Bull. Korean Fish. Soc., 9(1),56—60, 1976 韓水誌 9(1),56—60, 1976

김의 選拔育成을 위한 基礎調査
Ⅰ. 김의 游離糸狀体 培養 및 幼体의 單胞子放出

高 楠 表·孫 徹 鉉*

(1976年3月1日 接受)

STUDIES ON LABORATORY CULTURE OF FREE-LIVING CONCHOCELIS OF *PORPHYRA* AND METHODS OF MONOSPORE LIBERATION

Nam Pyo Go* and Cheol Hyeon Son*

In order to find effective seed collection method from cultivated *Porphyra*, benthic diatom elimination, culturing conditions of Conchocelis, liberation of conchospores and treatment of the fronds to obtain monospores have been studied.

Elimination of benthic diatoms from *Porphyra* fronds is successfully performed by careful brushing the fronds in sea water and freshwater alternatively.

For the culturing of Conchocelis Schleiber's solution enriched with only soil extracts, vitamins and Fe-EDTA was satisfactory.

Growth under 16 hours illumination is 1.29 times faster than those under 10 hours illumination. When the culturing water was airated the growth was 1.41~1.50 times faster than the growth in stagnant water.

Total amount of conchospores liberated from Conchocelis which has been cultured under airation was much more than those of conchospores under stagnant condition.

Effective liberation of monospores was observed in the fronds which have been dried in air for 6 hours (21.23~24.19% water content).

緖 言

김 養殖에서 選拔育成法이 널리 活用되기 爲해서는 먼저 養殖場의 環境이나 養殖時期, 生産目標等 養殖條件에 適合한 優秀品種을 蒐集하여 그 系統保存을 잘 할 수 있어야 하며, 다음에는 保存한 品種의 김 種苗를 需要에 充足할 수 있도록 量産하는 技術이 連結될 수 있어야 한다. 養殖김의 品種選擇問題는 三浦(1971) 片山 等(1973)이 報告한 바와 같이 優秀性이 認定된 *Porphyra yezoensis* Ueda f. *narawaensis* Miura이나 *P. tenera* Kjellman f. *tamatsuensis* Miura 等의 새 品種이 開發되었으므로 어느 程度 方向이 定立된 셈이다. 그런데 이들 새 品種의 김은 繁殖力이 弱하고, 三浦等(1975)이 밝힌 바와 같이 養殖時期가 經過함에 따라 單胞子에 依하여 在來品種과 자리 바꿈되어 가는 傾向이 있으므로 品種의 系統 保存이 어렵고 種苗를 量産할 수 있는 技術이 더욱 切實하게 要求된다.

岩崎(1965, 1972)는 游離糸狀体의 培養方法에 對한 有益性과 量産할 수 있는 採苗方法을 提示하였고 木下等(1974)은 김(*P. tenera*)은 游離糸狀体를 利用하

*麗水水産專門學校, Yoesu Fisheries Technical Junior College.

여 採苗하는 便이 有益하고 방사무늬김(*P. yezoensis*)은 人工培養한 葉体에서 單胞子를 받아서 採苗하는 便이 좋다고 報告하였다.

筆者等은 種苗를 量産하는 方法을 밝히기 爲하여 游離糸狀体의 一般的인 培養方法과 葉体로부터 單胞子의 放出을 誘發하여 採苗할 수 있는 可能性을 確認하기 위한 一連의 實驗을 하였다.

材料 및 方法

游離糸狀体의 培養에 쓰인 品種은 麗川郡 南面 小橫干島앞에 있는 養殖 김발에서 選拔한 방사무늬김이다. 果胞子를 받을 때 珪藻類의 混入을 防止하기 爲한 母藻의 洗滌은 岩崎(1972)의 方法대로 잘 成熟한 깨끗한 葉体에서 囊果斑 部分을 切取하여 60~70℃로 加熱滅菌한 濾過海水에서 毛筆로 葉体의 表面을 잘 닦아낸 다음 1cm^2 程度씩의 切片을 만들어서 海水에 몇차례 헹구어 내는 方法과 右田의 助言(私信)으로 表面을 닦아낸 葉体의 切片을 水道水와 海水로 번갈아 4~5回 헹구어 내는 方法을 比較하였다. 果胞子를 받을 때는 샤아레에 슬라이드 글라스 1개씩을 깔고 그 위에 洗滌한 母藻의 切片 하나씩을 올려 놓은 다음 培養液을 채워서 密閉하여 두었다가 約 20日만에 檢鏡하였다. 위에 말한 모든 器具나 操作方法에는 無菌狀態를 유지할 수 있도록 細心한 注意를 기울였다.

Table 1. Chemical composition of culturing media

A: Fφyn's solution	
$NaNO_3$	10*mg*
$NaHPO_4 \cdot 12H_2O$	2*mg*
Soil extracts	5*ml*
Sea water	100*ml*
B: SW Ⅰ solution	
Filtered sea water	1000*ml*
KNO_3	72.3*mg*(10*mg*/ℓ as N)
KH_2PO_4	8.8*mg*(2*mg*/ℓ as P)
Fe-EDTA	0.5*mg*(as Fe)
Tris	50*mg*
pH	8.8~8.2
C: ESP solution	
Distilled water	100*ml*
$NaNO_3$	350*mg*
Na_2-glycerphosphate	50*mg*
Fe-EDTA	2.5*mg*
P Ⅱ metals	25*ml*
Vitamin B_{12}	10*mg*
Thiamine	0.5*mg*
Biotine	5*μg*
Tris	500*mg*
pH	7.8
D: SW Ⅱ solution	
Sea water	1,000*ml*
KNO_3	72.2*mg*
KH_2PO_4	4.4*mg*
Na_2-glycerophosphate	10.5*mg*
Fe-EDTA	0.5*mg*
Tris	500*mg*
pH	8.0~8.5

培養液은 培養方法의 普及效果를 考慮하여 Table 1과 같이 비교적 값이 싸고 購入하기도 쉬운 것을 擇하여 그 優劣을 比較하였다. 물갈기는 20日間隔으로 그 上澄液을 빨아내고 그 量 만큼 다시 補充하였다. 照度는 1,500~3,000lux로 調節하였고 밤에 照明할 때는 白色 螢光燈을 使用하였다. 成長度는 培養한 糸狀体를 脫水機로 물기를 뺀 다음 그 生重量을 秤量하여 比較하였다. 殼胞子囊의 形成과 成熟을 促進시키는 方法은 岩崎(1972)의 方法에 따라서 지름 7~8*mm*된 游離糸狀体를 막서로 가볍게 갈아서 새 培養液에 옮기고 短日處理(500~1,000lux 1日 8時間 照明)하였으며 水溫은 23~27°C(室內 水槽 溫度)範圍에 두었다. 殼胞子의 放出은 14~20°C로 低溫處理를 시작한 다음 繼續的인 檢鏡에 依하여 放出의 絕頂이 豫想된 때 器底에 附着할 것을 憂慮하여 20lux 以下로 어두운 곳에서 放出시켰다. 殼胞子의 放出量 調査는 上澄液을 빨아내고 胞子液을 濃縮시켜서 플랑크톤 計算板으로 計數하였다.

單胞子의 放出에 쓴 葉体는 亦是 小橫干島에서 採取하였다. 1975년 10월 25일에 自然採苗한 김발에서 11월 下旬에 最大 葉長이 10*cm* 程度 되었을 때 손으로 뜯어낸 全葉体(0.5~10*cm*)를 試料로 하였다. 即 김발에서 割竹채로 切取하여 온 김을 各各의 條件으로 말린 다음 全葉体를 뜯어서 秤量하여 폴리에칠렌 봉투에 싸서 -10°C 程度로 冷藏하여 두었다가 濾過海水 1ℓ에 마른김 2*g*씩을 담가서 20lux의 弱光 밑에 72時間 두었다가 葉体만 조용히 들어내고 殼胞子 때와 같은 方法으로 計數하였다. 試料의 乾燥方法은 김葉体가 割竹에 붙은 채로 空中에 달아매고 햇볕에 말린 方法과 木下等(1974)이 提示한 실리카겔로 말린 方法을 썼다. 乾燥한 葉体의 含水率 計算은 木下等(1974)의 濕重量을 基準으로 한 다음 式으로 計算하였다.

R=(W−w)/W×100 (但 R는 含水率(%), W는 葉体의 乾燥重量, w는 葉体의 完全乾燥重量)

葉体의 生重量은 乾燥한 葉体를 海水에 담가서 胞子를 放出시킨 다음 脫水機로 물기를 빼고 秤量하였다. 葉体의 完全乾燥重量은 105°C로 調整한 乾熱器속에서 重量의 變化가 없을 때까지(2時間程度)말렸으며 秤量할 때는 데시케이터에서 식힌 후에 實施하였다.

結　　果

1. 游離糸狀体의 培養成積

果胞子를 받을 때 珪藻類를 除去하기 위한 母藻의 洗滌 效果는 Table 2와 같이 3回에 걸쳐서 받은 250事例 中 62事例만이 珪藻類가 完全히 除去되었다. 또 水道水와 海水에 交代로 헹구어 낸 方法과 海水에만 헹구어 낸 方法을 比較하면 前者의 경우가 倍나 좋다.

Table 2. Elimination of epiphytic diatoms on *Porphyra* fronds by various cleaning methods[1)]

Cleaning methods	Number of cleaned fronds	Number of frond treated	Date of the experiments
Iwasaki method(1972)	30	150	Feb. 17—Apr. 1, 1975
Migita method[2)]	32	100	Dec. 10—30, 1975

1) The result of the elimination experiment was determined by microsopic observation 20 days after cleaning.
2) Personal communication

成長度를 比較한 實驗은 培養液 A를 使用하여 常法으로 2個月間 培養하여 지름 2~4*mm*로 成長한 糸狀体의 群落을 모아서 脫水機로 물기를 뺀 다음 1*g*씩을 秤量하여 培養한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. Growth of Conchocelis in the different culturing conditions

Culture media	Airation	Illumination hour	Wet weight of Conchocelis	Growth rate to different period of airation	Growth rate to different period of illumination
A	−	10	2.84		10
A	−	14	3.23		114
A	−	16	3.67	100	129
A	+	16	5.38	147	
B	−	16	4.01	100	
B	+	16	6.03	150	
C	−	16	3.96	100	
C	+	16	5.58	141	
D	−	16	4.12	100	
D	+	16	6.04	147	

培養液과 成長과의 關係는 培養液 A만이 若干 나빴으며 그 외에는 뚜렷한 差가 없었다. 다음에 照明時間과 成長과의 關係를 보면 本實驗의 範圍에서는 照明時間이 길수록 成長이 빨랐고 10時間 照明한 것에 比하여 16時間 照明한 것은 1.29倍가 빨랐다. 또 培養液을 攪拌한 通氣 培養法은 靜置培養法에 比하여 培養液에 따라 1.41~1.50倍가 빨랐다.

成長度와 殼胞子의 放出量과의 關係를 알아보기 위하여 通氣培養했던 糸狀体와 靜置培養했던 糸狀体를 同一 條件으로 殼胞子囊을 形成시켜서 放出시킨 結果는, 이들 兩者間의 胞子放出率은 1% 水準으로 有意性이 없다.

2. 單胞子 放出의 誘發 效果

單胞子의 放出을 위한 誘發 效果를 생김 10*g*를 基準으로 換算하면 Table 4와 같다. 本實驗에서는 두번다 6時間 日乾한 含水率 24.19~21.23%로 된 葉体에서 가장 많이 나왔고 생김 10*g*에서 最高 100萬個가 放出되었으며 2時間 日乾한 것은 30~40萬個씩에 不過

했다. 또 실리카겔로 말린 것은 2時間 둔 것과 4時間 둔 것 사이에 含水率의 差나 胞子放出量의 差가 모두 없었다.

考 察

果胞子를 받을 때 珪藻類를 除去하기 위한 母藻의 洗滌方法은 右田가 助言한 대로 葉体의 表面을 毛筆로 잘 닦아 내고 海水와 水道水로 헹구어 내는 方法만으로도 Table 2와 같이 100事例 中에서 32事例가 完全히 除去되었으므로 糸狀体의 游離培養法으로서는 구태여 舘脇(1971)나 岩崎(1965)等이 말한 無菌培養法을 쓰지 안해도 좋겠다. 그리고 豫備實驗을 해 본 結果 木下等(1974)이 말한 半固体培養器와 液体培養器에 문질러서 씻어내는 方法은 毛筆로 닦아 내는 方法에 比하여 効果가 적었다. 母藻의 切片을 海水에만 헹군(岩崎方法) 편이 水道水와 海水에 交代로 數回 헹구는(右田方法) 편보다 効果가 나쁜 것은 2~3月이 김葉体에 珪藻類의 汚染이 많은 時期이므로 그 原因이 季節的 탓인지 水道水의 影響인지는 不明하다.

Table 4. Number of monospores from the *Porphyra* fronds treated by different dehydration methods

Drying conditions	Water content(%)	Number of monospores/*g* of the frond
2 hr drying in the air	63.09	408×10^3
4 hr drying in the air	37.03	872×10^3
5 hr drying in the air	30.88	912×10^3
6 hr drying in the air	27.51	952×10^3
2 hr treatment in silca gel	59.48	448×10^3
4 hr treatment in silca gel	57.01	304×10^3

培養液에 對하여 木下等(1974)은 天然海水는 場所 時期等에 따라서 榮養鹽의 變化가 크므로 人工海水가 安定하다고 하였고, ASP_{12}·NTA—Provasoli(1963)의 ASP系統의 培養液을 더 補强해서 使用하였다. 또 岩崎(1965)는 3種의 榮養鹽 添加海水(ASW_8, SW Ⅰ, SW Ⅱ)의 9種의 合成 培養液 (ASM, ASP_1, ASP_2, ASP_2·NTA, ASP_6, ASP_7, ASP_{12}·NTAS, ASP_{12})에 對하여 그들이 糸狀体의 成長과 殼胞子의 形成에 미치는 優劣順을 밝혔다. 그런데 岩崎(1972)는 補强海水로서는 가장 成績이 나빴다고 한 SW Ⅰ(本實驗에서 使用한 培養液 B)을 使用하고 人工海水로는 ESP强化海水 (本實驗에서 使用한 培養液 C로서 舘脇(1971)는 海水에 混合하여 使用한다고 하였는데 岩崎(1972)는 市販人工海水에 混合 使用)를 使用하라고 했다. 筆者는 糸狀体의 榮養要求를 調査하는 精密實驗이 아니므로 Table 1과 같이 比較的 購入하기가 쉽고 값이 싼 培養液만을 使用하였다. 各培養液에 따른 成長度는 슐라이버液에 土壤抽出液만을 添加한 培養液 A만 若干 나빴고 다른 培養液 사이에는 別로 差가 없었으며 殼胞子도 제대로 形成되었으므로 이들 培養液은 어느 것이나 一般的인 培養液으로서 充分히 使用價値가 있다고 생각한다.

游離糸狀体의 成長度에 對하여 木下等(1974)은 照明時間을 12時間에서 16時間으로 延長하면 1.3倍가 빨라지고 培養器를 振動시켜서 攪拌해주면 靜置培養에 比하여 1.5倍가 빨라진다고 하였다. 그런데 岩崎(1972)는 照明은 하루에 13~14時間이 適當하다고 하였고 通氣 攪拌을 해주면 大端히 빨라진다고 하였다. 本實驗에서는 Table 3과 같이 10時間 照明한 것은 14時間 照明한 것에 比해서 1.14倍가 빠르고 16時間 照明한 것은 1.29倍가 빨랐으나 木下等(1974)의 內容과 비슷하나 岩崎(1972)의 13~14時間 照明이 좋다는 결과와는 2~3時間의 差가 있다. 通氣 培養한 効果도 培養液에 따라 1.41~1.50倍로 成長이 빨랐으나 木下等(1974)의 振動効果와 비슷하였다. 또 岩崎 (1972)는, 糸狀体는 1*mm*以下의 크기에서도 잘 成長하므로 糸狀体를 빨리 불어나게 하기 위해서는 糸狀体 群落을 자주 分割하여 주는 것이 한 方法이라고 하였다. 그런데 右田等(1967)은 糸狀体는 그 가지의 基部의 細胞列이 클 수록 成長이 잘 된다고 하였으나 糸狀体의 成長을 빠르게 하기 위하여 細切할 때의 알맞는 切片의 크기가 밝혀졌으면 좋겠다.

木下等(1974)은 糸狀体가 徒長하면 殼胞子形成過程에서 枯死하기 쉽고 殼胞子의 形成도 적으며 또한 形成된 殼胞子가 葉体로 순조롭게 成長하지 못한 例가 많았다고 하였다. 本實驗에서는 通氣培養으로 빨리 成長한 糸狀体와 靜置培養한 糸狀体 사이에는 單位量(1*g*)에서의 殼胞子 放出量의 差에 有意性이 없으며 成長이 빨라진 만큼 殼胞子를 더 얻을 수 있었다. 다만 이들 殼胞子의 充實性 與否에 對한 調査는 못하였다. 低溫處理로부터 殼胞子가 放出하는 데까지의 所要時間은 右田等(1966)이 말한 바와 같이 2日째부터 放出이 始作되었고 4日만에 絶頂이 豫想되더니 5日만에

거의 끝났다.

單胞子를 利用한 덮발 採苗法은 일찍부터 漁民들이 알고 있다. 그러나 木下等(1974)이 말한 바와 같이 탱크採苗나 비닐봉투式 採苗를 할려면 必要한 時間에 所要 胞子量을 放出시킬 수 있거나 그렇지 못하면 적어도 언제 얼마 만큼의 胞子가 나올 것이라는 豫想을 할 수 있어야 할 것이다. 木下等(1974)은 人工培養한 김 葉体를 含水率 25~30%로 乾燥시켜서 冷藏하여 두었다가 쓰면 생김 10g에서 360~900萬個의 單胞子가 放出된다고 한다. 그런데 여기서는 最高로 放出된 條件인 6時間 日乾에서도 10g當 100萬個 程度가 放出된데 不過하다. 이것은 自然産 김을 利用하였고 特히 早生種인 김(*P. tenera*)이 若干 混生된 關係인지 또는 乾燥方法이 나쁜 탓인지 밝히지 못했다. 그러나 1.2×18m되는 김발 1장의 全網糸 길이는 300m程度되며 1cm에 30個씩 胞子를 附着시키면 90萬個의 胞子가 必要한 셈이니 생김 10g에서 100萬個의 單胞子만 나와도 集約的인 採苗는 可能할 것으로 展望된다. 이와같은 結果는 덮발에 依하여 採苗할 境遇에도 適用될 것이다. 即 單胞子의 放出은 6時間 露出에서 많이 되므로 業界에서 活用하고있는 採苗層을 4~5時間露出線에서 5~6時間線으로 높이면 採苗도 잘 되고 同時에 害敵生物 驅除에도 도움이 될 것이다. 이 問題는 勿論 더욱 細密한 追試가 必要할 것이다.

單胞子나 殼胞子의 放出數를 調査할 때 양쪽 모두 20lux 程度의 弱光 밑에서 放出시켰는데 殼胞子의 境遇는 集團으로 뭉치는 傾向이 있었고 濃縮液을 振動시킴으로써 고르게 퍼지는데 比하여 單胞子는 集團으로 뭉치는 傾向이 적다. 이것은 右田(1972)가 밝힌 대로 殼胞子는 殼胞子囊枝 안의 모든 殼胞子가 그 가지의 先端部에 있는 開口部에서 放出되기 때문이라고 생각된다. 또한 放出된 殼胞子나 單胞子가 오래도록 器底에 附着하지 않고 또한 서로 엉켜지지 않은 것은 20 lux以下의 弱光도 그 原因이 되겠고(右田, 1972), 胞子에 묻어있는 粘液의 影響도 있는 것으로 생각된다.

要　　約

김의 選抜育成에 必要條件인 採苗를 量産할 수 있는 技術을 開發할 資料를 얻기 위하여 游離糸狀体를 培養하여 그 成長度 및 殼胞子의 放出狀態를 調査하였고 單胞子를 放出시키는 誘發 效果를 調査하였다.

1. 單胞子를 받을 때 母藻의 洗滌方法은 毛筆로 葉体 表面을 잘 닦아 내고 水道水와 海水로 번갈아 몇번 행구어 낸 結果, 果胞子를 받은 100事例中 32事例에서 珪藻類가 完全히 除去되었으므로 一般的인 游離糸狀体의 培養에는 複雜한 無菌培養法을 使用하지 안해도 좋다.

2. 游離糸狀体의 培養液으로는 슐라이버液에 土壤抽出液이나 또는 비타類와 Fe-EDTA만을 添加시켜서도 培養效果를 얻을 수 있다.

3. 游離糸狀体의 成長은 照明時間 10時間을 16時間으로 延長하면 1.29倍가 빨랐고 通氣培養은 靜置培養에 比하여 培養液에 따라 1.41~1.50倍가 빨랐다.

4. 通氣培養으로 成長이 빨랐던 糸狀体와 靜置培養한 糸狀体間에는 殼胞子 放出에 有意性이 없으므로 成長이 더 된 만큼의 殼胞子量을 더 받을 수가 있다.

5. 單胞子 放出의 誘發 效果는 6時時 日乾하여 含水率이 21.23~24.19%로 된 葉体에서 가장 많이 放出되었다.

6. 養殖 김의 葉体에서 單胞子를 利用한 集約的인 採苗方法의 可能性이 確認되었다.

※ 이 硏究는 1975年度 文敎部硏究助成費에 依한 硏究 結果의 一部임.

文　　献

岩崎英雄(1965) : アサクサノリの生理狀態に關する硏究. 廣島大水畜産學部紀要, 6(1), 133~211

岩崎英雄(1972) : フリー糸狀体の 培養と採苗の手引き. 全國海苔貝類漁業協同組合聯合會, 東京.

片山勝介・杉山瑛之・ 篠原基之・ 三宅與志雄(1973) : ノリ養殖品種の特性と生育環境について. 岡山縣水産試驗場報告.

木下祝郎・寺本賢一郎(1974) : 海苔. 大日本圖書株式會社, 東京.

右田清治(1972) : ノリ殼胞子と單胞子の 着生. 長崎大學水産學部硏究報告, 33, 33~48.

右田清治・安部 昇(1966) : アマノリ糸狀体の 殼胞子形成について. 長崎大學水産學部硏究報告, 20, 1~10.

右田清治・金 重來(1970) : ノリ糸狀体の水平生長. 長崎大學水産學部硏究報告, 30, 1~8.

三浦昭雄(1971) : 海苔の養殖品種. 全國海苔貝類漁業協同組合連合會, 東京.

三浦昭雄・伏屋 滿(1975) : ナラワスサビノリの 芽變り現象とその榮養繁殖性について 水産增殖, 22(3, 4), 93~100.

舘脇正和(1971) : 海藻の培養. 海洋科學, 3(11), 41~45.