

## 개다시마 *Kjellmaniella crassifolia* Miyabe (Phaeophyta)의 암·수배우체 분리 및 보존

김진희\* · 김영대 · 송홍인<sup>1</sup> · 공용근 · 이상범<sup>2</sup> · 진형주<sup>2</sup>  
 국립수산과학원 동해수산연구소, <sup>1</sup>국립수산과학원 서해수산연구소, <sup>2</sup>강릉대학교 해양생명공학부

### Separation and Preservation of the Male and Female Gametophytes of *Kjellmaniella crassifolia* Miyabe (Phaeophyta)

Jin-Hee KIM\*, Young-Dae KIM, Hong-In SONG<sup>1</sup>, Yong-Gun GONG, Sang-Beum LEE<sup>2</sup> and Hyung-Joo JIN<sup>2</sup>

East Sea Regional Fisheries Research Institute, NFRDI, Kangneung 210-861, Korea

<sup>1</sup>West Sea Regional Fisheries Research Institute, NFRDI, Incheon 400-420, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea

We examined the conditions for separating and preserving the male and female gametophytes of *Kjellmaniella crassifolia*. The highest percentage of zygote germination (85%) was on semi-solid medium composed of 1.0% transfer gel agar at 15°C and 20 μmol/m<sup>2</sup>/s after a 4-week culture. Zygote germination in PESI liquid medium was 93.5% at 20°C and 20 μmol/m<sup>2</sup>/s. The maximum zygote growth was 252±19.7 μm on 1.0% transfer gel agar at 15°C and 40 μmol/m<sup>2</sup>/s after 5-week culture, and was 76.7±2.8 μm in PESI liquid medium at 20°C and 40 μmol/m<sup>2</sup>/s. The respective numbers of separated male and female gametophytes from germinated zygotes were 157 and 93 on 1.0% transfer gel agar and 14 and 28 in PESI liquid medium. The maximum growth of separated male and female gametophytes was 575±28.3 μm at 5°C and 60 μmol/m<sup>2</sup>/s and 686±35.4 μm at 20°C and 20 μmol/m<sup>2</sup>/s in PESI liquid medium after 3 weeks, respectively. The highest percentage fertilized was 93.3±5.8% at 15°C and 20 μmol/m<sup>2</sup>/s in PESI liquid medium. These results show that the best conditions for the separation and preservation of gametophytes (male and female) consisted of culturing on 1.0% transfer gel agar at 15°C and 20 μmol/m<sup>2</sup>/s.

Key words: Gametophytes, *Kjellmaniella crassifolia*, Separation, Preservation

#### 서 론

다시마과 (Laminariaceae)는 우리나라에서 원산만 이북의 다시마속 (*Laminaria*)과 이남의 개다시마속 (*Kjellmaniella*)으로 크게 나누어 볼 수 있는데, 다시마속에는 애기다시마 (*Laminaria religiosa* Miyabe), 참다시마 (*Laminaria japonica* Areschoug) 2종이 있고, 개다시마속에는 개다시마 (*Kjellmaniella crassifolia* Miyabe) 한 종이 보고되어 있다 (Kang, 1966). 다시마속은 원산만 이북 해역에 분포하는 것으로 알려졌으나 1967년에 처음으로 일본 홋카이도의 애기다시마 (*L. religiosa*) 모조를 이용하여 동해 연안에 양식생산이 이루어지면서 점차 우리나라 연안에 자생하게 되었다 (Chang and Geon, 1970; Chang and Chung, 1971; Nam et al., 1985). 그 후 새로운 양식종의 개발 보급을 위하여 참다시마 (*L. japonica*)를 이식하여 양식생산이 이루어졌다 (Baik and Pyen, 1973; Chang et al., 1973; Bae et al., 1977; Baik, 1977). 이처럼 다시마속 (*Laminaria*)은 우리나라 연안에서 분포역을 넓혀가고 있는데

비해 개다시마속은 강릉시 사근진에서부터 고성군 대진리까지 평균 25 m 수심에 분포하는데 1990년대에 연간 습중량으로 1,000여 톤의 자연 생산량을 보였으나 최근 과도한 자원이용, 자원관리 이해 부족과 최근 잦은 태풍으로 인한 서식지 파괴로 인하여 해마다 그 생산량이 급속히 감소하고 있는 추세여서 복원이 절실하다 (Kim et al., 1999; Kim, 2003; Kim et al., 2005). 현재까지 개다시마의 연구는 참다시마나 애기다시마에 비해 미흡한 실정이다. 국내의 경우 개다시마 조직의 분화와 캘루스의 온도, 조도의 영향 (Notoya and Kim, 1996), 개다시마를 이용한 Pb 및 Cu 흡착 (Ahn et al., 1998), 유전분석에 의한 계통연구 (Yoon et al., 2001), 동해안 개다시마 실내배양 연구 (Kim et al, 2005)가 보고 되었고, 국외의 경우 홋카이도 연안에서 개다시마의 출현수와 생장의 월별 변동 (Yamamoto, 1986), 하코다테의 참다시마와 애기다시마에서의 비소 분포 (Kitazume and Oishi, 1987), 개다시마와 참다시마 사이의 영양소 흡수의 생리적인 차이 (Ozski et al., 2001), 금속 흡착의 동역학 연구 (Seki and Suzuki, 1998; 2002) 등이 이루어져 있는데, 개다시마의 배우체 분리와 보존에 관한 연구는 아직 시작

\*Corresponding author: nim919@hanmail.net

단계이다.

본 연구는 개다시마의 생활사 중 배우체가 형성되는 시기에 암·수배우체를 분리하여 암·수배우체의 성장과 수정, 유주자 및 암·수배우체 보존 조건을 확립하는데 목적이 있으며, 이러한 연구결과는 동해안 특산종인 개다시마의 고유자원 보존의 기초가 될 것으로 사료된다.

## 재료 및 방법

### 시료의 채집

개다시마의 성숙 포자체는 2006년 1월 강원도 고성군 봉포리 해역에서 Scuba diving에 의해 채집한 것을 사용하였다. 채집된 개체를 아이스박스에 넣어 실험실로 옮겨와 포자엽에서 가장 성숙한 부위를 절단한 후 멸균해수로 2-3번 세척해 부착 생물 및 이물질을 제거 하였다. 엽체는 15°C 내외되는 실내에서 3시간 음건시킨 후 멸균해수가 든 비이커 (200 mL)에 성숙된 포자엽을 넣고 유리봉으로 가볍게 저어 유주자의 방출을 유도하였다. 유주자 방출 조건은 온도 15°C, 광량 40- 60  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 로 하였고, 유주자 방출 시 엽체에서 나오는 알긴산 등을 제거하기 위해 100  $\mu\text{m}$  나이론망에 두 번 여과 시켜 유주자를 얻었다.

### 실내배양

유주자 발아에 대한 실험 조건은 항온배양기 (EYELA, MTI-201, Japan)에서 온도 5단계 (5, 10, 15, 20 및 25°C)와 광량 4단계 (20, 40, 60 및 80  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ )로 액체배지 20개 시험구와 고체배지 80개 (20개×고체배지 4종) 시험구의 총 100개 시험구를 만들어 배양하였다. 액체배지는 PESI (Provasoli's enrichment seawater with iodine; Provasoli, 1968)를 사용하였고, 고체배지는 전해수에 각각 1.0%의 agar (A 1296, Sigma), transfer gel (T 5660, Sigma), high gel strength agar (A 9799, Sigma), purified agar (A 7921, Sigma)를 넣은 후 121°C 온도조건에서 30분간 고압멸균 후  $\text{GeO}_2$ 와 PESI를 여과 (0.45  $\mu\text{m}$ , Millipore)하여 첨가하였다 (Jin et al., 1997). PESI 액체 배지는 petri dish (75 mm×15 mm)에 cover glass (24 mm×24 mm)에 넣고 유주자액 2 mL (1,000 cells/mL)을 접종하여 부착시켰고, 고체배지는 밀도를 작게 하여 배우체 분리가 편리하도록 하기 위하여 유주자액 200  $\mu\text{L}$  (1,000 cells/mL)를 도말하여 각 실험 조건으로 옮긴 후 48시간 배양하였다. 광주기는 12:12h (L:D)로 유지하였다. 액체배지의 유주자 발아율 (%)은 온도 및 광량 실험구 별로 부동포자에서 발아관이 형성되거나, 아령모양으로 발전하여 세포질 이동을 시작하는 단계를 광학현미경 (Olympus, CH30, Korea)으로 검정하여 백분율로 발아율을 산정하였다. 고체배지는 액체배지와 마찬가지로 부동포자에서 발아관이 형성되거나, 아령모양으로 발전하여 세포질 이동을 시작하는 단계를 역상현미경 (Olympus, CK-2, Japan)으로 검정하여 백분율로 발아율을 산정하였다. 배우체 생장은 온도 및 광량 조건별로 초기 배우체의 세포분열 상태, 암·수배우체

의 성숙 및 수정되는 과정을 광학현미경으로 2일마다 검정하여 비교·분석 하였다.

### 배우체 분리

배우체 단계의 각 구간에서 Pasteur pipette의 끝 부분을 녹여 배우체의 크기에 따라 100  $\mu\text{m}$  내외의 구멍을 만든 후, 현미경 하에서 암·수배우체를 각각 96 well plate와 petri dish (35 mm×12 mm)에 분리하였다.

### 배우체 번식

Petri dish (35 mm×12 mm)에 분리·보관된 암·수배우체는 homogenizer (T 8 ULTRA-TURAX)를 이용하여 절단하였다. 암배우체는 15-20초간 (25,000 rpm) 절단하였고, 수배우체는 10-15초간 (25,000 rpm) 시행하여  $30\pm 5.4 \mu\text{m}$ 의 크기로 절단하였다. 절단한 암·수배우체는 생장이 가장 빠른 액체배지에 접종하여 5개의 온도구간 (5, 10, 15, 20 및 25°C)과 4개 광량구간 (20, 40, 60 및 80  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ )별로 20개의 실험조합 구간에서 암·수배우체 각각의 번식 조건을 알아보기 위하여 생장을 측정하였다.

### 배우체 보존

Agar, transfer gel, high gel strength agar, purified agar와 PESI 배지에서 5개의 온도구간 (5, 10, 15, 20 및 25°C)과 4개 광량구간 (20, 40, 60 및 80  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ )로 조정하여 총 100개의 실험조합 구간에서 배양하였고, 배우체 생장 및 생존율을 통해 배우체 10개월간 보존 능력을 비교해 보았다.

### 배우체 수정

5개의 온도구간 (5, 10, 15, 20 및 25°C)과 4개 광량구간 (20, 40, 60 및 80  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ )으로 총 20개의 실험조합 구간에 배우체 번식과 동일조건으로 homogenization를 실시하여 성장한 암·수배우체 10개체씩을 액체배지가 포함된 96 well plate에 넣어 약 2주후 아포체로 발아된 개체를 수정된 것으로 간주하고, 이를 3반복하여 수정율 (%)로 계산하였다.

### 통계처리

실험결과는 IMT Solution Life Ver 7.1 program으로 검정하였다. 모든 실험값은 means±SE로 표시하였다.

## 결 과

### 실내배양시 유주자의 발아

액체 (PESI) 배지 조건에서의 유주자 발아율은 20°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  조건에서 7일 동안 배양 후 최대  $93.5\pm 4.3\%$ 로 가장 높았고, 25°C, 80  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서  $7.5\pm 2.1\%$ 로 가장 낮게 나타났다. 유주자 발아율은 온도에 영향을 받은 것으로 나타났으나 광량은 전체 온도 구간뿐만 아니라 동일 온도 구간 내에서도 뚜렷한 경향을 보이지 않았다 (Fig. 1). 고체배지 조건에서의 transfer gel의 경우 15°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  실험구에서 14일 동안 배양 후, 최대 발아율  $85.0\pm 3.2\%$ 로 고체배지 중 가장 높은

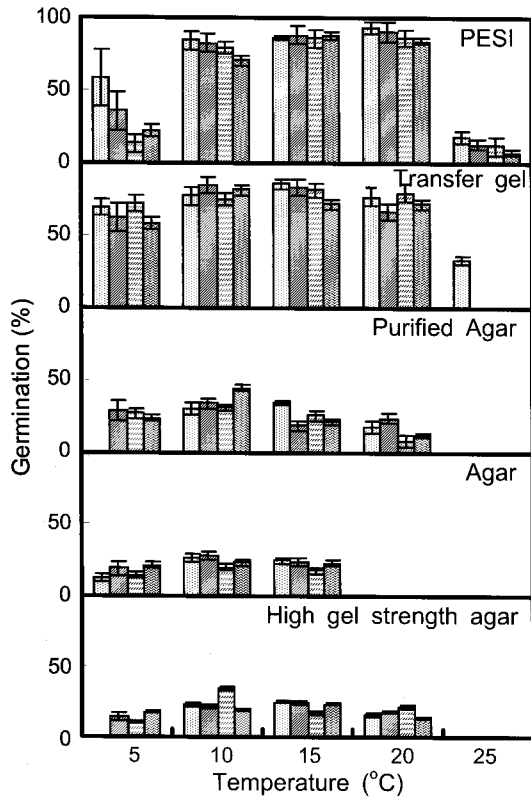


Fig. 1. Germination rate of zoospore under different temperatures and irradiances on PESI and gelling agents (transfer gel, purified agar, agar and high gel strength agar). (□, 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ▨, 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ▩, 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ▭, 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

발아율을 보였다. 온도 5-20°C에서는 광량 조건에 관계없이 60% 이상의 유주자 발아율을 보였으나 25°C의 경우 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 를 제외한 40, 60 및 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  구간에서 유주자는 전혀 발아하지 못하고 배양 4일 만에 사멸하는 것으로 나타났다. Agar, purified agar, high gel strength agar의 경우 액체 배지와 transfer gel과 다르게 50% 이하로 현저하게 낮은 발아율을 보였고, 포자가 발아를 하지 않아 그대로 사멸하는 것이 아니라 포자 상태를 유지하여 부동포자 보존의 가능성이 제시되었다 (Fig. 1).

실내배양시 배우체의 성장

액체 배지에서 배우체의 생장은 20°C, 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  구간에서 배양 16일까지 76.7±2.8  $\mu\text{m}$ 로 가장 좋은 성장을 보였으며, 25°C의 조건에서는 포자는 발아하였지만 배우체 단계로 진행되지 못하였고 그대로 사멸하였다. 배양 16일째에는 5°C를 제외한 모든 구간에서 배우체가 성숙되어 배양 18일에는 아포체가 나타났다 (Table. 1). 고체배지인 transfer gel에서 배우체의 생장은 배양 35일까지 15°C와 20°C, 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 각각 252±19.7  $\mu\text{m}$ 와 250±16.1  $\mu\text{m}$ 로 고체배지 중 가장 높은 성장을 보였으며, 25°C에서는 배양 7일 후 더 이상 성장을 하지 못하고 모두 사멸하였다. 5°C에서는 광량별 비슷한 성장을 보여 광량에 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며, 10°C에서는 배양 35일까지 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 183±14.2  $\mu\text{m}$ 까지 성장하였다. 하지만 transfer gel 배지에서의 배우체는 성장만 이루어질 뿐 성숙이나 아포체로의 진행은 없었다. Purified agar의 경우 transfer gel보다 생장이 늦었지만 20°C, 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 108±11.4  $\mu\text{m}$ 까지 성장하였고, 25°C에서는 배양 35일까지 전

Table. 1. Growth of gametophytes under different temperatures and irradiances on PESI medium for 18 days and gelling agents for 35 days. Data are expressed as mean±SE

Condition		Medium				
Temp. (°C)	Irradiance ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	PESI (liquid)	PESI (Agar)	Transfer gel	Purified agar	High gel strength agar
5	20	40.3±1.8	60±7.6	120±12.4	6.0±0.4	6.5±1.9
	40	41.1±1.4	60±6.3	116±11.2	6.3±0.2	56±10.8
	60	44.2±1.7	5.5±0.5	113±13.9	5.9±0.5	52±7.9
	80	47.3±1.6	36±3.3	114±10.3	56±8.7	64±11.0
10	20	38.2±2.1	92±16.4	150±12.8	5.7±0.6	100±16.4
	40	39.7±2.0	60±7.1	162±11.0	6.3±0.3	50±6.2
	60	39.6±1.9	76±12.3	130±12.3	6.8±1.6	40±5.5
	80	44.5±1.7	88±13.5	183±14.2	60±11.5	24±5.1
15	20	53.7±3.7	5.1±0.7	204±10.9	68±8.3	104±5.2
	40	65.1±3.5	52±7.9	252±19.7	44±5.7	110±7.3
	60	54.1±3.6	64±10.5	239±11.8	65±6.6	134±14.6
	80	57.5±4.1	44±9.4	247±20.1	68±7.1	100±3.8
20	20	58.4±4.3	6.2±1.7	175±15.6	56±8.2	40±4.6
	40	70.6±3.1	5.2±0.3	250±16.1	60±11.3	48±5.1
	60	63.9±2.9	5.6±1.2	202±16.3	60±12.1	64±6.1
	80	54.1±2.9	4.7±0.2	230±15.5	108±11.4	56±5.2
25	20	0	0	0	5.9±0.8	7.0±1.4
	40	0	0	0	5.2±1.6	7.3±3.9
	60	0	0	0	4.8±0.4	6.2±1.0
	80	0	0	0	5.4±1.1	5.7±1.5

혀 성장하지 않는 것으로 나타났다. Agar의 경우 10°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 92±16.4  $\mu\text{m}$ 까지 성장하였고, 20°C에서는 배양 35일까지 모든 광량 구간에서 성장을 하지 않았으며, 25°C에서도 배양 21일까지 성장하지 않고 그대로 사멸하였다. High gel strength agar의 경우 15°C, 60  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 134±14.6  $\mu\text{m}$ 까지 성장하였고, 25°C에서는 배양 35일까지 성장을 하지 않고 계속 유주자 상태를 보였다. Purified agar, agar 및 high gel strength agar에서는 유주자가 발아하여 배우체로 성장하였으나 성장 속도가 액체배지와 transfer gel보다 늦었다 (Table 1).

### 배우체 분리

액체 배지에서는 초기 배우체가 형성되는 배양 7일 - 9일부터 암·수배우체를 분리하여 암배우체 28개체, 수배우체 14개체로 총 42개체 분리하였다. 분리된 암·수배우체는 최적의 성장 조건인 15°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에 분리 보관하였다 (Table 1). 고체배지는 성장을 가장 빠르게 나타낸 transfer gel에서 배양 11-13일부터 배우체 분리가 되었으며, 암배우체는 93개체, 수배우체는 157개체로 총 250개체를 분리하였다. Transfer gel은 액체배지와 고체배지의 중간단계로 액체배지보다 배우체의 이동이 적고, 고정되어 있어서 배우체의 분리가 쉬웠으며, 분리된 배우체는 15°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에 보관하였다 (Table 1). Purified agar, agar, high gel strength agar에서는 대부분 유주자 단계로 유지되어서 배우체를 분리하지 못하였다 (Table 2).

Table 2. Number of isolated gametophytes on the different culture media

Medium	Male gametophyte	Female gametophyte
Liquid PESI	14	28
Transfer gel	157	93
Gelling agent Purified agar	0	0
Agar	0	0
High gel strength agar	0	0

### 배우체 증식

실내배양을 통한 배우체의 성장과 성숙은 고체배지보다 액체배지에서 보다 효과적으로 나타났다 (Table 1). 그러므로 배우체를 homogenization 한 후 액체배지로 옮겨 21일간 성장을 관찰 한 결과, 암배우체의 번식은 20°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 686±35.4  $\mu\text{m}$ 로 가장 빠른 길이 성장을 보였으며 (Fig. 2, 3A), 수배우체의 번식은 5°C, 60  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 575±28.3  $\mu\text{m}$ 로 가장 높은 성장을 보였다 (Fig. 2, 3B).

### 배우체 보존

액체 (PESI) 배지에서 번식한 암·수배우체는 일주일간격으로 배지를 교환해주면서 보존한 결과 배양 10개월까지 평균 300±24.6  $\mu\text{m}$  크기를 유지하여 배우체가 보존됨을 알 수 있었다. 고체배지인 transfer gel에서는 배우체의 번식 속도가 액체 배지인 PESI 배지와 비슷하나 배우체의 수정이 이루어지지

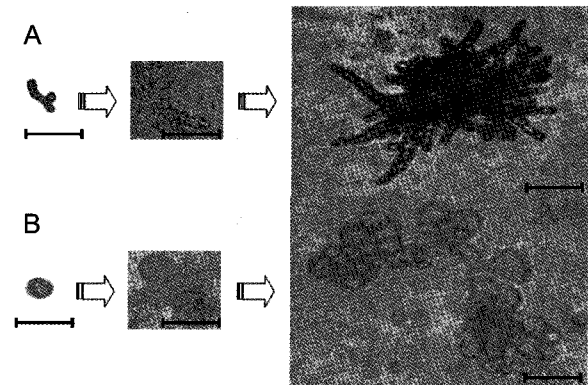


Fig. 2. Vegetative cell growth of male (A) and female (B) gametophytes from the fragmented gametophytes by homogenizer under 15°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  for 21 days (Scale bar, 50  $\mu\text{m}$ ).

않아 배우체 보존의 가능성을 보였다. Purified agar, agar 및 high gel strength agar에서는 대부분이 배우체로 진행이 안 되고 계속 부동포자 상태를 보였으며, 발아한 유주자는 배우체로 성장하여 아포체로 되지 않고 그대로 배우체 상태를 유지하였다. 또한 배우체뿐만 아니라 부동포자는 12개월 보존이 되었으며 (Fig. 4), 보존된 부동포자는 배우체로의 성장까지 유도가 되는 것을 확인하였다.

### 배우체 수정

배우체 분리 후 액체 배지에서 배우체를 2주일 간격으로 homogenization 한 후 번식시킨 암·수배우체를 온도와 광량에 따라 3반복하여 수정시킨 결과, 온도 5°C에서는 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 63.3±5.8%, 10°C에서는 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 86.7±7.7%, 15°C에서는 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 93.3±5.8%, 20°C에서는 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 63.3±2.9%의 수정율을 보였으나, 25°C에서는 모든 광량 구간에서 암·수배우체가 수정되지 못하고 사멸하였다. 암·수배우체의 수정율은 각 온도 구간 별로 고광량 보다는 저광량에서 높은 비율을 보이는 것으로 나타났다 (Fig. 5). 고체배지에서는 배지 특성상 암·수배우체의 수정이 이루어지지 않았다. 7개월 동안 암·수배우체를 각각 보관 후에도 암·수배우체 수정율이 93% (15°C, 20  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ) 이상 나타났다. 그러므로 유주자로부터 암·수배우체의 분리, 성장 및 보존이 가능한 것으로 판단된다.

## 고 찰

개다시마와 같은 조하대 해조류는 시공간적으로 변동하는 수온, 광주기, 조도 및 광질에 노출되어 있고, 이들 요인의 변화에 대한 생리적인 순응의 정도는 이들의 광합성과 생장률의 변화를 결정짓는 중요한 요소가 된다 (Park, 2001). 개다시마는 액체 (PESI) 배지의 경우 25°C에서 전혀 발아하지 않은 참다시마 (Kang and Koh, 1999)와는 다르게 25°C에서도 발아를 하였고, 10-20°C에서 80% 이상의 높은 발아율을 보였다. 고체배지에서는 transfer gel에서 가장 높은 발아율을 보였다

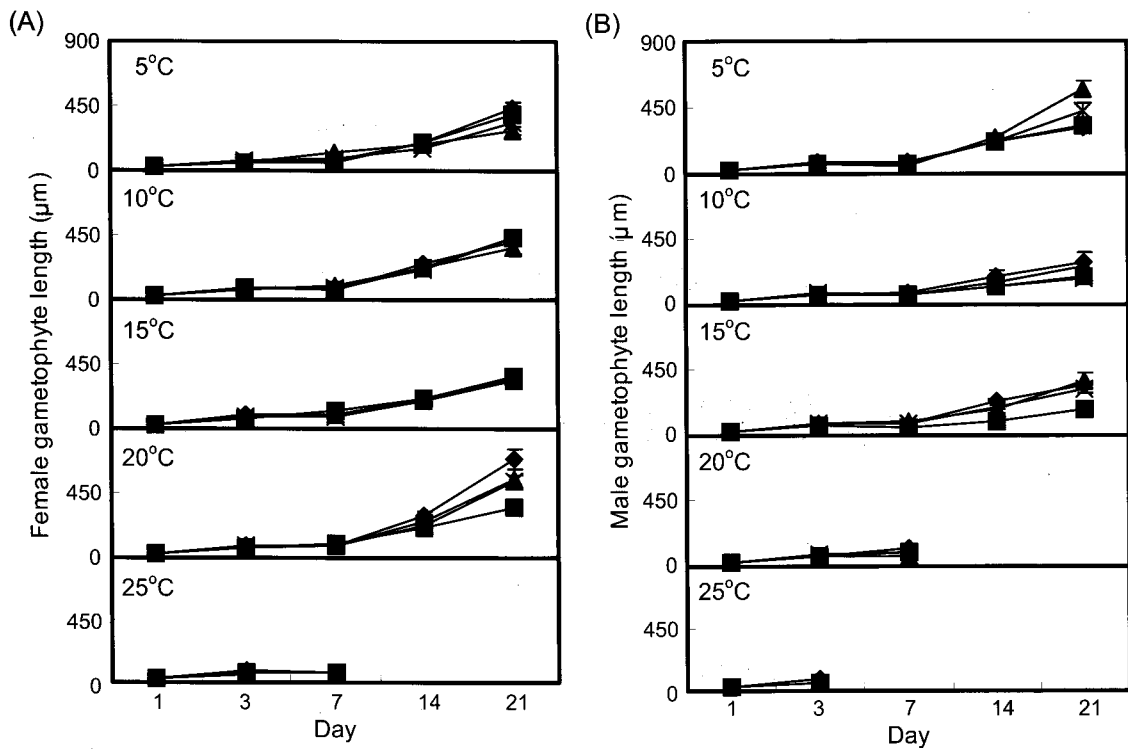


Fig. 3. Growth of female (A) and Male (B) gametophytes under different temperatures and irradiances at PESI medium for 21 days (◆, 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ■, 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ▲, 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; ×, 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

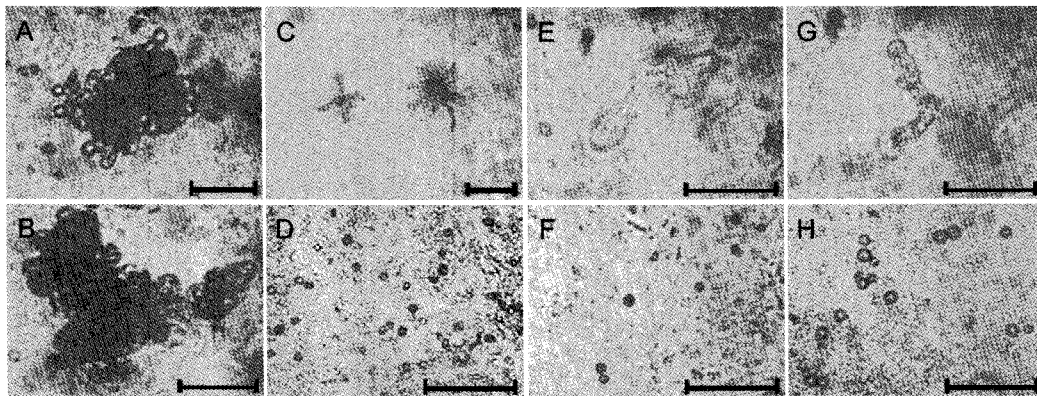


Fig. 4. Preservation of gametophytes (A, PESI under 15°C and 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; B, 1.0% transfer gel medium under 15°C and 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; C, 1.0% purified agar under 20°C and 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; E, 1.0% high gel strength agar under 15°C and 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; G, 1.0% agar under 10°C and 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) and zoospores (D, 1.0% purified agar under 15°C and 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; F, 1.0% high gel strength agar under 10°C and 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; H, 1.0% agar under 10°C and 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ; scale bar, 100  $\mu\text{m}$ ) for 7 months.

며, purified agar, agar 및 high gel strength agar에서는 평균 15.5%로 발아하였으나 대부분의 개체가 발아하지 않고 부동포자 상태를 유지하였다. 배우체의 성장과 성숙은 액체배지의 경우 20°C, 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 가장 좋았으며, Kim et al. (2005)에서도 이와 비슷하게 수온 20°C, 광량 40-60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 가장 생장이 좋았다. 참다시마에서는 20°C에서 전혀 성숙하지 않으며, 다시마속 식물에 있어 20°C 이상의 고수온에서 암배우체가 성숙하지 않는 것은 매우 일반적인 현상이다 (Kang

and Koh, 1999). 배우체 분리에는 고체배지 중 agar, purified agar와 high gel strength agar의 경우 배우체 분리 시 유주자가 있는 배지 부분을 들어내야 하는 어려움이 있어 transfer gel에 서만 이루어졌고, 특히 유동성이 큰 액체배지보다는 고체배지 이면서 액체배지의 특성을 가지고 있는 transfer gel에서 분리가 더 잘 이루어졌다. 분리한 암·수배우체를 homogenization하여 가장 성장과 성숙이 좋았던 액체배지에서 배양한 결과 암배우체의 경우 20°C, 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서, 수배우체의 경우

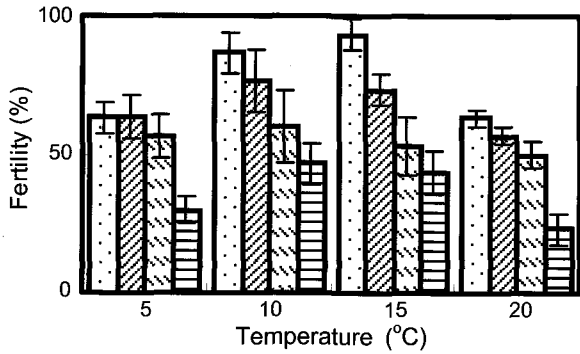


Fig. 5. Fertility of female-male gametophytes under different temperatures and irradiance conditions at PESI media (■, 20 μmol/m<sup>2</sup>/s; ▨, 40 μmol/m<sup>2</sup>/s; ▩, 60 μmol/m<sup>2</sup>/s; ▭, 80 μmol/m<sup>2</sup>/s).

5°C, 60 μmol/m<sup>2</sup>/s 에서 가장 좋은 성장을 보여 암·수배우체의 개별 성장 시 실내배양과는 다르게 성장 조건이 뚜렷하게 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 암·수배우체의 수정율은 온도와는 상관없이 저광량 일수록 높아지고, 고광량 일수록 낮아졌다. 이는 광량보다는 수온에 영향을 많이 받았던 유주자의 발아 및 배우체의 성장과는 달리 수온과 광량 둘 다 영향을 받는 것으로 나타났다. 암·수배우체의 성장과 성숙에서 수온과 광량은 성장과 성숙을 조절하는 중요한 요소가 되는 것으로 나타났으며, Park (2001)은 개다시마 배우체의 성장과 성숙에 미치는 주요한 파장과 광주기를 알아본 결과 파장은 백색광 (390-760 nm), 청색광 (445 nm), 녹색광 (530 nm), 황색광 (580 nm), 적색광 (660 nm)의 순으로 나타났고, 광주기는 12:12h (L:D)에서 가장 좋은 성장을 하였다. 이를 바탕으로

암·수배우체를 분리하여 절단했을 경우 암·수배우체들은 수온과 광량에 따라 어떠한 광질 및 광주기 조건에서 잘 성장을 하고 억제되며, 수정되는지의 연구도 필요할 것으로 생각된다. Transfer gel을 제외한 고체배지 (high gel strength agar, agar and purified gel)에서 배양 30일까지 60% 정도가 부동포자 상태 그대로였다. 고체배지에 있는 부동포자를 액체배지에 배양시켜 봤을 때 배우체로 성장을 하는지, 아포체가 되는지의 수정 능력을 알아보는 것도 중요할 것으로 생각되며, 종 보존을 위하여 고체배지에 도달한 유주자를 동결 보관하여 1년 및 2년 후에 유주자의 생존율을 알아보고, 액체배지에 배양 하였을 경우 성장을 및 수정율을 알아보는 것도 멸종되어 가는 개다시마를 복원하는 하나의 방법이 될 것으로 생각된다. 앞으로 본 연구에 사용된 개다시마 뿐만 아니라 다른 멸종 위기에 있는 해조류들도 Fig. 6과 같은 방법으로 적합한 조건을 찾아 실시한다면 필요시 암·수배우체 수정을 통해 인공적으로 대량 종묘생산이 가능할 뿐만 아니라 암·수배우체 및 종 보존도 가능할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Ahn, K.H., K.H. Suh and C.S. Oh. 1998. Biosorption of Pb and Cu by *Kjellmaniella crassifolia*. J. Kor. Environ. Sci. Soc., 7, 653-658.  
 Bae, K.U., J.W. Chang and M.H. Seong. 1977. Studies on the culture of Laminariaceae. (4) Rapid culture of seedlings of *Laminaria japonica* Aresch and *Laminaria religiosa* Miyabe by artificial liquid method. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 17, 151-163.

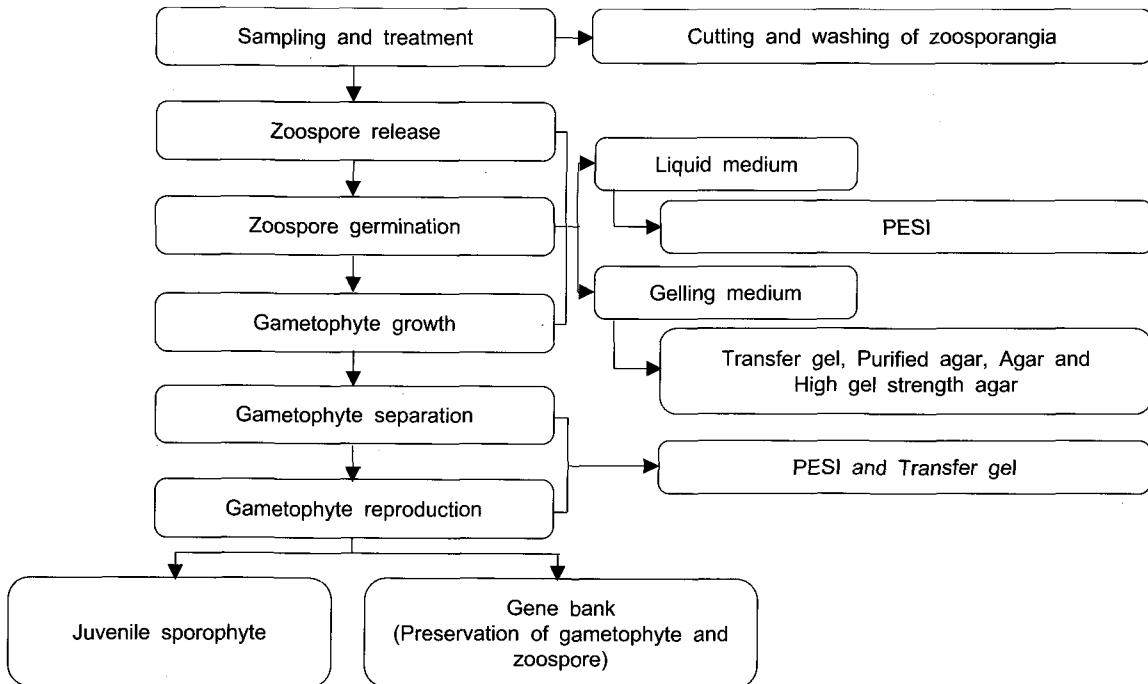


Fig. 6. Scheme for isolation and preservation of the gametophytes released from *Kjellmaniella crassifolia* Miyabe.

- Baik, K.K. 1977. Studies on the seed culture of *Laminaria*. (1) A process of development and the effect of attachment. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 16, 53-65.
- Baik, K.K. and C.K. Pyen. 1973. Study on growth of *Laminaria japonica* ARESTCH in the coastal area of Kang Won Do. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 11, 79-92.
- Chang, J.W. and S.H. Geon. 1970. Studies on the culture of *Laminaria*. (1) On the transplantation of tangle *Laminaria religiosa* Miyabe in temperate zone (the coast of Ilsan-Dong, Ulsan city). Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 5, 63-75.
- Chang, J.W. and D.Y. Chung. 1971. Studies on the culture of *Laminaria*. (2) On the tide over the summer of cultivated *Laminaria religiosa* Miyabe in warm water area. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 8, 31-43.
- Chang, J.W., D.Y. Chung, K.U. Bae and M.N. Yun. 1973. Studies on the culture of *Laminaria*. (3) Comparison on the growth of cultured *Laminaria japonica* Aresch in Mipo Bay, Uldan City. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 11, 37-57.
- Jin, H.J., G.M. Seo, Y.C. Cho, E.K. Hwang, C.H. Sohn and Y.K. Hong. 1997. Gelling agents for tissue culture of the seaweed *Hizikia fusiformis*. J. Appl. Phycol., 9, 489-493.
- Kang, J.W. 1966. On the geographical distribution of marine algae in Korea. Bull. Busan Fish. Coll., 7, 1-125.
- Kang, R.S. and C.H. Koh. 1999. Germination and growth of *Laminaria japonica* (Phaeophyta) microscopic stages under different temperatures and photon irradiances. J. Kor. Fish. Soc., 32, 438-443.
- Kim, H.G. 2003. Environmental adaptation of native kelp *Kjellmaniella crassifolia* and marine environment in Gangwon coast. Proceedings of the 6th Korea-Japan Fisheries Seminar, 25-37.
- Kim, H.G., J.G. Park and D.S. Kim. 2005. Comparative laboratory culture studies of the native kelp *Kjellmaniella crassifolia* and the introduced kelp *Laminaria japonica* in east coast of Korea. J. Aquacult., 18, 299-304.
- Kim, H.G., J.I. Lee, S.B. Lee and J.G. Park. 1999. Distribution and standing crops of *Laminaria* and *Kjellmaniella* in the coast of Kangnung Province. Bull. Inst. Environ. Technol., Samchuk Nat. Univ., 1, 153-158.
- Kitazume, H. and K. Oishi. 1987. Arsenic distribution in two species Kombu, *Laminaria japonica* and *Kjellmaniella crassifolia* from Hakodate. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ., 38, 156-164.
- Nam, K.W., C.S. Lee, S.D. Lee, J.W. Chang and Y.C. Kim. 1985. Ecological studies on *Laminaria religiosa* Miyabe of the coast in Kangwon Province of Korea. Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 36, 89-103.
- Notoya, M. and H.G. Kim. 1996. Influence of light intensity and temperature on callus cell propagation and differentiation to bladelets from the explants of young sporophyte of *Kjellmaniella crassifolia* Miyabe (Phaeophyta, Laminariales). Algae, 11, 179-182.
- Ozski, A., H. Mizuta and H. Yamamoto. 2001. Physiological differences between the nutrient uptakes of *Kjellmaniella crassifolia* and *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). Fish. Sci., 67, 415-419.
- Park, E.J. 2001. The effect of light and temperature on the growth and maturation of gametophytes in three *Laminaria* species from Korea. Master Thesis, Pukyong National University, Korea, 1-38.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In Cultures and Collections of Algae. Watanabe, A. and A. Hattori, eds., Jap. Soc. Plant Physiol., 63-75.
- Seki, H. and A. Suzuki. 1998. Biosorption of heavy metal ions to brown algae, *Macrocystis pyrifera*, *Kjellmaniella crassifolia*, and *Undaria pinnatifida*. J. Colloid Interface Sci., 206, 297-301.
- Seki, H. and A. Suzuki. 2002. Kinetic study of metal biosorption to a brown alga, *Kjellmaniella crassifolia*. J. Colloid Interface Sci., 246, 259-262.
- Yamamoto, H. 1986. Monthly changes in the occurrence and growth of *Kjellmaniella crassifolia* Miyabe. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ., 37, 165-170.
- Yoon, H.S., J.Y. Lee, S.M. Boo and D. Bhattacharya. 2001. Phylogeny of Alariaceae, Laminariaceae, and Lessoniaceae (Phaeophyceae) based on plastid-encoded RuBisCo spacer and nuclear-encoded ITS sequence comparisons. Mol. Phylogenet. Evol., 21, 231-243.

---

2007년 8월 24일 접수  
2007년 12월 4일 수리