

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(○), 비공개()발간등록번호(○)

Golden Seed 프로젝트사업 2단계 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003961-01

붉바리 우량종자 개발과 국내외 산업화

2022. 03. 25.

프로젝트연구기관 / 제주대학교

세부프로젝트연구기관 / 제주대학교

세부프로젝트연구기관 / 어업회사법인 씨알 주식회사

농림축산식품부·해양수산부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부·해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “Golden Seed 프로젝트 사업(기간 : 2017. 1. 1 ~ 2021. 12. 31)북바리 우량
종자 개발과 국내외 산업화” 프로젝트의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 03. 25.

프로젝트연구기관명 : 제주대학교

(대표자) 이 영 돈

(인)

세부프로젝트연구기관명 : 제주대학교

(대표자) 이 영 돈

(인)

세부프로젝트연구기관명 : 어업회사법인 씨알 주식회사 (대표자) 이 치 훈

(인)

참여기관명 : 창조수산

(대표자) 강 성 중

(인)

참여기관명 : 오대양 영어조합법인

(대표자) 김 지 택

(인)

참여기관명 : 어업회사법인 씨알 주식회사 (대표자) 이 치 훈

(인)

참여기관명 : (주)씨랩코리아

(대표자) 장주호박세홍

(인)

프로젝트연구책임자 : 이 영 돈

세부프로젝트연구책임자 : 이 영 돈, 이 치 훈

참여기관책임자 : 강 성 중, 김 지 택

이 치 훈, 장 주 호

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	213008-05 5-CG500	해당단계 연구기간	2017.01.01. ~2021.12.31.	단계구분	2단계/ 2단계
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP수산종자사업단			
프로젝트명	프로젝트명	북바리 우량종자 개발과 국내외 산업화			
	세부프로젝트명	북바리 우량종자 개발과 국내외 산업화 우량종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화			
프로젝트책임자	이영돈	해당 단계 참여연구원 수	총: 157 명 내부: 119 명 외부: 38 명	해당 단계 연구개발비	정부: 3,047,000 천원 민간: 1,015,742천원 계 4,062,742천원
		총연구기간 참여연구원 수	총: 157 명 내부: 119 명 외부: 38 명	총 연구개발비	정부: 3,047,000 천원 민간: 1,015,742천원 계 4,062,742천원
연구기관명 및 소속부서명	제주대학교			참여기업명 창조수산, 오대양 영어조합법인, 어업회사법인 씨알 주식회사 (주)씨랩코리아	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 부경대학교 청솔수산 (주)뉴월드아쿠아			연구책임자: 백혜자 윤낙진 정민환	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시 설·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	2380-2 359	10-206 4039	11-1192 000-000 829-01							제40- 15011 40	
	1365-2 109	10-193 1998								제40- 15011 41	
	0976-0 555	10-205 456								제40- 15011 42	
	1365-2 109	10-201 8-0121 242								제40- 15011 43	
	2234-1 757	10-201 9-0137 804								제40- 15011 45	
	2234-1 757	10-201 9-0138 040								제40- 15453 45	
	2465-9 525	10-202 0-0149 033								제40- 15453 46	
	2465-9 525	10-202 0-0149 032								제40- 15453 47	
	2155-9 546	10-202 0-0149 829								제40- 15453 48	
	2465-9 525	10-202 1-0147 660								제40- 15453 49	
	2508-7 134	10-202 1-0147 661								제40- 15453 10	
	2465-9 525	10-202 1-0152 832								제40- 2021- 02624 11	
	2465-9 525	10-234 5243									
	0374-8 111	10-202 1-0193 076									
	1229-7 569	10-202 1-0191 357									

국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비 명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

- 불바리 우량 종자 개발 및 국내외 산업화
 - ☞ 친어자원 최적 사육 관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산
 - ☞ 불바리 종자 상품성 검증
- 불바리 우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화
 - ☞ 불바리 우량 종자 대량 생산 및 국내외 판매
 - ☞ 불바리 종자 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹 및 수출국 현지 생산 기반 구축

<요약문>

연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> - 붉바리 우량 종자 개발 및 국내외 산업화 <ul style="list-style-type: none"> • 친어자원 최적 사육 관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산 • 붉바리 종자 상품성 검증 - 붉바리 우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 우량 종자 대량 생산 및 국내외 판매 • 붉바리 종자 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹 및 수출국 현지 생산 기반 구축 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> - 붉바리 육종 친어 관리 및 수정란 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 수출용 육종 종자 생산을 위한 세대별(F0,F1,F2) 친어 확보 및 관리 • 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 친어 상시 성 성숙 유도 • 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 건강 수정란 상시 대량 생산 - 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 세대별 종자(F1, F2, F3) 대량 생산 • 수출시장 환경 내성 및 적응 생리 특성 탐색 • 붉바리 체색 관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달 • 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술 개발 - 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹 (말레이시아, 싱가포르, 홍콩 등) - 붉바리 종자 국내외 판매 (해외판매 152만\$, 국내판매 370백만원) - 수출국 현지 생산 기반 구축 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 페낭 지역 독립법인 설립 운영 (현지 선호 바리류 생산 및 판매) 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> - 안정적 상시 수정란 생산을 위한 사육 환경에 적응하는 생리적 이용기술 정보 활용 - 수출용 육종 종자 생산을 위한 선발 어미 확보 및 후세대 번식제어 - 최적화된 바리과 친어 관리 시스템 구축 및 운영을 통한 선발 육종 - 붉바리 전장 유전체 정보를 바탕으로 성장, 수온, 체색 등 관련유전자 선발 육종을 통한 친어 관리 및 종자 생산 				
국문핵심어 (5개 이내)	붉바리 육종 친어	육종 붉바리 종자	연중 수정란 생산	종자 대량 생산	육종 프로그램
영문핵심어 (5개 이내)					

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

제1장 연구개발과제의 개요	1
제1절 연구 개발 목적	1
제2절 연구 개발의 필요성	2
제3절 연구 개발 범위	9
제2장 연구수행 내용 및 결과	13
제1절 연구 개발 추진 전략 및 방법	13
제2절 연구 개발 추진 체계	16
제3절 연구 개발 추진 일정	17
제4절 연구 수행 결과	19
제5절 연구 개발 성과	225
제3장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	234
제1절 목표	234
제2절 목표 달성 여부	235
제3절 목표 미달성 시 원인 및 차후대책	236
제4절 연구 결과의 활용 계획 등	236
붙임. 참고 문헌	238

<별첨 1> 연구개발보고서 초록 및 자체평가보고서

<별첨 2> 연구성과 활용계획서

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발 목적



■ 본 연구개발의 최종목표는 수출용 붉바리 종자 개발과 300만불 수출 달성을 위해 붉바리 번식육종 기술 이용 및 상용화와 유전자 진단이용 우수형질 품종개발, 수출 시스템 활용 및 마케팅 강화, 우량 종자 생산 상용화 및 매출 증대임.

■ 본 연구사업의 연구개발 목표 달성 전략은

- 친어 관리 및 번식 유전 육종 기술 활용
- 참여 기업 붉바리 양식 기술 상용화 및 전문 종자 기업 육성
- 우량 종자 대량 생산 기술 개발
- 우량 종자 수출 시장 확보 및 수출 증대임.

■ 본 연구사업의 주요 연구내용은

1) 붉바리 우량 종자 개발과 국내외 산업화 관련 기술 확보

- 친어 자원 최적 사육 관리 기술 개발

- 건강 수정란 대량 생산
- 수정란의 난질 특성과 종자 형질 모니터링
- 사육 환경 요소에 대한 치어의 적응 생리 특성 조사
- 수출 시장 대응 목적 형질 발현 기술 개발

2) 우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화

- 종자 대량 생산 및 관리
- 국내외 판매망 확보 및 종자 판매
- 수출국 현지 생산 기반 구축임.

제2절 연구개발의 필요성

1. 연구의 개요

본 연구사업의 비전은 미래수산업의 환경 변화에 따라 새롭게 전개되는 글로벌 종자 시장 선점을 위한 붉바리 종자 육성 사업과 이를 통한 수산 종자 입지 강국임. 이를 완성하기 위한 중점 사업은 국내외 붉바리 홍보 마케팅을 통한 300만불 수출 달성, 붉바리 글로벌 시장 개척 종자 개발과 참여기업지원과 육성, 전문인력 양성 및 고용창출 제고임.

이와 같은 사업비전을 달성하기 위하여

붉바리 종자의 안정적 생산과 육종기술 개발 및 인적·물적 구성 요소의 내부역량을 강화하여 붉바리 수산종묘의 육종연구기반이 세계적인 경쟁력을 갖추는데 기여하는 것임.

본 사업의 추진전략은

수익 창출을 추구하는 생산 및 유진육종 연구개발을 통하여 수출용 붉바리 종자사업 전반의 연구성과를 상용화 시키고, 지속적인 육종품종의 상용화 적용 시스템 개발과 생산성 평가 홍보를 활용한 국내외 판매망 확보하고 국제간 지식서비스 채널 구축을 통한 수출국 현지 생산기반 지원으로 수익을 창출 하는데 있음.

본 사업의 연구성과 상용화 육성 강화 방안으로

- 붉바리 번식육종 품종개발에 의한 브랜드 차별화를 구현하고
- 붉바리 글로벌 시장 수출 종자 개발 연구성과 홍보를 위하여 관련 학회 발표 및 박람회 참가와 방송·언론매체의 적극적인 활용 기회를 발굴함.

- 참여인력의 연구 역량 강화로 선진 양식산업 전문성을 제고함.
- 참여기업의 불바리 양식 기술 향상과 국제 인증 기준 사양 관리 적용
- 불바리 종자 300만불 수출 달성에 주력함

본 사업의 수익창출을 위한 주요 연구개발과 활용은

- 불바리 우량 수출종자 수출 경쟁력 확보 전략 수립 및 적용
- 참여기업의 불바리 수정란, 종자생산 상용화 및 수출기반 활성화
- 수출용 불바리 현지 생산성 향상 기술 협력
- 불바리 어미자원 관리 및 적응생리 이용 기술개발 및 적용
- 불바리 상시 수정란 생산, 수출용 종자 대량생산 기술개발 및 적용

2. 국내외 관련 분야 환경 변화

가. 국내 시장 현황

- 국내 바리과 양식 생산량은 2019년 기준 약 145톤이며 생산금액은 41.5억임.
 - 바리과 어류는 다른 양식어종보다 종자생산에 대한 수익성이 높음
 - 수정란의 가격은 1,000cc(약 200백만립)에 1,000만원
 - 5~6cm 종자 가격은 마리당 2~3천원, 10cm의 경우 4~5천원으로 가격이 책정되고 있음
- 그러나 안정적 수정란 확보 문제와 종자생산의 어려움, 그리고 한정된 시장규모로 인해 바리과 어류의 종자생산 상용화에 애로사항 임
- 현재 불바리를 비롯한 능성어와 자바리의 인공종자생산이 이루어지고 있으나, 사양관리 기술과 시스템 문제로 상용화 생산에 경제성이 요구 됨
- 2020년 현재 바리류 종자 국내 시장의 규모는 입식량 기준으로 725,000마리 수준임. 바리류 국내 생산량은 어획과 양식 생산량을 합해 약 140톤 정도 생산 되고 있으며, 현재까지는 고단가의 소비시장 구조이므로 생산량 확대에 따른 적정가격이 이루어진다면 소비시장의 확대는 가능한 것으로 판단됨

< 바리과 어류 국내 생산 동향 >

구 분		2017	2018	2019	2020
양식	어가수	83	60	40	54
	입식량	295,000	483,000	804,000	725,000
	생산량(톤)	443	292	145	79
	생산금액(억원)	98.8	75.8	41.5	23.8
어획	생산량(톤)	90	54	50	60
	생산금액(억원)	23.9	14.4	15.5	18.4
총계(양식+어획)	생산량(톤)	533	346	195	139
	생산금액(억원)	122.7	90.2	57.0	42.2

자료출처 : 통계청(2021)

나. 국외 시장 현황

- 세계적으로 바리과 어류(Grouper 품종)에 대한 수요 및 소비가 증가하고 있지만 바리류 품종은 아열대에서 최적의 성장을 이룰 수 있어 아열대 양식 환경을 갖춘 국가들에 의해 주로 양식이 이루어지고 있음
- 바리과 어류는 아시아-태평양 지역에서 가장 선호되는 고가의 수산물로서 2006년 이후 수요가 증가하고 있음
- 현재 무분별한 어획으로 성숙가능 단계로 성장한 바리과 어류의 개체수가 줄어들고 있어 양식 시장 전망이 매우 밝은 품목임
- 어업과 양식 생산을 포함하여 전 세계 바리과 어류 총생산량은 2013~2019년 동안 생산량은 평균 약15% 정도 증가하다 2018년 부터 감소함. 2019년 총생산량 약 58만톤 중 양식 생산량은 약 23만톤으로 약 40%에 해당됨

< 세계 바리과 어류 생산 현황 >

단위: 톤/ US1000\$

구분	2014년	2015년	2016년	2017년	2018년	2019년
양식생산량	135,304	150,302	148,856	233,677	209,351	234,828
어획생산량	302,974	373,186	380,849	406,597	371,364	340,975
총 생산량	438,278	523,488	529,705	640,274	580,715	575,803
양식생산금액	733,251	713,873	597,796	1,077,854	762,973	820,795

*자료 : FAO, Fisheries and Aquaculture information and Statistics Branch(2021)

- 세계 바리과 양식 생산은 1970년도에 홍콩에서 Hongkong Grouper, Greasy Grouper 양식이 처음 시도되었고 2000년대 들어 급증하여 2017년에는 전 세계 바리과 양식 생산 금액은 약 10억달러를 돌파하였고 2019년 기준 약 8억 달러 수준임.
- 주요 바리과 양식 생산 국가로는 중국이 2019년 기준 전체 양식 생산량중 약 78%(183,127톤)을 차지하고 있으며 이외 대만, 인도네시아, 말레이시아, 태국 등에서 생산되고 있음
- 아시아 태평양 지역에서 생산되는 활 바리과 어류의 60%가 홍콩시장으로 거래되며, 이 중 50% 이상이 중국에 재수출되고 있음. 현재 홍콩시장 바리과 소매가격은 Kg당 최저 17,000원 ~ 최고 150,000원으로 어종별로 편차가 있으며 거래되는 바리과 어종 중 평균 단가가 가장 높은 어종은 붉바리임
- 최근 중국의 경제성장으로 인하여 중국 지역의 어류 소비량이 1960년 이래로 매년 평균 5.7% 수준으로 지속해서 증가하고 있고 이에 따라 바리과 어류의 수요량은 중국의 경제 상황과 함께 증가세가 지속 되고 있는 상황임

다. 국내 기술 동향

○ 양식 상용화 적정사육시스템 기술개발 미흡

- 수정란생산 및 성 성숙유도, 성전환 유도에 관한 연구는 수행되고 있지만, 양식 상용화 적정 사육시스템 기술개발이 미흡한 실정임.

○ 바리과 어류의 번식생리에 관한 연구는 본 연구진이 1993년도부터 지속적으로 시도 되었고, 최근에 정부의 GSP사업으로 붉바리, 자바리, 능성어 등 바리과 어류에 대한 상용화 기술 연가가 진행되고 있음.

○ 자치어의 성장과정에서 발달장애 개체의 출현비율 저감을 위한 적응생리이용 기술에 대한 연구가 진행 중.

○ 유전자원 기초 및 안정성 연구는 2012년 최고 기술 보유국 대비 기술 수준은 37.1%, 기술 격차는 7년으로 가장 낮은 수준에서 붉바리 GSP사업을 수행하면서 붉바리전장 유전체해독 등 최고 기술보유국에 90%로 기술격차가 거의 없는 수준에 달함.

○ 붉바리GSP 사업전 전체 기술수준은 최고 기술 보유국 대비 47.1%로 기술격차는 5년 정도, 종자생산 기술은 최고 기술 보유국 대비 기술수준 69.6%로 기술격차는 4년 정도였으나, 붉바리 GSP사업을 수행하면서 붉바리 최초 1년어 puberty유도, 사육환경에 적응하는 성숙관련 인자 특성분석, 상시수정란 생산, F0, F1, F2, 가계유지, 친자확인 시스템 구축 등 최고 기술국 수준에 근접한 상태에 달함.

○ 붉바리 GSP 사업전 분자유종을 통해 개발된 마커를 적용한 양식 연구와 적용사례가 없는 상태였으나, 붉바리GSP사업을 수행하면서 본 연구팀은 성장관련 분자마커를 탐색 중에 있음.

○ 국내에서 바리류 적응생리 이용과 사양관리 그리고 상용화를 위한 시스템 개발이 요구됨.

○ 아시아 시장에서 주요 수출대상 어류로 주목을 받고 있는 바리과 어류 중 수요가 높은 붉바리에 대한 상용화 사육시스템개발 및 시스템 운영 및 경영평가 등이 필요한 실정임.

라. 국외 기술 동향

○ 전 세계적으로 바리과 어류의 자원회복을 위한 연구는 일본, 중국, 대만, 필리핀 등 동남아시아 국가를 중심으로 어미 관리와 성 성숙 유도 및 종자 생산 연구 수행.

○ 일본 : 79년부터 종자 생산 기술개발에 착수, 98년 종자 생산능력 보유

- 2012년 오사카현의 환경 농립 수산 종합 연구소에서 붉바리 치어 4-5만 마리를 방류하는 수준임.

- 초기 자치어의 생존율 향상을 위해 먹이생물 탐색 및 사육환경 개발 중.

○ 대만 : 가장 선진화된 국가로 80년도 중반에 인공 종자 생산에 성공, 90년 중반에 대량양산 체제 구축, 연간 2,000만 마리 이상의 종자 생산능력 보유.

○ 중국, 인도네시아, 말레이시아: 바리류 간 교잡을 통한 잡종 종자를 선호하는 경향이 강함. 잡종 바리류는 생장이 우수하고 사육환경 적응능력이 강하여 질병에 잘 걸리지 않아서 생존율이 높으나, 생산량 증가에 따른 시장 가격이 하락하는 경향을 보임.

마. 육종분야의 국내외 기술 동향

- 양식 선진국들은 담수 및 해양 어류에 생명공학기술 접목을 통하여 자국 식량 자원 확보 기반을 강화하고 이를 통한 기술과 품종을 독점화함으로써 여타 국가들을 종속화하고 있음
 - 송어류, 차넬메기, 틸라피아, 잉어, 베스류 등 담수어종 중심으로 육종품종이 상용화 되었으며, 대표적으로 틸라피아는 기술 보유국인 영국에서 동남아시아의 육종품종을 독점 생산 중임
 - 해산어로는 대서양연어(노르웨이 Marineharvest Co.)의 육종품종이 상용화 되어, 자국 뿐만 아니라 페루에 이식하여 양식 생산 중임

- 어류의 육종기법은 선발육종, 성전환, 염색체공학(배수체, 자성·웅성발생체), 잡종(종내·종간), 형질전환 등이 있으며, 어종의 특성에 따라 적합한 육종기법이 적용되고 있음. 현재 전 세계적으로 육종 품종의 상업적 생산을 위해 선발육종, 성전환, 배수체, 잡종교배 같은 전통적인 기법이 적용되고 있으며, 육종효율을 높이기 위해 유전자표지 등 분자생물학적 기법이 개발되고 있음
 - 선발육종 : 유전적 다양성이 확보된 어종에 적용 가능하여 많은 국가에서는 자국의 주력 어종에 대한 선발육종프로그램 운영하고 있으며, 대표적인 성공사례는 노르웨이의 대서양연어임. 전통적인 통계적 기법과 분자생물학적 기법의 병행 적용을 통해 선발효과를 극대화하기 위한 노력이 진행 중임
 - 성 전 환 : 성에 따른 성장, 체색, 체형, 수명 차이가 있는 생물종을 대상으로 경제적으로 유리한 성 집단을 생산하는 것으로서, 대표적으로 틸라피아류(영국), 무지개송어(노르웨이, 미국, 캐나다), 메기류(미국) 등이 있음
 - 배 수 체 : 성숙에 따른 성장둔화, 체색, 체형 변화 등 상품성이 저하되는 생물종에 적합한 기법으로 대표적으로는 무지개송어 3배체임(노르웨이, 캐나다, 미국 등)
 - 잡 종 : 종간 또는 계통간 교배를 통해 잡종강세(heterosis) 형질을 획득하는 육종 기법으로서, 생존력, 성장률, 생식력, 성비 등 생산성 관련 형질의 향상에 기여함. 대표적으로는 베스류임(미국)
 - 형질전환 : 동종 또는 이종의 재조합유전자 이식을 통해 목적 형질의 도입을 극대화하는 기법으로서, 국가간 개발 경쟁이 치열함. 대표적으로는 대서양연어임(캐나다). 유전자변형어류(LMO 또는 GMO)의 생산기술 확보에 많은 노력을 기울이고 있지만 현재 안정성 문제로 인해 상업적 적용에 어려움이 있음
 - 분자육종: 참조집단을 활용한 분자 마커의 개발과 이를 적용한 형질 개량과 고정, 균질화를 통해 단시간 내에 고부가가치 동물을 생산하는 기술로 가축개량에 본격적으로 적용되고 있음. 어류의 경우 지속적인 개체관리의 문제와 환경요인 통제의 어려움으로 인해 세계적으로도 제브라피쉬 등 모델동물을 이용한 시험분석 단계이며, 아직까지 성공적인 상용화 사례는 희박함.

3. 연구의 필요성

가. 우량종자 수출

- 우량종자 수출경쟁력 확보 전략수립
- 수출산업으로 육성하기 위한 목적 시장 선정 및 시장진출
- 글로벌 경쟁력의 지속화를 위한 기업의 홍보 마케팅 인프라 구축과 지원
- 연구 성과물에 대한 홍보를 수출 판매 전략으로의 활용

나. 친어자원 관리 및 상시 건강 수정란 생산

- 종자개량 프로그램 운용에 적합한 친어집단 확보 및 안정적 관리
- 안정적 수정란 생산을 위한 사육환경에 적응하는 생리적 이용기술 정보 활용
 - 양식 산업에서 인위적인 Puberty 조절은 계획적이고 안정적인 종자생산을 하기 위해 경제적이다 (Puberty는 미숙한 개체가 생식능력을 획득하고 생후 처음으로 기능적인 배우자를 출산하여 성숙에 이르는 단계를 뜻함)
 - 바리과 어류의 성특성은 성숙에 이르기까지 장기간이 소요되는 어종으로 어린 개체의 성숙을 인위적으로 조절할 수 있는 기술 실용화를 통해 성숙연령의 단축으로 육종 평가의 효율성 제고에 기대

다. 붉바리 우량종자 개발

- 붉바리는 상업적으로 생산 할 수 있는 완전 양식 시스템 운영을 통한 건강한 우량종자 생산비율 확대
- 해외 수출용 붉바리는 현지 환경에 적합한 육종종자의 형질발현을 최대화 하는 사육환경 관리 기술체계 개발도 요구됨

라. 유전육종 프로그램 개발

- 양질의 수정란 생산이 가능한 어미자원의 확보와 안정적인 수정란 생산기술, 건강 종자 사양관리 및 최적화 생산 시스템 구축이 요구됨
- 바리과 어류의 종 특이적 번식특성으로 단기적인 번식육종연구는 실용화기반 구축에 많은 애로사항이 있음.
 - 종자개량 프로그램 운용에 적합한 친어집단 확보 및 안정적 관리
 - 안정적 수정란 생산을 위한 번식 제어기술 확보
 - 붉바리의 저성장 개선을 위하여 종자개량 기술을 통한 속 성장 우량품종 개발이 요구됨
 - 종자개발 기술이 초기 경쟁시장이므로 집중 투자 시 시장선점효과가 높음
 - 유전자 Pool에 대한 지적재산권 확보를 위하여 원산지 추적 시스템기술개발과 유전자원 관리를 위한 혈통 및 품종관리 체계 구축이 요구됨

- 우리나라에 서식하는 붉바리는 제주와 남해안 일부 해역에서 주로 서식하고 자연산 개체의 대량 확보가 여의치 않아 유전적 다양성이 낮을 것으로 예상됨. 따라서 기존의 전통적인 선발육종기법의 적용이 어려워 유전자표지를 이용한 개체선발에 적합한 어종임. 또한 국내외 계통을 활용하여 잡종강세를 이용한 종내 계통간 교잡육종기법의 도입이 필요함
- 우수 표현형을 보유한 개체를 종자로 활용하는 전통적인 육종 방식은 특별한 전문지식이 없어도 쉽게 접근할 수 있는 장점이 있으나, 유전자의 상호작용이나 환경적 요인에 의해 그 효과가 감소기도 하고, 일부 형질은 후대에서 발견되지 않기도 함
- DNA 대량분석 기법의 발달과 양적유전좌위 탐색기술의 성과들은 대부분의 동물에서 중요한 경제형질인 성장과 체중 등을 개량할 수 있는 유전적 배경이 밝혀지고 있음
- 분자유전학 정보를 이용한 동물 생산은 잠재적 우량형질 보유 개체의 조기선발, 우수형질 유전자형 조합을 통한 균질화, 불량형질 유전자의 조기 제거를 통한 불량개체의 생산량 제어 등, 유전집단에서 형질발현의 정확도 향상, 시간 단축을 통한 고품질화와 균질성 확보를 동시에 추진할 수 있음
- 붉바리에 대한 유전체 정보가 전무한 현 시점에서 본 연구진이 최초로 붉바리 전장 유전체 및 전사체 해독을 통해 국제적 시장 잠재력이 큰 붉바리 유전체의 정보에 대한 선점과 중요 경제형질, 유전질환에 대한 원인 유전자 탐색결과는 붉바리 산업화와 관련된 유전자진단 원천기술과 국제 산업재산권의 독점권 확보가 가능한 분야임
- 원산지 추적과 품종에 대한 사전, 사후 인증을 위한 방식으로 DNA 검사방법은 현재 유럽을 포함한 세계적인 보편적 기술로 정착하고 있어, 개발품종에 대한 관리와 수출증서에 대한 신뢰도 제고를 위해 DNA 기반 인증기술의 활용이 필요함
- 붉바리는 세계적으로 상업적 수준의 안정적인 인공종자생산이 이루어지고 있으나, 유전육종 인프라 및 육종품종 생산기술은 매우 초기 단계임. 따라서 국내 연구진이 다른 어종을 대상으로 이미 확보한 관련 육종기법의 응용 적용을 통해 수출전략형 육종품종의 생산이 가능하며, 이를 위해 전통적인 기법과 최신 기법의 병행 개발 및 조합 적용을 통해 세계적으로 고부가 어류인 바리과의 시장 및 육종품종 브랜드 선점을 위한 노력이 필요함.

제3절 연구개발 범위

구분	연도	연구개발의 범위	연구개발의 세부 범위
1차년도	2017		<ul style="list-style-type: none"> - 종자 수출 10만달러 달성 - 건강 수정란 생산 및 난질과 난자 미토콘드리아의 상관 분석 - 친환경 생산 관리 시스템 개발(Global G.A.P 단계별 적용) - 환경내성 및 적응 등 생리 특성 탐색 - 난의 건강도 및 난질향상 기법 개발 - 계통간 교배어군의 사육 특성 검증 - 성장, 수온에 대한 모계 유전 마커 개발 - 성장, 수온, 기형, 체색 관련 유전자 표지 개발 - 국제 협력 공동 네트워크 강화 - 제품생산력 강화를 위한 참여기업 애로기술 지원(기형발생율 저감 60~50% → 50~40%)
2차년도	2018	<p>1. 붉바리 육종 친어관리</p> <p>2. 붉바리 건강 수정란 대량 생산</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 친어 최적 사육관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 수출용 육종 종자 생산을 위한 세대별(F1, F2, F3) 친어 확보 • 상시 건강 수정란 생산 공급 - 수정란의 난질 특성과 종자 형질 모니터링 <ul style="list-style-type: none"> • 난질 향상 기법 개발 • 우량 종자 선별 형질 모니터링 - 수출 시장 대응 목적 형질 발현 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 해외 시장 환경 내성 및 적응 생리 특징 탐색 • 체색(붉은색)관련 원인 유전자 탐색 및 잡종 강세 가능성 탐색 • 육종 효과 증대를 위한 다중 형질 적용 품종 생산 기술 개발 • 마커 기반 선발 체계 및 근친 근절 프로그램 적용 - 국내외 종자 판매 전략 수립 <ul style="list-style-type: none"> • 수출 전략 공동 네트워킹 구축 • 수출 시장 확대를 위한 공동 마케팅 추진 • 붉바리 생산관리 국제인증 적용 - 수출국 현지 생산 기반 기술 협력 <ul style="list-style-type: none"> • 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 • 건강 종자 생산 현지화 기술 적용 - 종자 대량 생산 및 종자의 상품성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 종자 대량 생산 (10만미) • 종자 생존률 향상 (10% → 20%) • 기형발생율 저감 기술개발 (40~50% → 30~40%) - 국내외 판매망 확보 및 종자 판매 <ul style="list-style-type: none"> • 국외 판매망 확보 • 종자 수출 15만\$ • 종자 국내 판매 50백만원

3 차 년 도	2 0 1 9	<p style="text-align: center;">3. 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증</p> <p style="text-align: center;">4. 국내의 시장 확대를 위한 네트워킹</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 친어 최적 사육관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 수출용 육종 종자 생산을 위한 F1, F2 친어 확보 • 상시 건강 수정란 생산 공급 • 후세대 번식 제어 - 번식 생리 특성 맞춤 사육 관리 운영 - 붉바리 국제 인증 사양 관리 적용 - 사육 환경 요소에 대한 치어의 적응 생리 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> • 사육 환경(고수온)에 따른 성장과 생리적 특성 조사 • 성 스테로이드에 의한 치어의 적응 생리 특성 조사 - 수출 시장 대응 목적 형질 발현 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 교잡 품종의 현지 생산 및 육종1세대 육성 효율 평가 (수출 지역 현지 평가) • 고품질 품종 생산을 위한 다중 형질 동시 적용 종자 생산 • 해외 시장 환경 내성 및 적응 생리 특징 탐색 ☞ 말레이시아 등 수출 시장 현지 사양관리를 위한 사육 수온별 수온 및 성장 관련 인자 발현 탐색 • 체색(붉은색)관련 원인 유전자 탐색 및 잡종강세 가능성 탐색 ☞ 체색(붉은색 발현)관련 대상 경로 추적, 후보 유전자 선발, DNA마커 개발(붉바리, 홍바리 비교) ☞ 붉은색 발현이 강한 종자 개발을 위한 잡종 강세 가능성 탐색 및 교잡종 시험 생산 (붉바리×홍바리) • 육종 효과 증대를 위한 다중 형질 적용 품종 생산 기술 개발 • 마커-기반 선발체계 및 근친근절 프로그램 적용 - 종자의 상품성 검증(먹이 생물 강화 기술 등) <ul style="list-style-type: none"> • 종자 생존률 향상 사양 기술 개발 (10%→20%) • 기형 발생율 저감 기술 개발 (30~40% →20~30%) - 국내외 종자 판매 전략 수립 <ul style="list-style-type: none"> • 수출 및 국내 시장 확대를 위한 전략 공동 네트워킹 구축 - 수출국 현지 생산 기반 기술 협력 <ul style="list-style-type: none"> • 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 - 종자 대량 생산 및 관리 <ul style="list-style-type: none"> • F1, F2 종자 대량 생산 (40만) • F3 종자 시험 생산 - 국내외 판매망 확보 및 종자 판매 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 국외 판매망 확보 • 종자 수출 60만\$ • 신규 국내 판매망 확보 • 국내 판매망 확보를 위한 공동 마케팅 추진 • 종자 국내 판매 150백만원
------------------	------------------	--	--

			<ul style="list-style-type: none"> - 수출국 현지 생산 기반 구축 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 • 건강 종자 생산 현지화 기술 적용
4 차 년 도	2 0 2 0	5. 수출국 현지 생산 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> - 친어 최적 사육관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 우량 친어 선발을 통한 품질 개선 건강 수정란 생산 공급 • 세대별 번식 생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축 - 수출 시장 대응 목적 형질 발현 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 육종 2세대 종자 생산 및 특성화(고수온, 속성장, 체색) • 고품질 품종 생산을 위한 다중 형질 동시 적용 종자 생산 • 수출 종자 유전자 진단 체계 구축 개발 - 종자의 상품성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 해외 수출 시장 현지화 적용 및 안전성 검증 • 종자 생존률 향상 사양 기술 개발 (20%→30%) • 기형 발생률 저감 기술 개발 (20~30% →10~20%) • 종자 질병 예방 관리 - 국내외 종자 판매 전략 수립 <ul style="list-style-type: none"> • 수출 전략 공동 네트워크 구축 • 수출 시장 확대를 위한 공동 마케팅 추진(싱가포르 등) • 국내 시장 확대를 위한 공동 마케팅 추진 - 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 <ul style="list-style-type: none"> • 현지 생산 종자 효율성 평가 • 현지 시장 조사 진행 적용 등 현지 생산 기지 효율성 및 생산성 제고 • 수출국 현지 생산 기반 양성 판매 - 종자 대량 생산 및 관리 <ul style="list-style-type: none"> • F1, F2 종자 대량 생산 (60만) • F3 종자 시험 생산 - 국내외 판매망 확보 및 종자 판매 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 국외 판매망 확보 • 종자 수출 100만\$ • 종자 국내 판매 200백만원 - 수출국 현지 생산 기반 구축 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 • 건강 종자 생산 현지화 기술 적용
5 차 년 도	2 0 2 1		<ul style="list-style-type: none"> - 친어 최적 사육관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 우량 친어 선발을 통한 품질 개선 건강 수정란 생산 공급 • 세대별 번식 생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축 - 수출 시장 대응 목적 형질 발현 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 육종 2세대 종자 생산 및 특성화(고수온, 속성장, 체색)

	<p>6. 붉마리 종자 국내외 판매</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 종자의 상품성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 건강 종자 사양 관리 지침 개발과 우량 종자 생산 기술 표준화 • 해외 수출 시장 현지화 적용 및 안전성 검증 • 품종 인증 및 원산지 추적 시스템 구축 • 종자 생존률 향상 사양 기술 개발 (30%→40%) • 기형 발생용 저감 기술 개발 (20% 미만) • 종자 질병 예방 관리 - 국내외 종자 판매 전략 수립 <ul style="list-style-type: none"> • 수출 전략 공동 네트워킹 구축 • 수출 시장 확대를 위한 공동 마케팅 추진(싱가포르 등) • 국내 시장 확대를 위한 공동 마케팅 추진 - 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 <ul style="list-style-type: none"> • 수출국 현지 생산 기반 양성 판매 및 사후관리 체계적용 - 종자 대량 생산 및 관리 <ul style="list-style-type: none"> • F1, F2 종자 대량 생산 (60만) • F3 종자 시험 생산 - 국내외 판매망 확보 및 종자 판매 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 국외 판매망 확보 • 종자 수출 100만\$ • 종자 국내 판매 200백만원 - 수출국 현지 생산 기반 구축 <ul style="list-style-type: none"> • 말레이시아 등 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 • 건강 종자 생산 현지화 기술 적용
--	-----------------------------	---

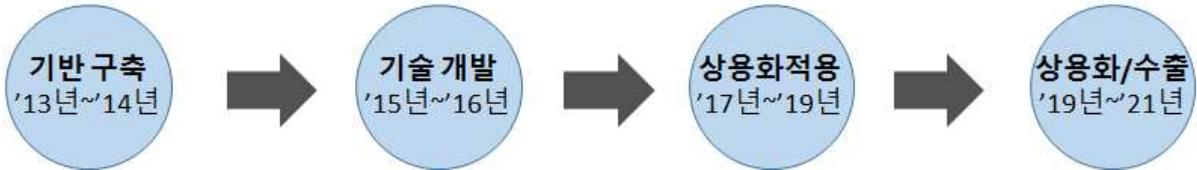
제2장 연구 수행 내용 및 결과

제1절 연구 개발 추진 전략 및 방법

붉바리우량종자개발과 국내외 산업화

수출용 붉바리 종자개발 1단계

수출용 붉바리 종자개발 2단계



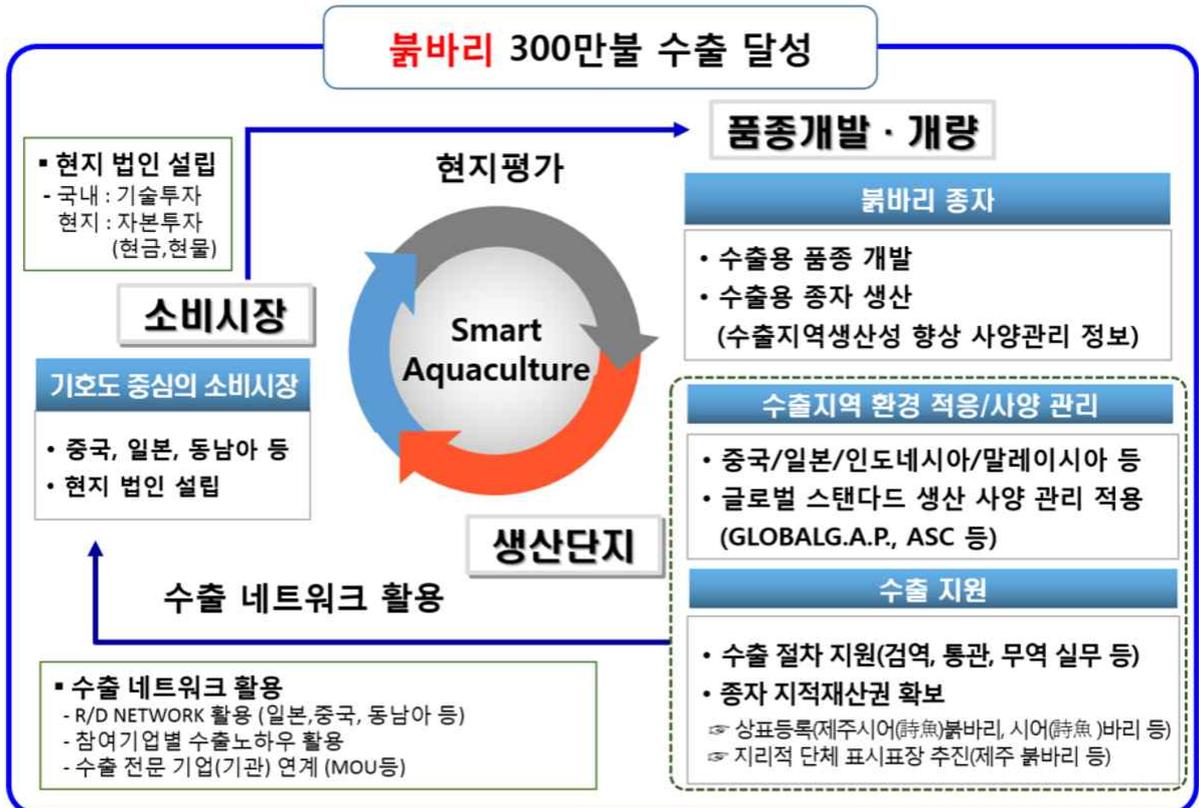
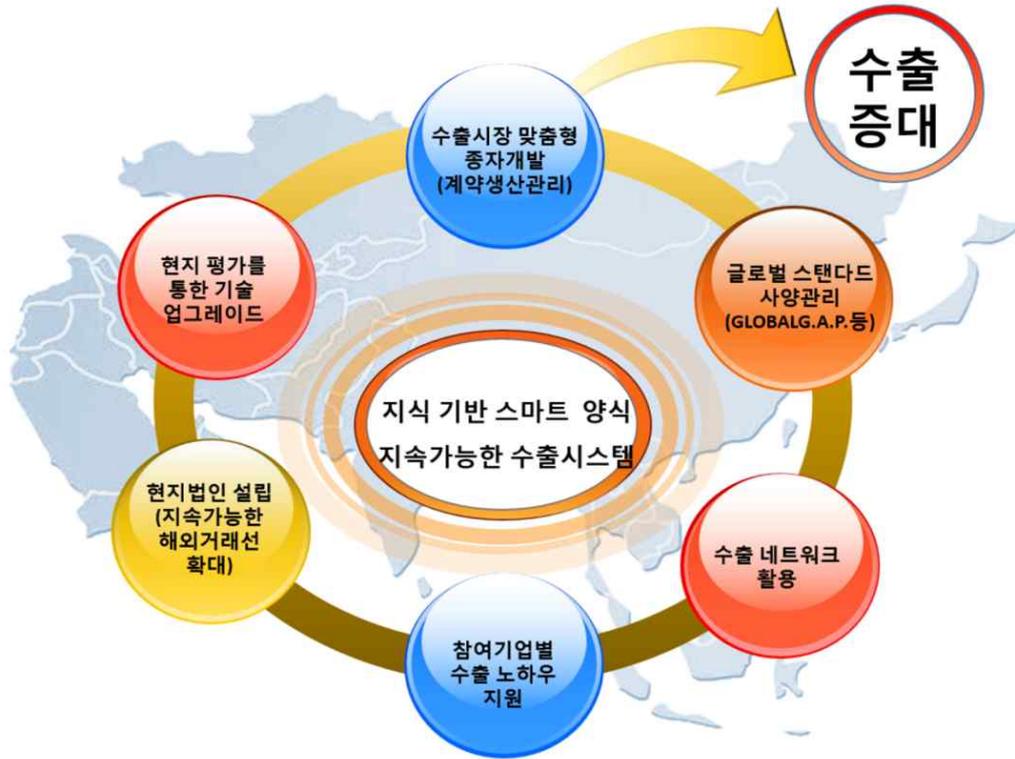
주요 연구 내용
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 친어 자원 확보 및 관리 ▪ 성 성숙 제어 및 건강 수정란 대량 생산 ▪ 자치어 안정적 사육체계 확립 ▪ 종자의 생산성 향상 및 최적 사육환경 체계 개발 ▪ 친어선발 및 육종기반 기술 개발
추진 전략
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 친어자원 확보 및 사육관리 ▪ 붉바리 친어 자원 최적화 사육시스템 구축 및 운용 ▪ 붉바리 성 성숙 제어 기술 개발 ▪ 우량 종자 대량 생산 기술 개발 연구 ▪ 계통간 교배 • 친어 선발 ▪ 붉바리 전장 유전체 해독 및 분자마커개발

주요 연구 내용
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 붉바리 번식육종 기술 이용 및 상용화 ▪ 유전자 진단이용 우수형질 품종개발 ▪ 수출 시스템 활용 및 마케팅 강화 ▪ 우량 종자 생산 상용화 및 매출 증대
추진 전략
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 친어 관리 및 번식 유전 육종 기술 활용 ▪ 참여기업 붉바리 양식 기술 상용화 및 전문 종자 기업 육성 ▪ 우량 종자 대량 생산 기술 개발 ▪ 우량 종자 수출 시장 확보 및 수출 증대 ▪ 우량 종자 국내 시장 확보 및 판매 증대

■ 수출전략

- 품종개발을 통한 수출용 종자 생산, 현지 적용 및 상용화 평가를 통한 수출 확대와 개척
- 유전자 혈통관리 및 개발종자 사후인증 기술 적용을 통한 철저한 사후관리를 통한 지속적인 시장 확보 및 유지
- 네트워크를 통하여 구축된 말레이시아, 중국, 일본 등과 연계하여 현지 사육환경 조건에서 종자 사육 및 평가와 적용
- 수출시장 현지 양성 사양 관리 기술협력 구축
- 붉바리 수출시장 확대를 위한 공동마케팅 추진
- 붉바리 종자에 대한 지적 재산권 확보
- ☞ 상표 등록, 지리적 단체 표시 표장 추진, 글로벌겍 인증 등

- ☞ 붐바리 건강 종자 품종 기술 특허 등록 추진
- 코로나 바이러스 전 세계 대유행 사태 지속 대비책 수립
- ☞ 파견 직원 및 수출 현지 협력 업체를 활용한 마케팅 판촉 강화
- ☞ 물류비 상승 대비 전략 수립 (현지 생산 판매 강화 및 선박 물류 방안 검토 등)



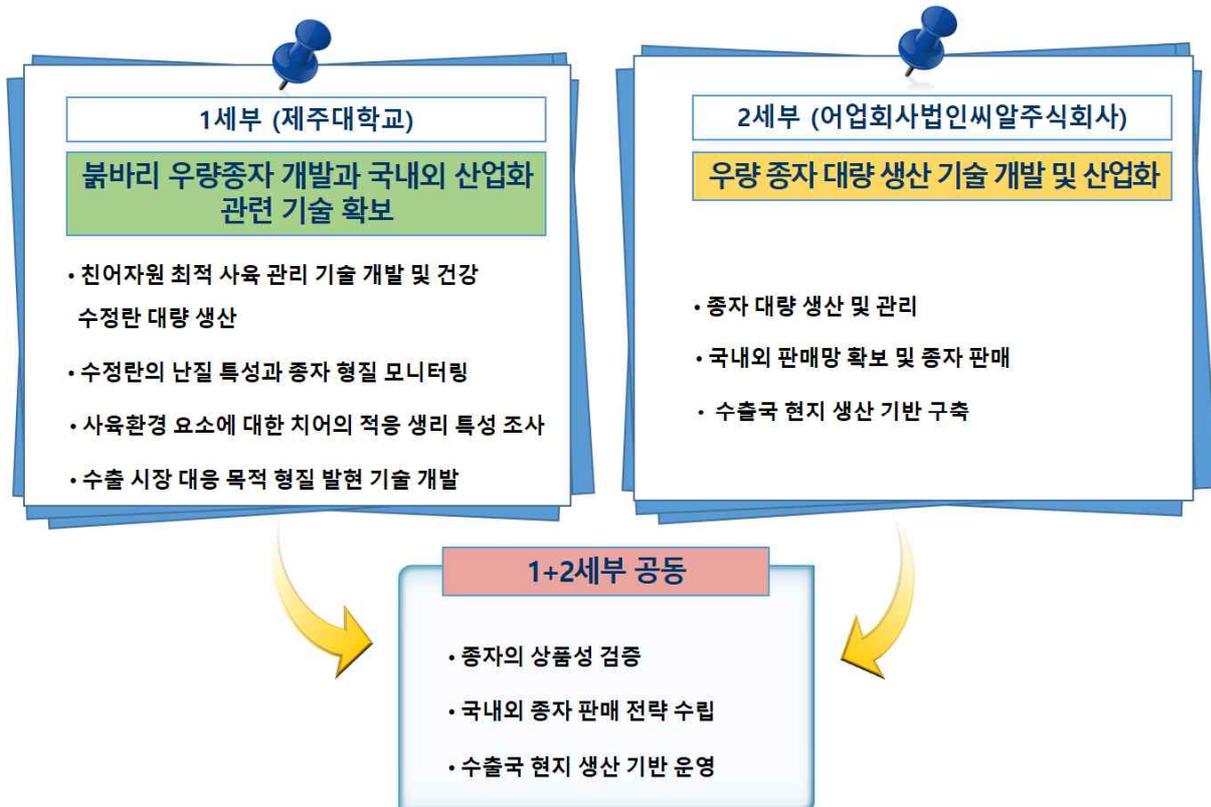
■ 내수전략

- 품종개발을 통한 종자 생산, 상용화 평가 및 내수시장 개척
- 참여기업 전문종자 기업 육성을 위한 기술협력 구축
- 북바리 내수시장 확대를 위한 공동마케팅 추진
- 종자 생산 기업의 생산성 향상을 위한 사양관리 시스템 개발



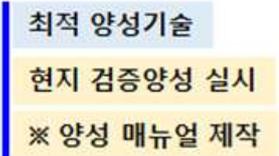
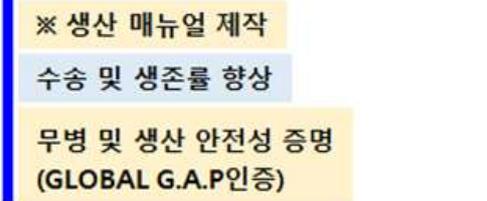
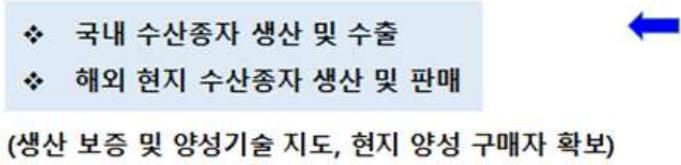
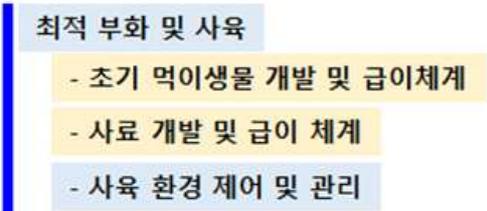
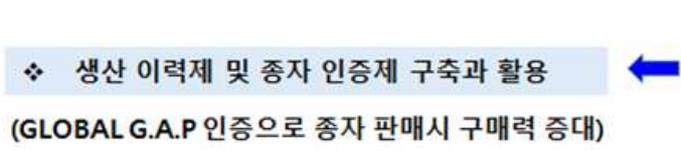
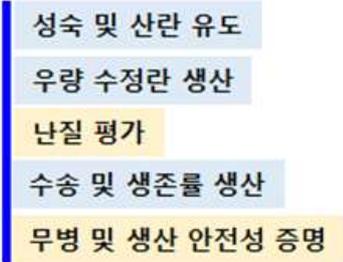
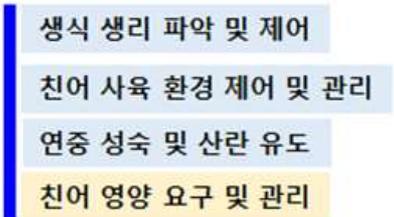
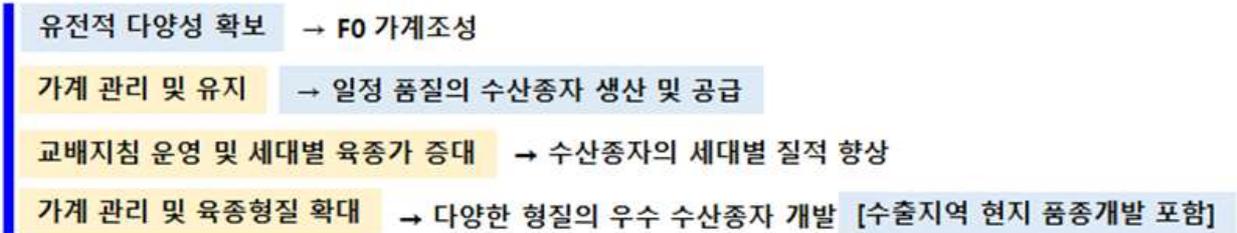
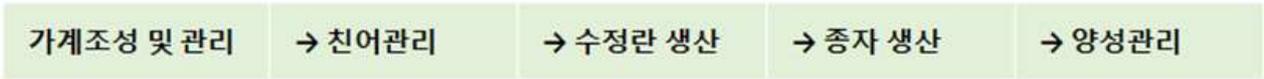
제2절 연구 개발 추진 체계

붉바리 우량 종자 개발과 국내외 산업화



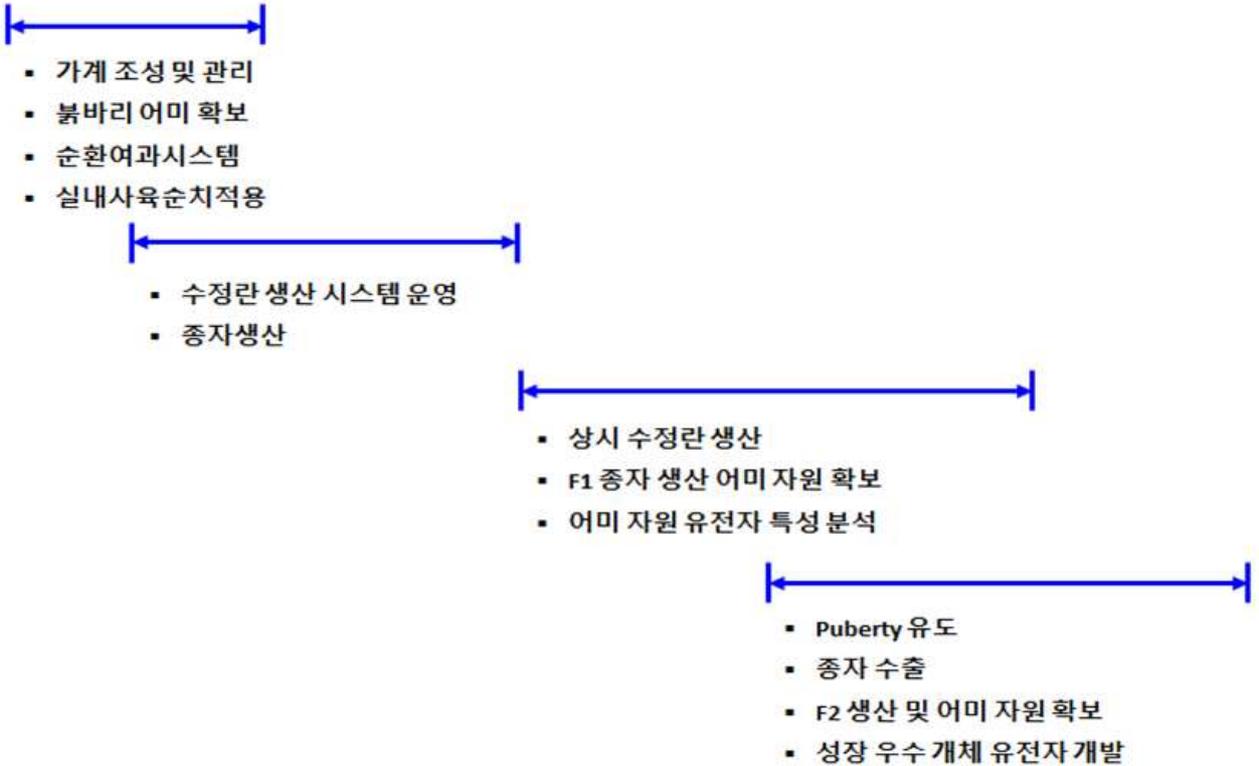
제3절 연구 개발 추진 일정

■ 북바리 GSP 개요 (2013년 ~ 2021년)

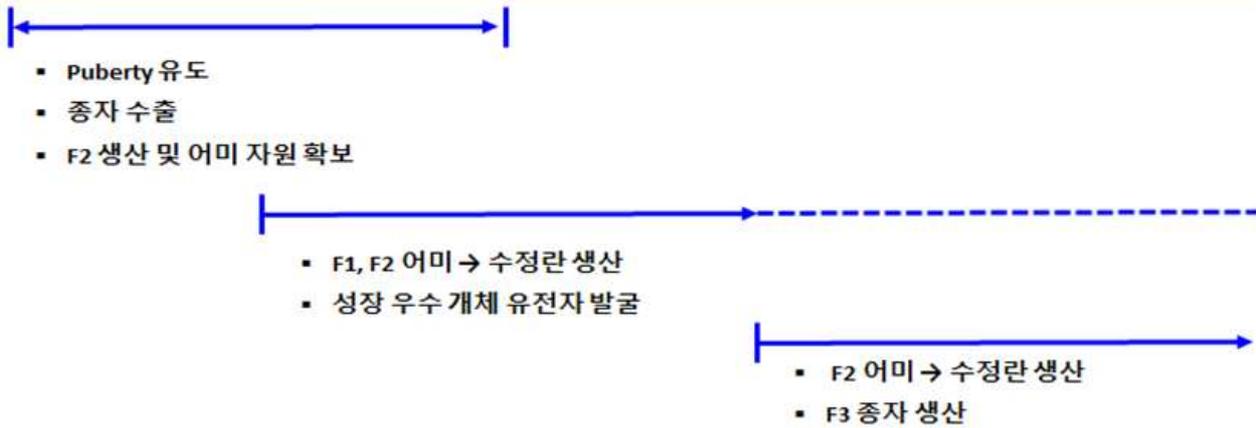


■ 북바리 GSP 추진 일정 (2013년 ~ 2021년)

1 단계				2단계
수출용 북바리 종자 개발				
2013	2014	2015	2016	2017



1 단계	2 단계			
수출용 북바리 종자 개발				
2016	2017	2018	2019	2020~2021



제4절 연구 수행 결과

1. 연구 수행 결과 개요

가. 붉바리 육종 친어 관리

- 수출용 육종종자 생산을 위한 세대별(F0, F1, F2) 친어 관리
- 붉바리 세대별(F0, F1, F2) 친어 상시 성 성숙 유도
- 세대별 번식생리 특성 맞춤 사양관리 지침 구축
- 분자육종 형질연관 마커 개발(성장, 수온, 체색 등)
- 근친근절 프로그램 개발

나. 붉바리 건강 수정란 대량 생산

- 건강수정란 상시 대량생산
- 붉바리 세대별(F0, F1, F2)수정란 생산
- 수정란의 난질 특성 탐색

다. 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증

- 세대별 붉바리(F1, F2, F3) 종자 대량 생산
- 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색
- 붉바리 체색관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달
- 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술개발
- 다중형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리

라. 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹

- 국내 시장 네트워킹
- 수출 확대를 위한 네트워킹

마. 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹

- 수출국 현지 생산 기반 기술 협력
- 수출국 현지 생산 기반 운영 지원

바. 붉바리 종자 국내외 판매망 확보 및 종자 판매

- 국내외 판매망 확보
- 종자 수출 및 국내 판매

■ 계획대비 연구수행결과

계획	연구수행결과
<p>① 붉바리 육종 친어 관리</p>	
<p>- 수출용 육종 종자 생산을 위한 친어 확보 및 관리</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 최적 사육시스템을 통한 친어 관리 <ul style="list-style-type: none"> ☞ F0 200마리, F1 1,050마리, F2 1,000마리 총2,250마리 ☞ 육종 친어후보군: F2 1,200마리, F3 1,200마리 • 붉바리 양식1세대(F1), 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발 어미 자원 확보 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 세계 최초 1년생 붉바리 조기 성성숙(Puberty) 유도를 통한 육종시간 단축 ☞ 유전자 마커-기반 (속성장, 수온, 체색) 우량 친어 집단 조기 선발 ☞ 선발육종 및 분자유종을 통한 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발 친어 후보군 확보
<p>- 붉바리 세대별(F0,F1,F2)친어 상시 성 성숙 유도</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리의 사육 환경 조건에 적응하는 생리적 특성을 이용한 상시 성 성숙 유도 • 사육환경에 적응하는 번식 생리 이용기술 이용 사계절 원하는 시기 배우자 확보 가능
<p>- 세대별 번식 생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 사육환경에 적응하는 성장, 수온, 번식관련 인자의 생리특성 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 성장: 성장호르몬분비억제호르몬(PSS) 발현변화 ☞ 수온: Transient receptor potential(TRP) 발현변화 ☞ 번식: Kiss, GPR54, GhRH의 발현 변화 → 붉바리 적상사육 수온 26℃~30℃
<p>- 형질 전환 마커 개발 (성장, 수온, 체색 등)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 성장관련 mtDNA CR VNTR 모계유전 마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ CR VNTR 유전자형 중 H03 유전자형의 표현형이 더 우수 • 성장관련 핵 DNA 유전자 마커 BBR005 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 유전자 마커 BBR005의 유전자형에 따른 선발 ☞ g.51G>A, g.53T>C, g.193G>A 유전자형 선발 • 수온 적응 관련 HSP70 유전자 SNP 검출 <ul style="list-style-type: none"> ☞ HSP70 g.85C>T 유전자형 선발 • 체색 관련 유전자 MC1R, MCHR의 표현형 상관분석
<p>- 근친 근절 프로그램 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 개체 식별 및 친자 확인 위한 미세위성마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ ※ 특허등록 제 10-2064039 호 (2020.1.2.) • 붉바리 종자 생산에 이용되고 있는 친어의 DNA 확보 및 MS 유전자형 데이터베이스 구축 • 근친근절 프로그램 적용 • 품종 인증 및 원산지 추적 시스템 구축

② 붉바리 건강 수정란 대량 생산

- 건강 수정란 상시 대량 생산

- 연중 수정란 생산으로 맞춤형 건강 수정란 생산 시스템 구축·운영
- ☞ 배정·배란 유도 기술을 통한 연중 건강 수정란 생산으로 수요자 요구 중심의 맞춤형 수정란 생산

- 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 수정란 생산

표. 붉바리 세대별 수정란 생산량 (2017년~2021년)

생산 시기	세대별	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
산란 시기	F0	6.2×10 ⁶	3.0×10 ⁶	0.5×10 ⁶	-	-
	F1	-	3.0×10 ⁶	-	0.9×10 ⁶	1.6×10 ⁶
	F2	-	-	0.3×10 ⁶	0.5×10 ⁶	0.8×10 ⁶
비산란 시기	F0	-	4.6×10 ⁶	1.2×10 ⁶	0.3×10 ⁶	-
	F1	-	0.8×10 ⁶	0.24×10 ⁶	2.0×10 ⁶	3.0×10 ⁶
	F2	-	-	-	0.8×10 ⁶	1.0×10 ⁶
총합계		6.2×10 ⁶	11.4×10 ⁶	2.24×10 ⁶	5.5×10 ⁶	6.4×10 ⁶

- 수정란의 난질 특성 탐색

- 붉바리 수정란 미토콘드리아 분석
 - ☞ 상층란이 중층란에 비해 mtDNA copy수가 2.24배 높음
 - ☞ 상층란: 활성 미토콘드리아와 불활성 미토콘드리아 핵 주변에 집중
 - ☞ 중층란: 불활성 미토콘드리아가 세포질 전체에 산재
- 붉바리 미수정란의 지방산 조성비 분석
 - ☞ 고도불포화지방산(n-3 PUFA)인 docosa hexaenoic acid (DHA, C22:6)가 가장 높고, n-3 PUFA과 함께 palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1)가 붉바리 미수정란의 주요 지방산으로 확인
- 난질 유래 배발생 단계의 유전인자 발현 분석
 - ☞ Cathepsin family 단백질 중 cathepsin B가 붉바리 난질평가를 위한 배발생단계의 유전자 지표 가능성 제시

③ 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증

- 붉바리 종자 대량 생산

- 붉바리 종자 대량 생산

표. 붉바리 종자 연도별 생산량

(단위: 마리)

구분	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
붉바리	100,000	200,000	900,000	600,000	660,000

- 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색

- 해외 수출 시장 대응 고수온, 속성장, 체색 발현 원인 유전자 탐색

- 붉바리 체색 관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달

- 속성장 양식3세대(F3)종자 생산 ☞ 성장률 약20% 향상
- 붉바리 최적 성장조건 탐색 및 관련 생리 인자 및 분자마커 개발

- 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술 개발

- 생존률 향상 및 기형 발생 저감 사양관리 기술 개발 적용
 - ☞ 붉바리 부화자어의 적합한 먹이공급 계열 구축·운영
 - ☞ 붉바리 종 특이적 미생물 확보 및 종자 생산 적용
 - ☞ 생존률향상 (10%→40%이상),기형발생율저감 (50%→20%미만)

- 다중 형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리

- 성장, 수온, 체색 관련 유전자 마커를 적용
 - ☞ 개체 정보 및 마커 정보 데이터 분석
 - ☞ 붉바리 MS 마커 정보 수집

④ 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹

- 국내 시장 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> ● 신규거래처 발굴 : 6개 업체 ● 마케팅 지원 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 불바리 상품 시장 확대를 위한 공동 마케팅 ☞ 거래처 불바리 상품 판촉 지원 ● 기술지원 : 방문 사양 관리 및 기술 지원
- 수출 확대를 위한 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> ● 불바리 수출 확대를 위한 국제 네트워크 구축 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 말레이시아, 싱가포르, 일본, 홍콩, 중국, 대만 등

⑤ 수출국 현지 생산 기반 구축

- 수출국 현지 생산 기반 운영 지원	<ul style="list-style-type: none"> ● 해외 독립법인 설립 운영 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 참여기업 어업회사법인 씨알 말레이시아 페낭 지역 Grouper CR 설립 운영 																		
- 수출국 현지 생산 기반 기술 협력	<ul style="list-style-type: none"> ● 해외생산기지 바리류 종자 생산 및 현지 판매 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 현지 수요가 높은 바리류 종자 생산을 위한 친어관리 : 자이언트 그루퍼(♀) 200마리, 타이거 그루퍼(♂) 5마리 사육관리 ☞ 바리류 인공 수정란 및 종자 생산 <p>표. 바리류 연도별 수정란 및 종자 생산현황 (단위:마리)</p> <table border="1" data-bbox="662 896 1364 1064"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>2018년도</th> <th>2019년도</th> <th>2020년도</th> <th>2021년도</th> <th>합계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>수정란 생산</td> <td>2,000cc</td> <td>3,000cc</td> <td>3,000cc</td> <td>1,500cc</td> <td>9,500cc</td> </tr> <tr> <td>종자 생산</td> <td>17.3만</td> <td>25.1만</td> <td>20만</td> <td>8만</td> <td>70.4만</td> </tr> </tbody> </table>	구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계	수정란 생산	2,000cc	3,000cc	3,000cc	1,500cc	9,500cc	종자 생산	17.3만	25.1만	20만	8만	70.4만
구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계														
수정란 생산	2,000cc	3,000cc	3,000cc	1,500cc	9,500cc														
종자 생산	17.3만	25.1만	20만	8만	70.4만														

⑥ 불바리 종자 국내의 판매망 확보 및 종자 판매

- 국내외 판매망 확보 및 종자 판매	<ul style="list-style-type: none"> ● 종자 수출 및 현지판매 <table border="1" data-bbox="670 1187 1388 1467"> <thead> <tr> <th>판매년도</th> <th>2017</th> <th>2018</th> <th>2019</th> <th>2020</th> <th>2021</th> <th>합계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>수출 금액(\$)</td> <td>100,079</td> <td>300,017</td> <td>419,551</td> <td>609,080</td> <td>90,667</td> <td>1,519,394</td> </tr> <tr> <td>수출국</td> <td>말레이시아</td> <td>말레이시아</td> <td>말레이시아/싱가포르</td> <td>말레이시아/싱가포르</td> <td>말레이시아/홍콩</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> ● 종자 국내판매 <table border="1" data-bbox="670 1512 1388 1624"> <thead> <tr> <th>판매년도</th> <th>2017년</th> <th>2018년</th> <th>2019년</th> <th>2020년</th> <th>2021년</th> <th>합계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>매출액 (백만원)</td> <td>100</td> <td>38</td> <td>87.3</td> <td>20</td> <td>125</td> <td>370.3</td> </tr> </tbody> </table> 	판매년도	2017	2018	2019	2020	2021	합계	수출 금액(\$)	100,079	300,017	419,551	609,080	90,667	1,519,394	수출국	말레이시아	말레이시아	말레이시아/싱가포르	말레이시아/싱가포르	말레이시아/홍콩		판매년도	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	합계	매출액 (백만원)	100	38	87.3	20	125	370.3
판매년도	2017	2018	2019	2020	2021	합계																														
수출 금액(\$)	100,079	300,017	419,551	609,080	90,667	1,519,394																														
수출국	말레이시아	말레이시아	말레이시아/싱가포르	말레이시아/싱가포르	말레이시아/홍콩																															
판매년도	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	합계																														
매출액 (백만원)	100	38	87.3	20	125	370.3																														

⑦ 기타

	<ul style="list-style-type: none"> ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 불바리 양식 생산 전 과정 국제인증 글로벌갭(GLOBALG.A.P.) 인증 획득 (2017.01.26.) <ul style="list-style-type: none"> ☞ 인증번호 : 00060-THCFE-0003 ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 벤처기업 인증 획득(2020.09.03.) <ul style="list-style-type: none"> ☞ 인증번호 : 제2020011612호 ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 해양수산신기술 인증 획득 (2020.02.08.) <ul style="list-style-type: none"> ☞ 기술명 : 불바리 조기 친화를 위한 광주기 및 수온조절
--	--

2. 기술적 성과

■ 붉바리 육종 친어 관리

가. 수출용 육종 종자 생산을 위한 친어 관리

(1) 친어 최적 사육관리

- 붉바리는 아열대성 어류로 저수온 시기 또는 급격한 수온 변화는 먹이 섭이 활동 저하를 유발하고 이로 인해 생리적 장애가 발생하며, 환경변화가 오래 지속되거나 심할 경우 폐사가 발생할 가능성이 매우 높음.
- 따라서, 붉바리 최적사육시스템 개발과 사육관리를 통한 자연산 붉바리 육종 친어(F0) 자원과 양식1세대 육종 친어(F1), 양식2세대 육종 친어(F2)의 육성관리와 수출용 붉바리 종자 생산을 위해 순환여과사육시스템을 이용하여 생물보완안전시스템 구축 운영하고 있음(그림 1, 2, 3).
- 또한, 사육환경에 적응하는 번식생리 이용기술을 통해 사계절에 걸쳐 원하는 시기에 성숙 및 산란을 유도하기 위해 제주대학교 해양과학연구소 순환여과사육시스템 사육수조에서 계통별 붉바리 어미집단은 자연산 붉바리 친어 200마리, 양식1세대 친어 1,050마리, 양식2세대 친어 1,000마리 총 2,250마리와, 선발 친어 후보군 양식2세대(F2) 1,200마리와 양식3세대(F3) 1,200마리를 사육관리하고 있으며, 말레이시아 해외기지인 Grouper CR에서 타이어 그루퍼 200마리, 자이언트 그루퍼 5마리를 사육관리하고 있음(표 1).

붉바리 우량종자 생산 번식 육종 프로그램

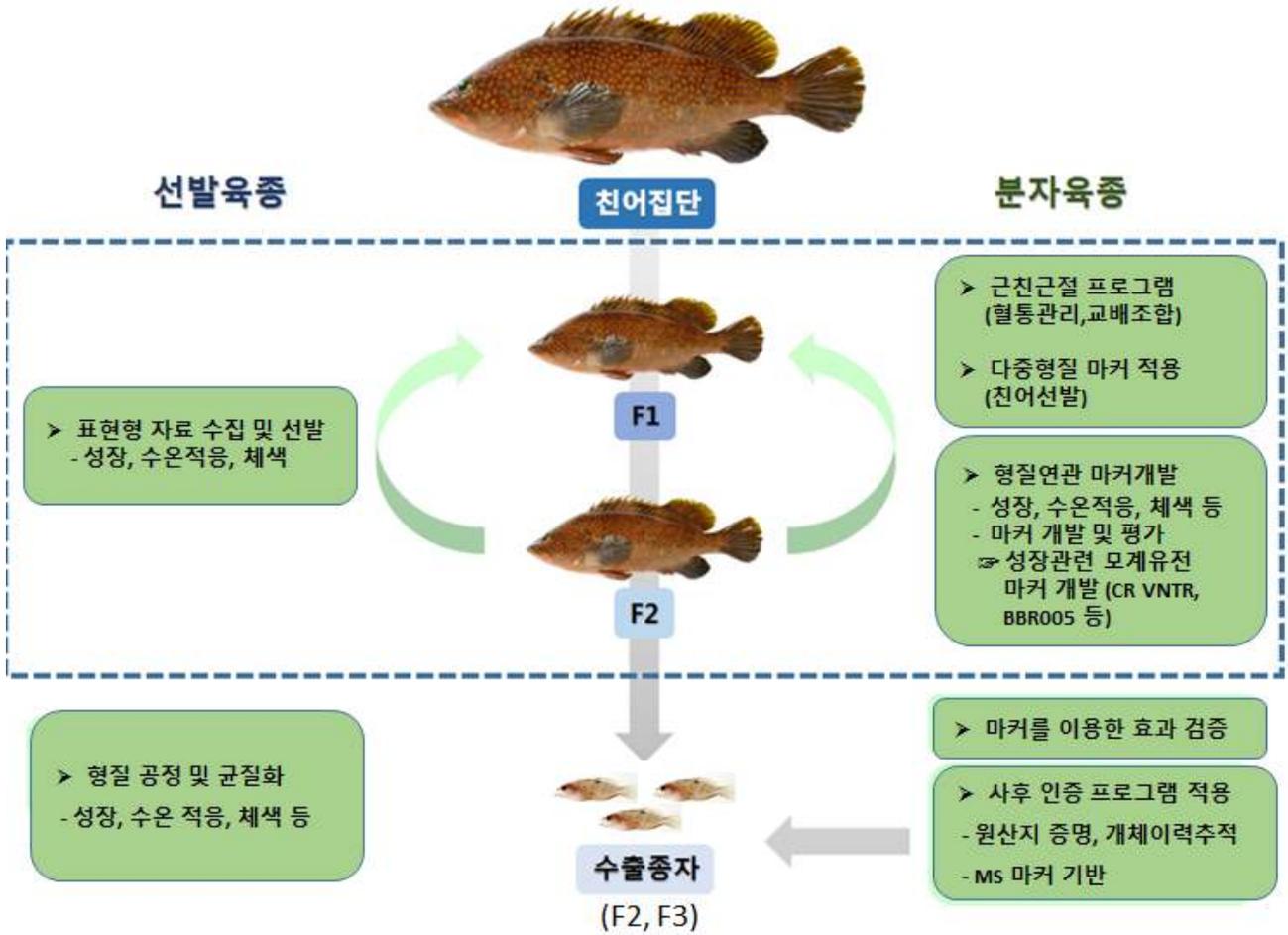


그림 1. 붉바리 친어 가계 조성 및 세대 관리



그림 2. 순환여과사육시스템을 이용한 붐바리 육종 친어 최적화사육시스템.

A: 사육동 전경, B: 히트펌프, C: 친어용 수처리시스템(생물학적 여과조 및 스키머), D: 친어사육수조



그림 3. 수출용 붉바리 종자 생산 사육시스템.

A: 사육동 전경, B: 히트펌프, C: 수처리시스템(생물학적 여과조 및 스키머), D: 종자 생산 및 사육수조.

표 1. 육종 친어와 친어후보군 자원 관리 현황

(2021.12.10./단위: 마리)

구 분	자연산 (F0)	양식1세대 (F1)	양식2세대 (F2)	양식3세대 (F3)	계	품 중
제주대학교	200	1,000	1,000		2,200	붉바리 친어
			1,200	1,200	2,400	붉바리 친어 후보군
창조수산		50			50	붉바리 친어
계	200	1,050	2,200		4,650	
Grouper CR	200				200	타이거 그루퍼 친어
	5				5	자이언트 그루퍼 친어

(2) 환경제어(광주기, 수온)를 통한 상시 성 성숙 유도

- 사육환경(광주기, 수온) 조절을 통한 상시 성 성숙을 유도하기 위해 제주대학교 해양과학 연구소 순환여과 사육시스템 사육수조에서 순치·사육관리하고 있는 세대별 붉바리 육종 친어(F0, F1, F2) 집단을 대상으로 실시함.
- 사육환경은 히트펌프 및 보일러 열 이용 순환여과 사육시스템을 적용하여 수온을 18℃에서 점차적으로 상승시켜 22±0.1℃ 유지시켜 주었으며 광주기는 12L:12D에서 14L:10D 조건으로 유지함 (표, 2, 그림 4, 5, 6).
- 어병 발생에 의한 친어자원 폐사를 방지하기 위해 동발생기와 모래여과기를 이용하여 최적 사육환경 조성 (DO: 7.5±0.5 mg/L, pH: 8.1±0.2, 환수율: 100%/일).
- 친어의 먹이는 난질향상을 위해 영양강화 배합사료(EP)와 영양강화 생사료(고등어, 전갱이, 오징어)를 혼합하여 2회/일 공급하였음.

표 2. 상시 성 성숙 유도를 위한 환경제어 조건

Experimental Group	Environmental condition		Remark
	W.T. (°C)	Day length	
Treatment	18-22	Regulation (14L:10D)	Recirculated seawater

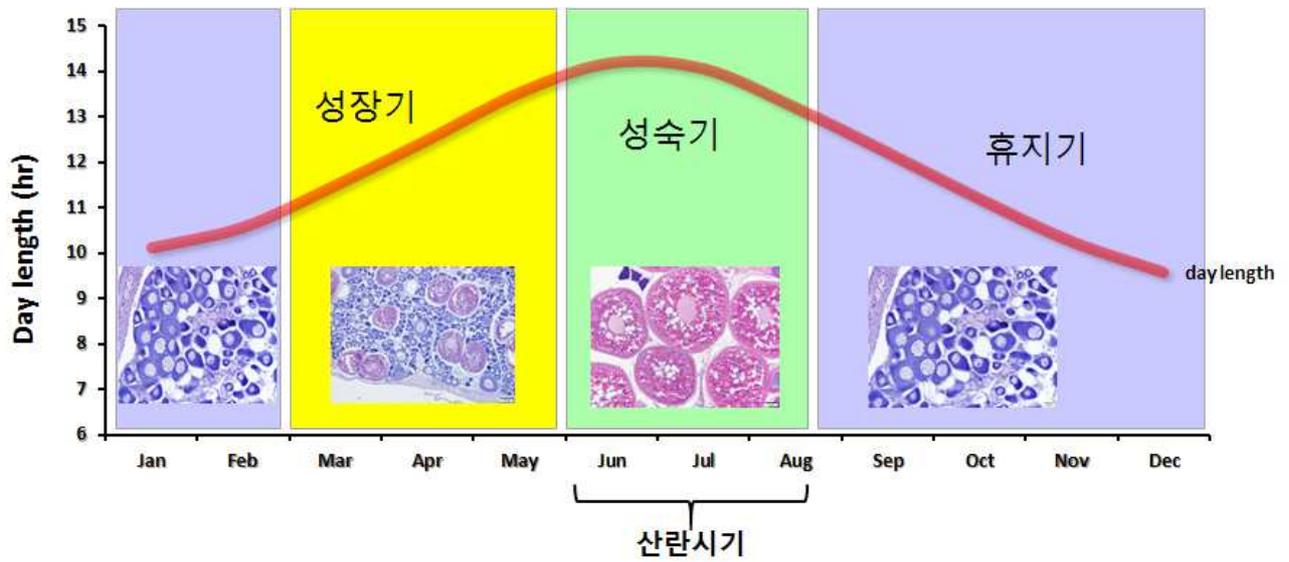


그림 4. 자연조건에서 붉바리 산란시기(하계산란종)

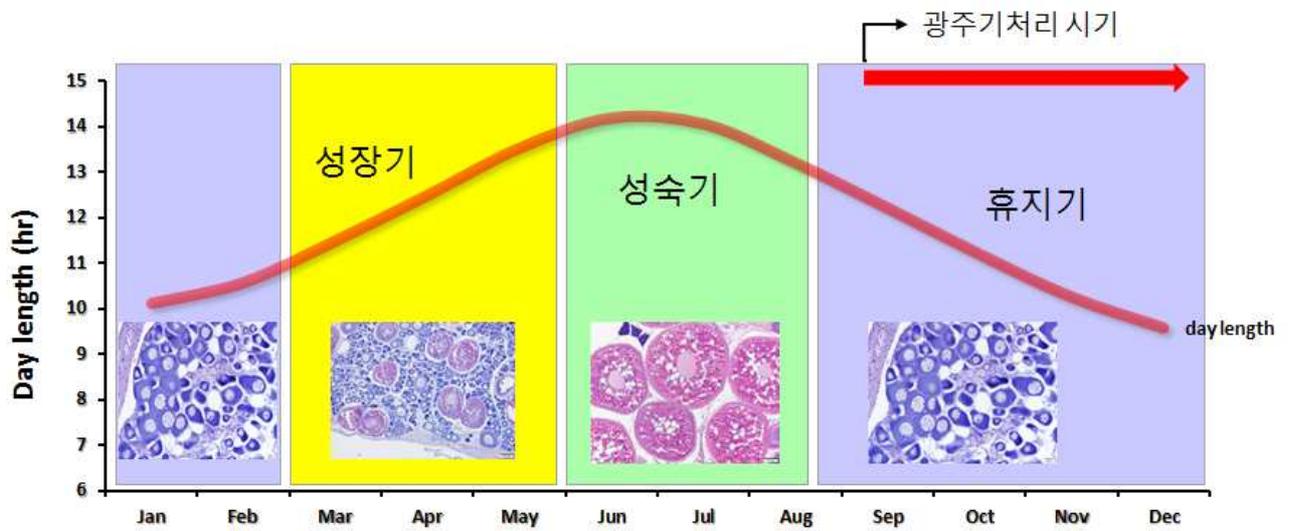


그림 5. 동계산란유도를 위한 광주기 처리

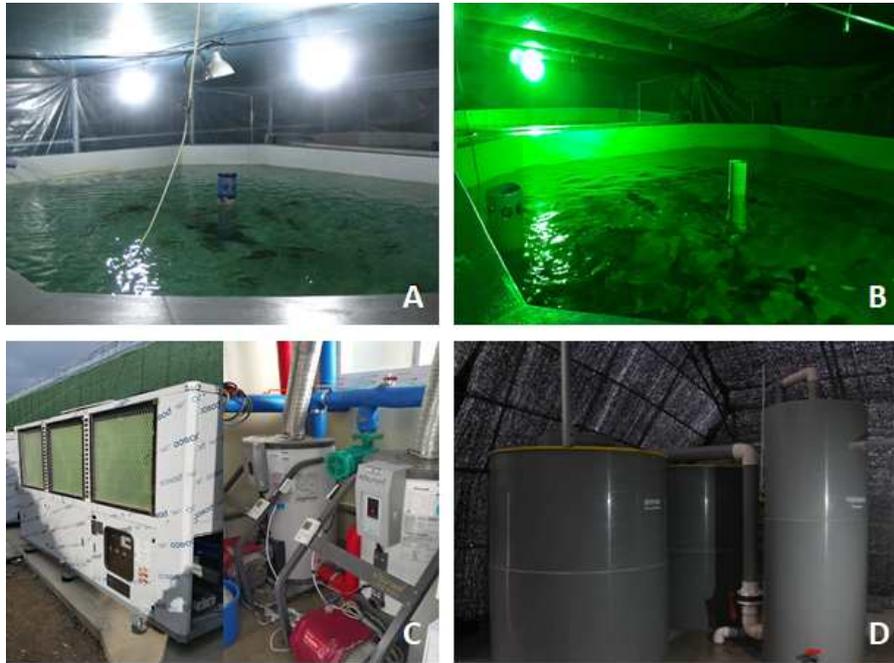


그림 6. 붉바리 육종 친어 상시 성 성숙 유도를 위한 사육수조 시스템

A: 하계산란용 사육수조, B: 동계산란용 사육수조, C: 사육수온 제어용 히트펌프 및 보일러, D: 스키머 및 생물여과시스템

나. 세대별 번식생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축

(1) 양식 1세대(F1) 암컷 붉바리의 번식 생리 특성

- 양식산 붉바리 세대별 번식생리 특성에 따른 성숙유도 및 수정란 생산을 위한 사양관리 지침 구축을 위해 인공수정을 통해 생산된 양식1세대(F1) 붉바리를 실내 사육시설에서 1년간 사육하면서 번식생리 특성을 조사하였음.
- 실험어는 인공수정을 통하여 생산된 양식1세대 붉바리(F1) 3년생 200마리(n=200, BW 214.3±25.6 g, TL 24.2±0.4 cm)를 자연광 및 자연수온 조건에서 1년간 사육하였으며, 사료는 1일 2회 공급하였음.
- 실험어는 매월 sampling 하였으며, 암컷만을 선별하여 체중(body weight)과 전장(total length)을 측정 후, 생식소중량지수(gonadosomatic index, GSI)를 계산하기 위하여 생식소를 적출하여 무게를 측정하였음.
- 월별 생식소발달단계변화를 조사하기 위해 매월 sampling된 붉바리의 생식소를 Bouin's solution에 고정하였고, 번식관련인자들(kisspeptin1, kisspeptin2, GPR54, GnRH, FSHβ, LHβ)의 발현변화를 조사하기 위하여 매월 실험어 뇌와 뇌하수체를 적출하였으며, 분석 전까지 -80℃에서 보관하였음.

(가) 실내 사육수조내 월별 생식소중량지수 및 수온변화

- 사육수온은 2월에 평균 13.7°C로 가장 낮았으며, 이후 지속적으로 증가하여 8월에는 평균 24.6°C로 가장 높은 수온을 나타냈고, 이후 12월 17.0°C까지 감소하였음.
- 실내 사육수조내 사육하고 있는 양식1세대 암컷 붉바리 난소의 생식소중량지수는 1월 0.4±0.0으로 낮은 값을 나타냈으며, 5월 0.4±0.1까지 낮은 수준을 유지하였음. 생식소중량지수는 6월부터 1.3±0.4로 서서히 증가하기 시작하여 7월 2.9±1.4로 가장 높은 값을 보였고 ($P<0.05$), 이후 8월에는 0.7±0.1로 급격하게 감소하였으며, 12월(0.2±0.1)까지 낮은 수준을 유지하였음(그림 7)

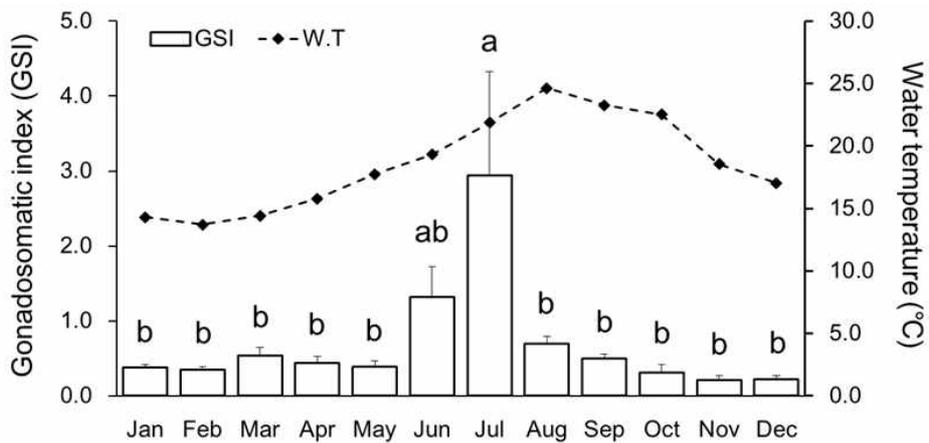


그림 7. 실내 사육수조내 생식소중량지수(gonadosomatic index, GSI) 변화.

(나) 실내 사육수조내 월별 양식1세대 붉바리 난소발달

- 양식1세대 암컷 붉바리의 월별 난소발달을 조사하기 위하여 고정된 난소를 파라핀 포매와 hematoxylin-eosin 염색의 조직처리를 통하여 슬라이드 표본을 제작하였고, 제작된 슬라이드 표본은 광학현미경을 이용하여 난소의 월별 조직학적 변화를 검경하였음.
- 1월부터 3월까지 난소에는 대부분이 미성숙한 난모세포의 핵 내부에 주변인들이 관찰되는 주변인기난모세포(perinucleolus stage oocyte)들로 채워져 있었으며(그림 8. a~c), 4월부터 5월까지의 난소에서는 난모세포의 크기가 커지기 시작하며 핵 주변으로 유구(oil droplet)들이 관찰되는 성장기의 유구기난모세포(oil-droplet stage oocyte)들이 관찰되었음 (그림 8. d, e)

- 6월에는 난모세포의 크기가 더욱 성장하여 세포질 내에 다수의 난황과립(yolk granule)들이 축적되어 있는 성숙한 난황구기난모세포(vitellogenic oocyte)들이 관찰되기 시작하였으며(그림 8. f), 7월에는 난소에 성숙한 난황구기난모세포들로 가득차 있는 것이 관찰되었음(그림 8. g).
- 8월 난소에는 성숙한 난모세포들이 배란되어 산란흔적을 나타내는 잔존여포세포층(postovulatory follicle)과 일부 미성숙한 유구기난모세포 및 주변인기난모세포들이 관찰되었으며(그림 8. h), 9월부터 12월까지의 난소에서는 산란 후 난모세포들의 재배치되고 미성숙한 주변인기난모세포들로 채워져 있는 회복기 및 휴지기의 특징이 관찰되었음(그림 8. i~l).

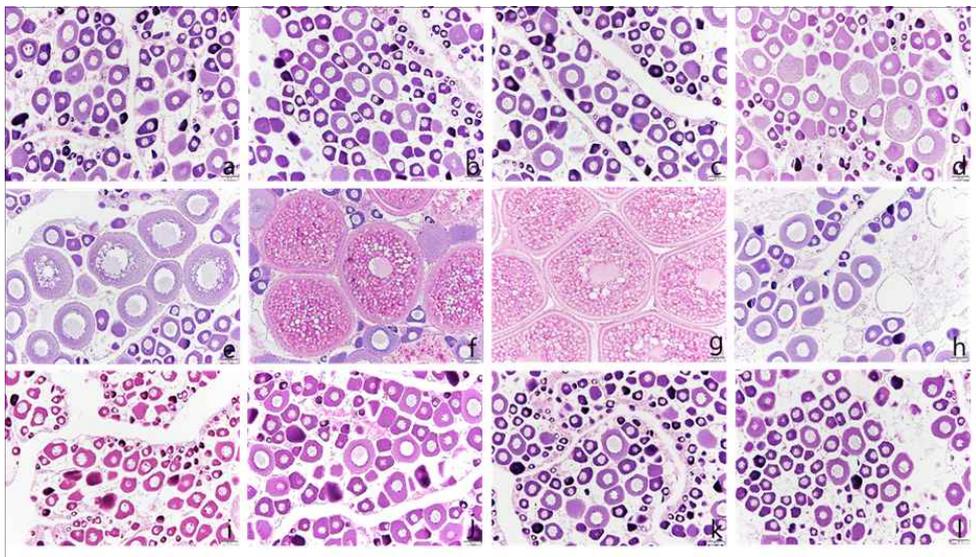


그림 8. 실내 사육시설에서 양식1세대 암컷 붉바리 난소의 월별 생식소 발달단계

(다) 실내 양식시설에서 양식1세대 암컷 붉바리 번식관련인자들의 월별 발현변화

- 양식1세대 암컷 붉바리의 뇌와 뇌하수체에서 번식관련인자들의 유전자 발현을 조사하기 위하여 적출된 조직들은 homogenizer를 이용하여 완전히 분쇄한 후 total RNA를 추출하였고, 추출된 total RNA는 농도를 측정하여 A260/A280nm의 비율이 1.7~2.1 범위 이내의 값을 갖는 RNA만을 선택하여 DNase 처리 후 cDNA로 합성하였음.
- Real time-qPCR 분석을 위하여 붉바리 번식관련인자들의 primer를 제작하였으며, housekeeping gene은 β -actin의 유전자 정보를 이용하여 primer를 제작하였음(표 3).

표 3 . Real time-qPCR에 사용된 각 유전자들의 primer 정보

Real time primers	Sequence
Kisspeptin 1 F	5'-GCCATGCATCAATATCGCCA-3'
Kisspeptin 1 R	5'-ACCATCCTGACCTGGGAAAC-3'
Kisspeptin 2 F	5'-TCTCGCTCAGGGACAACAC-3'
Kisspeptin 2 R	5'-GGCCTGATTGTTGGACAGGA-3'
GPR54 F	5'-TCTCCCTGGATGGATCTTTG-3'
GPR54 R	5'-GAGCCAATCCAAATGCAGAT-3'
GnRH F	5'-CAGCACTGGTCATATGGGCT-3'
GnRH F	5'-AAACACTGCAGGGTGTGTCC-3'
FSH β F	5'-AACGGGGACTGGACCTATGA-3'
FSH β R	5'-TATGTCTCCAGGAAAGCGCC-3'
LH β F	5'-GGTCACTGCATCACCAAGGA-3'
LH β R	5'-AGCTCAAAGCCACAGGGTAG-3'
Internal control primers	
β -actin F	5'-GAGGGGTATCCTGACCCTGA-3'
β -actin F	5'-CTCCTCAGGGGCAACTCTC -3'

- 양식1세대 암컷 붉바리의 뇌에서 월별 변식관련인자(Kisspeptin1, Kisspeptin2, GPR54, GnRH) 의 유전자 발현을 조사한 결과(그림 9), Kisspeptin1 mRNA는 1월에 유의적으로 발현이 가장 높았으며, 이후 발현량이 감소하였고, 10월과 12월에 가장 낮았음(그림 9A). Kisspeptin2 mRNA는 Kisspeptin1과 비슷하게 1월에 가장 발현이 높았으며, 이후 낮은 발현량을 유지하였음(그림 9B).
- Kisspeptin의 수용체인 GPR54 mRNA 발현 역시 1월에 유의적으로 가장 높은 발현을 보였고(그림 9C), GnRH mRNA는 1월에 유의적으로 높았으며, 2월부터 5월까지 다소 높은 경향을 보이다 6월부터 감소하기 시작하여 9월에 유의적으로 가장 낮은 발현을 보였고, 10월부터 다시 발현이 증가하기 시작하여 12월까지 점차 증가하는 경향을 보였음(그림 9D).

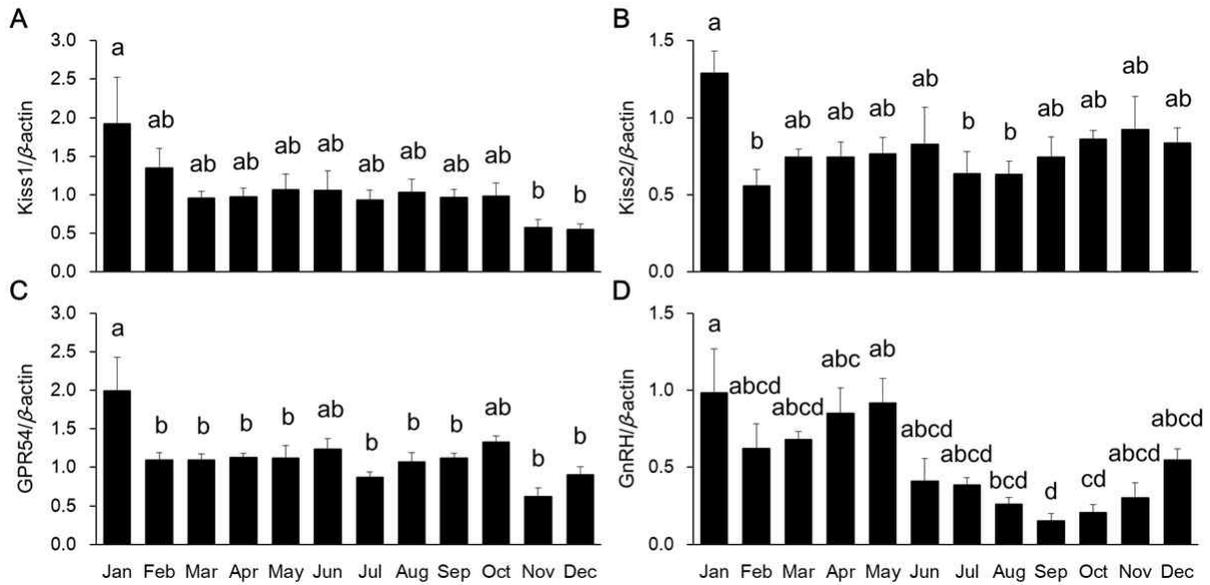


그림 9. 실내 사육시설내 양식1세대 암컷 붉바리 뇌에서의 kisspeptin1(A), kisspeptine2(B), GPR54(C), GnRH(D) mRNA의 월별 발현변화.

- 양식1세대 암컷 붉바리 뇌하수체에서 FSH β 와 LH β mRNA의 월별 발현변화를 조사한 결과, FSH β mRNA는 8월에 가장 유의적으로 발현이 높았으며, LH β mRNA는 뚜렷한 유의적인 차이가 나타나지 않았음(그림 10).

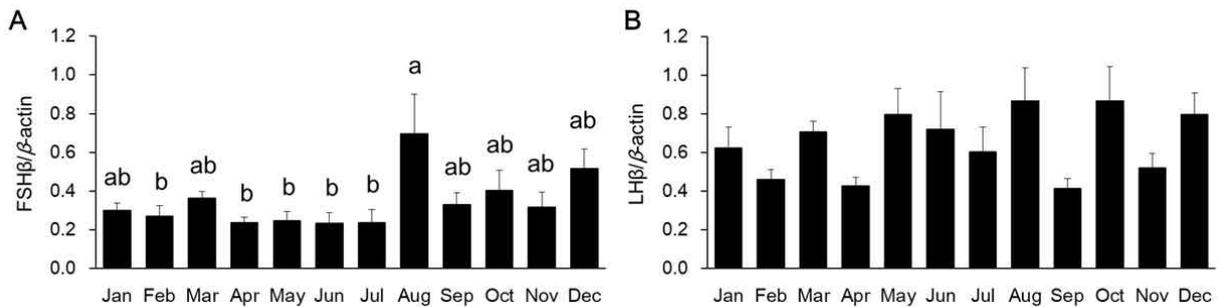


그림 10. 실내 사육시설내 양식1세대 암컷 붉바리 뇌하수체에서의 FSH β (A)와 LH β (B) mRNA의 월별 발현변화.

- 실내 사육시설내 사육하고 있는 양식1세대 암컷 붉바리의 번식생리특성을 조사한 결과, 1월부터 3월까지의 미성숙단계(immature phase)로서 낮은 값의 생식소 중량지수와 주변인 기관모세포들로 가득 차 있는 난소의 특징이 관찰되었고, 4월부터 5월에는 생식소중량지수가 여전히 낮은 값을 보였지만, 난소에서 유구기관모세포가 관찰되면서 성장기단계(growing phase)의 특징이 나타났음. 이후 6월부터 7월까지의 생식소중량지수가 증가하기 시작하여 가장 높은 값을 보였고, 난소는 성숙한 난황구기관모세포들이 가득 차 있는 성숙기

단계(mature phase)의 특징이 관찰되었음. 8월에는 생식소중량지수의 급격한 감소와 난소내 산란흔적이 관찰되면서, 이 시기가 붉바리 암컷의 주요 산란시기(spawning season)로 추정되며, 9월부터 12월까지는 다시 낮은 생식소중량지수와 난소내 주변인기난모세들이 관찰되는 회복기(recovering phase)의 특징이 관찰되었음. 이를 통하여 양식된 붉바리 암컷의 주요 성 성숙 시기는 6월부터 7월이며, 8월에 산란시기를 갖는 것으로 판단됨(그림 11).

- 번식관련인자의 월별 발현변화를 조사한 결과, 뇌의 시상하부에서 발현되며 초기 puberty와 성성숙 개시에 주요 조절인자로 알려지는 kisspeptin과 그 수용체인 GPR54가 1월에 높은 발현을 보였으며, GtH의 분비를 조절하는 GnRH 역시 1월에 가장 높았고, 이후 번식시기까지 감소하는 경향을 보이다 9월 이후 다시 증가하는 경향을 보였음. 뇌하수체에서 난모세포들의 성숙을 유도하는 역할을 하는 FSH β 는 산란시기로 추정되는 8월에 가장 높았으며, 배란유도호르몬인 LH β 는 특이적인 발현패턴이 관찰되지 않았음. 이는 양식1세대 3년생 붉바리에서 아직 성 성숙에 가입하지 못한 개체들이 존재하며, 이러한 개체들이 뇌하수체에서의 GtH 분비가 정상적으로 이루어지지 않았기 때문으로 판단됨(그림 11).

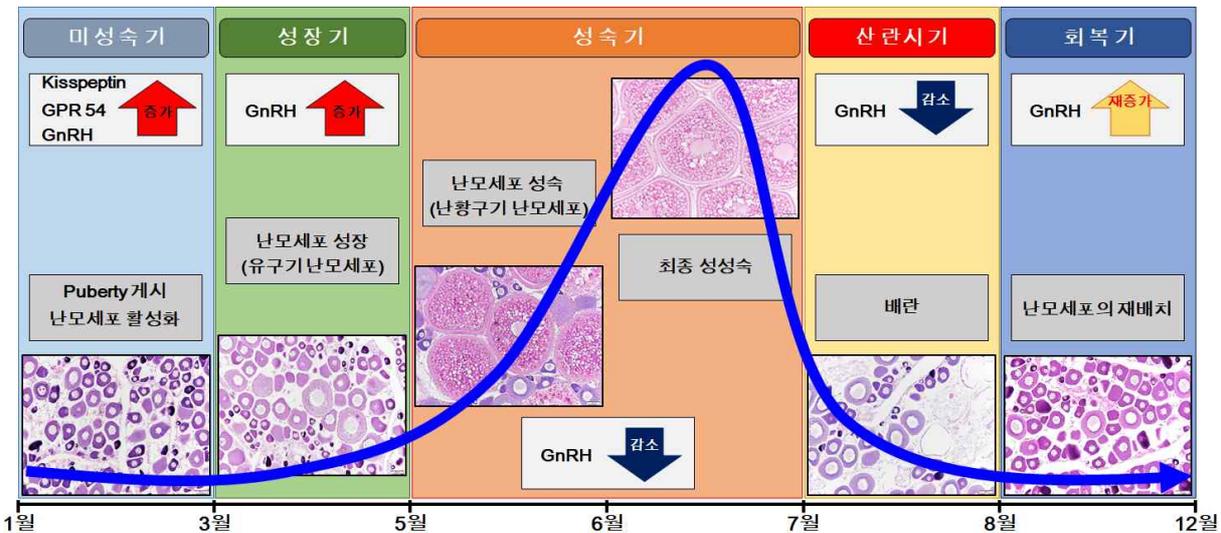


그림 11. 실내 사육시설내 양식1세대 암컷 붉바리의 생식소 발달과 번식생리 특성 변화.

Kisspeptin; puberty 및 성성숙 개시호르몬, GPR54; Kisspeptin 수용체,
GnRH; 성성숙호르몬방출호르몬

(2) 양식1세대 암컷 붉바리의 번식생리 특성 맞춤 사양관리

- 양식산 붉바리 세대별 번식생리 특성에 따른 성숙유도 및 수정란 생산을 위한 사양관리 지침 구축을 위해 인공수정을 통해 생산된 양식1세대 붉바리를 대상으로 광주기 조건에 따른 생식소 발달 변화를 조사하였음.

- 실험어는 인공수정을 통하여 생산된 양식1세대 붉바리(F1) 200마리(BW 429.1 ± 10.7 g, TL 30.7 ± 0.3 cm)를 무작위로 선별하여 각각 단주기(short day, SD), 장주기(long day, LD)의 그룹으로 나누었고, SD는 광주기가 10시간 명기와 14시간 암기(10L:14D), LD는 14시간 명기와 10시간 암기(14L:10D)의 조건이었으며, 모든 그룹은 자연수온조건에서 1일 2회 사료 공급하였음.
- 광주기 처리는 4월부터 6월까지 총 12주간 처리하였으며, 광주기 조건에 따른 양식1세대 붉바리의 생식소중량지수 변화를 조사하기 위하여 실험 시작시와 실험 종료시에 체중과 전장, 생식소의 무게를 측정하였음.
- 광주기 조건에 따른 생식소중량지수의 변화를 조사한 결과(그림 12) 실험 시작시 생식소중량지수는 0.5 ± 0.1 의 낮은 값을 나타냈고, 12주 후 SD그룹의 생식소 중량지수는 0.4 ± 0.1 로 실험 시작시와 거의 유사한 경향을 보였으며, LD그룹은 0.8 ± 0.2 으로 실험 시작시보다 증가하였음. 실험 종료시 그룹간 생식소중량지수의 차이를 조사한 결과 SD조건에 비해 LD조건에서 유의적으로 높은 값을 보였음($P < 0.05$)
- 광주기 조절을 통한 양식1세대 붉바리 암컷(F1)의 생식소중량지수를 조사한 결과, 단주기 조건에서 생식소중량지수는 실험 시작시와 비슷한 값을 나타냈으며, 이는 인위적인 단주기 처리가 생식소의 발달을 저해하는 요인으로 작용한 것으로 판단되며, 반대로 장주기조건에서는 단주기그룹에 비하여 생식소중량지수가 증가하는 경향을 나타냈고, 이는 인위적인 장주기 처리가 붉바리 암컷의 생식소발달을 촉진하는 요인으로 작용한 것으로 생각됨.

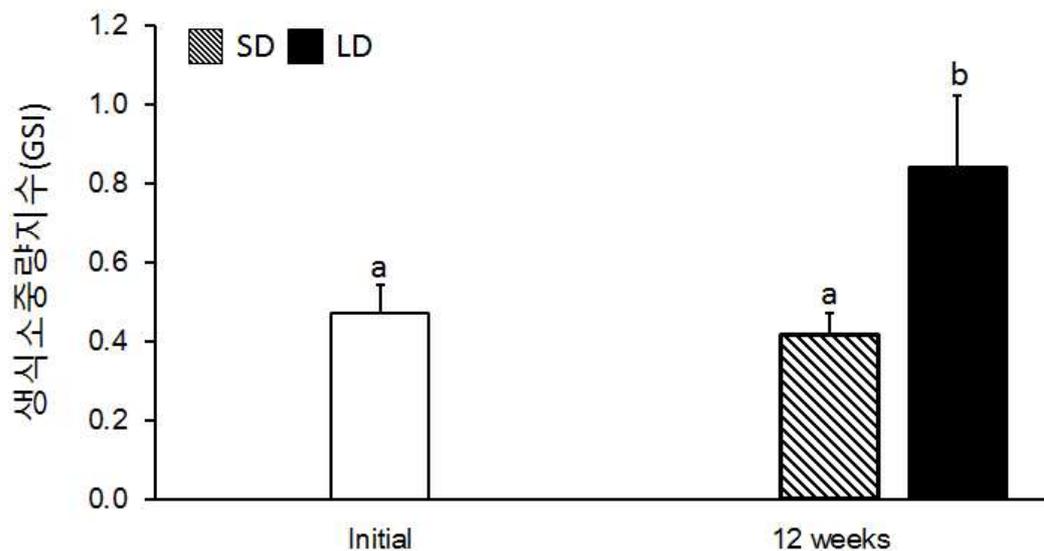


그림 12. 광주기 조건에 따른 생식소중량지수(GSI)의 변화.

SD, short day, 단주기; LD, long day, 장주기

다. 분자유종 형질연관 마커개발

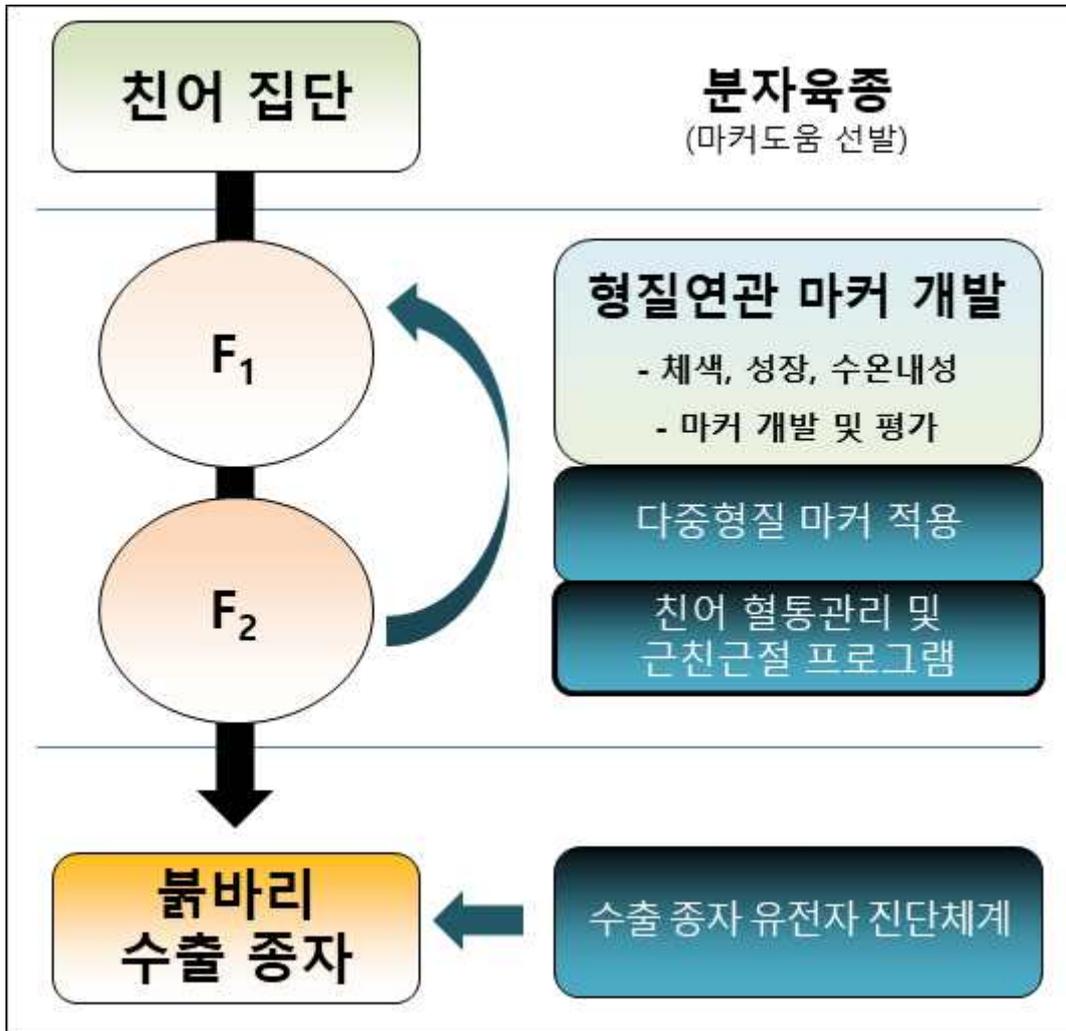


그림 13. 불바리 우량종자 분자유종에서 형질연관 마커개발.

(1) 성장, 수온, 기형, 체색 관련 유전자 표지 개발

(가) 교배생산 자어에서 RNA 전사체 분석

- 교배어군에서 최고, 최하위 어군 선정하여 total RNA 분리하였음.
- 분리한 total RNA를 대상으로 RNA-seq 분석을 통한 전사체 정보를 수집하여 database를 구축하였음.

Query							Subject							Score		Identities		Positives		Gaps		Frame
Name	Fast	Slow	Length	Start	End	Coverage	Description	Length	Start	End	Coverage	Blk	E-Value	Match/Total	Pct(%)	Match/Total	Pct(%)	Match/Total	Pct(%)	Query		
c194_g1_i1	0.51	0.36	423				No hit															
c201_g1_i1	0.64	0.66	373				No hit															
c2019_g1_i3	0.77	0.86	3612	2940	736		58.08 ZFIN:DB-GENE-070765-164 - symbol zfp2 - zinc finger RNA binding protein 2 species 7365 "Danio rerio" [GO:004688]	1011	289	991	89.54	927	0.542738	73/600738	12.15%	81/35738	22.66%			4	-3	
c1782_g1_i1	0.88	2.06	277				No hit															
c30147_g1_i6	2.93	1.15	3358	3128	2043		32.34 UNPROT:BNF1NFY6 - symbol HDAC3 "Uncharacterized protein" species 9031 "Gallus gallus" [GO:004407 "histone"]	377	16	377	96.02	576	0.278362	76/330362	22.70%	91/9362	9.71%			0	-3	
c5120_g1_i1	3.23	0.17	381	33	374		34.86 UNPROT:BNQ27340 - symbol AC009010000100 "Reverse transcriptase" species 510516 "Aspergillus oryzae RIB40"	1381	454	559	8.82	60.1	0.0000001	37/115	32.17%	50/2116	23.64%			1	3	
c3193_g1_i1	1.62	0.71	163				No hit															
c32100_g1_i1	0.4	0.63	1315				No hit															
c32216_g1_i1	0.98	1.5	802				No hit															
c5103_g1_i1	0.66	1	1159	3	1157		99.65 ZFIN:DB-GENE-011128-3 - symbol jag2b - jagged 2b species 7355 "Danio rerio" [GO:0001888 "hair development" in]	1254	636	1016	30.54	733	0.307085	79/341395	23.14%	88/2385	37.34%			0	3	
c33649_g1_i1	1.49	0	262	2	139		54.76 UNPROT:BNQ27340 - symbol AM3.1 "Abundant inheritance of mitochondria protein 3.1" species 284593 "Candida glabrata"	661	416	454	7.41	34.7	0.0092149	42/2749	15.28%	55/349	15.76%			6	2	
c33812_g1_i1	1.32	2.84	208				No hit															
c33606_g1_i1	0	2.62	306				No hit															
c33607_g1_i1	2.05	0	206				No hit															
c33617_g1_i1	9.08	1.52	222	87	1		39.19 ZFIN:DB-GENE-040425-1268 - symbol ma2b - mouse RNA-binding protein 2b species 7355 "Danio rerio" [GO:002	408	1	29	7.11	60.5	9E-11	28/29	96.55%	96/929	10.33%			0	-1	
c33602_g1_i1	0.95	0	231				No hit															
c33331_g1_i1	1.08	0	221				No hit															
c3437_g1_i1	0.22	1.44	607	2	340		55.85 F019045761 - symbol CHK1 "Chk1" species 7227 "Drosophila melanogaster" [GO:016772 "transferase act	888	665	772	12.16	50.1	0.000005	30/114	26.32%	48/7114	0.67%			6	2	
c33610_g1_i1	1.35	1.83	207				No hit															
c33439_g1_i1	0.67	0.93	314				No hit															
c33649_g1_i1	1.13	0.53	251	4	249		98.01 M01903185598 - symbol Rck "reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs" species 10090 "Mus mu	971	774	855	8.44	132	3E-26	45/82	54.76%	80/982	8.15%			0	1	
c11833_g1_i3	0.37	0.41	2716	47	1168		41.31 ZFIN:DB-GENE-101283-3 - symbol ad42c "short chain dehydrogenase/reductase family 42c, member 2" species 1	444	37	409	94.01	491	3E-163	250/374	66.84%	88/305374	0.029%			0	2	
c33190_g1_i1	1.07	0	222				No hit															
c11898_g1_i1	2.41	1.64	2779	452	2287		66.07 ZFIN:DB-GENE-070410-112 - symbol zgc:162908 "zgc:162908" species 7355 "Danio rerio" [GO:005675 "cellular c	618	1	603	97.57	704	0.427617	89/478517	0.0186%	77/19517	0.39%			3	2	
c12077_g1_i1	0.46	0.38	524				No hit															
c40164_g1_i1	0.42	0.58	303				No hit															
c40122_g1_i1	0.58	0.27	337				No hit															
c40021_g1_i1	0.53	0.70	222				No hit															
c41474_g1_i1	1.05	0.4	1510				No hit															
c14331_g1_i1	0.76	1.07	250	234	1		93.5 UNPROT:BNF1PT20 - symbol DML2 "Uncharacterized protein" species 9515 "Canis lupus familiaris" [GO:0005615]	3057	2607	2684	2.55	97.4	5E-23	49/78	62.82%	78/978	7.97%			0	-2	
c14370_g1_i1	212.51	209.28	1912	1780	161		84.73 ZFIN:DB-GENE-020419-5 - symbol cct3 "chaperone containing TCP1, subunit 3 [genus]" species 7355 "Danio rerio"	543	1	540	99.45	550	0.478540	88/510540	0.0172%	94/9540	0.98%			0	-1	
c14406_g1_i1	0.7	0.24	355				No hit															
c42793_g1_i1	1.02	0	261				No hit															
c42963_g1_i1	0	0.59	321				No hit															
c14599_g1_i1	0.42	0	558				No hit															
c16041_g1_i1	0.58	1.34	337				No hit															
c43866_g1_i1	0.8	0.25	535	426	145		52.71 UNPROT:BNF1MA7 - symbol Gga 43370 "Uncharacterized protein" species 9831 "Gallus gallus" [GO:005913 "cell	1830	1094	1193	5.46	39.3	0.01532108	29/46108	0.0629%	43/22108	0.19%			20	2	
c16434_g1_i1	0.68	0.5	618	616	5		99.03 ZFIN:DB-GENE-041114-180 - symbol tfr3a "sphingosine-1-phosphate receptor 3a" species 7366 "Danio rerio" [GO	399	84	297	51.13	308	2E-102	174/204	85.30%	93/9204	1.01%			0	-3	
c17114_g1_i3	1.87	1.85	3956	41	3530		85.69 ZFIN:DB-GENE-101130-3 - symbol rascl3 "RAS protein activator like 3" species 7355 "Danio rerio" [GO:0007165 "ni	1124	27	1116	96.89	1287	0.7181134	83/8521134	0.0096%	75/481134	0.0156%			4	3	
c17800_g1_i2	0.66	0.14	1919	1786	1211		31.67 ZFIN:DB-GENE-090313-44 - symbol uc0211-15013.1 "uc0211-15013.1" species 7355 "Danio rerio" [GO:000543	1803	1418	1803	11.6	222	9E-60	133/192	69.27%	89/6192	1.44%			3	-1	
c47589_g1_i1	0.65	0.45	266				No hit															
c48815_g1_i1	0.67	0.46	462	461	54		88.31 ZFIN:DB-GENE-040525-182 - symbol wip2b "WAS/WASL interacting protein family member 2b" species 7355 "Dan	441	312	441	29.48	156	2E-44	111/139	79.14%	84/12139	0.69%			8	2	
c18449_g1_i1	83.29	28.59	1354	224	1327		81.54 ZFIN:DB-GENE-040912-2 - symbol serpinf1 "serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antitrypsin, pigment epithel	406	34	406	91.87	485	1E-167	231/373	61.93%	61/365373	0.0167%			1	2	
c18062_g1_i2	2.35	3.22	1864				No hit															
c18094_g1_i1	1.94	0.43	4866	4816	338		89.83 ZFIN:DB-GENE-081105-17 - symbol cpm1 "cardenolide-phosphate synthase 1, mitochondrial" species 7355 "Danio re	1482	1	1482	100	2563	0.13141493	88/13671493	0.0006%	93/111493	0.08%			0	-3	
c19180_g1_i1	0.77	1.43	1837	169	2		9.15 UNPROT:BNM0031 - symbol HNRKPL1 "Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 1" species 9506	641	356	411	8.74	109	1E-23	50/56	89.56%	100/956	10.46%			0	-1	

그림 14. RNA-seq 분석을 통해 산출된 RNA 전사체에 대한 유전자학적 분석결과.

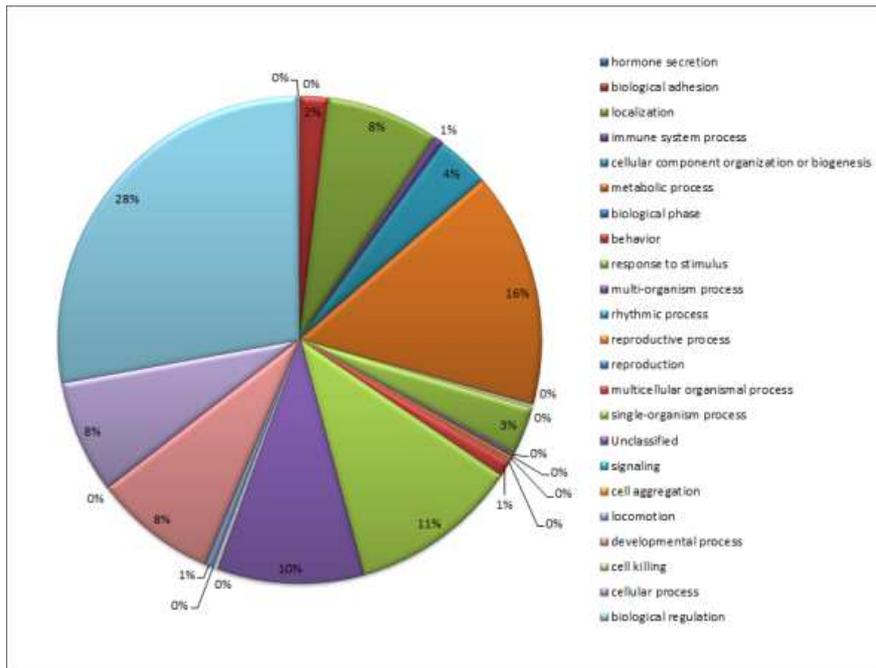


그림 15. 분석한 전사체의 생물학적 기능에 따른 분류.

- insl3, gnrhr1, HSF5, cbln8, cbln9 등은 성장인자(growth factor), 성장호르몬 관련 유전자(growth hormone-related genes), MYH11, MYO18A, myh6, smyh3, smyh2 등 근육세포 분화를 조절하거나 및 근섬유를 구성하는 단백질 유전자들임.

㉔ 형질 관련 후보 유전자의 전사 및 cDNA 서열 분석 (2017)

▶ Real-time PCR을 이용한 성장 관련 GNRHR1 유전자 전사 및 cDNA 서열 분석

- 속성장 개체와 저성장 개체의 생식소와 뇌하수체에서 분리한 RNA를 역전사한 후, real-time PCR을 이용하여 전사 수준을 비교하고, cDNA 서열을 결정하였음.

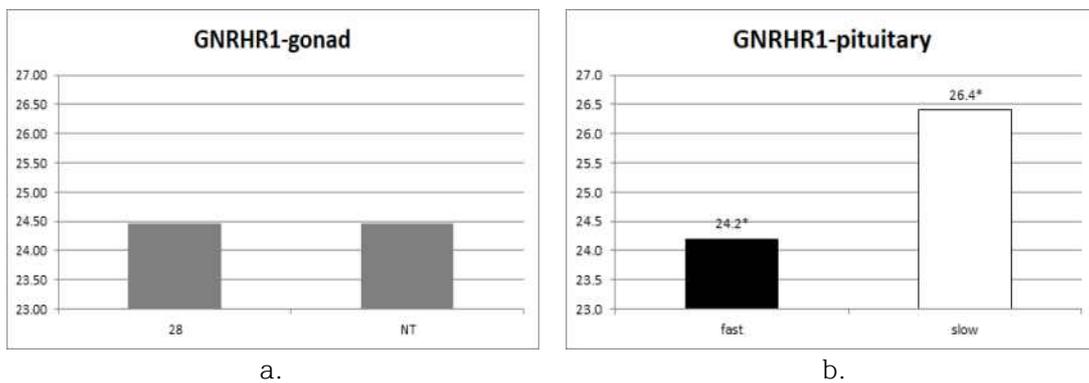


그림 17. 속성장과 저성장 개체의 생식소(a)와 뇌하수체(b)에서 GNRHR1 유전자의 전사 수준(Ct) 비교. *, 5% 신뢰수준에서 유의차를 나타냄.

- GNRHR1 유전자의 전사 수준을 비교한 결과, 생식소에서는 속성장과 저성장 사이에서 유의적인 차이가 없었고($P>0.05$), 뇌하수체에서는 유의적인 차이를 보였음($P<0.05$).
- 뇌하수체의 경우, 속성장 개체의 Ct값(24.2)이 저성장 개체의 Ct값(26.4)에 비해 2정도 낮은 수준을 보였으며, 이는 속성장 개체의 뇌하수체에서 저성장 개체에 비해 4배 이상 높은 전사활성을 나타내었음.

```

CAGGAAAAGAAGCAGTCTCACAGATCTGCCTTTTATTTTGATCAAATGACTCTAAATGGGAATAAAATCAATAATCGATCCTGTAAAACGTGATCAATTGGTT
GAAGTCTCTCTGAAACAGAATCATAAATAAGAGGTTTTTGTCCCGCTGAAAGACTCAGAGTCCCTGATCCACCTTCAGCTGATCCAGTTCCTGGTTTCCACAC
TTTGACAGTGTTCAGGTACAAAATGTGACATCATTTAACCTCTGTCCCTCTGATTTGCTACTGTTAGTCTCCTGCAGGCTGGTTGTTGGTGGCGGGGTCGCG
CTCATGTCTCCGCGCTGTGAGGATCCTGCCTGGCAGACAGTCGGTCCGGAGATCGCAGTGAAGCGTCGCTCTTCGTCTGTCGGCAGCAGGCGGGCAGGTCCG
CCCTGAAGGATGGCGTGTAGAAGCCGTAGATGACGGGGTCGCAGCAGGTGTTTCAAGTTCCTCCAAACAGGAAGAGGGCGTGGTGTACGTACTCAGGTGTGACG
CGCAGCATGTCCGGCTGGAACCAAGTACCAAAATCCCCAGCAGGTAGTACGGAGTCCAGCACACCACAAAGGACAGCACGATGACCACCGTCACTTCAGAGT
CTTCATGCGAGCCCTTTGGGATGATGTGAGTGCCTGCGACGCGAGGTACGACTCACCTGCTTTGTCTCTCAGGTGCTGCAGGTGGATGTGCAGCAGGATGC
GGCTGTAGCAGCAGCTCATCACACAGCAGGGGGACGACGTACAGCGTGAAGTGAACATGTTGTAAACAGTTTCCCTGCCAGCGGTGGCTGAAGCTGCCG
TGAGTGGCACACTGAGTGAAGTCCACGGCTCCACCCTGATCGTCCGGAAGATAAACAGCTGTGGTGTGCAAGCACAGGCTGAGGCTCCAGGCCAGCAG
CAGCATGCGTCGGTTCCCTGCGGTGCGCTTCCAGGGCTCCAGCGGGTGCAGGATGGCGTGTGGCGATCGAGGCTGATGACAACAAGGATGAAGCGGGAGG
CGTGCATGGCGAACAGCTTCAGGAAGCAGAGCAGCTTACAGAGCACGCTCTCCATACCACTGCACGTAAACGTTCCACACGGCATCCAGAGGCATCACCC
ACAAATGTCATCATCAGGTCAGCTGACGCCAGGCTCAGCATTAACGGCCGCAAGGTGAGACGCCAGACGCCGACCACGCCACACCGCTGGCAAAATAG
GGCGAGTTACTGCAGGCAGCAACAGGAAAAGGAAGAATGTGGCTCCGACGCCGAACTGAGCAGCGGGGTGAAGGTGGGGGCTCCAGTCTGTGAGAG
GGGGAACTGGGAGTGTGGGAG

```

그림 18. GNRHR1 유전자의 cDNA 서열

- GNRHR1 유전자 서열을 결정한 후 BLAST 검색을 통해 유사 서열을 검출한 결과, *Epinephelus coioides* GNRHR 1 서열(DQ536435.1)과 97.4%의 유사도를 나타내었음.

▶ Real-time PCR을 이용한 성장 관련 MYH11, MYH6 유전자 전사 분석

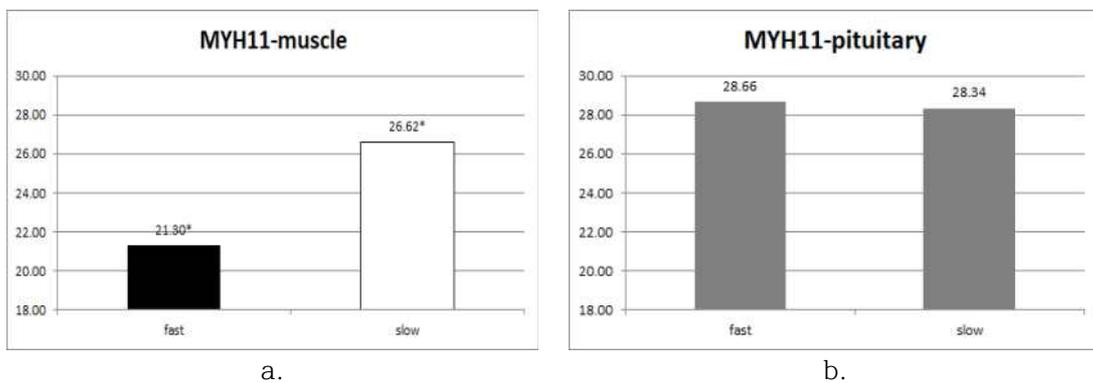


그림 19. 속성장 개체와 저성장 개체의 근육(a)과 뇌하수체(b)에서 MYH11 유전자의 전사 수준(Ct) 비교. *, 5% 신뢰수준에서 유의차를 나타냄.

- MYH11 유전자의 전사 수준을 비교한 결과, 뇌하수체에서는 속성장과 저성장 개체 사이에서 유의적인 차이가 없었고($P>0.05$), 근육 조직에서는 유의적인 차이를 보였음($P<0.01$).
- 근육 조직에서는 속성장 개체의 Ct값(21.30)이 저성장 개체의 Ct값(26.62)에 비해 5.32 정도 낮았으며, 속성장 개체의 MYH11의 전사가 저성장에 비해 약 40배 정도의 높은 전사 활성을 나타내었음.

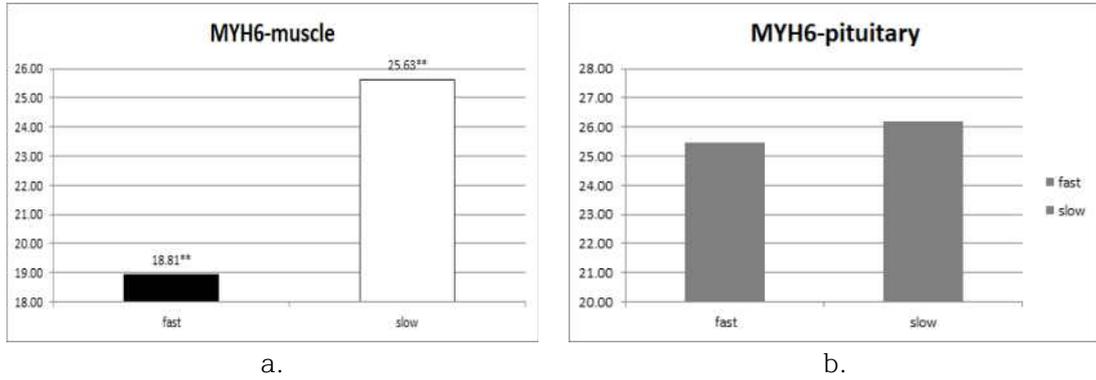


그림 20. 속성장 개체와 저성장 개체의 근육(a)과 뇌하수체(b)에서 MYH6 유전자의 전사 수준(Ct) 비교. **, 1% 신뢰수준에서 유의차를 나타냄.

- MYH6 유전자의 전사 수준을 비교한 결과, 뇌하수체에서는 속성장과 저성장 개체 사이에서 유의적인 차이가 없었고($P>0.05$), 근육 조직에서는 유의적인 차이를 보였음($P<0.01$).
- 속성장 개체의 Ct값(18.81)이 저성장 개체의 Ct값(25.63)에 비해 6.7정도 낮은 수준을 보였으며, 속성장 개체의 MYH6의 전사가 저성장 개체에 비해 약 103배 정도 더 높은 전사활성을 나타내었음.

② 수온 관련 유전자 선정

- RNA-seq 분석결과에서 FPKM 수준이 28℃ 또는 자연수온 개체에서 20배 이상 차이를 보이는 유전자들을 성장형질 관련 차등 발현 유전자의 선별하였음.

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I
4	c32397_g1.t1	96.26	0	#DIV/0!	0.03	1968	93	1511	75.96
5	c33367_g8.t1	73.36	0	#DIV/0!	0	290	47	217	58.37
6	c24820_g1.t1	66.22	0	#DIV/0!	0	494	419	66	71.66
7	c42467_g1.t1	68.01	0	#DIV/0!	119.15	298	4	297	98.66
8	c34370_g1.t1	61.02	0	#DIV/0!	0	538	457	26	80.3
9	c13827_g1.t1	39.16	0	#DIV/0!	0	528	469	221	47.16
10	c23269_g1.t1	38.57	0	#DIV/0!	0	361	22	361	94.02
11	c466_g1.t1	35.06	0	#DIV/0!	0	1026	843	157	66.96
12	c32872_g2.t2	25.15	0	#DIV/0!	0	2799	134	1345	61.2
13	c6210_g1.t1	25.22	0	#DIV/0!	0	379	352	2	82.61

그림 21. 붉바리 자연수온집단과 28°C 집단의 RNAseq 분석에서 얻은 차등발현 유전자. 자연수온에서 발현되지 않고, 28°C에서만 전사체가 발견된 유전자들.

○ Cd36_44970, CAGL, Q9DUM3, adh8a, ROCK2, spata18, ODC1, CFAP99, ins13, gnrhr1, sept4a, has1, HSF5 등은 28°C와 자연수온에서 전사량 증가 또는 전사체 없는 차등발현 유전자들을 후보 유전자로 선정하였다.

㉔ 수온 관련 후보 유전자의 전사 및 cDNA 서열 분석

▶ Real-time PCR을 이용한 수온 관련 DESMA, ODC1, PARP1 유전자 전사 분석

○ 수온 28°C에서 성장한 개체와 자연수온에서 성장한 개체의 생식소와 뇌하수체를 대상으로 DESMA, ODC1, PARP1, SPA17, SEPT4A의 전사 수준을 비교하였음.

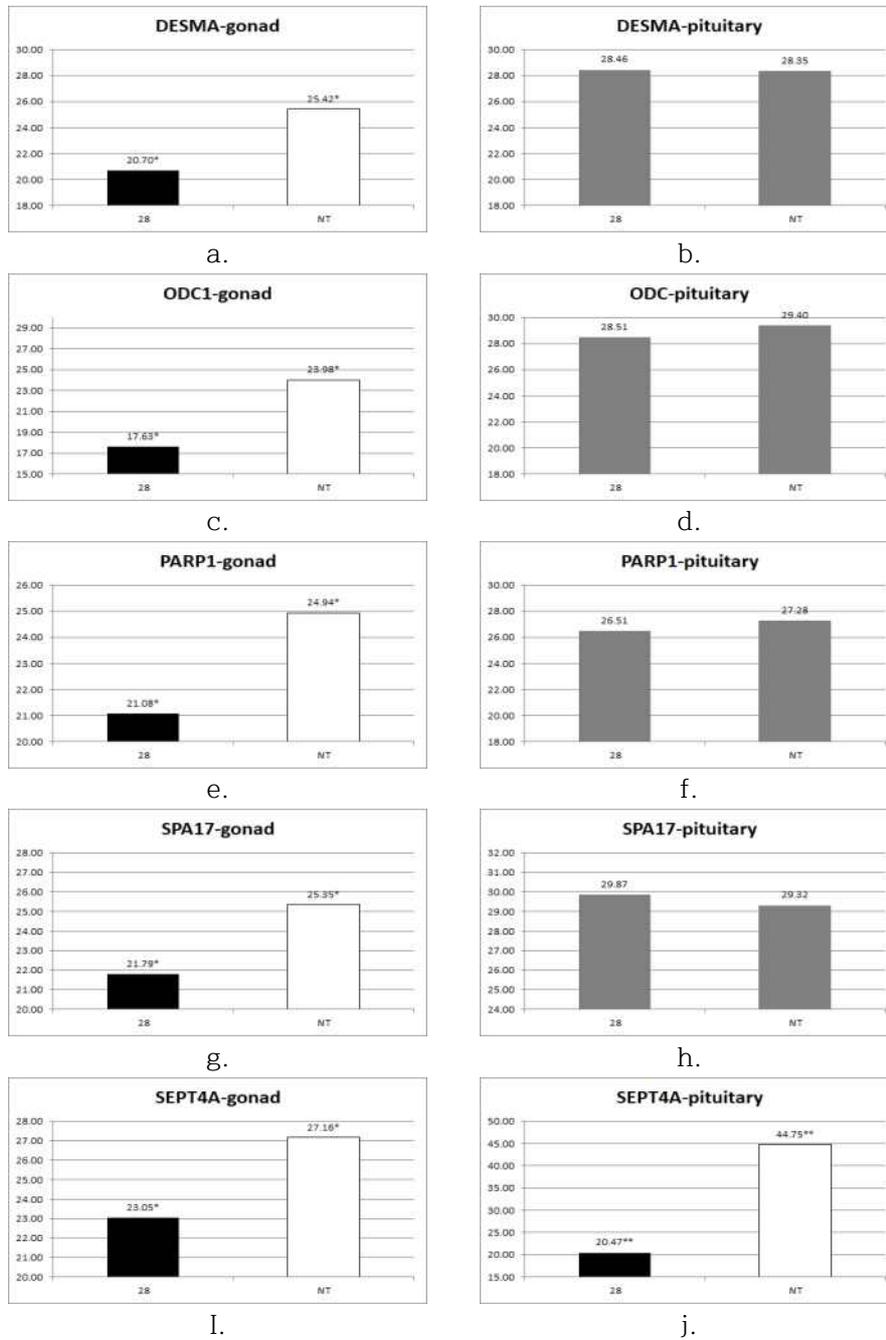


그림 22. 자연수온과 28°C 수온에서 성장한 붉바리 생식소와 뇌하수체에서 DESMA, ODC1, PARP1, SPA17, SEPT4A 유전자의 전사 비교.

a, 생식소 DESMA; b, 뇌하수체 DESMA; c, 생식소 ODC1; d, 뇌하수체 ODC1; e, 생식소 PARP1; f, 뇌하수체 PARP1; g, 생식소 SPA17; h, 뇌하수체 SPA17; i, 생식소 SEPT4A; j, 뇌하수체 SEPT4A. *, 5%; **, 1% 신뢰수준에서 유의차를 나타냄.

○ RNA-seq. 분석을 통해서 선정된 DESMA, ODC1, PARP1, SPA17 등은 생식소에서는 모두 전사활성이 유의적인 차이를 보였고($P < 0.05$), 자연수온보다 더 높은 수준을 보였음. 반

면, SEPT4A의 경우 생식소에서 전사활성이 높았으나, 뇌하수체에서도 유의적인 차이를 보였고, 확연히 높은 수준의 전사활성이 28°C에서 관찰되었음.

```

>DESMA
GTATACAGTAATATTATCCACGGAACCCACACAGGAGAAACACAACACAGAGACAGAAAGATGGATAGTCTGGACTACCATGTGAACTATGTTCAAGTCTTG
GGGACTAAAATAAGGAGAGATTTAGCTGCCATCAATGTGAGGCTTTGTGAGTGTAAAAATAAAAATGCACGCCAGACTGAAAAATACAGGCCAAAACCCCT
TTATGCCACCCCTCGCTCTGCTCAAGGGTGACGACATCATAGACACCTGTGACTTAGACCTCAGAAAAACAGATTTTTTGACATGCAGAACTGGATAATTGATG
CTAACACAAAACCTTGCACAGACTACTCACAACTCAAGGCCGCAAAATCAGACAAATTCGGACCTTAAACACCCAGCTTCAGGCATGTAATCTGAAGCAGATC
CAGACTGAAAAGGCAACGAGGACCTCCGTCGTCAGCTAGAGAAGGCCATAAAACGGCTCGGAAAGCCTGATGACAGCTGTGCAGAGAGTACAGTAAATGT
GGAGAGCCTGTGTAGAGCTACAACCTCTTCAGATGAGGACCTTCATGTTTTCTGAACCTCAGTTAAGGAACATGGAGGTCAGGAGGAGGAGAACTGGTTCCG
TCAGGGCGTTAAACCCAAACGCGCAGATAAAAACGACAACGTTCCCTGATGAGAAGGAGTGTGTACCCTCTACACAGAGCCGTACGCACCTGCTGCAGTG
AGTGCAAGTGAGTGC

>ODC1 3'-partial sequence
CCAGCTCTCTAGCACGTTCCAGCAGCTTACCAACCGACACAAGTCTGACTCCAAACTTTAAGTTAAGTCTTAAACAGTGATGAGAGTCACTCCACTGCAATG
CGGAGCACAAAGTTTGGCTTTGGTGTGACACAGAGAAATTTTTAGGAGTTTCACTCCACTATCAAAAGTCATCATATCTACTCCATGAGCACAGGCA

>PARP11
CTCTCTCTCCCCCTTTTATGCTTGTCTATCCTATCGATTAAAGGCTAAAATGCCCTCCCAAAAACATCTTTAAATATCTTTTTACTGCAGAAACATTC
CGACCACAAGTGCTCTGTTCCAGAATGCACCTGTACAGTACACAACTGTACACAGAGTCTTTATTGCTTTCGTTTTCCAGTTTCTCCAAGGCACCTTTATA
GACGAGCCATGCTCCTGTTTCGGCTCTGGATCAGACTTGTCTTGTGTTGGGCCCTCAGTAGAACTCAATCAGATACTTGGGTAATCTGATTGCTGTCAAA
AATGACATAAATCTTTGGATTGGCCATGTCTGCCACACAGCTGTCTGTAAGCTGGTGAAGCTGGTGTCCCTTGGAGGGCCGCTGCAGTACATGGGATGAC
CGACTGTGTATTTCCGACAAAGACTCTGGCCAGGAACATGGACTTGTAGGGTGGCTCACTAGCAAAATATGGAGGGGCGAGGCGGTGTCTCTGCAGGGTG
GTGTTGTGCTTCCCTGTGGTGTGACAGAAATTTACTGGAGTATTTAGCATCCCGGGCAAAAGTAGCTCCCTTTTCCATAGACATCGCCATGGCTTCTGTGAG
CCGCCAGTCAAAGTTAAAAGTACATATAGCTTGTATGTTGCTGTGCTGCTGCCATGAAACAGCATTGCTCCTCAATATCCAACGTGCGCTTGACTTTTC
GCAACTGTGTTTTCTTCCAGAGAAGAAATCCCAAGTCCAGGTTCTGAATCCTCTGGATGGATTTGATCGGATGATCCATCGTCCGTTCTGTACAGTCTG
GCAACCTCTTTAAACTCGTAGTGTCTCTTCCAAGCTGGATGATCTGATAGGGCTCATCTGTATTGATTCTCTCCAGTGACACGGAAACAGGCAAGGCCGG
ATTATCACAAATAAACCTAAAGCCAGTCCGAGAGTGGAGGGAGCGTTTGTATCGGCCGCTGCTTCCCTGTCTGTACATTTATCTGCCGCATCACTGAGAAGT
CCAGTCTGTAGGTGTACTTTGGCCGTGTAAGTCCATGACGCTCCGCTGGTTTTCTGTTGTAGCACTGCTCGATCTGAGCACTTGTTCAGAGAGAGGACGCA
CTGGGATCAATCTCAAACATATGCCACACTCCACACTCAGCCAGGTAGAACCAGCACCAGTTGGGCTCCGAGGTGCCATCTCTCCATCTCAGTGGACTC
CTCCTCCGACGATCTGATGGCTAACATAGCTAAATCGGTTTTCCAGTCCGCTGTGACTGGGTTCTTCTCGGGATATGGATCCCTTCCGTACAAAAGTATTTTC
GTCTCCCTCTGCTTGTACTTTTATTTCTGTTGCGTTCCGACGCGCATTACGTCATGCGTCAATGTGATGTAAGTGGCAGCCCTGGGTTTTG

```

```

>SPA17
TGTCAGCATCCGTTAGTGGACCGTTGCTTAGAAACGGTTATCAACAAAACACAGTAGCTGACAGCTAAAACATTCAGAAGAAACATAAAGGTAGACACGA
ATTGCAAGATATTAAGTAAACATGATAATGTGTGACCATTTTGAATATGCTAAAATATATTTAAGCAATTTAAGTGGTGTGTGACGACTGGCTAATTAGC
ATAGTTGGCTAACTACAACGTTAAGTTAACGTTAGCTCATATTCGGTGAACAACTCCAGTGTAAAGCACCAGGAAAGAAAGTAAATAACAGAGGAGAACTTC
GCCTTCTTCTTTCGAGTCAAGTTTTCCCTCAGTGTACAGAAAGTTACCCTCCAGTGTATCCTTCAACATGTCGGTGCCTTTCTCCAACACTCACCTGAGG
GTCCCTCGAGGGTTTGGTACCATCCCTAGAGGGGCTGACCAGGGAATCCCTGCGGGACCAGCCTGAAGACATCCCTAAATATGCGGCTCAGTACTTCGAGGC
TCTTCTCAGAAAAGAGAAGAGAGTGGCATGGACCCCTGCTGAGTGGGCTCAAAACTGGAAGACAGATTCTACAACAACCATGCGTTTAAAGGCAACTGAGG
CTAGTGTAAAGAAGACCTGCTGCAGAGGAGACCAGCTCCAAGTGAAGTCACTTTATGTGCTATCAGCAGCCAGGAGGATCAGAGAGAGAGGACAGAGA
CATGGAGGACAGAAATAGTAACAAGTGAAGTGAGAAGTGACAAGAAATGAGAATAAACTACTGTATTTTTTCATTTTTCTGAAAAAAA

```

```

>SEPT4A 5'-partial sequence
GACGGTGTGAGCACTGAAGACATTTGTAGTGTATCTCCTGTAACCCAGGTGTGGAGGCTGGTGTGTCAAAAGTGCACAGGGTAGCAAAATGGAGTCCCTCTG
TGAGGAAATTACCAGTGAGGAAACCAAGCAGTTGTGGATGGCATGTTGTCAGTCTGTCCATTGAGGACCAAGAGGACACTCACTTTCCATACGCCATGA

```

그림 23. DESMA, ODC1, PARP1, SPA17, SEPT4A 유전자의 cDNA 서열.

○ 수온 관련 전사량 분석에 이용한 유전자들(DESMA, ODC1, PARP1, SPA17, SEPT4A)의 cDNA 서열의 전체 또는 일부를 결정하였음.

③ 체색 관련 유전자 선정

- RNA-seq 분석결과에서 체색 관련 후보유전자는 melanin 대사, melanocyte 분화와 이주, body pigmentation에 관련된 유전자들을 검출하였음.
- tyr, slc24a5, tyrp1b, trmp7, slc45a2, pmch, MYO5A, pmchl, oca2, pmel, hipk2, itk, merg, v-kit, sox10, EDN3, gfpt1, mc5rb, agrp2 등의 유전자들을 후보 유전자로 선정하였음.

- TYR 유전자의 전사량은 짙은 체색과 옅은 체색 사이에 유의적인 차이가 없었음($P>0.05$).
- HIPK2 유전자의 경우 짙은 체색과 옅은 체색의 피부에서 전사 수준이 유의적인 차이를 보였고($P<0.05$) 짙은 체색 피부의 Ct값(21.30)이 옅은 체색 피부의 Ct값(26.62)에 비해 1.3 정도 낮은 수준을 보였으며, 이는 짙은 체색 피부에서 HIPK2 유전자가 약 2.5배 정도 높은 전사활성을 나타내었음.

<p>HIPK2 3' partial sequence CAGACGCACCATTTCTCTCAGCGAATAATATGAACAATTTAAAGGAAAGATAGGCTTGCCGAAGTAAAGGAATGCCAGGGTGCATCCTAAT CCCCACATATCAATGGCCTCAGACAAAGGGAGGCCCAACATCACCTCTGGAGCCCTGAATCCATATATCTGCATTGCAGTACCAACCTTTA CTTGGTTCACTGGCCTAGCCATA</p> <p>TYR 5' partial sequence GTCGCTGTGGAGATCACATAGTCACGGTTGACGGTGTTTTTTCCAGGTTTCAGATAAGAGATAAACTTCTGTTGCTCGGCAGGTGACAAGG TCAGGATGTTCTGCGCACTGACTCCCTGTATTTCAGCACAGTTTGAACCCAGTAACCAAACCTGCATTGCCCACAGTTAAACCTCCATA GTTACCAGCACAGCGACACGTCCGGTTAAAG</p>

그림 26. 붉바리 HIPK2, TYR 유전자의 cDNA 서열

- 붉바리 HIPK2 유전자서열은 *Monopterus albus*(드렁허리)의 *hipk2* 유전자와 80.7%의 상동성을 나타내었고, TYR 유전자 서열은 *Seriola dumerili*(젯방어)의 *tyr* 유전자와 93.0%의 상동성을 나타내었음.

(2) 교배생산 자어에서 성장 관련 RNA 전사체 분석 및 유전자 마커 개발

(가) 분석 시료의 성장형질에 대한 통계 분석

- 생후 20개월령 7개체를 선정하였음.
- 속성장 그룹(GR-1)은 3개체, 저성장 그룹(GR-2) 4개체
- 속성장 그룹의 체중은 $111.33\pm 14.742\text{g}$, 체장은 $19.00\pm 1.00\text{cm}$ 이었음.
- 저성장 그룹(GR-2)의 체중은 $50.00\pm 2.944\text{g}$, 체장은 $15.75\pm 0.500\text{cm}$ 이었음.
- 속성장 그룹과 저성장 그룹, 두 표본 집단의 형질 측정치는 유의적인 차이를 나타내었음 ($P<0.05$) (표 4)

표 4. 성장 유형별 피부 RNA 전사체 분석 개요

Trait	Test group		P-value
	GR-1	GR-2	
Body weight(g)	111.33±14.742	50.00±2.944	3.99×10 ⁻⁴
Body length(cm)	19.00±1.00	15.75±0.500	0.002

GR-1, fast growth group; GR-2, slow growth group

(나) RNA-seq.에 의한 차등 발현 유전자의 검출

- 속성장 그룹(GR-1)과 저성장 그룹(GR-2)의 뇌하수체에서 추출한 total RNA 시료를 이용하여 RNA-sequencing (RNA-seq.)을 통해 전체 전사체의 contig 서열을 결정하였고, 전사체의 read count를 산출하였음.

표 5. 속성장과 저성장 시료의 뇌하수체에 대한 RNA 전사체 분석 개요

Sample	No. of processed reads	No. of mapped reads	No. of unmapped reads
GR-1	72,781,566	58,347,418(80.17%)	14,434,148(19.83%)
GR-2	81,254,992	64,353,010(79.2%)	16,901,982(20.8%)

- 속성장(GR-1) 개체의 뇌하수체에서 73,132,482개의 전사체가 해독되었고, 저성장(GR-2)에서는 81,254,992개의 전사체가 해독되었음.
- 속성장 개체와 저성장 개체의 뇌하수체에서 차등적으로 발현되는 유전자(differentially expressed gene, DEG) contig 수는 864종이었음.

표 6. 속성장과 저성장 개체의 뇌하수체 DEG contig 상위 20종

Contig	Read_count		Read_count ratio		FPKM		FPKM ratio		P-value (GR-2/GR-1)	-Log ₁₀ (P-value)	
	GR-1	GR-2	GR-1/GR-2	GR-2/GR-1	GR-1	GR-2	BC-1/BC-2	GR-2/GR-1			
1	c58161_g9_i1	348	4	87.000	0.011	6.830	0.070	97.571	0.010	2.033E-13	12.69186879
2	c38158_g1_i1	364	5	72.800	0.014	7.130	0.090	79.222	0.013	4.5951E-13	12.33770345
3	c57295_g1_i2	6	435	0.014	72.500	0.060	3.670	0.016	61.167	7.6477E-12	11.11646939
4	c38004_g1_i1	10	516	0.019	51.600	0.150	7.240	0.021	48.267	2.478E-11	10.60590436
5	c24690_g1_i1	2	206	0.010	103.000	0.020	1.580	0.013	79.000	5.3928E-11	10.26818439
6	c33113_g1_i1	198	3	66.000	0.015	2.290	0.030	76.333	0.013	6.9697E-11	10.15678576
7	c56412_g1_i5	3	227	0.013	75.667	0.090	6.300	0.014	70.000	8.4281E-11	10.07427246
8	c32144_g1_i2	5	310	0.016	62.000	0.180	10.010	0.018	55.611	1.0244E-10	9.989540268

9	c57676_g7_i3	3	133	0.023	44.333	0.080	3.020	0.026	37.750	1.5609E-08	7.806613645
10	c55037_g2_i1	4	166	0.024	41.500	0.040	1.410	0.028	35.250	1.7373E-08	7.760126736
11	c52626_g7_i2	2	108	0.019	54.000	0.020	1.210	0.017	60.500	2.6977E-08	7.569003537
12	c36624_g1_i1	1	87	0.011	87.000	0.030	2.600	0.012	86.667	3.4609E-08	7.460815275
13	c28522_g1_i1	7	191	0.037	27.286	0.230	5.780	0.040	25.130	5.8866E-08	7.230135741
14	c55908_g6_i2	725	66	10.985	0.091	6.220	0.510	12.196	0.082	1.9326E-07	6.713868722
15	c44698_g1_i1	16	297	0.054	18.563	0.940	15.740	0.060	16.745	2.0605E-07	6.686029607
16	c53667_g1_i1	149	10	14.900	0.067	3.050	0.190	16.053	0.062	2.8461E-07	6.545755371
17	c16063_g1_i1	1	67	0.015	67.000	0.130	7.750	0.017	59.615	3.6792E-07	6.434246297
18	c36624_g2_i2	2	80	0.025	40.000	0.030	1.020	0.029	34.000	4.0462E-07	6.392949066
19	c53641_g1_i1	5	130	0.038	26.000	0.240	5.580	0.043	23.250	4.3601E-07	6.360500751
20	c58161_g8_i1	100	6	16.667	0.060	2.010	0.110	18.273	0.055	4.5893E-07	6.338250261

표 7. 상위 20종 contig에 대한 BLASTX 유사도 검색 결과

	Contig	BLASTX result in NT database	Species	Identities	Accession no.
1	c58161_g9_i1	G-protein coupled receptor 4-like	<i>Lates calcarifer</i>	106/169(63%)	XP_018516258.1
2	c38158_g1_i1	perforin-1-like	<i>Larimichthys crocea</i>	460/576(80%)	XP_019129384.1
3	c57295_g1_i2	uncharacterized protein LOC108883869	<i>Lates calcarifer</i>	823/946(87%)	XP_018532934.1
4	c38004_g1_i1	transferrin	<i>Epinephelus coioides</i>	623/673(93%)	AEW43726.1
5	c24690_g1_i1	uncharacterized protein LOC113062495 isoform X1	<i>Carassius auratus</i>	461/821(56%)	XP_026088177.1
6	c33113_g1_i1	reverse transcriptase, partial	<i>Clarias batrachus</i>	390/1025(38%)	AGO18322.1
7	c56412_g1_i5	zinc metalloproteinase nas-4-like	<i>Larimichthys crocea</i>	117/163(72%)	XP_010751223.2
8	c32144_g1_i2	uncharacterized protein LOC109092338	<i>Cyprinus carpio</i>	206/264(78%)	XP_018961648.1
9	c57676_g7_i3	uncharacterized protein LOC111650268	<i>Seriola lalandi dorsalis</i>	87/174(50%)	XP_023255898.1
10	c55037_g2_i1	uncharacterized protein LOC108872805 isoform X2	<i>Lates calcarifer</i>	272/433(62%)	XP_018516198.1
11	c52626_g7_i2	uncharacterized protein LOC113025650	<i>Astatotilapia calliptera</i>	399/648(62%)	XP_026029419.1
12	c36624_g1_i1	hypothetical protein CCH79_00004681	<i>Gambusia affinis</i>	20/30(67%)	PWA16318.1
13	c28522_g1_i1	ApoA-I	<i>Epinephelus akaara</i>	260/263(99%)	AGT02114.1
14	c55908_g6_i2	hypothetical protein EH28_18060	<i>Larimichthys crocea</i>	132/181(73%)	KKF09012.1
15	c44698_g1_i1	14 kDa apolipoprotein, partial	<i>Epinephelus coioides</i>	130/158(82%)	ACM41842.1
16	c53667_g1_i1	RNA-directed DNA polymerase from mobile element jockey-like	<i>Austrofundulus limnaeus</i>	191/324(59%)	XP_013877416.1
17	c16063_g1_i1	no hit			
18	c36624_g2_i2	uncharacterized protein LOC109062443	<i>Cyprinus carpio</i>	57/128(45%)	XP_018935075.1
19	c53641_g1_i1	no hit			
20	c58161_g8_i1	G-protein coupled receptor 4-like	<i>Lates calcarifer</i>	64/97(66%)	XP_018557483.1

○ 상위 20종의 contig 중 c16063_g1_i1과 c53641_g1_i1은 유사도 검색 결과가 나타나지 않아, 현재까지 유사한 서열이 알려져 있지 않은 새로운 전사체인 것으로 추정되었음.

▶ 성장별 차등 발현 유전자의 대사경로 예측

- GR-1과 GR-2에서 차등 발현 contig 864개 중 중요 유전자를 대사경로에 따라 구분하였음.
- GR-1과 GR-2에서 up-regulated 유전자들의 분포를 분석하여 대사경로를 예측하였음(표 8).

표 8. 상위 20종 contig에 대한 대사경로 예측

Related metabolism	Up-regulated contigs	
	GR-1	GR-2
Hormone/neurotransmitter/neuron	tshba, slc6a12, slc6a11, nr4a1	adma, ptger4a, nr1d1, gabra6b, rorb, nrnla, dvl3b, comtb, myo6b, ptger3,
Cell cycle	ch211-149k12.3	brd4, bmf, cntrl, cda
Growth factor	ch211-243a20.4	artna, socs6a, fry, igf2bp2a
Mitochondrial metabolism		mfn1d
G-protein signaling	gpcr4, gpcr4l, rln3	git1, gpr171, p2ry8, cnr1, sgsm1a
Development, differentiation	cb1c, fes	plxna4, tcaf2, apoa2, hbae1.3, cst6, kidins220b, nav3, dkk2, trpm7, inpp5ka, mbnl2, apoc1, skila, dkey-222b8.1, dbpb, gpc3, epha4a, cdh11, ap2a1, ap2b1, auts2, kif5ba, fst1a
Photo/temperature response		tefb, ninl, per1b
Stress response	ryr1a, hsp70	
Melanocyte	pmela	pmel
Protein metabolism		nas-14
Lipid metabolism	medag	apoA-I
Calcium metabolism	prf1.8, umod	
Transport		tf, slc29a2
Transcription/translation	tbpl2, eomes	dbpa, ncoa6
Signal transduction	pcnxl2	tspan7, fbl-1, cxcl10, ch211-168f7.5, cbl, bmp7, tspan7
Reproduction	vmol	osbp2, tanc2, spina

- GR-1과 GR-2에서 차등발현 유전자군을 대사경로별로 구분해 보면, GR-1에서는 G-protein coupled receptor (GPCR) 관련 유전자군의 조성이 GR-2와는 다른 양상을 나타내었음.
- 스트레스 관련 유전자들(ryr1a, hsp70)과 칼슘대사 유전자들(prf1.8, umod)은 GR-1에서는 많이 전사되지만, GR-2에서는 전사 수준이 낮았음.
- 호르몬/신경전달물질 대사에서 GR-1은 serotonin과 연관된 slc6a12, slc6a11 등의 전사 수준이 높은 반면, GR-2에서는 prostaglandin E receptor인 ptger4a, ptger3 등과 GABA의 수용체인 gabra6b, retinoic acid 수용체인 rorb의 전사 수준이 높았음.
- 광-반응 유전자인 tefb, ninl 등과 온도-광 자극에 반응하는 유전자인 per1b의 전사 수준이 GR-2에서만 높았음.
- 수송 관련 유전자들 중에서 tf, slc29a2은 GR-2에서만 높은 전사 수준을 나타내었음.
- 지질 대사 유전자들 중 GR-1에서는 장간막 에스트로겐 의존성 지방세포형성(mesenteric estrogen dependent adipogenesis) 유전자인 medag의 전사 수준이 높은 반면, GR-2에서는 cholesterol과 triglyceride 대사에 관여하는 apoA-I 유전자의 활성이 더 높은 것으로 확인되었음.
- 지질 대사 유전자의 전사 양상에서 GR-1은 지방세포가 분화되는 단계이며, GR-2는 중성 지방이나 방향족 지방산의 전환이 진행되는 과정으로 보임.
- 에너지 대사를 조절하는 세포소기관인 미토콘드리아의 활성을 조절하는 mfn1d의 전사 수준이 GR-2에서 높았음.
- 세포 내 신호전달과 관련된 많은 수의 유전자들이 GR-2에서 높은 수준을 나타내었으나, GR-1에서는 pcnxl2만이 높은 수준을 보였음.
- 발생이나 분화와 관련된 유전자 중에서 GR-1은 cblc, fes의 전사 수준이 높았으나, GR-2에서는 plxna4, tcaf2, apoa2, hbae1.3, cst6, kidins220b, nav3, dkk2, trpm7, inpp5ka, mbnl2, apoc1, skila, dkey-222b8.1, dbpb, gpc3, epha4a, cdh11, ap2a1, ap2b1, auts2, kif5ba, fstl1a 등 다양한 유전자의 전사 수준이 높았음.
- GR-1에 비해 체중과 길이가 작은 GR-2의 경우 세포나 기관의 발생과 분화와 관련된 유전자의 전사 수준이 높았는데, 이는 발달과정 상에서 아직까지 완전한 성숙(maturation)이 완성되지 않은 상태임을 보여주는 결과로 판단됨.
- 이는 성장과 함께 성성숙(sexual maturation)이 진행되는 바리과 어류의 특성으로, 일정한 체중이 넘어서면 성성숙이 진행되는 단계로 진행되는 것으로 보임.
- 시료의 채취과정에서도 뇌하수체와 함께 생식소의 무게를 측정하였고, 크기가 큰 그룹인

GR-1에서는 생식소의 발생이 이미 진행되고 있는 상태였으나, 크기가 작은 그룹인 GR-2에서는 생식소의 발생이 미미하였음.

(3) 우량 친어 선발용 유전자 마커 개발

(가) 속성장 연관 BBR005 intron 1 신규 유전자 변이 확인

① 양식2세대(F2) 친어 집단에서 BBR005 단일염기변이(SNP)의 확인

- F2 집단에서 체중을 상(n=3), 중(n=2), 하(n=3)로 구분한 8 개체에서 SNP를 재탐색하였음.
- exon 1, intron 1, exon 2, intron 2, exon 3 영역에서 SNP를 탐색하였음.
- 총 15종의 SNP 검출되었다. 이중 exon 1은 SNP가 검출 되지 않았고, exon 2에 3 종, exon 3에 1종이 검출되었음(표 9).
- intron 1에서는 기 확인되었던 SNP가 6 종(g.16C>T, g.51G>A, g.53T>G, g.84C>A, g.158A>T, g.193G>A), exon 2에서 SNP 3 종(g.126G>A, g.148A>G, g.215C>A), intron 2에서는 SNP 5종(g.12A>G, g.134G>A, g.340C>T, g.341A>T, g.407A>T)이 검출되었고, exon 3에서는 SNP 1 종(g.248G>A)이 검출되었음.

표 9. 불바리 양식2세대(F2) 8개체에서 발견된 단일염기변이(SNP)

Sample	intron 1						exon 2			intron 2					exon 3
	g.16 C>T*	g.51 G>A	g.53 T>C	g.84 C>A*	g.158 A>T*	g.193 G>A	g.126 G>A	g.148 A>G	g.215 C>A	g.12 A>G	g.134 G>A	g.340 C>T	g.341 A>T	g.407 A>T	g.248 G>A
1	CC	GG	CT	CA	AT	GG	GG	AG	CA	GA	GA	CT	AT	AA	GG
2	CT	GA	CT	AA	AT	GG	GA	AG	CA	AA	GG	CC	AA	AT	GG
3	CT	AA	TT	AA	TT	GA	GA	AA	CC	AA	GG	CC	AA	TT	GA
4	CT	GA	CT	AA	AT	GG	GA	AG	CA	AA	GG	CC	AA	AT	GG
5	TT	AA	TT	AA	TT	GG	GG	AG	CA	GA	GG	CC	AA	AT	GG
6	CT	AA	TT	AA	TT	GA	GG	AG	CA	AA	GG	CC	AA	AT	GG
7	CC	GA	TT	AA	AT	GA	GG	AA	CC	AA	GG	CC	AA	AT	GA
8	CC	GA	TT	AA	AT	GA	GG	AA	CC	AA	GG	CC	AA	AT	GA

*, these SNPs have been already detected in our previous study.

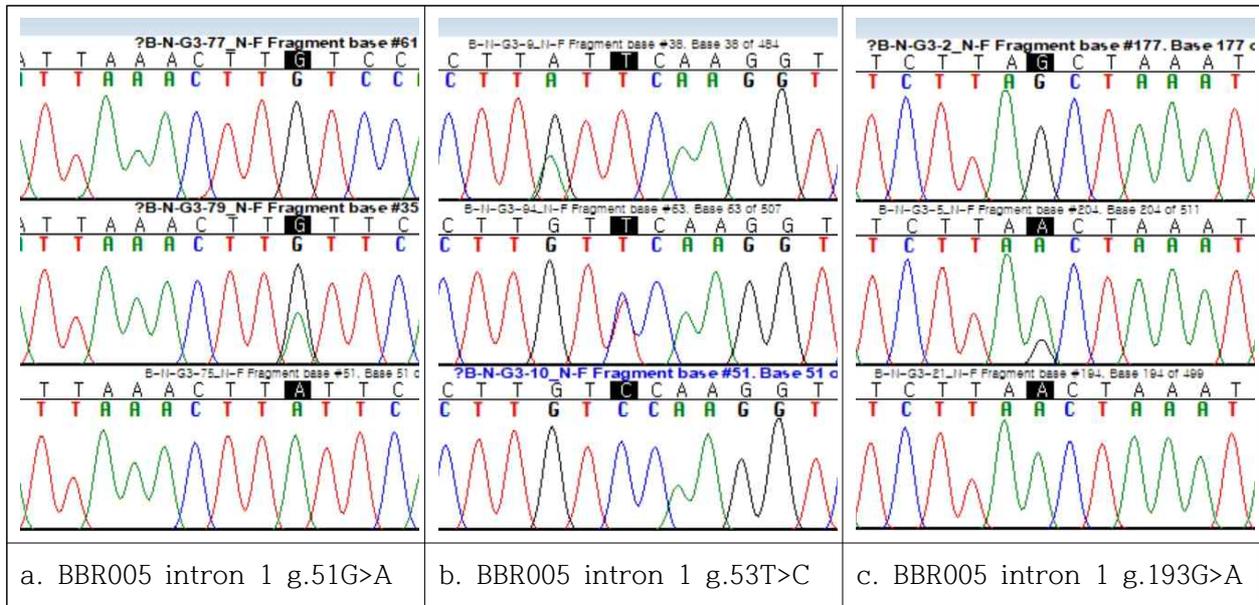


그림 27. 붉바리 친어(F2)에서 검출된 BBR005 마커 intron 1에서 발견된 SNP 3종. a, intron 1 g.51G>A; b, intron 1 g.53T>C; c, intron 1 g.193G>A.

② BBR005 마커의 SNP intron 1 g.51G>A 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 10. 양식2세대(F2) 친어 집단에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.51G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F2 (n=427)	76	17.8	203	47.5	148	34.7

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

○ intron 1 g.51G>A의 유전자형은 GG, GA, AA 세 가지가 확인되었고, 유전자형의 빈도는 GG 17.8%, GA 47.5%, AA 34.7%를 나타내었음(표 10).

표 11. 양식2세대(F2) 친어에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=427)	GG (n=76)	AG (n=203)	AA (n=148)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.34±1.096	16.19±1.096 ^b	16.16±1.023 ^b	16.65±1.131 ^a	8.02×10 ⁻⁵	***
WT (g)	49.71±10.346	46.76±8.847 ^b	48.10±9.754 ^b	53.44±10.837 ^a	1.55×10 ⁻⁷	***

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at $P=0.001$ (***), significance thresholds. n. s., not significant.

- intron 1 g.51G>A의 유전자형은 성장형질(체중, 전장)에 대해 고도의 유의적인 차이를 보였고($P<0.001$) (표 11), GG, AG 사이에서는 유의적인 차이가 없으나, GG, AG와 AA는 고도의 유의차를 나타내었음.
- AA 개체들은 GG에 비해 0.46 cm, AG에 비해 0.49 cm 전장이 길게 나타났고, AA 개체들은 GG에 비해 6.68 g, AG에 비해 5.34 g 체중이 더 무겁게 나타났음.
- AA 개체들은 전체 평균에 비해 전장은 1.9%, 체중은 7.5% 높았음.

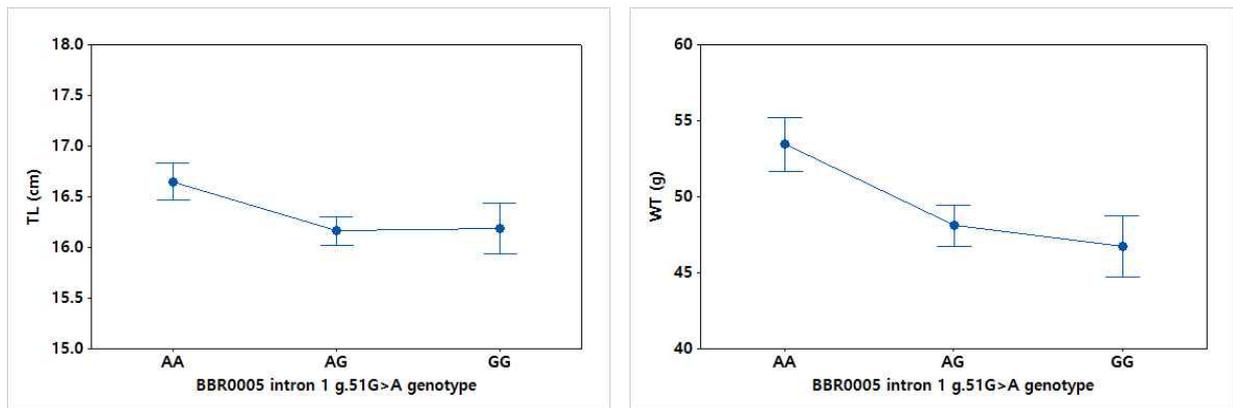


그림 28. BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형에 따른 양식2세대(F2)친어 후보 집단들의 전장과 체중. TL, total body length; WT, body weights.

③ BBR005 마커의 SNP intron 1 g.53T>C 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 12. 양식2세대(F2) 친어에서 BBR005 intron 1 g.53T>C 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.53T>C genotypes			
	TT		TC	
	n	f (%)	n	f (%)
F2 (n=426)	242	58.6	12	43.2

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.53T>C의 유전자형은 TT, TC 확인, CC는 관찰되지 않았고, TT, TC 유전자형의 빈도는 각각 58.6%, 43.2%를 나타냈음(표 12).

표 13. 양식2세대(F2) 친어에서 BBR005 intron 1 g.53T>C 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall	TC (n=242)	TT (n=184)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.34±1.096	16.60±1.12	15.99±0.97	7.40×10 ⁻⁹	***
WT (g)	49.71±10.346	53.02±10.79	45.38±7.90	6.10×10 ⁻¹⁵	***

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.001$ (***) significance thresholds.

- intron 1 g.53T>C의 유전자형은 성장형질(체중, 전장)에 대해 고도의 유의적인 차이를 나타내었고($P<0.001$) (표 13), TC, TT 사이에서는 고도의 유의차를 나타내었음.
- TC 개체들은 TT에 비해 0.61 cm 전장이 길게 나타났고, TC 개체들은 TT에 비해 7.64 g 체중이 더 무거웠음.
- AA 개체들은 전체 평균에 비해 전장은 1.6%, 체중은 6.7% 더 높은 수준을 보였음.

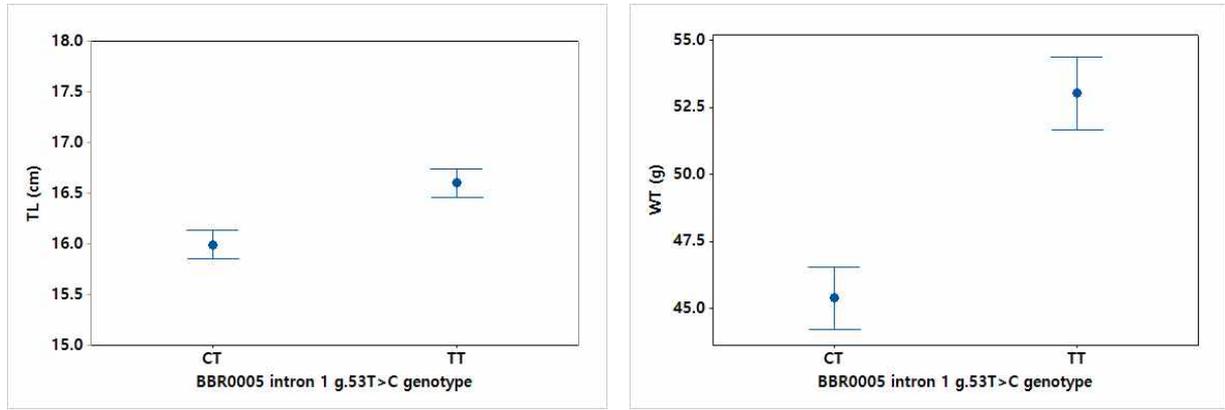


그림 29. BBR0005 intron 1 g.53T>C 유전자형에 따른 양식2세대(F2)친어 후보 집단의 전장과 체중. TL, total body length; WT, body weights.

④ SNP BBR005 g.84A>C 다형성 확인 및 집단유전학 분석 수행

▶ BBR005 g.84A>C 유전자형의 분포

- AA 74.2%, AC 25.8%, CC 0.9%(4 마리)의 빈도를 보임(표 14)
- AA, AC, 유전자형 빈도 높음, CC는 1% 이하

표 14. 양식2세대(F2) 친어에서 BBR005의 SNP g.84A>C 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.84A>C genotypes					
	AA		AC		CC	
	n	f(%)	n	f(%)	n	f(%)
F2 (n=426)	313	74.2	109	25.8	4	0.9

▶ 유전자 마커 BBR005 g.84A>C 유전자형과 F2 집단의 성장형질의 상관 분석

- g.84A>C의 표현형 상관 분석
- F2 집단의 성장형질과 유전자형의 상관 분석 및 유의성 검증(student-t test)

표 15. BBR005의 SNP g.84A>C와 F2 성장형질의 상관성 분석

Trait ¹	Overall (n=422)	AA (n=313)	AC (n=109)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.33±1.101	16.41±1.137	16.11±0.957	0.011	*
BW (g)	49.70±10.392	50.92±10.751	46.17±8.377	4.02×10 ⁻⁶	***

¹, growth traits, TL, total body lengths (cm); BW; body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*), $P=0.001$ (***) significance thresholds, respectively.

- F2 집단의 성장형질과 g.84A>C 유전자형의 상관(표 15)
- g.84A>C 유전자형이 F2의 성장에 유의적인 상관을 보임 ($P<0.05$, 체중, 전장)
- AA 유전자형이 AC 유전자형보다 전장이 0.3 cm 더 성장하였음
- AA 유전자형이 AC 유전자형보다 체중이 4.75 g 더 증가하였음.

⑤ 양식2세대(F2) 친어 후보 집단에서 BBR005 마커의 SNP intron 1 g.158A>T 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 16. BBR005의 SNP g.158A>T와 F2 성장형질의 상관성

Trait ¹	Overall (n=380)	AA (n=29)	AT (n=167)	TT (n=184)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL(cm)	16.307±1.085	15.866±1.119 ^a	16.257±1.082 ^{ab}	16.412±1.077 ^b	0.033	*
BW (g)	49.716±10.335	44.703±8.874 ^a	49.076±10.010 ^{ab}	50.908±10.622 ^b	0.007	*

¹, growth traits, TL, total body lengths (cm); BW; body weights (g).

², Mean ± SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds.

- g.158A>T 유전자형이 F2의 성장에 유의적인 상관을 보였다($P<0.05$, 체중, 체장).
- TT 유전자형이 AA 유전자형보다 0.54 cm 더 성장하였음
- TT 유전자형이 AA 유전자형보다 6.2 g 더 증가하였음

- 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 이형접합자 AT의 경우 TT 유전자형과 더 유사한 표현형을 보여 AA 유전자형에 비해 보다 전장과 체중이 증가하였음.

⑥ 유전자 마커 BBR005 g.158A>T 유전자형의 분포와 표현형 상관

▶ BBR005 g.158A>T 유전자형의 분포

- 유전자형별 성장형질의 평균이 유의적인 차이를 나타냈음.
- AA 8.2%, AT 44.0%, TT 47.8%의 빈도를 보였음(표 17).

표 17. 양식2세대(F2) 친어 후보 집단에서 BBR005의 SNP g.158A>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.158A>T genotypes					
	AA		AT		TT	
	n	f(%)	n	f(%)	n	f(%)
F2 (n=427)	35	8.2	44.0	61.5	47.8	11.5

▶ 유전자 마커 BBR005 g.158A>T 유전자형과 F2 집단의 성장형질의 상관 분석

표 18. BBR005의 SNP g.158A>T와 F2 성장형질의 상관성 분석

Trait ¹	Overall (n=427)	AA (n=35)	AT (n=188)	TT (n=204)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.34±1.096	15.92±1.084 ^a	16.28±1.094 ^{ab}	16.45±1.083 ^b	0.019	*
BW (g)	49.71±10.346	45.01±8.499 ^a	49.13±10.053 ^{ab}	51.06±10.65 ^b	0.0034	**

¹, growth traits, TL, total body lengths (cm); BW; body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*), $P=0.01$ (**) significance thresholds, respectively.

- F2 집단의 성장형질과 g.158A>T 유전자형의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)
- g.158A>T 유전자형이 F2의 성장에 유의적인 상관을 나타냈음($P<0.05$, 체중, 전장).
- TT 유전자형이 AA 유전자형보다 전장이 0.62 cm 더 성장하였고, TT 유전자형이 AA 유전자형보다 체중이 6.05 g 더 증가하였음.
- 이형접합자 AT의 경우 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, TT 유전자형과 더 유사한 표현형을 보여 AA 유전자형에 비해 보다 전장과 체중이 증가하였음.

⑦ BBR005 마커 SNP intron 1 g.193G>A 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 19. 양식2세대(F2) 친어 후보 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.193G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F2 (n=427)	265	62.1	123	28.8	39	9.1

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.193G>A의 유전자형은 GG, GA, AA가 확인되었고, 유전자형 빈도는 각각 62.1%, 28.8%, 9.1%를 나타냈음(표 19).

표 20. 양식2세대(F2) 친어 후보 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형과 성장형질 상관분석

Trait ¹	Overall (n=427)	GG (n=265)	GA (n=123)	AA (n=39)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.34±1.096	16.17±1.043 ^a	16.68±1.162 ^b	16.36±1.004 ^{ab}	0.0001	***
WT (g)	49.71±10.346	47.83±9.559 ^a	53.79±11.177 ^b	49.66±9.252 ^{ab}	5.87×10 ⁻⁷	***

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at $P=0.001$ (***) significance thresholds.

- intron 1 g.193G>A의 유전자형은 성장형질(체중, 전장)에 대해 고도의 유의적인 차이를 보였음($P<0.001$) (표 20).
- GG와 GA 사이에서 고도의 유의차를 나타내었고, GG-AA, GA-AA 사이에서는 유의적인 차가 검출되지 않았음. GA 개체들은 GG에 비해 0.51 cm 전장이 더 성장하였고, 5.96 g 체중이 더 증가하였으며, GA 개체들은 전체 평균에 비해 전장은 2.1%, 체중은 8.2% 높게 수준을 보였음.

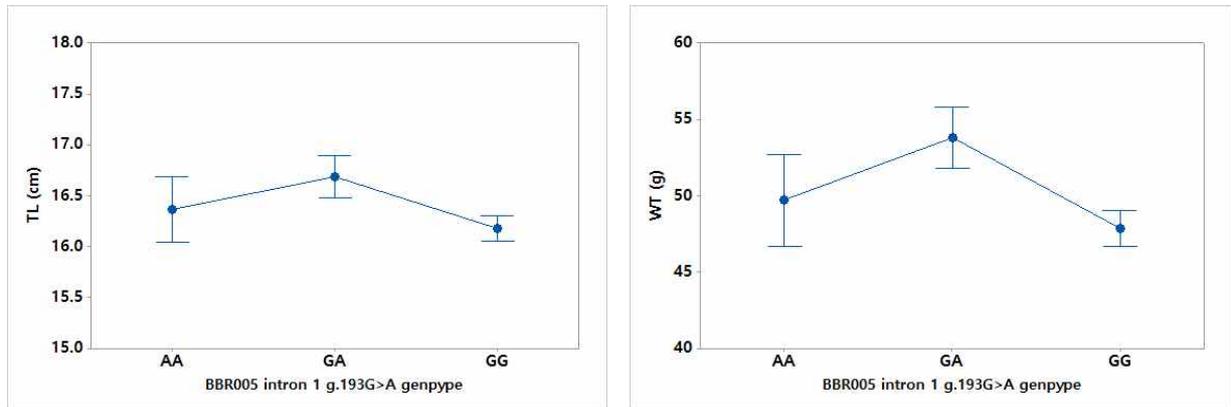


그림 30. BBR0005 intron 1 g.193G>A 유전자형에 따른 양식세대(F2)친어 후보 집단들의 전장과 체중. TL, total body length; WT, body weights.

(4) 모계유전 마커 개발

(가) 교배생산 자어의 성장형질과 모계유전 마커의 상관관계

① 모계유전 마커인 mtDNA CR의 VNTR 다형성의 집단별 분포

- 붉바리 속(*Epinephelus*) 동물들의 mtDNA control region (CR)에서 133-bp 직렬 반복서열이 가변적 직렬반복 수의 변이(variable number of tandem repeats, VNTR) 다형성을 나타내는 것으로 보고되었음(Han et al., 2011).

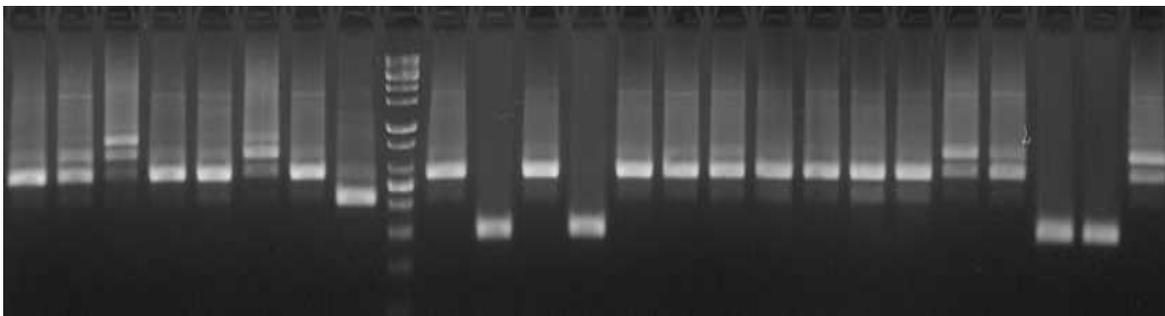


그림 31. 붉바리 친어집단에서 mtDNA CR VNTR 마커의 다형성.

표 21. 붉바리 친어집단(남해, 제주도, 홍콩)에서 mtDNA CR VNTR 마커의 유전자형 분포

Population	n	CR VNTR haplotypes				
		H01	H02	H03	H04	H05
South Sea	24	0.042 (n=1)		0.417 (n=10)	0.542 (n=13)	
Jeju Island	6			0.667 (n=4)	0.333 (n=2)	
Hong Kong	61	0.131 (n=8)	0.066 (n=4)	0.525 (n=32)	0.246 (n=15)	0.033 (n=2)
Total	91	0.099 (n=9)	0.044 (n=4)	0.505 (n=46)	0.330 (n=30)	0.022 (n=2)

- 종자생산에 이용된 친어들 중 남해안 집단은 H01, H03, H04 등 3 가지 유전자형을 가지며, H04가 0.542 빈도를 나타내었고, 제주도 집단은 H03과 H04 2 가지 유전자형이 출현하였고, H03이 0.667의 빈도를 보였음.
- 홍콩 집단 중 H01, H02, H03, H04, H05 등 5 가지 유전자형을 모두 보유하고, H03이 0.525로 가장 높은 빈도를 나타냈음.
- 전체 친어집단에서는 H03이 0.505로 가장 높은 빈도를 보였고, H04는 0.330, H01은 0.099의 빈도를 보였음.

② 부화후 71일령 F1 치어의 성장형질과 모계유전 마커 유전자형의 상관 분석

- CR VNTR 유전자형과 F1 치어 집단(BF1_01)의 성장형질의 상관관계를 분석하였음.
- BF1_01 집단은 부화 후 71일령 F1 치어이며, 자연수온 조건에서 성장한 집단임.

표 22. 부화후 71일령 F1 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관

Trait ¹	Overall		H01		H03		H04		P-value	Significance ²
	n	Mean±SD	n	Mean±SD	n	Mean±SD	n	Mean±SD		
TL (cm)	1,091	47.27±6.34	19	50.82±4.59 ^a	377	47.27±6.49 ^b	695	47.18±6.28 ^b	0.048	*
WT (g)	1,110	1.80±0.71	20	2.27±0.56 ^a	382	1.79±0.71 ^b	708	1.80±0.71 ^b	0.012	*
LWI	1,091	29.76±10.85	19	23.00±4.51 ^a	377	30.48±12.72 ^b	695	29.56±9.76 ^b	0.010	*

1, growth traits, TL, total lengths (mm); WT; body weights (g); LWI, length-weight ratio.

2, Mean±D values in the same row with different letters are significantly different at 5% (*) significance thresholds..

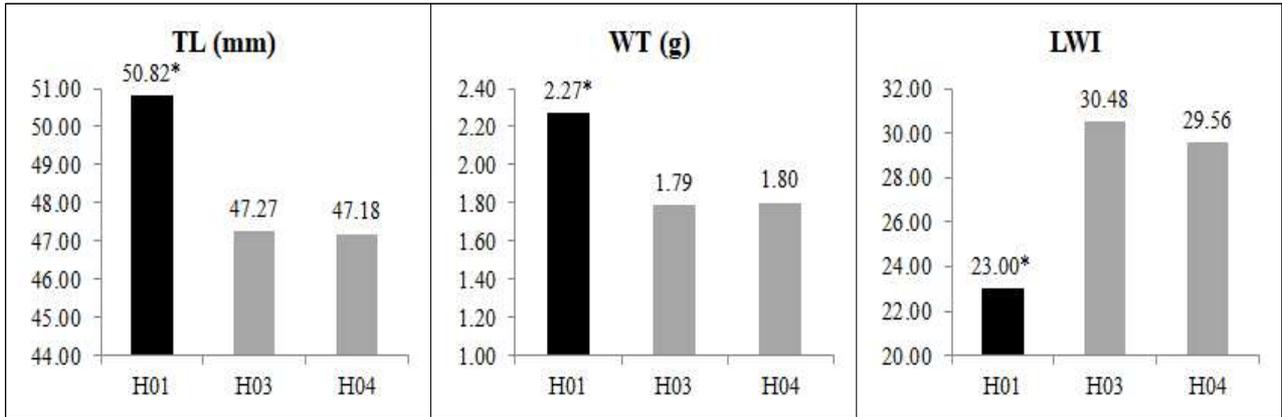


그림 32. 71일령 F1 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관.

*, 95% 수준에서 유의적인 차이를 나타냄.

- BF1_01 집단(총 1,110 개체)에서 발견된 CR VNTR 유전자형은 H01, H02, H03, H04, H05가 모두 발견되었으며, H02와 H05는 10개체 미만으로 낮은 빈도를 나타냈음.
 - 빈도가 높은 3가지 유전자형 H01, H03, H04와 표현형의 상관관계를 분석한 결과, 모두 유의적인 차이를 보였음.
 - H01 개체들의 성적은 H03, H04보다 유의적으로 더 전장과 체중이 증가하였음.
 - 길이-체중 지수(LWI)는 H01(23.00±4.51)이 H03(30.48±12.72), H04(29.56±9.76)에 비해 더 낮은 수준을 나타냈음.
 - H03과 H04 사이에서는 유의적인 차이를 보인 표현형은 없었음.
- ③ 수정 후 17개월령 F1 치어의 성장형질과 모계유전 마커 유전자형의 상관 분석
- CR VNTR의 유전자형과 F1 집단(BF1_02)의 성장형질의 상관관계를 분석하였다.
 - BF1_02 집단은 수정 후 17개월령 F1으로, 자연수온 조건에서 성장한 집단

표 23. 수정 후 17개월령 F1 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관

Trait ¹	Overall	H03	H04	H05	P-value	Significance ²
	(n=383)	(n=139)	(n=230)	(n=14)		
TL (cm)	18.92±1.96	19.26±1.99 ^a	18.71±1.95 ^b	19.02±1.49 ^b	0.033	*
WT (g)	93.56±30.98	96.99±29.44	91.38±32.17	95.29±23.35	0.237	n.s.
LWI	20.22±6.33	19.86±6.77	20.47±6.05	20.22±6.38	0.243	n.s.

¹, growth traits, TL, total lengths (cm); WT; body weights (g); LWI, length-weight ratio.

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at 5% (*) significance thresholds. n.s., not significant.

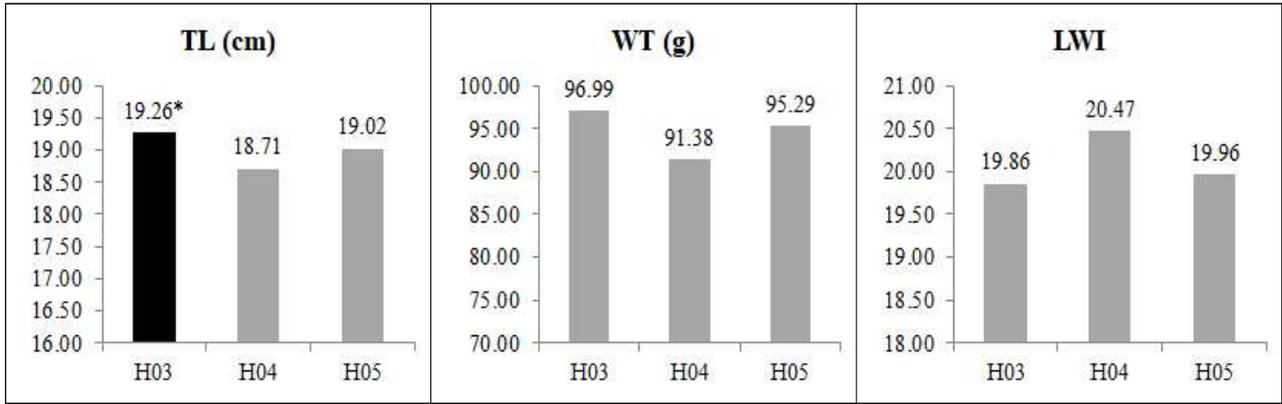


그림 33. 수정후 17개월령 F1 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관.

*, 95% 수준에서 유의적인 차이를 나타냄.

- 전장은 CR VNTR 유전자형에 따라 집단 간 유의적인 차이($P < 0.05$)를 나타냈음.
- 체중, 체중-체장 비(LWI)는 유의적인 차이가 없었음($P > 0.05$).
- H03 그룹이 H04 그룹에 비해 체중이 약 5.0 g 이상 더 증가하였으나, 유의적 차이를 나타내지는 않았음.

④ 수정후 13개월령 F2 치어의 성장형질과 모계유전 마커 유전자형의 상관 분석

- CR VNTR의 유전자형과 F2 집단(BF2_01)의 성장형질의 상관관계를 분석하였음.
- BF2_01 집단은 수정 후 13개월령 F2 치어로 자연수온 조건에서 성장한 집단임.

표 24. 수정후 13개월령 F2 BF2_01 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관

Trait ¹	Overall	H03	H04	P-value	Significance ²
	(n=288)	(n=153)	(n=135)		
TL (cm)	16.21±1.228	16.54±1.126	15.84±1.123	9.81×10^{-7}	***
WT (g)	49.56±10.629	52.81±11.299	45.87±8.446	8.08×10^{-9}	***
LWI	30.38±5.13	31.66±4.840	28.94±5.094	5.13×10^{-5}	***

¹, growth traits, TL, total lengths (cm); WT; body weights (g); LWI, length-weight ratio.

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at 0.1% (***) significance thresholds.

- 전장, 체중, 체중-전장 비(length-weight ratio, LWI)는 CR VNTR 유전자형에 따라 집단 간 유의적인 차이($P < 0.001$)를 나타냈음.
- 전장은 H03그룹이 H04그룹에 비해 약 0.7 cm 더 성장하였음.
- 체중은 H03그룹이 H04그룹에 비해 약 6.94 g 더 증가하였음.

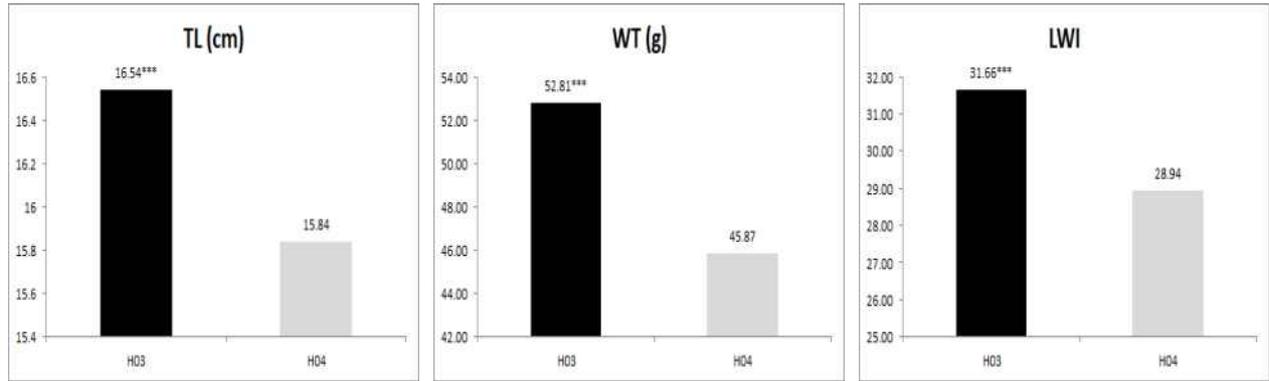


그림 34. 수정후 13개월령 F2 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관. ***, 95% 수준에서 유의적인 차이를 나타냄.

- 모계유전 마커인 mtDNA CR VNTR 유전자형은 F1, F2의 성장에 영향을 주는 것으로 보이며, H03인 집단은 길이와 체중 모두 다른 유전자형 집단보다 더 좋은 결과를 보였음.
- 수정란생산을 위한 친어선발에서 모계선발의 마커로 활용 가능한 것으로 판단됨.

(나) 수온별 집단에서 생존 개체에 대한 모계유전 마커의 상관관계 분석

① 모계유전 마커의 유전자형과 수온집단별 분포

- 모계유전 마커인 mtDNA CR VNTR 유전자형을 F1 개체들을 대상으로 자연수온집단과 28℃ 집단으로 구분하여 생존개체들 사이에서의 유전자형의 분포를 조사하고, 유전자형 출현의 기대치와 관찰치를 이용하여 χ^2 -검정법으로 검정하였음.

표 25. 자연수온집단과 28°C 집단에서 17개월령 생존 개체들의 CR VNTR 유전자형 분포

Haplotype	Natural		28°C		$(O-E)^2$	E	χ^2
	n	frequency	n	frequency			
H02	3	0.008	0	0.000	7.190	2.681	2.681
H03	139	0.360	140	0.406	248.512	124.236	2.000
H04	230	0.596	198	0.574	57.304	205.570	0.279
H05	14	0.036	7	0.020	30.393	12.513	2.429
overall	386		345				7.389

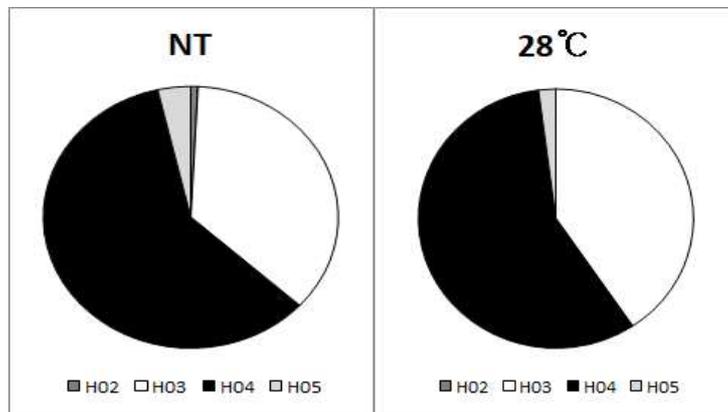


그림 35. 자연수온집단과 28°C 집단에서 CR VNTR 유전자형의 분포

- 자연수온집단에서는 CR VNTR 유전자형이 H02, H03, H04, H05 등 4 종류가 관찰되었고, H04는 0.596, H03은 0.360의 빈도를 나타냈음.
- 수온 28°C 집단에서 H03, H04, H05 등 3 종류가 관찰되어, H02는 관찰되지 않았고, H04는 0.574, H03은 0.406의 빈도를 나타냈음.
- 두 집단에서 발견된 유전자형의 분포를 χ^2 -검정을 통해 시험한 결과 χ^2 는 7.389, 95% 신뢰수준에서 두 집단의 유전자형의 분포가 유의적인 차이를 나타내지 않았음.
- 자연수온과 수온 28°C 집단에서 생존한 개체들에 대한 모계유전 마커 유전자형의 분포에서 유의적인 차이가 발견되지 않았기 때문에, 적어도 수온 28°C와 자연수온에서의 생존에 있어 모계유전 마커가 기여하는 영향은 없다고 판단됨.

(다) 우량 친어 선발용 유전자 마커 개발

① 양식2세대(F2) 붉바리 집단에 대한 모계유전 마커(CR VNTR)의 상관 분석

표 26. 생후 15개월령 F2 BF2_01 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관

Trait ¹	Overall (n=862)	H03 (n=448)	H04 (n=414)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.365±1.067	16.593±1.111	16.119±0.959	4.19×10 ⁻¹¹	*
WT (g)	49.490±10.168	52.450±10.813	46.286±8.318	9.04×10 ⁻²⁰	*

¹, growth traits, TL, total body lengths (cm); BW; body weights (g).

², Mean ± SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds.

○ 전장, 체중, 체중-전장 비(length-weight ratio, LWI)는 CR VNTR의 유전자형에 따라 집단 간 유의적인 차이($P<0.001$)를 나타냈음.

○ 전장은 H03그룹이 H04그룹에 비해 약 0.47 cm 더 성장하였고, 체중은 H03그룹이 H04그룹에 비해 약 6.16 g 더 증가하였음.

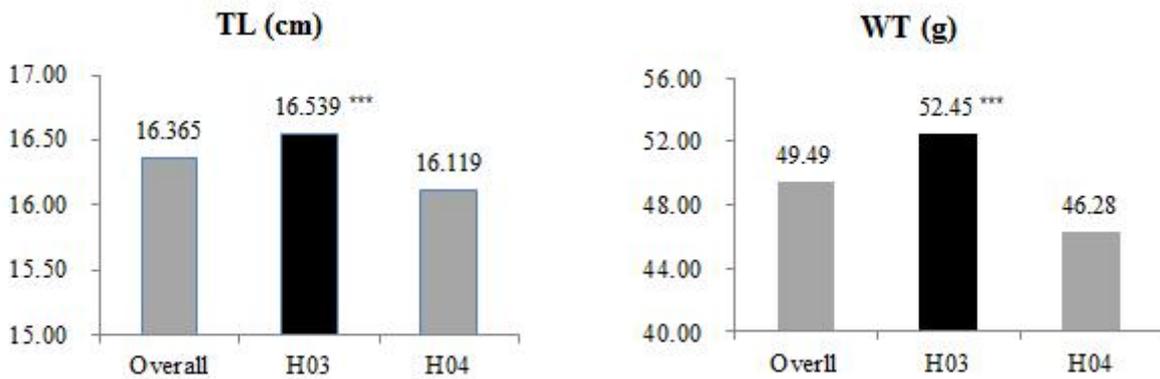


그림 36. 생후 15개월령 F2 붉바리 집단에 대한 CR VNTR 유전자형과 표현형의 상관.

***, 99.9% 수준에서 유의적인 차이를 나타냄.

○ 모계유전 마커인 mtDNA CR VNTR 유전자형은 F1, F2의 성장(체장과 체중)에 영향을 주는 것으로 판단됨.

○ H03은 전장과 체중에서 다른 유전자형 그룹보다 더 좋은 결과를 보였음.

○ 수정란생산을 위한 친어선발에서 모계선발의 마커로 활용 가능한 것으로 판단됨.

(5) 수온 적응 관련 유전자 마커를 이용한 친어 선발

- 고수온, 자연수온 차등 발현 유전자의 선정(1년차 결과)
 - RNA-seq 전사체 분석
 - 28°C, 자연수온에서 성장한 개체의 뇌하수체, 근육, 생식소 등의 전사체
 - FPKM 수준이 28°C 또는 자연수온 개체에서 20배 이상 차이를 보이는 유전자들 선발
- 고수온, 자연수온 차등 발현 유전자의 전사 수준 평가(2년차 결과)
 - DESMA, ODC1, PARP1, SPA17 등은 생식소 전사활성이 유의적인 차이($P < 0.05$)
 - SEPT4A는 생식소에서 전사활성이 높음
 - Cd36_44970, CAGL, Q9DUM3, adh8a, ROCK2, spata18, ODC1, CFAP99, insl3, gnrhr1, sept4a, has1, HSF5 등 후보 유전자 선정

(가) 수온 적응 관련 HSP70 유전자의 SNP 검출

① HSP70 유전자

- 붉바리의 간, 신장, 비장 등에서 높은 발현을 나타내며, 열 등 스트레스에 의한 손상된 세포의 회복, 세포 내 단백질과 세포질의 보호작용을 나타내는 유전자임.
- 저온에서 활성이 더 높아지는 양상을 보인다고 보고되었음(민 등, 2018).

② HSP70 유전자의 SNP 검출

- Ensembl genome 데이터베이스에 등록된 zebrafish 등의 유전체 구조와 RNA-seq contig 서열의 비교를 통해 exon-intron boundary 예측하였음.
- genomic DNA에서 유전자 변이 검출을 위한 프라이머를 제작하였음.
- 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)로 증폭한 절편에서 염기서열을 결정하고, 서열 간 비교를 통하여 단일염기변이(single nucleotide polymorphism, SNP)를 검출하였음.
- 염기서열 변이는 3 지점에서 검출되었고, exon 지역(SNP 1개)과 intron 지역(SNP 2개)에서 검출되었음.
- HSP70의 exon 상에서는 c.1415A>G 변이가 검출되었으며, 유전자형은 AA, AG, GG가 확인되었음.

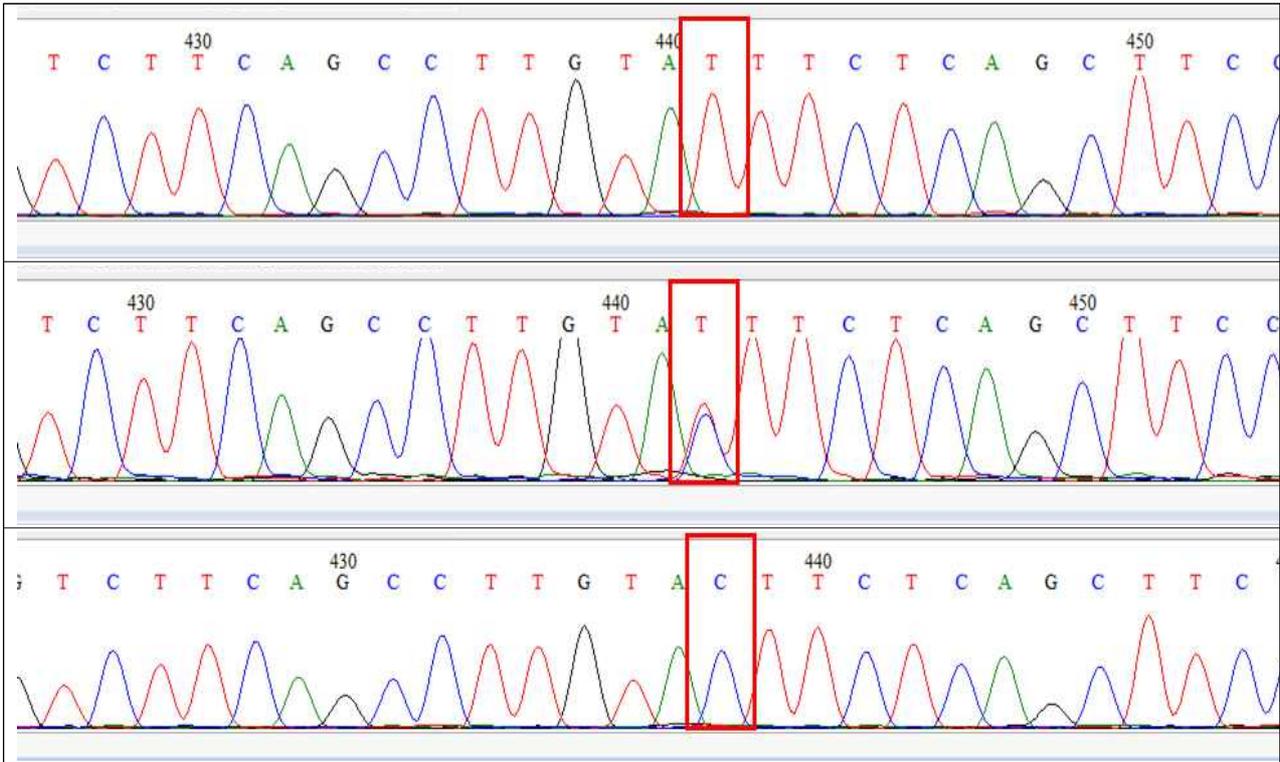


그림 37. HSP70 c.1415A>G 다형성. 서열의 방향은 역방향, 상보적인 서열.

③ HSP70 유전자형과 F2 성장형질에 대한 상관 분석

- F2의 성장형질과 관련하여 HSP70 유전자형의 평균 비교(ANOVA)
- AA 유전자형 그룹이 AG, GG에 비해 전장과 체중의 평균값은 크지만, 통계적인 유의차는 없었음($P>0.05$).

표 27. HSP70의 SNP c.1415A>G 유전자형과 F2 성장형질의 상관성 분석

Trait ¹	Overall (n=104)	AA (n=40)	AG (n=51)	GG (n=13)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	16.02±1.428	16.28±1.197	16.04±1.129	15.19±2.562	0.058	n.s.
BW (g)	51.04±11.013	53.22±11.778	49.9±11.065	48.82±7.305	0.269	n.s.

¹, growth traits, TL, total body lengths (cm); BW; body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ significance thresholds. n.s., not significant.

④ HSP70 유전자형에 따른 수온 적응능력 검증

- F1 또는 F2 친어의 유전자형 분석
- 차세대 자어 생산 시, 인공수정을 통해 HSP70 유전자형(AA, AG, GG)을 각각 보유한 자어 생산되었음.
- 표현형은 부화율, 발생율, 도태율, 육성율, 초기 성장률을 비교하였음.
- 유전자형별 수온 처리(자연수온, 저온, 고온 등)후 적응능력 평가하였음.
- 수온별 적응능력이 우수한 친어 선발용 유전자 마커로써의 사용가능성을 평가하였음.

(6) 교배생산 자어에서 체색 관련 RNA 전자체 분석

(가) 교배생산 자어의 체색 유형

① 교배생산 자어의 체색 유형

- F2 자어의 체색을 육안으로 관찰하여 전반적으로 다소 어둡고 무늬가 선명하지 않으며, 점이 탁한 황색인 계열(흑색형, BC-1)과 표피가 밝고 무늬가 선명하며, 붉은 점이 뚜렷한 유형(적색형, BC-2)으로 구분하였음(그림 38).



a.



b.



c.

그림 38 . 붉바리의 체색(A), 흑색형 계열(B), 적색형 계열(C)

② 체색 유형별 피부 RNA 전사체 비교

- 대표적인 두 유형(BC-1, BC-2)를 각각 4개체씩 선발하여, 피부에서 total RNA를 추출하였고, 추출한 RNA를 대상으로 전사체를 분석하였음.

표 28. 체색 유형별 피부 RNA 전사체 분석 개요

Sample	No. of processed reads	No. of mapped reads	No. of unmapped reads
BC-1	74,474,436	53,017,216(71.19%)	21,457,220(28.81%)
BC-2	79,747,032	56,411,584(70.74%)	23,335,448(29.26%)

- 흑색형(BC-1) 개체의 피부에서 74,474,436개의 전사체가 해독하였고, 적색형(BC-2) 개체에서는 79,747,032개의 전사체가 해독되었음(표 28).

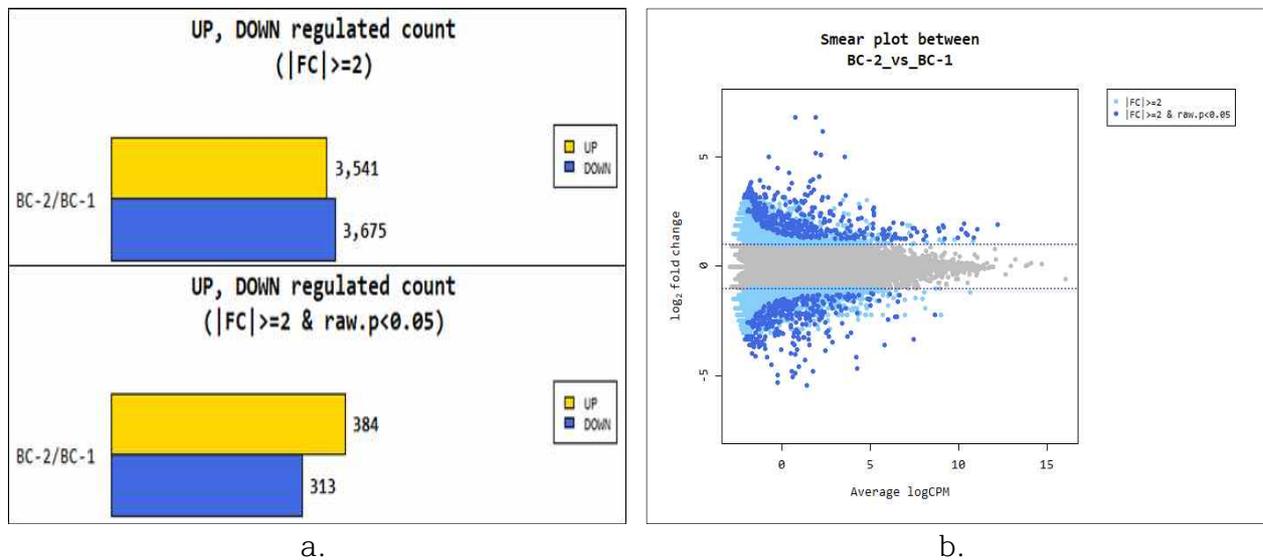


그림 39. 두 가지 체색 유형(BC-1, BC-2)에서 차등발현 contig. A, 전사체 중 BC-1과 BC-2에서 차등발현되는 contig의 수; B, 차등발현 contig의 배수 차(fold change, fc).

- BC-1과 BC-2의 전사체 중에서 차등발현(differentially expressed gene, DEG) contig는 7,216종이었으며, fold-change (fc)의 수준의 2이상을 나타내는 contig 중 통계적으로 유의적인 차이($P < 0.05$)를 나타낸 contig는 697종이 검출되었음.
- BC-2에 비해 BC-1이 up-regulation된 contig가 3,541종이었고, 이 중 384종의 contig는 통계적 유의차를 나타내었음($P < 0.05$).
- BC-2에 비해 BC-1이 down-regulation된 contig가 3,675종이었고, 이 중 313종의 contig는 통계적 유의차를 보였음($P < 0.05$).

표 29. BC-1과 BC-2 개체의 피부에서 DEG contig 최상위 20종

	Contig	BC-1_ Read_count	BC-2_ Read_count	BC-1 /BC-2	BC-2 /BC-1	FPKM				P-value (BC-2/BC-1)	-Log10 (P-value)
						BC-1	BC-2	BC-1 /BC-2	BC-2 /BC-1		
1	c42224_g1_i1	3	347	0.01	115.67	0.02	2.17	0.01	108.50	5.14905E-13	12.29
2	c53223_g5_i11	6	437	0.01	72.83	0.1	6.89	0.01	68.90	1.39638E-12	11.85
3	c58754_g5_i1	1473	59	24.97	0.04	213.05	8.11	26.27	0.04	2.68157E-10	9.57
4	c53223_g4_i2	8	296	0.03	37.00	0.22	7.81	0.03	35.50	4.20125E-10	9.38
5	c57842_g1_i12	11	363	0.03	33.00	0.13	4.02	0.03	30.92	4.24357E-10	9.37
6	c51411_g1_i1	1	127	0.01	127.00	0.01	1.78	0.01	178.00	5.40306E-10	9.27
7	c53667_g1_i1	7	240	0.03	34.29	0.16	5.08	0.03	31.75	1.48606E-09	8.83
8	c43986_g2_i1	297	11	27.00	0.04	27.49	0.96	28.64	0.03	2.77906E-09	8.56
9	c38004_g1_i1	1189	69	17.23	0.06	20.26	1.11	18.25	0.05	9.85193E-09	8.01
10	c50088_g2_i1	134	4	33.50	0.03	1.84	0.05	36.80	0.03	2.12905E-08	7.67
11	c24930_g1_i1	120	4	30.00	0.03	6.4	0.2	32.00	0.03	5.92219E-08	7.23
12	c47823_g1_i1	15	241	0.06	16.07	0.19	2.81	0.07	14.79	1.9384E-07	6.71
13	c50889_g1_i1	11	192	0.06	17.45	0.14	2.29	0.06	16.36	2.03718E-07	6.69
14	c28522_g1_i1	297	21	14.14	0.07	10.93	0.73	14.97	0.07	2.84112E-07	6.55
15	c55677_g4_i1	84	3	28.00	0.04	1.98	0.07	28.29	0.04	4.54126E-07	6.34
16	c57292_g13_i1	12	180	0.07	15.00	1.06	14.99	0.07	14.14	6.44694E-07	6.19
17	c43970_g3_i1	143	9	15.89	0.06	11.46	0.68	16.85	0.06	7.82257E-07	6.11
18	c37039_g1_i1	64	2	32.00	0.03	2.75	0.08	34.38	0.03	1.40592E-06	5.85
19	c54869_g4_i6	152	11	13.82	0.07	14.1	0.97	14.54	0.07	1.52249E-06	5.82
20	c45409_g2_i1	27	306	0.09	11.33	2.54	27.2	0.09	10.71	1.61644E-06	5.79

- BC-1과 BC-2의 피부에서 차등발현되는 contig는 fc의 차이에 의해 결정하였고, 최상위 20종의 통계적 유의성의 수준은 $1.616 \times 10^{-6} \sim 5.15 \times 10^{-13}$ 수준을 나타내었음(표 29).
- 각각의 contig read-count에서 BC-1이 BC-2보다 높은 수준을 나타낸 contig는 10종, BC-2가 높은 수준인 contig 역시 10종이었음.
- 발현량의 수준은 11.3배(c45409_g2_i1)~127배(c51411_g1_i1)의 차이를 보였으며, 상대적 정량수준인 FPKM의 상대적 차이는 10.7배~178배의 차이를 나타내었다.

표 30. BC-1과 BC-2의 DEG contig 최상위 20종에 대한 유사도 검색 결과

Contig	BLASTX result in NT database	Species	Identities	Accession no.	
1	c42224_g1_i1	hypothetical protein cypCar_00024955	<i>Cyprinus carpio</i>	972/1008 (96%)	KTG36755.1
2	c53223_g5_i11	transcription factor COE3 isoform X5	<i>Maylandia zebra</i>	216/219 (99%)	XP_012778453.1
3	c58754_g5_i1	E3 ubiquitin-protein ligase RNF103-like	<i>Notothenia coriiceps</i>	24/35 (69%)	XP_010771501.1
4	c53223_g4_i2	uncharacterized protein LOC106122930	<i>Papilio xuthus</i>	28/91 (31%)	XP_013174532.1
5	c57842_g1_i12	uncharacterized protein LOC109084860 isoform X1	<i>Cyprinus carpio</i>	363/549 (66%)	XP_018955047.1
6	c51411_g1_i1	WD repeat-containing protein 3 isoform X1	<i>Xiphophorus maculatus</i>	146/333 (44%)	XP_023192802.1
7	c53667_g1_i1	RNA-directed DNA polymerase from mobile element jockey-like	<i>Austrofundulus limnaeus</i>	191/324 (59%)	XP_013877416.1
8	c43986_g2_i1	immunoglobulin light chain variable region	<i>Epinephelus coioides</i>	162/176 (92%)	AAS55942.1
9	c38004_g1_i1	transferrin	<i>Epinephelus coioides</i>	623/673 (93%)	AEW43726.1
10	c50088_g2_i1	complement component c3	<i>Epinephelus coioides</i>	893/940 (95%)	ADU33222.1
11	c24930_g1_i1	hypothetical protein, partial	<i>Epinephelus bruneus</i>	194/213 (91%)	AEB31300.1
12	c47823_g1_i1	uncharacterized protein LOC113065989 isoform X2	<i>Carassius auratus</i>	383/557 (69%)	XP_026093325.1
13	c50889_g1_i1	Retrovirus-related Pol polyprotein LINE-1	<i>Larimichthys crocea</i>	263/679 (39%)	KKF11886.1
14	c28522_g1_i1	ApoA-I	<i>Epinephelus akaara</i>	260/263 (99%)	AGT02114.1
15	c55677_g4_i1	no hit			
16	c57292_g13_i1	uncharacterized protein LOC108262561	<i>Ictalurus punctatus</i>	114/168 (68%)	XP_017318440.1
17	c43970_g3_i1	complement C1q-like protein 4	<i>Seriola dumerili</i>	126/224 (56%)	XP_022616178.1
18	c37039_g1_i1	uncharacterized protein LOC108878326	<i>Lates calcarifer</i>		XP_018524428.1
19	c54869_g4_i6	Ig kappa chain V region Mem5	<i>Anoplopoma fimbria</i>	118/142 (83%)	ACQ58775.1
20	c45409_g2_i1	hypothetical protein, conserved	<i>Plasmodium gonderi</i>	15/27 (56%)	GAW83050.1

(나) 체색별 차등발현 유전자의 대사경로 예측

- BC-1와 BC-2 사이에서 차등발현 contig 697개를 대사경로에 따라 구분하였음.
- 기본 체색(포유동물의 모색)을 나타내는 melanin의 합성과 색소세포의 이주, 분화 등에 관여하는 색소형성 유전자군, 환경의 자극이나 변화에 대한 신경의 반응으로 나타나는 혈액이나 체액 내에서의 금속이온 결합과 관련된 유전자군, 스트레스, 물질대사, 수송, 신호전달 등 유전자군으로 구분되었음.
- BC-1과 BC-2에서 up-regulated 유전자들의 분포를 분석하여 대사경로를 예측하였음(표 31).

표 31. 두 가지 체색 유형에서 차등발현 전사체의 대사경로 차이

Related metabolism	Up-regulated contigs	
	BC-1	BC-2
Cell migration/differentiation	sox9-b, apoc1	fgf1b, gja5b, ecell
Melanin synthesis/transport	mchr, tyrp1, pmel, plin6, dct, tyrp1b	mitf, dctd
Metal ion releasing/binding	transferrin, dkey-183n20.15, hpx, pvalb8, crp, ftr02, dkey-60a16.1, dkey-183c6.9	mmp15, fh15, pvalb3, pvalb1, prdm5, ampd1, zbtb42, ldb3, fh12a, harbil, pfkmb, trim54, elc3y4, usp13, HMGXB3, pkmb, tmem38a
Stress/hormone related	hmox1a, cbln10, cbln9, cbln8	gpx2, mdkb, ryr3, ryr1b
Signal transduction	H2SAC8, pcnxl2, PLEKHA5, calml4a, cxcl10, atp2b1, npnt	ebf3, COE3L, stim2b, gjd2b, ss18l1, camk2a, casq1a
Muscle metabolism	epha2	myom2, mylpfa, tnnc2, dysf, tnni2, pdlim3b
Transport	SPIRE1, spire1a, umod, slc2a11b, mfsd7	unc50, b4galnt4a, bcap29, sp-unc50

- 세포 분화와 관련된 유전자군에서는 BC-1 그룹에서는 sox9-b, apoc1 등이 많이 전사되었고, BC-2에서는 fgf1b, gja5b, ecell 등이 많이 전사되는 양상을 나타냈음.
- 호르몬/스트레스 대사 유전자 중에서 BC-1에서는 hmox1a, cbln10, cbln9, cbln8 등 cerebellin과 관련된 유전자들의 전사 수준이 높았고, BC-2에서는 gpx2, mdkb, ryr3, ryr1b 등 ryanodine receptor와 관련된 유전자들의 전사 수준이 높았음.
- 근육 대사 관련 유전자 중에서 BC-1은 epha2, BC-2는 myom2, mylpfa, tnnc2, dysf, tnni2, pdlim3b 등의 전사 수준이 높았음.
- BC-1과 BC-2의 체색발현과 직접적인 상관이 있을 것으로 예상되는 유전자군은 멜라닌 생합성/수송, 금속이온 결합 및 이동과 관련된 유전자군이었음.
- 멜라닌 생합성, 수송 등에 관여하는 유전자들 중에서는 BC-1 그룹에서는 mchr, tyrp1, pmel, plin6, dct, tyrp1b 등이 많이 전사되었고, BC-2에서는 mitf, dctd 만이 상대적으로 더 높은 전사 수준을 보였음.
- BC-1에서는 tyrosine을 분해하여 eumelanin을 생성하는 생합성 경로에서 핵심 효소들인 tyrp1과 dct의 전사 수준이 모두 BC-2보다 높았음. 이는 BC-1의 표피가 BC-2보다 더 어둡게 보이는 이유가 더 많은 양의 흑색계열, 갈색계열 eumelanin의 합성에 의한 것으로 판단됨.
- 반면 BC-2의 경우 dct deaminase (dctd)의 높은 전사에 의해 갈색계열의 eumelanin 합성이 다시 조절되는 것으로 추정됨.

- 금속이온결합 및 이동과 관련된 유전자 중에서는 BC-1 그룹에서는 transferrin, dkey-183n20.15, hpx, pvalb8, crp, ftr02, dkey-60a16.1, dkey-183c6.9 등이 많이 전사되었으며, BC-2에서는 mmp15, fh15, pvalb3, pvalb1, prdm5, ampd1, zbtb42, ldb3, fh12a, harbil, pfkmb, trim54, e1c3y4, usp13, HMGXB3, pkmb, tmem38a 등이 많이 전사되는 양상을 보였음.
- 혈액이나 체액에 대한 금속이온의 분비는 일시적으로 어류 표피의 체색을 변화시키는 주된 요인으로 추정되나, 정확한 분자적 상관성을 설명하기 위해서는 보다 면밀한 조사가 필요함.

(7) 체색 관련 유전자 마커 개발

(가) 체색 관련 차등발현 후보 유전자에서 염기서열 변이의 검출

① 2년차 결과에서 선정된 후보 유전자들 중에서 Gene ontology (GO) 분석

- 멜라닌 합성 및 색소세포 형성, 이주, 멜라노솜 대사 등 관련 기능을 검토하였음.
- 체액 내에서 급속한 체색 변화를 유발할 수 있는 금속이온 결합 단백질 유전자들이 검출되었음.

② 체색 관련 SNP 발굴을 위한 후보 유전자 선정

- 전사체 분석 결과에서 FPKM 수준에서 유의적인 차이를 나타내었던 MC1R, tyrp1, tyr, pmel, pvalb3, unc50, H2SAC8, fh12 등을 후보 유전자로 선정하였음.
- Ensembl genome 데이터베이스에 등록된 zebrafish 등의 유전체 구조와 RNA-seq contig 서열의 비교를 통해 exon-intron boundary 예측하고, genomic DNA 분석에 필요한 프라이머 제작하였음(표 32).
- 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)로 증폭한 절편에서 염기서열을 결정하고, 서열 간 비교를 통하여 단일염기변이(single nucleotide polymorphism, SNP)를 검출하였음.

표 32. 체색 관련 SNP 마커 발굴을 위한 고안된 PCR 증폭용 프라이머

Primer name	Nucleotide sequence	Primer name	Nucleotide sequence
MC1R_F1	ACAATCATGGGCAACCATTTCGC	pmele6_F	ACCAGATTCCCTTTGCGGTTT
MC1R_F2	TGGCCATCTACAAGAACCGCAA	pmele6_R	CTGTAGCGAGGTGTTGCTGG
MC1R_R	CTCCTGGCTCCGGTACGCGTA	pmele7e9_F	ATCATCCTACCAGACATTTTTC
MC1R_2F	TGCACACTTGTTTGAAATTGG	pmele7e9_R	CTTCCTTGGCAAGAAACGGTGA
MC1R_2R	CTTTTGTGTGCTGTGTGCAA	pmele10e12_F	CATCCCCACTGAAGTGTGCACT
tyr1e2_F	CGGTGCTGTAGTGTGGACA	pmele10e12_R	TAGCAGCTTTTGTGATATTTTATTCAG
tyr1e2_R	GCAGTCAAACCCGCTGTAGT	pvalb3e1e3_F	ATTTTCGTTTGAGTAGAGGTATAT
tyr1e3_F	TGCGCAGGAATGTGCTGACG	pvalb3e1e3_R	TTAAGTCATCCTCCTCAATGAA
tyr1e3_R	CTGCATGTCGCGCTCCAGCT	pvalb3e4e5_F	ACTGTTCTGCAGAATTTCTCTG
tyr1e4e5_F	GATATGCTGCGGGACCCGAG	pvalb3e4e5_R	CTCATTGTCCTTTCCCCAAAACAGC
tyr1e4e5_R	TCGATGGAGTTCCTGAAGCT	unc50e2_F	TATGTTGCCGACGAGTTCCC
tyr1e6e7_F	GCTACAGCGCTCCTGAAGGC	unc50e2_R	CACAGAGCCAGATGCTGACG
tyr1e6e7_R	GGCCACTGCACCTCATAGGA	unc50e4e5_F	GTTTGTACGAATAAATATCTAATG
tyr1e8e9_F	CTCGTGCGCTCACGCTGACC	unc50e4e5_R	CACTGTAGCCCAGGAATGTGATG
tyr1e8e9_R	TGACTTTATTAATATGATTAAG	unc50e6_F	GCTTCCATTTTTAAAGAACACA
tyre1_F	GAGAGTGTGTGCGTAAAGGG	unc50e6_R	AAGTAAAAAGTGCAGCATCCTAGC
tyre1_R	CTTCCAGGATGAGAACACAGAG	H2SAC8e1e3_F	CTGCTCCTCCAGGAACCAGTG
tyre2_F	GTGATCTGTTCTCAGCCTCA	H2SAC8e1e3_R	CCGAGCCCCAACCTCTCGCCT
tyre2_R	CTTCCAGCGCGTTCCTGAAG	H2SAC8e4e5_F	TTCCCCACACGTTGCTTCGAT
tyre3e4_F	GTTTTGCTAATCCTGAGACG	H2SAC8e4e5_R	CTGTCTGGTGGCGTAGCCAC
tyre3e4_R	GGATCCTGTAAATATGCATATTC	H2SAC8e6e7_F	GTGGTGGCAGGTTTCAGGTTT
tyre5_F	GTCAGCGGTTTGTGCAGGAGTT	H2SAC8e6e7_R	CATGATTAACATCCCTTCTTCAC
tyre5_R	GTGTGATCTGTCCCTTTAAGTG	H2SAC8e8_F	CCTTTAATCAAGCGTCGGCCA
pmele1e2_F	TGAAAGTCTTTAAAGTGCCA	H2SAC8e8_R	TTATGCCAGCAGGTCTGTGTC
pmele1e2_R	CCATCCAGCTGGTTTTGTAGC	fhl2ae7_F	GACTCGGAGGAAGCAAGTATA
pmele3e5_F	GTGGCCAGCTGAAGTTTGATG	fhl2ae7_R	TTAACTCCTCTCAAATTGAAAATG
pmele3e5_R	CAATGATCGAGAACTGTGTGG		

③ MC1R 유전자 SNP 검출

- Melanocortin 1 receptor 유전자
- 색소세포의 멜라닌 생합성에 대한 외부신호(melanocortin-1) 수용과 전달을 담당하는 첫 번째 유전자로, 포유동물에서 MC1R 유전자의 결손에 따라 검정색/갈색이 노랑색/적색으로 변하는 표현형을 나타내었음.
- 2개 지점에서 SNP g.257 C>A, g.473 C>T가 검출되었다(표 33)

표 33. 붉바리 MC1R 유전자에서 발견된 SNP g.257 C>A, g.473 C>T의 서열

<p>>2-1_2F</p> <p>TGCCTGGCGGTGCCGACATGCTGGTCAGCGTCAGCAACGTGGTGGAGACTATGTTTCATGCTTCTCAACGACCACGGCCTGATGGACATGCACCCTGGCATGCTGCGCCACCTGGACAACGTCATCGACGTGATGATCTGCAGCTCCGTGGTGTCTCGCTGTCCTTTCTGTGCACCATCGCAGCGGACCCTACATCACCACTCTTTTACGCGCTGCGTTATCACAGCATCATGACCACGCGCGCCGCTCAACATC/CATCGTGGTGGTGGCTGGCCAGCATCACCTCCAGCATCCTGTTTATTGTGTACCACACCGACAACGCTGTCATCGTGTGCCTCGTGACCTTCTTCTGCACCACCCTGGTGTAAACGCCGTGCTGTACCTGCACATGTTCCCTCTGGCTCACCTGCACTCGCGGCGCATTGTGGCTTTCCACAAAAGCAGGCGCCAATCCACGAGCATGAAGGGC/tGCGATGACCCTCACCATCCTGCTCGGGGTCTTCATTGTATGCTGGGGCCCCCTTCTTCCCTCCACCTCATCCTCATCCTCACCTGCCCCACCAGTCCCTTCTGCAACTGTTTCTTCAGAACTTTAACCTTTTCCCTCATCCTCATCATCTGCAACTCGCTCATCGACCCGCTCATCTACGCGTACG</p>
<p>>2-2_2F</p> <p>TGCCTGGCGGTGCCGACATGCTGGTCAGCGTCAGCAACGTGGTGGAGACTATGTTTCATGCTTCTCAACGACCACGGCCTGATGGACATGCACCCTGGCATGCTGCGCCACCTGGACAACGTCATCGACGTGATGATCTGCAGCTCCGTGGTGTCTCGCTGTCCTTTCTGTGCACCATCGCAGCGGACCCTACATCACCACTCTTTTACGCGCTGCGTTATCACAGCATCATGACCACGCGCGCCGCTCAACATC/aATCGTGGTGGTGGCTGGCCAGCATCACCTCCAGCATCCTGTTTATTGTGTACCACACCGACAACGCTGTCATCGTGTGCCTCGTGACCTTCTTCTGCACCACCCTGGTGTAAACGCCGTGCTGTACCTGCACATGTTCCCTCTGGCTCACCTGCACTCGCGGCGCATTGTGGCTTTCCACAAAAGCAGGCGCCAATCCACGAGCATGAAGGGCGCGATGACCCTCACCATCCTGCTCGGGGTCTTCATTGTATGCTGGGGCCCCCTTCTTCCCTCCACCTCATCCTCATCCTCACCTGCCCCACCAGTCCCTTCTGCAACTGTTTCTTCAGAACTTTAACCTTTTCCCTCATCCTCATCATCTGCAACTCGCTCATCGACCCGCTCATCTACGCGTACG</p>
<p>>2-7_2F</p> <p>TGCCTGGCGGTGCCGACATGCTGGTCAGCGTCAGCAACGTGGTGGAGACTATGTTTCATGCTTCTCAACGACCACGGCCTGATGGACATGCACCCTGGCATGCTGCGCCACCTGGACAACGTCATCGACGTGATGATCTGCAGCTCCGTGGTGTCTCGCTGTCCTTTCTGTGCACCATCGCAGCGGACCCTACATCACCACTCTTTTACGCGCTGCGTTATCACAGCATCATGACCACGCGCGCCGCTCAACATC/CATCGTGGTGGTGGCTGGCCAGCATCACCTCCAGCATCCTGTTTATTGTGTACCACACCGACAACGCTGTCATCGTGTGCCTCGTGACCTTCTTCTGCACCACCCTGGTGTAAACGCCGTGCTGTACCTGCACATGTTCCCTCTGGCTCACCTGCACTCGCGGCGCATTGTGGCTTTCCACAAAAGCAGGCGCCAATCCACGAGCATGAAGGGTGCGATGACCCTCACCATCCTGCTCGGGGTCTTCATTGTATGCTGGGGCCCCCTTCTTCCCTCCACCTCATCCTCATCCTCACCTGCCCCACCAGTCCCTTCTGCAACTGTTTCTTCAGAACTTTAACCTTTTCTCATCCTCATCATCTGCAACTCGCTCATCGACCCGCTCATCTACGCGTACG</p>

④ MC1R g.257 C>A 다형성

- g.257 지점에서 염기전환(transversion) 변이가 검출되었고, 발견된 유전자형은 CC 또는 CA였고, AA 동형접합은 발견되지 않았음(그림 40).
- MC1R 단백질 서열에서 아미노산 변화는 없었음.

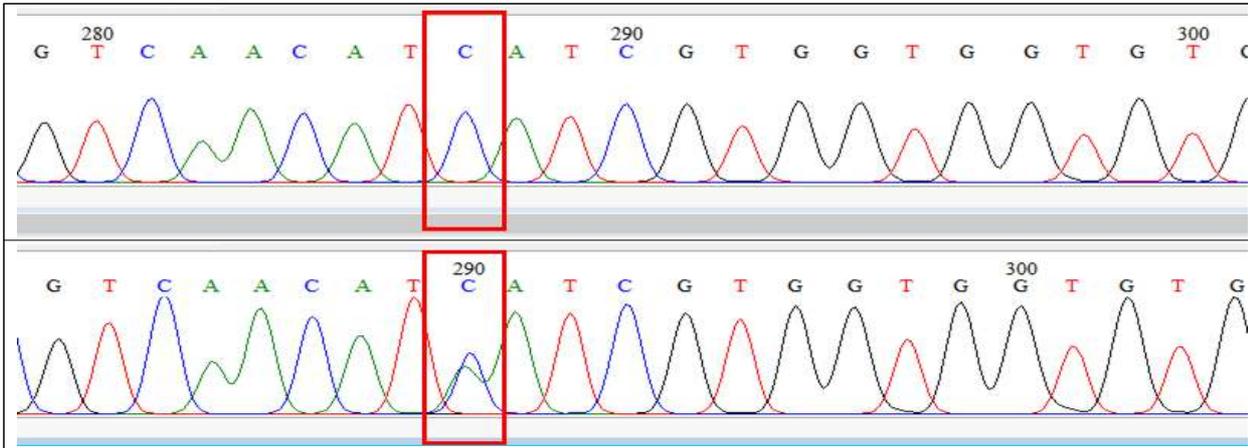


그림 40. 붉바리 MC1R g.257 C>A 다형성.

⑤ MC1R g.473 C>T 다형성

- g.257 지점에서 염기전이(transition) 변이가 검출되었음.
- 발견된 유전자형은 CC, CT, TT 3 가지이었음(그림 41).
- SNP에 의한 MC1R 단백질 서열에서 아미노산 변화는 없었음.

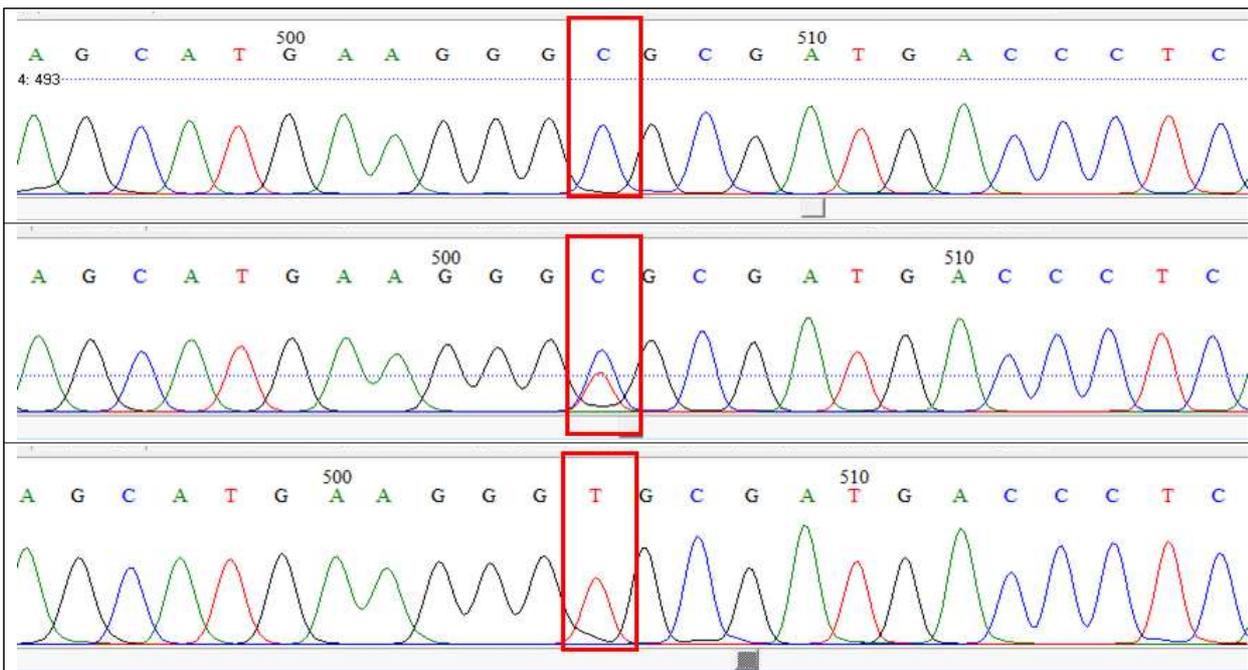


그림 41. 붉바리 MC1R g.473 C>T 다형성

⑥ MCHR g.247T>delT 다형성

- g.247 지점에서 염기 삽입/결실(insertion/deletion) 변이가 검출되었음(표 34).

- 발견된 유전자형은 T/T 또는 T/delT이며, delT/delT 동형접합은 발견되지 않았음(그림 39)
- 삽입/결실 변이는 틀이동돌연변이(frame-shift mutation)를 유발하여, 아미노산의 변화를 예견할 수 있음.

표 34. 붉바리 MCHR 유전자에서 발견된 SNP g.247T/delT의 서열

```
>3-2. 3R
TTGAAATTGGTGAAGGTGTTTTTTTTTCTATTTCCACGTTTTTCTTAATTTGCAGTACATTGACCTCTAAGGGCCACCGTAGTTATCTGCACTGCAGTTTG
TAGGATTTAGGGTTTGTGAGCTTGACCAGTGCTAAAGATTAAGTCACGATATCTCAACCCGTGAGAGTGCCTCTTTAAAGGTATTAAAGCTAGAATTATA
CACAGGGCCCATTTTCAACATGTTTACATTTTGTAAATGTAACAT(del)GTAGTCATAAATATTAACCAACCTGCACATTATCAAATTATCATAACTT
AATTTCCACAGAGTGAACCTGCAACCCGGGGCCGAAGCTCCCCACTCTGCCCTAGCTAAGCGAATCCAGCCTCGATCGTAGTGCAGCATGGGCCAGC
```

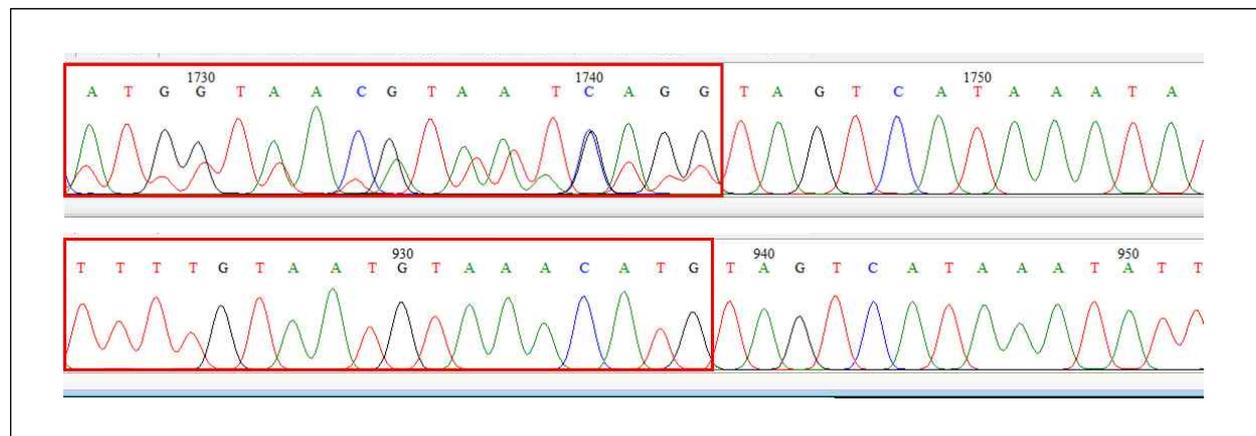


그림 42. MCHR g.247T>delT 다형성. 위, T/delT; 아래, T/T

⑦ MC1R, MSHR SNP와 체색의 상관 분석

- 기 확보된 친어의 DNA를 활용하여 MC1R SNP에 대한 유전자형 결정하였음.
- 체색 표현형과 MC1R SNP 유전자형의 상관 분석을 수행하였으나, 표현형과 직접적인 연관성을 나타내지는 않았고, 친어 선발과정에서는 유전자 서열의 유전적 다양성이 유지될 수 있는 체계가 적용되었음.

라. 수출용 붉바리 종자 생산을 위한 근친근절 프로그램 구축

(1) 붉바리 친어 혈통관리 및 근친근절을 위한 분자진단체계 구축

(가) 전장 유전체 기반 MS 분석체계를 이용한 친어 혈통관리체계

○ 수출종자 생산을 위한 친어 혈통관리, 근친근절 프로그램 적용

○ 유전체 분석 기반 MS 대립유전자형을 이용한 동일성검사, 친자확인, 근교계수 산출

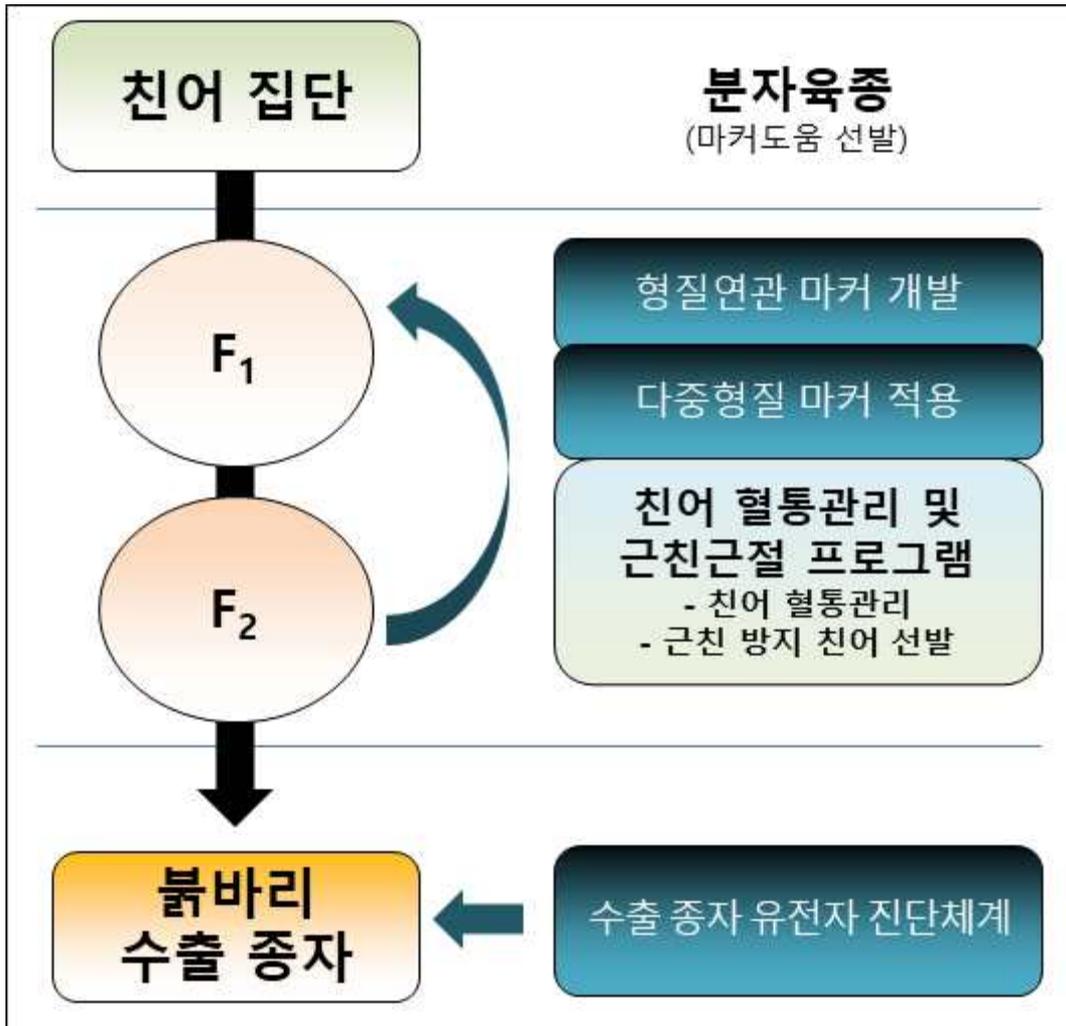


그림 43. 붉바리 우량종자 분자유종에서 친어 혈통관리 및 근친근절 프로그램

○ 전장 유전체 해독을 통해 선발한 MS 미세위성 마커 중 10종 최종 선발

○ 특허 출원(2017. 11. 10) 및 등록(2020. 1. 2.)



그림 44. 분자리 개체식별 및 친자 확인 위한 미세위성 마커 특허증

표 35. 10종 MS 마커의 분석을 위해 고안한 프라이머 서열

Primer name	Sequence	Primer name	Sequence
BBr_2nt_02F	CTCCCTCCCTTTCTCCATTC	BBr_2nt_02R	CGACCGTCTGAGGTCTAAGG
BBr_2nt_12F	CACCGCCATCAAAGTAGACA	BBr_2nt_12R	GTGTCGCTAATGTGGGGACT
BBr_2nt_15F	CCTGTGAGCTCTGTCCCTGT	BBr_2nt_15R	TTGAATTTCTGGGGCAGTTC
BBr_2nt_16F	GGCTAAAAGAGGGGTGGAGT	BBr_2nt_16R	CCATGCCAAAGGCAAAATTA
BBr_2nt_24F	CAGACTGCCTCCACACTTGA	BBr_2nt_24R	ACAGCCTCTGACCACAGCTT
BBr_2nt_26F	TTTCAAATCCACCTGCCAAT	BBr_2nt_26R	CAGACTGGCAGAGAAAACA
BBr_2nt_30F	TTACCCAGCTGTGCTGAATG	BBr_2nt_30R	CACCAGTACTGACGCTCTGG
BBr_2nt_31F	GCTGGATGAGCTTTCCTCTG	BBr_2nt_31R	GTGAGCAGAGTCGGATGTGA
BBr_2nt_32F	TGCTACTGCATCCACACAAA	BBr_2nt_32R	AAGCGAGCAAACAAACACAG
Bbr_2nt_34F	CTTGAGGGATGAATCGAGA	Bbr_2nt_34R	ACAGAGTCTGCAGCATCCAA

- 10 종의 MS marker를 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)로 증폭하기 위하여 각각의 마커에 대한 프라이머(정방향 F, 역방향 R)를 고안함.

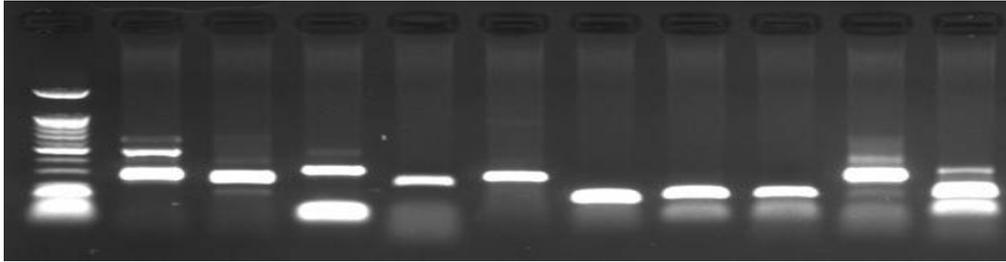


그림 45. MS 10종에 대한 PCR 증폭산물

- ① 친어 혈통관리 및 근친근절을 위한 유전자형 DB 구축
 - 수출종자 생산용 친어, 생산자어에 대한 대립유전자형 DB 구축
 - 유전적 다양성 평가, 부권부정율, 근교계수 산출
 - 가계도 작성, 후속세대 생산을 위한 교배조합 작성 및 친어 선발

▶ 2018년도 종자생산용 친어 대립유전자 분석

- 2018년도 종자생산용 친어(암 96, 수 34)의 꼬리지느러미를 수집하여, DNA를 확보함.
- 2차 F2 생산(2018. 6. 23.)에 이용한 F1 암컷 54마리, 수컷 3마리에 대한 MS 10종의 유전자형 DB 구축
- 마커-기반 선발체계에서 유전자형에 대한 관독이후 개체선발 시, 향후 후속세대에서 근교약세(inbreeding depression)가 발생할 수 있음
- 다중 형질 적용을 위한 암-수 친어 선발에 있어, 기 개발된 MS 유전자형의 유전적 다양성지수를 평가하여, 후속세대의 유전적 다양성(염기서열 다양성, 평균 대립유전자 수, 이형접합률, 다형정보량, 근교계수 등)을 유지할 수 있는 전략 구축
- 현재까지 F2 집단(n=861) 생산에 이용한 모든 친어(F1, n=130)에 대한 DNA시료 확보완료
- MS 마커 10종에 대한 제1차 자연산 친어, 후속 세대의 유전적 다양성 평가

▶ 2019년도 종자생산용 친어 대립유전자 분석

	A	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL
1	ID	2nt_16ta	2nt_16tb	3nt_04ta	3nt_04tb	3nt_13fa	3nt_13fb	2nt_26fa	2nt_26fb	2nt_30fa	2nt_30fb	2nt_31fa	2nt_31fb	2nt_34fa	2nt_34fb	3nt_06ha	3nt_06hb	2nt_18ha
2	1-01ms	178	194	127	127	176	185	176	180	130	138	240	246	100	100	260	269	197
3	1-02ms	178	196	130	130	173	185	170	170	128	142	240	246	108	108	266	269	197
4	1-03ms	200	200	127	130	173	185	166	166	142	142	238	240	106	106	266	266	197
5	1-04ms	178	200	127	133	173	185	168	172	128	130	242	242	108	108	260	263	197
6	1-05ms	194	200	124	130	176	185	166	166	128	136	240	252	100	106	260	260	197
7	1-06ms	186	190	127	127	173	185	166	166	130	142	232	238	118	118	260	260	197
8	1-07ms	186	190	127	127	173	185	166	166	130	142	232	238	118	118	260	260	197
9	1-08ms	178	194	127	130	176	185	166	172	132	136	236	240	118	118	260	266	197
10	1-09ms	178	192	127	127	173	185	166	172	112	146	236	252	106	108	260	269	197
11	1-10ms	194	194	130	130	173	185	168	170	128	142	236	240	100	102	260	269	209
12	1-11ms	178	200	127	127	173	185	166	172	112	128	232	240	108	108	260	269	197
13	1-12ms	178	196	127	127	185	185	174	176	128	136	232	240	106	106	260	260	197
14	1-13ms	190	200	130	133	176	185	166	166	132	142	236	236	106	106	266	269	197
15	1-14ms	194	200	127	127	173	185	168	170	128	134	232	244	100	106	266	269	199
16	1-15ms	178	178	127	130	173	173	166	172	128	132	236	240	106	114	260	260	197
17	1-16ms	178	178	127	130	173	185	174	176	130	130	240	240	106	114	260	260	197
18	1-17ms	192	200	130	130	173	173	168	168	128	134	230	236	100	108	260	269	209
19	1-18ms	178	194	127	127	176	185	166	172	110	112	242	252	100	106	260	260	209
20	1-19ms	194	200	127	127	176	185	166	184	120	136	240	244	116	120	260	266	197
21	1-20ms	190	200	127	130	173	176	166	168	128	146	236	238	106	108	260	269	189
22	1-21ms	178	194	127	130	173	176	172	174	128	146	232	236	100	106	260	260	197
23	1-22ms	184	200	127	130	173	185	166	166	136	142	240	244	106	108	269	269	197
24	1-23ms	182	194	124	127	185	185	166	174	128	138	246	248	102	108	260	260	199
25	1-24ms	194	194	124	130	176	185	166	172	136	142	238	240	108	108	266	269	197
26	1-25ms	186	194	127	130	173	173	178	178	128	128	240	242	106	106	260	269	199
27	1-26ms	184	200	127	127	173	176	168	168	126	128	232	254	108	108	260	260	197

그림 46. 2019년도 종자생산용 붉바리 친어 및 자손의 MS 대립유전자형 DB 구축

- 과제 수행 중 인공수정에 이용된 친어의 DNA 및 조직(꼬리지느러미) 시료 확보
- 현재 자어 생산에 활용 중인 F2 친어 (암컷 94마리; 수컷 16 마리) DNA 확보
- F2 친어 수컷(16 마리) MS 대립유전자형 정보 수집 완료, 암컷은 진행 중
- F3 36 마리에 대한 MS 대립유전자형 정보 수집, 친자확인을 통한 부계 추적

표 36. 친어 중 수컷들에서 결정된 대립유전자의 유전적 다양성 지수

Locus ¹	k	N	Genetic diversity values ²								HW ³
			HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	
2nt_02	13	26	0.846	0.847	0.812	0.493	0.325	0.146	0.047	0.347	ND
2nt_06	14	26	0.885	0.881	0.851	0.420	0.265	0.101	0.031	0.326	ND
2nt_10	15	26	0.923	0.925	0.899	0.317	0.188	0.057	0.016	0.301	ND
2nt_13	16	26	0.923	0.929	0.905	0.304	0.179	0.052	0.015	0.298	ND
2nt_24	10	26	0.885	0.865	0.831	0.466	0.301	0.131	0.040	0.336	ND
2nt_30	12	26	0.885	0.863	0.831	0.461	0.297	0.124	0.039	0.337	ND
2nt_31	11	26	0.885	0.859	0.826	0.471	0.305	0.131	0.041	0.339	ND
2nt_32	10	26	0.885	0.869	0.835	0.457	0.294	0.127	0.039	0.334	ND

¹, these markers were also pending as the patent trial 10-2017-0149118(2017. 11. 10)

², HObs, observed heterozygosity; HExp, expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content; NE-1P, non-exclusion probability for first parent; NE-2P, non-exclusion probability for second parent; NE-PP, non-exclusion probability for parent pair; non-exclusion probability for identity; non-exclusion probability for sib identity.

³, HW, Hardy-Weinberg equilibrium test.

- MS 대립유전자형의 일치도 기준하여 친자확인(CERVUS 3.0.7)
- MS 대립유전자형의 부-모-자 3자 일치 여부
- 부-모-자 3자 일치도에 대한 신뢰 수준은 95%으로 설정

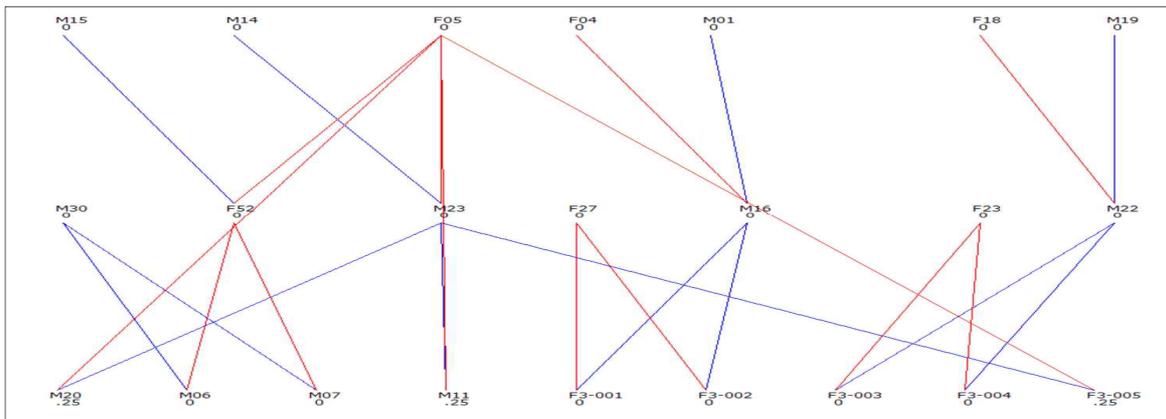


그림 47. F3 9마리에 대한 가계도. 개체번호 아래의 숫자는 근교계수를 의미함.

- 친자확인을 통해 얻은 자료를 이용하여 가계도 작성(Pedigree Viewer)
- 가계도 작성 후 근교계수(inbreeding coefficient) 산출
- 근친이 발생한 가계 추적, 근친 부모에 대한 친어 사용 여부 판단

표 37. 2019년도에 생산된 F3 자어 일부에서 산출한 근교계수와 가계 구성원 정보

SeqID	SeqSire	SeqDam	ID	Sex	Inbreeding coefficient
1	0	0	F27	2	0
2	0	0	M01	1	0
3	0	0	F04	2	0
4	0	0	M19	1	0
5	0	0	F18	2	0
6	0	0	M14	1	0
7	0	0	F23	2	0
8	0	0	M30	1	0
9	0	0	F05	2	0
10	0	0	M15	1	0
11	6	9	M23	1	0
12	4	5	M22	1	0
13	10	9	F52	2	0
14	2	3	M16	1	0
15	11	9	M20	1	0.25
16	8	13	M06	1	0
17	8	13	M07	1	0
18	11	9	M11	1	0.25
19	14	1	F3-001	1	0
20	14	1	F3-002	1	0
21	12	7	F3-003	1	0
22	12	7	F3-004	2	0
23	11	9	F3-005	1	0.25

- 근친근절을 위한 교배조합 작성
- 교미상대 선택(mate selection)은 가계도 정보를 바탕으로 선정(Pedigree Viewer)
- 친어의 발육, 건강 상태, 성성숙 및 인공수정 적합여부를 점검 후 최종 선정

(2) 수출 종자 유전자 진단체계 구축

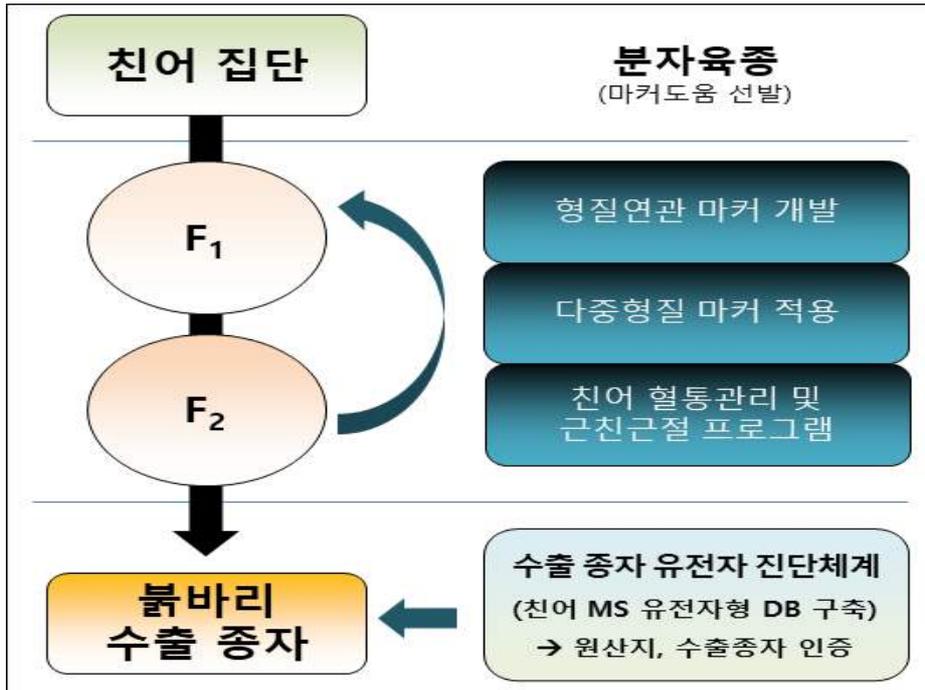


그림 48. 북바리 우량종자 분자유종에서 수출 종자 유전자 진단체계

(가) 수출 종자 인증을 위한 유전자 진단 체계 구축

① 품종 인증 및 원산지 추적용 분자 마커 체계

- 특허 제 10-2064039호, 북바리 개체 식별 및 친자 확인 위한 미세위성 마커 10종 중 9종
- 개체식별능력을 향상시키기 위해 신규 마커 2종 추가, 총 11종의 MS 마커 체계 구성(표 38)

표 38. 수출용 북바리 품종 인증 및 원산지 추적용 MS 마커 정보

Marker name	Primer name	Sequences (5'→3')	Primer name	Sequences (5'→3')
BBr_2nt_02*	2nt_02F	PET-CTCCCTCCCTTTCTCCATTC	2nt_02R	CGACCGTCTGAGGTCTAAGG
BBr_2nt_06	2nt_06F	VIC-TGTGCTCTGCTCCAACACTC	2nt_06R	CAGCACTCACCTCAACCTCA
BBr_2nt_12*	2nt_12F	NED-CACCGCCATCAAAGTAGACA	2nt_12R	GTGTCGCTAATGTGGGGACT
Bbr_2nt_13	2nt_13F	VIC-CTCCGAAGGGAATCTTTGTC	2nt_13R	TTTGTGCTTTGGCAACACAT
BBr_2nt_15*	2nt_15F	VIC-CCTGTGAGCTCTGTCCCTGT	2nt_15R	TTGAATTTCTGGGGCAGTTC
BBr_2nt_16*	2nt_16F	NED-GGCTAAAAGAGGGGTGGAGT	2nt_16R	CCATGCCAAAGGCAAAATTA
BBr_2nt_24*	2nt_24F	PET-CAGACTGCCTCCACACTTGA	2nt_24R	ACAGCCTCTGACCACAGCTT
BBr_2nt_26*	2nt_26F	FAM-TTTCAAATCCACCTGCCAAT	2nt_26R	CAGCACTGGCAGAGAAAACA
BBr_2nt_31*	2nt_31F	NED-GCTGGATGAGCTTTCTCTG	2nt_31R	GTGAGCAGAGTCGGATGTGA
BBr_2nt_32*	2nt_32F	FAM-TGCTACTGCATCCACACAAA	2nt_32R	AAGCGAGCAAACAAACACAG
BBr_2nt_34*	2nt_34F	FAM-CTTGGAGGGATGAATCGAGA	2nt_34R	ACAGAGTCTGCAGCATCCAA

*, these markers have been pended for parentage as the patent no. 10-2064039.

(나) 수출 종자의 양식2세대(F2) 친어의 MS 마커 대립유전자형 DB 구축

① 수출 종자의 인공수정용 친어의 DNA bank 구축

- 수출용 종자 생산에 기 이용된 인공수정용 친어(수출일 2020년 7월 14일)
- 친어 선정과정에서 개체관리를 위한 microchip 주입
- 꼬리지느러미 수집 후 genomic DNA 대량 확보

② 수출 종자의 양식2세대(F2) 친어에서 MS 마커 대립유전자형 DB 구축

ID	BBr_2nt_02a	BBr_2nt_02b	BBr_2nt_12a	BBr_2nt_12b	BBr_2nt_15a	BBr_2nt_15b	BBr_2nt_16a	BBr_2nt_16b	BBr_2nt_24a	BBr_2nt_24b	BBr_2nt_26a	BBr_2nt_26b	BBr_2nt_31a	BBr_2nt_31b	BBr_2nt_32a	BBr_2nt_32b	BBr_2nt_34a	BBr_2nt_34b	BBr_2nt_06a	BBr_2nt_06b	BBr_2nt_13a	BBr_2nt_13b
BF013	272	274	122	124	104	106	180	180	143	147	198	206	139	143	204	214	238	240	224	236	200	208
BM017	274	274	118	120	106	128	176	198	149	153	186	196	129	143	216	222	240	242	220	220	198	208
BM021	272	274	122	122	120	128	192	198	149	155	186	206	135	143	208	220	240	240	220	220	206	222
BM022	272	276	122	122	104	106	192	192	143	151	188	198	133	133	210	214	240	248	222	236	196	196
BF027	272	272	118	122	106	114	180	192	143	143	198	206	133	133	198	204	246	248	224	234	196	196
BF034	272	276	118	122	104	106	178	198	147	153	198	198	129	133	208	216	240	246	220	238	196	202
BM047	272	272	118	122	106	128	180	180	143	147	198	206	139	143	204	214	238	240	224	236	200	208
BF051	272	276	122	124	104	104	192	192	147	151	188	198	133	137	210	214	240	248	222	224	196	198
BF069	272	276	122	124	104	106	176	180	143	155	180	206	129	133	204	216	242	248	220	224	196	204
BF075	272	272	122	122	104	104	180	192	143	153	198	206	135	143	204	208	240	246	220	220	202	206
BF078	272	274	118	118	128	130	188	198	149	155	186	188	143	143	218	224	240	240	220	232	198	206
BF089	274	274	118	122	104	104	198	198	149	149	186	206	143	143	220	222	238	244	220	234	198	208
BF095	272	272	122	122	104	120	180	192	143	153	194	196	135	143	204	208	236	240	220	220	202	206
BF096	272	272	122	122	104	104	190	192	149	153	198	206	135	143	208	208	236	240	220	220	202	206
BF122	274	274	118	122	104	106	176	182	145	153	186	196	133	143	210	220	240	242	220	236	198	216
BM132	272	274	122	122	120	128	176	198	149	155	186	196	143	143	216	220	240	240	220	238	198	206

그림 49. 수출 종자의 양식2세대(F2) 친어의 MS 마커 11종에서 결정된 대립유전자형

표 39. 수출 종자의 양식2세대(F2) 친어의 MS 마커 유전적 다양성 지수

Marker ¹	k	N	Genetic diversity values ²				
			HObs	HExp	PIC	NE-I	NE-SI
BBr_2nt_02	3	16	0.500	0.589	0.496	0.259	0.530
BBr_2nt_12	4	16	0.563	0.554	0.479	0.272	0.549
BBr_2nt_15	6	16	0.750	0.734	0.669	0.126	0.426
BBr_2nt_16	8	16	0.688	0.817	0.760	0.075	0.373
BBr_2nt_24	7	16	0.875	0.845	0.793	0.058	0.355
BBr_2nt_26	7	16	0.938	0.823	0.767	0.071	0.369
BBr_2nt_31	6	16	0.688	0.740	0.677	0.120	0.421
BBr_2nt_32	10	16	0.938	0.895	0.853	0.032	0.324
BBr_2nt_34	7	16	0.813	0.726	0.678	0.113	0.427
BBr_2nt_06 [†]	7	16	0.688	0.720	0.669	0.120	0.431
BBr_2nt_13 [†]	9	16	0.875	0.871	0.825	0.044	0.339

¹, these markers were patented as the patent no. 10-2064039 (2020. 01. 02) except for two additional MS markers (BBr_2nt_06 and BBr_2nt_13). [†], were selected from preliminary tests and additionally used for increasing the efficiency of individualization and parentage analyses.

², HObs, observed heterozygosity; HExp, expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content; NE-I, non-exclusion probability for identity; NE-SI, non-exclusion probability for sib identity.

- 마커별 대립유전자(k)는 최소 3(BBr_2nt_02)-10개(BBr_2nt_32)가 확인됨
- 관찰이형접합율(HObs)은 0.500-0.938, 다형정보량(PIC)은 0.479-0.853
- 동일개체출현율(NE-I)은 0.032-0.259, 동일 형매 내 동일개체출현율(0.324-0.549)

표 40. 수출 종자의 양식2세대(F2) 친어에서 MS 마커 9종, 11종에서 산출된 조합된 다양성 지수와 부권부정율, 동일개체출현율

Statistic content ¹	Measured value	
	9 MS markers ²	11 MS markers ³
Number of individuals	16	16
Number of loci	9	11
Mean number of alleles per locus	6.444	6.727
Mean expected heterozygosity	0.747	0.756
Mean polymorphic information content (PIC)	0.686	0.697
Combined non-exclusion probability (first parent) (NE-1P)	0.0178	0.0049
Combined non-exclusion probability (second parent) (NE-2P)	0.001018	0.000161
Combined non-exclusion probability (parent pair) (NE-PP)	0.00000888	0.00000038
Combined non-exclusion probability (identity) (NE-I)	1.18×10^{-9}	6.16×10^{-12}
Combined non-exclusion probability (sib identity) (NE-SI)	0.0003542	0.0000518

¹, was calculated by allele frequency analysis of Cervus 3.0.7.

², markers patented as the patent no. 10-2064039 (2020. 01. 02) in South Korea.

³, combined 9 MS markers patented and 2 additional MS markers selected by our preliminary tests.

- 평균 대립유전자 수는 9개 마커 체계에서 6.444, 11개 마커 체계에서 6.727개
- 평균 기대이형접합율은 9개 마커 체계에서 0.747, 11개 마커 체계에서 0.756개
- 평균 다형정보량은 9개 마커 체계에서 0.686, 11개 마커 체계에서 0.697개
- 조합된 부권부정율은 부모의 정보가 없을 때(NE-1P), 9개 마커에서 0.0178, 11개의 마커에서 0.0049
- 조합된 부권부정율은 부모 중 한 쪽의 정보를 알고 있을 때(NE-2P), 9개 마커에서 0.001018, 11개의 마커에서 0.000161
- 조합된 부권부정율은 부모 양쪽의 정보를 알고 있을 때(NE-PP), 9개 마커에서 0.00000888, 11개의 마커에서 0.00000038
- 조합된 동일개체출현율은 9개 마커에서 1.18E-09, 11개의 마커에서 6.16E-12
- 조합된 동일 형매 내 동일개체출현율은 9개 마커에서 0.0003542, 11개의 마커에서 0.0000518

- 11개의 마커 조합이 9개의 기존 특허등록 마커 체계에 비해 더 뛰어난 개체 식별 능력과 친자확인 능력을 보유한 것으로 판단됨

(다) 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자를 이용한 친어확인 시험

① 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자에서 MS 대립유전자형 결정

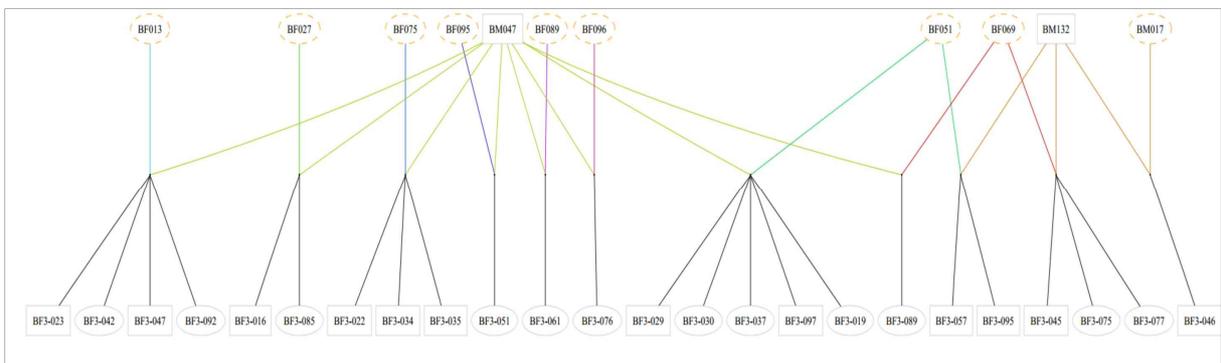
- 수출용 종자(생산일: 2020년 03월 27일)
- 40일령, 100 개체 무작위 선정하여 DNA 추출
- MS 마커에 대한 대립유전자형 결정
- 부·모·자 3자 일치도 신뢰 수준 95%로 설정

② 수출용 양식3세대(F3) 종자에서 MS 마커 대립유전자형을 이용한 친자확인 시험

- 수출용 종자 100 개체
- 양식2세대(F2) 친어와 혈연관계가 없는 3 개체를 대조실험에 활용
- F2친어 집단, F3종자 개체의 MS 대립유전자형을 비교, 부-모-자 3자일치 여부로 판독
- F3종자에 대한 친어 검출, 대조구 3개체는 부모 확인 안 됨 (그림 227)

③ 수출 종자에 대한 사후 인증 체계 구축

- 수출 종자 생산 시 인공수정용 친어에 대한 DNA bank 구축
- 인공수정에 이용한 친어 전체에 대한 MS 마커 대립유전자형 결정 및 DB 구축
- 친자확인 방식을 이용한 수출 종자에 대한 생산이력증빙 자료로 활용 예정



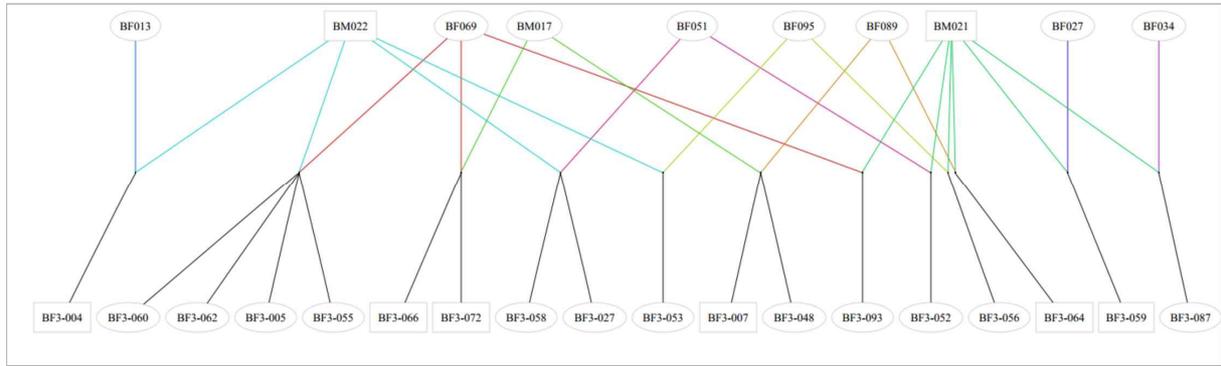


그림 50. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 MS 마커 대립유전자형을 이용하여 작성한 가계도.

ID	BB_r_nt2_02a	BB_r_nt2_02b	BB_r_nt2_10a	BB_r_nt2_10b	BB_r_nt2_12a	BB_r_nt2_12b	BB_r_nt2_16a	BB_r_nt2_16b	BB_r_nt2_26a	BB_r_nt2_26b	BB_r_nt2_31a	BB_r_nt2_31b	BB_r_nt2_32a	BB_r_nt2_32b
BF3-004	272	276	148	152	122	122	176	198	198	206	139	143	204	210
BF3-005	272	272	144	152	118	122	180	192	198	198	129	133	214	216
BF3-007	274	276	152	154	118	118	192	198	198	206	129	143	198	222
BF3-016	272	272	150	150	118	122	176	180	198	206	129	133	204	214
BF3-019	272	272	152	152	118	118	180	180	198	206	137	143	204	214
BF3-022	272	272	142	152	122	124	180	192	198	206	139	143	204	210
BF3-023	272	272	152	152	118	124	180	192	198	206	139	143	214	214
BF3-025	274	276	148	148	118	122	176	192	198	206	129	143	198	222
BF3-026	272	274	150	150	122	122	192	198	196	198	129	135	198	216
BF3-027	272	272	152	152	122	124	180	192	188	206	133	137	210	210
BF3-029	272	276	152	152	118	122	192	192	198	206	137	143	214	214
BF3-030	272	272	144	152	118	122	180	192	198	206	137	139	204	210
BF3-033	272	272	150	150	118	118	176	176	194	198	129	133	208	214
BF3-034	272	272	152	152	118	122	180	180	198	198	143	143	204	214
BF3-035	272	272	150	150	118	122	180	192	206	206	135	139	204	208
BF3-037	272	276	144	152	122	122	180	192	198	206	133	139	204	210
BF3-040	272	272	148	148	122	122	176	176	186	194	129	143	210	214
BF3-042	272	272	144	150	118	122	192	192	198	206	139	143	214	214
BF3-043	272	272	144	152	122	124	192	192	194	198	135	139	198	210
BF3-044	272	274	150	160	122	122	176	180	180	180	133	143	204	210
BF3-045	272	276	150	150	118	122	176	176	196	198	129	135	214	216
BF3-046	272	276	150	150	118	122	176	176	196	198	129	135	214	216
BF3-047	272	272	152	152	122	124	180	180	198	198	139	139	204	214
BF3-048	274	276	150	150	118	122	176	198	194	206	129	143	214	222
BF3-051	272	272	150	150	118	124	180	190	194	206	133	135	204	204
BF3-052	274	276	150	150	118	122	176	176	206	206	137	143	210	214
BF3-053	272	272	152	160	122	126	192	192	196	198	129	143	210	214
BF3-055	272	274	150	150	124	134	180	192	180	198	133	133	204	204
BF3-056	272	272	150	150	122	122	176	190	194	206	129	135	216	230
BF3-057	272	276	148	152	122	122	176	176	186	198	129	135	214	216
BF3-058	272	276	148	152	118	122	176	176	186	198	129	143	210	214
BF3-059	272	274	150	150	118	118	182	192	180	198	139	143	198	220
BF3-060	270	276	150	160	122	122	176	180	188	206	133	135	204	210
BF3-061	272	272	152	154	118	122	176	180	198	206	137	139	214	214
BF3-062	272	272	148	148	118	122	176	192	194	196	129	135	198	216
BF3-064	274	276	150	150	122	124	180	198	180	180	133	143	204	204
BF3-066	272	276	150	160	118	122	180	190	180	200	129	133	204	216
BF3-072	272	276	152	152	118	122	176	176	186	198	129	129	208	216
BF3-075	274	276	154	160	122	124	176	192	180	198	133	133	204	216

그림 51. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 MS 대립유전자형. 대립유전자형이 결정된 자어의 일부를 나타내었음.

(라) 2021년도 수출용 붉바리 생산에 이용된 친어 및 생산 자어

- 수출용 붉바리 생산용 친어: 1차 생산용 친어 64마리, 2차 생산 친어 87마리(표 41)
- MS 대립유전자형 DB, 유전적 다양성 평가, 부권부정을 산출

표 41. 2021년 수출용 붉바리 생산에 이용된 친어

종묘생산 차수	친어의 구성			
	F1		F2	
	암	수	암	수
1차 생산(2021. 3. 2.)	19	11	20	14
2차 생산(2021. 6. 4.)	50	17	12	8

① 친어 집단의 MS 대립유전자형 결정과 DB 구축

▶ PCR 증폭, 대립유전자형 결정

- 2021년 수출용 붉바리 생산용 친어 151마리(암 101, 수 50)
- MS 마커 증폭용 forward primer의 5' 말단에 FAM, VIC, NED, PET-형광 dye로 표지
- 자동염기서열분석기를 이용한 PCR 산물의 길이 확인(그림 52)

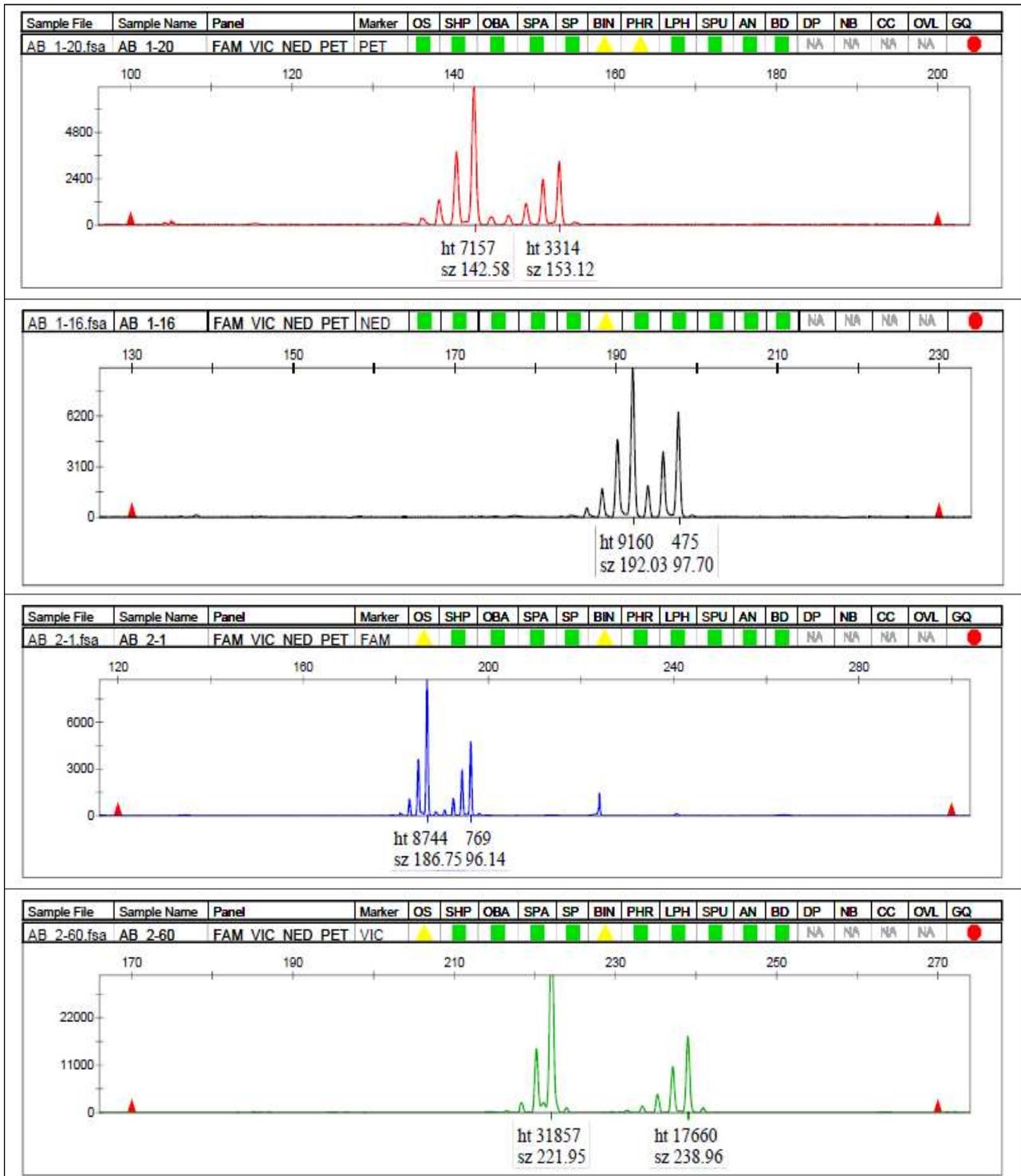


그림 52. MS 마커의 대립유전자형 결정의 예

▶ 친어 집단의 MS 마커 대립유전자형 DB 구축

- 1차 생산 친어 64마리, 2차 생산 친어 87마리, 총 151마리 (암 101, 수 50)
- MS 마커 12종의 대립유전자형 결정
- 대립유전자형 DB 구축(그림 53)

ID	02a	02b	06a	06b	10a	10b	12a	12b	13a	13b	15a	15b	16a	16b	24a	24b	26a	26a	31a	31b	32a	32b	34a	34b
P1-030201	270	274	224	240	152	160	122	124	206	214	106	108	176	182	152	152	186	196	128	130	198	224	238	240
P1-030202	272	274	220	230	150	154	116	122	186	206	106	106	192	192	138	138	196	198	128	142	202	218	240	248
P1-030203	272	272	220	238	144	152	122	124	200	206	106	116	176	176	152	158	182	204	130	132	220	222	240	246
P1-030204	274	276	224	224	146	158	122	136	198	202	106	110	180	192	142	148	186	198	132	134	204	204	230	248
P1-030205	272	272	220	230	144	154	118	124	206	208	106	108	176	176	142	152	202	204	128	130	222	224	238	248
P1-030206	276	276	230	236	152	158	122	136	198	200	108	110	192	192	148	154	196	198	132	132	204	224	246	240
P1-030207	270	274	220	220	150	158	122	126	188	206	106	106	176	198	150	160	186	198	128	128	210	224	240	246
P1-030208	272	274	220	238	150	160	122	122	202	206	106	116	176	198	146	152	182	204	128	130	152	218	240	241
P1-030209	274	274	220	236	150	152	118	122	206	212	106	124	176	192	150	154	186	198	130	142	198	218	238	240
P1-030210	272	276	220	224	150	152	118	122	200	200	106	110	192	194	142	142	194	202	132	138	198	198	238	236
P1-030211	272	276	224	236	152	154	122	122	200	200	110	116	192	192	142	142	194	196	132	138	198	224	238	260
P1-030212	272	276	220	224	150	152	118	122	200	200	106	110	192	194	142	142	194	202	132	138	198	198	238	246
P1-030213	272	272	220	224	150	152	122	122	200	202	106	116	180	198	136	142	194	498	128	138	204	216	230	240
P1-030214	272	274	230	238	150	160	116	122	186	202	106	116	176	192	152	158	196	196	128	142	208	220	236	236
P1-030215	272	272	220	234	150	152	122	122	200	204	106	116	180	182	138	142	186	206	128	138	198	204	246	242
P1-030216	274	274	230	238	152	160	122	124	200	210	106	116	192	198	138	146	182	192	130	132	202	218	236	246
P1-030217	274	274	224	230	154	156	124	126	208	210	106	108	192	198	138	154	196	200	130	132	202	220	236	248
P1-030218	270	274	220	224	152	160	122	124	186	210	104	106	182	188	144	150	188	196	130	136	212	224	236	246
P1-030219	274	274	224	242	152	154	122	124	182	186	106	106	176	182	146	150	180	186	130	136	218	224	240	240
P1-030220	272	274	230	238	144	160	118	124	186	196	106	106	176	192	142	152	198	198	128	142	208	208	236	248
P1-030221	274	275	220	246	150	158	118	122	200	212	120	122	192	222	138	154	192	198	128	142	208	218	232	238
P1-030222	274	274	220	230	150	152	122	122	204	206	106	112	182	192	138	150	198	204	128	128	198	224	238	246
P1-030223	272	272	220	224	152	154	118	122	202	210	106	110	180	194	142	142	202	206	128	128	198	204	246	240
P1-030224	272	272	224	240	152	158	122	122	200	200	106	106	192	192	138	142	196	206	128	138	198	204	240	240
P1-030225	272	274	230	230	150	160	122	122	202	206	104	106	176	192	142	150	198	198	128	136	208	208	240	240
P1-030226	272	274	220	264	144	154	122	124	200	212	106	112	176	176	146	146	194	208	128	130	198	220	230	240
P1-030227	272	274	234	264	150	156	122	124	198	200	106	112	176	180	142	146	194	204	128	138	204	208	240	246
P1-030228	272	274	230	236	154	154	118	124	186	210	106	108	192	194	152	154	196	196	128	142	220	222	236	260
P1-030229	272	272	220	234	150	152	118	122	200	210	110	116	192	192	142	142	202	206	128	138	204	208	238	240
P1-030230	274	276	220	238	152	152	118	122	196	202	106	108	176	176	142	146	198	198	128	128	210	220	240	244
P2-030201	272	272	224	224	144	152	122	124	196	198	104	106	180	192	142	150	198	198	132	136	204	208	240	240
P2-030202	272	276	222	236	152	152	118	122	196	200	104	106	192	192	146	150	188	198	132	138	208	210	240	240
P2-030203	272	272	222	222	150	150	122	122	200	206	106	120	190	192	148	152	196	198	138	142	216	218	240	246
P2-030204	270	274	242	264	152	154	122	124	182	198	106	112	176	192	146	150	194	200	128	130	198	204	240	236
P2-030205	272	272	222	222	150	150	122	122	202	206	104	106	180	192	142	152	194	196	134	142	204	204	236	244
P2-030206	274	274	220	234	150	154	118	122	198	208	104	106	198	198	148	148	186	206	142	142	198	207	238	242
P2-030207	272	272	220	220	150	150	122	122	202	206	106	120	180	192	142	152	194	194	134	142	198	222	236	240
P2-030208	274	274	220	220	150	154	118	122	216	222	108	130	176	182	148	152	186	196	132	134	202	214	236	244
P2-030209	272	272	220	234	150	150	122	122	200	206	105	120	180	192	142	154	194	196	138	142	204	210	240	248
P2-030210	272	274	222	240	148	150	122	122	198	206	106	130	176	192	144	152	186	206	142	142	210	214	240	346
P2-030211	274	274	220	220	150	154	118	144	208	222	108	160	176	182	144	152	186	196	128	134	210	218	242	248
P2-030212	270	274	222	222	150	150	122	122	202	206	104	106	190	192	148	150	188	194	134	142	210	210	236	248
P2-030213	272	274	220	240	148	150	122	122	198	206	104	106	192	198	148	152	186	206	142	142	208	220	240	240
P2-030214	272	272	226	228	144	152	118	124	198	200	106	106	180	192	142	150	198	206	126	128	204	210	240	240

그림 53. 붉바리 1차 생산 친어의 MS 대립유전자

② 친어 집단의 MS 대립유전자형과 유전적 다양성

- 친어 집단에서 MS 마커의 대립유전자의 수(k)는 최소 4개(BBr_2nt_02)에서 최대 19개(BBr_2nt_13)가 관찰되었음
- MS 마커 1개당 관찰된 대립유전자는 평균 11.9개(표 42)

표 42. 수출용 불بار리 생산에 이용된 친어집단에서 관찰된 MS 마커의 대립유전자

Locus	Alleles found in population	k
BBr_2nt_02	270 272 274 276	4
BBr_2nt_06	218 220 222 224 230 232 234 236 238 240 242 246 250 264	14
BBr_2nt_10	132 144 146 148 150 152 154 156 158 160	10
BBr_2nt_12	116 118 120 122 124 126 134 136 144	9
BBr_2nt_13	182 186 188 192 194 196 198 200 202 204 206 208 210 212 214 216 220 222 224	19
BBr_2nt_15	104 106 108 110 112 114 116 120 122 124 130 132 134	13
BBr_2nt_16	176 180 182 184 188 190 194 198 200 222	10
BBr_2nt_24	136 138 142 144 146 148 150 152 154 158 160 162	12
BBr_2nt_26	178 180 182 184 188 190 192 194 196 198 200 202 204 206 208	15
BBr_2nt_31	112 122 124 128 130 132 134 136 138 142 152	11
BBr_2nt_32	186 198 202 204 206 208 210 212 214 216 218 220 222 224	14
BBr_2nt_34	230 232 236 238 240 242 244 246 248 252 254 260	12

- 관찰이형접합율(HObs)은 0.576(BBr_2nt_02)에서 0.901(BBr_2nt_32)의 범위였고, 평균 0.786
- 기대이형접합율(HExp)은 0.624(BBr_2nt_02, BBr_2nt_12)에서 0.804(BBr_2nt_13)의 범위였고, 평균 0.795
- 다형정보량(PIC)은 0.551(BBr_2nt_02)에서 0.882(BBr_2nt_13)의 범위였고, 평균 0.768
- 대립유전자의 분포는 모두 Hardy-Weinberg 평형시험에 유의적이지 않음(NS)(표 4.)

표 43. 수출용 불بار리 생산에 이용된 친어집단에서 MS 마커의 유전적 다양성 지수

Locus	k	N	Genetic diversity values ¹								HW ²
			HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	
BBr_2nt_02	4	151	0.576	0.624	0.551	0.795	0.651	0.490	0.214	0.493	NS
BBr_2nt_06	14	151	0.841	0.857	0.840	0.446	0.285	0.117	0.036	0.332	NS
BBr_2nt_10	10	151	0.808	0.796	0.767	0.567	0.391	0.202	0.069	0.370	NS
BBr_2nt_12	9	151	0.642	0.624	0.576	0.781	0.613	0.429	0.189	0.486	NS
BBr_2nt_13	19	151	0.894	0.894	0.882	0.355	0.216	0.072	0.021	0.310	NS
BBr_2nt_15	13	151	0.682	0.682	0.661	0.696	0.504	0.285	0.122	0.440	NS
BBr_2nt_16	10	151	0.735	0.789	0.759	0.581	0.402	0.213	0.073	0.375	NS
BBr_2nt_24	12	151	0.854	0.854	0.836	0.457	0.293	0.125	0.038	0.334	NS
BBr_2nt_26	15	151	0.861	0.873	0.857	0.412	0.258	0.099	0.030	0.323	NS
BBr_2nt_31	11	151	0.808	0.836	0.814	0.497	0.327	0.151	0.047	0.345	NS
BBr_2nt_32	14	151	0.901	0.893	0.880	0.362	0.220	0.074	0.022	0.310	NS
BBr_2nt_34	12	151	0.834	0.819	0.797	0.518	0.345	0.161	0.053	0.355	NS
Mean	11.9		0.786	0.795	0.768	0.539	0.375	0.202	0.076	0.373	

¹, HObs, observed heterozygosity; HExp, expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content; NE-1P, non-exclusion probability for first parent; NE-2P, non-exclusion probability for second parent; NE-PP, non-exclusion probability for parent pair; NE-I, non-exclusion probability for identity; NE-SI, non-exclusion probability for sib identity.

², HW, Hardy-Weinberg equilibrium test. NS indicates not significant.

- 부모를 모두 모를 때의 부권부정율(NE-1P)은 3.95×10^{-4}
- 부모 중 한쪽을 알고 있을 때의 부권부정율(NE-2P)은 3.66×10^{-6}
- 부모의 정보를 모두 알고 있을 때의 부권부정율(NE-PP) 4.837×10^{-10}
- 동일개체출현율은 1.158×10^{-15} , 형매 내 동일개체출현율은 6.16×10^{-6} 로 동일 부모에게서 출생한 자손일지라도 1백만 마리 중 6마리 정도가 동일한 유전자형을 보유할 정도의 낮은 확률임(표 44)

표 44. 수출용 붉바리 생산에 이용된 친어집단에서 MS 마커의 부권부정율과 동일개체출현율

Combined non-exclusion probability	Value calculated
부모에 대한 정보가 없을 때의 부권부정율 Combined non-exclusion probability (first parent)	0.000395
부모 중 한쪽의 정보를 알고 있을 때의 부권부정율 Combined non-exclusion probability (second parent)	0.00000366
부모 모두의 정보를 알고 있을 때의 부권부정율 Combined non-exclusion probability (parent pair)	4.837×10^{-10}
동일개체출현율 Combined non-exclusion probability (identity)	1.158×10^{-15}
형매 내 동일개체출현율 Combined non-exclusion probability (sib identity)	0.00000616

(마) 수출용 붉바리 F3 집단을 이용한 친자확인 효율성 검증

① 수출용 붉바리 F3 집단에서 MS 마커 대립유전자형 결정

- 1차 생산 수출용 붉바리 자어 F3 32마리, 2차 생산 자어 F3 32마리
- 친자확인 및 가계도 작성을 통한 마커 체계의 효율성 검증
- 4 가지 형광 dye가 표지된 primer를 이용한 PCR 증폭 및 대립유전자형 결정(그림 54)

ID	02a	02b	06a	06b	10a	10b	12a	12b	13a	13b	15a	15b	16a	16b	24a	24b	26a	26b	31a	31b	32a	32b	34a	34b
F3_3201	272	274	220	222	152	154	122	124	198	200	106	106	190	192	148	150	186	198	138	142	210	210	240	248
F3_3202	272	274	220	220	150	150	122	122	198	206	106	106	180	192	142	152	196	206	142	142	204	208	240	255
F3_3203	272	274	220	234	152	154	122	124	198	200	106	106	180	192	142	150	198	198	138	142	204	210	240	248
F3_3204	272	276	220	222	150	152	122	122	198	202	106	106	192	192	148	150	186	186	134	136	208	208	236	254
F3_3205	272	274	222	238	150	150	122	122	202	206	106	120	180	198	142	148	196	206	134	142	204	220	240	240
F3_3206	272	274	220	234	150	150	122	122	200	206	106	106	176	190	148	152	198	206	138	142	216	216	236	240
F3_3207	274	274	220	220	150	150	118	122	198	208	106	106	176	198	144	148	186	196	128	142	210	222	242	244
F3_3208	272	274	220	222	150	154	122	122	206	208	106	106	190	198	148	148	196	206	142	142			244	244
F3_3209	272	274	220	222	150	152	122	122	198	202	106	106	192	192	150	152	198	198	134	136	208	208	240	254
F3_3210	272	274	220	222	150	154	122	122	198	206	106	106	190	192	150	152	198	198	136	142	210	210	236	240
F3_3211	276	276	220	236	152	152	122	122	188	198	106	106	176	192	150	154	186	198	112	136	210	216	240	248
F3_3212	272	272	222	234	150	160	122	122	196	206	106	106	180	192	142	152	198	198	132	142	204	206	240	248
F3_3213	272	276	220	220	148	152	122	122	198	202	106	106	192	198	148	152	198	206	134	142	208	220	240	254
F3_3214	272	272	220	220	150	150	122	122	200	202	106	120	180	190	142	148	194	196	134	138	204	204	236	246
F3_3215	272	274	220	222	152	154	118	122	198	200	106	108	192	198	150	150	198	206	136	138	210	220	240	240
F3_3216	272	272	220	222	150	150	122	122	202	206	106	106	190	192	148	152	206	206	134	142	208	208	236	240
F3_3217	276	276	222	234	152	160	122	122	188	198	106	106	176	192	150	154	186	198	122	142	210	216	248	254
F3_3218	272	274	220	222	148	154	122	122	198	206	106	106	192	198	148	152	198	206	142	142	208	220	240	254
F3_3219	276	276	220	236	154	160	122	122	188	198	106	106	176	192	150	154	198	198	112	112	210	216	236	254
F3_3220	276	276	222	236	152	160	122	122	188	198	106	106	180	198	142	148	186	204	112	112	204	220	236	254
F3_3221	276	276	220	236	152	152	122	122	188	198	106	106	180	192	150	154	186	204	112	112	204	210	248	254
F3_3222	272	276	220	222	150	152	122	122	198	206	106	106	190	192	148	150	186	206	136	142	210	210	236	254
F3_3223	276	276	222	234	152	160	122	122	196	198	106	106	180	198	142	150	186	204	132	142	204	220	248	254
F3_3224	272	274	220	220	150	154	122	122	198	206	106	106	192	198	148	152	186	198	134	142	208	220	240	254
F3_3225	272	272	220	222	148	152	122	122	196	198	106	106	192	192	150	152	186	198	132	142	204	208	240	240
F3_3226	272	274	222	224	150	152	122	124	196	198	106	106	176	180	144	150	198	206	132	142	204	210	240	240
F3_3227	272	272	220	236	150	150	122	122	188	206	106	106	180	180	142	142	198	206	112	112	204	204	236	240
F3_3228	270	272	220	222	150	150	122	122	202	206	106	120	180	190	148	152	194	194	134	142	204	204	240	240
F3_3229	274	274	222	222	150	154	122	122	208	224	106	106	182	198	148	152	186	196	134	142	220	220	244	244
F3_3230	272	274	220	222	144	154	122	122	198	202	106	106	190	198	148	152	188	198	134	135	208	220	240	246
F3_3231	272	274	220	222	150	154	122	122	198	206	106	106	190	198	148	148	186	206	142	142	220	220	240	240
F3_3232	276	276	220	236	152	160	122	122	188	198	106	106	180	192	142	150	186	204	112	112	204	210	236	240
F3_6401	272	274	222	224	150	152	122	122	200	206	106	120	180	192	142	142	180	204	138	142	198	204	236	240
F3_6402	274	274	224	234	150	150	118	122	206	210	106	120	180	192	142	142	180	196	128	142	204	218	236	240
F3_6403	272	272	220	224	148	150	122	122	196	200	106	116	176	192	142	154	196	198	132	138	216	216	240	240
F3_6404	272	276	222	238	150	160	122	122	200	208	106	106	176	180	142	154	180	180	138	142	204	216	238	240
F3_6405	272	272	220	224	150	152	122	122	196	206	106	106	192	192	146	152	198	206	132	142	208	214	246	246
F3_6406	272	272	220	222	148	150	122	122	206	206	106	120	180	192	142	152	194	194	142	142	204	208	236	240
F3_6407	272	274	222	224	150	150	118	122	208	210	106	116	180	198	142	148	196	206	128	142	198	204	236	242
F3_6408	272	276	220	224	144	152	122	122	196	200	106	106	192	192	146	150	198	206	132	138	210	214	240	246
F3_6409	272	274	220	224	148	180	118	122	196	206	106	106	180	198	148	154	196	198	132	132	198	204	240	240
F3_6410	272	272	220	222	150	150	122	122	202	206	106	120	180	180	142	142	194	206	134	142	204	204	236	238
F3_6411	272	274	220	220	150	150	118	122	196	206	106	116	180	198	142	148	196	198	132	142	198	204	240	240

그림 54. 생산된 자어 중 F3 집단 MS 대립유전자형

② 수출용 붉바리 F3 집단의 MS 마커 대립유전자형과 유전적 다양성

- 생산된 자어 F3 집단에서 관찰된 MS 마커 대립유전자의 수(k)는 최소 3개(BBr_2nt_12)에서 최대 10개(BBr_2nt_32)이었고, 마커당 평균 7.0개의 대립유전자가 검출됨(표 45)

표 45. 수출용 붉바리 F3 집단(n=64)에서 관찰된 MS 마커의 대립유전자

Locus	Alleles found in population	k
BBr_2nt_02	270 272 274 276	4
BBr_2nt_06	220 222 224 232 234 236 238 242	8
BBr_2nt_10	144 148 150 152 154 158 160	6
BBr_2nt_12	118 122 124	3
BBr_2nt_13	188 196 198 200 202 206 208 210 224	9
BBr_2nt_15	106 108 116 120	4
BBr_2nt_16	176 180 182 190 194 198	6
BBr_2nt_24	136 142 144 146 148 150 152 154	8
BBr_2nt_26	178 180 188 190 194 196 198 204 206	9
BBr_2nt_31	112 122 128 132 134 136 138 142	9
BBr_2nt_32	198 204 206 208 210 214 216 218 220 222	10
BBr_2nt_34	236 238 240 242 244 246 248 254	8

- 관찰이형접합율(HObs)은 0.234(BBr_2nt_15)에서 0.906(BBr_2nt_13)의 범위였고, 평균 0.668이었음
- 기대이형접합율(HExp)은 0.240(BBr_2nt_15)에서 0.848(BBr_2nt_13)의 범위였고, 평균 0.684이었음
- 다형정보량(PIC)은 0.223(BBr_2nt_15)에서 0.821(BBr_2nt_13) 범위였고, 평균 0.650이었음
- 12종의 MS 마커 중 9종은 Hardy-Weinberg 평형에 유의적이지 않았으나(NS), 3종(BBr_2nt_12, BBr_2nt_13, BBr_2nt_15)에서는 평가되지 않았음(ND)(표 46)

표 46. 수출용 붉바리(F3) 집단에서 MS 마커의 유전적 다양성 지수

Locus	k	N	Genetic diversity values ¹								HW ²
			HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	
BBr_2nt_02	4	63	0.524	0.582	0.515	0.831	0.685	0.53	0.241	0.522	NS
BBr_2nt_06	8	64	0.844	0.764	0.724	0.628	0.449	0.257	0.092	0.394	NS
BBr_2nt_10	6	64	0.703	0.716	0.672	0.688	0.509	0.314	0.122	0.425	NS
BBr_2nt_12	3	64	0.266	0.253	0.236	0.968	0.872	0.773	0.576	0.769	ND
BBr_2nt_13	9	64	0.906	0.848	0.821	0.486	0.318	0.146	0.045	0.341	ND
BBr_2nt_15	4	64	0.234	0.240	0.223	0.971	0.879	0.786	0.595	0.78	ND
BBr_2nt_16	6	64	0.734	0.760	0.715	0.647	0.469	0.285	0.1	0.398	NS
BBr_2nt_24	8	64	0.844	0.809	0.776	0.562	0.385	0.202	0.066	0.365	NS
BBr_2nt_26	9	64	0.797	0.822	0.792	0.532	0.358	0.177	0.057	0.357	NS
BBr_2nt_31	9	64	0.734	0.806	0.775	0.559	0.381	0.194	0.065	0.366	NS
BBr_2nt_32	10	63	0.683	0.833	0.807	0.506	0.334	0.153	0.049	0.349	NS
BBr_2nt_34	8	64	0.75	0.778	0.746	0.597	0.415	0.219	0.077	0.384	NS
Mean	7.00		0.668	0.684	0.650	0.665	0.505	0.336	0.174	0.454	

¹, HObs, observed heterozygosity; HExp, expected heterozygosity; PIC, polymorphic information content; NE-1P, non-exclusion probability for first parent; NE-2P, non-exclusion probability for second parent; NE-PP, non-exclusion probability for parent pair; NE-I, non-exclusion probability for identity; NE-SI, non-exclusion probability for sib identity.

², HW, Hardy-Weinberg equilibrium test. NS indicates not significant. ND indicates not determined.

③ MS 대립유전자형에 근거한 수출용 붉바리 F3(2021년 생)의 친자확인 효율 검증

- 2021년 6월 4일 인공수정을 통해 생산된 자어 중 1차 선별과정에서 32 마리를 무작위로 선정하였음
- 인공수정 시 채란, 채정된 F2 친어의 후보 부(n=8), 후보 모(n=12)에서 친자확인에 이용
- MS 대립유전자형의 부-모-자 3자 일치 여부를 기준으로 친자확인(CERVUS 3.0.7)
- 부-모-자 3자 일치도에 대한 신뢰 수준은 95%로 설정
- F3 자어 32 마리에 대한 친자확인 결과에 대한 가계도 작성(그림 55)
- F3에서 MS 대립유전자형이 동일한 개체는 발견되지 않음
- 친자확인 시험 결과, F3(n=32)의 부모는 모두 F2에서 확인됨
- 검출된 F2 친모는 7 마리, 친부는 7 마리가 검출되었음
- 친모 1 마리의 자어수는 4.57 ± 2.43 마리, 친부 1 마리 자어수는 4.57 ± 3.31 마리였음

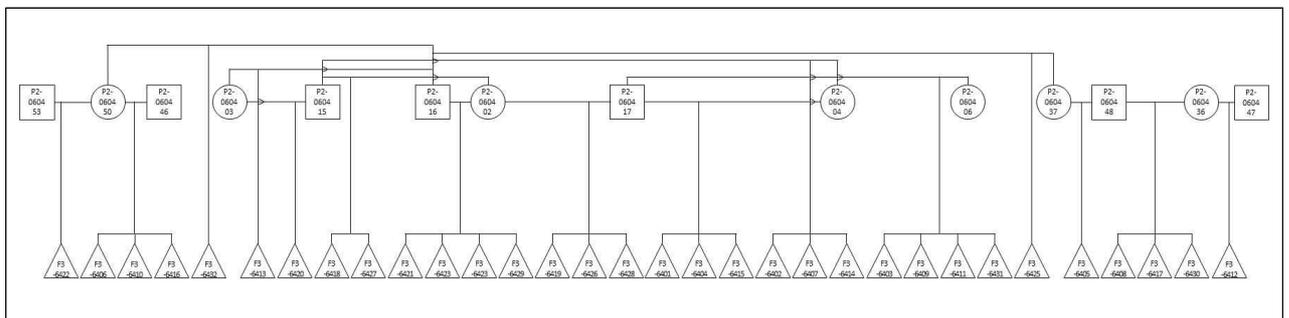


그림 55. 수출용 붉바리 F3 32마리의 가계도. 사각형은 수컷, 원은 암컷, 삼각형은 암수 불명(F3 자어는 시료 수집 당시 암수 판별되지 않음).

(바) 수출용 붉바리 품종 인증 및 원산지 추적용 분자진단 체계

① 수출용 붉바리 품종(종자)인증체계

▶ MS 마커 대립유전자형 DB

- 2021년 수출용 종묘생산에 이용된 친어 전체(n=151)에서 MS 마커 대립유전자형 DB 구축
- 높은 수준의 유전적 다양성: 관찰이형접합율(HObs) 평균 0.786, 기대이형접합율(HExp) 평균 0.795, 다형정보량(PIC) 평균 0.768로 높은 수준의 유전적 다양성을 나타냄
- 대립유전자 분포의 Hardy-Weinberg 평형시험: 유의적인 차이를 나타내 마커 없음
- 멘델유전을 벗어난 MS 마커 없음
- 낮은 부권부정율: 부모를 모를 때 부권부정율(NE-1P)은 3.95×10^{-4} , 부모 중 한쪽을 알고 있을 때 부권부정율(NE-2P)은 3.66×10^{-6} , 부모를 모두 알고 있을 때 부권부정율(NE-PP) 4.837×10^{-10}

○ 낮은 동일개체출현율: 동일개체 출현율 1.158×10^{-15} , 형매 내 동일개체출현율 6.16×10^{-6}

▶ 품종(종자)인증체계 적용 방법

○ 생산된 모든 자어의 대립유전자는 친어의 대립유전자형 범위 내에 분포해야함

※ 친어 범위 외 대립유전자형 출현 시, 본 연구에서 개발한 품종(종자)이 아님

② 원산지 추적 인증체계

▶ 친자확인, 대립유전자형의 범위를 이용한 품종(종자)인증

○ 수출용 붉바리 F3 집단에 대한 시험결과, 동일한 유전정보를 보유한 개체는 관찰되지 않음

○ F3 집단을 이용한 친자확인 결과 친모, 친부 모두 검출됨

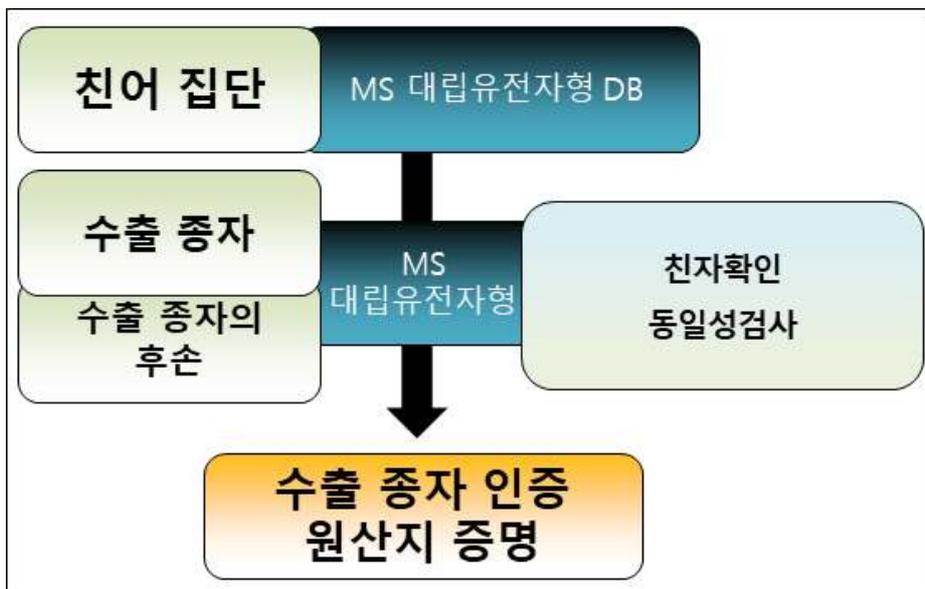
○ F3 대립유전자형은 모두 F2의 대립유전자형의 범주 내에서 발견됨

▶ 수출 종자에 대한 원산지 추적이 가능한 분자마커 체계

○ MS 마커 대립유전자형 기반 친자확인을 통한 친어 확인 → 친어 검출 시 본 사업팀에서 개발된 종자로 인정

○ 친자확인된 친어의 생산차수를 추적하여 종자생산일, 생산국, 생산지역에 대한 정보 제공

○ 원산지(대한민국) 추적용 분자진단 체계로 활용 가능



수출 종자 인증 및 원산지 증명용 분자진단체계

■ 붉바리 건강 수정란 대량생산

가. 건강 수정란 상시 대량생산

- 2017년부터 2021년까지 제주대학교 해양과학연구소의 순환여과사육시스템에서 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0), 양식1세대(F1) 친어, 양식2세대(F2) 친어를 대상으로 암컷의 난모세포 발달정도를 조사하기 위해 외부 생식공의 발달정도에 따라 각각의 친어를 선택하였고, 0.05% 2-phenoxyethanol에 마취시킨 후 내경 0.8 mm, 외경 1.0 mm인 실리콘 재질의 튜브를 이용하여 cannulation 하였음.
- 배란 유도를 위해 400 μ m 이상 난모세포를 포란하는 친어를 선별한 후 태반성 성선자극호르몬 (HCG, Sigma Co., USA)을 500 IU hCG/kg BW 농도로 1회 근육주사 하여 배란을 유도하였음(그림 53).

(1) 산란시기 붉바리 세대별 수정란 생산 (표 47)

- 1차 수정란 생산 (2017년 6월 2일)
 - 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0, 전장 22.5~42.5 cm, 체중 300~1,500 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 25마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 25개체 중 20마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 3.8×10^6 개이었으며, 수정률 84%, 부화율 90.0%이었음
- 2차 수정란 생산 (2017년 7월 19일)
 - 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0, 전장 24.5~42.5 cm, 체중 400~1,800 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 22마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 22개체 중 15마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 2.4×10^6 개이었으며, 수정률 83%, 부화율 90.5%이었음
- 3차 수정란 생산 (2018년 6월 25일)
 - 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0, 전장 28.5~51.0 cm, 체중 600~2,090 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 28마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 28마리 중 14마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 3.0×10^6 개이었으며, 수정률 87%, 부화율 91.5%이었음
 - 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 20.0~40.0 cm, 체중 170~950 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 75마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 75마리 중 44마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 3.0×10^6 개이었음

며, 수정률 92.4%, 부화율 93.2%이었음

○ 4차 수정란 생산 (2019년 7월 7일)

- 사육중인 자연산 붉바리 친어(F0, 전장 27.2~49.2 cm, 체중 600~1,890 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 16마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 암컷 16마리 중 7마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.5×10^6 개이었으며, 수정률 90.0%, 부화율 91.2%이었음
- 사육중인 붉바리 양식2세대 친어(F2, 전장 20.0~31.5 cm, 체중 200~400 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 15마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 암컷 15마리 중 12마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.3×10^6 개이었으며, 수정률 92.8%, 부화율 93.7%이었음

○ 5차 수정란 생산 (2020년 8월 29일)

- 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 31.0~40.0 cm, 체중 567~976 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 39마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 암컷 20마리 중 19마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.9×10^6 개이었으며, 수정률 95.5%, 부화율 91.0%이었음
- 사육중인 붉바리 양식2세대 친어(F2, 전장 22.4~33.0 cm, 체중 188~490 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 25마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 암컷 17마리 중 15마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.5×10^6 개였고, 수정률 94.0%, 부화율 90.5%이었음

○ 6차 수정란 생산 (2021년 6월 7일)

- 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 31.0~40.0 cm, 체중 600~1,100 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 37마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식1세대 친어(F1) 암컷 37마리 중 30마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 1.6×10^6 개이었으며, 수정률 95.7%, 부화율 91.0%이었음
- 사육중인 붉바리 양식2세대 친어(F2, 전장 24.9~37.0 cm, 체중 200~550 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 27마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식2세대 친어(F2) 암컷 27마리 중 23마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.8×10^6 개였고, 수정률 94.0%, 부화율 91.5%이었음

(2) 환경조절에 의한 비산란시기 붉바리 세대별 수정란 생산 (표 47)

- 환경조절(광주기와 수온)을 통한 붉바리 성 성숙 유도 결과를 토대로 순환여과사육시스템 사육수조 (5.0×5.0×1.0 m, 유효수량 25 ton)에서 사육관리하고 있는 붉바리를 대상으로 cannulation 방법을 이용하여 난모세포의 발달 정도를 조사
- 배란 유도를 위해 400 μm 이상 난모세포를 포란하는 친어를 선별한 후 태반성 성선자극호르몬 (HCG, Sigma Co., USA)을 500 IU hCG/kg BW 농도로 1회 근육주사 하여 배란을 유도하였음.
- 비산란기 1차 수정란 생산 (2018년 1월 3일)
 - 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0, 전장 32.7~47.0 cm, 체중 568~1,410 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 25마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 25개체 중 20마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 3.8×10^6 개이었으며, 수정률 84%, 부화율 90.1%이었음
- 비산란기 2차 수정란 생산 (2018년 12월 25일)
 - 사육중인 자연산 붉바리 친어(F0, 전장 35.3~47.9 cm, 체중 668~1,890 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 20마리의 암컷을 선발하였음
 - 선발된 암컷 20마리 중 17마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.8×10^6 개이었으며, 수정률 90.7%, 부화율 91.1%이었음
 - 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1 전장 20.5~31.7 cm, 체중 170~428 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 30마리의 암컷을 선발하였음
 - 선별된 암컷 30마리 중 27마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.8×10^6 개이었으며, 수정률 91.9%, 부화율 92.3%이었음
- 비산란기 3차 수정란 생산 (2019년 4월 6일)
 - 사육중인 자연산 붉바리 친어(F0, 전장 37.3~50.9 cm, 체중 708~1,910 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 20마리의 암컷을 선별하였음
 - 선발된 암컷 20마리 중 17마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 1.2×10^6 개이었으며, 수정률 92.8%, 부화율 93.3%이었음
 - 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 22.5~33.1 cm, 체중 224~512 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 12마리의 암컷을 선별하였음
 - 선발된 암컷 12마리 중 10마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.24×10^6 개이었으며, 수정률 92.8%, 부화율 93.3%이었음

○ 비산란기 4차 수정란 생산 (2020년 3월 27일)

- 사육중인 붉바리 자연산 친어(F0, 전장 41.0~46.3 cm, 체중 1,163~2,152 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 6마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 자연산 친어(F0) 암컷 6마리 중 4마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.3×10^6 개이었으며, 수정률 83.3%, 부화율 87.0%이었음
- 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 31.0~40.0 cm, 체중 567~976 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 39마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식1세대 친어(F1) 암컷 39마리 중 32마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 2.0×10^6 개이었으며, 수정률 95.0%, 부화율 90.0%이었음
- 사육중인 붉바리 양식2세대 친어(F2, 전장 22.4~33.0 cm, 체중 188~490 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 25마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식2세대 친어(F2) 암컷 25마리 중 21마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 0.74×10^6 개이었고, 수정률 93.0%, 부화율 90.0%이었음

○ 비산란기 5차 수정란 생산 (2021년 3월 31일)

- 사육중인 붉바리 양식1세대 친어(F1, 전장 31.0~41.0 cm, 체중 650~1,100 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 41마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식1세대 친어(F1) 암컷 41마리 중 37마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 3.0×10^6 개이었으며, 수정률 94.6%, 부화율 91.6%이었음
- 사육중인 붉바리 양식2세대 친어(F2, 전장 23.9~38.0 cm, 체중 210~565 g) 대상으로 cannulation 방법으로 난모세포 발달 양상을 조사한 후 30마리의 암컷을 선발하였음
- 선발된 양식2세대 친어(F2) 암컷 30마리 중 27마리가 배란이 가능하였고, 배란된 알의 수는 1.0×10^6 개이었고, 수정률 94.0%, 부화율 91.5%이었음



그림 56. 붉바리 인공수정란 생산 과정

표 47. 붉바리 세대별 수정란 생산량 (2017년~2021년)

생산시기	세대별	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
산란시기	F0	6.2×10^6	3.0×10^6	0.5×10^6	-	-
	F1	-	3.0×10^6	-	0.9×10^6	1.6×10^6
	F2	-	-	0.3×10^6	0.5×10^6	0.8×10^6
비산란시기	F0	-	4.6×10^6	1.2×10^6	0.3×10^6	-
	F1	-	0.8×10^6	0.24×10^6	2.0×10^6	3.0×10^6
	F2	-	-	-	0.8×10^6	1.0×10^6
총 합 계		6.2×10^6	11.4×10^6	2.24×10^6	5.5×10^6	6.4×10^6

나. 수정란의 난질 특성

(1) 수정란 난자 미토콘드리아의 분석

○ 불بار리 수정란은 상층 부상란(upper eggs)이 가장 뛰어난 배체형성 후 부화율과 생존율을 나타냄(그림 54). 모계에 의한 난자형성과정에서의 성숙도가 수정란의 발생성공율과 생존율에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있음. 수정란의 발생에서 에너지를 공급하는 미토콘드리아는 전적으로 난자에 의해 전달되며 이에 불بار리 인공수정과정에서 수정 직후 부상하는 상층란과 중층에 부유하는 중층란(middle eggs)를 대상으로 미토콘드리아의 상태를 분석하였음.

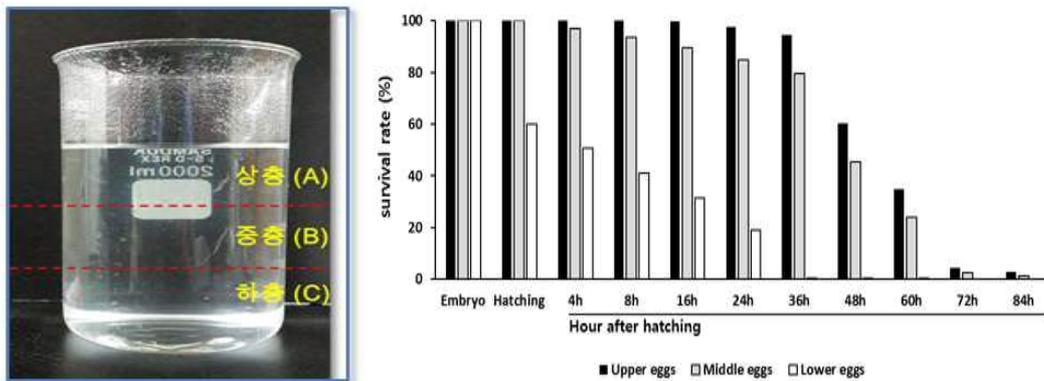


그림 57. 불بار리 수정란의 층 구분과 층에 따른 배체형성 후 부화율과 생존율

○ 미토콘드리아 DNA 서열의 염기서열의 돌연변이 분석

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Epinephelus akaara isolate JF28 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1251	1251	100%	0.0	100%	KJ743746.1
Epinephelus akaara x Epinephelus lanceolatus mitochondrion, complete genome	1245	1245	100%	0.0	99%	KY132121.1
Epinephelus akaara isolate Bulbari501 mitochondrion, complete genome	1245	1245	100%	0.0	99%	KJ700439.1
Epinephelus akaara isolate Bbr40 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1245	1245	100%	0.0	99%	KJ743758.1
Epinephelus akaara isolate Bbr34 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1245	1245	100%	0.0	99%	KJ743752.1
Epinephelus akaara isolate Bbr33 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds, mitochondrial	1245	1245	100%	0.0	99%	KJ743751.1

그림 58. 불بار리 수정란에서 결정된 COI 서열의 BLAST 검색 결과

- 상층부상란과 중층란을 수거하여 20개씩 분주한 후 DNA를 분리하였고, 분리한 DNA는 mtDNA 전체를 16개의 절편으로 구분하여 증폭하였으며, 증폭한 PCR 산물에 대한 염기서열 분석을 수행하였음.
- BLAST search 결과 증폭된 모든 PCR 산물의 염기서열은 NCBI database 상에 기 보고된 KJ700440, KJ700439, EU043377, KM458971 등과 99.5% 이상의 상동성을 나타내었고, 단백질 변환에서도 특이적인 amino acid 서열의 변화는 관찰되지 않았음.

○ 미토콘드리아 DNA 서열의 대규모 삽입/결실 돌연변이 분석

- 상층부상란과 중층란에서 분리한 DNA를 이용하여 mtDNA 상에서의 대규모 삽입/결실 돌연변이의 여부를 분석하였으며, 3개의 절편으로 나누고, long-PCR 기법으로 증폭하여 확인하였음.

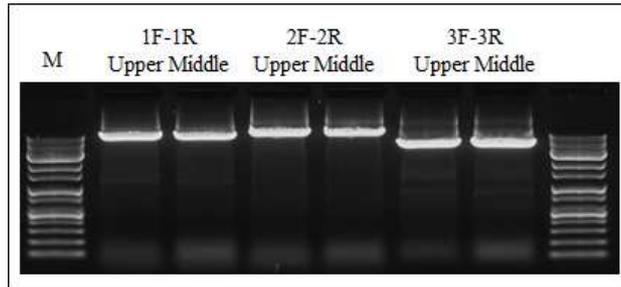


그림 59. Long-PCR을 이용한 mtDNA 내 대규모 삽입/결실 돌연변이 발생의 탐색

- 상층란과 중층란 모두 특이적인 삽입/결실은 확인되지 않았음.
- DNA sequencing 결과에서도 삽입/결실 돌연변이에 따른 이질성(heteroplasmic) 양상은 관찰되지 않았음.

○ 미토콘드리아 DNA copy 수에 대한 분석

- 상층란과 중층란의 mtDNA copy 수를 real-time PCR을 이용하여 분석하였다. mtDNA는 COI 유전자 절편을 증폭하였고, 단일사본 주형으로는 핵 DNA의 Rho 유전자의 서열을 이용하여 정량하였다(표 48).

표 48. Real-time PCR로 분석한 상층란과 중층란의 mtDNA copy 수

Trait ¹	Upper layer	Lower layer	<i>P</i> -value	Significance ²
Ct value	14.85±0.593 ^a	13.59±0.615 ^b	0.001	**
Calc. Conc. (copies/ul)	3130.3±1187.75 ^a	7034.2±3310.96 ^b	0.004	**

¹, all values were standardized by real-time PCR results for a single-copy nuclear gene (Rho).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at 1% (**) significance thresholds.

- Ct 값의 경우 상층란이 14.85 ± 0.593 , 중층란은 13.59 ± 0.615 를 나타내었고, 1% 유의수준에서 유의적인 차이를 보였음($P < 0.01$).
- Rho 유전자 서열을 이용한 copy 수 정량 결과, 상층란은 핵 DNA 단일사본 유전자의 3130.3 ± 1187.75 배의 copy 수를 보였고, 중층란은 7034.2 ± 3310.96 배의 copy 수를 나타내었으며, 상층란과 중층란의 mtDNA copy 수에서도 1% 유의수준에서 유의적인 차이를 나타내었음($P < 0.01$).
- 중층란의 mtDNA copy 수는 상층란에 비해 약 2.24배 더 많은 양상을 보였음.

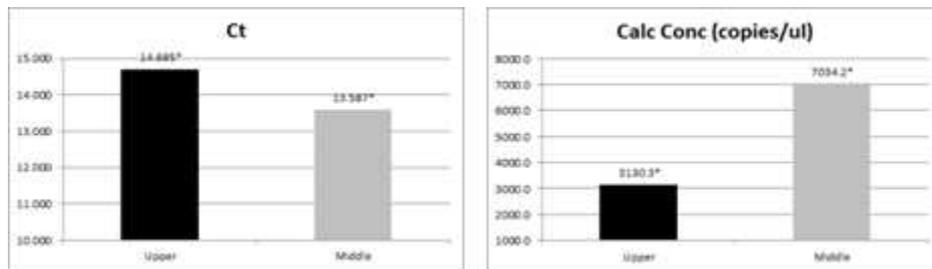


그림 60. Real-time PCR을 이용한 mtDNA copy 수 측정

○ 남자 세포질 내에서 미토콘드리아의 분포와 수정란의 질적 차이의 상관 분석

- 난자형성과정(oogenesis)에서 세포질의 재배치와 세포소기관의 준비는 난자 성숙의 기본 과정으로, 붉바리 난자와 정자의 수정 직후 분리되는 상층란과 중층란을 대상으로 배발생 과정에서 에너지 공급원으로 중추적인 역할을 수행하는 미토콘드리아의 난자 내에서의 분포양상을 분석하였음.

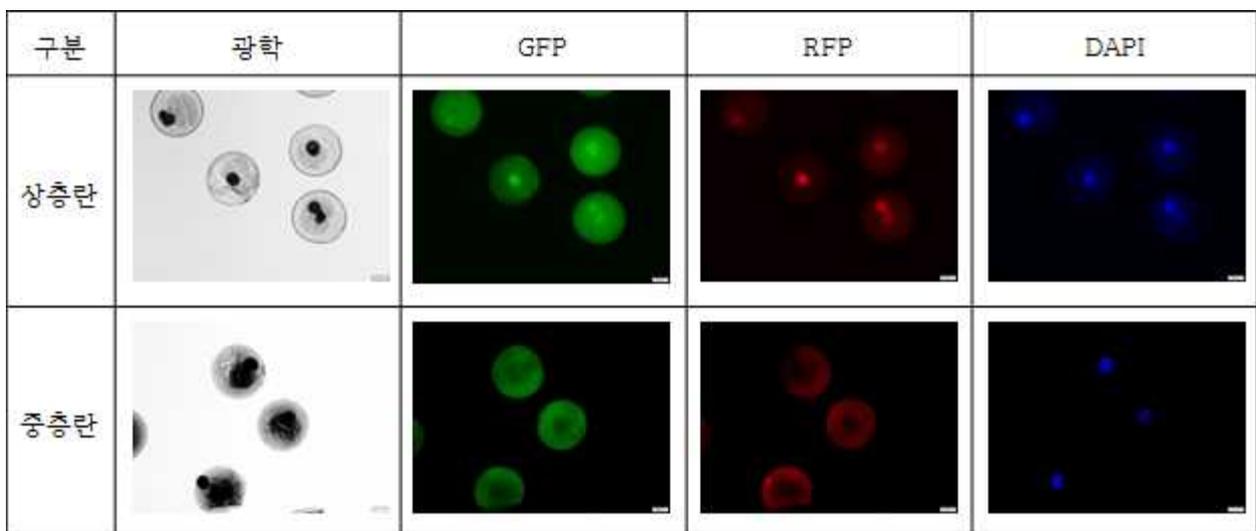


그림 61. 상층란과 중층란에서 미토콘드리아의 분포

- 붉바리 인공수정 직후 분리된 상층란과 중층란을 각각 취하여 10% paraformaldehyde를 이용하여 고정하였다. 고정한 수정란에서 미토콘드리아는 JC-1 염료를 이용하여 염색하였고, 핵 DNA는 DAPI를 이용하여 counter-staining 하였으며, 염색이 끝난 시료는 광학현미경과 형광현미경을 이용하여 관찰하였음.
- 광학현미경 관찰에서 중층란은 상층란에 비해 막의 형태가 다소 찌그러진 형태로 관찰되었음.
- 미토콘드리아에 대한 JC-1 염색결과에서 상층란의 경우 활성 미토콘드리아가 세포질 전체에 분포하면서 불활성 미토콘드리아가 세포질에 산포되어 있지만, 특히 핵 주변 지역(perinuclear zone)에 집중된 형태로도 분포하고 있었고, 반면, 중층란의 경우 세포질 전체에 활성 미토콘드리아와 불활성 미토콘드리아가 산재한 형태인 것으로 나타났음.
- 미토콘드리아의 완전한 재배열과 분화가 붉바리 난자형성과정과 성숙도를 평가할 수 있는 하나의 지표가 될 것이며, 완전한 난자 성숙이 완료된 수정란들은 밀도가 낮아져서 상층부로 부상하지만, 난자의 성숙이 완전치 않은 경우는 밀도가 높아 중층에 머물게 되는 것으로 판단되며, 난자형성과정에서 미토콘드리아의 재배열과 재분화 정도의 차이가 수정 이후 붉바리 수정란이 상층란과 중층란으로 구별되는 데 한 요인이 되는 것으로 생각됨.

(2) 생리화학적 특성에 의한 난질 분석 (지방산 조성 또는 유리아미노산)

- 배란유도 호르몬(hCG, LHRHa, PGF2a) 처리에 따른 붉바리 수정란의 형태적 특성과 병행하여 미수정란의 지방산 조성 분석을 실시하였음.
- 미수정란(1.0-2.0 g)에 14% BF₃를 첨가한 후 2분간 100°C에서 가열한 뒤 n-heptane 2-5 mL를 냉각기를 통해 첨가하고 1분간 더 가열하였고, 이 후 Sodium chloride 포화용액을 첨가하여 상층에서 약 1 mL의 heptane을 취한 후 소량의 Sodium sulfate를 탈수시켜 지방산 분석용 시료로 사용하였음. Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)로 분석한 결과는 표 ??에 나타내었음. 각 지방산은 동일한 조건에서 표준지방산 methyl ester mixture와 retention time을 비교하여 동정하였으며, 정량은 각 peak의 면적을 상대 백분율로 나타내었고, 이 중 1% 이상의 비율을 나타내는 지방산을 PGF2a 처리 미수정란의 지방산 분석 결과와 비교하여 그림 67에 나타내었음.
- 호르몬(hCG, LHRHa, PGF2a)처리로 배란 유도된 미수정란의 지방산 조성비 분석 결과, n-3 계열의 고도불포화지방산(n-3 PUFA)인 docosa hexaenoic acid (DHA, C22:6)가 가장 높았으며, n-3 PUFA과 함께 palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1)가 붉바리 미수정란

의 주요 지방산인 것으로 나타났음. 일반적으로 해산어류에서 n-3 PUFA를 필요로 한다고 알려져 있으나, 붉바리 미수정란의 결과에서는 PGF2 α 처리 미수정란의 DHA가 가장 높은 수치를 나타냈으나, palmitic acid (C16:0)와 oleic acid (C18:1) 조성비는 PGF2 α 보다 hCG와 LHRHa에서 높게 나타났음. 다른 해산어류에서 DHA와 EPA는 초기자어 발달에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며(Ismael et al., 2011), 난질이 건강한 자어발달에 영향을 미친다고 보고되고 있으나 이를 위한 마커 개발을 위해서는 상세한 반복 실험이 요구됨. 본 실험에서 C16:0와 18:1(n-7)도 난질 평가인자로 활용가능하다고 판단됨.

표 49. 호르몬 처리 방법에 따른 붉바리 미수정란의 지방산 조성

Fatty acids (%)	hCG	LHRHa
14:00	3.62±0.26	3.62±0.14
15:00	0.50±0.01	0.53±0.03
16:00	19.45±0.37	20.23±0.26
18:00	6.14±0.18	6.97±0.24
20:00	0.09±0.02	0.06±0.03
Σ SFA	29.82±0.60	31.42±0.50
16:1	7.96±0.44	7.27±0.21
18:1(n-9)	0.23±0.02	0.28±0.03
18:1(n-7)	17.03±0.42	16.66±0.81
20:1(n-11)	1.05±0.04	0.89±0.31
Σ MUFA	26.27±0.69	25.10±1.01
18:2(n-6)	4.21±0.53	3.89±0.36
18:3(n-6)	0.09±0.02	0.06±0.03
20:2(n-6)	0.33±0.02	0.48±0.11
20:3(n-6)	0.30±0.01	0.25±0.09
Σ n-6 PUFA	4.93±0.54	4.68±0.50
18:3(n-3)	0.71±0.04	0.69±0.03
20:3(n-3)	0.08±0.02	0.06±0.03
20:5(n-3) EPA	7.68±0.31	8.11±0.60
22:6(n-3) DHA	26.21±1.38	26.33±0.45
Σ n-3 PUFA	34.67±1.27	35.19±0.91
Σ PUFA	39.60±0.94	39.87±1.20
n-3:n-6	7.71±1.06	7.75±0.77
EPA/DHA	0.30±0.02	0.31±0.02

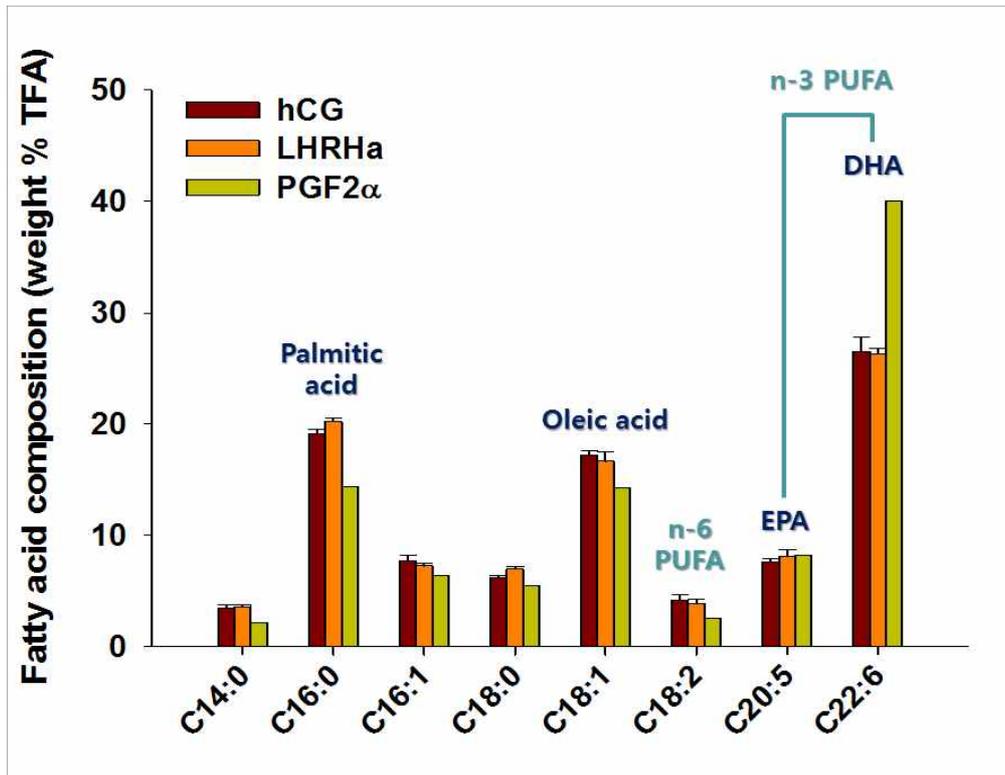


그림 62. 미수정란의 주요 지방산 조성 분석

(3) 난질 유래 배발생 단계의 유전인자 발현 탐색

- Cathepsin family 단백질중에서 Cathepsin B, D, L 등은 어류의 난황형성과정과 수정직후의 초기 배발생과정에서 에너지원으로 중요한 작용을 하는 단백질로 알려져 있음 (Carnevali et al., 2008; Tingaud-Sequeira et al., 2011).
- 호르몬(hCG와 LHRHa) 처리구별 미수정란, 수정 직후, 수정 후 6, 12, 24, 36시간 후의 부상란을 샘플링하여 즉시 -75°C에 보관한 뒤 난질 관련 유전인자 분석에 사용하였음.
- mRNA 추출은 Lee et al. (2014)의 방법을 이용하였고, cDNA는 QuantiTect Reverse Transcription Kit와 manufacturer's protocol (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA)을 이용하여 합성하였음. Quantitative real-time PCR은 DNA Engine thermal cycler with a Chromo4 Real-Time PCR System (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)을 이용해 정량화하였고, cathepsin B, L 프라이머 및 18s rRNA 프라이머를 검증 후 사용하였음.

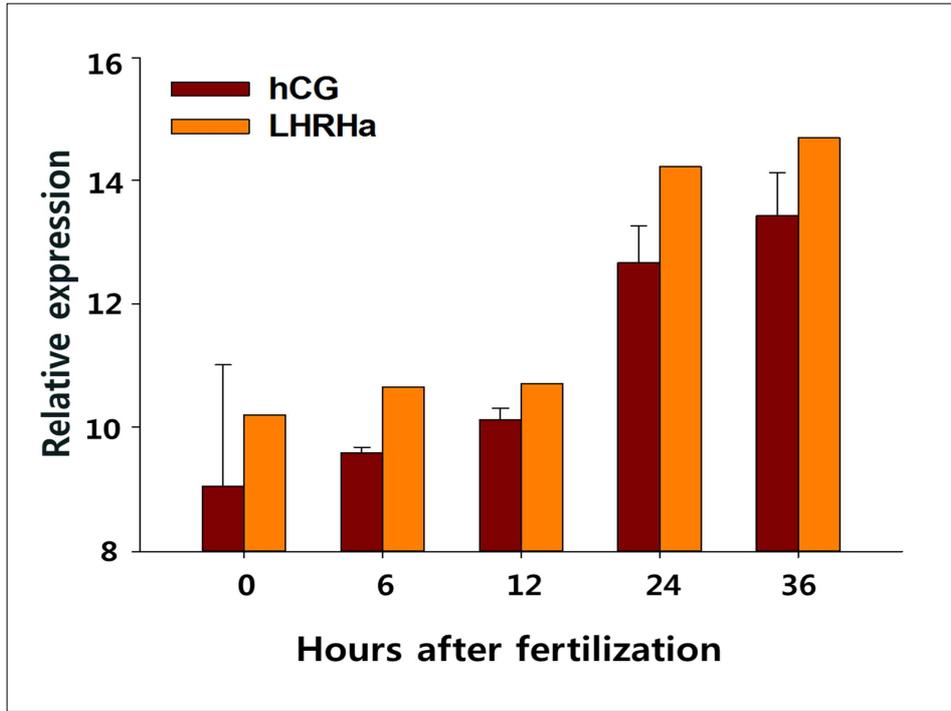


그림 63. 붉바리 수정란의 cathepsin B 발현

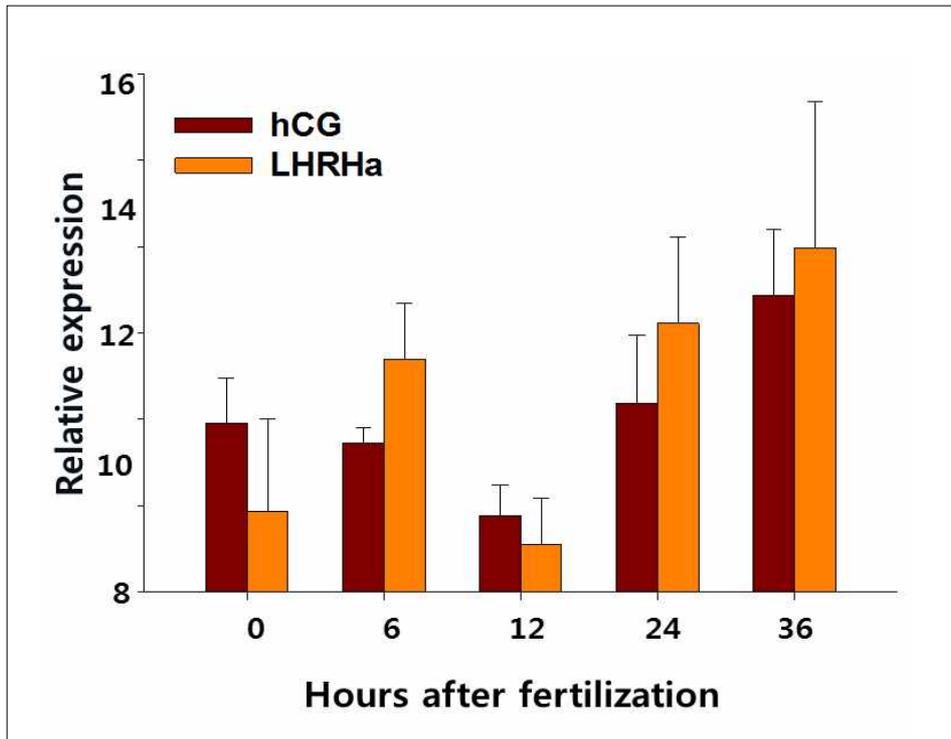


그림 64. 붉바리 수정란의 cathepsin L 발현

■ 붉바리 종자 대량생산

가. 붉바리 종자 대량 생산

○ 연도별 붉바리 종자 생산

- 붉바리 종자 연도별 생산량은 2017년 100,000마리, 2018년 200,000마리, 2019년 900,000마리, 2020년 600,000마리, 2021년 660,000마리를 생산하였고, 2019년부터 양식3세대 붉바리 종자 (F3)를 60,000마리 시험 생산하였음.

표 50. 붉바리 연도별 생산량

(단위: 마리)

구분	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
붉바리	100,000	200,000	900,000	600,000	660,000

(1) 붉바리 종자 생산 사육 환경 및 먹이생물 공급

- 붉바리 종자생산에 적합한 사육환경을 조성하기 위해 용존산소 6.5-9.5 mg/L, pH 7.0-8.2, 수온은 20.5±0.1°C에서 수정란 입식 후 하루에 1°C씩 증가시켜 26.5±0.1°C로 유지하였고, 알테미어 섭이가 안정화 되는 부화 25일 이후부터는 하루 0.5°C씩 낮추어 25±0.1°C로 유지하였음.
- 수질관리를 위해 광주기 조건은 부화 후 13일까지 24L로 유지하고 부화 후 14일부터는 12L로 조절하였음. 조도는 2000 lux-10000 lux를 유지하며, 부화자어 사육수조의 수질 안정화를 위해 기존 공급하던 생균제 *Rhodobacter capsulata*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*를 매일 공급하였고, 생존률 향상을 위해 추가적으로 MRS broth(Difco, BD) 배지에서 배양한 PSB Plus(BioHelix,Korea)와 Yeast(대상(주),Korea). 붉바리 소화관에서 분리된 4종의 Probiotic를 부화조와 먹이생물 영양강화조에 매일 공급하였음.
- 부화 자어 사육수조에 공급 된 Rotifer, Artemia의 영양강화를 위하여 영양강화용 농축 chlorella (1.5×10^{10} cell/cc)를 하루에 2회, 로티퍼용 영양강화제제인 Espresso(INVE)를 5cc씩 하루에 2회 부화자어 사육수조에 공급하였음.

(2) 붉바리 종자 먹이생물 공급

- 부화 후 3-4일경 부화자어가 개구하는 시점에 맞추어 고밀도 배양한 초소형 로티퍼를 부화조에 10-20개체/cc 기준으로 1일 1~2회 공급하였음. 부화 후 8일경부터는 저밀도 배양 방식(L type)으로 영양강화한 로티퍼를 10-20개체/cc로 공급하였음.

- 이후 부화자어 평균 전장 6mm 전후가 되는 부화 20일경에 첫 알테미어를 공급하고 부화 25일이후 영양강화 알테미어를 공급하였음. 부화 27일부터는 냉동 코페포다(*Calanoida*)를 공급하였고, 초미립자 사료는 부화 후 12일 전후로 극미량씩 공급하기 시작하여 부화 후 30일 전 후로 사료 불임을 시작하였으며, 사료 불임이 완료 된 이후부터는 먹이생물 공급량을 줄이고 초기 미립자 사료 공급량을 늘려주었음.

(3) 붉바리 종자 생존률 향상 기술 개발

- 2017년도 초기 로티퍼 EPA 공급농도 조절을 통하여 영양강화기간을 기존 1일에서 3일로 연장시켜 초기 생존률을(부화 15일 이내) 향상시킴.
- 2018년도 붉바리 종자생산 부화조에 공급한 로티퍼를 EPA 공급농도 조절을 통한 영양 강화로 초기 생존률을(부화 후 15일 이내) 향상시킴.

표 51. 붉바리 종자 생산 향상을 위한 사양관리

	수정란 생산량 (cc)	부화율 (%)	생존율 (부화15일)	사육 환경			비고
				수온	DO	광량	
2017년	800	90%	약 60만미 50%	24℃	7.5	200 LUX	3일간 로티퍼 영양강화
2018년	2,200	90%	약 160만미 60%	24℃	7.5	2000 LUX	부화조내 양강화제 급이

- 2019년도 부화 후 40일 전후 기존 영양강화 된 알테미어 단독 공급에서 HUFA와 B1영양 성이 높은 코페포다(*Calanoida*)를 공급하였고, 코페포다의 공급으로 변태시기의 폐사율이 감소하여 치어기 생존율이 증가하였음.

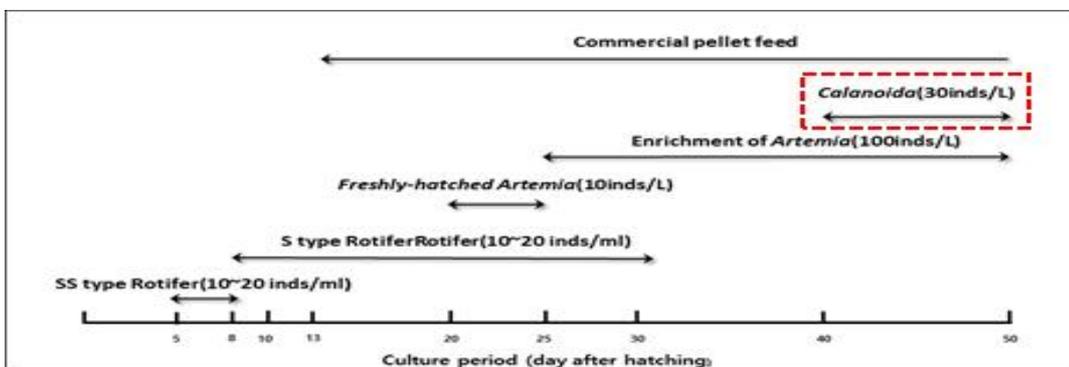


그림 65. 붉바리 종자 생존률 향상을 위한 영양 강화

표 52. 코페포다 공급 후 생존율 변화 (2019년)

수정란 입식량	부화율	개구시 생존율	부화자어기 생존율	자어기 생존율	치어기 생존율
F3 : 150cc	90%	65%	35%	25%	20%
F1 : 150cc	90%	65%	30%	20%	17%
F1,F2 : 100cc	80%	60%	40%	30%	25%

- 붉바리 자어 변태전후 먹이생물 코페포다(*Calanoida*) 공급 시기 조절을 통한 종자 생존율 향상 (10% → 20%)
 - HUFA와 비타민 B1 영양성이 높은 코페포다(*Calanoida*)를 부화 40일 전후에 공급했던 시기(2019년 연구결과)를 부화 후 28일에 앞당겨 공급함으로써 변태시기 전후 폐사율을 감소시켜 치어기 생존율이 증가하였음.

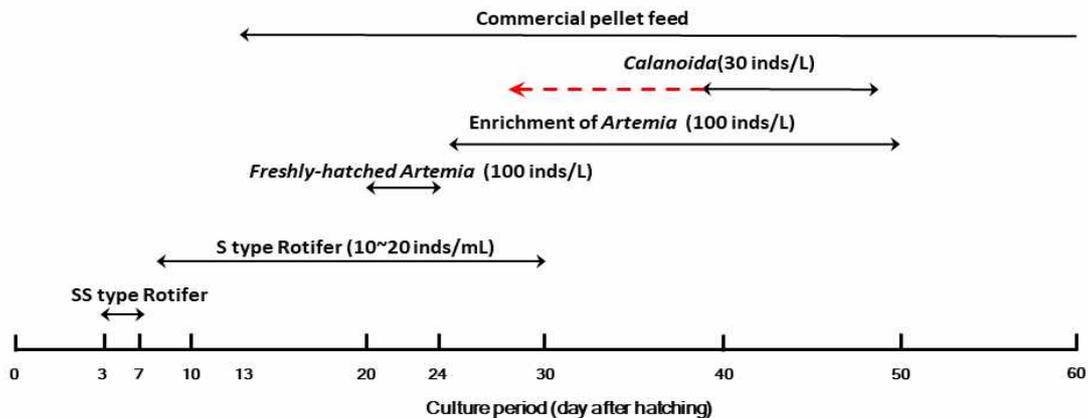


그림 66. 붉바리 종자 최적 먹이 공급 시기

표 53. 코페포다 공급 후 생존율 변화 (2020년)

수정란 입식일	코페포다 공급시기	부화율 (%)	개구시 생존율 (%)	자어기 생존율 (%)	치어기 생존율 (%)
2019년 7월 7일 (3차년도)	부화 45일	90	65	25	20
2019년 7월 12일 (3차년도)	부화 40일	80	60	30	25
2020년 3월 28일 (4차년도)	부화 28일	89	68.3	56.7	30.19

- 2021년 불바리 부화조 수질안정을 위해 미생물 배양 및 공급을 통한 종자 생존율 향상 (20% → 30%)
- 불바리 소화관에서 분리한 미생물 중 어류질병세균에 대한 항균활성, 항산화 활성, 내산성 및 담즙내성에 우수한 Probiotics 4종을 선정하여 (주)Macrogen(Korea)에 Universal primer (27F; 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3, 1492R; 5'- AAGGAGGTGATCCAGCCGCA - 3')를 사용 16S rDNA 염기서열 분석 진행하여 분석된 염기서열을 Molecular Evolution Genetics Analysis(Mega) software version 7.0(Koichiro et al., 2013). 프로그램을 이용하여 결정된 염기서열을 확인하고, 미국 국립생물정보시스템인 NCBI(National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)search program을 이용하여 GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 DNA sequencing data와 유사한 염기서열을 비교하여 가장 근연속 또는 종 (closetspecies)을 나타내는 서열을 확인 *Lactobacillus paracasei* B1, *Lactococcus lactis* B2, *Lactobacillus plantarum* B3, *Lactococcus lactis* subsp. *hordniae* B5로 명명하고 불바리 종자 생산 및 사육관리에 이용하였다. 분리된 4종의 Probiotics는 MRS broth(Difco, BD)를 medium으로 하여 Shaking incubator에서 120 rpm으로 32 °C에서 24 hr동안 배양하여 최종 균수가 1.9×10^9 cfu/ml가 되었을 때 불바리 종자 먹이생물 및 사육수조에 직접 접종하여 종자 사육관리를 함.
- 일반 종묘장 및 양식장에서 면역증진, 수질안정, 환경개선제로 많이 사용되어지는 고농축 광합성 홍균 혼합제품인 PSB Plus(BioHelix, Korea)의 효능을 증가시키기 위해 빵 효모인 Yeast(대상(주), Korea)를 사용하였음. 종균 배양 배지로는 MRS broth(Difco, BD)를 사용하였으며, 배양 조건은 MRS broth 1 L, PBS Plus 50 ml, Yeast 3 g으로 하여 Shaking incubator에서 120 rpm으로 30 °C에서 24 hr 동안 배양하여 최종 균수가 1.0×10^9 cfu/ml 가 되었을 때 불바리 종자 먹이생물 및 사육수조에 직접 접종하여 종자 사육관리를 함.

표 54. 배양된 미생물 사용 후 생존율 변화

수정란 입식일	개구시 생존율 (%)	자어기 생존율 (%)	치어기 생존율 (%)
2019년 7월 7일	65	25	20
2019년 7월 12일	60	30	25
2020년 3월 28일	68.3	56.7	30.19
2021년 3월 31일	60	45	29
2021년 6월 7일	75	60	32

나. 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색

(1) 사육환경에 따른 성장과 생리적 특성 조사

(가) 성장 및 수온관련인자 분리 동정

① 성장관련인자 분리 동정

- 붉바리의 성장관련인자 탐색을 위하여 뇌의 시상하부에서 분비되는 성장호르몬분비억제호르몬인 preprosomatostatin (PSS)을 분리 동정하였음.
- PSS 유전자의 분리 동정을 위하여 붉바리의 뇌를 적출하였으며 RiboEx™ (GeneAll)를 이용하여 total RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하였음. cDNA의 PCR을 수행하기 위하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에 등록되어 있는 갈색둥근바리 (orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*)의 PSS1 (accession number, AY677120)과 PSS3 (accession number, AY677122)의 유전자 염기서열을 이용하여 degenerated primer를 제작하여 각각의 유전자를 증폭시켰고(표 55), 이후 T-Blunt vector (SolGent, Korea)에 유전자 삽입 후 transformation을 통하여 plasmid DNA를 획득하였으며, (주)제노텍에 염기서열분석을 의뢰하여 PSS1과 PSS3의 부분염기서열을 확인하였음.
- 붉바리의 뇌에서 분리 동정한 PSS1과 PSS3의 부분염기서열 분석 결과 각각 168 bp와 189 bp의 길이의 염기서열로 구성되었으며, 각각 56개와 63개의 아미노산이 확인되었음 (그림 67, 68).

표 55. PSS1과 PSS3 유전자 분리 동정에 사용된 degenerate primer

Primers	Sequence
Degenerate primers	
PSS1 F	5'-CTGCTCCTCTCTGACCTCCT-3'
PSS1 R	5'-GTTCTTGCAGCCAGCTTTCC-3'
PSS3 F	5'-ACGTGAACAGGGAGTTGAGC-3'
PSS3 R	5'-GTCGCGTTGAGGCAGTGATA-3'

```

TCTCTCCTCTCTGACCTCCTGCAGGTGGAGAACGAGGCCCTTGAGGAGGAGAACTTCCT 60
S L L S D L L Q V E N E A L E E E N F P
CTGGCTGAAGGAGAACCTGAAGATGTCCATGTGGATCTGGAACGAGCCGCCGCCGGC 120
L A E G E P E D V H V D L E R A A A A G
AGCGGGCCGCTGCTCGCCCCCGAGAGAGGAAAGCTGGCTGCAAGAAC
S G P L L A P R E R K A G C K N

```

그림 67. 붉바리 PSS1 partial sequence

```

TACGTGAACAGGGAGTTGAGCAAAGAGCGCAAGGAGCTGATCCTGAAGCTGGTGTCCGGC 60
Y V N R E L S K E R K E L I L K L V S G
TTGTTAGATGGAGCTCTGGACACCAACATGCTGCCGGGCGAAGCTGCACCTGTGGACCT 120
L L D G A L D T N M L P G E A A P V D L
GAGGAGCCGCTGGAGTCTCGTCTGGAGGAGGGCTGTCTACAACAGGCTATCACTGCCT 180
E E P L E S R L E E R A V Y N R L S L P
CAACGCGAC
Q R D

```

그림 68. 붉바리 PSS3 partial sequence

② 수온관련인자 분리 동정

- 붉바리에서 수온관련인자의 탐색을 위해서 일부 포유류에서 특정 온도를 인지하는 것으로 알려진 Transient receptor potential (TRP) 유전자를 분리 동정하였음.
- 붉바리의 수온관련인자를 분리 동정하기 위하여 붉바리 전 조직을 적출하여 total RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하여 사용하였으며, 수온관련인자는 NCBI에 등록되어 있는 다른 어종 및 포유류의 Transient receptor potential vanilloid (TRPV), Transient receptor potential ankyrin (TRPA), Transient receptor potential melastatin (TRPM) 유전자 정보를 이용하여 degenerated primer를 제작하여 유전자 분리 동정에 사용하였음(표 56)
- 붉바리의 전조직에서 분리 동정한 TRPV1과 TRPV4의 부분염기서열 분석 결과 각각 633 bp와 486 bp의 길이의 염기서열로 구성되었으며, 각각 211개와 162개의 아미노산이 확인되었고(그림 69, 70), TRPA1, TRPM2 그리고 TRPM3의 부분염기서열 분석 결과 각각 696, 555, 726 bp 길이의 염기서열 및 232, 185, 242개의 아미노산은 확인되었음 (그림 71, 72, 73).

표 56. TRPV, TRPA1, TRPM2 및 TRPM3 유전자 분리 동정에 사용된 degenerate primer

Degenerate Primers	Sequence
TRPV1 F	5'-AARACCTGCCTGATGAARGC-3'
TRPV1 R	5'-RTAHGCCCAGTCBGTGAA-3'
TRPV4 F	5'-GTCCTGGGCTGGATGAACAC-3'
TRPV4 R	5'-GAADGAGCGCTCGATGTCCA-3'
TRPA1 F	5'-CAGAACAAGCTHGGBCATTT-3'
TRPA1 R	5'-ATHCCCAGTCTRCARGCGTA-3'
TRPM2 F	5'-ACYACAGGTGCSTGGATC-3'
TRPM2 R	5'-ATGTCCACKCKGTTCCAGG-3'
TRPM3 F	5'-ACYACAGGTGCSTGGATC-3'
TRPM3 R	5'-ATGTCCACKCKGTTCCAGG-3'

```

GCTCTGCTGCACCCCAAGGACGGCAAGAACGAGACAGTGGAAGTGTAAATCAACATTTCA 60
A L L H P K D G K N E T V E L L I N I S
GAGAAGATGGGAGACATTAAGAGTTTTGTGAATGCAGCATACACCAACACCTACTACAAA 120
E K M G D I K E F V N A A Y T N T Y Y K
GGCCAGACCGCTCTCCATATCGCCATTGAGAGGAGGACTATTTCTACGTGAAGCTGCTG 180
G Q T A L H I A I E R R T I S Y V K L L
GTCAGTAAAGGAGCAGACGTCCACGCCAAAGCCTGTGGAACATTCTCCAGCCACACGAT 240
V S K G A D V H A K A C G T F F Q P H D
GGCCCCAACTTCTACTTTGGTGAGCTGCCTCTGTCTCTGGCATCCTGCACCAACCAGCCC 300
G P N F Y F G E L P L S L A S C T N Q P
GACGTGGTGGATTTCTCATGGAGAATGAGTACCAGTCAGCGGACGCCAAGCTGACCGAC 360
D V V D F L M E N E Y Q S A D A K L T D
TCTCAGGGAAACACGGTGCTGCACGCCCTGGTGGTGGTGGCTGATAACTCGACGCACAAC 420
S Q G N T V L H A L V V V A D N S T H N
ACCGAGTTCATTACCAACATGTATGACCGCATCCTCAAGACCACCTCCCGCTGCACCCC 480
T E F I T N M Y D R I L K T T S R L H P
AAGCTGAAGCTGGAGGACATCGAGAACCACGAGGGGCTGACGCCTCTCAAGATGGCTGCC 540
K L K L E D I E N H E G L T P L K M A A
AAGACTGGAAAGATAGGGCTTTTTTCGCACATCCTGCAACGGGAATTCCAAGAGAGCAAC 600
K T G K I G L F S H I L Q R E F Q E S N
ACCAAACATTTGTCCCGTAAATTCACCGACTGG
T K H L S R K F T D W
    
```

그림 69. 붉바리 TRPV1 partial sequence

```

GTCCTGGGCTGGATGAACACTCTCTACTTCACCAGAGGCCTGAAGCTCACTGGCACCTAC 60
V L G W M N T L Y F T R G L K L T G T Y
AGCATCATGATACAGAAGATTCTTTTCAAAGACCTTTTTAGATTTCTGCTGGTGTACGTG 120
S I M I Q K I L F K D L F R F L L V Y V
CTCTTCATGATTGGATATGCATCAGCCCTGGTGTCCCTGCTGACAGCGTGTCCCTCCACCG 180
L F M I G Y A S A L V S L L T A C P P P
GGCACAGAGTGTGACGGGGGCTGCCCCACCTACCCCGACTGCAGGGACACAGACACCTTT 240
G T E C D G G C P T Y P D C R D T D T F
AGTGCTTTCTACTTGACCTCTTTAAGCTGACCATTGGGATGGGAGAGCTGGACATGATC 300
S A F L L D L F K L T I G M G E L D M I
CACAGTGCACAGTATCCTGCAGTCTTCCTCATCCTGTTGGTGACCTACATCATCCTCACC 360
H S A Q Y P A V F L I L L V T Y I I L T
TTTGTCTGCTGCTGAACATGTTAATCGCTTTGATGGGAGAGACAGTGGGGCAGGTGTCC 420
F V L L L N M L I A L M G E T V G Q V S
AAGGAGAGCAAGAAGATCTGGAAGCTTCAGTGGGCAACGACCATCTTGGACATCGAGCGC 480
K E S K K I W K L Q W A T T I L D I E R
TCCTTC
S F

```

그림 70. 붉바리 TRPV4 partial sequence

```

CAGAACAAGCTTGGTCATTTCCCATGCATGCAGCCGCTTCGCAGGTGCAAAGAAAGCC 60
Q N K L G H F P M H A A A F A G A K K A
ATGGAAGTGATCTTGAAGGCCGGAGAGAAGTTAGGCCACCAAGCCGAAGTCCACATCAAC 120
M E V I L K A G E K L G H Q A E V H I N
TATTTAGACAAGTCCAAGAGCAGTCCGCTGCATCTGGCCGTACGTGGGGGAATATCGAG 180
Y L D K S K S S P L H L A V R G G N I E
ACCATCCGTCTCTGCATCGCCACTGGGGCCAGAATTGACCAGCAACAGAATGACAGGTCC 240
T I R L C I A T G A R I D Q Q Q N D R S
ACACCGCTTCATTTGGCCTGCACCCAGGGTGCTACTGAGGTTGTCAAACCTGATGCTGTCC 300
T P L H L A C T Q G A T E V V K L M L S
TCTTTTGACCAAGTGAAGACATCATCAACCTAACCGACGGGGCGTGTGAGACCCCTG 360
S F D Q V E D I I N L T D G A C Q T P L
CACAGGGCTACAATATTCGACCACACAGAGCTGGCAAAGTACCTCATTTCATTGGGTGCA 420
H R A T I F D H T E L A K Y L I S L G A
GACCTTAACAGCATTGATTGTAAGGACTCTCCCTTGCTGTTGGCTACGAGCTGTGGA 480
D L N S I D C K G H S P L L L A T S C G
GCGTGGAAAACCTGTGGCTCTGCTCCTGTCCAAAGGGGCAAATGAAATGTGAAAGACAGA 540
A W K T V A L L L S K G A N V N V K D R
TGTGGTTGCAACTTCCTTCACCTGGCCATTCTCCAGCCAAAGGGTCTGAAAACTGCCA 600
C G C N F L H L A I L Q P K G L K N L P
GAGGAAGTACTGCAGACGAGCAGTGTGAAGGCACTGCTGAGCTGTGAGGATAATGAGGGC 660
E E V L Q T S S V K A L L S C E D N E G
TGCACGCCACTGCACTACGCTTGCAGACTGGGTATA
C T P L H Y A C R L G I

```

그림 71. 붉바리 TRPA1 partial sequence

```

CACTTCCTGCTGGTGGATGATGGGAGACATGGACACTATGGTGTGGAGATTGAACTGCGT 60
H F L L V D D G R H G H Y G V E I E L R
AGCCAACGGAAAAATGCATCTCCAGAAAGCGTCTTGAAAACAAAGAGACTGGTGTGACC 120
S Q L E K C I S R K R L G N K E T G V T
ATCCCTGTGGTGTGTGGTTTTGGATGGAGGGCCAGGCACTCTCAATACCATCTATAAT 180
I P V V C V V L D G G P G T L N T I Y N
GCCATGCTGAATGGTACCCATGTGTGATCTTGGAGGGCTCTGGGAGAATAGCAGATGTG 240
A M L N G T P C V I L E G S G R I A D V
ATCGCACAGGTGGCAGGACTACCAAGTACCCGGGTACCATCGCCCTCATCCACCAGTTA 300
I A Q V A G L P V T R V T I A L I H Q L
ATGAAAAAGTTCTTTGGCTTAGAGTATGAAAAGTCCCCGACCTCAGGATCATAGAATGG 360
M K K F F G L E Y E K F P D L R I I E W
ACCAAGAAGATTCAGGATATCATCAGGATGCCTCACTTACTGACGATATACAGAATAGGC 420
T K K I Q D I I R M P H L L T I Y R I G
GAGGACAATCACGGGGATGTGGATGTGGCTATTCTTCAAGCACTTCTCAAAGCTTCAAGG 480
E D N H G D V D V A I L Q A L L K A S R
ACTAGCGAGTCACTAGGTATCGAGTGTGGAAAAGACAGCTGGAGCTGGCTATAGCCTGG 540
T S E S L G I E C W K R Q L E L A I A W
AACAGAGTGGACATA
N R V D I

```

그림 72. 붉바리 TRPM2 partial sequence

```

AAGGCTTTTGTAGCATGTAAGCTTTGTAAAGCGATGGCACACGAAGCCTCTGAGAACGAC 60
K A F V A C K L C K A M A H E A S E N D
ATGGTAGATGACATCTCGCAGGAGCTAAACCACAACCTCCAGAGAGTTTGGCCAGCTGGCA 120
M V D D I S Q E L N H N S R E F G Q L A
GTGGAACCTCTCGACCAGTCTATAAACAGGACGAGCAGATGGCCATGAAGCTGCTGACG 180
V E L L D Q S Y K Q D E Q M A M K L L T
TATGAGCTGAAGAATTGGAGCAACGCCACCTGCCTGCAGCTGGCGGTAGCGGCCAAACAC 240
Y E L K N W S N A T C L Q L A V A A K H
AGAGATTTTCATCGCTCACACCTGCAGTCAGATGCTGCTGACCGACATGTGGATGGGACGT 300
R D F I A H T C S Q M L L T D M W M G R
CTGCGCATGCGCAAAAACCTCAGGCCTGAAGGTAATCTTAGGCCTGCTCCTGCCGCCGTCC 360
L R M R K N S G L K V I L G L L L P P S
ATCCTGAGTCTGGAGTTTAAGAACAAGGATGAGATGTCCTACATGCCCCAGGATCAGGAG 420
I L S L E F K N K D E M S Y M P Q D Q E
GCGTACCTGCAGGAGAAGGAGGAGGAGGAGCCTGAGAAACAGTCAAGGAGAAGGAGGAG 480
A Y L Q E K E E E E P E K P V K E K E E
GAAGACATGGAGTTCACAGTAAGATCTTACTGTGAGACGCACTCAACTCCGTGGCAATG 540
E D M E F T V R S Y C E T Q Y N S V A M
CTGGGTAAAGTAACCACAGAGACATCCAGAAAAGAAGGATGTTGAGGAGGTTTCAGAAACGC 600
L G K V T T E T S R K K D V E E V Q K R
CACCGCCTCATCCCCATGGGACGCAAGATACGAGTTCTACAACGCTCCAATTGTCAAG 660
H R L I P M G R K I Y E F Y N A P I V K
TTCTGGTTCATACGATGGCATACGTGGGCTACCTGATGTTGTTCAACTACATCGTCCAG 720
F W F H T M A Y V G Y L M L F N Y I V Q
ATCGGA
I G

```

그림 73. 붉바리 TRPM3 partial sequence

③ 수온관련인자들의 조직발현

- 붉바리에서 분리 동정한 TRPV1, TRPV4, TRPA1, TRPM2 및 TRPM3의 조직별 발현 특성을 조사하기 위해 붉바리의 신경조직 (후엽, 중뇌, 시개, 간뇌, 소뇌, 연수, 뇌하수체)과 주변조직 (혀, 눈, 아가미, 심장, 신장, 간, 비장, 위, 장, 생식소, 근육, 피부, 지느러미)을 적출하여 total RNA를 추출한 후 cDNA로 합성하여 조직별발현 분석에 사용하였음.
- 조직별 발현의 Real time-qPCR 분석을 위하여 분리 동정한 TRVA1, TRPM2 및 TRPM3 유전자의 부분염기서열을 이용하여 primer를 제작하였으며, housekeeping gene은 β -actin의 유전자 정보를 이용하여 primer를 제작하였음(표 57).

표 57. Real time-qPCR에 사용된 각 유전자들의 primer 정보

Primers	Sequence
TRPV1 F	5'-TGACCAGCAGCTTCACGTAG-3'
TRPV1 R	5'-AAGGACGGCAAGAACGAGAC-3'
TRPV4 F	5'-TGGATATGCATCAGCCCTGG-3'
TRPV4 R	5'-TCCAGCTCTCCCATCCCAAT-3'
TRPA1 F	5'-CCAAATGAAGCGGTGTGGAC-3'
TRPA1 R	5'-GCAGGTGCAAAGAAAGCCAT-3'
TRPM2 F	5'-ACATCCCCGTGATTGTCCTC-3'
TRPM2 R	5'-TCCCCGACCTCAGGATCATA-3'
TRPM3 F	5'-CGGAGTTGTACTGCGTCTCA-3'
TRPM3 R	5'-AATCTTAGGCCTGCTCCTGC-3'
Internal control primers	
β -actin F	5'-GAGGGGTATCCTGACCCTGA-3'
β -actin R	5'-CTCCTCAGGGGCAACTCTC-3'

- 조직별 발현 분석결과 신경조직에서 TRPV1 mRNA는 후엽과 소뇌에서 가장 높은 발현을 보였고, 뇌하수체에서 가장 낮은 발현을 보였으며, 주변조직에서는 비장에서 가장 발현이 높았으며 생식소에서 발현이 가장 낮았다(그림 74). TRPV4 mRNA는 신경조직에서 시개와 연수에서 높은 발현을 보였으며, 주변조직에서는 비장에서 가장 발현이 높았으며, 아가미와 위, 생식소, 피부에서는 발현이 낮았다 (그림 75). TRPA1 mRNA발현은 중뇌에서 가장 높았으며, 주변조직에서는 위에서 발현이 가장 높았다 (그림 76). TRPM2 mRNA발현은 신경조직의 시개, 간뇌, 연수에서 높았으며, 주변조직에서는 장에서 발현이 가장 높았다 (그림 77). TRPM3 mRNA발현은 시개와 간뇌, 소뇌에서 발현이 높았으며, 주변조직에서는 오직 눈에서만 약한 발현을 확인하였다 (그림 78).

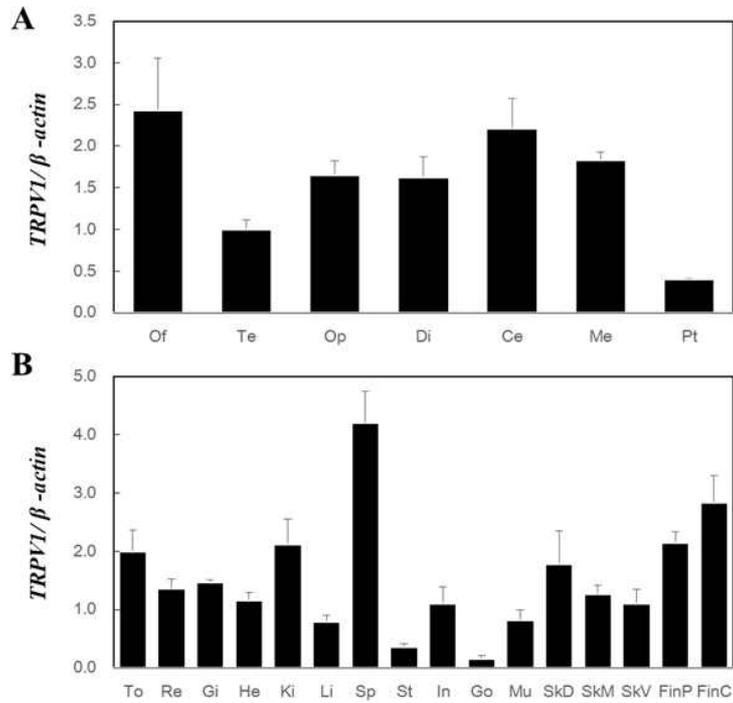


그림 74. 붉바리 TRPV1 조직별 발현

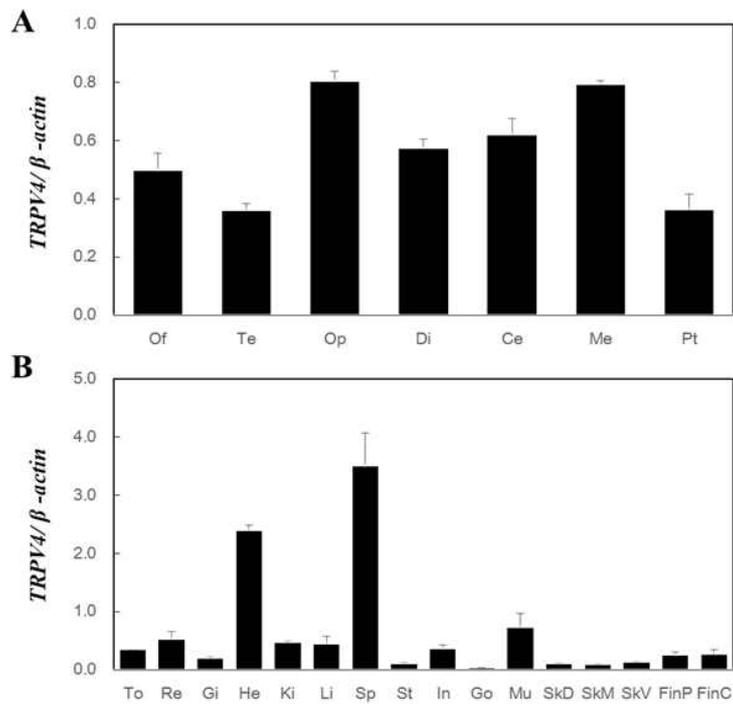


그림 75. 붉바리 TRPV4 조직별 발현

A: 신경조직, B: 주변조직 (Of: 후엽, Te: 종뇌, Op: 시개, Di: 간뇌, Ce: 소뇌, Me: 연수, Pt: 뇌하수체, To: 혀, Re: 눈, Gi: 아가미, Ki: 신장, Li: 간, Sp: 비장, St: 위, In: 장, Go: 생식소, Mu: 근육, SkD: 등쪽 피부, SkM: 측선쪽 피부, SkV: 배쪽 피부, FinP: 배지느러미, FinC: 꼬리지느러미)

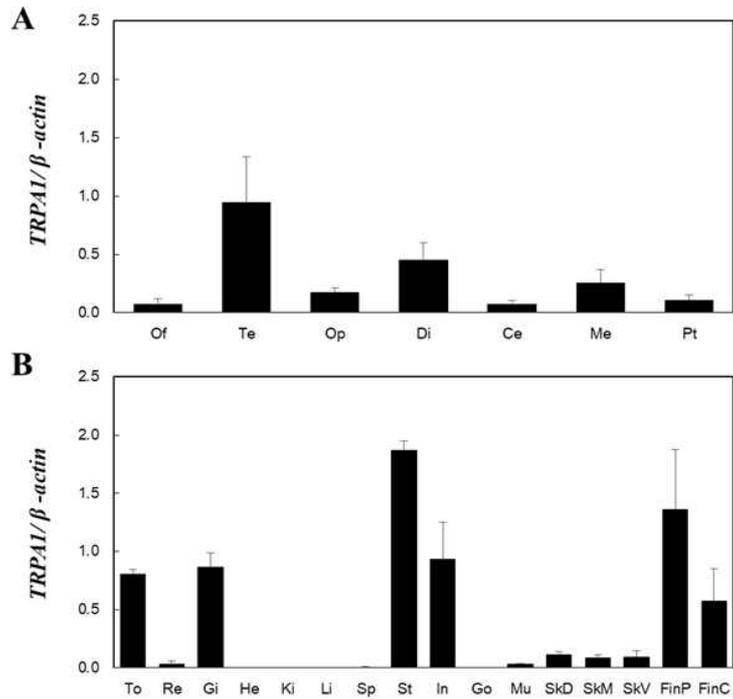


그림 76. 붉바리 TRPA1 mRNA의 조직별 발현

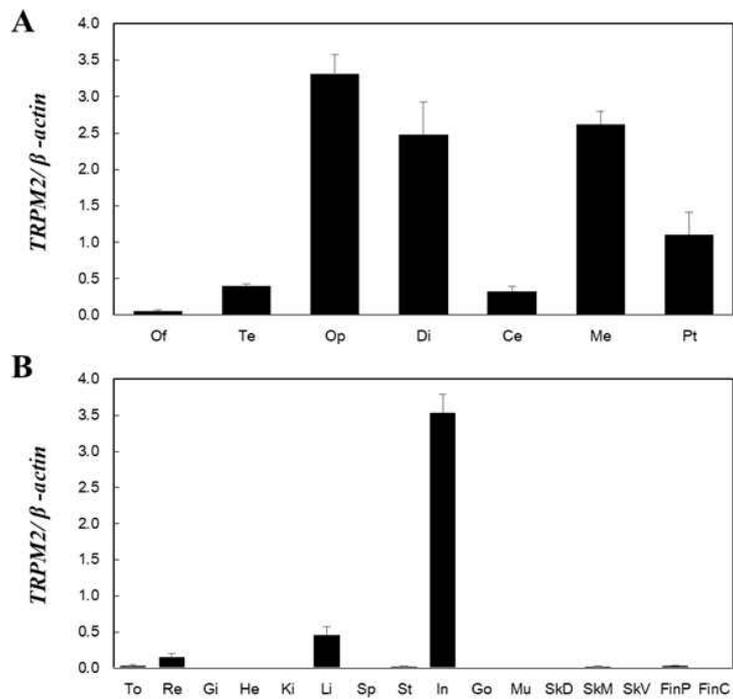


그림 77. 붉바리 TRPM2 mRNA의 조직별 발현

A: 신경조직, B: 주변조직 (Of: 후엽, Te: 종뇌, Op: 시개, Di: 간뇌, Ce: 소뇌, Me: 연수, Pt: 뇌 하수체, To: 혀, Re: 눈, Gi: 아가미, Ki: 신장, Li: 간, Sp: 비장, St: 위, In: 장, Go: 생식소, Mu: 근육, SkD: 등쪽 피부, SkM: 측선쪽 피부, SkV: 배쪽 피부, FinP: 배지느러미, FinC: 꼬리지느러미)

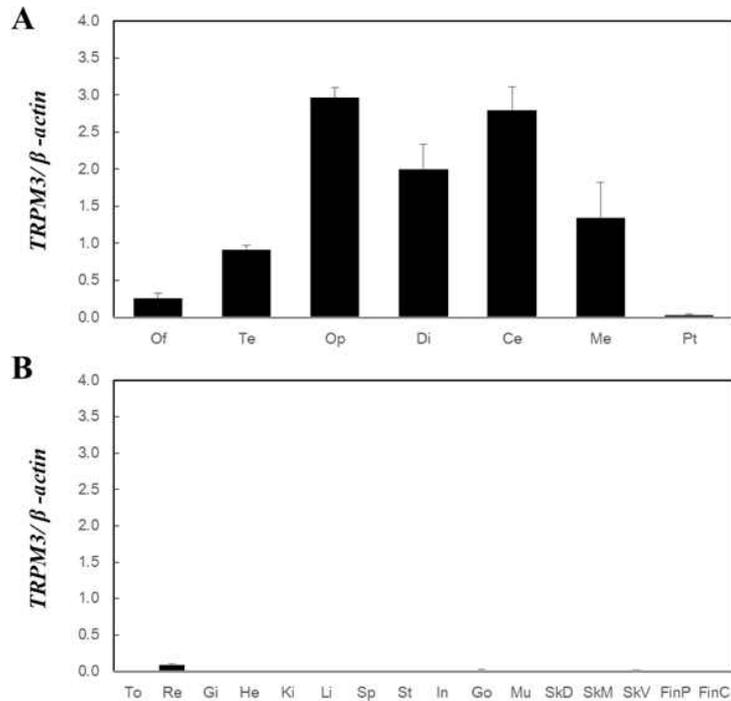


그림 78. 붉바리 TRPM3 mRNA의 조직별 발현

A: 신경조직, B: 주변조직 (Of: 후엽, Te: 종뇌, Op: 시개, Di: 간뇌, Ce: 소뇌, Me: 연수, Pt: 뇌하수체, To: 혀, Re: 눈, Gi: 아가미, Ki: 신장, Li: 간, Sp: 비장, St: 위, In: 장, Go: 생식소, Mu: 근육, SkD: 등쪽 피부, SkM: 측선쪽 피부, SkV: 배쪽 피부, FinP: 배지느러미, FinC: 꼬리지느러미)

(나) 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색

① 저수온기 광과장을 이용한 붉바리 체성장 유도

- 저수온기 광과장이 붉바리의 체 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 붉바리 치어 (n=200, 평균체중 6.9±0.1 g, 평균체장 7.5±0.1 cm)를 이용하여 서로 다른 파장대의 blue (480 nm), green (520 nm), red (590 nm), 그리고 자연광 조건에서 총 15주간 사육하였음.
- 시험에 사용된 광원은 (Light Emitting Diode)를 이용하여 디지털 조도계 (DX-200, Taiwan)를 사용하여 모든 수조에서 광량을 약 150 lux 로 동일하게 유지하였고, 광주기는 디지털타이머를 이용하여 12L:12D의 광주기를 유지하였으며, 수온은 자연수온(13.6 ~ 6.7°C)에 노출시켰음(그림 79).
- 실험 시작시부터 5주간격으로 최종 15주까지 사육하였고, 매 5주째마다 어체 체중과 체장을 측정하였으며, 성장관련인자 GH, PSS1, PSS3 와 광수용체 short wavelength sensitive opsin (SWS), middle wavelength sensitive opsin (MWS), long wave length sensitive opsin (LWS), Rodopsin (Rod)의 유전자 발현량을 조사하기 위해 실험 시작시와 마지막 측정시 sampling을 하여 붉바리의 뇌, 뇌하수체, 눈을 적출하여 분석하였음.

- 적출된 sample은 RiboEx™ (GeneAll)를 이용하여 total RNA를 추출하였고, Nano Vue (GE Healthcare, Ver.1.0.1, UK)를 이용하여 A260/A280nm의 비율이 1.7 ~ 2.1 범위 내의 값을 갖는 RNA만을 PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit (Takara, Japan)를 사용하여 cDNA를 합성하였음. cDNA의 real time-qPCR 분석을 위해 성장인자들과 광수용체들의 primer를 제작하여, CFX96™ Real-Time System (BIO-RAD, USA)를 사용하여 유전자들의 발현을 분석하였음(표 58)
- 각각의 광과장에서의 붉바리 치어 사육 결과, 평균체중이 10주차 blue그룹에서 white그룹에 비해 유의적으로 높았으나, 평균체장은 유의적인 차이가 없었음(그림 80).
- 눈에서 광수용체의 유전자 발현을 조사한 결과, 명암을 인지하는 Rod와 중간과장대를 인식하는 MWS mRNA의 발현은 실험그룹간의 유의적인 차이가 없었으며, 짧은 과장대를 인식하는 SWS mRNA의 발현이 blue그룹에서 유의적으로 높았고, 긴 과장대를 인식하는 LWS mRNA의 발현은 red그룹에서 유의적으로 높았음(그림 81).
- 뇌하수체에서 GH mRNA의 발현을 조사한 결과, blue 그룹에서 다른 실험그룹들에 비해 유의적으로 높은 발현을 보인 반면, white 그룹에서 가장 유의적으로 발현이 낮았고(그림 81A), 뇌에서 PSS1과 PSS3 mRNA의 발현은 유사한 경향을 보였으며, 모두 blue 그룹에서 유의적으로 높은 발현을 보였음(그림 82B, C).
- 본 실험에서 붉바리의 체성장이 둔화되는 저수온기에 광과장이 체성장에 미치는 영향을 조사한 결과, blue 과장이 다른 과장에서보다 붉바리의 체중량 증가에 효과적임이 나타났음. 체성장을 유도하는 GH mRNA 발현 역시 blue 그룹에서 높게 발현되는 것을 확인하였으며, 이러한 GH mRNA의 발현 증가가 체성장을 유도하는 것으로 판단됨. 하지만 성장호르몬의 분비를 억제하는 작용을 하는 PSS mRNA의 발현 역시 blue 그룹에서 높은 것이 확인되었으며, 이러한 PSS mRNA의 발현 증가는 blue 그룹에서 GH mRNA의 발현증가에 대한 상보적인 feedback 작용에 의한 발현 유도라고 생각됨. 또한 광과장을 인식하는 광수용체는 각각의 과장대를 특이적으로 받아들여 인지하는 것으로 나타났으며, 짧은 과장대를 인식하는 sws mRNA가 성장관련인자들의 발현에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각됨.

표 58. Real time-qPCR에 사용된 각 유전자들의 primer 정보

Primers	Sequence
Rod F	5'-CCCTCTGGTCACTGGTTGTT-3'
Rod R	5'-TCATGAAGTGGCAGCAGAAC-3'
SWS F	5'-CGGTCCCACCTCAACTACAT-3'
SWS R	5'-GGTCAGGCTTGAAAGCAAAG-3'
MWS F	5'-TGGAGGTGAAGTCGCTCTCT-3'
MWS R	5'-AAGCCTGGAGCCAGAGTGTA-3'
LWS F	5'-GTGTGGTGTTCCTCCGCCTAT-3'
LWS R	5'-CATGACAACGACCATTCTGG-3'
GH F	5'-AACTGCTGGCGTGTTTCAAG-3'
GH R	5'-ACAGTTGGCCTCAGGAGAGA-3'
PSS1 F	5'--3'
PSS1 R	5'--3'
PSS3 F	5'-ACGTGAACAGGGAGTTGAGC-3'
PSS3 R	5'-GTCGCGTTGAGGCAGTGATA-3'
Internal control primers	
β -actin F	5'-GAGGGGTATCCTGACCCTGA-3'
β -actin R	5'-CTCCTCAGGGGCAACTCTC-3'

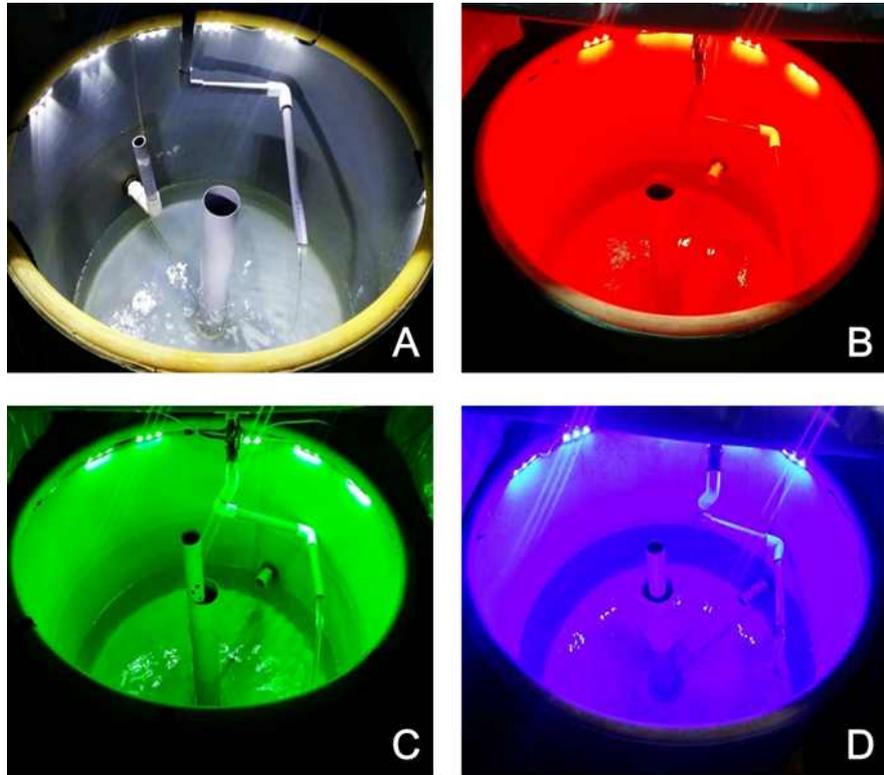


그림 79. 파장에 따른 붉바리 성장차이를 조사하기 위한 광파장 제어
 A: white, B: red, C: green, D: blue

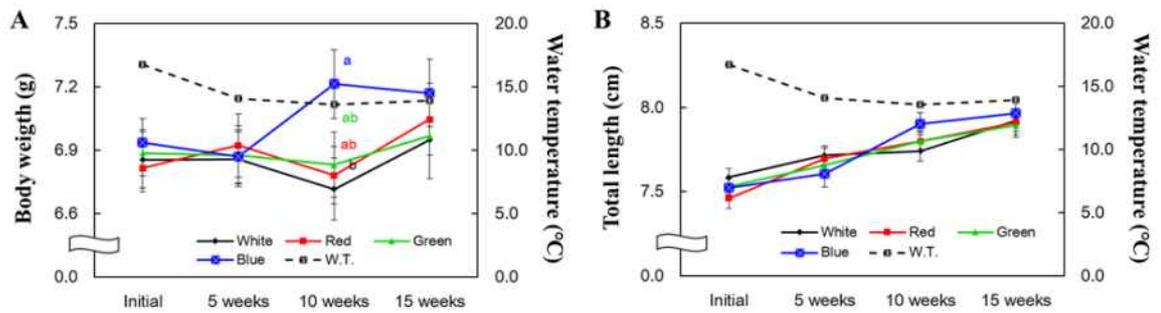


그림 80. 사육기간동안 수온 및 광파장별 성장차이
 A: 평균체중, B: 평균체장, W.T.: 수온

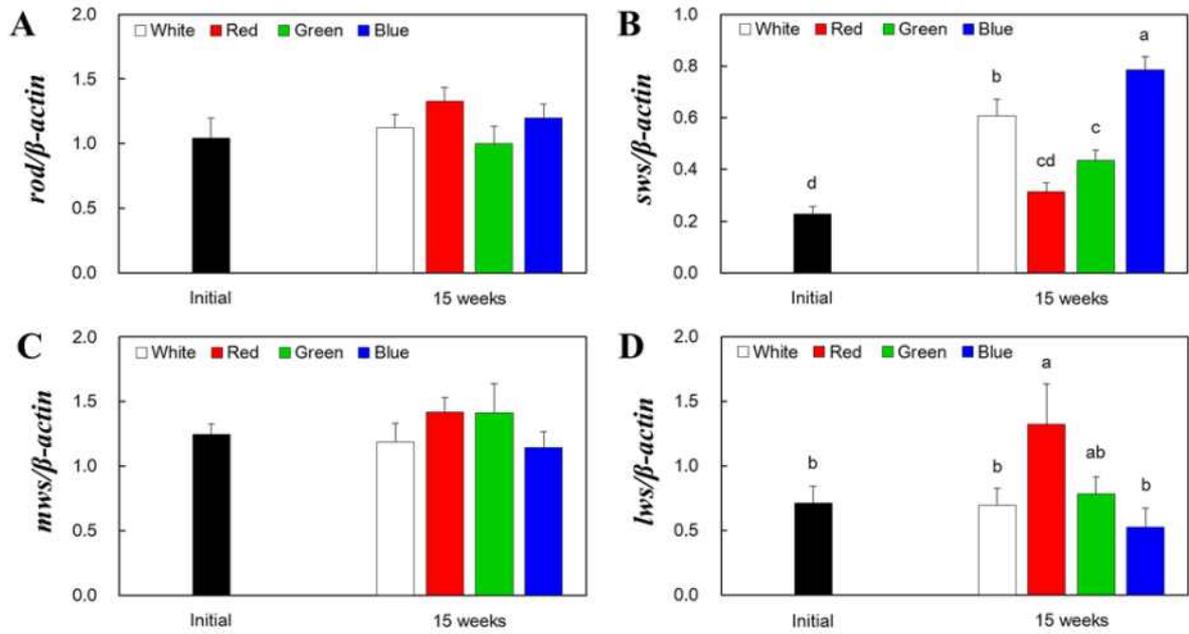


그림 81. 붉바리 눈에서 광수용체 유전자의 발현

A: rodopsin (Rod), B: short wavelength sensitive (SWS), C: middle wavelength sensitive (MWS), D: long wavelength sensitive (LWS)

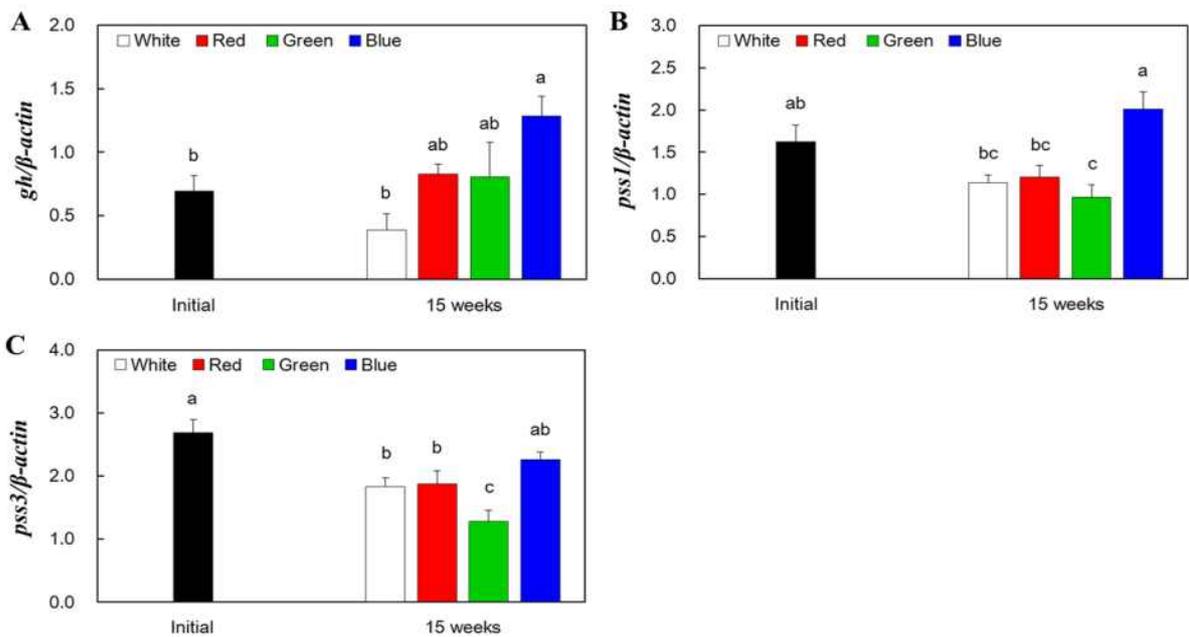


그림 82. 붉바리 뇌하수체와 뇌에서 GH mRNA와 PSS1, PSS3 mRNA 유전자 발현

A: growth hormone (GH), B: preprosomatostatin 1 (PSS1), C: preprosomatostatin3 (PSS3)

② 붉바리 수온적응생리특성 탐색

- 붉바리에 있어서 다양한 수온조건에 따른 적응생리특성을 탐색하기 위하여, 각각의 수온 조건에서 붉바리를 사육하였으며, 수온조건에 따른 다양한 생리인자 (수온, 번식, 성장관련 인자)들의 발현변화를 조사하였음.
- 실험어(n=160)는 평균체중 48.6 ± 4.8 g, 평균체장 16.2 ± 0.7 cm의 치어를 이용하였으며, 각각 자연그룹과, 20°C, 26°C, 32°C 그룹으로 나누었고(그림 83), 실험기간동안 자연그룹은 유수 식시스템에서 사육되었으며, 이외의 그룹들은 히터와 순환여과시스템을 이용하여 각각의 수온을 조절하였으며, 산소발생기를 이용하여 동일한 용존산소량을 유지하였다. 모든 실험그룹의 광주기는 자연광주기조건에서 실험을 진행하였음.
- 실험기간은 총 16주였으며, 실험 시작시부터 4주 간격으로 어체 체중과 체장을 측정하였으며, 뇌, 간, 생식소를 적출하였음. 뇌는 수온관련인자 (TRPA1, TRPM2, TRP3), 성장관련인자 (PSS1, PSS2, PSS3), 번식관련인자 (Kiss1, Kiss2, GPR54, GnRH)의 발현변화를 조사하기 위하여 total RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하여 Real time-qPCR 분석에 사용하였음.
- 간과 생식소는 적출 후 간중량지수 (hepatosomatic index, HSI)와 생식소중량지수 (gonadosomatic index, GSI)를 계산하기 위하여 각각의 무게를 측정하였으며, 조직학적 변화를 탐색하기 위하여 Bouin's solution에 고정시킨 후 조직학적 방법을 이용하여 hematoxylin-eosin 염색하였으며 광학현미경을 이용하여 관찰하였음.
- 사육기간동안 자연그룹의 수온은 실험 시작시 약 17.7°C에서 2월에는 12.4°C로 가장 낮은 수온을 보였으며, 다른 그룹들은 각각 일정한 수온범위를 유지하였음(그림 84). 용존산소는 자연그룹은 약 8.9 mg/L이었으며, 나머지 그룹들은 약 7.1~7.2 mg/L이었음(표 59).

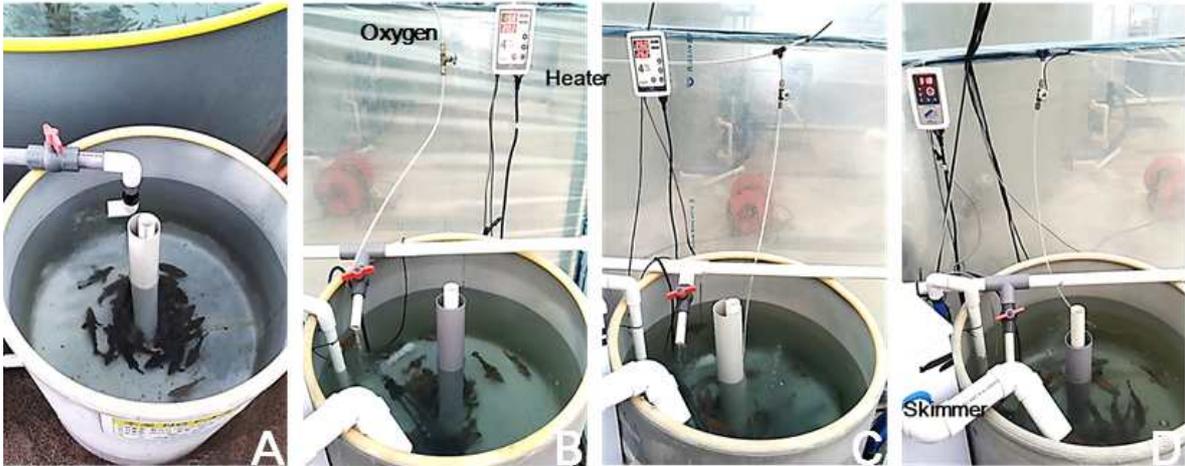


그림 83. 붉바리 수온적응생리탐색을 위한 사육환경 제어
A: Natural, B: 20°C, C: 26°C, D: 32°C

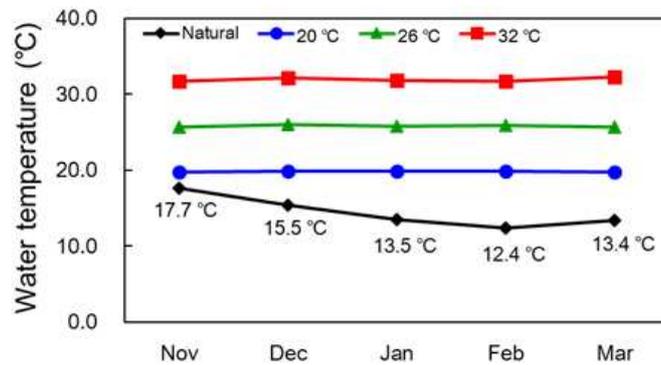


그림 84. 사육기간동안의 평균수온

표 59. 사육기간동안 평균수온 (water temperature, W.T) 및 용존산소 (dissolved oxygen, D.O)

	Natural	20°C	26°C	32°C
W.T (°C)	14.4±2.4	19.9±0.3	25.8±0.6	31.9±0.7
D.O (mg/L)	8.9±0.3	7.2±0.2	7.2±0.3	7.1±0.4

○ 수온조건에 따른 붉바리 체성장의 변화

- 서로 다른 수온조건에서 붉바리 치어의 체성장 변화를 조사한 결과, 26°C와 32°C 그룹에서 체중(body weight)이 유의적으로 빠르게 증가하였으며, 자연그룹에서는 체중의 변화가 거의 없었음(그림 85A). 붉바리 체장(body length) 역시 26°C와 32°C 그룹에서 빠르게 증가하였음(그림 85B).
- 사육기간동안 붉바리 치어의 성장률(growth rate, GR), 사료계수(feed coefficient, FC),

사료효율(feed efficiency, FE)을 조사한 결과, GR은 32℃그룹에서 34.1%로 가장 높았으며, FC와 FE는 26℃그룹에서 각각 1.4와 73.1%로 가장 높았음 (표 60).

- 간중량지수인 HSI의 조사 결과, 자연그룹에서 가장 높았고, 26℃와 32℃그룹에서 가장 낮았으며(그림 86). 간의 조직학적 분석결과, 32℃그룹에서만 비정상적으로 변형된 지방세포의 형태가 나타났음(그림 87).

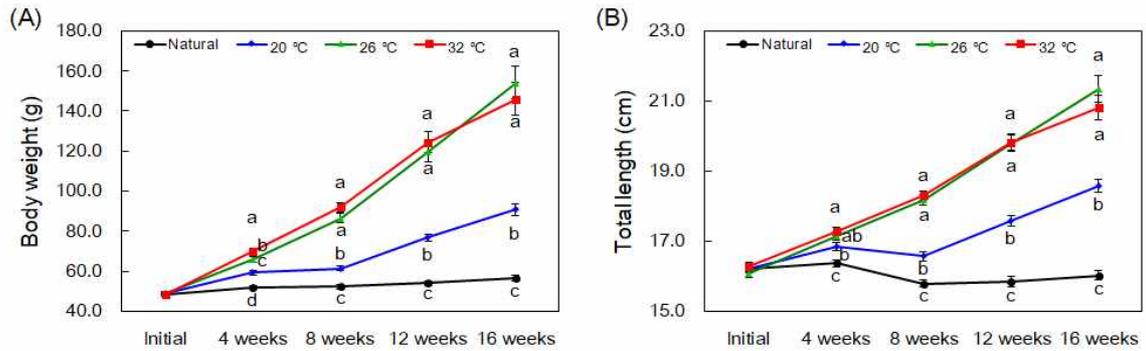


그림 85. 수온조건에 따른 붉바리 치어의 체성장 변화. (A): 체중, (B): 체장

표 60. 사육기간동안 붉바리 치어의 성장률 (growth rate, GR), 사료계수(feed coefficient, FC), 사료효율(feed efficiency, FE)

Group	4 weeks			8 weeks			12 weeks			16 weeks			AVG		
	GR	FC	FE	GR	FC	FE	GR	FC	FE	GR	FC	FE	GR	FC	FE
Natural	7.3	2.0	49.3	2.2	5.9	17.1	5.3	2.5	39.7	4.9	2.8	36.0	4.9	3.3	35.5
20	20.4	1.3	75.5	3.7	5.9	17.1	25.2	1.6	62.1	19.4	1.4	69.1	17.2	2.6	55.9
26	34.8	1.4	72.1	31.6	1.4	73.2	39.9	1.4	71.9	29.0	1.3	75.4	33.8	1.4	73.1
32	45.4	1.6	63.9	28.2	1.8	54.9	42.1	1.7	57.3	20.9	1.8	56.5	34.1	1.7	58.2

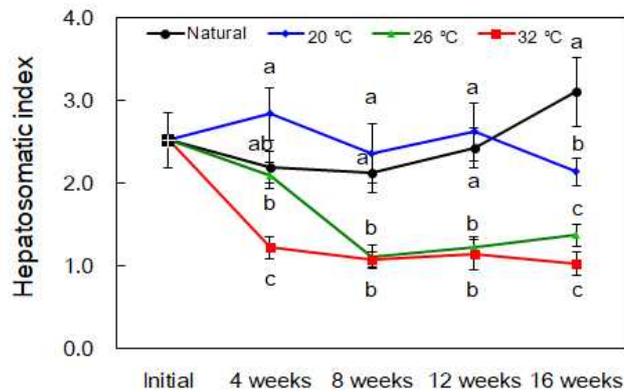


그림 86. 수온조건에 따른 간중량지수(hepatosomatic index)의 변화

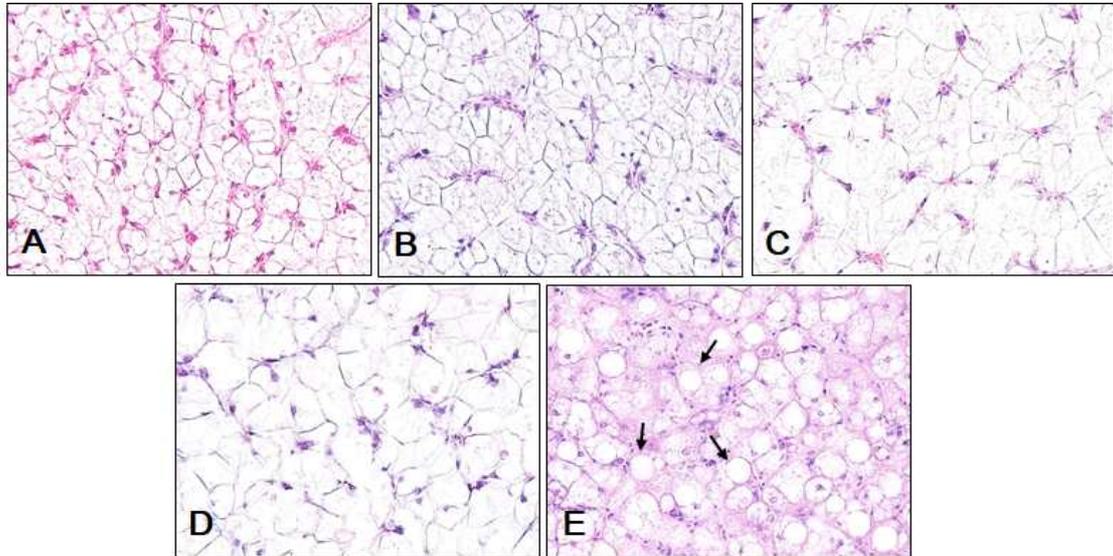


그림 87. 수온조건에 따른 간조직의 변화

A: Initial, B: 16주후 자연그룹, C: 16주후 20°C그룹, D: 16주후 26°C그룹, E: 16주후 32°C그룹
 화살표: 비정상적인 지방세포

○ 수온조건에 따른 생식소중량지수(GSI)와 난소의 조직학적 변화

- 수온조건에 따른 GSI의 변화를 조사한 결과, 26°C에서 가장 높았으며, 자연그룹에서 가장 낮았음(그림 88). 난소의 조직학적 분석결과 Initial 그룹과 16주후 자연그룹, 20°C 그룹의 난소에서 주로 난원세포(oogonia)와 주변인기난모세포(peri-nucleolus oocyte)가 관찰되었으며, 26°C그룹에서는 처음으로 유구기난모세포(oil-droplet oocyte)가 관찰되었고(그림 89), 32°C그룹에서는 퇴행하는 난모세포들이 관찰되었음

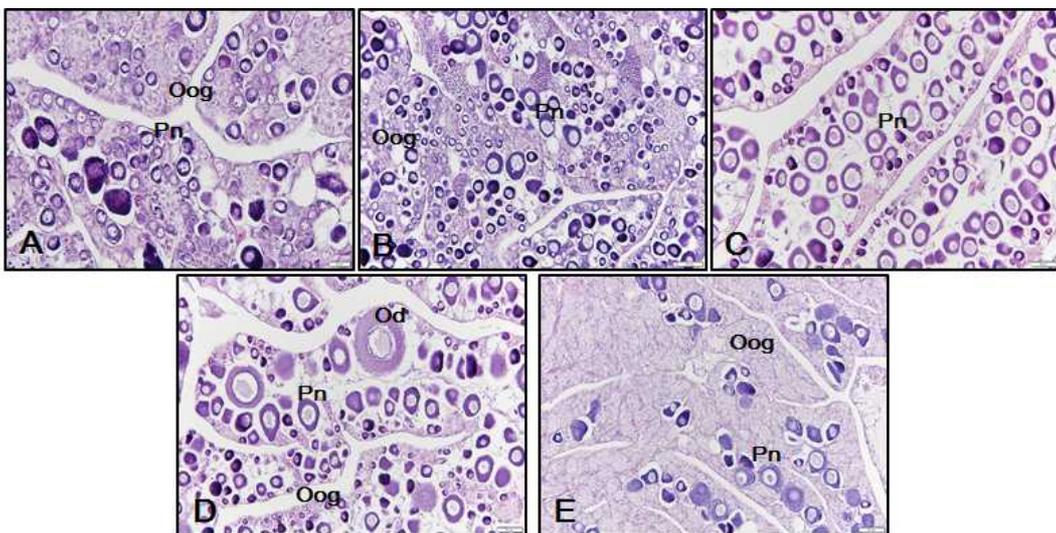


그림 88. 수온조건에 따른 난소조직의 변화

A: Initial, B: 16주후 자연그룹, C: 16주후 20°C그룹, D: 16주후 26°C그룹, E: 16주후 32°C그룹

○ 수온조건에 따른 수온인자들의 발현변화

- 붉바리 뇌에서 수온인자들의 발현을 조사한 결과, TRPV1 mRNA를 제외한 모든 인자 (TRPA1, TRPV4, TRPM2, TRPM3)들의 발현이 저수온인 자연그룹에서 유의적으로 높았으며, 고수온의 조건일수록 발현이 감소하였음(그림 89). TRPV1 mRNA의 경우 사육 후 4주째에는 자연그룹과 20℃그룹에서 발현이 높았지만, 이후 그룹간 발현차이가 사라지고 16주째에는 자연그룹과 32℃그룹에서 높은 발현을 보여 뚜렷한 일관성을 보이지 않았음.
- 붉바리 피부에서는 TRPA1, TRPV1, TRPV4 mRNA의 발현이 확인되었으며, 뇌에서의 발현과 유사하게 저수온인 자연그룹에서 유의적으로 높았으며, 수온이 높아질수록 발현이 감소하였음(그림 90).

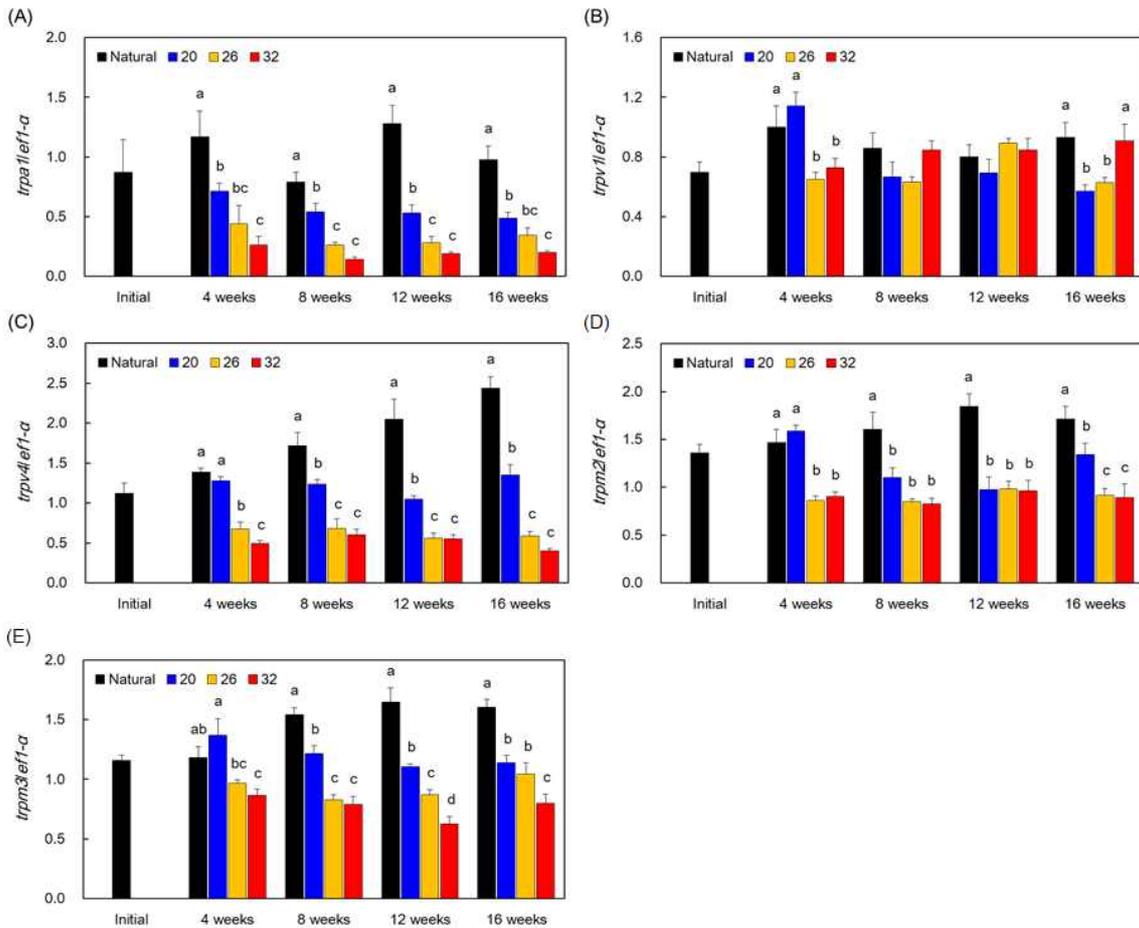


그림 89. 수온조건에 따른 붉바리 뇌에서 수온관련인자들의 발현변화

A: TRPA1 mRNA, B: TRPV1 mRNA, C: TRPV4 mRNA, D: TRPM2 mRNA, E: TRPM3 mRNA

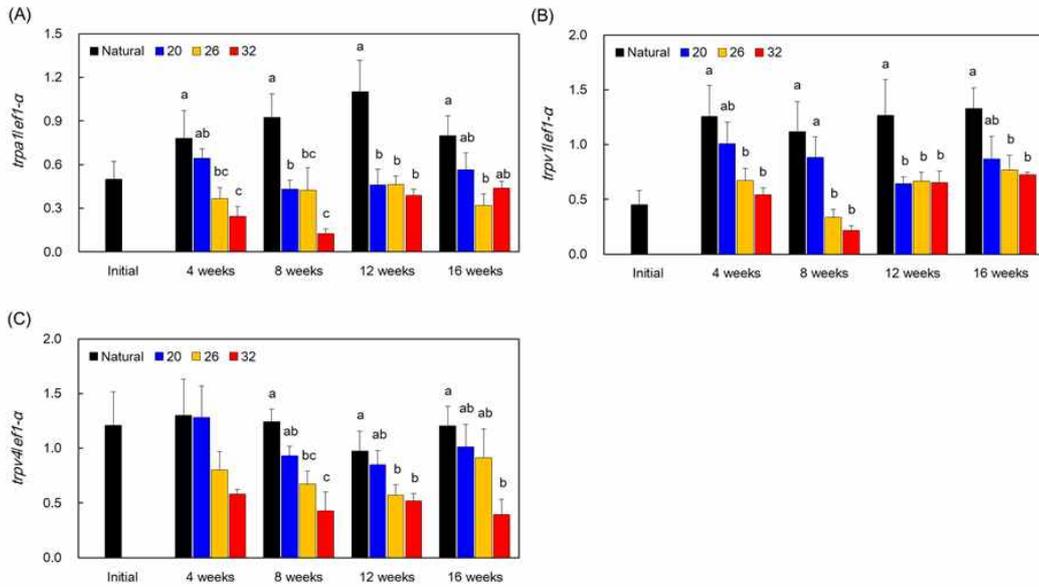


그림 90. 수온조건에 따른 붉바리 피부에서 수온관련인자들의 발현변화

A: TRPA1 mRNA B: TRPV1 mRNA, C: TRPV4 mRNA

○ 수온조건에 따른 성장관련인자의 발현변화

- 붉바리 뇌에서 성장관련인자인 PSS1, PSS2, PSS3 mRNA의 발현을 조사한 결과, PSS2와 PSS3 mRNA의 발현이 저수온인 자연그룹에서 유의적으로 높았으며, 그 외의 그룹에서는 낮았음(그림 91). PSS1 mRNA의 발현 역시 자연그룹에서 높았으나, 32°C그룹에서도 다소 높은 경향을 보였음.

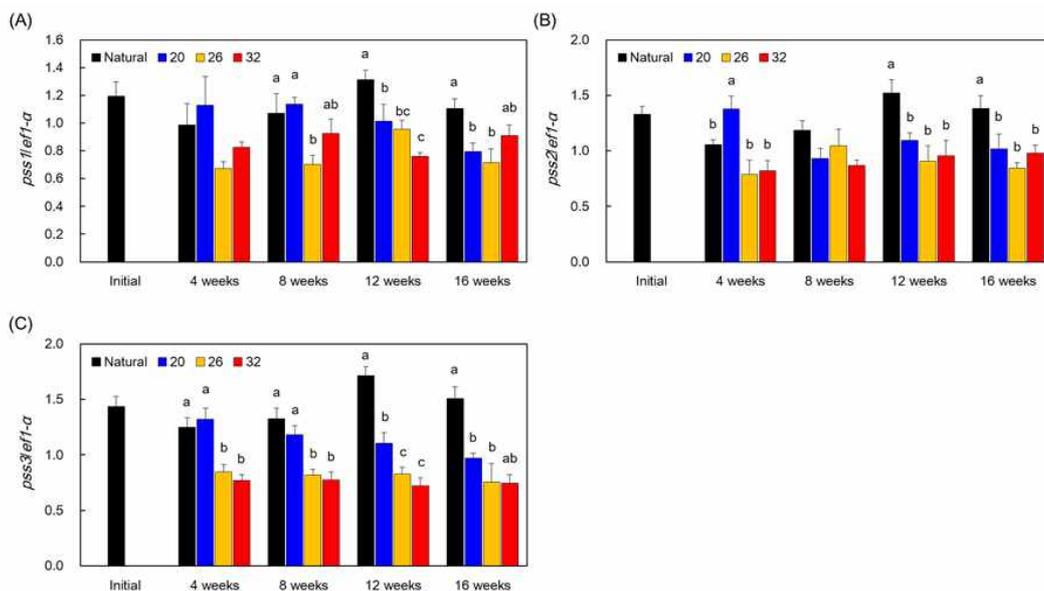


그림 91. 수온조건에 따른 붉바리 뇌에서 성장관련인자들의 발현변화

A: PSS1 mRNA, B: PSS2 mRNA, C: PSS3 mRNA

○ 수온조건에 따른 번식관련인자의 발현변화

- 붉바리 뇌에서 번식관련인자인 Kiss1, Kiss2, GPR54, GnRH mRNA의 발현을 조사한 결과(그림 92), Kiss1 mRNA 발현은 실험 8주, 12주째에 자연그룹에서 유의적으로 높았으나 16주째에는 그룹간 유의적인 차이가 없었음. Kiss2 mRNA의 발현은 실험 12주째까지 32℃그룹에서 유의적으로 높았고, 자연그룹에서 낮았으며, 16주째에 그룹간 유의적인 차이는 없었지만 32℃그룹에서 높은 경향을 보였음. Kisspeptin의 수용체인 GPR54 mRNA의 발현은 실험 16주째에 자연그룹에서 유의적으로 높았고, GnRH mRNA 발현은 실험 8주째부터 16주까지 자연그룹에서 유의적으로 높았으며, 26℃와 32℃그룹에서 낮았음.

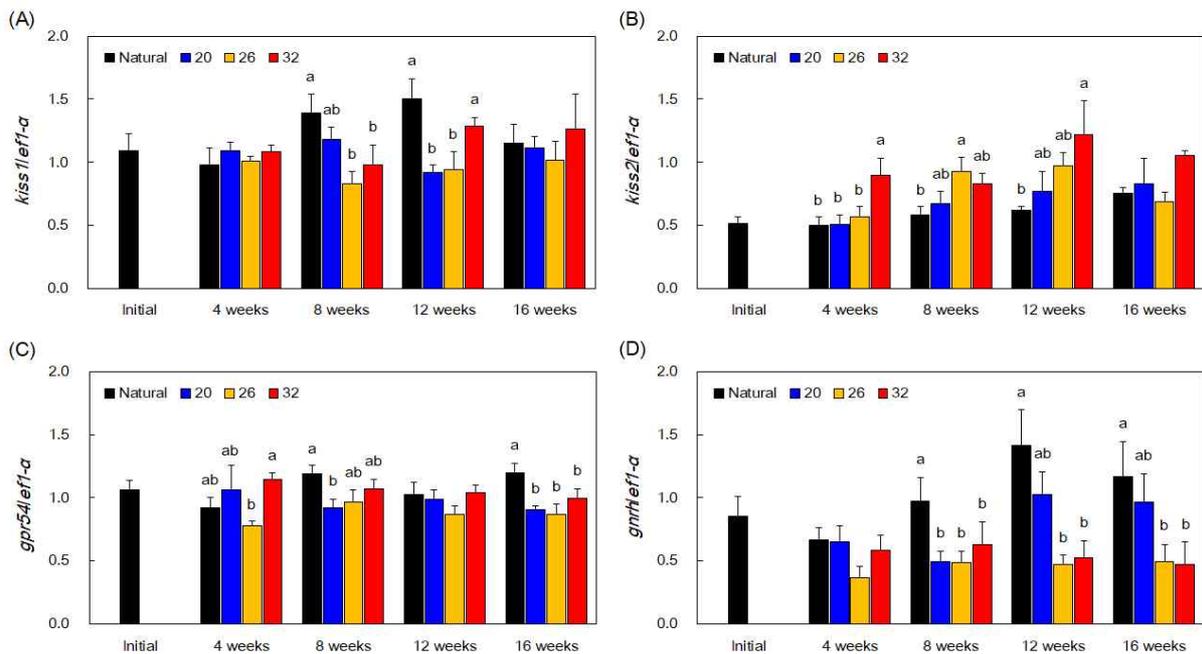


그림 92. 수온조건에 따른 붉바리 뇌에서 번식관련인자들의 발현변화
A: Kiss1 mRNA B: Kiss2 mRNA C: GPR54 mRNA, D: GnRH mRNA

- 붉바리 적응생리특성 탐색을 위한 수온별 사육실험 결과, 붉바리 종자 사육에서 수온은 26℃와 32℃에서 빠른 성장을 유도할 수 있었음. 붉바리 종자를 사육하는 동안의 사료계수 및 사료효율은 26℃그룹에서 좋았으며, 간의 조직학적 검경결과 32℃그룹에서만 지방축적이 관찰되었음. 성장관련인자들의 유전자 발현은 성장억제인자인 PSSs mRNA가 낮은 수온인 자연그룹에서 발현이 증가하였으며, 높은 수온에서의 PSSs mRNA 발현 감소하였음. 이러한 결과들을 통하여 붉바리 치어의 사육에 있어서 26℃ 전후의 수온조건이 스트레스 없이 빠른 성장을 유도할 수 있는 적정수온이라고 판단됨.
- 붉바리 종자의 수온에 따른 번식관련인자들의 변화를 조사한 결과, Kiss1 mRNA보다는

Kiss2 mRNA가 더욱 수온에 민감하게 반응하며, 번식에 영향을 미치는 것으로 생각됨. Kiss2 mRNA발현은 고수온 조건에서 활성화되었지만 수용체인 GPR54 mRNA는 자연그룹에서만 유의적으로 높았고, 다른 그룹간 차이는 없었음. 하지만 GnRH mRNA는 Kiss2 mRNA와 반대로 저수온 조건에서 활성화되어 서로 반대의 발현경향을 보였음. 이러한 결과는 실험에 사용한 붉바리 종자가 Kiss2 mRNA 발현 차이에도 수용체인 GPR54 mRNA의 발현이 충분히 활성화되지 않았기 때문에 성 성숙에 가입하지 못한 것으로 사료됨. 그리고 32℃그룹의 생식소에서 퇴행성의 난모세포가 관찰되어 고수온조건은 성성숙을 저해하는 요인으로서 작용할 것으로 사료됨.

- 붉바리에서 분리 동정한 수온관련인자들은 각각 뇌와 피부에서 주로 저수온 조건에서 발현이 활성화되어, 저수온대의 범위를 인식하는 것으로 생각됨. 각각의 인자들이 인지하는 정확한 수온범위에 대한 연구가 지속되어야 할 것이며, 수온관련인자들과 성장 또는 번식 관련인자들과의 상관관계에 대한 연구가 요구됨.

(2) 붉바리 체색관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달

(가) 붉바리 종자의 성장에 따른 색소포 분화 및 발달

○ 붉바리의 색소포 분화 관련 유전자와 색소포 표현형 관련 유전자의 분석을 위하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에 등록되어 있는 바리과 어류를 포함한 경골어류의 유전자 정보를 수집하여 degenerated primer를 제작하였음. 증폭된 유전자는 이후 (주)제노텍에 염기서열분석을 의뢰하여 붉바리 색소포 관련 유전자들(sox10, pax7, sox5, xdh, slc2a15b, dct, pnp4a)의 염기서열을 이용하여 partial sequencing을 진행하여 붉바리 상보적인 유전정보를 확인하였음.

표 61. 광수용체와 체색관련 유전자의 real time-qPCR에 사용된 primer 정보

Primers	Sequence
sox10 F	5'-CTCTCCAAACAACAGCAGCA-3'
sox10 R	5'-CCATAATGAGGGAGGCTGAG-3'
pax7 F	5'-AACTCCTGACGTGGAGAAGC-3'
pax7 R	5'-AGCCTCACCTGAAGGAACTG-3'
sox5 F	5'-ACGAGGAGCAGAAGAAGCTG-3'
sox5 R	5'-CTGGACCTGCTGGATTTGTT-3'
xdh F	5'-TCATCAGACCCAGGTCTTCC-3'
xdh R	5'-GAACCACACGACTCCCATCT-3'
slc2a15b F	5'-GGTGTTTCCTACCACCATCC-3'
slc2a15b R	5'-TTCCTCCTGCATCTCATCAA-3'
dct F	5'-CCATGAATGACGTCAGAAGC-3'
dct R	5'-GTTGTTGACCGATTCATCCA-3'
pnp4a F	5'-AGGGTCGCTTCCACATGTAT-3'
pnp4a R	5'-GGGAAGTTGACGTGGTCTTT-3'
β -actin F	5'-GAGGGGTATCCTGACCCTGA-3'
β -actin R	5'-CTCCTCAGGGGCAACTCTC-3'

- 불바리에서 분리 동정한 색소포 분화 관련 유전자의 부분염기서열 분석 결과 각각의 염기서열과 아미노산 서열은 sox10 - 369 bp와 123개, pax7 - 1218 bp와 406개, sox5 - 594 bp와 198개가 확인되었음(그림 93, 94, 95).

```

acgagttcgaccagfaccttccgccaacggccacccgcagagtggaaaccggggccccta 60
T S S T S T F R Q T A T R R V E P G P L
cagctggatcctcagcttcacatcttacgcctatgccctggctgctgccagcggccactcag 120
Q L D P Q L H L T P M P W L L P A A T Q
cgtggctctccaacaacagcagcagcctcaggcctctccgtcttcctccgaccctcca 180
R G S P N N S S S L R P L R L P P T P P
aggcccagatcaagagcgagtcgaggctgggagccactacgcccaggcctcgtcctctc 240
R P R S R A S P R L G A T T P R P R P L
cctcctcaggcaccatgtcacctacaccccgtcagcctccctcattatggctctgctt 300
P P Q A P M S P T P R S A S L I M A L L
tcccctcgctggcctccagggctcagttgagtatggagagcaccagggccccggggcat 360
S P R W P P G L S L S M E S T R P P G H
actatgccc
T M P

```

그림 93. 불바리 sox10 partial sequence

```

aatcacatccgacacaagatagtgagatggcccaccacggcatccgaccctgcgtaatc 60
N H I R H K I V E M A H H G I R P C V I
tcgacaaactcgcgagctctcacggtgtgtctccaagatcctctgccgataccaggag 120
S R Q L R V S H G C V S K I L C R Y Q E
accggctcgatccgtccgggagccataggaggcagcaagcccaggcaggtggcaactcct 180
T G S I R P G A I G G S K P R Q V A T P
gacgtggagaagcggatcgaggagtacaagagagagaacccccggcatgttcagctgggag 240
D V E K R I E E Y K R E N P G M F S W E
atccgggataagctgctgaaggacgggtgtgcgacagaagcacagttccttcagggtgag 300
I R D K L L K D G V C D R S T V P S G E
gcttcacgtgtgagctccatcagccgcttttgaggcccgatttgcaaaaagatgac 360
A S S V S S I S R V L R A R F G K K D D
gaggatgactgtgataagaaggatgaagatggagaaaagaaaacaaagcatagcatcgat 420
E D D C D K K D E D G E K K T K H S I D
ggcatcctcggtgataaatgtaacccacagacgaggggtcggatgtagactttgagcct 480
G I L G D K C N R T D E G S D V D F E P
gacttggccctgaagaggaagcagagacgcagtcgaccaccttcaatgcagagcagctg 540
D L P L K R K Q R R S R T T F T A E Q L
gaggagctggagaaggcttttgaaggacacattaccagacatctacaccagagaggag 600
E E L E K A F E R T H Y P D I Y T R E E
ctggctcagaggacaaaactcacagaggccagagtacaggtgtggtttagcaacaggcga 660
L A Q R T K L T E A R V Q V W F S N R R
gctcgggtggcgtaaacaggccggcgccaatcagctagccccttcaaccacctgcttcct 720
A R W R K Q A G A N Q L A A F N H L L P
ggaggcttcccggccacagggatgccaactttaccacgtaccagctaccagagtccagc 780
G G F P P T G M P T L P T Y Q L P E S S
taccacagcaccacgctatcgaggacggcagcagcacattgcacagaccccagcccctg 840
Y P S T T L S Q D G S S T L H R P Q P L
cctccatcctccatgcaccagggaggcctgactgctgacagcagctctgcttacggcctc 900
P P S S M H Q G G L T A D S S S A Y G L
tcgtccaatgccacggcttctccagctactccgatacttcatgagcccctcagcatcc 960
S S N R H G F S S Y S D T F M S P S A S
agcaaccacatgaacgccgtcggcaacgggctgtcccacaggtgatgagtatcctgagt 1020
S N H M N A V G N G L S P Q V M S I L S
aaccacagcgcctaccctcccagcccagcagcacttttcatttccccctgcacagc 1080
N P S A V P S Q P Q H D F S I S P L H S
agcctggagagctccaacccatctcagccagctgcagccagcgtctgacaccatcaag 1140
S L E S S N P I S A S C S Q R S D T I K
agtgtggacagcctggcttctcccagtcatactgccccccaccctacagcggccaccagc 1200
S V D S L A S S Q S Y C P P T Y S A T S
tacagcgtggaccctgctc
Y S V D P V

```

그림 94. 붉바리 pax7 partial sequence

```

aggtaccgcagacagcctggcagagaaagagcgccagctcatgggcatgattggccagtt 60
R Y R R Q P G R E R A P A H G H D W P V
gagcagcctgaggagcagctcctggcgcccacgaggagcagaagaagctggctgcctc 120
E Q P E G A A P G G P R G A E E A G C L
gcagatggagaagcagagggcagcagatggagctggccaacagcagcaggaccagattgcc 180
A D G E A E A A D G A G Q Q Q Q D Q I A
cggcaacagcagcagctcctgcagcagcaacacaaaatcaacctcctgcagcaacaaatc 240
R Q Q Q Q L L Q Q Q H K I N L L Q Q Q I
cagcaggtccagggccaaactccctccgctgatgattccgtctttcctccagaccagagga 300
Q Q V Q G Q L P P L M I P S F L Q T R G
ctctggcgggcggtgcagcccagcaaggcttcctcatgccccctggcttcaactacaagc 360
L W R R L Q P S K A S S C P L A S T T S
ctggctgcagtgacccctaccctctccagctcatccctacaacaatggctgctgccgccg 420
L A A V T P T L S S S S L Q Q W L L P P
ctgccacaccaggcctgggaccctacaactccagcagttgtacgcagctcagctggcgg 480
L P H Q A W D P Y N S S S C T Q L S W R
ccatgcaggtttccccagggccaagcagcagggaggcagctgccaccacaagccaacc 540
P C R F P Q G P S S T E A V C H H K P T
tgggcacacactccccaccaccaacacacactcacagagcgacaagggccgca
W A H T P H P P T H T H R A T R A A

```

그림 95. 붉바리 sox5 partial sequence

- 붉바리에서 분리 동정한 색소포 표현형 관련 유전자의 부분염기서열 분석 결과 각각의 염기서열과 아미노산 서열은 xdh - 1245bp와 415개, slc2a15b - 676bp와 225개, dct - 539bp와 179개, pnp4a - 558bp와 186개가 확인되었음(그림 96, 97, 98, 99, 100).

```

tttggatgcagcatgcactctcagtcacatggggcggtactgaaacaggccgtggagact 60
F G A A C T L S H M G A V L K Q A V E T
cttctctcatcagaccaggctcttctcgctgtcctggagcagctgcgctggtttgct 120
L P P H Q T Q V F L A V L E Q L R W F A
gggatgcagattcgtaacgtggcggtgtcggtggaacatcatgaccgacgccccata 180
G M Q I R N V A A V G G N I M T A S P I
tctgacctcaaccctgtgtttatggccgaggctgtaactcttctgagggacaaaagat 240
S D L N P V F M A A G C K L F L R D K D
gggagtcgtgtggttcggatggagcagcgtttcttctactggttacaggaagacaatcctg 300
G S R V V R M D D G F F T G Y R K T I L
cgaccacaggaagtctggtgtccatcgagatcccatacagcaaaaagactcagtttctc 360
R P Q E V L V S I E I P Y S K K T Q F V
tccgcttcaaacagttctctcgccgagaggatgacatcagcattgtcaccgctgcatg 420
S A F K Q S P R R E D D I S I V T A A M
agcgtaaccttcacaccgggactgacattgtcaaggacttgaggctgagttatggcggc 480
S V T F T P G T D I V K D L R L S Y G G
atggcggcggcgtcacgatgtggtacgcagacggcgaacagactgctgggaaggcgggtgg 540
M A P V T M L A T Q T A N R L L G R R W
ggggaggagcttctccaggaggcgtgctcctcattggccgaggagatgacctcgacccc 600
G E E L L Q E A C S S L A E E M T L D P
tctgcccgggcagtatggtgacgtaccggcgaacttgaccctcagcttcttctacaag 660
S A P G S M V T Y R R T L T L S F F Y K
ttctacctgactgtgctgcagaagcttctcaaccaggcggcgtggacgtggcggcggtcagc 720
F Y L T V L Q K L L N Q G V D V A A V S
tcagactgtgtcagtgccagcagatttatcgtccagagacagcatccagcgttcagatc 780
S D C V S A T Q I Y R P E T A S S V Q I
taccaggcagtgccggaggggagagccaggatgatgtggtggccatccatgatgcat 840
Y Q A V P E G Q S Q D D V V G H P M M H
ctgtcggccctgaagcaggcagcgggtgaggcatttactgtgatgacatgccgcagtac 900
L S A L K Q A T G E A I Y C D D M P Q Y
gagaacgatctttacctggcgtcgtcaccaccacaaagcacagcccacatcctctcc 960
E N D L Y L A L V T T T K A H A H I L S
gtaaatgcctcggcagctgagcaaatgcctggtgtactctgctgtgtgtttgccgctgac 1020
V N A S A A E Q M P G V L C C V F A A D
atccccggcagtaacgccactggaccggttgaatacagatgagaccgtcctcgctgacggc 1080
I P G S N A T G P V E Y D E T V L A D G
caggtgacatgtgtcggtcacattatcgggtcgtgtgtggccgacactcagatccatgct 1140
Q V T C V G H I I G A V V A D T Q I H A
cagagagccgccaaggctgtcaggatccagatgaagagctgcagccggtcgtcaccatc 1200
Q R A A K A V R I Q Y E E L Q P V V T I
caggaagccattgccaccagtccttctatcagccaatcagaacc
Q E A I A T Q S F Y Q P I R T

```

그림 96. 붉바리 xdh partial sequence

```

tgctattggtaggatgactgggctctgctggtagggcagactcgtaaccaaatatggaagg 60
  A I G G M T G A L L V G R L V T K Y G R
aaagggacgctggtagatccactgtgctgggtttataggaggcctctgatgggcttc 120
  K G T L V R S T V L V F I G G A L M G F
agcagagggtagcaggatgccagcgatgggtcattcttggacgcttcatcacaggagtacac 180
  S R G C R M P A M V I L G R F I T G V H
tcagggatctgtctcagtggtgcccattgtacctcggtagatcggccctaagaacctg 240
  S G I C L S V V P M Y L G E I A P K N L
cgaggctttctgggctcgtccccagcattcacatttcttgggcttcatcgcgag 300
  R G F L G L V P S I H I C L G V F I A Q
gtgctgggactccatgagctgctgggaaaggaagagcactggcctctgctcctgtccctg 360
  V L G L H E L L G K E E H W P L L L S L
gtgggttttctaccaccatccagctgatgctgttgccatggtttccagagagtccagg 420
  V V F P T T I Q L M L L P W F P E S P R
tacctgttgatagagaagggaaatgttcagccaccattgcagccctgaagtgtaccgt 480
  Y L L I E K G N V H A T I A A L K W Y R
cctaaaggaaacatccagggagggttgatgagatgcaggaggaacagcgttctctgtcc 540
  P K G N I Q A E V D E M Q E E Q R S L S
tccatccagaccatctctgtccggcctgctcatggaccactgtgtgctggcaggtc 600
  S I Q T I S V R G L L M D H C V R W Q V
atcaccattgtagtggtcaacatcggcatgcaactgtctggcatcgtgcaatctgggtc 660
  I T I V V V N I G M Q L S G I D A I W F
tacacaaatgacata
  Y T N D I

```

그림 97. 붉바리 slc2a15b partial sequence

```

ggaccagcattcatcacctggcacaggatcacctcctcagcttggagagagagttacag 60
G P A F I T W H R Y H L L S L E R E L Q
agactgaccggcaatgagaactttgcaatcccttactggaactttgccacgggtcaaagt 120
R L T G N E N F A I P Y W N F A T G Q S
gagtgtgacgtgtgtaccgactctctgctgggaggccgaaaccccgacaaccgctccctc 180
E C D V C T D S L L G G R N P D N P S L
gatnagcaaccagtccagattctccagatgggggtggtatgtaacagtttggacgagtac 241
X S N Q S R F S R W G V V C N S L D E Y
aatcgctggtgactctttgcaatggcactggtgagggtcccattcagagaggataatg 301
N R L V T L C N G T G E G P I Q R G I M
gacggaggtaacatgtctctgcctaccatgaatgacgtcagaagctgcctgggactcagg 361
D G G N M S L P T M N D V R S C L G L R
agacttcgacagcccctccgacttcaccaactcctcctttagtttcagaaatgctcttgaa 422
N F D S P P Y F T N S S F S F R N A L E
gggtacgaaaaaccagatggagaactggatgaatcggtcaacaaccttcacaacctgtgc 480
G Y E K P D G E L D E S V N N L H N L V
cactctctgctcaatggaaccagctctctgtcccactctgctccaacgaccccatc
H S L L N G T S S L S H S A A N D P I

```

그림 98. 붉바리 dct partial sequence

```

atctcggggtctgggctgggcatgctcgctgacaccctcaagtgtcaggactccttcgct 60
I C G S G L G M L A D T L K C Q D S F A
tattcagacataccgggcttcccacagagcacagtgcagggtcatgcaggctcggctggtg 120
Y S D I P G F P Q S T V Q G H A G R L V
ttcggggagctgaaggggaagacttgtgtgtgcatgcagggtcgcttccacatgtatgaa 180
F G E L K G K T C V C M Q G R F H M Y E
ggacactcactctgcaagacgacgtttccagtgcgagcttcaagctgttgggggtggag 240
G H S L C K T T F P V R V F K L L G V E
actctgatcgtgacgaacgctgccggctcattggccgacggctcaccagcctggtgatc 300
T L I V T N A A G S L A D G L Q P G D I
atgatcatcaaagaccagctcaacttccccggattggtcggctgaacccgctgagcgga 360
M I I K D H V N F P G L V G L N P L S G
cccaacgacgacaagttcgggcctcgtttccggccatgtcaggttgctatgacaaaggc 420
P N D D K F G P R F P A M S G C Y D K G
ctgcttgcttagcaatggagatcgctaagcagctgggcgtggccggcctcatgcaggag 480
L R C L A M E I A K Q L G V A G L M Q E
ggcgtgtacgccatggtggggggccaaactttgaaactatcgctgaggccagactgttg 540
G V Y A M V G G P N F E T I A E A R L L
catcgactcggggtggac
H R L G V D

```

그림 99. 붉바리 pnp4a partial sequence

- 붉바리 종자의 성장에 따른 색소포 분화 유전자의 발현 양상과 체색 발달과정을 조사하기 위해, 부화 1일부터 80일까지 5일에서 10일 간격으로 3마리씩 sampling하여 조사하였음. 색소포 분화 관련 유전자 (sox10, pax7, sox5)와 색소포 표현형 관련 유전자 (xdh, slc2a15b, dct, pnp4a)의 발현변화를 확인하기 위하여, sampling한 붉바리 종자를 RiboEx™ (GeneAll)를 이용하여 total RNA를 추출한 후 PrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit cDNA (Takara)를 이용하여 cDNA를 합성하여 Real time-qPCR 분석에 사용하였고, 성장에 따른 붉바리의 체색 발달과정을 조사하기 위하여 실제현미경으로 검경하였음.
- 색소포 분화 유전자 발현을 확인한 결과, sox 10 유전자는 부화 5DAH (Day after hatching)까지, pax 7 유전자는 3DAH까지 높게 발현하였고(그림 100A와 100B), Sox5 유전자는 1DAH부터 5DAH까지 높게 발현하다가 점차 감소하는 경향을 보였음(그림 100C).

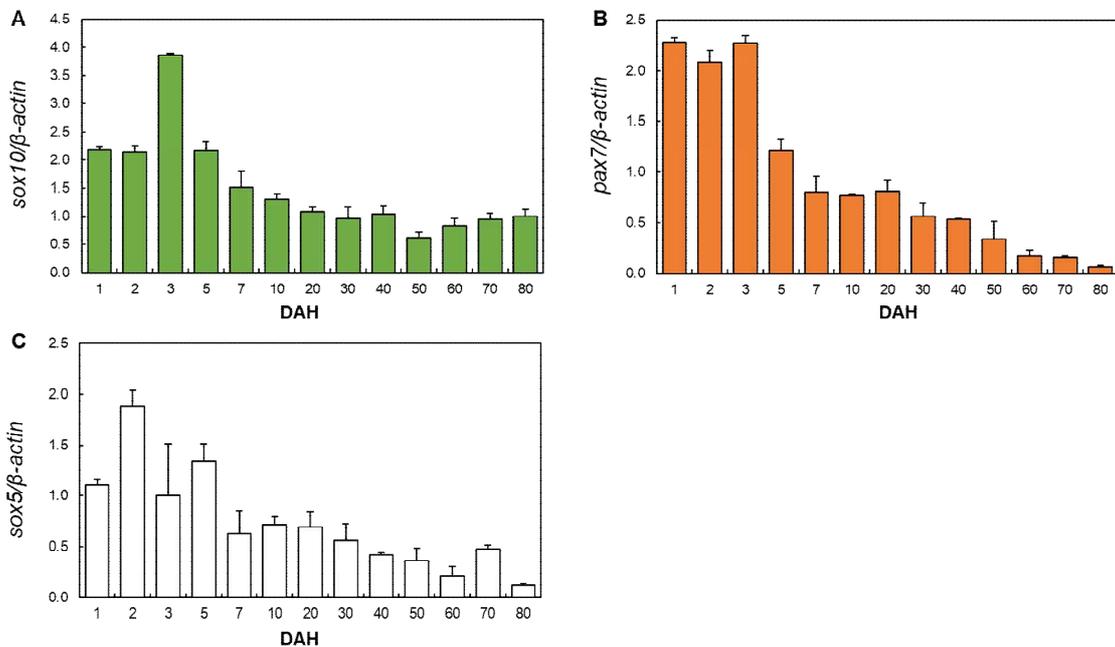


그림 100. 성장에 따른 붉바리 종자의 색소포 분화 유전자들의 발현변화

A: sox10 mRNA, B: pax7 mRNA, C: sox5 mRNA, DAH: Day after hatching

- 색소포 관련 유전자 발현을 확인한 결과, xdh 유전자는 5DAH 높게 발현한 후 낮은 발현을 유지하다 80DAH에 다시 발현이 높아지는 경향을 확인하였음(그림 101A). Slc2a15b 유전자는 1DAH부터 5DAH까지 높게 발현하다가 점차 감소하는 경향을 보였으며(그림 101B), pnp4a와 dct 유전자는 3DAH과 5DAH 높은 발현을 확인하였음(그림 101C와 101D).

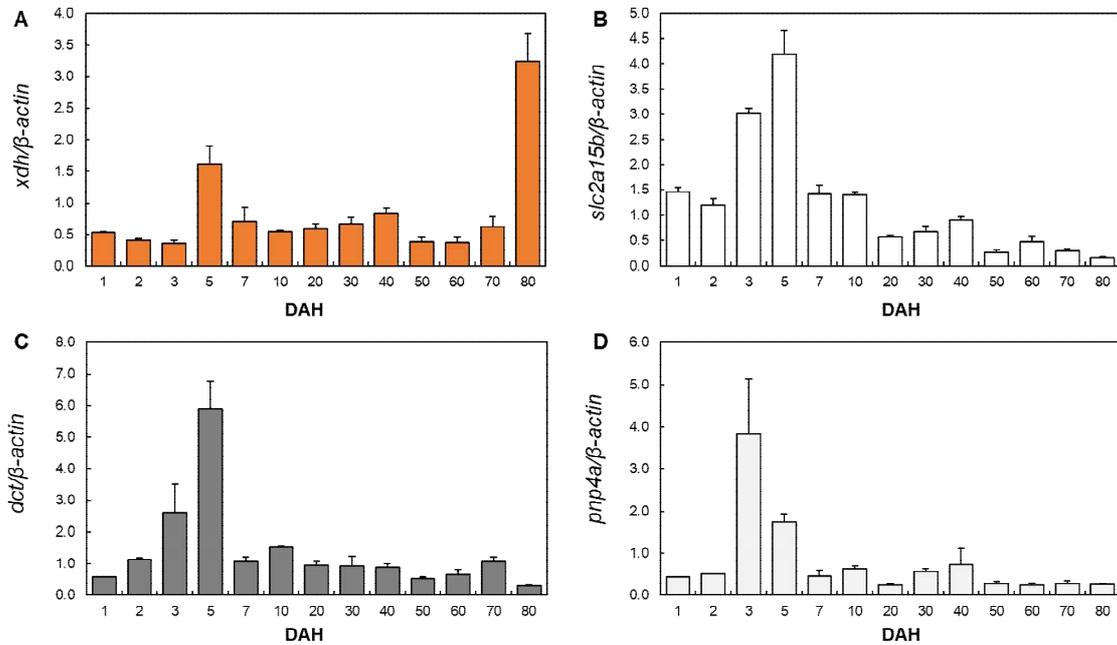


그림 101. 성장에 따른 뽕바리 종자의 색소포 관련 유전자들의 발현변화.

A: *xdh* mRNA, B: *slc2a15b* mRNA, C: *dct* mRNA, D: *pnp4a* mRNA,

DAH: Day after hatching

- 실체현미경을 이용한 성장에 따른 뽕바리 종자의 체색발달을 조사한 결과, 뽕바리 종자 체색의 형태적인 발달은 초기 무색투명한 부화자어로 태어나 부화 2일부터 3일에 안구에 흑색소포와 홍색소포 발달이 시작되었음(그림 102A와 102B). 부화 5일, 안구가 홍색소포로 덮이고 복부에 흑색소포가 나타났으며, 부화 7일 복부는 흑색소포와 홍색소포로 덮여졌음. 황색소포는 부화 10일 안구와 복부에 발달하고 변태가 시작되어 극이 형성되며(그림 102C), 부화 15일 등지느러미와 배지느러미 극이 신장하였음(그림 102D). 적색소포는 부화 30일에 등 지느러미 극과 꼬리에서 처음으로 관찰되었고(그림 102E), 흑색소포, 황색소포 그리고 적색소포는 부화 40일까지 체측, 입, 두부 그리고 지느러미 말단에 분포하였음(그림 102F). 황색과 흑색소포는 부화 60일에 치어 형태를 갖추면서 체표 전체에 발달하였으며, 황색소포 반점은 80일에 체표에 출현하였음(그림 102G).

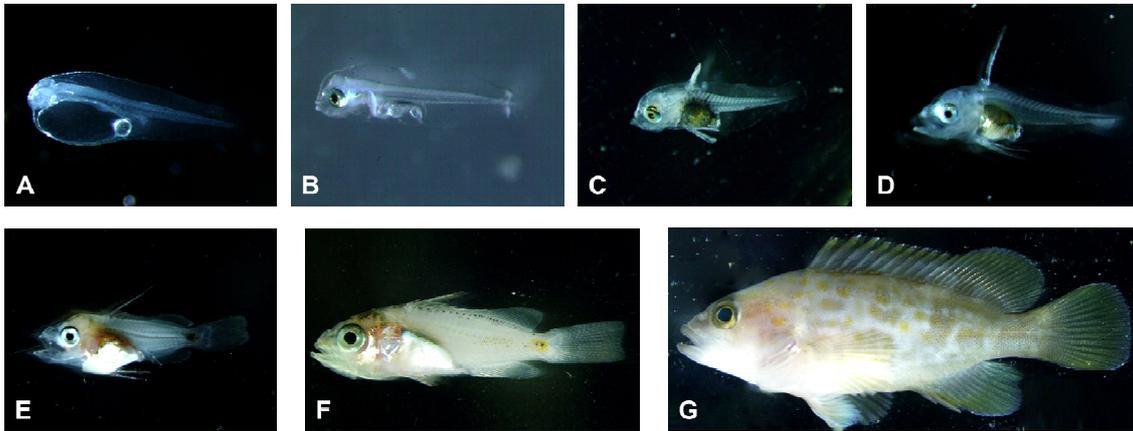


그림 102. 성장에 따른 붉바리 종자의 체색 변화.

A: 부화 1일, B: 부화 3일, C: 부화 10일, D: 부화 15일,

E: 부화 30일, F: 부화 40일, G: 부화 80일

- 붉바리 종자의 체색관련 유전자 발현은 부화 1일부터 5일까지 높게 발현하였고, 이후 색소포들이 발달하였음. 흑색세포와 홍색세포는 개구 전 부화 2일부 출현하였고, 황색세포는 개구 후 부화후 10일에 적색세포는 부화후 30일에 관찰되었음. 이러한 색소포들의 출현 시기는 각각 먹이 섭취 전, 클로렐라로 영양강화된 로티퍼 섭취하는 시기, 그리고 알테미아를 섭취하는 시기에 따라 차이를 보였음.
- 흑색세포와 홍색세포의 발달은 외부 먹이원 섭취 이전 난황물질을 이용하여 이루어지며, 황색세포와 적색세포는 로티퍼와 알테미아가 포함하고 있는 카로티노이드 계열의 색소를 획득함으로써 발색되는 것으로 생각됨.

(나) 붉바리 종자의 흑색소포 발달 변화

- 어류의 흑색소포내의 멜라닌소체를 응집시키는 호르몬인 melanin concentrating hormone (MCH)와 α -MSH의 신호를 차단시켜 갈색의 페오멜라닌 합성을 통해 피부색을 밝게 만드는 agouti signalling protein (ASIP), 뇌하수체에서 분비되는 proopiomelanocortin (POMC)와 POMC의 수용체인 melanocortin 1 receptor (MC1R)을 분리 동정하였음.
- 붉바리의 MCH, ASIP, POMC, MC1R의 분리 동정을 위하여 뇌와 뇌하수체를 적출하여 total RNA를 추출한 후 cDNA를 합성하였으며, National Center for Biotechnology Information (NCBI)에 등록되어 있는 다른 어종의 염기서열을 이용하여 degenerated primer(표 62)를 제작하여 PCR 기법을 통하여 각각의 유전자를 증폭시켰음. 이후 T-Blunt vector (SolGent, Korea)에 삽입하였으며 JM109 competent cell (Takara, Japan)를 이용한 transformation을 통하여 얻어진 plasmid DNA의 sequence를 (주)제노텍에 분석 의뢰하여 부분염기서열을 확인하였음.
- 붉바리의 뇌와 뇌하수체에서 MCH, ASIP, POMC, MC1R cDNA를 분리 동정하여 부분염기서열을 분석한 결과 MCH, ASIP, POMC, MC1R는 각각 총 303 bp, 311 bp, 411 bp, 720 bp의 길이로 구성된 부분염기서열을 확인하였으며, 유전자의 아미노산은 각각 101개, 103개, 137개, 239개의 아미노산이 확인되었음(그림 103, 104, 105, 106).

표 62. 체색관련 유전자의 분리 동정에 사용된 degenerate primer 정보

Degenerate primers	Sequence
MCH F	5'-RTTACCCATGGSCAAGRCYG-3'
MCH R	5'-CGTCCCACCATGCACCTC-3'
ASIP F	5'-GCTTGGCTGCCTTTTACTCG-3'
ASIP R	5'-AAAGGGCAGTTCTCTGTGGC-3'
POMC F	5'-AGTCAGTGCTGGGAACATCC-3'
POMC R	5'-TGCTTCATCTTGTACCCGCC-3'
MC1R F	5'-AAGAACCGCAACCTGCACTC-3'
MC1R R	5'-GGCTCCGGTACGCGTAGAT-3'

```

TTACCCATGGGCAAGACTGACGACGGCTCCTTGGAACAGGATACTTTGGCCTCGCTGCTG 60
M G K T D D G S L E Q D T L A S L L S D
AGTGATGAAACACCAGAAAACAGCCTTGGGGATGCAGATCTACCCACTGTGGGCAAAACC 120
E T P E N S L G D A D L P T V G K T R G
AGAGGGCCGAGGGTAATCGTCATCGCCGATCCGAGCCTGTGGAGGGACCTGCGGGTGCTG 180
P R V I V I A D P S L W R D L R V L H N
CACAATGGACTGTCCCTTCAAAACGGAGAGCTGACGACAACAGCATGGTCATCGAGCAC 240
G L S L H K R R A D D N S M V I E H R D
AGAGACGCCGCCAGGACCTGAGCATCCCATCCTGAGGAGGGACACAATGAGGTGCATG 300
A G Q D L S I P I L R R D T M R C M V G
GTG
R

```

그림 103. 붉바리 MCH partial sequence

```

atgatccctgatgagagactcgccaccaataaggtccttgtatccaatgctctgtctcaa
M I P D E R L A T N K V L V S N A L S Q
agcctcgacacaggcccacctcctgttgttatgttagagttgccgaaatcggcgaggaag
S L D T G P P P V V I V E L P K S A R K
aacaanaagacaagaacaaaaaagaacaaat taagtgtgaagaagcgtcctcctcct
N K K T K K Q K K N K L S V K K R P P P
cctgctaattgcattcccttgtgggaagctgtaaatcccaacaatgtgtgctgtgac
P A N C I P L W G S C K S P N N V C C D
ttttgtgctttctgccagtgtcggtccttcagaactgtctgtttctgtcgaatgggcaac
F C A F C Q C R L F R T V C F C R M G N
cctgatgc
P R C

```

그림 104. 붉바리 ASIP partial sequence

```

ATGATGGAATGCATCCAGCTCTGTCGCTCCGACCTCACCGCAGAGACACCTGTCATCCCA 60
M M E C I Q L C R S D L T A E T P V I P
GGCGACAACCACCTCCAACCTGTTCCCTCCATCAGATCTCGATTCTCTGCCTCCCCTCCCT 120
G D N H L Q P V P P S D L D S L P P L P
CTTTTATCTTCCCCTCCTCTCCTCAGGCCAAGCGCTCCTACTCCATGGAGCATTCCGC 180
L L S S P S S P Q A K R S Y S M E H F R
TGGGGGAAGCCTGTTGGACGAAAGCGCCCGCGGTCAAAGTCTACACCTCAAACGGCGTA 240
W G K P V G R K R R P V K V Y T S N G V
GAAGAAGAGTCAGCCGAGCTTTTCCCAGGAGATGAGGAGGCGGGAGCTCACCAGCAAG 300
E E E S A E L F P G E M R R R E L T S K
CTGCTTGCAGCAGAGGAAGAGGAGAAGGCGCAGGAGGTGGCAGAAGACGAGCAGGAGCAG 360
L L A A E E E E K A Q E V A E D E Q E Q
CTCCCGGTGACATCCAGAAAAGAAAGATGGCGGTACAAGATGAAGCAA
L P G D I H E K K D G G Y K M K Q

```

그림 105. 붉바리 POMC partial sequence

```

atcctgggtgggtgtggccatcttcaagaaccgcaacctgcactcgcccattgactacttc
I L V V L A I F K N R N L H S P M Y Y F
atctgctgctggcgggtgtccgacatgctggtcagcgtcagcaacgtggaggactatg
I C C L A V S D M L V S V S N V V E T M
ttcatgcttctcaacgaccacggcctgatggacatgcaccctggcatgctgcgccacctg
F M L L N D H G L M D M H P G M L R H L
gacaacgtcatcgacgtgatgatctgcagctccgtgggtgtcctcgctgtcctttctgtgc
D N V I D V M I C S S V V S S L S F L C
accatcgacgacggaccgctacatcaccatcttttacgcgctgcggttatcacagcatcatg
T I A A D R Y I T I F Y A L R Y H S I M
accacgcagcgcggcctcaacatcatcgtgggtgggtgtggctggccagcatcacctccagc
T T Q R A V N I I V V V W L A S I T S S
atcctgtttatgtgtaccacaccgacaacgctgtcatcgtgtgcctcgtgaccttcttc
I L F I V Y H T D N A V I V C L V T F F
tgaccacctgggtgtttaacgccgtgctgtacctgcacatgttcctcctggctcacctg
C T T L V F N A V L Y L H M F L L A H L
cactcgccggcattgtggctttccacaaaagcaggcgccaatccacgagcatgaagggc
H S R R I V A F H K S R R Q S T S M K G
gcatgacctcaccatcctgctcggggctcttcatgtatgctggggccccttcttcctc
A M T L T I L L G V F I V C W G P F F L
cacctcatcctcatcctcacctgccccaccagtcccttctgcaactgtttcttcagaaac
H L I L I L T C P T S P F C N C F F R N
tttaaccttttccctcatcctcatcatctgcaactcgctcatcgacccgctcatctac
F N L F L I L I I C N S L I D P L I Y

```

그림 106. 붉바리 MC1R partial sequence

- 붉바리에서 분리 동정한 흑색소포관련인자들 (MCH, ASIP, POMC, MC1R)의 조직별 발현을 조사하기 위해 붉바리의 신경조직 (후엽, 종뇌, 시개, 간뇌, 소뇌, 연수, 뇌하수체)과 주변조직 (혀, 눈, 아가미, 심장, 신장, 간, 비장, 위, 장, 생식소, 근육, 피부, 지느러미)을 적출한 후, total RNA를 추출하였고, cDNA로 합성하여 조직별 발현 분석에 사용하였으며, real time-qPCR 분석을 위하여 각각의 체색관련인자들의 부분염기서열정보를 이용하여 primer를 제작하였으며, housekeeping gene은 β -actin의 유전자 정보를 이용하여 primer를 제작하였음(표 63).
- 조직별 발현 분석결과 POMC mRNA는 오직 뇌하수체에서만 발현되었으며, MCH mRNA는 뇌의 간뇌에서 발현되었다 (그림 107). ASIP mRNA는 혀와 배쪽 피부에서 가장 높게 발현하였고, MC1R은 배지느러미에서 가장 발현이 높았으며, 모든 조직에서 발현이 확인되었다 (그림 108).

표 63. 흑색소포관련 유전자의 조직별 발현 real time-qPCR에 사용된 primer 정보

Primers	Sequence
POMC F	5'-GAACATCCGAGCTGTCAGGA-3'
POMC R	5'-CATGGAGTAGGAGCGCTTGG-3'
MCH F	5'-CTGTTGTCGTCAGCTCTCCG-3'
MCH R	5'-GGGATGCAGATCTACCCACTG-3'
ASIP F	5'-GTTGGCCATCTTCAAGAACCG-3'
ASIP R	5'-TCACGTCGATGACGTTGTCC-3'
MC1R F	5'-GGCCACCTCCTGTTGTTATT-3'
MC1R R	5'-GACAGTTCTGAAGAGCCGACA-3'
β -actin F	5'-GAGGGGTATCCTGACCCTGA-3'
β -actin R	5'-CTCCTCAGGGGCAACTCTC-3'

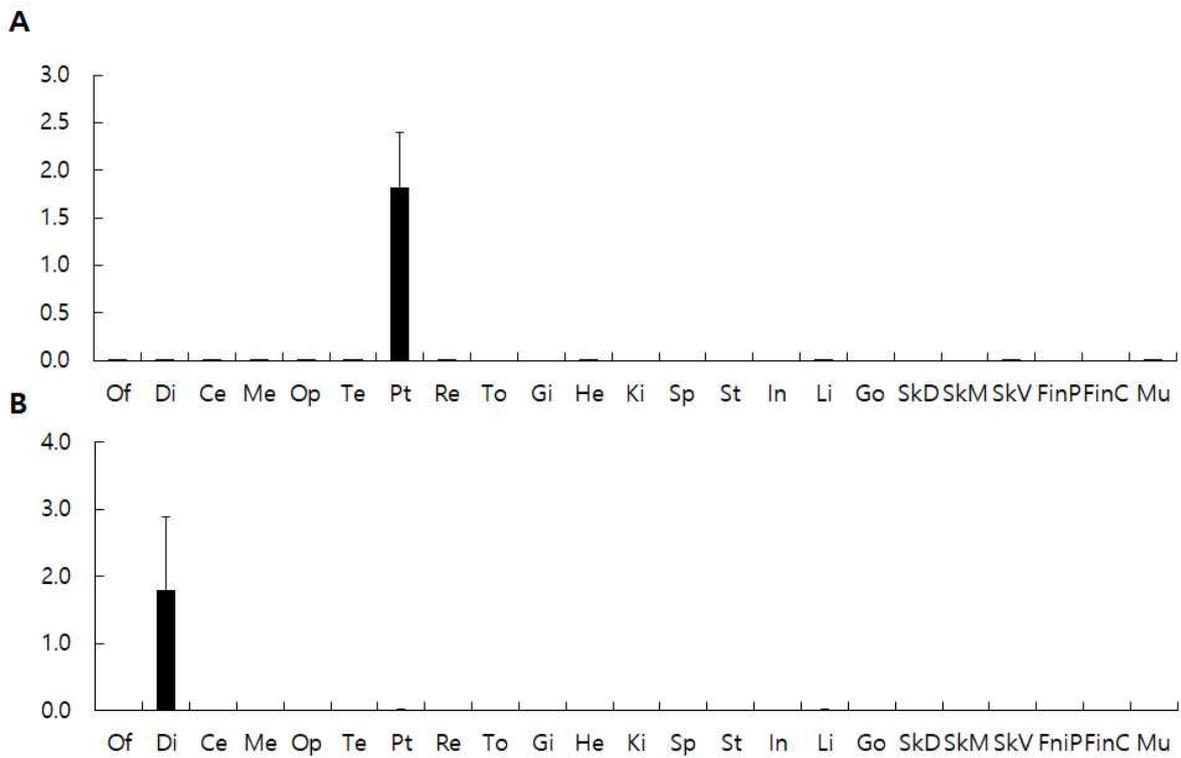


그림 107. 붉바리 POMC, MCH mRNA의 조직별 발현

A: POMC mRNA, B: MCH mRNA (Of: 후엽, Te: 종뇌, Op: 시개, Di: 간뇌, Ce: 소뇌, Me: 연수, Pt: 뇌하수체, To: 혀, Re: 눈, Gi: 아가미, Ki: 신장, Li: 간, Sp: 비장, St: 위, In: 장, Go: 생식소, Mu: 근육, SkD: 등쪽 피부, SkM: 측선쪽 피부, SkV: 배쪽 피부, FinP: 배지느러미, FinC: 꼬리지느러미)

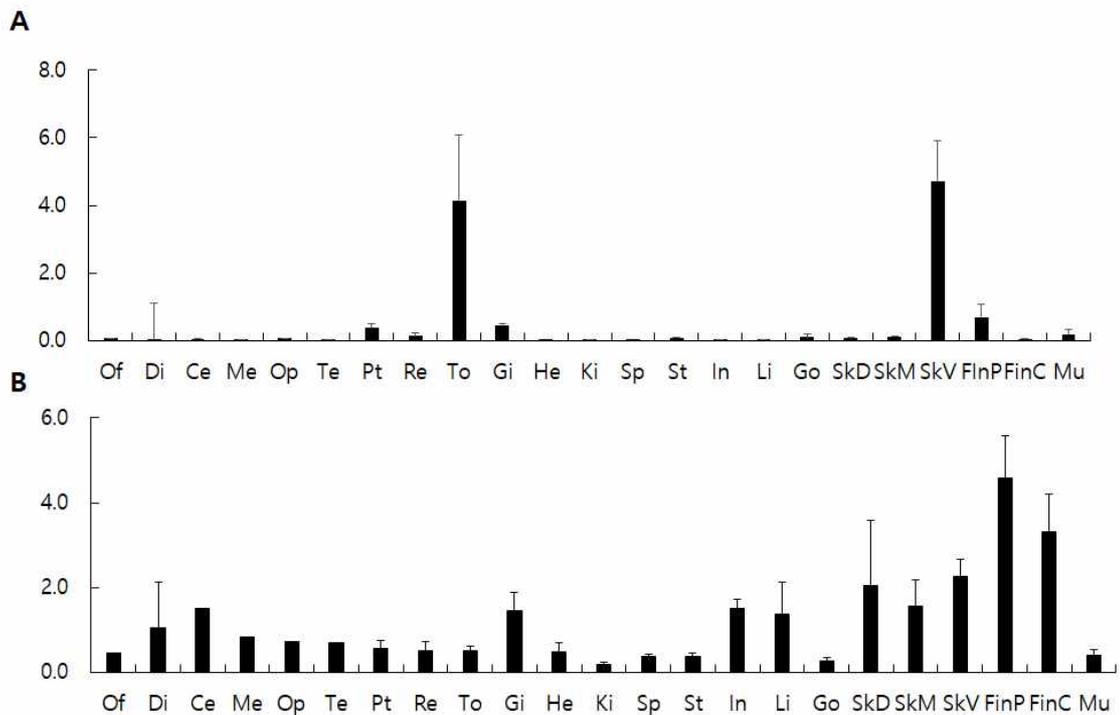


그림 108. 붉바리 ASIP, MC1R mRNA의 조직별 발현

A: ASIP mRNA, B: MC1R mRNA (Of: 후엽, Te: 종뇌, Op: 시개, Di: 간뇌, Ce: 소뇌, Me: 연수, Pt: 뇌하수체, To: 혀, Re: 눈, Gi: 아가미, Ki: 신장, Li: 간, Sp: 비장, St: 위, In: 장, Go: 생식소, Mu: 근육, SkD: 등쪽 피부, SkM: 측선쪽 피부, SkV: 배쪽 피부, FinP: 배지느러미, FinC: 꼬리지느러미)

- 붉바리 자어의 발달단계에 따른 흑색소포관련인자들의 발현변화를 조사하기 위하여, 각각 부화 후 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50일째의 자어를 sampling 하였으며, total RNA 추출 후 cDNA를 합성하여 real time-qPCR을 수행하였음.
- 본 실험결과, POMC mRNA의 발현은 부화 후 3일째부터 발현이 증가하기 시작하여 5일째 가장 높은 발현을 보인 후 감소하였으며, MC1R mRNA은 POMC mRNA와 유사한 발현변화를 보였음(그림 109). MCH mRNA의 발현 역시 부화 후 3일째부터 발현이 증가하여 5일째 가장 높은 발현을 보인 후 감소하였으며, ASIP mRNA은 부화 1일째부터 발현이 증가하기 시작하여 10일째 가장 높은 발현을 보인 후 감소하였음(그림 110).

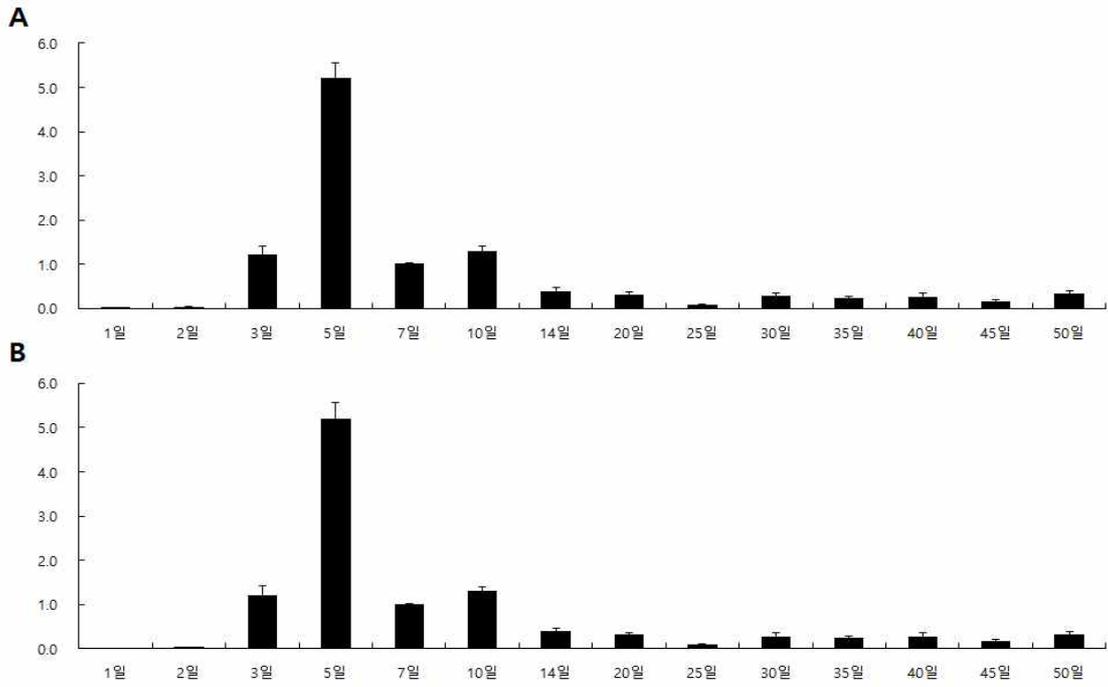


그림 109. 붉바리 자어의 발달단계에 따른 POMC, MC1R의 발현변화
A: POMC mRNA, B: MC1R mRNA

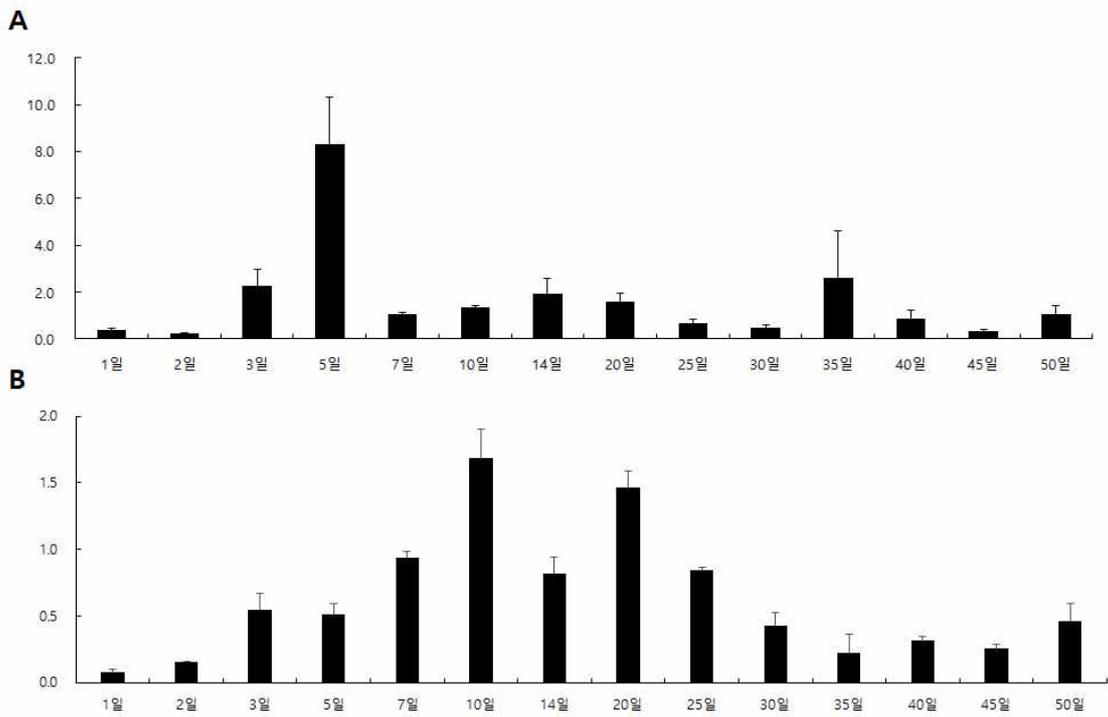


그림 110. 붉바리 자어의 발달단계에 따른 ASIP, MCH의 발현변화
A: ASIP mRNA, B: MCH mRNA

- 붕바리 종자의 흑색소포 발달 특성을 탐색하기 위하여 부화 직후부터 50일령의 개체들을 발달단계에 따른 흑색소포 발달과정을 조사하였음.
- 부화 직후 자어에서는 흑색소포가 관찰되지 않았으며(그림 111A), 부화 1일째 안구의 바깥 측으로 멜라닌 띠가 형성되었음(그림 111B). 2일째 안구 바깥 측의 띠에서부터 중심으로 멜라닌이 뒤덮이기 시작하였으며(그림 111C), 3일째 안구가 완전히 흑색소포로 덮였으며, 등쪽의 막지느러미와 복강에 흑색소포가 형성되기 시작하였음(그림 111D). 5일째 복강의 흑색소포들이 척추로 퍼지고(그림 111E), 10일째 척추의 흑색소포의 분포범위가 넓어졌으며(그림 111F), 14일째 복강에 흑색소포가 완전히 덮혀지고(그림 111G), 20일째 미병부에서 흑색소포가 처음으로 관찰되었고(그림 111H), 25일째 두부 앞쪽과 극의 가장자리에서 흑색소포가 관찰되었으며, 미병부에서 흑색소포가 발달하였음(그림 111I). 30일째 미병부의 흑색소포의 수가 증가하기 시작하였으며(그림 111J), 35일째 미병부 흑색소포가 발달하면서 적색소포와 황색소포가 처음으로 관찰되었음(그림 111K). 40일째 등지느러미와 등의 가장자리와 척추를 따라 흑색소포가 발달하였고(그림 111L), 45일째 흑색소포들이 등지느러미에서 전신으로 줄무늬의 형태로 퍼져나갔으며(그림 111M), 꼬리지느러미의 마디를 따라 흑색소포가 발달하였음(그림 111N). 50일째 전신으로 퍼져나간 흑색소포로 이루어진 줄무늬에서 흑색소포들이 번져나가면서 전신으로 발달하였음(그림 111O).

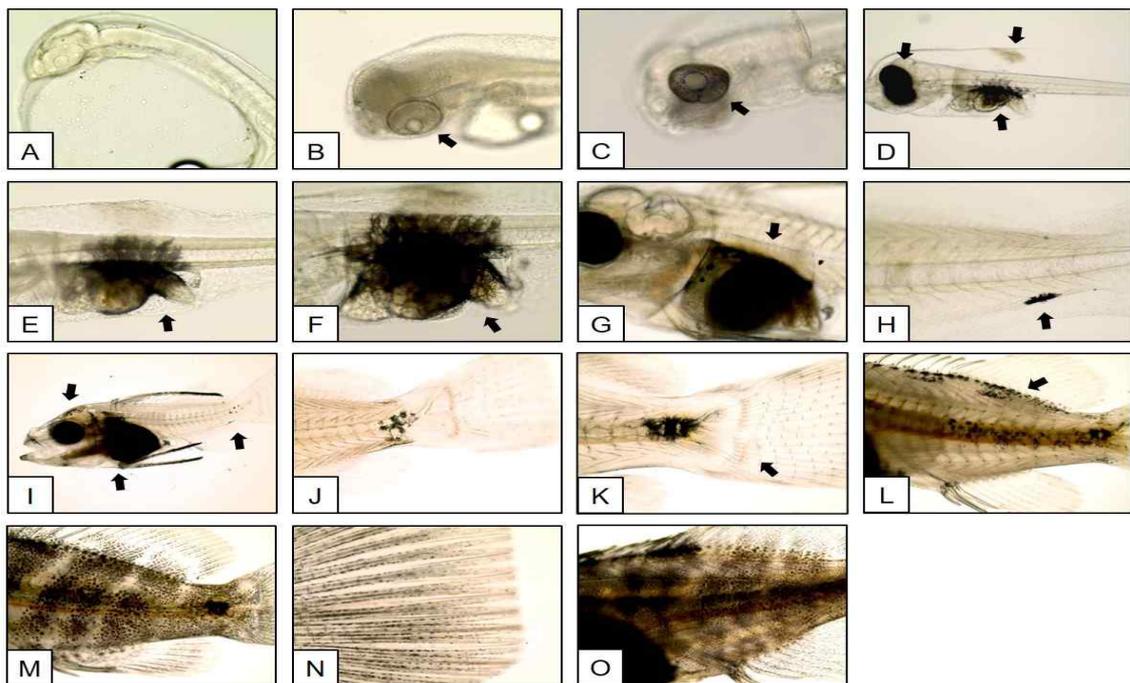


그림 111. 붕바리 자치어의 흑색소포 발달 과정

- 부화 후 60일째 체색이 형성되지 않은 붉바리 종자(n=200, 평균체중 0.5 ± 0.1 g, 평균체장 3.2 ± 0.9 cm)를 대상으로 광세기가 흑색소포관련인자 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해 각각 다른 광세기인 0 lux, 200 lux, 1000 lux, 2000 lux 조건에서 9주간 사육하였음.
- 광원은 (Light Emitting Diode)를 이용하였고, 각 수조의 광세기는 디지털 조도계 (DX-200, Taiwan)를 사용하여 수표면에서 측정하였으며, 디지털타이머를 이용하여 모든 수조에서 동일하게 12L:12D의 광주기를 유지하였고, 먹이는 배합사료 (EP)를 1일 2회 만복 급이하였음.
- 붉바리 종자는 실험 시작시부터 3주 간격으로 sampling되었고, 뇌와 뇌하수체, 피부를 적출하여 total RNA를 추출한 후 cDNA 합성하여 real time-qPCR 에 사용하였음. 뇌와 뇌하수체에서는 MCH, POMC mRNA의 발현을 조사하였고, 피부에서는 ASIP, MC1R mRNA의 발현을 조사하였음.
- 붉바리 종자의 피부를 사진 촬영하여 Get Average Color of Image 프로그램을 이용하여 RGB (red, green, blue) 코드값을 계산하여 피부색을 수치화하였음.
- 광세기에 따른 붉바리 종자의 체색관련인자들의 발현을 조사한 결과, 뇌와 뇌하수체에 있어서 MCH mRNA의 발현은 실험 6주째에 2000 lux에서 유의적으로 높았고, 0 lux에서 가장 낮았으며, 9주째는 그룹간 유의적인 차이는 없었음(그림 112A). POMC mRNA의 발현은 6주째 200 lux에서 유의적으로 가장 높았으며, 9주째에는 0 lux에서 유의적으로 가장 높았고 1000 lux에서 가장 낮았음(그림 112B).
- 피부에서 ASIP mRNA의 발현은 실험 시작시 이후 급격한 감소를 보였으며, 그룹간 유의차는 보이지 않았음(그림 113A). MC1R mRNA의 발현은 3주째 200 lux 에서 유의적으로 높았으며, 9주째에는 0 lux에서 유의적으로 가장 높았음(그림 113B).

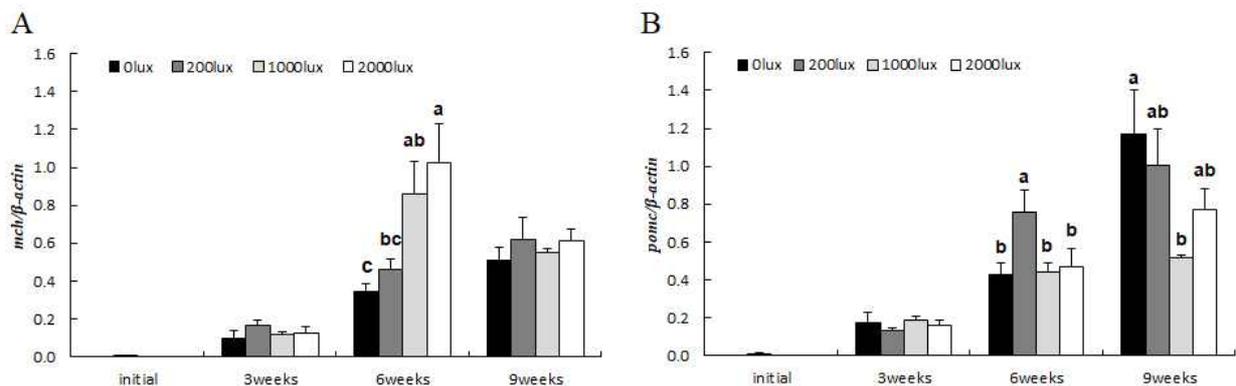


그림 112. 광세기에 따른 붉바리 뇌와 뇌하수체에서 체색관련인자들의 발현.

A: MCH mRNA B: POMC mRNA

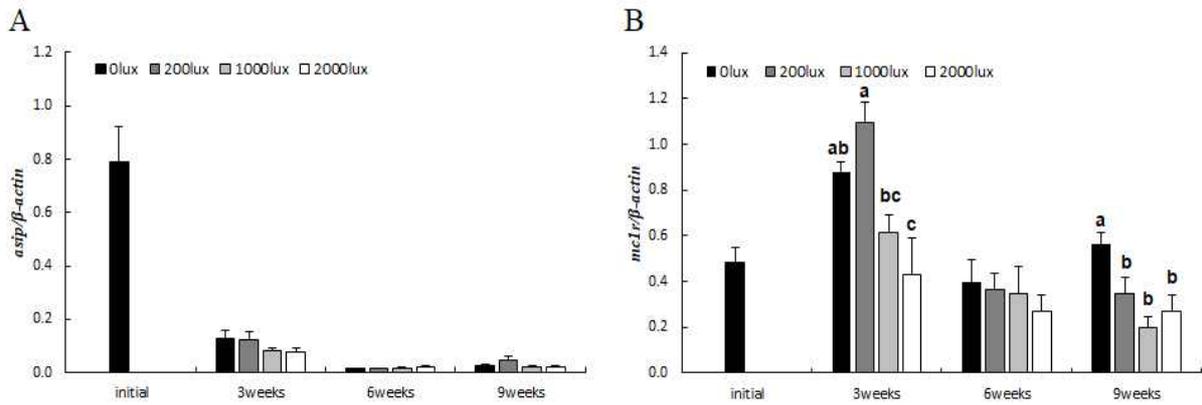


그림 113. 광세기에 따른 붉바리 뇌와 뇌하수체에서 채색관련인자들의 발현
A: ASIP mRNA B: MC1R mRNA

- 피부의 RGB 코드값의 계산 결과, 각각 0 lux에서 86, 71, 58 이었으며, 200 lux 88, 71, 59, 1000 lux 137, 116, 99, 2000 lux에서 105, 92, 81을 나타냈음(그림 114).

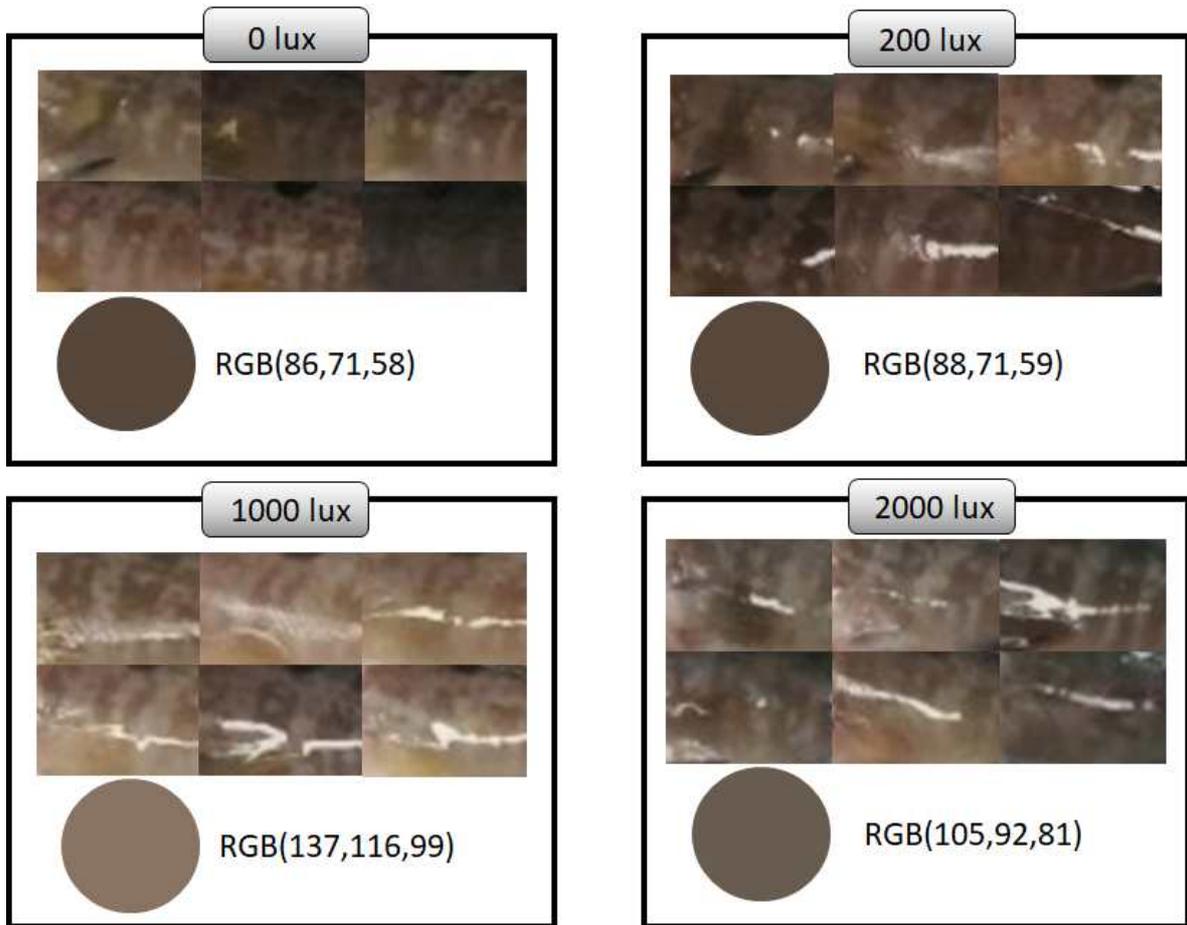


그림 114. 광세기에 따른 붉바리 피부의 RGB 코드값 계산

A: ASIP mRNA B: MC1R mRNA

- 부화 60일째 붉바리 종자를 대상으로 광세기를 이용한 체색변화 실험결과, 0 lux에서 MCH의 발현이 가장 낮고 MC1R과 POMC의 발현이 가장 높아 어두운 체색을 보였고, 1000 lux에서 MCH의 발현이 높고 MC1R과 POMC의 발현이 낮아 밝은 체색을 보였음. 200 lux에서의 MC1R과 POMC의 발현에서 유의적인 차이는 없었지만 MCH의 발현이 1000 lux보다 낮았는데, 이는 흑색소포 (melanophore)의 응집력이 약해져 어두운 체색을 보인 것으로 판단됨. 2000 lux에서 MC1R과 POMC의 발현은 유의적인 차이가 없었지만, MCH의 발현이 가장 높았으며, 이러한 결과는 흑색소포의 응집력을 강하게 하여 밝은 체색을 나타낸 것으로 생각됨. 본 실험 결과 붉바리 치어의 체색은 광량에 의해 영향을 받는 것으로 추정됨.

(다) 붉바리 종자의 성장 단계별 체색 특성

- 양식 붉바리의 성장에 따른 체색 발달을 조사하기 위해 크기에 따라 A그룹(전장 10.2 ± 1.4 , 체중 16.9 ± 3.5 g), B그룹(전장 14.9 ± 0.4 , 체중 53.5 ± 8.8 g), C그룹(전장 21.4 ± 1.4 , 체중 156.7 ± 10.1 g), D그룹(전장 28.9 ± 3.3 , 체중 382.9 ± 90.6 g)으로 나눈 뒤 각각의 수조에서 3마리씩 무작위로 선택하여 관찰하였음(그림 115). 모든 실험그룹은 유수식 시스템에서 사육되었으며, 먹이는 배합사료(EP)를 1일 2회 급이 하였음.
- 모든 실험어의 사진은 일정한 광조건 아래에서 촬영을 하였으며, 실험어의 체표에서 반점의 이미지를 6개씩 추출한 후 Get Average Color of Image (<https://matkl.github.io/average-color/>)에서 이미지의 평균 색상을 RGB 값으로 변환하였음(그림 116).



그림 115. 그룹별 실험어의 체색

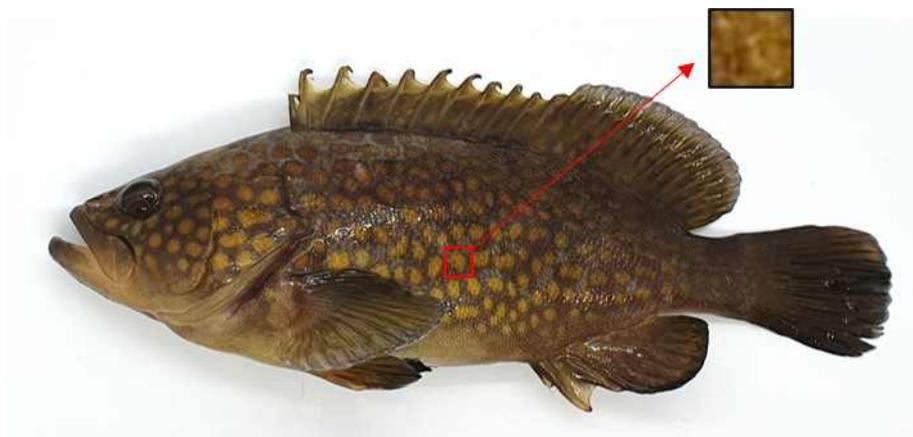


그림 116. 붉바리 반점 이미지의 추출

- RGB는 각각 Red, Green, Blue의 빛의 삼원색을 의미하며, 컴퓨터 그래픽에서 RGB 값에 의해 색을 정의함. 색의 밝기에 따라 각각 0~255까지 숫자를 사용하여 좌표(R,G,B)로서 색을 표현함. 예를 들어 (0,0,0)은 흑색, (255,255,255)는 백색, (255,0,0)은 적색, (0,255,0)은 녹색, (0,0,255)는 청색을 의미하며, 색을 만들기 위해서 적색, 녹색, 청색을 혼합하여 만드는 가색의 방식 사용하며, (255, 255, 0)는 황색, (255, 0, 255)는 자색을 의미함.
- 붉바리의 성장 단계에 따른 체색의 비율을 나타내기 위하여, 프로그램 image j를 이용하여 촬영된 이미지의 화이트 밸런스를 잡은 뒤 16비트의 흑백 이미지화하였고, 면적비를 수치화하기 전 실험어의 체색에서 빛이 반사되어 나타난 반사광 부분을 제외한 이미지에서 어두운 부분(darkness; black, dark brown)과 밝은 부분(brightness; white, orange, red brown)으로 나누었으며, 이후 어체 면적 대비 각 부분의 비율을 수치화하였음.
- 성장 단계별 붉바리의 체색의 RGB 값을 구한 결과 A그룹의 체색값은 각각 (126, 96, 82), (111, 87, 76), (110, 86, 77)이었으며 평균값은 (116, 89, 78)였고, B그룹의 체색값은 (99, 68, 40), (98, 67, 37), (118, 85, 45)이었으며, 평균값은 (105, 73, 41)이었음. C그룹의 체색값은 각각 (142, 103, 39), (122, 90, 41), (138, 99, 40)이었으며 평균값은 (105, 73, 41)였고, D 그룹의 체색값은 (147, 95, 46), (148, 107, 62), (172, 123, 63)이었으며, 평균값은 (156, 109, 58)이었음(그림 117).

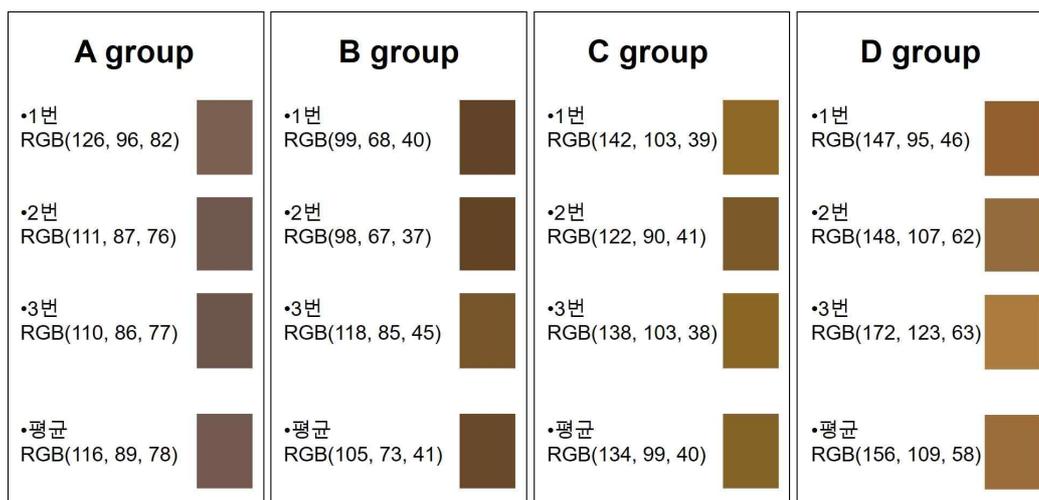


그림 117. 성장 단계별 붉바리 체색의 RGB 값.

A그룹(전장 10.2±1.4, 체중 16.9±3.5 g), B그룹(전장 14.9±0.4, 체중 53.5±8.8 g),

C그룹(전장 21.4±1.4, 체중 156.7±10.1 g), D그룹(전장 28.9±3.3, 체중 382.9±90.6 g)

- 성장 단계별 붉바리의 체색의 RGB 값을 구한 결과 A와 B 그룹보다 C와 D그룹의 R과 G 값이 증가하는 경향을 확인하였음. R값과 G값의 증가는 주황색을 의미하며 이때 R값이 G

값보다 높을수록 붉은빛을 띄는 주황색이고, G값이 R값보다 높을수록 노란빛을 띄는 주황색을 의미함. 이러한 결과는 성장하면서 체표의 반점이 발달하면서 반점의 색이 주황색으로 더욱 강해졌기 때문에 그룹별 체색의 RGB 값이 증가하는 경향을 보인 것으로 사료됨.

(라) 아스타잔틴 섭취에 따른 붉바리의 체색 특성

- 아스타잔틴은 새우, 게, 해조류 등에서 추출되는 카로티노이드계 색소의 일종으로 동물과 연어, 새우등의 육질이나 체색을 붉게 만들어주는 물질로 알려져 있음.
- 아스타잔틴 섭취에 따른 붉바리의 체색 변화를 비교하기 위해, 1년생 붉바리를 대조구, 10 ppm, 50 ppm의 아스타잔틴 농도 조건에서 2020년 4월 03일부터 2020년 5월 28일까지 총 8주간 그룹별로 30마리씩 순환여과 시스템에서 사육하였음. 먹이는 각각의 농도에 맞추어 아스타잔틴을 배합사료(EP)에 흡착시켜 건조한 후 냉동보관 하였으며 1일 2회 급이하였고, 실험종료 후 각각의 수조에서 무작위로 8마리씩 실험실로 이동시킨 뒤 사진촬영을 실시한 후, 평균 색상을 RGB 값으로 변환하였음.

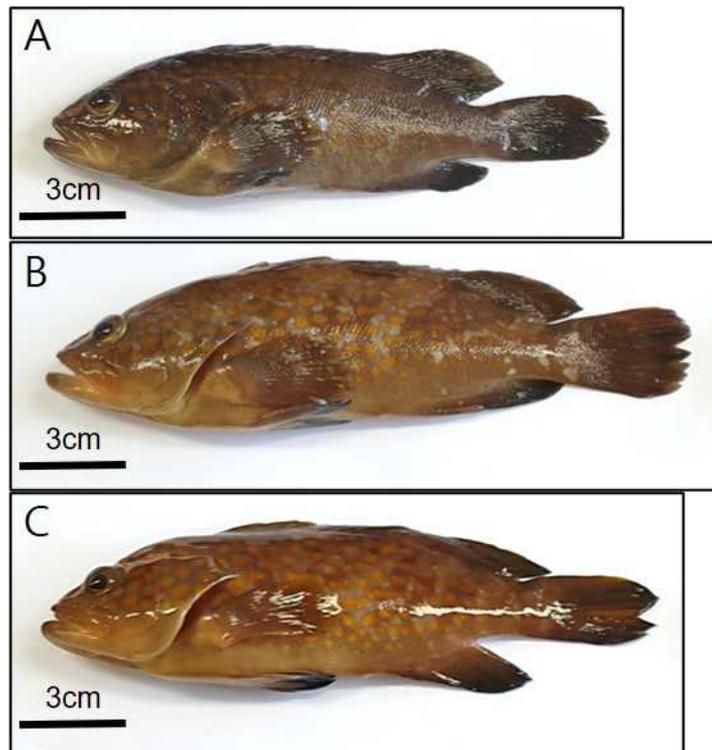


그림 118. 아스타잔틴 농도별 실험어의 체색
A: 대조구, B: 10 ppm, C: 50 ppm

- 실험 종료 후 아스타잔틴 처리구와 대조구의 체색을 비교한 결과 대조구에 비해 처리구의 붉바리 체색이 보다 더 붉은빛을 띄는 경향이 관찰되었음.

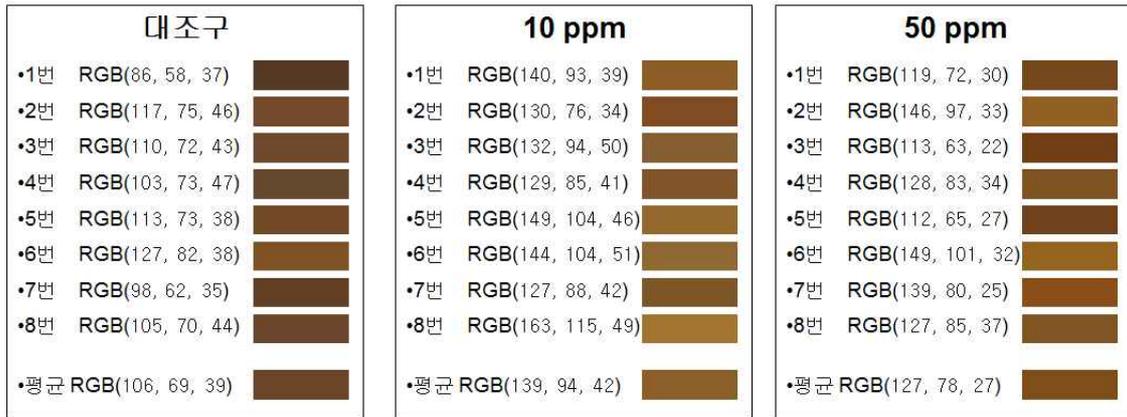


그림 119. 아스타잔틴 농도별 실험어의 RGB값

- 아스타잔틴 농도별 붉바리의 체색의 RGB 값을 구한 결과 대조구의 체색값은 각각 (86, 58, 37), (117, 75, 46), (110, 72, 43), (103, 73, 47), (113, 73, 38), (127, 82, 38), (98, 62, 35), (105, 70, 44) 으로 평균 RGB 값은 (106, 69, 39)이었음.
- 아스타잔틴 10 ppm 그룹의 체색값은 각각 (140, 93, 39), (130, 76, 34), (132, 94, 50), (129, 85, 41), (149, 104, 46), (144, 104, 51), (127, 88, 42), (163, 115, 49)으로 평균 RGB 값은 (139, 94, 42)이었음.
- 아스타잔틴 50 ppm 그룹의 체색값은 각각 (119, 72, 30), (146, 97, 33), (113, 63, 22), (128, 83, 34), (112, 65, 27), (149, 101, 32), (139, 80, 25), (127, 85, 37)으로 평균 RGB 값은 (127, 78, 27)이었음.
- RGB 값을 통한 체색값 확인 결과 아스타잔틴 10 ppm과 50 ppm 처리구가 대조구에 비해 모두 높은 RGB 값을 확인하였고, 추후 사료내 아스타잔틴 첨가 비율과 사료첨가제를 통한 체색능력향상에 대한 추가적인 연구가 필요함.

다. 종자의 상품성 검증

(1) 붉바리 기형별 유전자 발현 분석

○ 붉바리 우량종자 모니터링 과정에서 발견된 외부형태 기형으로는 턱과 두부 이형이 주로 관찰되었음. 정상 개체와 이들 기형 개체의 외부형태형성과 기형 관련 단백질 유전자 발현 차이를 비교 분석하였고, 기형 유형 판별은 바리의 치어에서 가장 많이 발견되는 기형 패턴은 턱이형과 두부이형으로 관찰되었음.

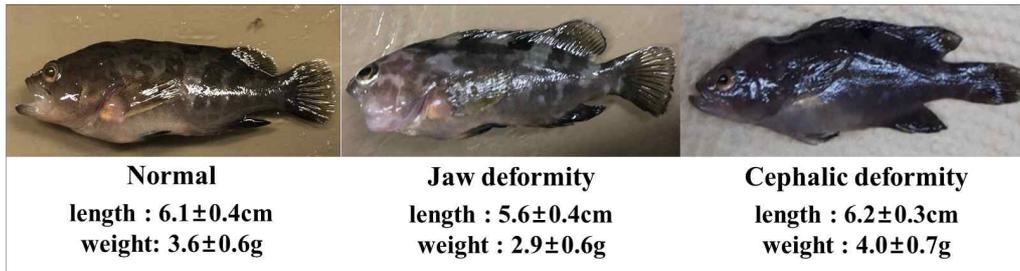


그림 120. 붉바리 종자의 기형 유형

- 붉바리의 기형 개체의 형태 형성 유전자 발현은 뇌, 간, 근육조직을 각각 적출하여 TRIzol 시약을 사용하여 total RNA를 추출하였고 Nano drop을 이용하여 RNA 농도를 정량한 후 cDNA를 합성하였음. 형태형성 및 기형과 관련된 단백질인 bone morphogenetic protein 4 (BMP4), insulin like growth factors 1 (IGF1), peroxisome proliferator-activated receptors γ (PPAR γ), matrix Gla protein (MGP)의 유전자 발현을 qRT-PCR로 조사하였음.
- 뇌조직에서 BMP4와 IGF1의 유전자 발현은 기형그룹에서보다 유의하게 높았고(그림 121A, B), 간 조직에서 BMP4의 유전자 발현은 턱기형 그룹에서 유의하게 높았으나(그림 122A) IGF1의 유전자 발현은 두부기형 그룹에서 유의하게 높았음(그림 122B). 따라서 형태 형성을 위한 주요 유전자가 정상 및 기형그룹 사이에서 상이하게 발현된다는 것을 확인하였음.

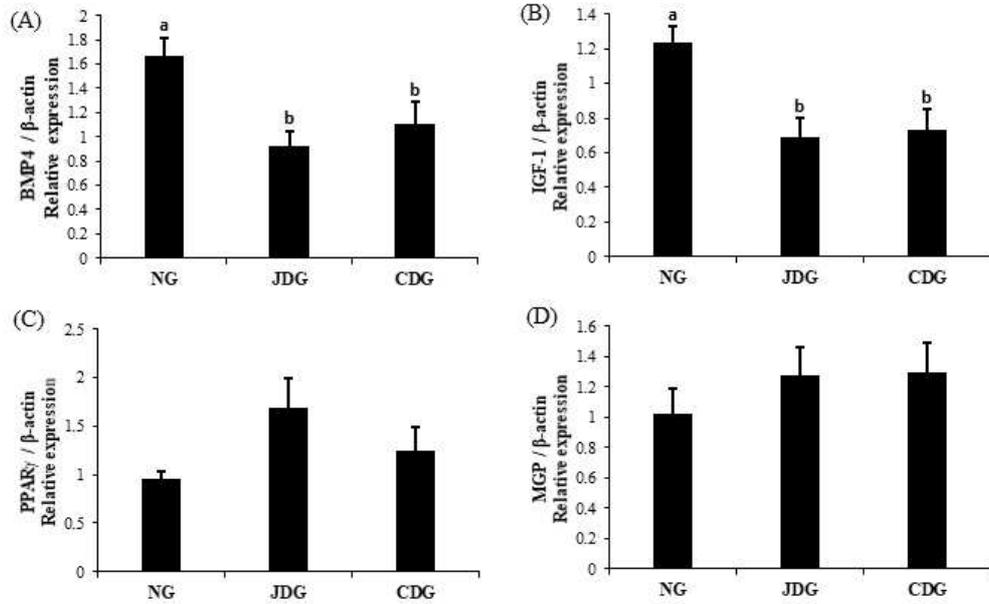


그림 121. 기형그룹별 붉바리 뇌 조직의 BMP4 (A), IGF1 (B), PPAR γ (C), MGP (D) 유전자 발현
 NG, normal group; JDG, jaw deformity group; CDG, cephalic deformity group.

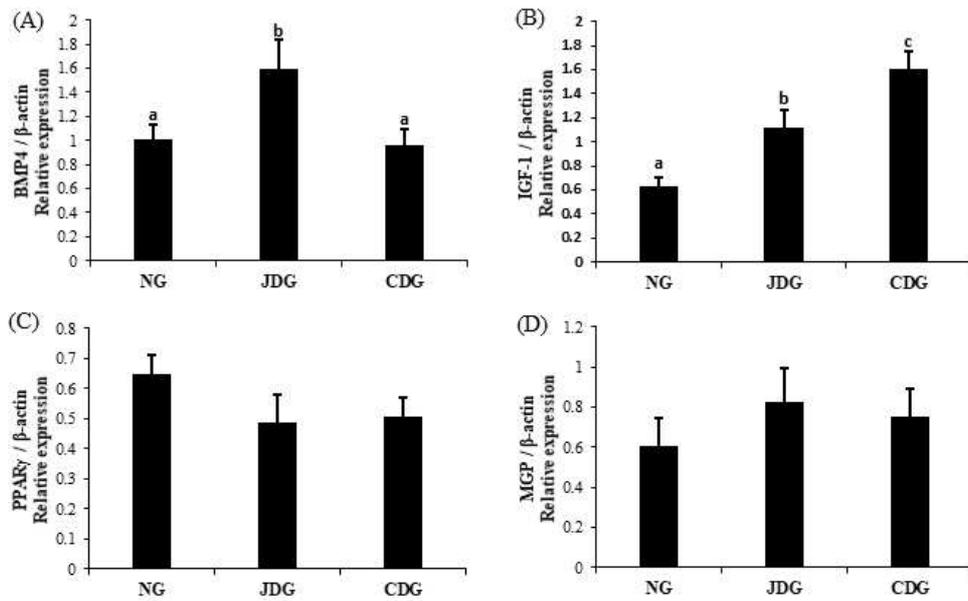


그림 122. 기형그룹별 붉바리 간 조직의 BMP4 (A), IGF1 (B), PPAR γ (C), MGP (D) 유전자 발현. NG, normal group; JDG, jaw deformity group; CDG, cephalic deformity group.

(2) 붉바리 종자의 기형 발생을 저감 기술 개발

○ 먹이생물 영양 강화 및 공급시기

- 기형 저감을 위한 먹이생물 영양강화와 공급방법은 표 64과 같이 처리 하였고, 부가적으로 첨가된 영양제제는 표 64와 같음.

표 64. 먹이생물 영양강화와 공급 방법

영양 제제	사용 원료	일일 공급량(대조군의 50% 공급)	
		부화조	영양강화조
SUPER V12 (영양강화용 클로렐라)	Chlorella (1cc=1.5×10 ¹⁰)	부화조	40cc 1일 2회
		영양강화조	25cc/1억개체 일일 4회 6시,12시,18시,23시
ESPRESSO (로티퍼 영양제)	어유 미네랄류 비타민(A, C, D ₃ , E) 유화제 미세조류	부화조	5cc 1일 2회
		영양강화조	25cc/ton 1일 1회
A1 SELCO (알테미어 영양제)	어유 미네랄류 비타민(A, C, D, E) 유화제	부화조	무공급
		영양강화조	25cc/ton 1일 1회
비타 포스	비타민 합제 미량광물질 합제	부화조	5cc 1일 1회
		영양강화조	10cc/ton 1일 1회
닥터 칼슘	비타민 D3 제일인산칼슘 염화마그네슘 인산	부화조	5cc 1일 1회
		영양강화조	10cc 1일 1회
Vit B ₁₂ 500	비타민 B12 등	부화조	무공급
		영양강화조	10cc 1일 1회
베타핀씨 아쿠아	비타민 C (L-아스코르빈산)	부화조	무공급
		영양강화조	10cc 1일 1회

표 65. 영양제제 사용원료

영양 제제	사용 원료
SUPER V12(영양강화용 클로렐라)	Chlorella(1cc=1.5×10 ¹⁰)
ESPRESSO(로티퍼 영양제)	어유, 미네랄류, 비타민(A, C, D ₃ , E), 유화제, 미세조류
A1 SELCO(알테미어 영양제)	어유, 미네랄류, 비타민(A, C, D, E), 유화제
비타 포스	비타민 합제, 미량광물질 합제
닥터 칼슘	비타민 D3, 제일인산칼슘, 염화마그네슘, 인산
Vit B ₁₂ 500	비타민 B12 등

- 기존 먹이생물 영양강화제제 처리 대비 기형을 변화는 표 66와 같음.
- 2020년 종자생산시 병발증(다발성 기형)과 배지느러미 기형은 관찰되지 않았고, 턱 기형과 아가미기형은 모두 0.02%, 두부 기형 19.0%로 대부분 두부 기형만 관찰되었음(그림 123).

표 66. 붉바리 종자의 기형을 변화

(단위:%)

기형 형태	2019	2020
병발증(다발성 기형)	3.7	-
턱 기형(주둥이기형)	8.81	0.02
새계단축(아가미 기형)	0.71	0.02
두부 기형	21.46	19.0
배지느러미 기형	0.12	-
전체 기형을	34.80	19.04

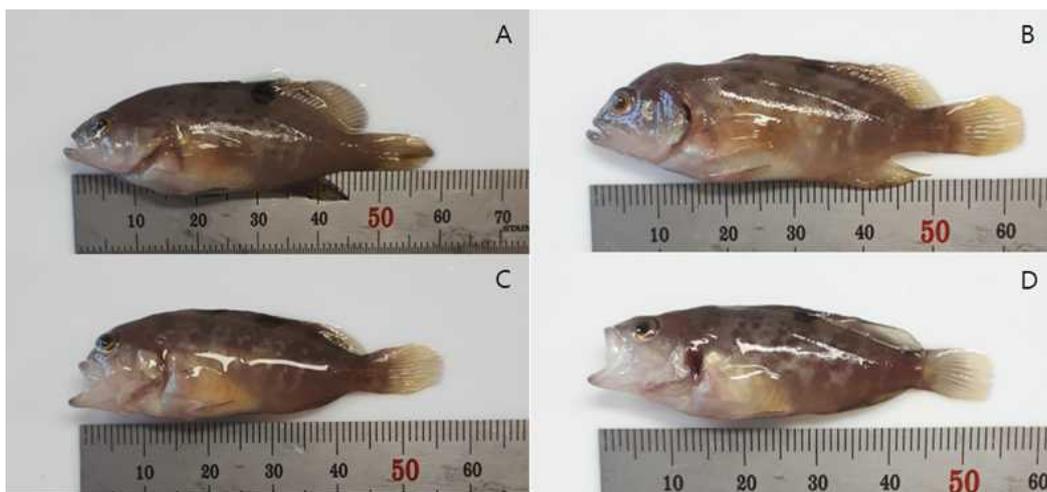


그림 123. 유형별 기형 사진

(A:정상 개체, B:두부 기형, C: 턱 기형, D:아가미 기형)

○ 기형 발생 저감을 위한 선별

- 부화 40일 전후로 공식으로 인한 생존률 저하와 기형을 증가가 관찰 되었고, 사이즈가 큰 자치어들이 상대적으로 크기가 작은 자치어들을 포식하는 과정에서 두 개체 모두 폐사에

이르는 경우가 관찰되었으며, 포식을 위한 공격과정 중에는 상대적으로 큰 개체의 아래턱 탈골과 작은 개체의 등지느러미 탈락 등 여러 부작용들이 관찰되었음.

- 밀식된 사육수조에서 자어들의 등지느러미 제 2극끼리 엉킴이 발생하는 현상이 관찰되고, 부화 40일 전후로 공식으로 인한 상대적으로 큰 치어의 아래턱 탈골과 작은 자어들의 공격 당하며 생긴 등지느러미 탈락 현상이 관찰되었음.



그림 124. 뽕바리 종자의 형태 발달

- A. 변태전 자어의 극 발달 모습, B. 등지느러미 제2극 확대(툽날 모양),
C. 부화 후 70일 전후 선두와 후미 크기 차이

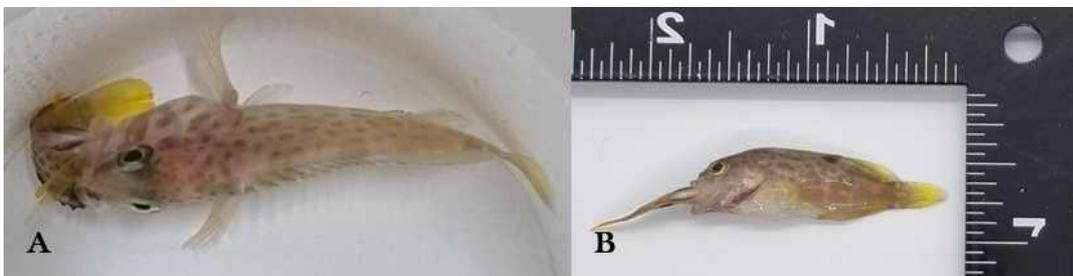


그림 125. 뽕바리 종자의 공식(A)과 공식에 의한 폐사 개체(B)

- 이런 현상을 최소화하기 위해 부화 45일에 실시했던 첫 선별 시기를 공식 발생과 밀식이 심화되기 이전인 부화 38일로 조절함으로써 밀식과 공식을 방지하여 기형을 및 폐사율을

감소시켰음.

- 기존 선별 과정에서는 최초 45일에 선별을 실시하여 7일 간격으로 선별을 실시함.
- 선별 간격을 기존 7일에서 2~3일 간격으로 단축시키고, 지속적인 크기선별을 통해 2019년 29%의 기형 발생율을 2020년 종자생산에서는 평균 19%로 감소하였음(표 67).

표 67. 종자 생산 시기별 기형율 변화

수정란 입식일	첫 선별 시기	선별 횟수	어종	기형율
2018년 12월 18일	부화 44일	총 2회	F1, F2	34%
2018년 12월 25일	부화 44일	총 2회	F1, F2	34%
2019년 04월 06일	부화 44일	총 3회	F1, F2	31%
2019년 07월 07일	부화 44일	총 5회	F1, F3	27%
2019년 07월 12일	부화 44일	총 5회	F1, F2	29%
2020년 03월 28일	부화 38일	총 7회	F1, F2, F3	19%

(3) 세대별 양식붕바리의 성장 특성

(가) 붕바리 종자 성장 속도에 따른 유전자 발현 분석

- 붕바리의 초기성장과정에서 개체간의 성장률은 큰 차이를 보임. 부화 후 96일 동안 동일한 환경조건(수온 24±1℃, 자연광)에서 사육된 붕바리 종자를 크기에 따라 세 그룹 (fast growing group, moderate growing group, growth retarded group)으로 나누었음.

표 68. 성장속도 그룹별 붕바리 정보

Group	Body length (cm)	Body height (cm)	Body weigh (g)
Fast growing group, FGG	7.2±0.6	2.2±0.2	6.3±1.5
Moderate growing group, MGG	6.1±0.4	1.8±0.2	3.6±0.6
Growth retarded group, GRG	5.1±0.5	1.5±0.2	2.2±0.6

- 성장속도에 따른 성장 관련 유전자 발현 차이는 성장속도 그룹별로 뇌, 간, 근육 조직을 적출하여 TRIzol 시약을 사용하여 total RNA를 추출하였으며 Nano drop으로 RNA 농도를 정량한 후 cDNA를 합성하였음. 어류 성장에서 GH/IGF1 system은 중요한 역할을 한다고 알려져 있음. 본 연구에서는 qRT-PCR을 사용하여 Growth hormone (GH), growth hormone receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 (IGF1)의 유전자발현을 조사하였음.

- 속성장 그룹(FCG) 뇌 조직에서 GH 유전자의 발현과(그림 126). IGF1 유전자의 발현이 뇌 조직에서 유의하게 높았으며(그림 127A) 간 조직에서는 유의한 차이가 없었음(그림 127B). 그리고 근육 조직에서는 GRG에서 유전자 발현이 유의하게 높았고(그림 127C), GHR의 유전자 발현은 뇌 조직에서 GRG의 유전자 발현이 유의하게 낮았으며(그림 128A) 간 조직에서는 FGG에서 유전자 발현이 유의하게 높았음(그림 128B). 반면에 근육 조직에서는 GRG에서 유전자 발현이 유의하게 높았다(그림 128C).
- 유전자 발현 조사 결과, 조직 별로 유전자 발현이 차이가 있음을 확인하였고, 또한 성장에 관련된 GH/IGF1 system은 간 조직뿐만 아니라 뇌 조직에서도 중요한 역할을 한다고 추측됨.

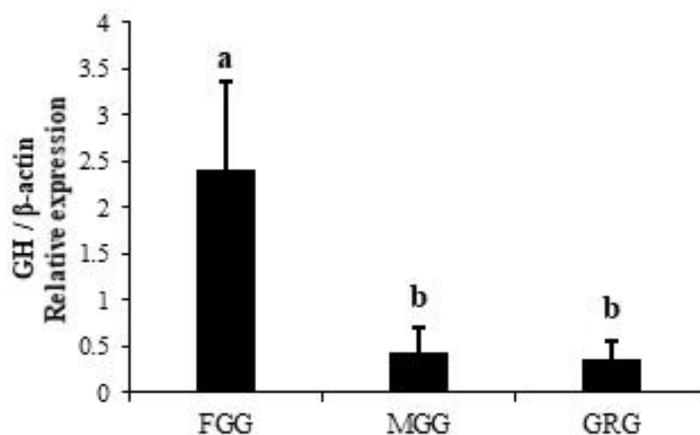


그림 126. 성장률 그룹별 붉바리 뇌 조직의 GH 유전자 발현 차이

FGG, fast growing group; MGG, moderate growing group; GRG growth retarded group.

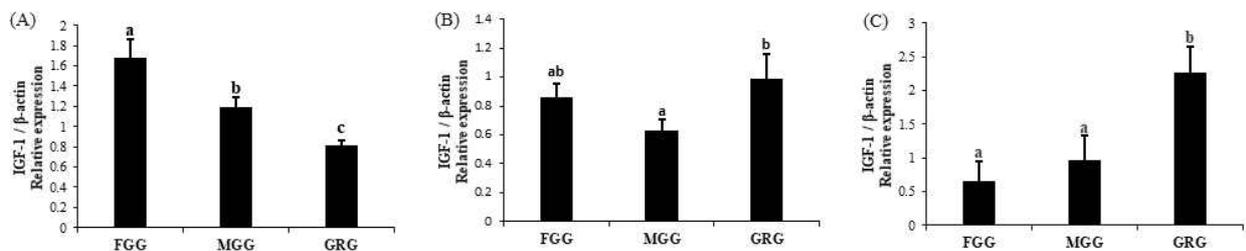


그림 127. 성장률 그룹별 붉바리의 뇌 (A), 간 (B), 근육 (C) 조직에서 IGF1 유전자 발현 차이
FGG, fast growing group; MGG, moderate growing group; GRG growth retarded group.

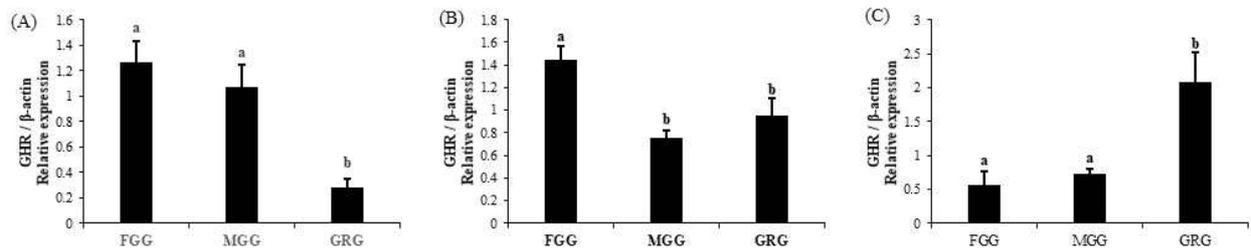


그림 128. 성장률 그룹별 붉바리의 뇌 (A), 간 (B), 근육 (C) 조직에서 GHR 유전자 발현 차이
 FGG, fast growing group; MGG, moderate growing group; GRG growth retarded group.

(나) 붉바리 종자 세대별 성장 특성

- 자연산 붉바리(F0), 양식1세대(F1), 양식2세대(F2) 친어집단에서 성숙 및 산란을 유도하여 양식1세대종자(F1종자), 양식2세대종자(F2종자), 양식3세대종자(F3종자)를 생산하여 세대별 양식종자 성장을 조사하였음.
- 세대별 양식종자 생산 방법
 - F1종자: 자연산 붉바리(F0) 암컷 × 자연산 붉바리(F0) 수컷
 - F2종자: 양식1세대 붉바리(F1) 암컷 × 양식1세대 붉바리(F1) 수컷
 - F3종자: 양식2세대 붉바리(F2) 암컷 × 양식2세대 붉바리(F2) 수컷
- 사육수조내 세대별 양식종자를 부화 후 56일령에 무작위 채집하여 각각의 세대별 양식종자 전장과 체중을 조사하였고, 세대별 양식종자 성장(전장과 체중) 분석은 SPSS 통계처리 프로그램을 이용하여, ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였음.
- 양식1세대(F1)종자, 양식2세대(F2)종자, 양식3세대(F3)종자를 생산하여 세대별 양식종자 성장을 조사한 결과 부화 56일령 F1종자의 평균전장은 3.73 ± 0.79 cm, 평균체중은 0.86 ± 0.47 g, F2종자의 평균전장은 3.80 ± 0.76 cm, 평균체중은 0.89 ± 0.54 g, F3종자의 평균전장은 4.09 ± 0.85 cm, 평균체중은 1.14 ± 0.60 g이었음. F3종자의 전장과 체중은 F1종자 대비 각각 9.6%, 32.5% 높았고, F2 종자 대비 각각 7.6%, 28.1% 높았음($P < 0.05$)(그림 129, 130).

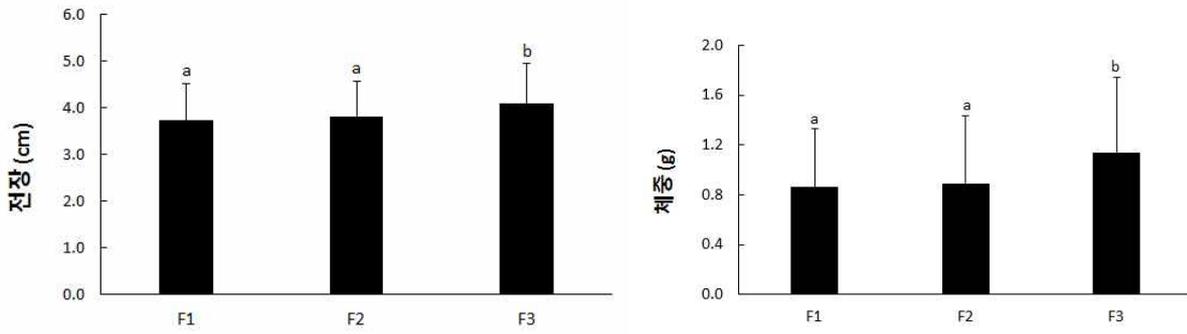


그림 129. 세대별 붉바리 양식종자의 성장 차이.
양식1세대(F1)종자, 양식2세대(F2)종자, 양식3세대(F3)종자

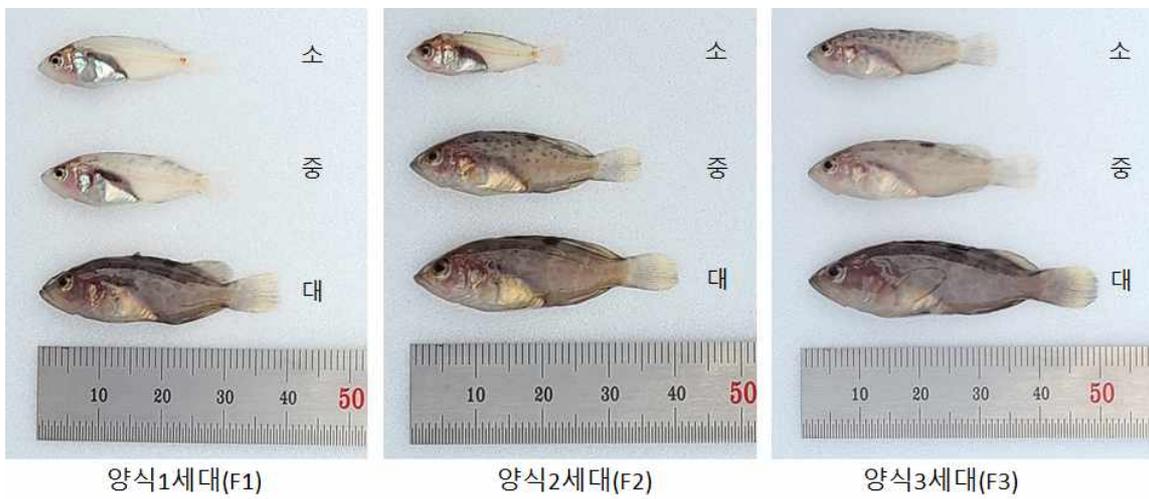


그림 130. 세대별 붉바리 양식종자 크기 (부화 56일령)

(4) 다중형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리

(가) 고품질 품종 생산을 위한 다중 형질 동시 적용 종자 생산

① 성장형질 개선을 위한 모계유전 마커 mtDNA CR 유전자형을 이용한 자어(F3) 생산

▶ 수정후 78일령 붉바리 F3 집단에서 mtDNA CR VNTR의 유전자형의 분포(2019)

- mtDNA CR VNTR 유전자형 중 성장형질(체장, 체중)과 양의 상관을 나타내었던 H03 유전자형을 보유한 모계를 친어로 선정하였음.
- 근친약세(inbreeding depression)를 방지, 인공수정에 필요한 난자 확보를 위해, H03 보유 친어 이외에 성장이 빠른 F2 암컷을 일부 추가하여 인공수정에 활용하였음.
- F3는 2019년 7월 3일 인공수정으로 통해 생산하였음.
- 수정후 78일령인 F3 집단에서 96 마리를 임의로 선정하여 유전자형의 분포와 성장형질의 상관을 분석하였음.

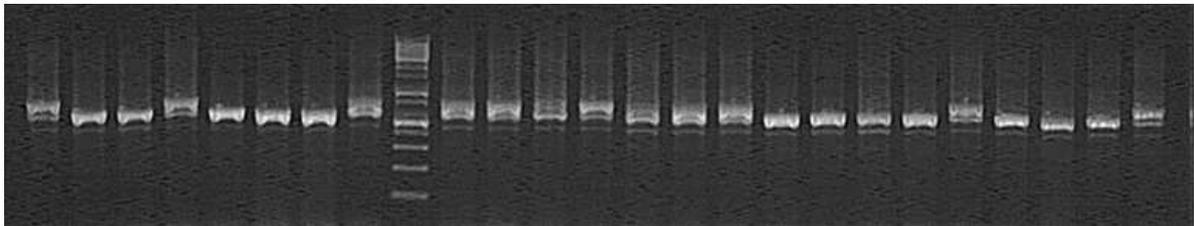


그림 131. 붉바리 양식2세대(F2) 친어 집단에서 mtDNA CR VNTR 마커의 다형성

표 69. 수정후 78일령 F3 집단에서 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포

Population	H02		H03		H04	
	n	f(%)	n	f(%)	n	f(%)
F3 (n=96)	26	27.0	59	61.5	11	11.5

- CR VNTR 유전자형의 빈도는 H03(61.5%)>H02(27.0%)>H04(11.5%) 순으로 확인되었고, H03이 가장 높은 빈도를 나타내어, 친어 중 H03을 보유한 모계를 선발한 효과로 판단됨. 반면 H02, H04는 성장이 빠른 암컷 선정 시에 유입된 것으로 추정되었음.

(나) 수정후 78일령 붉바리 F3의 mtDNA CR VNTR의 유전자형과 성장형질의 상관

- CR VNTR 유전자형(H02, H03, H04)에 따라 F3 집단을 구분하고, 개체들에서 측정된 성장형질(전장, 체중)에 대한 유전자형의 효과를 그룹 간 평균 비교(ANOVA) 및 유의성 검증을 수행하였음(표 69).

표 70. 수정후 78일령 F3 집단에서 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질의 상관

Trait ¹	Overall (n=96)	H02 (n=26)	H03 (n=59)	H04 (n=11)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	5.59±0.463	5.52±0.475	5.62±0.464	5.60±0.454	0.908	n.s.
WT (g)	2.65±0.516	2.51±0.495	2.71±0.534	2.69±0.434	0.248	n.s.
LWI	45.09±6.309	47.89±6.563	47.95±6.775	47.14±6.571	0.581	n.s.

¹, growth traits, TL, total lengths (cm); WT; body weights (g); LWI, length-weight ratio.

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at 0.1% significance thresholds. n. s., not significant.

- H03 그룹의 전장이 가장 길고(5.62±0.464cm), 체중은 가장 무거웠다(2.71±0.534g). 전장과 체중 모두 H03>H04>H02 순으로 확인되었음. 하지만, 유전자형 그룹 간 성장형질의 평균은 유의적인 차이를 나타내지 않았으나(P>0.05), 기존 분석결과(H03>H04)의 형태는 지속적으로 유지되고 있음.

▶ 모계유전 유전자형을 이용한 양식2세대(F2) 친어 및 양식3세대(F3) 종자 평가(2020)

- 붉바리 양식 3세대(F3) 종자 생산을 위해 관리되고 있는 F2 친어 집단에서 mtDNA CR VNTR 유전자형에 따라 H03 유전자형을 보유한 모계를 선정하고, 근친약세 방지, 우량 난자의 대량 확보를 위해, 성장이 빠른 F2 암컷을 일부 추가하여 인공수정에 활용하였음.

표 71. 양식2세대(F2) 친어 후보 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포

Population	H02		H03		H04		H05	
	n	f (%)						
F2 (n=245)	8	3.2	104	41.8	127	51.0	10	4.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- 유전자형은 H02, H03, H04, H05가 관찰되었으며(표 71), 유전자형의 빈도는 H04 (51.0%)>H03(41.8%)>H05 (4.0%)>H02 (3.2%) 순으로 확인되었음. H03에 비해 H04의 빈도가 더 높은 것은 아마도 친어 모계 선정 시 유전자형과 상관없이 성장이 빠른 개체를 선정

하는 과정에서 유입된 것으로 추정됨.

표 72. 양식2세대(F2) 친어 후보 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질의 상관

Trait ¹	Overall	H02	H03	H04	H05	P-value	Significance ²
	Mean±SD (n=192)	Mean±SD (n=6)	Mean±SD (n=76)	Mean±SD (n=102)	Mean±SD (n=8)		
TL (cm)	29.37±20.036 (n=192)	27.95±1.263 (n=6)	27.66±3.858 (n=76)	27.98±2.053 (n=102)	26.20±1.909 (n=8)	0.391	n.s.
WT (g)	318.03±84.993 (n=229)	361.86±74.985 ^a (n=7)	326.59±95.131 ^a (n=94)	314.12±76.171 ^{ab} (n=118)	253.1±56.288 ^b (n=10)	0.030	*

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at $P=0.05$ (*), significance thresholds. n. s., not significant.

- F2의 전장(TL)은 유전자형에 따른 유의적 차이는 없었고($P>0.05$), 체중(WT)은 유전자형에 따른 유의적인 차이를 보였음(표 72).
- H02 (361.86±74.985 g), H03 (326.59±95.131 g)은 H04 (314.12±76.171 g)보다 체중이 더 무거웠지만, 유의적인 차이를 나타내지 않음($P>0.05$).
- H02, H03 유전자형은 H05 (253.1±56.288g)와는 유의적인 차이를 나타내었고($P<0.05$), 각각 108.76 g, 73.49 g 체중이 더 증가한 것으로 확인되었음.
- H02, H03은 전체 평균 체중에 비해 각각 13.8%, 2.7% 더 높은 양상을 보였음(그림 132).

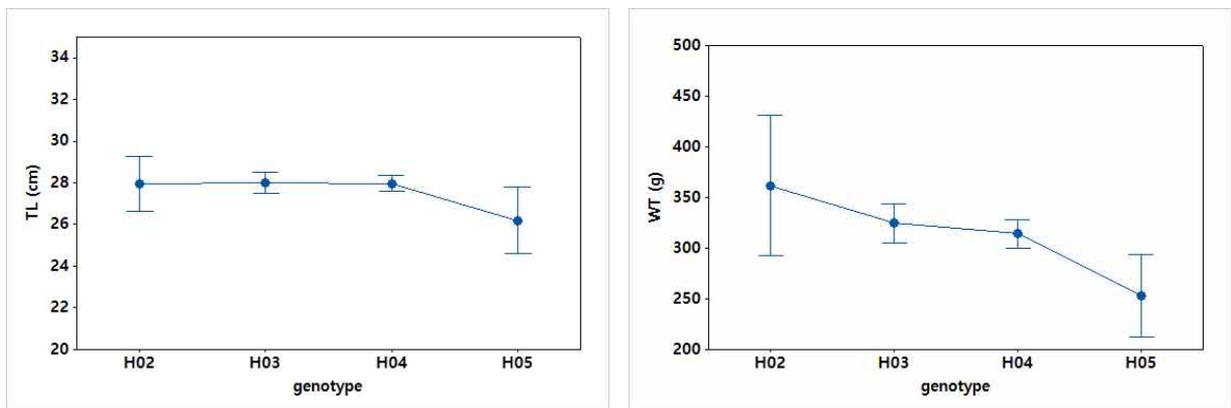


그림 132. mtDNA CR VNTR 유전자형에 따른 양식 2세대(F2) 친어 후보 집단의 전장과 체중. TL, total body length; WT, body weights.

▶ 수출용 자어(F3) 집단에서 mtDNA CR VNTR의 유전자형 분포와 성장형질의 상관

- 시험에 이용된 F3는 2020년 03월 27일 인공수정으로 생산된 F3 자어를 수정 후 40일령에 95 마리를 무작위로 선정하였음.
- 40일령 개체들의 성장형질(전장, 체중)과 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질의 상관을 분석하였음.

표 73. 붉바리 자어(F3) 집단에서 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포

Population	H02		H03		H04	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=95)	2	2.1	57	60.5	36	37.9

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- 유전자형은 H02, H03, H04가 출현하였고(표 73), 유전자형의 빈도는 H03 (60.5%)>H04 (37.9%)>H02 (2.1%) 순으로 확인되었음. H03의 유전자형 빈도가 높았던 점은 모계 선발의 효과로 판단됨.

표 74. 붉바리 자어(F3) 집단에서 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질의 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=95)	H02 (n=2)	H03 (n=57)	H04 (n=36)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.369	2.70±0.283	2.16±0.360	2.17±0.374	0.128	n.s.
WT (g)	0.15±0.086	0.20±0.007	0.15±0.086	0.15±0.090	0.778	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ significance thresholds. n.s., not significant.

- mtDNA CR 유전자형과 자어(F3) 집단의 성장형질은 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 ($P>0.05$) (표 73), H02 그룹의 전장과 체중이 가장 높았음..
- 유전자형 그룹 간 유의적인 차이는 없었으나, 3년차 분석 결과(H03>H04)는 지속적으로 유지되고 있었음.

▶ 수출 자어 생산용 모계 집단(친어, F2)의 mtDNA CR VNTR의 유전자형의 분포와 성장형질 상관(2021)

- 북바리 수출 자어 생산을 위해 선발된 친어 집단(F2)에서 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포와 성장형질의 상관을 분석하였음. 친어 모계의 선발은 mtDNA CR VNTR 유전자형 H03을 보유한 개체들과 H03 유전자형과 상관없이 성장과 체색이 좋은 개체들을 후보로 선정하였고, 인공수정과정에서 실제 난자를 채취한 개체들을 유전자형과 성장형질의 상관관계 분석에 이용하였음.

표 75. 수출용 자어 생산용 친어(F2) 모계 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형 분포

Population	H01		H03		H04	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F2 (n=32)	1	3.1	14	43.8	17	53.1

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequency of each genotype found in the population tested.

- 유전자형은 H01, H03, H04가 출현하였고, 빈도는 H03 (53.1%) > H01(43.8%) > H04 (3.1%) 순으로 확인되어, H03의 빈도가 가장 높았음.

표 76. 수출용 자어 생산용 친어(F2) 모계 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질의 상관 분석

Trait ¹	Overall(n=32)	H01 (n=1)	H03 (n=14)	H04 (n=17)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	31.7±3.34	29.7	33.2±3.68	30.5±2.79	0.031	*
WT (g)	480.2±158.36	397.0	564.6±174.54	415.5±119.50	0.009	**

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at P=0.05 (*), significance thresholds. n. s., not significant.

- 친어(F2) 모계집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 친어(F2) 집단 성장형질의 상관분석에서 유의적인 차이가 나타났음(P<0.05). 전장(TL)은 H03 (33.2±3.68cm)이 H04 (30.5±2.79cm) 보다 2.7cm 더 길었고, 체중(WT)은 H03 (564.6±174.54g)이 H04 (415.5±119.50g)보다 131.1g 더 증가하였음. 이상의 결과는 H03이 H04에 비해 전장과 체중이 증가하는 경향과 일치하는 양상을 보였음.

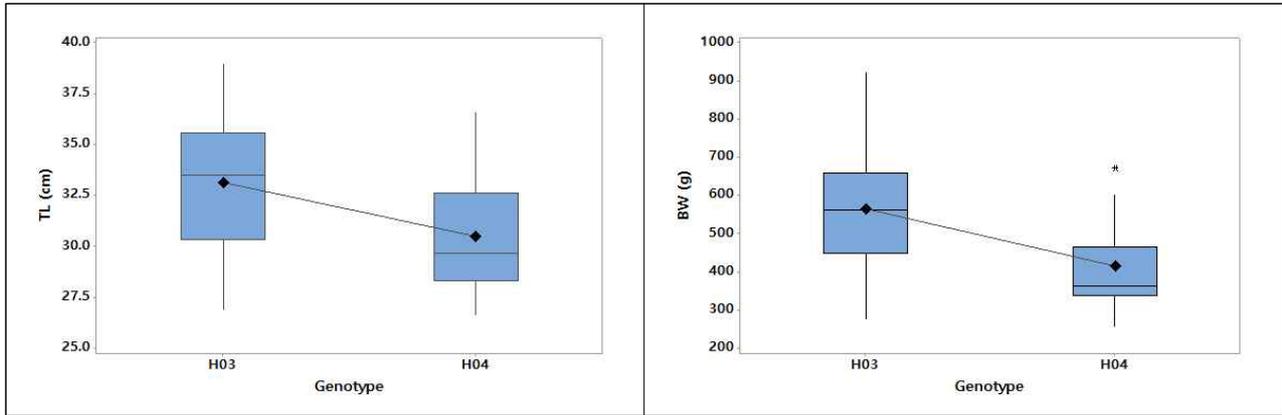


그림 133. mtDNA CR VNTR 유전자형에 따른 친어(F2) 모계 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

▶ 수출 불바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포와 성장형질 상관(2021년 1차)

- 수출 종자(F3)는 2021년 03월 02일 인공수정을 통해 생산하였으며, 수정 후 42일령에 96 마리를 무작위로 선정하였고, 성장형질(전장, 체중)을 측정하여 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포, 유전자형과 성장형질의 상관을 분석하였음.

표 77. 불바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형 분포

Population	H03		H04	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)
F3 (n=96)	54	56.3	42	43.8

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequency of each genotype found in the population tested.

- mtDNA CR VNTR 유전자형은 H03, H04가 출현하였고, 유전자형의 빈도는 H03 (56.3%) > H04 (43.8%) 순으로 확인되었음.
- 종자 생산에 이용된 친어(F2)에서 확인되었던 H01은 발견되지 않았는데, 이는 자어의 성장과정, 개체 선정과정에서 수정란이 발생하지 않았거나, 도태되었을 가능성을 생각할 수 있으나, F2 친어 중 H01의 빈도가 매우 낮았다(n=1, 3.1%)는 점에서 수정란 생산과정에서 난자의 양이 적어, 분석시료 선정과정에서 선발되지 않았을 가능성도 배제할 수 없음.

표 78. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=96)	H03 (n=54)	H04 (n=42)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL(cm)	2.1±0.41	2.2±0.43	2.0±0.36	0.033	*
WT (g)	0.12±0.099	0.14±0.109	0.10±0.081	0.032	*

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row with different letters are significantly different at $P=0.05$ (*), significance thresholds. n. s., not significant.

- 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 F3의 집단 성장형질의 상관분석에서 유의적인 차이가 보였고($P<0.05$), 전장(TL)은 H03 (2.2±0.43cm)이 H04 (2.0±0.36cm)보다 0.2 cm 더 성장하였으며, 체중(WT) 역시 H03 (0.14±0.109g)이 H04 (0.10±0.081g)보다 0.04 g 더 증가하였음.

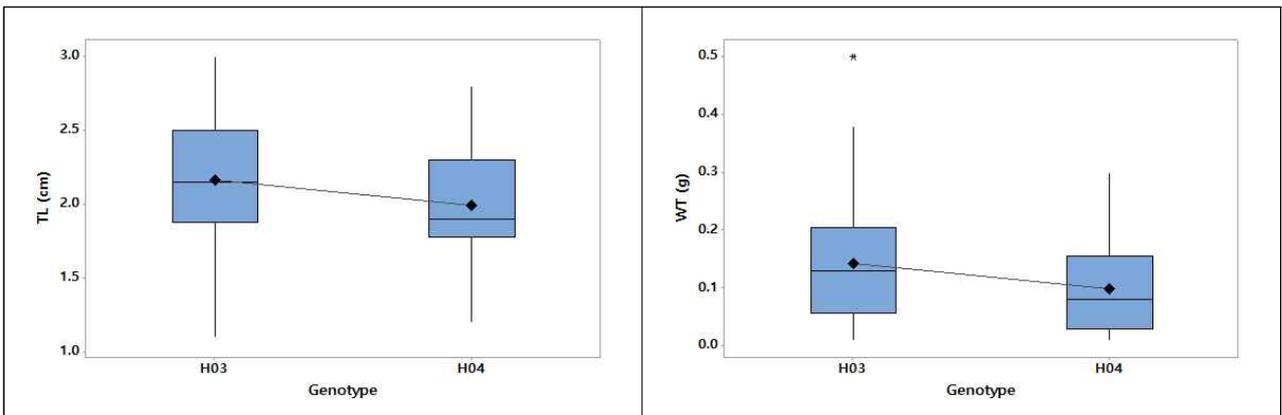


그림 134. mtDNA CR VNTR 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

▶ 수출 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR의 유전자형의 분포와 성장형질 상관(2021년 2차)

- 수출 종자(F3)는 2021년 06월 04일 인공수정을 통해 생산하였으며, 수정 후 42일령에 106 마리를 무작위로 선정하였고, 성장형질(전장, 체중)을 측정하여 mtDNA CR VNTR 유전자형의 분포, 유전자형과 성장형질의 상관을 분석하였음.

표 79. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 mtDNA CR VNTR 유전자형 분포

Population	H03		H04	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)
F3 (n=106)	55	51.9	51	48.1

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequency of each genotype found in the population tested.

- mtDNA CR VNTR 유전자형은 H03, H04가 출현하였고, 유전자형의 빈도는 H03 (51.9%) > H04 (48.1%) 순으로 확인되었음. 종자 생산에 이용된 친어(F2)에서 확인되었던 H01은 발견되지 않았음.

표 80. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=106)	H03 (n=55)	H04 (n=51)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.1±0.41	2.2±0.44	2.1±0.35	0.170	n.s.
WT (g)	0.12±0.099	0.11±0.076	0.09±0.069	0.091	n.s.

- 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 mtDNA CR VNTR 유전자형과 F3 집단 성장형질의 상관분석에서 유의적인 차이가 나타나지 않았음($P>0.05$). 하지만, 전장(TL)은 H03 (2.2±0.44 cm)이 H04 (2.1±0.35 cm)보다 0.1 cm 더 성장하였고, 체중(WT)은 H03 (0.11±0.109 g)이 H04 (0.09±0.069 g)보다 0.02 g 더 증가하여 유전자형의 효과는 지속적으로 유지되고 있는 것으로 판단됨.

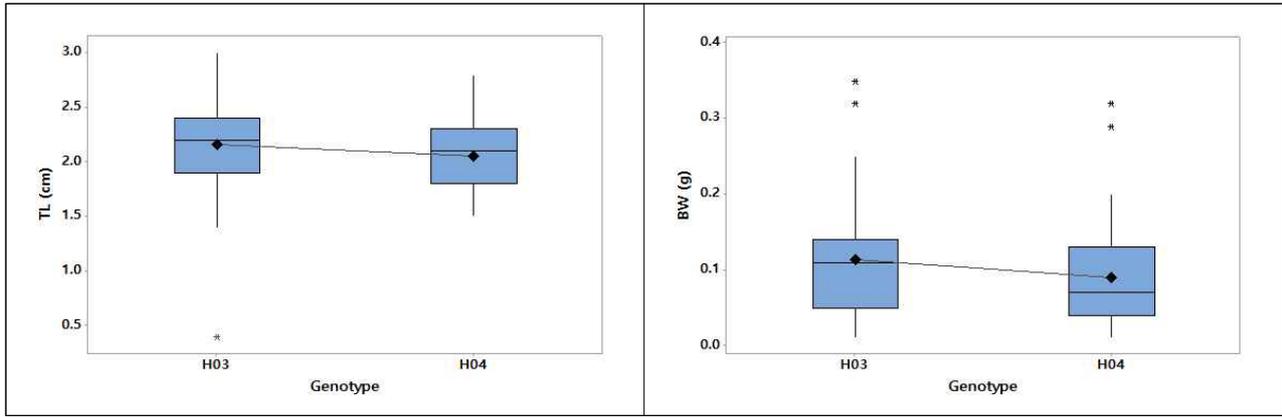


그림 135. mtDNA CR VNTR 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

(나) 성장형질 개선을 위한 부계 선발용 유전자 마커의 효과

- 핵 DNA 유전자의 SNP와 성장형질과의 상관 분석에서 가장 좋은 효과를 나타내었던 BBR005 마커의 유전자형을 이용하여 인공수정용 부계와 모계 친어 선발에 이용하였음.
- 선발된 친어의 인공수정을 통해 생산된 수출 양식3세대(F3) 종자를 이용하여 유전자형의 효과를 검증하였음.

① 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 유전자형의 분포와 성장형질 상관(2021, 1차)

표 81. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.16C>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.16C>T genotypes					
	CC		CT		TT	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=92)	11	11.0	53	53.0	28	28.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.16C>T의 유전자형은 CC, CT, TT 확인되었고, 유전자형별 빈도는 각각 11.0%, 53.0%, 28.0%를 보였음(표 81).

표 82. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.16C>T 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=92)	CC (n=11)	CT (n=53)	TT (n=28)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.368	2.36±0.32	2.17±0.363	2.11±0.38	0.146	n.s.
WT (g)	0.15±0.086	0.19±0.081	0.15±0.087	0.15±0.086	0.338	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.16C>T 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었음 ($P>0.05$). 하지만 CC 동형접합에서 T-에 비해 전장이 더 길고, 체중이 더 증가하는 양상이 유지되고 있었음.

표 83. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.51G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=100)	9	9.0	41	41.0	50	50.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.51G>A의 유전자형은 GG, GA, AA가 모두 확인되었으며, 유전자형별 빈도는 각각 9.0%, 41.0%, 50.0%를 보였음.

표 84. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=100)	GG (n=9)	GA (n=41)	AA (n=50)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.361	2.41±0.337	2.19±0.389	2.12±0.328	0.077	n.s.
WT (g)	0.15±0.084	0.21±0.08	0.16±0.095	0.14±0.072	0.080	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.51G>A 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었으나 ($P>0.05$), GG 동형접합에서 전장의 길이가 길고, 체중이 더 증가하는 양상은 유지되고 있었음.

표 85. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.53T>C 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.53T>C genotypes					
	CC		CT		TT	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=100)	5	5.0	24	24.0	71	71.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.53T>C의 유전자형은 CC, CT, TT 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 각각 5.0%, 24.0%, 71.0%를 나타냈음.

표 86. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.53T>C 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=100)	CC (n=5)	CT (n=24)	TT (n=71)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.361	2.46±0.279	2.24±0.406	2.13±0.341	0.091	n.s.
WT (g)	0.15±0.084	0.19±0.056	0.17±0.103	0.14±0.077	0.149	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.53T>C 유전자형이 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었지만 ($P>0.05$), C- 유전자형을 보유한 개체들이 TT 동형접합에 비해 전장이 더 길고, 체중은 더 증가하는 양상을 보였음(표 86).

표 87. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.84C>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.84C>A genotypes					
	CC		CA		AA	
	n	f(%)	n	f(%)	n	f(%)
F3 (n=100)	1	1.0	33	33.0	66	66.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.84C>A의 유전자형은 CC, CA, AA 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 각각 1.0%, 33.0%, 66.0%를 나타냈음.

표 88. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.84C>A와 F3 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=99)	CA (n=33)	AA (n=66)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.361	2.25±0.388	2.14±0.346	0.142	n.s.
WT (g)	0.15±0.084	0.17±0.092	0.14±0.08	0.094	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.81C>A 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었으나 ($P>0.05$), CA 개체들이 AAdp 비해 전장이 더 길고, 체중은 더 증가하는 양상을 보였음.

표 89. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.158A>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.158A>T genotypes					
	AA		AT		TT	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=100)	2	2.0	29	29.0	69	69.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.158A>T의 유전자형은 AA, AT, TT 세 가지 유전자형이 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 각각 2.0%, 29.0%, 69.0%를 나타냈음.

표 90. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.158A>T 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=98)	AT (n=29)	TT (n=69)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.361	2.22±0.376	2.15±0.358	0.373	n.s.
WT (g)	0.15±0.084	0.16±0.091	0.15±0.083	0.488	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.158A>T 유전자형이 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었음($P>0.05$) (표 90)

표 91. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형의 분포

Population	g.193G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=100)	71	71.0	25	25.0	4	4.0

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.193A>T의 유전자형은 GG, GA, AA 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 각각 71.0%, 25.0%, 4.0%를 나타냈음.

표 92. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=96)	GG (n=71)	GA (n=25)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.361	2.18±0.377	2.14±0.336	0.648	n.s.
WT (g)	0.15±0.084	0.16±0.083	0.14±0.083	0.368	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- g.193G>A 유전자형이 자어(F3) 집단 내 성장형질에 유의적 차이는 없었으나($P>0.05$), GG 동형접합이 GA 보다 더 전장이 길고, 체중은 더 증가하였음(표 92).

② 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 유전자형의 분포와 성장형질 상관(2021, 2차)

표 93. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.16C>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.16C>T genotypes					
	CC		CT		TT	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=98)	51	52.0	40	40.8	7	7.1

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.16C>T의 유전자형은 CC, CT, TT 세 가지 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.16CC (52.06%), g.16CT (40.8%), g.16TT (7.1%)를 나타냈음.

표 94. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.16C>T 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=98)	CC (n=51)	CT (n=40)	TT (n=7)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.06±0.414	2.05±0.413	2.12±0.435	1.96±0.199	0.561	n.s.
WT (g)	0.12±0.097	0.12±0.101	0.13±0.107	0.09±0.033	0.679	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.16C>T 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였음.

- g.16C>T 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았으나($P>0.05$), C- 유전자형 개체들이 TT 동형접합에 비해 전장이 길고, 체중이 더 증가하였음(표 94).

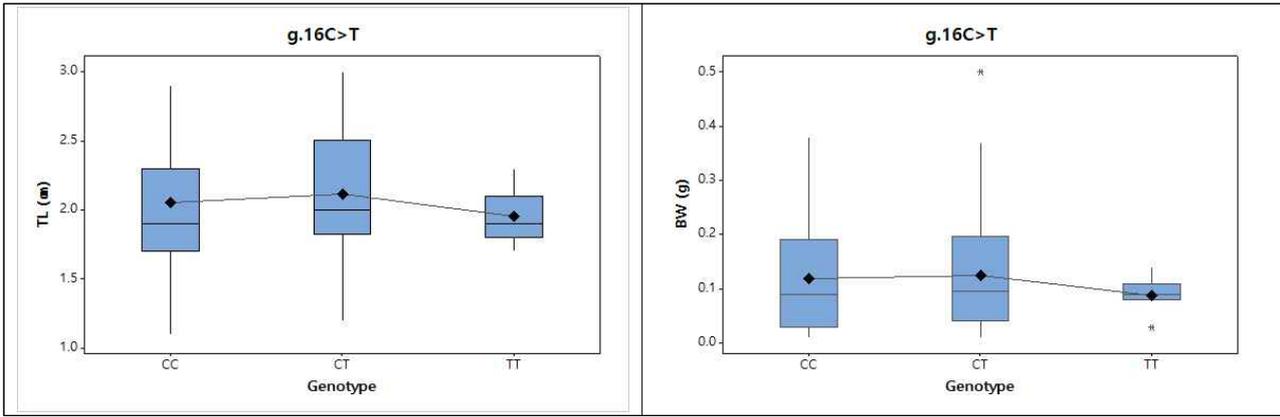


그림 136. BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

표 95. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.51G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=98)	26	26.5	54	55.1	18	18.4

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.51G>A의 유전자형은 GG, GA, AA 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.51GA (55.1%), g.51GG (26.5%), g.51AA (18.4%)를 나타냈음(표 95).

표 96. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=98)	GG (n=26)	GA (n=54)	AA (n=18)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.06±0.414	1.95±0.454	2.15±0.401	2.01±0.338	0.110	n.s.
WT (g)	0.12±0.097	0.10±0.104	0.13±0.106	0.11±0.075	0.405	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.51G>A 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였고, g.51G>A 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았음($P>0.05$).

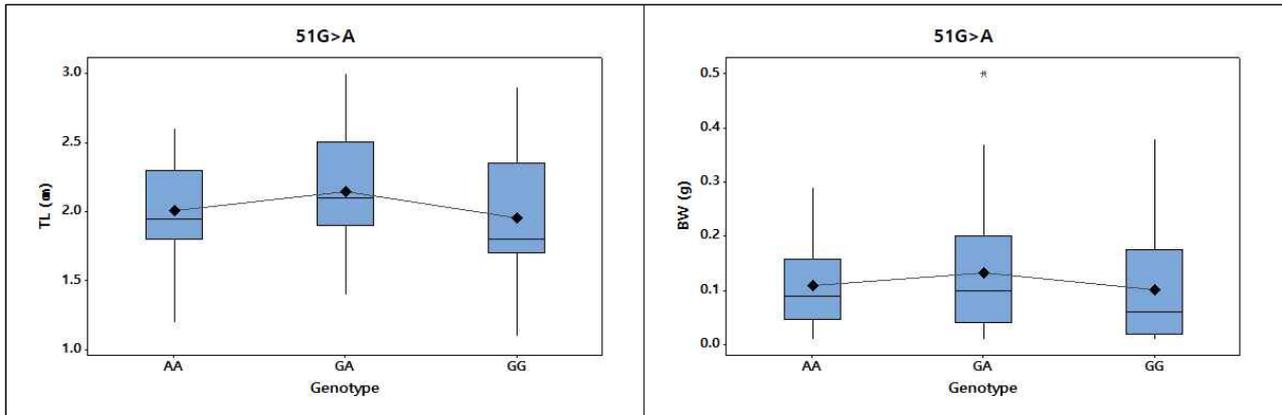


그림 137. BBR005 intron 1 g.51G>A 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

표 97. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.53C>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.53C>T genotypes					
	CC		CT		TT	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=98)	9	9.2	28	28.6	61	62.2

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.53C>T의 유전자형은 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.53TT (62.2%), g.53CT (28.6%), g.53CC (9.2%)를 나타냈음(표 97).

표 98. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.53C>T 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=98)	CC (n=9)	CT (n=28)	TT (n=61)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.06±0.414	2.08±0.338	2.17±0.492	2.02±0.376	0.296	n.s.
WT (g)	0.12±0.097	0.11±0.074	0.16±0.126	0.10±0.086	0.063	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.53C>T 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였고, g.53C>T 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았음($P>0.05$).

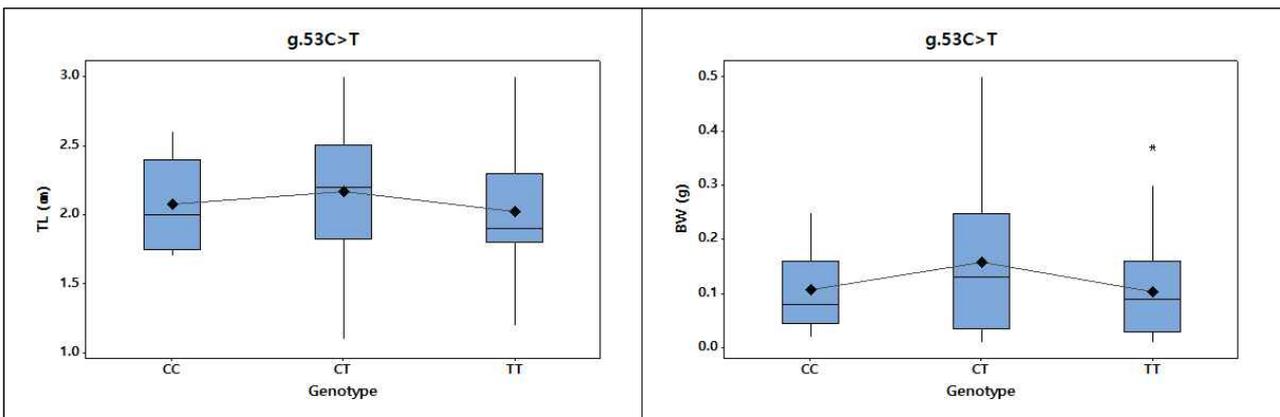


그림 138. BBR005 intron 1 g.53C>T 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

표 99. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.84C>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.84C>A genotypes					
	CC		CA		AA	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=98)	4	4.1	17	17.3	77	78.6

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.84C>A의 유전자형은 CC, CA, AA 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.84AA (78.6%), g.84CA (17.3%), g84CC (4.1%)를 나타냈음(표 99).

표 100. 붉바리 양식2세대(F2) 친어 집단에서 BBR005 intron 1 g.84C>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=98)	CC (n=4)	CA (n=17)	AA (n=77)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL(cm)	2.06±0.414	2.18±0.369	2.26±0.534	2.02±0.373	0.090	n.s.
WT (g)	0.12±0.097	0.13±0.094ab	0.19±0.141a	0.10±0.084b	0.007	**

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.84C>A 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였고, g.84C>A 유전자형과 성장형질의 상관 분석 결과, 전장과는 유의적인 상관을 나타내지 않았으나($P>0.05$), 체중은 유의적인 상관을 나타냈음($P<0.05$). C- 유전자형인 개체들이 AA 동형접합에 비해 더 무거운 양상을 보였음.

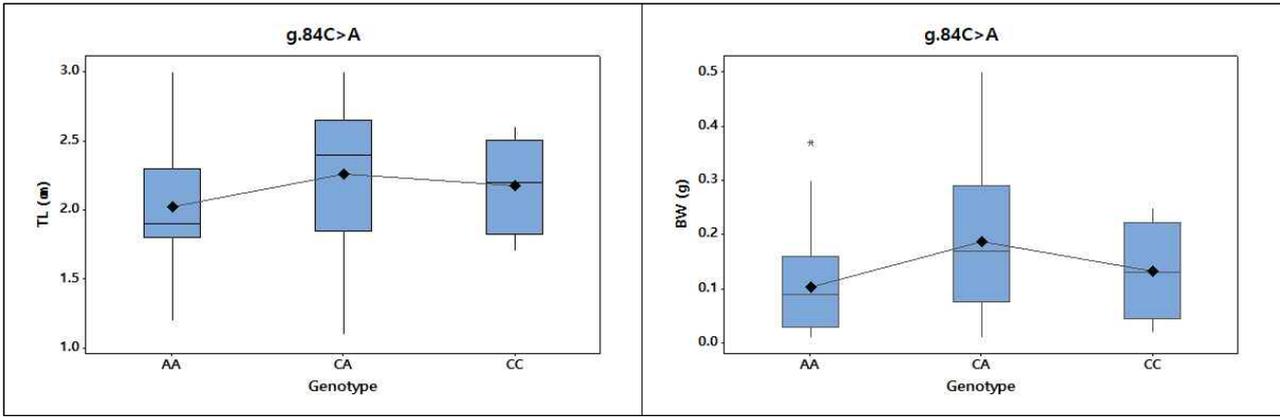


그림 139. BBR005 intron 1 g.84C>A 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

표 101. 양식2세대(F2) 친어 집단에서 BBR005 intron 1 g.158A>T 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.158A>T genotypes					
	AA		AT		TT	
	n1	f2 (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=97)	12	12.4	57	58.8	28	28.9

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.158A>T의 유전자형은 AA, AT, TT 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.158AA (12.4%), g.158AT (58.8%), g.158TT (28.9%)를 나타내음(표 101).

표 102. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.158A>T 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=97)	AA (n=12)	AT (n=57)	TT (n=28)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.06±0.414	1.70±0.226a	2.12±0.407bc	2.11±0.408bc	0.003	**
BW (g)	0.12±0.097	0.04±0.049a	0.13±0.098bc	0.14±0.110bc	0.018	*

¹, growth traits: TL, total body length (cm); BWT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.158A>T 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였고, g.158A>T 유전자형과 성장형질의 상관 분석 결과, 전장, 체중과 유의적인 상관을 나타냈음($P<0.05$). T- 유전자형인 개체들이 AA 동형접합에 비해 전장과 체중이 증가하는 경향을 보였음.

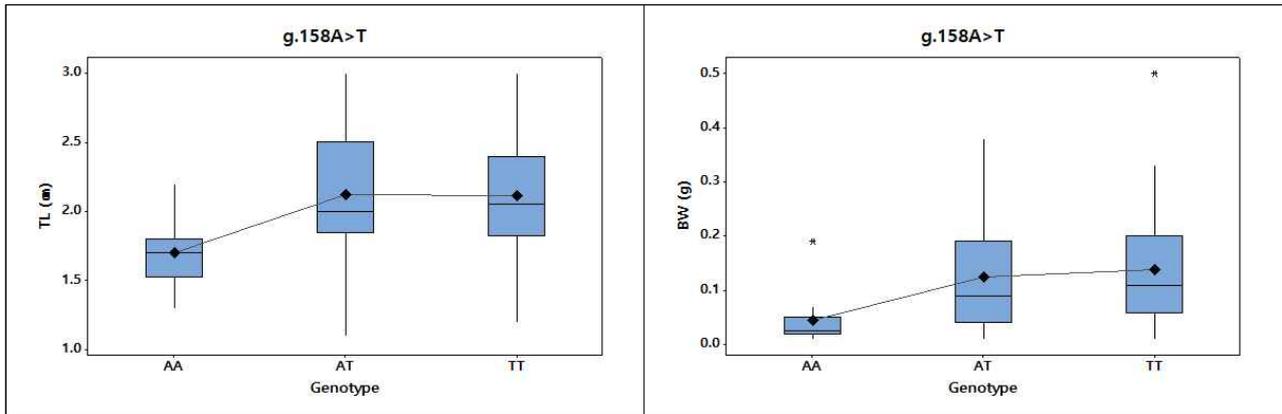


그림 140. BBR005 intron 1 g.158A>T 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

표 103. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형의 분포

Population	BBR005 g.193G>A genotypes					
	GG		GA		AA	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=95)	52	54.7	39	41.1	4	4.2

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- intron 1 g.193G>A의 유전자형은 GG, GA, AA 세 가지가 모두 확인되었고, 유전자형별 빈도는 g.193GG (54.7%), g.193GA (58.8%), g.193AA (28.9%)를 나타냈음(표 103).

표 104. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=95)	GG (n=52)	GA (n=39)	AA (n=4)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.06±0.414	2.07±0.443	2.11±0.383	1.95±0.265	0.328	n.s.
BW (g)	0.12±0.097	0.12±0.109	0.13±0.092	0.09±0.073	0.380	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); BWT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- BBR005 SNP g.193G>A 유전자형과 성장형질의 상관 분석과 유의성 검증(ANOVA)을 수행하였고, g.193G>A 유전자형이 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았음($P>0.05$).

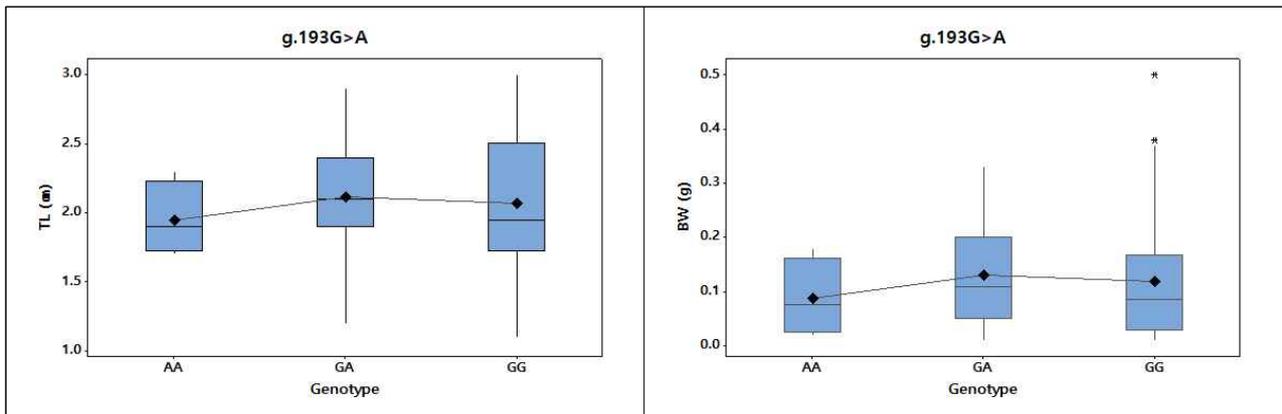


그림 141. BBR005 intron 1 g.193G>A 유전자형에 따른 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; BW, body weights.

(다) 수온 관련 유전자 마커를 이용한 친어 선발 및 양식3세대(F3) 종자 평가

① HSP70 유전자형에 따른 수온 적응능력 검증

- 전사체 발현 분석을 통해 선정된 HSP70 유전자형(AA, AG, GG)을 각각 보유한 친어를 선발하여 종자 생산에 이용하였고, 생산된 종자에서 유전자형에 따른 수온별 성장률의 차이를 확인하였음.

② 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.44A>G 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 105. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.44A>G 유전자형의 분포

Population	g.44A>G genotypes					
	AA		AG		GG	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)	n	f (%)
F3 (n=96)	56	58.3	36	37.5	3	3.1

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- 세가지 유전자형 g.AA, g.AG, g.GG이 모두 확인되었고, 유전자형의 빈도는 g.AA 58.3%, AG 37.5%, GG 3.1%의 빈도를 나타냈음(표 105).

표 106. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.44A>G 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=96)	AA (n=56)	AG (n=36)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.367	2.18±0.363	2.18±0.385	0.984	n.s.
WT (g)	0.15±0.086	0.15±0.081	0.16±0.097	0.954	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- HSP70 g.44A>G 유전자형과 성장형질의 상관분석 및 유의성 검증(student t-test)을 수행한 결과, g.44A>G 유전자형이 붉바리 양식 3세대(F3) 종자 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았음($P>0.05$).

③ 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.85C>T 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 107. 붉바리 HSP70 유전자에서 발견된 g.85C>T의 서열

6	TTTGGTCGTCTCAGCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAATACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTG TCTGCTAAGAACGGCCTGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCGACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACGAC AAGCAGAAGATTTTGGACAAGTGAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTATTT TTATTTTTATATTTTGTGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTTGCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAAGG AGCTGGAGAAGGTGTGCAACCCCATCATACCAAGCTGTACCAGAGTGTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGGTG GCTTCCCT
7	TTTGGTCGTTTCAGCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAATACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTG TCTGCTAAGAACGGCCGGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCGACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACG ACAAGCAGAAGATTTTGGACAAGTGAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTAT TTTTATTTTTATATTTTGTGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTTGCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAA GGAGCTGGAGAAGGTGTGCAACCCCATCATACCAAGCTGTACCAGAGTGTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGG TGGTTCCT

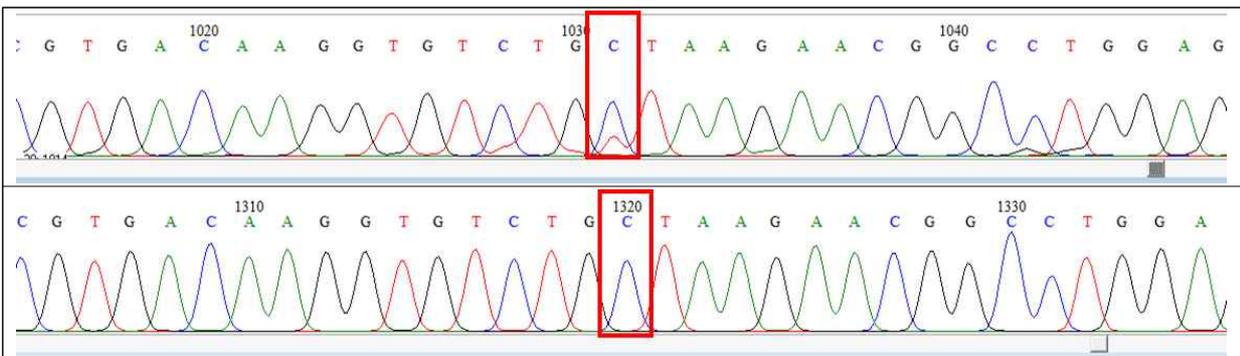


그림 142. HSP70 g.85C>T 다형성.

표 108. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.85C>T 유전자형의 분포

Population	g.85C>T genotypes			
	CC		CT	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)
F3 (n=95)	81	84.4	14	14.6

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- g.85C>T 지점에서 염기전이 치환변이가 검출되었고, 유전자형은 CC, CT 두 가지가 발견되었고(그림 137), 유전자형의 빈도는 g.CC 81.4%, CT 14.6%의 빈도를 보임(표 108).

표 109. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.85C>T 유전자형과 성장형질 상관

Trait ¹	Overall (n=96)	CC (n=81)	CT (n=14)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.367	2.21±0.363	1.99±0.360	0.045	*
WT (g)	0.15±0.086	0.16±0.088	0.12±0.069	0.156	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- HSP70 g.85C>T 유전자형과 성장형질의 상관 분석 및 유의성 검증(student t-test)을 수행하였고, g.85C>T 유전자형을 성장형질 중 전장(TL)의 차이에 대해 유의적인 차이를 나타내었음($P<0.05$)(표 109). 유전자형이 g.CC인 집단의 전장(TL)은 g.CT인 집단보다 0.22 cm 더 크게 나타났음.

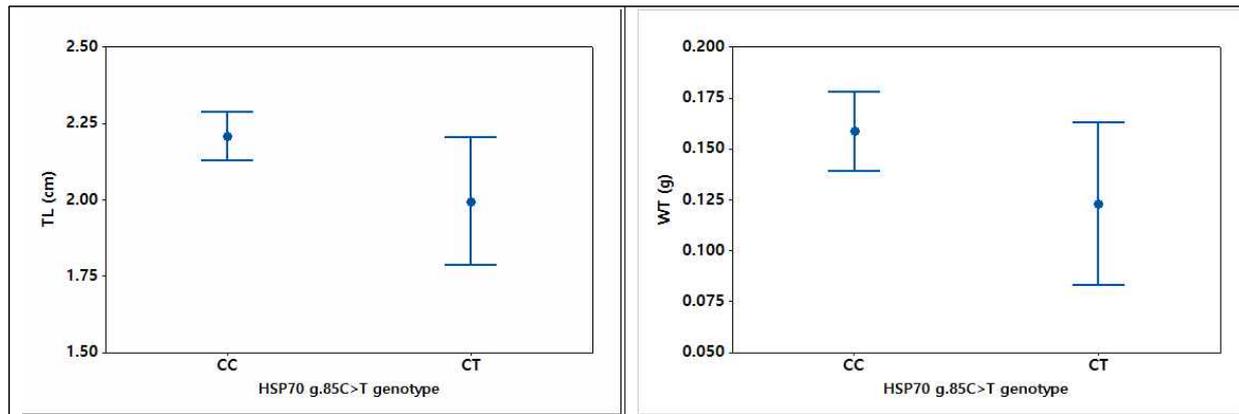


그림 143. HSP70 g.85C>T 유전자형에 따른 양식3세대(F3) 종자 집단의 전장과 체중. TL, total body length; WT, body weights.

④ 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자에서 HSP70 g.97T>G 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 110. 붉바리 HSP70 유전자에서 발견된 g.97T>G의 서열

6	TTTGGTTCGTCACAGCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAAATACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTG TCTGCTAAGAACGGCCTGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCGACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACGAC AAGCAGAAGATTTTGGACAAGTGAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTATTT TTATTTTTATATTTTGTGCGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTGCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAAGG AGCTGGAGAAGGTGTGCAACCCCATCATCACCAAGCTGTACCAGAGTGCTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGGTG GCTTCCCT
7	TTTGGTTCGTTTCAGCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAAATACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTG TCTGTTAAGAACGGCCT/αGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCGACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACG ACAAGCAGAAGATTTTGGACAAGTGAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTAT TTTTATTTTTATATTTTGTGCGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTGCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAA GGAGCTGGAGAAGGTGTGCAACCCCATCATCACCAAGCTGTACCAGAGTGCTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGG TGGGTTCCCT

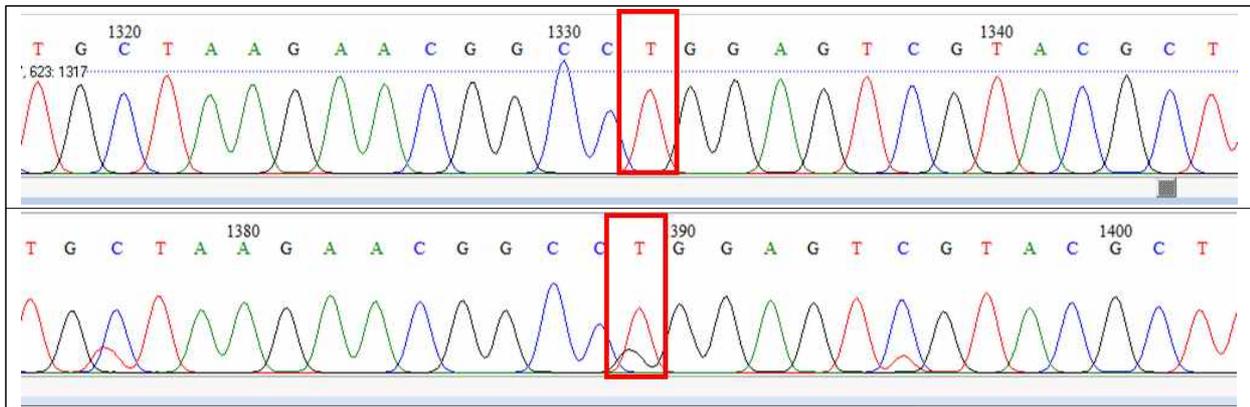


그림 144. HSP70 g.97T>G다형성.

표 111. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.97T>G 유전자형의 분포

Population	g.97T>G genotypes			
	TT		TG	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)
F3 (n=96)	86	89.6	10	10.4

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- g.97T>G 지점에서 염기전이 치환변이가 검출되었고, 유전자형은 CC, CT 두 가지가 발견되었 으며(그림 144), 유전자형의 빈도는 g.CC 81.4%, CT 14.6%를 나타냈음(표 111).

표 112. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.97T>G 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=96)	TT (n=86)	TG (n=10)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.367	2.19±0.367	2.10±0.383	0.486	n.s.
WT (g)	0.15±0.086	0.15±0.084	0.16±0.108	0.735	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at $P=0.05$ (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- HSP70 g.97T>G 유전자형과 성장형질의 상관 분석과 유의성 검증(student t-test)을 수행한 결과, g.97T>G 유전자형이 붉바리 F3 자어 집단 내 성장형질에 유의적 상관을 보이지 않았음($P>0.05$)(표112).

⑤ 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.126G>A 유전자형의 분포와 성장형질 상관

표 113. 붉바리 HSP70 유전자에서 발견된 g.126G>A의 서열

20 GCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAATACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTGTCTGCTAAGAACG GCCTGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCGACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACGACAAGCAGAAGATTT TGGACAAGTGCAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTATTTTTATTTTTATATT TTTGTGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTGTCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAAGGAGCTGGAGAAGGT GTGCAACCCCATCATCACCAAGCTGTACCAGAGTGCTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGGTGGCTTCCCTGGAGC TGGTGGCGCTGC
27 GCAAGGAGGACATTGAACGCATGGTCCAGGAAGCTGAGAAGTACAAGGCTGAAGACGATGTCCAGCGTGACAAGGTGTCTGCTAAGAACG GCCTGGAGTCGTACGCTTTCAACATGAAGTCA/αACTGTGGAGGATGAAAAGCTTGCTGGCAAGATCAGTGAAGACGACAAGCAGAAGAT TTTGGACAAGTGCAATGAGGTCATCAGCTGGCTGGACAAGAACCAGGTAAGTCGGTCTTTGCAGTTTCTCACTTTATTTTTATTTTTATA TTTTTGTGAGACCTAACACTAAGATGACCTTGTTTTTGTCAGACTGCCGAGAAGGATGAATATGAACATCAACAGAAGGAGCTGGAGAAG GTGTGCAACCCCATCATCACCAAGCTGTACCAGAGTGCTGGTGGCATGCCTGGTGGTATGCCAGAGGGCATGCCTGGTGGCTTCCCTGGA GCTGGTGGCGCTGC

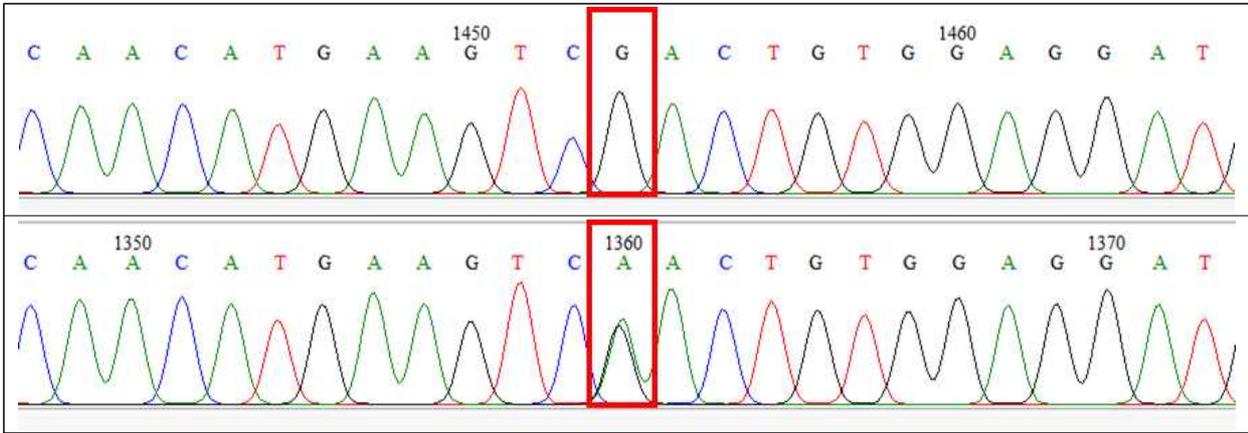


그림 145. HSP70 g.126G>A 다형성.

표 114. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.126G>A 유전자형의 분포

Population	g.126G>A genotypes			
	GG		GA	
	n ¹	f ² (%)	n	f (%)
F3 (n=96)	80	83.3	15	15.6

¹, n, number of animals detected for each genotype.

², f, frequencies of each genotype found in the population tested.

- g.126G>A 지점에서 염기전이 치환변이가 검출되었고, 유전자형은 GG, GA 두 가지가 발견되었다(그림 140). 유전자형의 빈도는 GG 83.3%, GA 15.6%의 빈도를 보였음(표 113).

표 115. 수출용 붉바리 양식 3세대(F3) 종자 집단에서 HSP70 g.126G>A 유전자형과 성장형질 상관 분석

Trait ¹	Overall (n=96)	GG (n=86)	GA (n=15)	P-value	Significance ²
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD		
TL (cm)	2.18±0.367	2.18±0.371	2.14±0.366	0.693	n.s.
WT (g)	0.15±0.086	0.15±0.090	0.14±0.063	0.657	n.s.

¹, growth traits: TL, total body length (cm); WT, body weights (g).

², Mean±SD values in the same row are significantly different at P=0.05 (*) significance thresholds. n.s., not significant.

- HSP70 g.126G>A 유전자형과 성장형질의 상관분석과 유의성 검증(student t-test)을 수행하였고, g.97T>G 유전자형과 붉바리 F3 집단 내 성장형질과는 유의적 상관을 보이지 않았음 ($P>0.05$)(표 115).

(라) 체색 관련 유전자 마커를 이용한 친어 선발 (2020)

① 붉바리 체색 관련 유전자 마커의 유전자형과 표현형 상관

▶ 붉바리 양식 3세대(F3) 종자에서 체색을 4 가지 유형으로 구분

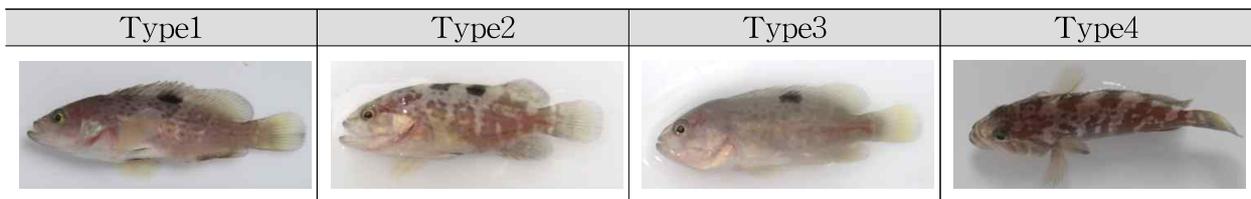


그림 146. 붉바리 양식 3세대(F3) 종자의 4 가지 체색 유형(수정 후 78일).

▶ MC1R 유전자 SNP 검출과 표현형과의 상관 분석

- Melanocortin 1 receptor 유전자는 색소세포의 멜라닌 합성에 대한 외부신호(melanocortin-1) 수용과 전달을 담당하는 유전자이며, 포유동물에서 MC1R 유전자의 결손은 검정색/갈색의 모색이 노랑색/적색으로 변화함.
- 2개 지점에서 MC1R g.257C>A, g.473C>T가 검출되었음.

▶ 수출 종자 양식3세대(F3) 집단에서 MC1R 유전자 SNP 검출과 표현형 상관

- 4개 지점에서 SNP 검출(g.158G>A, g.257C>A, g.466T>C, g.473C>T).

```

ACTACTTCATCTGCTGCCTGGCGGTGTCGACATGCTGGTCAGCGTCAGCAACGTGGTGGAGACTATGTTTCATGCTTCTCAACGACCACGGCC
TGATGGACATGCACCCTGGCATGCTGCGCCACCTGGACAACGTCATCGACGTGATGATCTGCAGCTCCGTGGTGTCTCG/aACTGTCCTTTCT
GTGCACCATCGCAGCGGACCGCTACATCACCATCTTTTACGCGTGC GTTATCACAGCATCATGACCACGCAGCGCGCCGTCAACATC/aATC
GTGGTGGTGTGGCTGGCCAGCATCACCTCCAGCATCCTGTTTATTGTGTACCACACCGACAACGCTGTCATCGTGTGCCTCGTGACCTTCTTC
TGCACCACCCTGGTGTTTAACGCGGTGCTGTACCTGCACATGTTCTCTGGCTCACCTGCACTCGCGGCGCATGTGGCTTTCCACAAAAGC
AGGCGCCAATCCACGAGCAT/cGAAGGGC/tGCGATGACCCTCACCATCTGCTCGGGGCTTCATTGTATGCTGGGGCCCTTCTTCTCCA
CCTCATCTCATCTCACCTGCCCCACAGTCCCTTCTGCAACTGTTTCTTCAGAACTTTAACCTTTCTCATCTCATCTGCAACTC
GCTCATCGACCCGCTCATCTAC
  
```

그림 147. 붉바리 MC1R 유전자에서 발견된 SNP g.158G>A, g.257C>A, g.466T>C, g.473C>T. SNP 서열은 consensus 서열에서 염기치환의 형태로 나타내었음. 대문자는 주 대립유전자, 소문자는 부 대립유전자를 나타냄.

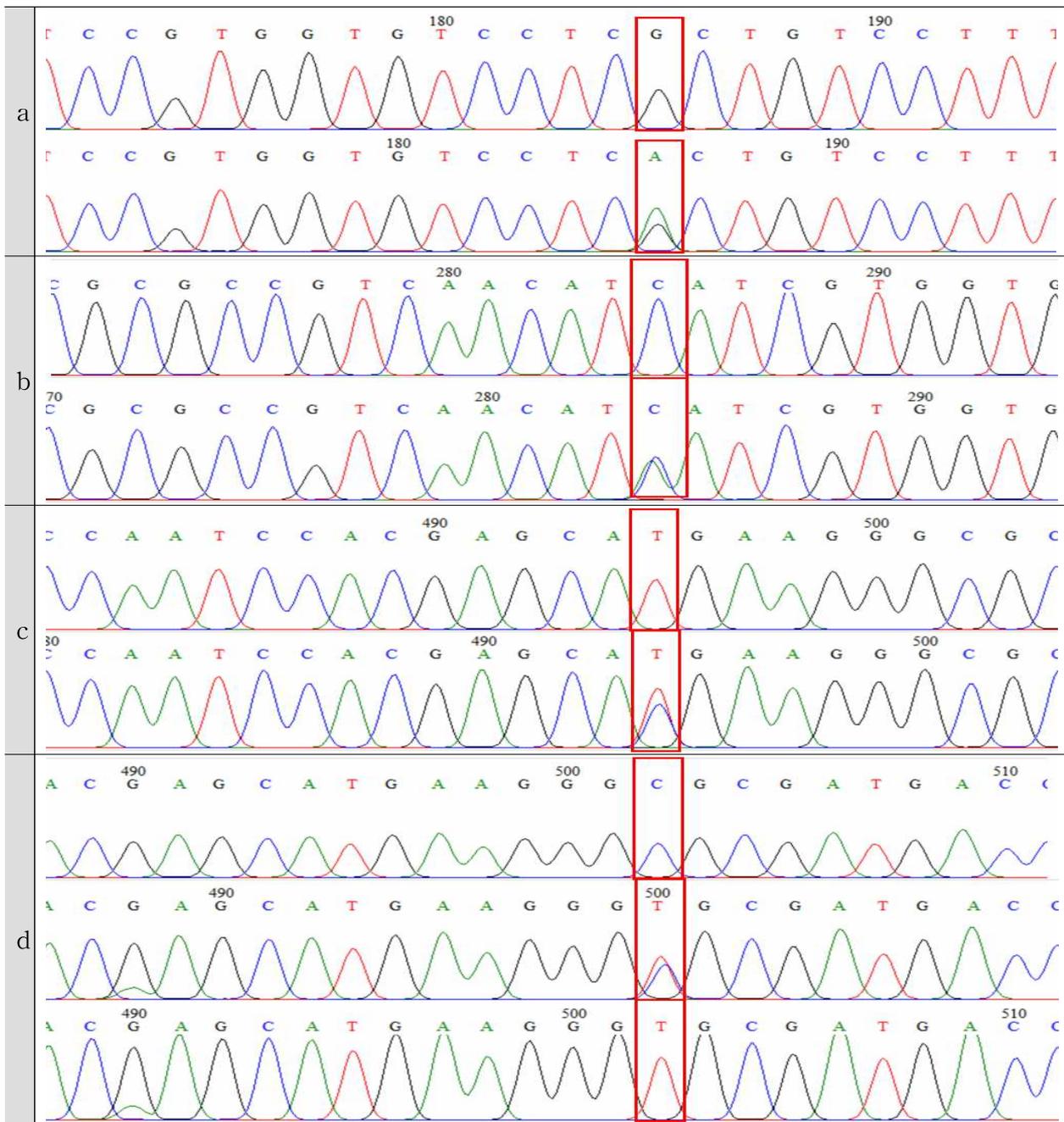


그림 148. 붉바리 MC1R 유전자 서열에서 발견된 SNP 4종. a, g.158G>A; b, g.257C>A; c, g.466T>C; d, g.473gC>T. g.158GAA, g.257AA, g.466CC는 발견되지 않았음.

표 116. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 MC1R g.158G>A, g.257C>A, g.466T>C, g.473C>T 유전자형의 체색별 분포

Phenotypes	g.158G>A		g.257C>A		g.466T>C		g.473C>T		
	GG	GA	CC	CA	TT	TC	CC	CT	TT
Type 1	9	1	9	1	6	4	4	4	1
Type 2	9	1	9	1	9	1	4	5	2
Type 3	2	1	3	1	4	0	2	2	0
Type 4	6	4	10	0	7	3	6	4	0

- 붉바리 양식3세대(F3) 종자의 체색에서 구분된 4가지 유형과 MC1R 유전자형 사이에는 명확한 상관을 나타내지는 않았음.

▶ 수출 종자 양식3세대(F3) 집단에서 MCHR 유전자 SNP 검출과 표현형 상관

- Melanin concentrating hormone receptor (MCH)는 MSH (melanocyte stimulation hormone)의 길항제로 작용하며, 포유동물에서 색소세포 내 melanin 함량을 조절하는 유전자 중 하나임.

표 117. 붉바리 MCHR 유전자에서 발견된 SNP g.247T>del의 서열

```

98
TTTTTTTTTCTATTTCCACGTTTTCTTAATTTGTCAGTACATTGACCTCTAAGGGCCACCGTAGTTATCTGCACTGCAGTTTGTAGGATTTA
GGGTTTGTGAGCTTGACCAGTGCTAAAGATTAAGTTCACGATATCTCAACCCGTGAGAGTGCCTCTTTAAAGGTATTAAGCTAGAATTAT
ACACAGGGCCCATTTTCAACATGTTTACATTTTGTAAATGTAACAT(deiT)GTAGTCATAAATATTAACCAACCTGCACATTATCAAA
TTATCATAACTTAATTTCCACAGAGTGAACCTGCAACCCGGGGCCTAGCTCCCCACTCTGCCAGCAGCTAATCCAGCCTC
    
```

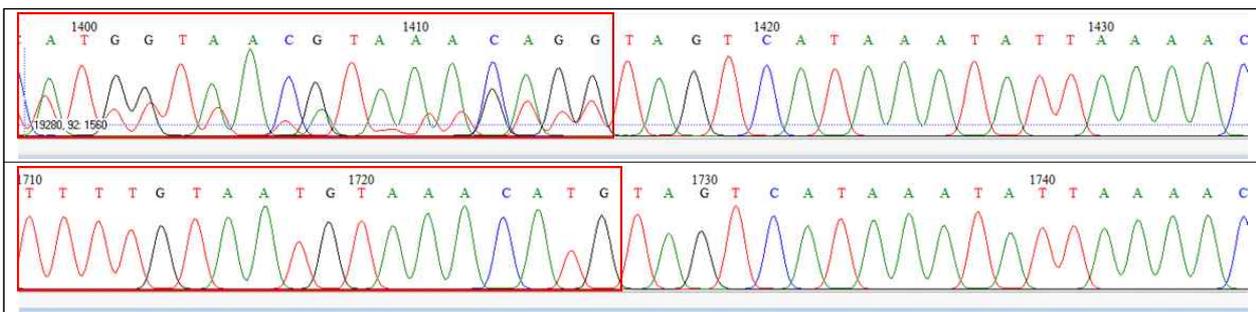


그림 149. 수출용 붉바리 양식3세대(F3) 종자에서 MCHR g.247T>delT 다형성의 검출. 위, T/delT; 아래, TT

- MCHR g.247T>delT 다형성이 검출되었고, g.247 지점에서 염기 삽입/결실(insertion/deletion) 변이이며, 유전자형은 T/T, T/delT가 확인되었고, delT/delT는 확인되지 않았음.

표 118. 붉바리 양식3세대(F3) 종자 집단에서 MCHR g.247T>delT 유전자형의 체색별 분포

Phenotypes	TT	T/delT
Type 1	9	1
Type 2	6	4
Type 3	2	2
Type 4	8	2

▶ 체색 연관 유전자 마커의 유전자형을 이용한 친어 선발

- 친어 후보 집단의 체색 표현형을 유형별로 구분하고, MC1R, MCHR 유전자형과 표현형 연관 비교를 통해 표현형 연관 유전자형 보유 개체를 이용한 양식3세대(F3) 종자를 생산하는데 이용하였음.

다. 경제적 성과

(1) 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹

(가) 국내 시장 네트워킹

① 신규 거래처 발굴

- 2017년 영어조합법인 행복나눔, 2018년 태창수산, 2019년 하늘수산, 만해수산, 신대창수산, 2021년 동주수산
- 국내 시장 확대를 위한 거래처 관리
 - 마케팅 지원(북바리 상품 시장 판매 확대를 위한 공동 마케팅)
 - 기술 지원(주기적인 방문 사양 관리 기술 지원 및 어병 관리)



(영)행복나눔현장 방문 기술 지원



태창수산 업무협약체결 (2020.03.23.)

국내판매 바이어 방문 (2021.10.18.)

<국내 시장 확대를 위한 네트워크>

② 거래처 붉바리 상품 판촉 지원

- 거래처 (영)행복나눔 사육 붉바리 상품 제주 도내 횃집 판매

거래처	판매량	판매액	비고
대풍미락	84kg	5,043,000원	제주도내 요식업체
성일수산	35kg	2,100,000원	제주도내 수산도매업체
기타	4.8kg	288,000원	
합 계		7,431,000원	



<붉바리 상품 판매 (대풍미락)>

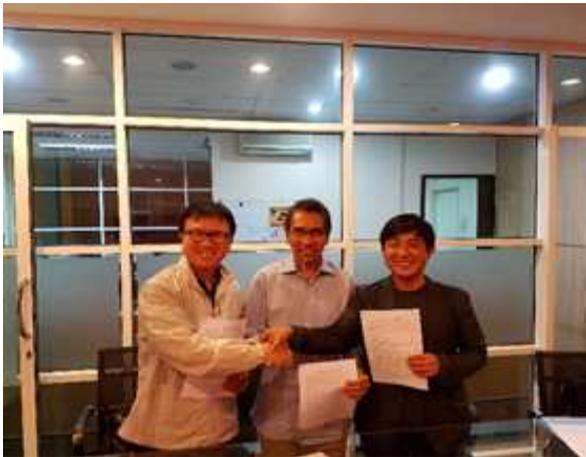
(나) 수출 확대를 위한 네트워킹

① 말레이시아 수출 네트워크

■ Aqua77 Sdn Bhd / Ain Aquaculture Sdn. Bhd.

(위치 : 말레이시아 코타바루 Kota Bharu)

- Aqua77 Sdn Bhd, 제주대학교, 어업회사법인 씨알간 붐바리 종자 수출 관련 3자 업무협약체결(2016.10.15.)
- Aqua77 Sdn Bhd 현지 방문 및 수출 협의 (2017.07.26.~27)
- 말레이시아 코타바루 현지 양식업체 Aqua77 Sdn. Bhd, Ain Aquaculture Sdn. Bhd. 방문
- 바리과어류 전문 양식업체로 붐바리 종자 거래 협의
- 붐바리 종자 수출 진행(2017년) : 붐바리 종자 44,200마리(100,128\$) 수출 진행



업무협약식

(Aqua77 Sdn Bhd, 제주대학교, 어업회사법인 씨알)



Ain Aquaculture 방문



붐바리 종자 수출 관련 업무 협의



붐바리 종자 수출 진행

<말레이시아 현지 양식업체 Aqua77 Sdn Bhd 수출 네트워크>

■ Kimtau Aquaculture Sdn.Bhd. 그룹 (위치 : 말레이시아 페낭 Penang)

- Kimtau Aqua. 기업 관계자 제주대학교 및 어업회사법인 씨알 내방(來訪) (2018년 01월)
 - 붉바리 종자 수출 협의 : 붉바리 종자 3.9만마리(82,037\$) 수출 진행
 - 말레이시아 페낭 현지 Kimtau Aqua. 방문 협의
(2018년 08월/2019년 02월/2019년 08월/2019년 10월)
- 말레이시아 페낭 현지에 독립법인 Grouper CR 시설 임대 및 운영 협의
- 붉바리 및 바리류 종자 현지 판매 관련 협의
 - 바리류 종자 현지 판매
- 2018년도(217,980\$) : Kimtau Aqua. 207,900\$, Chye Meng Fishery 10,080\$
- 2019년도(410,688\$) : Kimtau Aqua. 210,600\$, Bestway Aqua. 200,080\$
- 2020년도(600,000\$) : Kimtau Aqua. 285,000\$, Eco Marine Farm. 300,000\$
YC Aqua. 15,000\$



말레이시아 페낭 지역 양식업체 Kimtau Aqua. 그룹 제주도 내방(來訪) (2018년 01월)
(제주대학교, 어업회사법인 씨알 방문 수출 협의)



말레이시아 페낭 방문 Kimtau Aqua. 협의 (2018.08. / 2019.02.)

<말레이시아 현지 양식업체 Kimtau Aqua. 수출 네트워크>

② 싱가포르 수출 네트워크

■ Rong-Yao Fisheries Pte Ltd

- 싱가포르 현지 양식 업체 네트워크 및 수출 진행
 - 붉바리 종자 4,080마리 (8,863\$) 수출 진행 (2019년 09월)

■ Ace Group

- Ace Group 기업 관계자 제주대학교 및 어업회사법인 씨알 내방(來訪) (2020년 02월)
 - 종자 설명회 개최 및 협의회 진행 (2020년 01월 17일)
 - 수출 관련 업무 협약 체결 (2020년 02월 27일)
 - 붉바리 종자 4,353마리(9,080\$) 수출 진행 (2020년 06월)



싱가포르 수출 Rong-Yao Fisheries (2019.09.)



ACE그룹과 업무협약체결(2020.02.)



ACE그룹 초청 종자 설명회(2020.01.)



붉바리 종자 싱가포르 수출 (2020.06.)

싱가포르 붉바리 종자 사육(ACE그룹)

<싱가포르 수출 네트워크>

③ 중화권 수출 네트워크

■ 홍콩 시장 진입을 위한 네트워킹

- 붉바리 종자 시범 수출 진행 : 주식회사 어메이징파인푸드 (홍콩 시장 전문 활어 유통업체)
- 붉바리 종자 100마리 시범 수출 진행 (2021년 12월) : 운반 및 현지 적응 테스트
- 붉바리 종자 본 수출 협의 중 : 기존 10배 상승한 항공 물류비(기존 2,500원/kg에서 25,000원/kg) 문제로 현재 협의 난항
- ☞ 선박 물류 등 대체 방안 강구 중



<홍콩 시범 수출 진행>

■ 중국, 대만 시장 진입을 위한 바이어 협의 (위탁기업 청솔수산)

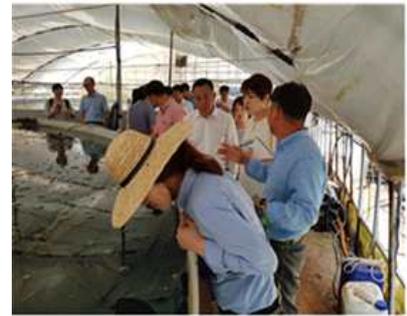
- 중국 샤먼, 동산도, 윈쇼등 현지 기업과 상품 설명 및 수출 상담(2018년 02월)
- 대만 현지 기업과 상품 설명 및 수출 상담(2018년 06월)
- 한중공동치어 방류활동일환 중국 양식관련기관 초청 종자 설명회 수행(2018년 07월)
- 중국 현지 양식기업“해남 특유품수산유한공사“ 청솔수산방문 (2018년 09월)



중국 지역 기업
종자 수출 상담 (2018.02)

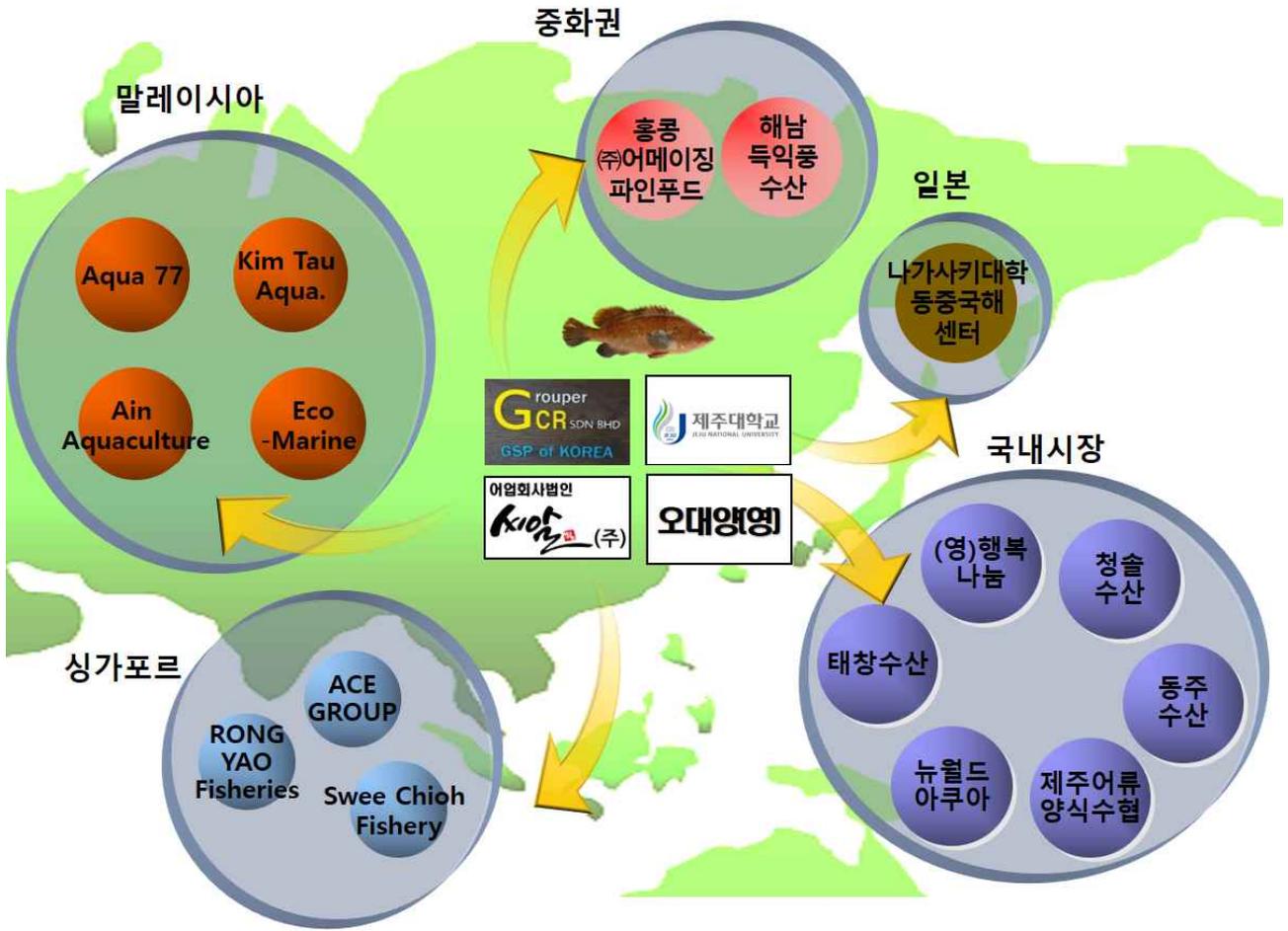


대만 지역 기업
종자 수출 상담 (2018.02)



중국 수산 기관 초청
종자 설명회 (2018.07)

<중국, 대만 수출 네트워크>



<붉바리 종자 글로벌 네트워크>

- (2) 수출국 현지 생산 기반 구축
 (가) 말레이시아 현지 독립 법인 설립

◆ Grouper CR Sdn. Bhd. 현황



<말레이시아 현지 독립법인 Grouper CR Sdn.Bhd.>



- 실내 양식 수조 시설 -



- 육상수조 -



- 못양식장 -

- 바리류종자-

<말레이시아 독립법인 Grouper CR 시설 현황>

(나) 해외 생산기지 운영을 위한 네트워크

■ 말레이시아 현지 협력 업체 1차 협의

- 일시 : 2019. 02. 18. ~ 02. 19.

- 장소 : GROUPER C.R. SDN. BHD. / Kim Tau Aquaculture SDN. BHD. (말레이시아 페낭)

- 참석 : 제주대학교 이영돈 교수 (총괄 및 1세부 프로젝트 책임)

(주)씨알 이치훈 대표(2세부 프로젝트 책임)

GROUPER C.R. 김영철 연구원

Kim Tau Aqua. 관계자

- 내용

- ☞ 해외생산기지 어류 안전 사양 관리 관련 시설 개선 방안 협의
- ☞ 해외생산기지 시설 운영 애로 사항 해결 방안 협의
- ☞ Kim Tau Aquaculture SDN. BHD. 방문 바리류 종자 판매 전략 협의



- GROUPER C.R. 생산 시설 방문 협의 - - 현지 바이어와의 업무 협의 -

<말레이시아 생산기지 운영 네트워크>

■ GSP 업무협의회 참석 및 말레이시아 생산기지 방문

- 일시 : 2019. 08. 08. ~ 08. 10.
- 장소 : GROUPER C.R. SDN. BHD. (말레이시아 페낭) 외
- 참석 : 제주대학교 이영돈 교수 (총괄 및 1세부 프로젝트 책임)
 (주)씨알 이치훈 대표(2세부 프로젝트 책임)
 GROUPER C.R. 김영철 연구원
 Kim Tau Aqua. 관계자
 농기평, 수산종자사업단 관계자 등

- 내용

- ☞ 해외생산기지 기업 Grouper C.R. 운영 상황 공유
- ☞ 해외생산기지 운영 관리 방안 협의
 : 해외생산기지 확대를 위한 투자 유치 계획 협의
- ☞ 바리류 종자 동남아 지역 수출 확대 협의
- ☞ 붉바리 종자 말레이시아 현지 거래처간 간담
- ☞ 말레이시아 Lumut, Perak 지역 바리류 양식장 방문
 : 추가 양식장 확보 관련 현지 답사 등

■ 말레이시아 현지 협력 업체 2차 협의

- 일시 : 2019. 10. 26.
- 장소 : Grouper CR Sdn. Bhd. (말레이시아 페낭)
- 참석 : 제주대학교 이영돈 교수 (총괄 및 1세부 프로젝트 책임)

(주)씨알 이치훈 대표(2세부 프로젝트 책임)

GROUPER C.R. 김영철 연구원

말레이시아 현지 바이어

- 내용

- ☞ 바리류 종자 판매 관련 바이어 협의
- ☞ 바리류 종자 생산 및 관리 상황 점검



- 농기평 GSP사업단 방문 협의회 -



- GROUPER C.R. 방문 -



- GROUPER C.R. 방문 -



- 말레이시아 바리류 양식장 현장 방문 -



<말레이시아 생산기지 운영 네트워크>

■ 말레이시아 현지 생산 기지 바리류 생산 및 판매

- 현지 수요가 높은 바리류 종자 생산을 위한 친어 관리

☞ 자이언트 그루퍼(♀) 200마리, 타이거 그루퍼(♂) 5마리 사육 관리

☞ 바리류 인공 수정란 생산 및 종자 생산 판매

구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계
수정란 생산	2,000cc	3,000cc	3,000cc	1,500cc	9,500cc
종자 생산	17.3만 마리	25.1만 마리	20만 마리	8만 마리	70.4만 마리
현지 판매	217,980\$	410,688\$	600,000\$	75,376\$	1,304,044\$



타이거 그루퍼(♀)



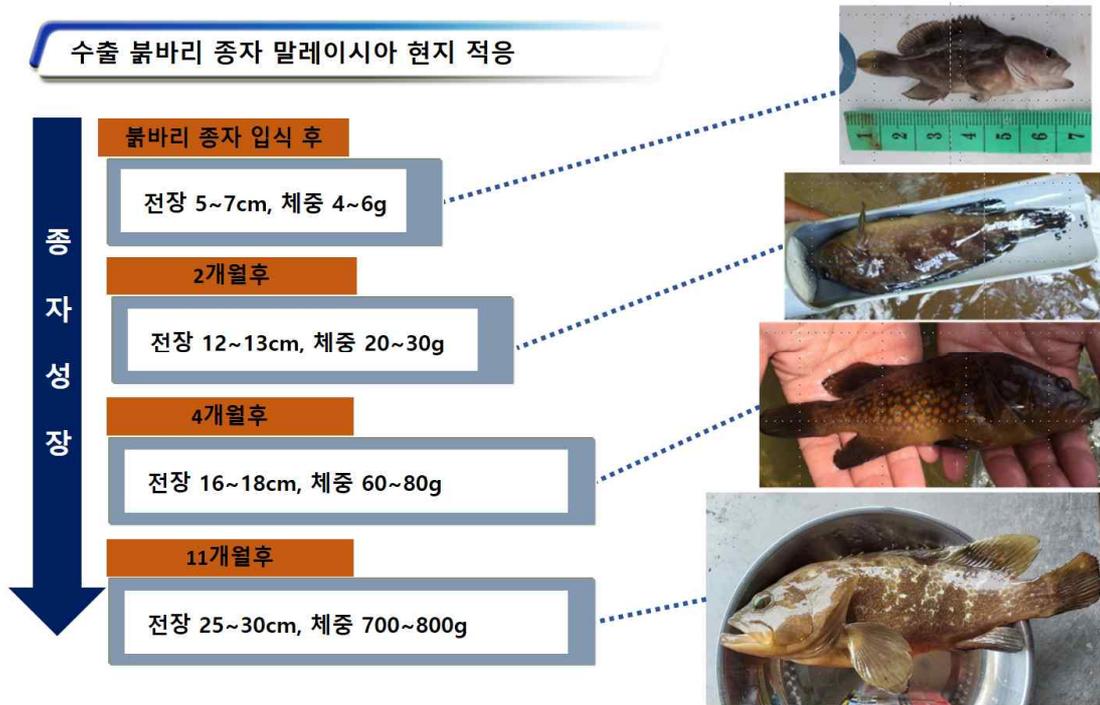
자이언트 그루퍼(♂)

현지 선호 바리류 생산을 위한 친어 관리



바리류 수정란 및 종자 생산(말레이시아 페낭 현지 독립법인 Grouper CR)

- 수출 붉바리 종자 말레이시아 현지 적응



■ 코로나 바이러스(Covid 19) 전세계 대유행으로 인한 해외생산기지 운영 차질

- 2020년부터 전세계적으로 발병된 코로나 바이러스로 인하여 말레이시아 생산기지 운영 차질
 - ☞ 장기간의 이동제한령등으로 인하여 장기간 종자 생산 차질
 - ☞ 말레이시아 Lumut 지역 해외생산기지 추가 구축 계획 잠정 중단
 - ☞ 코로나 장기화로 인하여 말레이시아 양식산업 붕괴 : 종자 수출 및 현지 판매 차질
- 싱가포르 현지 양식업체 SweeChiohFishery Pte Ltd와 공동으로 생산 시설 운영 협의 중
 코로나 사태로 인하여 잠정 중단 된 상태



말레이시아 Lumut 지역 못 양식 시설 임대 추진 (코로나 사태로 잠정 중단 상태)

(3) 종자 국내외 판매

(가) 종자 수출

① 2017년도 수출 성과

수출국	수출일자	수출물량	수출금액	거래처
말레이시아	2017.3.27	3,000마리	8,984 \$	Ain Aqua.
말레이시아	2017.5.29	5,000마리	11,160 \$	
말레이시아	2017.7.19	3,000마리	6,646 \$	
말레이시아	2017.9.19	10,000마리	22,066 \$	
말레이시아	2017.9.25	10,000마리	22,100 \$	
말레이시아	2017.10.10	10,000마리	22,100 \$	
말레이시아	2017.12.26	3,200마리	7,072 \$	
합 계		44,200마리	100,128 \$	



<2017년도 블루바리 종자 말레이시아 수출>

② 2018년도 수출 성과

구분	수출국	수출일자	수출물량	수출금액	거래처
어업회사 법인 씨알 (블루바리)	말레이시아	2018.04.23	5,000마리	11,530 \$	Kimtau Aqua.
	말레이시아	2018.05.14	6,000마리	13,871 \$	
	말레이시아	2018.05.17	6,000마리	12,354 \$	
	말레이시아	2018.05.21	5,000마리	10,006 \$	
	말레이시아	2018.05.24	5,000마리	10,006 \$	
	말레이시아	2018.06.20	3,000마리	5,331 \$	
	말레이시아	2018.06.25	3,000마리	6,646 \$	
말레이시아	2018.12.10	6,000마리	12,293\$		
소계			39,000마리	82,037\$	
Grouper CR (바리류)	말레이시아	2018.12월	165,000마리	207,900\$	Kimtau Aqua.
	말레이시아	2018.12월	8,000마리	10,080\$	Chye Meng Fis.
소계			173,000마리	289,937\$	
합계				300,017\$	



<2018년도 붉바리 종자 말레이시아 수출>

③ 2019년도 수출 성과

구분	수출국	수출일자	수출물량	수출금액	거래처
어업회사 법인 씨알 (붉바리)	싱가포르	2019.09.06	4,080마리	8,863 \$	Rong-Yao Fisheries
소계			4,080마리	8,863\$	
Grouper CR (바리류)	말레이시아	2019.02.	11,250마리	11,588\$	Kimtau Aqua.
		2019.08.	50,000마리	44,500\$	Kimtau Aqua.
		2019.09.	40,000마리	55,200\$	Bestway Aqua.
		2019.10.	70,000마리	149,800\$	Kimtau Aqua.
		2019.10.	80,000마리	149,600\$	Bestway Aqua.
소계			251,250마리	410,688\$	
합계				419,551\$	



- 수출 붉바리 종자 -



- 싱가포르 도착 종자 -

<2019년도 붉바리 종자 싱가포르 수출>

④ 2020년도 수출 성과

구분	수출국	수출일자	수출물량	수출금액	거래처
어업회사법인 씨알 주식회사 (붉바리)	싱가포르	2020.06.25	4,353마리	9,080 \$	ACE그룹 수출대행업체 : (주)지오에스
Grouper CR (바리류)	말레이시 아	2020년도	95,000마리	285,000\$	Kimtau Aqua.
			100,000마리	300,000\$	ECO MARINE FARM
			5,000마리	15,000\$	YC Aqua.
합계				609,080\$	



- 붉바리 종자 수출 포장 작업 -



-수출 붉바리 종자 -



- 붉바리 종자 싱가포르 도착 -



- 붉바리 종자 싱가포르 도착 -



- 싱가포르 ACE 그룹 실내 사육 수조 내 붉바리 종자 -

<2020년도 붉바리 종자 수출>

⑤ 2021년도 수출 성과

구분	수출국	수출일자	수출물량	수출금액	거래처
어업회사법인 씨알 주식회사 (불바리)	말레이시 아	2021.01.14	1,500마리	1,754\$	Tiang Lai Enterprise
		2021.02.09	4,000마리	9,290\$	
		2021.02.23	1,000마리	4,247\$	
	홍콩	2021.12.02	100마리	-	(주)어메이징과인푸드 (시범수출)
소계			6,500마리	15,291\$	
Grouper CR (바리류)	말레이시 아	2021년도	80,000마리	75,376\$	Kimtau Aqua.
합계				90,667\$	



<2021년도 불바리 종자 수출>

⑥ 연차별 수출 성과

판매년도	2017년도	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계
수출금액(\$)	100,079	300,017	419,551	609,080	90,667	1,519,394

(나) 종자 국내 판매

판매년도	2017년도	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계
매출액 (백만원)	100백만원	38백만원	87.3백만원	20백만원	125백만원	370.3백만원
거래처	(영)행복나눔	(영)행복나눔	태창수산 하늘수산 만해수산 신대창수산	태창수산	동주수산	



태창수산 판매 (2019년도)

북바리 종자 통영 판매 운송(동주수산)
(2021년도)

북바리 종자 국내 판매

(4) 기타 성과

(가) 투자 유치 성과

- 해외 생산 기지 구축을 위한 투자 유치 : NUC-4대학창업개인투자조합 2억원 유치
- ※ NUC-4대학창업개인투자조합 : 전남대, 경북대, 부산대, 제주대 4개 대학 기술지주(주)와 한국모태펀드에서 출자한 펀드로 2019년도에 2억원 가량의 투자 유치 신청을 하였고 2020년도 4월 투자 유치에 성공

어업인시범인
바리류 (주)

NUC-4 대학창업 개인투자조합 투자심의회

바리류 해외생산기지 운영 사업계획서

World Best Grouper

투자확인서

투자조합명	NUC-4 대학창업개인투자조합	대표이사명	이정호	전화번호	796-80-01077
주소	제주특별자치도 제주시 을지로 72, 지연한빌 410호(동명동, 전남대학교)	사업자등록번호	200111-0107821	전화번호	062-710-6453
법인명(상호)	바리류(주)	사업자등록번호	616-86-10262		
대표이사명	이정호	전화번호	010-5290-8965		
발행일	2020년 5월 29일	자본금	100,000,000원		
유한책임투자조합	20,000주	액면가	5,000원	업종	농림업
소재지(주소)	제주특별자치도 제주시 조천읍 향남5리 13-5				

투자명세표

일차	유형 (투자/회수)	투자명칭 (보통주/우선주/NCJ/BSJ)	투자주식수	금액 (단위: 원)	비율 (%)	지분율 (%)	비고
2020.5.29.	투자	보통주	2,000주	200,000,000	100	9.08	신규
계							

위와 같이 투자내역을 정히 확인합니다.
2020년 5월 29일
확인사 어업인시범인 박영환 대표이사 서지훈 (인)
한국모태투자협회장 귀하

해외 생산기지 구축을 위한 투자유치(2020.04.)

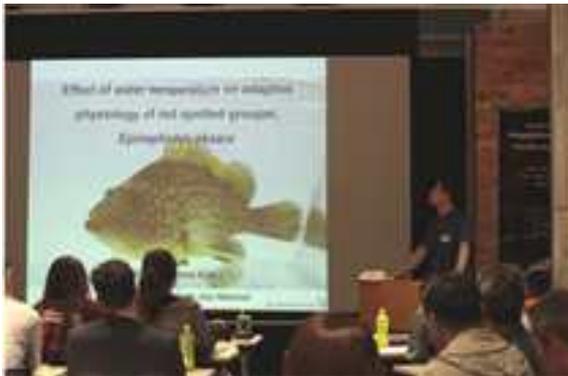
(나) 학회 참석 연구 발표

- 국제 심포지엄 연구 발표

- ☞ The 16th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China (중국 상해, 2019.10.17. ~10.19.)
- ☞ The 15th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China (일본 홋카이도 2018.08.29. ~09.02.)
- ☞ The 14th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China (부경대 2017.08.31. ~09.02.)
- ☞ ASIAN-PACIFIC AQUACULTURE 2017 (말레이시아 쿠알라룸푸르 2017.07.24. ~07.25.)

- 국제 심포지엄 연구 발표

- ☞ 제40회 한국발생생물학회 발표(성신여대 2021.12.10. ~ 12.)
- ☞ 제39회 한국발생생물학회 발표(성신여대 2020.10.29. ~ 30.)
- ☞ 제38회 한국발생생물학회 발표(성신여대 2019.08.30. ~ 31.)
- ☞ 제37회 한국발생생물학회 발표(성신여대 2018.08.17. ~ 18.)
- ☞ 제36회 한국발생생물학회 발표(성신여대 2017.08.25. ~ 26.)



The International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China



한국발생생물학회
학회 참석 연구 발표

(다) 박람회 전시 참가 및 바이어 초청 종자 설명회 개최

- 박람회 전시

☞ 2018 World Seafood shanghai 박람회 전시 참석 (2018.08.28 ~30)

☞ 2017 World Seafood shanghai 박람회 전시 참석 (2017.08.19 ~21)

- 바이어 초청 종자 설명회 개최

☞ 붉바리 우량 종자 설명회 개최 (2021.03.31.)

주최 : 제주대학교, 어업회사법인 씨알(주) / 바이어 : 동주수산

☞ 싱가포르 바이어 초청 종자 설명회 개최 (2020.01.17.)

주최 : 제주대학교, 어업회사법인 씨알(주) / 바이어 : ACE그룹

☞ 붉바리 우량 종자 설명회 개최 (2019.07.11)

주최 : 제주대학교, 어업회사법인 씨알(주) / 바이어 : 태창수산

☞ 바리류 우량 종자 설명회 개최 (2018.07.24)

주최 : 청솔수산/ 초청 : 중국 농업농촌부외



World Seafood shanghai



바이어 초청 종자 설명회

(라) 매체 홍보

- 농업경제신문 “씨알(주), GSP 사업 품목 '붉바리'로 해양수산부 장관상 수상”(2021.12.17)
- 연합뉴스 “정용진 먹었다는 회 한점 1만원 '붉바리' 대량 생산 눈앞”(2021.06.19.)
- 국제뉴스 “제주대 북촌 바다 붉바리 치어 방류”(2021.06.02.)
- 헤드라인제주 “제주대 함덕 바다 붉바리 치어 1만5000마리 방류”(2021.05.12.)
- 에코비전21 “바다는 생명의 원천이다” (2020년 06월호)
- MBC “쫄깃쫄깃 '붉바리' ... 처음으로 양식 성공”(2019.04.15.)
- 경향신문 “고급 횡감 '붉바리' 완전 양식 성공” (2019.04.09.)
- KBS제주 “최고급 횡감 '붉바리', 제주서 첫 양식 성공” (2019.05.06.)
- 파이낸셜뉴스 “다금바리보다 귀한 제주산 '붉바리', 중화권 수출길 '활짝’”(2018.12.10.)
- [fn이사람] 최고급 횡감 '붉바리' 연중 생산 길 튼 이영돈 제주대 교수(2018.12.11.)
- KBS “고급어종 '붉바리양식' 성공에 수출까지 (2017.05.29.)
- 연합뉴스 “양식 개발한 붉바리 우량종자, 말레이시아에 10만달러 어치 수출 (2017.10.16.)



매체 홍보

(마) 붉바리 종자 지역 연안 방류

- 붉바리종자 3,000마리 제주도 함덕리해역 방류(2019.11.20.)
- 붉바리종자 15,000마리 제주도 함덕리해역 방류(2021.05.11.)
- 붉바리종자 15,000마리 제주도 북촌리해역 방류(2021.06.01.)
- 붉바리종자 15,000마리 제주도 함덕리해역 방류(2021.08.13)

귀한 어종 '붉바리' 1만5천마리 제주 바다 방류

등록 2021.05.12 18:18:45

다승순가가

제주대·씨알, 수정란 생산하고 종자 키운 지역



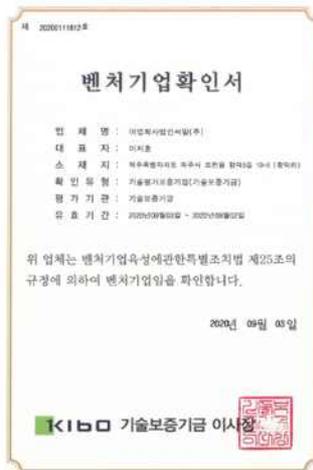
순제주대학교 *정안재 및 08 앞지



붉바리 종자 지역 연안 방류

(바) 인증실적

- 국제양식수산인증GLOBAL G.A.P. 인증 획득 (2017.01. 26.)
 - ☞ 붉바리품종-친어-수정란-종자 양식 생산 전 과정 인증
 - ☞ 인증번호 : 00060-THCFF-0003
- 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 벤처기업인증 획득 (2020.09.03.)
 - ☞ 인증번호 : 제2020011612호
- 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 해양수산부 신기술 인증 (2021.02.08.)
 - ☞ 붉바리조기 친어화를위한 광주기및 수온 조절



인증 실적

(사) 수상실적

- 참여기업 어업회사법인 씨알 이치훈 대표 2021년 해양수산기술사업화대전 해양수산부 장관상 수상 (2021.12.07.)
- 위탁기업 청솔수산 윤낙진 대표 수산의날 수산유공 대통령 표창 수상 (2019.04.03.)
- 프로젝트 책임자 이영돈 교수 Golden Seed Project 우수 연구자 (해양수산부 장관 표창) (2018.10.25.)



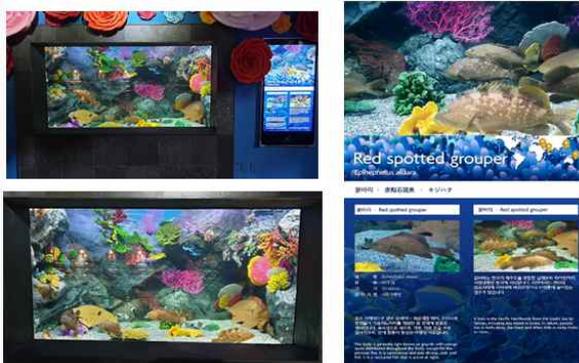
청솔수산 윤낙진 대표 대통령 표창 수상 (2019년도)



어업회사법인 씨알 이치훈 대표 해양수산부 장관상 수상 (2021년도)

(아) 기타 홍보 마케팅

- 롯데월드 아쿠아리움 전시 홍보
 - ☞ 전시일자: 2019. 06. 05. ~
 - ☞ 전시품목: 붉바리성어, 중간육성어, 종자
- 붉바리홍보 책자(국문,영문)제작(2018년도)
- 참여기업 어업회사법인 씨알 브로슈어제작(2018년도)



롯데월드 아쿠아리움붉바리전시 홍보 (2019년)



홍보 인쇄물 (2018년도)

(자) 인력양성 및 고용성과

- 인력양성

연도	인력양성현황
2017년도	석사학위 4명
2019년도	석사학위 3명
2020년도	석사학위 1명
2021년도	석사학위 1명
합 계	9명

- 인력양성

연도	고용인원	비 고
2017년도	6명	제주대학교 6명
2018년도	2명	제주대학교 2명
2019년도	10명	어업회사법인 씨알(주) 10명
2020년도	2명	어업회사법인 씨알(주) 2명
2021년도	1명	어업회사법인 씨알(주) 1명
합 계	21명	

(5) 사업화 성과 및 매출 실적

- 사업화 성과

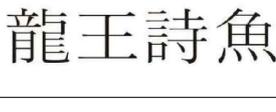
항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	21.7 억원
			향후 3년간 매출	35.0 억원
		관련제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	90.0 억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 11.5% 국외 : 0.01%
			향후 3년간 매출	국내 : 30.0% 국외 : 0.01%
		관련제품	개발후 현재까지	-
			향후 3년간 매출	국내 : 30.0% 국외 : 0.05%
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		-
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		-

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(백만원)	15,000백만원			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		21.7억	125.0억	250.0억	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	11.5	30.0	40.0
국외		0.01	0.05	0.07	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	기타 바리류 (자바리, 능성어 등) 어종으로 확대			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출				

제5절 연구 개발 성과

1. 품종개발

세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139394	제주대	2019. 07.17	제40-150 1140호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139394	제주대	2019. 07.17	제40-150 1141호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139396	제주대	2019. 07.17	제40-150 1142호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139397	제주대	2019. 07.17	제40-150 1143호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139390	제주대	2019.1 0.11	제40-154 5345호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139391	제주대	2019.1 0.11	제40-154 5346호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139392	제주대	2019.1 0.11	제40-154 5347호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139393	제주대	2019.1 0.11	제40-154 5348호	
상표 출원 • 등록		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2018- 0139397	제주대	2019.1 0.11	제40-154 5349호	
상표 출원		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2021- 0262410				
상표 출원		대한 민국	제주 대	2018. 10.11	40-2021- 0262411				

2. 특허

지식재산권 [발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로) 기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1 (등록)	북바리 개체 식별 및 친자 확인 미세위성마커	대한민국	제주대	2017.11.10	10-2017-0149118	제주대	2020.01.02	10-2064039	
2 (등록)	양식어류의 외부형태를 종차이로 이용한 건강증진 관별방법	대한민국	부경대 제주대	2018.04.16	10-2018-0044055	부경대 제주대	2018.12.18.	10-1931998	
3 (등록)	북바리 생육을 위한 어초체	대한민국	제주대	2017.11.14	10-2017-0151328	제주대	2019.12.04.	10-205456	
4 (등록)	북바리 등 어류치어선별 작업장치	대한민국	제주대	2019.10.31.	10-2019-0137804	제주대	2021.12.23.	10-2345243	
5 (출원)	북바리를 포함한 어류 스트레스 저감 및 이탈 방지용 블라인드 네트	대한민국	제주대	2018.10.11.	10-2018-0121242				
6 (출원)	스마트 먹이 생물 배양시스템	대한민국	제주대	2019.10.31.	10-2019-0138040				
7 (출원)	블라인드식 헬터구조	대한민국	제주대	2020.11.10.	10-2020-0149032				
8 (출원)	공지능(AI)시스템을 적용한 자동어류선별장치 및 자동어류선별방법	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2020.11.10.	10-2020-0149033				
9 (출원)	어류 운반 장치	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2020.11.11.	10-2020-0149829				
10 (출원)	블라인드식 헬터 구조	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2021.11.01.	10-2021-0147660				
11 (출원)	인공지능 시스템을 적용한 자동어류선별장치 및 자동어류선별방법	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2021.11.01.	10-2021-0147661				
12 (출원)	활어 운반차량의 안전 하역장치	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2021.11.01.	10-2021-0152832				
13 (출원)	북바리 성장을 위한 온도 조건	대한민국	제주대학교	2021.12.30.	10-2021-0193076				
14 (출원)	북바리 종자 생존율 향상 및 기형 발생 저감을 위한 사양 관리 방법	대한민국	어업회사법인 씨알(주)	2021.11.01.	10-2021-0191357				

3. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	The complete mitochondrial genome and phylogenetic position of the Endangered red-spotted grouper <i>Epinephelus akaara</i> (<i>Perciformes, Serranidae</i>) collected in South Korea	Mitochondrial DNA. Part B. Resources	Yoo Kyung Kim	1	해외	Taylor & Francis Online	SCI
2	Determination of optimal temperature(s) in juvenile red-spotted grouper <i>Epinephelus akaara</i> (<i>Temminck & Schlegel</i>) based on growth performance and stress responses	Aquaculture Research	Jang-Won Lee	49(9)	해외	Wiley Online Library	SCI
3	Development of species-specific PCR for the identification of three grouper fish species (<i>Epinephelus septemfasciatus</i> , <i>E. bruneus</i> and <i>E. akaara</i>)	Indian journal of animal research	Yoo-Kyung Kim	53(4)	해외	ARCC Journals	SCI
4	Induced maturation and fertilized egg production of the red spotted grouper, <i>Epinephelus akaara</i> , using adaptive physiology of photoperiod and water temperature	Aquaculture Research	Chi Hoon Lee	51(5)	해외	Wiley Online Library	SCI
5	Response of appetite-related genes in relation to the rearing water temperature in red spotted grouper (<i>Epinephelus akaara</i>)	Fisheries and Aquatic Sciences	Eun-Jeong Jeon	4	해외	BioMed Central	SCI
6	Response of body color change rearing under different light intensity conditions in farmed red spotted grouper, <i>Epinephelus akaara</i>	Fisheries and Aquatic Sciences	Song-Hee Choi	23(29)	해외	BioMed Central	SCI
7	Acclimation temperature influences the critical thermal maxima (CTmax) of red-spotted grouper	Fisheries and Aquatic Sciences	Md Mofizur Rahman	24(7)	대한민국	BioMed Central	SCI

8	Cathepsin B & D and the Survival of Early Embryos in Red Spotted Grouper, <i>Epinephelus akaara</i>	Development reproduction	Seo-Hui Gwon	21	대한민국	한국발생생물학회	비SCI
9	Correlation of Developmental Deformity with Calcium, Phosphorus, or Estradiol-17 β Levels in Reared Red Spotted Grouper, <i>Epinephelus akaara</i> Juveniles	Development reproduction	Ji Eun Kim	21	대한민국	한국발생생물학회	비SCI
10	Induction of Puberty in Red Spotted Grouper, <i>Epinephelus akaara</i> By Water Temperature	Journal of aquaculture research & development	Sueng-Bo Oh	9(5)	해외	Long dom Publishing SL	비SCI
11	Expression Patterns of Growth Related Genes in Juvenile Red Spotted Grouper (<i>Epinephelus akaara</i>) with Different Growth Performance after Size Grading	Development & reproduction	Seong Hee Mun	23(1)	대한민국	한국발생생물학회	비SCI
12	붉바리(<i>Epinephelus akaara</i>) 기형 발생 치어의 형태형성 유전자 발현	한국해양생명과학회지	유진호	4(1)	대한민국	한국해양생명과학회	비SCI
13	Changes in Blood Cell Morphology and Number of Red Spotted Grouper, <i>Epinephelus akaara</i> in Response to Thermal Stress	Development & reproduction	Md Mofizur Rahman	23(2)	대한민국	한국발생생물학회	비SCI
14	양식 붉바리(<i>Epinephelus akaara</i>) 종자의 개발과 사양관리	한국수산과학회지	부문수		국내	한국수산과학회	비SCI
15	붉바리 서식행동특성을 이용한 사육수조에 쉼터(Shelter)설치가 어류의 성장에 미치는 영향	제주도연구 제55집	강창협	2	국내	제주학회	비SCI

4. 분자마커

분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
1	모계 유전 마커	1	성장관련 모계유전 CR VNTR	2017년
2	MS 마커	1	붉바리 혈통관리, 종자 사후인증	2018년
3	모계유전마커	1	우량 친어 선발용	2018년
4	수온 적응 관련 유전자 마커	1	우량 친어 선발용	2019년

5	체색 관련 유전자 마커	2	우량 친어 선발용	2019년
6	수온 적응 관련 유전자 마커	1	우량 친어 선발용	2020년
7	유전자 진단 마커	1	친어 확인용	2020년
8	속성장 관련 유전자 마커	1	우량 친어 선발용	2020년

5. 국내매출액

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액
1	2017.11.01.	행복나눔영어조합법인	100,000,000
2	2018.10.10.	행복나눔영어조합법인	30,000,000
3	2018.11.02.	국립수산과학원	7,500,000
4	2019.07.24.	태창수산	17,400,000원
5	2019.10.26.	하늘수산	15,000,000원
6	2019.10.26.	만해수산	15,000,000원
7	2019.10.28.	신대창수산	40,000,000원
8	2020.09.18.	태창수산	20,000,000원
9	2021.04.25.	동주수산	125,000,000원

6. 종자수출액

종자수출액(USD)				
번호	수출품목	수출액		
		수출일	수출국	수출금액
1	붉바리종자	2017.03.27.	말레이시아	8,954\$
2	붉바리종자	2017.05.29.	말레이시아	11,146\$
3	붉바리종자	2017.07.19.	말레이시아	6,646\$
4	붉바리종자	2017.09.18.	말레이시아	22,066\$
5	붉바리종자	2017.09.25.	말레이시아	22,100\$
6	붉바리종자	2017.10.10.	말레이시아	22,100\$
7	붉바리종자	2017.12.26.	말레이시아	7,067\$
8	붉바리종자	2018.04.23.	말레이시아	11,530\$
9	붉바리종자	2018.05.14.	말레이시아	13,871\$
10	붉바리종자	2018.05.17.	말레이시아	12,354\$
11	붉바리종자	2018.05.21.	말레이시아	10,006\$
12	붉바리종자	2018.05.23.	말레이시아	10,006\$
13	붉바리종자	2018.06.20.	말레이시아	5,331\$

14	붉바리종자	2018.06.25.	말레이시아	6,646\$
15	바리류종자	2018.10.11.	말레이시아	10,080\$
16	붉바리종자	2018.12.10.	말레이시아	12,293\$
17	바리류종자	2018.12.11.	말레이시아	207,900\$
18	바리류종자	2019.02.25.	말레이시아	11,588\$
19	바리류종자	2019.08.30.	말레이시아	44,500\$
20	붉바리종자	2019.09.06.	싱가포르	8,863\$
21	바리류종자	2019.09.30.	말레이시아	55,200\$
22	바리류종자	2019.10.25.	말레이시아	149,800\$
23	바리류종자	2019.10.27.	말레이시아	149,600\$
24	붉바리종자	2020.06.25.	싱가포르	12,657\$
25	붉바리종자	2020.10.20.	말레이시아	300,000\$
26	바리류종자	2020.10.25.	말레이시아	285,000\$
27	바리류종자	2020.10.27.	말레이시아	15,000\$
28	붉바리종자	2021.01.13	말레이시아	1,754\$
29	붉바리종자	2021.02.08	말레이시아	9,290\$
30	붉바리종자	2021.02.23	말레이시아	4,247\$
31	바리류종자	2021.04.16	말레이시아	75,376\$

7. 기술이전

기술이전					
번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	노하우	붉바리 양식1세대(F1)조기 성숙 유도와 그 개체를 이용한 수정란 생산공정	주식회사 씨알	2017.10.27.	무상
2	노하우	붉바리 양식1세대(F1) 조기 성숙 유도와 그 개체를 이용한 수정란 생산 공정	청솔수산	2018.09.10.	무상

8. 종자 생산

- 국내

생산년도	생산업체	미수	비고
2017년도	어업회사법인 씨알(주)	100,000	붉바리 종자
2018년도	어업회사법인 씨알(주)	107,000	붉바리 종자
	청솔수산	100,000	붉바리 종자
2019년도	어업회사법인 씨알(주)	204,000	붉바리 종자
	청솔수산	100,000	붉바리 종자
	(주)뉴월드아쿠아	600,000	바리류 종자
2020년도	어업회사법인 씨알(주)	600,000	붉바리 종자
2021년도	어업회사법인 씨알(주)	600,000	붉바리 종자
합 계		2,411,000	

- 해외생산기지(GROUPER CR.)

구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계
종자 생산	17.3만 마리	25.1만 마리	20만 마리	8만 마리	70.4만 마리

9. 매뉴얼 제작

번호	연도	매뉴얼 내용
1	2017	붉바리 양식1세대(F1)조기 성성숙 유도 및 수정란 생산 지침서
2	2018	붉바리 품질관리절차서(Quality Management System) 제작
3	2019	붉바리 종자 생산을 위한 먹이생물 배양 매뉴얼
4	2019	붉바리 종자 생산을 위한 먹이 생물 배양 매뉴얼
5	2020	붉바리 대량 종자 생산 사양 관리 매뉴얼

10. 네트워크 활동

번호	연도	활동명	활동내역
1	2017	해외기지구축	말레이시아 현지 독립법인 Grouper C.R. 설립
2	2017	유통채널구축	유통채널 : 어업회사법인 제주수협유통주식회사
3	2017	유통채널구축	유통채널 : 주식회사 대동스카이라니어
4	2017	국내외 판매업체확보	말레이시아 Ain aquaculture
5	2017	국내외 판매업체확보	국내 행복나눔영어조합법인
6	2018	국내외 판매업체확보	말레이시아 Chye Meng Fishery
7	2018	국내외 판매업체확보	말레이시아 Eco-Marine
8	2018	국내외 판매업체확보	말레이시아 Kim Tau Aquaculture
9	2018	유통채널구축	유통채널 : ㈜대상물류
10	2019	국내외 판매업체확보	국내 태창수산
11	2019	국내외 판매업체확보	국내 만해수산
12	2019	국내외 판매업체확보	국내 신대창수산
13	2019	국내외 판매업체확보	국내 하늘수산
14	2019	국내외 판매업체확보	말레이시아 Bestway Aculture
15	2019	국내외 판매업체확보	싱가포르 Rong-Yao Fisheries Pte Ltd
16	2020	유통채널구축	싱가포르 지역 수출 대행업체 (주)지오에스
17	2020	국내외 판매업체확보	싱가포르 Aquaculture Centre of Excellence PTE .LTD
18	2020	국내외 판매업체확보	말레이시아 YC Aculture
19	2021	유통채널구축	유통채널 (주)어메이징과인푸드 시범수출 진행
20	2021	국내외 판매업체확보	국내 양식업체 동주수산

11. 박람회 참가 및 종자 설명회 개최

번호	일자	구분	활동내역
1	2017.08.18.~ 08.21.	박람회 참가	2017 World Seafood Shanghai 국제 박람회 참가
2	2018.08.29.~31.	박람회 참가	2018 중국 상해국제수산박람회 참가
3	2018.07.24	품종 설명회 개최	청솔수산 “바리류 우량 종자 설명회 개최” - 초청 : 중국 농업농촌부의
4	2019.07.11	품종 설명회	제주산 양식 붉바리 우량 종자 설명회 개최 - 초청 : 태창수산
5	2020.01.17.	종자 설명회 개최	싱가포르 바이어 초청 종자 설명회 - 초청 : 싱가포르 ACE그룹
6	2021.03.31.	종자 설명회 개최	붉바리 우량 종자 설명회 개최 - 초청 : 동주수산

12. 언론 매체 홍보

번호	일자	매체	활용내역
1	2017.05.29.	KBS뉴스	“'고급어종' 붉바리 양식 성공에 수출까지”
2	2017.09.01.	에코비전21	“하리리 박사 용암해수 이용한 붉바리 양식 관심”
3	2017.10.17.	연합뉴스	“양식개발한 붉바리 우량종자, 말레이시아에 10만 달러 어치 수출”
4	2018.04.10.	제주新보 등	“붉바리 종자 해외시장 진출 쉬워지나”
5	2018.08.29	매일경제 등	“다금바리보다 귀한 '붉바리' 기후변화 대응 양식 품종 될까”
6	2019.04.09.	경향신문	“고급 횡감 '붉바리' 완전 양식 성공”
7	2019.04.10.	국민일보	“제주 특산 붉바리 완전 양식 성공”
8	2019.04.15.	MBC	“졸깃졸깃 '붉바리'... 처음으로 양식 성공”
9	2019.05.06.	KBS	“최고급 횡감 '붉바리', 제주서 첫 양식 성공”
10	2020.06.	에코비전21	“바다는 생명의 원천이다”
11	2021.12.17.	농업경제신문	“씨알(주), GSP 사업 품목 '붉바리'로 해양수산부 장관상 수상”
12	2021.06.19.	연합뉴스	“정용진 먹었다는 회 한점 1만원 '붉바리' 대량 생산 눈앞”
13	2021.06.02.	헤드라인제주	“제주대 복촌 바다 붉바리 치어 방류”
14	2021.05.12.	헤드라인제주	“제주대 함덕 바다 붉바리 치어 1만5000마리 방류”

13. 인증실적

번호	일자	수상내역
1	2017.01.26	참여기업 어업회사법인 씨알(주)국제양식수산물인증GLOBAL G.A.P. 인증 획득 (인증번호: 00060-THCFF-0003)
2	2019.09.03	참여기업 어업회사법인 씨알(주) 벤처기업인증 획득(인증번호:제2020011612호)
3	2021.02.08	참여기업 어업회사법인 씨알(주) 해양수산부 신기술 인증(인증번호:제2021-07호)

14. 수상실적

번호	일자	수상내역
1	2018.10.25	프로젝트 책임자 이영돈 교수 Golden Seed Project 우수 연구자 (해양수산부 장관 표창)
2	2019.04.03	위탁기업 청솔수산 윤낙진 대표 수산의날 수산유공 대통령 표창 수상
3	2021.12.07.	참여기업 어업회사법인 씨알 이치훈 대표 2021년 해양수산기술사업화대전 해양수산부 장관상 수상

15. 인력양성

연구인력 활용/양성 성과													
번호	분류	기준년도	인력양성 현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	인력양성	2017		4			1	3			1		3
2	인력양성	2018	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
3	인력양성	2019		3			1	2			1		2
4	인력양성	2020	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
5	인력양성	2021		1			1						1

16. 고용성과

구분	2017년도	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계
고용	6명	2명	10명	2명	1명	21명

17. 기타

번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2017	홍보물 제작	Epinephelus akaara Red spotted grouper 붉바리 발행
2	2018	홍보물 제작	참여기업 어업회사법인 씨알 브로슈어제작
3	2019	홍보 전시	붉바리 롯데월드 아쿠아리움전시 홍보

제3장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제1절 목표

사업목표	사업내용	정량적 목표	성과지표
1. 붉바리 육종 친어관리	<ul style="list-style-type: none"> 수출용 육종종자 생산을 위한 친어관리 붉바리 세대별(F0, F1, F2) 친어 상시 성 성숙 유도 세대별 번식생리 특성 맞춤 사양관리 지침 구축 형질전환 마커 개발(성장, 수온, 체색 등) 근친근절 프로그램 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 품종 및 브랜드 출원 3건 	
2. 붉바리 건강 수정란 대량 생산	<ul style="list-style-type: none"> 건강수정란 상시 대량생산 붉바리 세대별(F0, F1, F2)수정란 생산 수정란의 난질 특성 탐색 	<ul style="list-style-type: none"> 품종 및 브랜드 등록 1건 특허출원 11건 	<ul style="list-style-type: none"> 종자수출 300만불
3. 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증	<ul style="list-style-type: none"> 붉바리 종자 대량 생산 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색 붉바리 체색관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술개발 다중형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리 	<ul style="list-style-type: none"> 특허등록 6건 논문(SCI) 16건 논문(비SCI) 5건 	<ul style="list-style-type: none"> 종자국내판매 700백만원 상품크기까지 생존율 40%이상
4. 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> 국내 시장 네트워킹 수출 확대를 위한 네트워킹 	<ul style="list-style-type: none"> 분자마커개발 10건 해외기지구축 3건 	<ul style="list-style-type: none"> 기형율 20%미만
5. 수출국 현지 생산 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> 수출국 현지 생산 기반 기술 협력 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 	<ul style="list-style-type: none"> 기술실시 2건 	
6. 붉바리 종자 국내외 판매망 확보 및 종자 판매	<ul style="list-style-type: none"> 국내외 판매망 확보 종자 수출 및 국내 판매 	<ul style="list-style-type: none"> 인력양성 10건 	

제2절 목표 달성여부

1. 연구개발 성과목표 대비 실적

사업목표	사업내용	달성도(%)
1. 붉바리 육종 친어 관리	<ul style="list-style-type: none"> 수출용 육종종자 생산을 위한 친어관리 붉바리 세대별(F0, F1, F2) 친어 상시 성 성숙 유도 세대별 번식생리 특성 맞춤 사양관리 지침 구축 형질전환 마커 개발(성장, 수온, 체색 등) 근친근절 프로그램 개발 	100%
2. 붉바리 건강 수정란 대량 생산	<ul style="list-style-type: none"> 건강수정란 상시 대량생산 붉바리 세대별(F0, F1, F2)수정란 생산 수정란의 난질 특성 탐색 	100%
3. 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증	<ul style="list-style-type: none"> 붉바리 종자 대량 생산 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색 붉바리 체색관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술개발 다중형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리 	100%
4. 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> 국내 시장 네트워킹 수출 확대를 위한 네트워킹 	100%
5. 수출국 현지 생산 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> 수출국 현지 생산 기반 기술 협력 수출국 현지 생산 기반 운영 지원 	100%
6. 붉바리 종자 국내외 판매망 확보 및 종자 판매	<ul style="list-style-type: none"> 국내외 판매망 확보 종자 수출 및 국내 판매 	80%

(단위 : 건수)

성과목표	품종 및 브랜드 개발		특허		논문		친어 (모패, 계통주) 확보	유전 자원		분자 마커	해외 기지 구축	기술 실시 (이전)	수입 대체율 (%)	종자 수출액 (만달러)	국내 매출액 (백만원)	종자 생산 (만미)	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록								
최종목표	3	1	11	6	16	5				10	3	2		300	700	190	10
1차 년도	목표		3		3	1				2	1	1		10	50	10	2
	실적		2		1	2				1	1	1		10	100	10	4
2차 년도	목표	1	2	1	4	1				2		1		30	100	20	2
	실적	9	2	1	1	1				3		1		30	37.5	20	
3차 년도	목표		1	2	3	3	1			3	1			60	150	40	2
	실적		9	2	2	1	4			3				41.9	87.4	1156	3
4차 년도	목표		3	1	3	1				3				100	200	60	2
	실적		3	1	3	1				3				61.2	20	60	1
5차 년도	목표	2		1	1	3	1				1			100	200	60	2
	실적	2		5	1	1	1							9.1	125	60	1
합계	목표	3	1	11	6	16	5			10	3	2		260	700	190	10
	실적	11	9	14	5	7	9			10	1	2		152.2	369.9	265.6	9

제3절 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

1. 논문(SCI논문 9건 미달성)
 - SCI논문 5건 투고 진행 중
2. 특허등록(1건 미달성)
 - 기 특허출원건 특허 등록 대기 중
3. 해외기지구축(2건 미달성)
 - 말레이시아, 싱가포르 해외기지 추가 구축 진행 중이었으나 코로나 바이러스(Covid 19) 전 세계 대유행으로 잠정 중단 된 상태임. 코로나 바이러스 사태가 진정 되는대로 다시 논의 재개 예정임
4. 종자 수출액(107.8만 미달성)
 - 코로나 바이러스(Covid 19)상황이 장기화됨에 따라 말레이시아 현지 생산 및 판매 계획 차질 및 코로나 사태로 인한 말레이시아 양식 산업 붕괴로 인한 수출 거래처 재정 악화 그리고 기존 대비 10배 상승한 물류비(기존 2,500원/kg에서 25,000원/kg)로 인하여 수출 진행 차질
 - 상대적으로 수출 여건이 개선된 홍콩, 일본, 싱가포르 지역의 바이어를 타겟으로 적극적인 수출 판촉 진행 중
5. 국내 매출액(330백만원 미달성)
 - 코로나 바이러스(Covid 19)사태로 인한 국내 양식 업체의 보수적인 경영 패턴으로 계획대비 국내 판매 부진
 - 제주도 및 남해안 지역 양식업체를 대상으로 판촉 진행중임.

제4절 연구결과의 활용 계획 등

1. 연구 결과 활용 계획
 - 안정적 상시 수정란 생산을 위한 사육환경에 적응하는 생리적 이용기술 정보 활용
 - 수출용 육종종자 생산을 위한 선발 어미 확보 및 후세대번식제어
 - 최적화된 바리과 친어 관리 시스템 구축 및 운영을 통한 선발 육종
 - 붉바리 전장 유전체 정보를 바탕으로 성장, 수온, 체색 등 관련 유전자 선발 육종을 통한 친어 관리 및 종자 생산
 - 친어 참여기업 이관 관리 : 사업 종료 후 친어를 포함한 육종중인 종자의 관리 주체를 참여기업 어업회사법인 씨알 주식회사 등으로 이관하여 지속적으로 관리할 계획

2. 기대효과

- 수요자 요구 중심의 맞춤형 건강수정란 공급을 통한 종자생산 기회 다양화
- Puberty 조기유도기술 실용화를 통해 바리과 어류의 성숙연령 단축으로 육종 평가의 효율성 제고
- 세계 최초 붉바리 전장 유전체 해독을 통한 붉바리 유전육종 프로그램 강화
- 건강 붉바리 육종 종자 대량 생산을 통한 수출 확대 및 매출 증대

붙임. 참고문헌

- Ankorion, Y., 1966. Investigation on the heredity of some morphological traits in the common carp, *Cyprinus carpio* : Ph. D. Thesis, The Hebrew University, Israel.
- Beacham, T.D., Pollard, S. and Le, K.D. (2000) Microsatellite DNA population structure and stock identification of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Nass and Skeena Rivers in northern british columbia. Mar. Biotechnol., 2: 587 - 600.
- Burel, C., Ruyet, P. L., Gaumet, F., Le Roux, A., Severe, A., & Boeuf, G. (1996). Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. Journal of Fish Biology, 49(4), 678-692.
- Carrillo, M., Zanuy, S., Felip, A., Bayarri, M. J., Molés, G., & Gómez, A. (2009). Hormonal and environmental control of puberty in perciform fish. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1163(1), 49-59.
- Chen, S.P., Liu, T., Li, Z.F. and Gao, T.X. (2008) Genetic population structuring and demographic history of red spotted grouper (*Epinephelus akaara*) in South and East China Sea. Afr. J. Biotechnol., 7: 3554 - 3562.
- Dockray, G. J. (2009). Cholecystokinin and gut - brain signalling. Regulatory peptides, 155(1), 6-10.
- Duchesne, P., Godbout, M.H. and Bernatchez, L. (2002) PAPA (package for the analysis of parental allocation): a computer program for simulated and real parental allocation. Mol. Ecol. Notes, 2: 191 - 193.
- Dunham, R.A., 1996. Contribution of genetically improved aquatic organism to global food security. International conference on sustainable contribution of fisheries to food security. Government of Japan and FAO, Rome, 150pp.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol. Ecol., 14: 2611-2620.
- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mole. Ecol. Res., 10: 564 - 567.
- Jobling, M. (1983). Influence of body weight and temperature on growth rates of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). Journal of Fish Biology, 22(4), 471-475.

- Hershberger, W.K., J.M. Myers, R.N. Iwamoto, W.C. Macauley and A.M. Saxton. 1990. Genetic changes in growth of coho salmon in marine net pens, produced by ten years of selection. *Aquaculture*, 85:187-197.
- Gjerde, B., 1986. Growth and reproduction in fish and shellfish. *Aquaculture*, 57:37-55.
- Goos, H. T. (1993). Pubertal development: big questions, small answers. (in) F. Facchinetti, I. W. Henderson, R. Pierantoni and A. M. Polzonetti-Magni(eds.), *Cellular Communication in reproduction*, *Journal of Endocrinology*. Bristol, UK, pp. 11-20.
- Gracheva, E. O., & Bagriantsev, S. N. (2015). Evolutionary adaptation to thermosensation. *Curr. Opin. Neurobiol*, 34, 67-73.
- Kastenhuber, E., Gesemann, M., Mickoleit, M., & Neuhauss, S. C. (2013). Phylogenetic analysis and expression of zebrafish transient receptor potential melastatin family genes. *Dev. Dyn*, 242(11), 1236-1249.
- Kincaid, H.L., 1983. Results from six generation of selection for accelerated growth rate in a rainbow trout population. *The future of aquaculture in North America (Abstract)*, p. 26-27. *Fish. Cult. Sect.*, American Fisheries Society.
- Kinbb, W., et al., 1997. Selection for growth in the gilthead sea bream. *Israel J. of Aquaculture (Bamidgeh)*, 49:57-66.
- Koedprang, W., Na-Nakorn, U., Nakajima M. and Taniguchi, N. (2007) Evaluation of genetic diversity of eight grouper species *Epinephelus* spp. based on microsatellite variations. *Fish. Sci.*, 73: 227 - 236.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B. and Pemberton, J.M. (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.*, 7: 639 - 655.
- McConnell, S., Hamilton, L., Morris, D., Cook, D., Paquet, D., Bentzen, P. and Wright, J. (1995) Isolation of salmonid microsatellite loci and their application to the population genetics of Canadian east coast stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 137: 19 - 30.
- Murata, O., S. Miyashita, K. Izumi, S. Maeda, K. Kata, and H. Kumai, 1996. Selective breeding for growth in red sea bream. *Fish. Sci.*, 62:845-849.
- Nelson, R.J., Beacham, T.D. and Small, M.P. (1998) Microsatellite analysis of the population structure of a Vancouver Island sockeye salmon (*Onchyrhynchus merka*) stock complex using nondenaturing gel electrophoresis. *Mol. Mar. Biotechnol.*, 7: 312 - 319.

- Nisembaum, L. G., Besseau, L., Paulin, C. H., Charpantier, A., Martin, P., Magnanou, E., ... & Falcón, J. (2015). In the Heat of the Night: Thermo-TRPV Channels in the Salmonid Pineal Photoreceptors and Modulation of Melatonin Secretion. *Endocrinology*, 156(12), 4629–4638.
- Ogata, H.Y., H. Oku, and T. Murai, 2002b. Growth, feed efficiency and feed intake of offspring from selected and wild Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 211:183–193.
- Okamoto, N. et al., 1993. Resistant of a rainbow trout strain to infectious pancreatic necrosis. *Aquaculture*, 117:71–76.
- Padi, J.N., 1995. Response and correlated response to four generation of selection for increased body weight in the Kansas strain channel catfish growth in earthen ponds. Ph. D. Thesis. Auburn University, US.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. (2006) Genealex 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 6: 288 - 295.
- Pepin, P. (1991). Effect of temperature and size on development, mortality, and survival rates of the pelagic early life history stages of marine fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(3), 503–518.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945 - 959.
- Raymond, M. and Rousset, F. (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248 - 249.
- Rezk, M.A., R.O. Smitherman, J.C. Willams, A. Nichols, H. Kucuktas, R.A. Dunham, 2003. Response to three generation of selection for increased body weight in channel catfish, grown in earthen ponds. *Aquaculture*, 228: 69–79.
- Rozas, J. and Rozas, R. (1995). DnaSP, DNA sequence polymorphism: an interactive program for estimating Population Genetics parameters from DNA sequence data. *Comput. Applic. Biosci.*, 11: 621 - 625.
- Schulz, R.W. and T. Miura, 2002. Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiol. Biochem.* 26: 43 - 56.
- Smith, C.T., Koop, B.F. and Nelson, R.J. (1998) Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids. *Mol. Ecol.*, 7: 1614 - 1616.
- Shearer, K., Parkins, P., Gadberry, B., Beckman, B., Swanson, P., 2006. Effects of growth

- rate/body size and a low lipid diet on the incidence of early sexual maturation in juvenile male spring Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 252, 545 - 556.
- Sunnucks, P. (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecol. and Evol.*, 15: 199 - 203.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetic analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28: 2731 - 2739.
- Taniguchi, N. and R. Perez-Enriquez, 2000. Genetic evaluation of brood stock for aquaculture of red sea bream by DNA markers. *Recent advances in marine biotechnology* vol. 4. Taniguchi, N. and R. Perez-Enriquez, 2000. Genetic evaluation of brood stock for aquaculture of *Aquaculture*, (eds) M. Fingerman and R. Nagabhushanam, Science Publishers, Inc. UK, pp. 1-16.
- Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R. W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., ... & Andersson, E. (2010). Control of puberty in farmed fish. *Gen Comp Endocrinol*, 165(3), 483-515.
- Volkoff, H. (2006). The role of neuropeptide Y, orexins, cocaine and amphetamine-related transcript, cholecystokinin, amylin and leptin in the regulation of feeding in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(3), 325-331.
- Volkoff, H., Canosa, L. F., Unniappan, S., Cerda-Reverter, J. M., Bernier, N. J., Kelly, S. P., & Peter, R. E. (2005). Neuropeptides and the control of food intake in fish. *General and comparative endocrinology*, 142(1), 3-19.
- Wallace, J.C., Kolbeinshavn, A.G. and Reinsnes, T.G. (1988) The effects of stocking density on early growth in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L). *Aquaculture* 73: 101 - 110.
- Waples, R.S. and Do, C. (2008) LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Mol. Ecol.*, 8: 753 - 756.

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 붉바리 우량종자 개발과 국내외 산업화 (영문) Development of golden seed of red spotted grouper and commercial domestic and overseas				
프로젝트 연구기관	제주대학교		프로젝트연구 책임자	(소속) 제주대학교	
참여기업	창조수산, 오대양 영어조합 법인, 어업회사법인 씨알 주식회사, (주)씨랩코리아			(성명) 이영돈	
총연구개발비 (4,065,742천원)	계	4,065,742	총연구기간	2021.01.01.~2021.12.31.(5년 월)	
	정부출연 연구개발비	3,047,000	총 연구 원 수	총인원	157명
	기업부담금	1,015,742		내부인원	119명
	연구기관부담금			외부인원	38명

○ 연구개발 목표 및 성과

- 붉바리 우량 종자 개발 및 국내외 산업화
 - ☞ 친어자원 최적 사육 관리 기술 개발 및 건강 수정란 대량 생산
 - ☞ 붉바리 종자 상품성 검증
- 붉바리 우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화
 - ☞ 붉바리 우량 종자 대량 생산 및 국내외 판매
 - ☞ 붉바리 종자 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹 및 수출국 현지 생산 기반 구축

○ 연구내용 및 결과

- 붉바리 육종 친어 관리 및 수정란 생산
 - ☞ 수출용 육종 종자 생산을 위한 세대별(F0,F1,F2) 친어 확보 및 관리
 - ☞ 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 친어 상시 성 성숙 유도
 - ☞ 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 건강 수정란 상시 대량 생산
- 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증
 - ☞ 붉바리 세대별 종자(F1, F2, F3) 대량 생산
 - ☞ 수출시장 환경 내성 및 적응 생리 특성 탐색
 - ☞ 붉바리 체색 관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달
 - ☞ 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술 개발
- 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹 (말레이시아, 싱가포르, 홍콩 등)
- 붉바리 종자 국내외 판매 (해외판매 152만\$, 국내판매 370백만원)
- 수출국 현지 생산 기반 구축
 - ☞ 말레이시아 페낭 지역 독립법인 설립 운영 (현지 선호 바리류 생산 및 판매)

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 안정적 상시 수정란 생산을 위한 사육 환경에 적응하는 생리적 이용기술 정보 활용
- 수출용 육종 종자 생산을 위한 선발 어미 확보 및 후세대 번식제어
- 최적화된 바리과 친어 관리 시스템 구축 및 운영을 통한 선발 육종
- 붉바리 전장 유전체 정보를 바탕으로 성장, 수온, 체색 등 관련유전자 선발 육종을 통한 친어 관리 및 종자 생산

자체평가보고서

사업단명	수산종자사업단	과제번호	213008-05-5-CG500		
프로젝트명	불بار리 우량종자 개발과 국내외 산업화				
프로젝트연구기관	제주대학교				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	이 영 돈			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	어업회사법인 씨알 주식회사	성 명	이 치 훈
연구기간	총 기 간	2017.01.01.~2021.12.31.		당해 연도 기간	2020.01.01. ~ 2021.12.31.
연구비(천원)	총 규 모	4,062,742		당해 연도 규모	600,001

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

- 당초계획 이상으로 진행
 계획대로 진행
 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2020년도 02월부터 발생하여 현재까지 여전히 진행되고 있는 코로나19 바이러스 전 세계 대유행 사태로 해외생산기지 운영 및 수출 계획에 굉장한 차질이 생겼음. 특히 본 프로젝트의 해외생산기지가 있으며 주요 수출 국가인 말레이시아 지역은 코로나 사태로 인하여 양식 산업이 붕괴되는 수준에 이르러 해당 지역의 양성업체들의 경영난으로 인한 종자 시장의 급격한 침체로 수출과 현지 판매 실적 모두 부진을 면치 못하였고, 말레이시아 지역의 장기간 이동제한령으로 현지 생산기지운영이 정상적으로 운영할 수가 없어 파견 직원이 귀국을 하는등 파행적으로 운영이 이루어져 왔음. 또한 국내 양식 산업 역시 코로나 사태로 인한 미래 불확실성으로 인하여 국내 양성업체들의 불بار리와 같은 신품종에 대한 투자가 굉장히 소극적으로 변하여 국내 판매 역시 계획대로 진행되지 못하였음.

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

- 예상외 성과 얻음
 어느 정도 얻음
 얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	3	1	11	6	16	5	10			700	300	2		10
연구기간 내 달성실적	11	9	14	5	7	9	10			369.9	152.2	2		9
달성율(%)	367	900	127	83.3	43.8	180.0	100			52.8	50.7	100		90

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

- 붉바리 세대별(F0,F1,F2)친어 상시 성 성숙 유도
 - 붉바리의 사육 환경 조건에 적응하는 생리적 특성을 이용한 상시 성 성숙 유도
 - 사육환경에 적응하는 번식 생리 이용기술 이용 사계절 원하는 시기 배우자 확보 가능
- 세대별 번식 생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축
 - 사육환경에 적응하는 성장, 수온, 번식 관련 인자의 생리 특성 적용
- 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술 개발
 - 생존률 향상 및 기형 발생 저감 사양관리 기술 개발 적용
: 생존률향상 (10%→40%이상),기형발생율저감 (50%→20%미만)
- 건강 수정란 상시 대량 생산 및 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 수정란 생산
 - 연중 수정란 생산으로 맞춤형 건강 수정란 생산 시스템 구축·운영
표. 붉바리 세대별 수정란 생산량 (2017년~2021년)

생산 시기	세대별	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
산란 시기	F0	6.2×10 ⁶	3.0×10 ⁶	0.5×10 ⁶	-	-
	F1	-	3.0×10 ⁶	-	0.9×10 ⁶	1.6×10 ⁶
	F2	-	-	0.3×10 ⁶	0.5×10 ⁶	0.8×10 ⁶
비산란 시기	F0	-	4.6×10 ⁶	1.2×10 ⁶	0.3×10 ⁶	-
	F1	-	0.8×10 ⁶	0.24×10 ⁶	2.0×10 ⁶	3.0×10 ⁶
	F2	-	-	-	0.8×10 ⁶	1.0×10 ⁶
총합계		6.2×10 ⁶	11.4×10 ⁶	2.24×10 ⁶	5.5×10 ⁶	6.4×10 ⁶

3-2 과학적 성과

- 붉바리 육종 종자 개발을 위한 형질 전환 마커 개발(성장, 수온, 체색 등)
 - 성장관련 mtDNA CR VNTR 모계유전 마커 개발
 - 성장관련 핵 DNA 유전자 마커 BBR005 개발
 - 수온 적응 관련 HSP70 유전자 SNP 검출
 - 체색 관련 유전자 MC1R, MCHR의 표현형 상관분석
- 근친 근절 프로그램 개발
 - 붉바리 개체 식별 및 친자 확인 위한 미세위성마커 개발(특허등록 제 10-2064039 호 (2020.1.2.))
 - 붉바리 종자 생산에 이용되고 있는 친어의 DNA 확보 및 MS 유전자형 데이터베이스 구축
 - 근친근절 프로그램 적용
 - 품종 인증 및 원산지 추적 시스템 구축
- 붉바리 수정란의 난질 특성 탐색
 - 붉바리 수정란 미토콘드리아 분석
 - 붉바리 미수정란의 지방산 조성비 분석
 - 난질 유래 배발생 단계의 유전인자 발현 분석
- 수출시장 환경 내성, 적응 생리 특성 탐색 및 붉바리 체색 관련 원인 유전자 탐색·분화 발달
 - 해외 수출 시장 대응 고수온, 속성장, 체색 발현 원인 유전자 탐색
 - 속성장 양식3세대(F3)종자 생산 ⇨ 성장률 약20% 향상
 - 붉바리 최적 성장조건 탐색 및 관련 생리 인자 및 분자마커 개발
- 다중 형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리
 - 성장, 수온, 체색 관련 유전자 마커를 적용

3-3 경제적 성과

- 불بار리 국내외 판매망 확보 및 종자 판매

• 종자 수출 및 현지판매

판매 년도	2017	2018	2019	2020	2021	합계
수출금액(\$)	100,079	300,017	419,551	609,080	90,667	1,519,394
수출국	말레이시아	말레이시아	말레이시아/ 싱가포르	말레이시아/ 싱가포르	말레이시아/ 홍콩	

• 종자 국내판매

판매년도	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	합계
매출액 (백만원)	100	38	87.3	20	125	370.3

- 불بار리 우량종자 대량 생산

표. 불بار리 종자 연도별 생산량

(단위: 마리)

구분	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년
불بار리	100,000	200,000	900,000	600,000	660,000

- 불بار리 국내외 판매망 확보

- 말레이시아, 싱가포르, 홍콩 등 해외 판매망 확보 : 말레이시아 Kimtau Aqua. 등
- 국내 판매망 확보 : (영)행복나눔 등

3-4 사회적 성과

- 불بار리 등 바리과 어류의 사계절 수정란 생산 시스템 개발 및 상용화

- 수요자 요구 중심의 맞춤형 수정란 공급 가능
- 연중 종자 생산 공급을 통한 바리과 어류 종자 산업 경쟁력 제고
- 연중 종자 생산 공급을 통한 수출 기회 다양성 확보로 수출 증대 기대

- 해외생산기지 및 수출 네트워크 구축으로 해외시장 개척 및 다변화 기반 마련

- 바리과 어류 전문 양성 기업 육성

3-5 인프라 성과

- 불بار리 최적 사육 시스템 구축

- 불بار리 육종 어미 자원과 생산된 종자(양식1세대, 양식2세대, 양식3세대 및 선발 어미 자원)의 중간 육성 관리 및 종자 생산을 위한 순환여과사육시스템을 이용하여 생물보완안전시스템 구축

- 불بار리 건강 수정란 생산 및 우량 종자 대량 생산을 위한 친어 확보

- F0 200마리, F1 1,050마리, F2 1,000마리 총2,250마리
육종 친어후보군: F2 1,200마리, F3 1,200마리
- 불بار리 양식1세대(F1), 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발어미 자원 확보
 - ☞ 세계 최초 1년생 불بار리 조기 성성숙(Puberty)유도를 통한 육종시간 단축
 - ☞ 유전자 마커-기반 (속성장, 수온, 체색) 우량 친어 집단 조기 선발
 - ☞ 선발육종 및 분자유종을 통한 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발 친어 후보군 확보

- 국내외 시장 확대를 위한 네트워크 구축

- 수출확대를 위한 국제 네트워크 구축 : 말레이시아, 싱가포르, 일본, 홍콩, 중국, 대만 등
- 국내시장 확대를 위한 네트워크 구축
- 해외 수출 시장 확대를 위한 해외생산기지 설립 및 친어 확보
- 말레이시아 현지에 독립법인 Grouper CR. Sdn.Bhd. 설립 운영
 - ☞ 말레이시아 페낭 송하이 페타니 지역
- 현지 수요가 높은 바리류 생산 판매를 위한 친어 확보 및 관리
 - ☞ 타이거 그루퍼 200마리(♀) 200마리, 타이거 그루퍼(♂)5마리 사육관리
- 참여기업의 경쟁력 제고를 위한 전문 인력 인프라 구축
 - ☞ 어업회사법인 씨알(주) 전문 인력 채용 : 관련 분야 박사학위 2명 석사학위 2명 학사학위 1명 채용

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

6. 얻어진 성과와 발표상황

6-1 경제적 효과

- 기술료 등 수익 수 익 :
- 기업 등예의 기술이전 기업명 : 어업회사법인 씨알 주식회사, 청솔수산
- 기술지도 등 기업명 : (영)행복나눔, 태창수산, 동주수산

6-2 산업·지식재산권 등

- 국내출원/등록 출원 11건, 등록 5건
- 해외출원/등록 출원 건, 등록 건

6-3 논문게재·발표 등

- 국내 학술지 게재 8 건
- 해외 학술지 게재 7 건
- 국내외 학·협회 발표 35 건
- 국내 세미나 발표 건
- 기 타 건

6-4 인력양성효과

- 석 사 9 명
- 박 사 명
- 기 타 명

6-5 수상 등

있다

- 2021년 해양수산물기술사업화대전 해양수산부 장관상 (2021.12.07.)
- 2019 수산의날 수산유공 대통령 표창 수상 (2019.04.03.)
- Golden Seed Projecct 우수 연구자 (해양수산부 장관 표창) (2018.10.25.)

없다

6-6 마스크 등의 PR

있다

14 건

없다

7. 연구개발 착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

없다

약간 감소되었다

크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

없다

약간 조정필요

전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

올해에도 계속 진행되고 있는 코로나 바이러스(COVID-19)의 세계대유행(Pandemic)으로 주요 수출 지역인 동남아 지역의 수출 및 해외 생산 기지 확대 사업 지연 및 항공 물류비 급상승 등(약10배 상승)으로 수출에 굉장한 어려움이 있었음

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 :

)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구 성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구 성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는? (※중간·단계평가에 한함)

- 충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는? (※중간·단계평가에 한함)

- 확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

- 즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	제주대학교	교 수	이 영 돈



[별첨 2]

연구성과 활용계획서 (2017~2021)

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	수산	
프로젝트명	붉바리 우량종자 개발과 국내외 산업화			
프로젝트 연구기관	제주대학교	프로젝트연구책임자	이 영 돈	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	3,047,000	1,015,742		4,062,742
연구개발기간	2017. 01. 01. ~ 2021. 12. 31.			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타 () <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

계 획	연구수행결과
① 붉바리 육종 친어 관리	
- 수출용 육종 종자 생산을 위한 친어 확보 및 관리	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 최적 사육시스템을 통한 친어 관리 <ul style="list-style-type: none"> ☞ F0 200마리, F1 1,050마리, F2 1,000마리 총2,250마리 ☞ 육종 친어후보군: F2 1,200마리, F3 1,200마리 • 붉바리 양식1세대(F1), 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발어미 자원 확보 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 세계 최초 1년생 붉바리 조기 성성숙(Puberty) 유도를 통한 육종시간 단축 ☞ 유전자 마커-기반 (속성장, 수온, 체색) 우량 친어 집단 조기 선발 ☞ 선발육종 및 분자육종을 통한 양식2세대(F2), 양식3세대(F3) 선발 친어 후보군 확보
- 붉바리 세대별(F0,F1,F2)친어 상시 성 성숙 유도	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리의 사육 환경 조건에 적응하는 생리적 특성을 이용한 상시 성 성숙 유도 • 사육환경에 적응하는 번식 생리 이용기술 이용 사례질 원하는 시기 배우자 확보 가능

<p>- 세대별 번식 생리 특성 맞춤 사양 관리 지침 구축</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 사육환경에 적응하는 성장, 수온, 번식관련 인자의 생리특성 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 성장: 성장호르몬분비억제호르몬(PSS) 발현변화 ☞ 수온: Transient receptor potential(TRP) 발현변화 ☞ 번식: Kiss, GPR54, GhRH의 발현 변화 → 붉바리 적상사육 수온 26℃~30℃ 																																																				
<p>- 형질 전환 마커 개발 (성장, 수온, 체색 등)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 성장관련 mtDNA CR VNTR 모계유전 마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ CR VNTR 유전자형 중 H03 유전자형의 표현형이 더 우수 • 성장관련 핵 DNA 유전자 마커 BBR005 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 유전자 마커 BBR005의 유전자형에 따른 선발 ☞ g.51G>A, g.53T>C, g.193G>A 유전자형 선발 • 수온 적응 관련 HSP70 유전자 SNP 검출 <ul style="list-style-type: none"> ☞ HSP70 g.85C>T 유전자형 선발 • 체색 관련 유전자 MC1R, MCHR의 표현형 상관분석 																																																				
<p>- 근친 근절 프로그램 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 개체 식별 및 친자 확인 위한 미세위성마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> ☞ ※ 특허등록 제 10-2064039 호 (2020.1.2.) • 붉바리 종자 생산에 이용되고 있는 친어의 DNA 확보 및 MS 유전자형 데이터베이스 구축 • 근친근절 프로그램 적용 • 품종 인증 및 원산지 추적 시스템 구축 																																																				
<p>② 붉바리 건강 수정란 대량 생산</p>																																																					
<p>- 건강 수정란 상시 대량 생산</p> <p>- 붉바리 세대별(F0,F1,F2) 수정란 생산</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 연중 수정란 생산으로 맞춤형 건강 수정란 생산 시스템 구축·운영 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 배정·배란 유도 기술을 통한 연중 건강 수정란 생산으로 수요자 요구 중심의 맞춤형 수정란 생산 <p>표. 붉바리 세대별 수정란 생산량 (2017년~2021년)</p> <table border="1" data-bbox="663 1205 1410 1473"> <thead> <tr> <th>생산 시기</th> <th>세대별</th> <th>2017년</th> <th>2018년</th> <th>2019년</th> <th>2020년</th> <th>2021년</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">산란 시기</td> <td>F0</td> <td>6.2×10⁶</td> <td>3.0×10⁶</td> <td>0.5×10⁶</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>F1</td> <td>-</td> <td>3.0×10⁶</td> <td>-</td> <td>0.9×10⁶</td> <td>1.6×10⁶</td> </tr> <tr> <td>F2</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.3×10⁶</td> <td>0.5×10⁶</td> <td>0.8×10⁶</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">비산란 시기</td> <td>F0</td> <td>-</td> <td>4.6×10⁵</td> <td>1.2×10⁵</td> <td>0.3×10⁶</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>F1</td> <td>-</td> <td>0.8×10⁵</td> <td>0.24×10⁶</td> <td>2.0×10⁵</td> <td>3.0×10⁵</td> </tr> <tr> <td>F2</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.8×10⁶</td> <td>1.0×10⁶</td> </tr> <tr> <td>총합계</td> <td></td> <td>6.2×10⁶</td> <td>11.4×10⁶</td> <td>2.24×10⁶</td> <td>5.5×10⁶</td> <td>6.4×10⁶</td> </tr> </tbody> </table>	생산 시기	세대별	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	산란 시기	F0	6.2×10 ⁶	3.0×10 ⁶	0.5×10 ⁶	-	-	F1	-	3.0×10 ⁶	-	0.9×10 ⁶	1.6×10 ⁶	F2	-	-	0.3×10 ⁶	0.5×10 ⁶	0.8×10 ⁶	비산란 시기	F0	-	4.6×10 ⁵	1.2×10 ⁵	0.3×10 ⁶	-	F1	-	0.8×10 ⁵	0.24×10 ⁶	2.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵	F2	-	-	-	0.8×10 ⁶	1.0×10 ⁶	총합계		6.2×10 ⁶	11.4×10 ⁶	2.24×10 ⁶	5.5×10 ⁶	6.4×10 ⁶
생산 시기	세대별	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년																																															
산란 시기	F0	6.2×10 ⁶	3.0×10 ⁶	0.5×10 ⁶	-	-																																															
	F1	-	3.0×10 ⁶	-	0.9×10 ⁶	1.6×10 ⁶																																															
	F2	-	-	0.3×10 ⁶	0.5×10 ⁶	0.8×10 ⁶																																															
비산란 시기	F0	-	4.6×10 ⁵	1.2×10 ⁵	0.3×10 ⁶	-																																															
	F1	-	0.8×10 ⁵	0.24×10 ⁶	2.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵																																															
	F2	-	-	-	0.8×10 ⁶	1.0×10 ⁶																																															
총합계		6.2×10 ⁶	11.4×10 ⁶	2.24×10 ⁶	5.5×10 ⁶	6.4×10 ⁶																																															
<p>- 수정란의 난질 특성 탐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 수정란 미토콘드리아 분석 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 상층란이 중층란에 비해 mtDNA copy수가 2.24배 높음 ☞ 상층란: 활성 미토콘드리아와 불활성 미토콘드리아 핵 주변에 집중 ☞ 중층란: 불활성 미토콘드리아가 세포질 전체에 산재 • 붉바리 미수정란의 지방산 조성비 분석 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 고도불포화지방산(n-3 PUFA)인 docosa hexaenoic acid (DHA, C22:6)가 가장 높고, n-3 PUFA과 함께 palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1)가 붉바리 미수정란의 주요 지방산으로 확인 • 난질 유래 배발생 단계의 유전인자 발현 분석 <ul style="list-style-type: none"> ☞ Cathepsin family 단백질 중 cathepsin B가 붉바리 난질평가를 위한 배발생단계의 유전자 지표 가능성 제시 																																																				

③ 붉바리 종자 대량 생산 및 상품성 검증

- 붉바리 종자 대량 생산	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 종자 대량 생산 표. 붉바리 종자 연도별 생산량 (단위: 마리) <table border="1" data-bbox="667 407 1380 533"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>2017년</th> <th>2018년</th> <th>2019년</th> <th>2020년</th> <th>2021년</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>붉바리</td> <td>100,000</td> <td>200,000</td> <td>900,000</td> <td>600,000</td> <td>660,000</td> </tr> </tbody> </table>	구분	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	붉바리	100,000	200,000	900,000	600,000	660,000
구분	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년								
붉바리	100,000	200,000	900,000	600,000	660,000								
- 수출시장 환경내성 및 적응 생리 특성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> • 해외 수출 시장 대응 고수온, 속성장, 체색 발현 원인 유전자 탐색 												
- 붉바리 체색 관련 원인 유전자 탐색 및 분화 발달	<ul style="list-style-type: none"> • 속성장 양식3세대(F3)종자 생산 ⇨ 성장률 약20% 향상 • 붉바리 최적 성장조건 탐색 및 관련 생리 인자 및 분자마커 개발 												
- 붉바리 종자 생존률 향상 및 기형 발생 저감 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 생존률 향상 및 기형 발생 저감 사양관리 기술 개발 적용 ⇨ 붉바리 부화자어의 적합한 먹이공급 계열 구축·운영 ⇨ 붉바리 중 특이적 미생물 확보 및 종자 생산 적용 ⇨ 생존률향상 (10%→40%이상),기형발생율저감 (50%→20%미만) 												
- 다중 형질 마커 개발을 통한 육종 종자 관리	<ul style="list-style-type: none"> • 성장, 수온, 체색 관련 유전자 마커를 적용 ⇨ 개체 정보 및 마커 정보 데이터 분석 ⇨ 붉바리 MS 마커 정보 수집 												

④ 국내외 시장 확대를 위한 네트워킹

- 국내 시장 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> • 신규거래처 발굴 : 6개 업체 • 마케팅 지원 ⇨ 붉바리 상품 시장 확대를 위한 공동 마케팅 ⇨ 거래처 붉바리 상품 판촉 지원 • 기술지원 : 방문 사양 관리 및 기술 지원
- 수출 확대를 위한 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 수출 확대를 위한 국제 네트워크 구축 ⇨ 말레이시아, 싱가포르, 일본, 홍콩, 중국, 대만 등

⑤ 수출국 현지 생산 기반 구축

- 수출국 현지 생산 기반 운영 지원	<ul style="list-style-type: none"> • 해외 독립법인 설립 운영 ⇨ 참여기업 어업회사법인 씨알 말레이시아 페낭 지역 Grouper CR 설립 운영 • 해외생산기지 바리류 종자 생산 및 현지 판매 ⇨ 현지 수요가 높은 바리류 종자 생산을 위한 친어관리 : 자이언트 그루퍼(♀) 200마리, 타이거 그루퍼(♂)5마리 사육관리 ⇨ 바리류 인공 수정란 및 종자 생산 																		
- 수출국 현지 생산 기반 기술 협력	표. 바리류 연도별 수정란 및 종자 생산현황 (단위:마리) <table border="1" data-bbox="667 1751 1364 1915"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>2018년도</th> <th>2019년도</th> <th>2020년도</th> <th>2021년도</th> <th>합계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>수정란 생산</td> <td>2,000cc</td> <td>3,000cc</td> <td>3,000cc</td> <td>1,500cc</td> <td>9,500cc</td> </tr> <tr> <td>종자 생산</td> <td>17.3만</td> <td>25.1만</td> <td>20만</td> <td>8만</td> <td>70.4만</td> </tr> </tbody> </table>	구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계	수정란 생산	2,000cc	3,000cc	3,000cc	1,500cc	9,500cc	종자 생산	17.3만	25.1만	20만	8만	70.4만
구분	2018년도	2019년도	2020년도	2021년도	합계														
수정란 생산	2,000cc	3,000cc	3,000cc	1,500cc	9,500cc														
종자 생산	17.3만	25.1만	20만	8만	70.4만														

⑥ 붉바리 종자 국내의 판매량 확보 및 종자 판매

- 국내의 판매량 확보 및 종자 판매	● 종자 수출 및 현지판매						
	판매 년도	2017	2018	2019	2020	2021	합계
	수출 금액(\$)	100,079	300,017	419,551	609,080	90,667	1,519,394
	수출국	말레이 시아	말레이 시아	말레이 시아/ 싱가 포르	말레이 시아/ 싱가 포르	말레이 시아/ 홍콩	
● 종자 국내판매							
	판매년도	2017년	2018년	2019년	2020년	2021년	합계
	매출액 (백만원)	100	38	87.3	20	125	370.3

⑦ 기타

	<ul style="list-style-type: none"> ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 붉바리 양식 생산 전 과정 국제인증 글로벌갭(GLOBALG.A.P.) 인증 획득 (2017.01.26.) ☞ 인증번호 : 00060-THCFE-0003 ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 벤처기업 인증 획득(2020.09.03.) ☞ 인증번호 : 제2020011612호 ● 참여기업 어업회사법인 씨알(주) 해양수산신기술 인증 획득 (2020.02.08.) ☞ 기술명 : 붉바리 조기 친화를 위한 광주기 및 수온조절
--	---

3. 연구비 집행실적 (2017~2021)

- 2017년도

구분	세부프로젝트명	금액	계획금액	사용액	잔액	비고
붉바리	붉바리 우량종자개발과 국내외 산업화		933,400,000	933,400,000	0	
	우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화		-	-	0	
총계			933,400,000	933,400,000	0	

- 2018년도

구분	세부프로젝트명	금액	계획금액	사용액	잔액	비고
붉바리	붉바리 우량종자개발과 국내외 산업화		1,000,000,000	1,000,000,000	0	
	우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화		-	-	0	
총계			1,000,000,000	1,000,000,000	0	

- 2019년도

구분	세부프로젝트명		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
북바리	북바리 우량종자개발과 국내외 산업화			456,000,000	456,000,000	0	
	우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화			473,340,000	473,340,000	0	
총계				929,340,000	929,340,000	0	

- 2020년도

구분	세부프로젝트명		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
북바리	북바리 우량종자개발과 국내외 산업화			249,334,000	249,334,000	0	
	우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화			350,667,000	350,667,000	0	
총계				600,001,000	600,001,000	0	

- 2021년도

구분	세부프로젝트명		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
북바리	북바리 우량종자개발과 국내외 산업화			249,334,000	249,334,000	0	
	우량 종자 대량 생산 기술 개발 및 산업화			350,667,000	350,667,000	0	
총계				600,001,000	600,001,000	0	

4. 연구목표 대비 성과

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략추진 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	3	1	11	6	16	5	10			700	300	2		10
최종실적	11	9	14	5	7	9	10			369.9	152.2	2		9
달성율(%)	367	900	127	83.3	43.8	180.0	100			52.8	50.7	100		90
1차 년도	목표		3		3	1	2			50	10	1		2
	실적		2		1	2	1			100	10	1		4
	달성률			66.7		33.3	200	50		200	100	100		200
2차 년도	목표	1	2	1	4	1	2			100	30	1		2
	실적	9	2	1	1	1	3			37.5	30	1		

	달양	900		100	100	25	100	150			37.5	100	100		-
3차 년도	목표		1	2	3	3	1	3			150	60			2
	실적		9	2	2	1	4	3			87.4	41.9			3
	달양		900	100	66.7	33.3	400	100			58.3	69.8			150
4차 년도	목표			3	1	3	1	3			200	100			2
	실적			3	1	3	1	3			20	61.2			1
	달양			100	100	100	100	100			10	61.2			50
5차 년도	목표	2		1	1	3	1				200	100			2
	실적	2		5	1	1	1				125	9.1			1
	달양	100		500	100	33.3	100				62.5	9.1			50

5. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	사육환경 적응생리 특성을 이용한 연중 세대별 붉바리(F0, F1, F2) 수정란 대량 생산 기술
②	세대별 붉바리 우량 종자(F1, F2, F3) 대량 생산 기술
③	1년생 붉바리 조기 성성숙(Puberty)유도를 통한 육종 시간 단축
④	붉바리 종자 생존을 향상 및 기형 저감 사양 관리 기술
⑤	붉바리 전장 유전체 및 전사체 해독

6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	v	v				v	v	v		
②의 기술	v	v				v	v	v		
③의 기술	v	v						v		
④의 기술					v	v		v		
⑤의 기술	v	v								

* 각 해당란에 v 표시

7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	<ul style="list-style-type: none"> • 세대별 붉바리(F0, F1, F2) 친어의 상시 수정란 생산 및 보급 • 바리류 적응 생리의 기술 경영을 통한 스마트 양식 • 연중 건강 수정란 생산으로 수요자 요구 중심의 맞춤형 수정란 생산 • 최적화된 바리과 친어 관리 시스템 구축 및 운영을 통한 선발 육종
②의 기술	<ul style="list-style-type: none"> • 양식2세대(F2)와 양식 3세대(F3) 붉바리 육종 종자 개발을 통한 종자 브랜드 강화 및 수출 시장 확대 • 건강 붉바리 육종 종자 대량 생산을 통한 종자 기업의 수출 확대 및 매출 증대
③의 기술	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 번식 연령 단축 및 육종 연구 효율성 증대
④의 기술	<ul style="list-style-type: none"> • 종자의 적정 먹이 공급 및 영양성 강화 사양관리기술 적용을 통한 생존율 향상 및 기형발생을 저감 • 종자사양관리, 수질환경(미생물조성), 선별시기 등 종자의 행동생태특성 정보를 이용한 사육관리를 통한 종자 경쟁력 강화
⑤의 기술	<ul style="list-style-type: none"> • 붉바리 전장 유전체 정보를 바탕으로 성장, 수온, 체색 등 관련유전자 선발 육종을 통한 친어 관리 및 종자 생산 • 붉바리 유전육종 프로그램 개발을 위한 다형성 마커 확보 • 전통적인 선발육종과 분자육종의 융합관리

8. 연구종류 후 성과창출 계획

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표	3	1	11	6	16	5	10			700	300	2		10
연구기간 내 달성실적	11	9	14	5	7	9	10			369.9	152.2	2		9
연구종료 후 성과창출 계획				1	9					330.1	147.8			1

9. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술 명	사육환경 적응생리 특성을 이용한 연중 세대별 붉바리(F0, F1, F2) 수정란 대량 생산 기술		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(Kno-How)		
이전소요기간	1년이내	실용화예상시기	1년이내
기술이전 시 선행조건			

핵심기술 명	세대별 붉바리 우량 종자(F1, F2, F3) 대량 생산 기술		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(Kno-How)		
이전소요기간	1년이내	실용화예상시기	1년이내
기술이전 시 선행조건			

핵심기술 명	1년생 붉바리 조기 성성숙(Puberty)유도를 통한 육종 시간 단축		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(Kno-How)		
이전소요기간	1년이내	실용화예상시기	1년이내
기술이전 시 선행조건			

핵심기술 명	붉바리 종자 생존율 향상 및 기형 저감 사양 관리 기술		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(Kno-How)		
이전소요기간	1년이내	실용화예상시기	1년이내
기술이전 시 선행조건			

핵심기술 명	붉바리 전장 유전체 및 전사체 해독		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(Kno-How)		
이전소요기간	1년이내	실용화예상시기	1년이내
기술이전 시 선행조건			

* 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성

** 기술이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

*** 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구보고서입니다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.