

방사선 돌연변이 육종기술을 통한 고 아미노산 함유 김(*Pyropia yezoensis*) 돌연변이 개발

이학중*

국립수산과학원 수산종자육종연구소

Development of *Pyropia yezoensis* Mutant with Improved Amino Acid Content Using Gamma Rays

Hak-Jeung Lee*

Fisheries Seed and Breeding Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Haenam 59002, Korea

Gamma irradiation is one of the simple methods used to induce mutagenesis. Therefore, it is widely used for the development of breeding lineages of plants and algae. In this study, it was developed a new variety of *Pyropia yezoensis* using gamma irradiation. It was applied a dose of 1 kGy and named the developed mutant Py1k. The blade with width of the mutant was narrower and the blade length was longer than those of the wild type. To further investigate the mutant, it was analyzed the nutrient composition and antioxidant activity. In comparison to those in the wild type, it was found a higher amino acid composition and marginally increased antioxidant activity in Py1k. Based on these results, it was suggests that our protocol can be utilized to develop *Pyropia* species with improved nutritional quality through gamma irradiation.

Keywords: *Pyropia yezoensis*, Irradiation, Mutant, Amino acid, Antioxidant

서론

우리나라에서 주로 양식되고 있는 김은 방사무늬김(*Pyropia yezoensis*)으로서 홍조류(Rhodophyta)의 김파래목(Bangiales)에 속하며 한국, 일본, 중국에서 주요 양식되고 있는 해조류이다(Yoshie et al., 1993). 2020년 기준 김 생산량은 약 180만톤, 수출액은 6억 1백만달러이며 미역, 다시마와 함께 해조류 전체 생산량의 71%를 차지하는 경제적으로 중요한 종이다(KMI, 2020). 김은 최대 25-40%의 단백질을 가지고 있으며 해조류의 주요성분인 아미노산은 단백질과 같이 필수 영양소로서 신체 신진대사에 필요한 물질로 알려져 있다(Jimenez-Escrig and Goni, 1999; Fürst and Stehel, 2004; Kwak et al., 2010). 불포화지방산의 경우 육상식물에 비해 높으며, 비타민과 무기질, 식이섬유가 풍부하다(Dawczynski et al., 2007). 또한 김에 함유되어 있는 수용성 다당류 Porphyran은 항종양, 고지혈, 항산화, 그리고 콜레스테롤 함량을 포함한 생리적 활성을 가진다고 보고되어 있다(Tsuge et al., 2004; Kwon and Nam, 2006;

Inoue et al., 2009). 최근 이러한 해조류 기반한 건강식품에 관심이 증가함에 따라 김에 대한 시장수요가 증가하고 있으며 잠재적인 경제적 가치를 가지고 있다(Van et al., 2017; Jiang et al., 2018). 2012년부터 실시된 품종보호제도(international union for the protection of new varieties of plants, UPOV)로 인해 우리나라 자생 품종에 대한 보호 및 확보가 필요한 상황이며(Hwang et al., 2019), 김의 경우 이를 해결하기 위해서 다양한 방법을 통해 새로운 품종에 대한 개발 연구가 진행중에 있다. 국내의 김 육종개발방법으로는 교잡, 물리적(방사선, UV 등), 그리고 화학적(ethyl methanesulfonate, EMS; N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 처리 방법이 있으며, 이를 통해 색소변이체(Yan et al., 2000; Li et al., 2008; Niwa et al., 2009, 2011), 고온내성(Ding et al., 2016; Shin et al., 2019), 그리고 성장(Ma, 2019)이 향상된 신품종들을 개발하고 있다. 국내 김의 영양성분분석 관련 연구 동향으로는 지역 및 채취 시기에 따른 김의 영양성분 분석과 시판 건조김의 유기산, 비타민, 유리당 함량 분석, 그리고 생산지별 해조류의 미네랄 함량 및 영

*Corresponding author: Tel: +82. 61. 530. 3909 Fax: +82. 61. 532. 5806

E-mail address: low0219@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0982>

Korean J Fish Aquat Sci 54(6), 982-988, December 2021

Received 19 July 2021; Revised 30 September 2021; Accepted 14 October 2021

저자 직위: 이학중(연구사)

양성분분석에 대한 연구가 수행되었다(Lee et al., 2012; Shin et al., 2013; Kim et al., 2014; Park et al., 2014; Jung et al., 2015). 최근 방사선 조사를 통해 선발된 김 품종의 성분 분석에 대한 연구가 수행되었으나(Choi, 2020), 육종기술을 이용해 개발된 신품종에 대한 영양성분 관련 연구는 미비한 실정이다.

이에, 본 연구에서는 방사선 조사를 통하여 방사무늬김의 새로운 품종을 개발하고자 하였으며 대조군과 선별된 신품종에 대한 영양성분과 항산화 활성 조사를 수행하였다. 또한 앞으로의 김 돌연변이 육종방법에 대한 기초자료로서 제공하고자 한다.

재료 및 방법

방사선 조사 및 사상체 분리

본 실험에서는 해남학가리에서 채집한 방사무늬김 품종을 사용하였으며, 조사할 염체는 2 L flask를 활용하여 10°C, modified grund media (MGM), 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (12L:12D) 조건에서 통기를 통해 3-5 cm로 배양 후 실험에 사용하였다. 방사선 조사는 첨단방사선연구소(Jeongseup, Korea)에서 Lee et al. (2019)과 동일한 방법으로 수행되었다. 조사기기는 ^{60}Co irradiator (point source, ACEL, IR-79; MDS Nordion International Co., Ltd., Ottawa, Ontario, Canada)를 이용하였고 선량을 10 $\text{kGy}\cdot\text{h}^{-1}$ 에서 1 kGy 선량으로 조사하였다. 조사 후 염체는 배지를 환수하여 petri dish로 옮겨 10°C 암조건에서 24 h 처리를 통해 회복시켰으며, 이후 회복된 염체는 2 L flask로 옮겨 20°C, 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (12L:12D) 조건에서 통기배양을 통해 중성포자를 확보하였다. 그 중 방사형이 아닌 새장형으로 성장하는 형태변이체를 선별하여 분리하였으며, 3반복을 통해 형태 유지를 확인하였다. 확인된 염체는 Py1k로 명명하였으며 자가수정시킨 후 접합포자(zygospore)를 통해 사상체를 분리하여 순계화 하였다.

형태변이체 순계 염체 유도 및 성장 측정

순계화된 사상체는 20°C, 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (14L:10D) provasoli's enriched seawater (PES)조건에서 배양하였고, 각 포자낭 형성은 25°C, 10L:14D 조건으로 변경하여 유도하였다. 각포자낭이 형성된 사상체는 각포자 방출 유도를 위해 배양온도를 15°C, 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (10L:14D)로 낮추어 통기하였으며, 채묘용 실을 넣어 주기적으로 현미경을 통해 관찰하였다. 채묘 후 1 cm 이상 성장한 염체는 2 L flask에 10개체씩 분리하여 MGM으로 10°C, 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (12L:12D)조건에서 배양하였으며 6주동안 엽장과 엽폭을 조사하였다. 환수 주기는 1주일 간격으로 수행하였다.

시료 전처리

대조군인 방사무늬김과 선별된 형태변이체 Py1k의 염체시료

는 다수의 2 L flask에서 통기배양을 통해 확보하였다. 전처리는 염분 제거를 위해 3차 증류수를 이용하여 세척하였으며 세척된 염체는 중량의 변화가 없을 때까지 60°C 오븐에서 건조하여 본 실험에 사용하였다.

생리활성 분석

생리활성 측정은 건조한 염체 1 g을 분쇄한 후 95% 에탄올 10 mL을 첨가하고 실온과 암조건에서 24 h 동안 교반을 통해 추출하였다. 원심분리 3회를 통해 이물질을 제거하고 상층액만 분리하였으며, 농축원심분리기를 통해 원심분리하여 에탄올을 제거하였다. 농축된 추출물은 에탄올을 이용하여 1 mg/mL의 농도로 녹인 후 항산화 활성 실험에 사용하였다.

항산화 활성 측정 방법인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical 소거능은 Kim and Lee (2007)의 방법으로 수행하였다. 96 well plate에 전처리한 시료 100 μL 와 0.2 mM DPPH (Sigma Chemical Co. Ltd., St. Louis, MO, USA) 100 μL 를 섞어주고 암조건에서 10 min 반응하였다. 반응용액은 분광광도계(UV 1600 PC; Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광하는 파장값을 측정하였으며, 전자공여능은 다음 계산식으로 환산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = (1 - (\text{공시료군} - \text{반응 군}) / \text{공시료군}) \times 100$$

Ferric-reducing antioxidant potential (FRAP) 분석은 Benzie and Strain (1996)의 방법을 이용하여 측정하였다. 37°C에서 가온한 25 mL acetate buffer (300 mM, pH 3.6)에 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Sigma) 5 mL과 20 mM ferric sulfate (FeSO_4) 2.5 mL을 가하여 FRAP reagent를 제조하였다. 제조한 0.9 mL FRAP reagent에 추출물 0.03 mL, 증류수 0.09 mL을 첨가하여 37°C에서 10 min 반응 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

공시료는 95% 에탄올을 넣어 흡광도를 측정하였으며, 계산은 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2.5 그리고 5 mM의 농도로 반복하여 작성한 FeSO_4 의 검량식에 대입하여 환산하였다.

폴리페놀 함량 측정

두개의 염체 시료 추출물에 대한 총페놀 함량은 Dewanto 방법(Dewanto et al., 2002)에 의거하여 측정하였다. 추출물 0.1 mL에 0.2 mL의 Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma)를 첨가하고 실온에서 1 min 유지하였다. 그리고 5% sodium carbonate 3 mL을 넣어 23°C에서 2 h 반응시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid (Sigma)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 사용하였다.

아미노산 함량 측정

두 시료에 대한 구성 아미노산 측정을 위해 건조시킨 시료 1 g를 시험관에 넣고 6 N HCL 3 mL을 처리한 다음 밀봉하여

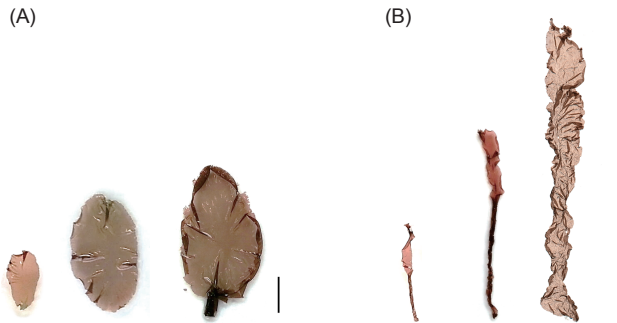


Fig. 1. Comparison of morphological change between *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k during 6 weeks of laboratory culture.

120°C heating block에서 24 h 동안 가수분해하였다. 가수분해된 시료를 50°C 조건에서 40 psi의 감압농축기(WB2000; Heidolph, Schwabach, Germany)를 이용하여 산을 제거하고, 0.2 M sodium citrate buffer (pH 2.2) 10 mL로 정용화하였다. 이 중 1 mL를 취하여 Whatman membrane filter (0.2 µm)로 여과하였고 아미노산분석기(L-8900; HITACHI, Tokyo, Japan)로 20 µL의 시료를 처리하여 정량 분석하였다.

유리 아미노산 측정용 건조시료 1 g를 시험관에 넣고 증류수 40 mL을 첨가하여 120°C에서 15 min 동안 끓인 후 남은 용액을 증류수를 이용하여 총 50 mL로 맞추었다. 용액을 감압증류로 건조시킨 후 5% trichloroacetic acid (Sigma) 1 mL에 용해하고 10,000 rpm에서 10 min 동안 원심분리하였다. 이후 상등액을 취하여 0.2 µm membrane filter (Sigma)로 여과하고 아미노산분석기(L-8900; HITACHI, Tokyo, Japan)로 분석하였다.

통계분석

본 실험의 통계처리는 SPSS Statistics Ver. 20 (IBM, USA)를 사용하였으며, student *t-test* 방법으로 대조군과 선발된 돌연변이 품종간의 차이를 분석하였다.

결과 및 고찰

생장 특성 및 엽체 형태 조사

최근 연구에 따르면, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2 kGy 선량의 방사선에 대한 방사무늬검의 반수치사량(lethal dose 50)을 조사한 결과 1 kGy가 적정선량으로 나타났다(Shin et al., 2019). 이에 본 연구에서는 1 kGy 선량의 방사선 조사를 통해 돌연변이를 유도하였으며 형태가 변이된 Py1k 돌연변이체를 선발하였다(Fig. 1) 방사선 조사를 통해 선발된 형태변이체 Py1k의 성장 특성을 조사하기 위해 5주 동안 엽장 및 엽폭을 조사하였다. 대조군의 엽폭은 0주차 0.25 cm에서 5주차 4.5 cm로 고유형태인 방사형으로 성장하였으며, Py1k의 경우 0주차 0.05 cm에서 5주차 1.98 cm로 대조군보다 폭이 좁았다. 대조군 엽장은 5주 경과 시 6.8

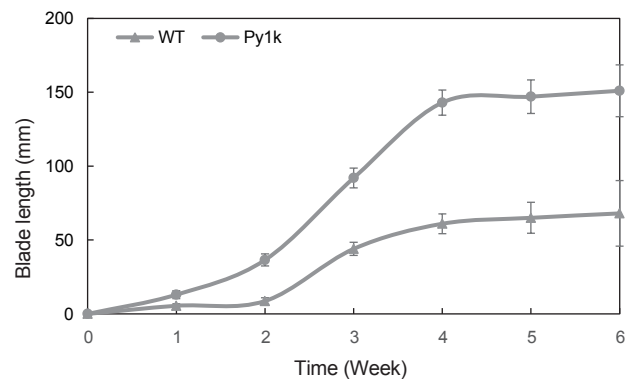
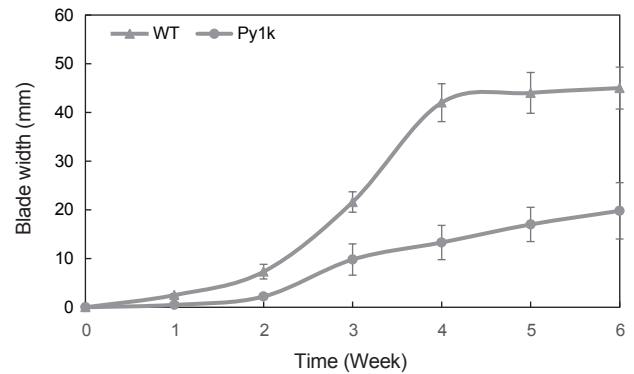


Fig. 2. Growth rate of WT and Py1k mutant gametophytic blades cultured of 10°C for 1 to 6 weeks. WT, wild type. Average±standard deviation, n=10.

cm까지 성장하는 반면, Py1k는 15.1 cm로 약 2배 이상 길게 성장함으로써 유의한 차이를 나타냈다(Fig. 2). 일반적인 방사무늬검의 경우 10°C에서는 엽형이 새장형 또는 원형으로 성장한다는 보고가 있으며(Hwang et al., 2010), 방사선 조사를 통해 선발된 고온내성 품종의 경우 온도별 성장을 조사하였을 때 대조군 대비 형태가 긴 새장형으로 자라는 것으로 보고되어 있다(Lee et al., 2019). 본 연구에서 선발된 Py1k 또한 방사형이 아닌 새장형으로 성장함으로써 엽장의 성장이 우수해졌으며 대조군과 비교하여 형태에서 뚜렷한 차이를 나타냈다. 식물 성장에 밀접한 영향으로는 단백질 전사와 단백질 합성에 관련된 유전자의 변이로 인해 형태가 달라질 수 있다. Zinc finger protein은 식물의 성장과 발달에 영향을 미치며(Feurtado et al., 2011; Giri et al., 2011), root cap protein과 pentatricopeptide repeat protein 역시 성장과 세포간 RNA 배열에 관여한다는 연구가 보고되었다(Lee et al., 2019). 식물 *Arabidopsis*에서 잎 성장 및 너비를 조절한다고 알려진 WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN (WOX) 유전자는 식물에서 광범위하게 보존되며, WOX가 변이된 외떡잎과 진정쌍떡잎식물에서는 모두 좁은 잎 모양 형태로 성장한다고 보고되었다(Nardmann et al., 2004; Vandenbussche et al., 2009; Nakata et al., 2012; Cho et al., 2013;

Zhao et al., 2020).

또한 WOX gene family인 WOX1, WOX3, WOX5의 경우 잎의 측면 성장에 관여한다는 연구결과가 있으며, 잎의 형태를 형성하는데 중요한 역할을 하는 YUCCA (YUC) auxin biosynthesis를 제어한다는 보고가 있다(Zhang et al., 2020). 본 연구에서 선발된 형태변이체의 경우도 방사선 조사로 인한 성장과 합성에 관련된 유전자들의 변이가 일어남으로써 형태학적으로 다르게 성장한 것으로 사료되며 추후 검증을 위해 분자생물학적 분석이 더 필요할 것으로 판단된다.

아미노산 함량

대조군과 선발된 Py1k의 총 아미노산 함량을 분석하였다(Table 1). 대조군의 총 구성아미노산은 470.6 mg/L, Py1k는 677.1 mg/L으로 나타났으며, 필수아미노산인 threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine, histidine, 그리고 arginine 모두 선발 품종이 더 높았다. Tryptophan의 경우 함량이 낮아 본 실험에서는 검출되지 않은 것으로 판단된다. Kim et al. (2014)은 일반 해조류의 경우 중성 및 산성 아미노산으로 알려진 alanine, aspartic acid, glycine, 그리고 proline 이 많다고 보고하였으며 본 연구에서도 두 종 모두 다른 아미노산보다 높게 나타났다. Lee et al. (1987)의 연구에 따르면 김의 품질은 아미노산 함량과 비례하며 특히 aspartic acid, glutamic

acid, alanine 등의 함량이 높을수록 품질이 좋다고 보고하였다. 유리아미노산 분석을 통해 두 품종의 함량을 비교한 결과, 대조군에서 521.1 mg/L, Py1k는 529.4 mg/L로 유사한 차이를 나타냈지만 선발된 Py1k에서 aspartic acid, threonine, serine, alanine, valine, arginine 함량이 더 높게 나타났다(Table 2). 유리아미노산은 식품의 풍미를 예측할 수 있는 중요한 요소이며, 그 중 glutamic acid, aspartic acid, alanine, glycine 등은 향기와 맛에 관련이 있다고 알려져 있다(Watanabe and sato, 1974; Ruiz-Capillas and Moral, 2001). 또한 alanine은 단맛을 내며, aspartic acid는 감칠맛에 관여하고 보고되어 있다(Mouritsen et al., 2019). 이전 연구에서 방사선 조사를 통해 선발된 신품종이 대조군과 비교하여 유리아미노산의 함량이 향상되었다는 보고되어 있으며(Choi, 2020), 본 연구 결과에서도 선발된 돌연변이체의 구성아미노산과 기호성에 영향을 미치는 유리아미노산의 함량이 증가되었다. 이러한 결과로부터 우리가 선발한 돌연변이체는 방사선 조사를 통해 아미노산 함량이 증가하여 맛과 풍미가 향상되었을 것으로 사료된다.

김 추출물의 항산화 활성

FRAP assay는 철 환원력으로 항산화능을 측정할 수 있는 방법으로 DPPH를 이용한 라디칼 소거능과 함께 측정된다. 최근 마른 김 추출물을 통한 항산화 활성에 대한 연구가 수행되었으며 지역, 기간별 및 가공에 따른 김 추출물에서의 항산화 함량

Table 1. Total amino acid composition of *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k.

Amino acid	Concentration (mg/L)	
	WT	Py1k
Aspartic acid	23.3	50.4
Threonine	11.8	20.1
Serine	3.9	5.6
Glutamic acid	38.5	63.9
Glycine	5.5	5.6
Alanine	313.9	427.2
Cystidine	7.2	11.2
Valine	12.8	17.9
Combined amino acid		
Methionine	1.3	2.1
Isoleucine	3.9	5.9
Leucine	10.5	15.0
Tyrosine	11.6	15.0
Phenylalanine	13.0	16.2
Lysine	9.1	13.4
Histidine	10.5	4.2
Tryptophan	0	0
Arginine	2.2	3.3
Total	470.6	677.1

WT, wild type.

Table 2. Free amino acid composition of *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k.

Amino acid	Concentration (mg/L)	
	WT	Py1k
P-Ser	3.5	3.2
Taurine	163.6	153.2
Aspartic acid	19.1	21.8
Threonine	4.8	5.9
Serine	2.5	2.9
Glutamic acid	44.9	34.6
Glycine	4.7	3.9
Free amino acid		
Alanine	254.6	281.1
Valine	6.3	7.3
Methionine	1.1	1.1
Isoleucine	2.6	1.8
Leucine	4.8	3.3
Tyrosine	2.2	2.1
Phenylalanine	1.4	1.2
Lysine	2.7	2.6
Arginine	2.2	2.9
Total	521.1	529.4

WT, wild type.

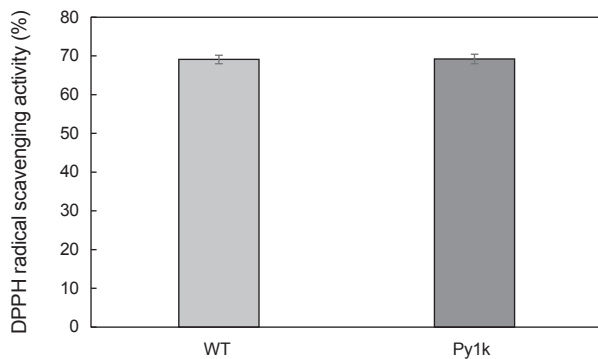


Fig. 3. Measurement of DPPH radical scavenging activity in *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k. DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; WT, wild type. Average±standard deviation, n=3.

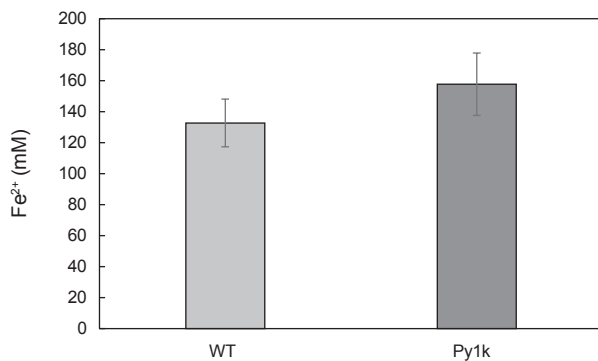


Fig. 4. Measurement of FRAP assay in *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k. FRAP, ferric-reducing antioxidant potential; WT, wild type. Average±standard deviation, n=3.

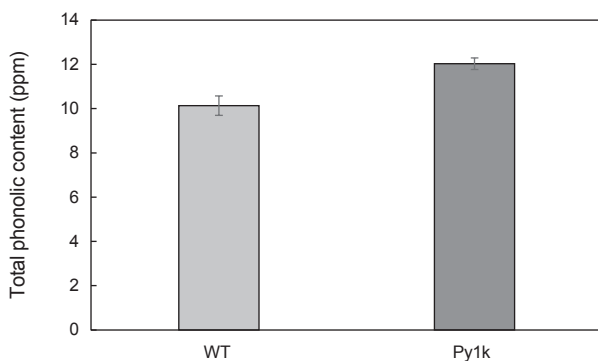


Fig. 5. Measurement of total phenolic content in *Pyropia yezoensis* WT and mutant Py1k. WT, wild type. Average±standard deviation, n=3.

이 달라진다고 보고되었다(Park et al., 2001; Shin et al., 2013; Jung et al., 2017). 방사무늬김과 잇바디돌김의 영양성분 및 항산화 활성이 다르며(Baek et al., 2019), 최근 방사선 조사로 선

발된 돌연변이 품종 또한 항산화 활성이 다르게 나타났다(Choi, 2020). 본 연구에서 대조군과 Py1k에 대한 항산화 효과를 측정 한 결과, DPPH radical 소거능은 대조군 69.1%, Py1k는 69.2%로 유의한 차이를 보이지 않았지만(Fig. 3), 철 환원능력의 경우 대조군(132.7 mM)보다 Py1k (157.7 mM)가 더 높게 나타났다(Fig. 4). DPPH radical 소거능의 경우 대조군 대비 증가되지는 않았지만 FRAP 환원능력이 증가된 것으로 보았을 때 항산화 능력이 상대적으로 높아졌을 것으로 사료된다.

폴리페놀 함량 측정

두 품종의 항산화 활성 차이를 검증하기 위해 폴리페놀 함량을 분석한 결과 대조군 추출물에서는 10 µg/mL, Py1k에서는 12 µg/mL으로 조금 더 높게 확인되었다(Fig. 5) 최근 연구에 따르면, 2 kGy 방사선 조사를 통해 선별된 고성장 돌연변이체의 폴리페놀 함량이 증가하였다는 결과가 보고되었으며(Park and Choi, 2020) 본 연구 결과와 유사한 증가를 나타냈다. 선별된 돌연변이체 해조류에서 추출한 물질을 통해 항산화 활성을 측정하였을 때 폴리페놀 함량이 항산화능과 비례한다는 보고가 있으며(Lim et al., 2002), 방사선 조사로 선별된 품종의 경우 조사과정에서 높은 산화적 스트레스에 의한 저항성을 가지고 있기 때문에(Park and Choi, 2018) 항산화제뿐만 아니라 폴리페놀 함량도 증가했을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 방사선을 이용한 육종 방법을 통해 대조군과 형태가 다르게 성장하고 맛과 풍미에 관련된 아미노산과 항산화 활성이 향상된 품종을 선별하였다. 이러한 결과는 새로운 김 품종을 개발 육종하는 방법으로서 활용이 가능할 것으로 판단하며 향후 분자생물학적 연구를 통해 분석이 이루어져야 될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 국립수산물연구원 김 우량품종 개발 및 산업화 연구 과제(R2021013)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Baek SY, Kim SJ, Kim DH and Kim MR. 2019. Comparison of quality characteristics and antioxidant activities between *Porphyra yezoensis* and *Porphyra dentata* in Korea. Korean J Soc Food Sci Nutr 48, 1233-1243. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2019.48.11.1233>.
- Benzie IFF and Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of palms (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. Anal Biochem 239, 70-79. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Cho SH, Yoo SC, Zhang H, Pandeya D, Koh HJ, Hwang JY, Kim GT and Paek NC. 2013. The rice narrow leaf2 and narrow leaf3 loci encode WUSCHEL-related homeobox 3A (OsWOX3A) and function in leaf, spikelet, tiller and lateral

- root development. *New Phytol* 198, 1071-1084. <http://doi.org/10.1111/nph.12231>.
- Choi JI. 2020. Amino acid composition and antioxidative activities of mutant *Pyropia yezoensis*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 524-529. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0524>.
- Dawczynski C, Schubert R and Jahresis G. 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem* 103, 891-899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>.
- Dewanto V, Xianzhong W and Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50, 4959-4964. <https://doi.org/10.1021/jf0255937>.
- Ding H, Zhang B and Yan X. 2016. Isolation and characterization of a heat-resistant strain with high yield of *Pyropia yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Aquac Fish* 1, 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2016.09.001>.
- Feurtado JA, Huang D, Wicki-Stordeur L, Hemstock LE and Potentier MS. 2011. The *Arabidopsis* C2H2 zinc finger Indeterminate Domain1/Enhydrous promotes the transition to germination by regulating light and hormonal signaling during seed maturation. *Plant Cell* 23, 1772-1794. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.085134>.
- Fürst P and Stehle P. 2004. What are the essential elements needed for the determination of amino acid requirements in humans?. *J Nutr* 134, 1558S-1565S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1558S>.
- Giri J, Vij S, Dansana PK and Tyagi AK. 2011. Rice A20/AN1 zinc finger containing stress-associated proteins (SAP1/11) and a receptor-like cytoplasmic kinase (OsRLCK253) interact via A20 zinc-finger and confer abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. *New Phytol* 191, 721-732. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03740.x>.
- Hwang EK, Yotsukura N, Pang SJ, Su L and Shan TF. 2019. Seaweed breeding programs and progress in eastern Asian countries. *Phycologia* 58, 484-495. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1639436>.
- Hwang MS, Kim SO, Lee YS, Park EJ, Kim SC, Ha DS, Gong YG, Baek JM and Choi HG. 2010. Isolation and characterization of pure lines of pigmentation and morphological mutants in *Porphyra tenera* Kjellman (Bangiales, Rhodophyta). *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 495-502. <https://doi.org/10.5657/kfas.2010.43.5.495>.
- Inoue N, Yamano N, Sakata K, Nagao, Hama Y and Yanagita T. 2009. The sulfated polysaccharide porphyran reduces apolipoprotein B100 secretion and lipid synthesis in HepG2 cell. *Biosci Biotechnol Biochem* 73, 447-449. <https://doi.org/10.1271/bbb.80688>.
- Jiang H, Zou D, Lou W, Deng Y and Zeng X. 2018. Effects of seawater acidification and alkalization on the farmed seaweed, *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta), grown under different irradiance conditions. *Algal Res* 31, 413-420. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.033>.
- Jimenez-Escrig A and Goni Cambrodon I. 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* 49, 114-120.
- Jung SM, Kang SG, Kim KT, Lee HJ, Kim AR and Shin HW. 2015. The analysis of proximate composition, minerals and amino acid content of a red alga *Pyropia dentata* by cultivation sites1a. *Korean J Environ Ecol* 29, 1-6. <https://doi.org/10.13047/KJEE.2015.29.1.001>.
- Jung HJ, Kim DH, Jeong MH, Lim CW, Shim KB and Cho YJ. 2017. Mineral analysis and nutritional evaluation according to production area of laver *Porphyra tenera*, Japanese kelp *Saccharina japonicus*, sea mustard *Undaria pinnatifida* and hijiki *Sargassum fusiforme* in Korea. *J Fish Mar Sci Educ* 29, 1624-1632. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2017.29.5.1624>.
- Kim H and Lee SW. 2007. The effects of quercetin on paraquat induced cell damage. *Korean J Soc Emerg Med* 18, 41-48.
- Kim KW, Hwang JH, Oh MJ, Kim MY, Choi MR and Park WM. 2014. Studies on the major nutritional components of commercial dried lavers *Porphyra yezoensis* cultivated in Korea. *Korean J Food Preserv* 21, 702-709. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.5.702>.
- KMI (Korea Marine Institute, Ministry of Oceans and Fisheries). 2020. Fisheries statistics. Retrieved from <https://kfishinfo.co.kr> on Jul 14, 2021.
- Kwak YH, Bai SC and Kim DJ. 2010. Estimated availability and major minerals (Ca, P and Mg) contents bound neutral detergent fiber (NDF) of seaweeds. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 39, 1073-1077. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.7.1073>.
- Kwon MJ and Nam TJ. 2006. *Porphyra* induces apoptosis related signal pathway in AGS gastric cancer cell lines. *Life Sci* 79, 1956-1962. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.06.031>.
- Lee HJ, Choi JI and Choi SJ. 2012. Physiological activities and amino acid compositions of Korean dried laver *Porphyra* Products. *Korean J Fish Aquat Sci* 45, 409-413. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2012.0409>.
- Lee HJ, Park EJ and Choi JI. 2019. Isolation, morphological characteristics and proteomic profile analysis of thermos-tolerant *Pyropia yezoensis* mutant in response to high-temperature stress. *Ocean Sci J* 54, 65-78. <https://doi.org/10.1007/s12601-018-0060-9>.
- Lee KH, Song SH and Jeong IH. 1987. Quality changes of dried lavers during processing and storage. 1. Quality evaluation of different grades of dried lavers and its changes during storage. *J Kor Fish Soc* 20, 408-418.
- Li YX, Wang GC, Xu P, Fan XL, Niu JF and Zhou BC. 2008. Induction and characterization of green pigmentation mutant in *Porphyra yezoensis* Ueda. *Aquaculture* 282, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.026>.
- Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC and Ang PO. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed,

- Sargassum siliquastrum*. J Agric Food Chem 50, 3862-3866. <https://doi.org/10.1021/jf020096b>.
- Ma Y. 2019. Characterization of a high-growth-rate mutant strain of *Pyropia yezoensis* using physiology measurement and transcriptome analysis. J Phycol 55, 651-662. <https://doi.org/10.1111/jpy.12842>.
- Mouritsen OG, Duelund L, Petersen MA, Hartmann AL and Frøst MB. 2019. Umami taste, free amino acid composition, and volatile compounds of brown seaweeds. J Appl Phycol 31, 1213-1232. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1632-x>.
- Nakata M, Matsumoto N, Tsugeki R, Rikirsch E, Laux T and Okada K. 2012. Roles of the middle domain-specific WUSCHEL-RELATED HOMEBOX genes in early development of leaves in *Arabidopsis*. Plant Cell 24, 519-535. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.092858>.
- Nardmann J, Ji J, Werr W and Scanlon MJ. 2004. The maize duplicate genes narrow sheath1 and narrow sheath2 encode a conserved homeobox gene function in a lateral domain of shoot apical meristems. Development 131, 2827-2839. <https://doi.org/10.1242/dev.01164>.
- Niwa K, Hayashi Y, Abe T and Aruga Y. 2009. Induction and isolation of pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) by heavy-ion beam irradiation. Phycol Res 57, 194-202. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2009.00539.x>.
- Niwa K, Yamamoto T, Furuita H and Abe T. 2011. Mutation breeding in the marine crop *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta): cultivation experiment of the artificial red mutant isolated by heavy-ion beam mutagenesis. Aquaculture 314, 182-187. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.007>.
- Park CK, Park CH and Park JN. 2001. Extractive nitrogenous constituents of dried laver *Porphyra yezoensis*. Korean J Fish Soc 34, 394-402.
- Park EJ and Choi JI. 2018. Resistance and proteomic response of microalgae to ionizing irradiation. Biotechnol Biopr Eng 23, 704-709. <http://doi.org/10.1007/s12257-018-0468-1>.
- Park SJ and Choi JI. 2020. De novo transcriptome analysis of high growth rate *Pyropia yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) mutant with high utilization nitrogen. Acta Bot Croat 79, 201-211. <http://doi.org/10.37427/botcro-2020-026>.
- Park WM, Kang DS and Bae TJ. 2014. Studies on organic acid, vitamin and free sugar contents of commercial dried lavers *Porphyra yezoensis* cultivated in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr 43, 172-177. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.1.172>.
- Ruiz-Capillas C and Moral A. 2001. Changes in free amino acids during chilled storage of hake (*Merluccius merluccius*, L.) in controlled atmospheres and their use as a quality control index. Eur Food Res Technol 212, 302-307. <http://doi.org/10.1007/s002170000232>.
- Shin DM, An SR, In SK and Koo JG. 2013. Seasonal variation in the dietary fiber, amino acid and fatty acid contents of *Porphyra yezoensis*. Korean J Fish Aquat Sci 46, 337-342. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0337>.
- Shin YJ, Min SK, Kang YD, Lim JM, Park EJ, Hwang MS, Choi DW, Ahn JW, Park YI and Jung WJ. 2019. Characterization of high temperature-tolerant strains of *Pyropia yezoensis*. Plant Biotechnol Rep 12, 365-373. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0499-2>.
- Tsuge K, Kabe M, Yoshimura T, Sumi T, Tachibana H and Yamada K. 2004. Dietary effects of porphyran from *Porphyra yezoensis* in growth and lipid metabolism of Sprague-dawley rats. Food Sci Technol Res 10, 147-151. <https://doi.org/10.3136/fstr.10.147>.
- Van Loo, EJ, Hoefkens C and Verbeke W. 2017. Healthy, sustainable and plant-based eating: Perceived (mis) match and involvement-based consumer segments as targets for future policy. Food Policy 69, 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2017.03.001>.
- Vandenbussche M, Horstman A, Zethof J, Koes R, Rijpkema AS and Gerats T. 2009. Differential recruitment of WOX transcription factors for lateral development and organ fusion in *Petunia* and *Arabidopsis*. Plant Cell 21, 2269-2283. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.065862>.
- Watanabe K and Sato Y. 1974. Meat flavor. Japan J Zootech Sci 45, 113-128.
- Yan XH, Fujita Y and Aruga Y. 2000. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). J Appl Phycol 12, 69-81.
- Yoshie Y, Suzuki T, Shirai T, Hirano T and Lee EH. 1993. Dietary fiber, minerals, free amino acids and fatty acid compositions in dried Nori of several culture places in Korea. J Tokyo Univ Fish 80, 197-203.
- Zhao F, Du F, Oliveri H, Zhou L, Ali O, Chen W, Feng S, Wang Q, Lü S, Long M, Schneider K, Sampathkumar A, Godin C, Traas J and Jino Y. 2020. Microtubule-mediated wall anisotropy contributes to leaf blade flattening. Curr Biol 30, 3972-2985. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.076>.
- Zhang Z, Runions A, Mentink RA, Kierzkowski D, Karady M, Hashemi B, Huijser P, Strauss S, Gan X, Ljung K and Tsiantis M. 2020. A WOX/auxin biosynthesis module controls growth to shape leaf form. Curr Biol 30, 4857-4868. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.037>.