

Research Article

# 혐기소화액을 배지로 이용한 클로렐라 배양액 처리가 페레니얼라이그라스 종자 발아에 미치는 영향

변지은, 이진웅, 최민수, 류종원\*  
상지대학교

## Effect of Chlorella Culture Solution Using Anaerobic digestate on Seed Germination in Perennial Ryegrass

Ji-Eun Byeon, Jin Woong Lee, Min Soo Choi, Jong-Won Ryoo\*  
Sangji University, Wonju, 220-702, Korea

### ABSTRACT

This experiments were conducted to evaluate the influence of Chlorella culture solution using anaerobic digestate as medium on seed germination of perennial ryegrass seeds. Four treatments were compared: control with distilled water, anaerobic digestate, Chlorella culture solution and Chlorella culture filtrate. The germination percentage of perennial ryegrass seeds was highest in the Chlorella culture solution treatment. Days required for 50, 70% seed germination were faster at 1.7 day in Chlorella culture solution compared to control. Root length of perennial ryegrass seeds was longer by 1~2cm in the Chlorella culture solution compared with control. The relative root length was by 40% longer in the Chlorella culture solution treatment compared to control. The germination index (GI) of perennial ryegrass seeds was higher by 180~202% in the Chlorella culture solution treatment compared to control. The decay rate was low as 50.0% in Chlorella culture solution, but decay rate of perennial ryegrass seeds showed 86.7~83.3% in control plot and in anaerobic digestate, respectively. Chlorella culture solution have shown stimulatory effects in germination and development of root. Overall, Chlorella culture solution could be useful to apply for promotion of germination and root elongation of seeds.

(Key words : Chlorella Culture Solution, Anaerobic digestate, Biofertilizer, Perennial Ryegrass, Germination)

### I. 서 언

초지 조성에서 종자활력을 향상시키면서 다양한 환경에 대한 저항성을 증대하고 유묘의 품질향상 등의 효과를 목적으로 한 파종 기술의 개발이 요구되고 있다. 종자 발아 소요일수 단축은 모든 작물에 절실히 요구되며, 비교적 고가의 종자의 균일하고 튼튼한 묘를 생산하기 위한 발아초기 병원균에 대한 예방이 필요하다. 농업생산 측면에서 볼 때 높은 발아율을 유지할 수 있는 고품질의 종자가 절실하게 요구되며, 이러한 종자를 확보하기 위한 연구가 진행되고 있다(Welbaum and Bradford, 1991). 종자의 높은 발아율과 입모율은 작물의 수량을 증가시키는 주요한 요인이다(Mckeen and Stumpf, 1982).

목초재배에서 신속하고 균일한 묘 출현은 작물재배에 있어서 가장 중요한 요소이다. 그 중에서도 목초의 경우 종자의 발아율이 높고 균일하며 발아세가 왕성하여 초기생장이 왕성

한 종자가 요구되고 있다. 미생물을 종자에 처리하여 식물병을 방제하거나 유묘의 생장을 촉진하는 연구는 보고되고 있으나 (Kong et al., 2010), 종자발아에 미치는 효과를 조사한 연구는 많지 않다(Sa, 2012). 콩나물 재배에 클로렐라를 처리할 경우 부패 없이 재배가 가능하였고 제품의 품질이 뛰어나고 기능성 성분(비타민, isoflavone)의 함량이 높았다고 보고되었다(Kim et al., 2003). 또한 클로렐라에 의한 작물의 저장성 병해 억제 효과에 대해서도 연구되었는데 딸기에 클로렐라를 처리하였더니 무처리구에 비해 저장성 병해가 약 74% 감소하는 것으로 나타났으며 엽채류의 경우도 클로렐라의 처리구에서 저장성 병해가 현저하게 감소하는 것으로 나타났다(Kim et al., 2014). 이는 클로렐라 처리가 친환경 농산물의 생육촉진과 기능성물질의 증대뿐만 아니라 식물병 발생 억제에도 효과적이라 할 수 있다. 클로렐라 배양액은 종자 발아촉진과 작물 생육 촉진 및 수량증대를 목적으로 하여 토양 및 엽면시비용으로 이용되

\* Corresponding author : Jong Won Ryoo, College of Life Science and Natural Resource Sangji University, Wonju, 220-702, Korea.  
Tel: +82-33-730-0516, E-mail: jwryoo@sangji.ac.kr

고 있다(Hong et al., 2007; Khan., et al., 2009).

종자의 발아력 향상을 위한 처리방법은 종자에 물리적, 생리적 손상을 주지 않는 종자 처리기술 개발이 필요하다. 대부분의 종자는 농약에 의한 약품처리(Kim et al., 2001)나 소독에 의존하고 있다. 그러나 종자의 발아단계에서 화학농약을 사용하지 않는 무병화 종자 처리기술은 친환경농업의 필수조건이지만, 현재까지는 연구가 미흡한 실정이다.

클로렐라는 식량 및 사료 작물과 경쟁하지 않는 바이오매스로 평가되면서 세계적인 상용화가 진행되고 있으며, 국내에서는 클로렐라 시용에 따른 다양한 작물의 생육 증진 효과가 입증되고 있는 상품성 있는 미생물 비료로 자리매김하고 있다(Lee, 2017).

미세조류의 일종인 클로렐라 배양의 가장 큰 장점은 작물 생산에 적합하지 않은 염분이 높거나 강한 알칼리 등의 극한 환경에서도 성장 가능하다는 점이다. 또한 클로렐라는 수중에서 태양광이나 이산화탄소 등을 이용하여 비교적 적은 비용으로 대량의 바이오매스를 얻을 수 있고 생산된 바이오매스는 다양한 종류의 유용물질을 함유한다.

클로렐라 배양액 및 추출물의 농업적 활용사례는 적으나 클로렐라 실내배양조건을 빛과 암 상태로 조절하면 식물생장 조절제인 옥신과 사이토키닌이 증가하는 결과가 보고된 바 있다(Stirk et al., 2014). 클로렐라 (*C. vulgaris*)와 길항미생물인 *Stenotrophomonas maltophilia*와 혼합하고 캡슐화하여 토양개량제로 레드클로버의 근권에 처리하였을 때 식물근권 미생물과 상호작용하여 뿌리와 지상부 신장을 증진한다고 하였다(Raposo and De. Morais, 2011).

클로렐라 추출물이 유기농 허용자재로 등록되어 클로렐라의 농업에서의 이용은 점차 확대되어 가고 있다. 본 연구는 혐기소화액을 배지로 클로렐라(*Chlorella fusca*)를 배양한 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자의 발아에 미치는 영향을 연구함으로써 클로렐라의 농업적 활용도를 높이고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시 재료

종자 발아 시험은 시험 결과의 신뢰성을 확보하기 위하여

3차례 실험을 수행하였다. 1차 실험은 2016년 5월 21일부터 2016년 6월 4일까지, 2차 실험은 2016년 7월 12일부터 7월 25일까지 수행하였으며, 3차 실험은 2016년 10월 24일부터 2016년 11월 6일까지 수행하였다. 공시작물은 페레니얼 라이그라스의 (*Lolium perenne L.*) 품종 Linn을 국립축산과학원에서 분양 받아 냉장고에서 보관된 종자를 사용하였다.

클로렐라 배양 배지로 사용한 공시 액비는 경기도 이천시에 소재하는 도드람환경연구소에서 운영하는 혐기소화발효액을 클로렐라 배양 영양배지로 사용하였다. 가축분뇨 혐기소화발효액의 화학적 성분은 Table 1과 같다. 성분함량은 총 질소 108 mg/L, 인산 49 mg/L, 칼륨 2,459 mg/L 이었다. pH는 8.08, EC는 10.2 dS/m 이었다. 혐기소화발효액은 칼륨함량은 높으나 질소, 인산, 마그네슘 함량은 낮았다.

### 2. 클로렐라 배양

본 연구에 사용된 클로렐라 균주(*Chlorella fusca*)는 농촌진흥청으로부터 분양 받아 계대배양으로 보관된 균주를 사용하였다. 클로렐라 배양을 위한 표준영양원으로 BG11(Andersen, 2005)을 사용하였다. 순수 분리한 클로렐라 균주의 종균을 배양하기 위해 100 ml T-플라스크에 70 ml의 액상 BGMM배지(50 mg/L Ampicillin, 100 mg/L Chloramphenicol)에 접종하였다. 또한 4일간 배양 후 순수 분리한 클로렐라 종균의 배양은 100ml T-플라스크에 70ml의 액상 BG11배지(50mg/L Ampicillin, 100mg/L Chloramphenicol)에 접종하여 4일간 배양 후 클로렐라 배양용으로 제작한 10L 용량의 광과투성 polyvinyl bag 배양기에 4L의 액상 BG11배지를 넣고 클로렐라 균주의 종균을 접종하여 7일간 배양 후 실험에 사용하였다. 이 때 배양기는 기포발생기를 이용하여 15 L/분의 공기를 공급해 주었다.

### 3. 처리 내용

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 발아에 미치는 효과를 검토하기 위한 종자 발아시험의 처리는 Table 2와 같다. 처리구는 혐기소화발효액, 클로렐라 배양액, 클로렐라 배양여액 처리구와 클로렐라 배양액을 처리하지 않은 무처리구(물)를 두었다. 혐기소화발효액 처리구는 클로렐라액비 배양시 배지로 사용한 혐기소화발효액 4% 희석액을 처리하였

Table 1. Chemical properties of anaerobic digestate used.

| pH   | EC<br>(dS/m) | T-N<br>(mg/L) | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P<br>(mg/L) | K <sup>+</sup><br>(mg/L) | Ca <sup>2+</sup><br>(mg/L) | Mg <sup>2+</sup><br>(mg/L) |
|------|--------------|---------------|--|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 8.08 | 10.2         | 108           | 49   | 2,459                    | 133                        | 40                         |

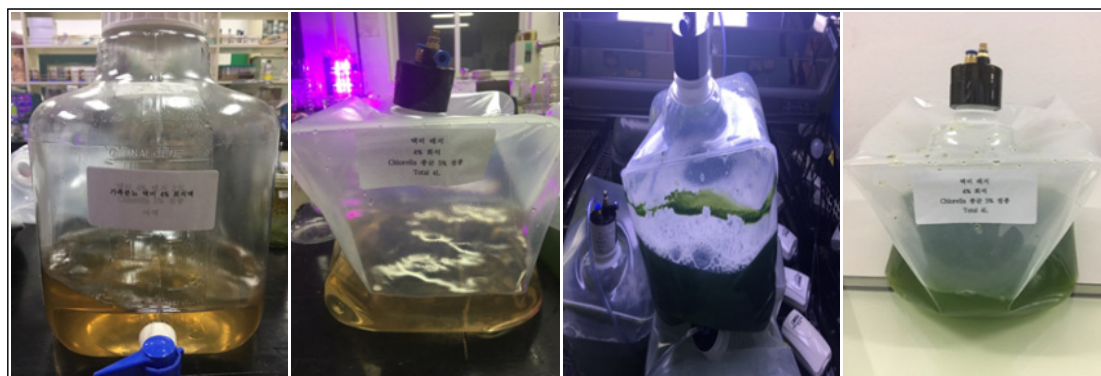


Figure 1. Culture of *Chlorella fusca*.

다. 클로렐라 배양액은 4% 혐기소화발효액을 배지를 이용하여 배양한 클로렐라 배양액을 처리구로 두었다. 클로렐라 배양 여액은 클로렐라 생균을 제거한 후 처리효과를 구명하기 위하여 처리구를 두었다. 클로렐라 배양여액 제조 방법은 원심분리기 (RPM 3600)를 이용하여 침전된 균체를 제외한 상등액만을 사용하였다. 종자 발아시험시 클로렐라 배양액 처리량은 90mm 페트리디쉬 당 5ml를 주입하였고 대조구는 증류수를 같은 양 주입하였다.

#### 4. 클로렐라 배양액 종자 발아 시험

종자 발아시험 방법은 종자발아법에 의거하였다. 종자는 페트리디쉬(9.0 × 1.5cm)에 흡습지 (Whatman No.2)를 깔고 50립을 치상하고 4반복으로 수행하였다. 대조구에는 수도물 5ml를 투입하고 처리구에는 해당 처리물질을 5ml씩 투입하고, 대조군과 처리군 공히 4반복으로 처리하였다. 생육상의 온도는 25±1℃, 습도 85±1% 조건이었으며 배양기에 인공적인 빛은 조사하지 않았다. 치상 후 72시간 후에 페트리디쉬 내의 수분을 점검하여 필요시 모든 페트리디쉬에 증류수 3ml를 보충하고 다시 파라필름을 감아 수분 증발을 막았다.

#### 5. 종자 발아 분석 방법

본 연구에서 클로렐라 배양액을 대상으로 식물발아 및 생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 치상 후 최대 14일까지

발아 특성을 조사하였다. 조사항목은 발아율, 발아 소요일수, 뿌리길이를 조사하였고, 클로렐라 배양액 종자독성을 알아보기 위해 발아지수(GI)값을 구하였다. 발아조사는 종자를 치상 후 1일 간격으로 조사하였다.

발아속도(germination speed)는 발아율이 50, 70%에 도달하는데 소요된 일수(T50, T70 days)를 계산하였다.

뿌리길이는 종자발아 종료 후에 조사하였다. 상대발아율(GR), 상대뿌리 신장율(RE)은 아래 공식을 이용하여 계산하였다.

- 1) 상대발아율(GR, relative germination ratio) = (처리구의 발아율/ control 발아율) × 100
- 2) 상대뿌리신장율(RE, relative root elongation) = (처리구의 뿌리길이/ control 뿌리길이) × 100
- 3) 발아지수(GI, Germination index) = 상대발아율(GR) × 상대뿌리길이(RE) / 100

#### 6. 통계 분석

통계분석은 MS-EXCEL 2010과 SAS(version 8.0)를 활용하여 분산분석을 하였고, 처리후 평균구간의 비교는 Duncan의 다중검정을 실시하였다.

Table 2. Treatments of seed germination for *Chlorella* culture solution

| Treatments                 | Contents  |
|----------------------------|---|
| Control                    | Water   |
| Anaerobic digestate        | Anaerobic digestate 4%                                  |
| Chlorella culture solution | Chlorella culture solution using 4% anaerobic digestate |
| Chlorella culture filtrate | Chlorella culture filtrate using 4% anaerobic digestate |

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 발아율

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자 발아에 미치는 영향을 분석한 1차 실험 결과는 Table 3과 같다. 페레니얼 라이그라스 종자의 최종발아율은 클로렐라 배양액 처리구가 85.7%로 무처리구의 59% 보다 26.7% 높았다. 발아 일수는 1차 시험에서 10~11일 소요되었다. 무처리 페레니얼 라이그라스 종자는 치상 후 2일 경부터 발아하기 시작하여 9일이 지나야 55.7%의 발아율을 보였지만, 클로렐라 배양액 처리 종자는 치상과 더불어 발아하기 시작하여 9일째 82%이상

의 발아율을 보여 발아촉진을 위한 클로렐라 배양액 처리 효과를 잘 반영해 주었다. Dobrzański et al. (2008)은 0.5% 조류 배양용액의 처리가 양파 및 파슬리 종자의 발아율을 증진하였다고 보고하였다. 클로렐라 배양액 종자의 발아촉진은 클로렐라 배양액 이용한 처리구는 뚜렷한 효과를 보였지만, 클로렐라 배양액의 최종발아율은 73.3%를 나타내어 클로렐라 배양액의 발아촉진 효과는 높지 않았다.

혐기소화발효액을 배지로 이용한 클로렐라 배양액이 페레니얼 라이그라스 종자 발아에 미치는 영향에 대한 2차 시험 결과는 Table 4와 같다. 종자 치상 후 9일에 클로렐라 배양액을 처리하지 않은 무처리구(물)는 71%의 발아율을 나타내었으나 클로렐라 배양액 처리구는 82.7%가 발아하여 무처리구와

Table 3. Effect of Chlorella culture solution on germination percentage(%) of perennial ryegrass seeds in the first experiment

| Days | Treatments          |                     |                            |                            |
|------|---------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|
|      | No Treatment(Water) | Anaerobic digestate | Chlorella culture solution | Chlorella culture filtrate |
| 1    | 0.0                 | 0.0                 | 0.0                        | 0.0                        |
| 2    | 17.7 <sup>c</sup>   | 24.3 <sup>b</sup>   | 34.3 <sup>a</sup>          | 29.0 <sup>ab</sup>         |
| 3    | 35.7 <sup>b</sup>   | 31.0 <sup>b</sup>   | 45.7 <sup>a</sup>          | 37.7 <sup>b</sup>          |
| 4    | 37.7 <sup>c</sup>   | 39.0 <sup>c</sup>   | 55.7 <sup>a</sup>          | 44.3 <sup>b</sup>          |
| 5    | 52.3 <sup>ab</sup>  | 44.3 <sup>b</sup>   | 57.7 <sup>a</sup>          | 49.0 <sup>b</sup>          |
| 6    | 52.3 <sup>b</sup>   | 54.3 <sup>b</sup>   | 61.0 <sup>a</sup>          | 51.0 <sup>b</sup>          |
| 7    | 54.3 <sup>b</sup>   | 59.0 <sup>a</sup>   | 63.3 <sup>a</sup>          | 57.7 <sup>a</sup>          |
| 8    | 54.3 <sup>b</sup>   | 64.3 <sup>b</sup>   | 74.3 <sup>a</sup>          | 59.0 <sup>b</sup>          |
| 9    | 55.7 <sup>c</sup>   | 65.7 <sup>b</sup>   | 82.3 <sup>a</sup>          | 64.3 <sup>b</sup>          |
| 10   | 55.7 <sup>c</sup>   | 71.0 <sup>b</sup>   | 85.7 <sup>a</sup>          | 70.0 <sup>b</sup>          |
| 11   | 59.0 <sup>c</sup>   | 71.0 <sup>b</sup>   | 85.7 <sup>a</sup>          | 73.3 <sup>b</sup>          |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

Table 4. Effect of Chlorella culture solution on germination percentage(%) of perennial ryegrass seed in the second experiment

| Days | Treatments          |                     |                            |                            |
|------|---------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|
|      | No Treatment(Water) | Anaerobic digestate | Chlorella culture solution | Chlorella culture filtrate |
| 1    | 0.0                 | 0.0                 | 0.0                        | 0.0                        |
| 2    | 24.3 <sup>c</sup>   | 30.0 <sup>b</sup>   | 40.0 <sup>a</sup>          | 30.0 <sup>b</sup>          |
| 3    | 32.3 <sup>b</sup>   | 46.7 <sup>a</sup>   | 40.0 <sup>a</sup>          | 45.7 <sup>a</sup>          |
| 4    | 39.0 <sup>b</sup>   | 59.0 <sup>a</sup>   | 54.3 <sup>a</sup>          | 52.3 <sup>a</sup>          |
| 5    | 54.3 <sup>a</sup>   | 61.0 <sup>a</sup>   | 60.0 <sup>a</sup>          | 54.3 <sup>a</sup>          |
| 6    | 57.7 <sup>b</sup>   | 67.7 <sup>a</sup>   | 66.7 <sup>a</sup>          | 59.0 <sup>ab</sup>         |
| 7    | 67.7 <sup>a</sup>   | 67.7 <sup>a</sup>   | 67.7 <sup>a</sup>          | 64.3 <sup>a</sup>          |
| 8    | 70.0 <sup>a</sup>   | 69.0 <sup>a</sup>   | 73.3 <sup>a</sup>          | 64.3 <sup>a</sup>          |
| 9    | 71.0 <sup>b</sup>   | 73.3 <sup>b</sup>   | 82.7 <sup>a</sup>          | 65.7 <sup>b</sup>          |
| 10   | 71.0 <sup>b</sup>   | 89.0 <sup>a</sup>   | 92.3 <sup>a</sup>          | 90.0 <sup>a</sup>          |
| 11   | 71.0 <sup>b</sup>   | 89.0 <sup>a</sup>   | 92.3 <sup>a</sup>          | 90.0 <sup>a</sup>          |
| 12   | 73.3 <sup>b</sup>   | 89.0 <sup>a</sup>   | 92.3 <sup>a</sup>          | 90.0 <sup>a</sup>          |
| 13   | 74.3 <sup>b</sup>   | 89.0 <sup>a</sup>   | 92.3 <sup>a</sup>          | 90.0 <sup>a</sup>          |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

비교하였을 때 11.7% 더 많이 발아하였다. 클로렐라 배양액 처리가 무처리구에 비교하여 발아율이 현저히 향상되었다.

3차 시험에서는 치상 후 9일에 클로렐라 배양액을 처리하지 않은 무처리(물)의 발아율은 70.7%, 혐기소화발효액 처리구는 79% 이었으나 클로렐라 배양액 처리구는 94.3%, 클로렐라 배양여액 처리구는 92.7% 발아하였다. 최종발아율은 클로렐라 배양액 처리구가 97.7%로 무처리구의 77.3%와 비교하여 20.4% 높았다. 3차 반복 실험 결과 클로렐라 배양액과 배양여액 처리구가 무처리구와 비교하여 발아율이 증가하였다. Dobrzański(2008)는 0.5% 조류 배양용액의 처리가 양파 및 파슬리 종자의 발아율을 증진시켰다고 보고하였다.

## 2. 상대 발아율

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자의 상대 발아율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 1, 2, 3차 시험 결과 클로렐라 배양액 처리구는 무처리구보다 상대 발아율 (relative germination rate, %)이 각각 148, 125, 127% 높았다. 클로렐라 배양여액 처리구의 상대발아율도 무처리와 비교하여 25% 높았다. 클로렐라 배양액과 배양여액 처리구는 무처리(물) 및 혐기소화발효액과 비교하여 상대발아율이

상승하는 결과를 나타내었다. 식물의 성장과 수량은 다양한 천연 첨가제의 사용에 의하여 개선 할 수 있다. 조류는 식물 성장조절제로 내생 옥신(auxin)과 사이토키닌(cytokinin)을 함유(Stirk et al., 2014)하고 있어서 식물의 발아를 촉진(Hong et al., 2007) 및 초기 생육 촉진 효과가 있는 것으로 보고하였다 (Seo et al., 2016).

## 3. 발아 속도

발아속도(Germination Speed, %)는 발아율이 50, 70%에 도달하는데 소요되는 일수(T50, T70, days)를 조사하였다. 페레니얼 라이그라스 종자의 발아율이 50% 도달할 때까지 소요되는 일수(T50)는 클로렐라 배양액 처리구에서 1, 2, 3차 시험에서 각각 3.5, 3.3, 5.9일로 무처리(물)의 4.9, 4.7, 7.5일보다 평균 1.7일 빨랐다. 페레니얼 라이그라스 종자의 50% 발아 소요일수(T50)은 무처리 종자가 5.7일인데 비해 클로렐라 배양액 처리 종자가 4.2일로 1.3일 이상 단축되는 경향을 보였다.

70% 발아 소요일수(T70)는 클로렐라 배양액 처리구에서 7.6일로 혐기소화발효액 9.9일, 클로렐라 배양여액 처리구의 10일과 비교하여 2.5일 빨랐다. 2차 시험에서 T70은 클로렐

Table 5. Effect of Chlorella culture solution on germination percentage(%) of perennial ryegrass seeds in the third experiment

| Days | Treatments          |                     |                            |                            |
|------|---------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|
|      | No Treatment(Water) | Anaerobic digestate | Chlorella culture solution | Chlorella culture filtrate |
| 1    | 0.0                 | 0.0                 | 0.0                        | 0.0                        |
| 2    | 14.0 <sup>a</sup>   | 12.7 <sup>a</sup>   | 12.7 <sup>a</sup>          | 11.0 <sup>a</sup>          |
| 3    | 30.0 <sup>a</sup>   | 32.3 <sup>a</sup>   | 30.0                       | 37.7 <sup>a</sup>          |
| 4    | 30.7                | 33.3 <sup>a</sup>   | 30.7 <sup>a</sup>          | 44.3 <sup>a</sup>          |
| 5    | 30.7 <sup>b</sup>   | 33.3 <sup>b</sup>   | 41.7 <sup>a</sup>          | 50.7 <sup>a</sup>          |
| 6    | 41.0 <sup>c</sup>   | 46.0 <sup>b</sup>   | 55.7 <sup>b</sup>          | 62.3 <sup>a</sup>          |
| 7    | 44.3 <sup>b</sup>   | 50.0 <sup>b</sup>   | 66.7 <sup>a</sup>          | 72.7 <sup>a</sup>          |
| 8    | 55.0 <sup>b</sup>   | 62.7 <sup>b</sup>   | 86.7 <sup>a</sup>          | 84.0 <sup>a</sup>          |
| 9    | 70.7 <sup>b</sup>   | 79.0 <sup>b</sup>   | 94.3 <sup>a</sup>          | 92.7 <sup>a</sup>          |
| 10   | 77.3 <sup>b</sup>   | 84.3 <sup>b</sup>   | 97.7 <sup>a</sup>          | 94.3 <sup>a</sup>          |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

Table 6. Effects of Chlorella culture solution on relative germination ratio(%) of perennial ryegrass seeds

| Treatments                 | Relative germination rate(%) |                  |                  |                     |
|----------------------------|------------------------------|------------------|------------------|---------------------|
|                            | 1 exp.                       | 2 exp.           | 3 exp.           | Mean                |
| No Treatment(Water)        | 100 <sup>b*</sup>            | 100 <sup>b</sup> | 100 <sup>b</sup> | 100.0 <sup>b</sup>  |
| Anaerobic digestate        | 124 <sup>ab</sup>            | 120 <sup>a</sup> | 110 <sup>b</sup> | 118.0 <sup>b</sup>  |
| Chlorella culture solution | 148 <sup>a</sup>             | 125 <sup>a</sup> | 127 <sup>a</sup> | 133.3 <sup>a</sup>  |
| Chlorella culture filtrate | 130 <sup>ab</sup>            | 122 <sup>a</sup> | 123 <sup>a</sup> | 125.0 <sup>ab</sup> |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

라 배양액 처리구가 7.4일로 가장 빨랐고, 혐기소화발효액 처리구는 8.2일, 클로렐라 배양여액 처리구는 9.2일이 소요되었다. 3차 시험에서 T70%은 클로렐라 배양액 처리구가 7.4일로 다른 처리구와 비교하여 빠른 발아속도를 나타내었다.

본 연구에서 클로렐라 배양액 처리구의 발아소요일수가 무처리(물)와 비교하여 단축되었는데 (Stirk *et al.*, 2014)은 클로렐라의 성장과 내성호르몬에 대한 빛의 효과에서, 빛 조사의 유무에 따라 옥신, 지베렐린, 사이토키닌 등의 식물생장조절제(plant growth regulators) 영향이라고 보고하였다.

#### 4. 뿌리길이

페레니얼 라이그라스 종자에 클로렐라 배양액을 처리하여 뿌리길이에 어떠한 영향을 주는지 3차 실험을 통하여 조사한 결과는 Table 8과 같다. 뿌리길이의 평균값은 클로렐라 배양

액 처리구가 5.5cm로 무처리구의 4.1 cm보다 1.4cm 길었다. 클로렐라 배양여액 처리구의 뿌리길이는 무처리(물)와 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다. 클로렐라(*C. vulgaris*)와 길항미생물인 *Serratia proteomaculans*와 혼합하고 캡슐화하여 토양개량제로 레드클로버의 근권에 처리하였을 때 식물 근권 미생물과 상호작용하여 뿌리와 지상부 신장을 증진한다고 보고하였다(Raposo and De. Morais, 2011).

#### 5. 상대 뿌리신장을

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자의 상대 뿌리 신장율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 9와 같다. 1, 2, 3차 시험 결과 상대 뿌리신장율은 클로렐라 배양액 처리구가 무처리구보다 41% 증가하였다. 상대 뿌리 신장율은

Table 7. Effects of Chlorella culture solution on germination speed as days to seed germination of 50, 70% of perennial ryegrass seeds

| Treatments                 | days to seed germination of 50 and 70% |                   |                  |                   |                   |                  |                   |                  |
|----------------------------|--|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
|                            | 1 exp.                                 |                   | 2 exp.           |                   | 3 exp.            |                  | Mean              |                  |
|                            | 50%                                    | 70%               | 50%              | 70%               | 50%               | 70%              | 50%               | 70%              |
| No Treatment(Water)        | 4.9 <sup>b*</sup>                      | -                 | 4.7 <sup>b</sup> | 8.0 <sup>a</sup>  | 7.5 <sup>b</sup>  | 8.9 <sup>b</sup> | 5.7 <sup>b</sup>  | 8.5 <sup>b</sup> |
| Anaerobic digestate        | 5.5 <sup>b</sup>                       | 9.9 <sup>b</sup>  | 3.4 <sup>a</sup> | 8.2 <sup>ab</sup> | 7.0 <sup>b</sup>  | 8.6 <sup>b</sup> | 5.3 <sup>ab</sup> | 8.9 <sup>b</sup> |
| Chlorella culture solution | 3.5 <sup>a</sup>                       | 7.6 <sup>a</sup>  | 3.3 <sup>a</sup> | 7.4 <sup>a</sup>  | 5.9 <sup>ab</sup> | 7.4 <sup>a</sup> | 4.2 <sup>a</sup>  | 7.5 <sup>a</sup> |
| Chlorella culture filtrate | 5.1 <sup>b</sup>                       | 10.0 <sup>b</sup> | 3.2 <sup>a</sup> | 9.2 <sup>b</sup>  | 4.9 <sup>a</sup>  | 6.8 <sup>a</sup> | 4.4 <sup>a</sup>  | 8.7 <sup>b</sup> |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

Table 8. Effects of Chlorella culture solution root length of perennial ryegrass seeds

| Treatments                 | Root length(cm)   |                   |                  |                  |
|----------------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
|                            | 1 exp.            | 2 exp.            | 3 exp.           | Mean             |
| No Treatment(Water)        | 4.2 <sup>b*</sup> | 4.0 <sup>b</sup>  | 4.1 <sup>b</sup> | 4.1 <sup>b</sup> |
| Anaerobic digestate        | 4.1 <sup>b</sup>  | 3.4 <sup>b</sup>  | 4.0 <sup>b</sup> | 3.8 <sup>b</sup> |
| Chlorella culture solution | 5.6 <sup>a</sup>  | 5.0 <sup>a</sup>  | 5.8 <sup>a</sup> | 5.5 <sup>a</sup> |
| Chlorella culture filtrate | 4.6 <sup>b</sup>  | 4.2 <sup>ab</sup> | 4.5 <sup>b</sup> | 4.4 <sup>b</sup> |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

Table 9. Effects of Chlorella culture solution on relative root length ratio(%) of perennial ryegrass seeds

| Treatments                 | Relative root length ratio(%) |                   |                  |                    |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------|------------------|--------------------|
|                            | 1 exp.                        | 2 exp.            | 3 exp.           | Mean               |
| No Treatment(Water)        | 100 <sup>b*</sup>             | 100 <sup>b</sup>  | 100 <sup>b</sup> | 100.0 <sup>b</sup> |
| Anaerobic digestate        | 102 <sup>b</sup>              | 97 <sup>b</sup>   | 98 <sup>b</sup>  | 99.0 <sup>b</sup>  |
| Chlorella culture solution | 140 <sup>a</sup>              | 143 <sup>a</sup>  | 142 <sup>a</sup> | 141.7 <sup>a</sup> |
| Chlorella culture filtrate | 109 <sup>b</sup>              | 120 <sup>ab</sup> | 110 <sup>b</sup> | 113.0 <sup>b</sup> |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at  $P=0.05$  according to DMRT.

혐기소화발효액 처리구는 무처리(물)와 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다.

### 6. 발아지수

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자의 발아지수(GI)에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 10과 같다. 발아지수는 상대발아율(GR, relative gemination ratio)과 상대뿌리길이(RE, relative root length)를 곱한 값으로 나타내었다. 발아지수는 식물 종자를 대상으로 미숙퇴액비 중에 존재하는 여러 가지 독성물질에 의한 피해를 간접적으로 측정하는 것으로 종자 발아율과 뿌리생장률을 통해 독성여부를 평가하는 방법이다(Paik et al., 1998). 1, 2, 3차 시험 결과 발아지수 (GI, germination index)의 평균값은 클로렐라 배양액 처리구가 187.7로 무처리(물) 보다 월등히 높았다. 클로렐라 배양액 처리구의 발아지수는 142.7로 무처리구보다 높았다. 퇴비의 경우 발아지수가 70이상인 식물종자의 발아와 식물생장에 나쁜 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다(Morel et al.,

1985). 클로렐라 배양액의 유해성 평가는 독성 평가가 주를 이루는데 클로렐라 배양액은 발아지수 조사 결과 발아독성이 없어 종자 발아에 안정성이 높은 친환경농자재로 평가되었다.

### 7. 페레니얼 라이그라스 종자의 부패율

클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스의 부패율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 11과 같다. 페레니얼 라이그라스 부패율은 무처리구가 발아 7일에 10%로 나타났으나 클로렐라 배양액, 배양액 처리구에서는 부패된 종자가 나타나지 않았다. 처리 9일 후 클로렐라 배양액을 처리하지 않은 무처리(물)는 페레니얼 라이그라스 종자가 검게 부패되고 시들고 약 36.7% 부패율을 보였으나 클로렐라 배양액 처리구는 13.3%로 부패율이 낮았다. 치상후 11일째에 무처리구의 종자 부패율은 86.7%로 높았으나 클로렐라 배양액 처리구의 부패율은 50%로 현저히 낮았다. 또한 클로렐라 배양액 처리구의 부패율은 53.3%를 나타내어 무처리(물)와 비교하였을 때 부패율이 낮았다. 클로렐라 배양액과 미네랄 팩을 처리

Table 10. Effects of Chlorella culture solution on germination index(GI) of perennial ryegrass seeds

| Treatments                 | Germination index(%) |                   |                  |                    |
|----------------------------|----------------------|-------------------|------------------|--------------------|
|                            | 1 exp.               | 2 exp.            | 3 exp.           | Mean               |
| Control(Water)             | 100 <sup>b*</sup>    | 100 <sup>c</sup>  | 100 <sup>b</sup> | 100.0 <sup>b</sup> |
| Anaerobic digestate        | 126 <sup>b</sup>     | 118 <sup>b</sup>  | 107 <sup>c</sup> | 117.0 <sup>c</sup> |
| Chlorella culture solution | 202 <sup>a</sup>     | 180 <sup>a</sup>  | 181 <sup>a</sup> | 187.7 <sup>a</sup> |
| Chlorella culture filtrate | 143 <sup>ab</sup>    | 149 <sup>ab</sup> | 136 <sup>b</sup> | 142.7 <sup>b</sup> |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at P=0.05 according to DMRT.

Table 11. Effects of Chlorella culture solution on decay rate(%) of perennial ryegrass seeds

| Days | Treatments          |                     |                            |                            |
|------|---------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|
|      | No Treatment(Water) | Anaerobic digestate | Chlorella culture solution | Chlorella culture filtrate |
| 1    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 2    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 3    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 4    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 5    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 6    | 0                   | 0                   | 0                          | 0                          |
| 7    | 10.0 <sup>a</sup>   | 3.3 <sup>b</sup>    | 0 <sup>b</sup>             | 0 <sup>b</sup>             |
| 8    | 20.0 <sup>a</sup>   | 13.3 <sup>b</sup>   | 6.7 <sup>b</sup>           | 10.0 <sup>b</sup>          |
| 9    | 36.7 <sup>a</sup>   | 33.3 <sup>a</sup>   | 13.3 <sup>b</sup>          | 26.7 <sup>ab</sup>         |
| 10   | 50.0 <sup>a</sup>   | 46.7 <sup>a</sup>   | 33.3 <sup>b</sup>          | 43.3 <sup>a</sup>          |
| 11   | 86.7 <sup>a</sup>   | 83.3 <sup>a</sup>   | 50.0 <sup>b</sup>          | 53.3 <sup>b</sup>          |
| 12   | 100.0 <sup>a</sup>  | 100.0 <sup>a</sup>  | 100.0 <sup>a</sup>         | 100.0 <sup>a</sup>         |

\*Means followed by the same letter in a column are not significantly different at P=0.05 according to DMRT.

한 콩나물은 부패가 방지 된다고 보고하였다. 특히 0.5~1.0% 농도로 클로렐라 처리는 콩나물 미생물의 증식 속도가 20~35% 감소하는 것으로 보고하였다(Kim et al., 2003).

본 연구에서는 클로렐라 배양액 처리가 페레니얼 라이그라스 종자 발아시 부패율 방지에 효과가 있는 것으로 나타났다. Kim et al., (2014)의 연구에서 클로렐라(*C. vulgaris*)의 엽면처리구와 무처리구를 비교하였을 때, 엽면처리구의 ‘설향’과 ‘육보’ 딸기 품종의 부패율은 무처리(물)에 비해 각각 63.8%와 74.4% 감소하였다고 보고된 바가 있다. 조류에 의해 식물병이 억제되는 사례는 이미 보고되어 있다. 주로 해초로 불리는 바다 조류에서 항균활성을 지닌 물질이 발견되었으며 이들의 추출물에 의해 부패율이 억제된 것으로 보인다(Kulik, 1995).

#### IV. 요약

본 연구는 혐기소화발효액을 배지로 이용하여 클로렐라를 배양한 배양액이 페레니얼라이그라스 종자 발아에 미치는 영향을 구명하기 위하여 혐기소화발효액, 클로렐라 배양액, 클로렐라 배양여액, 혐기소화발효액, 무처리구(물)을 처리하여 종자 발아시험을 수행하였다. 페레니얼 라이그라스 종자의 최종 발아율은 무처리구의 70.2%와 비교하여 클로렐라 배양액 처리구가 91.9%로 21.2% 높았다. 또한 상대발아율도 클로렐라 배양액 처리구가 클로렐라 배양액을 처리하지 않은 무처리구(물) 보다 25% 높았다. 페레니얼 라이그라스 종자의 50% 발아에 소요되는 일수(T50)는 클로렐라 배양액 3.3~3.5일로 무처리구의 4.7~5.1일보다 빨랐다. 페레니얼 라이그라스 종자의 뿌리길이는 클로렐라 배양액 처리구가 무처리(물)보다 1~2cm이상 길었다. 상대적 뿌리신장율은 클로렐라 배양액 처리구의 무처리구보다 40% 높았다. 페레니얼 라이그라스 종자의 발아지수(GI)는 클로렐라 배양액 처리구가 182로 무처리구(물)의 100 보다 높았다. 종자의 부패율은 치상 후 11일째에 무처리구와 혐기소화발효액 처리구가 각각 83.3, 86.7%으로 높았으나 클로렐라 배양액 처리구는 50.0%로, 클로렐라 배양여액 처리구가 53.3%로 부패율이 낮았다. 클로렐라 배양액, 클로렐라 배양여액 처리가 종자의 부패방지 효과를 나타내었다.

#### V. 사 사

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 생명산업기술개발사업 “고상 가축분뇨 에너지화 통합기술 개발” (과제번호 : 314010-4) 사업의 지원을 받아 연구되었음.

#### VI. REFERENCES

- Andersen, R.A. 2005. Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, San Diego, C.A., USA. pp. 239-287.
- Dobrzanski, A., Anyszka, Z. and Elkner, K. 2008. Reakcja marchwi na ekstrakty pochodzenia naturalnego z alg z rodzaju Sargassum. Algamino plant i z Leonardyty. HumiPlant. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. 53:53-58.
- Hong, D.D., Hien, H.M. and Son, P.N. 2007. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. Journal of Applied Phycology. 19:817-826.
- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges D., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J. and Prithiviraj B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation. 28:386-399.
- Kim, S.E., Kang, C.K. and Lee, J.M. 2001. Effect of SMP treatment and storage after priming on germination and seedling growth in watermelon. Journal of The Korean Society For Horticultural Science. 42:43-47.
- Kim, S.S., Park, M.K. Oh, N.S., Kim, D.C., Han, M.S. and In, M.J. 2003. Studies on quality characteristics and shelf-life of Chlorella soybean curd (Tofu). Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 46:12-15.
- Kim, M.J., Shim, C.K., Kim, Y.K., Park, J.H., Hong, S.J., Ji, H.J. and Yoon, J.C. 2014. Effect of Chlorella vulgaris CHK0008 Fertilization on Enhancement of Storage and Freshness in Organic Strawberry and Leaf Vegetables. Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 32:872-878.
- Kong, H.G., Chun, O.J., Choi, K.H., Lee, K.Y., Woo, J., Baek, H.J., Kim, Murugaiyan, S., Moon, B.J. and Lee, S.W. 2010. Formulation of Bacillus amyloliquefaciens A-2 and its efficacy to control tomato leaf mold caused by Fulvia fulva. Research in Plant Disease. 16:27-34.
- Kulik, M.M. 1995. The potential for using Cyanobacteria (bluegreen algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. European Journal of Plant Pathology. 101:585-599.
- Lee, S.B. 2017. Case studies on practical Application of Chlorella



- farming technique. Doctor's degree thesis of Kongju National University, Chungnam, Korea.
- McKeon, T.A. and Stumpf, P.K. 1982. Purification and characterization of the stearoyl-acyl carrier protein desaturase and the acyl-acyl carrier protein thioesterase from maturing seeds of safflower. *Journal of Biological Chemistry*. 257:12141-12147.
- Morel, J.L., Colin, F., Germon, J.C., Godin, P. and Juste, C. 1985. Methods for the evaluation of the maturity of municipal refuse compost. In *Composting of Agriculture and Other Waste*, ed. J.K. Gasser. Elsevier Applied Science. New York, USA, pp. 56-72.
- Paik, C.H., Lee, M.G. and Kim, C.H. 1988. Studies on the correlation between germination Index and CO<sub>2</sub> emission for evaluation of the maturity of compost products. *Journal of Animal Environmental Science*. 4:183-191.
- Raposo, M.F.D.J. and Morais, R.M.S.C.D. 2011. *Chlorella vulgaris* as soil amendment: influence of encapsulation and enrichment with rhizobacteria. *International Journal of Agriculture and Biology*. 13:719-724.
- Sa, D.M. 2012. Biofertilizer development using indigenous microorganisms for healthy seedling production. Report of Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food and Agriculture. 20-52.
- Seo, U.K., Lee, J.W. and Ryoo, J.W. 2017. Effects of *Chlorella* culture solution using as medium of anaerobic digestate on early growth of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.). *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*. 36:393-401.
- Stirk, W.A., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Maróti, G., Ljung, K., Turečová, V., Strnad, M., Ördög, V. and J. van Staden. 2014. Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (*Trebouxiophyceae*). *Plant Physiol. Biochemistry*. 79:66-76.
- Welbaum, G.E. and Bradford, K.J. 1991. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VI. Influence of priming on germination responses to temperature and water potential during seed development. *Journal of Experimental Botany*. 42:393-399.

(Received : October 15, 2017 | Revised : February 25, 2018 | Accepted : February 27, 2018)