

제주 용암해수를 이용한 희귀식물 자란(*Bletilla striata*)의 기내배양

배기화 · 김기주 · 김남영 · 송재모

In vitro culture of rare plant *Bletilla striata* using Jeju magma seawater

Kee-Hwa Bae · Ki Ju Kim · Nam Young Kim · Jae Mo Song

Received: 9 November 2012 / Accepted: 26 November 2012
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract This experiment was conducted to investigate the effect of various type of Magma seawater (MSW) concentrations on plant growth and useful mineral contents in *Bletilla striata*. In the RO (Reverse Osmosis) and ED (Electronic Distal) treatment, hardness of medium was pooled in 3.0 g/L gelrite but increased in 8.0 g/L plant agar, 38,000 and 2,000 g/cm² respectively. We analyzed the morphological and physiological characteristics differences of *B. striata* treated various MSW. Survival frequency of plant and growth (shoot length, shoot diameter, root length, root diameter, shoot/root ratio) were significantly increased in RO and ED treatment at 50% and 10%, especially. Chlorophyll contents in ED treatments were higher than those in control and RO treatment. The content of strontium (Sr) in 20, 50, 75, 100% ED treatment, were higher than those in the control and RO, ED 1, 5, 10% treatment. These results showed that treatment of ED with the range of 20~100% could be used to supply the strontium enriched orchid

plant. It is considered that MSW may be applied for use in Magma seawater to promotion of growth and produced functional plant.

Keywords *Bletilla striata*, *in vitro*, propagation, magma seawater

서론

제주지역의 지하수는 빗물이 땅으로 스미며 생긴 민물 지하수와 바닷물이 현무암층을 침투, 여과하여 생성되는 용암해수(Magma seawater)로 나눌 수 있다. 용암해수는 제주에서만 생성되는 독특한 수자원으로 일반해수 및 해양심층수보다 나트륨, 마그네슘, 칼슘 및 칼륨 등의 필수 미네랄 뿐만 아니라, 일반적으로 알려진 유용한 미네랄(철, 망간, 아연, 몰리브덴 등)도 다량 함유되어 있다. 이러한 이유로 다양한 산업적 활용도가 요구되어지고 있는데, 용암해수 내 미량 포함되어 있는 바나듐은 인슐린 분비를 안정시키는 작용을 한다고 알려져 있고, 혈액순환 촉진, 면역력 증강, 항암작용 등에 효과가 있다고 보고된 게르마늄 또한 미량으로 포함되어져 있다(Kim et al. 2010a). 특히 주목할 것은 지방의 산화작용억제, 심장과 간을 유지하는 상승효과, 항산화활성, 항암, 불임, 노화억제 및 콜레스테롤 수치 개선효과가 있는 셀레늄의 함유는 다른 수자원(샘물, 수돗물, 지하수, 해양심층수, 해수 등)에 비해 활용가치가 높다는 것을 의미한다(Kim et al. 2010b; Kim et al. 2011). 이에 따라, 1980년대부터 제주에서는 낮은 수온과 청정함을 지니는 용암해수의 다양한 산업적 용도에 대한 연구가 활발하게 이루어져 있으며, 특히 식료품 및 향장품원료에서 다각도로 검토되어지고 있다.

자란(*Bletilla striata* Thunb.)은 세계적으로 9종이 한국, 중국, 일본, 대만, 베트남 등 아시아에 지역에만 한정 분

K.-H. Bae
홍천메디칼허브연구소
(Hongcheon Institute of Medicinal Herb, 101 Yeonbong-ri,
Hongcheon-eup, Hongcheon, Gangwon 250-930, Korea)

K. J. Kim
제주테크노파크 용암해수사업단
(Jeju MSW Research Institute, Jeju Technopark, Jeju 690-979,
Korea)

N. Y. Kim
국립수목원
(Department of Horticulture and Education, Korea National
Arboretum, Pocheon, Gyeonggi 487-821, Korea)

J. M. Song (✉)
강원도자연환경연구공원
(Nature Environment Research Office of Gangwon Province,
Hongcheon, Gangwon 250-884, Korea)
e-mail: songjm@korea.kr

포하는 아시아 특산 속 식물이다. 국내에는 자란 1종이 전라남도 남서해안 지방에 자생하고 있고 높이가 50 cm 정도 자라고 5~6월에 화경이 나오며 3~7개의 홍자색 꽃이 총상으로 달린다(Lee 1993). 자란은 잎의 앞면에도 기공이 있어 다른 난과 식물에 비해 엽육이 얇으면서도 햇빛이 강한 장소에서 노지재배가 가능한 호광성 식물(Paek and Jeon 1995)이며, 꽃이 아름답고 관상적 가치가 높아 분화와 조경용 지피소재로의 개발 가능성이 매우 높은 식물이다. 따라서 RAPD 마커를 이용한 자란 품종간의 유전적 변이 연구(Kyung et al. 2000), 자란 종자의 무균발아에 관한 연구(Chung and Suh, 1982), 자란의 생육조건에 관한 연구(Yoo et al. 2001) 등의 연구가 수행된 바 있으며 충북 자란과 같은 신품종 육성(Yun et al. 2004) 등 원예화를 위한 다양한 시도가 이루어지고 있다.

한편, 자란은 산림청이 세계보전연맹(IUCN)의 평가기준에 따라 취약종(VU: vulnerable)으로 지정한 희귀식물로 남서해안지역에 한정되어 분포하며 꽃이 아름다워 무분별한 채취가 일어나는 등 자생지 및 개체수가 급격히 감소하고 있는 분류군으로 인식하고 있다(Korea Forest Service 2009). Yoo 등(2000)은 자란 자생지의 분포 연구를 통해 자란의 자생지가 급격히 감소되어 군락을 형성하는 지역이 많지 않으며 해안가를 따라 분포하는 자생지 주

변이 지역개발로 인해 멸종위기에 처해있는 지역도 있음을 확인시켜 주었다.

따라서 본 연구에서는 자란의 기내조직배양용 배지로 용암해수의 종류와 농도조건을 조사하여 관상가치가 뛰어난 원예작물의 청정액비 생산의 기초자료로 활용가치가 있으며, 더 나아가 용암해수의 유용원소 함유 식, 약용식물 생산의 중요한 기초자료를 제시하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 생장배지제조

본 연구에 사용된 자란(*Bletilla striata*)은 2009년 8월 서귀포시 남원읍 한남지역에서 꼬투리를 6립 채집하였다. 채집된 꼬투리는 1개월간 4°C 냉장고에서 저온 처리하여 무균적으로 종자를 꺼내 오키드 전용배지인 OM(Orchid Max medium, Duchefa, Netheland) 배지가 첨가된 사각배양병에서 4개월간 증식시켜 초장이 3~5 cm로 동일하게 성장한 유식물체를 선별하여 실험에 사용하였다. 자란의 생육배지로는 대조구로 MS(Murashige and Skoog 1962) 배지에 30 g/L의 sucrose와 8.0 g/L의 agar를 첨가하여 배지와 실험구

Table 1 Composition of the nutrient formulations used in the experiment

MS			Magma seawater		
Chemical	(mg/L)	Element	Contents (mg/L)		
			MSW	RO	ED
NH ₄ NO ₃	1,650	Na	10210	12850	604
H ₃ BO ₃	6.20	Mg	1272	1554	1173
CaCl ₂ ·2H ₂ O	332.02	Ca	384	472	297
CoCl ₂ ·2H ₂ O ₂	0.025	K	407	484	14.5
CuSO ₄ ·5H ₂ O ₂	0.025	Cu	0.013	<0.001	0.008
Na ₂ -EDTA	36.7	Mo	0.010	<0.001	0.003
MgSO ₄ ·7H ₂ O	180.54	V	0.02	0.02	0.01
MnSO ₄ ·5H ₂ O	16.9	Ge	<0.001	<0.001	<0.001
KI	0.83	Se	<0.01	<0.01	0.01
KNO ₃	1,900	Br	59.8	70.5	11.0
K ₂ HPO ₄	170.00	Sr	10.4	11.6	10.0
NaMoO ₂ ·2H ₂ O	0.25	SO ₄ ²⁻	2188	2464	1341
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.60	Si	7.38	10.1	9.38
Myo-Inositol	100.0	Zn	0.016	0.003	0.013
Nicotinic Acid	0.5	Fe	<0.01	0.01	<0.01
Peptone Type1	0	Mn	<0.001	0.001	0.007
Pyridoxine	0.5	Cl-	23803	25181	5132
Thiamine	0.1	B	3.13	4.14	3.46
		F	0.75	1.10	1.00

MSW: Magma seawater, RO: Reverse osmosis, ED: Electrodialysis.

로 사용한 용암해수 원수는 용암해수사업단에서 분양받아 사용하였다. 용암해수배지는 30 g/L의 sucrose와 8.0 g/L의 agar를 첨가하여 제조하였다. 자란의 기내배양은 온도 22 ± 1°C, 광주기 16/8시간, 광도 46 μmol m⁻²s⁻¹의 배양실에서 실시하였다. 실험에 사용된 MS배지 및 용암해수(원수, RO, ED)배지에 포함된 미네랄 조성은 Table 1과 같다.

용암해수농도에 따른 배지경도 분석

용암해수가 기내 고체배지로서 적절한지 알아보기 위해서 용암해수 원수를 역삼투압법을 통해 탈염된 RO(Reverse Osmosis)탈염수와 전기투석법으로 탈염된 ED(Electrodialysis)탈염수를 각각 10, 50, 100배 희석하여 30 g/L의 sucrose와 3.0 g/L의 gelrite 또는 8.0 g/L의 plant agar를 첨가하여 pH는 5.7로 조절한 다음 고온, 고압 멸균하여 배지를 제조하였다. 배지경도의 측정은 경도계(SUN rheometer, compac-100 II, Daego, Korea)를 이용하여 직경 10 mm 탐침봉으로 1.5 mm 깊이로 100 mm/sec의 속도로 하중 압력은 10 kg으로 설정하여 측정하였다.

용암해수농도에 따른 생장

용암해수농도에 따른 자란의 생장을 알아보기 위해서 0, 50, 100% 배 희석한 RO 탈염수와 0, 1, 5, 10, 20, 50, 75, 100%의 ED 탈염수에 30 g/L의 sucrose와 8.0 g/L의 plant agar를 첨가하여 pH는 5.7로 조절한 다음 배지를 제조하였다. 제조된 배지에 초장이 1~3 cm, 근장이 0.5~1 cm로 성장한 자란의 유식물체를 치상하여 6개월간 배양한 다음 shoot 길이, shoot 직경, root 길이, root 직경, shoot와 root의 비율을 측정하였다.

용암해수 농도에 따른 엽록소 함량분석

용암해수 농도에 따른 자란의 생리적 발육상태를 확인하기 위하여 엽록소의 함량을 측정하였다. 각각의 용암해수 배지에서 12주간 성장한 자란의 잎을 1 × 1 cm로 절단하여 80%의 아세톤 2 mL에 넣고, 24시간 암반응 하였다. 그 후에 각 샘플들을 15,000 rpm의 속도에서 1분간 원심분리 하였다. 층이 분리되면 상등액을 분리하여 spectrophotometer를 사용하여 663.2 nm와 646.8 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값을 다음의 식에 대입하여 chlorophyll의 함량을 구하였다(Lichtenthaler, 1987).

$$\mu\text{g chlorophyll a/mL} = 12.25 \cdot A_{663.2} - 2.79 \cdot A_{648.8}$$

$$\mu\text{g chlorophyll b/mL} = 21.50 \cdot A_{646.8} - 5.10 \cdot A_{663.2}$$

(A_{663.2}과 A_{648.8}은 각 파장에서의 흡광도 측정값)

Table 2 ICP and ICP-MS system for detection of elements

Analysis machine	Items	
ICP	Uptake delay time (sec)	30
	Washout time (sec)	15
	Auxiliary gas (L/min)	1.2
	Nebuliser flow (L/min)	0.96
	Nebuliser flow (L/min)	0.92
ICP-MS	Uptake delay time (sec)	40
	Washout time (sec)	10
	Sampling depth (mm)	130
	Auxiliary gas (L/min)	0.7
	Nebuliser flow (L/min)	0.92

ICP 및 ICP-MS를 이용한 식물체내 미량원소 측정

용암해수내 미량원소의 식물체내로의 이송을 확인하기 위해 각각의 용암해수배지에서 기내배양 한 자란의 지상부만을 절단하여 80°C 건조기에서 48시간 동안 건조한 후 검체의 무게를 측정하였다. 각 시료의 중량을 30 mg로 정량하여 용기에 취하고 질산 5 mL를 첨가하여 Microwave 3000(Anton Paar GmbH, Austria)를 이용하여 용액화 시킨 후 증류수로 희석하여 동일하게 여과한 시험액(20 mL)을 제조하였다. 검체의 무기이온 함량은 ICP(Inductively Coupled Plasma), (VARIAN, 710-ES, USA) 및 ICP-MS(Inductively Coupled Plasma-mass spectrometer), (PerkinElmer, ELAN DRC II, USA)로 분석하였다. ICP로는 Na, Mg, Ca, K, Fe, Zn, Mn, Si, B, Sr, Cr, Al의 12가지 원소에 대해 분석하였고, ICP-MS로는 V, Co, Cu, Ge, As, Se, Mo, Cd, Pb의 9가지 원소에 대해 분석하였다. 표준물질로는 multi standard를 사용하여 Matrix가 복잡한 시료 분석시 Matrix 요인을 제거한 후 분석하는 표준물질첨가법(standard addition)으로 분석하였다. 사용기기의 조건은 Table 2와 같다.

통계적인 분석

모든 데이터는 means ± standard deviation으로 표시하였다. 변인들의 집단간 차이를 알아보기 위해서 ANOVA를 실시하였고, 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 사후검증을 하였다. 통계적 유의성은 P<0.05로 설정하여 분석하였다.

결과 및 고찰

용암해수 농도에 따른 배지경도

용암해수의 농도에 따라서 배지의 굳기(경도)를 알아보기

위해서 MS배지를 기본으로 RO 탈염수 10, 50, 100%와 ED 탈염수 10, 50, 100%의 배지를 제조하여 경도를 측정된 결과, MS 배지는 2종의 교질재료(Agar와 gelrite)가 첨가된 배지의 경도가 모두 30,000 g/cm² 이상 60,000 g/cm² 이하로 측정이 되었다. 그러나 교질재료 중 gelrite의 경우 RO, ED 탈염수의 모든 농도에서 3,000 g/cm² 이하의 경도를 나타내었는데 이는 배지의 상태가 고체, 액체의 중간상태인 슬러그 상태를 나타내는 정도 값이었다. Plant agar의 경우 RO, ED 탈염수의 모든 농도에서 30,000 g/cm² 정도로 MS배지에 gelrite를 첨가한 배지의 정도 정도를 나타내었다(Fig. 1).

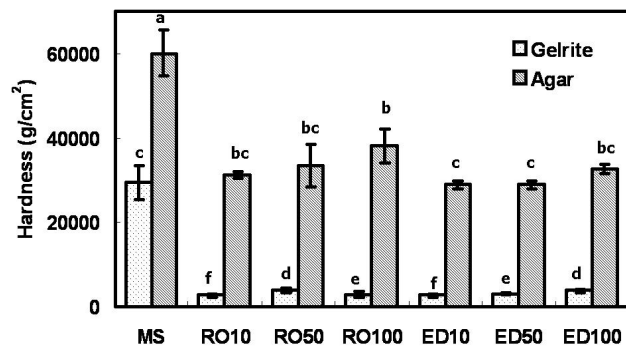


Fig. 1 Effect of various magma seawater on hardness of culture medium supplemented with plant agar (8.0 g/L) or gelrite (3.0 g/L). Data are the means \pm SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$.

식물조직배양용 배지를 제조할 때 현탁(액체)배지를 제조하는 경우를 제외한 모든 배지를 다양한 교질재료를 통해서 고체배지를 제조한다. 식물체의 종류, 상태, 실험목적에 따라 교질재료도 다양하게 선택하여야 하는데 난과 식물의 경우에는 주로 gelrite보다 순도가 떨어지는 plant agar를 사용하는 경우가 많다. 이는 난의 경우 대량으로 생산하기 때문에 생산비당 원료절감을 위해 부득이하게 plant agar를 사용한다. 본 실험에서도 gelrite 보다는 agar를 첨가하였을 때 용암해수 고체배지를 좀 더 수월하게 생산할 수 있었다.

RO 및 ED 탈염수 농도에 따른 증식

RO 탈염수의 농도를 각각 0, 50, 100%까지 달리하여 6개월간 자란의 유식물체를 배양하여 생육상태를 확인한 결과는 Table 3과 같다. 평균 생존률은 RO 탈염수 0% 배지에서 88%로 가장 높았지만 shoot와 root 길이는 RO 탈염수 50%가 첨가된 배지에서 평균 신장 길이가 12.3과 6.5 cm로 가장 높았다. Shoot 직경과 root 직경은 모든 처리구에서 오차범위에서 비슷한 생장을 보였다(Table 3). 또한 ED 탈염수의 농도를 각각 0, 1, 5, 10, 20, 50, 75, 100%까지 달리하여 생육상태를 확인한 결과는 Table 4와 같다. ED 탈염수를 이용하여 배지를 제조한 모든 배지에서 50% 이상의 생존률을 확인할 수 있었고, 특히 ED 탈염수 0~50%까지 첨가된 처리구에서 90% 이상의 높은 생존률을 보였다. Shoot와 root의 길이는 ED 탈염수 5%와 10% 첨가

Table 3 Effect of RO concentration on growth from *B. striata* plantlet after 6 months of culture

RO (%)	Survival (%)	SL (cm)	SD (cm)	RL (cm)	RD (mm)	S/R ratio (%)
0	88.8	6.3 \pm 1.3 ^a	1.5 \pm 0.8 ^b	3.3 \pm 1.3 ^c	2.1 \pm 0.8 ^b	1.9
50	57.7	12.3 \pm 2.6 ^a	1.7 \pm 0.5 ^a	6.5 \pm 2.8 ^a	3.6 \pm 1.2 ^a	2.8
100	31.1	8.7 \pm 3.5 ^{ab}	1.8 \pm 1.1 ^a	5.1 \pm 1.9 ^b	2.7 \pm 1.2 ^b	1.7

*Data are the means \pm SD, of three experiments (n=30). Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$. SL: Shoot length, SD: Shoot diameter, RL: Root length, RD: Root diameter, S/R: Shoot/Root.

Table 4 Effect of ED concentration on growth from *B. striata* plantlet after 6 months of culture

ED (%)	SV (%)	SL (cm)	SD (cm)	RL (cm)	RD (mm)	S/R (%)	No. of corm
0	94.4	7.6 \pm 1.5 ^a	1.6 \pm 0.8 ^c	5.7 \pm 1.5 ^c	1.9 \pm 0.5 ^d	1.3	2.5 \pm 0.5 ^b
1	91.1	7.3 \pm 2.6 ^b	1.5 \pm 0.1	5.5 \pm 1.2 ^d	1.8 \pm 1.1 ^d	1.3	2.3 \pm 0.2 ^c
5	91.8	8.3 \pm 1.9 ^a	1.7 \pm 1.2 ^b	6.5 \pm 2.3 ^b	1.9 \pm 0.6 ^d	1.3	2.4 \pm 0.8 ^b
10	93.9	7.5 \pm 2.5 ^b	1.8 \pm 0.8 ^a	6.8 \pm 1.8 ^a	2.7 \pm 1.1 ^a	1.2	2.7 \pm 1.1 ^a
20	95.8	7.2 \pm 2.1 ^c	1.6 \pm 1.1 ^c	5.6 \pm 2.8 ^c	2.2 \pm 0.5 ^c	1.4	1.7 \pm 0.8
50	92.6	5.3 \pm 1.5 ^d	1.7 \pm 0.4 ^b	5.1 \pm 1.8 ^d	2.5 \pm 0.4 ^b	1.1	2.8 \pm 0.6 ^a
75	86.7	4.4 \pm 2.8 ^e	1.6 \pm 0.2 ^d	3.8 \pm 1.2 ^e	1.8 \pm 0.2 ^e	1.2	1.2 \pm 0.7 ^d
100	61.5	2.6 \pm 1.8 ^f	1.3 \pm 0.4 ^e	3.6 \pm 1.5 ^f	1.6 \pm 0.8 ^f	0.9	0 \pm 0 ^e

*Data are the means \pm SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$. SV: Survival rate, SL: Shoot length, SD: Shoot diameter, RL: Root length, RD: Root diameter, S/R: Shoot/Root.

배지에서 가장 높은 결과를 보였으며, shoot와 root 직경은 ED 탈염수 10% 배지에서 가장 높은 결과를 보였다. 배양 후 6개월 정도가 지나면 기내 배양환경이 변하게 된다. 특히 기내배양체의 생존에 필수적인 다량 또는 미량원소들의 고갈로 인해 엽면이 갈색으로 변하거나 근단이 말라 고사하는 경우가 있는데 용암해수를 이용하여 제조된 모든 배지에는 엽면이 갈변되는 현상은 보였지만 근단이 마르는 현상은 보이지 않았다 (Fig. 2). RO 탈염수 50 및 100% 처리구는 대조구에 비해 생존률은 현저히 낮지만 생육면에서는 대조구에 비해 양호하였다(Fig. 2A). Chretien(2000)은 해수의 ED 탈염수를 이용하여 토마토를 수경 재배 하였을 경우 양분공급방법 및 NaCl로 EC를 증가시킨 처리구들 사이에 차이가 없었다고 하였다. 본 실험에서도 ED 탈염수 100%를 제외하고는 모든 처리구에서 양호한 성장을 보였다(Fig. 2A). 이는 극단적인 고농도

의 처리를 하지 않는 한 용암해수를 이용한 식물생장용 배양배지의 산업적 이용은 문제가 없을 것으로 보여진다. 또한 대조구(control)를 포함한 ED 탈염수 1~75%를 첨가한 배지에서는 기부에서 corm의 형성을 관찰할 수 있었지만 ED 탈염수 100% 첨가배지는 새롭게 신장한 corm을 관찰 할 수 없었다(Fig. 3B, C). 이는 다른 처리구에 비해 shoot의 생장이 현저히 저해되었기 때문이라 사료된다.

용암해수 농도에 따른 자란의 엽록소 함량 측정

용암해수의 종류(RO, ED 탈염수) 및 농도(10, 50, 100%)

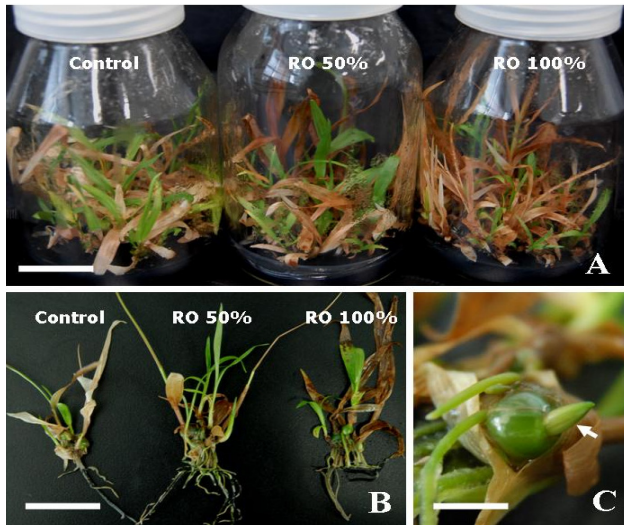


Fig. 2 Effect of RO concentration on growth from *B.striata* plantlet after 6 months of cultured with 30 g/L sucrose. A-B: Growth of RO medium, scale bar, 5 cm. C: Growth of new corm, Arrow is shoot primordia, scale bar, 1.5 mm.

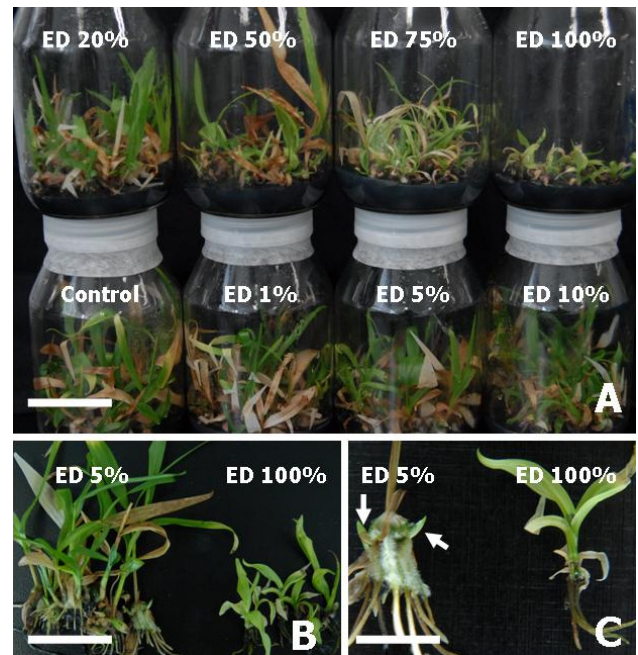


Fig. 3 Effect of ED concentration on growth from *B. striata* plantlet after 6 months of cultured with 30 g/L sucrose. A-B: Comparative growth of ED concentration, scale bar, 5 cm. C: Comparative corm growth of ED concentration, Arrows are new corms, scale bar, 1 cm.

Table 5 Comparative analysis of Chlorophyll a, Chlorophyll b, Chlorophyll a/b and total chlorophyll contents in leaf of *B. striata* after 6 months of culture

Treatment (%)	Chlorophyll contents (ug/g)		Chl a/b ratio	TCC (ug/g)
	Chlorophyll a	Chlorophyll b		
Control	28.5±4.2*c	37.5±9.6f	0.76	66.0
RO10	28.8±7.2cd	49.3±2.3a	0.57	77.3
RO50	29.2±2.1b	47.2±4.9b	0.62	76.4
RO100	28.5±4.3d	40.8±3.8e	0.70	69.3
ED10	35.8±7.2a	43.2±6.8d	0.83	79.0
ED50	27.8±2.9de	47.9±3.6b	0.58	75.7
ED100	28.6±3.1d	45.8±3.5c	0.62	74.4

*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at P < 0.05. TCC means total chlorophyll contents.

에 따라서 자란 내 엽록소 함량을 비교하기 위해 종류와 농도를 달리하여 배지를 제조한 후 6개월간 생장한 잎절편에서 엽록소 함량을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 용암해수의 종류와 농도에 따른 총엽록소의 함량은 종류와 농도에 관계없이 대조구보다 높은 측정값을 나타냈다. RO 탈염수와 ED 탈염수의 농도가 높아질수록 총엽록소 함량(TTC contents)이 감소하는 결과를 보였는데 이는 고농도의 염스트레스가 작용했다고 보여진다. 용암해수를 이용한 작물 및 원예식물의 재배시 식물체내 엽록소의 함량에 관한 연구는 중요한 식물 생리적 의의를 지닌다. 클로로필의 특성으로는 식물체의 엽록체에 분포하며 카로티노이드, 지질, 및 지방단백질 등과 화합된 형태로 존재하며 서로간의 결합이 약하다. 클로로필의 변화는 주로 클로로필레이즈, 산, 열, 알칼리, 염류농도, 지질산화효소, 빛에 의한 영향을 들 수 있으며(Buckle and Edwards 1970; Robertson et al. 1985; Jung et al. 2001), 이중 고농도의 염이 장기간 동안 처리가 되면 세포가 손상이 되면서 산소와 빛에 의해 비가역적으로 탈색되는 연구결과가 보고되는데 본 연구에 사용된 RO 탈염수와 ED 탈염수는 50% 미만의 농도에서 높은 클로로필의 함량을 보였다. 이는 용암해수는 자란의 배양시 생리적 생육에 비교적 적합한 것으로 사료된다.

식물체내 용암해수의 유용원소 분석

용암해수는 다량의 유용 미네랄을 함유하는 것이 특징인데 이러한 유용 미네랄이 식물체내 흡수량을 확인하기 위하여 RO 탈염수 50, 100 및 ED 탈염수 50, 100%를 처리하여 실험한 결과 Table 6과 같다. 마그네슘(Mg)의 경우 대조구에 비해 RO 탈염수 50과 100%는 2배, ED 탈염수 50은 7배, ED 탈염수 100% 처리구는 8배의 높은 함량을 나타냈다. 스트론튬(Sr)은 대조구에서 검출되지 않았으며, RO 탈염수 50, 100%의 경우 0.05, 0.06 mg/L정도의 미미한 함량을 보였지만 ED 탈염수 50, 100%의 경우 0.42, 0.52 mg/L로 급격하게 증가함을 확인하였다. 또한, 용암

해수만이 지니는 바나듐과 셀레늄(Se)과 바나듐(V)의 경우 대조구에서는 검출되지 않았고, RO 탈염수 50과 ED 탈염수 50%를 첨가한 배지보다 RO 탈염수 100, ED 탈염수 100%를 첨가한 배지에서 유의적으로 높은 함량을 보였다. 마그네슘, 스트론튬, 바나듐, 셀레늄의 나머지 원소(Na, Ca, K, Fe, Zn, Mn, Si, B, Cr, Al, Co, Cu, Ge, As, Mo, Cd, Pb)는 ICP 또는 ICP-MS로 검출은 되었지만 용암해수 자체의 중요 미네랄과 연관관계가 많지 않으므로 결과로 제시하지 않았다. Table 3에서 나타냈듯이 마그네슘의 경우 대조구로 사용된 MS배지에 황화합물(MgSO₄)의 상태로 공급이 되기 때문에 검출이 된 것으로 보여지고 스트론튬이나 바나듐, 셀레늄의 경우 MS 배지에는 함유되어 있지 않기 때문에 불검출이 되는 것으로 보여진다. ED 탈염수 100%가 첨가된 배양배지에서 생육한 자란은 생육이 현저하게 억제되는 경향을 보였지만 엽록소의 함량은 높았다. 마그네슘은 식물체의 생육에 필수요소 중에 하나로 결핍 시 잎이 누렇게 변하는 황화현상을 유발하는 것으로 알려져 있다. Nelson(2003)은 주요 화합물의 생리장해의 특징 및 Mg 함량을 보고하였고, Winsor와 Adams(1987)는 생리장해가 발생하는 오이의 식물체를 분석하여 적정 Mg의 영역을 보고하였다. 하지만 본 실험에서는 자란의 생육에 적합한 Mg의 적정농도는 알지 못했지만 Mg이 고농도로 축적된 ED 탈염수 100%에서 생육한 자란의 성장상태와 엽록소 함량에 따른 생육상태는 확인 할 수 있었다. 스트론튬, 바나듐 및 셀레늄의 경우 용암해수 특이적인 미네랄로서 스트론튬, 바나듐의 경우 아직 식물의 생육에 미치는 영향에 관한 연구논문이 보고된 적은 없다. 하지만 셀레늄은 동물, 미생물, 인간에는 매우 낮은 농도로 요구되는 필수미량원소이면서 glutathione peroxidase의 활성에 관여하여 각종 radical로부터 세포를 보호하는 항산화 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(Combs and Combs 1986). Lee(2005) 등은 토마토의 수경재배 시 셀레늄의 관주와 엽면시비를 복합적으로 병행한 경우 생육, 과실의 크기, 엽록소의 함량 등이 증가한다고 보고했으며, Cheong(2009) 등은 4가지 채소종자에 셀레늄의 처리농

Table 6 Physicochemical property of leaf from *B. striata* after 6 months of culture MSW applying

Treatments (%)	Macro element (mg/g)		Micro element (ng/g)	
	Magnesium (Mg)	Strontium (Sr)	Vanadium (V)	Selenium (Se)
Control	10.98±0.15 ^d	0.00±0.00e	0.0±0.0d	0.0±0.0e
RO 50	19.85±0.23c	0.05±0.008cd	0.6±0.04cd	1.3±0.06d
RO 100	19.06±0.66c	0.06±0.004c	1.4±0.09a	2.1±0.04a
ED 50	69.36±0.89b	0.42±0.04b	0.7±0.14c	1.2±0.07c
ED 100	81.59±1.23a	0.52±0.08a	1.1±0.05b	1.5±0.06b

^aData are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at P < 0.05.

도가 증가할수록 발아와 싹의 생장에 효과적인 것을 보고 하였다. 본 실험에서도 용암해수가 첨가된 모든 처리구에서 셀레늄이 검출이 되었는데 이는 셀레늄만이 아닌 용암해수가 지니는 유용 미네랄을 흡수, 축적할 수 있다는 가능성이 있음을 보여주는 것이고 기능성 향상 채소재배에 유용한 기초자료로 활용될 것으로 생각된다.

적 요

본 연구에서는 용암해수가 지닌 독특한 미네랄 구성을 바탕으로 자란의 생육에 적합한 농도를 규명하기 위해 실험을 수행하였다. 자란의 기내배양용 고체배지구성을 위해 30 g/L sucrose와 3.0과 8.0 g/L의 gelrite 및 plant agar를 동일하게 처리한 MS 배지와 RO(Reverse Osmosis) 탈염수, ED (Electrodialysis) 탈염수 배지를 각각 제조하여 배지경도를 측정하여 결과, plant agar가 첨가된 MS, RO, 및 ED 배지의 경도는 각각 60,000, 40,000 및 38,000 g/cm²의 경도가 측정되었다. 하지만 gelrite가 첨가된 배지는 MS를 제외한 RO, ED배지는 2,000 g/cm² 내외의 경도를 보였다. 제조된 배지에서 식물체의 생육을 확인한 결과, RO 탈염수 0%에서는 88%, RO 50%에서는 57%, RO 100%에서는 31%의 생존율을 보였다. 하지만 잎 길이, 엽폭은 모두 RO 탈염수 100%에서 높았다. ED배지는 ED 100%를 제외한 배지에서 모두 양호한 생장을 보였다. 엽록소 함량 분석을 통한 생리적 건전도를 측정하여 결과, 대조구에서는 총엽록소 함량이 66.3 ug/ml인데 비해 RO 10%, RO 50%, RO 100%, ED 10%, ED 50%, ED 100%에서는 각각 77.3, 69.3, 76.4, 79.0, 75.7, 74.4 ug/ml로 모두 대조구보다 높은 총엽록소 함량을 나타냈다. 또한 용암해수 내 유용성분의 식물체내로의 축적은 스토론툼, 바나듐, 셀레늄 등이 원활하게 이루어짐을 확인한 바, 용암해수를 이용한 식물조직배양용 배지로의 산업적 이용가치가 높을 것으로 보이고 더 나아가 용암해수가 원예작물뿐만 아니라 유용성분 함유 약용작물의 생산에도 충분히 활용 가능할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Buckle KA, Edwards RA (1970) Chlorophyll degradation and lipid oxidation in frozen unblanched peas. *J Sci Food Agric* 21:307-314
- Cheong, YH, Han MJ, Sung SJ, Seo DC, Kang JG, Sohn BK, Heo JS, Cho JS (2009) Effects of selenium supplement on germination, sprout growth and selenium uptake in four vegetables. *Kor J Environ Agric* 28:179-185
- Chretien, S (2000) High electrical conductivity and radiation-based water management improve fruit quality of greenhouse tomatoes grown in rockwool. *Hot Sci* 35:627-631
- Chung, JD, Suh JH (1982) Studies on asymbiotic germination of seeds of *Bletilla striata*. *Kor J Plant Tissue Cult* 9(1):27-33
- Combs, GF, Combs SB (1986) *The Role of Selenium in Nutrition* Academic Press Inc New York NY
- Jung, SJ, Kim GE, Kim SH (2001) The changes of ascorbic acid and chlorophylls content in Gochu-jangachi during fermentation. *Korean J Soc Food Sci* 30:814-818
- Kim, AD, Kang KA, Zhang RC, Lim M, Jee YE, Lee NH, You HJ, Ko KS and Hyun JW (2010a) Reactive oxygen species scavenging effects of Jeju waters containing vanadium components. *Cancer Prev Res* 15:111-117
- Kim, AD, Kang KA, Zhang R, Piao MJ, Kim SM, Jee YE, Lee NH, You HJ, Ko KS and Hyun JW (2010b) Effects of Jeju water containing vanadium on antioxidant enzymes in vitro. *Cancer Prev Res* 15:262-267
- Kim, AD, Kang KA, Zhang R, Piao MJ, Kim SM, Jee YE, Lee NH, You HJ, Ko KS and Hyun JW (2011) Antioxidant enzyme-enhancing effects of Jeju water containing vanadium in vivo. *Cancer Prev Res* 16:58-64
- Korea Forest Service (2009) *Rare plants data book in Korea*. Korea National Arboretum Pocheon pp 296
- Kyung, YJ, Yoon MJ, Park CH (2000) Identification of the genetic polymorphism of *Bletilla striata* using RAPD. *Kor J Hort Sci Technol* 18(2):103-106
- Lee, CK, Cho KC, Lee JH, Cho JY, Seo BS, Yang WM (2005) Effects of selenium supplying methods on the growth and Se uptake of hydroponically grown Tomato plants. *J Bio-Environ Con* 14(4):284-288
- Lee, TB (1993) *Illustrated flora of Korea*. Hyangmunsa Seoul pp 990
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzymol* 148:350-382
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-479
- Nelson, PV (2003) *Greenhouse operation and management*. 6th ed. Prentice Hall
- Paek, KY, Jeon ES (1995) Stomatal density, size and morphological characteristics in Orchids. *J Kor Soc Hort Sci* 36(6): 851-862
- Robertson, GL (1985) Changes in the chlorophyll and pheophytin concentration of kiwifruit during processing and storage. *Food Chem* 17:25-31
- Yoo, YK, Kim HK, Choi KH (2001) Regulation of growth and flowering by low temperature treatment in *Bletilla striata*. *J Kor Soc Hort Sci* 42(2):227-232
- Yoo, YK, Oh CG, Park CH (2000) Geographical distribution and vegetation of *Bletilla striata* Habitats. *J Kor Soc Hort Sci* 41(2):212-216
- Yun, JS, Hong EY, Kim IH, Shin SK, Yun T, Lee CH, Kim TS, Paek KY (2004) Breeding of a new tetraploid *Bletilla striata* Reichb. fil., 'Chungbuk Jaran'. *Kor J Hort Sci Technol* 22(4):495-498
- Winsor, G, Adams P (1987) *Diagnosis of mineral disorder in plants*. Glasshouse crops. Her Majesty's Stationery Office, London Vol. 3.