



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년10월11일
 (11) 등록번호 10-0764515
 (24) 등록일자 2007년10월01일

(51) Int. Cl.

A01G 33/00(2006.01) A01G 1/00 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0012002

(22) 출원일자 2006년02월08일

심사청구일자 2006년02월08일

(65) 공개번호 10-2007-0080665

공개일자 2007년08월13일

(56) 선행기술조사문헌

JP06062690 A

논문

전체 청구항 수 : 총 12 항

(73) 특허권자
대한민국

(72) 발명자
김영대
강원 강릉시 교1동 1773번지 부영A 304-1403호
홍정표
경북 포항시 북구 두호동 616번지
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
이원희

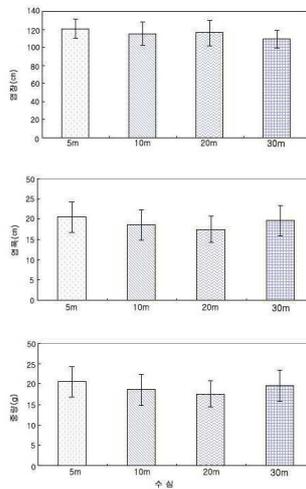
심사관 : 김재현

(54) 개다시마의 인공 종묘 생산 및 양식 방법

(57) 요약

본 발명은 개다시마의 인공 종묘 생산 및 양식 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 조직절단으로 성 성숙이 완속단계로 판정된 개다시마 모조로부터 유주자를 채묘하여 생장에 적합한 온도 및 조도에서 배양함으로써 포자의 아포체 생성 활성을 높여 결과적으로 종묘의 인공 생산을 가능하게 하는 것이다. 또한, 인공 생산된 종묘를 개다시마의 대량 양식에 이용하여, 서식지에서 점차 감소되어 멸종위기의 개다시마 군락지를 복원하고, 해조류 양식 품종을 다양화하며, 양식 기술을 보급하여 어업인의 소득증대에 기여할 수 있다. 또한, 개다시마의 대량 생산을 통해 고부가 가치성을 창출하는 의약품 및 건강식품 원료 공급원으로 활용할 수 있다.

대표도 - 도13



(72) 발명자

송홍인

경기 부천시 원미구 상동 사랑마을아파트 1623동
1002호

방종득

강원 강릉시 연곡면 동덕리 산 30-6

특허청구의 범위

청구항 1

자낭반이 형성된 성숙한 개다시마 모조를 채취하고, 이 모조로부터 자낭반 형성 부위를 잘라내고, 이 자낭반에 대하여 11 ~ 13 시간 동안 및 3.5 ~ 4.5℃ 에서 냉장음건을 실시하여 유주자를 얻는 채묘 단계; 및 채묘틀로 18합사 구라론사를 사용하여 상기 유주자를 배양하여 종묘를 얻는 단계를 포함하는 개다시마(*Kjellaniella crassifolia*)의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 유주자를 배양하여 종묘를 얻는 단계는 유주자를 배양하여 배우체를 얻는 단계; 상기 배우체를 배양하여 아포체를 얻는 단계; 및 상기 아포체를 배양하여 종묘를 얻는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 개다시마(*Kjellaniella crassifolia*)의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1항에 있어서, 냉장음건은 12 시간 동안 실시하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 5

삭제

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 냉장음건은 4℃에서 실시하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 7

제 2항에 있어서, 상기 아포체의 배양 온도는 10 ~ 13 ℃ 인 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 8

제 2항에 있어서, 상기 유주자 및 배우체의 배양 온도는 10 ℃ 인 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 유주자를 1500 ~ 2500 룩스(lux)의 조도에서 배양하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 유주자를 2000 룩스의 조도에서 배양하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 11

제 1항에 있어서, 상기 유주자를 35 ~ 45일 배양하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서, 상기 유주자를 40일 배양하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법.

청구항 13

제1항의 방법으로 생산한 개다시마 인공 종묘를 수하연에 이식하여 수심 4 ~ 6 m 에 시설하여 1차 양식하는 단계; 및

상기 양식된 종묘를 수심 20 ~ 30 m 에서 2차 양식하는 단계를 포함하는 개다시마의 양식 방법.

청구항 14

제 13항에 있어서, 상기 1차 양식 단계에서 종묘를 수심 5 m 에 시설하는 것을 특징으로 하는 개다시마의 양식 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <16> 본 발명은 개다시마(*Kjellmaniella crassifolia*) 인공 종묘 생산 및 양식 방법에 관한 것이다.
- <17> 바다에 서식하는 생물은 총 30만 종으로 지구 동식물의 80%가 바다에서 서식하고 있고, 바다에서의 해조류는 1차 생산자로서 무척추동물, 어류 및 원생동물 등 다양한 동물들의 산란장, 쉼터 등 서식 환경을 제공하고 있어, 해양 생태계에 있어서 중요한 역할을 하는 위치에 있다. 또한 전복, 성게, 고둥류 등의 먹이 역할을 하고 있으며, 식용뿐만 아니라 비타민, 미네랄 및 다양한 생리활성 물질의 공급원 및 가축의 사료나 농작물의 비료로도 이용되어 왔다.
- <18> 우리나라에 서식하고 있는 해조류는 총 735종이며, 식용 또는 산업적으로 이용되고 있는 종류는 약 20여 종으로 대량 양식이 가능한 것은 김, 미역, 다시마, 툇, 쇠미역 등의 몇 종에 국한되어 있다. 따라서, 효율적인 해조 자원의 이용 및 해조류 양식 산업의 품종 다변화를 위하여, 다양한 양식 대상종의 개발에 노력을 기울일 필요가 있다.
- <19> 우리나라 해안 가운데 동해는 남쪽에서 북상하는 대마난류와 북쪽에서 하강하는 한류 세력이 교차하는 등 해양 환경 변화가 심하고, 또한 봄철에 나타나는 냉수대 등의 영향으로 해조의 형태 변이가 심한 편이다. 동해안에 서 서식하고 있는 해조류는 어떤 서식 장소의 서식환경에 오랜 기간에 걸쳐 적응된 결과로 현재의 형태를 지니고 있다. 특히 해조류는 하등한 생물군으로 유전적으로 불안정한 형질요소를 많이 포함한다. 예를 들면, 일정 환경에 적응된 해조류를 다른 서식환경으로 이식시켰을 때, 그들의 발현 형질은 새로운 서식환경에 따라 다른 형태로 나타날 수 있다. 또한 새로운 형질일지라도 해조류가 가지는 세대교번 상에 나타나는 감수분열 때문에 유지관리는 매우 어렵다. 이러한 이유뿐만 아니라 살아있는 생물을 대상으로 하는 수산양식의 경우, 어떤 양식 대상종의 이식은 기존의 해양생태계에 미치는 영향이 어떻게 나타날지 충분히 예측하기 매우 어렵다. 육상의 동·식물 이식에서 많은 예를 보고 있고, 이들의 생태계 파괴현상은 심각한 수준이다. 유전자원의 개발 및 보존을 위한 방법이 개발될 것이며, 이미 선진국에서 시행하고 있는 미래의 생물자원 관리 측면에도 시급히 이루어져야 한다. 암·수배우체의 분리 및 보존기술, 조직배양, 원형질체 분리 및 재생기법 개발은 연중 종묘생산이 가능한 측면과 종자를 보유한다는 측면에서 종자은행 운영을 위한 필수적인 기술이다.
- <20> 우리나라에 분포하는 다시마속 식물은 원산만 이북의 다시마속(*Laminaria*)과 이남의 개다시마속(*Kjellmaniella*)으로 크게 나누어 볼 수 있다. 토종다시마라고도 하는 개다시마는 강원도 연안의 저조선 이하 수심이 깊은 곳에 주로 서식하는 한해성 해조류로서 현재 여러 가지 상품으로 개발되어 산업적으로도 그 중요성을 인정받고 있는 지역 특산종이다.
- <21> 개다시마(*Kjellmaniella crassifolia*)는 다시마목(目) 다시마과(科)에 속하는 다년생 갈조류로서, 일본명은 가고

메(Gagome)이다. 개다시마의 뿌리형태는 섬유상으로 뿌리에서 운생하고 엽장이 1 ~ 2 m, 엽폭은 20 ~ 30 cm로 비교적 넓으며, 역세고 점질이 많다. 두께는 2 ~ 3 mm, 중대부는 엽폭의 1/3 ~ 1/4로, 중대부의 양측에는 용무늬가 있어 노성하면 불분명해진다. 줄기의 하부는 원주상, 위쪽은 편원되고 길이 4 ~ 6 cm, 지름 10 ~ 12 mm이다. 점심대(漸深帶)에 서식하며, 12월 이후에 유체가 출현하여 다음 가을까지 충분히 성장하고, 유주자가 방출하면 엽체의 끝녹음 현상으로 더 성장하지 않다가 11월경이 되면 다시 성장대에서 성장을 시작하여 첫 해 자란 엽체를 위로 밀어 올리면서 2년생 엽체가 된다. 2년째에는 생장이 빠르게 자라서 1년 엽체와 2년 엽체의 구분이 뚜렷하게 나타난다. 자낭반은 처음 한쪽에만 발생되나 차차 반대편에도 형성된다.

- <22> 개다시마는 우리나라에서는 강원 북부 연안(고성군, 아야진, 속초시, 강릉시 사근진)의 수심 20 ~ 30 m 에 서식하고 있으며, 90년대 중반까지만 해도 동해안 최대 군락지인 강릉시 사근진 해역은 약 50 ha의 서식 면적에 10 m²당 약 500 개체가 서식하고 있었으나, 현재는 10 m²당 1~2 개체가 서식하고 있을 뿐만 아니라 서식 면적도 2 ha로 현저히 축소되었다. 봉포 해역에는 약 1 ha에 걸쳐 분포하고 있었으며, 서식 밀도는 현저히 낮은 10 m²당 1 개체로 나타났다. 또한, 과거 서식했던 지역으로 고성군 대진 및 초도 해역에서는 현재 발견되지 않고 있으며, 아야진, 문암 해역은 소수 개체는 발견되나 거의 소실된 것으로 나타났다.
- <23> 또한, 동해안에서 서식하는 애기다시마의 10월 자낭반 형성 면적은 엽체 중량의 약 23%에 걸쳐 형성되나, 개다시마의 경우 약 5%에 불과하여 생식 능력이 매우 떨어지는 경향을 보였다. 이러한 특성을 감안할 때에 서식지가 한번 파괴되면 자연 스스로 회복하기엔 오랜 시간이 필요하고 많은 변수가 있다. 따라서 서식지 복원을 위해서는 우량 모조의 확보가 절실하나, 자연 상태에는 극히 희박하다.
- <24> 개다시마는 일반 다시마류에 비하여 비대도가 2배 이상이며, 푸코이단, 글루탐산, 아스파라긴산, 미네랄 등이 더 풍부하게 함유하고 있어 예로부터 식용으로 사용되어 왔고, 최근 기술의 진전으로 유용성분이 많이 추출됨에 따라 의학 및 신물질, 건강식품으로 개발이 되고 있다. 그러나, 1990년에는 자연 생산량이 연간 생체 1,000여 톤에 달하였으나 최근 무분별한 채취, 태풍의 영향으로 종이 사라질 위기에 있어 복원의 필요성 및 우량 모조의 생산이 절실하며, 우리나라 고유종의 보존과 개발을 위하여 암·수 배우체 분리 및 보존 기술 개발이 무엇보다도 필요하다.
- <25> 이에 본 발명자들은, 개다시마의 서식지를 복원하고 종묘를 대량으로 생산할 수 있는 방법을 연구하던 중, 개다시마를 유전 형질을 변화시키지 않는 방법으로 개다시마의 배우체 생성에 적합한 조건을 구명하고, 이를 통해 생성된 종묘를 양식에 이용하여 대량 생산이 가능함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <26> 본 발명은 개다시마의 인공 종묘 생산 방법을 제공하고자 한다.
- <27> 또한, 본 발명은 개다시마의 양식 방법을 제공하고자 한다.

발명의 구성 및 작용

- <28> 본 발명은 개다시마의 인공 종묘 생산 방법을 제공한다.
- <29> 또한, 본 발명은 개다시마의 양식 방법을 제공한다.
- <30> 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.
- <31> 본 발명은
- <32> (a) 유주자 방출 전의 개다시마 모조로부터 자낭반을 채취하여 유주자를 얻는 채묘 단계; 및
- <33> (b) 상기 유주자를 배양하여 종묘를 얻는 단계를 포함하는 개다시마의 인공 종묘 생산 방법을 제공한다.
- <34> 보다 바람직하게는, 상기 단계(b)인 유주자를 배양하여 종묘를 얻는 단계는
- <35> (1) 유주자를 배양하여 배우체를 얻는 단계;
- <36> (2) 상기 배우체를 배양하여 아포체를 얻는 단계; 및
- <37> (3) 상기 아포체를 배양하여 종묘를 얻는 단계를 포함한다.
- <38> 우선, 단계(a)의 채묘 단계에서 유주자를 방출하기 전의 개다시마 모조로부터 유주자를 준비한다. 성장 상태가 좋은 개다시마의 종묘를 생산하기 위하여, 자낭반이 형성된 성숙한 개다시마 모조를 채취한다. 모조로부터 자

낭반 형성 부위를 잘라내고, 11 ~ 13시간, 바람직하게는 12시간 동안 3.5 ~ 4.5 °C, 바람직하게는 4°C에서 냉장 음건 방법으로 유주자 방출자극을 준다. 다음으로, 멸균 해수 또는 필터 등으로 여과한 여과 해수가 담긴 수조에 상기의 채취된 낭반 부위를 넣어 천천히 저어준다. 8 ~ 12분, 바람직하게는 10분 후부터 현미경으로 유주자의 움직임과 밀도를 조사하고, 현미경 100배 시야에서 약 30개체 이상 보이고 움직임이 활발하면 건강하고 적절한 유주자로 판정한다. 수조에서 모조를 제거하고, 유주자가 부착하여 성장할 수 있도록 채묘줄 또는 채묘틀 등을 수평으로 넣은 다음, 채묘한다.

- <39> 다음으로, 단계(b)에서는 상기 단계(a)에서 채묘한 유주자를 배양하여 종묘를 얻는다. 채묘줄 또는 채묘틀 등에 부착된 상태로 채묘된 유주자를 건조가 되지 않도록 빨리 수조에 넣고, 공기를 약하게 공급하면서 배양한다. 이때, 배양은 개다시마가 서식하는 환경과 유사한 최적의 조건인 7 ~ 13 °C, 바람직하게는 10 °C 온도에서, 1500 ~ 2500 룩스, 바람직하게는 2000 룩스의 조도에서 35 ~ 45일, 바람직하게는 40일 동안 배양한다. 유주자는 수심 세포 정도로 이루어진 실모양의 배우체(配偶體)를 형성하고(단계(1)), 알과 정자를 만들며 수정하여 수정란이 된 후, 현미경적인 크기의 아포체(芽胞體)를 이루었다가(단계(2)) 새로운 포자체의 유엽의 개다시마가 된다(단계(3)). 종묘는 본 양성하기 전 유엽체를 의미하며, 육안으로 유엽을 확인할 수 있는 1 cm 전후의 개다시마가 바람직하다. 개다시마의 유주자는 상기 배양 온도 및 조도의 범위를 벗어나면, 개다시마 포자의 생장이 저조하거나 고사하여 바람직하지 못하다. 이는 개다시마가 심해의 차가운 환경에 적응되어 유주자 및 포자체, 즉 다시마 본체의 발생에도 같은 환경이 가장 적합하다. 본 단계는 통상적으로 아포체가 규조류나 부니에 묻히지 않을 정도의 크기까지 실시하는, 채묘틀에 잠긴 그대로 수면하 2 ~ 4 m 에 매달아 배양하는 가이식 단계를 더 포함할 수 있다.
- <40> 상기와 같이 인공 배양된 종묘는 개다시마의 대량 생산을 위한 양식에 이용될 수 있다.
- <41> 또한, 본 발명은
- <42> (A) 종묘를 수하연에 이식하여 수심 4 ~ 6 m 에 시설하여 1차 양식하는 단계;
- <43> (B) 단계(A)에서 양식된 종묘를 수심 20 ~ 30 m 에서 2차 양식하는 단계를 포함하는 개다시마의 양식 방법을 제공한다.
- <44> 우선, 단계(A)에서는 종묘를 수하연에 이식하여 수심 4 ~ 6 m, 바람직하게는 5m 에 시설하여 1차 양식한다. 개다시마의 종묘를 수하연에 이식하여 개다시마가 서식할 수 있는 7 ~ 13 °C, 바람직하게는 10 °C의 수온 및 1500 ~ 2500 룩스, 바람직하게는 2000 룩스의 조도 조건이 만족되는 수심 3.5 ~ 6.5 m 에서, 가장 바람직하게는 5 m 에서 양식한다. 다시마를 비롯한 굴, 담치, 우렁챙이 등의 부착성 무척추동물의 양식을 위해서는, 이들 생물이 부착할 수 있는 기질, 예를 들어, 뗏목이나 밧줄 등이 필요하다. 부착용 기질은 생물의 종류에 따라 다르며, 채묘된 부착 기질을 일정 간격을 두고 펜 줄을 수하연이라 한다.
- <45> 다음으로, 단계(B)에서는 단계(A)에서 양식된 종묘를 수심 20 ~ 30 m 에서 양식한다. 개다시마 양식에 있어 해수 온도가 중요하게 작용하는데, 수온이 상승하는 7월부터는 수심 4 ~ 6 m, 바람직하게는 5 m의 수온이 개다시마 양식에 적합하지 않을 정도로 상승하므로, 개다시마의 끝녹음 방지 및 성성숙을 위하여 수온이 양식에 적합한 20 ~ 30 m 에서 양식한다.
- <46> 상기 양식은 통상적으로 설계된 양식장에서 실시될 수 있으며, 상기의 양식 조건을 만족시켰을 때, 개다시마가 다년생으로 성장될 것으로 예측된다.
- <47> 본 발명은 개다시마의 생태, 생리 등의 생물학적 기초연구와 암·수배우체 분리 및 보존기술을 바탕으로 개다시마의 인공 종묘 생산 및 양식 기술을 제공함으로써, 서식지가 감소하고 있는 개다시마를 보존하고, 해조류 양식 품종을 다양화하며, 양식 방법을 보급하여 어업인의 소득증대에 기여할 수 있다. 또한, 개다시마의 대량 생산을 통해 고부가 가치성을 창출하는 의약품 및 건강식품 원료 공급원으로 활용할 수 있다.
- <48> 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- <49> **실시예 1: 본 발명에 따른 환경 조절에 의한 개다시마의 종묘 생산**
- <50> **1-1: 유주자 방출자극 실험**
- <51> 개다시마 모조로부터 유주자를 준비하기에 앞서, 효과적이고 대량으로 모조로부터 유주자를 획득하고 또한 건강

한 유주자를 확보할 수 있는 방법을 개발하기 위하여, 자극방법을 시험하여 효과적인 방법을 개발하였다.

<52> 채취한 개다시마 모조로부터 자낭반을 잘라내고, 각각 전통적인 방법인 12시간 실내음건, 30 분 햇빛건조, 채취 즉시 방출 또는 12시간 냉장음건의 4가지 방법으로 처리하였다. 다음으로, 햇빛이 직접 받는 평평한 장소에 설치된 투명 수조에 넣어 처리한 멸균 해수 또는 1 μm 필터로 여과한 여과 해수에 채취된 자낭반 부위를 넣은 다음, 천천히 막대로 저어주었다. 약 10분부터 현미경으로 유주자 움직임과 밀도를 조사하고, 현미경 100배 시야에서 약 30 개체 이상 보이고 움직임이 활발하면 건강하고 적절한 유주자로 판정하였다. 측정은 10번 반복하였다.

<53> 결과는 표 1에 나타내었다.

【표 1】

구분	12시간 실내음건	30분 햇빛건조	채취 즉시 방출	12시간 냉장음건
유주자량(100배 시야, 개)	35 ± 12	15 ± 9	20 ± 12	55 ± 18
유주자 움직임(육안 관찰)	다소 활발	다소 활발	다소 활발	매우 활발

<55> 표 1에 나타난 바와 같이, 12시간 실내음건, 30분 햇빛건조 또는 채취 즉시 방출의 방법으로 유주자 방출을 자극한 개다시마 모조에서보다 본 발명의 방법에 따른 12시간 냉장음건 처리한 모조에서 유주자 방출량이 많았으며, 유주자의 움직임 또한 매우 활발하였다. 따라서, 하기 개다시마 종묘의 인공 생산에서 유주자 방출자극 방법으로 12시간 냉장음건 방법을 사용하였다.

<56> 1-2: 개다시마 모조로부터 유주자의 준비

<57> 개다시마 종묘 생산을 위하여, 유주자를 방출하기 전의 개다시마 모조로부터 유주자를 하기와 같이 준비하였다.

<58> 모조는 개다시마의 특성인 용무늬가 선명하고, 뿌리 부분에서 하트모양이 분명한 생육 상태가 양호하고, 충분히 성숙된 것을 사용하였다. 모조로부터 자낭반 형성 부위를 잘라내고, 12시간 냉장음건(약 4℃) 방법으로 방출자극을 준 다음, 투명 수조에 넣은 다음, 햇빛이 직접 받는 평평한 장소에 설치하여 처리한 멸균 해수 또는 1μm 필터로 여과한 여과 해수에 채취된 자낭반 부위를 넣은 다음 천천히 막대로 저어주었다. 모조를 제거하고 채모틀을 수평으로 넣은 다음, 약 2시간 동안 채모하였다.

<59> 도 1에 용무늬가 있는 개다시마 모조의 사진을 나타내었고, 도 2에 자낭반이 형성된 성숙된 개다시마 모조의 사진을 나타내었으며, 도 3에 자낭반을 채취하고 유주자 방출을 유도하는 과정을 사진으로 나타내었다. 또한, 조직 절단에 의한 성숙 생식소 및 이로부터 방출된 유주자의 현미경 관찰 사진을 도 4에 나타내었다.

<60> 1-3: 유주자 생장에 적합한 배양온도 측정

<61> 본 발명의 효율적인 개다시마 종묘 생산을 위한 개다시마의 유주자가 성장하는 데 적합한 온도를 구명하기 위하여, 하기와 같이 개다시마의 유주자를 배양하였다.

<62> 상기 실시예 1-2에서 준비된 개다시마의 유주자가 현미경 100배율의 시야당 약 50개 유주자가 함유된 유주자액으로 만들었다. 유주자액 2 ml 씩을 12 cm 패트리디쉬에 부드럽게 뿌려 접종하였다. 배지는 PESI(표 2)를 사용하였고, 배양 1일째부터 현미경으로 생장 및 특성을 분석하였다. 각각 실험군 당 3개씩 5, 10, 15, 20, 25, 30℃의 온도별로 배양하였으며, 배지는 일주일 간격으로 교환하였다. 또한, 조도는 3,000 룩스(Lux), 광주기는 12시간 명조건:12시간 암조건(12L:12D)으로 하여 40일간 배양하였다. 배양 중에 현미경(100배율)로 관찰하여, 배우체 형성, 생장 상태 등을 관찰하였으며, 배양 한 달 경과 후에 아포체의 생장 길이를 측정하였다.

【표 2】

조성		함량	
(Stock solution)	모액	Na ₂ 글리세로포스페이트	1.0 g
		NaNO ₃	7.0 g
		Tris HCl	8.14 g
		Tris Base 또는 Tris	1.86 g 또는 10 g(pH 7.8)

증류수 970 ml에 녹인 후 멸균

B 비타민 혼합물	비타민 B ₁₂	1.0 mg/100 ml	20 ml, 필터 멸균	
	티아민	50 mg/100 ml		
	비오틴(biotin)	0.5 mg/100 ml		
Fe (EDTA와 1:1 몰랄 용액)	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) · 6H ₂ O	1.40 g/2000 ml	500 ml, 멸균	
	Fe ₂ (NH ₄) ₂ (SO ₄) · 24H ₂ O	2.12 g/2000 ml		
	Na ₂ EDTA	1.32 g/2000 ml		
PII 미량 금속 혼합물	붕산(H ₃ BO ₃)	2.24 g/2000 ml	500 ml, 멸균	2000 ml
	Fe(FeCl ₃) · 6H ₂ O	0.096 g/2000 ml		
	Mn(MnSO ₄)	0.24 g/2000 ml		
	Zn(ZnSO ₄) · 7H ₂ O	0.044 g/2000 ml		
	Co(CoSO ₄) · 7H ₂ O	0.0096 g/2000 ml		
	Na ₂ EDTA	2.00 g/2000 ml		
	KI (0.25 mg/ml)	10 ml		
이산화게르마늄 모액	GeO ₂	0.25 g/1000 ml	4 ml/2 l PES	

<64> 포자를 플레이트에 접종하는 과정을 도 5에, 아포체의 현미경 관찰 사진을 도 6에 나타내었으며, 온도에 따른 성장 정도는 도 7에 나타내었다.

<65> 도 6에 나타난 바와 같이, 현미경으로 관찰했을 때, 유주자는 수분에서 30분 이내에 커버글라스에 부착하여 부동포자가 되나, 일부는 약 3시간까지 움직임이 관찰되기도 하였다. 배양 1일 만에 세포질 이동을 통한 발아관이 형성하기 시작하여, 포자의 발아는 10 ~ 15°C 조건에서 배양 3일 만에 90% 이상 발아관이 형성되어 가장 빨리 나타났으며, 가장 늦은 발아 조건은 5°C로서 배양 12일 이내 모든 실험 조건에서 포자의 발아가 관찰되었다. 또한, 최초의 배우체 형성은 배양개시 6일부터 보이기 시작함과 동시에 세포분열이 일어나기 시작하였다. 암·수배우체가 구분되기 시작한 시기는 배양 12일로 암수의 비율은 6:4 정도로 암배우체의 비율이 높게 나타났다. 암·수배우체의 성장과 성숙은 온도조건이 높은 10 ~ 15°C에서 가장 먼저 성숙하여 아포체로 형성되었으며, 높은 온도조건에서도 고조도보다는 저조도 조건에서 성장과 성숙이 먼저 이루어졌다. 20°C 조건에서도 배우체가 성숙하여 아포체 단계로 진행이 되었지만, 5°C 조건에서는 암·수배우체가 성숙이 매우 느리고 아포체 단계로 진행율이 매우 낮았다. 아포체를 정치배양하여 그 성장 경향을 파악한 경우, 10 ~ 15°C 조건에서 가장 높게 나타났다.

<66> 또한, 도 7에 나타낸 바와 같이, 5°C 실험군은 유주자 발달이 느려 배우체 형성이 약 25일 경과 후에 되었으며, 한 달 후의 생장은 215 μm였다. 10°C 실험군은 한 달 후 아포체 상태로 574 μm로 성장하여 다른 실험군에 비해 가장 양호하였다. 15°C 실험군은 한 달 후 480 μm로 성장하여 10°C 실험군과 비슷하였으나, 색상 등에서 다소 활력이 떨어졌다. 20°C 실험군은 한 달 후 320 μm로 성장하였고, 25°C 실험군은 배양 17일 만에 배우체 단계에서 고사하였으며, 다른 실험군에 비하여 발생 속도도 현저히 느렸다. 또한, 30°C 실험군은 배양 7일 만에 고사하였으며, 배우체를 형성하지 못하고 세포이동 단계에 머물렀다.

<67> 따라서, 개다시마의 배우체 성장에 가장 적합한 온도는 10 °C임을 확인하였다.

<68> **1-4: 유주자 성장에 적합한 조도 측정**

<69> 본 발명의 효율적인 개다시마 종묘 생산을 위한, 개다시마의 배우체가 성장하는 데 적합한 조도를 구명하기 위하여, 하기와 같이 개다시마의 유주자를 배양하였다.

<70> 상기 실시예 1-2에서 준비된 개다시마의 유주자가 현미경 100배율 시야당 약 50개 유주자가 함유된 유주자액으로 만들었다. 유주자액 2 ml 씩을 12 cm 패트리디쉬에 부드럽게 뿌려 접종하였다. 배지는 PESI(표 2)를 사용하였고, 배양 1일째부터 현미경으로 성장 및 특성을 분석하였다. 배양온도는 실시예 1-3의 결과를 근거로 가장 적합한 온도인 10 °C로 하였고, 일 주일 간격으로 배지를 전량 교체하였다. 조도는 각각의 실험군 별로 500,

1,000, 2,000, 3,000 또는 4,000 룩스로 하여, 한 달 동안 배양하였다. 배양 한 달 경과 후에 아포체의 성장 깊이를 측정하였으며, 배양 중에 배우체 형성, 성장 상태 등을 관찰하였다.

- <71> 결과는 도 8에 나타내었다.
- <72> 도 8에 나타난 바와 같이, 500 룩스 실험군의 아포체는 155 μm , 1,000 룩스 실험군의 아포체는 450 μm , 2,000 룩스 실험군의 아포체는 578 μm , 3,000 룩스 실험군의 아포체는 369 μm 로 각각 성장하였고, 4,000 룩스 실험군은 고사하였다. 따라서, 개다시마의 유주자가 성장을 위한 가장 적합한 조도는 2,000 룩스인 것을 확인하였다.

1-5: 개다시마 종묘의 생산

- <74> 개다시마의 종묘를 생산하기 위하여, 상기 실시예 1-3 및 1-4의 결과를 근거로, 하기와 같이 채묘틀을 이용하여 유주자를 배우체, 아포체를 거쳐 종묘까지 배양하였다.
- <75> 온도는 10 ~ 13℃, 조도는 약 2,000 룩스로 하였고, PESI 배지를 해수 1ℓ 당 20 ml씩 첨가하였으며, 환수는 일주일에 한 번씩 전량 실시하였다. 채묘틀은 18합사 구라론사를 사용하였고, 톤당 10개의 채묘틀을 40일 동안 배양하였다.
- <76> 배양 결과, 배양 약 10일에 배우체가 형성되었고, 20일 뒤에 약 400 μm 의 아포체가 형성되었으며, 한 달 뒤에 1 ~ 2 cm의 종묘를 얻었다. 또한, 배우체를 정치배양하는 경우, 종묘가 5 ~ 10 cm 에서 생장이 서서히 둔화하기 시작하기 하였고, 실내배양에서는 전체적으로 고조도 보다는 저조도 조건에서 초기 생장이 활발하였고, 성장 단계에 따라 다양한 온도 조건을 필요로 한다는 것을 알 수 있었다.
- <77> 도 9에 유리배양된 종묘의 사진을 나타내었고, 도 10에 채묘틀을 이용하여 인공 생산된 종묘의 사진을 나타내었으며, 도 11에는 미역, 다시마, 톳, 모자반 등의 바위에만 붙어 살던 생물을 밧줄에 붙어 살 수 있도록 수면 아래의 일정한 깊이에 설치한 밧줄인 어미줄(친승)에 이식된 종묘의 사진을 나타내었다. 친승에는 실내 수조에서 배양한 종묘가 붙어 있는 실, 즉 씨줄을 감아붙이거나 또는 씨줄을 짧게 끊어 일정한 간격으로 친승에 끼워서 씩이 자라도록 한다. 친승에는 5 ~ 6 m 간격으로 뜬을 달며, 뜬과 밧줄 사이는 뜬줄로 연결시키고, 뜬줄의 길이로 친승 잠기는 깊이를 조절한다.

실시예 2: 개다시마의 실내 양식 시험

- <79> 개다시마 종묘의 양식 조건을 구명하기 위하여, 상기 실시예 1-5에서 생산된 종사 형태의 종묘를 이용하여 개다시마의 대량 생산을 위한 양식 시험을 하였다.
- <80> 배양된 종묘(5.7 ± 2.5 mm)를 미리 제작한 길이 5 m의 수하연에 35 ± 8.9 개체/10 cm^2 로 이식하여 수심별(5, 10, 20, 30 m)로 양식하였다. 배양 시작 후 6개월 경과했을 때의 종묘의 엽장, 엽폭, 중량을 측정하여 성장 정도를 알아보았고, 서식 밀도를 측정하였다.
- <81> 개다시마 종묘의 실내 적응 시험 및 30 m 에서 성장 시험 과정을 도 12에 나타내었고, 성장 정도를 측정한 결과는 표 3 및 도 13에 나타내었다.

【표 3】

<82> 수심에 따른 개다시마의 서식밀도

구분	서식밀도(개체/10 cm^2)			
	5	10	20	50
양성 시작	35 ± 8.9	35 ± 8.9	35 ± 8.9	35 ± 8.9
6개월 경과 후	12.4 ± 3.7	9.1 ± 4.5	8.1 ± 3.6	5.6 ± 4.7

- <83> 표 1 및 도 13에 나타난 바와 같이, 수심 5 m 에서는 엽장 120.4 ± 21.5 cm, 엽폭 20.5±6.5 cm, 중량 54.7 ± 5.1 g으로 성장하였고, 서식밀도는 12.4 ± 3.7 개체/ cm^2 로 성장하였으며, 수심 10 m 에서는 엽장 115.4 ± 25.9 cm, 엽폭 18.6 ± 7.6 cm, 중량 50.9 ± 7.9 g 및 서식밀도 9.1 ± 4.5 개체/ cm^2 로 성장하였고, 수심 20 m 에서는 엽장 116 ± 20.8 cm, 엽폭 17.5 ± 6.5 cm, 중량 49.2 ± 11.9 g 및 서식밀도 8.1 ± 3.6 개체/ cm^2 로 성장하였다. 또한, 수심 30 m 에서는 엽장 109 ± 319.5 mm, 엽폭 19.6 ± 7.5 cm, 중량 53.8 ± 6.9 g 및 서식밀도 5.6 ± 4.7 개체/ cm^2 로 성장하였다.

- <84> 따라서, 수심 5 m 에서의 생장과 서식밀도가 가장 양호한 것으로 나타났다. 종묘 크기에서 양성을 시작할 때, 수심 5 m가 가장 적합한 환경이고, 고수온기인 7월부터는 반드시 수심 20 ~ 30 m로 양성해야 다년생으로 성장될 것으로 예상되었다.
- <85> **실시예 3: 개다시마의 양식**
- <86> 상기 실시예 1 및 실시예 2의 결과를 근거로, 하기와 같이 개다시마를 양식하였다.
- <87> 우선, 개다시마를 양식하기 위한 양식장을 시설하였다. 동해 바다의 특성을 고려하여 앵카(anchor)는 사각 콘 크리트 2톤×3개를 각각 하나씩 만들어, 이 두 뭉치를 결합하여 앵카를 만들었다. 앵카줄은 PE 로프 32 mm를 사용하고, 간승줄은 PE로프 30 mm를 사용하였다. 간승줄 간격은 40 m 이상의 간격을 두어야하고, 주 부자(buoy)는 PVC 지름 520 mm, 보조부자는 PVC 지름 330 mm를 사용하였다. 종묘가 부착된 채묘틀인 종사는 수하연(지름 18 mm)에 두겹 또는 한겹으로 감아서 약 5 m 길이의 수하연을 제작하여 3 ~ 4 m 간격으로 양식하였다. 양식시에는 밑부분에 앵카(추)를 매달아 항상 밑으로 향하게 하였다. 6월까지의 수심 5 m 에서, 7월 이후에는 수심 20 ~ 30 m 에서 양식하였으며, 그 외에 숙음, 보식 및 병충해 대책 등의 다시마 양식에 필요한 과정들은 통상의 방법에 따라 수행하였다.
- <88> 개다시마의 양식 과정을 도 14에, 양식장 설계도를 도 15에 나타내었다.

발명의 효과

- <89> 본 발명의 개다시마의 인공 종묘 생산 방법은 조직절단으로 성숙이 완숙단계로 판정된 개다시마 모종으로부터 포자를 채집하여 종사, 종묘를 배양하는 방법으로, 포자를 생장에 적합한 온도 및 조도에서 배양함으로써 포자의 아포체 생성 활성을 높여 결과적으로 종묘의 인공 생산을 가능하게 한다. 또한, 인공 생산된 종묘를 개다시마의 대량 양식에 이용하여, 서식지에서 점차 감소되어 멸종위기의 개다시마 군락지를 복원하고, 해조류 양식 품종을 다양화하며, 양식 기술을 보급하여 어업인의 소득증대에 기여할 수 있다. 또한, 개다시마의 대량 생산을 통해 고부가 가치성을 창출하는 의약품 및 건강식품 원료 공급원으로 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- <1> 도 1은 용무늬가 뚜렷한 개다시마의 사진을 나타낸 도이다.
- <2> 도 2는 자낭반이 형성된 성숙된 개다시마 모조의 사진을 나타낸 도이다.
- <3> 도 3은 개다시마 모조로부터 자낭반을 채취하고, 이들로부터 유주자를 방출시키는 사진을 나타낸 도이다.
- <4> 도 4는 개다시마 모조의 성숙된 생식소와 세포 분열하는 유주자의 현미경 사진을 나타낸 도이다.
- <5> 도 5는 유주자를 플레이트에서 배양하는 과정을 나타낸 도이다.
- <6> 도 6은 아포체의 현미경 관찰 사진을 나타낸 도이다.
- <7> 도 7은 온도에 따른 개다시마 유주자의 생장을 나타낸 도이다.
- <8> 도 8은 조도에 따른 개다시마 유주자의 생장을 나타낸 도이다.
- <9> 도 9는 유리배양으로 생산된 종묘의 사진을 나타낸 도이다.
- <10> 도 10은 인공 종묘 생산된 개다시마(채묘줄에 부착된 종묘, 종사)의 사진을 나타낸 도이다.
- <11> 도 11은 우량 모조 생산을 위한 친승이식된 종묘의 사진을 나타낸 도이다.
- <12> 도 12는 개다시마 종묘의 실내적응시험 및 수심 30 m 에서 생장 시험 과정을 나타낸 도이다.
- <13> 도 13은 수심에 따른 개다시마 생장을 나타낸 도이다.
- <14> 도 14는 개다시마의 양식 과정을 나타낸 도이다.
- <15> 도 15는 개다시마 양식장 시설도를 나타낸 도이다.

도면

도면1



용무늬가 특징인 개다시마

도면2



자낭반 형성

성숙된 개다시마 모조

도면3

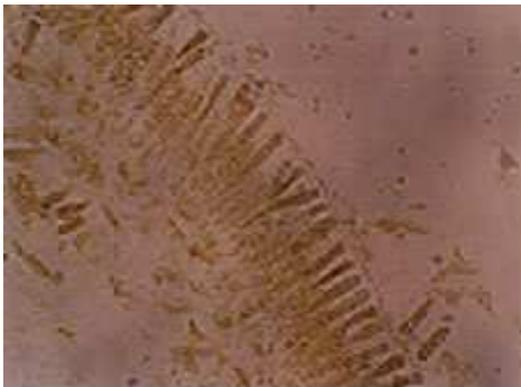


자낭반 채취



유주자 방출 유도

도면4



조직절단에 의한 성숙 생식소



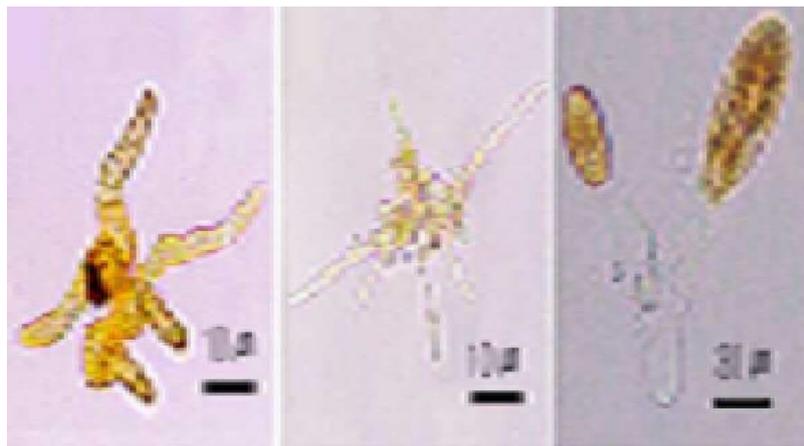
유주자 및 세포분열

도면5

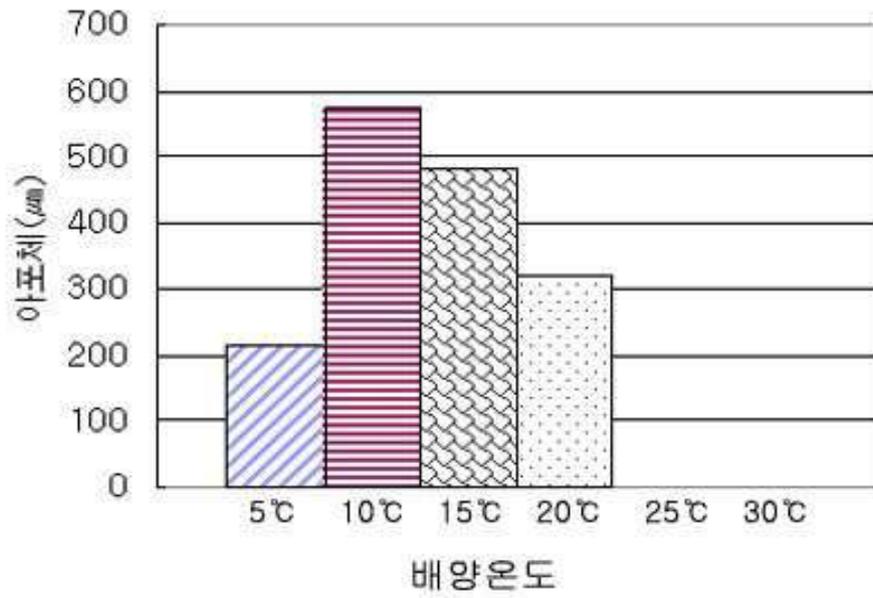


유주자의 배양

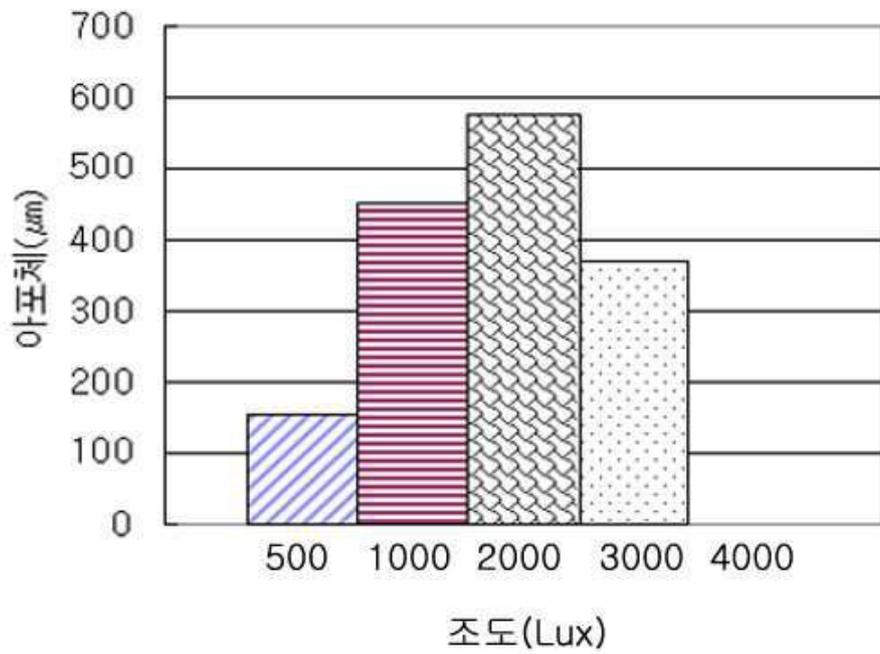
도면6



도면7



도면8



도면9



배양



종묘

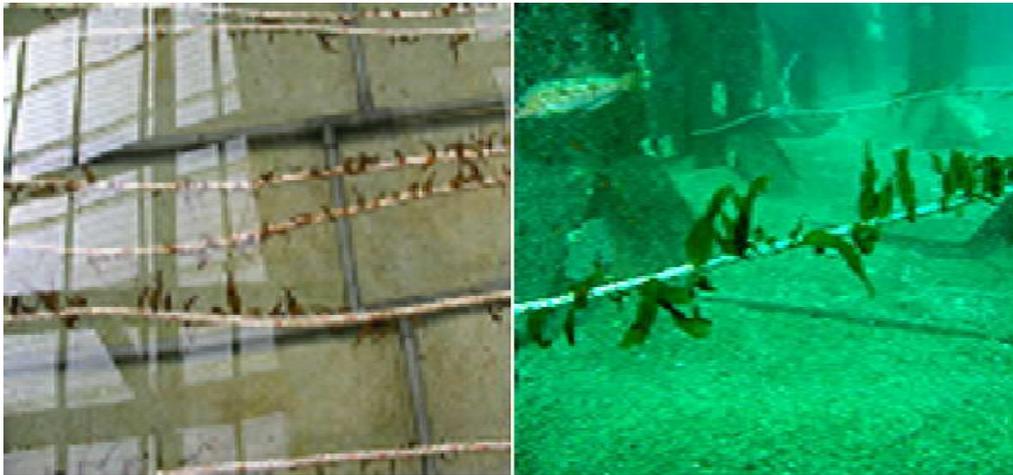
도면10



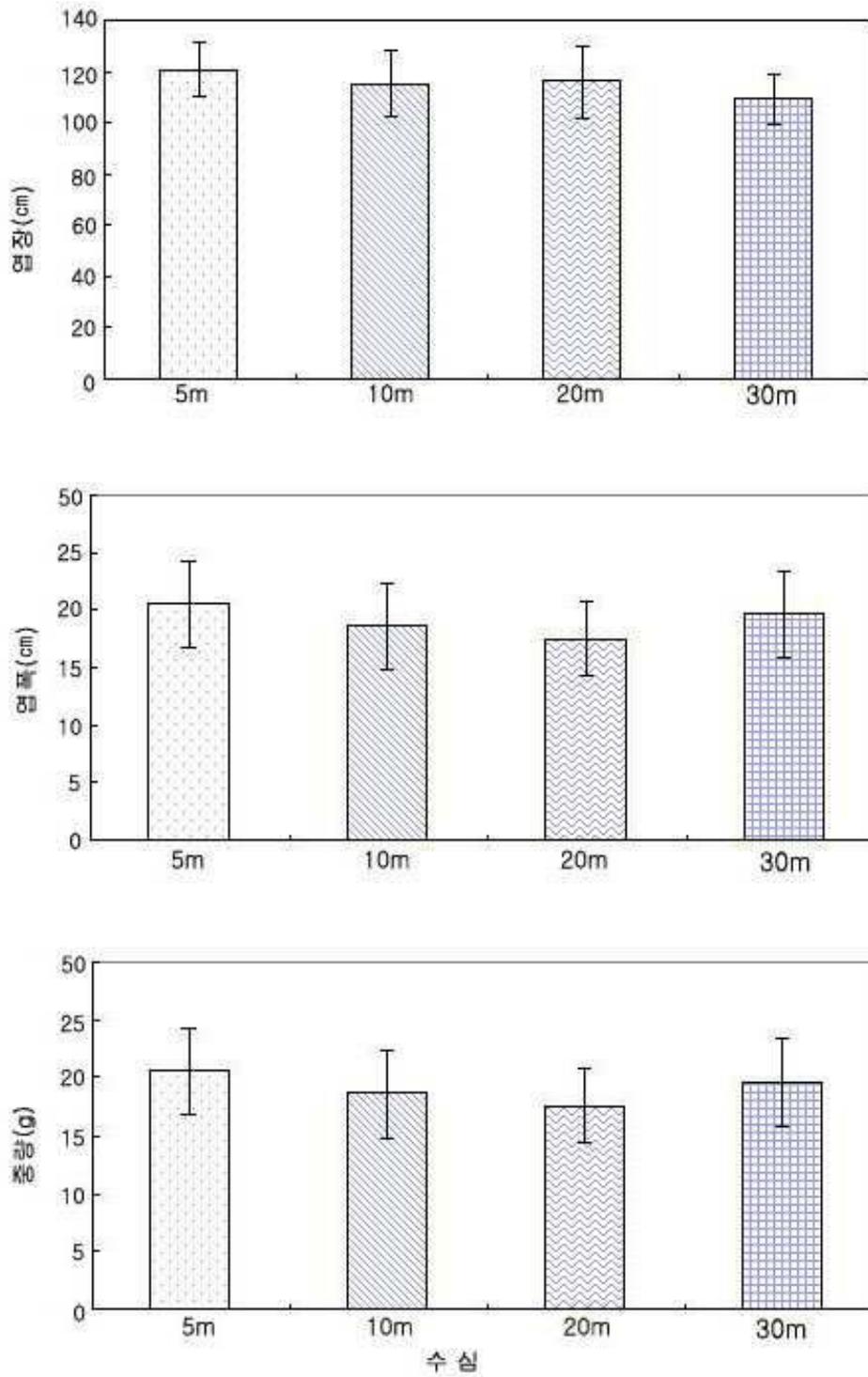
도면11



도면12



도면13



도면14



종사



수하연 제작



개다시마의 양식

도면15

