

〈Original article〉

갈조류 미역 유리배우체의 분리, 재생 및 성숙 유도

유현일 · 김수홍 · 이기현 · 하동수 · 황은경*

국립수산과학원 해조류연구센터

Isolation, Regeneration and the Maturation Induction of Free-Living Gametophytes of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae)

Hyun Il Yoo, Su Hong Kim, Gi hyun Lee, Dong Soo Ha and Eun Kyoung Hwang*

Seaweed Research Center, National Institute of Fisheries Science, Mokpo 58746, Republic of Korea

Abstract - The induction of regeneration and the maturation of the free-living gametophytes of *Undaria pinnatifida* were studied at temperatures (5, 10, 15 and 20°C), irradiance (5, 10, 20 and 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and photoperiods (14 : 10, 12 : 12 and 10 : 14 h L : D). Female gametophyte fragments were maintained in active regeneration without them reaching sexual maturity under conditions of 15°C, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10 : 14 h (L : D); by contrast, the conditions for male gametophytes were slightly different at 15°C, 5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 14 : 10 h (L : D). The sexual maturation of female and male gametophytes took place under 5°C, 20-40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10 : 14 h (L : D) and 15°C, 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10 : 14 h (L : D), respectively. These results provide basic information for controlling the regeneration and maturation of free-living gametophytes for strain improvement as well as the cross breeding of *U. pinnatifida*.

Keywords : free-living gametophyte, maturation, regeneration, *Undaria pinnatifida*

서 론

미역 (*Undaria pinnatifida*)은 동아시아의 극동지역에 분포하는 유용 갈조류로서 (Yamanaka and Akiyama 1993), 우리나라 전 연안에 널리 자생하고 양식되고 있는 해조류 중의 하나이다. 미역은 주로 식용, 사료용, 공업용, 의료용으로 이용될 뿐만 아니라 식품가공용 원료인 알긴산과 푸코이당의 주요 공급원으로서 산업적으로 중요하게 이용되고 있다 (Watanabe and Nisizawa 1984). 또한 미역은 2000년대 이후 우리나라 남해안 지역에서 확대되고 있는 전복 산업의 중요한 먹이원으로 이용되고 있으며 (Hwang *et al.* 2009), 해증립

의 주요 구성원으로서 연안 생태계에서 중요한 역할을 담당한다 (Brown and Lamare 1994).

우리나라에서 미역의 생산은 1960년 중반기 이전까지는 주로 자연산 미역의 채취에 의존하였으나 1970년대에 들어 오면서 미역의 인공종묘생산 및 연승식 양식기술이 개발 보급되면서 급진적으로 증가하여 2015년 기준, 세계 미역생산량(2,296,648톤)의 16.8%에 달하는 322,748톤이 생산되고 있다 (FAO 2016).

현재 미역양식 산업은 우리나라 해조양식 산업의 주축을 이루고 있을 뿐만 아니라 극동지역에 있어서 그 상업적 중요성 때문에 미역에 관한 많은 연구가 이루어져 왔다. 미역의 배우체와 포자체의 생리생태 (Saito 1956a, b, 1962, 1972; Segi and Kida 1958; Akiyama 1965), 종묘생산 (Chung and Chung 1967), 생태 및 양식 (Okamura 1915; Kato and

* Corresponding author: Eun Kyoung Hwang, Tel. 061-280-4724, Fax. 061-285-1949, E-mail. ekh215@korea.kr

Nakahisa 1961; Akiyama and Kurogi 1982; Yamanaka and Akiyama 1993)에 대한 연구들이 보고되었다.

미역은 이형세대교번을 하는 해조류로서 현미경적 배우체 세대와 포자체 세대가 번갈아 나타나는 생활사를 가진다(Xu *et al.* 2009). 유리배우체 배양은 미역을 비롯한 갈조류의 효과적인 유전자원 보존방법(Li *et al.* 1999, 2013; Xu *et al.* 2009)이며, 암수배우체를 분리하여 무성적으로 증식시킨 후, 필요 시 포자체를 유도하는 방법은 유전형질이 동일한 포자체를 생산하는 데 매우 유용한 방법이다. 특히, 한국에서는 2012년부터 국제식물신품종보호협약(International Union for the Protection of New Varieties of Plants)의 적용 범위가 해조류를 포함하여 확대됨에 따라, 육종기법에 의해 개발된 해조류 신품종의 분양 시 모계와 동일한 유전형을 채묘할 수 있는 유리배우체 채묘기술 개발의 필요성이 점차 증가되고 있다.

미역의 양식에서 이용되는 유주자 채묘는 모조의 성숙시기와 엽체의 성숙도에 따라 채묘시기가 제한되며, 이에 따라 종묘배양 기간이 길어지는 단점을 가지고 있다(Wu *et al.* 2004; Hwang *et al.* 2010). 반면 유리배우체 채묘는 소량의 성숙엽체만으로도 많은 양의 배우체 확보가 가능하며, 확보된 배우체는 무성적인 대량증식을 통해 지속적인 계대배양이 가능할 뿐 아니라 클론 배우체의 유도를 통한 품종 간 교배와 선발육종에 이용될 수 있는 유용한 방법이다(Li *et al.* 1999; Wu *et al.* 2004; Xu *et al.* 2009; Hwang *et al.* 2009, 2010).

국내에서 이루어진 미역의 유리배우체 성장관련 연구는 부착 밀도에 따른 배우체의 성장과 아포체 형성(Choi *et al.* 2005) 및 배우체 배양에 있어 최적 성장 조건(Na *et al.* 2016) 등이 보고되었으나, 이들은 대부분 암수배우체를 분리하지 않고 동시에 배양한 결과로써 배우체를 분리배양했을 경우 성장 조건에 있어 차이를 보일 수 있다(Wu *et al.* 2004). 또한 국내에서 갈조류 유리배우체의 대량배양을 위한 연구는 감태, 곱피, 다시마, 넓미역 등의 경우 암수배우체의 절단 크기별 재생, 분리배양 시 최적 성장 및 성숙 조건 등 다양한 연구가 이루어져 있으나(Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009, 2010, 2011) 미역의 경우 현재까지 유리배우체의 분리, 재생 및 성숙유도 조건이 밝혀지지 않았다.

따라서 이 연구에서는 미역의 유리배우체 분리, 재생 및 성숙 조건을 규명하여 유리배우체 대량배양 조건을 확인함으로써, 미역의 품종개량과 교잡연구에 기여하고 나아가서는 산업적 중요성이 큰 미역의 안정적 종묘 수급방안 마련에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 유주자 방출 및 배우체 분리

본 연구에서는 전남 완도군 약산면에 위치한 국립수산물학원 해조류연구센터의 미역 시험어장에서 양성 중인 성숙된 엽체를 2009년 4월에 채취하여 사용하였다. 성숙된 미역의 엽체는 Ice box에 넣어 실험실로 운반하여 포자엽을 잘라 멸균해수로 수회 세척하였다. 세척된 포자엽 조각을 200 mL의 멸균해수가 들어 있는 500 mL 용량의 비이커에 넣고, 10°C, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 및 10:14 h(L:D) 조건의 Incubator(EYELA MTI-202B, Japan)에서 유주자 방출을 유도하였다. 유주자의 방출이 확인되면 포자엽을 제거한 후 유주자액 0.1 mL를 Fig. 1과 같이 12 multi well-plate에 차례로 분주하여 밀도를 낮추어 배양하였다. 배양 5일 후 암수배우체가 구별되면 도립현미경(IX73, Olympus, Japan) 하에서 암배우체와 수배우체를 구분하였다. 구분된 암수배우체는 PESI 배양액 20 mL가 들어 있는 직경 5 cm의 멸균된 petri dish에 각각 수용하여 배양하였으며, 배양액은 3일 간격으로 교환하였다. 암수배우체가 성장하면 배양용기를 250 mL로 옮겨 주고 PESI 배지를 첨가하여 각각의 암수배우체 덩어리로 성장할 때까지 통기배양하였다.

2. 유리배우체 단편의 크기별 재생

유리배우체 단편의 크기별 재생을 파악하기 위하여 암·수 배우체 덩어리 0.1 g-fresh wt.을 각각 100 mL의 멸균해수가 들어 있는 250 mL 비이커에 넣고 호모게나이저(DI 25basic, GMBH & Co., Germany)의 회전속도(8,000, 9,500, 13,500, 20,500 및 24,000 rpm)를 달리하여 60초간 세단하였다. 세단된 암·수 배우체는 14:10 h L:D, 15°C의 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 조건에서 12 multi well-plate를 사용하여 20일간 정치배양하였다. 배양 시작과 종료 시 배우체의 길이 및 세포수는 도립현미경(IX73, Olympus, Japan)하에서 실험구별로 25개체를 측정하였으며 조건별로 3개의 반복구를 두었다. 세단된 배우체의 길이별 재생은 배양 시작시의 배우체의 길이, 세포수와 배양 종료시 배우체 길이, 세포수를 이용하여 상대성장률(RGR; relative growth rate)을 계산하여 비교하였다(Serisawa *et al.* 2002; Hwang *et al.* 2010).

$$RGR(\% \text{ day}^{-1}) = \frac{\ln(L_2) - \ln(L_1)}{(T_2 - T_1)} \times 100 \quad (1)$$

여기서 L_1 은 배양 시작 시 배우체의 길이 또는 세포수, L_2 는 배양 종료 시 배우체 길이 또는 세포수를 말하며 $T_2 - T_1$

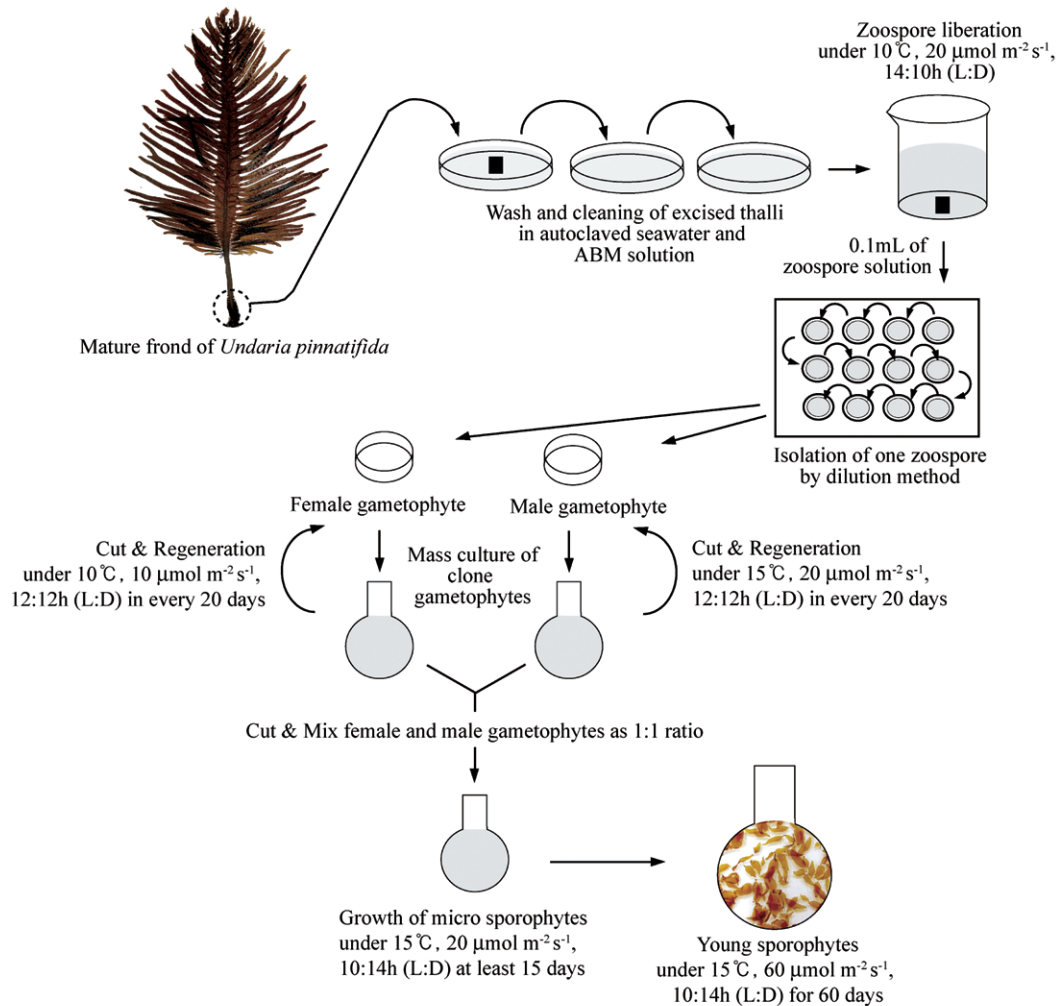


Fig. 1. A manual for the mass culture of free-living gametophytes in *Undaria pinnatifida*, including the culture conditions for the regeneration and maturation induction.

은 배양기간을 의미한다.

3. 유리배우체 단편의 성장 및 성숙

절단된 유리배우체 단편의 성장 및 성숙 유도의 최적 조건을 파악하기 위하여 덩어리로 자란 암수 유리배우체를 Hwang *et al.* (2010)의 방법을 이용하여 분쇄하였다. 배양 조건은 4개 온도구간(5, 10, 15, 20°C)과 4개 조도(5, 10, 20, 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 및 3개 광주기(10:14, 12:12, 14:10 h L:D)로 설정된 incubator(EYELA MTI-202B, Japan)에서 배양하였다. 암수배우체의 길이 성장 및 성숙 여부는 도립현미경(IX73, Olympus, Japan)하에서 5일 간격으로 측정하였다. 온도구간별 조도 및 광주기는 각각 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 및 14:10 h(L:D)로 고정되었으며, 조도구간별 온도 및 광주기는 각각 15°C, 14:10 h(L:D)로 고정

하였다. 또한 광주기 구간별 온도 및 조도는 15°C, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 고정하여 배양하였다. 조도 측정 및 조도구간의 설정은 Hwang *et al.* (2011)의 방법을 이용하였다. 절단된 배우체의 길이 생장은 분지가 없는 단편($n=25$)을 선별하여 측정하였으며 각 실험구별로 3개의 반복구를 두었다. 배양액(PESI 배지)은 7일마다 교환하였다. 배우체의 상대성장률(RGR)은 배양 시작 시 배우체의 평균 길이와 배양 종료 시 배우체 길이를 이용하여 계산하였다(Serisawa *et al.* 2002).

4. 통계분석

온도, 조도 및 광주기 조건에 따른 배우체의 성장률 데이터는 통계분석을 위해 arcsine 변환(arcsine transformation)하였으며 Levene의 등분산검정(test of homogeneity of

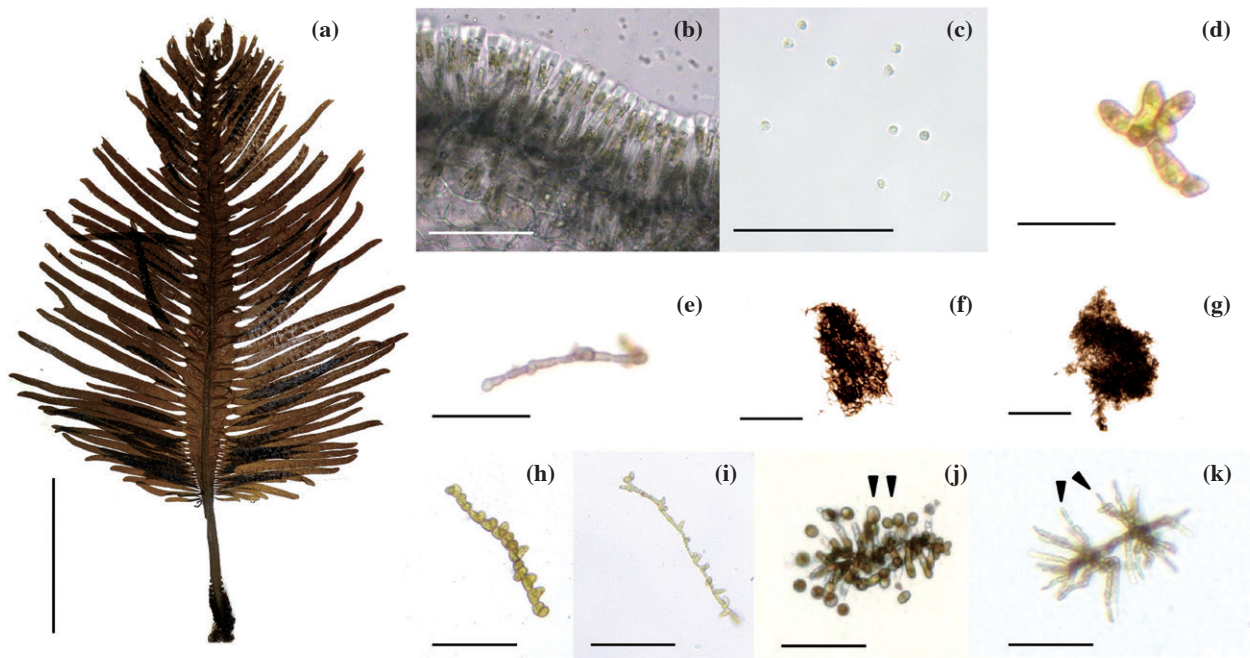


Fig. 2. Procedure of the isolation and culture of free-living gametophytes of *Undaria pinnatifida*. a, Mature sporophyte; b, A cross-section of sporangia; c, Germling after zoospore release; d, Female gametophyte after 5 days culture; e, Male gametophytes after 5 days culture; f, A cluster of female 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, Oogonia formation (arrowhead) after 15 days maturation induction from a female gametophyte fragment; k, Spermatia formation (arrowhead) from a male gametophyte fragment. Scale bars are 50 cm (a), 100 μm (b, c), 50 μm (d, e), 1 mm (f, g), 50 μm (h, i) and 100 μm (j, k).

variances)을 실시하여 데이터의 동질성이 확인되면 one-way ANOVA test를 실시하여 유의차를 검정하였고, 유의차가 발견되면 Tukey's HSD test 방법으로 사후검정 하였다. 자료분석을 위해 사용된 프로그램은 STATISTICA version 5.0이었다.

결 과

1. 유리배우체의 분리 및 단편 크기별 재생

미역엽체 (Fig. 2a)의 포자엽 (Fig. 2b)으로부터 방출된 유주자 (Fig. 2c)는 방출 즉시 기질에 부착하여 구형으로 착생하였다. 15°C, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 및 14:10 h(L:D) 광주기 조건에서 배양 5일 후 각각 암배우체 (Fig. 2d)와 수배우체 (Fig. 2e)로 성장하였다. 각각의 암수배우체는 통기배양 30일 후 Fig. 2(f, g)와 같이 배우체 덩어리로 증식되었다. 덩어리로 증식된 암수 배우체를 호모게나이저로 세단하여 절편 (Fig. 2h, i)을 정치배양한 결과 배양 20일 후 그림 2(j, k)와 같이 각각 장란기와 장정기를 형성하였다.

2. 유리배우체 단편 크기별 재생

배우체의 단편 크기별 재생은 암배우체의 경우 단편 크기가 152.7 \pm 10.8 μm 일때 배양 20일 후 417.4 \pm 28.2 μm 로 성장하여 상대성장률이 5.03 \pm 0.48% day^{-1} 로 최대였으며, 단편 크기가 가장 컸던 253.7 \pm 13.8 μm 조건에서 성장률이 3.27 \pm 0.96% day^{-1} (488.3 \pm 93.7 μm)로 가장 낮았다 (Fig. 3). 수배우체의 경우는 단편 크기 100.5 \pm 15.4 μm 조건에서 배양 20일 후 238.3 \pm 28.7 μm 까지 성장하여 상대성장률이 최대 (4.17 \pm 0.63% day^{-1})였으며, 단편 크기가 가장 큰 조건 (255.5 \pm 17.1 μm)에서 암배우체와 마찬가지로 가장 낮은 (2.22 \pm 0.50% day^{-1} , 398.1 \pm 27.4 μm) 상대성장률을 나타냈다 (Fig. 3b).

배우체의 절단 시 단편의 세포수에 따른 생장은 암배우체의 경우 실험 시작 시 단편의 세포수가 가장 적었던 3.5 \pm 0.5 cells/fragment 조건에서 배양 20일 후 7.2 \pm 0.5 cells/fragment로 증가하여 상대성장률이 최대 (3.61 \pm 1.50% day^{-1})였으며, 세포수가 5 cells/fragment 이상의 조건에서는 1.44 ~ 1.89% day^{-1} 범위의 성장률로 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4a). 수배우체의 경우 실험 시작 시 세포수가 가장 적었던 5.2 \pm 0.6 cells/fragment 조건에서 배양 20일 후 성장률이 5.98 \pm 1.31% day^{-1} 로 가장 높았으며, 세포수가 많아질수록

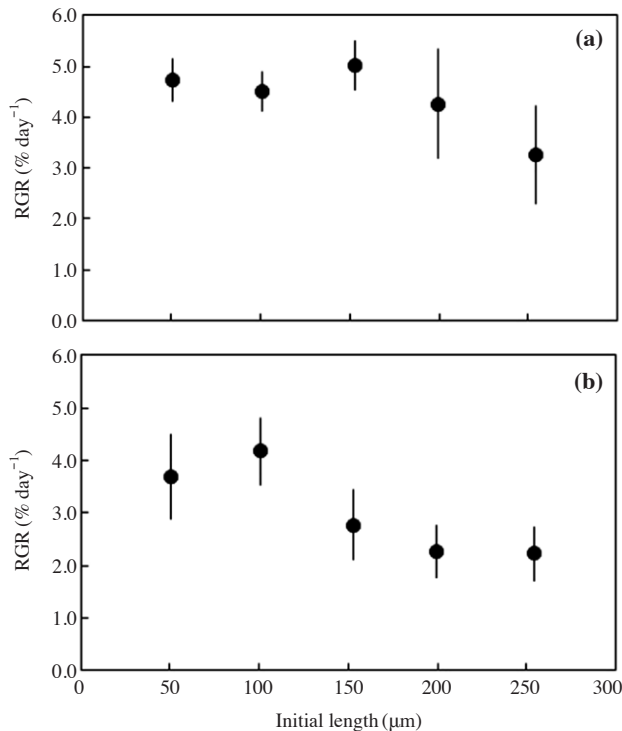


Fig. 3. The relative growth rate of female (a) and male (b) gametophytic fragments in *Undaria pinnatifida* according to the initial length of the fragment after 20 days culture $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 14 : 10 h (L : D). Vertical bars represent S.D.

생장률은 점차 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4b).

3. 유리배우체 단편의 성장

유리배우체 단편의 배양 조건별 생장은 Table 1과 같이 차이를 나타내었다. 암배우체의 온도 조건별 상대생장률은 배양 20일 후 15°C 조건에서 $2.84 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 타 온도 조건에 비하여 가장 높았으며, 5°C 조건에서 $0.47 \pm 0.11\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다 ($p < 0.05$). 조도구간별로는 $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 $2.99 \pm 0.22\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, $40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 $1.22 \pm 0.32\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다 ($p < 0.05$). 광주기 조건별로는 10 : 14 h(L : D) 조건에서 $2.46 \pm 0.32\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았고, 14 : 10 h(L : D)에서 $1.20 \pm 0.23\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다 ($p < 0.05$).

수배우체의 온도 조건별 생장률은 배양 20일 후 10°C 조건에서 $2.92 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며 5°C 조건에서 $0.10 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다 ($p < 0.05$). 조도구간별로는 $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 $2.91 \pm 0.13\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, $40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 $1.23 \pm 0.13\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다 ($p < 0.05$). 광주기 조건별로는 14 : 10 h

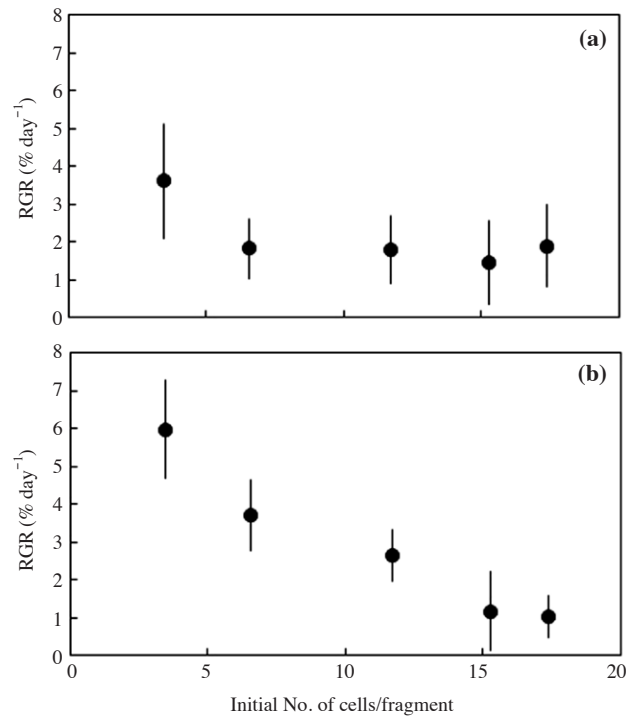


Fig. 4. Relative growth rate of female (a) and male (b) gametophytic fragments in *Undaria pinnatifida*, according to the number of initial cells in the fragment after 20 days culture $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 14 : 10 h (L : D). Vertical bars represent S.D.

(L : D) 조건에서 $2.79 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, 10 : 14 h(L : D) 조건에서 $2.48 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 낮았다.

4. 유리배우체 단편의 성숙

암수배우체의 성숙은 Table 2와 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 보였다. 암배우체의 온도 조건별 성숙은 배양 10일 후 $15 \sim 20^{\circ}\text{C}$ 조건에서 가장 먼저 장란기가 형성되어, 15일 후 약 30%, 배양 20일 후 약 50%까지 장란기 형성률이 증가하였다. 그러나 $5 \sim 10^{\circ}\text{C}$ 조건에서는 배양기간 동안 장란기가 형성되지 않았다. 조도 조건별로는 $20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 배양 10일 후, $40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서는 배양 15일 후 장란기가 처음으로 형성되었으나, $5 \sim 10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서는 배양 20일까지 성숙이 확인되지 않았다. 광주기 조건별로는 장일(14 : 10 h L : D) 조건에서 배양 10일 후 최초로 장란기가 형성되었고 단일(10 : 14 h L : D) 조건에서는 배양 15일 후, 중일(12 : 12 h L : D) 조건에서는 가장 늦게(배양 20일 후) 장란기가 형성되었다.

수배우체의 온도 조건별 성숙(Table 2)은 10°C 조건에서 배양 10일 후 장란기 형성이 시작되었으며, 15°C 조건에서

Table 1. Relative growth rates (% day⁻¹) of *Undaria pinnatifida* male and female gametophyte cultured for 20 days under various daylengths, temperature and irradiance.

Culture conditions		Initial length ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$)		Final length ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$)		Growth rate (% day ⁻¹)	
		Female	Male	Female	Male	Female	Male
Temperature (°C)	5	71.2 ± 9.1	83.0 ± 7.4	78.3 ± 28.1	84.6 ± 32.2	0.47 ± 0.11 ^a	0.10 ± 0.12 ^a
	10			105.64 ± 47.3	148.9 ± 41.1	1.97 ± 0.31 ^b	2.92 ± 0.12 ^b
	15			125.7 ± 34.1	145.6 ± 38.4	2.84 ± 0.12 ^c	2.81 ± 0.13 ^b
	20			95.4 ± 35.6	141.7 ± 37.2	1.46 ± 0.32 ^b	2.67 ± 0.12 ^b
Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	5	69.1 ± 3.9	81.4 ± 7.3	98.7 ± 26.7	120.6 ± 30.3	1.78 ± 0.12 ^a	1.97 ± 0.12 ^a
	10			110.4 ± 37.5	128.2 ± 22.5	2.34 ± 0.33 ^b	2.27 ± 0.12 ^a
	20			125.7 ± 36.8	145.6 ± 34.1	2.99 ± 0.22 ^c	2.91 ± 0.13 ^a
	40			88.2 ± 25.7	104.2 ± 34.9	1.22 ± 0.32 ^a	1.23 ± 0.13 ^b
Photoperiod (L:D, h)	14:10	76.9 ± 34.7	88.7 ± 39.8	97.8 ± 27.7	155.0 ± 45.8	1.20 ± 0.23 ^a	2.79 ± 0.12 ^a
	12:12			95.9 ± 38.7	151.3 ± 31.8	1.08 ± 0.22 ^a	2.67 ± 0.12 ^a
	10:14			125.7 ± 45.8	145.6 ± 44.6	2.46 ± 0.32 ^b	2.48 ± 0.12 ^a

values (mean ± 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 in *Undaria pinnatifida*.

Culture conditions	Elapsed days	Oogonia formation					Spermatia formation				
		0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Temperature (°C)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	15	-	-	+	++	+++	-	-	-	-	+
	20	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-
Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	20	-	-	+	++	+++	-	-	-	+	+
	40	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-
Photoperiod (L:D, h)	14:10	-	-	+	++	+++	-	-	-	+	+
	12:12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	10:14	-	-	-	+	++	-	-	+	+	+

-, sterile; formation rate of oogonium or spermatium is represented as follows; +, 0-10%; ++, 10-30%; +++, 30-50%.

는 배양 20일 후 장정기 형성이 관찰되었다. 그러나 5°C와 20°C 조건에서는 배양 20일까지 장정기가 형성되지 않았다. 조도 조건별로는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 조건에서 배양 5일 후 가장 먼저 장정기가 형성되기 시작하였으며, 5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 조건과 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 조건에서는 배양 15일 후 장정기가 형성이 시작되었다. 그러나 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 조건에서는 배양 20일까지 성숙이 관찰되지 않았다. 광주기 조건별로는 단일 (10:14 h L:D) 조건에서 배양 10일 후 가장 먼저 장정기가 형성되기 시작하였으며, 장일 (14:10 h L:D) 조건에서는 배양 15일 후 장정기의 형성이 관찰되었고, 중일 (12:12 h L:D) 조건에서는 배양 20일 후 가장 늦게 장정기가 형성되었다.

고찰

해조류의 생장과 성숙은 수온과 광주기 등 환경요인에 의해 결정되는 것으로 알려져 있으며 (Van den Hoek 1984; Breeman 1988), 이러한 서식지의 환경 조건은 포자방출 (Alberto and Daniel 1999) 및 배아의 생장 (Morita *et al.* 2003)과 나아가 야외 개체군의 생장 및 성숙시기를 결정한다 (Lüning 1993). 또한 실내배양을 통해 밝혀진 생장 및 성숙 조건은 종종 서식지 환경에 대한 적응으로 해석되기도 한다 (Fain and Murray 1982; Wi *et al.* 2008; Rothäusler *et al.* 2011; Kang 2015). Choi *et al.* (2005)은 미역 배우체의 생장과 성숙에 있어 일장과 조도의 영향을 한국 미역의 생물계절과 연관하여 설명하였으며, 미역 배우체의 생장은 단일

조건에서 연속광(24 h)으로 일장 증가와 함께 증가하고, 성숙은 중일(12 h)과 단일 조건(8 h)에서 높게 나타나는 것으로 알려져 있다(Lüning 1981; Morita *et al.* 2003; Choi *et al.* 2005). 또한 Na *et al.* (2016)은 미역과 쇠미역의 암수배우체의 생장은 일장과 비례하며, 성숙은 반비례한다고 보고한바 있다. 본 연구에서도 미역 수배우체의 생장은 장일 조건(14:10 h L:D)에서 상대생장률이 $2.79 \pm 0.12\% \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높았으며, 광주기가 감소할수록 생장률도 감소하였다. 반면 암배우체는 단일 조건에서 최대 생장을 보여 차이를 보였다. Hwang *et al.* (2015)은 다시마의 암수배우체를 분리배양 시 암배우체는 단일 조건에서, 수배우체는 장일 조건에서 최대 생장을 나타냈다고 보고하여 본 연구와 동일한 경향을 보였다. 반면 본 연구에서 미역 배우체의 성숙은 암배우체가 장일 조건(14:10 h L:D)에서 수배우체는 단일 조건(10:14 h L:D)에서 가장 빨리 성숙하여, 기존 연구들과 암배우체의 성숙 조건에서 차이를 보였다(Morita *et al.* 2003; Choi *et al.* 2005). 그러나 감태와 넓미역의 성숙은 본 연구와 동일하게 암배우체는 장일 조건, 수배우체는 단일 조건에서 이루어졌다(Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2011). 이와 같이 대형갈조류 암수배우체의 재생과 성숙유도 조건의 차이는 생육단계별 활성분화를 인식하는 생체리듬에 의한 것으로서 이형생활사를 가지는 갈조류의 생존전략의 하나로 판단된다(Hwang *et al.* 2011).

미역 유리배우체의 생장을 위한 최적 온도는 16~20°C 범위로 보고되어 있으나(Akiyama 1965; Choi *et al.* 2005; Na *et al.* 2016) 이들의 연구는 암수배우체를 분리하지 않고 공동배양한 결과로서 Wu *et al.* (2004)은 미역 암배우체의 분리배양 시 25°C에서 최대 생장을 보고하여 기존연구와의 차이를 보고하였다. 이 연구에서 미역의 배우체는 분리배양 시 단일 조건(8:16 h L:D)에서 암배우체는 15°C에서, 수배우체는 25°C에서 최대 생장을 보여 차이를 나타냈으며, 장일(16:8 h L:D)에서는 암수배우체 모두 20°C에서 최적 생장을 나타냈다.

미역의 경우 야외 개체군의 생장은 4월~10월에 이르는 긴 배우체 생육기간을 갖는데 이때의 광주기는 단일-장일-단일로 변화하며 수온은 14~26°C 범위를 나타낸다. 따라서 미역 암수배우체의 이러한 광주기에 따른 최적 생장 수온의 차이는 암수배우체가 서로 다른 환경에서 생장 및 성숙을 함으로써 최대의 영양생장 기간을 확보하고 이를 통해 아포체의 밀도를 높이기 위한 적응으로 해석될 수 있다.

조하대에 서식하는 대부분의 대형 갈조류는 낮은 광에 적응되어 있으며(Kain 1964), 특히 부모세대 수관부(canopy) 아래에 서식하는 배우체는 이러한 낮은 광량에 잘 적응되어 있다(Wi *et al.* 2008). 본 연구에서 미역 배우체는

10~15 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 낮은 조도에서 최대 생장을 나타내 낮은 광량에 생장이 잘 적응한 것으로 보여진다.

대형 갈조류의 암수배우체는 공동배양할 경우 수배우체의 성숙이 암배우체보다 빠르며 이는 긴 수정기간 확보를 통한 생식 촉진전략으로 알려져 있다(Maier 1982; Wi *et al.* 2008). 또한 Hwang *et al.* (2015)은 다시마의 경우 수배우체가 암배우체보다 낮은 온도 및 광량에서 먼저 성숙한 후 암배우체를 성숙시킴으로써 충분한 수정기간 확보를 통해 수정률을 향상시킨다고 보고하였다. 이 연구에서 미역의 배우체는 상대적으로 낮은 온도(10°C)와 조도(5~20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)에서 수배우체가 성숙하고, 높은 온도(15~20°C)와 조도(20~40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)에서 암배우체가 성숙하여 다시마와 유사한 패턴을 보였다.

이 연구에서 미역 유리배우체의 절단크기별 생장률은 Fig. 3과 같이 암수배우체에서 차이를 보였으며, 단편의 생장률은 곰피 또는 감태(Wi *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2010)와 같이 절단크기가 100~150 μm 일때 생장률이 높게 나타나 대량배양 시 배우체의 크기를 고려해야 할 것으로 판단된다.

이 연구는 미역 암수배우체를 분리배양 시 유리배우체의 생장 및 성숙유도를 위한 최적 조건을 구명함으로써 향후 미역의 계통주 보존 및 품종개발에 활용될 기초 자료를 제공하는 데 그 의미가 있다.

적 요

본 연구에서는 다양한 온도(5, 10, 15 and 20°C), 조도(5, 10, 20 and 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) 및 광주기(14:10, 12:12 and 10:14 h L:D) 조건에서 미역 배우체의 분리, 재생 및 성숙 조건을 파악하였다. 암배우체 단편은 15°C, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 10:14 h(L:D) 조건에서 빠른 생장을 보인 반면 수배우체는 15°C, 5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 14:10 h(L:D) 조건에서 빠른 생장을 보여 차이를 나타냈다. 암수배우체의 최적 성숙 조건은 각각 5°C, 20~40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 10:14 h(L:D) 조건과 15°C, 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 10:14 h(L:D) 조건이었다. 본 연구 결과 확인된 미역 유리배우체의 재생과 성숙 조건은 미역의 형질개선과 교잡 육종 등을 위한 기초자료로 활용될 수 있다.

사 사

본 논문은 2017년도 국립수산물과학원의 연구비 지원(R2017014)으로 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Akiyama K. 1965. Studies of ecology and culture of *Undaria pinnatifida* (Harv.) Sur. II. Environmental factors affecting the growing and maturation of gametophyte. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Laboratory 25:143–170.
- Akiyama K and M Kurogi. 1982. Cultivation of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, the decrease in crops from natural plants following crop increase from cultivation. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Laboratory 44:1–100.
- Alberto GU and R Daniel. 1999. Factors affecting sporulation of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) carposporophytes from Yucatan, Mexico. Hydrobiologia 398/399:285–290.
- Breeman AM. 1988. Relative importance of temperature and other factors in determining geographic boundaries of seaweeds: experimental and phenological evidence. Helgoländer Meeresunters 42:199–241.
- Brown MT and MD Lamare. 1994. The distribution of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar within Timaru Harbour, New Zealand. Jpn. J. Phycol. 42:63–70.
- Choi HG, YS Kim, SJ Lee, EJ Park and KW Nam. 2005. Effects of daylength, irradiance and settlement density on the growth and reproduction of *Undaria pinnatifida* gametophytes. J. Appl. Phycol. 17:423–430.
- Chung YK and DY Chung. 1967. Studies of the artificial seedling production and growth of *Undaria pinnatifida* (Harv.) Sur. Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency 2:143–152.
- Fain SR and SN 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.
- FAO 2016. Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service. FishStatJ: Universal software for fishery statistical time series, version 2.12.5. Available: <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>. Accessed 3 Dec. 2016.
- Hwang EK, JM Baek, CS Park. 2009. The mass cultivation of *Ecklonia stolonifera* Okamura as a summer feed for the abalone industry in Korea. J. Appl. Phycol. 21:585–590.
- 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). Korean J. Fish. Aquat. Sci. 43:231–238.
- Hwang EK, HC Yoo, SM Kim, JM Beak and CS Park. 2015. Isolation, regeneration and maturation induction of free-living gametophytes of *Saccharina japonica* (Phaeophyceae). Korean J. Environ. Biol. 2:248–255.
- Kain JM. 1964. Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. III. Survival and growth of gametophytes. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 44:415–433.
- Kang JW and IK Chung. 2015. Effects of temperature and light intensity on the gametophyte fragment growth of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). Korean J. Fish. Aquat. Sci. 48:704–711.
- Kato T and Y Nakahisa. 1961. Studies on the culture of *Undaria pinnatifida*. Bull. Tokushima Pref. Fish. Exp. Sta. 3:3–36.
- Li DP, ZG Zhou, HH Liu and CY Wu. 1999. A new method of *Laminaria japonica* strain selection and seedling culture by the use of gametophyte clones. Hydrobiologia 398/399:473–476.
- Li S, K Qiao, T Shan, S Pang and H Hou. 2013. Genetic diversity and relationships of the brown alga *Undaria pinnatifida* cultivated along the Dalian Coast as revealed by amplified fragment length polymorphism markers. J. Appl. Phycol. 25:1255–1263.
- Lüning K. 1981. Egg release in gametophytes of *Laminaria saccharina*: Induction by darkness and inhibition by blue light and UV. Br. Phycol. J. 16:379–393.
- Lüning K. 1993. Environmental and internal control of seasonal growth in seaweeds. Hydrobiologia 260/261:1–14.
- Maier I. 1982. New aspects of pheromone-triggered apermatozoid release in *Laminaria digitata* (Phaeophyta). Protoplasma 113:137–143.
- Morita T, A Kurashima and M Maegawa. 2003. Temperature requirements for the growth and maturation of the gametophyte of *Undaria pinnatifida* and *U. undarioides* (Laminariales, Phaeophyceae). Phycol. Res. 51:154–160.
- Na YJ, DV Jeon, SJ Han, CAO Maranguy, DS An, HK Cha, JB Lee, JH Yang, HW Lee and HG Choi. 2016. Crossed effects of light and temperature on the growth and maturation of gametophytes in *Costaria costata* and *Undaria pinnatifida*. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 49:190–197.
- Okamura K. 1915. *Undaria* and its species. Bot. Mag. Tokyo 29:269–281.
- Parker RE. 1979. Introductory statistics for biology. 2nd edition. Edward Arnold, London, U.K. p. 122.
- Rothäusler E, I Gómez, U Karsten, F Tala and M Thiel. 2011. Physiological acclimation of floating *Macrocystis pyrifera* to temperature and irradiance ensures long-term persistence at the sea surface at mid-latitudes. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 405:33–41.
- Saito Y. 1956a. An ecological study of *Undaria pinnatifida* Sur. I. On the influence of environmental factors upon the

- development of gametophytes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 22:229–234.
- Saito Y. 1956b. An ecological study of *Undaria pinnatifida* Sur. II. On the influence of environmental factors upon the maturity of gametophytes and early development of sporophytes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 22:229–234.
- Saito Y. 1962. Fundamental studies on the propagation of *Undaria pinnatifida* (Harv.) Sur. Contr. Fish. Lab. Fac. Agr. Univ. Tokyo 3:1–101.
- Saito Y. 1972. On the effects of environmental factors on morphological characteristics of *Undaria pinnatifida* and the breeding of hybrids in genus *Undaria*. pp. 117–131. In Contributions to the Systematics of Benthic Marine Algae of the North Pacific (Abbott IA and Mi Kurog eds.). Sapporo Jap. Soc. Phycol. Kobe.
- Segi T and W Kida. 1958. Studies on the development of *Undaria undarioides* (Yendo) Okamura (II). On the development of sporophytes and influence of light intensity on it. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie. 2:517–525.
- 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.
- Van den Hoek C. 1984. World-wide latitudinal and longitudinal seaweed distribution patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of *Rhodophytan* genera. Helgoländer Meeresunters 38:227–257.
- Watanabe T and K Nisixawa. 1984. The utilization of wakame (*Undaria pinnatifida*) in Japan and manufacture of ‘haiboshi wakame’ and some of its biochemical and physical properties. Hydrobiologia 116:106–111.
- 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). Korean J. Fish. Aquat. Sci. 41:381–388.
- Wu CY, DP Li, HH Liu, GA Peng and JX Liu. 2004. Mass culture of *Undaria* gametophyte clones and their use in sporeling culture. Hydrobiologia 512:153–156.
- Xu B, QS Zhang, SC Qu, YZ Cong and XX Tang. 2009. Introduction of a seedling production method using vegetative gametophytes to the commercial farming of *Laminaria* in China. J. Appl. Phycol. 21:171–178.
- Yamanaka R and K Akiyama. 1993. Cultivation and utilization of *Undaria pinnatifida* (wakame) as food. J. Appl. Phycol. 5:249–253.

Received: 13 November 2017

Revised: 7 December 2017

Revision accepted: 7 December 2017