대형갈조류 곰피 (*Ecklonia stolonifera* Okamura) 유리배우체의 재생 및 성숙 유도

황은경·공용근·하동수·박찬선[1]*
국립수산과학원 해조류바이오연구센터, [1]목포대학교 해양수산자원학과

Inducing the Regeneration and Maturation of Free-living Gametophytes of *Ecklonia stolonifera* Okamura (Laminariales, Phaeophyta)

Eun Kyoung Hwang, Yong Gun Gong,
Dong Soo Ha and Chan Sun Park[1]*
Seaweed Research Center, NFRDI, Mokpo 530-831, Korea
[1]Department of Marine and Fisheries Resources, Mokpo National University, Jeonnam 534-729, Korea

The Induction of regeneration and maturation in the free-living gametophytes of *Ecklonia stolonifera* Okamura was studied at four temperatures (5, 10, 15, and 20℃), four levels of irradiance (5, 10, 20, and 40 μmol m^{-2} 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 5~10℃, 10 μmol m^{-2} s^{-1}, 10:14 h (L:D), whereas the conditions for male gametophytes were slightly different at 20℃, 40 μmol m^{-2} s^{-1}, 10:14 h (L:D). The sexual maturation of female and male gametophytes was facilitated at 15℃, 20 μmol m^{-2} s^{-1}, 14:10 h (L:D). These results provide basic information for controlling the regeneration and maturation of the free-living gametophytes for artificial seed production of *E. stolonifera*.

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

서 론

곰피 (*Ecklonia stolonifera* Okamura)는 다시마목 미역과의 다년생 해조로서 점심대의 깊은 곳에서 자라며, 해중림을 구성하는 해조로 연안생태계에서 1차생산자로서의 중요한 기능을 담당하고 있다 (Kang and Yoo, 1993; Brown and Lamare, 1994). 곰피는 우리나라 동해안의 특산으로 부산 연안에서 포항인근까지 분포하였으나 서식지가 점점 확대되어 현재는 남해안 여수 지역까지 자생지가 확인되었다. 대형 갈조류인 곰피는 다시마와 형태적으로 매우 유사한 해조류로 알긴산뿐 아니라 순도가 높은 푸코이단을 다량 함유하고 있으며, 곰피의 푸코이단은 트롬빈 활성이 높아 헤파린의 약 1.4배에 달한다고 알려져 있다 (Lee et al., 1995). 또한 여름철 고수온기 동안 전복의 먹이원으로 이용하거나, 해중림 조성을 통한 연안어장 생산력 증대 및 해양 환경 정화 등에 활용이 가능하다.

대형 갈조류는 산업적 활용성 또는 생태계의 기여도 등에서 높은 잠재성을 가지고 있기 때문에 이들의 원활한 바이오매스 확보에 필수적인 효율적 증식방법 개발을 위한 다양한 시도들이 이루어지고 있다.

이형세대교번을 하는 다시마과 해조류는 배우체 세대에서 암수배우체를 각각 분리하여 무성적으로 증식시킬 수 있으며, 환경조절을 통하여 배우자형성을 유도할 수 있음이 알려져 있다 (Lüning, 1980). 또한 최근 칠레에서는 전복 먹이원으로써 다시마류의 대량양식에 실내에서 대량 증식시킨 유리 배우체를 이용하는 방안이 개발된 바 있으며 (Westermeier et al., 2006; Edding and Tala, 2003), 국내에서는 감태의 유리배우체 재생 및 성숙 유도 조건이 밝혀진 바 있다 (Wi et al., 2008).

현재 우리나라에서 행해지고 있는 미역이나 다시마 등의 양식방법은 매년 성숙된 모조로부터 방출된 유주자를 기질에 채묘하여 양식하는 방법을 사용하고 있으나 이러한 종묘생산 방법을 대규모 곰피 양식에 적용할 경우 많은 양의 모조가 사용되어야 하므로 자연군락의 훼손을 야기할 가능성이 있다 (Wi et al., 2008). 그러나 유리배우체의 배양에 의한 방법은 소량의 성숙 엽체만으로도 많은 양의 배우체 확보가 가능하며, 클론 배우체의 유도를 통한 우량 품종의 교배와 선발육종의 기초를 다질 수 있는 매우 효율적인 방법이라 할 수 있다. 최근 Hwang et al. (2009)은 곰피 유주자 채묘에 의한 양식기법을 확립하여 가이식과 양성조건을 위한 적정조건을 보고한 바 있는데, 곰피의 유리배우체 배양에 의한 안정적인 종묘확보가 이루어질 수 있다면 해중림 조성용 또는 전복 먹이원으로 곰피의 안정적인 양식생산을 꾀할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구에서는 곰피 암수 배우체의 분리 배양 및 생장과 성숙 조건을 파악하여 안정적인 유리배우체의 배양조건을 확립함으로써 효율적인 곰피 양식의 기초를 마련하고자 하였다.

*Corresponding author: cspark85@mokpo.ac.kr

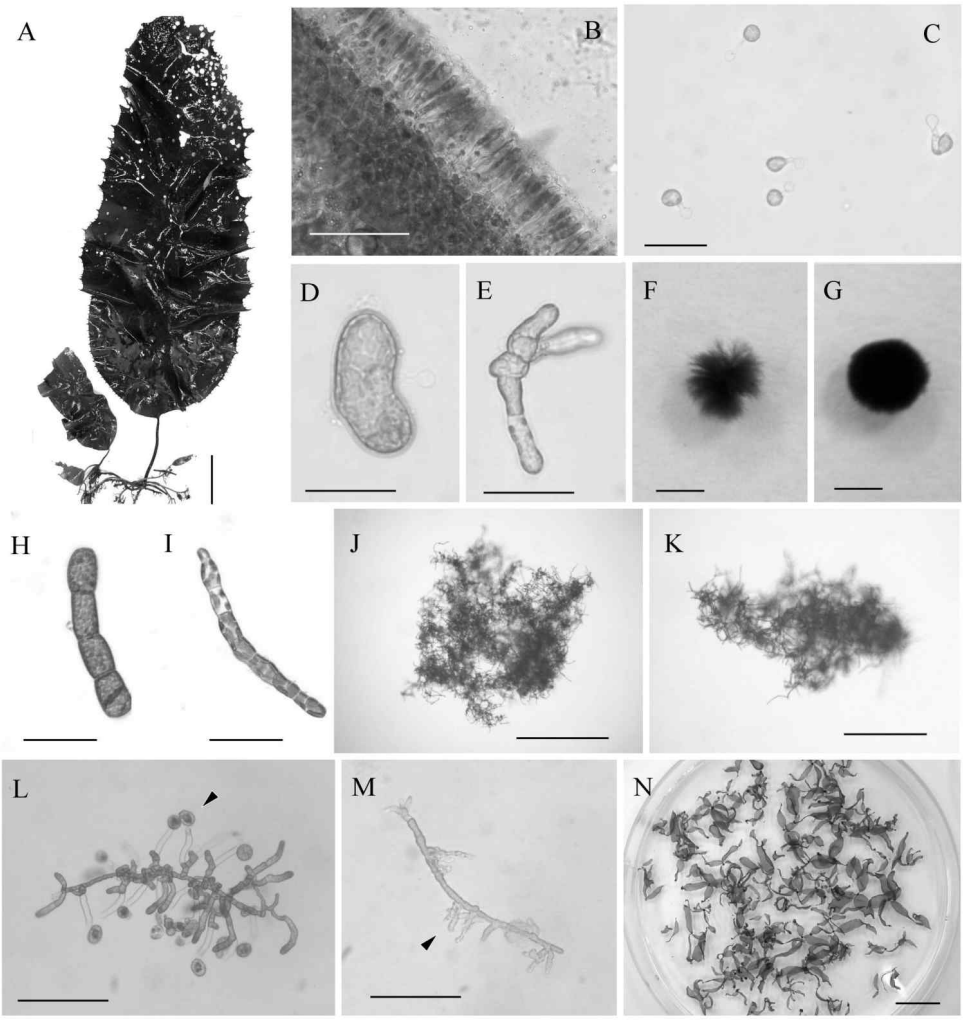

Fig. 1. Procedure of the isolation and culture of free-living gametophytes of *Ecklonia stolonifera*. A: Mature sporophyte. B: A cross-section of sporangia. C: A germling after zoospore release. D: Female gametophyte after 3 days culture. E: Male gametophytes after 3 days culture. F: A cluster of female 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 after 60 days culture. Scale bar are 30 cm (A), 200μm (B), 50μm (C-E), 5 mm (F-G), 100μm (H-M), 1 cm (N). Culture conditions are expressed in Fig. 5.

재료 및 방법

유주자 방출 및 배우체 분리

본 연구에 사용된 성숙 모조는 국립수산과학원 해조류바이오연구센터에서 양식 실험중인 전남 완도군 약산면의 시험어장에서 2007년 11월에 채취하였다. 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℃, 20 μmol m^{-2} s^{-1} 및 10:14 h (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 암배우체와 수배우체로 구분하여 별도의 직경 5 cm의 멸균된 petri dish에 수용하여 PESI 배양액 20 ml를 넣어 2-3일 간격으로 환수하였다. 암수배우체의 생장에 따라 배양용기를 250 ml로 옮겨 주고 PESI 배지를 첨가하여 각각의 암수배우체 덩어리가 직경 5 mm 크기에 도달할 때까지 50-60일간 통기배양 하였다.

유리배우체 단편의 절단 크기별 재생

유리배우체 단편의 절단 크기별 재생을 파악하기 위하여 무성적으로 대량배양 된 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 암·수 배우체를 분리하여 15℃와 20 μmol m^{-2} s^{-1} 의 조건에서 12 multi well-plate를 사용하여 7일간 정치배양한 후 배우체의 길이생장은 도립현미경 (Axio Observer A1, Carl zeiss, Germany)하에서 측정하였다. 세단된 배우체의 재생길이는 배양 시작시의 배우체 평균길이를 배양완료시의 그것과 비교하여 구하였다.

유리배우체 단편의 생장 및 성숙

유리배우체의 세단 후 유리배우체 단편의 생장 및 성숙 유도에 유리한 최적 환경조건을 파악하기 위해 암배우체와 수배우체 덩어리로 자란 유리배우체를 각각 호모게나이저 (DI 25basic, GMBH & Co., Germany)로 재생장이 가장 좋았던 8,000 rpm 의 속도로 1분간 분쇄하여, 12 multi well-plate에 PESI 배지 (Provasoli's enrichment seawater with iodine; Provasoli, 1968) 1 ml를 채우고 한 well당 1개씩의 암수배우체를 각각 수용하였다. 배양조건은 4개의 온도구간 (5, 10, 15, 20℃)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 조정하여 Incubator (EYELA MTI-202B, Japan)에서 배양하였고, 배우체의 길이생장 및 성숙 여부를 도립현미경 (Axio Observer A1, Carl zeiss, Germany)으로 관찰하였다. 조도의 측정은 LI-1400 (LI-COR, USA)으로 하였고, 조도 구간의 설정은 중성필터 (Lee Filter) ND 209, 210, 211호를 사용하여 조절하였다. 배우체의 길이생장에 사용한 단편은 호모게나이저 (DI 25basic, GMBH & Co., Germany)로 분쇄 후 절단된 배우체 단편들 중에서 분지가 없는 상태의 것을 선별해 사용하였으며, PESI 배지는 7일마다 교환해 주었다. 유리배우체의 상대생장율 (RGR)은 Serisawa et al. (2002)의 방법을 응용하여 아래와 같은 식으로 구하였다.

$$RGR\ (\%\ day^{-1}) = 100t^{-1}\ \ln\ (Va/Vb)$$

V_a = length at time t^2

V_b = length at time t^1

통계분석

실내배양실험에서 얻어진 배우체 단편의 생장율에 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. 생장율 데이터는 통계분석 이전에 arcsine transformation하였다 (Parker, 1979).

결 과

배우체의 생장

곰피 엽체 (Fig. 1 A)의 자낭반 (Fig. 1 B)으로부터 방출된 유주자 (Fig. 1 C)는 방출 즉시 기물에 부착하여 구형으로 착생하였으며, 10℃와 20 μmol m^{-2} s^{-1} 및 10:14 h (L:D) 광주기 조건에서 배양 3일 후 각각 암배우체 (Fig. 1 D) 또는 수배우체 (Fig. 1 E) 로 생장하였다. 각각의 암수 배우체는 통기조건하에서 약 30일이 경과되면 Fig. 1 F-G와 같이 배우체 덩어리로 증식되었다. 호모게나이저를 이용하여 절단된 암수 배우체의 절편 (Fig. 1 H-I)은 배양 40일 후 Fig. 1 J-K와 같이 각각 배우체 덩어리로 증식하였다. 이들 배우체 덩어리를 다시 세단하여 성숙을 유도한 결과 Fig. 1 L-M과 같이 각각 장란기와 장정기를 형성하였으며, 배양 60일후 유엽 (Fig. 1 N)으로 생장하였다.

유리배우체 단편 크기별 재생

암배우체의 단편 크기별 길이생장은 Fig. 2 A와 같이 호모게나이저로 3분 (8,000 rpm) 절단했을 때 배양 개시시 세단 크기가 88.5±22.2 μm에서 배양 7일후 106.9±24.2 μm로 증가하여 생장율이 2.7±1.3% day^{-1}로 가장 높았으나, 구간별 차이는 크지 않았다 (P>0.05). 수배우체의 단편 크기별 길이 생장은 Fig. 2B와 같이 호모게나이저로 3분 (8,000 rpm) 절단했을 때 배양 개시시 세단 크기가 99.84±25.86 μm에서 배양 7일 후 157.2±25.8 μm로 증가하여 생장율이 6.5±0.1% day^{-1}로 가장 높았다.

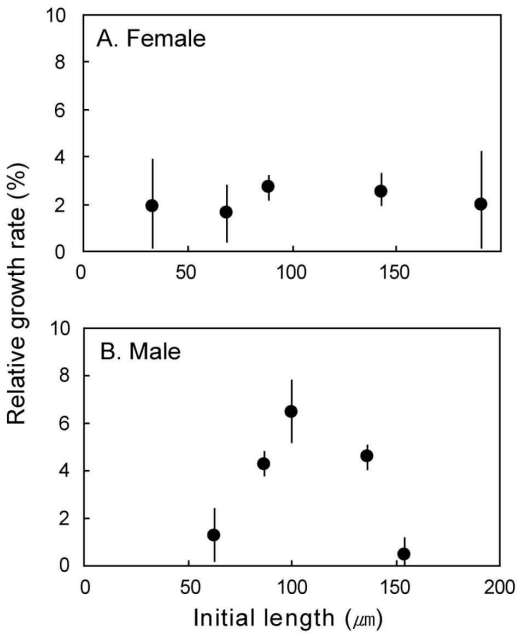

Fig. 2. Relative growth rate of female and male gametophytic fragments in *Ecklonia stolonifera* according to the initial cells after 20 days culture 20 μmol m^{-2} s^{-1} and 14:10 h (L:D). Vertical bars represent SD.

배양조건별 유리배우체 단편의 생장

암배우체의 온도조건별 길이생장은 배양 10일 이후부터 20℃ 조건에서 빠르게 길이생장이 증가하기 시작하여 20일 후 최대 289.2±76.0 μm로 타 온도 구간에 비하여 가장 높았다

(Fig. 3 A). 조도구간별로는 배양 10일 이후부터 40 μmol m^{-2} s^{-1} 의 조도구간에서 암배우체의 길이생장이 빠르게 증가하였다 (Fig. 3 B). 광주기 조건별로는 배양 5일까지는 10:14 h (L:D) 조건에서 길이생장이 빠르게 증가하였으나 이후 12:12 h (L:D) 조건에서 타 광주기 조건에 비하여 길이생장이 빠르게 증가하여 배양 20일 후 최대 290.7±76.2 μm에 달하였다 (Fig. 3 C).

암배우체의 온도조건별 생장율은 Table 1과 같이 15℃조건에서 2.8±0.5% day^{-1}로 가장 높았으며, 5℃조건에서 1.3±0.5% day^{-1}로 가장 낮았다 (P<0.05). 조도구간별로는 20 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 3.4±0.6% day^{-1}로 가장 높았으며, 5 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 2.4±0.5% day^{-1}로 가장 낮았다 (P<0.05). 광주기 조건별로는 12:12 h (L:D) 조건에서 3.0±0.2% day^{-1}로 가장 높았고, 14:10 h (L:D)에서 2.6±0.4% day^{-1}로 가장 낮았다 (P<0.05).

수배우체의 온도조건별 생장은 배양 5일후부터 20℃ 조건에서 빠르게 길이생장이 증가하기 시작하여 배양 20일 후 최대 390.30±45.44 μm로 타 온도 조건에 비하여 가장 높았으며, 5℃에서 길이생장이 가장 저조하였다 (Fig. 4 A). 조도구간별로는 40 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 길이생장의 증가가 가장 빨랐으며, 5 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 가장 저조하였다 (Fig. 4 B). 광주기 구간별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 길이생장이 가장 빠르게 증가하여 308.5±38.3 μm로 최대치를 보였으며, 12:12와 10:14 h (L:D) 조건에서는 277.8 μm 및 299.4 μm로 길이생장이 저조하였으나 구간별로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 4 C) (P>0.05).

수배우체의 온도조건별 생장율은 Table 1과 같이 15℃조건에서 5.4±0.2% day^{-1}로 가장 높았으며 5℃조건에서 2.8±0.0% day^{-1}로 가장 낮았다 (P<0.05). 조도구간별로는 20 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 4.4±0.2% day^{-1}로 가장 높았으며, 5 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 3.0±0.3% day^{-1}로 가장 낮았다 (P<0.05). 광주기 조건별로는 14:10 h (L:D) 조건에서 4.2±0.2% day^{-1}로 가장 높았으나 10:14 h (L:D)과 12:12 h (L:D)에서는 각각 3.7±0.3% day^{-1} 및 4.0±0.0% day^{-1}로 유의한 차이가 없었다 (P>0.05).

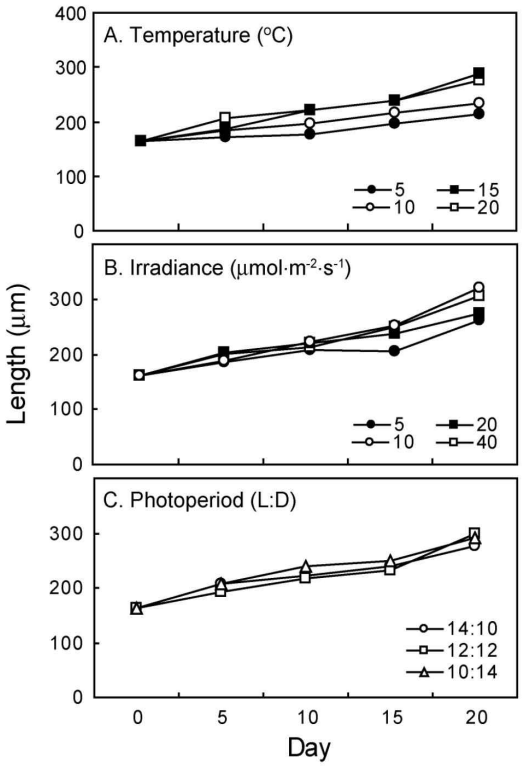

Fig. 3. Length of female gametophyte under different temperature, irradiance and photoperiod conditions during 20 days in *Ecklonia stolonifera*.

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

Experimental conditions		Initial length (μm±SD)		Final length (μm±SD)		Growth rate (% day^{-1})	
		Female	Male	Female	Male	Female	Male
Temperature (℃)	5	164.1±72.4	133.9±41.9	214.0±68.3	234.5±113.9	1.3±0.5^{a}	2.8±0.1^{a}
	10			233.2±38.1	247.1± 36.7	1.8±0.1^{a}	3.1±0.2^{a}
	15			289.2±75.9	390.3± 45.4	2.8±0.5^{b}	5.4±0.2^{b}
	20			276.7±41.2	308.5± 38.3	2.6±0.4^{c}	4.2±0.2^{c}
Irradiance (μmol m^{-2} s^{-1})	5	164.1±72.4	133.9±41.8	265.0±58.8	242.1± 32.1	2.4±0.5^{a}	3.0±0.3^{a}
	10			310.2±91.8	296.0± 55.7	3.2±0.3^{b}	4.0±0.2^{b}
	20			323.2±99.5	320.0± 45.1	3.4±0.6^{c}	4.4±0.2^{c}
	40			276.6±41.2	308.1± 36.2	2.6±0.4^{d}	4.2±0.2^{b}
Photoperiod (L:D)	14:10	164.1±72.4	133.9±41.8	276.6±41.2	308.5± 38.3	2.6±0.4^{a}	4.2±0.2^{a}
	12:12			298.3±85.9	299.4± 35.0	3.0±0.2^{a}	4.0±0.1^{a}
	10:14			290.7±76.2	277.8± 55.9	2.9±0.7^{a}	3.7±0.3^{b}

Values (mean±s.d. of triplicate groups) in same column having the different superscripts are significantly different (P<0.05).

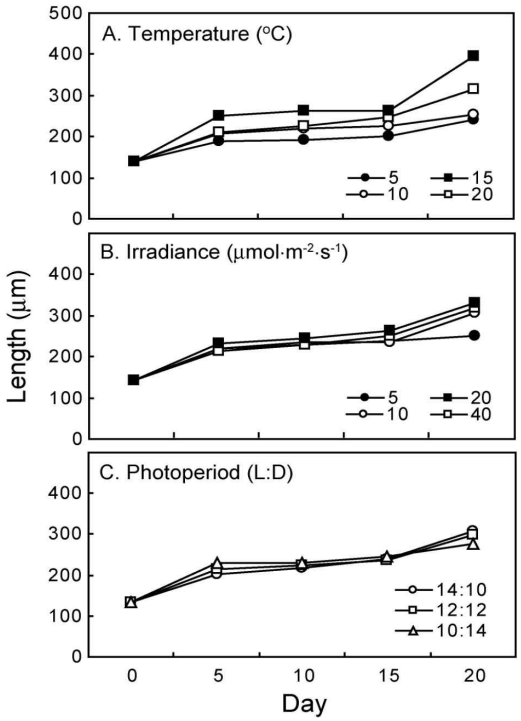

Fig. 4. Length of male gametophyte under different temperature, irradiance and photoperiod conditions during 20 days in *Ecklonia stolonifera*.

배양조건별 유리배우체 단편의 성숙

암배우체의 성숙은 Table 2와 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도조건별로는 15, 20℃ 조건에서 배양 15일후 가장 먼저 장란기가 형성되기 시작하였으나, 5-10℃ 조건에서는 배양 20일까지 장란기의 형성이 관찰되지 않았다. 조도조건별로는 40 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 배양 10일 후 암배우체가 장란기를 형성하였고, 20 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 15일후 장란기의 형성을 나타내었으나, 5-10 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 20일까지 장란기가 형성되지 않았다. 광주기 조건별로는 14:10 h, 12:12 h (L:D) 조건에서

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

Conditions	Day	0	5	10	15	20
Temperature (℃)	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 oogonium.

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

Conditions	Day	0	5	10	15	20
Temperature (℃)	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.

배양 15일후 장란기의 형성이 관찰되었으나, 10:14 h (L:D) 조건에서는 배양 20일후 장란기의 형성이 관찰되었다.

수배우체의 성숙은 Table 3과 같이 온도, 조도 및 광주기 조건별로 차이를 나타내었다. 온도조건별로는 배양 10일후 10℃ 조건에서 장정기의 형성이 나타나기 시작하였으나, 20℃ 조건에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다. 조도조건별로는 배양 5일후 5, 10 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서 가장 먼저 장정기의 형성이 관찰되었고, 20 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 15일후 장정기의 형성이 관찰되었으나, 40 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다. 광주기 조건별로는 12:12 h (L:D) 조건에서 배양 10일후 장정기가 형성되기 시작하였고, 14:10 h (L:D)에서는 배양 15일후 장정기의 형성이 관찰되었으나, 10:14 h (L:D)에서는 배양 20일까지 장정기의 형성이 관찰되지 않았다.

고 찰

해조류의 생장 및 분포는 환경적 요인 및 생물학적 요인에 의하여 영향을 받는데 이 중 조도와 온도는 해조류의 생장 및 생식에 중요한 제한 요인으로 작용한다는 것에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다 (Gerard, 1984; Leukart and Lüning, 1994; Bolton and Lewitt, 1985; Novaczek and McLachlan, 1987). 조하대에 서식하는 일부 해조류들은 생장하는데 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 대형 갈조류는 군락을 이루며 생장하기 때문에 성엽의 수관층 아래 부분은 그늘로 낮은 광량 조건을 이루게 되는데 바로 이러한 곳에서 배우체들은 적응하여 생존하므로 실내 배우체의 대량 배양에서도 이러한 광 조건의 특성이 반영된 것으로 보아야 할 것이다.

해중림의 주요 구성원이면서 고수온기 양식 전복의 유용한 먹이원인 곰피의 자원관리와 보호 및 효과적인 이용을 위한 최선의 양식방법은 성숙 모조를 최소로 사용하면서 지속적인

증식효과를 가져올 수 있는 유리배우체 채묘에 의한 종묘생산 방법을 개발하는 것이다 (Wi et al., 2008). 이러한 유리배우체를 활용한 증식 방법은 이형생활사를 가지는 대부분의 유용 대형 갈조류에 적용할 수 있으며, 곰피 양식에 있어 유리배우체를 활용한 완전양식 방법은 자연에서의 엽체 성숙 시기와 관계없이 연중 안정된 종묘생산이 가능함을 의미한다. 최근 Westermeir et al. (2006) 등은 다시마과의 대형 갈조류인 *Lessonia trabeculata*와 *Macrocystis pyrifera*의 유리배우체 배양에 의한 양식에 성공하므로써 유리배우체 배양을 이용한 대량양식이 가능함을 입증한 바 있다. 우리나라에서는 감태류의 양식과 관련하여 Hwang et al. (2009)이 곰피의 유주자 채묘 방법을 통한 적정 가이식과 양성조건을 이미 구명한 바 있으므로, 곰피의 유리배우체 배양에 의한 양식 종묘의 안정적인 확보는 곰피 양식의 생력화 뿐만 아니라 산업화에 크게 기여할 것으로 보인다.

본 연구결과 곰피 배우체의 생장과 성숙에 대한 온도와 조도의 영향은 암수 배우체에서 차이를 나타내었다 (Table 1). 곰피 유리배우체의 길이생장은 암수배우체 모두 15℃와 20 μmol m^{-2} s^{-1}의 조건에서 타 구간에 비해 가장 빠른 길이생장을 보였으며, 광주기 조건별로는 암수배우체 모두 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 Wi et al. (2008)에서 보고한 감태의 암수 유리배우체가 15℃와 20 μmol m^{-2} s^{-1} 및 14:10 (L:D)의 조건에서 가장 높은 생장율을 보인 점과 동일한 경향을 나타내었다.

곰피 암배우체의 성숙은 15~20℃, 20~40 μmol m^{-2} s^{-1} 및 14:10 h (L:D)과 12:12 h (L:D) 조건이었으며, 5~10℃, 5~10 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 20일까지 장란기를 형성하지 않았다 (Table 2). 곰피 수배우체의 성숙은 5~15℃, 5~20 μmol m^{-2} s^{-1} 및 14:10 h (L:D)과 12:12 h (L:D) 조건이었으며, 20℃, 40 μmol m^{-2} s^{-1} 조건에서는 배양 20일까지 장정기를 형성하지 않았다 (Table 3). 즉, 곰피 암수배우체의 영양생장 유도를 위한 성숙 억제 조건은 각각 암배우체 5~10℃, 5~10 μmol m^{-2} s^{-1}, 수배우체 20℃, 40 μmol m^{-2} s^{-1} 조건으로, 곰피 암수 유리배우체의 생장과 성숙은 온도, 조도 및 광주기 조건들을 이용하여 조절할 수 있는 것으로 나타났다.

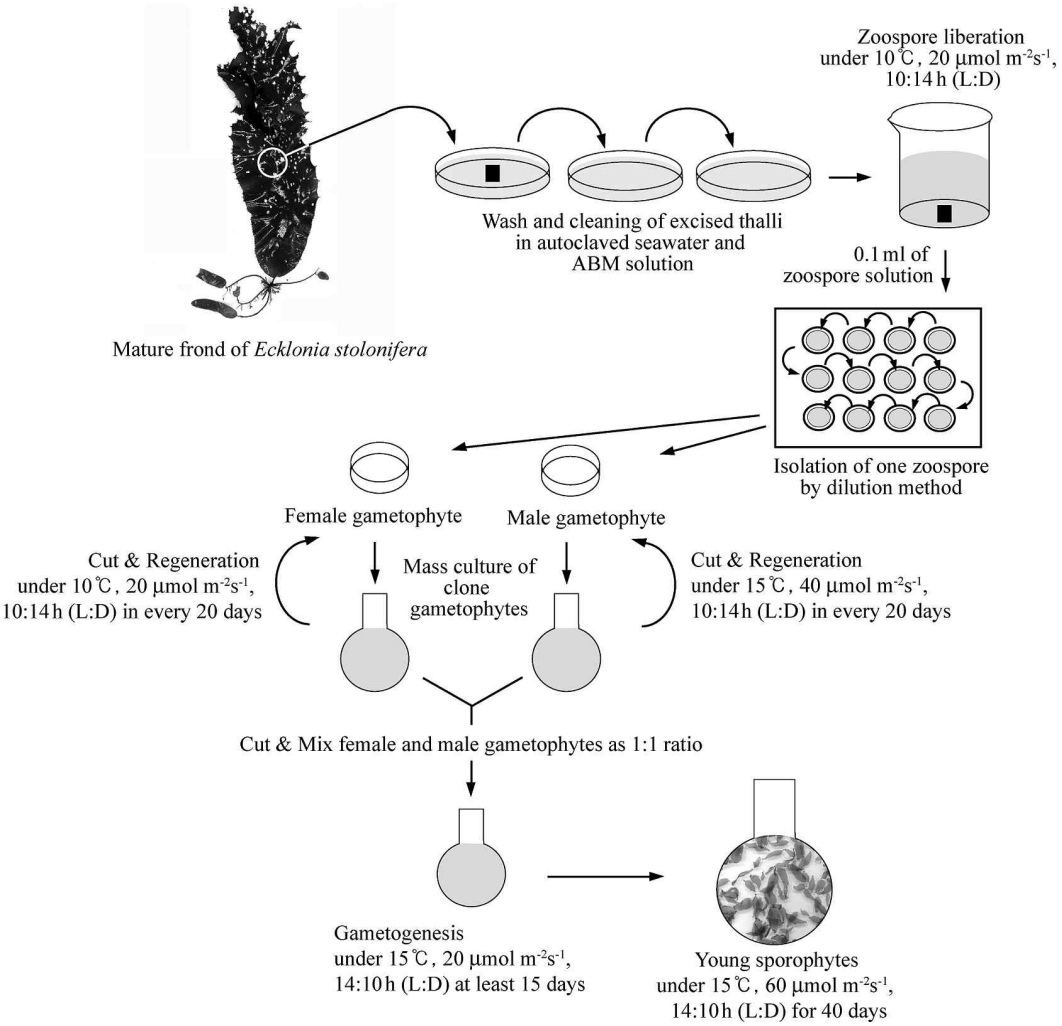

Fig. 5. A manual for the mass culture of free-living gametophytes in *Ecklonia stolonifera* including the culture conditions for the regeneration and maturation induction.

곰피 유리배우체의 절단크기별 생장율은 Fig. 2와 같이 암수배우체에서 차이를 나타내었다. 암배우체 단편의 생장율은 절단크기에 따라 유의한 차이를 보이지 않았으나 수배우체 단편의 생장율은 절단크기가 약 100 μm인 경우 6.5±1.3% day^{-1}로 가장 높은 생장율을 나타내었으며, 절단 크기가 커지거나 작아질 경우 생장율이 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 암수배우체의 절단크기별 생장 차이는 곰피의 경우 감태와 다른 차이를 보였으나 (Wi et al., 2008), 곰피 유리배우체의 대량배양에 있어서 아포체 형성에 절대적으로 필요한 암배우체의 절단크기는 어느 크기로 절단을 하든지 생장율에 유의한 영향을 미치지 않은 것으로 나타나, 대량 종묘의 종묘생산을 위한 곰피의 유리배우체 역시 대량배양에 적합한 특성을 가지고 있는 것으로 판단되었다.

본 연구의 결과로 볼 때 곰피 암배우체는 10℃이하의 낮은 온도와 10 μmol m^{-2} s^{-1} 이하의 낮은 조도 및 10:14 h (L:D)조건에서 성숙은 억제되는 반면 영양생장은 우세하며, 수배우체는 20℃, 40 μmol m^{-2} s^{-1} 및 10:14 h (L:D)조건에서 성숙이 억제되는 반면 영양생장이 우세하였다. 따라서 곰피의 유리배우체를 대량 증식 시키고자 할 때는 암수배우체를 각각 분리하여 영양생장에 적합한 배양조건하에서 증식시킨 후 종묘생산 시기에 맞춰 성숙유도 조건으로 전환하여 암수배우체의 혼합배양을 실시함으로써 안정적인 인공종묘생산이 이루어질 수 있다. 이와 같은 곰피 배우체 대량배양 체계는 Fig. 5와 같이 요약되었다.

본 연구를 바탕으로 곰피의 보호와 이용을 위한 유리배우체의 배양조건의 구명과 인공적인 대량 종묘생산은 대량 양식 가능성을 크게 높여, 해조 양식 대상종을 다양화하고, 해중림 조성을 위한 다년생 해조류의 대상종 확대에 크게 기여할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부의 연구비 지원 (국립수산과학원 RP-2010-AQ-016)과 2009년도 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 대학중점연구소 지원사업 (2009-0093828)으로 수행되었습니다.

참고문헌

Bolton LL and Lewitt GJ. 1985. Light and temperature requirements for growth and reproduction in gametophytes of *Ecklonia maxina* (Alariceae, Laminariales). Mar Biol 87, 131-135.

Brown MT and Lamare MD. 1994. The distribution of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar within Timaru Harbour, New Zealand. Jpn J Phycol 42, 63-70.

Edding ME and Tala FB. 2003. Development of techniques for the cultivation of *Lessonia trabeculata* Villouta et Santelices (Phaeophyceae: Laminariales) in Chile. Aqua Res 34, 507-515.

Fain SR and Murray SN. 1982. Effects of light and temperature on net photosynthesis and dark respiration of gametophytes and embryonic sporphytes of *Macrocystis pyrifera*. J Phycol 18, 92-98.

Gerard VA. 1984. The light environment in a giant kelp forest: influence of *Macrocystis pyrifera* on spatial and temporal variability. Mar Biol 84, 189-195.

Hwang EK, Baek JM, Park CS. 2009. The mass cultivation of *Ecklonia stolonifera* Okamura as a summer feed for the abalone industry in Korea. J Appl Phycol 21, 585-590.

Kain JM. 1964. Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. Ⅲ. Survival and growth of gametophytes. J Mar Biol Assoc UK 44, 415-433.

Kang LS and Yoo SJ. 1993. The acute toxity of three oils to the early life of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar. Korean J Phycol 8, 77-82.

Lee HS, Jin SH, Rye BH. 1995. Characteristic properties of fucoidan sulfate purified from Gompi, *Ecklonia stolonifera*. Kor Soc Food Sci Tech 27, 716-723.

Leukart P and Lüning K. 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.

Lüning K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria* species (Phaeophyceae). J Phycol 16, 1-15.

Novaczek I and McLachlan J. 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 RE. 1979. Introductory statistics for biology. 2nd edition. Edward Arnold, London, 122pp.

Provasoli L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In cultures and Collections of Algae. Wantanabe, A. and A, Hattori, eds., Jap Soc Plant Physiol 63-75.

Serisawa Y, Yokohama Y, Aruga Y and Tanaka J. 2002. Growth of *Ecklonia cava* (Laminariales, Phaeophyta) sporophytes transplanted to a locality with different temperature conditions. Phycol Res, 50 201-207.

Westermeier R, Patino D, Piel MI, Maier I and Mueller DG. 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, Hwang EK, Kim SC, Hwang MS, Baek JM and Park CS. 2008. Regeneration and maturation induction for the free-living gametophytes of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta). J Kor Fish Soc 41, 381-388.

Zar JH. 1984. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Engelwood Cliffs, N.J., 718.

2010년 3월 18일 접수
2010년 6월 4일 수정
2010년 6월 15일 수리