

## 녹조류 청각의 생식방법을 이용한 인공종묘생산

황은경 · 백재민 · 박찬선<sup>1\*</sup>

국립수산과학원 해조류연구센터, <sup>1</sup>목포대학교 해양자원학과

### Artificial Seed Production Using the Reproduction Methods in *Codium fragile* (Chlorophyta)

Eun Kyoung HWANG, Jae Min BAEK and Chan Sun PARK<sup>1\*</sup>

Seaweed Research Center, NFRDI, Jeonnam 530-831, Korea

<sup>1</sup>Department of Marine Resources, Mokpo National University, Jeonnam 534-729, Korea

*Codium fragile* (Suringar) Hariot, an edible green alga is farmed in Korea by natural blooming zygotes attachment. Experiments were conducted to reveal the conditions for artificial seed production of *C. fragile* by sexual and asexual reproduction. Growth was compared between zygotes attachment (sexual reproduction) and isolated utricles with medullary filaments (asexual reproduction). Zygotes and isolated utricles with medullary filaments were cultured under different light conditions (10, 20, 40, 60 and 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) and temperatures (5, 10, 15, 20 and 25°C) under 16:8LD. Maximum growth of zygote was  $261.3\pm 21.0 \mu\text{m}$  under 15°C and  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  after 13 days culture. Maximum regeneration of isolated medullary filament was  $8.1\pm 1.7 \text{ mm}$  per one isolated utricle under 20°C and  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  after 15 days culture. After intermediate culture during two months in the field, morphogenesis occurred in both sexual and asexual reproduction, and growth of young thalli was not significantly different ( $p>0.05$ ) between the both reproduction methods. Even though seed production of *C. fragile* is possible in both sexual and asexual reproduction, the mass artificial seed production of asexual reproduction is much more effective than that of sexual reproduction that is too much affected by maturity.

Key words: *Codium fragile*, Cultivation, Utricles, Artificial seed production

#### 서 론

녹조류 청각은 우리나라와 중국, 일본은 물론 필리핀과 하와이, 아프리카 등지에서 식용으로 널리 이용되고 있으며 (Chapman, 1962; Kang, 1968; Velasquez, 1972; Oh et al., 1990), 오래전부터 민간요법의 구충제로 이용되거나(Kang, 1968; Hoppe, 1979), 비뇨기 질환 및 수종 치료(Tseng and Zhang, 1984)에 이용되어 왔다. 또한 청각의 추출물에는 항생작용이 있는 acrylic acid, 항응고 활성물질, 응집소 등이 함유되어 있을 뿐만 아니라 항암 및 항돌연변이 효과와 면역활성 등이 있는 것으로 밝혀져, 약학·생화학·의학분야에도 응용될 수 있는 유용 해조이다(Katayama, 1964; Glombitza, 1969; Shiomi, 1983; Ryu et al., 1986; Cho et al., 1990; Rogers et al., 1990; Rogers and Loveless, 1991).

그러나 이러한 청각의 유용성에도 불구하고 청각의 대량 생산을 위한 양식학적 연구는 매우 드물며, 일본에서는 Yotsui and Migita (1989)가 포낭에서 재생된 수사를 이용하여 양식이 가능함을 실험적으로 입증한 결과가 있었으나 추가적인 대량 양식 관련 연구는 이루어지지 않았다. 국내에서는 Oh et al. (1987)의 분류학적 연구와 Kim (1988) 및 Kim et al. (1989)의 생태학적 연구가 보고되었고, 실내배양을 통하여 완전한 청각의 형태형성을 이루어낸 예는 극히 드물었으며, Park and Sohn

(1992)에 의하여 형태형성 조건이 구명되었으나 야외 실험에서 대량생산에는 이르지 못하였다.

청각은 몸의 체제상 영양생장이 용이하여 실내배양에서도 분화전능(totipotency)이 발현되는 것으로 알려져 왔으며, 청각의 분화전능성을 유발하는 요인에 대하여 Arasaki et al. (1955)와 Ramus (1972)는 물의 왕복운동에 의한 물리적 자극이 필요하다고 하였다.

일반적으로 해조류는 유성 또는 무성생식을 통한 종묘생산이 가능하나 포자의 방출이 까다롭고 접합자의 형성을 통한 유성생식의 종묘생산이 어려워 무성적인 영양생식을 통한 종묘생산이 기대되고 있다. 예컨대 청각의 재생수사를 이용한 양식(Park and Sohn, 1992), 우뚝가사리 재생에 관한 배양연구(Kim, 1984) 그리고 톳의 부착기 재생을 통한 양식(Hwang et al., 1999) 등이 그러한 예이다. 이와 같은 경우 유성생식을 통한 생활사의 한부분이 양식에 적용되는 방안과 실내실험을 통한 인위적 처리방법 등이 요구되므로, 해조류를 양식하지 않는 서구는 물론 일본에서도 종묘생산의 방안으로 또는 양식에 직접 연관된 연구는 거의 없었다.

따라서 이 연구에서는 청각의 유성 및 무성생식방법을 통하여 기대되는 인공종묘생산의 가능성 및 형태형성을 유발하는 조건을 구명함으로써 청각의 완전양식을 위한 효과적인 인공종묘생산의 조건을 제시하고자 하였다.

\*Corresponding author: cspark85@mokpo.ac.kr

**재료 및 방법**

**결 과**

**접합자의 배양**

청각의 성숙 모조는 2004년 7월 전남 완도군 완도읍 원동리에서 채집하였으며, 실험실로 옮겨 멸균해수에서 수회 세척한 후 15℃의 냉암소에서 1일간 적응시킨 후 배우자 방출을 유도하였다. 암수배우자는 방출 즉시 접합하여 기물에 착생하므로 파스퇴르 피펫을 이용하여, 직경 5 cm의 멸균 petri dish로 접합자를 분리 배양하였다. 온도구간별 배양조건은 16:8LD의 광주기 및 20 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 10, 15, 20, 25℃의 4개 온도구간별로 배양실험을 실시하였으며, 조도구간별 배양조건은 15℃ 및 16:8LD의 광주기 조건에서 10, 20, 40, 60, 100 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 5개 조도조건별로 배양실험을 실시하였다. 접합자의 성장 측정은 길이의 측정이 가능한 초기배양 기간동안 접합자의 직경과 발아관 또는 수사의 길이를 측정하였으며, 모든 실험은 3개의 독립된 petri dish를 이용하여 3반복 실험하였다.

**수사의 분리 및 배양**

호모게나이저(DI 25 basic, GMBH & Co., Germany)를 이용한 청각의 수사 분리는 습중량 1 g의 청각 엽체를 10 mL의 멸균해수와 함께 각각의 회전속도별(8,000, 9,500, 13,500, 20,500, 24,000 min<sup>-1</sup>)로 30초 씩 분쇄후 포낭의 길이와 수사의 길이를 측정하고, 15℃ 온도조건과 40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 5일간 배양한 후 재생된 포낭의 수를 측정하였다.

분리수사의 배양 조건은 16:8LD의 광주기 및 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 10, 15, 20, 25℃의 4개 온도구간과 20℃ 및 16:8LD의 광주기 조건에서 20, 40, 60, 100 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 4개 조도구간으로 구분하여 실시하였다. 분리수사의 성장 측정은 배양 초기에는 수사의 길이를 측정하였으나, 배양 3일후부터는 불규칙하게 자라는 수사의 특성상 길이측정이 곤란하므로 재생된 포낭의 수를 측정하였다. 모든 실험은 3개의 독립된 petri dish를 이용하여 3반복 실험하였다.

**생식방법별 가이식 성장 비교**

유성생식을 통한 접합자의 채묘와 무성생식을 이용한 분리수사의 채묘는 각각 45×55 cm(크레모나 36합사)의 채묘틀을 사용하였다. 채묘틀은 실내 사육수조(110×250×80 cm)에서 유수식으로 1개월간 자연 광주기 조건하에서 배양한 후 2004년 8월 26일 전남 완도군 정도리 지선 어장의 수심 1 m에서 가이식을 실시하였다. 가이식 성장의 측정은 10 cm 종사의 습중량, 엽체수 및 엽체의 엽장과 분지수를 독립된 3반복 실험구의 측정에 의하여 구하였다.

**통계분석**

실내 배양시험에서 얻어진 접합자와 분리수사의 성장 차이에 대한 통계분석은 온도와 조도의 2가지 요인에 대한 요인분석을 분산분석법(two-way ANOVA)을 이용하여 실시하였으며(Zar, 1984), 통계프로그램은 SPSS Ver. 8.0과 SYSTAT Ver. 9.0을 이용하여 0.05 수준에서 이루어졌다.

**접합자의 배양**

청각 엽체(Fig. 1A)는 각각의 포낭에 암배우자낭 또는 수배우자낭을 가지며(Fig. 1B, C), 암배우자낭으로부터 배우자의 방출(Fig. 1D)은 방출공 선단으로부터 1열로 열을 지어 일어난다. 방출된 암수 배우자(Fig. 1E)는 방출 즉시 접합하여 접합자로 되며(Fig. 1E), 구형의 두터운 막을 형성하고 불규칙하게 발아관을 내어 수사로 성장하게 된다(Fig. 1F-I).

접합자의 온도조건별 생장은 Table 1과 같이 배양 3일후 20℃ 온도구간에서 36.3±0.8 μm의 최대 길이생장을 나타내었으나, 배양 4일 이후 20℃ 이상의 온도조건에서는 배우자가 더 이상 성장하지 않았을 뿐 아니라 색소를 잃고 고사하였다. 배양 7일 후에는 15℃ 온도조건에서 209.6±22.7 μm의 최대 길이생장을 나타내었다.

접합자의 조도조건별 생장은 Table 2와 같이 배양 3일후 10 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 저조도 구간에서 길이생장이 61.3±4.2 μm로 가장 우세하였으나, 배양 7일후부터는 20 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 길이생장이 가장 높게 나타났다. 조도 40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 이상의 조도조건에서 배양된 접합자는 배양 8일후부터 거의 대부분이 색소를 잃고 고사하였다.

**수사의 분리 및 배양**

청각의 몸은 원통형의 구조로 되어 있으며(Fig. 2A), 포낭과 수사가 서로 연결되어 있는 낭상체의 구조를 이루고 있다(Fig. 2B). 이들 포낭과 수사는 각기 원형질이 모두 연결되어 있으므로 하나의 포낭이 분리(Fig. 2C)되더라도 즉시 세포벽이 재생되어 세포내로부터 원형질이 더 이상 빠져나가지 못하도록 하면서 새로운 수사와 포낭을 재생하게 된다(Fig. 2D, E).

호모게나이저의 회전속도에 따른 청각 수사의 절단 길이는 Table 3과 같이 회전속도가 증가함에 따라 수사의 절단길이가 점차 짧아졌으며, 배양 5일후 재생된 포낭의 수는 분당 회전수 8,000 rpm의 실험구에서 2.1±0.7개로 가장 많았으며, 20,500 rpm 이상의 고회전 실험구에서는 포낭의 재생이 관찰되지 않았다.

청각 분리수사의 온도조건별 생장은 Table 4와 같이 온도조건별로 차이를 보여 배양 10일 후 청각 분리수사의 길이생장은 15℃의 온도조건에서 3.1±2.2 mm로 가장 높았으며, 포낭의 재생은 20℃ 온도조건에서 4.7±0.6개로 가장 많았다.

청각 분리수사의 조도조건별 길이생장은 Table 5와 같이 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 3.7±3.0 mm로 가장 높았으며, 포낭의 재생은 100 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 조도조건에서 6.5±1.4개로 가장 많았다.

**생식방법별 가이식 성장 비교**

청각의 생식방법에 따라 유성생식에 의한 접합자 및 무성생식에 의한 분리수사를 각각 채묘하여 가이식 시험을 실시한 결과 Fig. 3A-F와 같이 수사로의 성장 및 직립 엽체로 분화

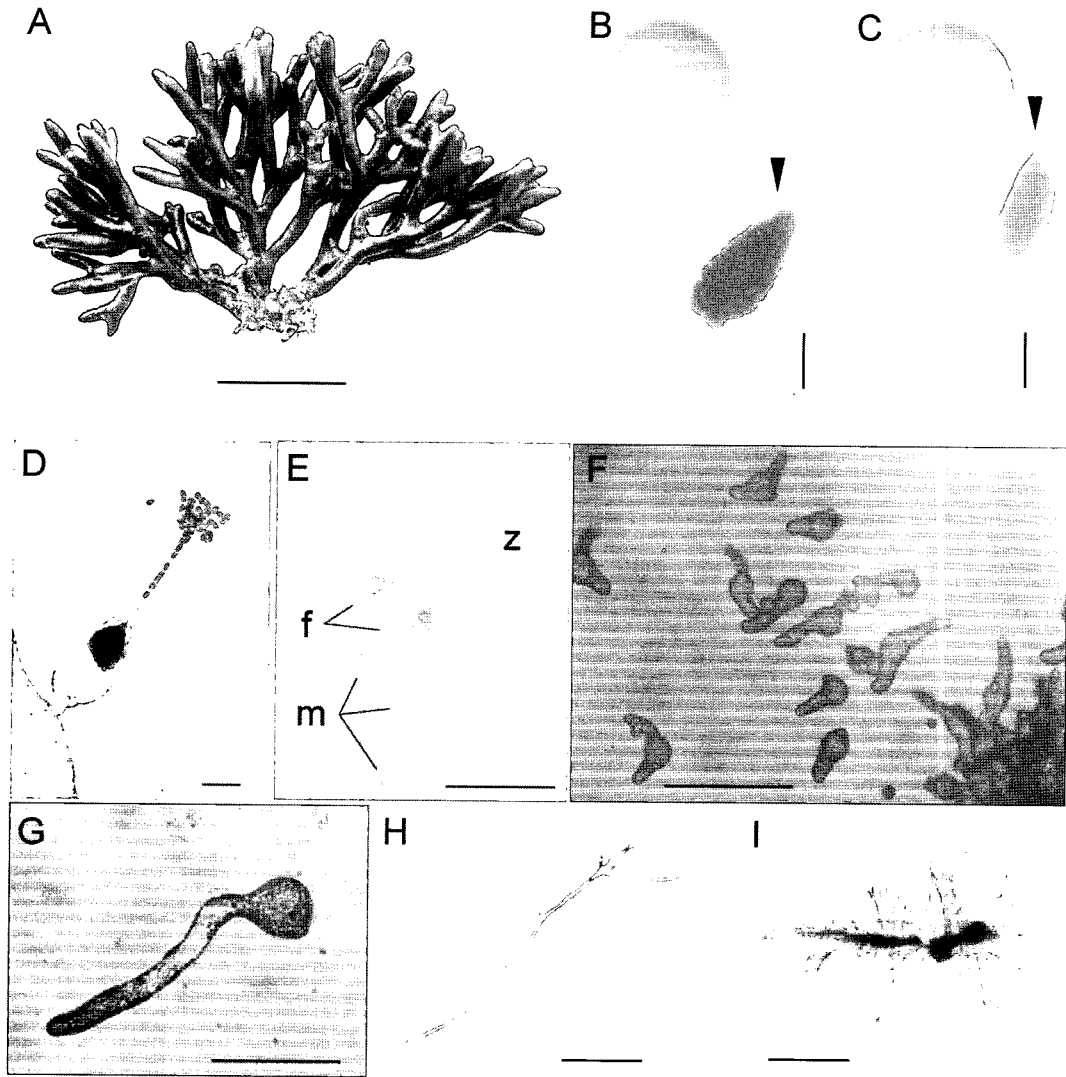


Fig. 1. Sexual reproduction of *Codium fragile*. A: Mature thalli. B: Utricle with female gametangium (arrow head). C: Utricle with male gametangium (arrow head). D: Gametes released from gametangium. E: Female gametes (f), male gametes (m) and zygote (z). F: Germlings after 2 days culture. G: Germling after 7 days culture. H: Elongated medullary filament after 12 days culture. I: Growth of erect thallus with medullary filaments after 30 days culture under 15°C, 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> and 16:8LD. Scale bars are 10 cm (A), 100 μm (B, C), 50 μm (D, E), 500 μm (F-H) and 1 cm (I).

Table 1. Growth of zygotes of *Codium fragile* under different temperature conditions, 20 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> and 16:8LD (Mean ±SD of triplicate groups, μm)

Culture day	Temperature (°C)			
	10	15	20	25
0	20	20	20	20
1	28.8±0.3	29.3±1.2	32.2±1.6	28.3±0.6
3	27.7±1.2	35.5±2.6	36.3±0.8	27.7±0.6
7	87.7±15.0	209.6±22.7	- <sup>1</sup>	-

<sup>1</sup>Bleached.

형태는 집합자와 분리수사에서 동일한 것으로 나타났다. 그러나 유성 및 무성생식방법에 따른 가이식 생장의 차이는 Table

6과 같이 분리수사를 이용한 무성생식의 경우 채묘 2개월후 종사 10 cm 당의 직립 엽체수가 13.3±3.2개였으나, 집합자를 이용한 유성생식의 경우 9.7±3.5개로 나타났으며, 종사 10 cm 당 습중량은 유성생식과 무성생식방법에 따라 각각 1.24±0.69 g 및 1.47±0.74 g으로 나타나, 청각의 인공종묘생산의 효율성은 유성생식방법에 의한 것 보다 무성생식방법에 의한 것이 보다 높은 것으로 나타났다.

### 고 찰

해조류는 육상의 고등식물과 같이 모체로부터 분리된 세포 또는 조직의 일부가 완전한 개체를 형성할 수 있는 분화전능성(totipotency)을 가지고 있다. 청각의 경우 몸의 구조가 낭상

Table 2. Growth of zygotes of *Codium fragile* under different irradiance conditions, 15°C and 16:8LD (Mean ± SD of triplicate groups, μm)

Culture day	Irradiance (μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )				
	10	20	40	60	100
0	20	20	20	20	20
1	29.8±1.5	32.7±2.8	31.3±1.6	32.7±1.9	30.8±3.5
3	61.3±4.2	33.5±2.3	31.3±0.6	30.5±0.5	30.0±2.0
7	89.0±6.2	151.8±22.8	70.0±0.5	77.5±9.6	40.0±27.1
13	162.7±18.1	261.3±21.0	- <sup>1</sup>	-	-

<sup>1</sup>Bleached.

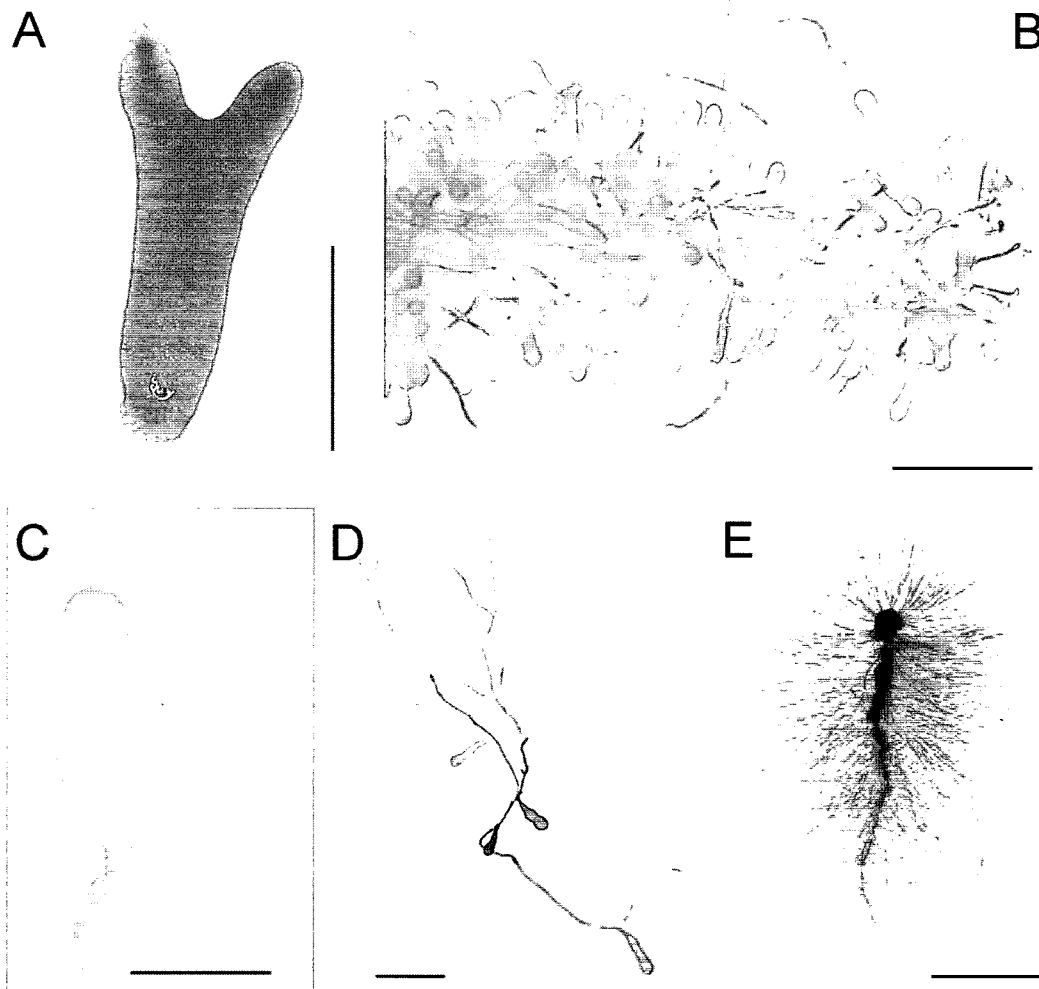


Fig. 2. Asexual reproduction of *Codium fragile*. A: A fragment of vegetative thallus. B: Internal structure of *C. fragile* having utricles and medullary filaments. C: Isolated utricule and medullary filament. D: Regenerated utricles and medullary filaments after 10 days culture. E: Growth of erect thallus with medullary filaments after 30 days culture under 15°C, 60 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> and 16:8LD. Scale bars are 1 cm (A), 1 mm (B), 200 μm (C), 500 μm (D) and 1 cm (E).

체로서 포낭과 수사의 형태를 가지고 있으며 원형질이 모두 연결된 구조를 하고 있어서, 어느 부분이 절단 되더라도 즉시 절단부위의 막이 재생되어 원형질 손실을 막고 다시 수사로 성장하는 특성을 가지고 있다.

청각의 형태형성에 관하여 Arasaki et al. (1955)와 Borden

and Stein (1969)은 청각의 접합자를 정지배양한 결과 장기간 배양하여도 새로운 포낭이나 직립체를 형성하지 못하고, 사상의 수사로만 성장한다고 하였다. 그러나 Park and Sohn (1992)의 연구결과는 광, 온도, 물리적인 자극(aeration) 등과 같은 일정 환경조건하에서 모체로부터 분리된 포낭의 수사부분이

Table 3. Regeneration of isolated medullary filament of *Codium fragile* according to different speed of Homogenizer (Mean  $\pm$  SD of triplicate groups)

Content	Rotary speed ( $\text{min}^{-1}$ )				
	8,000	9,500	13,500	20,500	24,000
Length of utricle ( $\mu\text{m}$ )	792.0 $\pm$ 55.4	631.7 $\pm$ 70.3	663.3 $\pm$ 94.6	652.0 $\pm$ 138.8	643.3 $\pm$ 213.6
Length of isolated medullary filament ( $\mu\text{m}$ )	874.0 $\pm$ 204.4	840.0 $\pm$ 456.1	551.7 $\pm$ 297.1	530.0 $\pm$ 292.4	466.7 $\pm$ 305.5
Number of regenerated utricle (ea)	2.1 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.4	- <sup>1</sup>	-

<sup>1</sup>Regeneration was not occurred

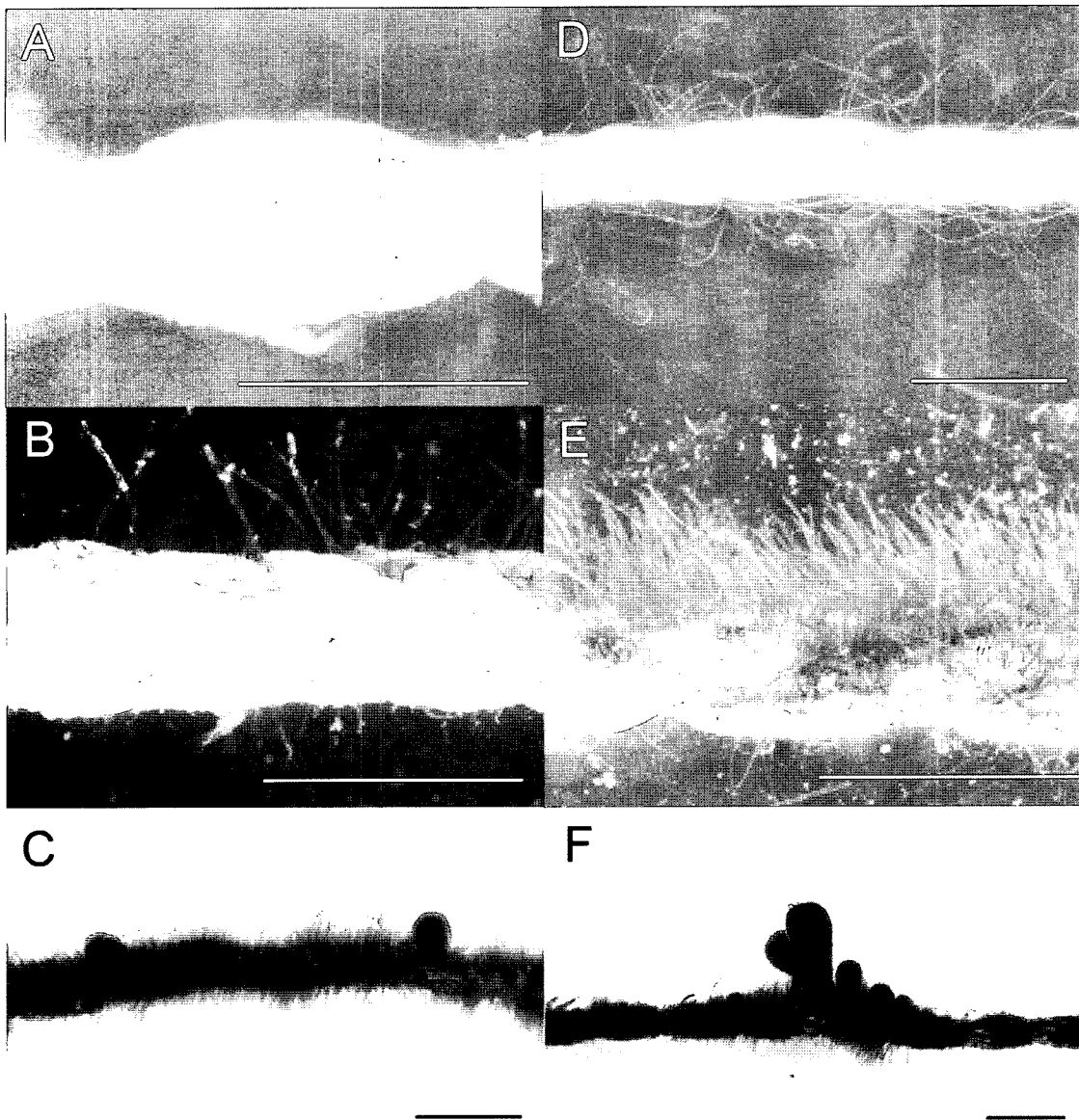


Fig. 3. Comparisons of growth during their intermediate culture in the field between sexual and asexual reproduction of *Codium fragile*. A: Zygotes attached on cremona fibers. B: Medullary filaments originated from zygotes after one month culture. C: Growth of erect thalli and medullary filaments originated from zygotes after two months culture. D: Isolated utricles and medullary filament attached on fiber. E: Medullary filaments originated from isolated filaments after one month culture. F: Growth of erect thalli and medullary filaments originated from isolated medullary filaments after two months culture. Scale bars are 1 cm (A-F).

Table 4. Growth and regeneration of isolated medullary filament of *Codium fragile* under different temperature conditions, 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  and 16:8LD after 10 days culture (Mean  $\pm$  SD of triplicate groups)

Content	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )			
	10	15	20	25
Length of medullary filament (mm)	2.7 $\pm$ 1.4	3.1 $\pm$ 2.2	2.9 $\pm$ 1.5	2.6 $\pm$ 2.1
Number of regenerated utricle (ea)	0.7 $\pm$ 1.9	3.7 $\pm$ 1.1	4.7 $\pm$ 0.6	3.0 $\pm$ 1.4

Table 5. Growth and regeneration of isolated medullary filament of *Codium fragile* under different irradiance conditions, 20 $^{\circ}\text{C}$  and 16:8LD after 10 days culture (Mean  $\pm$  SD of triplicate groups)

Content	Irradiance ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )			
	20	40	60	100
Length of medullary filament (mm)	2.4 $\pm$ 1.6	2.9 $\pm$ 1.3	3.7 $\pm$ 3.0	3.6 $\pm$ 1.6
Number of regenerated utricle (ea)	1.4 $\pm$ 0.9	2.1 $\pm$ 0.7	5.9 $\pm$ 1.8	6.5 $\pm$ 1.4

Table 6. Comparison of efficiency between sexual and asexual reproduction of *Codium fragile* for their artificial seed production (Mean  $\pm$  SD of triplicate groups)

Culture day	Asexual reproduction (Isolated medullary filaments)				Sexual reproduction (Zygotes)			
	Number of erect thalli (ea/10 cm)	Length of erect thalli (cm)	Number of branch (ea)	Weight of seed filament (g/10 cm)	Number of erect thalli (ea/10 cm)	Length of erect thalli (cm)	Number of branch (ea)	Weight of seed filament (g/10 cm)
0	- <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	0.03 $\pm$ 0.01	-	-	-	0.01 $\pm$ 0.02
35	-	-	-	0.29 $\pm$ 0.12	-	-	-	0.15 $\pm$ 0.07
50	8.3 $\pm$ 1.5	0.82 $\pm$ 0.01	0.3 $\pm$ 0.18	1.08 $\pm$ 0.33	7.7 $\pm$ 1.5	0.65 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.11	0.95 $\pm$ 0.09
68	13.3 $\pm$ 3.2	1.38 $\pm$ 0.5	0.2 $\pm$ 0.2	1.47 $\pm$ 0.74	9.7 $\pm$ 3.5	1.49 $\pm$ 0.18	0.34 $\pm$ 0.37	1.24 $\pm$ 0.69

<sup>1</sup>Not measured.

신장되어 다수의 새로운 포낭을 형성하고, 다수의 포낭이 봉 처진 구형의 낭상체로 발달하는 완전한 형태형성의 단계를 보여주었다. 본 실험 결과에서도 접합자와 분리수사의 배양 모두에서 이러한 형태형성의 과정을 나타내었다. 이러한 결과는 청각의 무성생식에 의한 체형성에 있어서도 유성생식에 의한 체형성에 있어서와 마찬가지로 광, 온도, 물리적인 자극 등과 같은 일정 환경조건이 뒤받침 되어야 한다는 것을 시사한다 하겠다.

청각의 형태형성을 좌우하는 요인으로는 조도(Park and Sohn, 1992), 온도(Gessner, 1970; Fralick and Mathieson, 1972; Park and Sohn, 1992) 및 물리적 자극(Ramus, 1972, Yotsui and Migita, 1989; Park and Sohn, 1992) 등이 필요한 것으로 알려져 있다. 이 가운데 조도는 청각 포낭의 형태형성에 있어서 가장 중요한 요인으로서 일계의 조건인 3,000 lux (ca. 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 이상의 조건에서만 완전한 형태형성이 이루어지는 것으로 알려져 있다(Park and Sohn, 1992).

Hanisak (1977)는 청각 엽체의 생장에 크게 영향을 미치는 요소로 온도, 조도, 광주기, 누적광량, 염분 및 영양염 등을 들었는데, 이들 요소들은 단독으로 또는 복합적인 요소로 청각의 생장에 영향을 미친다고 하였다. 즉, 온도는 24 $^{\circ}\text{C}$ , 염분농도는 온도가 24 $^{\circ}\text{C}$ 일 때 24-30 ppt, 온도와 조도의 조합에서는

온도가 높으면(18-30 $^{\circ}\text{C}$ ) 낮은 조도(ca. 28  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), 온도가 낮으면(12 $^{\circ}\text{C}$ ) 높은 조도(ca. 84  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )에서 최대의 생장이 나타나며, 24 $^{\circ}\text{C}$  일 때 140  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  또는 30 $^{\circ}\text{C}$ 일 때 84-140  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서는 생장 저해현상이 일어나고, 30 $^{\circ}\text{C}$ 일 때 140  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  이상에서는 배양 15-18일내에 고사하는 것으로 보고하였다. 또한 광주기와 청각의 생장과의 관계는 일장의 길이가 길어짐에 따라 생장이 증가하는 것으로 보고하고 있는데, 이와 같은 생장 증가는 총 누적 광량의 차이에서 야기되는 영향보다는 미진한 것으로 보였다.

청각 접합자의 생장은 엽체의 생장을 위한 환경요소의 적정 범위 보다 좁은 범위로 온도 24 $^{\circ}\text{C}$ , 염분농도 30-36 ppt일 때 최대 생장을 보이고, 온도와 광주기, 조도의 조합조건하에서도 비슷한 양상으로 보다 좁은 생장범위를 보이는 것으로 알려져 있다(Hanisak, 1977). 본 실험의 결과에서도 비슷한 양상으로 유성생식에 의한 접합자의 생장을 위한 적정 온도 범위는 10-15 $^{\circ}\text{C}$  (Table 1), 조도범위는 10-20  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Table 2)인데 반하여 무성생식에 의한 수사의 생장을 위한 적정 온도 범위는 15-25 $^{\circ}\text{C}$  (Table 4), 조도범위는 60-100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Table 5)로 유성생식에 의한 청각의 생장을 위한 환경요소들의 적정범위가 무성생식에 의한 청각의 생장을 위한 그것보다 좁은 것으로 나타났다. 즉, 이러한 결과는 청각의 인위적인

번식을 조장시키는데 있어 유성적인 방법에 의해서 보다 환경 요소의 허용범위가 넓은 무성적인 방법을 활용하는 것이 보다 효과적일 수 있다는 것을 보여 준 것이라 하겠다.

Nanba et al. (2002)는 청각 포낭 또는 수사 내부에 존재하는 수많은 엽록체가 포함된 원형질이 청각의 포낭과 엽체 형성에 있어 기원이 되는 물질이라고 보고, 청각의 포낭 형성 및 엽체 형성이 그들의 낭상체내에 존재하는 엽록체와 깊은 상관관계를 갖는다고 주장하였다.

본 연구에서 호모게나이저를 이용한 청각 엽체로부터의 수사분리시 호모게나이저의 회전속도와 분리수사의 길이의 관계는 Table 3과 같이 호모게나이저의 회전수가 적을수록 분리수사의 길이가 길게 나타났다. 분리된 수사로부터 재생된 포낭의 수는 8,000-13,500 rpm 사이에서 통계적으로 유의한 차이가 없었으나( $p>0.05$ ), 20,500 rpm 이상에서는 유의한 차이를 보였는데( $p<0.05$ ), 이와 같은 차이는 호모게나이저의 회전수에 따른 분리수사의 평균 길이와 분리된 수사의 원형질 유출정도에 따라 발생하는 포낭 재생력의 차이로 생각된다. 즉, 호모게나이저의 회전수를 13,500 rpm 이하로 하여 분리된 수사의 평균 길이는 약 550  $\mu\text{m}$  이상으로 새로운 포낭을 형성한 반면 그 이상의 회전수에서 분리된 수사에서는 포낭의 재생이 관찰되지 않았다. 분리된 수사는 절단 부위에 새로운 격막이 형성되기 전까지는 절단 즉시 원형질의 유출이 일어나는데 분리된 수사의 길이가 짧으면 짧을수록 원형질의 손실이 많아져 새로운 포낭을 형성할 수 없기 때문인 것으로 보인다.

청각의 직립지 발달과 관련하여 Ramus (1972)와 Park and Sohn (1992)는 물의 유동이 있는 배양 조건하에서 청각의 직립체를 얻었으며, Yotsui and Migita (1989)는 모체로부터 분리한 포낭에서 재생된 수사가 실내배양에서는 직립체로 발달하지 않았으나 이를 채묘하여 바다에 수하하였을때 직립체로 발달하였다고 보고하였다. 따라서 청각의 직립체 발달을 위한 형태형성에 가장 크게 영향을 미치는 요인으로는 조도와 물리적 자극이라고 할 수 있다. 이 외에 온도는 체의 크기 및 외부, 내부 구조의 변화 그리고 엽체의 형태와 생장에 관계가 있으나, 청각의 경우 형태형성 유도의 역할보다는 엽체 형성 후 생장에 더 큰 영향을 주는 요소라고 할 수 있다. 본 연구에서 유성생식을 통한 접합자와 무성생식에 의한 분리수사의 형태형성은 Fig. 3A-C와 Fig. 3D-F에서와 같이 생식방법에 관계없이 모두에서 이루어졌으며, 형태형성이 이루어지는 시기는 유성생식방법에서 보다 무성생식방법에서 빠르게 나타났다. 이와 같은 결과는 청각의 인공종묘생산이 유성 또는 무성생식 방법 모두에 의해 가능하다는 것을 시사한다 하겠다.

청각의 대량인공종묘생산을 위하여 유성생식을 이용한 접합자의 채묘와 무성생식을 이용한 분리수사의 채묘방법에 따른 효율성을 비교한 결과, 직립체로의 발달과 성장에는 유의한 차이( $p>0.05$ )를 보이지 않는 것으로 나타났다(Table 6). 이는 단순히 채묘이후 엽체의 발달과 성장을 비교한 결과의 차이로 유·무성생식방법에 의한 종묘생산과정 동안에 야기되

는 효율성, 경제성 및 편의성의 측면에 있어서의 차이와 구별된다. 즉, 유성생식을 이용할 경우 접합자의 대량 방출을 위해서는 모조의 성숙도가 80-90% 이상이 되는 8-9월(Kim et al., 1989)이 되어야 채묘가 가능하며, 서식처의 수온조건에 따라 청각 엽체의 성숙도에는 큰 차이가 있어 인공채묘시 대량의 모조를 필요로 하게 되는 단점이 있는 반면, 무성생식방법인 분리수사의 재생을 이용한 종묘생산의 경우, 청각 엽체 1g는 약 4,000개의 포낭으로 구성되어 있어 소량의 모조만을 가지고 고도 대량 인공채묘가 가능하다. 또한 엽체의 성숙도와 관계없이 엽체를 구성하고 있는 수사 또는 포낭을 인공채묘하기 때문에 종묘생산을 하고자 원하는 시기에 언제든지 편리하게 인공종묘생산을 실시할 수 있는 장점이 있다. 이와 같은 특성은 청각의 인공종묘생산에 있어 무성적인 번식이 유성적인 번식에 못지않게 충분한 가능성을 가지고 있다고 한 Nanba et al. (2002)의 견해와도 일치하는 것이다.

다만 청각의 수사가 채묘기질에 충분히 착생되도록 하기 위해서는 채묘과정에서부터 세심한 주의가 필요하며, 실내배양과정을 통하여 수사의 완전한 착생을 확인한 후 바다로 옮겨 가이식을 실시하는 것이 대량양식의 인공종묘를 확보하는데 중요하다.

이 연구에서는 청각의 유성 및 무성생식방법에 따른 접합자와 분리수사의 실내배양 조건 및 인공채묘를 통한 가이식 성장 등을 통하여 유·무성생식방법에 의해 인공종묘생산이 가능하다는 것을 확인하였으며, 이들 생식방법별 인공종묘생산의 효율성을 비교한 결과 무성생식을 이용한 분리수사의 채묘가 청각의 대량인공채묘에 보다 효과적임을 구명하였다. 추후의 연구에서는 청각의 적정 가이식 및 양성을 위한 양식 환경의 조건을 구명하는 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 사 사

이 연구는 한국해양수산개발원의 수산특정연구과제 [녹조류 청각(*Codium fragile*)의 대량생산 양식 기술 개발(MNF 12004007-3-1-SB010)] 및 국립수산물과학원(청각의 야외 가이식 및 적정 양식기법 확립, RP-05-AQ-5)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 참 고 문 헌

- Arasaki, S., H. Tokuda and K. Fujiyama. 1955. The reproduction and morphology in *Codium fragile*. Bot. Mag., 69, 39-44.
- Borden, C.A. and J.R. Stein. 1969. Reproduction and early development in *Codium fragile* (Surinagar) Hariot: Chlorophyceae. Phycologia, 8, 91-99.
- Chapman, V.J. 1962. The Algae. St Martin's Press Inc., New York, pp. 94-104.
- Cho, K.J., Y.S. Lee and B.H. Ryu. 1990. Antitumor effect

- and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. Bull. Kor. Fish. Soc., 23, 345-352.
- Fralick, R.A. and A.C. Mathieson. 1972. Winter fragmentation of *Codium fragile* (Suringar) Hariot subsp. *tomentosoides* (van Goor) Silva (Chlorophyceae, Siphonales) in New England. Phycologia, 11, 67-70.
- Gessner, F. 1970. Temperature: Plants. In: Marine Ecology Vol. 1. Kinne O., ed. Wiley, New York, pp. 368-406.
- Glombitza, F. 1969. Antibakterielle Inhaltsstoffe in Algen. Helgolander Wiss. Meeresuntersuch, 19, 376-384.
- Hanisak, M.D. 1977. Physiological ecology of *Codium fragile* subsp. *tomentosoides*. Ph.D. Thesis, University of Rhode Island, U.S.A., pp. 198.
- Hoppe, H.A. 1979. Marine algae and their products and constituents in pharmacy. In: Marine Algae in Pharmaceutical Science. Hoppe, H.A., Levring, T. and Y. Tanaka, eds. Walter de Gruyter, New York, pp. 59-161.
- Hwang, E.K., Y.C. Cho and C.H. Sohn. 1999. Reuse of holdfasts in *Hizikia* cultivation. J. Kor. Fish. Soc., 32, 112-116.
- Kang, J.W. 1968. Illustrated Encyclopedia of Fauna and Flora of Korea. Vol. 8. Marine Algae, Ministry of Education, Seoul, pp. 465.
- Katayama, T. 1964. Biochemical significance of the existence of acrylic acid in algae. Jap. Soc. Phycol., 32, 14-19.
- Kim, C.H. 1984. Culture studies on the regeneration of *Gelidium amansii* Lamouroux. M.S. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea, pp. 28.
- Kim, N.G. 1988. On the morphology of utricles and the producing period of gametangia in *Codium fragile* (Suringar) Hariot on the coast of Chungmu. Bull. Tong-Yeong Fish. Jr. Coll., 23, 77-83.
- Kim, N.G., Y.I. Won and C.H. Sohn. 1989. Morphology of utricles and maturing period in *Codium fragile* (Suringar) Hariot. J. Aquacult., 2, 33-41.
- Nanba, N., R. Kado, H. Ogawa and Y. Komuro. 2002. Formation and growth of filamentous thalli from isolated utricles with medullary filaments of *Codium fragile* spongy thalli. Aquacult. Bot., 73, 255-264.
- Oh, Y.S., Y.P. Lee and I.K. Lee. 1987. A taxonomic study on the genus *Codium*, Chlorophyta, in Cheju island. Korean J. Phycol., 2, 61-72.
- Oh, Y.S., I.K. Lee and S.M. Boo. 1990. An annotated account of Korean economic seaweeds for food, medical and industrial uses. Kor. J. Phycol., 5, 57-71.
- Park, C.S. and C.H. Sohn. 1992. Effects of light and temperature on morphogenesis of *Codium fragile* (Suringar) Hariot in laboratory culture. Kor. J. Phycol., 7, 213-223.
- Ramus, J. 1972. Differentiation of the green alga *Codium fragile*. Am. J. Bot., 59, 478-482.
- Rogers, D.J., K.M. Jurd, G. Blunden, S. Paoletti and F. Zanetti. 1990. Anticoagulant activity of a proteoglycan in extracts of *Codium fragile* sp. *atlanticum*. J. Appl. Phycol., 2, 357-361.
- Rogers, D.J. and R.W. Loveless. 1991. Electron microscopy of human erythrocytes agglutinated by lectin from *Codium fragile* sp. *tomentosoides* and pseudohaemagglutinin from *Ascophyllum nodosum*. J. Appl. Phycol., 3, 83-86.
- Ryu, B.H., B.H. Chi, D.S. Kim and M.S. Ha. 1986. Desmutagenic effect of extracts obtained from seaweeds. Bull. Kor. Fish. Soc., 19, 502-508.
- Shiomi, K. 1983. Agglutinins. In: Biochemistry and utilization of marine algae. Jap. Soc. Sci. Fish., ed. Koseisha Press, Tokyo, pp. 120-131.
- Tseng, C.K. and J.F. Zhang. 1984. Chinese seaweeds in herbal medicine. Proc. Int'l. Seaweed Symp., 11, 152-154.
- Velasquez, G.T. 1972. Studies and utilization of the Philippine marine algae. Proc. Int'l. Seaweed Symp., 7, 62-65.
- Yotsui, T. and S. Migita. 1989. Cultivation of a green alga *Codium fragile* by regeneration of medullary threads. Nippon Suisan Gakkaishi, 55, 41-44.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, Engelwood Cliffs, N.J., pp. 718.

---

2005년 2월 11일 접수  
2005년 6월 4일 수리