar composition in Mediterranean floral nectars?. *Oikos* 115: 115-169.
- Turski, M.P., Chwil, S., Turska, M., Chwil, M., Kocki, T., Rajtar, G. and Parada-Turska, J. 2016. An exceptionally high content of kynurenic acid in chestnut honey and flowers of chestnut tree. *Journal of Food Composition and Analysis* 48: 67-72.
- Witt, T., Jurgens, A., Geyer, R. and Gottsberger, G. 1999. Nectar dynamics and sugar composition in flowers of *Silene* and *Saponaria species* (Caryophyllaceae). *Plant Biology* 1: 334-345.