

대형갈조류 감태 (*Ecklonia cava* Kjellman) 유리배우체의 재생 및 성숙 유도

위미영 · 황은경* · 김성철 · 황미숙 · 백재민 · 박찬선¹
국립수산과학원 해조류연구센터, ¹목포대학교 해양수산자원학과

Regeneration and Maturation Induction for the Free-living Gametophytes of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta)

Mi Young WI, Eun Kyoung HWANG*, Seong Cheol KIM, Mi Sook HWANG,
Jae Min BAEK and Chan Sun PARK¹

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

¹Department of Marine and Fisheries Resources, Mokpo National University, Jeonnam 534-729, Korea

Induction of regeneration and maturation for the free-living gametophytes of *Ecklonia cava* Kjellman was conducted under various temperature, irradiance and photoperiod conditions. Culture conditions for female or male gametophyte fragments were 4 temperature (5, 10, 15 and 20°C), 4 irradiance (5, 10, 20 and 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) and 3 photoperiod (14:10, 12:12 and 10:14 h L:D). Female and male gametophyte fragments were maintained in active regeneration without reaching sexual maturity under 5~10°C, 5~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 12:12 h or 10:14 h (L:D) and 15-20°C, 20-40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 14:10 h (L:D), respectively. Sexual maturation of female and male gametophytes facilitated under 15°C, 20-40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 14:10 h (L:D) and 5-10°C, 5-10 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 10:14 h (L:D), respectively. These results provide basic informations to control the regeneration or maturation of the free-living gametophytes for artificial seed production of *E. cava*.

Key words: *Ecklonia cava*, Free-living gametophyte, Regeneration, Maturation

서 론

감태 (*Ecklonia cava*)는 우리나라의 남해안과 제주도 그리고 일본 등지에 널리 분포하는 다시마목의 다년생 해조로서 점심대의 깊은 곳에서 서식하며, 해중립을 구성하는 해조로서 연안생태계에서 1차생산자로서의 중요한 기능을 담당하고 있다 (Kang and Yoo, 1993; Brown and Lamare, 1994). 또한 감태는 일본에서 식용으로 널리 이용되고 있으며, 우리나라의 경우 톳을 가공할 때 천연 착색제로 사용하거나 기능성 물질의 추출원으로 이용 (Athukorala et al., 2006; Hong et al., 2006)되고 있다. 이러한 이용도의 증가에 반하여 자연군락의 감태 자원은 점차 감소되고 있는 경향으로, 해양수산부에서는 수산자원보호령 제 9조에서 5월부터 7월까지 감태의 채취금지기간을 설정하고 있으며, 제주도의 경우 연중 감태의 채취를 금하고 있는 실정이다. 따라서 감태 자연자원의 보호와 효율적인 이용을 위해서는 감태의 대량증식과 이식 등의 방안을 마련하는 것이 필요하다.

감태는 이형세대교번을 하는 해조류로서 엽상형의 포자체세대와 현미경적 크기의 미소체인 배우체 세대가 교번한다 (Hori, 1993). 이형세대교번을 하는 다시마과의 해조류는 배우

체 세대에서 암수배우체를 각각 분리하여 무성적으로 증식시킬 수 있으며, 배우자형성을 유도할 수 있음이 확인되었다 (Lüning, 1980). 또한 최근 칠레에서는 전복 먹이원으로써 다시마류의 대량양식에 실내에서 대량증식시킨 유리 배우체를 이용하는 방안이 보고된 바 있다 (Westermeyer et al., 2006; Edding and Tala, 2003).

현재 우리나라에서 행해지고 있는 미역이나 다시마 등의 양식방법은 모조로부터 얻어진 유주자를 기질에 채묘하여 양식을 하는 방법을 사용하고 있으나 이러한 종묘생산 방법은 매년 성숙된 많은 양의 모조를 필요로 하므로 자연군락의 훼손을 야기할 가능성이 높다. 한번 훼손된 감태의 자연군락은 원래의 안정된 군락으로 회복되기 위해선 적어도 3-4년의 긴 시간이 소요된다. 그러나 유리배우체의 배양에 의한 증식 방법은 소량의 성숙 엽체만으로도 많은 양의 배우체 확보가 가능하며, 확보된 배우체는 무성적으로 대량 증식이 용이하고 지속적인 계대배양이 가능하며, 클론 배우체의 유도를 통한 우량 품종의 교배와 선발육종의 기초를 다질 수 있는 유용한 방법이라 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 감태 자연자원의 보호와 효율적인 이용을 위한 양식의 기초로서 감태 암수 배우체의 분리 배양 및 생장과 성숙 조건을 파악하여 안정적인 유리배우체의 확보와 대량배양조건을 확립하는 것을 목적으로 하였다.

*Corresponding author: ekhwang@nfrdi.go.kr

재료 및 방법

유주자 방출 및 배우체 분리

본 연구에 사용된 성숙 모조는 2007년 11월에 국립수산과학원 해조류연구센터에서 양식 실험중인 전남 완도군 약산면의 시험어장에서 채취하였다. 채취된 성숙 모조는 Ice box에 넣어 즉시 실험실로 운반한 뒤, 자낭반 부분을 절취하여 멸균해수로 수 회 세척한 후 멸균해수를 200 mL 채운 500 mL 용량의 비이커에 자낭반 조각을 넣고, Incubator (EYELA MTI-202B, Japan)을 이용하여 10°C, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 및 10:14 h (L:D)조건에서 4시간 동안 유주자 방출을 유도하였다. 방출된 유주자액 0.1 mL를 취하여 12 multi well-plate를 이용한 희석법으로 Fig. 1과 같이 유주자액을 차례로 분주하여 밀도를 낮추었다. 4-5일 후 배우체가 암수로 구별되면 도립현미경 (Axio Observer A1, Carl zeiss, Germany)하에서 각각 암배우체와 수배우체로 구분하여 별도의 직경 5 cm의 멸균된 Petri dish에 수용하여 PESI 배양액 (Tatewaki, 1966) 20 mL를 넣어 배양하면서 배양액은

2-3일 간격으로 환수하였다. 암수 배우체의 생장에 따라 배양 용기를 250 mL로 옮겨 주고 PESI 배지를 첨가하여 각각의 암수배우체 덩어리가 직경 5 mm 크기에 도달할 때까지 50-60일간 배양하였다.

유리배우체 단편의 절단 크기별 재생

유리배우체 단편의 절단 크기별 재생을 파악하기 위하여 무성적으로 대량배양된 암수 배우체 덩어리 0.1 g-fresh wt.를 멸균해수 100 mL와 함께 250 mL 비이커에 넣고 각각 호모게나이저 (DI 25 basic, GMBH & Co., Germany)의 회전속도 (8,000, 9,500, 13,500, 20,500 및 24,000 rpm) 구간별로 60초간 세단한 후 15°C와 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 조건에서 12 multi well-plate를 사용하여 20일간 정치배양한 후 배우체의 길이생장과 세포수를 도립현미경 하에서 측정하였다. 세단된 배우체의 크기 그룹별 길이 및 세포수의 생장은 배양 개시시의 배우체 평균길이 및 평균 세포수를 배양종료시의 그것과 비교하여 구하였다.

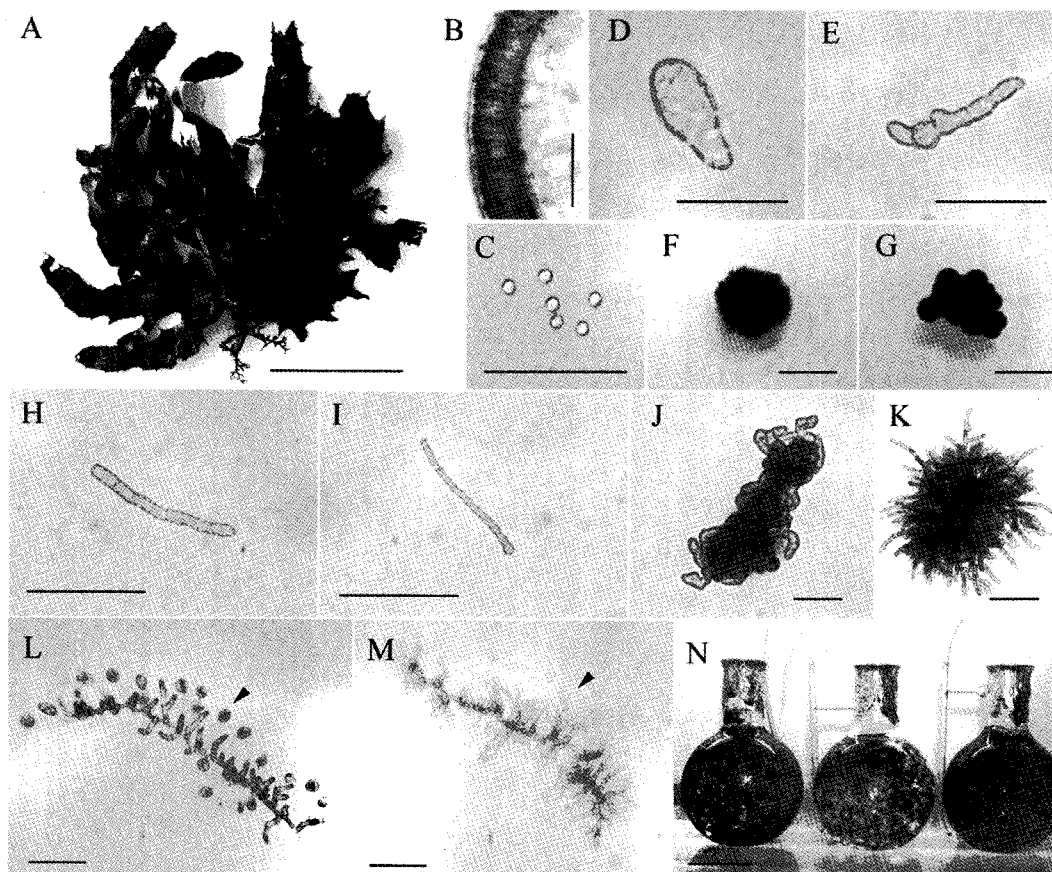


Fig. 1. Procedure of the isolation and culture of free-living gametophytes of *Ecklonia cava*. A, Mature sporophyte; B, A cross-section of sporangia; C, A germling after zoospore release; D, Female gametophyte after 3 days culture; E, Male gametophytes after 3 days culture; F, A cluster of female gametophytes; G, A cluster of male gametophytes; H, A fragment of female gametophytes; I, A fragment of male gametophyte; J, A cluster of cloned female gametophyte from a zoospore; K, A cluster of cloned male gametophyte from a zoospore; L, Oogonia formation (arrow head) from a female gametophyte fragment; M, Spermatia formation (arrow head) from a male gametophyte fragment; N, Young blades from free-living gametophyte. Scale bar are 30 cm (A), 200 μm (B), 50 μm (C-E), 5 mm (F-G), 100 μm (H-M), 10 cm (N). Culture conditions are expressed in Fig. 5.

배양조건별 유리배우체 단편의 성장 및 성숙

유리배우체의 세단 후 유리배우체 단편의 성장 및 성숙 유도에 유리한 최적 환경조건을 파악하기 위해 덩어리로 자란 암수 유리배우체를 각각 호모게나이저로 재생장이 가장 좋았던 세단 조건인 8,000 rpm의 속도로 1분간 분쇄하여, 12 multi well-plate에 PESI 배지 1 mL를 채우고 한 well당 1개씩의 암수배우체를 각각 수용하였다. 배양조건은 4개 온도구간 (5, 10, 15, 20°C)과 4개 조도구간 (5, 10, 20, 40 μmol·m⁻²·s⁻¹) 및 3개 광주기 구간 [10:14, 12:12, 14:10 h (L:D)]으로 설정하여 Multi room incubator (DS-14MCLP)를 이용하여, 배우체의 길이성장 및 성숙 여부를 도립현미경으로 관찰하였다. 조도의 측정은 LI-1400 (LI-COR, USA)으로 하였고, 조도 구간의 조절은 중성필터 (Lee Filter) ND 209, 210, 211호를 사용하여 조절하였다. 길이생장은 호모게나이저로 분쇄 후 절단된 배우체는 분지가 없는 상태의 것을 선별해 측정하였으며 PESI 배지는 7일마다 교환해 주었다. 유리배우체의 상대성장률 (RGR)은 Serisawa et al. (2002)의 방법을 응용하여 아래와 같은 식으로 구하였다.

$$RGR (\% \text{ day}^{-1}) = 100 t^{-1} \ln (V_a/V_b)$$

V_a: length at time t₂
 V_b: length at time t₁
 t: number of days from t₁ to t₂

통계분석

실내배양실험에서 얻어진 배우체 단편의 성장률에 대한 온도, 조도 및 광주기 조건에 대한 각각의 유의성 분석은 분산분석법 (one-way ANOVA)을 이용하여 실시하였으며 (Zar, 1984), 통계프로그램은 SPSS ver. 8.0과 SYSTAT ver. 9.0을 이용하여 0.05 수준에서 이루어졌다. 성장률 데이터는 통계분석 이전에 arcsine transformation하였다 (Parker, 1979).

결 과

배우체의 성장

감태 엽체 (Fig. 1A)의 자낭반 (Fig. 1B)으로부터 방출된 유주

자 (Fig. 1C)는 방출 즉시 기물에 부착하여 구형으로 착생하였다. 10°C, 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ 및 14:10 h (L:D) 광주기 조건에서 배양 3일후 각각 암배우체 (Fig. 1D) 또는 수배우체 (Fig. 1E)로 성장하였다. 각각의 암수 배우체는 통기 조건하에서 약 30일이 경과되면 Fig. 1F-G와 같이 배우체는 덩어리로 증식되었다. 호모게나이저를 이용하여 절단된 암수 배우체의 절편 (Fig. 1H-I)은 정지배양 40일후 Fig. 1J-K와 같이 각각 배우체 덩어리로 증식하였다. 이들 배우체 덩어리를 다시 세단하여 성숙을 유도한 결과 Fig. 1L-M과 같이 각각 장란기와 장정기를 형성하였으며 배양 60일후 유엽 (Fig. 1N)으로 성장하였다.

유리배우체 단편 크기별 재생

유리배우체의 단편 크기별 길이생장은 Fig. 2A와 같이 배양 개시시 유리배우체의 세단 크기가 가장 작았던 173.6±93.6 μm 조건에서 배양 20일후 485.1±112.6 μm로 증가하여 성장률이 5.1±0.6% day⁻¹로 가장 높았다. 유리배우체의 배양 개시시 세단 크기가 클수록 성장률은 2.4~-1.2% day⁻¹로 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 유리배우체의 단편 크기별 세포수 구간별 성장률은 Fig. 2B와 같이 세단시 세포수가 가장 적었던 7.9±3.0 cell/ind. 조건에서 배양 20일후 세포수가 45.7±16.8 cells/ind.로 증가하여 성장률이 8.8±0.6% day⁻¹로 가장 높았다. 유리배우체의 배양 개시시 세포수가 많을수록 성장률은 4.5~-0.1% day⁻¹로 감소하는 경향을 나타내었다.

배양조건별 유리배우체 단편의 성장

암배우체의 온도조건별 길이생장은 배양 10일 이후부터 15°C 조건에서 빠르게 길이생장이 증가하기 시작하여 20일후 최대 341.6±62.7 μm로 타 온도 구간에 비하여 가장 높았다 (Fig. 3A). 조도구간별로는 배양 10일 이후부터 5와 10 μmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에 비하여 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ 이상의 조도구간에서 암배우체의 길이생장이 빠르게 증가하였다 (Fig. 3B). 광주기 조건별로는 배양 5일까지는 10:14 h (L:D) 조건에서 길이생장이 빠르게 증가하였으나 이후 14:10 h (L:D) 조건에서 타 광주기 조건에 비하여 길이생장이 빠르게 증가하여 배양 20일

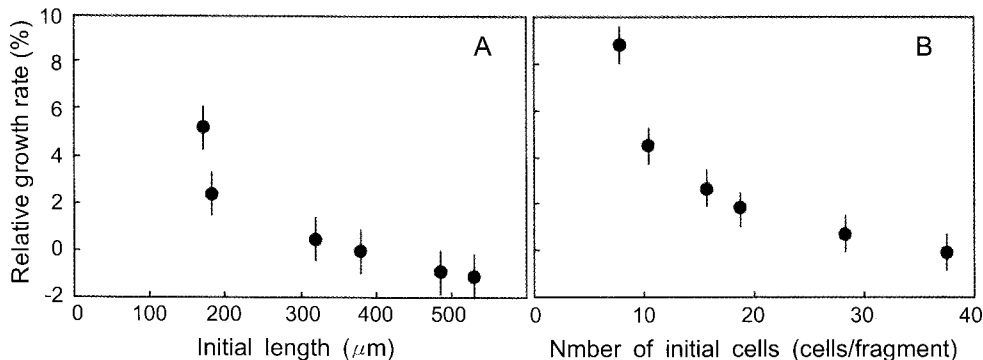


Fig. 2. Relative growth rate of gametophytic fragments in *Ecklonia cava* according to the different number of initial cells (A) and initial length (B) after 20 days culture under 15°C, 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ and 14:10 h (L:D). Vertical bars represent SD.

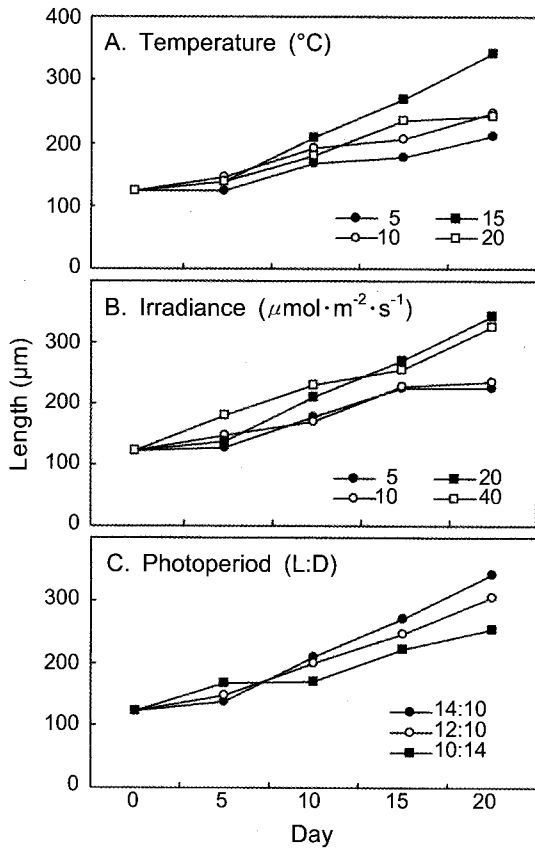


Fig. 3. Length of female gametophyte under different temperature, irradiance and photoperiod conditions during 20 days in *Ecklonia cava*.

후 최대 371.0±37.1 µm에 달하였다 (Fig. 3C).

암배우체의 온도조건별 성장율은 Table 1과 같이 15°C 조건에서 5.1±0.1% day⁻¹로 가장 높았으며, 5°C 조건에서 2.6±0.2 µm/day로 가장 낮았다 (P<0.05). 조도구간별로는 20 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 5.1±0.1 µm/day로 가장 높았으며, 5 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 3.1±0.7% day⁻¹로 가장 낮았다 (P<0.05). 광주

기 조건별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 5.1±0.1% day⁻¹로 가장 높았고, 10:14 h (L:D)에서 3.6±0.3% day⁻¹로 가장 낮았다 (P<0.05).

수배우체의 온도조건별 생장은 배양 15일후부터 15°C 조건에서 빠르게 길이생장이 증가하기 시작하여 배양 20일 후 최대 371.0±37.1 µm로 타 온도 조건에 비하여 가장 높았으며, 5°C에서 길이생장이 가장 저조하였다 (Fig. 4A). 조도구간별로는 20 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 길이생장의 증가가 가장 빨랐으며, 5 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 가장 저조하였다 (Fig. 4B). 광주기 구간별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 길이생장이 가장 빠르게 증가하여 371.0±37.1 µm로 최대치를 보였으며, 12:12와 10:14 h (L:D) 조건에서는 253.0-304.2 µm로 길이생장이 저조하였다 (Fig. 4C).

수배우체의 온도조건별 성장율은 Table 1과 같이 15°C 조건에서 4.4±0.1% day⁻¹로 가장 높았으며 5°C 조건에서 1.5±0.3% day⁻¹로 가장 낮았다 (P<0.05). 조도구간별로는 20 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 4.4±0.1% day⁻¹로 가장 높았으며, 5 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 1.5±0.1% day⁻¹로 가장 낮았다 (P<0.05). 광주기 조건별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 4.4±0.1% day⁻¹로 가장 높았으나 10:14 h (L:D)과 12:12 h (L:D)에서는 각각 2.7±0.1% day⁻¹ 및 3.1±0.2% day⁻¹로 유의한 차이가 없었다 (P>0.05).

배양조건별 유리배우체 단편의 성숙

암배우체의 성숙은 Table 2와 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도조건별로는 15°C 조건에서 배양 10일후 가장 먼저 장란기가 형성되기 시작하여, 15일후 30% 이상의 암배우체가 장란기를 형성하였고, 배양 20일후에는 약 50% 이상의 암배우체가 장란기 형성을 나타내었다. 그러나 5-10°C 조건에서는 배양 20일까지 장란기의 형성이 관찰되지 않았다. 조도조건별로는 20 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 배양 10일후 약 10%의 암배우체가 장란기를 형성하였으며 40 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서는 배양 15일후 장란기의 형성을 나타내었으나, 5-10 µmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서는 배양 20일까지 장

Table 1. Relative growth rate of free-living gametophytes in *Ecklonia cava* according to different temperature, irradiance and photoperiod conditions

Experimental conditions	Initial length (µm±SD)		Final length (µm±SD)		Relative growth rate (% day ⁻¹)		
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	
Temperature (°C)	5	122.1±23.6	152.4±30.3	210.9±35.2	206.0±46.9	2.7±0.2 ^a	1.5±0.3 ^a
	10			247.8±50.5	242.1±47.6	3.5±0.4 ^b	2.3±0.2 ^b
	15			341.6±62.8	371.0±37.1	5.1±0.1 ^c	4.4±0.1 ^c
	20			243.3±53.4	270.7±33.9	3.4±0.1 ^b	2.9±0.2 ^b
Irradiance (µmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	5	122.1±23.6	152.4±30.3	225.1±20.5	207.2±16.7	3.1±0.1 ^a	1.5±0.1 ^a
	10			236.0±48.9	223.2±53.8	3.3±0.3 ^a	1.9±0.2 ^a
	20			341.6±62.8	371.0±37.1	5.1±0.1 ^b	4.4±0.1 ^b
	40			323.8±55.1	286.8±34.0	4.9±0.3 ^b	3.2±0.2 ^c
Photoperiod (L:D)	14:10	122.1±23.6	152.4±30.3	341.6±62.8	371.0±37.1	5.1±0.1 ^a	4.4±0.1 ^a
	12:12			304.2±33.7	282.3±31.0	4.6±0.2 ^b	3.1±0.2 ^b
	10:14			253.0±37.4	260.7±36.7	3.6±0.3 ^c	2.7±0.1 ^b

Values (Mean±S.D. of triplicate groups) in same column having the different superscripts are significantly different (P<0.05).

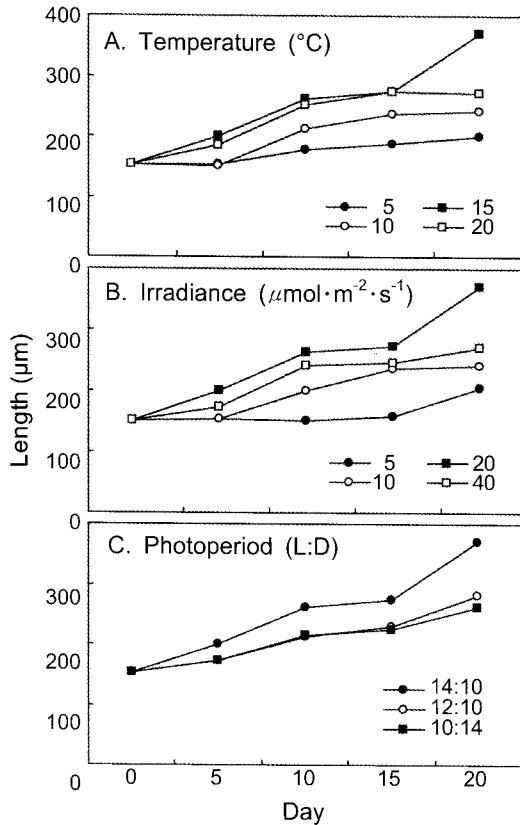


Fig. 4. Length of male gametophyte under different temperature, irradiance and photoperiod conditions during 20 days in *Ecklonia cava*.

Table 2. Gametophytic maturation and formation of female gametophyte under temperature, irradiance and photoperiod conditions in *Ecklonia cava*

Conditions	Day					
	0	5	10	15	20	
Temperature (°C)	5	-	-	-	-	
	10	-	-	-	-	
	15	-	-	+	++	+++
	20	-	-	-	+	++
Irradiance (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	5	-	-	-	-	
	10	-	-	-	-	
	20	-	-	+	++	+++
	40	-	-	-	+	+++
Photoperiod (L:D)	14:10	-	-	+	++	+++
	12:12	-	-	-	-	+
	10:14	-	-	-	-	+

-, sterile; +, less than 10% in formation rate of oogonium; ++, less than 30% in formation rate of oogonium; +++, less than 50% in formation rate of oogonium.

란기가 형성되지 않았다. 광주기 조건별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 배양 10일후 가장 먼저 장란기의 형성이 관찰되었으며 12:12h 및 10:14 h (L:D) 조건에서는 배양 20일후 장란기의 형성이 관찰되었다.

Table 3. Gametophytic maturation and formation of male gametophyte under temperature, irradiance and photoperiod conditions in *Ecklonia cava*

Conditions	Day					
	0	5	10	15	20	
Temperature (°C)	5	-	+	+	+	+
	10	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-
Irradiance (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	5	-	-	-	+	+
	10	-	-	+	+	+
	20	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-
Photoperiod (L:D)	14:10	-	-	-	-	-
	12:12	-	-	-	-	+
	10:14	-	-	+	+	+

-, sterile; +, formation of antheridium.

수배우체의 성숙은 Table 3과 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도조건별로는 배양 5일후 5-10°C 조건에서 장정기의 형성이 나타나기 시작하였으나, 15-20°C 조건에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다. 조도조건별로는 배양 10일후 10 μmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서 가장 먼저 장정기의 형성이 관찰되었으며, 5 μmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서는 배양 15일후 장정기의 형성이 관찰되었으나, 20-40 μmol·m⁻²·s⁻¹ 조건에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다. 광주기 조건별로는 10:14 h (L:D) 조건에서 배양 10일후 가장 먼저 장정기가 형성되기 시작하였으며, 12:12 h (L:D)에서는 배양 20일 후 장정기의 형성이 관찰되었으나, 14:10 h (L:D)에서는 배양 10일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다.

고 찰

감태는 주로 전복 (*Haliotis discus hannai*)과 소라 (*Batillus cornutus*) 등의 먹이가 되며 산란 및 서식처의 역할을 하는 해중립의 주요 구성원이다. 따라서 감태의 효과적인 자연 자원관리와 보호 및 증식을 위해서는 성숙 모조를 최소로 사용하면서 지속적인 증식의 최대효과를 가져올 수 있는 유리배우체의 증식에 의한 종묘생산 방법의 이용방안 마련이 필요하다.

감태 유리배우체의 배양 체계 확립은 자연에서의 업체 성숙 시기와는 독립적으로 연중 종묘생산이 가능하게 됨을 의미한다. 또한 대형갈조류의 종묘생산 방법에서 유주자를 수집하여 채묘하는 기존의 전통적인 양식방법에서 벗어나 소량의 모조로부터 암수 배우체를 분리 배양하고 재생을 통한 클론 배우체를 대량 증식시킴으로써 목적으로 하는 양식 대상 형질의 품종개량 등에도 적용될 수 있는 유용한 방법이다. 이와 같은 사실은 최근 Westermeier et al. (2006) 등은 다시마과의 대형갈조류인 *Lessonia trabeculata*와 *Macrocystis pyrifera*의 유리배우체 배양에 의한 양식에 성공함으로써 유리배우체의 배양을

이용한 대량양식이 가능함을 입증한 바 있다.

이러한 대형갈조류의 유리배우체 배양방법을 감태 종묘생산에 적용하기 위해서는 먼저 각각의 암수배우체의 분리, 성장 및 성숙 유도 조건을 구명해야하는데, 특히 유리배우체의 성숙 유도를 위한 적정 배양조건을 구명이 중요하다. 본 연구 결과 감태 배우체의 성숙에 대한 온도, 조도와 광주기의 영향은 암수 배우체에서 각각 차이를 나타내었다. 암배우체의 경우 15°C, 20 μmol·m⁻²·s⁻¹, 14:10 h (L:D)에서 배양 10일 경과 후 성숙개체가 관찰되었고, 5-10°C 구간에서는 배양 10일이 경과하여도 성숙하지 않았다 (Table 1). 이는 Kim et al. (2007)의 고풍배우체 배양 실험결과와 같이 5-10°C 배양 실험구에서 배우체의 발아와 생장이 늦은 것과 유사한 결과라 할 수 있다. 수배우체의 경우 5-10°C, 20 μmol·m⁻²·s⁻¹, 14:10 h (L:D)에서 배양 5일 경과 후 성숙개체가 관찰되었으며, 15°C, 10 μmol·m⁻²·s⁻¹, 10:14 h (L:D)에서는 10일 경과 후 관찰되었다 (Table 2).

유리배우체의 세단은 단편의 크기가 작을수록 그리고 세포수가 적을수록 길이생장이나 세포수의 증가측면에서 생장을

이 높게 나타나는 경향을 보였는데 (Fig. 2), 이는 김의 경우 유리사상체를 패각에 잠입시키기 위해 인위적으로 5-10 μm 크기로 세단하여 배양 또는 패각에 잠입을 시키는 것이 보다 효과적이라는 것을 고려한다면, 감태의 유리배우체 역시 단편의 크기가 작을수록 빠른 재생을 보이므로 대량증식에 적합한 특징을 가지고 있다고 할 것이다.

본 연구의 결과로 볼 때 감태 암배우체는 10°C 이하의 낮은 온도와 10 μmol·m⁻²·s⁻¹ 이하의 낮은 조도 및 12:12 h (L:D) 또는 10:14 h (L:D) 조건에서 성숙은 억제되는 반면 영양생장은 우세하며, 15-20°C, 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ 이상 및 14:10 h (L:D) 조건에서는 배양 10일 이내에 성숙에 도달함을 알 수 있었다. 수배우체의 성장 및 성숙은 암배우체 보다 높은 온도인 15-20°C와 20 μmol·m⁻²·s⁻¹ 이상의 높은 조도 및 14:10 h (L:D) 조건에서 성숙이 억제되는 반면 영양생장은 우세하였으며, 5-10°C의 낮은 온도, 5-10 μmol·m⁻²·s⁻¹의 낮은 조도 및 12:12 h (L:D) 또는 10:14 h (L:D) 조건에서 성숙에 빠르게 도달함을 알 수 있다. 따라서 감태의 유리배우체를 대량 증식 시키고자 할 때는 암수배우체를 각각 분리하여 영양생장

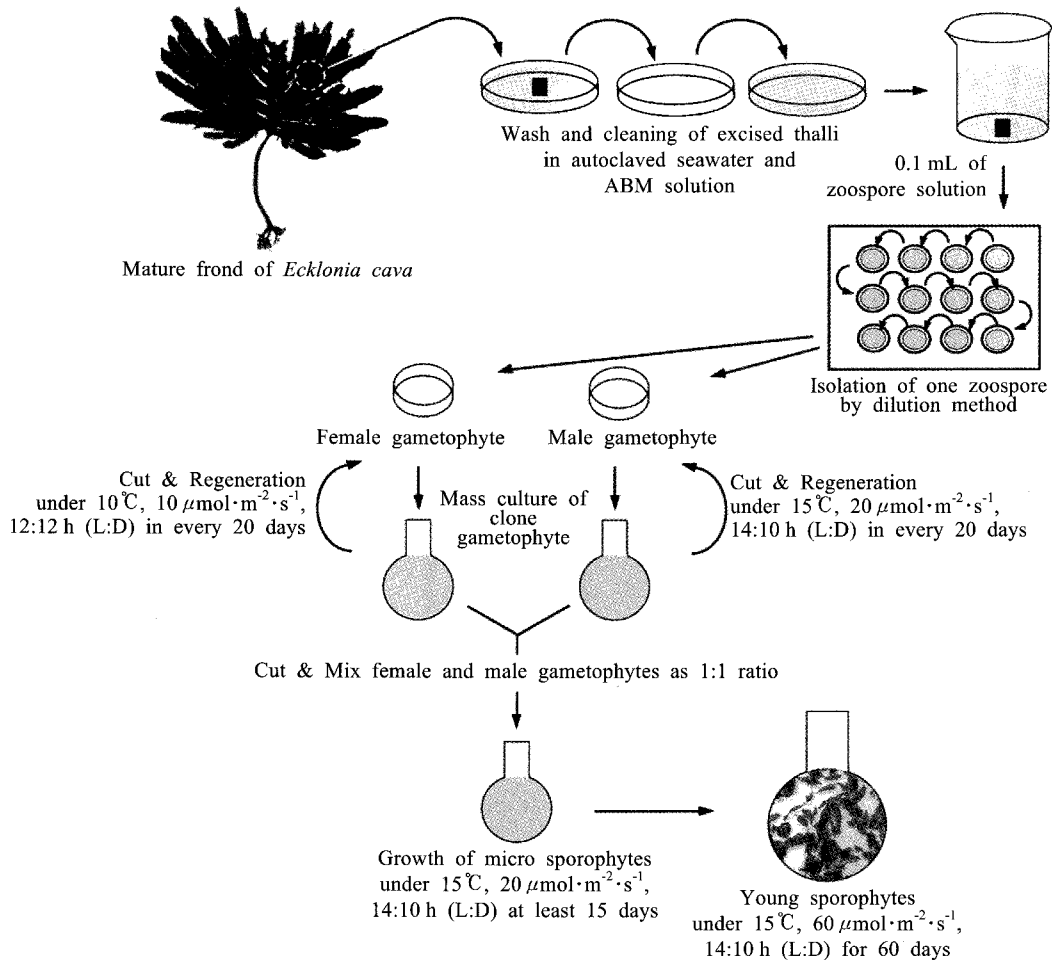


Fig. 5. A manual for the mass culture of free-living gametophytes in *Ecklonia cava* including the culture conditions for the regeneration and maturation induction.

에 적합한 배양조건하에서 증식시킨 후 포자체 수집을 위한 유리배우체의 성숙 유도를 위해서는 성숙 유도 조건으로 전환하여 암수배우체의 혼합 배양을 실시함으로써 효과적인 인공종묘생산이 이루어질 수 있다. 이와 같은 감태 배우체의 대량배양 체계는 Fig. 5와 같이 요약되었다.

해조류의 성장 및 분포는 물리적 요인과 화학적 요인에 의하여 영향을 받는데 이 중 조도와 온도는 해조류의 성장 및 생식에 중요한 제한 요인으로 작용한다는 것에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다 (Gerard, 1984; Leukart and Lüning, 1994; Bolton and Lewitt, 1985; Novacek and McLachlan, 1987). 조하대에 서식하는 일부 해조류들은 성장하는데 높은 조도를 요구하기도 하지만, 대부분의 대형 갈조류들은 낮은 조도 조건에 적응되어 있다 (Kain, 1964; Fain and Murray, 1982). 이와 같은 사실은 자연생태에서 조하대의 저질에 부착 서식하는 대형갈조류는 균락을 이루며 성장하기 때문에 성엽의 수관층 아래 부분은 그늘로 낮은 광량 조건을 이루게 되는데 바로 이러한 곳에서 배우체들은 적응하여 생존하므로 실내 배우체의 대량배양에서도 이러한 광 조건의 특성이 반영된 것으로 보아야 할 것이다.

다시마류의 배우체 성숙에 영향을 미치는 요인인 빛, 온도와 영양염들은 상호 복합적으로 영향을 주고받는 관계에 있다 (Lüning, 1980). 따라서 배우체의 성숙 억제를 위한 방법으로는 Lewis et al. (1993)이 지적한 바와 같이 각 성별 배우체를 분리하여 배양하는 방법이 있으나 암배우체의 배양시 종종 단성생식이 일어나기도 한다 (Ar Gall et al., 1996). 본 연구 결과에서는 감태 암수배우체의 분리 배양을 통하여 성숙은 억제되고 지속적으로 재생이 이루어지는 조건과, 성숙이 유도되는 조건은 암수배우체별로 차이를 보였다. 일반적으로 대형갈조류는 암수배우체를 분리하지 않고 동일 조건에서 함께 배양할 경우 수배우체가 암배우체보다 약 3-5일 정도 빨리 성숙하는 경향이 있는데, 이는 암배우체로부터 분비되는 성 유인물질이 수배우체 조정기의 선단부 세포벽을 분해시켜 (Maier, 1982), 정자가 세포벽 밖으로 헤엄쳐 나오게 하여 수정을 용이하게 하기 위한 하나의 생식 촉진 전략으로 보여진다. 그러나 암수배우체를 분리 배양한 결과 온도, 조도 및 광주기 조건별로 암수배우체가 성숙에 도달하는 시간에서 차이를 나타낸 것은, 향후 암수배우체의 성숙유도에 대한 적산온도, 조도 및 광주기의 단독 또는 복합적 영향에 대한 정량적인 연구를 통해 그 원인을 보다 상세히 구명할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 감태 암수배우체의 분리배양시 유리배우체의 성장 및 성숙 유도를 위한 최적배양 조건을 구명하고 이를 이용한 인공채묘기법을 개발하여 대량 양식에 이용할 수 있는 기초자료로 사용하고자 하였다. 이러한 감태 유리배우체의 증식 및 성숙 유도를 위한 배양조건의 구명은 인공채묘기법의 개발과 대량 양식 가능성을 크게 높여 해조 양식 대상종을 다양화하고, 해중립 조성을 위한 다년생 해조류의 대상종 확

대에 크게 기여할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2008년도 국립수산물과학원 (해조류 품종개발 및 양식기술개발, 인턴연구원 지원사업, RP-2008-AQ-046)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Ar Gall, E., A. Asensi, D. Marie and B. Kloareg. 1996. Parthenogenesis and apospory in the Laminariales: a flow cytometry analysis. *Eur. J. Phycol.*, 31, 369-380.
- Athukorala, Y., K.N. Kim and Y.J. Jeon. 2006. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1065-1074.
- Bolton, L.L. and G.J. Lewitt. 1985. Light and temperature requirements for growth and reproduction in gametophytes of *Ecklonia maxima* (Alariceae, Laminariales). *Mar. Biol.*, 87, 131-135.
- Brown, M.T. and M.D. Lamare. 1994. The distribution of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar within Timaru Harbour, New Zealand. *Jpn. J. Phycol.*, 42, 63-70.
- Edding, M.E. and F.B. Tala. 2003. Development of techniques for the cultivation of *Lessonia trabeculata* Villouta et Santelices (Phaeophyceae: Laminariales) in Chile. *Aqua. Res.*, 34, 507-515.
- Fain, S.R. and S.N. Murray. 1982. Effects of light and temperature on net photosynthesis and dark respiration of gametophytes and embryonic sporophytes of *Macrocystis pyrifera*. *J. Phycol.*, 18, 92-98.
- Gerard, V.A. 1984. The light environment in a giant kelp forest: influence of *Macrocystis pyrifera* on spatial and temporal variability. *Mar. Biol.*, 84, 189-195.
- Hong, J.H., B.S. Son, B.K. Kim, H.Y. Chee, K.S. Song, B.H. Lee, H.C. Shin and H.C. Lee. 2006. Antihypertensive effect of *Ecklonia cava* extract. *Korean J. Pharmacol.*, 37, 200-205.
- Hori, T. 1993. An illustrated atlas of life history of algae. Vol. 2 Brown and red algae. Uchida Rokakuho Publ., Tokyo, 1-345.
- Kain, J.M. 1964. Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. III. Survival and growth of gametophytes. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 44, 415-433.
- Kang, L.S. and S.J. Yoo. 1993. The acute toxicity of three oils to the early life of *Undaria pinnatifida* (Harvey)

- Suringar. Korean J. Phycol., 8, 77-82.
- Kim, D.S., J.P. Hong., Y.D. Kim., H.I. Song. and H.G. Kim. 2007. Seed production and cultivation of *Ecklonia stolonifera* Okamura, Phaeophyta. J. Kor. Fish Soc., 20, 7-13.
- Leukart, P. and K. Lüning. 1994. Minimum spectral light requirements and maximum light levels for long-term germling growth of several red algae from different water depth and a green alga. Eur. J. Phycol., 29, 103-112.
- Lewis, R.J., B.Y. Jiang, M. Neushul and X.G. Fei. 1993. Haploid parthenogenetic sporophytes of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). J. Phycol., 29, 363-369.
- Lüning, K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria species* (Phaeophyceae). J. Phycol., 16, 1-15.
- Maier, I. 1982. New aspects of pheromone-triggered spermatozoid release in *Laminaria digitata* (Phaeophyta). Protoplasma, 113, 137-143.
- Novaczek, I. and J. McLachlan. 1987. Correlation of temperature and daylength responses of *Sphaerotrichia divaricata* (Phaeophyta, Chordariales) with field phenology in Nova Scotia and distribution in eastern North America. Br. Phycol. J., 22, 215-219.
- Parker, R.E. 1979. Introductory statistics for biology. 2nd edition. Edward Arnold, London, 1-122.
- Serisawa, Y., Y. Yokohama, Y. Aruga and J. Tanaka. 2002. Growth of *Ecklonia cava* (Laminariales, Phaeophyta) sporophytes transplanted to a locality with different temperature conditions. Phycol. Res., 50, 201-207.
- Tatewaki, M. 1966. Formation of a crustaceos sporophyte with unilocular sporangia in *Scytosiphon lomentaria*. Phycologia, 6, 62-66.
- Westermeier, R., D. Patiño, M.I. Piel, I. Maier and D.G. Mueller. 2006. A new approach to kelp mariculture in Chile: production of free-floating sporophyte seedlings from gametophyte cultures of *Lessonia trabeculata* and *Macrocystis pyrifera*. Aqua. Res., 37, 164-171.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Engelwood Cliffs, N.J., 1-718.

2008년 8월 21일 접수

2008년 10월 20일 수리