

## 갈조류 다시마 유리배우체의 분리, 재생 및 성숙 유도

황은경 · 유호창 · 김세미 · 백재민 · 박찬선<sup>1,\*</sup>

국립수산과학원 해조류바이오연구센터,  
<sup>1</sup>국립목포대학교 해양수산자원학과

### Isolation, Regeneration and Maturation Induction of Free-living Gametophytes of *Saccharina japonica* (Phaeophyceae)

Eun Kyoung Hwang, Ho Chang Yoo, Se Mi Kim, Jae Min Baek and Chan Sun Park<sup>1,\*</sup>

Seaweed Research Center, NFRDI, Mokpo 530-420, Korea

<sup>1</sup>Department Marine Resources, Mokpo National University, Muan 534-830, Korea

**Abstract - Induction of regeneration and maturation of the free-living gametophytes of *Saccharina japonica* was studied at four temperatures (5, 10, 15 and 20°C), four levels of irradiance (5, 10, 20 and 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and three photoperiods (14 : 10, 12 : 12 and 10 : 14 h L : D). Female gametophyte fragments were maintained in active regeneration without reaching sexual maturity under conditions of 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10 : 14 h (L : D), whereas the conditions for male gametophytes were slightly different at 15°C, 5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14 : 10 h (L : D). The sexual maturation of female and male gametophytes took place under 5°C, 20~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10 : 14 h (L : D) and 15°C, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10 : 14 h (L : D), respectively. These results provide basic information for controlling the regeneration and maturation of free-living gametophytes for strain improvement and cross breeding of *S. japonica*.**

**Key words: free-living gametophyte, maturation, regeneration, *Saccharina japonica***

## 서 론

다시마는 갈조류강, 다시마과에 속하는 갈조류로, 2012년 전 세계 해조류 생산량 23,776,449톤의 24%인 5,682,078톤이 생산되어, 세계에서 *Eucheuma* spp.에 이어 두 번째로 많은 양이 양식되고 있는 유용 해조류이다(FAO 2012). 다시마 양식은 중국, 우리나라, 북한 및 일본 등에서 주로 이루어지고 있으며(Brinkhuis *et al.* 1987), 중국이 가장 많은 4,895,030

톤으로 전 세계 다시마 생산량 중 86%의 생산량을 차지하고 있다(FAO 2012).

중국은 1930년대부터 다시마 양식을 시작하였으며, 여름 채묘법 (summer sporeling-rearing)을 이용한 인공종묘 생산 기법, 부상대 양식 (floating raft cultivation) 및 중국 남부 해역 이식 (Tseng 1981; Zemke-White and Ohno 1999) 등의 기술개발을 통해 생산량을 폭발적으로 증가시켜 왔다 (Liu *et al.* 2014).

현재까지 다시마의 육종에 대한 연구는 선발육종 (Fang *et al.* 1962), 돌연변이 육종 (Algal Breeding Team of Qingdao Maricultural Institute 1976), 유리배우체 교잡 (Fang *et al.* 1962, 1985; Zhang *et al.* 2007), 잡종강제 (Li *et al.* 2007,

\* Corresponding author: Chan Sun Park, Tel. 061-450-2396, Fax. 061-452-8875, E-mail. cspark85@mokpo.ac.kr

2008), 순계 및 자가교배법 (Liu *et al.* 2014)에 의한 육종기법을 발전시켜, 고생산성, 고품질 및 고수온내성 다시마 품종을 개발해 왔다.

다시마는 갈조류 다시마과 (Lee and Kang 1986)에 속하며 알긴산, 만니톨과 요오드 등 유용성분을 함유하고 있어, 식용 및 사료용으로 폭넓게 이용될 뿐만 아니라 연안 환경 개선에도 기여하고 있다 (Liu *et al.* 2014). 이러한 다시마의 유용성은 현재 우리나라 남해안에서 크게 발전되고 있는 전복산업의 먹이원 확보와 소비자의 웰빙 소비 추세에 따른 수요 증가에 의해 시장의 수요가 급격히 증가할 것임을 예측할 수 있게 해준다. 따라서 우리나라에서도 미래의 다시마 수요 증가에 대비한 생산량 증대를 위해 고수온 내성 및 고품질 다시마 품종 개발에 노력을 기울여야 할 때이다.

다시마는 원산만 이북에서만 서식하는 것으로 알려져 있었으나 (Kang 1966), 1967년 일본 북해도로부터 동해안에 이식된 후, 서해안과 남해안으로 재이식되어, 오늘날과 같이 양식이 이루어지고 있으나 품종개발에 대한 노력은 거의 이루어지지 않았다.

다시마는 이형세대교번을 하는 해조류로서 배우체 세대에서 암수배우체를 각각 분리하여 무성적으로 증식시킬 수 있으며, 필요시 배우자형성을 유도할 수 있다 (Lüning 1980). 또한 다시마류의 유리배우체를 대량증식 시켜 양식에 이용하는 연구들이 보고되었으며 (Edding and Tala 2003; Westermeyer *et al.* 2006), 중국에서는 다시마와 미역의 품종육종 및 양식에 유리배우체의 대량배양 기법을 적극적으로 이용하고 있는 추세이다. 국내에서도 감태, 곰피 및 넓미역의 유리배우체 재생 및 성숙 유도에 관한 연구들이 (Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2010; Hwang *et al.* 2011) 보고된 바 있어 유리배우체에 의한 대량양식 기술의 전망을 밝게 해주고 있다.

본 연구에서는 다시마의 암수 배우체의 분리 배양 및 성장과 성숙 조건을 파악하여 안정적인 유리배우체의 배양조건을 확립함으로써 효율적인 다시마 품종개발 및 육종의 기초를 제고하는 것을 목적으로 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 다시마 유주자 방출 및 배우체 분리

본 연구에 사용된 성숙 모조는 국립수산물연구원 해조류바이오연구센터에서 양식 실험중인 전남 완도군 약산면의 시험어장에서 2009년 7월에 채취하였다. 모조는 Ice box에 넣어 즉시 실험실로 운반한 뒤, 자낭반 부분을 절취하여 멸균해수로 수 회 세척한 후 멸균해수를 200 mL 채운 500 mL 용

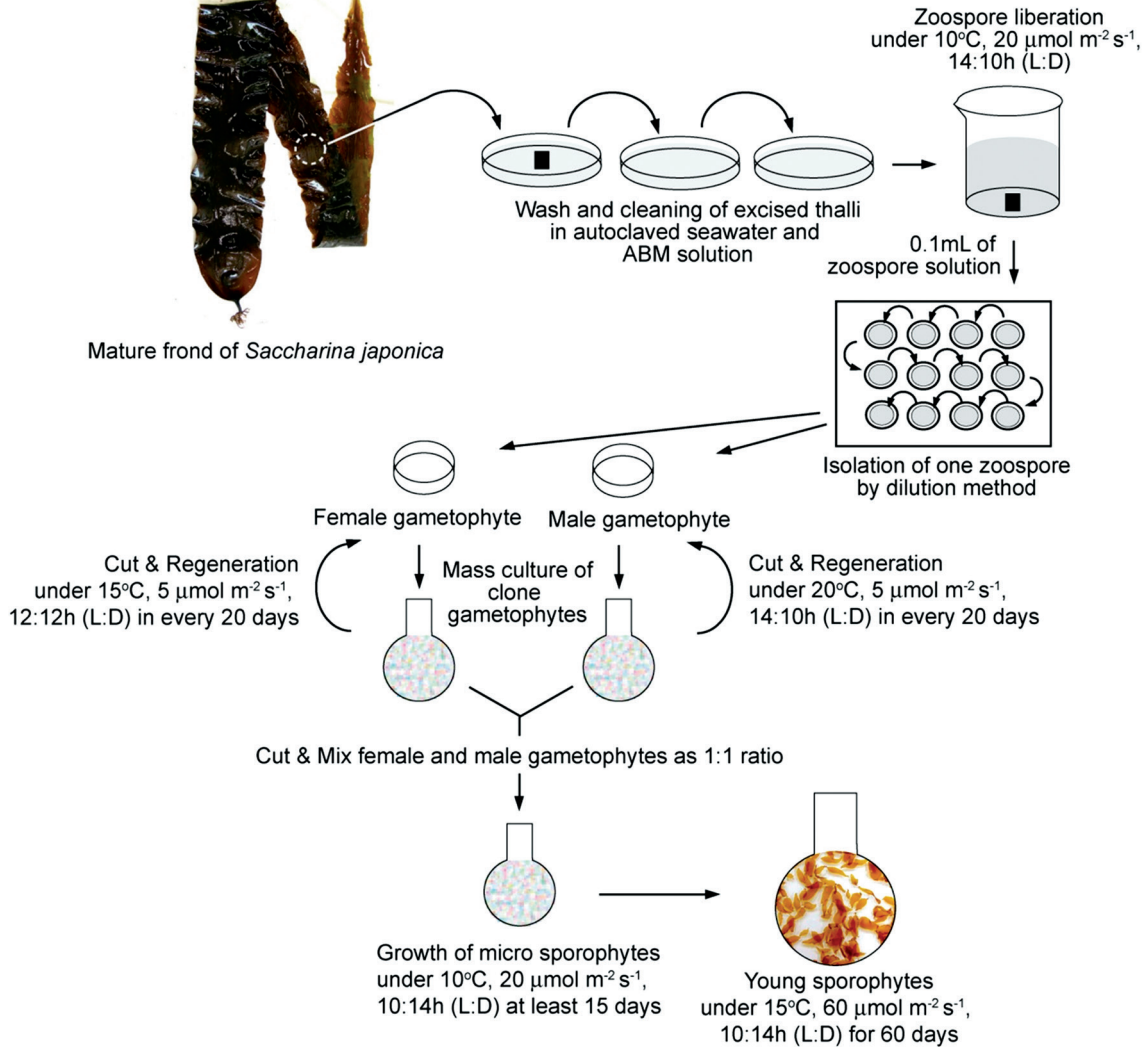
량의 비이커에 자낭반 조각을 넣고, Incubator (EYELA MTI-202B, Japan)을 이용하여 10°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  및 10:14h(L:D)조건에서 4시간 동안 유주자 방출을 유도하였다. 방출된 유주자액 0.1 mL를 취하여 12 multi well-plate를 이용하여 희석법으로 Fig. 1과 같이 유주자액을 차례로 분주하여 밀도를 낮추었다. 4~5일 후 배우체가 암수로 구별되면 도립현미경 (Axio Observer A1, Carl zeiss, Germany) 하에서 각각 암 배우체와 수배우체로 구분하여 별도의 직경 5 cm의 멸균된 petri dish에 수용하여 PESI 배양액 20 mL를 넣어 2~3일 간격으로 환수하였다. 암수배우체의 성장에 따라 배양용기를 250 mL로 옮겨 주고 PESI 배지를 첨가하여 각각의 암수배우체 덩어리가 직경 5 mm 크기에 도달할 때까지 60일간 통기배양하였다.

### 2. 다시마 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 200 mL 비이커에 넣고 각각 호모게나이저 (DI 25basic, GMBH & Co., Germany)를 이용해 8,000 rpm의 속도로 1분, 3분, 5분간 세단한 후 암수 배우체를 분리하여 15°C와 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 조건에서 12 multi well-plate를 사용하여 7일간 정치배양한 후 배우체의 길이 생장은 도립현미경 (Axio Observer A1, Carl zeiss, Germany) 하에서 측정하였다. 세단된 배우체의 재생길이는 배양 시작시의 배우체 평균 길이를 배양 완료시의 평균 길이와 비교하여 구하였다.

### 3. 유리배우체 단편의 성장 및 성숙

유리배우체 절단 후 유리배우체 단편의 성장 및 성숙 유도에 유리한 최적 환경을 파악하기 위하여 덩어리로 자란 암수 유리배우체를 Hwang *et al.* (2010, 2011)의 방법에 의하여 분쇄하였다. 배양조건은 4개 온도구간 (5, 10, 15, 20°C)과 4개 조도구간 (5, 10, 20, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 및 3개 광주기 구간 [10:14, 12:12, 14:10h(L:D)]으로 설정하여 multi room incubator (DS-14MCLP)를 이용하여, 배우체의 길이 성장 및 성숙 여부를 도립현미경으로 관찰하였다. 온도구간별 실험시 조도 및 광주기는 각각 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  및 14:10h(L:D), 조도구간별 실험시 온도 및 광주기는 각각 15°C, 14:10h(L:D)였으며, 광주기구간별 실험시 온도 및 조도는 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 설정하였다. 조도의 측정 및 조도구간의 조정은 Hwang *et al.* (2011)의 방법을 적용하였다. 길이 생장은 호모게나이저로 분쇄 후 절단된 배우체는 분지가 없



**Fig. 1.** A manual for the mass culture of free-living gametophytes in *Saccharina japonica* including the culture conditions for the regeneration and maturation induction.

는 상태의 것을 선별해 측정하였으며, PESI 배지는 7일마다 교환해 주었다. 유리배우체의 상대성장률 (RGR)은 Wi *et al.* (2008) 및 Hwang *et al.* (2010)의 방법을 이용하여 구하였다.

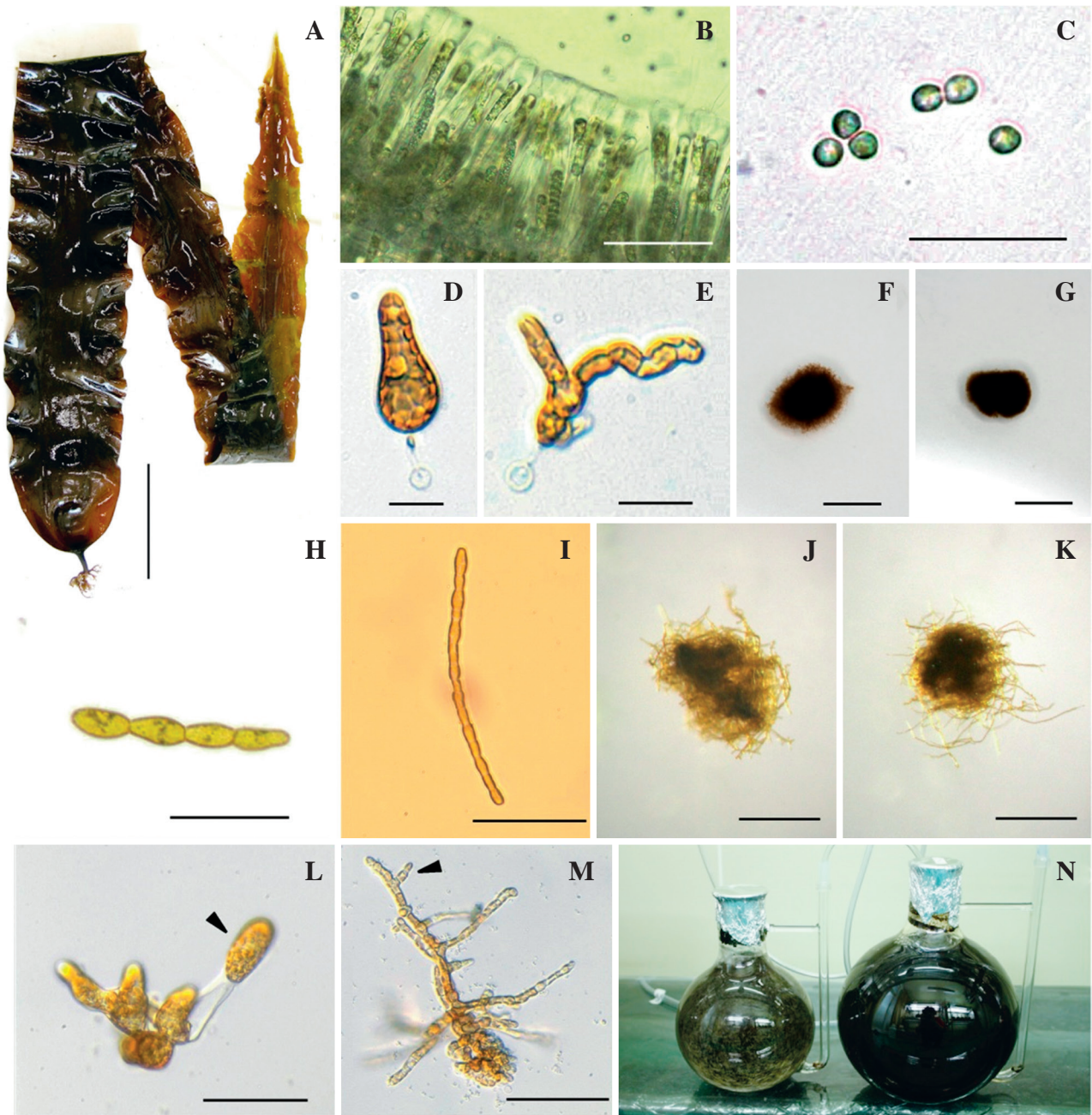
#### 4. 통계분석

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 유의수준 0.05 수준에서 이루어졌다. 성장률 데이터는 통계분석 이전에 arcsine transformation하였다 (Parker 1979).

## 결 과

### 1. 다시마 유리배우체의 분리 및 재생

다시마 엽체 (Fig. 2A)의 자낭반 (Fig. 2B)으로부터 방출된 유주자 (Fig. 2C)는 방출 즉시 기물에 부착하여 구형으로 착생하였으며, 15°C와 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  및 14:10 h (L:D) 광주기 조건에서 배양 3일 후 각각 암배우체 (Fig. 2D) 또는 수배우체 (Fig. 2E)로 성장하였다. 각각의 암수 배우체는 통기조건하에서 약 30일이 경과되면 Fig. 2 (F, G)와 같이 배우체 덩어리로 증식되었다. 호모게나이저를 이용하여 절단된 암수 배우체의 절편 (Fig. 2H, I)은 배양 40일 후 Fig. 2 (J, K)



**Fig. 2.** Procedure of the isolation and culture of free-living gametophytes of *Saccharina japonica*. A: Mature sporophyte. B: A cross-section of sporangia. C: Germling after zoospore release. D: Female gametophyte after 5 days culture. E: Male gametophytes after 5 days culture. F: A cluster of female gametophyte after 20 days culture. G: A cluster of male gametophyte after 20 days culture. H: A fragment of female gametophyte. I: A fragment of male gametophyte. J: Regenerated cluster of female gametophyte originated from a fragment. K: Regenerated cluster of male gametophyte originated from a fragment. L: Oogonia formation (arrow head) after 15 days maturation induction from a female gametophyte fragment. M: Spermatia formation (arrow head) from a male gametophyte fragment. Scale bars are 30 cm (A), 50  $\mu$ m (B), 20  $\mu$ m (C-E), 5 mm (F, G), 50  $\mu$ m (H, I), 1 mm (I-K) and 100  $\mu$ m (L, M).

와 같이 각각 배우체 덩어리로 증식하였다. 이들 배우체 덩어리를 다시 세단하여 성숙을 유도한 결과 Fig. 2 (L, M)와 같이 각각 장란기와 장정기를 형성하였으며, 배양 60일 후

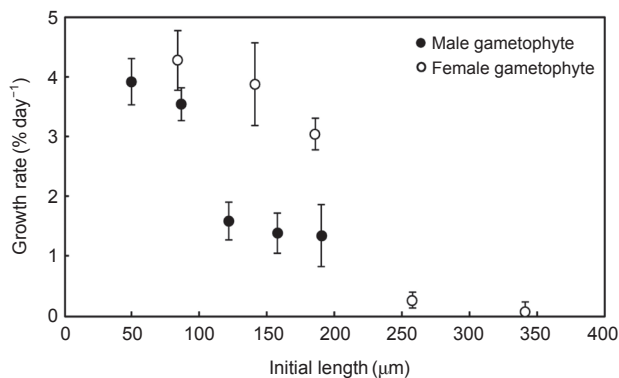
각각 1L 및 3L의 통기 플라스크에 밀집된 상태로 증식하였다 (Fig. 2N).

암배우체의 단편 크기별 길이생장은 Fig. 3과 같이 배양

개시시 세단 크기가 가장 작았던  $83.3 \pm 14.0 \mu\text{m}$  구간에서 배양 7일 후 성장율이  $4.3 \pm 0.5\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, 배양 개시시 세단 크기가 커질수록 성장율이 감소하여 세단 크기가 가장 컸던 실험구간에서는 배양 7일 후 성장율이  $0.08 \pm 0.16\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 작았다. 수배우체의 단편 크기별 길이 생장은 Fig. 3과 같이 암배우체의 경우와 유사한 경향을 나타내었다. 즉 배양 개시시 세단 크기가 가장 작았던  $49.1 \pm 9.6 \mu\text{m}$  구간에서 배양 7일 후 성장율이  $3.9 \pm 0.4\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, 배양 개시시 세단 크기가 가장 컸던  $190.2 \pm 8.2 \mu\text{m}$  구간에서는 배양 7일 후 성장율이  $1.4 \pm 0.5\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 작았다.

## 2. 다시마 유리배우체 단편의 성장 및 성숙

암배우체의 온도 조건별 성장율은 Table 1과 같이  $15^\circ\text{C}$  조



**Fig. 3.** Relative growth rate of gametophytic fragment of *Saccharina japonica* according to the initial size of fragment. Culture conditions were  $15^\circ\text{C}$ ,  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  and 14:10 h (L:D). Bars are standard deviation (N=30).

건에서  $3.8 \pm 0.3\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며,  $5^\circ\text{C}$  조건에서  $0.9 \pm 0.1\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다. 조도구간별로는  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서  $3.8 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며,  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서  $2.5 \pm 0.3\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다. 광주기 조건별로는 10:14 h (L:D) 조건에서  $4.3 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았고, 12:12 h (L:D)에서  $3.0 \pm 0.1\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다.

수배우체의 온도 조건별 성장율은 Table 1과 같이  $15^\circ\text{C}$  조건에서  $3.9 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며  $5^\circ\text{C}$  조건에서  $0.3 \pm 0.1\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다. 조도구간별로는  $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서  $5.0 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며,  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서  $2.5 \pm 0.2\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다. 광주기 조건별로는 14:10 h (L:D) 조건에서  $3.9 \pm 0.3\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으나 10:14 h (L:D) 조건에서  $2.1 \pm 0.1\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다.

암배우체의 성숙은 Table 2와 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도 조건별로는  $5^\circ\text{C}$  조건에서 배양 5일 후 가장 먼저 장란기가 형성되기 시작하였으며,  $5 \sim 10^\circ\text{C}$  조건에서는 배양 10일까지 전체의 50%가 장란기를 형성하였다. 그러나  $20^\circ\text{C}$  조건에서는 배양 20일까지 장란기의 형성이 관찰되지 않았다. 조도 조건별로는 20과  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서 배양 5일 후 암배우체가 장란기를 형성하기 시작하였고,  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서는 배양 10일 후 장란기의 형성을 나타내었으나,  $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  조건에서는 배양 20일까지 장란기가 형성되지 않았다. 광주기 조건별로는 10:14 h (L:D) 조건에서 배양 5일 후 가장 먼저 장란기의 형성이 관찰되었으며 14:10 h (L:D) 조건에서는 배양 15일 후 그리고 12:12 h (L:D) 조건에서는 배양 20일 후 장란기의 형성이 관찰되었다.

수배우체의 성숙은 Table 2와 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도 조건별로는  $15^\circ\text{C}$  조건에

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

Conditions	Initial length ( $\mu\text{m} \pm \text{SD}$ )		Final length ( $\mu\text{m} \pm \text{SD}$ )		Growth rate (% $\text{day}^{-1}$ )		
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	
Temperature ( $^\circ\text{C}$ )	5	$154.3 \pm 9.9$	$104.6 \pm 12.6$	$183.0 \pm 28.6$	$110.4 \pm 19.4$	$0.9 \pm 0.1^a$	$0.3 \pm 0.1^a$
	10			$187.1 \pm 19.0$	$130.3 \pm 34.1$	$1.0 \pm 0.3^a$	$1.1 \pm 0.2^b$
	15			$335.3 \pm 49.3$	$228.8 \pm 37.0$	$3.8 \pm 0.3^b$	$3.9 \pm 0.2^c$
	20			$287.3 \pm 15.1$	$191.3 \pm 62.1$	$3.1 \pm 0.2^c$	$3.0 \pm 0.3^d$
Irradiance ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	5	$154.3 \pm 9.9$	$104.6 \pm 12.6$	$263.5 \pm 46.0$	$283.7 \pm 44.9$	$2.7 \pm 0.2^a$	$5.0 \pm 0.2^a$
	10			$253.7 \pm 21.2$	$259.8 \pm 53.1$	$2.5 \pm 0.3^a$	$4.6 \pm 0.3^a$
	20			$335.3 \pm 16.4$	$228.8 \pm 37.0$	$3.8 \pm 0.2^b$	$3.9 \pm 0.3^b$
	40			$255.0 \pm 11.3$	$173.0 \pm 90.3$	$2.5 \pm 0.2^a$	$2.5 \pm 0.2^c$
Photoperiod (L:D)	14:10	$154.3 \pm 9.9$	$104.6 \pm 12.6$	$335.3 \pm 49.3$	$228.8 \pm 36.9$	$3.8 \pm 0.1^a$	$3.9 \pm 0.3^a$
	12:12			$279.4 \pm 87.9$	$190.3 \pm 37.9$	$3.0 \pm 0.1^b$	$2.9 \pm 0.2^b$
	10:14			$367.0 \pm 85.0$	$159.8 \pm 81.3$	$4.3 \pm 0.2^c$	$2.1 \pm 0.1^c$

Values (mean  $\pm$  s.d. of triplicate groups) in same column having the different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ )

**Table 2.** Gametophytic maturation and oogonia or spermatia formation of gametophyte under temperature, irradiance and photoperiod conditions of *Saccharina japonica*

Conditions	Day	Maturation of gametophytes									
		Oogonia formation					Spermatia formation				
		0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Temperature (°C)	5	-	+	++	++	++	-	-	+	++	++
	10	-	-	++	++	++	-	-	++	++	++
	15	-	-	-	+	+	-	+	++	++	++
	20	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Irradiance ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	+	++	++	-	+	+	++	++
	20	-	+	++	++	++	-	+	++	++	++
	40	-	+	++	++	++	-	++	++	++	++
Photoperiod (L:D)	14:10	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
	12:12	-	-	-	-	+	-	-	+	++	++
	10:14	-	+	++	++	++	-	+	++	++	++

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

서 배양 5일 후 장정기의 형성이 나타나기 시작하였으며, 5~10°C 조건과 20°C 조건에서는 배양 10일 후 장정기의 형성이 관찰되었다. 조도 조건별로는 배양 5일 후 10~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  조건에서 배양 5일 후 장정기의 형성이 관찰되었으나, 5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  조건에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다. 광주기 조건별로는 10:14 h (L:D) 조건에서 배양 5일 후 가장 먼저 장정기가 형성되기 시작하였고, 12:12 (L:D)에서는 배양 10일 후 그리고 14:10 h (L:D)에서는 배양 15일 후 장정기의 형성이 관찰되었다.

## 고 찰

이형세대교번을 수행하는 다시마와 같은 갈조류는 배우체 세대에서 암수배우체를 각각 분리하여 무성적으로 증식시킬 수 있으며, 환경조절을 통하여 배우자 형성을 유도하거나 억제할 수 있다 (Lüning 1980). 갈조류 유리배우체 배양방법을 다시마에 적용하기 위해서는 먼저 각각의 암수배우체의 분리, 생장 및 성숙 유도 조건을 구명해야 하는데, 특히 유리배우체의 성숙 유도를 위한 적정 배양조건의 구명이 무엇보다 중요하다.

본 연구 결과 다시마 배우체의 성숙에 대한 온도, 조도와 광주기의 영향은 암수배우체에서 각각 차이를 나타내었다. 즉 암배우체의 생장은 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었으며 (Table 1), 수배우체의 생장은 15°C, 5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)에서 촉진되었다 (Table 1). 암배우체의 성 성숙은 5°C, 20~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었으며 (Table 2), 수배우체의 성 성숙은 15°C,

40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었다 (Table 2). 이러한 암수 유리배우체의 재생 및 성숙에 대한 온도, 조도 및 광주기의 영향은 다른 종류의 해조류 종간에도 차이를 보였는데, 곰피의 경우 암수배우체의 재생은 각각 5~10°C, 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)와 20°C, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D) 조건에서 촉진되었고, 암수유리배우체의 성 성숙은 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)과 10°C, 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12:12 h (L:D) 조건에서 각각 촉진되었다 (Hwang *et al.* 2010). 또한 감태의 경우 암수배우체의 재생은 각각 5~10°C, 5~10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)와 15~20°C, 20~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D) 조건에서 촉진되었으며, 성 성숙은 15°C, 20~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)과 5~10°C, 5~10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D) 조건에서 각각 촉진되었다 (Wi *et al.* 2008). 넓미역의 경우 암수배우체의 생장은 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)와 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)조건에서 각각 촉진되었고, 성 성숙은 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)과 10°C, 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D) 조건에서 촉진되는 것으로 나타났다 (Hwang *et al.* 2011). 이와 같이 곰피, 감태, 넓미역 및 다시마에서 암수 유리배우체의 재생과 성숙 유도 조건은 유사하게도 서로 상반되는 광주기 조건을 필요로 하는 것으로 나타났는데, 이는 Hwang *et al.* (2011)이 언급한 바와 같이 이형생활사를 가지는 갈조류의 생존전략의 하나로 생육 단계별 활성 변화를 인식하는 생체리듬이 존재하기 때문일 것으로 보인다. 즉 다시마 개체의 생존은 아포체의 형성율에 직접적으로 영향을 받게 되는데, 아포체의 형성율을 좌우하는 것은 암수배우체의 성숙에 의한 높은 수정율로 운동성을 가지는 수배우체가 암배우체보다 낮은 온도 및 광량 조건에서 먼저 성숙한

다음 운동성이 없는 암배우체를 성숙시켜야 보다 긴 수정시간이 확보되어 수정을 제고에 도움을 줄 수 있기 때문이다 (Lüning and Müller 1978).

본 연구에서 나타난 다시마 유리배우체의 절단크기별 생장율은 Fig. 3과 같이 암수배우체에서 차이를 나타내었다. 다시마 암수배우체 단편의 생장율은 곰피 또는 감태의 경우 (Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2010)와 달리 모두 절단크기가 작을수록 생장율이 크게 나타나 다시마가 곰피나 감태보다 유리배우체의 대량 배양에 더욱 적합한 특성을 가지고 있는 것으로 판단되었다.

본 연구는 다시마 암수배우체의 분리배양시 유리배우체의 생장 및 성숙 유도를 위한 최적 배양 조건을 구명하고, 이를 이용한 다시마 유전자원의 계통주 보존 및 품종개발에 이용할 수 있는 기초자료를 제공하였다는 데 그 의의가 있다.

## 적 요

본 연구는 다시마 유리배우체의 분리, 재생 및 성숙 유도 조건을 구명하기 위하여, 4개의 온도 조건 (5, 10, 15, 20°C), 4개의 조도조건 (5, 10, 20, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 및 3개의 광주기 조건 (14:10, 12:12, 10:14 h L:D)에서 배양을 실시하였다. 다시마 암배우체의 생장은 15°C, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었으며, 수배우체의 생장은 15°C, 5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 14:10 h (L:D)에서 촉진되었다. 암배우체의 성 성숙은 5°C, 20~40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었으며, 수배우체의 성 성숙은 15°C, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10:14 h (L:D)에서 촉진되었다. 이러한 다시마 암수유리배우체의 재생 및 성숙 유도 조건은 다시마의 품종개발과 교잡육종을 위한 유리배우체 배양에 가장 기본적인 자료로 활용될 것이다.

## 사 사

본 논문은 국립수산물과학원의 연구비지원 (RP-2015-AQ-036)와 2009년도 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 대학중점연구소 지원 사업으로 수행된 연구임 (2009-0093828).

## REFERENCES

Algal Genetic Research Breeding Team of Oceanography Institute of Chinese Academy of Science and Algal Culturing

- Team of Qingdao Maricultural Institute. 1976. Breeding of a novel variety with high yield potential and iodine content. *Sci. China* 5:512-517.
- Brinkhuis BH, HG Levine, CG Schlenk and S Tobin. 1987. *Laminaria* cultivation in the far east and North America. pp. 107-146. In *Seaweed cultivation for renewable resources* (Bird KT and PH Benson eds.). *Developments in aquaculture and fisheries science*, Elsevier, New York.
- Edding ME and FB Tala. 2003. Development of techniques for the cultivation of *Lessonia trabeculata* Villouta et Santelices (Phaeophyceae: Laminariales) in Chile. *Aqua. Res.* 34:507-515.
- Fang TC, CY Wu, BY Jiang, JJ Li and GZ Ren. 1962. The breeding of a new breed of Haidai (*Laminaria japonica* Aresch.) and its preliminary genetic analysis. *Acta. Bot. Sin.* 10:197-209.
- Fang TC, YL Qu and JJ Cui. 1985. Breeding of hybrid *Laminaria* "Danza No. 10" - an application of the *Laminaria* haploid cell clones. *J Shandong Coll. Oceanol.* 15:64-72.
- FAO. 2012. Yearbooks of fishery statistics summary tables (<http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/download> loaded 4 Dec 2014).
- Hwang EK, CH Shim, DS Ha, YG Gong and CS Park. 2011. Regeneration and maturation induction of free-living gametophytes of *Undariopsis peterseniana* for their mass production. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 44:155-161.
- Hwang EK, YG Gong, DS Ha and CS Park. 2010. Inducing the regeneration and maturation of free-living gametophytes of *Ecklonia stolonifera* Okamura (Laminariales, Phaeophyta). *J. Korean Fish. Soc.* 43:231-238.
- Kang JW. 1966. On the geographical distribution of marine algae in Korea. *Bull. Pusan Fish. Coll.* 7:1-125.
- Lee IK and JW Kang. 1986. A check list of marine algae in Korea. *Korean J. Phycol.* 1:311-325.
- Li XJ, J Liu, Y Cong, S Qu, Z Zhang, H Dai, S Luo, Z Han, S Huang, Q Wang, G Liang, J Sun, Y Jin, D Wang and G Yang. 2008. Breeding and trial cultivation of dongfang No. 3, a hybrid of *Laminaria* gametophyte clones with a more than intraspecific but less than interspecific relationship. *Aquaculture* 280:76-80.
- Li XJ, YZ Cong, GP Yang, Y Shi, S Qu, Z Li, G Wang, Z Zhang, S Luo, H Dai, J Xie, G Jiang, J Liu and T Wang. 2007. Trait evaluation and trial cultivation of Dongfang No. 2, the hybrid of a male gametophyte clone of *Laminaria longissima* (Laminariales, Phaeophyta) and a female one of *L. japonica*. *J. Appl. Phycol.* 19:139-151.
- Liu F, X Sun, F Wang, W Wang, Z Liang, Z Lin and Z Dong. 2014. Breeding, economic traits evaluation, and commercial cultivation of a new *Saccharina* variety "Huangguan

- No. 1". *Aquacult. Int.* 22:1665-1675.
- Lüning K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria* species (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 16:1-15.
- Lüning K and DC Müller. 1978. Chemical interaction in sexual reproduction of several Laminariales Phaeophyceae): release and attraction of spermatozoids. *Z. Pflanzenphysiol.* 89:333-341.
- Parker RE. 1979. *Introductory statistics for biology*. 2<sup>nd</sup> edition. Edward Arnold, London, U.K., 122 pp.
- Tseng CK. 1981. Commercial cultivation. pp. 680-741. In *The Biology of Seaweeds* (Lobban CS and MJ Wynne eds.). Blackwell, Oxford.
- Westermeier R, D Patino, MI Piel, I Maier and DG 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.
- Wi MY, EK Hwang, SC Kim, MS Hwang, JM Baek and CS Park. 2008. Regeneration and maturation induction for the free-living gametophytes of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). *J. Korean Fish. Soc.* 41:381-388.
- Zar JH. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Engelwood Cliffs, NJ, 718.
- Zemke-White WL and M Ohno. 1999. World seaweed utilization: an end-of century summary. *J. Appl. Phycol.* 11:369-376.
- Zhang QS, XX Tang, YZ Cong, SC Qu, SJ Luo and GP Yang. 2007. Breeding of an elite *Laminaria* variety 90-1 through inter-specific gametophyte crossing. *J. Appl. Phycol.* 19: 303-311.

Received: 23 April 2015

Revised: 17 June 2015

Revision accepted: 17 June 2015