

수온 변화에 따른 방사무늬김(*Neopyropia yezoensis*) 패각 사상체의 각포자 형성량 비교

Comparison of Conchocelis Formation in the Oyster Shell of *Neopyropia Yezoensis* with Water Temperature Change

이은택¹

Eun Taek Lee
국립한국농수산대학교
농수산융합학부

정달상¹

Dal Sang Jeong
국립한국농수산대학교
농수산융합학부

김철원¹

Chul Won Kim
국립한국농수산대학교
농수산융합학부

최성제^{1*}

Sung Je Choi
국립한국농수산대학교
농수산융합학부

¹ Department of Aquaculture, Korea National College of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Korea

ABSTRACT

This study investigated effect of water temperature change on the formation and release of conchospores of *Neopyropia yezoensis*. We observed that conchocelis growth and conchospores formation in oyster shell at laboratory during 7 weeks. In order to investigate the amount of conchospore formation in oyster shells, which was being cultured at 28°C, was moved to 10°C, 18°C, 28°C, and culture during 6 weeks. At 10°C, we observed an average of 127 for 1 week, 127 for 2 weeks, 95 for 3 weeks, 90 for 4 weeks, 76 for 5 weeks, and 75 for 6 weeks. At 18°C, we observed an average of 141 for 1 week, 135 for 2 weeks, 94 for 3 weeks, 153 for 4 weeks, 162 for 5 weeks, and 2 for 6 weeks. At 28°C, we observed an average of 167 for 1 week, 102 for 2 weeks, 148 for 3 weeks, 157 for 4 weeks, 270 for 5 weeks, and 138 for 6 weeks. Conchospores released from the shell grew into a young thalli in the culture for 6 weeks, and the number of ones was counted. The number of young thalli were investigated at 10°C, 0 for 1 week, 189 for 2 weeks, 200 for 3 weeks, 89 for 4 weeks, 56 for 5 weeks and 27 for 6 weeks. At 18°C, It observed 0 for 1 week, 26 for 2 weeks, 546 for 3 weeks, 16 for 4 weeks, 17 for 5 weeks and 154 for 6 weeks. It was not observed at 28°C.

Key Words : *Neopyropia yezoensis*, Conchocelis, Conchospore, Young thallus, water temperature change

Received Sep. 11. 2023
Revised Sep. 26. 2023
Accept Oct. 13. 2023

*Correspondence
Sung Je Choi
csjchoi@korea.kr

서론

김속(*Neopyropia spp.*)은 홍조류로서 전 세계에 138종이

분포하고 있고(Kim et al., 2017), 우리나라에는 19종이 서식하고 있다(박 등, 2018). 김 양식은 15세기 중엽 이전부터 시작되어 수산물 중 가장 오래된 재배 역사를 가지고 있고,

1970년대 이후 인공채묘와 양식 기술 개발, 신품종 개발, 제조 공정의 기계화를 통해 급속히 발달하였다(高, 1997).

Drew(1949)에 의해 김이 여름철에 사상체(conchocelis) 형태로 패각 속에서 지나다는 것을 발표한 이후 생활사에 관한 연구가 급속히 진행되었다. 김은 거시적인 배우체(thallus gametophytes) 시기와 미시적인 포자체(conchocelis sporophytes)로 세대교번을 하는데, 엽체인 배우체에서 암수가 수정하여 과포자가 방출되어 사상체로 성장하고, 사상체인 포자체는 패각속에서 각포자를 형성, 방출하여 김 엽체가 된다.

김 양식은 양식 기술의 진전과 가공 기술의 발전으로 많은 성장을 이루었다. 하지만 김 산업이 지속적으로 발전하기 위해서는 안정적인 생산량 유지가 필요하게 되었고, 양식에 직접적으로 영향을 미치는 패각 사상체 배양이 중요하게 되었다. 이처럼 패각 사상체 배양은 김 양식에서 가장 중요한 채묘 과정과 연결되어 있기 때문에 각포자 형성 및 방출을 위한 많은 연구가 진행되었다. 유리 사상체 각포자낭 및 각포자 방출연구(Frazer and Brown, 1995; Stekoll et al., 1999; Varela-Alvarez et al., 2004; He and Yarish, 2006; Lin and Stekoll, 2007; Li et al., 2011; Lu and Yarish, 2011; Zhong et al., 2016), 유리 사상체 광합성 효율 연구(Lin et al., 2008; Kim et al., 2019; Liang et al., 2022), 유리 사상체 색소체 연구(Lin and Stekoll, 2011; Lin and Stekoll, 2013) 등이 있고, 패각 사상체 연구는 돌김의 패각 사상체 환경관리(이, 2018), 김 3종의 패각 잠입 연구(허 등, 2021), 패각 사상체 각포자 방출 연구(Knoop et al., 2020; 김 등, 1999) 등이 있다.

패각 사상체 배양은 김 양식에 큰 영향을 주고 있지만 패각 속의 사상체를 연구하는 것이 어려웠기 때문에 그동안 유리 사상체 연구에 비해 연구가 많지 않았다. 따라서 본 연구는 실내 배양을 통한 방사무늬김 패각 사상체의 성장과 수온 변화가 각포자 형성 및 방출에 미치는 영향을 조사하였다.

연구방법

실험재료

본 연구의 실험 재료는 한국농수산대학교 해조류연구실에서 배양 중인 방사무늬김 유리 사상체를 사용하였다. 유리 사

상체는 multi-room incubator (HB-103-4, 한백과학)에서 15°C, 14:10 h light/dark cycle (14L:10D), 3.5 μ mol photons m⁻² s⁻¹ 조건으로 배양하였다.

유리 사상체 잠입

유리 사상체 0.1g을 150mL 멸균 해수를 채운 믹서기에 넣고 총 60초간 세절하여 평균 250 μ m의 사상체 원액을 준비하였다. 굴 패각 (평균 크기 5~6cm², 두께 2~3cm) 4개를 각각의 petri-dish (Ø 9cm, Hyundai micro)에 넣고, 사상체 원액을 3mL씩 접종하여 잠입시켰다.

패각 사상체 배양

유리 사상체의 패각 잠입을 확인한 후 Table 1과 같은 배양 조건에 따라 패각 사상체를 성장시켰다. 성장단계별로 3주간은 초기 성장을 위하여 15°C, 18 μ mol photons m⁻² s⁻¹, 14L:10D 배양하였고, 1주간은 20°C, 35 μ mol photons m⁻² s⁻¹, 10L:14D 사상체를 충분히 성장시켰으며, 3주간은 28°C, 12 μ mol photons m⁻² s⁻¹, 10L:14D 조건에서 각포자낭을 형성시켰다. 배양 해수는 주 1회 교환하면서 사상체의 성장과 각포자 형성을 유도하였다.

각포자 형성량 조사

패각 사상체의 각포자 형성량 조사를 위해 28°C 유지 조건과 10°C와 18°C 조건으로 나누어 배양하였다. 각포자 형성량 조사는 하나의 패각에서 5곳을 무작위로 선택하여 형광현미경 (BX51, Olympus, Japan)으로 촬영한 후 형성량을 계수하였다.

김 유연 개체수 조사

패각에 형성된 각포자를 형광현미경으로 검경한 후 실험 패각은 매주 새로운 Petri dish로 옮겨 기존의 온도에서 6주간 배양하였다. 패각에서 방출된 각포자를 엽체로 성장시키기 위하여, 배양했던 Petri dish는 15°C, 18 μ mol photons m⁻² s⁻¹, 8L:16D 조건으로 옮겨, 각포자가 평균 0.5~1cm로 성장한 유연의 개체수를 조사하였다.

Table 1. Condition used to study the conchocelis culture of *N. yezoensis* in laboratory

Stage of the life cycle	Stage of growth	Culture week	Temperature (°C)	Light intensity ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Photoperiod (light:dark)
Conchocelis grown in shells	1	3	15	18	14L:10D
	2	1	20	35	10L:14D
	3	3	28	12	10L:14D
Conchosporium formation in shells			10		
		6	15	12	10L:14D
			28		

결과 및 고찰

패각 사상체 배양

방사무늬김 유리 사상체를 패각에 접종시킨 결과, 1주 후 현미경으로 잠입이 관찰되었고, 2주 후 패각 사상체가 육안으로 확인되었다. 3주 후 현미경 관찰 결과, 사상체가 패각 속에서 가지를 뻗기 시작하였고, 성장한 패각 사상체 가지에서 각포자낭 형성이 관찰되었으며, 5주 후부터 각포자낭에서 각포자가 형성되는 것이 관찰되었다. 본 실험을 통해 총 7주만에 사상체 잠입부터 각포자 형성까지의 과정을 확인할 수 있었다(Table 2 and Fig. 1).

김종자 배양장에서는 3~4월에 사상체를 잠입시켜 9-10월 까지 배양하여 채묘에 이용하고 있다(Hwang and Park, 2020). 본 실험 결과를 통해 7주 만에 패각 사상체 성장 및 각포자 형성까지 실험실에서 김 종자 배양장과 동일한 수준으로 배양할 수 있음을 확인하였고, 배양 기간도 단축할 수 있는 결과를 확인하였다.

수온별 각포자 형성량 비교

각포자가 형성된 패각을 10°C, 18°C 그리고 28°C 유지 조건에서 6주간 배양하면서 각포자 형성량을 조사하였다(Fig. 2, 3, 4, 5). 각포자 형성량 비교 실험 결과, 10°C에서는 평균 1주 127개, 2주 127개, 3주 95개, 4주 90개, 5주 76개, 6주 75개의 각포자가 형성되었고, 18°C에서는 평균 1주 141개, 2주 135개, 3주 94개, 4주 153개, 5주 162개, 6주 2개가 형성되었으며, 28°C에서는 평균 1주 167개, 2주 102개, 3주 148개, 4주 157개, 5주 270개, 6주 138개가 형성되었다(Fig. 5, 6).

각포자 형성 패턴을 보면, 10°C에서는 1주에 가장 많이 형성하였고, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주 순으로 형성되었다. 18°C에서는 5주에 가장 많이 형성하였고, 4주, 1주, 2주, 3주, 6주 순으로 형성되었으며, 28°C에서는 5주에 가장 많이 형성하였고, 1주, 4주, 6주, 3주, 2주 순으로 형성되었다. 10°C에서는 1주와 2주에, 18°C와 28°C에서는 4주와 5주에 각포자가 많이 형성된 결과가 나타남에 따라 저온 배양과 고온 배양에서의 각포자 형성 시기에 차이가 있음을 확인하였다. 또한, 10°C 저수온 배양에서는 시간이 길어질수록 각포자 형성량이 감소하는 경향을 보였고, 18°C에서는 1주와 4~5주에 많은 각포자를 형성하고 급격히 감소하는 경향을 보였다.

수온 변화에 따른 유엽 개체수 비교

패각 사상체에서 방출된 각포자를 배양하여 얻은 유엽의 개체수를 계수한 결과, 10°C에서는 배양 2주에 189개체, 3주에 200개체, 4주에 89개체, 5주에 56개체, 6주에 27개체가 나타났다. 특히 배양 2주와 3주째 개체수가 많았고, 이후에는 개체수가 줄어드는 경향을 보였다. 18°C에서는 2주에 26개체, 3주에 546개체, 4주에 16개체, 5주에 17개체, 6주에 154개체가 나타났다. 28°C에서는 3주째 유엽이 2개체가 관찰되었지만, 그 외 실험기간 중에는 유엽이 전혀 발견되지 않았다. 따라서 28°C에서는 각포자가 많이 형성되지만, 방출은 되지 않는 것을 알 수 있었다. 처음 수온 자극 1주까지 유엽이 10°C, 18°C와 28°C 모든 조건에서 관찰되지 않은 것은 패각 사상체가 수온 자극에 바로 각포자를 방출하지 않고 2주 정도 시간이 필요하다는 것을 유추할 수 있다(Fig. 7).

또한 10°C 결과에서와 같이 급격히 수온을 하강시키면 각포자가 단기간에 방출하는 경향을 보였다. 18°C에서는

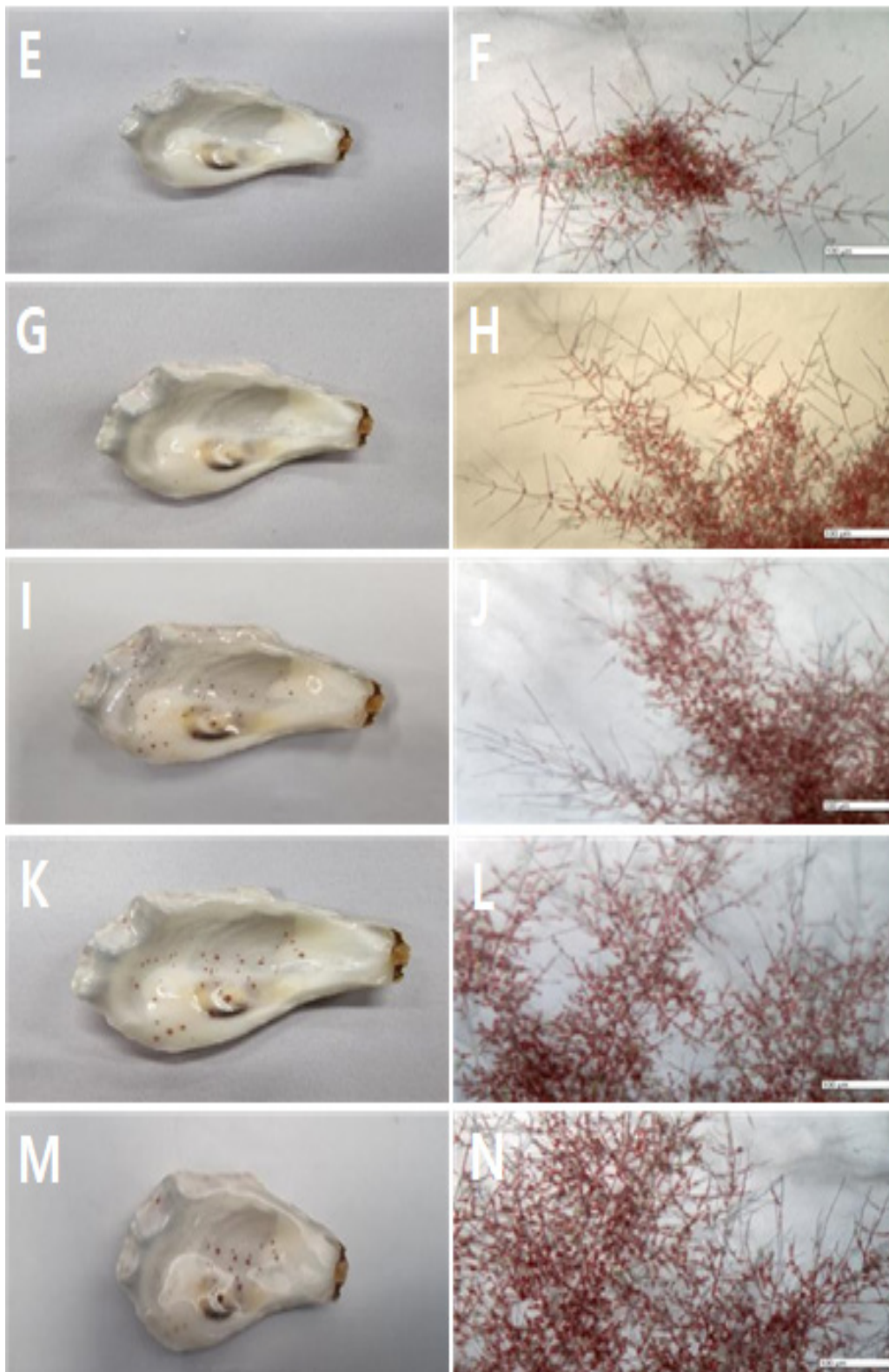


Fig. 1. Growth of shell-inhabiting conchocelis of *N. yezoensis* during 7 weeks. View of conchocelis in oyster shell (left side) and shell-inhabiting conchocelis under a microscope (right side). (A-F) 15°C, 3 weeks, (G-H) 20°C, 1 week, (I-N) 28°C, 3 weeks. Scal bars=100

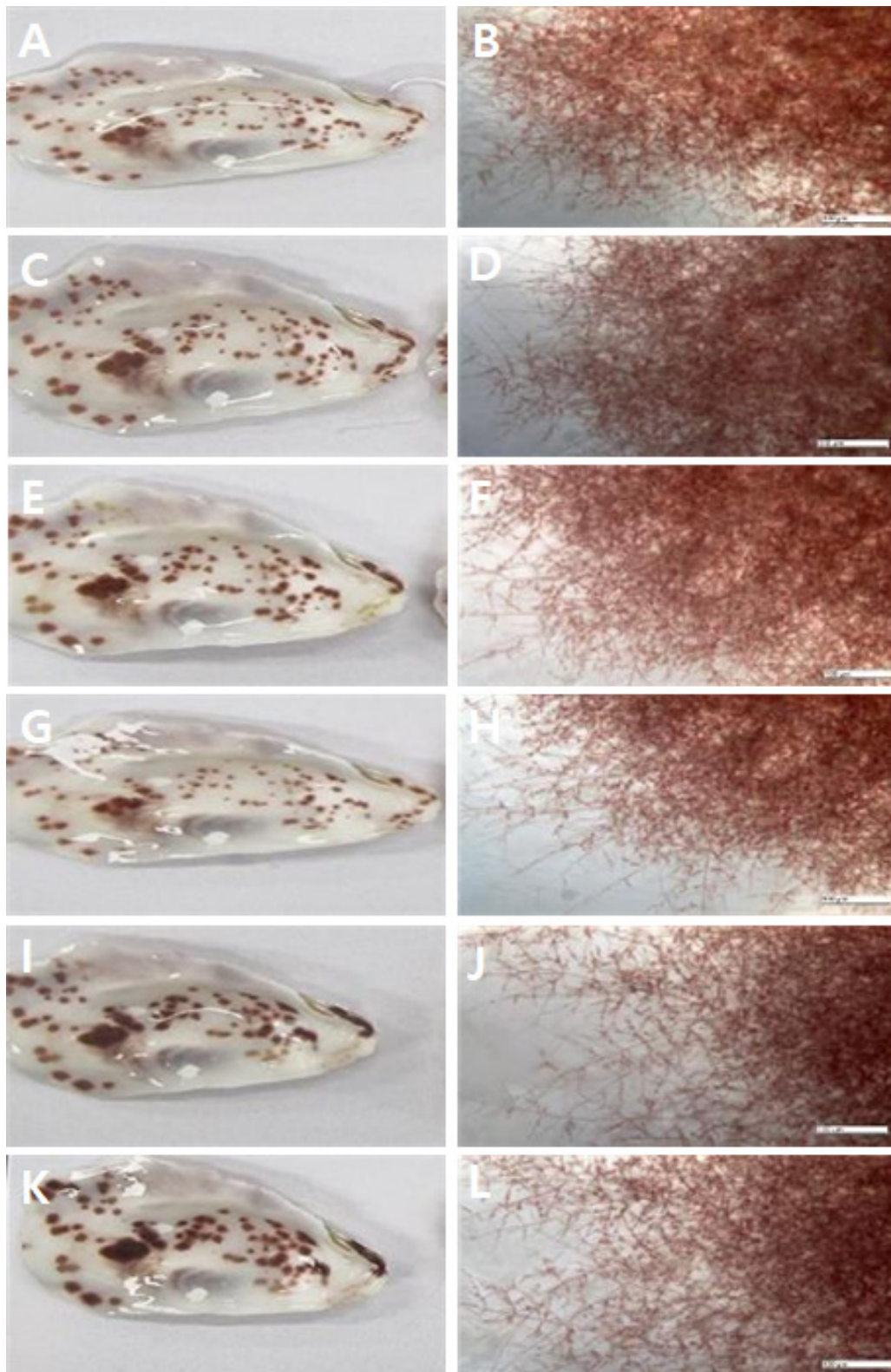


Fig. 2 Growth of shell-inhabiting conchocelis of *N. yezoensis* during 6 weeks at 10°C. View of conchocelis in oyster shell (left side) and shell-inhabiting conchocelis under a microscope (right side). (A-B) 1 week, (C-D) 2 weeks (E-F) 3 weeks, (G-H) 4 weeks, (I-J) 5 weeks, (K-L) 6 weeks. Scal bars=100 μ m

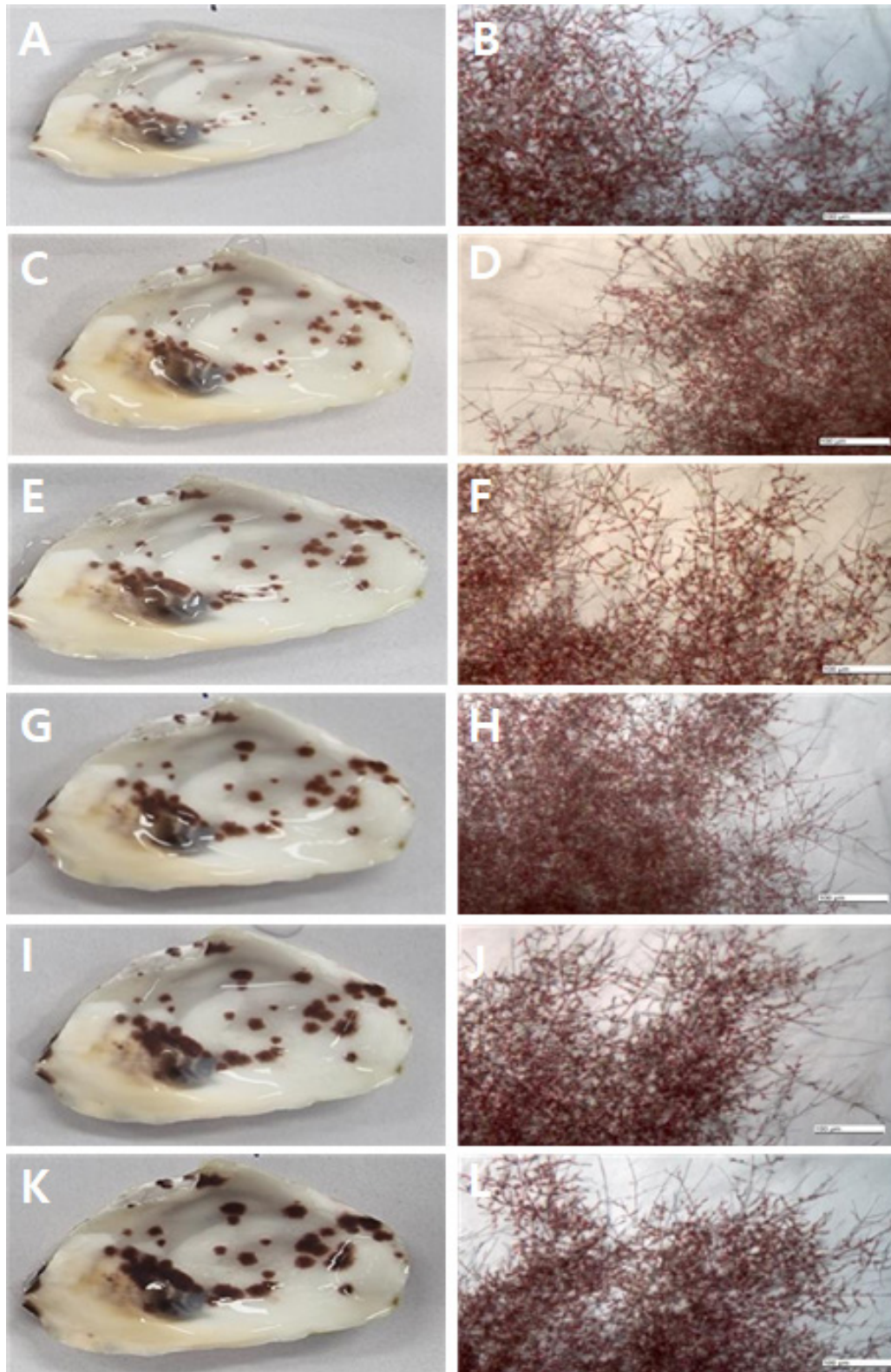


Fig. 3 Growth of shell-inhabiting conchocelis of *N. yezoensis* during 6 weeks at 18°C. View of conchocelis in oyster shell (left side) and shell-inhabiting conchocelis under a microscope (right side). (A-B) 1 week, (C-D) 2 weeks (E-F) 3 weeks, (G-H) 4 weeks, (I-J) 5 weeks, (K-L) 6 weeks. Scal bars=100 μ m

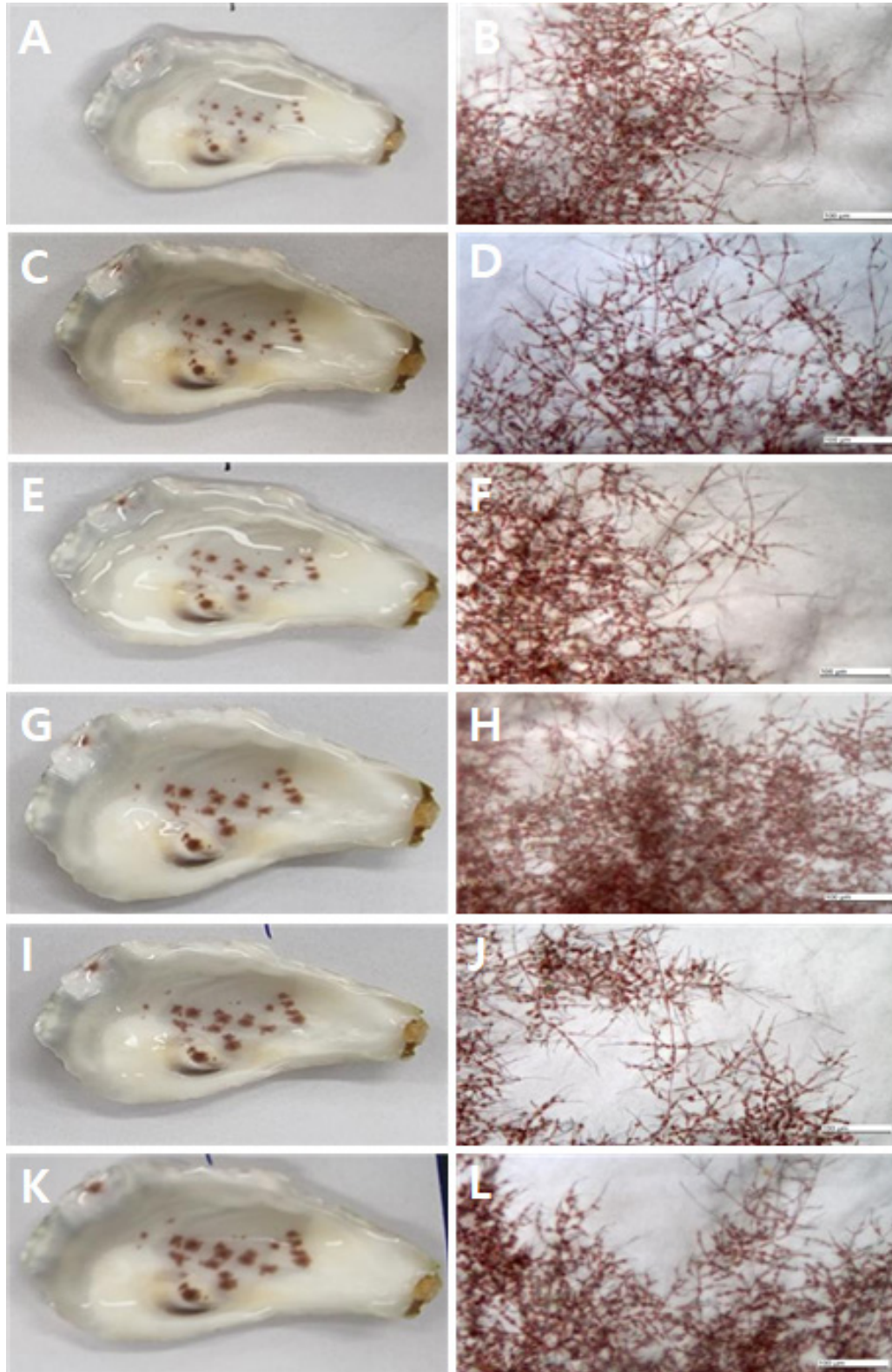


Fig. 4 Fig. 4. Growth of shell-inhabiting conchocelis of *N. yezoensis* during 6 weeks at 28°C. View of conchocelis in oyster shell (left side) and shell-inhabiting conchocelis under a microscope (right side). (A-B) 1 week, (C-D) 2 weeks (E-F) 3 weeks, (G-H) 4 weeks, (I-J) 5 weeks, (K-L) 6 weeks. Scal bars=100 μm

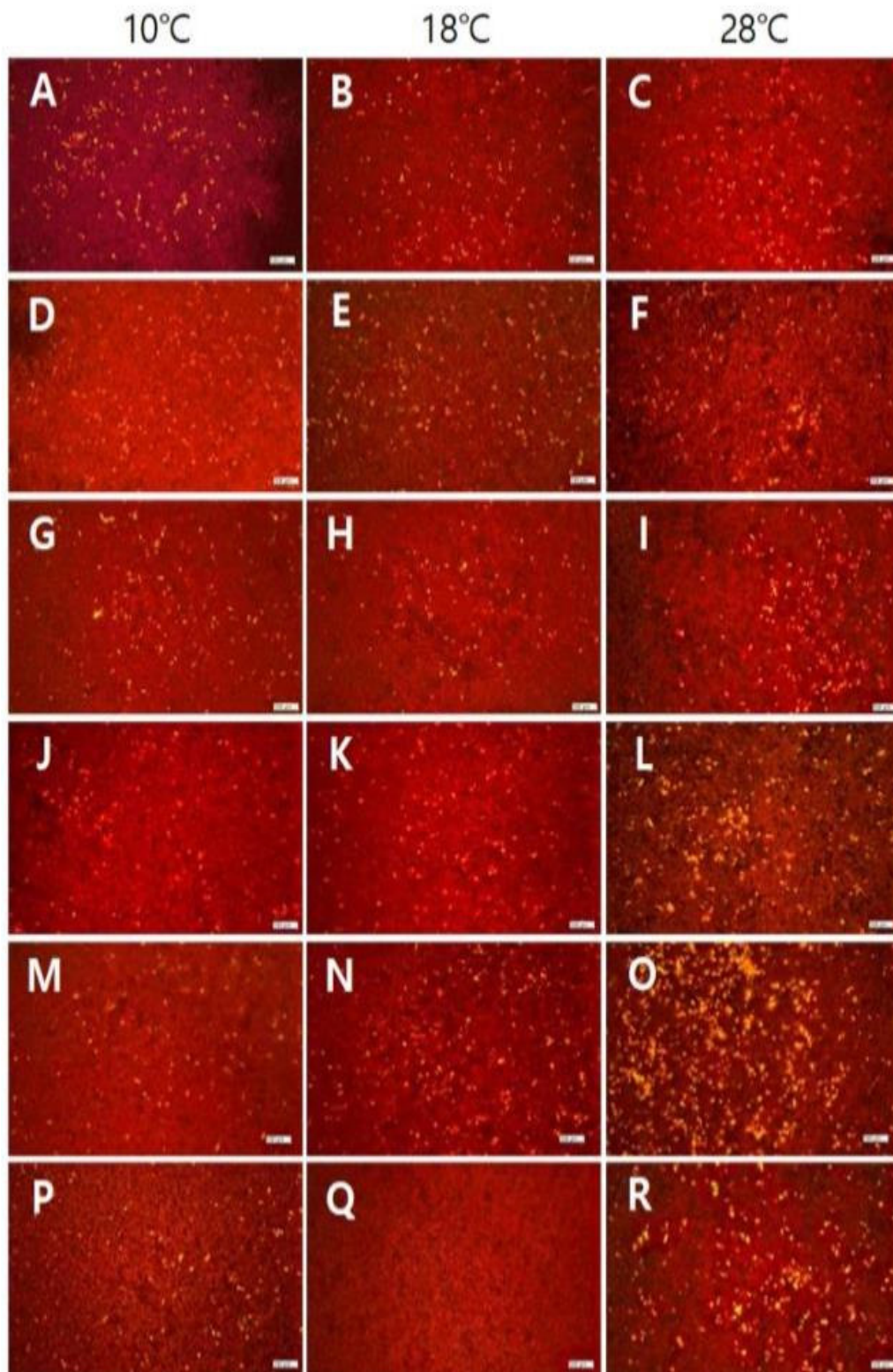


Fig. 5 Detection of conchospores of *N. yezoensis* by fluorescence microscope at 10°C, 18°C, 28°C during 6 weeks. (A-C) 1 week, (D-F) 2 weeks (G-I) 3 weeks, (J-L) 4 weeks, (M-O) 5 weeks, (P-R) 6 weeks. The yellow spots are fluorescent of conchocelis of oyster shell surface. Scal bars=100 μ m

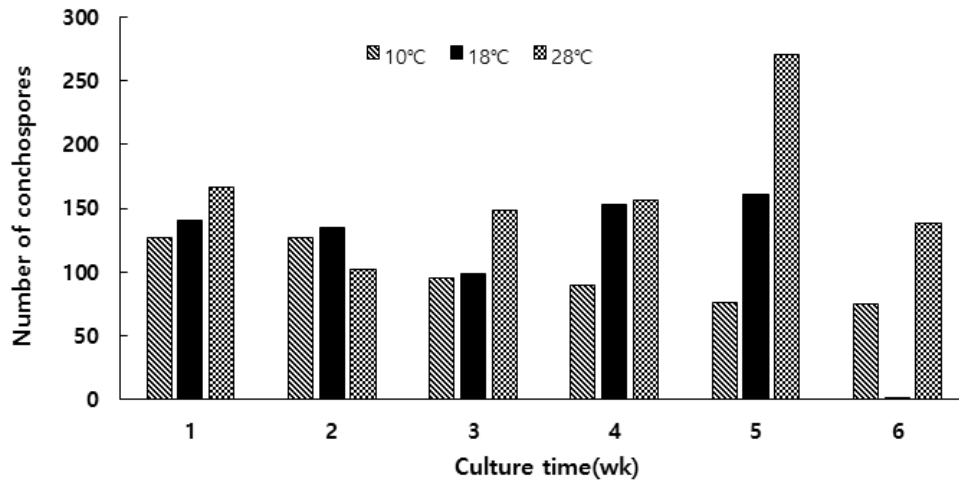


Fig. 6 Number of conchospores formation of *N. yezoensis* at 10°C, 18°C and 28°C during 6 weeks

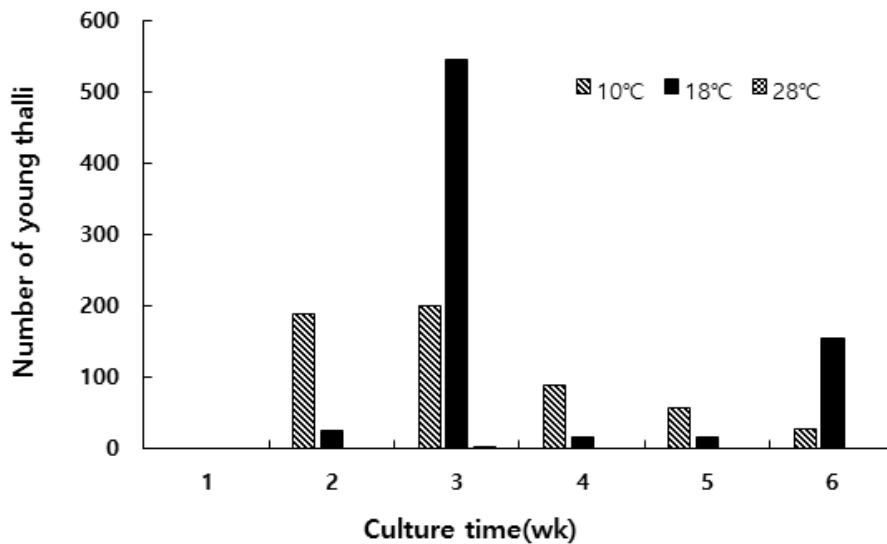


Fig. 7 Detection of conchospores of *N. yezoensis* by fluorescence microscope at 10°C, 18°C, 28°C during 6 weeks. (A-C) 1 week, (D-F) 2 weeks (G-I) 3 weeks, (J-L) 4 weeks, (M-O) 5 weeks, (P-R) 6 weeks. The yellow spots are fluorescent of conchocelis of oyster shell surface. Scal bars=100 μ m

처음 2주간 각포자를 형성한 후 3주째 1회 방출하고, 다음 2주간 각포자를 형성한 후 6주째 2회 방출하는 패턴을 보였다. 김 패각 사상체 배양은 양식 품종과 배양 환경조건에

따라 다르게 나타난다는 결과를 확인하였다. 향후 배양환경 조건에 따른 품종별 패각 사상체의 성장, 각포자 형성 및 방출량 조사 등과 같은 더 많은 연구가 필요하다.

적 요

본 연구는 실내배양을 통해 방사무늬김(*N. yezoensis*) 패각

사상체의 성장과 수온변화가 각포자 형성 및 방출에 미치는 영향을 조사하였다. 7주간의 실내배양을 통해서 유리 사상체가 패각에 잠입하여 성장하고 각포자가 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 실내 배양기에서 패각 사상체 성장 및 각포자

형성이 충분히 가능하였고, 배양기간도 단축하는 결과를 보였다.

패각 내 각포자 형성량을 조사하기 위하여 배양온도를 10℃와 18℃, 28℃로 나누어 6주간 배양하였다. 10℃에서는 평균 1주 127개, 2주 127개, 3주 95개, 4주 90개, 5주 76개, 6주 75개가 관찰되었고, 18℃에서는 평균 1주 141개, 2주 135개, 3주 94개, 4주 153개, 5주 162개, 6주 2개가 관찰되었으며, 28℃에서는 1주 167개, 2주 102개, 3주 148개, 4주 157개, 5주 270개, 6주 138개가 관찰되었다. 각포자 평균 형성량은 28℃가 가장 많았고, 18℃, 10℃ 순이었다.

패각에서 방출된 각포자 수는 직접적으로 계수가 어려움에 따라 유엽의 개체수로 방출량을 확인하였다. 각포자 방출에 따른 유엽 개체수는 10℃에서 1주 0개, 2주 189개, 3주 200개, 4주 89개, 5주 56개, 6주 27개가 관찰되었고, 18℃에서는 1주 0개, 2주 26개, 3주 546개, 4주 16개, 5주 17개, 6주 154개체가 관찰되었으며 28℃에서는 거의 관찰되지 않았다.

본 연구를 통하여 패각 속에서 형성된 각포자는 28℃에서 18℃ 조건으로 옮긴 뒤 3주 후 최대 방출하였고, 이어서 3주 후 2번째로 많이 방출하는 패턴을 확인하였다.

참고문헌

- 高楠表. 1997. 韓國에 있어서 海藻養殖의 現況. 水産増殖. 45(4): 565-571.
- 김영중, 조주현, 최성제, 신종암. 1999. 김속(*Porphyra*) 3종의 패각 사상체 성숙 및 채묘에 미치는 조도의 영향. 여수대학교 수산과학연구소 연구보고 8: 154-159.
- 박정광, 김은승, 장형석, 김주희. 2018. 2018 국가 해양수산 생물종 목록집. V해산식물. 국립해양생물자원관. pp. 20.
- 이기재. 2018. 잇바디돌김(*Pyropia dentata*)과 긴잎돌김(*P. pseudolinearis*)의 패각 사상체 증묘생산을 위한 환경관리. 목포대학교 석사학위논문. pp. 30.
- 허진석, 박은정, 황미숙, 최한길. 2021. 김(*Pyropia* spp.) 3종 유리 사상체의 패각잡입에 대한 패각 종류, 광과 온도의 영향. 한국수산과학회지 54: 23-30.
- Drew KM. 1949. Conchocelis-phase in the life history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kutz. Nature. 166: 748-749.
- Frazer AWJ, Brown MT. 1995. Growth of the conchocelis phase of *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) at different temperatures and levels of light, nitrogen and phosphorus. Phycological Research 43: 249-253.
- He P, Yarish C. 2006. The developmental regulation of mass cultures of free-living conchocelis for commercial net seeding of *Porphyra leucosticta* from Northeast America. Aquaculture 257: 373-381.
- Hwang EK, Park CS. 2020. Seaweed cultivation and utilization of Korea. Algae 35:107-121.
- Kim JK, Yarish C, Hwang EK, Park MS, Kim YD. 2017. Seaweed aquaculture: cultivation technologies, challenges and its ecosystem services. Algae 32: 1-13.
- Knoop J, Griffin JN, Barrento S. 2020. Cultivation of early life history stages of *Porphyra dioica* from the British Isles. Journal of Applied Phycology 32: 459-471.
- Kim JH, Choi SJ, Lee SY. 2019. Effects of temperature and light on photosynthesis and growth of red alga *Pyropia dentata* (Bangiales, Rhodophyta) in a conchocelis phase. Aquaculture 505: 167-172.
- Li X, Yang L, He PM. 2011. Formation and growth of free-living conchosprangia of *Porphyra yezoensis*: effects of photoperiod, temperature and light intensity. Aquaculture research 42: 1079-1086.
- Liang Z, Liu F, Wang W, Zhang P, Yuan Y, Liu Y, Yao H., Jia R, Sun X, Wang F. 2022. Physiological and biochemical responses to light and temperature stress in free-living conchocelis of *Neopyropia katadae* (Bangiales, Rhodophyta). Journal of Applied Phycology 34: 1059-1072.
- Lin R, Stekoll MS. 2007. Effects of plant growth substances on the conchocelis phase of Alaskan *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) species in conjunction with environmental variables. J Phycol 43: 1094-1103.
- Lin R, Lindstrom SC, Stekoll MS. 2008. Photosynthesis and respiration of the conchocelis stage of Alaskan *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) species in response to environmental variables. J Phycol 44: 573-583.
- Lin R, Stekoll MS. 2011. Phycobilin content of the conchocelis phase of alaskan *porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) species: responses to environment variables. Journal of Phycology 47: 208-214.

18. Lin R, Stekoll MS. 2013. Responses of chlorophyll a content for conchocelis phase of alaskan *porphyra* (bangiales, rhodophyta) species to environmental factors 1: 28-39.
19. Lu S, Yarishi C. 2011. Interaction of photoperiod and temperature in the development of conchocelis of *Porphyra purpurea* (Rhodophyta: Bangiales). *Journal of Applied Phycology* 23: 89-96.
20. Stekoll MS, Lin R, Lindstrom SC. 1999. *Porphyra* cultivation in Alaska: conchocelis growth of three indigenous species. *Hydrobiologia* 398/399: 291-297.
21. Varela-Alvarez W, Stengel DB, Guiry MD. 2004. The use of image processing in assessing conchocelis growth and conchospore production in *Porphyra linearis*. *Phycologia* 43: 282-287.
22. Zhong Z, Wang W, Sun X, Liu F, Liang Z, Wang F, Chen W. 2016. Developmental and physiological properties of *Pyropia dentata* (Bangiales, Rhodophyta) conchocelis in culture. *J Appl Phcol* 28: 3435-3445.

감사의 글

본 연구 결과물은 해양수산부(KIMST)의 재원으로 “수산 디지털 수산종자검인증기술개발(No.20220572)”의 지원을 받아 연구되었습니다.