

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)
Golden Seed 프로젝트 사업 2단계 최종보고서

발간등록번호
11-1543000-003960-01

아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화

2022.03.25.

프로젝트연구기관 / 순천향대학교 산학협력단
세부프로젝트연구기관 / 한국해양과학기술원
세부프로젝트연구기관 / 청솔수산

농림축산식품부·해양수산부
농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부·해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “Golden Seed 프로젝트 사업”(기간 : 2017.01.01 ~ 2021.12.31.) 아열대 바리와 우량종자 개발과 국내외 산업화 프로젝트의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 03. 25

프로젝트연구기관명 : 순천향대학교 산학협력단	(대표자)전창완(인)
제1세부프로젝트연구기관명 : 순천향대학교 산학협력단	(대표자)전창완(인)
제2세부프로젝트연구기관명 : 한국해양과학기술원	(대표자)김용서(인)
제3세부프로젝트연구기관명 : 청솔수산	(대표자)윤낙진(인)
참여기관명 : ㈜아쿠아바이오텍	(대표자)방인철(인)
참여기관명 : 가로림양식	(대표자)김용구(인)
참여기관명 : 어업회사법인 새원	(대표자)박지숙(인)
참여기관명 : 청솔수산	(대표자)윤낙진(인)
참여기관명 : 신흥해산양식	(대표자)권형숙(인)
참여기관명 : 삼부수산	(대표자)차제연(인)
참여기관명 : 부경수산	(대표자)김민석(인)
참여기관명 : 제주대해(주)	(대표자)임종윤(인)
참여기관명 : 진흥수산종묘배양장	(대표자)최은재(인)

프로젝트연구책임자 : 방인철

세부프로젝트연구책임자 : 방인철, 노충환, 윤낙진

참여기관책임자 : Huynh Duc Tam, 김용구, 우인기, 라성주,
권형오, 차제연, 김민석, 이준민, 최은재

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	213008-05-5-C G400	해당단계 연구기간	60개월	단계구분	2/2
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP수산종자사업단			
프로젝트명	프로젝트명	아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화			
	세부프로젝트명	제1세부 : 종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 산업화 제2세부 : 우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술 개발 제3세부 : 우량종자 대량생산 기술개발 및 산업화			
프로젝트책임자	방인철	해당단계 참여연구원 수	총:123명 내부: 54명 외부: 69명	해당단계 연구개발비	정부:4,031,000천원 민간:693,136.5천원 계:4,724,136.5천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총:123명 내부: 54명 외부: 69명	총 연구 개발비	정부:4,031,000천원 민간:693,136.5천원 계:4,724,136.5천원
연구기관명 및 소속부서명	순천향대학교			참여기업명 (주)아쿠아바이오텍, 가로림양식, 어업회사법인 새원, 청솔수산, 신 풍해산양식, 삼부수산	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (주)아쿠아바이오텍, 빈안아쿠아컬처			연구책임자: 황세원, 한상봉	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반
-------------------------	----

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설·장비	기술요약 정보	소프트웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물자원	정보	실물
등록·기탁번호	1225-8598, 0374-8111, 2287-8815, 2380-2359, 0374-8111, 0044-8486, 2234-7313, 1365-2109	10-1815487, 10-2038705, 10-2077773, 10-2077779, CN 107027661 B, 10-2019-0135033, 10-2020-0162159	11-1192000-000828-01	-	-	-	-			40-1646242 (cá mú K-lai) 40-137692 (대왕범바리) 40-1376919 (꼬리큰점범바리) 40-2021-0017877 (왕다금바리) 40-2018-0059921 (대왕능성어) 40-2018-0059922 (대왕능성어)	

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약

- 어종별 친어확보 및 관리 기술개발 : 어종별 친어확보(804마리) 및 국내외 관리(5어종 1,882마리)
- 순종 및 교잡 수정란 대량생산 공급 : 4어종 정액 동결보존 및 수정에 사용, 대왕범바리 수정란 생존율 향상(42.4→61.2%)
- 해외생산기지(인도네시아, 베트남) 구축과 국내외 활용 가능한 친어를 이용한 인공성숙 (호르몬-HCG, LHRH-a, pellet 등) 및 산란유도와 우량종자 대량생산
- 교잡품종의 수송기술, 수율향상기술, 3배체 유도기술 특허출원 및 등록과 대왕바리 정자 동결기술 등 종자생산 관련 기술 참여기업 기술이전 실시
- 중국, 베트남 등의 동남아시아 지역 국제 시장동향 파악과 수출 대상 국가의 종자생산 동향 파악
- 국내외 참여기업 및 생산기지를 통한 수출액 338.1만\$ 및 내수판매 1,890.6백만원
- 수출용 품종 다양화 및 교잡품종의 육종효율 향상 : 5어종 대상 상업화 가능한 9 교잡조합 발굴, 대왕바리 암컷 이용 교잡종 생산가능성 확인, 성장 모니터링(국내외) 및 체색 발현 향상
- 초기 먹이용 미소플랑크톤 탐색 및 대량배양 : *Tintinnopsis beroidea* 동정 및 대량배양조건 확인
- 초기 먹이용 미소플랑크톤 적정 공급확인 : 난황흡수기 부화자어기 5~7일간 공급, 10~15 inds./cc 밀도로 공급이 적정, 난황흡수기 부화자어 생존율 향상(약 74%)
- 아열대 바리과 생산, 유전정보, 생물학적 특성 관련 SCI논문 8편, 비SCI 8편
- 특허 출원 5건, 특허등록 9건, 품종출원 6건, 품종 등록 3건

보고서 면수

492

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 대왕바리 기반 우량종자 개발을 통한 해외시장 창출과 산업화 - 아열대 바리와 우량종자의 수출국 현지 생산기반 구축 및 종자기업 육성 - 우량 종자 수출 838만 달러 달성(1단계 포함) 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> · 어종별 친어확보 및 관리 기술개발 : 어종별 친어확보(804마리) 및 국내외 관리(5어종 1,882마리) · 순종 및 교잡 수정란 대량생산 공급 : 4어종 정액 동결보존 및 수정에 사용, 대왕범바리 수정란 생존율 향상(42.4→61.2%) · 해외생산기지(인도네시아, 베트남) 구축과 국내외 활용 가능한 친어를 이용한 인공성숙 (호르몬-HCG, LHRH-a, pellet 등) 및 산란유도와 우량종자 대량생산 (종자생산 6,153천마리) · 교잡품종의 수송기술, 수율향상기술, 3배체 유도기술 특허출원 및 등록과 대왕바리 정자 동결기술 등 종자생산 관련 기술 참여기업 기술이전 실시 · 중국, 베트남 등의 동남아시아 지역 국제 시장동향 파악과 수출 대상 국가의 종자생산 동향 파악 · 국내외 참여기업 및 생산기지를 통한 수출액 338.1만\$ 및 내수판매 1,890.6백만원 · 수출용 품종 다양화 및 교잡품종의 육종효율 향상 : 5어종 대상 상업화 가능한 9 교잡조합 발굴, 대왕바리 암컷 이용 교잡종 생산가능성 확인, 성장 모니터링(국내외) 및 채색 발현 향상 · 초기 먹이용 미소플랑크톤 탐색 및 대량배양 : <i>Tintinnopsis beroidea</i> 동정 및 대량배양조건 확인 · 초기 먹이용 미소플랑크톤 적정 공급확인 : 난황흡수기 부화자어기 5~7일간 공급, 10~15 inds./cc 밀도로 공급이 적정, 난황흡수기 부화자어 생존율 향상 (약 74%) · 대량종자생산 단계별 먹이공급 체계 확립 · 아열대 바리와 생산, 유전정보, 생물학적 특성 관련 SCI논문 8편, 비SCI 8편 · 특허 출원 5건, 특허등록 9건, 품종출원 6건, 품종 등록 3건 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> · 교육·지도·홍보 등 산학연 바리과 종자생산, 인력양성, 양식기술 상호발전 및 타품종 개발에 기초자료로 활용 · 개발한 기술, 축적한 경험 및 현지 생산기지를 진출기지로 활용하여 인적 네트워크, 종자구입 업체, 유통망 등 활용 · 바리 종자업체의 지속적인 사업화를 위한 노하우, 특허 등의 기술이전 · 교잡 신품종의 세부 생산기술 특허 출원 · 아열대 바리과 추가연구(대량생산 기술, 마케팅, 가공기술 등)와 동남아 ODA 및 연구개발 사업에 활용 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	바리과 어류	교잡종	대량생산	우량종자	산업화
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	Grouper	Hybrid grouper	Mass production	Golden seed	Industrialization

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	1
제 1 절 연구개발 목적	1
제 2 절 연구개발의 필요성	1
1. 국내 환경변화	1
2. 친어 추가확보 및 우량 수정란 생산·공급	1
3. 어류의 육종 현황	2
4. 교잡 신품종 개발	3
제 3 절 국내외 기술개발 현황	4
1. 친어관리 및 수정란 생산	4
2. 종자생산 및 관리	5
3. 교잡품종 개발	7
제 4 절 연구개발 범위	10
제 2 장 연구개발 수행내용 및 결과	15
제 1 절 종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산 기반 구축	15
1. 종자생산 및 질병 제어 기술개발	15
2. 우량종자 대량생산 및 상품성 검증	80
3. 친어관리 및 수정란 생산	128
4. 국내외 우량종자 대량생산 기술개발	144
5. 해외 생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매	185
6. 국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축	206

7. 연구성과	248
제 2 절 우량수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	267
1. 어종별 친어자원 확보 및 관리	267
2. 순종 및 교잡수정란 대량생산 및 공급 기술개발	323
3. 수출용 품종 다양화 기술개발	366
4. 베트남 생산기지 구축	384
5. 베트남 수정란·종자 대량생산 체제 구축	387
6. 교잡종자 판매망 확보 및 판매	403
7. 연구성과	407
제 3 절 우량종자 대량생산 기술개발 및 산업화	426
1. 바리과 친어확보 및 관리	426
2. 바리과 친어 산란유도 및 수정란 생산	428
3. 종자생산 단계별 먹이공급 방법 개선	441
4. 연구성과	447
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	455
제 1 절 목표	455
제 2 절 목표 달성여부	456
1. 제품경쟁력강화	456
2. 권리확보	456
3. 생산역량강화	456
4. 유통경쟁력강화	456
5. 홍보역량강화	456
6. 목표고객	456

7. 매출 및 수출	456
제 3 절 목표 미달성 사유 및 차후대책	457
제 4 장 연구결과의 활용 계획 등	458
제 1 절 실용화·산업화 계획	458
1. 교육·지도·홍보 등 기술 확산	458
2. 베트남 등 해외 진출 기업 지원	458
3. 실용화 및 산업화	459
제 2 절 지식재산권 확보 계획	459
1. 특허	459
제 3 절 추가연구 및 타사업 활용계획	460
1. 아열대 바리과 추가 연구	460
2. 동남아 DOA 및 연구개발 사업에 활용	460
참고문헌	461

표 목 차

표 1-3-1. 대만의 바리과 어류 종자생산 시설 비교(Liao, 1996)	6
표 1-3-2. 바리과 어류의 교잡 시도 사례	8
표 2-1-1. Sample QC 결과	29
표 2-1-2. Library construction 결과	31
표 2-1-3. Flow cell summary	31
표 2-1-4. Sequencing lane summary	32
표 2-1-5. NGS Sequencing 및 mapping sequence의 통계적 요약	34
표 2-1-6. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 mtDNA Annotations 결과	35
표 2-1-7. 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 mtDNA Annotations 결과	36
표 2-1-8. <i>Epinephelus</i> 속 어류의 Stress에 의해 발현되는 gene (1)	42
표 2-1-9. <i>Epinephelus</i> 속 어류의 Stress에 의해 발현되는 gene (2)	43
표 2-1-10. 샘플 QC	44
표 2-1-11. 2200 TapeStation 분석 결과	44
표 2-1-12. 라이브러리 QC	45
표 2-1-13. Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 분석 결과	45
표 2-1-14. Run Summary	46
표 2-1-15. 발현 유전체 분석을 위한 transcriptome sequencing의 통계 요약	48
표 2-1-16. KEGG pathway의 Oxytocin signaling pathway category 중에 정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교	51
표 2-1-17. KEGG pathway의 Oxytocin signaling pathway category 중에 비정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교	52
표 2-1-18. 정상과 비정상 표본과 함께 관련된 24배 이상의 specific expressed의 부분	54
표 2-1-19. KEGG pathway 분석에서 정상군과 비정상군에만 관련하는 유전자 수의 분포	61
표 2-1-20. Up과 down regulation에 대한 KEGG pathway로부터 유전자 수 차이를 보이는 category에서 정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교	62
표 2-1-21. Up과 down regulation에 대한 KEGG pathway로부터 유전자 수 차이를 보이는 category에서 비정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교	63
표 2-1-22. 수온 및 염분도 별 부화율 조사(Vicente Gracia-Lo'pez, 2004)	64
표 2-1-23. 2017년 순천향대학교 해양수산연구소	65

표 2-1-24. 해외 기수 노지, nursery 단계, 30일 동안의 생존율 및 어체중, 사료요구율(Baliao, Dan D, 1998)	65
표 2-1-25. 해외 기수 노지, Grow-out 단계, 210일 동안의 생존율 및 어체중, 사료요구율(Baliao, Dan D, 1998)	66
표 2-1-26. 육상수조와 노지 간의 유어 양성 시스템 비교(Liao, 1995)	66
표 2-1-27. 노지 양식장을 이용한 대왕자바리 대량 종묘 생산 과정	68
표 2-1-28. 바리과 어류 중간 육성단계 주요 질병균	75
표 2-1-29. 능성어, 대왕범바리 계측자료	78
표 2-1-30. 생산된 능성어와 대왕범바리의 일간 성장률	78
표 2-1-31. 2017년 순천향대학교 해양수산연구소 종자 생산내역	81
표 2-1-32. 2017년 베트남 해외 기지 종자 생산내용	81
표 2-1-33. 2017년 인도네시아 해외 기지 종자 생산내용	81
표 2-1-34. 산란 유도를 위한 호르몬 주사	84
표 2-1-35. 종류별 호르몬 이용 성숙 및 산란 유도 실험 결과	84
표 2-1-36. 난경에 따른 pellet 주사 및 테깅 (Batam 보유친어)	86
표 2-1-37. 바리과 3종의 계수 형질 비교	93
표 2-1-38. Collagen 분석을 위한 standard sample	100
표 2-1-39. 생산 종자 입식 시기	104
표 2-1-40. 대왕범바리, 능성어 기형 선별 결과	107
표 2-1-41. 관능 평가 대상 종	108
표 2-1-42. 1차 평가 합산 결과	110
표 2-1-43. 2차 평가 합산 결과	111
표 2-1-44. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 통영그루퍼, 중국산 자바리 간의 cytochrome c oxidase I (COX I) 영역의 염기 서열상 48개의 변이서열 위치	114
표 2-1-45. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 대왕바리(♂), 통영그루퍼 간의 recombination	116
표 2-1-46. Cytochrome c oxidase I (COX I) 영역의 genetic distance	116
표 2-1-47. Recombination activating gene 2(RAG2) 영역의 genetic distance	117
표 2-1-48. 자바리, 대왕바리, 통영그루퍼r 간의 recombination activating gene 2 (RAG2) 영역의 염기 서열상 5개 다형성 염기의 위치	119
표 2-1-49. Cytochrome c oxidase I (COX I) 영역의 genetic distance	121
표 2-1-50. Recombination activating gene 2 (RAG2) 영역의 genetic distance	121

표 2-1-51. Recombination activating gene 1 (RAG1) 영역에서 기존 교잡종의 double peak 위치와 대왕바리, 수입산 바리과 어류, 자바리 간의 염기서열 비교	124
표 2-1-52. collagen 함량 분석 대상 종	125
표 2-1-53. 표준용액 S1~S8의 collagen 농도	126
표 2-1-54. 갈색점바리 연중 관리 및 생산 가능 시기	129
표 2-1-55. 바리과 어류 친어 마취 효율에 따른 최적 조건	132
표 2-1-56. 호르몬과 난경에 따른 대왕자바리 수정란의 부상율, 수정율, 부화율	141
표 2-1-57. 사육수, 먹이생물 영양강화 및 사육밀도에 따른 생존개체수	143
표 2-1-58. 능성어 종자생산 방법에 따른 장단점	147
표 2-1-59. 대왕범바리 수정란 또는 부화자어 수입량 및 생존율	150
표 2-1-60. 2020년 참여기업 국내 매출	154
표 2-1-61. 2020년 참여기업 수출계약	154
표 2-1-62. 지역 어종 별 채란 및 채정 시기	157
표 2-1-63. 5차년도 아열대 바리과 어류 내수판매	160
표 2-1-64. 2019년 참여기업에서 생산한 바리과 종자별 생존율	161
표 2-1-65. 2019년 참여기업에서 생산한 바리과 종자별 기형률	162
표 2-1-66. 대왕범바리 치어 전장에 따른 밀도와 가격	163
표 2-1-67. 대왕바리 채정 시기 및 채정량	169
표 2-1-68. 정자의 운동성 등급	170
표 2-1-69. ELS3 용액의 조성표	171
표 2-1-70. 동결보존 중인 대왕바리의 정액 현황	172
표 2-1-71. 수온 변화 정도에 따른 스트레스 척도(cortisol, glucose, GOT) 분석	184
표 2-1-72. 인도네시아 꼬리큰점범바리 및 대왕범바리 종자 현황	193
표 2-1-73. 정자의 운동성 등급	196
표 2-1-74. ELS3 용액의 구성	196
표 2-1-75. 인도네시아 우량종자 판매 실적	204
표 2-1-76. 주요 수출대상국 분석	222
표 2-1-77. 베트남 해산어류 주요 양식 대상종.	227
표 2-1-78. 베트남 양식생산량 <Statistical Yearbook of Vietnam 2017>	228
표 2-1-79. 2020년, 2030년 베트남 수산 정책의 구체적 목표 지수	229
표 2-1-80. 2016년 주요 어종 생산량 및 국가 (FAO, 2018)	230

표 2-1-81. 바리과 어류 동남아시아 유통 시세	240
표 2-1-82. 종자생산 관련 기업 기술이전	244
표 2-1-83. 국내에 수입되는 바리과 어류 수입량, 금액 및 수입단가	247
표 2-1-84. 주요 바리과 어류의 시장 특성	247
표 2-2-1. 바리류 친어 관리	267
표 2-2-2. 바리과 어류 친어 구입 및 보유 현황	269
표 2-2-3. 바리과 어류 후보 친어자원 확보 실적	281
표 2-2-4. 2017년과 2018년 구입 친어자원의 체중	282
표 2-2-5. 대왕자바리 근육조직에서 사육 수온과 연관된 발현 차이를 보이는 유전자 수	289
표 2-2-6. 대왕자바리 근육조직에서 사육 수온과 연관된 발현 유전자의 gene ontology 결과	290
표 2-2-7. 대왕바리의 생체지수	299
표 2-2-8. 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리의 외형 계측자료	302
표 2-2-9. 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리의 형태학적 거리	305
표 2-2-10. Landmark를 이용하여 측정한 형태학적 거리(morphometric distances)	306
표 2-2-11. 대왕바리(GG), 대왕붉바리(RGGG) 그리고 붉바리(RG)의 유클리드 거리	307
표 2-2-12. 대왕자바리·대왕붉바리·대왕바리의 사육 수온 및 계측자료	313
표 2-2-13. 장내 미생물군집 분석에 사용된 대왕붉바리의 계측자료	319
표 2-2-14. 문헌조사를 통해 확보한 주요 연구 대상종의 적정 희석액 및 동결보존액	324
표 2-2-15. 바리과 어류의 정자 동결보존을 위한 희석액의 조성	325
표 2-2-16. 바리과 어류의 정자 동결보존 현황(2017년, 2018년)	327
표 2-2-17. 대왕바리의 발달 중인 난 상태와 호르몬 종류에 따른 난질	330
표 2-2-18. 자바리의 발달 중인 난 상태와 호르몬 종류에 따른 난질	333
표 2-2-19. 호르몬 종류에 따른 갈색점바리 암컷의 난질	336
표 2-2-20. 산란 유도를 통한 대왕범바리 수정란의 생존율	337
표 2-2-21. 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂) 수정란의 각 발생단계 별 소요시간	344
표 2-2-22. 베트남 대왕범바리 수정란 생산 결과	346
표 2-2-23. 자바리와 붉바리 상반교잡 수정란의 배 발생 및 부화력	362
표 2-2-24. 바리류 교잡 수정란의 부화율	370
표 2-2-25. 대왕붉바리와 붉바리의 8주간 수온별 성장양상	378
표 2-2-26. 대왕붉바리의 성장-8주간 수온별 실험 종료 후 동일수온에서 사육	379

표 2-2-27. 세 교잡품종의 국내외 사육장소 및 성장 모니터링 결과	381
표 2-2-28. 베트남 임대 시설의 규모	384
표 2-2-29. 베트남 친어관리 체계	388
표 2-2-30. 베트남 현지에 구축한 수정란 생산 체계	390
표 2-2-31. 베트남 현지 미세조류 대량 배양에 사용한 시비제(fertilizer) 포물러	394
표 2-2-32. 베트남 현지에 구축한 종자생산 체계	395
표 2-2-33. 대왕범بار리와 친어 어종(대왕바리, 갈색점바리)의 종자생산 방법	399
표 2-2-34. 베트남 대왕범바리 종자생산 현황(중간육성종자 포함)	402
표 2-3-1. 바리과 친어 사료공급 주기	427

그림 목 차

그림 1-3-1. 바리과 어류 교잡품종	9
그림 2-1-1. 정상적인 대왕자바리(상), 기형인 대왕자바리(하)	16
그림 2-1-2. 외형적으로 드러나는 기형의 형태	17
그림 2-1-3. 해부학적으로 드러나는 기형의 형태	18
그림 2-1-4. Mammography 분석 장비(Senographe2000D, GE)	19
그림 2-1-5. 정상적인 자바리(좌), 등지느러미 기부 기형인 자바리(우)	20
그림 2-1-6. 정상적인 대왕바리(좌), 척추골 기형인 대왕바리(우)	20
그림 2-1-7. 정상적인 대왕자바리(좌), 두부 기형인 대왕자바리(우)	21
그림 2-1-8. WGS 실험 진행과정	22
그림 2-1-9. Library Preparation Workflow	23
그림 2-1-10. Nextseq 500 system workflow	24
그림 2-1-11. Blast2go software를 이용한 Gene Ontology	25
그림 2-1-12. 실험 진행 과정	25
그림 2-1-13. TruSeq RNA 표본 Workflow	27
그림 2-1-14. Hiseq 4000 System protocol	28
그림 2-1-15. Sample QC Gel 사진	30
그림 2-1-16. Library QC의 Gel 전기영동(좌), Electropherogram summary(우)	30
그림 2-1-17. Sequencing analysis 과정	31
그림 2-1-18. Sequencing analysis workflow	33
그림 2-1-19. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 complete mtDNA	37
그림 2-1-20. 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 complete mtDNA	38
그림 2-1-21. Phylogenetic tree 작성을 위한 MEGA6 software	39
그림 2-1-22. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 Phylogenetic tree (ML)	40
그림 2-1-23. 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 Phylogenetic tree (ML)	41
그림 2-1-24. Normal과 abnormal의 NGS raw data로부터 분석하기 위한 bioinformaic workflow	47
그림 2-1-25. KEGG pathway에 기반한 Pathway assignment. KEGG pathway online analysis로부터 얻어진 유전자 수	49
그림 2-1-26. KEGG pathway의 subcategory 중에 “Endocrine system”의 아래 item을 중에 “Oxytocin	

signaling pathway”에서 정상군과 비정상군의 유전자 수 비교	50
그림 2-1-27. 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 DEG 분석에 대한 MA plot(좌)과 volcano plot (우)	53
그림 2-1-28. 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 Gene Ontology (GO) annotation	56
그림 2-1-29. Cluster of orthologous groups (COG) classification of putative proteins	58
그림 2-1-30. DEG 분석에서 p 값이 0.05 이하의 contigs에 대한 KEGG 분석	59
그림 2-1-31. Up과 down regulation에 관련하는 유전자들의 KEGG pathway 분석	60
그림 2-1-32. 육상수조 및 노지에서 생산된 참돔의 기형률(해양수산부, 2005)	67
그림 2-1-33. 충남 태안군 소재 순천향대학교 해양수산연구소 노지 전경	68
그림 2-1-33. NNV 검사를 시행한 폐사어	70
그림 2-1-34. 폐사어 뇌 조직을 NNV 검출 primer를 이용하여 RT-PCR 한 결과	71
그림 2-1-35. 검사를 시행한 꼬리큰점범바리 샘플	72
그림 2-1-36. 폐사어 뇌 조직을 NNV 검출 primer를 이용하여 RT-PCR 한 결과	73
그림 2-1-37. 폐사어 신장 및 비장 조직을 RSIV 검출 primer를 이용하여 PCR 한 결과	74
그림 2-1-38. 인도네시아 중간 육성 질병 동정	76
그림 2-1-39. 능성어(좌)와 대왕범바리(우)	77
그림 2-1-40. 교잡종 대왕범바리의 월간성장률	78
그림 2-1-41. 대왕범바리(BGG)와 꼬리큰점범바리(BCG) 성장률 비교	79
그림 2-1-42. 호르몬 처리에 의한 복부팽만 및 산란 유도 모습	83
그림 2-1-43. Pellet 호르몬 주사 및 케이블 타이 표지	85
그림 2-1-44. 바리과 어류의 초기 먹이생물	87
그림 2-1-45. 인도네시아 바탐 대해 승 식물성 플랑크톤 배양장	88
그림 2-1-46. 확보하여 고정한 샘플(좌:자바리, 중간:대왕바리, 우:대왕자바리)	90
그림 2-1-47. 자바리 계수&계측 사진	90
그림 2-1-48. 바리과 계측 부위	91
그림 2-1-49. 바리과 3종의 외부형질	92
그림 2-1-50. 전장에 대한 계측 형질의 백분율 비교	96
그림 2-1-51. 바리과 3종의 유사도 관계	97
그림 2-1-52. Quickzyme total collage analysis kit (Quickzyme Biosciences Co.)	99
그림 2-1-53. 60°C incubator에서 60분 동안 반응시킨 최종 시료	101

그림 2-1-54. Epoch microplate spectrometer	101
그림 2-1-55. 근육 내 collagen 함량	103
그림 2-1-56. 피부조직 내 collagen 함량	103
그림 2-1-57. 능성어 종자 관리시스템	105
그림 2-1-58. 대왕범바리 종자 관리시스템	106
그림 2-1-59. 생산된 종자의 기형 형태(A, B: 대왕범바리, C~D: 능성어)	107
그림 2-1-60. 관능 평가 대상 종(좌측부터 능성어, 자바리, 대왕자바리, 대왕붉바리, 대왕범바리)	107
그림 2-1-61. 수행된 평가항목 및 절차	108
그림 2-1-62. 사용된 관능 평가양식(5:아주 좋음, 4:좋음, 3:보통, 2: 나쁨, 1:아주 나쁨)	109
그림 2-1-63. 평가 대상 종의 조리 방법	109
그림 2-1-64. 다중염기서열 정리	113
그림 2-1-65. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 통영그루퍼, 대왕바리(♂)의 recombination activating gene 2(RAG2)의 염기서열을 나타내는 electropherogram. 대왕범바리와 통영 농어의 염기서열 위치에서 double peaks 확인	115
그림 2-1-66. 미토콘드리아 COX1영역에서 <i>Epinephelus</i> 속 어류의 분자계통도	118
그림 2-1-67. recombination activating gene 2(RAG2) 영역에서 <i>Epinephelus</i> 속 어류의 분자계통	118
그림 2-1-68. NCBI에서 통영grouper COX1의 Nucleotide Blast 실시결과	120
그림 2-1-69. Primer 6번을 이용한 자바리, 대왕자바리, 대왕바리, 통영 grouper RAPD	122
그림 2-1-70. NCBI BLAST 분석을 이용한 수입산 바리과 어류의 percent identity	124
그림 2-1-71. 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕바리의 피부 및 근육 collagen 분석	127
그림 2-1-72. 인도네시아 현지 전경 및 가두리 시설	128
그림 2-1-73. 대왕바리 친어 수용을 위한 노지 구획 및 HDPE sheet 포장	130
그림 2-1-74. 대왕바리 친어 노지 수용	131
그림 2-1-75. 노지 탱크에서 대왕바리 핸들링 과정	132
그림 2-1-76. 갈색점바리의 캐놀레이션 및 미성숙란 확인	133
그림 2-1-77. 갈색점바리 채란	133
그림 2-1-78. 자연 산란한 갈색점바리의 수정란	134
그림 2-1-79. 능성어 가두리(거문도) 및 육상수조(통영) 수정란 생산지역	134
그림 2-1-80. 통영 및 거문도의 2020년 5월부터 8월까지의 연안 수온(국립수산과학원)	135
그림 2-1-81. 자바리 호르몬 주사(좌)와 인공채란(우)	136
그림 2-1-82. 자바리 산란 유도를 위한 호르몬 주사 및 인공 채란 일정	136

그림 2-1-83. 대왕바리 Ovaplant 주사	137
그림 2-1-84. 복부가 팽창된 암컷 대왕바리	137
그림 2-1-85. 대왕바리의 산란 행동	138
그림 2-1-86. 현미경으로 관찰된 과숙란	138
그림 2-1-87. 대왕바리 방정	138
그림 2-1-88. 사육 수조에 자연 산란 된 대왕바리 수정란	139
그림 2-1-89. 4~8 cell 대왕바리 수정란	139
그림 2-1-90. 대왕바리 인공채란	139
그림 2-1-91. 현미경으로 관찰된 과숙란	139
그림 2-1-92. 사육 수와 영양원(먹이생물)에 따른 육상수조 구조도	142
그림 2-1-93. 먹이생물 비교 실험수조(좌)와 능성어 자어(우)	142
그림 2-1-94. 미네랄2 첨가 순환여과수 자어(좌)와 노지사육수 폐사자어(우)	143
그림 2-1-95. 능성어 종자 생산용 육상수조와 노지 생산장	145
그림 2-1-96. 바가지를 이용한 능성어 자어 분조(수조당 40~60바가지, 약 10만 마리 추정) ..	146
그림 2-1-97. 노지에서 생산된 건강한 능성어 종자	147
그림 2-1-98. 대왕자바리 종자(전장 6~8 cm)	148
그림 2-1-99. 대왕자바리 종자 및 중간 육성을 위해 순환 사육 중인 치어	149
그림 2-1-100. 중국 하이난으로부터 수입된 수정란 및 생존율 측정	150
그림 2-1-101. 42일자 대왕범바리 치어(전장 약 5 cm)	151
그림 2-1-102. 바이러스성 질병으로 인해 대량 폐사한 대왕범바리 치어(9월 15일)	151
그림 2-1-103. 무늬바리 변태기 자어 및 생산된 종자(전장 3 cm)	152
그림 2-1-104. 대왕능성어 수정란 발생. (좌) 낭배기, (우) 기형발생 중인 배체형성기	153
그림 2-1-105. 3배체 유도를 위한 저온 자극 16 cell(좌)과 포배기(우) 수정란	155
그림 2-1-106. 저온 자극 3배체 실험군의 부화율과 기형률	156
그림 2-1-107. 저온 자극 3배체 실험군의 정상 비율과 3배체 유도율	156
그림 2-1-108. 2배체와 3배체가 확인된 실험군(좌)과 전 3배체 실험군(우)	156
그림 2-1-109. 조기산란 유도용 수온 조절을 위한 히트펌프(좌) 및 열교환기(우)	157
그림 2-1-110. 대왕자바리, 자바리, 능성어, 대왕바리 수정란 생산지역	158
그림 2-1-111. 자바리 친어 채란(좌) 및 부상란 확인(우)	158
그림 2-1-112. 대왕자바리 수정란(좌)과 부화자어(우)	159
그림 2-1-113. 대왕바리 선별개체(좌)와 복부팽만 개체(우)	159

그림 2-1-114. 실험어 선적을 위한 중량 확인 및 활어차 수용	163
그림 2-1-115. 수송 시간에 따른 폐사 실험어(좌:대왕자바리, 우:대왕범바리)	164
그림 2-1-116. 참여기업 A 업체의 순환 여과 사육시설 도면	165
그림 2-1-117. 참여기업 B 업체의 순환 여과 사육시설 도면	166
그림 2-1-118. 기술 실시보고서-1	167
그림 2-1-119. 기술 실시보고서-2	168
그림 2-1-120. 대왕바리의 정액 채취하는 과정	169
그림 2-1-121. 최적 조건 5 cm-5분(좌), 10cm-10분(우)이며, 평형 시간 5분	171
그림 2-1-122. 수조 내 대왕범바리의 치어	173
그림 2-1-123. 밀도 실험에 사용한 대왕범바리 치어	173
그림 2-1-124. 밀도에 따른 수송실험	174
그림 2-1-125. 포장 비율에 따른 DO	175
그림 2-1-126. 포장 비율에 따른 암모니아 농도	175
그림 2-1-127. 포장 비율에 따른 생존율	176
그림 2-1-128. 대왕범바리 치어	177
그림 2-1-129. 대왕범바리의 무게 측정	177
그림 2-1-130. 수온에 따른 수송실험	178
그림 2-1-131. 수송 후 수질 측정	178
그림 2-1-132. 수온에 따른 수송 후 용존산소	179
그림 2-1-133. 수온에 따른 수송 후 암모니아	180
그림 2-1-134. 수온에 따른 수송 후 생존율	180
그림 2-1-135. 수온 조절 실험에 사용된 유수식 실험수조	181
그림 2-1-136. 수온 조절 실험에 사용된 대왕자바리 실험어(좌)와 채혈(우)	182
그림 2-1-137. 수온에 따른 대왕자바리의 폐사 패턴	182
그림 2-1-138. Glucose 및 GOT 분석에 사용된 키트(좌)와 건식생화학분석기(우)	183
그림 2-1-139. 채혈한 혈액으로부터 분리한 혈장(좌)과 Epoch를 이용한 cortisol reading(우)	184
그림 2-1-140. PT. Dae Hae Seng (대해성) MOU	186
그림 2-1-141. Pt. Dae Hae Seng 시설 및 사육 수조	186
그림 2-1-142. 베트남 RIA3와 양해각서(MOU) 체결	187
그림 2-1-143. RIA3와 양해각서(MOU) 체결 사본	187
그림 2-1-144. Dao Ly Seafood 임대차계약서	188

그림 2-1-145. 베트남 해외기지 위치 및 전경	189
그림 2-1-146. 활용 가능한 베트남 현지 시설	189
그림 2-1-147. 친어 관리 및 성숙 유도	191
그림 2-1-148. 대왕범بار리 및 꼬리큰점범بار리 종자생산을 위한 채정 및 채란	192
그림 2-1-149. Pt. Dae Hae Seng에서 사육 중인 치어	193
그림 2-1-150. 확보된 베트남 친어 관리	194
그림 2-1-151. 수컷 대왕바리 채정 및 동결보존	195
그림 2-1-152. 갈색점바리 cannulation을 통한 성숙유무 파악 및 채란	195
그림 2-1-153. 꼬리큰점바리 정액채취	197
그림 2-1-154. 대왕바리 정액채취	197
그림 2-1-155. 베트남 RIA3와 DAO LY seafood production 해상 가두리 위치	198
그림 2-1-156. 베트남 배양장 계약서	199
그림 2-1-157. RIA3-MRDC 육상시설과 해상가두리, Nha Trang	199
그림 2-1-158. 베트남 가두리 임대계약서	200
그림 2-1-159. DAO LY seafood production 해상가두리, Nihn Hoa	200
그림 2-1-160. Pt. Batam Dae Hae Seng의 육상종자배양장 전경 및 인공위성사진	201
그림 2-1-161. Pt. Batam Dae Hae Seng의 종자 판매	202
그림 2-1-162. Pt. Batam Dae Hae Seng 가두리	202
그림 2-1-163. 인도네시아 노지 양식장 후보지	202
그림 2-1-164. 육상수조에서 육성 중인 판매 대상 우량종자	203
그림 2-1-165. 대왕범바리, 꼬리큰점범바리 판매실적 invoice	205
그림 2-1-166. 조양수산식품 수출대행계약서	206
그림 2-1-167. Quang Sang Seafood와 MOU 체결	207
그림 2-1-168. Pt. Batam Nara Indonesia와의 친어 매매계약서 및 invoice	208
그림 2-1-169. 바리과 어류 주요 시장인 홍콩과 해외 생산기지 대상 및 기타 동남아 국가 ...	209
그림 2-1-170. 베트남의 바리과 종자 유통체계	210
그림 2-1-171. 베트남 주요 지역 양식 현황; 1-North east (Quang Ninh, Hai Phong), 2-South central (Phu Yen, Khanh Hoa), 3-South east (Ba Ria Vung Tau), 4-Mekong delta (Kien Giang, Phu Quoc)	212
그림 2-1-172. North east area 가두리 양식장 및 RIA1 연구소	213
그림 2-1-173. South central 지역의 바리과 어류를 생산하는 노지 양식장 인공위성사진	214

그림 2-1-174. Quang sang seafood 노지 및 종묘배양장(육상수조)	214
그림 2-1-175. South east (Ba Ria Vung Tau) 지역 지도 및 가두리 양식장 위성사진	215
그림 2-1-176. Mekong delta (Kien Giang, Phu Quoc)의 위성사진 및 지도	215
그림 2-1-177. 양식 품종별 어가 현황(통계청, 농림어업총조사, 2021)	217
그림 2-1-178. 온라인 매체에서의 바리과 교잡종(유튜브, 좌-수빙수TV, 우-입질의추억)	218
그림 2-1-179. 글로벌 수산물 소비 성장 추세(한국해양수산개발원, 2020)	219
그림 2-1-180. 국가별 수산물 소비 성장 추세 (한국해양수산개발원, 2020)	220
그림 2-1-181. 농성어 수출 현황(관세청, 2021)	221
그림 2-1-182. 베트남 지역별 수산물생산량 <2017 Statistical yearbook of Vietnam>	224
그림 2-1-183. 2016 세계 바리과 어류 양식생산량 비율	231
그림 2-1-184. 2017년 세계 바리과 어류 국가별 양식생산량 비율	232
그림 2-1-185. 2018년 세계 바리과 어류 국가별 양식생산량 비율	233
그림 2-1-186. 중국의 바리과 어류 양식생산량 통계(2003~2017년 FAO 통계자료, 2018~2019년은 추정 치)	234
그림 2-1-187. 국가별 바리과 어류 생산량과 종자 수요	235
그림 2-1-188. 중국의 유망양식 대상 바리과 어류, 무늬바리, 하이난어류종묘협회 사무실에서 종자 수출 협의	236
그림 2-1-189. 중국의 대왕바리와 갈색점바리의 친어관리 수조	237
그림 2-1-190. 노지 종자 생산을 위한 작업 및 노지 수확 후 중간 육성을 위한 콘크리트 수조	237
그림 2-1-191. 2019년 베트남 지역별 바리과 종자 수요 예측(북동, 중부 연안, 남중앙, 남동, 메 콩델타 지역으로 구분)	238
그림 2-1-192. PT BATAM NARA와 위탁판매계약서 체결	239
그림 2-1-193. 베트남 수산물 유통경로(메기)	240
그림 2-1-194. 베트남 내에서 소비되는 물고기 유통경로	241
그림 2-1-195. 베트남 동절기 평균 수온	242
그림 2-1-196. 위탁판매업체 PT. BATAM NARA와 인도네시아 지역 신규 판매업체 2곳	243
그림 2-1-197. 신규판매업체 PAK JONI 및 PAK DODO invoice	244
그림 2-1-198. 해외 종자생산 관련 기업 기술이전 계약서	245
그림 2-2-1. 태풍 담레이(Damrey)에 의한 베트남 현지 기지(해상가두리) 피해	270
그림 2-2-2. 베트남 대왕바리 친어 구입	271

그림 2-2-3. 베트남 갈색점바리 친어 구입 작업	272
그림 2-2-4. 베트남 무늬바리 친어 구입	273
그림 2-2-5. 국내 자바리 친어 구입	273
그림 2-2-6. 대왕바리 친어사육 관리	275
그림 2-2-7. 갈색점바리 친어사육 관리	275
그림 2-2-8. 갈색점바리 친어용 먹이 첨가제(일부 대왕바리에도 공급)	276
그림 2-2-9. 베트남(나트랑 해역)의 해수온	276
그림 2-2-10. 자바리와 붉바리 친어	278
그림 2-2-11. 시설 및 어종별 사육 수온	279
그림 2-2-12. 바리과 어류의 후보 친어자원	283
그림 2-2-13. 유전형 데이터 획득을 위한 베트남 현지 작업	283
그림 2-2-14. 베트남에서 1차년도(2017년)에 구입한 갈색점바리의 중 동정 분석 결과	285
그림 2-2-15. 베트남에서 1차년도(2017년)에 구입한 갈색점바리에서 나타난 double peak 양상	286
그림 2-2-16. 4FPTKX 프라이머를 이용한 대왕바리, 갈색점바리와 베트남 구입 갈색점바리의 증폭양상	286
그림 2-2-17. "Golden Seed 프로젝트 아열대 바리 자료관리 프로그램"(웹 기반)	287
그림 2-2-18. 데이터베이스 각 항목별 sheet의 내용 예(산란 유무, 난질, 난 크기, 종자생산에 사용 유무 등)	288
그림 2-2-19. 23°C와 31°C에서 사육한 대왕자바리 근육조직에서 발현차 유전자의 gene ontology-분자적 수준에서의 유전자 산물의 역할	290
그림 2-2-20. 23°C와 31°C에서 사육한 대왕자바리 근육조직에서 발현차 유전자의 gene ontology 세포 내 또는 밖의 환경에서의 구성 요소	291
그림 2-2-21. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직에서 확인된 동일 양상의 발현 유전자	292
그림 2-2-22. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직에서 확인된 동일 양상의 발현 유전자	293
그림 2-2-23. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자의 수온별 발현양상(FDR q-value<0.05)	293
그림 2-2-24. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자의 수온별 발현양상(FDR q-value<0.05)	294
그림 2-2-25. 대왕바리 계측 및 조직적출	295

그림 2-2-26. 조직학적 분석과정	296
그림 2-2-27. 대왕바리 암컷의 생식소 조직 검경	297
그림 2-2-28. 대왕바리 수컷의 생식소 조직 검경	298
그림 2-2-29. 대왕바리 암컷 생식소 조직학적 분석(Hematoxylin-Eosin 염색)	300
그림 2-2-30. 대왕바리, 대왕불바리 그리고 불바리에 표시한 landmark	301
그림 2-2-31. 대왕바리(GG), 대왕불바리(RGGG) 그리고 불바리(RG)의 계측 형질을 이용한 dendrogram	309
그림 2-2-32. 대왕자바리 및 대왕불바리의 생식소	310
그림 2-2-33. 대왕자바리와 대왕불바리 생식소 조직(scale bar=100 μ m)	311
그림 2-2-34. 혈장 cortisol 및 Estradiol-17 β 농도 측정을 위한 ELISA 분석	312
그림 2-2-35. 대왕자바리와 대왕불바리 성호르몬(estradiol 17 β 와 methyltestosterone)	312
그림 2-2-36. 대왕바리 외형계측 및 채혈	314
그림 2-2-37. 혈장 glucose, GOT 그리고 GPT 분석	314
그림 2-2-38. 대왕자바리, 대왕불바리 그리고 대왕바리의 건강도 분석 결과	315
그림 2-2-39. 대왕자바리, 대왕불바리 그리고 대왕바리의 혈중 estradiol-17 β 농도	317
그림 2-2-40. 대왕불바리의 장내 미생물 샘플 채취	318
그림 2-2-41. 대왕불바리 장 내용물 PCR 산물의 전기영동 결과	320
그림 2-2-42. 대왕불바리 장내 미생물군의 문(phylum) 수준에서 분류학적 분포	320
그림 2-2-43. 대왕불바리 장내 미생물군의 속(genus) 수준에서 분류학적 분포	321
그림 2-2-44. 대왕불바리 장내 미생물군의 종(species) 수준에서 분류학적 분포	322
그림 2-2-45. 대왕바리 정액의 희석액별 생존율	326
그림 2-2-46. 대왕바리 정액의 희석액별 SAI (sperm activity index)	326
그림 2-2-47. 바리과 어류의 정액동결보존(왼쪽-질소용기, 오른쪽-질소용기의 라벨)	327
그림 2-2-48. 경남수산자원연구소의 난 발달 중인 대왕바리 친어	329
그림 2-2-49. 대왕바리 호르몬 처리 시 그리고 채란 시 난 상태	331
그림 2-2-50. 캐놀레이션한 대왕바리 난의 조직검경	331
그림 2-2-51. 갈색점바리 성숙·배란 유도에 사용한 호르몬	334
그림 2-2-52. 대왕바리 수정란 생산	339
그림 2-2-53. 수조에서 수거한 대왕바리 부화자어	340
그림 2-2-54. 대왕자바리 수정란 생산-경남수산자원연구소	341
그림 2-2-55. 대왕자바리 수정란 생산-제다양식	342

그림 2-2-56. 대왕자바리 수정란 생산-청솔수산	343
그림 2-2-57. 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂) 난 발생 및 부화자어	345
그림 2-2-58. 대왕범바리 수정란 생산-베트남	347
그림 2-2-59. 대왕무늬바리의 난 발생 및 부화자어	348
그림 2-2-60. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 정상 난 발생	351
그림 2-2-61. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 기형 난 발생	352
그림 2-2-62. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 기형 부화자어	353
그림 2-2-63. 대왕바리 순종(대왕바리♀×♂)의 난 발생	355
그림 2-2-64. 대왕바리♀×자바리♂ (대왕자바리의 상반 교잡구)의 난 발생	358
그림 2-2-65. 대왕바리♀×자바리♂ (대왕자바리의 상반 교잡구)의 기형 난 발생	359
그림 2-2-66. 대왕바리♀×붉바리♂ (대왕붉바리의 상반 교잡구) 난 발생	360
그림 2-2-67. 붉바리(<i>Epinephelus akaara</i>) ♀ × 자바리(<i>E. bruneus</i>) ♂ 교잡 수정란의 배발생	363
그림 2-2-68. 자바리(<i>Epinephelus. bruneus</i>) ♀ × 붉바리(<i>E. akaara</i>) ♂ 교잡 수정란의 배발생	364
그림 2-2-69. 자바리(<i>Epinephelus bruneus</i>) ♀ × 붉바리(<i>E. akaara</i>) ♂ 수정란의 기형 배발생	365
그림 2-2-70. 수조색상과 파프리카 첨가사료 공급 효과 실험(12마리/0.5톤)	373
그림 2-2-71. 파프리카 첨가 사료 공급 효과 실험(모두 흰색수조)-마취 후 사진	374
그림 2-2-72. 곤쟁이류를 간헐적으로 공급한 실험	375
그림 2-2-73. 대왕붉바리와 붉바리의 8주간 수온별 성장양상	377
그림 2-2-74. 대왕자바리와 대왕붉바리 국내의 사육	380
그림 2-2-75. 장 모니터링 기간 중 베트남 나트랑 해역의 해상가두리에서 대왕범바리 사육수온 (점선-2017년, 실선-2018년)	381
그림 2-2-76. 대왕자바리와 대왕붉바리의 체장 및 체중 변화	383
그림 2-2-77. 베트남 현지 임대시설(육상수조, 해상가두리)	385
그림 2-2-78. 베트남 현지 협력업체 시설(못, 육상시설)	386
그림 2-2-79. 베트남 현지 친어 확보(구매)	389
그림 2-2-80. 베트남의 대왕범바리 수정란 생산을 위한 운송 경로 및 과정	392
그림 2-2-81. 베트남에서 먹이생물 배양 및 공급 절차	393
그림 2-2-82. 베트남 육상수조에서의 대왕범바리 종자생산 및 선별	396
그림 2-2-83. 베트남 못 시설에서의 대왕범바리 종자생산 및 선별	397
그림 2-2-84. 베트남 대왕범바리 종자생산 공정	398
그림 2-2-85. 베트남 대왕범바리 종자생산 기간 동안의 성장	400

그림 2-2-86. 질병의 수평감염 예방을 위해 사용한 소독 및 약품(현지 판매 제품)	401
그림 2-2-87. 베트남 현지 종자유통망 구축 활동	403
그림 2-2-88. 대왕범بار리 중간육성 종자 출하	405
그림 2-2-89. 베트남 현지의 시험·전시 시설	406
그림 2-3-1. 바리과 친어 관리(A: 능성어; B: 붉바리; C: 자바리)	426
그림 2-3-2. 바리과 친어 먹이공급	427
그림 2-3-3. 바리과 어종별 친어의 성성숙 비율(%)	429
그림 2-3-4. 능성어 수정란의 난경 빈도(%)	430
그림 2-3-5. 능성어 수정란 생산 과정	431
그림 2-3-6. 대왕붉바리 수정란 생산 과정	432
그림 2-3-7. 청솔수산 사육환경	433
그림 2-3-8. 염분농도에 따른 능성어 수정란의 부화율(%)	434
그림 2-3-9. 염분농도에 따른 능성어 수정란의 기형률(%)	435
그림 2-3-10. 난황흡수기의 능성어 자어(부화 4일)	435
그림 2-3-11. 능성어 부화자어의 수온별 생존율	436
그림 2-3-12. 능성어 부화자어의 염분농도별 생존율	437
그림 2-3-13. 능성어 부화자어의 pH 농도별 생존율	437
그림 2-3-14. 대왕붉바리 부화자어의 수온별 생존율	438
그림 2-3-15. 대왕붉바리 부화자어의 염분농도별 생존율	439
그림 2-3-16. 대왕붉바리 부화자어의 pH 농도별 생존율	439
그림 2-3-17. 2020년 바리과 종자생산 사육수조	440
그림 2-3-18. 저염분환경에서 바리과 대량종자생산시 부화율	441
그림 2-3-19. 부화 자어의 초기 먹이용 microplankton	441
그림 2-3-20. 부화 후 5일째 능성어 자어	442
그림 2-3-21. 능성어 사육수조 전경	443
그림 2-3-22. <i>Tintinnopsis beroidea</i> 섭이기간에 따른 생존율	444
그림 2-3-23. 바리과 종자 단계별 먹이 공급 및 영양강화용 copepoda	445
그림 2-3-24. 바리과 치어 및 출하 종자	446
그림 2-3-25. 연차별 바리과 우량 종자 생산량	446
그림 4-1-1. 베트남 생산기지(왼쪽)와 대왕범바리 종자생산 매뉴얼(오른쪽)	458
그림 4-1-2. 바리교잡종 생산에 관한 특허증(왼쪽 대만, 오른쪽 중국)	460

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발 목적

- 대왕바리 기반 우량종자 개발을 통한 해외시장 창출과 산업화
- 아열대 바리과 우량종자의 수출국 현지 생산기반 구축 및 종자기업 육성
- 우량 종자 수출 838만 달러 달성(1단계 포함)

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 국내 환경변화

- 국내 환경변화로 인해 겨울철 고수온 피해뿐만 아니라 여름철 고수온 피해가 발생하고 있어서, 여름철 고수온 피해 예방을 위한 신품종 개발이 필요함.
- 최근 웰빙, 로하스, 워라벨 등 건강에 대한 관심과 여가문화가 발전함에 따라 고가의 식문화 발전이 성장함.
- 전 세계 바리과 시장은 지속적으로 성장하고 있으며, 국내에서도 바리과 어류의 대한 수요가 높으나 충분한 공급이 이루어지지 않아 일본과 중국으로부터 수입에 의존하고 있으며, 수입량 또한 증가하고 있음(수산정보포털, 2021).
- 국내 바리과 어류에 대한 높은 선호도에 비하여 성장이 느리다는 선입관이 있음.
- 우리나라는 4계절이 존재하여 월동기간에 대한 우려를 표하고 있으나 교잡종의 경우 이를 극복할 수 있는 장점이 있고 데이터를 활용한 홍보로 최근 시장이 확대되고 있음.
- 바리과 어류 양식업자들은 품종의 다양화와 함께 경제성이 높은 교잡품종을 선호하는 추세이며, 세계적 추세에 맞춰 생산성을 향상시키기 위해서는 바리과 종자를 대상으로 최적의 육종 프로그램 구축이 필요함.

2. 친어 추가 확보 및 우량 수정란 생산·공급

- 안정적인 수정란 생산은 종자 생산 및 수출의 원천으로서 수출용 교잡품종 생산을 위해서는 우리나라 바리과 어류(자바리 등)와 초대형 어류인 대왕바리 등 아열대 바리과 어류를 대상으로 “친어수집-관리(사육, 유전)-성숙유도-배우자 생산-수정란 생산” 체계 확립이 필수적임
- 수정란 대량생산을 위해서 친어자원 확보가 우선되어야 하며, 교잡품종 생산을 위해서는 여러 어종을 대상으로 우리나라와 해외기지에서 적절한 양의 친어 수집이 필요함. 바리과 어류는 전세계적으로 자원이 부족하므로 친어 확보는 국가 간 경쟁에 우위를 점하기 위해서 필요함.
- 지속적인 관리와 생리, 유전특성 파악을 통해 친어자원의 우량화 노력이 필요함.

- 순종뿐 아니라 교잡 수정란 생산을 위해서 양질의 정액 확보가 필수적임. 특히 교잡수정란을 생산하기 위해 어종별 성숙시기 차이를 극복하고, 국내와 해외기지 간 정액 수급을 원활히 하기 위해 정액동결 보존이 필요함
- 수정란의 적정 발생 조건(수온, 염분 등)이 서로 다른 두 종간 교잡 수정란의 경우 초기 생존율의 향상과 기형을 저감을 위해서는 품종별 최적 발생 조건의 구명이 필요함

3. 어류의 육종 현황

- 양식 선진국들은 담수 및 해양 어류에 생명공학기술의 접목을 통하여 자국 식량 자원의 확보를 시도해왔으며, 이로부터 얻어지는 기술과 품종을 독점화함으로써 여타 국가들을 종속화하고 있음.
- 송어류, 차넬메기, 틸라피아, 잉어, 베스류 등 담수어종 중심으로 육종품종의 산업화 달성한 바 있으며, 대표적으로 틸라피아는 기술 보유국인 영국에서 동남아시아의 육종품종 독점 생산 중임.
- 해산어로는 대서양연어(노르웨이 Marineharvest Co.)의 육종품종이 산업화되어, 자국과 페루에 이식하여 양식 생산 중임.
- 어류의 육종기법은 선발육종, 성전환, 배수체(3배체, 4배체), 교잡, 형질전환 등이 있으며, 어종의 특성에 따라 적합한 육종기법이 적용되고 있음. 현재 전 세계적으로 육종품종의 상업적 생산을 위해 선발육종, 성전환, 배수체, 잡종과 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 대서양연어임(노르웨이). 전통적인 통계적 기법과 분자생물학적 기법의 병행 적용을 통해 선발효과를 극대화하기 위한 노력이 진행 중임.
 - 배수체 : 성숙에 따라 성장저하, 체색, 체형 변화 등 상품성이 저하되는 생물종에 적합한 기법으로 대표적으로는 무지개송어 3배체임(노르웨이, 캐나다, 미국 등).
 - 교잡 : 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 적용의 어려움이 있음.

4. 교잡 신품종 개발

- 바리과 어류 양식 대상 품종이 다양화되고 있고, 종자 생산국이 증가하고 있으나 양식환경에 적합한 우량 품종은 제한되어 있음.
- 1970년대에는 바리과 어류 종자생산 선진국인 대만에서 생산한 종자의 수출 및 판매가 주를 이루어진 반면 최근에는 중국, 말레이시아, 인도네시아 등의 다양한 국가에서 종자대량생산이 이루어지고 있음.
- 2007년에는 말레이시아 사바주립대에서 개발한 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂)는 내병성과 빠른 성장의 잡종강세 효과를 보여 산업화에 성공함으로써 순종뿐만 아닌 교잡품종도 양식대상종에 포함됨(말레이시아 양식생산량의 70%를 차지함).
- 바리과 양식은 최근 소형화 추세로 대형 개체보다는 700~800 g 개체의 판매가 주로 이루어짐으로서 성장이 빠르고 시장성이 우수한 새로운 품종 개발에 대한 요구가 있음.
- 어류의 육종기법은 선발육종, 성전환, 염색체공학(배수체 등), 잡종(종내, 종간), 형질전환 등이 있으며, 이 중 바리과 어류의 특성을 고려할 때 종간잡종(교잡)육종 기법을 적용하는 것이 단기간 내에 높은 효과를 얻을 수 있음.
- 바리과 어류는 종간잡종(inter-specific hybrid) 뿐만 아니라 과간잡종(inter-family hybrid)까지도 성공적으로 유도되는 등 교잡자손 생산이 용이하여 단 1세대만에 경제적으로 유용한 형질(성장, 내병성 등)을 획득할 수 있고, 주 소비지인 중화권에서 교잡품종에 대한 거부감이 전혀 없음.
- 1단계 사업기간 중 50여회의 교잡을 통하여 대왕바리 수컷과 자바리, 붉바리 암컷을 이용하여 두 교잡품종(대왕자바리, 대왕붉바리)을 발굴하고 대량생산 후 국내외 판매한 바 있으나, 수출 목표 달성을 위해 대상국의 사육시설과 환경 그리고 시장성에 적합한 교잡품종을 추가 발굴해야함.
- 이에 교잡품종의 육종효과(성장, 체색, 맛, 광온·광염성 등)를 극대화하기 위하여 대왕바리 암컷을 이용한 교잡품종의 발굴이 필요하며, 특히 대왕자바리와 대왕붉바리로부터 교잡2세대 품종의 개발이 필요함(예, 대왕자바리♀×대왕자바리♂, 대왕자바리♀×대왕바리♂ 등).
- 새로운 품종은 개발뿐만 아니라 육종효과 증대를 위해서 지속적인 혈통 관리가 병행되어야 하며, 개발 품종의 배타적 권리 유지를 위한 제도적, 기술적 장치 마련이 필요함.
- 교잡품종은 잡종강세(hybrid vigor) 특징이 있으며, 세대가 거듭될수록 필요한 목적형질의 추가 획득이 가능함. 따라서 경제 형질의 유전특성을 이용하여 후세대 품종 생산을 위한 어종별, 품종별 우량 친어 확보를 통해 지속적인 체계를 마련함.
- 그리고 개발한 품종의 의도적 또는 비의도적 불법 생산을 방지하기 위하여 지적재산권 획득 등 제도적 장치 외에 친자확인 마커 적용 기술개발 노력이 필요함.

제 3 절 국내외 기술개발 현황

1. 친어관리 및 수정란 생산

- 바리과 종자생산 종주국인 대만에서는 자국의 인근 해역에 서식하는 52종의 바리과 어류 중 흉기흑점바리(*Epinephelus malabaricus*), 갈색등근바리(*E. coioides*), 갈색점바리(*E. fuscoguttatus*), 대왕바리(*E. lanceolatus*) 등은 친어관리와 산란유도를 통해 산업적으로 활용 가능한 대량 인공 수정란 생산이 이루어지며, 무늬바리(*Plectropomus leopardus*)와 물방울 무늬바리(*Cromileptes altivelis*)는 산업화 초기 단계에 머물러 있음.
- 못과 육상수조에서 사육하던 친어로부터 호르몬 처리 또는 처리 없이 자연산란을 통해 수정란을 수집·생산하지만, 이 경우 양질의 수정란을 얻기 어려운 상황임.
- 대왕바리의 상업적 수정란 생산은 1990년대 중반에 대만에서 최초로 성공하였는데, 친어는 야외 못(60×40×3 m)에서 주로 관리하며(자연 수집 20~40 kg의 개체→3년 후 40~100 kg으로 성장), 주 산란기(5월~10월)가 되기 전인 5, 6월에 호르몬 1차 처리(HCG 400 IU/kg, 40 µg LHRHa 병행처리)한 후 산란기 중반에 2차 처리(HCG 350 IU/kg, 40 µg LHRHa 병행처리)하여 인공산란을 유도함.
- 수정란은 10 L 용량의 플라스틱 백에 약 300 g의 수정란을 수용하여 종자 생산장으로 수송하며, 염분 농도가 30 ppt 일때 부화율이 가장 높은 것으로 알려져 있음. 수송에 따른 폐사를 저감하기 위해서는 안포형성 시기 직후부터 부화 2시간 기간 동안 수송하는 것이 바람직한 것으로 알려져 있음. 그러나 난질이 불량해 부화율이 지극히 낮은 경우가 많아 부화 자어를 수송하는 경우도 있음.

※ 바리과 어류의 호르몬 처리를 통한 인공산란 유도

- 다른 어종과 마찬가지로 바리과 어류에서도 HCG, LHRHa, GnRH 등이 주로 사용되며 가장 효과적인 것으로 알려져 있음.
- 호르몬 처리시기는 난모세포의 크기에 따라 결정됨. 능성어는 최적 처리시기가 420 µm로서 이보다 작을 경우 배란이 되지 않고 440 µm 보다 클 경우 배란율이 급격히 낮아지는 것으로 알려져 있음(Kline et al, 2008).
- Blue spotted grouper (*Cephalopholis argus*)와 marbled grouper (*Dermatolepis inermis*)의 최적 처리시기는 난모세포 크기가 각각 550 µm와 400 µm이며(Kuo et al, 1988; Tamaru et al, 1996), Nassau grouper (*Epinephelus striatus*)는 482~561 µm (Watanabe et al., 1995), dusky grouper는 350 µm (Marino et al., 2003)인 것으로 알려져 있음.
- 능성어는 LHRHa 주사 후 42시간에 난모세포의 크기는 800 µm로 배란상태에 도달하며, 능성어 대상의 다른 연구에서 난모세포의 크기가 300~500 µm일 때 HCG를 500 IU/kg 농도로 주사한 후 48시간째 800 µm 이상의 양질의 난을 생산하였음(송 등, 2008). Dusky grouper는 같은 호르몬을 주사한 후 70~80시간에 난모세포 크기가 350~450 µm에서 800~830 µm로 커

저 완숙단계에 도달하는 것으로 알려져 있음(Sheine et al., 2004).

- 배란 후 시간이 경과됨에 따라 수정률은 급격히 떨어지게 되므로 채란 시기를 정확하게 판단하는 것이 중요함. 배란 후 12시간이 경과되면 수정률이 급격히 나빠지므로 양질의 난을 얻기 위해서는 6시간 간격으로 채란하는 것이 필요함(Song et al., 2008).

※ 바리과 어류의 미생물 감염 제어를 통한 부화율 향상(갈색등근바리의 예, Su et al., 2001a 와 b)

- 오존처리수 단독으로 수정란 소독 후 일반해수에서 부화 : 갈색등근바리 수정란을 대상으로 오존 처리수(0.1~0.5 mg O₃/L, 1분 처리)하였을 때, 0.1~0.4 mg O₃/L 처리수는 부화율이 95~98%, 부화 2일 후 생존율이 93~98%로 효과적이었음. 0.5 mg O₃/L 처리수는 생존율이 급격히 낮았고 부화시간이 길어지고 기형률이 높아짐. 또다른 방법으로 0.5 mg O₃/L 처리수에서 10분간 처리(수정란 50 g/10 L)하여 부화율을 향상시킴
- 오존처리수와 여과해수(활성탄소 여과수 또는 자외선 살균수) 병행하여 수정란 소독 후 일반해수에서 부화 : 부화율 97.8~99.7%, 부화 2일 후 생존율 95.6~98.0%로 대조구에 비해 높은 생존율 보임.
- 오존처리수 단독으로 수정란 소독 후 오존처리수와 활성탄소 여과해수를 공급하며 부화시켜 바이러스 감염에 의한 부화기간 중 생존율을 향상시킴

2. 종자생산 및 관리

□ 일반적인 종자생산 방법

- 수정란은 0.5톤 용량의 FRP 용기 또는 수조에 설치한 부화망(2×1×1 m)을 주로 이용하여 부화시킴. 종자생산 수조는 실내 콘크리트 수조와 야외 못을 이용하며, 실내 수조는 100톤 규모(수심 1~2 m), 야외에서는 100톤 보다 훨씬 큰 용량(수심 1~1.5 m)의 못을 이용하는데, 고가의 바리과 어류는 실내 수조를 이용하는 경우가 많음(표 1-3-1).
- 대형 크기의 야외 못(3,000~5,000톤 용량)은 자연발생한 초기 먹이생물이 풍부하고 종자 생산을 위한 인력과 노력이 적게 소요되며, 바닥이 흙인 경우 수질이 안정되어 종자생산에 매우 유리하여 3,000톤 용량의 야외 못에서 50만 마리의 종자를 생산한 경우도 있음. 그러나 종자 생산기간 동안 생존율이 일정하지 않고, 개체 크기 차이가 크게 나는 경향이 있음. 소형 크기의 야외 못(300~600톤 용량)은 햇빛 차단망을 설치하여 조류의 대량증식을 피할 수는 있지만 수질이 불안정한 특징이 있어 자어의 대량폐사가 빈번히 발생함
- 이에 따라 1994년 이후로 여과장치를 설치한 실내 수조에서 종자생산을 시도하였고, 먹이생물의 영양강화, 바이러스 저감기술 등을 적용하여 폐사율을 낮추면서 양질의 종자 생산 방법을 시도하고 있음. 대량폐사가 발생하기 쉬운 첫 먹이 시기에는 굴 담륜자 유생과 SS-type 로티퍼와 로티퍼 유생을 공급하는 것이 가장 효과적인 것으로 알려져 있음. 일반적으로 육상실내 수조에서 생산한 종자의 질이 우수하여 고가에 거래됨

표 1-3-1. 대만의 바리과 어류 종자생산 시설 비교(Liao, 1996)

	실내 수조	야외 못
용량(깊이)	< 100톤 (1.0~2.0m)	3,000~5,000톤(1.0~1.5m)
생존율	높음(최대 30%)	불안정
먹이공급 및 수질관리	고난이	용이
성장	낮음	빠름
종자 활력	낮음	높음
생산비	높음	낮음

- 일반적으로 종자생산 기간 중 대량폐사 현상은 3차례에 걸쳐 발생하는데, 1) 부화직후 부터 7일령까지 기간의 폐사는 주로 난질, 첫 먹이 섭식 불량 등, 2) 18~19일령의 폐사는 주로 바이러스 감염 등 그리고 3) 변태시기의 폐사는 수질불량, 바이러스 감염 그리고 공식에 의한 것으로 알려져 있음

□ 종자 생산 과정 중 대량폐사의 원인

- 초기 자어시기의 표면장력에 의한 대량폐사
 - 초기 자어는 강한 주광성 특성이 있어 사육수 표층에 군집하게 되는데, 이때 표면장력에 의해 표층에 갇혀 죽게됨. 이를 방지하기 위해서 빛이 사육수에 직접 도달하는 것을 방지하는 등 조도를 200 lux 이하로 유지시키거나, 에어레이션, 유수 등으로 방법으로 표면장력을 낮추는 방법이 있음. 보다 적극적인 방법으로 어유 등을 사용하여 표면에 오일막(oil film)이 생기도록 하며, 부레형성 시기까지 유지시키는 것이 바람직한 것으로 알려져 있음 (Liao et al., 2001; Yamaoka et al., 2000)
- 첫 먹이 공급시기의 대량폐사
 - 부화자어의 활력이 낮아 먹이 섭식활동이 불량한 경우가 있으며 이는 난질에 의한 것으로 간주할 수 있음. 그러나 공급하는 먹이의 크기와 밀도가 낮은 경우에는 적절하게 조절함. 바리과 어류의 부화자어는 입 크기가 작으므로 굴 담륜자 유생(60 μm)이 좋은 먹이생물이긴 하지만 대량배양 등으로 어려움으로 SS-type의 로티퍼 또는 로티퍼 유생을 대량배양하여 공급하고 있음
- 바이러스 감염에 의한 대량폐사
 - 종자생산 기간 동안 바이러스 감염에 의한 대량폐사는 일반적인 현상으로 대표적인 바이러스는 VNN 바이러스와 이리도바이러스임. 바이러스성 신경괴사증은 4~9월 중에 반복적으로 나타나며, 고수온기(6~8월, 30~32°C)에 집중적으로 나타남. 이리도바이러스에 감염되면 1, 2개월만에 60%가 폐사하는 경우가 빈번함. 바이러스 감염에 의한 폐사를 저감하기 위하여 대왕바리와 같은 고가의 어종의 종자생산에 야외 못보다 실내 수조를 선호하게됨.

바이러스 감염에 의한 폐사를 방지하기 위하여 수정란 소독, 자외선 또는 오존 살균한 사육수 공급, 염소를 이용한 시설 소독 방법을 시도하고 있으나 일부 국가/종자 생산장을 제외하고는 널리 사용하고 있지는 않음

○ “Shock syndrome”에 의한 대량폐사

- 부화 후 20일에 발생하여 25일 전후로 심해지는 현상으로 먹이생물의 영양 결핍에 기인하는 것으로 알려져 있음. 갈색등근바리를 대상으로 실험한 결과 DHA, EPA를 첨가한 먹이생물을 공급하여 이 현상을 일부 해소한 것으로 보고되었음(Liao et al., 2001)

※ 대만 종자생산의 어려움

- 호르몬 처리 등 산란유도 수정란의 안정적인 생산 방법이 확립되지 않았으며, 특히 대왕바리는 초대형 어류로서 산란 유도를 위한 작업이 용이하지 않아 여전히 우량 수정란 생산의 어려움이 있음
- 자어의 초기 먹이생물로서 소형 로티퍼 생산·공급 기술이 확립되지 않았으며, 굴 담류자 유생(60 μm)은 적절한 먹이생물이긴 하지만 종자생산 시기에 맞춰 대량 생산하기에 어려움이 있으며, 미처 섭식하지 못한 유생이 수조내에서 성장하게 되면 이를 섭식한 자어가 소화 못시켜 폐사하게 됨. 그리고 *copepod nauplii* (100 μm)는 일정한 크기로 선별하는 기술이 아직 확립되지 않았음
- 높은 기온으로 인한 사육수온 상승으로 수조내 원생생물의 대량증식 현상이 발생하여 수질이 급속히 나빠져 초기 자어 시기에 대량폐사의 원인이 되고 있으며, 변태시기에 공식 등에 의한 대량감모 현상으로 종자 생산성이 매우 낮음(2 cm → 6 cm, 30% 미만)

3. 교잡품종 개발

- 최초의 바리류 교잡은 도도바리(banded grouper, *E. amblycephalus*) ♀ × 붉바리(*E. akaara*) ♂이며(Tseng and Poon, 1983), 이후 15여 가지 이상의 교잡 유도가 있었음. 교잡에는 주로 아시아-태평양 해역의 (아)열대성 바리류가 사용되었으며, 미국 남부와 중미 그리고 지중해 해역에 서식하는 바리류 몇 종이 사용되었음
- 이들 중 10여 가지의 교잡종의 종자생산이 시도되었으나, 갈색점바리(범바리, tiger grouper, brown-marbled grouper, *E. fuscoguttatus*) ♀ × 대왕바리(giant grouper, *E. lanceolatus*) ♂ 그리고 범바리♀ × 꼬리큰점바리 (camouflage grouper, *E. polyphkadion*) ♂이 상업 생산 되고 있음(Rimmer and Glamuzina, 2019)
- 말레이시아 사바대학(University Malaysia Sabah)의 보르네오 해양연구소(Borneo Marine Research Institute)의 연구팀이 처음으로 확립한 갈색점바리♀ × 대왕바리♂은 양식 산업에서 가장 대표적인 교잡종이며(Shapawi et al., 2019), 최근에 월등히 개선된 성장과 질병 저항성이 실험으로 증명되었음(Bunlipatanon and U-taynapun, 2017). 그리고 최근 중국에서 붉

- 바리♀ × 대왕바리♂ 그리고 자바리♀ × 대왕바리♂의 종자가 대량 생산되었음(Chen et al., 2018; Tian et al., 2015)
- 그 외에 지중해 해역의 바리류 간 유도된 goldblotch grouper (*E. costae*) ♀ × dusky grouper (*E. marginatus*) ♂ (Glamuzina et al., 2001)와 dusky grouper ♀ × white grouper (*E. aeneus*) ♂ (Glamuzina et al., 1999) 그리고 대서양 해역의 바리류 간 유도된 coney (*Cephalopholis fulva*) ♀ × cleole-fish (*Paranthias furcifer*) ♂은 종자의 대량 생산은 없었고 수정란의 난 발생(=embryonic development of fertilized eggs)에 관한 연구만 수행되었음(Tucker, 1994). 외국에서 유도된 후 현재 상업 생산되고 있는 바리류 교잡은 Rimmer and Glamuzina (2019)에 자세히 설명되어 있음
 - 대왕범바리의 수정란 발생속도는 18시간(28.5°C)으로 모계 순종(23.5시간, 28.0°C)에 비해 다소 빠르고, 부화자어의 크기는 1.99±0.29 mm로서 모계 순종(2.1±0.1 mm)에 비해 다소 작은 경향을 보였음. 종자생산 기간 동안 성장은 30일령에 22.5±2.7 mm로서, nassau grouper (40일령 13.5 mm, *E. striatus*), 능성어(33일령 8.1 mm)에 비해 성장이 빠르며, 15일령까지 생존율은 0.5%로서 다른 바리과 어류(일반적으로 1% 미만)에 비해 다소 낮은 것으로 알려졌다(Ch'ng and Senoo, 2008)
 - 대왕범바리의 성장에 관한 최근의 연구결과에 의하면, 대왕범바리의 3개월령부터 10주간 체중 성장은 67.79±1.05 g으로서 대왕바리(56.69±4.10 g)와 갈색점바리(45.15±3.07 g)에 비해 빨리 잡종강세 효과가 나타났음(Bunlipatanon and U-taynapun, 2017)
 - 갈색점바리♀×꼬리큰점바리♂ 교잡품종 역시 7개월간 양성 후 695.8±15.20 g으로 갈색점바리(598.0±36.00 g)에 비해 빨리 상품어 출하크기에 도달하여 대왕범바리와 마찬가지로 성장에 있어 잡종강세 효과가 나타났음(꼬리큰점바리는 12개월 양성 후에 체중이 529.4±28.64 g)(James et al., 1999)

표 1-3-2. 바리과 어류의 교잡 시도 사례

교잡조합		년도	상업화
암컷	수컷		
갈색점바리	대왕바리	2006	○
갈색등근바리	갈색점바리	2007	
갈색등근바리	대왕바리	2007	○
물방울무늬바리	갈색점바리	2008	
물방울무늬바리	대왕바리	2008	
꼬리큰점바리	갈색점바리	2011	
갈색점바리	꼬리큰점바리	1999, 2011	
꼬리큰점바리	대왕바리	2011	
coral grouper	갈색점바리	2011	
coral grouper	대왕바리	2011	
tomato hind	갈색점바리	2011	

* 갈색점바리 *E. fuscoguttatus*, 대왕바리 *E. lanceolatus*, 갈색등근바리 *E. coioides*, 물방울무늬바리 *Cromileptes altivelis*, 꼬리큰점바리 *E. polyphemadion*, coral grouper *E. corallicola*, tomato hind *Cephalopholis sonnerati*

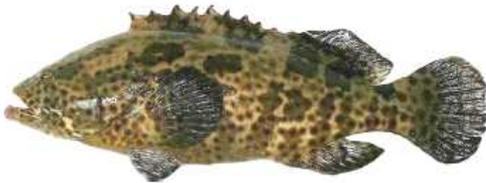
- 갈색등근바리♀ × 대왕바리♂ 교잡품종은 수정률과 부화율은 모계 순종 수정란과 차이가 없었으나 기형률은 교잡품종이 47%로 모계 순종(21%)에 비해 높았음. 교잡품종의 성장은 15일령까지 모계 순종에 비해 다소 느렸지만 45일령에는 차이가 없었으며(20.8±2.3 mm vs. 21.9±3.3 mm), 생존율은 12일령에 22%로 모계 순종(51%)에 비해 낮았으나, 이후 생존율이 모계 순종에 비해 높아져 45일령에서는 차이가 없었음(Kiriyakit et al., 2011). 그러나 이 교잡품종의 종자 단계 이후의 성장 등에 관한 보고는 없음



<갈색점바리♀×대왕바리♂>



<갈색등근바리♀×대왕바리♂>



<갈색등근바리♀×갈색점바리♂>



<물방울무늬바리♀×갈색점바리♂>

그림 1-3-1. 바리과 어류 교잡품종.

제 4 절 연구개발 범위

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	연구개발 수행내용
1차년도 (2017)	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	종자생산 및 질병 제어 기술개발	<input type="checkbox"/> 육상수조 내 생존율 향상 및 기형률 저감기술 개발(I) <input type="checkbox"/> 노지 종자생산 가능성 평가 <input type="checkbox"/> 국내 및 해외 질병 모니터링 : 배양, 분리, 동정
		우량종자 대량생산 및 상품성 검증	<input type="checkbox"/> 우량 종자 대량생산 <input type="checkbox"/> 생산된 종자의 상품성 검증 -건강도(질병 등) 및 기형/관능평가 <input type="checkbox"/> 생산된 종자의 상품성 검증
		해외생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매	<input type="checkbox"/> 현지 친어확보 및 종자 생산 <input type="checkbox"/> 국내생산 치어의 중간육성 및 현지 판매 평가(I) <input type="checkbox"/> 치어 수송비용 절감기술(I)-밀도
		국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축	<input type="checkbox"/> 베트남 유통업체(2개사 이상)와 협력체계 구축 <input type="checkbox"/> 베트남 시장동향 파악
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	어종별 친어확보 및 관리 기술개발(I)	<input type="checkbox"/> 친어자원 확대 및 사육관리(I) -구입:순종 1종(자바리) -관리:순종 4종* <input type="checkbox"/> 친어 데이터베이스 확보(I)-순종 4종 *대왕바리, 자바리, 갈색점바리, 붉바리 <input type="checkbox"/> 유전특성 조사(I)-대왕바리 발현유전체 분석
		순종 및 교잡 수정란 대량생산·공급 기술개발(I)	<input type="checkbox"/> 정자 대량 동결보존(I)-대왕바리, 자바리 <input type="checkbox"/> 성성숙 제어 및 난질향상(I)-국내 <input type="checkbox"/> 수정란 대량생산 및 발생률 향상(I) -수온
		수출용 품종 다양화 기술개발(I)	<input type="checkbox"/> 교잡품종 개발(I)-성장, 체색 (예, 대왕바리♀×자바리, 붉바리♂) <input type="checkbox"/> 목적형질(성장, 체색) 발현을 향상(I) -대왕붉바리 <input type="checkbox"/> 육종효율 현지 모니터링(I)-2개국* 각 1개소

2차년도 (2018)	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	해외 친어관리 및 우량종자 대량생산(I)	<input type="checkbox"/> 먹이생물 (<i>Nannochloropsis</i> sp. & rotifer) 배양 및 공급* <input type="checkbox"/> 갈색점바리 친어확보(인도네시아, 베트남)* <input type="checkbox"/> 호르몬에 의한 산란유도 <input type="checkbox"/> 해외 꼬리큰점바리 및 대왕바리 정액 동결보존
		해외생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매(I)	<input type="checkbox"/> 베트남 종자 대량생산 및 판매기지 확보* <input type="checkbox"/> 우량종자 20만마리 생산 및 판매* <input type="checkbox"/> 치어 수송비용 절감기술(II)-수온 <input type="checkbox"/> 중간육성 질병발생 모니터링(I) <input type="checkbox"/> 품종별 성장률, 생존율 분석(I)
		국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축(I)	<input type="checkbox"/> 종자 유통구조 조사(인도네시아)* <input type="checkbox"/> 종자생산량, 바리와 양식 생산 현황조사(I)* <input type="checkbox"/> 동남아시아 바리와 시장동향 파악* <input type="checkbox"/> 해외 판매업체 확보(I)* - 베트남 <input type="checkbox"/> 해외 종자생산 관련 기업 기술이전 실시(I)
		교잡종자 특성 분석 및 우수성 평가(I)	<input type="checkbox"/> 생산된 종자의 상품성 검증(I)-건강도(질병 등) 및 기형/관능평가 <input type="checkbox"/> 교잡종의 발현 유전체 특성 분석
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	어종별 친어확보 및 관리(II)	<input type="checkbox"/> 친어자원 확대 및 사육관리(II) -구입:순종 1종(갈색점바리) -관리:순종 4종* <input type="checkbox"/> 친어 데이터베이스 확보(II) - 순종 4종* *대왕바리, 자바리, 갈색점바리, 붉바리 <input type="checkbox"/> 교잡품종의 성성숙 조사(I) - 대왕자바리, 대왕붉바리
		교잡 수정란 대량생산-공급(II)	<input type="checkbox"/> 정자 대량 동결보존(II) - 대왕바리, 자바리 <input type="checkbox"/> 성성숙 제어 및 난질향상(II) - 국내외 <input type="checkbox"/> 수정란 대량생산(교잡종)
		교잡품종 육종효율 향상(II)	<input type="checkbox"/> 목적형질 발현을 향상(II) - 대왕붉바리 : 체색(산업 규모) <input type="checkbox"/> 육종효율 현지 모니터링(II)-2개국* 각 1개소 * 베트남, 말레이시아, 대만 중 2개국
	우량 종자 대량생산 기술개발 및 산업화	교잡품종 종자 생산성 향상 기술개발(I)	<input type="checkbox"/> 난황흡수기 생존율 향상(I)-대왕자바리, 대왕붉바리 · 환경조건별 초기생존율 조사-수온, 염분, pH <input type="checkbox"/> 단계별 먹이공급 방법 개선(I) · 미소플랑크톤(microplankton) 탐색 및 실증배양 · 생존향상·기형저감을 위한 영양강화
		교잡품종 종자 대량생산 산업화 체계 확립(I)	<input type="checkbox"/> 아열대 바리와 우량종자(교잡종 포함) 대량생산 및 국내외 판매(I) · 우량종자 대량생산(수정란 3리터 이상 입식) <input type="checkbox"/> 우량수정란 확보 및 종자판매 체계 마련(I) · 친어자원 관리(붉바리) · 마케팅(홍보, 시장확대)

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구내용	연구범위
3차년도 (2019)	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	친어관리 및 수정란 생산	<input type="checkbox"/> 친어 사육관리-갈색점바리 <input type="checkbox"/> 가두리, 육상수조에서의 친어사육을 통한 성숙도 분석(I) <input type="checkbox"/> 호르몬 처리에 의한 산란 및 난질 비교 : LHRH-a, Ovaprim, HCG 등
		국내외 우량종자 대량 생산기술 개발	<input type="checkbox"/> 우량종자 40만마리 생산 및 판매 <input type="checkbox"/> 국내외 수정란 입식 시 생존율, 기형률 비교분석 <input type="checkbox"/> 치어 대량 수송기술 개발(I)-수송시간 <input type="checkbox"/> 종자 중간육성 기술개발 <input type="checkbox"/> 국내 종자생산 기업 기술이전 <input type="checkbox"/> 국내외 대왕바리 등 동결정액 확보 <input type="checkbox"/> 우량종자 상품성 분석(collagen contents)(추가)
		국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축(II)	<input type="checkbox"/> 종자생산량, 바리과 양식 생산 현황조사(II) <input type="checkbox"/> 동남아시아 지역 신규 유통채널 구축-인도네시아 <input type="checkbox"/> 동남아시아 판매업체 확보 <input type="checkbox"/> 국내의 바리과 어류 생산동향 및 수입량(추가) <input type="checkbox"/> 수입되는 바리과 어류의 종 동정 서비스(추가)
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	어종별 친어 확보 및 관리 기술개발 (III)	<input type="checkbox"/> 친어자원 확대 및 사육관리(III) -대상: 대왕바리, 갈색점바리 -시설: 해상가두리, 육상수조 <input type="checkbox"/> 친어 데이터베이스 확보(III) -대상종: 2종(대왕바리, 갈색점바리) -항목: 산란 및 난질 성적 등
		현지 생산기지 구축 및 종자 대량생산 기술개발 (II)	<input type="checkbox"/> 현지 생산기지 구축 및 운영(II): 해상가두리, 육상배양장 <input type="checkbox"/> 성성숙 제어 및 난질향상(II) -대상: 갈색점바리, 대왕바리 -항목: 먹이, 성숙·산란유도 호르몬 <input type="checkbox"/> 대왕범바리 수정란·종자 현지 대량생산 체제 구축(II) -항목: 친어관리·우량수정란 생산 체계, 먹이생물 대량 배양 체계, 종자 질병 예방 및 제어 체계
		교잡종자 판매망 확보 및 판매 (I)	<input type="checkbox"/> 종자 유통망 구축(II) -시장 및 유통구조 조사(문제점 포함) -전담 유통채널 확보(베트남 2개 채널 이상) <input type="checkbox"/> 종자판매(II) : 대왕범바리 34만 마리 이상 <input type="checkbox"/> 현지 시험포 운영(I) -대상: 대왕범바리, 대왕자바리, 대왕불바리 -항목: 홍보활동, 육종효율 및 현지 상품성 검증
	우량 종자 대량생산 기술개발 및 산업화	국내 아열대 바리과 교잡 종자 생산성 향상 기술개발(II)	<input type="checkbox"/> 난황흡수기 생존율 향상(II) · 환경조건별 부화율 조사(수온, 염분, pH) <input type="checkbox"/> 단계별 먹이공급 방법 개선(II) · 미소플랑크톤(microplankton) 1종 이상 대량배양 · 생존향상·기형저감을 위한 먹이계열 적용
		국내 아열대 바리과 교잡 종자 대량생산 산업화 체계 확립(II)	<input type="checkbox"/> 국내 아열대 바리과 우량종자(교잡종 포함) 대량생산 및 국내외 판매(II) · 순종 및 교잡품종 종자 대량생산(수정란 4리터 이상 입식) <input type="checkbox"/> 우량수정란 확보 및 종자판매 체계 마련(II) · 능성어, 대왕자바리, 대왕불바리 등 아열대 바리과 어 류 순종 및 교잡 종자 생산 및 판매 · 친어자원 관리 · 마케팅(홍보, 고객확보 및 시장확대)

구분	세부프로젝트명	세부연구내용	연구범위
4차년도 (2020)	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	해외 친어관리 및 우량종자 대량생산(III)	<input type="checkbox"/> 해외 우량종자 수정란 부화 및 자어관리 기술개발 <input type="checkbox"/> 가두리, 육상수조에서의 친어사육을 통한 성숙도 분석(II) <input type="checkbox"/> 치어 대량 수송기술 개발(II)
		해외생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매(III)	<input type="checkbox"/> 우량종자 40만마리 생산 및 판매 <input type="checkbox"/> 육상수조에서의 중간육성 기반기술개발 <input type="checkbox"/> 중간육성 및 성장단계별 현지 판매 가능성 평가(II) <input type="checkbox"/> 해외 우량종자 수정란 생산을 위한 대상종 정액 동결보존 <input type="checkbox"/> 해외생산기지 운영을 통한 신제품 우수성 홍보
		국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축(III)	<input type="checkbox"/> 해외 판매업체 확보(III) <input type="checkbox"/> 해외 종자생산 관련 기업 기술이전 실시(II) <input type="checkbox"/> 동남아시아 유통업체와 협력체계 구축(I)
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	어종별 친어 확보 및 관리 기술개발 (III)	<input type="checkbox"/> 친어자원 확대 및 사육관리(III) -대상: 대왕바리, 갈색점바리 -시설: 해상가두리, 육상수조 <input type="checkbox"/> 친어 데이터베이스 확보(III) -대상: 대왕바리, 갈색점바리 -항목: 산란 및 난질 성적 등
		현지 생산기지 구축 및 종자 대량생산 기술개발 (III)	<input type="checkbox"/> 현지 생산기지 운영(III) -시설: 해상가두리, 육상배양장 <input type="checkbox"/> 성숙도 제어 및 난질향상(III) -대상: 갈색점바리, 대왕바리 -항목: 먹이, 성숙·산란유도 호르몬 <input type="checkbox"/> 수정란·종자 현지 대량생산 및 체제 구축(III, 위탁) -대상: 대왕범바리 -항목: 친어관리·우량 수정란 생산 체계, 먹이생물 대량배양 체계, 종자 질병 예방 및 제어 체계
		교잡종자 판매망 확보 및 판매 (II)	<input type="checkbox"/> 종자 유통망 구축(II, 위탁) - 시장 및 유통구조 조사(문제점 포함) - 전담 유통채널 확보(인근국가 1개 채널 이상) <input type="checkbox"/> 종자판매(II, 위탁) -대상: 대왕범바리 초기종자, 육성종자 -수량: 40만 마리 이상(60만불) <input type="checkbox"/> 현지 시험포 운영(I, 위탁) -대상: 대왕범바리, 대왕자바리, 대왕붉바리 -항목: 홍보활동, 육종효율 및 현지 상품성 검증 <input type="checkbox"/> 종자 판매전략 수립(I) - 적정 판매시기 및 판매처(베트남 및 인근국가)
	우량 종자 대량생산 기술개발 및 산업화	국내 아열대 바리과 교잡 종자 생산성 향상 기술개발(III)	<input type="checkbox"/> 난황흡수기 생존율 향상(III) · 친어관리에 따른 조사 <input type="checkbox"/> 단계별 먹이공급 방법 현장 적용(III) · 미소플랑크톤(microplankton) 1종 이상 대량배양 · 첫먹이용 먹이생물 · 영양강화 · 먹이계열
		국내 아열대 바리과 교잡 종자 대량생산 산업화 체계 확립(III)	<input type="checkbox"/> 교잡품종 우량종자 대량생산 및 국내외 판매(III) · 교잡품종 종자 대량생산(수정란 5리터 이상 입식) <input type="checkbox"/> 기업 주도형 통합체계 구축(III) · 능성어, 대왕자바리, 대왕붉바리 등 아열대 바리과 어류 순종 및 교잡 종자 생산 및 판매 · 친어관리-수정란-종자생산-마케팅-판매

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구내용	연구범위
5차년도 (2021)	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	친어관리 및 우량종자 대량생산(IV)	<input type="checkbox"/> 우량종자 50만마리 생산 및 판매 <input type="checkbox"/> 치어 대량 수송기술 확립
		우량종자 중간육성을 통한 마케팅 및 판매(IV)	<input type="checkbox"/> 순환여과양식을 통한 수율 증대 <input type="checkbox"/> 신품종의 중간육성 및 성장단계별 현지 판매 가능성 평가
		국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축(IV)	<input type="checkbox"/> 국내외 판매업체 확보(IV) <input type="checkbox"/> 국내외 유통업체와 협력체계 구축(II) <input type="checkbox"/> 동남아시아 바리과 시장동향 파악
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	어종별 친어 관리	<input type="checkbox"/> 친어자원 관리 -대상: 대왕바리, 갈색점바리 -시설: 해상가두리, 육상수조 <input type="checkbox"/> 친어 데이터베이스 확보 -대상: 대왕바리, 갈색점바리 -항목 : 산란 및 난질 성적 등 <input type="checkbox"/> 사업종료 후 활용방안 마련 -내용: 현지법인 양여, 기술실시계약 등
		현지 종자 대량생산 기술 적용	<input type="checkbox"/> 현지 생산기지 운영 -시설: 해상가두리, 육상배양장 <input type="checkbox"/> 대왕범바리 수정란·종자 현지 대량생산 적용 -대상: 대왕범바리 -항목: 친어관리·우량 수정란 생산 체계, 먹이생물 대량배양 체계, 종자 질병 예방 및 제어 체계 <input type="checkbox"/> 종자판매망을 통한 판매 -대상: 대왕범바리 초기종자, 육성종자 -수량: 50만 마리 이상(68만불)
		현지 산업화 효율성 제고	<input type="checkbox"/> 친어자원 사육관리 및 적정 매뉴얼 마련 -대상: 순종 2종(대왕바리, 갈색점바리) -내용: 현지 환경을 고려한 관리 매뉴얼 마련 <input type="checkbox"/> 대왕범바리 종자 생산성 향상 매뉴얼 마련 -내용: 현지 환경을 고려한 먹이계열·처리시기 등
	우량 종자 대량생산 기술개발 및 산업화	국내 아열대 바리과 교잡 종자 생산성 향상 기술개발(IV)	<input type="checkbox"/> 난황흡수기 생존율 향상(IV)-대왕붉바리, 대왕자바리 · 친어관리에 따른 부화율 조사 <input type="checkbox"/> 단계별 먹이공급 방법 현장 적용(IV) · 미소플랑크톤(microplankton) 상용화 · 적정 영양강화 적용·적정 먹이계열 확립
		국내 아열대 바리과 교잡 종자 대량생산 산업화 체계 확립(IV)	<input type="checkbox"/> 교잡품종 우량종자 대량생산 및 국내외 판매(IV) · 교잡품종 종자 대량생산(수정란 7리터 이상 입식) <input type="checkbox"/> 기업 주도형 통합체계 구축(IV)- · 능성어, 대왕자바리, 대왕붉바리 등 아열대 바리과 어 류 순종 및 교잡 종자 생산 및 판매 · 친어관리-수정란·종자생산-마케팅-판매

제 2 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산 기반 구축

1. 종자생산 및 질병 제어 기술개발

가. 기형 저감 기술개발

- 바리과 어류의 대량생산 시 생산환경, 먹이, 물리적 충격 등의 다양한 원인으로 기형이 발생한다. 종자생산 시설·방법(육상수조 및 노지, 바이오플록)을 달리하여 생산한 종자의 생존율 및 기형률을 비교 분석하여 기형 발생의 주요 원인을 파악한 후 적절한 대량생산 체계(시설, 먹이 공급 체계, 수질 관리)를 확립함.
- 대왕자바리의 기형률이 높아 정자 개체와 기형 개체 간 전사체 분석을 통해 기형 발생의 원인을 분석하고 해결 방안을 모색하고자 함.

: 부화 직후 기형과 정상 개체 각 100마리씩 액체질소에 동결보존

: Total RNA 1ug으로부터 oligodT를 이용하여 mRNA를 분리 후 library 구축

: Hiseq 4000을 이용하여 서열해독 -> Contig annotation, KEGG, DEG 분석 후 차등 발현하는 유전자에 대해 Blast-X를 이용하여 유전자 기능 분석

(1) Soft x-ray를 통한 기형 비교

(가) 바리과 3종의 표본 확보

- 자바리의 기형 개체는 전남 무안군에 있는 청솔 수산에서 확보된 개체 중 정상과 기형의 여부가 의심되는 샘플을 10% 포르말린에 고정하여 보관함.
- 대왕바리의 기형 개체는 대만의 바리과 종묘생산업체에서 구매하여 고정된 샘플 중 이상 형질을 나타내는 개체를 선별함.
- 대왕자바리의 기형 개체는 제주도의 제다양식에서 샘플해 온 30개의 개체를 바탕으로 샘플해 온 30개의 개체를 바탕으로 외형적으로 기형 유무가 의심되거나 판단되는 개체를 따로 추려내어 선별 보관함.

(나) 기형의 형태

- 정상적인 자바리, 대왕바리, 대왕자바리의 척추골 수는 복추골 10개, 꼬리 골 14개로 확인되어 척추 기형 여부를 확인함(그림 2-1-1).
- 일차적으로 기형의 여부는 겉으로 드러나는 표현 형질을 통해 알 수 있고 보다 정확한 기형 여부 확인을 위해서 soft x-ray 촬영을 통한 골격의 각도나 이상의 유무를 확인해야 함 외형적으로 기형 유무가 의심되거나 판단되는 개체를 따로 추려내어 선별 보관함.

- 외부형질로 드러나는 기형은 아가미덮개 미형성, 척추의 기형으로 인한 몸의 측만, 두부의 선천적 함몰 등이 있음(그림 2-1-2).
- 일반적으로 어류는 측선을 따라 척추골이 형성되어 있는데 대부분의 기형어류는 척추골의 상부와 하부의 각도, 결손, 측만을 가지고 있어 해부학적인 방법을 통해 더욱 정확한 기형을 동정할 수 있음(그림 2-1-3).

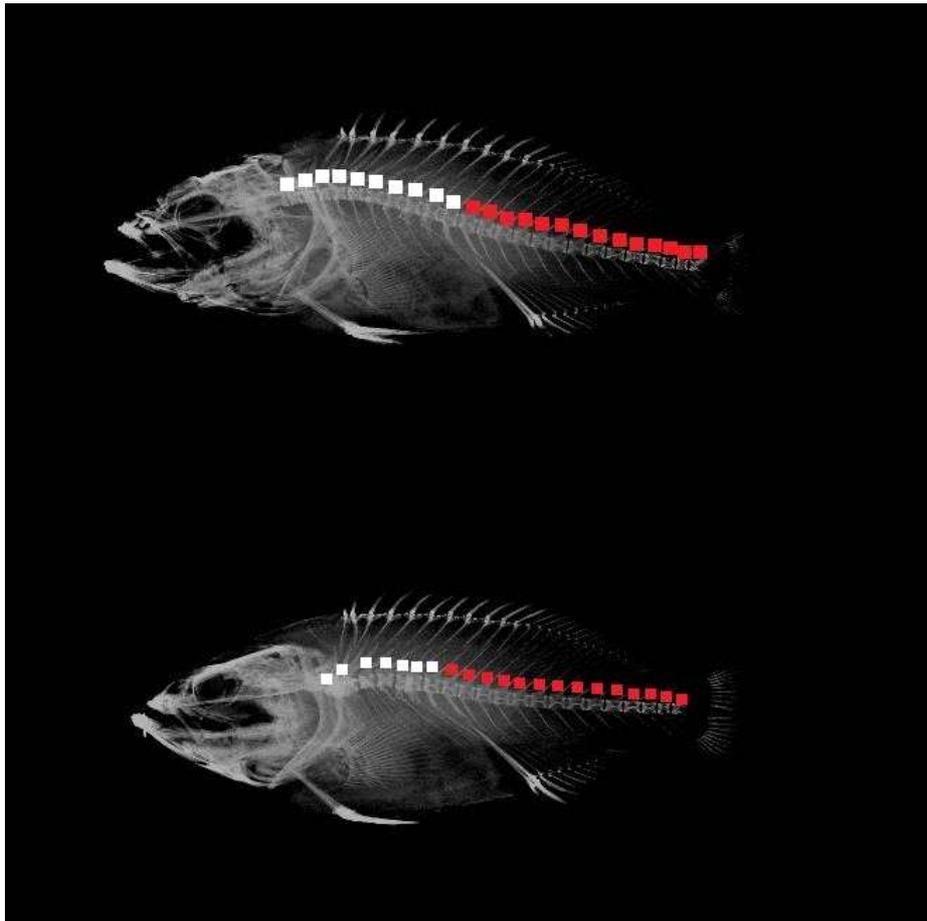
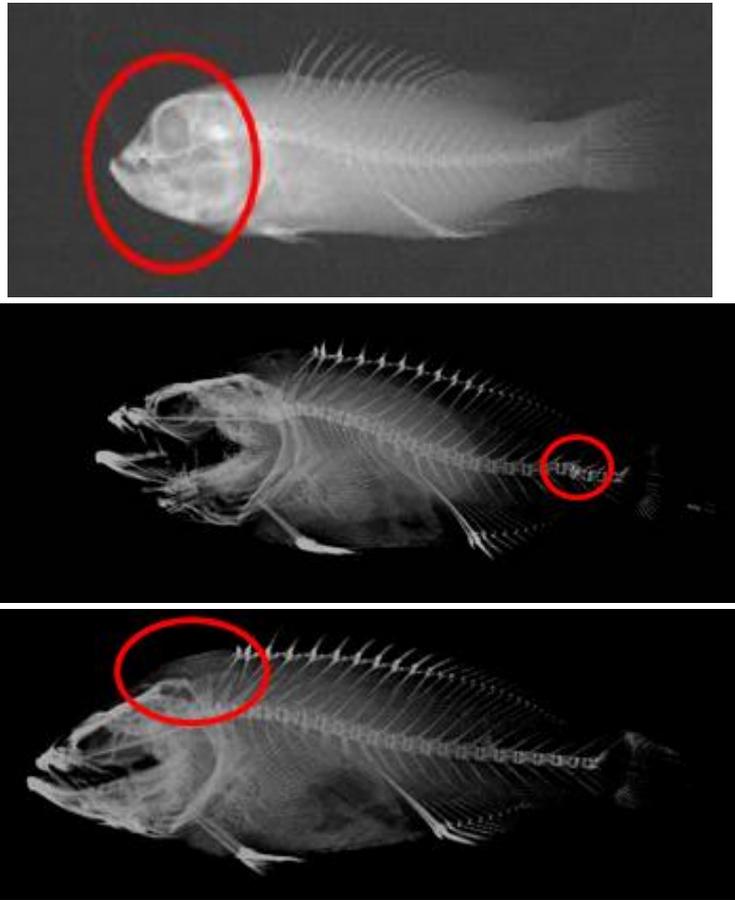


그림 2-1-1. 정상적인 대왕자바리(상), 기형인 대왕자바리(하).



그림 2-1-2. 외형적으로 드러나는 기형의 형태.



2-1-3. 그림 해부학적으로 드러나는 기형의 형태.

(다) Soft- x-ray 표본 촬영

- 충청남도 천안시 쌍용동에 있는 순천향병원 초음파실의 soft x-ray 촬영에 관한 허가를 받아 Mammography (Senographe 2,000D, GE) 촬영을 시행함 (그림 2-1-4).
- 외형상의 아닌 정상적인 개체와 기형 개체의 척추골 계수와 기타 연골조직 및 기초 상태를 해부학적으로 정확히 진단하기 위해 사용함.
- 촬영된 표본은 정상적인 자바리, 대왕바리, 대왕자바리 각각 5개체씩 선별하였고 기형이 의심되거나 확실시되는 개체는 자바리 7개체, 대왕바리 2개체, 대왕자바리 2개체를 사용함.



그림 3-1-4. Mammography 분석 장비(Senographe2000D, GE).

(라) 표본의 분석

① 자바리

- 촬영에 사용된 자바리 5개체와 기형 의심 7개체를 soft x-ray로 촬영함.
- 기형 의심 7개체 중 2개체는 확연히 두부 앞쪽의 선천적인 함몰과 등지느러미 기부의 기형을 확인할 수 있었음.
- soft x-ray 촬영에서 기형 여부가 불분명한 5개체는 x-ray 상으로는 확인할 수 없었지만, 육안상으로 아가미덮개의 미생성이 확인되어 기형으로 진단할 수 있었음(그림 2-1-5).

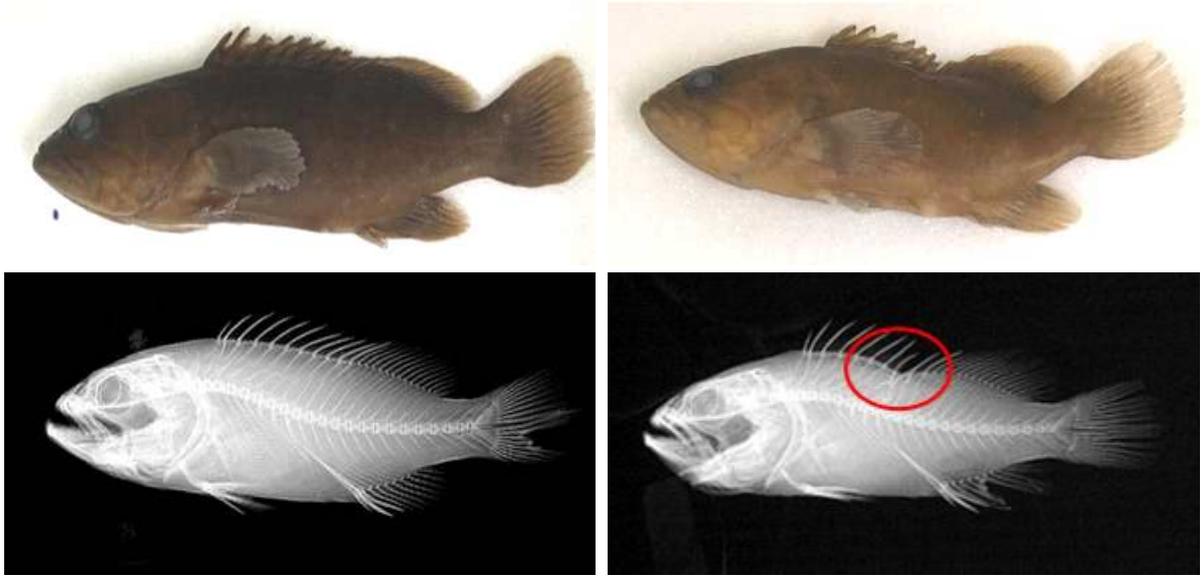


그림 2-1-5. 정상적인 자바리(좌), 등지느러미 기부 기형인 자바리(우).

② 대왕바리

- 촬영에 사용된 대왕바리 5개체와 기형 의심 2개체를 soft x-ray로 촬영함.
- 기형으로 의심 가는 개체는 x-ray 상에서 두부의 용기와 척추골 측만 확인(그림 2-1-6).

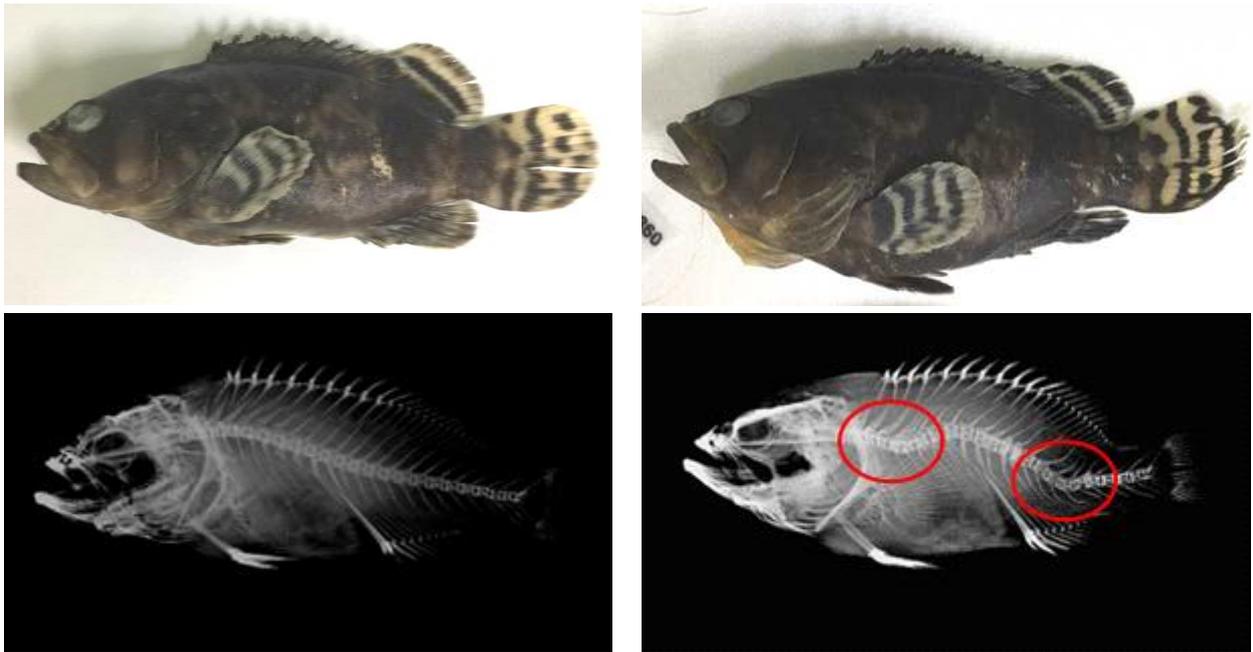


그림 2-1-6. 정상적인 대왕바리(좌), 척추골 기형인 대왕바리(우).

③ 대왕자바리

- 촬영에 사용된 대왕자바리 5개체와 기형 의심 2개체를 soft x-ray로 촬영함
- 외형적 두부 기형이 확인된 개체는 soft x-ray에서도 기형으로 나타남(그림 2-1-7).

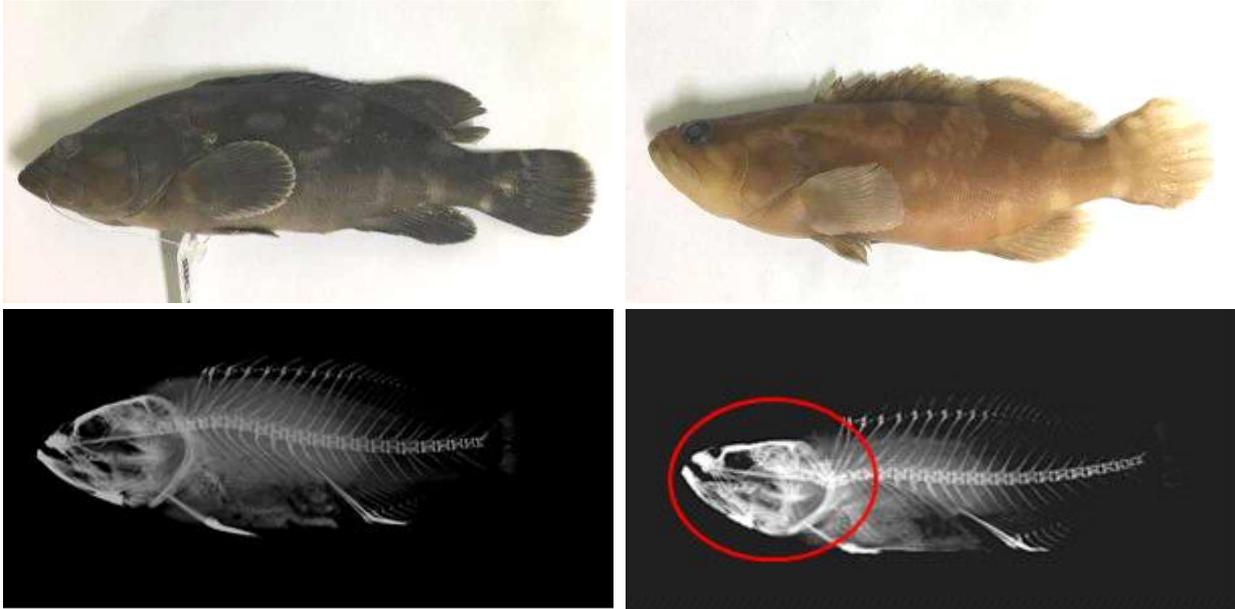


그림 2-1-7. 정상적인 대왕자바리(좌), 두부 기형인 대왕자바리(우).

나. 교잡종의 발현 유전체 특성 분석

- 1차년도에 대왕바리 수정란 생산을 통해 새로 교잡 시도한 대왕자바리(대왕바리♀ × 자바리♂)와 붉대 왕 바리(대왕바리♀ × 붉바리♂)의 발현 유전체 특성 분석
- 대왕자바리는 1차년도에 실시한 대왕자바리(자바리♀ × 대왕바리♂)와 up- and down-regulation의 KEGG pathway를 분석함.
- 대왕붉바리, 대왕자바리, 붉대 왕 바리의 미토콘드리아 전체 유전자 서열 및 유연관계 분석

(1) NGS를 통한 교잡종의 Whole genomic sequencing for mtDNA

- 교잡품종 대왕바리(♀) × 자바리(♂), 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 전체 Mitochondrial Genome 분석을 위하여, 교잡종 부화 직후 자어를 70% Ethyl alcohol에 고정, sampling 하였음. Trinean Dropsense96으로 Sample Quality Control을 확인하였으며, Illumina TruSeq Nano DNA Kit과 Agilent Technologies Bioanalyzer DNA Chip을 이용하여 WGS Library preparation과 Library QC를 진행하였음, 구축된 Library는 Illumina Nextseq 500 Sequencing system으로 Sequencing을 실시하였음(그림 2-1-8).



그림 2-1-8. WGS 실험 진행 과정.

(2) Library preparation

- Illumina Nextseq 500 Sequencing system을 위해, 추출된 gDNA으로부터 라이브러리를 구성하였으며, 이를 위하여 TruSeq Nano DNA library preparation kit (Illumina, CA, USA)를 제조업체의 지침에 따라 사용하였음. Library quality check은 library size distribution과 concentration 두 가지를 확인하였으며, Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer와 DNA 1000 Bioanalyzer LabChip을 이용하였음, gDNA를 350bp 또는 550bp의 Fragment DNA로 만들어 labelling을 한 후 Repair 과정을 거쳐 적절한 library size로 조합함. 3' 말단에 'A' 뉴클레오타이드를 추가하여, fragment 간의 충돌을 방지하고, Ligate Adapters 과정을 거쳐, 혼성화 준비를 함. 이후 adapter들이 붙은 DNA 조각들을 PCR을 통해 증폭하고, Cluster 생성을 위해 균일한 볼륨으로 pooling 함(그림 2-1-9).

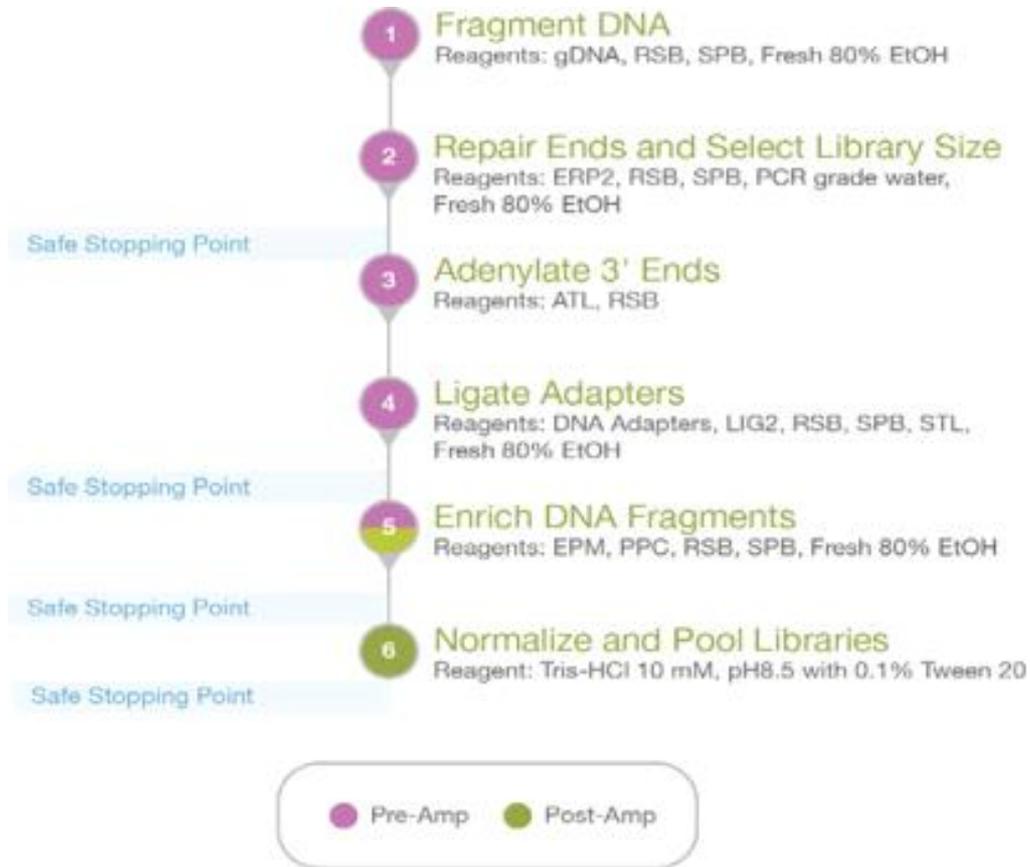


그림 2-1-9. Library Preparation Workflow.

(3) Sequencing 및 Analysis

- Library Prep을 통해 구성된 라이브러리는 Nextseq500 System (Illumina)를 이용하여 시퀀싱이 진행되었으며(그림 2-1-10), 이는 Cluster가 화학적 필터 콤비네이션의 2-channel 시퀀싱 시스템을 사용하여 각각의 서열 종결 부분을 형광 라벨로 표시하여 이미징 되었고, 이 과정은 Sequencing의 각 cycle마다 반복되어 진행함. image 분석 시에 NCS (Nextseq Control Software v2.2)와, RTA(Real Time Analysis)를 통해 base calling, filtering, quality scoring을 진행함. Sequencing 결과들의 분석은 NCS를 이용하여 생성된 RAW data를 cutadapt ver. 1.11을 통해 Trimming을 진행함. 그 후 대왕바리, 자바리, 붉바리의 mtDNA Sequence를 토대로 mtDNA mapping을 실시함. geneious ver. 11.0.5를 사용하여 De novo assembly를 진행하고, MitoFish data를 이용해 Annotation을 실시함.

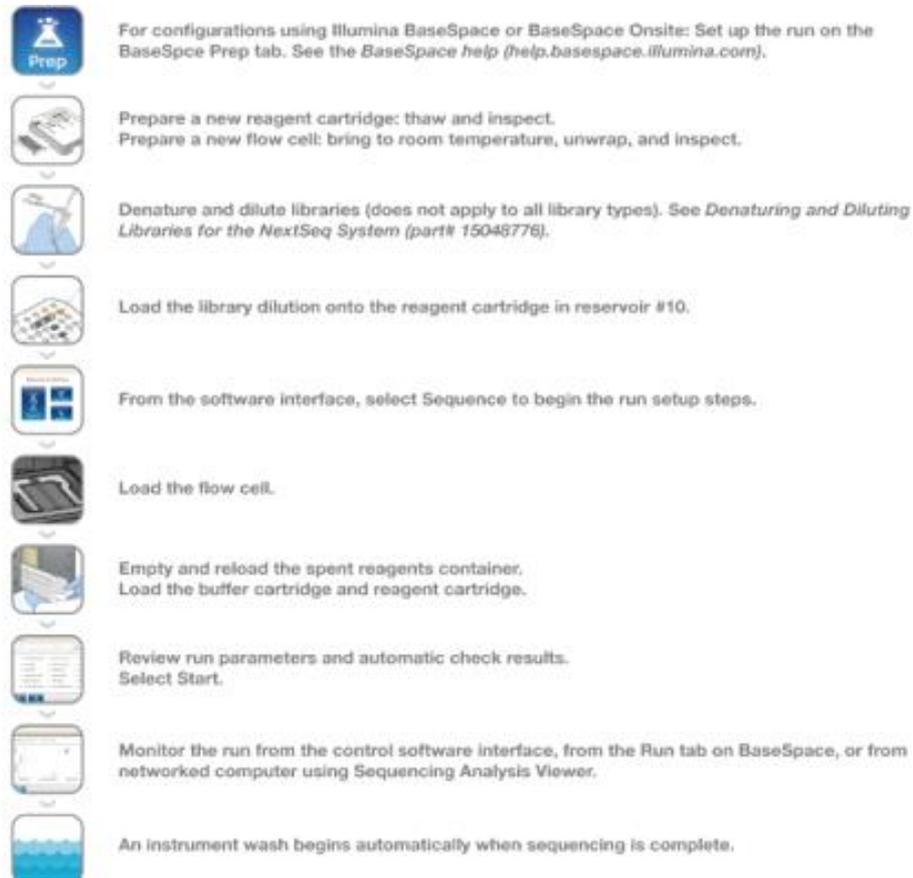


그림 2-1-10. Nextseq 500 system workflow.

(4) Epinephelus속 어류의 Stress 관련 gene 탐색

- 신품종의 각종 환경 및 요인, 수송환경 등에 따른 내성 실험을 토대로 우수성을 검증하기에 앞서서 생존율과 더불어 Stress에 따라 발현되는 gene을 활용하여 각종 조건에 따라 얼마나 내성이 강한지 수치상으로 표현하고, 기본자료로 이용하기 위해 gene 들을 탐색함.
- Gene 탐색의 reference data로써, 이전에 시행하였던 자바리의 transcriptome 분석 data를 사용하였으며, BlastX를 통해 바리과 어류들과 gene 들을 매칭하였음. 이후 data 들을 Blast2Go software를 이용하여, Genome scale sequence data set의 기능적인 분석을 시행하였으며, path category 중 Stress related gene을 sorting 하여, Query sequence에 대해 평가된 Gene Ontology 결과를 종합하였음(그림 2-1-11).

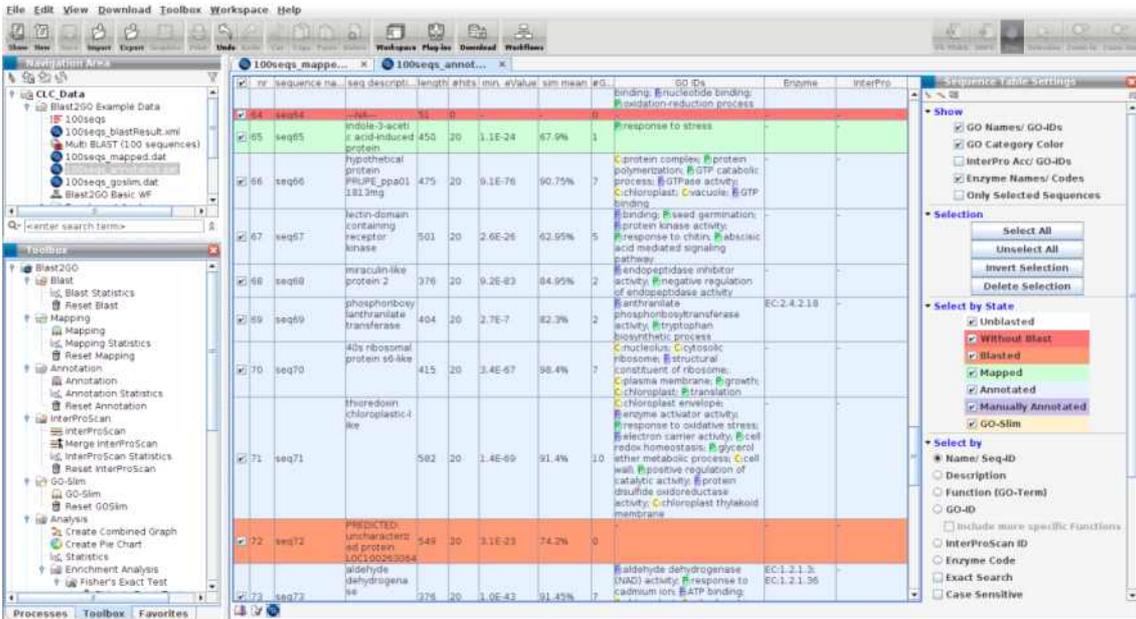


그림 2-1-11. Blast2go software를 이용한 Gene Ontology.

(5) NGS를 통한 기형과 정상 개체 대왕자바리의 전사체 DEG 분석

- 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 교잡품종 부화 자어의 전사체 분석을 위하여, 잡종 F1 세대 자어의 정상 (normal)의 샘플과 기형 (abnormal)의 샘플의 whole body로부터 total RNA를 추출한 후, cDNA 합성 및 NGS sequencing을 위한 library를 구축한 후, Illumina Hiseq 4000 platform으로 2 × 150bp의 pair-end sequencing으로 raw data를 생성하였음(그림 2-1-12).



그림 2-1-12. 실험 진행 과정.

(가) Total RNA isolation

- 샘플로부터 total RNA를 추출하기 위해, 정상군과 비정상 군 자어의 whole body로부터 RNeasy kit (Qiagen, Valencia, CA)을 이용하여 제조업체의 추천 방법으로 total RNA를 추출하였으며, QC는 추출된 total RNA의 18S and 28S ribosomal bands로부터 Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, CA, USA)를 이용하여 확인하였음.

(나) Library preparation

- Illumina Hiseq 4000 platform sequencing을 위하여, 먼저 추출된 total RNA로부터 라이브러리를 구성하였으며, 이를 위하여 TruSeq RNA library preparation kit (Illumina, CA, USA)를 제조업체의 지침에 따라 사용하였음(그림 2-1-13).

- mRNA는 polyA selection에 의하여 total RNA로부터 정제되었고, 화학적으로 단편화된 후에 random hexamer priming으로 single-stranded cDNA로 전환되고 다시 TruSeq library construction을 위해 double-stranded cDNA를 생성하였음.
- Short ds-cDNA fragment 들은 sequencing adapter 들로 연결되고, 시퀀싱을 위한 size를 agarose gel electrophoresis를 이용하여 분리 및 정제하였음. 최종적으로 라이브러리는 PCR 증폭 및 qPCR을 이용하여 정량이 조사되어 최종적으로 Agilent 2100 Bioanalyzer로 QC를 확인하였음.

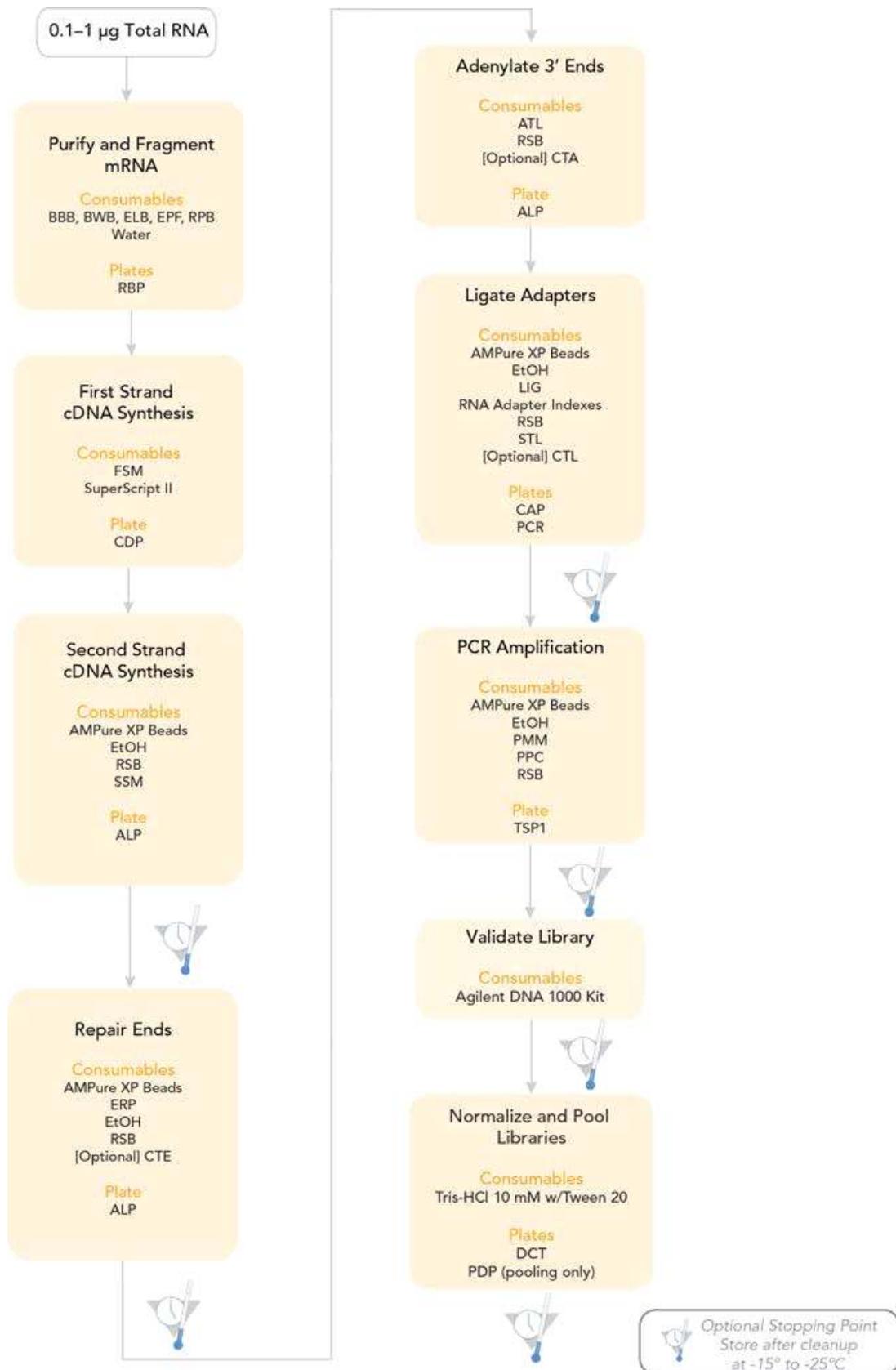


그림 2-1-13. TruSeq RNA 표본 Workflow.

(다) NGS sequencing

- 구성된 cDNA 라이브러리는 HiSeq4000 platform (Illumina)를 이용하여 시퀀싱 되며, HSC (HiSeq Control Software v3.3)를 이용하여 시스템을 제어하여 raw images를 생성하고, 또한 RTA (Real Time Analysis. v2.7.3)이라고 불리는 통합 기본 분석 소프트웨어를 통하여 base calling을 실시하였음. BCL(base calls)은 illumina package인 bcl2fastq (v2.17.1.14)를 이용하여 FASTQ로 변환되었음. 최종적으로 생성된 raw data의 QC는 FastQC v0.10.0. (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>)로 확인하였음(그림 2-1-14).

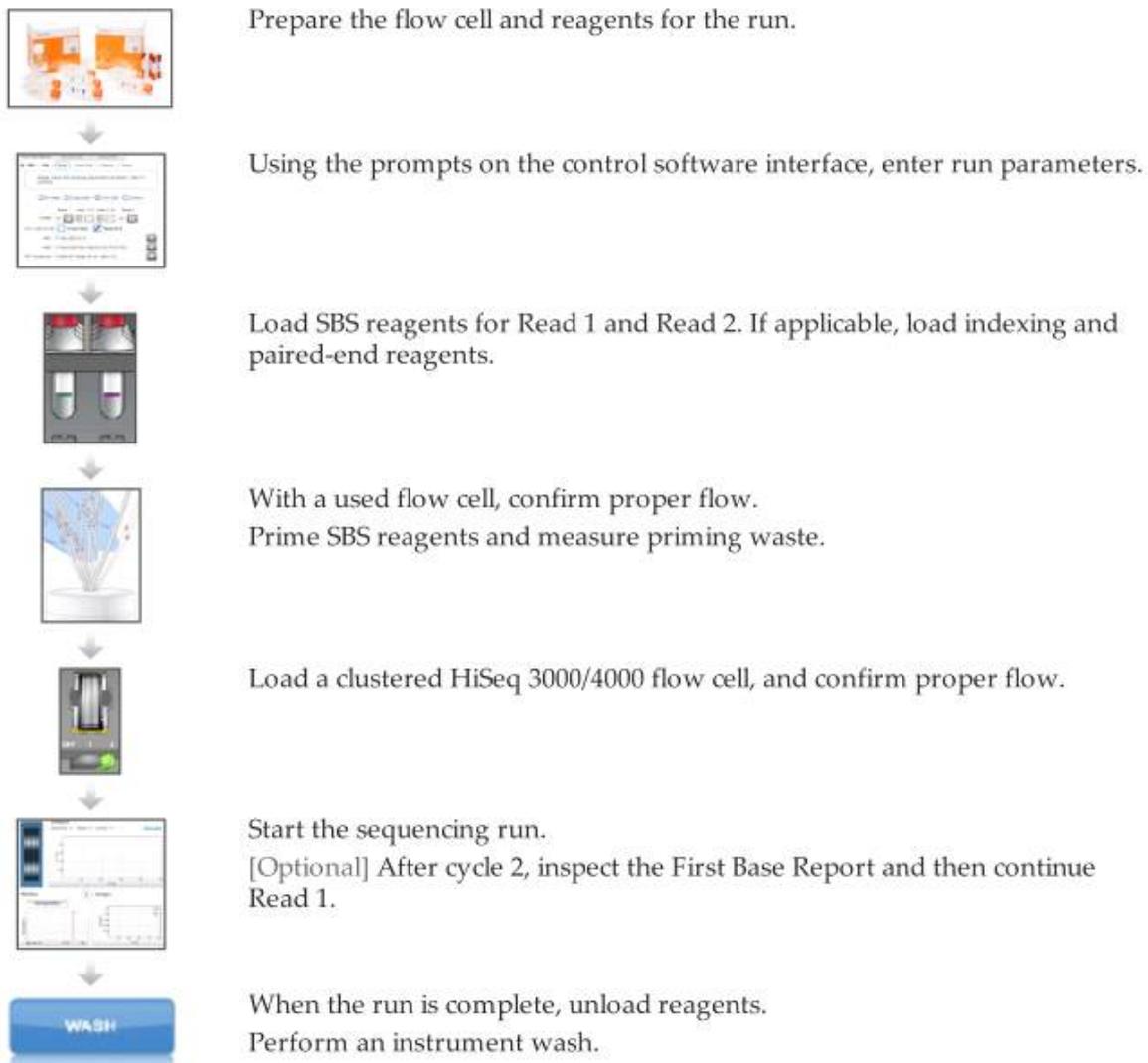


그림 2-1-14. Hiseq 4000 System protocol.

(라) Bioinformatic analysis

- HiSeq4000 platform (Illumina)에 의해 획득된 raw data 들은 clean read 들을 얻기 위하여 cutadapt 소프트웨어(ver 1.11)를 사용한 후에, de novo assembling을 위해서는 Trinity 소프트웨어(ver 2.4.0)를 그리고 unigene contig sets를 얻기 위해서는 CD_HIT_est 소프트웨어(ver 4.7)를, 또한 metabolic pathway map 분석을 위해서는 KEGG pathway mapping(<http://www.genome.jp>)을 실시하였음. 최종적으로 정상군과 비정상 군의 전사체 발현 차이를 확인하기 위하여 DEG 분석을 위한 Trinity package tools를 사용하여 실시하였으며, 발생한 유효한 발현의 차이를 보이는 Contig 은 BlastX를 이용하여 annotation을 실시하였음.

다. 교잡종의 발현 유전체 특성 분석 결과

(1) NGS를 통한 교잡종의 Whole genomic sequencing for mtDNA

(가) Sample Quality Control

- 대왕바리(♀) × 붉바리(♂), 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 자어로부터 gDNA가 추출되었고, gDNA의 농도가 각각 80.17ng/μl, 124.83ng/μl, A260/280 Purity가 1.54, 1.60으로 실험을 위한 기준치보다는 약간 낮은 편이나, 실험 진행에 문제가 없음을 확인함(표 2-1-1, 그림 2-1-15).

표 2-1-1. Sample QC 결과

Sample	Trinean			Picogreen		
	DNA Conc. (ng/μl)	A260/280	A260/230	Conc. (ng/μl)	Vol. (μl)	Amount (ng)
대왕바리(♀) × 붉바리(♂)	80.17	1.54	1.06	2.18	18	39.2
대왕바리(♀) × 자바리(♂)	124.83	1.60	1.10	3.41	18	61.4

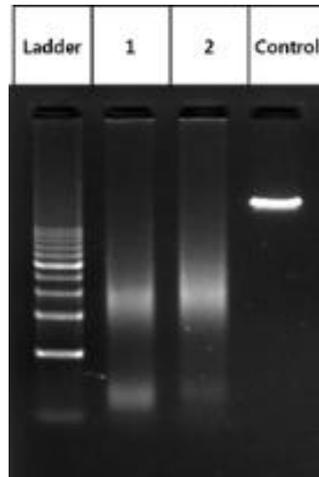


그림 2-1-15. Sample QC Gel 사진.

(나) Library preparation

- 각 sample로부터 추출된 total DNA를 이용하여 구성된 library sample 들을 각 1 μ l씩 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer에 loading 하여 library sample 들의 농도와 library size distribution을 통해 library quality control과 up&down regulation을 확인함(그림 2-1-16, 표 2-1-2).

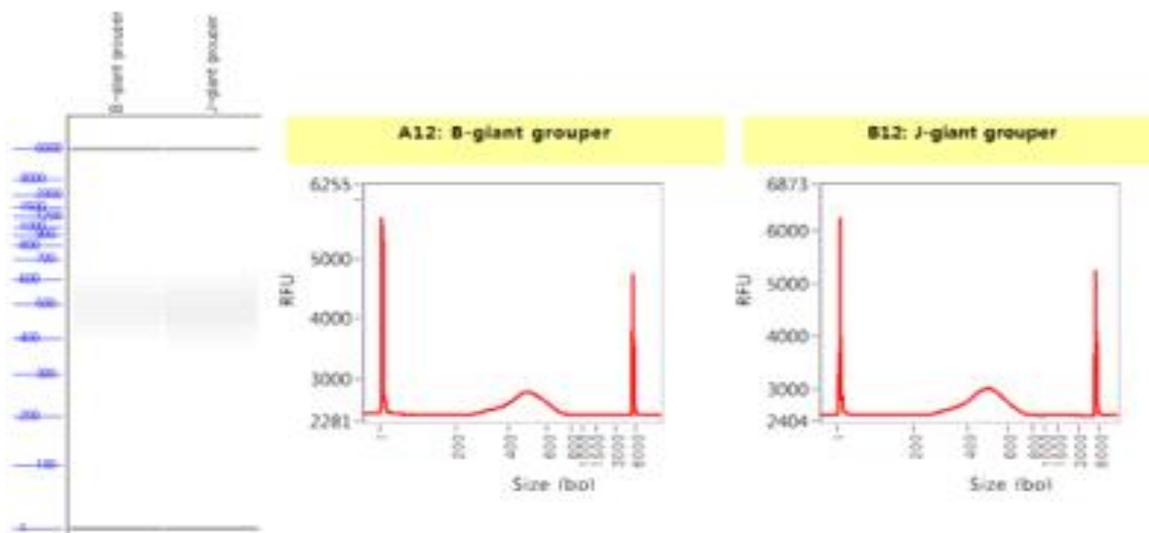


그림 2-1-16. Library QC의 Gel 전기영동(좌), Electropherogram summary(우).

표 2-1-2. Library construction 결과

sample	Peak table			Region table						
	Size (bp)	Conc. (ng/μl)	Molarity (n mol/l)	From (bp)	To (bp)	Average Size	Size distribution in CV(%)	Conc. (ng/μl)	Adapter Index	Adapter Index Sequence
대왕바리(♀) X 붉바리(♂)	484	10	34	200	800	481	18.2	10	AD001	ATCACG
대왕바리(♀) X 자바리(♂)	487	13.3	46	200	800	475	19.9	13.6	AD002	CGATGT

(다) Sequencing

- 각 샘플들에서 준비된 library 들은 Nextseq 500 system을 사용하여 각 샘플의 서열을 sequencing 하였으며(그림 2-1-17), Flow cell summary와 Lane summary는 아래 표와 같이 확인되었음(표 2-1-3, 표 2-1-4).

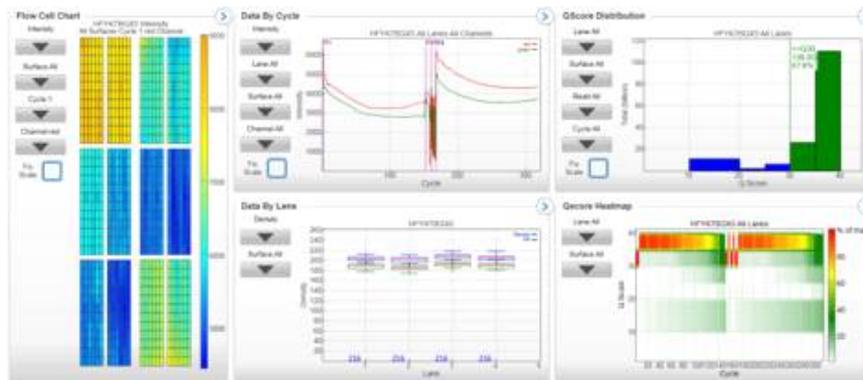


그림 2-1-17. Sequencing analysis 과정.

표 2-1-3. Flow cell Summary

Total clusters (Raw)	Total clusters (PF)	Total Yield (Mbases)
57,789,743	57,789,743	17,453

표 2-1-4. Sequencing lane summary

Lane	Sample	Barcode	Clusters		% of the lane	% Perfect barcode	% One mismatch barcode
			Lane	Total			
1			9,838,155		8.0	100.0	NaN
2	대왕바리(♀)	ATCACG	9,672,093	39,382,511	8.0	100.0	NaN
3	X 붉바리(♂)		10,070,126		8.1	100.0	NaN
4			9,802,137		8.0	100.0	NaN
1			4,603,788		3.8	100.0	NaN
2	대왕바리(♀)	CGATGT	4,516,083	18,407,232	3.7	100.0	NaN
3	X 자바리(♂)		4,706,072		3.8	100.0	NaN
4			4,581,289		3.7	100.0	NaN

Lane	Sample	Yield (Mbases)		% PF Clusters	%>=Q30 bases		Mean Quality Score
		Lane	Total		lane	AVERAGE	
1		2,971		100.0	84.2		32.6
2	대왕바리(♀)	2,921	11,893	100.0	84.3	84.5	32.6
3	X 붉바리(♂)	3,041		100.0	84.8		32.7
4		2,960		100.0	84.7		32.7
1		1,390		100.0	84.2		32.6
2	대왕바리(♀)	1,364	5,559	100.0	84.2	84.5	32.6
3	X 자바리(♂)	1,421		100.0	84.8		32.7
4		1,384		100.0	84.6		32.7

(라) Sequencing Analysis

- Sequencing 결과들의 분석은 NCS를 이용하여 생성된 RAW data를 cutadapt ver. 1.11을 통해 Trimming을 진행함. 그 후 대왕바리, 자바리, 붉바리의 mtDNA Sequence를 토대로 mtDNA mapping을 실시함. geneious ver. 11.0.5를 사용하여 De novo assembly를 진행하고, MitoFish data를 이용해 Annotation을 실시함(그림 2-1-18).
- 대왕바리(♀) X 붉바리(♂), 대왕바리(♀) X 자바리(♂) 교잡종 자어로부터 total DNA를 추출하고, 앞서 진행한 실험방법에 따라 수행한 후 최종적으로 Nextseq 500 system으로 대왕바리(♀) X 붉바리(♂)에게서는 11.89Gbp(78.76 M reads)를 그리고 대왕바리(♀) X 자바리(♂)에서는 5.55Gbp(36.8 M reads)의 raw data를 산출하였음(표 2-1-5).
- Raw data로부터 clean read 들을 생성하기 위하여, cutadapt를 사용하여, 표 1-37과 같은 결과를 얻었으며, 이로부터 mtDNA mapping과 assembling to ref를 통해 최종적으로 각각 181, 170, 78,749 contigs를 얻었음. 기타 다른 정보들은 표 2-1-5 에 나타내었음.

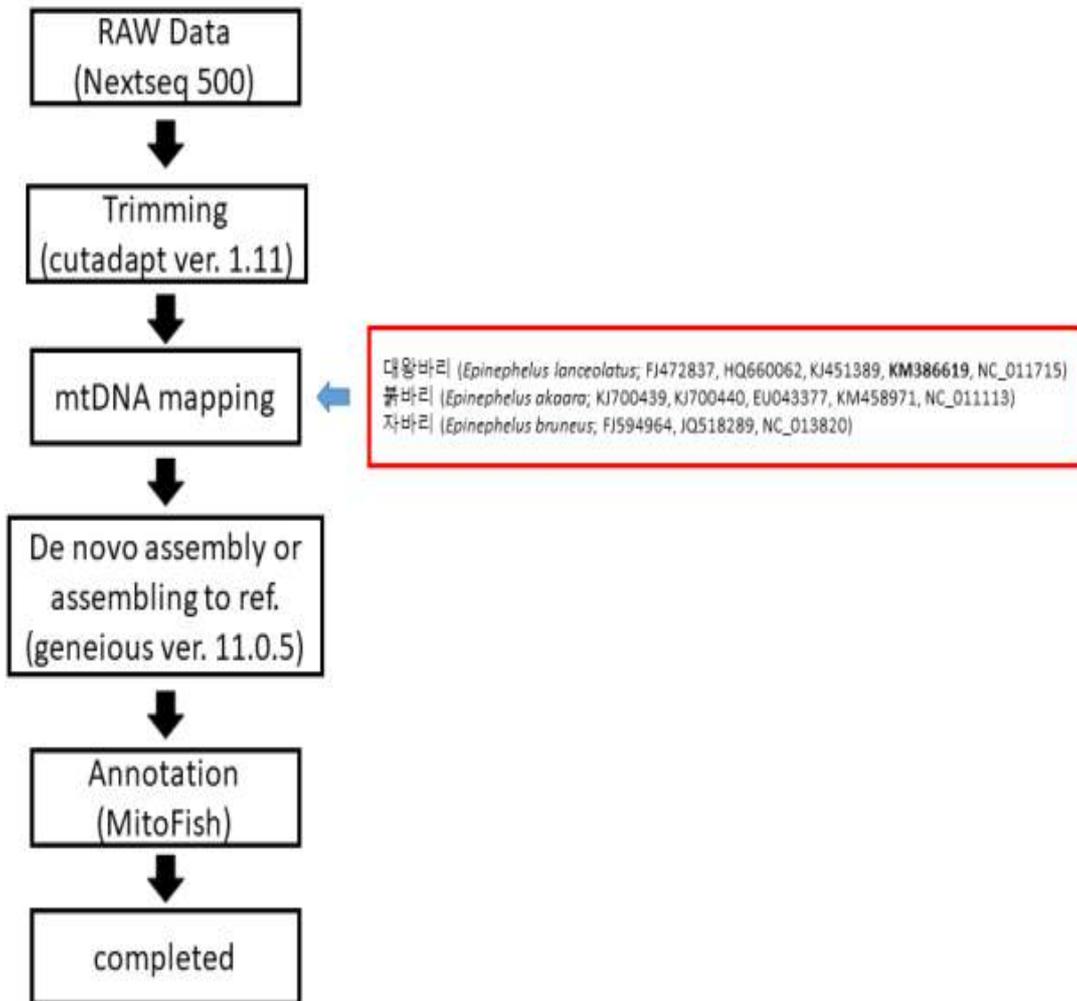


그림 2-1-18. Sequencing Analysis workflow.

표 2-1-5. NGS Sequencing 및 mapping sequence의 통계적 요약

Items		대왕바리(♀) × 붉바리(♂)	대왕바리(♀) × 자바리(♂)
Raw data	Number of paired-end reads	78,765,022	36,814,464
	Q30 bases (%)	84.5	84.5
	Quality Score	32.65	32.275
	Number of bases (bp)	11,893,518,322	5,558,984,064
Raw sequences after trimming (with cutadapt)	Number of paired-end reads / rate (%)	76,188,114 / 96.7	35,711,292 / 97.0
	Number of bases (bp) / rate (%)	10,765,556,447 / 90.5	5,037,787,747 / 90.6
After mapping into ref. mtDNAs	Number of paired-end reads / rate (%)	181,170 / 0.230	78,749 / 0.214
	Number of bases (bp)	25,655,953	11,058,724
	Coverage (×)	1532.34	660.50

(마) Annotation result

- 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)와 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 mtDNA Annotations 결과 각각 22개의 tRNA, 2개의 rRNA, 13개의 Coding Sequence, 1개의 control region이 확인되었으며 자세한 내용은 아래 표 2-1-6, 표 2-1-7, 그림 2-1-19, 그림 2-1-20에 나타내었습니다.

표 2-1-6. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 mtDNA Annotations 결과

Name	Type	Start (bp)	End (bp)	Length (bp)
trnF(GAA) tRNA	tRNA	1	69	69
12S rRNA	rRNA	70	1022	953
trnV(TAC) tRNA	tRNA	1023	1092	70
16S rRNA	rRNA	1093	2798	1706
trnL(TAA) tRNA	tRNA	2799	2874	76
ND1 CDS	CDS	2875	3849	975
trnI(GAT) tRNA	tRNA	3854	3923	70
trnQ(TTG) tRNA	tRNA	3923	3993	71
trnM(CAT) tRNA	tRNA	3994	4062	69
ND2 CDS	CDS	4063	5107	1045
trnW(TCA) tRNA	tRNA	5108	5178	71
trnA(TGC)	tRNA	5180	5248	69
trnN(GTT) tRNA	tRNA	5249	5321	73
trnC(GCA) tRNA	tRNA	5361	5428	68
trnY(GTA) tRNA	tRNA	5429	5499	71
COXI CDS	CDS	5501	7051	1551
trnS(TGA) tRNA	tRNA	7053	7123	71
trnD(GTC) tRNA	tRNA	7127	7199	73
COXII CDS	CDS	7208	7898	691
trnK(TTT) tRNA	tRNA	7899	7972	74
ATP8 CDS	CDS	7974	8141	168
ATP6 CDS	CDS	8132	8815	684
COXIII CDS	CDS	8815	9600	786
trnG(TCC) tRNA	tRNA	9600	9671	72
ND3 CDS	CDS	9672	10020	349
trnR(TCG) tRNA	tRNA	10021	10089	69
ND4L CDS	CDS	10090	10386	297
ND4 CDS	CDS	10380	11760	1381
trnH(GTG) tRNA	tRNA	11761	11830	70
trnS(GCT) tRNA	tRNA	11831	11902	72
trnL(TAG) tRNA	tRNA	11911	11983	73
ND5 CDS	CDS	11984	13822	1839
ND6 CDS	CDS	13819	14340	522
trnE(TTC) tRNA	tRNA	14341	14410	70
CYTB CDS	CDS	14418	15558	1141
trnT(TGT) tRNA	tRNA	15559	15632	74
trnP(TGG) tRNA	tRNA	15633	15702	70
control region D-loop	D-loop	15703	16743	1041

표 2-1-7. 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 mtDNA Annotations 결과

Name	Type	Start (bp)	End (bp)	Length (bp)
trnF(GAA) tRNA	tRNA	1	69	69
12S rRNA	rRNA	70	1022	953
trnV(TAC) tRNA	tRNA	1023	1092	70
16S rRNA	rRNA	1093	2798	1706
trnL(TAA) tRNA	tRNA	2799	2874	76
ND1 CDS	CDS	2875	3849	975
trnI(GAT) tRNA	tRNA	3854	3923	70
trnQ(TTG) tRNA	tRNA	3923	3993	71
trnM(CAT) tRNA	tRNA	3994	4062	69
ND2 CDS	CDS	4063	5107	1045
trnW(TCA) tRNA	tRNA	5108	5178	71
trnA(TGC)	tRNA	5180	5248	69
trnN(GTT) tRNA	tRNA	5249	5321	73
trnC(GCA) tRNA	tRNA	5361	5428	68
trnY(GTA) tRNA	tRNA	5429	5499	71
COXI CDS	CDS	5501	7051	1551
trnS(TGA) tRNA	tRNA	7053	7123	71
trnD(GTC) tRNA	tRNA	7127	7199	73
COXII CDS	CDS	7208	7898	691
trnK(TTT) tRNA	tRNA	7899	7972	74
ATP8 CDS	CDS	7974	8141	168
ATP6 CDS	CDS	8132	8815	684
COXIII CDS	CDS	8815	9600	786
trnG(TCC) tRNA	tRNA	9600	9671	72
ND3 CDS	CDS	9672	10020	349
trnR(TCG) tRNA	tRNA	10021	10089	69
ND4L CDS	CDS	10090	10386	297
ND4 CDS	CDS	10380	11760	1381
trnH(GTG) tRNA	tRNA	11761	11830	70
trnS(GCT) tRNA	tRNA	11831	11902	72
trnL(TAG) tRNA	tRNA	11911	11983	73
ND5 CDS	CDS	11984	13822	1839
ND6 CDS	CDS	13819	14340	522
trnE(TTC) tRNA	tRNA	14341	14410	70
CYTB CDS	CDS	14418	15558	1141
trnT(TGT) tRNA	tRNA	15559	15632	74
trnP(TGG) tRNA	tRNA	15633	15702	70
control region D-loop	D-loop	15703	16743	1041

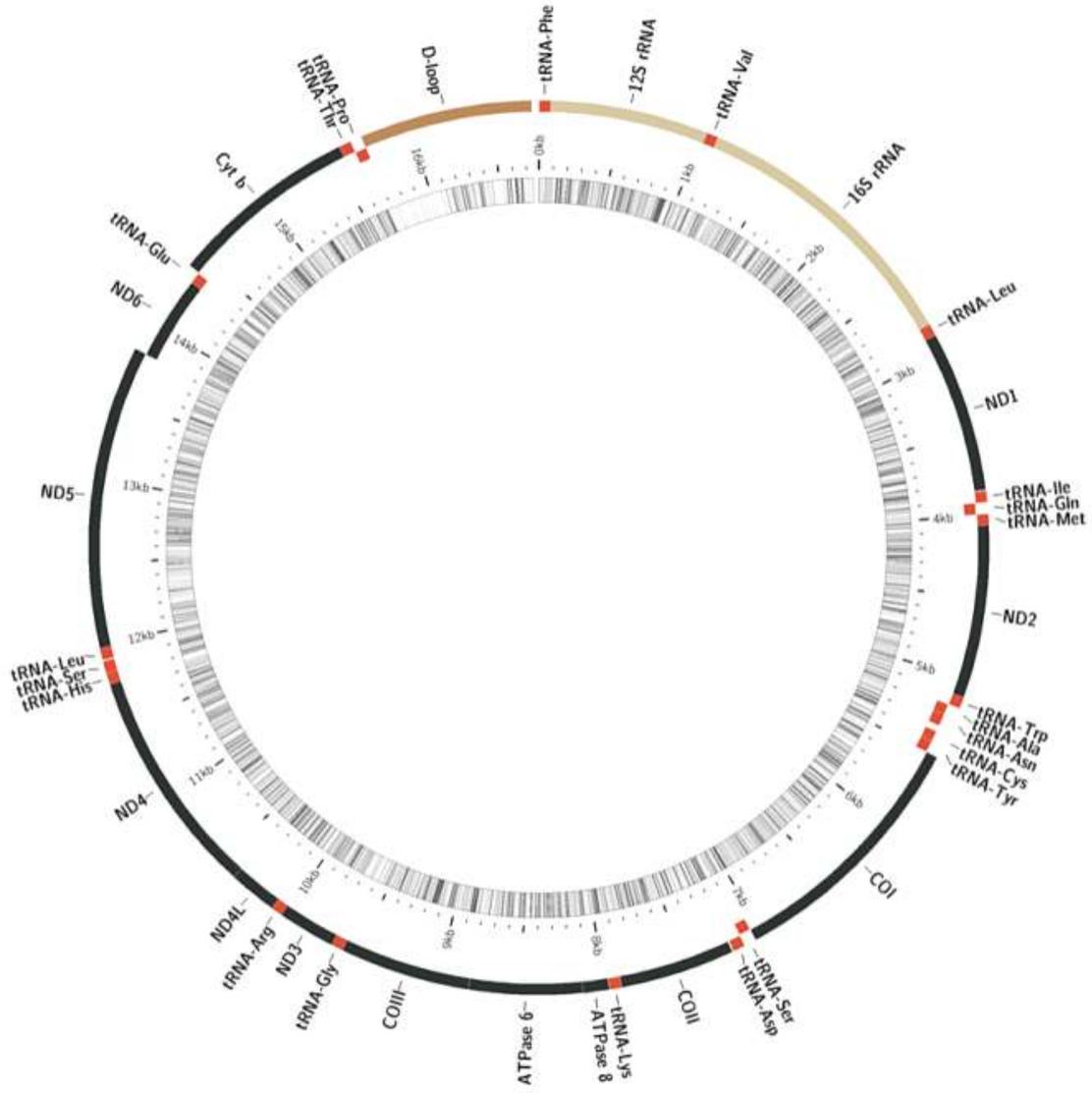


그림 2-1-19. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 complete mtDNA.

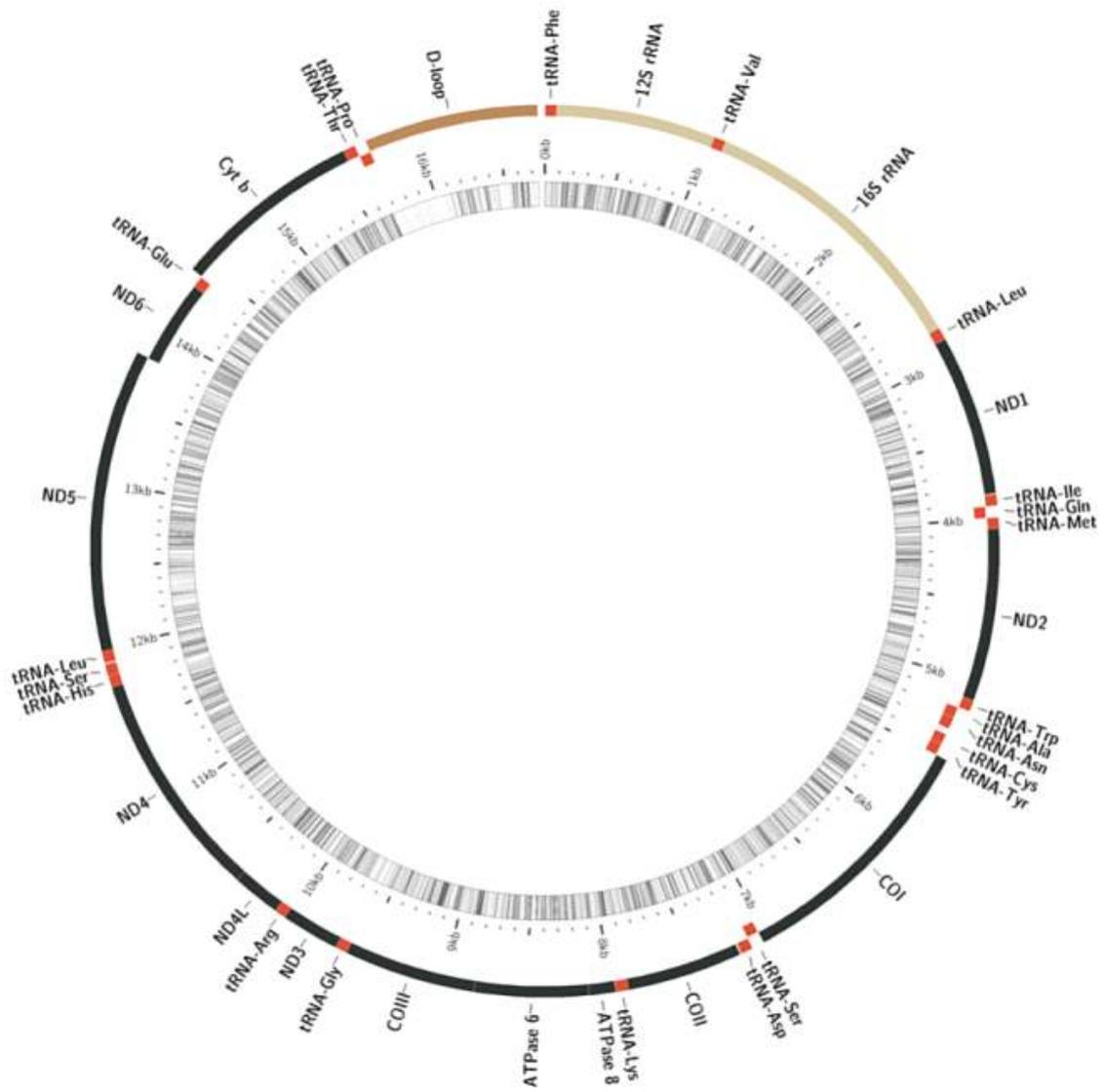


그림 2-1-20. 대왕바리(♀) × 자바리(♂)의 complete mtDNA.

(바) Complete Mitochondrial genome을 통한 바리과 어류의 Phylogenetic tree

- 본 실험을 통해 최종적으로 얻어진 대왕바리(♀) X 붉바리(♂), 대왕바리(♀) X 자바리(♂)의 Complete mtDNA의 정보를 토대로 계통학적 위치를 알아보기 위해, 대왕바리, 자바리, 붉바리 및 교잡종 포함 11종의 Epinephelus 속, Hyporthodus속 2종, cephalopholis속 3종을 포함한 5종의 out group 어류의 Complete mtDNA 정보를 포함하여, MEGA 6 프로그램을 사용해 계통수를 작성하였다(그림 2-1-21, 그림 2-1-22, 그림 2-1-23).
- Statistical Method는 Maximum-Likelihood(ML)를 채택하였고, Tamura-nei model을 따랐다. Bootstrap은 1000으로 신뢰도를 높였다.

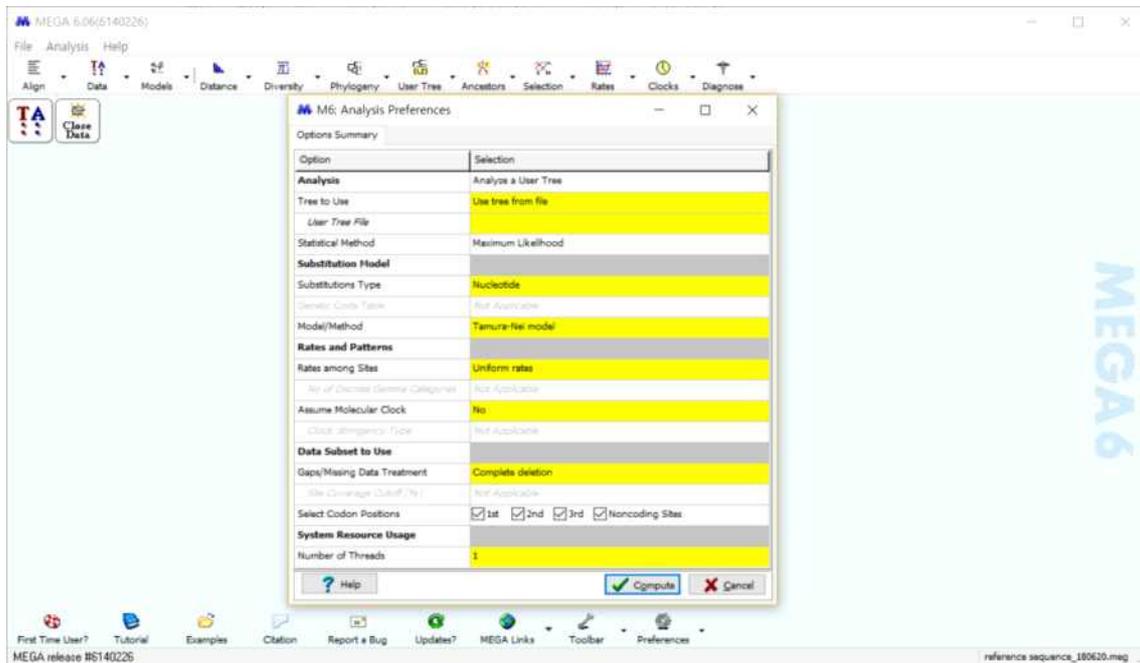


그림 2-1-21. Phylogenetic tree 작성을 위한 MEGA6 software.

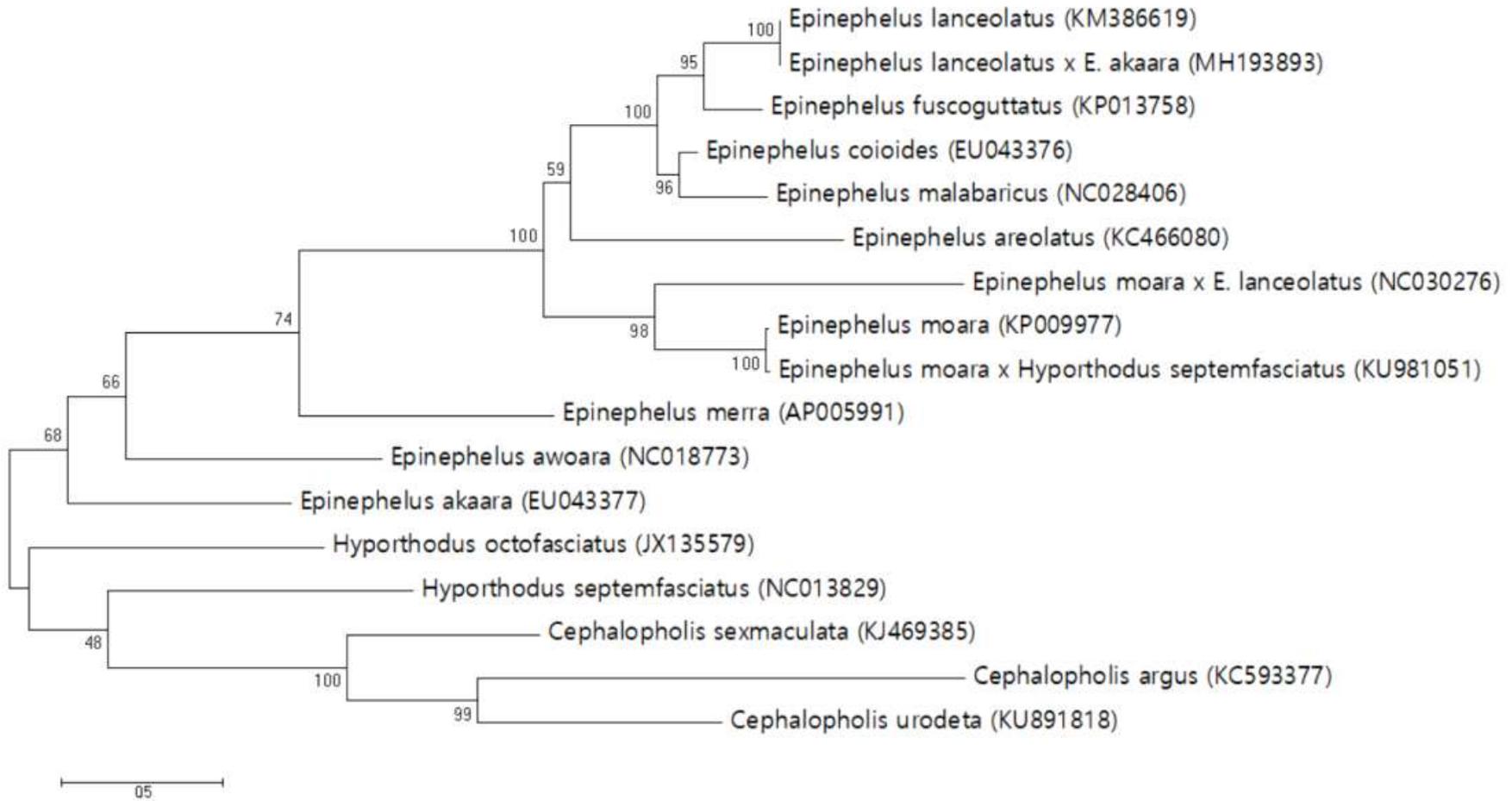


그림 2-1-22. 대왕바리(♀) × 붉바리(♂)의 Phylogenetic tree (ML).

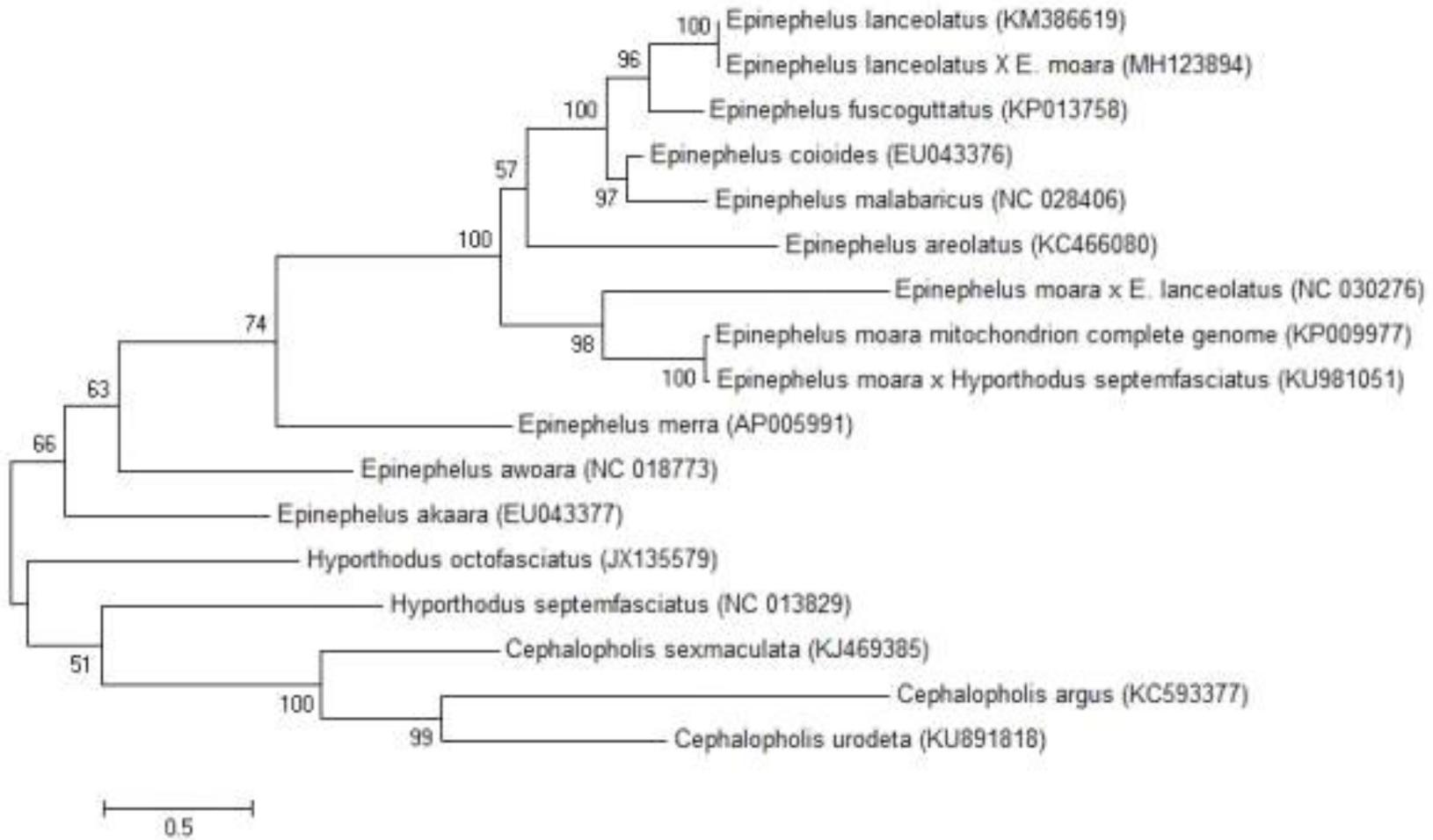


그림 2-1-23. 대왕바리(♀) X 자바리(♂)의 Phylogenetic tree (ML).

(2) *Epinephelus* 속 어류의 Stress 관련 gene 탐색

표 2-1-8. *Epinephelus* 속 어류의 Stress에 의해 발현되는 gene (1)

Trinity_ID	stitle	sacc	evalue
Nor-TR1855 c0_g1_i1	p38a	AEU04194	0
Nor-TR2018 c0_g1_i1	TLR5M	AIS23536	6.56E-72
Nor-TR3441 c0_g1_i1	TRAF4	AME21333	1.22E-115
Nor-TR4914 c0_g1_i1	interferon regulatory factor 1	ACF95885	2.46E-88
Nor-TR4966 c0_g1_i1	interleukin-1 beta, partial	AEA39728	3.62E-52
Nor-TR4967 c0_g2_i1	toll-like receptor 2	AEB32453	3.61E-16
Nor-TR6796 c1_g1_i1	toll-like receptor 1	AEB32452	8.60E-54
Nor-TR11084 c0_g1_i1	nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2	AFV53358	4.02E-178
Nor-TR11871 c0_g1_i1	mitochondrial antiviral signaling protein	ATI15614	6.67E-45
Nor-TR16365 c0_g1_i1	TIR-domain containing adaptor inducing IFN	AEX01719	4.12E-146
Nor-TR25194 c0_g1_i1	cystatin B, partial	AMM45489	1.40E-63
Nor-TR26733 c0_g1_i1	copper/zinc superoxide dismutase	AAW29025	3.78E-102
Nor-TR27505 c0_g1_i2	complement component C8 beta	AJF19173	8.73E-147
Nor-TR28634 c0_g1_i1	chemokine CC-like protein, partial	AEM37656	1.97E-55
Nor-TR29784 c0_g1_i1	myeloid differentiation factor 88	ADK89123	0
Nor-TR30928 c0_g1_i1	retinol-binding protein, partial	ACL98114	9.89E-123
Nor-TR31068 c1_g1_i2	interferon regulatory factor 5	ARI70657	0
Nor-TR32119 c0_g1_i2	growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha, partial	AEB31348	2.17E-79
Nor-TR32430 c0_g2_i3	TRAF3	AIS23541	0
Nor-TR32430 c0_g2_i4	TRAF3	AIS23541	7.80E-143
Nor-TR34874 c1_g1_i2	high mobility group box 2-like protein, partial	ACM41855	7.11E-70
Nor-TR34874 c1_g1_i4	high mobility group box 2-like protein, partial	ACM41855	6.75E-72
Nor-TR35469 c2_g1_i2	cathepsin B	AHF27212	8.56E-126
Nor-TR35469 c2_g1_i3	cathepsin B	AHF27212	0
Nor-TR35606 c1_g2_i1	heat shock transcription factor 1	ANH58491	8.90E-32
Nor-TR35606 c1_g2_i3	heat shock transcription factor 1	ANH58491	0
Nor-TR35606 c1_g2_i6	heat shock transcription factor 1	ANH58491	1.37E-69
Nor-TR35606 c1_g2_i7	heat shock transcription factor 1	ANH58491	0
Nor-TR38244 c1_g3_i4	plasminogen	ADP76803	1.23E-126
Nor-TR38997 c0_g1_i1	tumor suppressor protein p53	ADN04912	0
Nor-TR42541 c0_g1_i1	Toll-like receptor 9B	AJW66344	2.60E-71
Nor-TR46012 c0_g1_i1	serum amyloid A	AFQ00088	4.98E-24
Nor-TR46290 c0_g1_i1	TLR1-2	AIS23535	2.96E-99
Nor-TR46429 c0_g1_i1	toll-like receptor 2	AEB32453	1.00E-40
Nor-TR47448 c0_g1_i1	toll-like receptor 2	AEB32453	3.80E-72
Nor-TR53207 c0_g1_i1	insulin-like growth factor II, partial	AAV34197	8.02E-24
Nor-TR57662 c0_g1_i1	neutrophil cytosol factor 1	APM83140	5.14E-118
Nor-TR58563 c0_g1_i1	TLR1-2	AIS23535	5.09E-26
Nor-TR67161 c0_g1_i1	TLR1-2	AIS23535	8.56E-47

표 2-1-9. *Epinephelus* 속 어류의 Stress에 의해 발현되는 gene (2)

Trinity_ID	title	sacc	evalue
Nor-TR67375 c0_g2_i1	mitochondrial antiviral signaling protein	ATI15614	6.01E-13
Nor-TR73735 c0_g1_i1	myeloperoxidase	APM83155	2.89E-154
Nor-TR74670 c0_g1_i1	macrophage colony-stimulating factor receptor 2	AJC52398	3.65E-69
Nor-TR76032 c0_g1_i1	viperin	ACH87133	1.25E-110
Nor-TR82553 c0_g1_i1	toll-like receptor 2	AEB32453	9.82E-86
Nor-TR83488 c0_g1_i1	toll-like receptor 1	AEB32452	2.38E-41
Nor-TR84146 c0_g1_i1	myeloperoxidase	APM83155	1.61E-45
Nor-TR86037 c0_g1_i1	TRAF6	AGQ45557	1.07E-15
Abn-TR1567 c0_g1_i1	myeloperoxidase	APM83155	0
Abn-TR2636 c0_g1_i1	hypothetical protein, partial	AEB31297	4.11E-78
Abn-TR5512 c0_g1_i1	Na-K-Cl cotransporter 1a, partial	ARB43933	2.01E-89
Abn-TR12156 c0_g1_i1	p38a	AEU04194	2.91E-153
Abn-TR12156 c0_g2_i1	p38a	AEU04194	3.78E-133
Abn-TR15305 c0_g2_i1	toll-like receptor 2	AEB32453	7.66E-64
Abn-TR18929 c0_g2_i1	Sox2, partial	ACJ61262	2.56E-75
Abn-TR20336 c0_g1_i1	heat shock protein 70	ACN52063	1.74E-24
Abn-TR20833 c0_g1_i1	epinecidin-1 prepropeptide	AAQ57624	1.22E-29
Abn-TR20833 c0_g1_i2	epinecidin-1 prepropeptide	AAQ57624	4.36E-30
Abn-TR21863 c0_g1_i1	TNF receptor-associated factor 6	AGQ48128	0
Abn-TR25161 c0_g1_i1	interferon regulatory factor 5	ARI70657	3.92E-153
Abn-TR26435 c0_g1_i1	phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	AEG78385	1.48E-118
Abn-TR26435 c0_g1_i2	phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	AEG78385	1.54E-112
Abn-TR26435 c0_g1_i3	phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase	AEG78385	1.19E-116
Abn-TR27521 c0_g1_i2	Toll-like receptor 9B	AJW66344	4.99E-126
Abn-TR27910 c0_g1_i2	serum amyloid A	AFQ00087	4.97E-58
Abn-TR30141 c0_g2_i2	TRAF3	AIS23541	0
Abn-TR31804 c0_g2_i1	interleukin-1 beta	ABV02593	0
Abn-TR33791 c7_g1_i1	heat shock protein 90	ACV04938	0
Abn-TR33906 c0_g1_i2	cathepsin B	AHF27212	0
Abn-TR35229 c0_g2_i1	complement component C8 beta	AJF19173	0
Abn-TR35229 c0_g2_i3	complement component C8 beta	AJF19173	5.04E-145
Abn-TR36445 c0_g2_i2	plasminogen	ADP76803	0
Abn-TR37649 c0_g1_i1	myeloperoxidase	APM83155	0
Abn-TR39591 c0_g1_i2	heat shock protein 60	AIS72878	0
Abn-TR41127 c0_g1_i1	IGF-1R-1, partial	AMR58941	2.83E-59
Abn-TR42732 c0_g1_i1	viperin	ACH87133	1.65E-65
Abn-TR56665 c0_g1_i1	piscidin 3 precursor	AKA60776	1.57E-32
Abn-TR58775 c0_g1_i1	neutrophil cytosol factor 1	APM83140	8.75E-93
Abn-TR69304 c0_g1_i1	TLR1-2	AIS23535	5.35E-142
Abn-TR72638 c0_g1_i1	RecName: Full=Lysozyme g; AltName: Full=1, 4-beta-N-acetylmuramidase	Q90X99	1.91E-78
Abn-TR75763 c0_g1_i1	mitochondrial antiviral signaling protein	ATI15614	1.88E-36
Abn-TR80193 c0_g1_i1	plasminogen	ADP76803	1.21E-21

(3) NGS를 통한 기형과 정상개체 대왕자바리의 전사체 DEG 분석

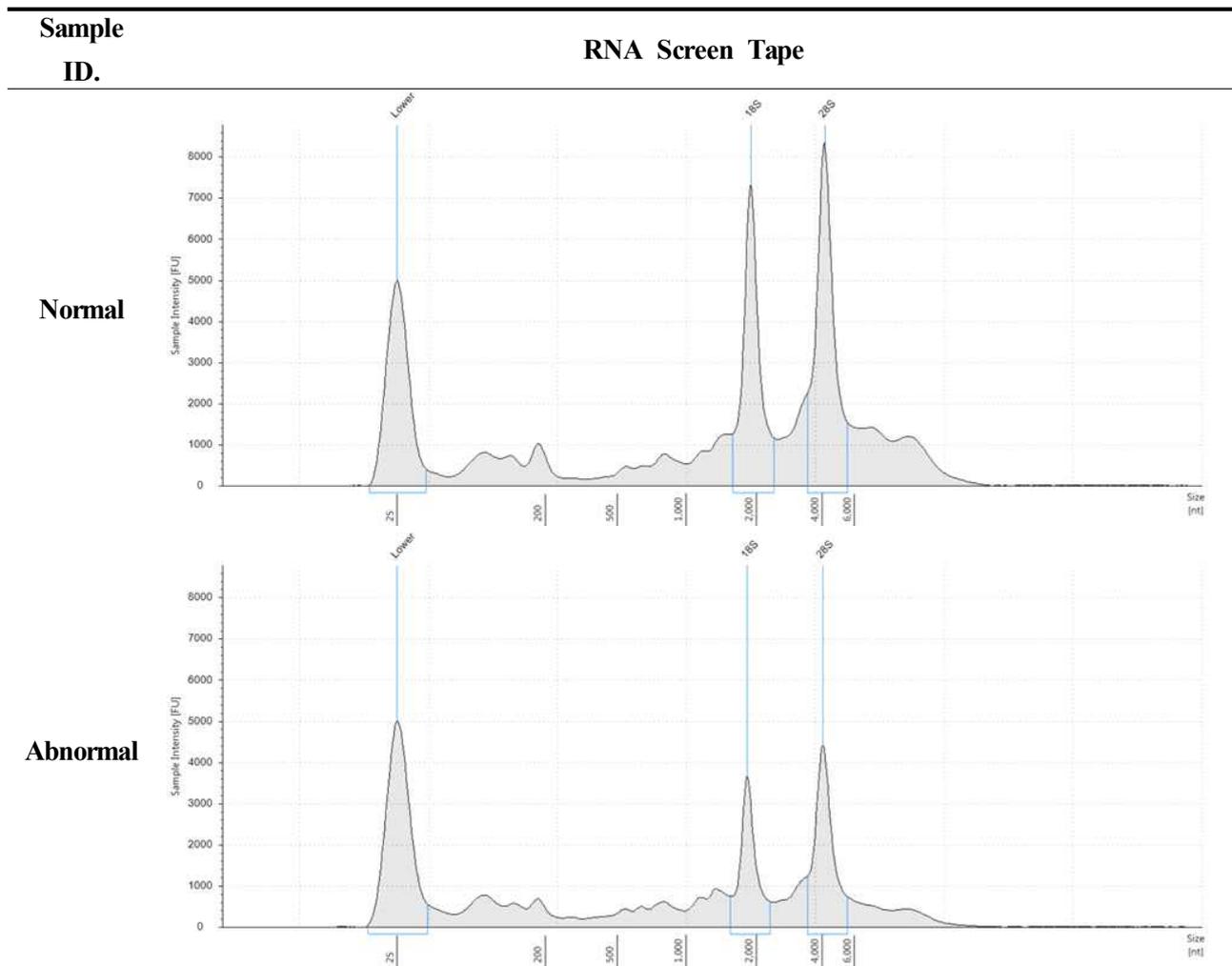
(가) 샘플의 Total RNA에 대한 QC

- 자바리♀ X 대왕바리♂의 자어로부터 정상군 (Normal)과 비정상군 (Abnormal) 샘플의 whole body로부터 total RNA가 추출되었고, 그 total RNA가 RIN값 7 이상과 28s/18s ratio 1.0 이상 등의 기준치를 넘는 NGS 실험에 적절한 quality를 확인하였음(표 2-1-10, 2-1-11).

표 2-1-10. 샘플 QC

No.	Sample ID.	Con. (ng /ul)	Final Vol. (ul)	Toal Amonut (ug)	RIN
1	Normal	1544.66	50	77.23	8.8
2	Abnormal	1097.32	50	54.87	7.9

표 2-1-11. 2200 TapeStation 분석 결과



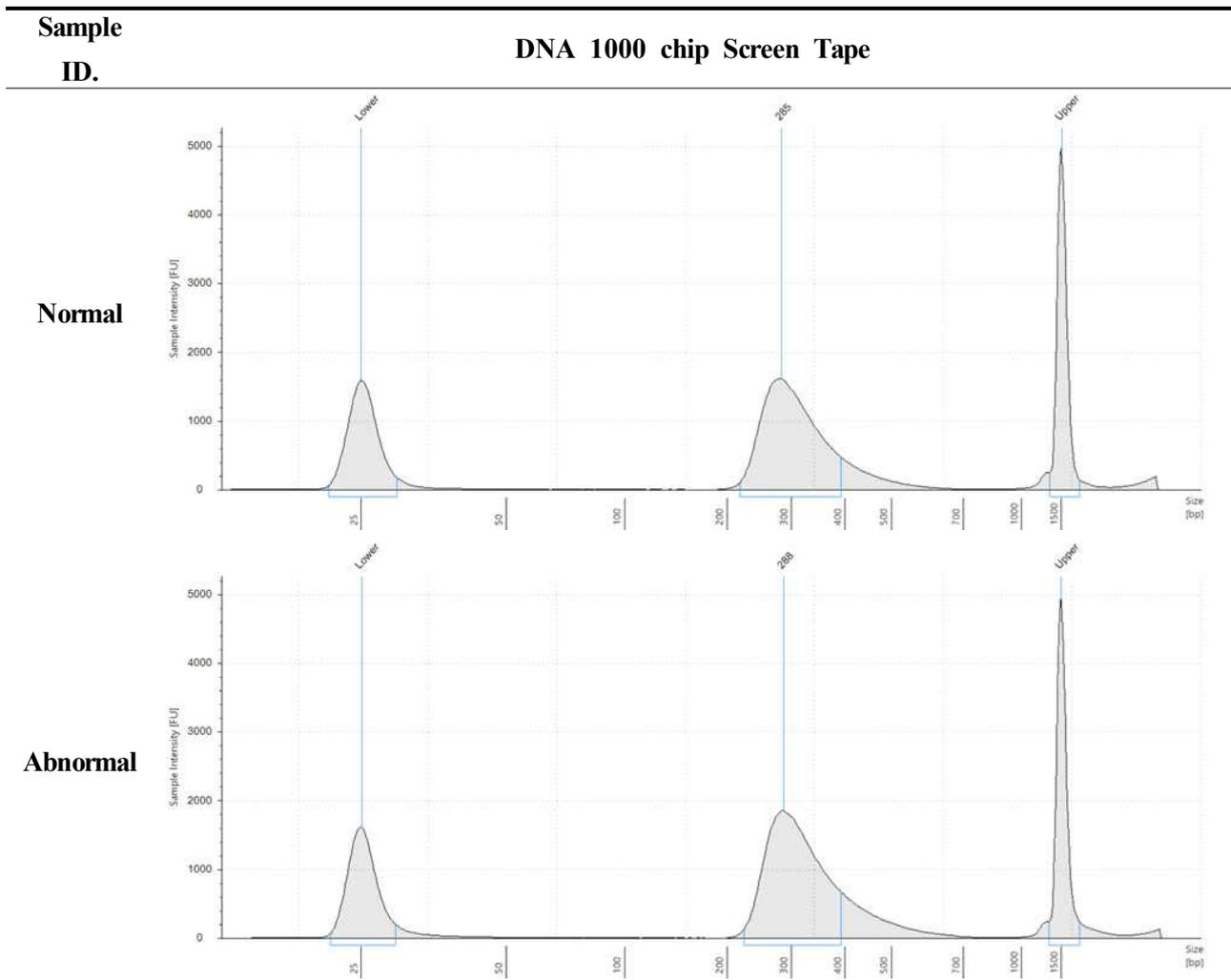
(나) Library preparation & Quality Control

- 위의 각 샘플로부터 추출된 total DNA을 이용하여 구성된 library sample들의 1ul를 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer에 loading 하여 library sample들의 농도와 library size distribution을 통해 library quality control과 up&down regulation을 확인하였음(표 2-1-12, 2-1-13).

표 2-1-12. 라이브러리 QC

No.	Library Name	Library Type	Conc. (ng/ul)	Conc. (nM)	Size (bp)
1	Normal	Truseq RNA	52.63	284.08	285
2	Abnormal	Truseq RNA	39.30	209.92	288

표 2-1-13. Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 분석 결과



(다) NGS Sequencing

- 각 샘플들에서 준비된 library 들은 Hiseq 4000 platform을 사용하여 각 샘플의 서열을 시퀀싱을 하였으며, run summary는 아래 표와 같이 확인되었음(표 2-1-14).

표 2-1-14. Run Summary

Library process	Lane	Yield (Mbases)	% of >= Q30 Bases (PF)	Mean Quality Score (PF)
Normal	R06	3590	89.4	37.55
	R05	5341	90.55	37.93
Abnormal	R06	4385	91.04	37.98
	R05	6574	90.73	37.98

(라) Bioinformatic workflow

- 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 자어 기형의 전사체 유전자발현의 변화 및 프로파일링을 조사하고자 정상군 (Normal sample)과 비정상군 (Abnormal sample)의 자어 whole body로부터 total RNA를 추출하고, 앞의 실험방법에 따라 수행한 후 최종적으로 HiSeq4000 platform으로 raw data를 산출하였음.
- 이렇게 생산된 전사체 raw data를 cutadapt 프로그램 (ver 1.11)을 이용하여 trimming을 실시하여 read cleaning을 실시하였음. 생성된 clean read 들은 Trinity 소프트웨어 (ver 2.4.0)를 이용하여 de nove assembling을 실시하고, 그 후에, CD_HIT_est 소프트웨어 (ver 4.7)를 실행하여 각 정상군과 비정상군 샘플의 unigenes set을 각각 구성하였음.
- 생성된 각 샘플의 unigene contig set 들은 KEGG pathway mapping(<http://www.genome.jp>)에 의한 metabolic pathway map 분석에 활용되었으며, 또한 contigs를 DEG 분석의 reference 서열 구축에 활용하였음. DEG 결과로부터 유효한 발현의 차이를 보이는 Contig 은 BlastX 검색에 의한 유전자의 annotation에 사용되어 각 샘플 군에서의 metabolic pathway 와 각 관련 유전자의 예측 및 기능적 차이를 분석하였음(그림 2-1-24).

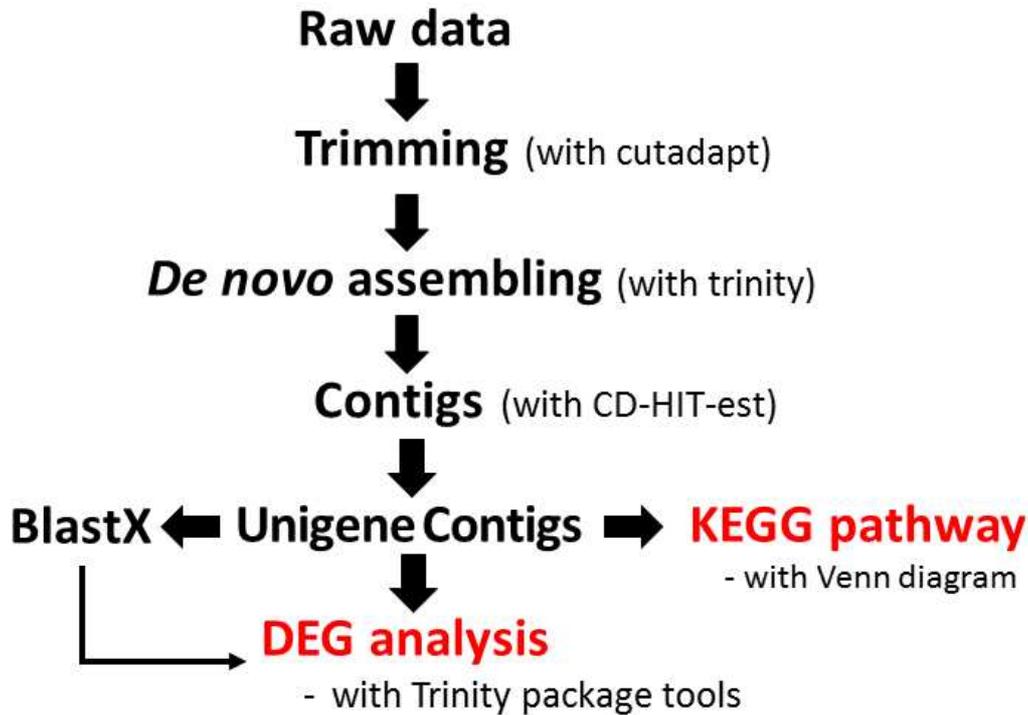


그림 2-1-24. Normal과 abnormal의 NGS raw data로부터 분석하기 위한 bioinformaic workflow.

(마) Sequencing and de novo assembly statistics

- 자바리 ♀ X 대왕바리 ♂의 잡종 자어 기형의 전사체 유전자발현의 변화 및 프로파일링을 조사하고자 정상군 (Normal sample)과 비정상군 (Abnormal sample)의 자어 whole body로부터 total RNA를 추출하고, 앞의 실험방법에 따라 수행한 후 최종적으로 HiSeq4000 platform으로 정상군에서는 8.93 Gbp (59.14 M reads)를 그리고 비정상군에서는 10.96 Gbp (72.58 M reads)의 raw data를 산출하였음(표 2-1-15).
- Raw data로부터 clean read 들을 생성하기 위하여 cutadapt를 실행하여 표 0과 같은 결과를 얻었으며, 이로부터 Trinity 소프트웨어를 이용하여 de novo assembling을 실행하여 최종적으로 정상군에서는 154,327 Contig 을, 그리고 비정상군에서는 147,551 Contig 을 얻었음. 또한 각 샘플 군에서의 unigene set을 얻기 위하여, CD_HIT_est 소프트웨어를 실행하여 정상군에서는 123,043 unigene contigs을 그리고 비정상군에서는 118,084 unigene contigs을 최종적으로 얻었으며, 기타 다른 정보는 표 3-1-6에 나타내었음. 정상군과 비정상군에서 생성된 unigene contig set 들은 추후 DEG 분석을 위한 reference sequence를 구성하기 위하여 취합하여 다시 CD_HIT_est 소프트웨어를 실행하여 184,024 contigs, total assembled bases는 129.28 Mb, average contig의 size는 702.50bp 그리고 N50 값은 1,083bp인 unigene set을 얻었으며, 이를 DEG 분석을 위한 reference sequence로 활용하였음. 위한 reference sequence로 활용하였음.

표 2-1-15. 발현 유전체 분석을 위한 transcriptome sequencing의 통계 요약

Processing	Items	Normal	Abnormal
Raw data	Number of paired-end reads	59,149,562	72,575,030
	Q30 bases (%)	90.089	90.852
	Quality Score	37.74	37.98
Raw sequences after trimming (with cutadapt)	Number of bases (bp)	8,931,583,862	10,958,829,530
	Number of paired-end reads (/rate (%))	57,967,278/ 98.0	71,458,008/ 98.5
	Number of bases (bp) (/ rate (%))	7,933,197,615/ 88.8	9,869,988,167/ 90.1
	Number of assembled contigs	154,327/ 123,043	147,551/ 118,084
	Number of bases (bp)	116,668,762/ 91,037,872	106,523,234/ 84,322,945
<i>De novo</i> assembly (with Trinity) /Unigene (with CD_HIT_est)	Smallest contig (bp)	224/ 224	224/ 224
	Largest contig (bp)	11,480/ 11,480	8,850/ 8,850
	Average length (bp)	755.98/ 739.89	721.9/ 714.09
	Median length (bp)	426/ 423	421/ 420
DEG analysis (with trinity package tool)	N50 (bp)	918/ 1,166	1,124/ 1,094
	mapping rate (%)	84.05	82.75

(바) KEGG pathway 분석

- 자마리 ♀ X 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 metabolic pathway를 조사하기 위하여 정상군 (Normal sample)과 비정상군 (Abnormal sample)으로부터 얻어진 unigene contig set 각각을 이용하여 분석하였음. “GENES data set” option을 “for Eukaryotes”로 하여 수행하였으며, 그 결과 아래의 그림 2-1-25와 같이 얻었음.

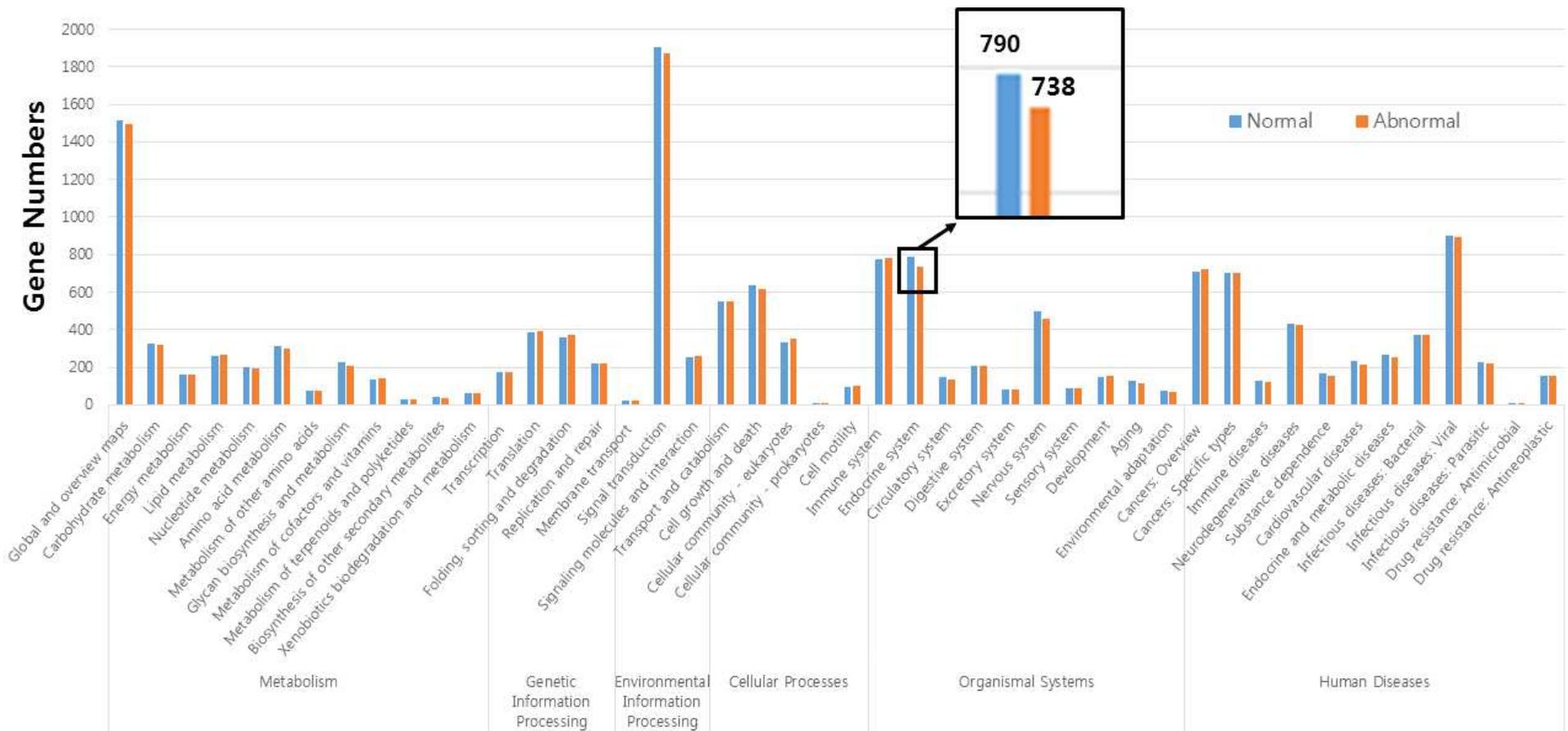


그림 2-1-25. KEGG pathway에 기반한 Pathway assignment. KEGG pathway online analysis로부터 얻어진 유전자 수.

- 그림 2-1-26의 정상군과 비정상군의 비교로부터, KEGG pathway의 subcategory 중에 “Endocrine system”에서 유전자의 수의 차이가 정상군은 790 contigs (genes)이며, 그리고 비정상군은 738 contigs (genes)으로 나타났으며,
- KEGG pathway의 subcategory 중에 “Endocrine system”의 아래 item을 중에 “Oxytocin signaling pathway”에서 정상군(72 genes)과 비정상군 (60 genes)의 유전자 수가 가장 차이가 났음. 유전자 수의 비교를 venn diagram을 이용하여 분석하였으며(그림 2-1-26), 또한 유전자들 중에 정상군과 비정상군에서만 특이적으로 나타나는 유전자를 조사하였으며,
- BlastX 검색을 통하여 KEGG pathway 분석에서 나타난 유전자의 정의와 BlastX로 검색된 유전자를 비교하여 유효한 유전자만을 정리하여 표 2-1-16 와 2-1-17에 나타내었음.



그림 2-1-26. KEGG pathway의 subcategory 중에 “Endocrine system”의 아래 item을 중에 “Oxytocin signaling pathway”에서 정상군(72 genes)과 비정상군 (60 genes)의 유전자 수 비교.

표 2-1-16. KEGG pathway의 Oxytocin signaling pathway category 중에 정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교

KEGG pathway analysis			BlastX analysis			
KO No.	Gene name	Gene def.	Normal Trinity ID	Hit def.	Hit accession	Hsp evalue
K02833	HRAS	GTPase HRas	TR38254 c2_g2_i1	GTPase HRas [Lepisosteus oculatus]	XP_015193703	7.4401E-101
K04229	OXTR	oxytocin receptor	TR41029 c0_g1_i1	isotocin receptor-like [Poecilia latipinna]	XP_014906747	2.47474E-63
K04464	MAPK7	mitogen-activated protein kinase 7	TR36104 c0_g1_i1	mitogen-activated protein kinase 7 [Stegastes partitus]	XP_008281493	0
K04851	CACNA1D	voltage-dependent calcium channel alpha-1D	TR19865 c0_g1_i1	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1D [Larimichthys crocea]	KKF26651	0
K04857	CACNA1S	voltage-dependent calcium channel alpha-1S	TR33503 c0_g1_i1	voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1S [Larimichthys crocea]	XP_010746261	0
K04862	CACNB1	voltage-dependent calcium channel beta-1	TR14373 c0_g1_i1	voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-1-like [Monopterus albus]	XP_020461108	0
K04872	CACNG7	voltage-dependent calcium channel gamma -7	TR69481 c0_g1_i1	Voltage-dependent calcium channel gamma -7 subunit [Larimichthys crocea]	KKF11464	4.27176E-44
K04961	RYR1	ryanodine receptor 1	TR39426 c1_g5_i2	ryanodine receptor 1-like [Acanthochromis polyacanthus]	XP_022059872	0
K04962	RYR2	ryanodine receptor 2	TR39426 c1_g4_i1	ryanodine receptor 3-like isoform X1 [Cyprinodon variegatus]	XP_015244338	0
K05002	KCNJ9	potassium inwardly-rectifying channel subfamily J member 9	TR36473 c6_g2_i1	G protein-activated inward rectifier potassium channel 3-like [Lates calcarifer]	XP_018533693	0
K07359	CAMKK2	calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2	TR64579 c0_g1_i1	calcium/calmodulin-dependent protein kinase 1-like [Paralichthys olivaceus]	XP_019944157	2.51299E-56
K08041	ADCY1	adenylate cyclase 1	TR8612 c0_g1_i1	adenylate cyclase type 1-like, partial [Poecilia latipinna]	XP_014872455	2.3913E-105
K08042	ADCY2	adenylate cyclase 2	TR27048 c0_g1_i1	adenylate cyclase type 2-like isoform X1 [Oryzias latipes]	XP_011483834	3.6045E-174
K08046	ADCY6	adenylate cyclase 6	TR7885 c0_g1_i1	adenylate cyclase type 5-like [Poecilia mexicana]	XP_014837216	6.5258E-114
K12324	ANPRB	atrial natriuretic peptide receptor B	TR37869 c1_g1_i2	atrial natriuretic peptide receptor 2-like [Lates calcarifer]	XP_018540807	0
K21289	PIK3CG	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate catalytic subunit gamma	TR78643 c0_g1_i1	phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform-like [Neolamprologus brichardii]	XP_006806561	2.8656E-139

표 2-1-17. KEGG pathway의 Oxytocin signaling pathway category 중에 비정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교

KEGG pathway analysis			Abnormal Trinity ID	BlastX analysis		
KO No.	Gene name	Gene def.		Hit def.	Hit accession	Hsp evalue
K04371	MAPK1_3	mitogen-activated protein kinase 1/3	TR74270 c0_g1_i1	extracellular signal regulated protein kinase 2 [Cyprinus carpio]	BAD23843	0
K04463	MAP2K5	mitogen-activated protein kinase kinase 5	TR64288 c0_g1_i1	dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 5 [Poecilia latipinna]	XP_014907975	3.9313E-180
K04858	CACNA2D1	voltage-dependent calcium channel alpha-2/delta-1	TR21608 c0_g1_i1	voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-1-like isoform X2 [Poecilia mexicana]	XP_014824939	1.0788E-118
K12329	PPP1R12B	protein phosphatase 1 regulatory subunit 12B	TR83282 c0_g1_i1	protein phosphatase 1 regulatory subunit 12B-like isoform X1 [Larimichthys crocea]	XP_010728433	1.93345E-82
K19662	PRKCB	classical protein kinase C beta type	TR65612 c0_g1_i1	PREDICTED: protein kinase C beta type isoform X2 [Stegastes partitus]	XP_008282619	0

(사) Differentially Expressed Genes (DEG) 분석

- 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 DEG를 분석하기 위하여 Trinity package tools를 이용하여 DEG analysis를 실행하였음. 그 결과에 대한 MA plot과 volcano plot을 나타냈음(그림 2-1-27).

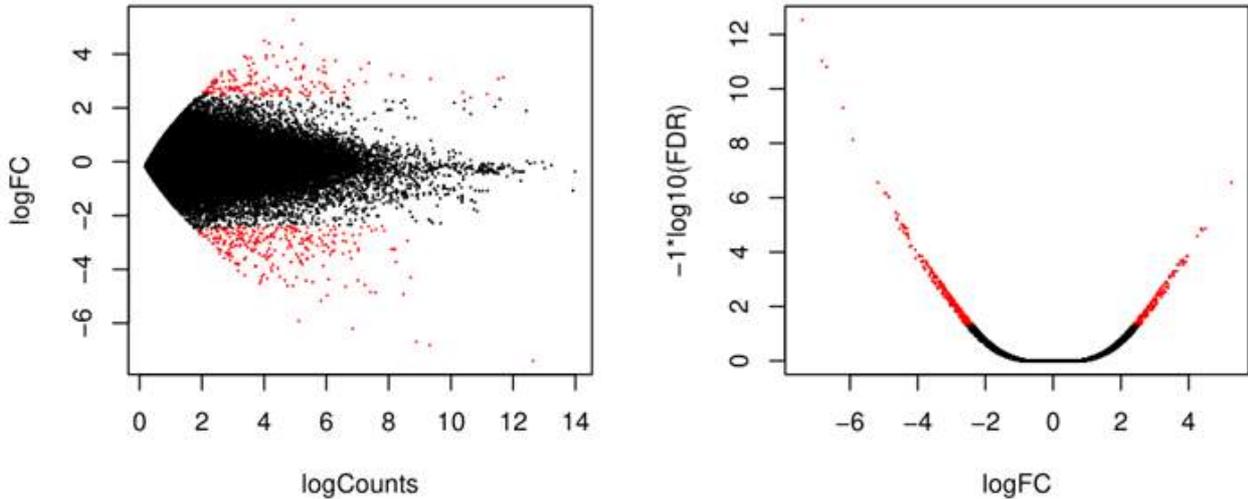


그림 2-1-27. 자바리 ♀ × 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 DEG 분석에 대한 MA plot(좌)과 volcano plot (우).

- 그 결과 p 값이 0.5 이하인 유효한 contigs은 총 2,760 Contig 이 검출되었고, FDR 값이 0.01보다 작은 contigs은 230 contigs이 확인이 되었으며, fold change가 4 이상인 contigs의 정보를 표 2-1-18에 나타내었음.
- 표 1-9에서 heat shock 70 전사체가 정상군에서보다 비정상군에서 fold change가 7.4 이상이 높았으며, S100-A11 calcium-binding protein은 비정상군보다 정상군에서 fold change가 5.27 이상이 높았음.
- 상위의 목록에 나타나는 contigs은 대부분 비정상군이 정상군에서보다 더 높은 발현율을 보였음.
- 정상군에서 비정상군보다 높은 발현율을 보인 유전자는 S100-A11 calcium-binding protein, mitochondrial sodium hydrogen exchanger 9B2-link isoform, transketolase-link protein, ADP-ribosylation factor 3, 그리고 unknown protein 순이며, 표 2-1-18에서 KEFF pathway에 참여하는 contigs는 붉은색으로 표 2-1-18에 표시하였음.

표 2-1-18. 정상과 비정상 표본과 함께 관련된 24배 이상의 specific expressed의 부분

Trinity ID	Length (bp)	Description (results from BlastX searching)	logFC Log2 (Nor/Abnor)	PValue	FDR
Abn-TR39791 c3_g2_i1	2386	heat shock 70	7.404846	8.54E-18	2.92E-13
Nor-TR38260 c0_g8_i1	828	heat shock 30-like	6.825334	5.44E-16	9.31E-12
Abn-TR36559 c0_g2_i1	738	unknown	5.913821	1.06E-12	7.29E-09
Nor-TR27303 c0_g1_i1	901	S100-A11 calcium-binding protein	-5.27212	5.36E-11	2.79E-07
Nor-TR34200 c0_g1_i1	1658	polycomb group Pc-like	5.175057	5.70E-11	2.79E-07
Abn-TR36395 c0_g1_i1	1844	dnaJ homolog subfamily B member 1	4.931345	1.59E-10	6.81E-07
Abn-TR36890 c0_g1_i1	3016	squalene monooxygenase	4.975683	1.83E-10	6.97E-07
Abn-TR29289 c0_g1_i1	1515	methylsterol monooxygenase 1	4.866765	2.62E-10	8.95E-07
Abn-TR38789 c0_g1_i1	3940	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase	4.84321	3.09E-10	9.62E-07
Abn-TR22814 c1_g1_i1	1713	jun dimerization 2-like	4.647995	1.21E-09	3.46E-06
Abn-TR35362 c1_g1_i1	1864	TSC22 domain family 3-like isoform X2	4.586261	1.59E-09	4.19E-06
Abn-TR35430 c0_g1_i1	1496	E3 ubiquitin- ligase NEURL3-like	4.619418	2.33E-09	5.70E-06
Abn-TR25750 c0_g1_i2	889	C-C motif chemokine 19	4.602504	2.89E-09	6.60E-06
Abn-TR34673 c0_g1_i2	2053	fos-related antigen 1	4.479875	4.44E-09	9.49E-06
Abn-TR36505 c0_g1_i1	2721	cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-3	4.410616	4.98E-09	1.00E-05
Abn-TR25457 c0_g1_i2	898	interleukin-8	4.429708	6.07E-09	1.15E-05
Abn-TR23692 c0_g1_i1	2745	proto-oncogene c-Fos-like	4.375544	7.00E-09	1.26E-05
Nor-TR26431 c0_g1_i1	777	unknown	4.525959	7.93E-09	1.35E-05
Nor-TR35080 c0_g1_i1	860	heat shock 70	4.303785	8.52E-09	1.35E-05
Abn-TR38716 c0_g1_i3	2726	mitochondrial sodium hydrogen exchanger 9B2-like isoform X1	-4.49944	8.66E-09	1.35E-05
Nor-TR36170 c0_g3_i1	2741	transketolase-like	-4.37124	9.16E-09	1.36E-05
Abn-TR34668 c2_g1_i1	2890	matrix metallo ase-9	4.402712	9.51E-09	1.36E-05
Nor-TR28812 c0_g1_i1	1258	ADP-ribosylation factor 3	-4.39951	1.15E-08	1.58E-05
Abn-TR19477 c0_g1_i1	756	heat shock 70 kDa -like	4.414035	1.41E-08	1.85E-05
Abn-TR33760 c0_g1_i3	1730	caspase-3-like	4.295085	1.58E-08	2.00E-05
Nor-TR39236 c0_g1_i1	306	unknown	4.34027	1.76E-08	2.15E-05
Abn-TR39693 c3_g7_i2	3176	hydroperoxide isomerase ALOXE3-like	4.282408	2.11E-08	2.49E-05
Nor-TR31777 c0_g1_i2	2282	unknown	-4.26018	2.30E-08	2.62E-05
Abn-TR32634 c0_g1_i1	1835	leptin a	4.27417	2.89E-08	3.19E-05
Nor-TR21574 c0_g1_i1	750	heat shock 70 kDa -like	4.18361	5.40E-08	5.78E-05
Abn-TR38120 c2_g1_i2	2079	unknown	4.232522	6.13E-08	6.35E-05
Abn-TR31099 c0_g1_i1	1266	ADP-ribosylation factor 4	4.068444	8.18E-08	8.23E-05
Abn-TR27970 c0_g2_i1	822	Mannose-specific lectin	4.053628	1.96E-07	0.000168

(아) GO enrichment analysis of DEGs

- DEG 분석에서 p 값이 0.05 이하의 contigs를 가지고 Blast2GO를 이용하여 DEG의 GO enrichment analysis를 수행하여 총 2760 contigs 중에 1410 contigs이 조사되었음. biological process (25 subclasses; BP), cellular component (12 subclasses; CC) 그리고 molecular function (16 subclasses; MF)로 분류되었으며, Biological process의 category들 중에 cellular process에 관련된 유전자를 가장 많이 포함했고 (15.81%), molecular function category 들에서는 binding (49.30%), cellular component category 들에서는 cell 관련 유전자들이 (19.92%) 가장 많이 포함되어 있음. 본 연구의 DEGs와 3개의 category 들에서 significant GO terms는 그림 2-1-28에 나타냄.

(자) COG analysis of DEGs

- 2,760 contigs는 COG database와 비교되어, 이 중에 2,142 contigs이 검색되었고, 24 functional category 들로 분류함(그림 2-1-29). 이 중에 가장 큰 group을 차지한 ‘아직 기능이 밝혀지지 않은 것(function unknown)’이 408개의 contigs이었고, 그다음은 Transcription (275 contigs), Posttranslational modification, protein turnover, chaperones (265 contigs), Signal transduction mechanisms (254 contigs), Cytoskeleton (170 contigs), Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport (133 contigs), 그리고 Lipid transport and metabolism (102 contigs) 순으로 검출되었으며, Cell motility category (2 contigs)와 Nuclear structure category (2 contigs)로 가장 작은 그룹을 형성하였음.

GO Distribution by Level (2) - Top 20

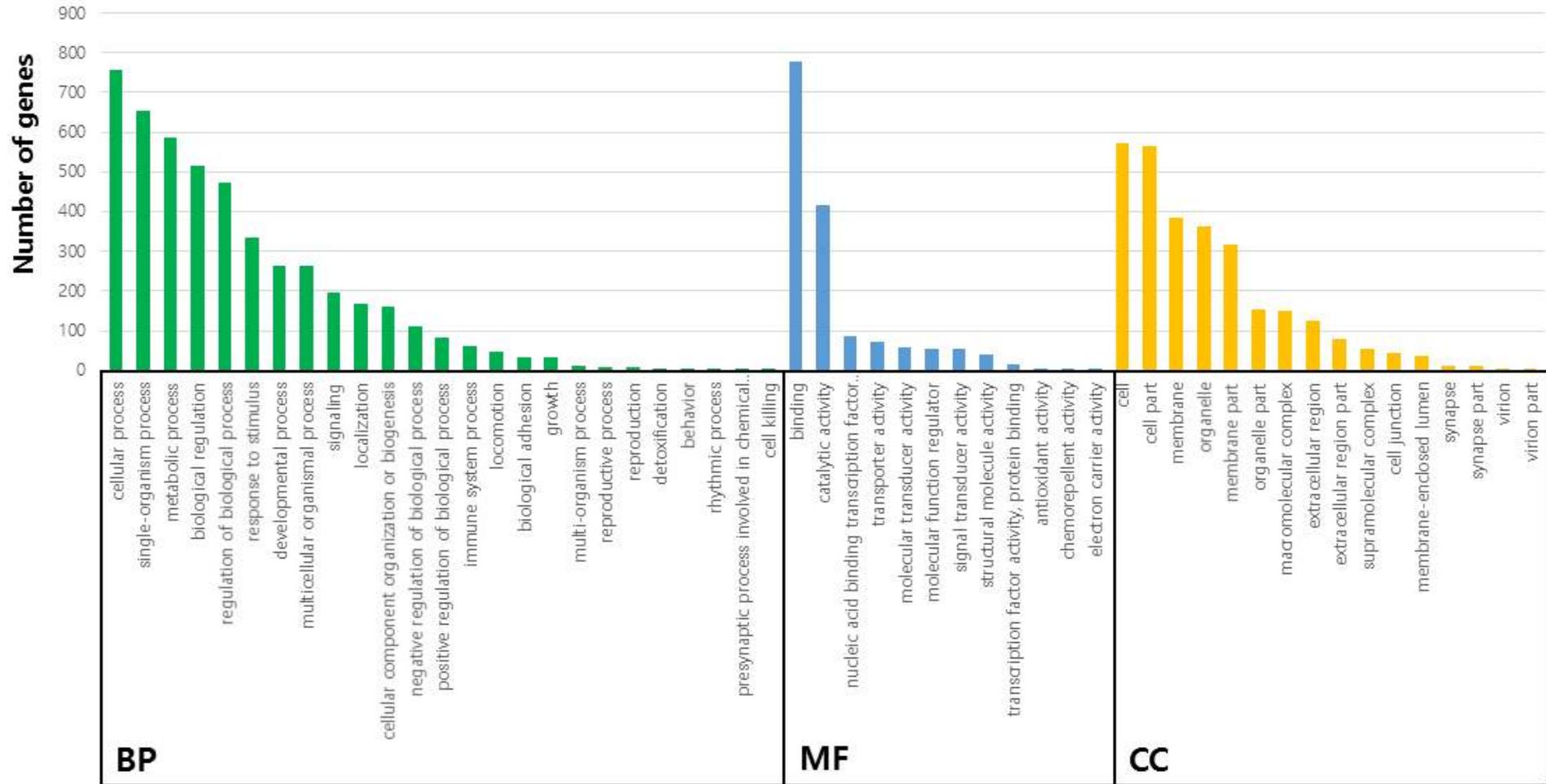


그림 2-1-28. 자바리 ♀ X 대왕바리 ♂의 잡종 자어 정상군과 비정상군 전사체의 Gene Ontology (GO) annotation.

(자) DEG 분석에서 유효 p 값 (≤ 0.05)을 가진 contigs로부터 KEGG pathway 분석

- DEG 분석으로 P값이 0.05 이하의 유효한 총 2,760 contigs을 얻었으며, contigs을 이용하여 KEGG pathway를 분석하여 아래 그림 2-1-30과 같은 결과를 얻었음. KEGG pathway 분석에서 검색된 유전자 수는 총 878 genes가 검색되었음. 그 결과, DEG에서 P값이 0.05 이하의 유효한 contigs에서 주요 metabolic pathway에 관련된 유전자는 Signal transduction에서 397 genes, Global and overview maps에서 274 genes, Endocrine system에서 173 genes 그리고 Immune system에서는 157 genes 순으로 연관된 것으로 나타났음.
- 분석에 정상군과 비정상군을 취합한 unigene set을 중에 2,760 contigs이 KEGG 분석에 사용되었음. Up regulation에 관련하는 1,243 contigs와 down regulation에 관련하는 1,517 contigs이 확인되었음. Up과 down regulation에 관련하는 contigs의 각 관련 하는 pathway를 확인하기 위하여 contigs을 다시 KEGG pathway mapping을 각각 실시하여 아래 그림 2-1-31을 얻었음.
- 그 결과, KEGG pathway category를 중에 Global and overview maps, Lipid metabolism, Signal transduction, Immune system, Endocrine system에서 up regulation 된 유전자보다 down regulation에 관련된 gene 들이 약 1.65 (in the Signal transduction) – 3.51 (in the Immune system) 배 더 많이 검출되었으며, 그리고, nervous system에서는 오히려 정상군에서 비정상군보다 약 2.04배 더 많이 관련 유전자들이 검출되었음. 비정상군에서 pathway에 관련된 유전자들이 정상군의 발현보다 높게 혹은 낮게 발현되며, 비정상군에서 관련 유전자들의 발현에서 주요 혼란이 발생하고 있음을 추정할 수 있음.

Top Orthologous Groups

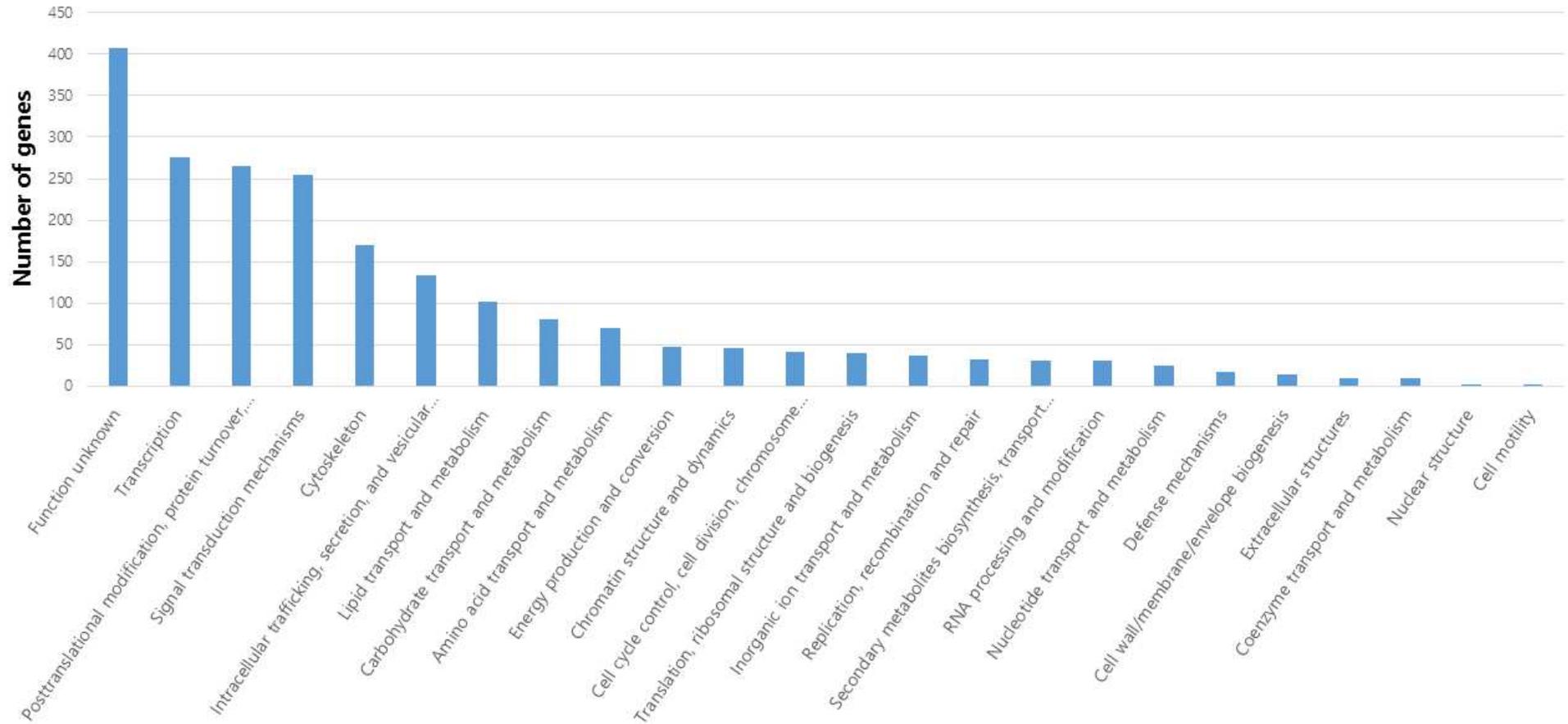


그림 2-1-29. Cluster of orthologous groups (COG) classification of putative proteins.

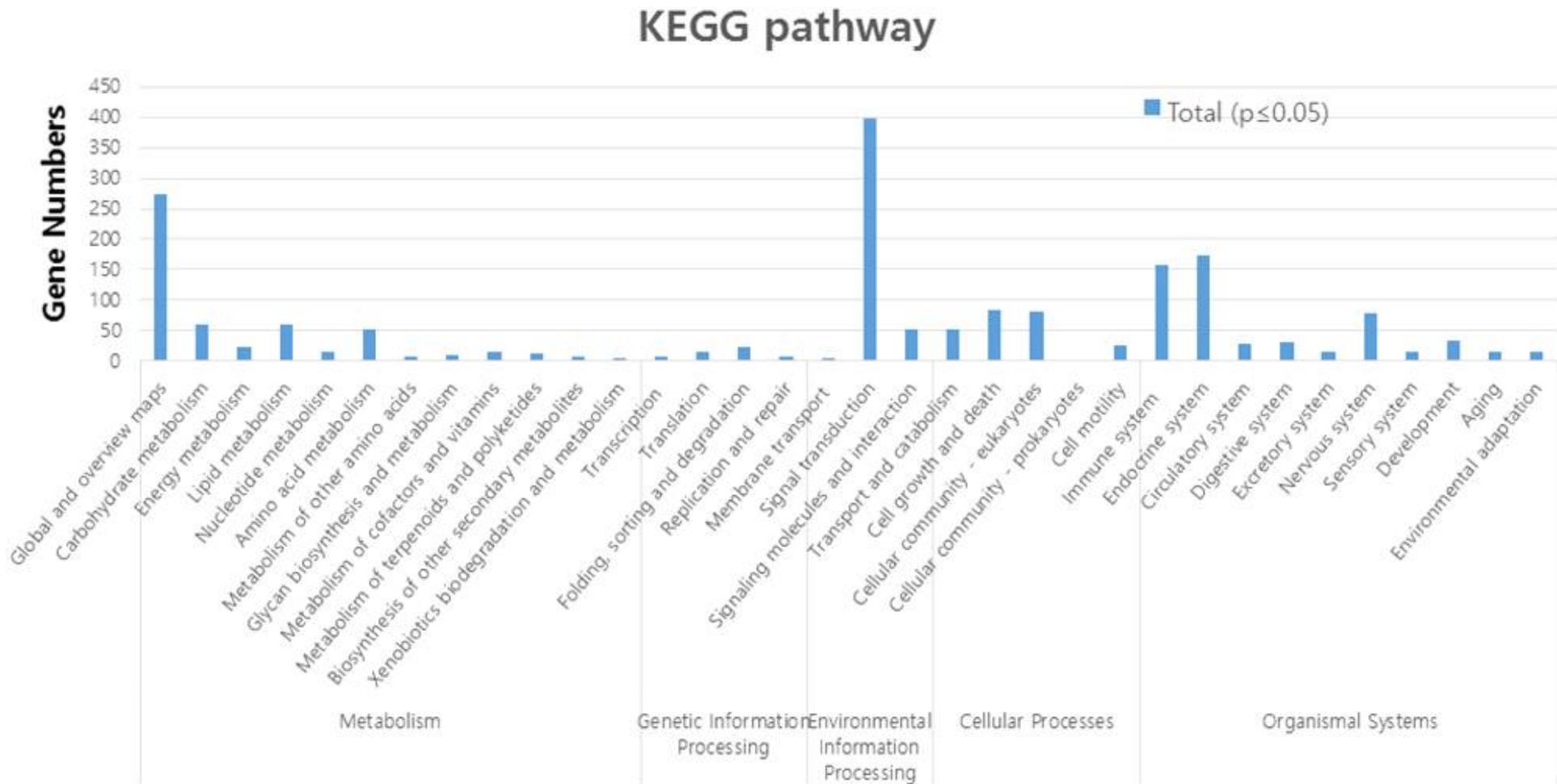


그림 2-1-30. DEG 분석에서 p 값이 0.05 이하의 contigs에 대한 KEGG 분석.

KEGG pathway

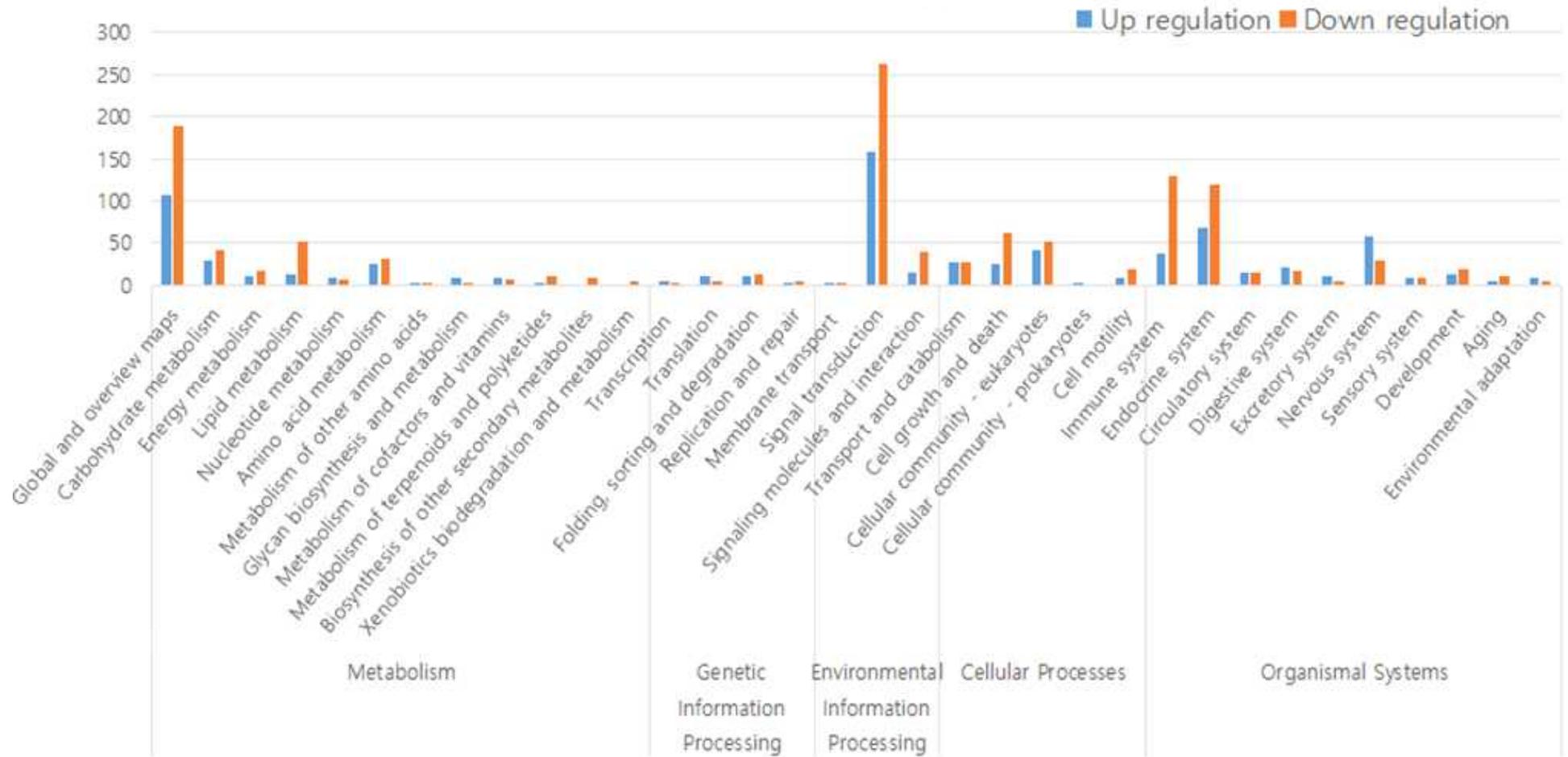


그림 2-1-31. Up과 down regulation에 관한 유전자들의 KEGG pathway 분석.

- 정상군과 비정상군의 KEGG pathway 분석 결과(그림 2-1-31)에서 위의 DEG 분석에서 유효 p 값 (≤ 0.05)을 가진 contigs를 up-regulation과 down-regulation으로 KEGG pathway 분석 결과의 Global and overview maps, Lipid metabolism, Signal transduction, Immune system, Endocrine system 그리고 Nervous system에 관련되는 유전자들을 서로 비교하였으며, 각 샘플의 contigs의 분포는 표 2-1-19에 나타내었음.
- Contigs은 KEGG pathway 분석 (그림 2-1-31)에서 정상군과 비정상군 샘플에서만 각각 unique 하게 존재하는 유전자들이며, 각각 513 genes와 524 genes 들을 얻었으며, KEGG pathway의 Global and overview maps, Lipid metabolism, Signal transduction, Immune system, Endocrine system 그리고 Nervous system의 category에 포함되는 유전자들 분포도 표 2-1-19에 나타내었음.
- 유전자 중에 DEG 분석에서 p 값이 0.05 이하의 유효한 값을 가지는 유전자들을 추출한 결과, 표 6과 7과 같은 결과를 얻었으며, 또한 contigs에서 정상군과 비정상군에만 존재하는 유전자들을 BlastX로 검색하여 KEGG pathway에서 검색된 유전자들과 비교되어 나타내었음(표 2-1-20, 2-1-21).
- 유전자들이 정상군과 비정상군의 차이에서 원인이 되는 주요 유전자들에 관여할 것으로 추정됨. 위에서 KEGG pathway 분석 결과의 Global and overview maps, Lipid metabolism, Signal transduction, Immune system, Endocrine system 그리고 Nervous system에 관련되는 유전자들뿐만 아니라, KEGG 분석에서 검출된 모든 유전자에 대하여 정상군과 비정상군에서만 각각 존재하는 유전자들에 관한 결과를 도출함.

표 2-1-19. KEGG pathway 분석에서 정상군과 비정상군에만 관련하는 유전자 수의 분포

Sample	Unique KO gene No. (KEGG pathway)	Number of genes related with each KEGG category (unique contigs in the each samples)						Total (중복 제외)
		Global and overview maps	Lipid metabolism	Signal transduction	Immune system	Endocrine system	Nervous system	
Normal	513 genes	57	14	97	45	49	37	183
Abnormal	524 genes	49	14	99	54	49	27	188

표 2-1-20. Up과 down regulation에 대한 KEGG pathway로부터 유전자 수 차이를 보이는 category에서 정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교

KEGG pathway analysis			Normal Trinity ID	BlastX analysis		
KO No.	Gene name	Gene def.		Hit def.	Hit accession	Hsp evalue
K00022	HADH	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	TR34324 c0_g4_i1	hydroxyacyl-CoA dehydrogenase [Dicentrarchus labrax]	AIT82981	1.184E-156
K00815	TAT	tyrosine aminotransferase	TR65931 c0_g1_i1	tyrosine aminotransferase [Seriola dumerili]	XP_022611629	3.7848E-90
K01807	rpiA	ribose 5-phosphate isomerase A	TR16144 c0_g1_i1	ribose-5-phosphate isomerase isoform X1 [Maylandia zebra]	XP_004554838	1.8436E-153
K01343	PLAT	tissue plasminogen activator	TR42777 c0_g1_i1	tissue-type plasminogen activator isoform X2 [Stegastes partitus]	XP_008283122	1.1258E-104
K07187	IRS2	insulin receptor substrate 2	TR46040 c0_g1_i1	insulin receptor substrate 2-like isoform X2 [Stegastes partitus]	XP_008281351	1.2445E-99
K04536	GNB1	guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	TR26419 c0_g7_i1	guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2 isoform X1 [Lates calcarifer]	XP_018546868	0
K05735	PAK6	p21-activated kinase 6	TR40376 c2_g1_i1	serine/threonine-protein kinase PAK 6 [Stegastes partitus]	XP_008279640	0
K05736	PAK7	p21-activated kinase 7	TR38276 c1_g2_i1	serine/threonine-protein kinase PAK 5 isoform X1 [Seriola dumerili]	XP_022593606	0
K17697	DOCK4	dedicator of cytokinesis protein 4	TR26092 c0_g1_i2	dedicator of cytokinesis protein 4 [Seriola dumerili]	XP_022605145	0
K04407	MAP4K4	mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 4	TR39054 c1_g1_i2	mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 4-like isoform X10 [Larimichthys crocea]	XP_019128297	0
K04436	MAPK8IP3	mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 3	TR39623 c0_g1_i1	C-Jun-amino-terminal kinase-interacting protein 3 isoform X15 [Acanthochromis polyacanthus]	XP_022063164	0
K04464	MAPK7	mitogen-activated protein kinase 7	TR36104 c0_g1_i1	mitogen-activated protein kinase 7 [Stegastes partitus]	XP_008281493	0
K04961	RYR1	ryanodine receptor 1	TR39426 c1_g5_i2	ryanodine receptor 1-like [Acanthochromis polyacanthus]	XP_022059872	0
K04963	RYR3	ryanodine receptor 3	TR39426 c1_g4_i1	ryanodine receptor 3-like isoform X1 [Cyprinodon variegatus]	XP_015244338	0
K05004	KCNJ11	potassium inwardly-rectifying channel subfamily J member 11	TR35485 c0_g1_i2	ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 11 [Stegastes partitus]	XP_008285317	0
K05692	ACTB_G1	actin beta/gamma 1	TR31378 c12_g7_i1	actin, alpha cardiac muscle 1-like [Sinocyclocheilus grahami]	XP_016139597	2.7281E-168
K06238	COL6A	collagen, type VI, alpha	TR40824 c3_g5_i2	collagen alpha-6(VI) chain [Acanthochromis polyacanthus]	XP_022063766	1.5851E-115

표 2-1-21. Up과 down regulation에 대한 KEGG pathway로부터 유전자 수 차이를 보이는 category에서 비정상군에서만 발견되는 특이 contig의 BlastX 결과와의 비교

KEGG pathway analysis			Normal Trinity ID	BlastX analysis		
KO No.	Gene name	Gene def.		Hit def.	Hit accession	Hsp evaluate
K00665	FASN	fatty acid synthase, animal type	TR45023 c0_g1_i1	fatty acid synthase, partial [Liza haematocheila]	AIK22390	2.3E-128
K08887	ABL2	abelson tyrosine-protein kinase 2	TR33215 c0_g1_i1	Abelson tyrosine-protein kinase 2 isoform X3 [Larimichthys crocea]	XP_010742140	0
K03914	F2R	coagulation factor II (thrombin) receptor	TR27059 c0_g1_i1	proteinase-activated receptor 1 [Seriola dumerili]	XP_022609923	0
K04423	MAP3K12	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 12	TR40305 c2_g2_i3	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 12 [Larimichthys crocea]	XP_010730392	0
K16791	SMAD9	mothers against decapentaplegic homolog 9	TR38577 c4_g1_i1	mothers against decapentaplegic homolog 9 [Larimichthys crocea]	XP_010740766	0
K16822	FRMD6	FERM domain-containing protein 6	TR37237 c0_g1_i1	FERM domain-containing protein 6 [Seriola dumerili]	XP_022606914	0
K05076	IL13RA1	interleukin 13 receptor alpha-1	TR39326 c0_g1_i2	interleukin-13 receptor subunit alpha-1-like [Notothenia coriiceps]	XP_010772307	3E-123
K05473	TNFSF11	tumor necrosis factor ligand superfamily member 11	TR24449 c0_g1_i1	tumor necrosis factor ligand superfamily member 11-like isoform X2 [Seriola dumerili]	XP_022596477	2E-103
K06481	ITGA2	integrin alpha 2	TR33559 c0_g2_i1	integrin alpha-2 [Seriola dumerili]	XP_022620988	4.5E-102
K06589	ITGB6	integrin beta 6	TR36252 c0_g1_i1	integrin beta-6 [Lates calcarifer]	XP_018539238	0
K05168	IL17RE	interleukin 17 receptor E	TR21613 c0_g1_i1	interleukin 17 receptor E [Epinephelus coioides]	ASU91966	0
K06089	F11R	junctional adhesion molecule 1	TR23623 c0_g1_i1	LOW QUALITY PROTEIN: junctional adhesion molecule A	XP_010764357	6.2E-150
K13709	ARHGAP5	Rho GTPase-activating protein 5	TR48792 c0_g1_i1	rho GTPase-activating protein 5 [Larimichthys crocea]	XP_010736585	1.08E-82
K19008	SIK1	serine/threonine-protein kinase SIK1	TR9614 c0_g1_i1	serine/threonine-protein kinase SIK2-like, partial [Labrus bergylta]	XP_020482161	7.4E-122
K07410	CYP1B1	cytochrome P450 family 1 subfamily B polypeptide 1	TR40101 c0_g1_i1	cytochrome P450 1B1 isoform X1 [Lates calcarifer]	XP_018536565	0
K20995	NOTCH3	Notch 3	TR25031 c0_g1_i2	neurogenic locus notch homolog protein 2-like [Stegastes partitus]	XP_008281300	0
K05853	ATP2A	Ca ²⁺ transporting ATPase, sarcoplasmic/endoplasmic reticulum	TR39869 c2_g2_i1	sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2 [Larimichthys crocea]	XP_010744998	0
K05863	SLC25A4S	solute carrier family 25 (mitochondrial adenine nucleotide translocator), member 4/5/6/31	TR21388 c0_g1_i1	ADP/ATP translocase 3 [Poecilia formosa]	XP_007557479	0
K08007	VIL2	villin 2 (ezrin)	TR39114 c1_g1_i2	ezrin [Seriola dumerili]	XP_022623317	0
K15290	SYT1	synaptotagmin-1	TR12712 c0_g1_i1	synaptotagmin-1-like isoform X1 [Acanthochromis polyacanthus]	XP_022075645	1.9E-133

라. 육상수조 내 생존율 향상 및 기형률 저감기술

(1) 육상수조 내 수정란 부화 최적 조건 탐색

- 육상수조 내에서 종자의 생존율과 기형률 저감을 위해 수온, 염분도 등 부화 조건에 대한 문헌조사를 시행함(표 2-1-22).
- 1단계 실험을 바탕으로 하여 먹이생물 조건뿐만 아니라 수온과 염분도, 배양조건(육상수조, 노지)과 관련된 최적의 조건을 탐색해 부화율과 기형률 저감기술 개발을 위한 실험이 필요함.

표 2-1-22. 수온 및 염분도 별 부화율 조사 (Vicente Gracia-Lo'pez, 2004)

Treatment	Temperature (°C)	Hatch rate (%)	Notochord length (mm)
20	19.9 ± 0.7	60.1 ± 7.7	2.32 ± 0.08
24	24.2 ± 0.5	77.7 ± 8.1	2.04 ± 0.09
26	26.1 ± 0.7	76.4 ± 1.1	1.93 ± 0.19
28	27.9 ± 0.4	74.0 ± 2.8	1.87 ± 0.10
30	30.1 ± 0.5	69.8 ± 3.5	1.78 ± 0.09

Salinity (‰)	Hatch rate (%)	Notochord length (mm)
0	0	-
8	46.0±3.1	-
16	59.9±3.8	1.95±0.07
24	64.2±2.6	1.96±0.04
32	80.7±3.8	2.12±0.08
40	65.5±3.5	2.17±0.03
48	66.8±2.9	2.03±0.02
56	35.1±4.6	-
64	0	-

(2) 능성어 수정란 육상수조 입식 및 생존율, 부화율 및 기형률 평가

- 국내 충남 태안군 소재 순천향대학교 해양수산연구소에서 대왕자바리와 능성어를 대상으로 노지 입식 및 육상수조에 입식하여 생존율 및 부화율과 기형률 평가를 시행함.
- 입식일 및 종명은 표 2-1-23와 같이 노지 및 육상수조에 각각 입식하였으며, 부상란은 수송량의 25~85%를 보였으나 입식한 종자들은 대왕자바리의 경우 3~5일이 지난 후에 대부분이 폐사하였고, 능성어의 경우 평균 20일 정도 육성 기간을 거친 후 노지와 육상수조 모두 폐사율 100%를 기록함.

표 2-1-23. 2017년 순천향대학교 해양수산연구소(태안)

입 식 일	종 명	수송량(cc)	부상란(cc)	종자 육성 기간	입식 장소
6월 24일	능성어	2000	1700	20	1,000cc 노지 700cc 육상수조
6월 26일	능성어	1000	600	4	육상수조
7월 7일	대왕자바리	200	50	5	"
7월 9일	능성어	2000	1600	20	"
7월 27일	대왕자바리	500	200	일부 현재	"

마. 노지 종자생산 가능성 평가

(1) 노지 종자생산을 위한 자료 탐색

- 노지에서의 양식은 해외를 비롯해 국내에서도 많이 이용되고 있는 방식임. 육상수조에 비해 성장 속도가 빠르며, 양질의 개체 성장이 가능하며, 사료 공급 또한 용이함(표 2-1-24, 2-1-25). 그러나 육상수조에 비해 초기생존율이 매우 낮아, 입식 수온, 노지의 환경, 저질, 유입수 수질 환경, 동·식물 플랑크톤의 변화, 기상변화에 따른 노지환경변화 등 유의해야 할 조건들이 많음. 또한 대상 종의 초기 및 후기 먹이생물의 선호도 역시 확인하여, 급여하는게 중요함. 먹이생물의 잔여는 수질에 즉각적인 영향을 끼치게 되므로, 선호도 및 정량 확인을 통해, 정확한 먹이 급여가 필요함.

표 2-1-24. 해외 기수 노지, nursery 단계, 30일 동안의 생존율 및 어체중, 사료요구율 (Baliao, Dan D, 1998)

Day	Survival (%)	Ave. weight(g)		Total biomass (kg)	Total feed consumed (kg)	Feed conversion ratio
		Initial	Final			
0-15	100	3.8	7.5	33.7	75	2.2
16-30	93	7.5	14.9	62.6	225	3.6

표 2-1-25. 해외 기수 노지, Grow-out 단계, 210일 동안의 생존율 및 어체중, 사료요구율 (Baliao, Dan D, 1998)

Day	Survival (%)	Ave. weight(g)		Total biomass (kg)	Total feed consumed (kg)	Feed conversion ratio
		Initial	Final			
0-15	100	14.9	30.3	62.6	342	2.7
16-30	-	30.3	49.1		797	-
31-45	-	49.1	63.2		1,352	-
46-60	-	63.2	82.0		1,872	-
60-75	-	82.0	113.9		2,212	-
76-90	-	113.9	136.4		2,562	-
91-105	-	136.4	161.6		2,912	-
106-120	-	161.6	202.5		3,242	-
121-135	-	202.5	254.6		3,511	-
136-150	-	254.6	285.4		3,903	-
151-165	-	285.4	321.4		4,323	-
166-180	-	321.4	363.6		4,803	-
181-195	-	363.6	408.6		5,293	-
196-210	80	408.6	450.2	1,512.6	5,783	3.8

- 따라서 해외에서는 노지의 장점을 최대화하기 위해 중간 육성단계에서 대부분 이용하고 있음(표 2-1-26).
- 그러나 노지에서 초기 성장 시, 육상수조에 비해 초기 기형률이 현저히 낮은 것으로 확인된 바 있음(그림 2-1-32).

표 2-1-26. 육상수조와 노지 간의 유어 양생 시스템 비교 (Liao, 1995)

	Indoor	Outdoor
Tank or pond depth	1.0 – 2.0 m	1.0 – 1.5 m
Water volume	< 100t	> 100t
Survival rate	High	Unstable
Feed supply and water control	poor	Easy
Larval growth	Slow	Fast
Seed quality	Poor	Good
Production cost	High	Low
Filamentous algal growth	Impossible	Possible

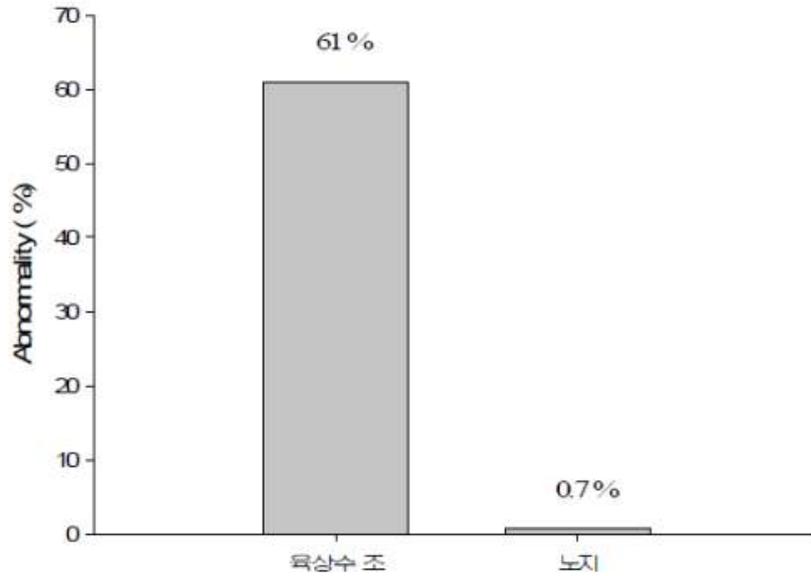


그림 2-1-32. 육상수조 및 노지에서 생산된 참돔의 기형률(해양수산부, 2005).

- 충남 태안군 소재 순천향대학교 해양수산연구소에서 대왕자바리의 초기 기형률 저감을 위해 예비 실험으로써 부화자어의 노지 입식을 시도하였으나 전량 폐사함. 초기먹이 생물조성 및 사육 수 환경이 부화자어에 적합하지 못한 것으로 판단됨(그림 2-1-33, 표 2-1-27).
- 또한 같은 수정란을 이용한 육상수조의 실험에서도 결과가 동일한 것으로 보아, 난질의 문제도 큰 영향을 끼친 것으로 보임. 실험 노지의 크기를 6,000평에서 500평 규모로 축소하고, 초기 먹이생물 등 입식 조건을 보완할 예정임.



그림 2-1-33. 충남 태안군 소재 순천향대학교 해양수산연구소 노지 전경.

표 2-1-27. 노지 양식장을 이용한 대왕자바리 대량 종묘 생산 과정

노지	- 환경조사 (약 6,000평, 평균수심 2 m)
↓	
취수	- 취수된 사육 수에 발효계분 시비 - 광합성 세균 및 유익 세균 배양 - 재발효를 통한 사육 후 조성
↓	
수색 유지, 동물플랑크톤 종 및 밀도조절	- 수색 유지 - 초기 먹이생물 유지 - 동물플랑크톤 유지
↓	
부화자어 입식	- 수정란 : 1,700cc, 부화조에서 부화 후 - 부화자어 : 약 100만 마리 입식(약 1,000cc) - 입식 수온 : 평균수온 26℃

바. 국내 및 해외 질병 모니터링 : 배양, 분리, 동정

- 질병 모니터링 및 병원균 동정 : 주기적인 모니터링을 통해 국내외 바이러스성 및 세균성 질병의 발병 특성을 파악하며, 해당 질병 병원균의 동정을 위해 장기를 적출하여 조직을 채집하였음. 적출한 장기로부터 병원균을 세균배양배지에 배양 후 콜로니를 이용해 NNV와 RSIV의 검출 primer set를 이용하여 PCR을 수행하였으며, 각 primer의 증폭 여부와 염기서열 분석 시행 후 BLAST를 통해 Genebank 에 등록된 유전자와 비교분석을 하여 동정을 시행하였음.
- 문헌을 조사하여 바리과 어류의 종자부터 중간 육성 크기를 대상으로 노출된 질병에 대해 자료 수집

(1) 국내 질병 모니터링

- 2017년 9월경 여수의 양식장에서 양식 중인 능성어 폐사가 발생 또는 NNV 감염 시 나타나는 특이증상을 관찰하여 폐사 원인을 규명하기 위한 어류 바이러스 검출을 시행함.

(가) NNV 검출을 위한 조직 채집

- 폐사한 능성어의 평균 체중은 약 92 g (11 미), 평균체장은 약 17.5 cm로 측정됨.
- 바이러스 검사를 위해 폐사어의 뇌 조직을 무균상태로 채집한 뒤, 1:9의 마쇄액으로 조직을 균질화함. 균질화된 조직은 원심분리 (6,000rpm, 30분, 4°C)를 진행한 후, 분리된 상층액을 대상으로 PCR에 사용함(그림 2-1-34).



그림 2-1-34. NNV 검사를 시행한 폐사어.

(나) Viral RNA extraction and cDNA synthesis

- 샘플 상층액을 대상으로 바이러스 RNA 추출하기 위해 RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany)의 메뉴얼에 따라 수행하였고, 추출된 RNA는 M-MLV Reverse Transcriptase (Bioneer, Korea)의 메뉴얼에 따라 cDNA로 합성함. 합성된 cDNA는 PCR 검출법에 사용하기 위해 -20°C 에 보관함.

(다) Genomic DNA extraction and PCR

- 바이러스 DNA를 추출하기 위해 AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)의 메뉴얼에 따라 수행함. 합성된 cDNA는 10x Ex Taq buffer, 2.5 mM dNTP, Ex Taq (5 U/uL)와 20 pmol의 primer set가 포함된 혼합물로 PCR을 진행함. Primer set은 NNV (F2, CGTGTCAAGTCATGTGTCGCT;R3,CGAGTCAACACGGGTGAAGA)의 검출 primer로 수행함. PCR는 Pre-denaturation 95°C 2분 후, Denaturation 95°C 40초, Annealing 55°C 40초, Extension 72°C 40초로 25 반복을 수행하였으며, Post-extension으로 72°C 5분 진행함. 증폭된 산물은 1% Agarose gel에 loading 하여 전기영동 장치를 통해 관찰된 밴드를 U-V 장치로 확인함.

(라) 실험 결과

- 폐사어의 뇌 조직을 대상으로 NNV 검출 primer를 사용하여 PCR로 확인한 결과, NNV 검출반응에 모두 양성반응으로 확인함(그림 2-1-34).

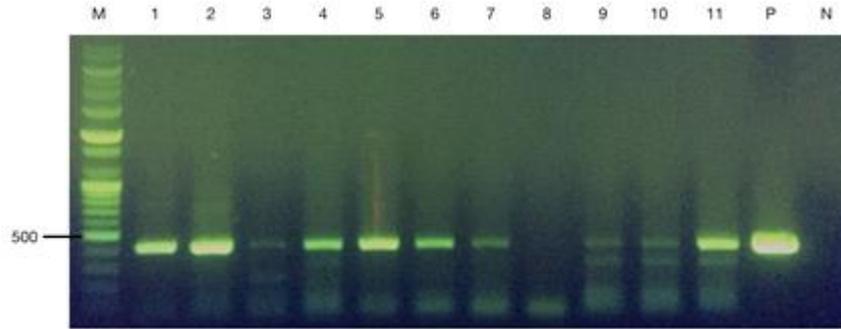


그림 2-1-34. 폐사어 뇌 조직을 NNV 검출 primer를 이용하여 RT-PCR 한 결과.
M: 100 bp DNA ladder; 1 to 11: sample No.; P: positive NNV; N: negative sample.

- 양성반응을 나타낸 샘플 4개를 대상으로 NNV의 분리주 및 상동성을 비교하기 위해 염기서열을 분석함. 분석된 염기서열은 NCBI의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)를 통해 유전자 상동성을 확인함. 그 결과 본 샘플 모두 Red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) 유전형에 속한 것으로 확인함. 따라서, 여수 양식장에서 폐사된 능성어의 폐사 원인은 매년 여름철 고수온기에 발생하여 심각한 피해를 주는 NNV 병원체에 의해 발생한 것으로 사료됨.

(2) 해외 질병 모니터링

- 2017년 2월경 인도네시아에서 양식 중인 꼬리큰점범바리의 대량폐사가 발생하여 폐사 원인을 규명하고자 전남 여수로 이동하여 조사를 시행함.
- 폐사한 꼬리큰점범바리 중 검사를 진행한 5마리의 평균 체중은 약 9.5 g, 평균 체장은 약 10 cm로 측정됨.

(가) 바이러스 검사를 위한 조직 채집

- 바이러스 검사를 위해 grouper의 뇌, 신장, 비장 조직을 무균상태로 채집한 뒤, 1:9의 마쇄액으로 조직을 균질화함. 균질화된 조직은 원심분리 (6,000rpm, 30분, 4°C)를 진행한 후, 분리된 상층액을 대상으로 세포 접종 및 PCR에 사용함(그림 2-1-35).



그림 2-1-35. 검사를 시행한 꼬리큰점범바리 샘플.

(나) 세포 접종

- 바이러스 배양을 위해서 어류 주화세포인 SSN-1, FHM, CHSE-214 세포를 사용함. 세포 배양액은 10% Fetal Bovine Serum (FBS, Atals, USA), 100 IU/mL penicillin G, 100 ug/mL streptomycin (P/S, Gibco, USA)을 첨가한 Leibovitz L-15 medium (L15, Gibco, USA) (SSN-1 cell), Minimal essential medium (MEM) (FHM and CHSE-214 cell)을 사용함. 배양된 세포 중 FHM과 CHS-214는 20°C, SSN-1은 25°C 배양기에 배양함. 24-well plate에 배양된 세포에 샘플 상층액을 접종한 후, 20°C 또는 25°C에 배양하면서 세포변성효과 (cytopathic effects, CPE)를 관찰함.

(다) Viral RNA extraction and cDNA synthesis

- 샘플 상층액을 대상으로 바이러스 RNA 추출하기 위해 RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany)의 메뉴얼에 따라 수행함, 추출된 RNA는 M-MLV Reverse Transcriptase (Bioneer, Korea)의 메뉴얼에 따라 cDNA로 합성함. 합성된 cDNA는 PCR 검출법에 사용하기 위해 -20°C에 보관함.

(라) Genomic DNA extraction and PCR

- 바이러스 DNA를 추출하기 위해 AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)의 메뉴얼에 따라 수행함. 추출된 DNA 및 합성된 cDNA는 10x Ex Taq buffer,

2.5 mM dNTP, Ex Taq (5 U/μl)와 20 pmol의 primer set가 포함된 혼합물로 PCR을 진행함.

- Primer set은 NNV (F2, CGTGTTCAGTCATGTGTTCGCT; R3, CGAGTCAACACGGGTGAAGA) 와 RSIV (Detection 1. for, CTCAAACACTCTGGCTCATC; Detection 1. rev, GCACCAACACATCTCCTATC) 의 검출 primer로 각각 수행함. PCR은 Pre-denaturation 95°C 2분 후, Denaturation 95°C 40초, Annealing 55°C 40초, Extension 72°C 40초로 25 반복을 수행하였으며 (RSIV, Denaturation 95°C 30초; Annealing 58 °C 1분; Extension 72°C 1분; 30 반복), Post-extension으로 72 °C 5분 진행함. 증폭된 산물은 1% Agarose gel에 loading 하여 전기영동 장치를 통해 관찰된 밴드를 U-V 장치로 확인함.

(마) 실험 결과

- 어류 주화세포인 SSN-1, FHM 그리고 CHSE-214 세포에 폐사어의 뇌, 신장, 비장 조직을 균질화된 상층액을 접종하여 14일간 관찰한 결과, CPE 및 세포의 특이 사상이 없었음.
- 폐사어의 뇌, 신장, 비장 조직을 대상으로 NNV 및 RSIV 특이 primer를 사용하여 PCR로 검출한 결과, NNV 검출반응에 모두 음성으로 확인됨(그림 2-1-36). 그러나 RSIV 검출반응에서 신장과 비장 조직에서 양성반응을 확인함(그림 2-1-37).

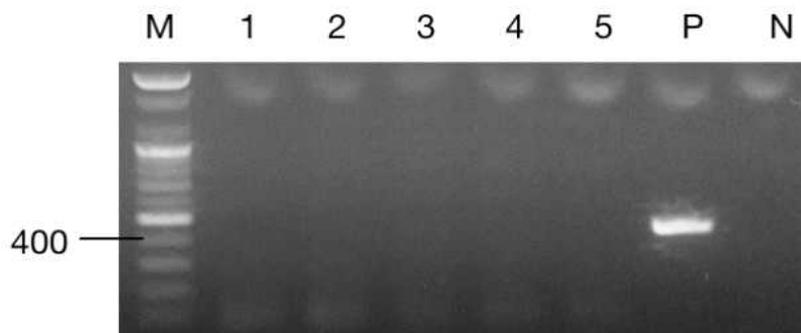


그림 2-1-36. 폐사어 뇌 조직을 NNV 검출 primer를 이용하여 RT-PCR 한 결과.
M: 100 bp DNA ladder; 1 to 5: sample No.; P: positive NNV; N: negative sample.

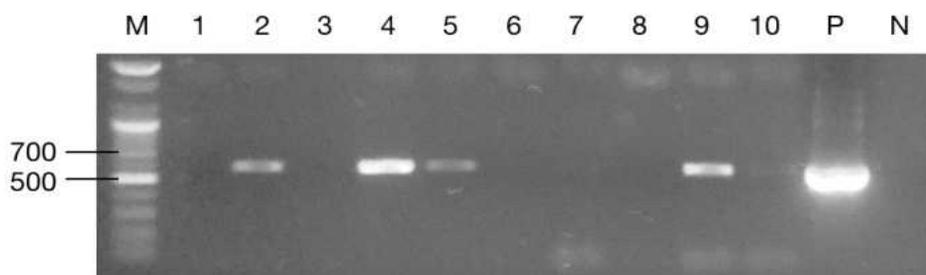


그림 2-1-37. 폐사어 신장 및 비장 조직을 RSIV 검출 primer를 이용하여 PCR 한 결과. M: 100 bp DNA ladder; 1 to 5: 비장 조직; 6 to 10: 신장 조직 P: positive RSIV; N: negative sample.

- 이 중 양성반응을 나타낸 샘플을 대상으로 RSIV의 분리주 및 상동성을 확인하기 위해 염기서열을 분석함. 분석된 염기서열은 NCBI의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)를 통해 유전자 상동성을 확인함. 그 결과 본 샘플 모두 Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)의 분리주인 RSIV-Ku에 99~100%의 상동성을 나타낸 것으로 확인됨 (Genebank: KT781098.1). 따라서, 인도네시아에서 양식 중인 grouper의 폐사 원인은 RSIV 병원체에 의해 발생한 것으로 사료됨.

(3) 중간 육성 질병 발생 모니터링

(가) 육성단계별 질병 발생 문헌조사

- *Epinephelus* 속 및 능성어를 대상으로 질병 및 병원체 관련 문헌을 조사하였으며, 대상의 크기는 종자 단계부터 중간 육성단계인 1kg 이하 크기를 선정함. 질병은 바이러스성이 가장 많았으며, 그 외 세균성, 기생충성 질병 또한 존재함(표 2-1-28).
- 바리과 어류의 대표적인 질병으로 Viral Encephalopathy and Retinopathy(VER)와 이리도 바이러스로 조사됨. Viral Nervous Necrosis(VNN)는 4~9월 사이에 주로 발생하며, 6~8월(30~32°C)에 집중적으로 나타남. 이리도 바이러스에 감염되면 1~2개월 사이, 절반 이상 폐사하기 쉬우나 치료에 대한 대책이 아직 확립되지 않은 실정이며 예방하는 것이 최선임.

표 2-1-28. 바리과 어류 중간 육성단계 주요 질병균

종명	크기 (g)	질병 및 원인	참고문헌
<i>Epinephelus coioides</i>	1000	Marine leech	Cruz-Lacierda et al., 2000
	30	<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>	Al-Marzouk, 1999
<i>E. tauvina</i>	300	Sleepy Grouper Disease (SGD)	CHUA et al., 1994
		<i>Vibrio haweyi</i>	Saeed, 1995
<i>E. lanceolatus</i>	30	<i>S. agalactiae</i> (피부 궤양 및 피부염)	Delamare-Deboutteville et al., 2015
<i>E. marginatus</i>	177-540	<i>Pseudorhabdosynochus beverleyburtonae</i>	Roumbedakis et al., 2013
		<i>Neobenedenia melleni</i>	
		<i>Helicometrina nimia</i>	
<i>E. bruneus</i>	12.4	<i>V. alginolyticus</i>	Harikrishnan et al., 2011
		<i>V. carchariae</i>	
		<i>V. harveyi</i>	
		<i>V. anguillarum</i>	
<i>E. suillus</i>	200-250	<i>Vibrio</i> sp.	Lavilla-Pitogo et al. 1992
<i>Hyporthodus septemfasciatus</i>	400	Viral Encephalopathy and Retinopathy(VER)	Won et al., 2017
	170-690	Viral Nervous Necrosis (VNN)	Fukuda et al., 1996

(4) 품종별 성장률, 생존율 분석

(가) 품종별 성장률, 생존율 분석 방법

- 인도네시아 및 베트남을 대상으로 수요가 높은 대왕범바리와 꼬리큰점범바리를 대상으로 종자생산을 실시하고, 생산된 종자의 성장률, 생존율 등을 분석. 종자의 성장률에 따라 마켓사이즈까지 도달하는 데 필요한 기간을 분석하며, 육성과정 중 발병하는 질병 모니터링을 동시에 시행하며 성장 기간별로 생존율을 분석함.
- 분석은 2018년 10월 09일에 실시하였으며, 바리과 2종인 능성어와 대왕범바리 측정은 버니어캘리퍼스와 휴대용 저울로 0.01까지 측정함. 어체에 스트레스를 최소화하기 위해 MS-222(Syndel, Canada)를 사용하여 안정적인 마취 후 측정하였으며 측정이 끝난 개체는 즉시 공기공급이 있는 사육 해수에 넣어 회복을 도움.
- 능성어와 대왕범바리 간 일간 성장률(SGR) 값을 계산한 공식은 다음과 같음.

$$[\text{Log}(a_2/a_1)/t_2-t_1] \times 100$$

(a₂: 실험종료시 무게, a₁: 실험 초기 무게, t₂-t₁: 실험에 소요된 날짜)

(나) 품종별 성장률, 생존율 분석 결과

① 생산된 종자의 성장률

㉞ 생산 종자

- 18년 생산된 종자는 능성어와 대왕범바리로 바리과 2종에 대해 성장률 및 생존율을 분석함(그림2-1-39).



그림 2-1-39. 능성어(좌)와 대왕범바리(우).

② 능성어, 대왕범바리 성장률 비교 및 평가

- 능성어와 대왕범바리 모두 무작위적으로 23개체씩 측정하였고 능성어는 부화 후 108일 된 개체를 대왕범바리는 부화 후 53일 된 개체를 사용함(표 2-1-29).
- 능성어와 대왕범바리는 각각 평균 전장 55.1 mm, 52.48 mm, 평균 무게는 각각 3.6, 2.19 g로 결과 값이 측정됨.
- 측정 결과 대왕범바리가 능성어에 비해 평균 전장, 평균 무게 모두 약 2배 이상

- 차이나 대왕범바리의 성장률이 더 좋은 것으로 조사됨.
- 하루에 몇 %씩 성장하는지 알 수 있는 SGR(일간 성장률) 계산 결과 능성어보다 대왕범바리의 일간 성장률 1.9배 높은 것을 알 수 있음(표 2-1-30).
 - 사육 기간에 따른 교잡종인 대왕범바리의 월간성장률은 그림 2-1-40과 같음.
 - 이러한 결과는 교잡종인 대왕범바리가 능성어에 비해 성장률이 약 2배 우수함.

표 2-1-29. 능성어, 대왕범바리 계측자료

	능성어	대왕범바리
개체수	23	23
소요일	108일	53일
평균 전장(mean±SD)	55.1±4.8	52.48±2.95
평균 무게(mean±SD)	3.6±11	2.19±0.33

표 2-1-30. 생산된 능성어와 대왕범바리의 일간 성장률

	능성어	대왕범바리
일간 성장률	7.6	14.5

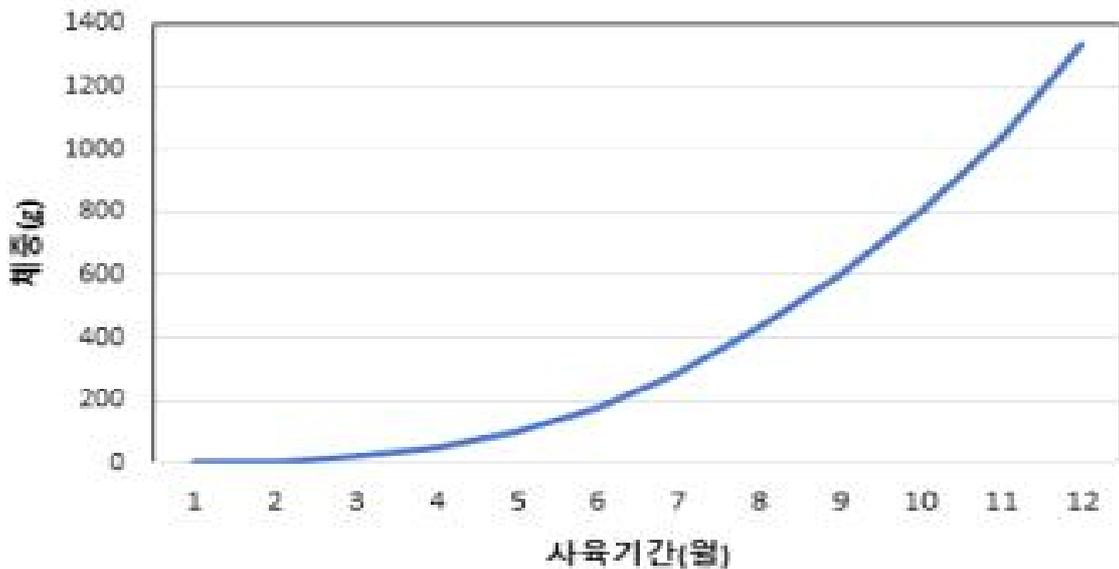


그림 2-1-40. 교잡종 대왕범바리의 월간성장률.

③ 인도네시아 대왕범바리

- 인도네시아에서 비교분석을 한 대왕범바리와 꼬리큰점범바리의 월별 성장률은 그림 2-1-41과 같음.

- 양성 2개월까지 대왕범바리와 꼬리큰점범바리는 성장률에서 유의한 차이가 나타나지 않았으나 3개월부터 유의한 차이가 발생함.
- 양성 10개월 기준으로 대왕범바리와 꼬리큰점범바리간의 성장률은 약 1.6배 이상의 큰 차이를 나타냄.
- 대왕범바리는 기존 관리 시 평균 전장이 70~80 mm가 되는 구간에서 대량폐사가 진행되었고 이후 수온 33℃로 사육하여 개선하여 폐사의 진행을 막았으나 110~130 mm 구간에서 또 한 번의 대량폐사가 재진행되어 Semi-biofloc system으로 진행 예정임.
- 결론적으로 성장률에서 꼬리큰점범바리에 비해 월등한 성장률을 나타내는 대왕범바리를 양식 타겟 대상 종으로 선정할 필요가 있음.

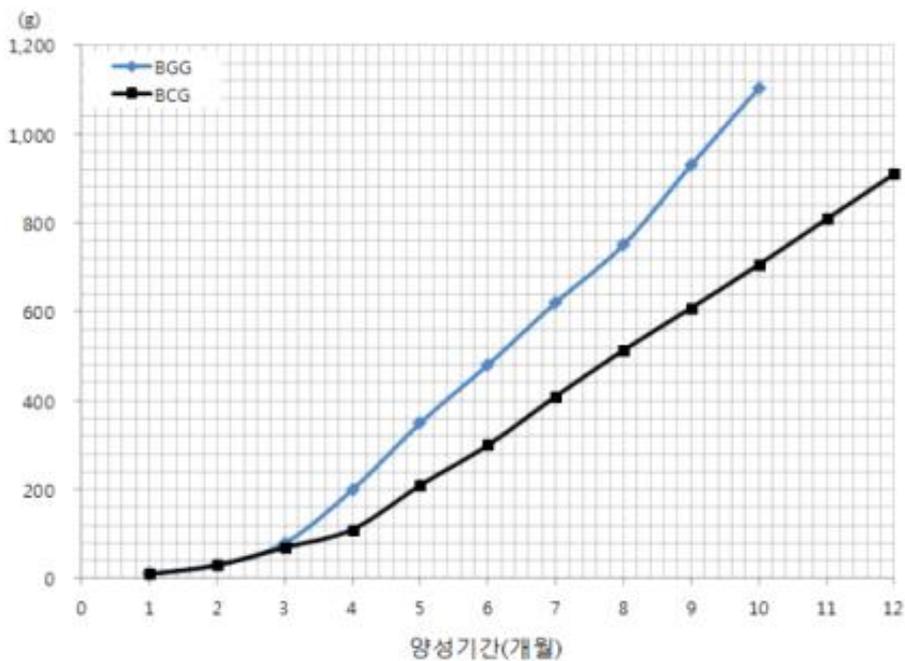


그림 2-1-41. 대왕범바리(BGG)와 꼬리큰점범바리(BCG) 성장률 비교.

2. 우량종자 대량생산 및 상품성 검증

가. 우량종자 대량생산

- 해외 수요가 예측되는 교잡종 바리과 대왕범바리 생산을 위해 베트남 갈색점바리 친어 220마리 및 대왕바리 친어 11마리 확보하였으며, 확보한 갈색점바리 친어를 대상으로 성숙 유도를 진행해 호르몬 주사를 통한 수정란 생산을 시행함. 그 외 바리과 수정란 전문 유통업체를 통한 대왕범바리 수정란을 구매하여 종자생산을 실시하였음. 국내에서 개발한 우량종자 이외에 인도네시아 현지에서 우량종자 및 꾸준한 수요가 있는 종자(대왕범바리, 꼬리큰점범바리)를 대상으로 활용 가능한 갈색점바리를 친어를 이용하여 성숙 및 산란 유도를 통한 교잡종 대량생산을 실시하였음.
- 본 프로젝트에 이용된 국내 및 베트남 갈색점바리 및 대왕바리는 연구과제를 통해 확보한 친어를 사용하였으며, 자바리는 연구과제를 통해 확보한 친어 외에 정석수산의 자바리 친어를 사용하였음. 능성어는 통영 경남수산자원연구소, 인도네시아 갈색점바리는 참여기업 제주대해(주)의 현지 투자법인 Pt. Dae Hae Seng의 확보 친어와 인도네시아 Batam mariculture development centre (MDC) 의 갈색점바리 친어를 사용하였음.
- 국내에서 생산된 능성어와 대왕자바리는 6월부터 산란기가 시작되어 종자생산을 실시하였고, 태안에 소재 순천향대학교 해양수산연구소에 일부 입식하여 종자생산을 실시함. 능성어는 총 5,000 cc 수송을 하여 3,900 cc의 부상란을 얻어 부화율 4~50%와 7~80% 정도를 보였으나 종자 육성기간 중 로티퍼 섭이 단계에서 20일이 지나 노지 및 육상수조에 수용한 종자 모두 전량 폐사를 하였으며, 대왕자바리는 수송량 700 cc 중에 부상란 250 cc를 얻었으며, 높은 기형률과 함께 4-5일 안에 대부분이 폐사해 현재까지 일부만이 현재 생존해 있음(표 2-1-31).
- 베트남 해외기지에서 대왕범바리 종자생산을 위해 2017년 4월 중 대왕범바리 수정란 1,000cc 구매를 시행하였으나, 생산한 업체를 포함하여 구매한 수정란은 종자생산에 실패하였으며, 자체적으로 확보한 갈색점바리를 통해 성숙 유도 및 채란 작업을 통해 6월부터 8월까지 대왕범바리 수정란 각 1,200, 1,800, 1,500cc 생산을 시도(표 2-1-32)하였으나 수정이 진행되지 않았음. 외형상의 난질과 친어관리 부분에서 사료 섭이에 문제가 없었기 때문에 확보한 친어가 초산으로 판단됨.
- 제주대해(주)에 실시한 기술이전 내용인 아열대바리과 정자 동결보존 기술과 호르몬에

의한 산란 유도, 교잡 종자 생산기술 등으로 제주대해(주)의 현지 투자법인 Pt. Dae Hae Seng에서 자체적으로 확보한 친어 갈색점바리를 대상으로 성숙 유도 및 채란 작업을 시행하였으나, 난질이 모두 불량한 상태로 수정에 부적합하였음(표 2-1-33). 친어를 확보한 시기가 충분하지 않아 친어관리에 어려움이 있었기 때문에, 추후 친어관리를 통한 양질의 사료를 공급하면 대왕범바리 및 꼬리큰점범바리 종자생산을 기대할 수 있을 것으로 판단됨.

표 2-1-31. 2017년 순천향대학교 해양수산연구소(태안) 종자 생산내역

입 식 일	종 명	수송량(cc)	부상란(cc)	종자 육성 기간	입식 장소
6월 24일	능성어	2000	1700	20	1,000cc 노지 700cc 육상수조
6월 26일	능성어	1000	600	4	육상수조
7월 7일	대왕자바리	200	50	5	"
7월 9일	능성어	2000	1600	20	"
7월 27일	대왕자바리	500	200	일부 현재	"

표 2-1-32. 2017년 베트남 해외기지 종자 생산내역

날 짜	종명	생산량 (cc)	비고
17년 4월	대왕범바리	1000	수정란 구매
17년 6월	"	1200	생산 시도
17년 7월	"	1800	"
17년 8월	"	1500	"

표 2-1-33. 2017년 인도네시아 해외기지 종자 생산내역

날 짜	종명	생산량 (cc)	비고
17년 8월	갈색점바리 (꼬리큰점범바리)	-	난질 불량
17년 9월	갈색점바리 (대왕범바리)	-	"

(1) 호르몬을 통한 산란 유도 및 수정란 우량종자 대량생산

- 주관기관에서 개발한 종자생산 기술을 현지에 적용하여 현지에서 수요가 많은 대왕범바리와 꼬리큰점범바리를 대량생산을 위해 성숙란(난경을 기준으로 적정 성숙란 상태 결정)을 보유하고 있는 친어를 대상으로 LHRH-a, Ovaprim, HCG 등을 이용하여 육안으로 복부팽만 개체를 확인 후 개체별 캐놀레이션을 실시하여 성숙도 차이를 비교분석하고, 최적의 성숙 및 산란 유도 호르몬 조건을 탐색함.

(가) 호르몬 처리에 의한 인공산란 유도

- 호르몬 처리에 의한 산란 유도는 Ovaplant와 LHRH, Ovaprim, HCG 등 총 4개의 호르몬을 이용하였고 실험군은 Ovaplant를 이용한 1차 성숙 유도 및 LHRH와 Ovaprim, HCG를 2차 인젝션을 통한 산란 유도하였음(표 2-1-34). 비 처리 군은 Ovaplant 비처리 친어를 대상으로 LHRH와 Ovaprim, HCG만을 인젝션하여 산란을 유도하였음. 호르몬별 실험친어는 3마리씩 실시하였음.
- Ovaplant 호르몬 실험군은 Ovaplant를 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 1차 주입하여 성숙을 유도하였고 30일 후 비 처리 군과 함께 LHRH와 Ovaprim, HCG를 주사하여 산란을 유도하였음.
- 산란 유도에 사용된 호르몬별 주입농도는 LHRH는 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Ovaprim 0.5 ml/kg, HCG는 500~1,000 IU/kg으로 산란을 유도하였음.
- 호르몬 처리에 의한 산란 유도 결과 Ovaplant를 주입하고 한 달 뒤에 LHRH와 Ovaprim을 처리한 실험군의 친어들은 산란이 유도되지 않았으며, HCG를 처리한 실험군 3마리 친어중 2마리가 각각 360 ml과 1,150 ml의 성숙란을 산란하였음(표 2-1-35).
- 호르몬 처리에 의한 산란 유도는 LHRH, Ovaprim, HCG 등 총 3개의 호르몬을 이용하였고 실험군은 LHRH, Ovaprim, HCG를 이용한 1차 성숙 및 산란 유도와 HCG로 2차 인젝션을 통한 산란 유도를 진행하였음. 비 처리 군은 성숙 및 산란이 전혀 진행되지 않았으며, 호르몬 처리 군은 만 24시간 전에 복부팽만이 확연히 드러남.
- 24시간부터 4시간마다 복부 압박법을 통해 채란을 시도하였으며, 32~36시간째 주로 채란에 성공하였으며, 48시간 지난 후 복부 내 알이 성숙하지 않아 HCG 500 IU/kg 2차 주사를 시도하였음. 2차 주사한 개체는 전부 폐사함. 이는 더 이상 성숙할 능력이 안 되는 친어에게 2차 주사는 스트레스로써 자극되었을 거라 판단됨.
- Ovaplant를 처리하지 않고 LHRH와 Ovaprim, HCG를 처리한 실험군은 Ovaprim을 주사한 실험군 친어 3마리 중 1마리만 성숙란을 산란하였음(그림 2-1-42).
- 실험 결과 호르몬을 이용한 인위적 산란 유도는 성숙 유도 호르몬이나 산란 유도 호

르몬에 의한 산란 여부는 파악하기 힘든 것으로 사료되며, 친어의 자연 성숙도가 산란에 있어 가장 큰 요인으로 판단됨

- 이러한 판단의 근거는 친어의 산란이 매우 산발적으로 이루어졌기 때문이며, 실험군 별로는 Ovaplant와 HCG를 주사한 실험군은 호르몬 주사 후 약 36시간 후에 1개체가 1,150 ml을 산란하였고, 약 48시간 이후에 1개체가 360 ml 산란을 했으며, Ovaprim 만 주사한 실험군 중 1개체가 주사 후 약 10시간 후에 900 ml을 산란하는 것으로 나타나 호르몬에 의한 산란보다는 개체 간 성숙도가 산란에 미치는 영향이 큰 것으로 판단됨.
- 또한 성숙 유도를 위하여 Ovaplant를 주사한 실험군의 체중이 산란 유도 호르몬을 주사할 때까지 약 한 달간 변동이 거의 없는 것으로 계측되어 Ovaplant를 이용한 성숙 유도보다 개체 간 성숙도 차이가 산란에 미치는 영향이 큰 것으로 판단됨.
- 성숙 유도 및 산란 유도는 향후 실험에서는 개체 간 성숙도를 추정할 수 있는 비만도지수 등의 방법을 이용하여 산란이 가능한 친어를 선별하고, 선별된 친어를 대상으로 성숙 유도 및 산란 유도를 하는 것이 성 성숙 제어 기술개발에 있어 필요할 것으로 판단됨.



그림 2-1-42. 호르몬 처리에 의한 복부팽만 및 산란 유도 모습.

표 2-1-34. 산란 유도를 위한 호르몬 주사

No.	Weight (kg)	Hormone & Dose	Egg Size (μm)	Double Injection	Matured Eggs
1	5.4	HCG 500 IU/kg	450~500		300cc
2	6.0	HCG 500 IU/kg	X		1,000cc
3	7.2	HCG 500 IU/kg*	X	○	
4	4.0	Ovaprim 0.5 ml/kg*	100~500	○	
5	5.5	Ovaprim 0.5 ml/kg	300~400		
6	7.5	Ovaprim 0.5 ml/kg*	300~500	○	300cc
7	5.0	HCG 400 IU/kg + LHRH 40 μg /kg	400~500		500cc
8	6.8	HCG 400 IU/kg + LHRH 15 μg /kg*	200~500	○	
9	5.2	HCG 200 IU/kg + LHRH 40 μg /kg*	400~500		400cc

*핸들링 후 폐사

표 2-1-35. 종류별 호르몬 이용 성숙 및 산란 유도 실험 결과

Hormone	Ovaplant treatment			Control		
	Weight (kg)	Injection volume (cc)	mature eggs (ml)	Weight (kg)	Injection volume (cc)	mature eggs (ml)
LHRH	3.0	1.5	-	4.3	2.15	-
	4.8	2.4	-	7.2	3.6	800
	3.4	1.7	-	3.3	1.65	-
	3.2	1.6	-	3.4	1.7	-
	3.2	1.6	-	3.2	1.6	-
	3.4	1.7	-	3.3	1.65	-
Ovaprim	3.4	1.7	-	8.9	4.45	-
	9.1	4.6	-	7.9	3.95	900
HCG	3.4	1.7	-	4.2	2.1	-
	4.2	2.1	360	3.4	1.7	-
	4.0	2.0	1,150	2.9	1.45	-
	7.3	3.7	-	4.6	2.3	-

(나) LHRH를 이용한 펠릿 제작 및 주사

- 호르몬 제작과 관련된 문헌을 참고하여 LHRH 펠릿 제작
- 4 mg의 LHRH-a를 0.4-0.6 ml의 50% 에탄올에 용해한 후 호르몬을 콜레스테롤 380mg과 완전히 혼합, 37°C에서 1시간 동안 건조함. 20 mg의 코코아버터(2방울-녹아 있는 상태)는 콜레스테롤 혼합물과 완전히 섞은 후 유연한 상태에서 오븐(37도)에 넣고 굳을 때까지 건조. 그 후, LHRH-콜레스테롤-코코아버터 혼합물이 펠릿 주형에 주입
- Pellet을 제작함으로써 pellet 1개당 LHRH 농도 조절 가능으로, 보유 중인 친어를 대상으로 기존 정량 pellet으로 인해 크기에 따라 pellet 개수를 달리하여 사용해야 했던 불편함 해소 및 크기 조절로 인한 주사기 절단면으로 인한 호르몬 손실 억제
- 각각 평균 무게 20 mg, 직경 2.4 mm과 길이 5.0 mm의 펠릿 15개를 만드는 과정으로 각 펠릿의 LHRH는 200 μ g 정도 포함.
- 코코아 버터는 마지막 혼합물의 약 5%를 구성. 코코아버터가 5% 미만일 때는 가루 알갱이가 생성되며, 알갱이가 쉽게 깨지거나 부서졌으며, 5% 넘는 경우 펠릿이 너무 부드러운 경향이 있었음.
- 인도네시아 PT. Dae Hae Seng에서 보유 중인 친어를 대상으로 캐놀레이션을 진행한 결과 선행연구에서 최적의 난경이라고 판단한 550 μ m에 근접한 갈색점바리 친어를 대상으로 제작한 pellet 주사 실시 후 난경의 크기에 따라 다른 색 케이블 타이로 표지를 실시함(빨강:난경 550 μ m 이상 또는 난경 크기 일정, 검정: 난경 450 μ m 이상, 하양: 난경 400 μ m 미만, 표 2-1-36).
- 펠릿 주사 2달 후 빨간색과 검은색 케이블 타이 각각 1개체씩 성숙이 진행되었으며, ovaprim 0.5 ml/kg 주사하였지만, 난경이 일정 크기 이상 증가하지 않아 채란에 실패함(그림 2-1-43).



그림 2-1-43. Pellet 호르몬 주사 및 케이블 타이 표지.

표 2-1-36. 난경에 따른 pellet 주사 및 테깅 (Batam 보유친어)

No.	weight (kg)	Egg size (μm)	Hormone	Tagging (color)
1	5.34	300-450	1 pellet	Black
2	4.08	400-500	1 pellet	Black
3	2.92	400-500	1 pellet	Black
4	5.7	400-500		
5	6.2	400-500	1 pellet	Black
6	5.1	400-450	X	White
7	5.7	400-550	1 pellet	Red
8	7.6	male		
9	5.4	350-500	1 pellet	Black
10	7.4	400-500	1 pellet	Black
11	5.8	350-450	1 pellet	White
12	6.5	300-450	1 pellet	White
13	8.5	200-300, 450-500	1.5 pellet	Black&White
14	7.9	400-500, 150-250	1.5 pellet	Black&White
15	6.7	200-400	1 pellet	White
16	6.3	300-450	1 pellet	Black
17	7.3	male		
18	6.7	200-450	1 pellet	White
19	5.1	400-450	1 pellet	Black
20	10.9	400-460	2 pellet	Black
21	9.3	400-480	X	White
22	4.9	420-460	1 pellet	Black&Red
23	4.4	350-450	1 pellet	Black
24	5.06	400-500	1 pellet	Black

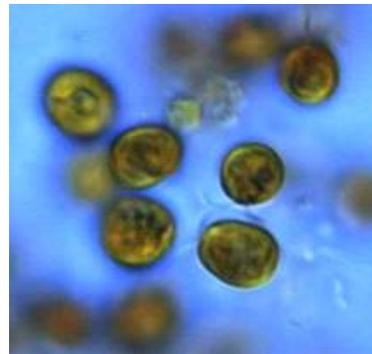
(2) 친어관리 및 종자생산을 위한 먹이생물(*Nannochloropsis* sp. & rotifer) 배양시스템 구축

(가) 먹이생물

- 부화 후 초기 먹이생물을 공급하는 동안 종자생산 생존율을 향상하고, 기형률을 저감시키기 위해 식물성 플랑크톤과 동물성 플랑크톤 배양시스템 구축.
- 식물 플랑크톤 먹이생물인 *Nanno chloropsis oculata* 의 사육환경분석 결과 수온은 27~30.5℃ (평균 29.7℃)였으며, 염분은 32~38psu (평균 34.8 psu).
- 동물성 플랑크톤인 rotifer의 사육환경 조건은 수온 28~31.5℃ (평균 30.4℃)였으며, 염분은 32~38psu (평균 34.8 psu, 그림 2-1-44).



Nannochloropsis sp

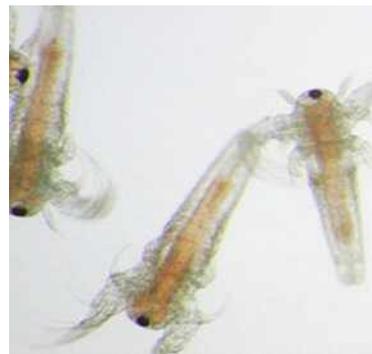


Isocrysis gabana



Rotifer

Brachionus rotundiformis



Artemia sp

그림 2-1-44. 바리과 어류의 초기 먹이생물.

① 식물성 플랑크톤 먹이생물 배양

- 배양액 조성은 1t 기준으로 EDTA 5 g, 요소 50 g, 과인산석회 50 g, 유안 20 g으로 구성됨.
- 사육 수 소독(멸균)은 클로르칼크 염소 농도 기준으로 3ppm을 처리하고, 다음 날 잔류염소 확인 후, 염소 중화제(Hypo) 처리함(그림 2-1-45).
- 배양조건은 수온 30℃ 기준으로 물 10t에서 배양액 5t을 사용하여 접종하고 7일 후에 나머지를 접종함. 위와 같은 조건으로 10일 이내 사용함.



그림 2-1-45. 인도네시아 바탐 대해 승 식물성 플랑크톤 배양장.

② 동물성 플랑크톤 먹이생물 배양

- 자어 시기 초기 먹이로 소형 rotifer(ss type) 체장 80~100 μm 크기를 사용하였으며, 농축 클로렐라 농도를 1,000~1,500 inds/mL 개체 수준으로 조절하였으며, 고밀도 증식을 위해 액체산소를 공급함.
- EPA와 DHA 함량이 높은 영양강화용 오일(super selco)을 사용하여 22℃에서 3시간 영양강화 후, 세척과 약욕 처리하고 공급함.
- 공급밀도는 활력 도와 수용률이 높은 3,000~5,000개체/mL로 하여, 초기 섭취 밀도를 높게 관리하는 것이 조기 자어의 생존율을 높일 수 있음.
- Rotifer는 고밀도 배양 시 개체의 크기를 적게 하고 포란율을 높이는 데 주력함.
- Artemia는 27~29℃에서 500~1,000L의 용기에 여과 해수를 넣고 1L당 1~3g의 artemia 건조란 넣고 포기시켜 부화함. Nauplius stage에서 먹이로 사용함.
- 경우에 따라 영양강화용 오일을 첨가하여 영양강화 후 rotifer와 같은 방법으로 공급함.

나. 생산된 종자의 상품성 검증-기형 및 분류 형질

- 대왕바리, 자바리, 대왕자바리를 대상으로 상품성 검증을 위하여 기형률 및 건강도 평가를 위한 condition factor를 분석하였으며, 가식부위의 증가를 수치로 표현하기 위한 체고 체폭 등의 계수계측을 진행과 동시에 순종과 교잡종 간의 분류 형질을 정의하였음.
- 국내에서 개발된 신품종 대왕붉바리와 대왕자바리 및 자바리 순종을 대상으로 1단계 관능 평가 당시 대왕자바리의 고소한 감칠맛이 순종 자바리에 비해 월등히 높은 평가를 받았음. 이에 따라 그 원인을 파악하고자 순종과 교잡종의 근육 및 피부조직에 대한 collagen 함량을 분석함. 콜라겐 함량 분석을 위해 whole-body 샘플을 각각 3마리씩 확보하여 냉동 보관하였고, 'Quickzyme Total Collagen analysis kit (Quickzyme Biosciences Co.)'를 사용함. 해당 kit로 조직을 산을 이용해 가수분해 시킨 후 detect buffer를 사용해 색을 변화시켜 흡광도를 관찰하여 collagen 함량을 분석할 수 있었음.
- 대왕범바리, 꼬리큰점범바리, 대왕자바리 등 생산된 교잡 종자를 대상으로 정상 개체 대비 기형 개체에 대한 비율을 구하며, 종자 및 중간 육성단계에서 발생하는 질병 모니터링을 통해 종자의 생존율 및 품종별 질병 노출 정도를 통해 종자의 상품성 검증을 시행함.

(1) 분류 형질 계측계수

(가) 표본의 확보

① 자바리

- 전라남도 무안군에 있는 청솔 수산에서 반유수식으로 관리하는 자바리 19개체를 확보하여 10% 포르말린에 고정한 후 실험실로 이동하여 측정에 사용함.
- 확보한 자바리의 전장은 125.1 ± 10 mm의 다른 바리과에 비해 체고가 상대적으로 낮은 특성을 나타냄(그림 2-1-46).

② 대왕바리

- 대만의 평동현 지동향에 위치한 민간인 종묘생산업체에서 대왕바리 30개체를 구매하여 현지에서 10% 포르말린에 고정 후 실험실로 운반함.
- 고정한 대왕바리의 평균 전장은 150.4 ± 4.6 mm의 치어 때의 무늬가 뚜렷하게 나타남(그림 2-1-46).

③ 대왕자바리

- 제주도 서귀포시 성산읍에 있는 제다양식의 육상수조에서 관리하고 있던 대왕자바

- 리 20개체를 확보하여 10% 포르말린에 고정하여 실험실로 운반함.
- 확보한 대왕자바리의 평균 전장은 148.7 ± 6.5 mm의 대왕바리송 × 자바리우 의 중간적인 형태를 취함(그림 2-1-46).



그림 2-1-46. 확보하여 고정한 샘플(좌:자바리, 중간:대왕바리, 우:대왕자바리).

(나) 측정 형질

① 어류 측정 형질

- 어류의 측정 부위는 전장, 체장, 두장, 체고, 등지느러미 기점 거리, 가슴지느러미 기점 거리, 배지느러미 기점 거리, 미병장, 미병고, 안경, 양안 간격, 체폭 등이 있는데, 이 직선거리를 digital caliper를 이용하여 0.01 mm까지 측정함(그림 2-1-47).
- 계수 형질로는 기초, 새파, 종털비늘, 척추골 등을 계수하였고 육안으로 확인이 어려운 척추골의 수는 순천향병원 초음파실에서 Mammography (senographe 2,000D, GE)를 사용하여 계수함.
- 측정 형질은 Fishes of Japan with pictorial keys to the species (nakabo, 2002)와 한국 어류 대 도감(김 등, 2005)을 참조하여 계측하고 계수함 (그림 2-1-48).



그림 2-1-47. 자바리 계수&계측 사진.

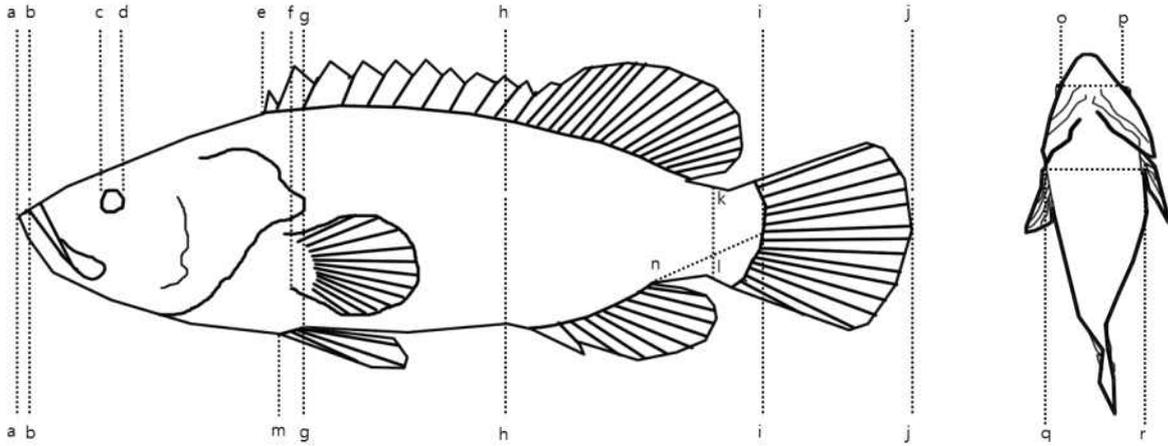


그림 2-1-48. 바리와 계측 부위.

(a-j: 전장, b-i: 체장, b-c: 문장, b-e: 등지느러미 기점 거리, b-g: 두장, c-d: 안경, n-i: 미병장, k-i: 미병고, b-m: 배지느러미 기점 거리, b-h: 뒷지느러미 기점 거리, b-f: 가슴지느러미 기점 거리, e-m: 체고, o-p: 양안 간격, q-r: 체폭)

② 외형 비교

- 자바리는 대왕바리에 비해 체고가 낮고 몸은 측편되고 다갈색 바탕에 6~7개의 흑갈색 가로무늬가 나타나고 등지느러미 3번 극조가 앞에 극조보다 높으며 측선공에 방사 형태의 세관이 없음.
- 대왕바리는 자바리에 비해 체고가 높고 등지느러미 3번 극조가 앞에 극조와 비슷하며 측선공에 방사 형태의 가느다란 세관이 4~6개가 있음.
- 대왕자바리 자바리와 대왕바리의 중간적인 특성을 나타냄(그림 2-1-49).



그림 2-1-49. 바리과 3종의 외부형질.
(상:대왕자바리, 중:대왕바리, 하:자바리)

③ 바리과 3종 계수 형질 비교

- 계수 형질에 사용된 바리과 3종의 샘플은 총 자바리 19, 대왕바리 30, 대왕자바리 20개체로 형태적으로 정상적인 개체를 선별하여 계수함.
- 자바리, 대왕바리, 대왕자바리 모두 등지느러미 기조 수, 배지느러미 기조 수, 뒷지느러미 기조 수, 종렬 비늘 수, 척추골 수에서는 유의미한 차이를 보이지 않음.
- 새파 수에서는 상완새파는 본 연구와 선행 연구의 데이터가 일치하였으나 하완새파의 경우 차이를 나타내었는데 이는 개체 간 크기 차이로 인한 오차라고 보임.
- 동 종의 계수 형질에 관해 선행된 연구와 비교해보면 비교적 동일한 결과를 나타내어 계수 형질로는 종 동정에 어려움이 있을 것으로 보임(표 2-1-37).

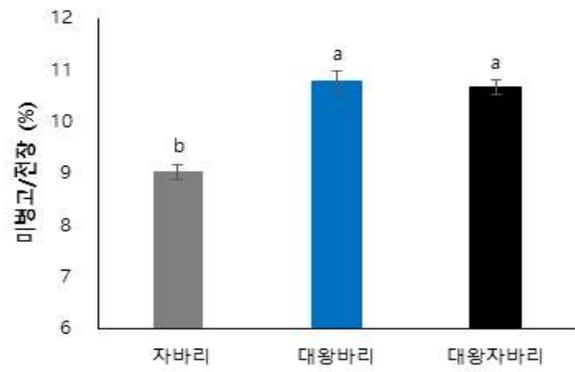
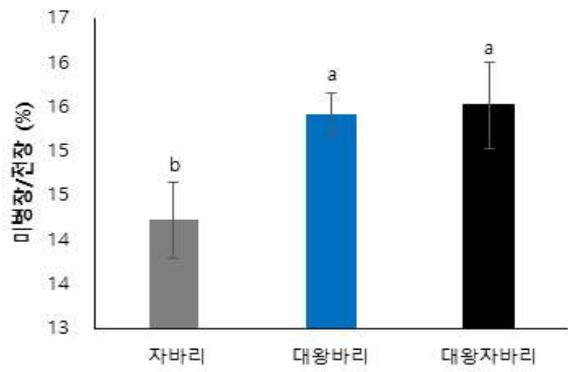
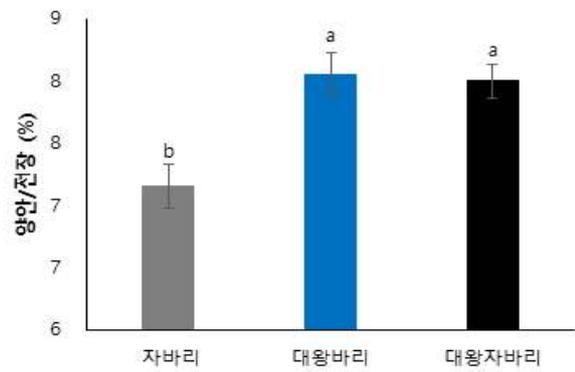
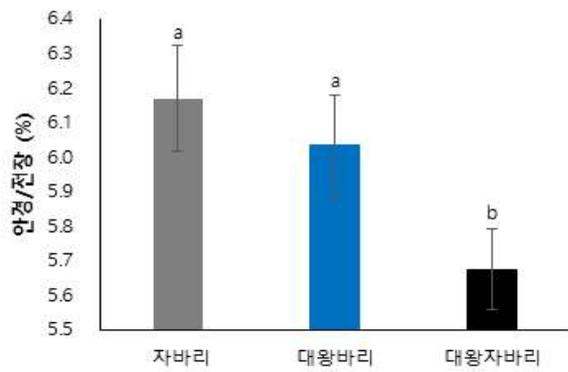
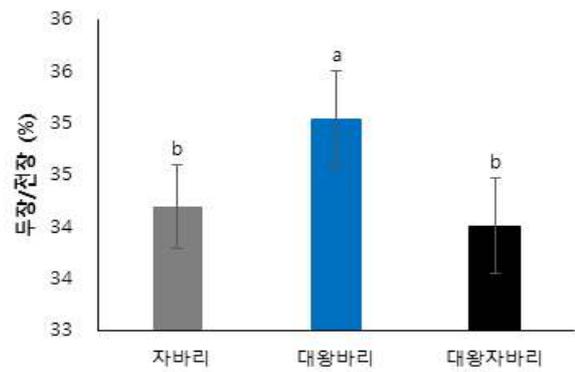
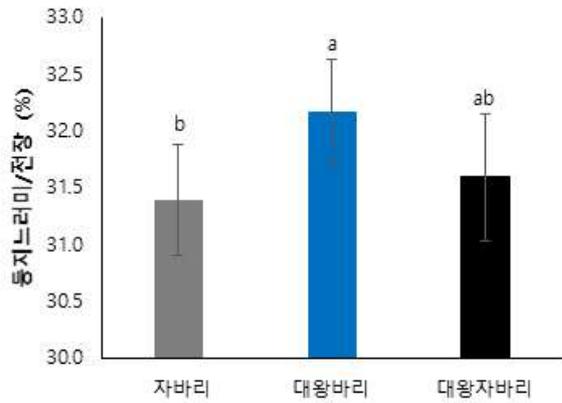
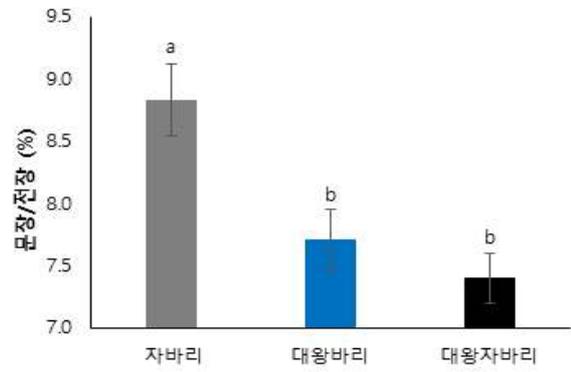
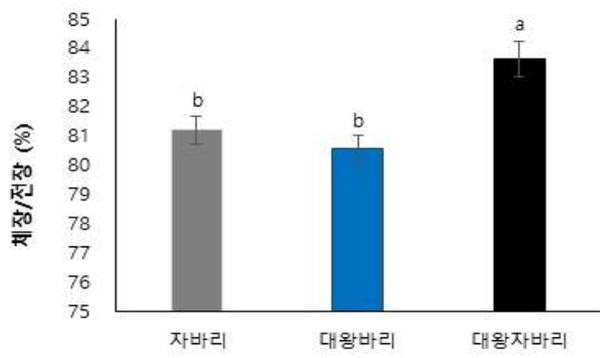
표 2-1-37. 바리과 3종의 계수 형질 비교

	Present study			Heemstra and Randall (1993)	Myoung <i>et al</i> (2013)
	<i>Epinephelus bruneus</i>	<i>Epinephelus lanceolatus</i>	<i>Epinephelus bruneus</i> × <i>lanceolatus</i>	<i>Epinephelus bruneus</i>	<i>Epinephelus lanceolatus</i>
No. of specimens	19	30	20	-	1
Dorsal fin rays	XI, 13-15	XI, 14-15	XI, 14-16	XI, 13-15	XI, 14
Anal fin rays	III, 8	III, 8	III, 8	III, 8	III, 8
Ventral fin rays	I, 5	I, 5	I, 5	-	I, 5
Gill rakers	9-10+10-11	9+11-12	9-10+12-14	9-11+16+18	10+14
Lateral scales series	94-121	98-121	97-119	93-126	92
No, of verebrae	10+14	10+14	10+14	-	-

④ 바리과 3종의 계측 형질 비교

- 계측 형질에 사용된 바리과 3종의 샘플은 총 자바리 19, 대왕바리 30, 대왕자바리 20개체로 형태적으로 정상적인 개체를 선별하여 통상적으로 사용되는 13가지 형질을 가지고 바리과 3종에 대한 계측을 시행함.
- 데이터분석은 바리과 3종의 전장에 대한 체장, 문장, 등지느러미, 두장, 안경, 양안간격, 미병장, 미병고, 배지느러미, 뒷지느러미, 가슴지느러미, 체고, 체폭의 백분율을 구하여 SPSS (ver. 21.0; SPSS Inc., USA)를 사용하여 일원 분산분석(ANOVA)을 함($P < 0.05$)(그림 2-1-50.).
- 전장에 대한 체장의 백분율은 Tukey 분석을 활용하였고 자바리는 평균 $81.2 \pm 1\text{mm}$, 대왕바리가 평균 $80.6 \pm 0.9\text{ mm}$ 로 동일 집단으로 묶이지만, 대왕자바리는 $83.7 \pm 1.2\text{ mm}$ 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 문장의 백분율은 Tukey 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 $7.7 \pm 0.6\text{ mm}$, 대왕자바리가 평균 $7.4 \pm 0.4\text{ mm}$ 도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 $8.8 \pm 1.2\text{ mm}$ 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 등지느러미 기점 거리의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 평균 $31.4 \pm 1.0\text{ mm}$, 대왕바리는 $32.2 \pm 0.9\text{ mm}$ 다른 집단으로 나뉘었으나 대왕자바리는 평균 $31.6 \pm 1.1\text{ mm}$ 도 두 집단 모두에 속함.

- 전장에 대한 두 장의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 평균 34.2 ± 0.8 mm, 대왕자바리가 평균 35.0 ± 0.9 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 대왕바리는 34.0 ± 0.9 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 안경의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 평균 6.2 ± 0.3 mm, 대왕바리가 평균 6.0 ± 0.3 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 대왕자바리는 5.7 ± 0.2 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 양안 간격의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 8.1 ± 0.4 mm, 대왕자바리가 평균 8.0 ± 0.3 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 7.2 ± 0.4 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 미병장의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 15.4 ± 0.5 mm, 대왕자바리가 평균 15.5 ± 1.0 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 14.2 ± 0.9 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 미병고의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 10.8 ± 0.4 mm, 대왕자바리가 평균 10.7 ± 0.3 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 9.0 ± 0.3 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 배지느러미 기점 거리의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 34.8 ± 2.5 mm, 대왕바리는 평균 33.5 ± 1.3 mm 두 집단으로 나뉘었으나 대왕자바리는 평균 33.6 ± 1.1 mm도 두 집단 모두에 속함.
- 전장에 대한 뒷지느러미 기점 거리의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 평균 54.2 ± 2.1 mm, 대왕자바리가 평균 55.0 ± 1.3 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 대왕바리는 52.6 ± 1.0 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 가슴지느러미 기점 거리의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 33.1 ± 1.2 mm, 대왕자바리가 평균 33.2 ± 1.2 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 35.2 ± 1.5 mm 유의한 차이를 보임.
- 전장에 대한 체고의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 자바리는 평균 23.0 ± 1.1 mm, 대왕바리가 평균 28.6 ± 0.9 mm, 대왕자바리는 26.1 ± 1.4 mm으로 3개의 집단이 단일 집단으로 명확히 나누어짐.
- 전장에 대한 체폭의 백분율은 Tukey&Duncan 분석을 활용하였고 대왕바리는 평균 17.1 ± 0.9 mm, 대왕자바리가 평균 17.3 ± 0.8 mm도 동일 집단으로 묶이지만, 자바리는 11.3 ± 1.0 mm 유의한 차이를 보임.



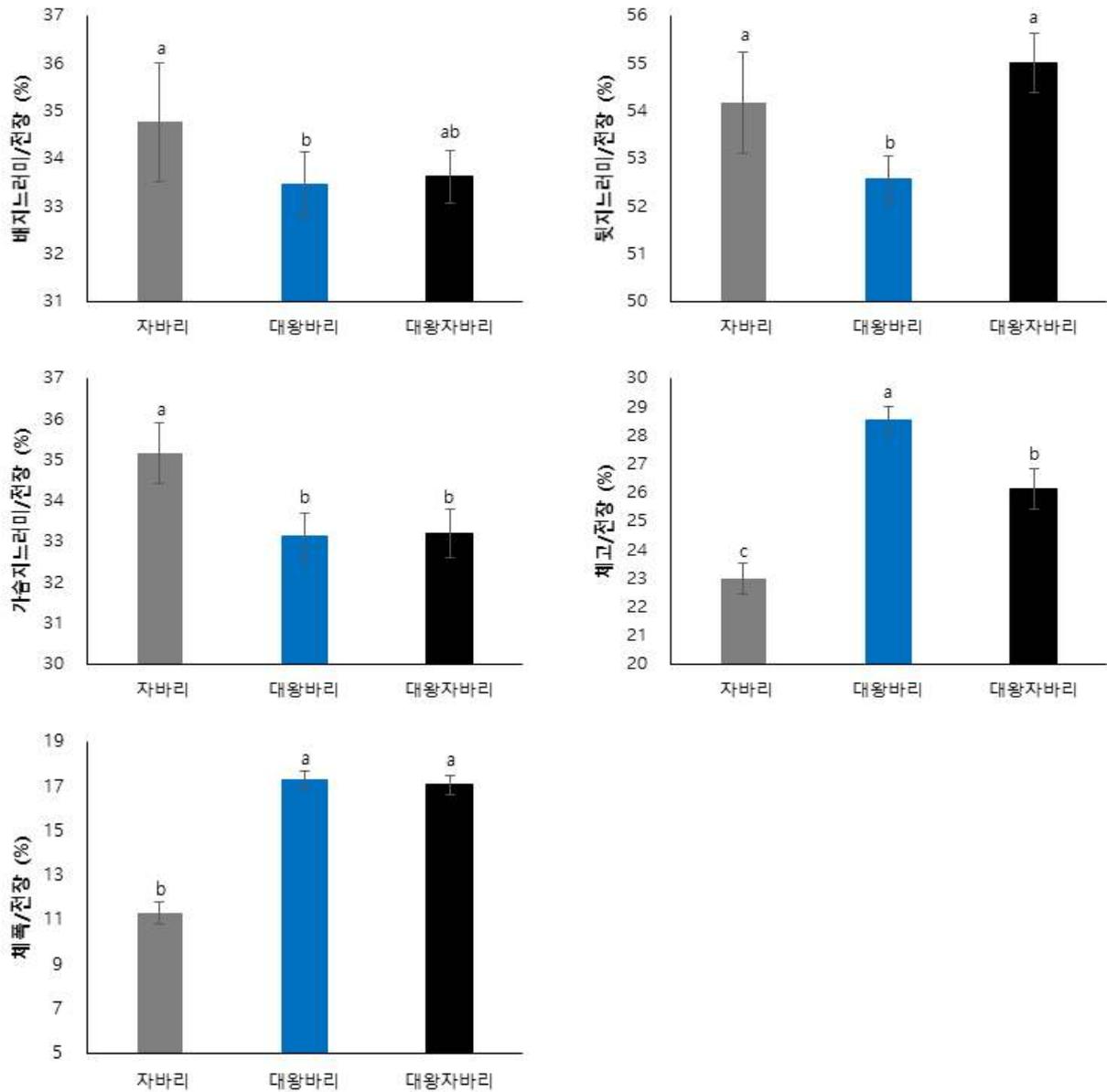


그림 2-1-50. 전장에 대한 계측 형질의 백분을 비교.

⑤ 대왕자바리 3종의 계측 형질 비교

- 측정에 사용된 대왕자바리는 자바리♀ × 대왕바리♂의 교잡종으로 등지느러미 기점 거리와 배지느러미 기점 거리에서 양쪽 모두에 속하는 중간적인 형태를 나타냄(그림 2-1-51).
- 체장과 안경은 자바리와 대왕바리 모두에게 속하지 않고 대왕자바리 단일 집단을 나타냄.
- 문장, 양안 간격, 미병장, 미병고, 가슴지느러미 기점 거리, 체폭에서 부계 형질인 대왕바리를 따라가는 것으로 나타남.

- 두장, 뒷지느러미 기점 거리에서는 모계 형질인 자바리의 영향을 많이 받은 것으로 사료됨.
- 대왕자바리를 포함한 3종 모두 영양학적인 문제와 외형적으로 드러나지 않는 기형률에 대한 측정의 오차는 있을 수 있음.
- 바리과 3종 모두 단일 집단으로 나뉘는 형질인 체고는 전장에 대한 백분율이 자바리가 $23.0 \pm 1.1 \%$, 대왕바리 $28.6 \pm 0.9 \%$, 대왕자바리 $26.1 \pm 1.4 \%$ 로 유의한 차이가 나타나 종을 비교하고 동정하는데 주요 마커로 활용될 것으로 사료됨.

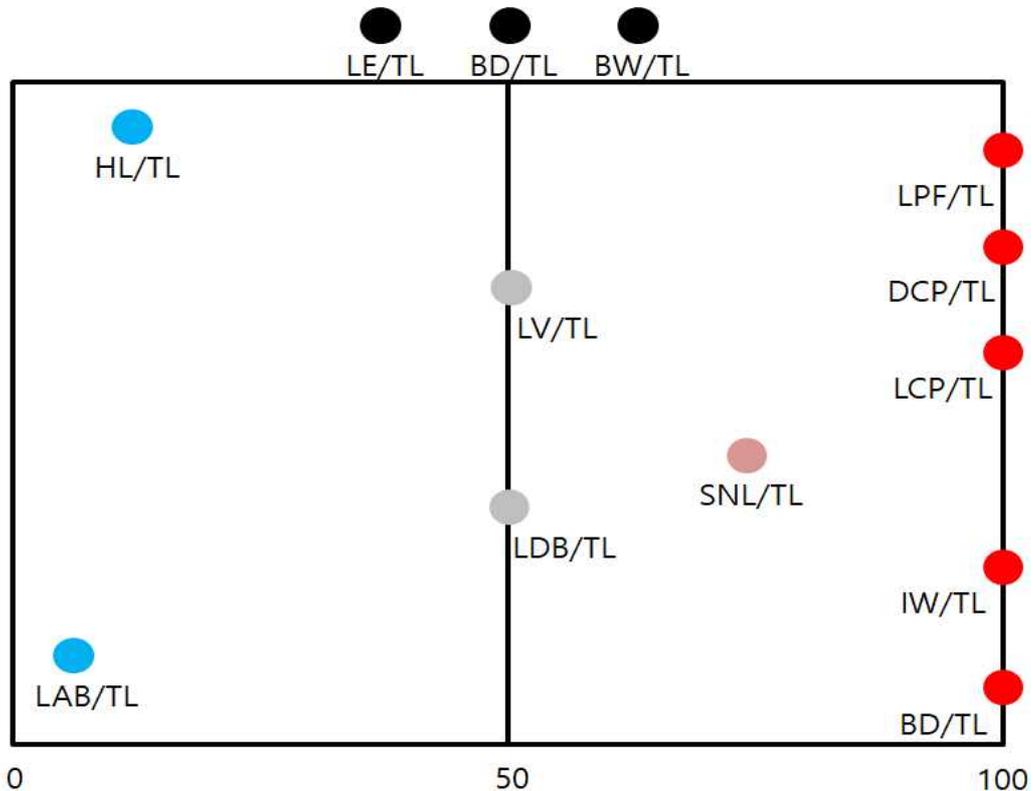


그림 2-1-51. 바리과 3종의 유사도 관계.

(※ 0=자바리, 100=대왕바리, TL: 전장; Total length, HL:두장; Head length, LPF: 가슴지느러미; Length of pectoral fin, DCP: 미병고; Depth of caudal peduncle, LV: 배지느러미; Length of ventral fin, LCP: 미병장; length of caudal peduncle, SNL: 문장; Snout length, LDB: 등지느러미; Length of longest dorsal ray, IW: 양안간격; Interorbital width, LAB: 뒷지느러미; Length of longest anal ray, BW: 체폭; Body width, BD: 체고; Body depth, BD: 체고; Body depth, LE:안경; Length of eye)

(2) 대왕자바리와 대왕불바리의 근육 내 콜라겐 함량 분석

(가) 음식으로 조리한 우량종자의 관능 평가

- 본 프로젝트에서 생산한 우량종자인 대왕자바리, 대왕불바리와 순종인 자바리에 대해 관능 평가를 위해 음식으로 조리하여 시식한 결과, 우량종자의 맛과 국물의 **고소한 감칠맛**이 순종 자바리에 비해 월등히 높은 평가를 받음. 이에 대하여 우량종자 및 순종의 근육과 피부조직에 대한 collagen 함량을 분석함.

(나) 어류 collagen의 식품 산업적 활용

- Collagen의 3 type 중 가장 일반적인 두 가지 유형은 type 1과 type 2임. type 1은 연조직을 제외하고 전신에 걸쳐 발견되며 우리 몸에 있는 대부분의 collagen임. Type 2는 연골과 활액에서 가장 중요한 부분임.
- 어류로부터 생산된 collagen은 피부의 섬유아세포와 결합 조직 세포에서 생산되어 조직 화하고 뼈 조직에서 중요한 역할을 하는 collagen type 1임. 이것은 뼈의 탄력과 구조 뿐만 아니라 뼈의 mineralization과 신진대사 과정과 관련 있음(Marcus 1996).
- 특히 어류로부터 생산되는 collagen은 인체 내에서 최대 1.5 배까지 효율적으로 흡수되며 생체 이용률은 소 또는 돼지의 콜라겐보다 우수함. 이것은 콜라겐의 다른 유형에 비해 입자 크기가 작기 때문임. 입자 크기가 작을수록 새로운 콜라겐 합성을 위해 피부, 뼈 및 관절에 collagen peptide를 쉽고 빠르게 흡수 및 운반할 수 있음.
- Collagen은 매우 중요한 생체 분자이며 인간을 포함한 포유동물에서 가장 풍부한 단백질로 동물의 전체 단백질의 약 30%를 차지함(Pati et al., 2010).
- Collagen 성분은 인체 표피층의 수분 흡수력을 증가시킴으로써 피부 진피 및 표피의 기능을 향상할 수 있어 주름을 감소시킴(King'ori, 2011). collagen 보충제는 근육량을 늘리고, 회복 시간을 단축하게 하며, 손상된 관절 구조를 재구성하고 심장 혈관을 개선하며 스포츠 영양 분야에서도 활용되고 있음(Hashim et al., 2015).

(다) 교잡품종 및 순종의 sample 확보와 Collagen 함량 분석실험

① Sample 확보 및 냉동 보관

- 2016년 9월 28일부터 같은 해 10월 7일까지 해양과학기술원 서해 연구소와 제주도 제다 양식장에서 대왕불바리, 대왕자바리, 자바리의 whole-body sample을 각각 3마리씩 확보함.
- 확보된 우량종자 및 순종 자바리의 whole-body sample은 -20°C 냉동고에서 냉동 보관함.

② Collagen 함량 분석 실험방법

㉑ 근육 및 피부조직 전처리 과정

- 냉동된 대왕불바리, 대왕자바리, 자바리의 whole-body sample은 사용 직전 해동하고, 등지느러미기조 앞을 기점으로 근육과 피부조직을 절단하여 초정밀 전자저울로 300mg 정량함.
- Collagen 분석실험을 위해 ‘Quickzyme Total Collagen analysis kit(Quickzyme Biosciences Co.)’ 사용함(그림 2-1-52).

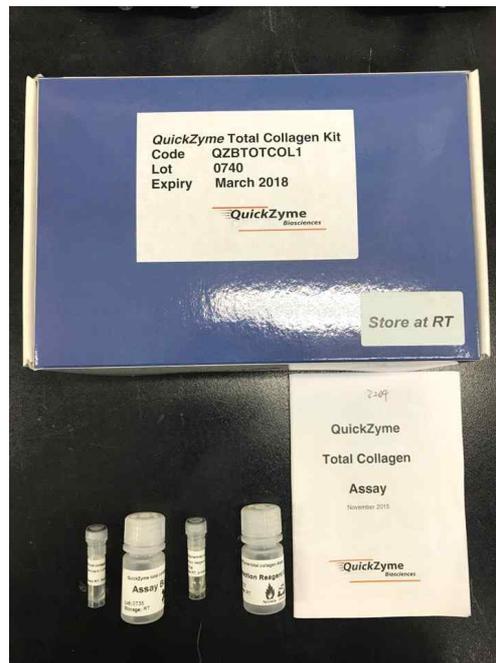


그림 2-1-52. Quickzyme total collage analysis kit (Quickzyme Biosciences Co.).

- 절단한 근육과 피부조직 각각 300mg당 6M HCl 1.0 ml이 담긴 1.5 ml tube에 첨가하고, cool BLOCK - ALB 6400 (finepcr co. Korea)을 이용하여 95℃에서 20시간 가수 분해함.
- 근육과 피부조직 가수 분해 산물은 실온에서 냉각시킨 후, 원심분리기를 이용하여 13,000rpm으로 10분간 원심 분리함.
- 원심분리 후, 가수 분해 산물은 상층액만 micro pipette로 채취하여 비어 있는 1.5 ml tube로 모두 옮겨 3차 증류수와 1:0.5 비율로 희석함.

③ Collagen standard 시료 준비 과정

- 근육 및 피부조직의 collagen 함량 수치 확인을 위해 분석 함량의 기준이 될 collagen standard 시료 제조를 시행함.
- Collagen standard는 0.02M 아세트산에 1,200 μ g/ml의 원료로 제공됨. 이 원료 125 μ l 를 micro pipette를 이용하여 screw cap tube에 옮기고, 같은 volume (125 μ l)의 12M HCl과 혼합함(안전을 위해 tube 마개를 단단히 닫음).
- Cool BLOCK – ALB 6400 (Finepcr co. Korea)을 이용하여 95 $^{\circ}$ C에서 20시간 가수 분해하여 실온에서 냉각시킨 후, 원심분리기를 이용하여 13,000rpm으로 10분간 원심 분리함.
- 위 과정을 마친 collagen standard sample은 미리 준비된 빈 1.5 ml tube 8개를 S1~S8으로 표기한 후 차례로 0~300 μ g/ml collagen standard 제조하여 사용함(표 2-1-38).

표 2-1-38. Collagen 분석을 위한 standard sample

Standard label	Conc. (μ g/ml)
S1	0
S2	6.25
S3	12.5
S4	25
S5	50
S6	100
S7	200
S8	300

⊕ Collagen 함량 분석

- 근육 및 피부조직 가수분해 시료와 collagen standard 시료를 각각 96 well plate에 35 μ l씩 첨가함(희석이 필요할 시 4M HCl 사용).
- 시료가 첨가된 96 well plate에 각각 75 μ l 분석 버퍼(assay buffer)를 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 20분간 반응시킴.
- 검출 시약(detection reagent) A와 B를 2 : 3 (resp 30 μ l +45 μ l / well) 비율로 혼합하여 시료가 첨가된 96 well plate에 각각 75 μ l 혼합하고, 60 $^{\circ}$ C incubator에서 60분 동안 반응시킴(그림2-1-53).
- 반응 후 시료를 ice 위에서 냉각함.
- 모든 전처리 과정이 끝나고, microplate spectrometer를 이용하여 파장 값 570nm (540~580 nm 허용)에서 collagen 함량 분석 시행(그림 2-1-54).

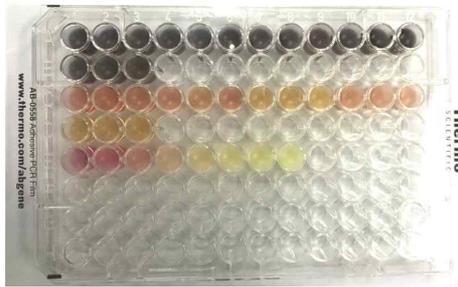


그림 2-1-53. 60 $^{\circ}$ C incubator에서 60분 동안 반응시킨 최종 시료.



그림 2-1-54. Epoch microplate spectrometer.

(라) 교잡품종 및 순종의 sample 확보와 Collagen 함량 분석실험

- 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리를 대상으로 근육 및 피부조직 collagen 함량 비교 분석실험 결과를 그림 2-1-55와 그림 2-1-56으로 나타냄.

① Microplate spectrometer 분석 결과

- 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리의 근육 collagen 함량을 분석한 결과 파장 값 A570 nm를 기준으로 우량종자인 대왕자바리와 대왕불바리는 각각 평균 0.1359, 0.1279mg/ml의 함량 수치를 나타냈고, 순종 자바리는 0.0819mg/ml 함량 수치를 나타냄.
- 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리의 피부조직 collagen 함량은 측정치 초과로 인해 20배 희석해서 진행하였으며, 측정 이후 희석한 값을 다시 계산하여 분석을 시행함. 분석한 결과 파장 값 A570 nm를 기준으로 우량종자인 대왕자바리와 대왕불바리는 각각 19.37mg/ml과 20.53mg/ml의 함량 수치를 나타냈고, 순종 자바리는 20.55 mg/ml 함량 수치를 나타냄.

② 분산분석(ANOVA) 결과

- 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리의 collagen 함량 수치를 이용한 통계 분석은 통계 분석 프로그램 SPSS ver. 20의 ANOVA (analysis of variance) 분석을 통해 산출함.
- 근육의 경우 대왕자바리 0.1359 ± 0.024 mg/ml, 대왕불바리 0.1279 ± 0.008 mg/ml, 순종 자바리 0.0819 ± 0.004 mg/ml로 나타남. 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리 근육 collagen 함량에 대한 ANOVA 분석 결과 교잡품종은 순종 자바리와 collagen 함량이 유의한 차이를 보이지만 교잡종간 collagen 함량 차이는 보이지 않음(그림 2-1-55). 대왕자바리와 대왕불바리는 자바리에 비해 1.65~1.68배 높게 나타났음.
- 대왕자바리와 대왕불바리 및 순종 자바리 피부조직 collagen 함량에 대한 ANOVA 분석 결과 교잡품종과 순종 자바리 간의 collagen 함량이 유의한 차이를 보이지 않음(그림 2-1-56).

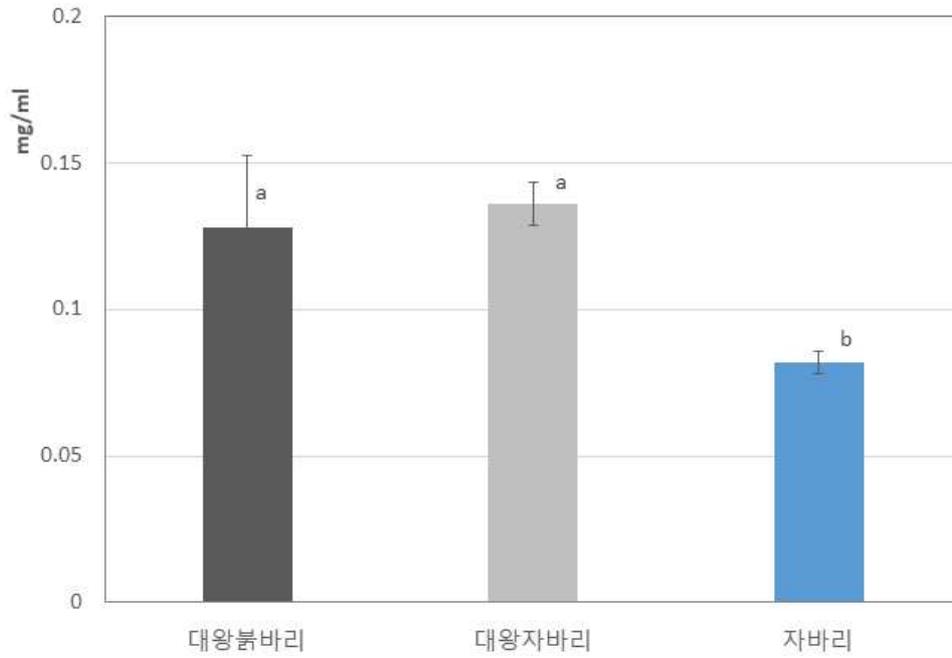


그림 2-1-55. 근육 내 collagen 함량.

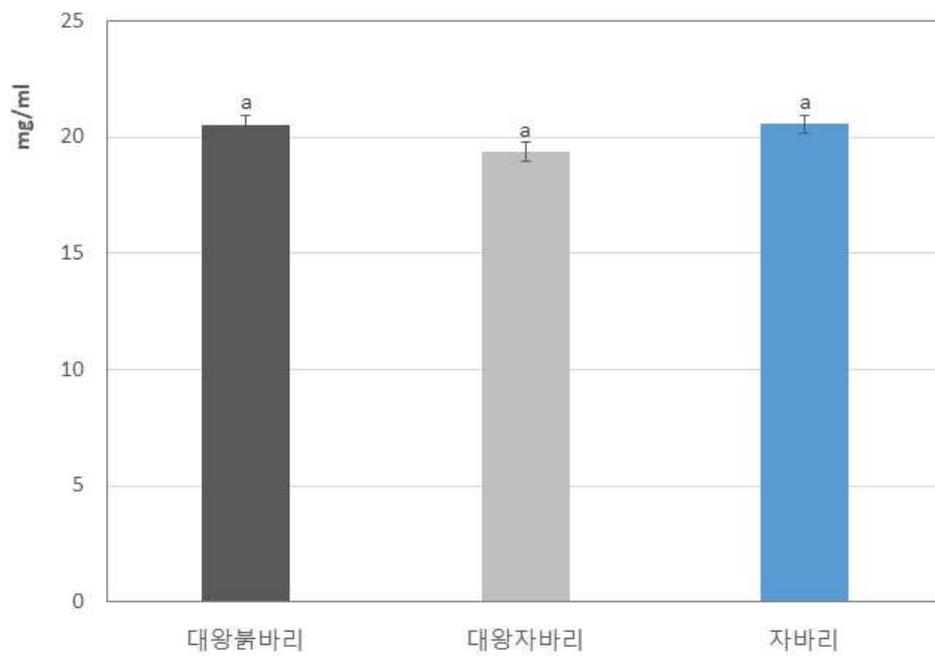


그림 2-1-56. 피부조직 내 collagen 함량.

(3) 생산된 종자의 기형 저감을 위한 시스템 개발

(가) 종자 생산관리

- 생산 종자로 사용된 능성어와 대왕범바리는 수정란으로 들여와 사육관리 하였으며(표 2-1-39), 초기 먹이생물은 Rotifer, Artemia, Copepoda 3종을 영양강화와 멸균하여 사용함.

표 2-1-39. 생산 종자 입식 시기

	능성어	대왕범바리
입식 시기	2018.06.23	2018.08.17
생산국가	한국(통영, 거문도)	대만

① 능성어

- 부화한 자어는 20℃부터 29℃까지 1일 간격으로 가온하여 최종 29℃로 관리하였고 입과 항문이 모두 열리는 시기인 부화 후 2일째부터 먹이생물인 Rotifer를 공급함(그림 2-1-57).
- 부화 15일부터는 Artemia를 소량 공급하여 자연스러운 먹이 전환이 이루어지도록 유도하였고 17일부터는 100% Artemia를 공급하여 관리함.
- 부화 20일부터는 Copepoda를 소량 공급하여 artemia에서 Copepoda로 자연스러운 먹이 전환이 이루어지도록 유도하였고 22일부터는 100% Copepoda를 공급하여 관리함.
- 부화 27일부터는 침강성 배합사료(치어)인 EP 사료를 공급하여 인공 먹이에 대한 적응도를 테스트했고 적응이 완료된 30일부터는 100% EP 사료로 전환하여 관리함.
- 초기 먹이생물인 Rotifer 관리는 32℃의 해수로 담수산 농축 클로렐라를 이용하여 5,000개/ml 고밀도 배양을 하여 항상 작은 사이즈가 되도록 유지함.
- 환수단계는 Rotifer 시기부터 배합사료 시기까지 5%~100%까지 순차적으로 환수량을 늘려나감.
- 관리시스템별 각 시기별 먹이생물이 겹치는 이유는 먹이 전환 시 해당 먹이생물로 자연스러운 섭식 유도를 이끌기 위함이며 각 먹이생물별로 영양성분이 다르므로 건강한 종자 육성을 위해 그림 0과 같이 체계적인 관리를 함.
- 30일 이후 100% 전환되는 EP 사료는 이른 아침부터 늦은 저녁까지 먹이 공급을 지속 해서 해주었는데 이는 초기에 공식이 심한 바리과 어류의 특성상 공복률을 최대한 줄이기 위해 실시함.



그림 2-1-57. 능성어 종자 관리시스템.

② 대왕범바리

- 부화 후 1일부터 수온인 26°C부터 30°C까지 1일 간격으로 가온하여 최종 30°C로 관리함.
- 초기 먹이생물인 Rotifer 관리는 32°C의 해수로 담수산 농축 클로렐라를 이용하여 5,000개/ml 고밀도 배양을 하여 항상 작은 사이즈가 되도록 유지함.
- 입과 항문이 모두 열리는 시기인 부화 후 3일부터 Rotifer에 영양강화를 하여 20일까지 공급하였고 부화 후 5일부터 40톤당 5%씩 환수를 해주었고 2~3일 후에는 10%에서 15%까지 환수량을 늘려나감.
- 부화 후 18일부터 약 2주간 영양 강화한 아르테미아를 32일까지 공급하였고 초기 4~5일간은 갓 부화한 아르테미아를 공급하고 환수량은 1일 기준 100%씩 관리 유지함.
- 부화 후 25일부터 냉동 코페포다와 EP 사료를 공급하여 EP 사료로의 전환을 유도함.
- 부화 후 37일 이후부터는 EP 사료로 100% 전환하여 치어를 관리하였으며 공급시간은 1일 3~4시간 간격으로 총 12시간씩 공급하여 관리함.
- 관리시스템별 각 시기별 먹이생물이 겹치는 이유는 먹이 전환 시 해당 먹이생물로 자연스러운 섭식 유도를 이끌기 위함이며 각 먹이생물별로 영양성분이 달라서 건강한 종자 육성을 위해 그림 2-1-58과 같이 체계적인 관리를 함.
- 37일 이후 100% 전환되는 EP 사료는 이른 아침부터 늦은 저녁까지 먹이 공급을 지속적으로 해주었는데 이는 초기에 공식이 심한 바리과 어류의 특성상 공복률을 최대한 줄이기 위해 실시함.



그림 2-1-58. 대왕범بار리 종자 관리시스템.

(나) 생산된 종자의 기형 분석

- 기형 분석은 사육 중인 바리과 어류에서 일부 무작위로 선별하였고 어체 스트레스를 최소화하기 위해 검증된 마취제인 MS - 222를 이용하였고 분석 이후에 폭기를 이용해 회복을 도움.
- 생산 종자에 관한 기형 분석은 전년도에 분석한 자바리, 대왕바리, 대왕자바리의 형태학적, 해부학적 자료를 참고하여 종별로 분석함.
- 초기 기형을 제외한 기형 개체의 선별은 대왕범바리가 부화 후 53일, 능성어가 부화 후 108일에 이루어졌으며 무작위로 100개체 이상씩 골라 선별한 결과는 표 2-1-40과 같음.
- 생산된 종자의 기형 형태를 보면 크게 대왕범바리는 머리에 해당하는 두부 쪽에 기형이 관찰되었으며 능성어는 두부와 척추, 극조 부분에 기형이 관찰됨(그림 2-1-59).
- 대왕범바리는 A와 B의 형태가 나타났으며, A는 아가미가 두부를 덮지 않고 외부에 일부가 노출되어 있는 외형적 결손을 볼 수 있었으며 B는 하악이 전방으로 쏠려 구조상 상악과 마찰을 하지 못하는 결손을 보여줌.
- 능성어는 C와 D, E, F의 4가지 형태가 나타났으며, C는 두부가 전방으로 쏠려 있는 형상, D는 등지느러미 기부 일부가 축만 된 형상, E는 등지느러미 극조가 1개가 결손되는 형상, F는 척추골의 이상으로 몸통의 기형적인 형상을 나타냄.
- 초기 종자 사육 시 부화 후 2~3일째 머리와 꼬리 기형이 다수 관찰되었다는 점과는 상당히 다른 결과가 나왔는데 이것이 사육 시스템의 영향인지 후기자어기~치어기 사이에 성행하는 공식현상으로 인한 정상 어의 기형어 포식에 의한 영향인지 추후 검토해 볼 필요가 있음.

표 2-1-40. 대왕범바리, 능성어 기형 선별 결과

	대왕범바리	능성어
총개체수	120	300
기형 개체 수	3	10
기형 발병률(%)	0.03	0.03

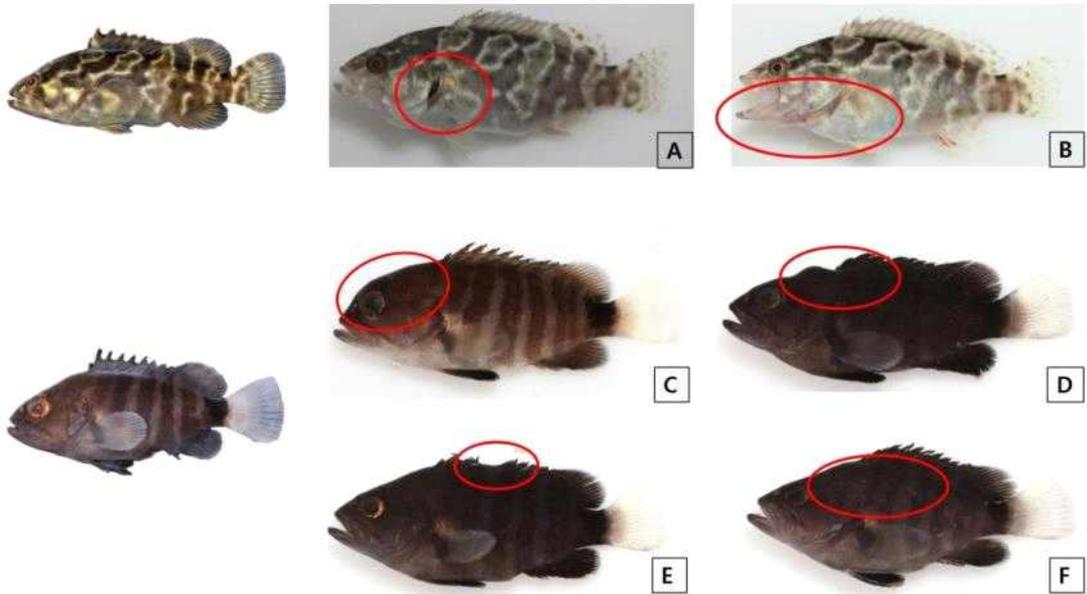


그림 2-1-59. 생산된 종자의 기형 형태(A, B: 대왕범바리, C~D: 능성어).

(다) 관능 평가

① 평가 대상 종

- 순종인 능성어와 자바리와 교잡종인 대왕자바리, 대왕붉바리, 대왕범바리 총 5종의 관능 평가를 시행함(그림 2-1-60).



그림 2-1-60. 관능 평가 대상 종(좌측부터 능성어, 자바리, 대왕자바리, 대왕붉바리, 대왕범바리).

- 1차 관능 평가 대상 종은 능성어, 자바리, 대왕자바리 총 3종으로 시중에 유통되고 있는 바리와 어류의 순종인 자바리와 능성어를 대조군으로 삼고 교잡종인 대왕자바리와 대왕불바리를 대상으로 평가함.
- 2차 관능 평가 대상 종은 1차 평가한 내용을 바탕으로 교잡종인 대왕자바리, 대왕불바리, 대왕범바리 3종을 대상으로 평가함(표 2-1-41).
- 관능 평가는 외관 평가에 해당하는 색감과 일반적인 조리평가 기준인 맛과 식감도, 그리고 바리와 어류의 특징인 고농도의 콜라겐에 주목하여 점성도 등 3가지 부분에 주목하여 조리된 요리에 대한 평가를 수행함.

표 2-1-41. 관능 평가 대상 종

	1차 평가		2차 평가		
능성어	자바리	대왕자바리	대왕자바리	대왕불바리	대왕범바리

② 평가항목 및 절차

- 평가 절차는 일차적으로 외관 평가, 이차적으로 조리된 요리를 시식하는 조리평가를 시행하여 얻은 결과로 종합평가를 수행함(그림 2-1-61).
- 평가항목은 외관 평가의 기준이 되는 색감, 조리평가에서는 맛, 식감, 점성, 3가지 요소를 항목으로 설정함.



그림 2-1-61. 수행된 평가항목 및 절차.

③ 평가양식

- 평가 양식지의 항목은 색감, 맛, 식감도, 점성도 4가지로 선정하였고 각 항목별 평가가중치는 5단계로 구분하였으며, 각각 평가되는 대상종으로 하여금 상대적인 점수를 부여하여 종합점수를 통해 관능 평가를 수행함(그림 2-1-62).
- 평가 대상 종의 조리 방법은 회와 맑은탕 2가지로 평가를 수행하였고, 인공 화학조미료를 일절 넣지 않고 대파, 무, 대파 등의 천연 식자재만을 사용하여 조리함(그림 2-1-63).
- 평가에 참여하는 평가자는 한 테이블에 모여서 블라인드 면접 형태로 진행하였으며,

각각의 요리별로 1회 시식한 후 물로 입 안의 잔여물을 행구는 방법을 통해 종별 정확한 평가가 이루어지도록 함.

	회					맑은탕				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
색감										
맛										
식감도										
점성도										
종합점수										

그림 2-1-62. 사용된 관능 평가양식(5:아주 좋음, 4:좋음, 3:보통, 2: 나쁨, 1:아주 나쁨).



회(좌측부터 능성어, 자바리, 대왕자바리)

맑은탕

그림 2-1-63. 평가 대상 종의 조리 방법.

(라) 1차 평가

- 1차 평가 결과 바리과 3종의 외관 평가는 상대적인 차이가 없는 것으로 나타났지만 맛에 대해서 순종과 비교하면 교잡종이 상대적으로 우수한 결과를 나타냈고 합산한 결과는 표 2-1-42과 같음.

① 색감

- 색감 평가는 회를 대상으로만 평가함.
- 바리과 3종 간의 색감 평가는 능성어가 3명이 3점을 5명이 4점을 부여해 29점을 받았고 자바리와 대왕자바리는 4점과 5점을 고루 받았지만 총 37점으로 두 종간의 색감의 상대적인 차이는 없는 것으로 판단됨.

② 맛

- 회에 대한 능성어의 맛 평가는 5명이 4점, 3명이 5점으로 평가하여 35점을 받았고 자

- 바리는 4명이 4점, 4명이 5점으로 평가하여 36점을, 대왕자바리는 3명이 4점, 5명이 5점으로 평가하여 37점을 부여받음.
- 회에 대한 능성어의 식감도 평가는 1명이 3점, 5명이 4점, 2명이 5점으로 평가하여 33점을 받았고 자바리는 4명이 4점, 4명이 5점으로 평가하여 36점을, 대왕자바리는 2명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 33점을 부여받음.
 - 회에 대한 능성어의 점성도 평가는 4명이 3점, 4명이 4점으로 평가하여 28점을 받았고 자바리는 7명이 4점, 1명이 5점으로 평가하여 33점을, 대왕자바리는 2명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 38점을 부여받음.
 - 바리와 3종의 회에 대한 맛 평가는 평가자마다 다르지만, 최저점이 3점으로 전반적으로 좋게 평가되었고 식감도와 점성도 최저점 4점 이상으로 평가가 좋았음.
 - 맑은탕에 대한 맛 평가는 자바리가 4명이 4점, 4명이 5점으로 평가하여 36점을, 대왕자바리는 3명이 4점, 5명이 5점으로 평가하여 37점을 부여받음.
 - 맑은탕에 대한 식감도 평가는 자바리가 4명이 4점, 4명이 5점으로 평가하여 36점을, 대왕자바리는 2명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 33점을 부여받음.
 - 맑은탕에 대한 점성도 평가는 자바리가 7명이 4점, 1명이 5점으로 평가하여 33점을, 대왕자바리는 2명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 38점을 부여받음.
 - 능성어를 제외한 자바리, 대왕자바리의 맛 평가는 교잡종인 대왕자바리가 종합점수 115점으로 자바리의 109점보다 다소 높은 값을 기록함.

표 2-1-42. 1차 평가 합산 결과

	능성어		자바리		대왕자바리	
	회	회	회	맑은탕	회	맑은탕
색감	29	37	37		37	
맛	35	36	35	35	37	38
식감도	33	36	37	37	38	37
점성도	28	33	37	37	38	40
종합점수	125	142	109	109	150	115

(마) 2차 평가

- 2차 평가는 1차 평가 결과인 교잡종이 순종에 비해 우수한 점을 들어 대왕바리를 교잡한 3종인 대왕자바리, 대왕붉바리, 대왕범바리 3종에 대한 관능 평가를 시행함(표 2-1-43).

① 색감

- 색감 평가는 회를 대상으로 실행함.
- 교잡종 3종 간의 색감 평가는 모두 5점을 받아 35점을 받아 교잡종 간의 색감의 상대적인 차이는 없는 것으로 판단됨.

② 맛

- 회에 대한 맛 평가는 대왕자바리는 1명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 34점을 받았

- 고 대왕불바리는 2명이 4점, 5명이 5점으로 평가하여 33점을, 대왕범바리는 1명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 34점을 부여받음.
- 회에 대한 식감도 평가는 대왕자바리는 1명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 34점을 받았고 대왕불바리는 2명이 3점, 5명이 4점으로 평가하여 26점을, 대왕범바리는 7명이 5점으로 평가하여 35점을 부여받음.
 - 회에 대한 점성도 평가는 교잡종 3종 모두 5명이 4점, 2명이 5점으로 평가하여 30점을 받음.
 - 바리과 교잡종 3종의 회에 대한 맛과 점성도의 평가는 평가자마다 다르지만, 최저점이 4점으로 전반적으로 매우 좋게 평가되었지만, 대왕불바리가 교잡종 2종에 비해 식감도가 다소 떨어지는 경향을 나타냄.
 - 맑은탕에 대한 맛 평가는 대왕자바리가 1명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 34점을, 대왕불바리는 3명이 4점, 4명이 5점으로 평가하여 32점을, 대왕범바리가 1명이 4점, 6명이 5점으로 평가하여 34점을 부여받음.
 - 맑은탕에 대한 식감도 평가는 교잡종 3종 모두 2명이 4점, 5명이 5점으로 평가하여 33점을 받음.
 - 맑은탕에 대한 점성도 평가는 대왕자바리가 7명이 5점으로 평가하여 35점을, 대왕불바리가 3명이 4점, 4명이 5점, 대왕범바리는 2명이 4점, 5명이 5점으로 평가하여 33점을 부여받음.
 - 바리과 교잡종 3종의 맑은탕에 대한 맛과 식감도, 점성도는 매우 좋은 것으로 평가됨.

표 2-1-43. 2차 평가 합산 결과

	대왕자바리		대왕불바리		대왕범바리	
	회	맑은탕	회	맑은탕	회	맑은탕
색감	35		35		35	
맛	34	34	33	32	34	34
식감도	34	33	26	33	35	33
점성도	30	35	30	32	30	33
종합점수	133	102	124	97	134	100

(바) 종합평가 및 차년도 계획

- 순종을 포함한 1차 평가를 바탕으로 회에 대한 선호도는 대왕자바리, 자바리, 능성어 순으로 나타났고 맑은탕 역시 교잡종인 대왕자바리가 순종인 자바리에 비해 높게 나타남.
- 교잡종만을 대상으로 한 2차 평가에서 회에 대한 선호도는 대왕범바리, 대왕자바리, 대왕불바리 순으로 평가되었지만, 맑은탕에서는 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕불바리 순으로 평가됨.
- 전체적으로 일반인을 대상으로 수행된 바리과 어류의 관능 평가의 경향을 보면 교잡종이 색감과 맛 모두 순종에 비해 월등한 것으로 보이며 회를 이용한 조리보다는 맑은탕을 이용한 조리 방법이 경쟁력 있을 것으로 판단됨.
- 향후 과제에서는 일반인이 아닌 전문인력을 대상으로 한 관능 평가를 시행해 객관적인

자료를 수집할 필요가 있으며 관능 평가설문지 역시 시각, 촉각, 후각, 미각 등의 항목을 세분화할 필요성이 있음.

- 조리 방법 또한 구이, 찜, 조림 등의 항목을 추가하여 각 조리법에 따른 맛 평가의 세분화 필요성이 있음.

다. Mitochondria 및 핵유전자 염기서열 분석을 통한 종 동정

- 국립수산물품질관리원 통영지원으로부터 수입산 grouper 종 동정을 위한 꼬리 및 등지느러미 조직 sample 인수
- 본 대학교에서 개발한 바리과 어류 간 잡종의 분자생물학적 동정 분자 마커를 이용하여 PCR 및 염기서열 분석실험 시행
- 통영 품질관리 국내로 수입되는 바리과 어류의 샘플을 확보하여 DNA 추출 후 *cox1*, *rag1*, *rag2*, RAPD 등의 유전영역 PCR을 통해 sequence를 분석하여 genetic tree를 작성하고 유전적 종 동정 시행

(1) 실험방법

(가) Genomic DNA 추출 및 PCR

- 국립수산물품질관리원으로부터 인수한 grouper의 꼬리 및 등지느러미 조직 3개의 sample을 실험 대상으로 하였음.
- Genomic DNA는 각 sample 당 지느러미 일부를 3개로 나누어 절단하고 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit를 이용해 DNA 추출
- 본 기관에서 바리과 종 동정을 위해 개발한 두 쌍(*COX I* 과 *RAG2*)의 primer를 이용하여 중합효소연쇄반응(PCR)으로 해당 영역을 증폭함.
- PCR 반응은 20 μ L 용적의 AccuPower PCR Premix Kit(Bioneer, Korea)에 genomic DNA 100ng과 각 영역의 유전자를 증폭할 수 있는 primer를 각각 10 pmole을 넣었으며, 94°C 30초, 52°C (*COX1*) 또는 58°C (*RAG2*)에서 30초 72°C 30초의 순환 반응을 35회 실시하였고, 최종적으로 72°C에서 7분간 신장반응을 수행함.
- PCR 반응의 성공 여부를 판별하기 위하여 GelRed (biotium Inc., USA)로 염색된 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 증폭 서열을 확인함.
- RAPD는 Random primer (SRILS Unit kit, Seorin, Korea) 6번, 10번 marker를 이용하여 PCR을 진행함. Genomic DNA 100 ng에 primer 10 pmol을 20 μ l 용적의 AccuPower PCR Premix Kit (Bioneer, Korea)에 넣은 후 94°C에서 3분간 초기 변성 반응을 유도한 후 94°C, 55°C, 72°C에서 각각 1분간 35회의 순환 반응 후 72°C에서 7분간 실시함.

(나) 염기서열분석

- 증폭된 PCR 산물은 MGTM PCR SV Purification kit(Macrogen Inc., Korea)로 정제한다

후, PCR primers를 사용하여 direct sequencing 방법으로 염기서열 분석기 ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 염기서열을 결정함.

(다) 결과분석

- 확보된 염기서열 데이터를 BioEdit (ver. 7.0.9) 프로그램 (Hall, 1999)의 ClustalW (Thompson et al., 1994)를 이용하여 다중서열정리를 수행함(그림 2-1-64).
- 다중 서열 정리된 데이터를 BioEdit (ver. 7.0.9) 프로그램 (Hall, 1999)의 DNADist DNA distance matrix를 이용하여 genetic distance를 분석하였으며, MEGA7 (ver. 7.0) 프로그램의 Neighbor-joining tree (Naruya and Masatoshi, 1987)를 이용하여 분자계통도를 작성함.
- RAPD의 증폭된 산물은 Fragment analyzer (Applied Biosystems, USA)을 통해 band를 확인함.

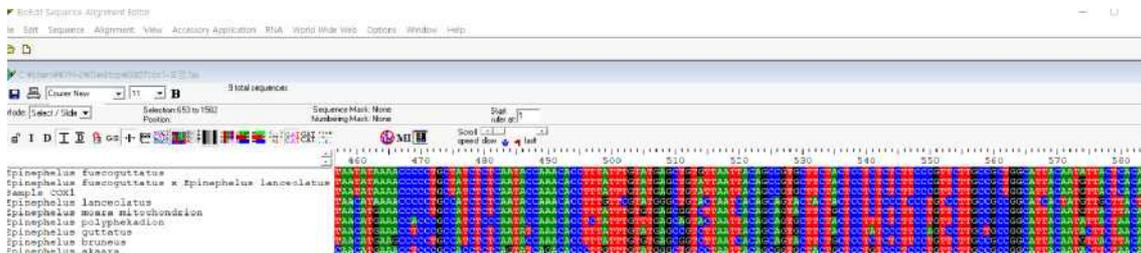


그림 2-1-64. 다중염기서열 정리.

(2) 실험 결과 - 1

(가) COXI 유전자 염기변이

- 미토콘드리아 COX I 유전자의 염기서열 분석 결과 전체 771bp의 염기서열이 확보되었으며, 통영그룹과 E. moara에서 나타난 대표 haplotype간 비교분석 결과 48개의 변이서열이 나타나 변이율은 약 6.2%였음.
- 통영그룹과 대왕범바리(갈색점바리(♀) x 대왕바리(♂))는 모든 염기서열 위치에서 갈색점바리(♀)과 100% 일치하였고, 자바리(중국)와는 명확하게 구분됨(표 2-1-44). 이는 모계 유전하는 미토콘드리아의 특성으로서(Hauswith and clayton, 1895), 교잡종의 경우 모계와 동일한 미토콘드리아 유전 정보를 가지게 되는 일반적인 특징을 보임.

표 2-1-44. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 통영그루퍼, 중국산 자바리 간의 cytochrome c oxidase I (COX I) 영역의 염기 서열상 48개의 변이서열 위치(bp)

종	변이영역																			
	9	21	84	123	139	147	183	222	249	264	118	324	342	351	360	375	384	390	399	406
갈색점바리	C	C	G	T	T	T	T	A	T	C	T	C	T	A	C	T	T	A	T	T
대왕범바리
통영그루퍼
중국산 자바리	T	T	A	A	C	C	C	G	C	T	C	T	C	G	T	C	C	G	C	C

종	변이영역																			
	448	465	504	510	513	525	555	561	570	576	579	585	600	612	630	651	660	666	675	684
갈색점바리	C	T	T	T	A	T	A	T	T	C	G	A	C	T	C	T	T	A	G	T
대왕범바리
통영그루퍼
중국산 자바리	T	C	C	C	G	C	G	G	C	A	A	G	T	C	T	C	C	T	A	G

종	변이영역							
	714	717	723	726	729	750	761	768
갈색점바리	T	T	G	G	T	T	C	C
대왕범바리
통영그루퍼
중국산 자바리	C	C	A	A	C	C	T	T

‘.’ 기호는 동일한 기준을 나타냄.

(나) RAG2 유전자 염기변이

- RAG2 유전자의 염기서열 분석 결과 544bp의 염기서열이 확보되었으며 대왕범바리와 동일한 5개의 변이서열 위치를 나타냄. 변이율은 약 0.9%임.
- Electropherogram 비교분석 결과 갈색점바리와 대왕바리에서는 명확한 single peak만 나타나지만 대왕범바리(갈색점바리(♀) x 대왕바리(♂))와 통영그루퍼는 5개의 변이서열 위치에서 두 종의 염기서열이 함께 표현되는 double peaks 양상(김 등, 2014)을 보임(표 2-1-45, 그림 2-1-65). 그러나 중국산 자바리와는 5개의 변이서열 중 2개의 위치(bp)에서 single peak를 나타냄(표 2-1-45).

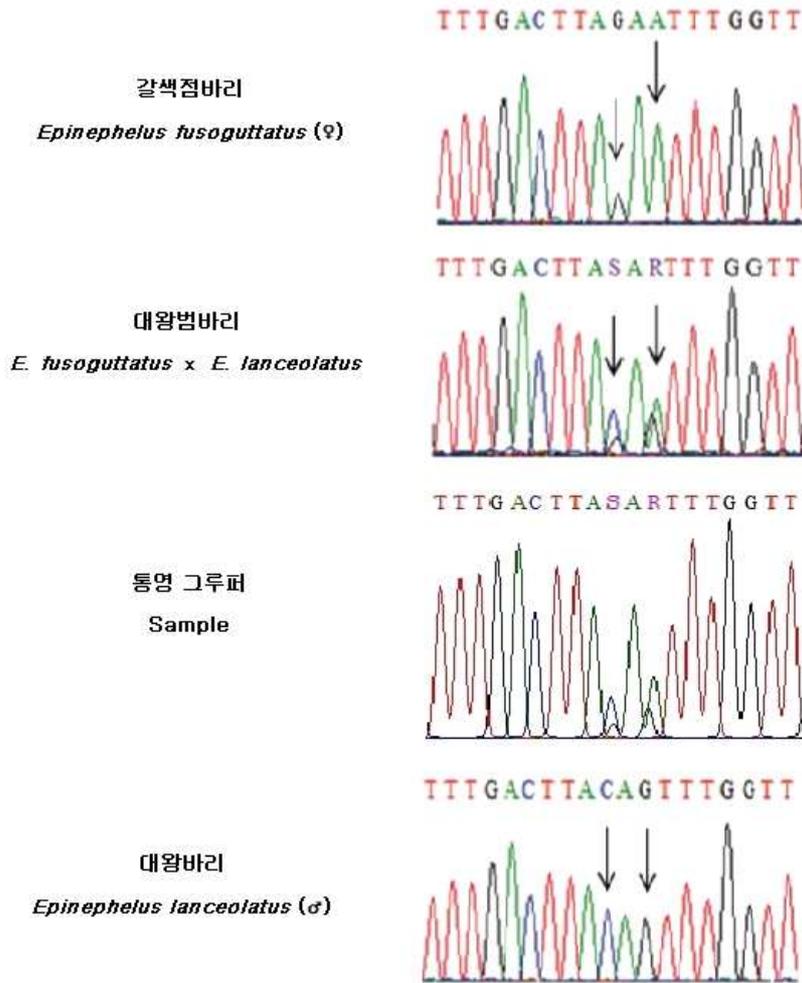


그림 2-1-65. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 통영그루퍼, 대왕바리(♂)의 recombination activating gene 2(*RAG2*)의 염기서열을 나타내는 electropherogram. 대왕범바리와 통영 농어의 염기서열 위치에서 double peaks 확인.

표 2-1-45. 갈색점바리(♀), 대왕범바리, 대왕바리(♂), 통영그루퍼 간의 recombination

종	변이 영역(bp)				
	104	249	283	285	510
갈색점바리	T	T	G	A	G
대왕범바리	W	Y	S	R	S
통영그루퍼	•	•	•	•	•
대왕바리	A	C	C	G	C
중국산 자바리	T	C	G	G	C

activating gene 2(RAG2) 영역의 염기 서열상 5개 다형성 염기의 위치(bp)

*W=A/T, Y=C/T, S=C/G, R=A/G, ‘•’ 기호는 동일한 기준을 나타냄.

- 갈색점바리, 대왕범바리, 통영그루퍼, 대왕바리, 중국산 자바리의 *COXI* 및 *RAG2* 영역의 genetic distance 분석은 BioEdit (ver. 7.0.9) 프로그램 (Hall, 1999)의 DNADist DNA distance matrix를 이용하였음. 그 결과 *COXI* 영역의 경우 갈색점바리를 모계로 하는 대왕범바리와 통영그루퍼의 genetic distance는 일치하였으며 대왕바리와 중국산 자바리와는 명확한 차이를 보임. 이는 모계 유전의 일반적 특징을 나타내는 것으로 보임 (표 2-1-46).
- *RAG2* 영역의 경우 통영그루퍼는 갈색점바리 및 대왕바리, 대왕범바리와 차이가 없는 것으로 나타났으며 중국산 자바리와는 명확한 genetic distance 차이를 보임(표 2-1-47).

표 2-1-46. Cytochrome c oxidase I (*COX I*) 영역의 genetic distance

	갈색점바리	대왕범바리	통영그루퍼	대왕바리
갈색점바리	0.0000			
대왕범바리	0.0107			
통영그루퍼	0.0107	0.0000		
대왕바리	0.1216	0.1256	0.1258	
중국산 자바리	0.0739	0.0739	0.740	0.1078

표 2-1-47. Recombination activating gene 2(RAG2) 영역의 genetic distance.

	갈색점바리	대왕범바리	통영그루퍼	대왕바리
갈색점바리	0.0000			
대왕범바리	0.0000			
통영그루퍼	0.0000	0.0000		
대왕바리	0.0093	0.0000	0.0000	
중국산 자바리	0.0111	0.0056	0.0056	0.0093

(다) 통영그루퍼를 포함한 *COX1* 및 *RAG2* 영역에서 *Epinephelus* 속 어류의 분자계통도

- Mitochondria *COX1* 및 recombination activating gene 2(*RAG2*) 영역에서 *Epinephelus* 속 어류의 분자계통도는 MEGA7 (ver. 7.0) 프로그램의 Neighbor-joining tree (Naruya and Masatoshi, 1987)를 이용하여 작성함.
- 분자계통도 분석 결과 *COX1* 영역의 경우 대왕범바리와 통영그루퍼는 갈색점바리를 모계로 하는 하위그룹으로 나타나 모계유전의 일반적인 특징을 보이는 한편, 대왕바리와 중국산 자바리는 out group으로 떨어져 나타남(그림 2-1-66, 표 2-1-46).
- 분자계통도 분석 결과 *RAG2* 영역의 경우 통영그루퍼는 대왕바리와 대왕범바리, 갈색점바리와 근연관계가 깊으며, 중국산 자바리와는 차이가 나타남(그림 2-1-67, 표 2-1-47).
- 따라서 본 실험에서는 ‘*COX1* 및 *RAG2* 유전자 염기서열 분석에 의한 tiger grouper *Epinephelus fusoguttatus*와 giant grouper *E. lanceolatus* 간 잡종의 동정’(김 등 2014)의 분석 결과와 동일한 양상을 나타냄에 따라 통영그루퍼는 갈색점바리(♀)과 대왕바리(♂)의 교잡종을 시사함.

(라) 결론

- ① 의뢰한 grouper 샘플은 갈색점바리와 대왕바리간 교잡종이 명확함.
 - 그 근거로는 미토콘드리아 DNA 염기서열(*COX1*)이 교잡종인 대왕범바리 또는 갈색점바리와 일치하였으며, 자바리와는 차이가 있음.
 - 핵유전자(*RAG2*)는 갈색점바리 또는 대왕바리와 거의 일치함.
- ② 핵유전자의 변이영역이 교잡종 특성을 나타냄.
 - 교잡종의 특성인 double peak를 나타내어 부모의 염기서열을 유전 받았음이 확인됨.
- ③ 분자계통도 및 유전적 거리 특성이 교잡종과 일치하는 특성을 보임.

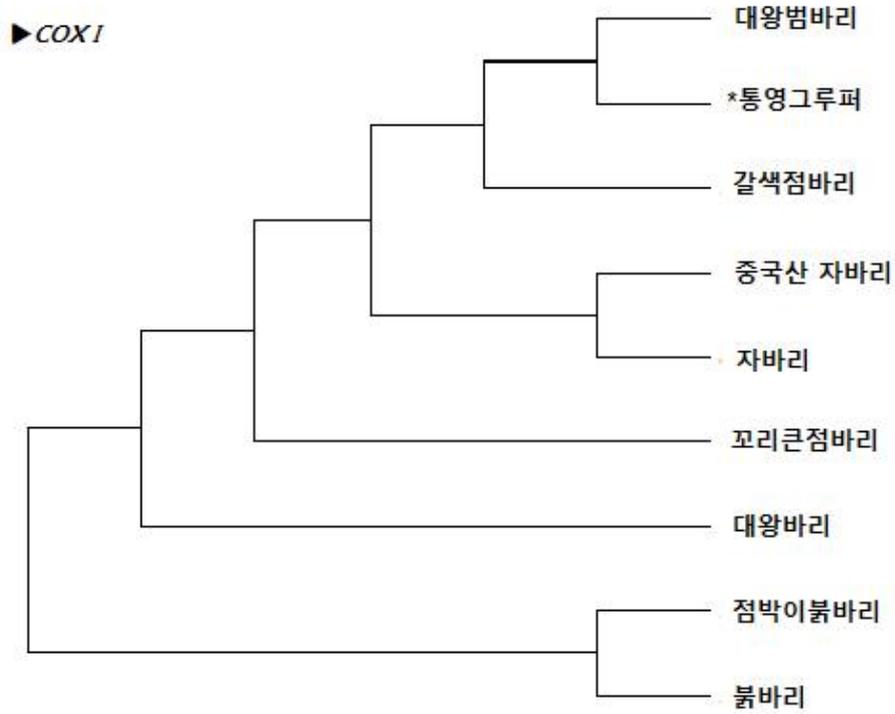


그림 2-1-66. 미토콘드리아 *COXI* 영역에서 *Epinephelus* 속 어류의 분자계통도.



그림 2-1-67. recombination activating gene 2(*RAG2*) 영역에서 *Epinephelus* 속 어류의 분자계통도.

(3) 실험 결과 - 2

- 국립수산물품질관리원 통영지원으로부터 2019년 6월 수입산 자바리의 종 동정을 위한 꼬리 및 등지느러미 조직 3개 sample 인수
- 순천향대학교에서 개발한 바리과 어류 간 잡종의 분자생물학적 동정 분자 마커를 이용하여 PCR 및 염기서열 분석실험 시행

(가) 미토콘드리아 COX I 유전자의 염기서열 분석 결과

- 전체 1,551 bp의 염기서열이 확보되었으며, 통영그룹과 *Epinephelus. moara*에서 나타난 대표 haplotype간 비교분석 결과 2개의 변이서열이 나타나 변이율은 약 0.11%였음.
- 통영그룹과 자바리(*E. moara*)는 모든 염기서열 위치에서 **자바리(*E. moara*)와 99.89% 일치**하였고, 자바리(*E. bruneus*)과는 2.64% 차이가 발생함(그림 2-1-68). 이는 모계 유전하는 미토콘드리아의 특성으로서(Hauswith and clayton, 1895), 자바리(*E. moara*)의 순종 또는 모계가 자바리인 교잡종 두 가지 가능성이 존재함.
- *RAG2* 유전자의 염기서열 분석 결과 544 bp의 염기서열이 확보되었으며 자바리(*E. moara*)와 동일한 5개의 변이서열 위치를 나타냄. 변이율은 약 0.9%이며, **대왕바리(*E. lanceolatus*)와 100% 일치**하는 서열을 확인함(표 2-1-48).

표 2-1-48. 자바리, 대왕바리, 통영그룹 간의 recombination activating gene 2(*RAG2*) 영역의 염기 서열상 5개 다형성 염기의 위치(bp)

종	변이 영역(bp)				
	114	212	283	378	541
자바리	T	T	G	C	G
통영 grouper	A	C	C	T	A
대왕바리	A	C	C	T	A

*W=A/T, Y=C/T, S=C/G, R=A/G, ‘.’ 기호는 동일한 기준을 나타냄.

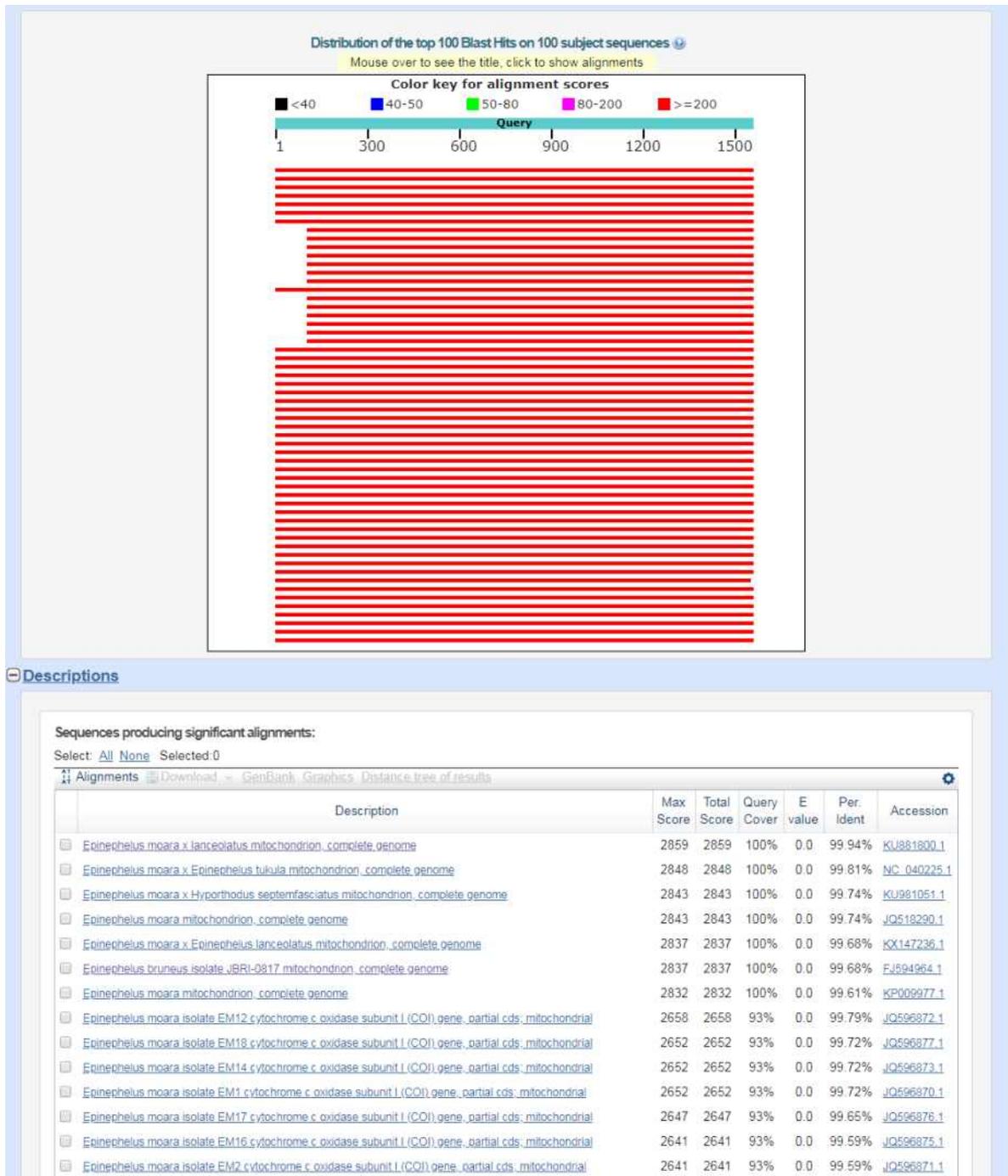


그림 2-1-68. NCBI에서 통영grouper COX1의 Nucleotide Blast 실시결과.

- 갈색점바리, 대왕범바리, 통영그루퍼, 대왕바리, 중국산 자바리의 *COXI* 및 *RAG2* 영역의 genetic distance 분석은 BioEdit (ver. 7.0.9) 프로그램 (Hall, 1999)의 DNADist DNA distance matrix를 이용하였음. 그 결과 *COXI* 영역의 경우 갈색점바리를 모계로 하는 대왕범바리와 통영그루퍼의 genetic distance는 일치하였으며 대왕바리와 중국산 자바리와는 명확한 차이를 보임. 이는 모계 유전의 일반적 특징을 나타내는 것으로 보임 (표 2-1-49).
- *RAG2* 영역의 경우 통영그루퍼는 갈색점바리 및 대왕바리, 대왕범바리와 차이가 없는 것으로 나타났으며 중국산 자바리와는 명확한 genetic distance 차이를 보임(표 2-1-50).

표 2-1-49. Cytochrome c oxidase I (*COX I*) 영역의 genetic distance

	자바리	통영 grouper	대왕바리
자바리	-	-	-
통영 grouper	0.00258	-	-
대왕바리	0.10832	0.10984	-

표 2-1-50. Recombination activating gene 2(*RAG2*) 영역의 genetic distance

	자바리	통영 grouper	대왕바리
자바리	-	-	-
통영 grouper	0.00925	-	-
대왕바리	0.00925	0.0000	-

- 자바리와 대왕바리간의 교잡종 specific band의 염기 길이는 primer 6번은 387, 433 bp 이며, primer 10번은 251, 275, 297 bp이나, 통영 grouper의 경우 primer 6번의 경우 433 bp에서는 교잡종과 일치하는 specific band가 확인되었으나, 387 bp는 일치하지 않았음. primer 10번은 교잡종과 일치하는 specific band가 없었으며, 오히려 *E. lanceolatus* 대왕바리와 비슷한 양상을 보였음(그림 2-1-69).

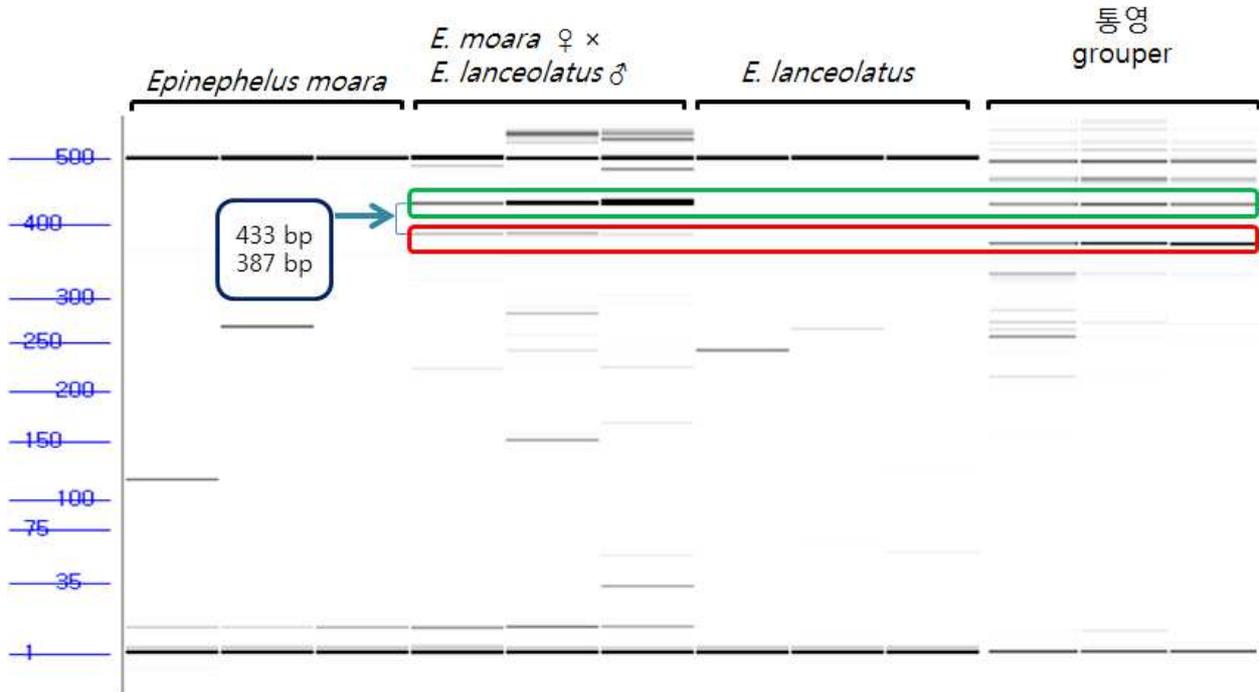


그림 2-1-69. Primer 6번을 이용한 자바리, 대왕자바리(교잡종), 대왕바리, 통영 grouper RAP.

(나) 결론

- 미토콘드리아 COX1 유전자 염기서열은 대왕자바리 및 자바리와 99.94-99.6%로 일치하여 모계 유전하는 특성을 고려할 때 자바리 또는 자바리를 모계로 하는 잡종 가능성 존재
- 그러나 핵 DNA 영역(RAG2)에서 교잡종의 양상인 double peak가 나타나지는 않았으나 대왕바리와 100% 일치하는 결과를 보임.
- 한편, RAPD 분석 결과 primer 6번에서 자바리와 대왕바리에서는 나타나지 않는 잡종을 detect할 수 있는 특이 밴드(436bp)가 확인되어 교잡종인 대왕자바리로 추정됨.
- 그러나 핵 DNA에서 뚜렷한 double peak가 관찰되지 않아 다른 핵유전자의 염기서열을 분석하는 추가실험이 필요.

(4) 실험 결과 - 3

- 국립수산물품질관리원 통영지원으로부터 2019년 7월 수입산 바리과 어류의 꼬리 및 등 지느러미 조직 3 sample 인수
- 순천향대학교에서 개발한 바리과 어류의 분자 마커를 이용하여 DNA 염기서열 *cox1*, *rag2* PCR 분석 시행

(가) Genomic DNA 추출 및 PCR

- 국립수산물품질관리원으로부터 인수한 수입산 바리과 어류의 꼬리 및 등지느러미 조직 3 sample을 실험 대상으로 하였음.
- Genomic DNA는 꼬리지느러미를 각각 절단하여 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit를

이용하여 추출하였음.

- 본 기관에서 개발한 *coxI* 및 *ragI* primer를 이용하여 PCR 분석함.
- *coxI*과 *ragI* 영역에 대한 PCR 반응은 20 μ L 용적의 AccuPower PCR Premix Kit(Bioneer, Korea)에 genomic DNA 100ng과 각 영역의 유전자를 증폭할 수 있는 primer를 각각 10 pmole을 넣었으며, 94°C 30초, 58°C (*COI*) 또는 55°C (*RAGI*)에서 30초 72°C 30초의 순환 반응을 35회 실시하였고, 최종적으로 72°C에서 7분간 신장반응을 수행함.
- PCR 반응의 성공 여부를 판별하기 위하여 GelRed (biotium Inc., USA)로 염색된 1.5% ararose gel에서 전기영동하여 증폭 서열을 확인함.

(나) 염기서열분석

- 증폭된 *COI* 및 *RAGI* 영역의 PCR 산물은 MGTM PCR SV Purification kit(Macrogen Inc., Korea)로 정제한 후, PCR primers를 사용하여 direct sequencing 방법으로 염기서열 분석기 ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 염기서열을 결정함.
- 확보된 염기서열 데이터를 Sequencher (5.4.6) & BioEdit (ver. 7.0.9) 프로그램 (Hall, 1999)의 ClustalW (Thompson et al., 1994)를 이용하여 다중염기서열 정리를 수행함.
- 염기서열 데이터를 이용하여 NCBI BLAST를 수행함.

(다) *coxI* 영역 결과분석

- 미토콘드리아 *COI* 유전자의 염기서열 분석 결과 전체 1,551 bp의 염기서열이 확보됨. 수입산 바리과 어류와 자바리(*Epinephelus. moara*)의 haplotype 비교분석 결과, 2 base pair에서 변이가 나타남(0.11%). 이는 모계 유전하는 미토콘드리아의 특성으로서 (Hauswith and clayton, 1895), 수입산 바리과 어류의 모계는 자바리(*E. moara*)로 나타남(그림 2-1-70).

Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Eeinephelus moara x Eeinephelus tukula mitochondrion complete genome	2865	2865	100%	0.0	100.00%	NC_040225.1
Eeinephelus moara x Hyporthodus septemfasciatus mitochondrion complete genome	2859	2859	100%	0.0	99.94%	KU981051.1
Eeinephelus moara mitochondrion complete genome	2859	2859	100%	0.0	99.94%	JQ518290.1
Eeinephelus moara x Eeinephelus lanceolatus mitochondrion complete genome	2854	2854	100%	0.0	99.87%	KX147236.1
Eeinephelus moara x lanceolatus mitochondrion complete genome	2854	2854	100%	0.0	99.87%	KU881800.1
Eeinephelus moara mitochondrion complete genome	2848	2848	100%	0.0	99.81%	KP009977.1
Eeinephelus bruneus isolate JBRI-0817 mitochondrion complete genome	2832	2832	100%	0.0	99.61%	FJ594964.1
Eeinephelus moara isolate EM12 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2675	2675	93%	0.0	100.00%	JQ596872.1
Eeinephelus moara isolate EM18 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2669	2669	93%	0.0	99.93%	JQ596877.1
Eeinephelus moara isolate EM14 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2669	2669	93%	0.0	99.93%	JQ596873.1
Eeinephelus moara isolate EM1 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2669	2669	93%	0.0	99.93%	JQ596870.1
Eeinephelus moara isolate EM17 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2663	2663	93%	0.0	99.86%	JQ596876.1
Eeinephelus moara isolate EM16 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2658	2658	93%	0.0	99.79%	JQ596875.1
Eeinephelus moara isolate EM2 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene partial cds mitochondrial	2658	2658	93%	0.0	99.79%	JQ596871.1

그림 2-1-70. NCBI BLAST 분석을 이용한 수입산 바리과 어류의 percent identity.

(라) RAG1 영역 분석

- RAG1 영역 분석 결과 총 920 bp의 염기서열이 확보되었으며, 기존 교잡종의 double peak 양상 확인 및 NCBI BLAST 결과 자바리(*E. moara*)와 100% 일치하는 서열을 확인함 (표 2-1-51).

표 2-1-51. Recombination activating gene 1(RAG1) 영역에서 기존 교잡종의 double peak 위치와 대왕바리, 수입산 바리과 어류, 자바리 간의 염기서열 비교

명칭	Double peaks loci (bp)												
	133	235	293	302	318	331	432	465	468	471	490	516	654
대왕바리	T	G	C	A	C	T	A	C	G	T	G	G	C
수입산 바리과 어류	C	A	T	G	T	C	G	T	A	C	T	A	T
자바리	C	A	T	G	T	C	G	T	A	C	T	A	T

(마) 결론

- 미토콘드리아 DNA의 *cox1* 영역에 대한 NCBI BLAST 분석 결과, 자바리 및 대왕자바리(자바리 모계 교잡종)와 100-99.61%로 일치함. 따라서 수입산 바리과 어류의 모계는 자바로 판단됨.
- 핵 DNA의 RAG1 영역에 대한 BLAST 및 double peaks 비교분석 결과, 자바리와 대왕바리의 염기서열이 함께 표현되는 double peaks 양상은 나타나지 않았으며, NCBI BLAST 결과 자바리(*E. moara*)와 100% 일치함.
- 위 두 가지의 분자생물학적 분석 결과를 종합하여 볼 때, 국립수산물품질관리원 통영 지원으로부터 2019년 7월에 인수된 ‘수입산 바리과 어류’는 순종 자바리(*E. moara*)로 판단됨.

(5) 명확한 동정의 필요성

- 국내로 수입되는 바리과 어류는 대부분 고가의 자바리로 수입되는 사례가 많으나, 동정 시행 결과 2019년 동정 의뢰 2건 중 1건은 잡종 자바리였으며, 1건은 순종 자바리였고, 과거 동일하게 자바리로 수입된 종의 중 동정 결과 대왕범바리였던 사례도 있음.
- 현재 해외에서는 바리과 종자의 잡종 유도가 원활히 진행되고 있으며, 교잡종의 가격은 성장이 빨라 가격이 훨씬 저렴하기 때문에 정확한 종 동정으로 국내 어민의 경제적 손실을 예방해야 함.

라. 우량종자 상품성 분석(collagen contents)

- 우량종자 대왕자바리, 대왕범바리를 대상으로 자바리 및 대왕바리를 대상으로 피부와 근육을 샘플하여 collagen 함량을 비교 분석함.

(1) Collagen 함량 분석

(가) 실험방법

- 순천향대학교 해양수산연구소와 강릉에 있는 Fish SeedTeck에서 자바리 *E. moara*, 대왕자바리 *E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, 대왕범바리 *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, 대왕바리 *E. lanceolatus* 각각 3마리씩 whole-body sample을 확보하여 실험 전까지 -20°C 냉동 보관하였음(표 2-1-52).

표 2-1-52. collagen 함량 분석 대상 종

	국문명	영문명	학명
	자바리	Longtooth grouper	<i>Epinephelus moara</i>
분석 대상종	대왕자바리	Longtooth grouper ♀ × Giant grouper ♂	<i>E. moara</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂
	대왕범바리	Brown-marbled grouper ♀ × Giant grouper ♂	<i>E. fuscoguttatus</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂
	대왕바리	Giant grouper	<i>E. lanceolatus</i>

- 냉동된 whole-body samples은 사용 직전 해동하고, 등지느러미기조 앞을 기점으로 근육과 피부조직을 절단하여 초정밀 전자저울로 각각 300, 50 mg 정량하였다. Collagen 분석실험을 위해 Quickzyme Total Collagen analysis kit (Quickzyme Biosciences Co., USA)을 사용함.

- 절단한 근육과 피부조직 각각 300 mg 당 6M HCl 1.0 ml이 담긴 1.5 ml tube에 첨가하고, Cool block - ALB6400 (Finepcr Co., Korea)을 이용하여 95°C에서 20시간 가수 분해 시행
- 근육과 피부조직 가수 분해 산물은 실온에서 냉각시킨 후, 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm으로 10분간 원심 분리한 후, 가수 분해 산물은 상층액만 micro pipette으로 채취하여 비어 있는 1.5 ml tube로 모두 옮겨 3차 증류수와 3:2 비율로 희석함.
- 근육 및 피부조직의 collagen 함량 수치 확인을 위해 분석 함량의 기준이 될 collagen standard 시료 제조를 시행하며, collagen standard는 0.02M 아세트산에 1200 µg/ml의 원료로 사용 및 해당 원료 125 µl를 micro pipette을 이용하여 screw cap tube에 옮기고, 같은 volume (125 µl)의 12M HCl과 혼합함.
- Cool block을 이용하여 95°C에서 20시간 가수 분해하여 실온에서 냉각시킨 후, 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm으로 10분간 원심 분리하고 collagen standard sample은 미리 준비된 1.5 ml tube 8개를 S1~S8로 표기한 후 차례로 0~300 µg/ml collagen standard를 제조하여 사용함(표 2-1-53).

표 2-1-53. 표준용액 S1~S8의 collagen 농도

Standard label	Conc. (µg/ml)
S1	0
S2	6.25
S3	12.5
S4	25
S5	50
S6	100
S7	200
S8	300

- 근육 및 피부조직 가수 분해 시료와 collagen standard 시료를 각각 96 well plate에 35 µl 씩 첨가하고 75 µl 분석 버퍼(assay buffer)를 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 20분간 반응시킨 후 검출 시약(detection reagent) A와 B를 2 : 3 (resp 30 µl +45 µl / well) 비율로 혼합하여 시료가 첨가된 96 well plate에 각각 75µl 혼합하고, 60°C incubator에서 60분 동안 반응 후 시료를 ice 위에서 냉각
- 모든 전처리 과정이 끝나고, EPOCH microplate spectrometer (BioTek Instruments Inc, USA)를 이용하여 파장 값 570 nm에서 collagen 함량 분석 시행

(나) Collagen 함량 분석 결과

- 피부의 collagen 함량은 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕바리 각각 31.22 ± 2.05 , 35.47 ± 3.05 , 34.31 ± 0.80 , 36.36 ± 2.08 mg/fish g 으로 나타나 ANOVA duncan's test, $P < 0.05$ 수준에서 자바리가 유의하게 낮았지만, 대왕범바리와 차이를 보이지 않았으며, 자바리와 대왕바리가 자바리보다 유의하게 높았으나 대왕범바리와 유의한 차이가 없었음.
- 근육 collagen 함량은 파장 값 A570 nm를 기준으로 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕바리 각각 0.58 ± 0.05 , 1.02 ± 0.10 , 1.00 ± 0.14 , 1.26 ± 0.17 mg/fish g 으로 나타남.
- Duncan's test 결과 자바리가 유의하게 낮았으며, 자바리에 비해 대왕자바리는 1.76배, 대왕범바리가 1.72배, 대왕바리가 2.17배 높게 나타남(그림 2-1-71).

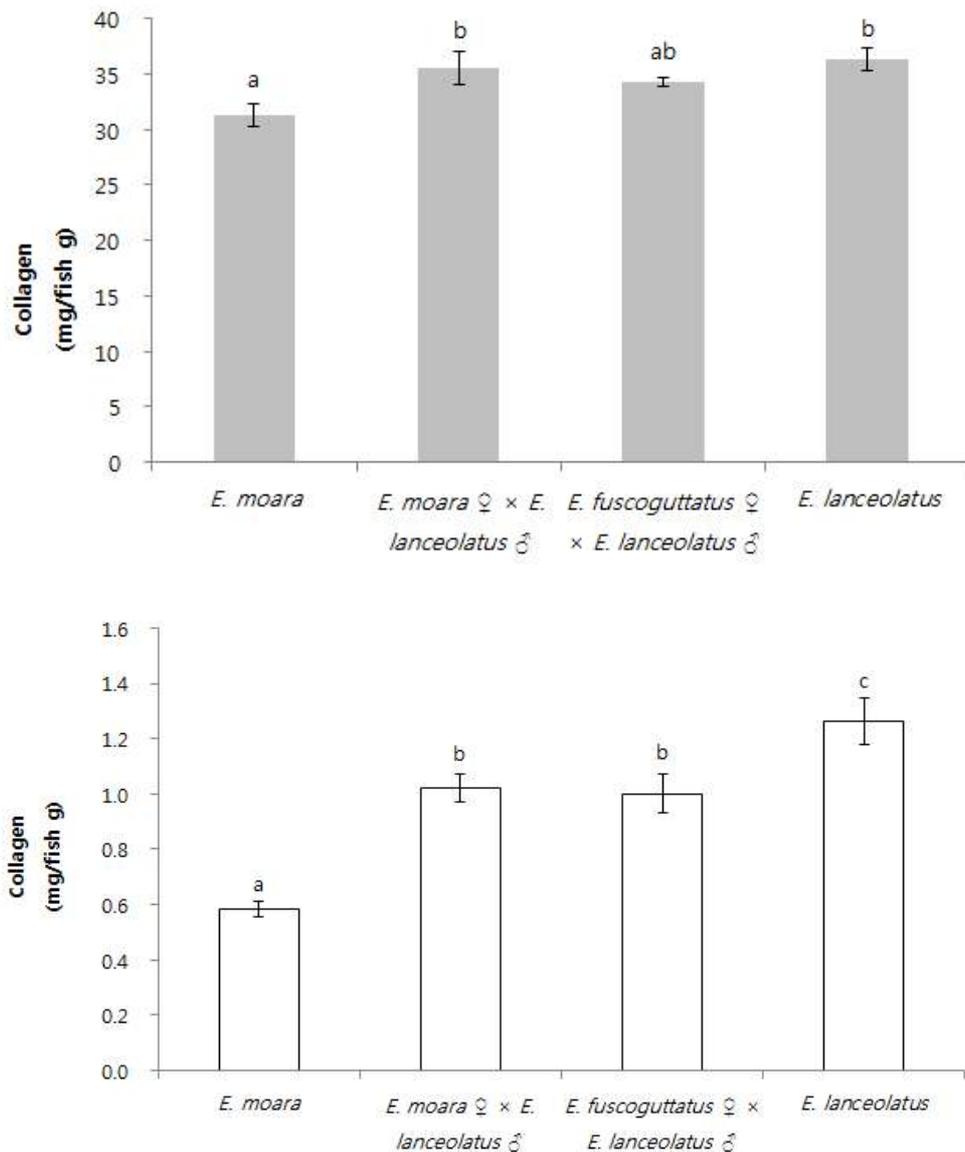


그림 2-1-71. 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕바리의 피부(상) 및 근육(하) collagen 분석.

3. 친어관리 및 수정란 생산

가. 친어 사육관리 - 갈색점바리

- 국내외 갈색점바리 친어확보를 통해 친어후보군을 확대하며, 채란을 위해 가두리 및 육상수조를 이용한 사육관리 진행

(1) 인도네시아 현지 친어 현황

- 2019년 1월부터 12월까지 인도네시아 현지에서 갈색점바리 친어 80마리(암수 약 4:1 비율)를 대상으로 가두리 양식장에서 연중 친어 사육관리와 사육환경에 따른 친어 성숙도 평가를 위해 2주에 1회씩 성숙 여부를 확인하였음(그림 2-1-72, 표 2-1-54).
- 갈색점바리의 산란기인 2월부터 원활한 채란을 위하여 집중적인 관리를 진행하였고, 먹이는 고등어 또는 전갱이를 사용하였으며, 첨가제로 비타민 EC, 간장제, 소화제 등을 캡슐로 만들어 생사료 내에 삽입하여 공급함.



그림 2-1-72. 인도네시아 현지 전경 및 가두리 시설.

표 2-1-54. 갈색점바리 연중 관리 및 생산 가능 시기

친어 관리		지역	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			월	월	월	월	월	월	월	월	월	월	월	월
연구 진행	연중 친어관리 및 확보	인도네 시아	갈색점바리 연중 친어관리											
	인도네시아 현지 산란 유도 및 성 숙도 분석	"	갈색점바리 산란 유도 및 성숙도 분석											

(2) 국외 갈색점바리 연중 친어관리

- 인도네시아 현지에 이식한 갈색점바리 친어를 대상으로 연중 친어관리를 하였음
- 갈색점바리의 친어는 총 80마리(암수 비율 4:1)를 대상으로 가두리 2개에 분산 수용하여 실시하였고, 2~4주 간격으로 일반적인 성숙 유무 형질인 암컷의 복부팽창과 생식공 돌출 등을 확인하여 성숙 여부를 판단하였음.
- 2월부터 11월까지 갈색점바리의 산란기이므로 27~29℃에서 연중 사육관리를 진행하였으며, 원활한 성숙 유도를 위하여 먹이 공급 시 고등어와 전갱이에 첨가제로 비타민 EC, 간장제, 소화제 등을 캡슐로 만들어 삼입 첨가하여 공급하였음.
- 갈색점바리 암컷친어의 산란 유도는 한 달 간격으로 산란 유도가 가능하였으나 양질의 성숙란을 생산하기 위해서는 한 달 반 간격으로 성숙 및 산란 유도를 시키는 것이 적합한 것으로 판단됨.

(3) 국내 대왕바리 연중 친어관리

- 기존 연구에서 친어 관리 시 차광막 등을 이용하여 암광 처리를 한 수조와 처리하지 않은 수조의 먹이 섭취량이 차이가 있는 것으로 조사되었으나, 노지에서의 경우 수심이 깊고, 면적당 활동 범위가 육상수조보다 넓으므로 먹이 섭취량과 스트레스가 암광 처리한 육상수조보다 안정적인 것으로 판단됨.
- 중국의 대왕바리 친어관리 방법을 적용, 우리나라에서도 동일한 방법으로 시설을 개조하였음. 직경 18 x 18 x 2.5 m의 노지 4개를 준비하고 중앙에는 배수를 위해 콘크리트 흡관(직경 Φ 1,000 mm)을 매몰함(그림 2-1-73).



그림 2-1-73. 대왕바리 친어 수용을 위한 노지 구획 및 HDPE sheet 포장.

- 대왕바리는 일반적으로 어체중 대비 1~1.5%의 먹이 섭취량을 보이는 것으로 보고되어 있으며 1단계 연구 결과에 따라, 사료 섭취는 1회/1일 5~7 kg을 섭취하는 반면 1회/2일 시 10~20 kg을 섭취하여 큰 차이를 보였음. 성장을 위해서는 1회/2일이 적합한 것으로 규명되었으며, 이에 따라 성숙 유도를 위하여 먹이 공급 횟수보다는 양질의 먹이를 공급하여 관리하였음.
- 생사료 공급 시 영양강화는 vitamin E & C, multi-vitamin, glutathione, fish (or squid) liver oil, taurine을 추가로 공급함.
- 노지 해수 온도에 따라 친어의 먹이 섭취량이 변동이 조금씩 차이를 나타내었으며, 수온 28℃가 가장 많은 섭취량을 나타내었음.
- 친어의 먹이 공급 시 오전 12시 전후가 섭취량이 높았으며, 이에 따라 일중 먹이 공급량을 조절하여 생사료를 투여하였음.
- 국내 대왕바리 친어는 순천향대학교 해양수산연구소에서 관리 중인 개체(체중 70~140 kg, 5마리)를 대상으로 연중 친어관리 하였으며, 육상 탱크 수조에서 외부 노지 탱크로 옮겨 사육하였음(그림 2-1-74).



그림 2-1-74. 대왕바리 친어 노지 수용.

- 체중 70~140 kg 5마리를 마취한 후 차량으로 이동하여 9명의 인원이 대왕바리를 들어서 노지에 입식함. 6월 14일의 수온은 24℃였으며, 수온은 지속적으로 상승하여 8월 말경 최대 33℃에 도달함. 이후 수온의 하강으로 인해 9월 23일 육상수조로 이동 사육함(수온 23℃).
- 바리와 어류의 산란 적수온인 28~30℃ 기간은 전체 사육 기간 99일 중 2개월에 미치지 못하여 예상했던 자연 산란은 확인되지 않았으나, 8월 및 9월 2차에 걸쳐 수컷으로부터 양질의 정액을 확보함.
- 현재 육상수조에서 가온하여(28℃) 사육 중이며 10월 중 인공채란을 실시할 예정임. 추후 안정적인 수온과 사육 기간 확대를 위해 중국식 비닐하우스 시설을 계획 중임.

(4) 친어 핸들링

- 친어 핸들링에 있어서 최적의 마취 효율은 친어의 폐사에 대한 위험과 스트레스를 최소화할 뿐만 아니라, 원활한 핸들링 작업의 효율을 극대화할 수 있음(그림 2-1-75).
- 친어 핸들링에 사용된 마취제는 Eugenol, MS-222를 사용하였음.
- 마취 판정은 Summerfelt and Smith (1990), Keene et al. (1998) 및 Mylonas et al. (2005)의 마취 효과 판정 기준을 개선하여 실시하였음(강 등, 2005).
- 마취된 대왕바리는 평형상태를 상실하였고, 진정 상태로 진행되었으며, 더 깊은 진정상태로 빠르게 진행되었고, 점액 반응이 나타나면 암컷 성숙도 확인 및 수컷을 채정하였음.
- 마취제 Eugenol의 경우 50ppm 이하의 농도에서는 마취가 원활하지 않았으며, 280초 이상이 소요됨에 따라 Bell (1987)이 제안한 이상적 마취제 특성인 3분 미만에 부합하지 못함. 또한 마취에서 회복하는 시간은 80초 내외로 핸들링에 매우 비효율적이었음. 150 ppm의 농도에서는 마취가 원활하게 일어났으며, 125~143초가 소요되었으며, 회복 시간은 180초 내외로 핸들링에 적합하였음.
- 마취제 MS-222의 경우 50ppm의 농도에서는 마취가 원활하게 일어났으며, 96~130초가 소요되었으며, 회복 시간은 약 180초 내외로 핸들링에 적합하였음.

- 마취제 Eugenol과 MS-222의 모든 마취 조건에서 마취 후 생존율은 100%로 안정적이었음 (표 2-1-55).



그림 2-1-75. 노지 탱크에서 대왕바리 핸들링 과정.

표 2-1-55. 바리과 어류 친어 마취 효율에 따른 최적 조건

	농도(ppm)	마취 시간(sec.)	회복 시간(sec.)	생존율(%)
Eugenol	150	≤143	≤180	100
MS-222	50	≤130	≤180	100

나. 가두리, 육상수조에서의 친어 성숙도 분석

- 인도네시아 또는 국내에서 확보한 갈색점바리 친어를 대상으로 가두리와 육상수조 등에서 분리 수용하여 그믐 때 성숙도 조사를 통해 최적 성숙 사육환경 탐색

(1) 가두리에서의 갈색점바리 친어 성숙 유도

(가) 친어 관리 및 산란 대비

- 2019년 1월부터 12월까지 인도네시아 현지에서 갈색점바리 친어 80마리(암수 약 4:1 비율)를 대상으로 가두리 양식장에서 연중 친어 사육관리를 하고 있으며, 2월부터 11월까지 사육환경에 따른 친어 성숙도 평가를 위해 2주에 1회씩 성숙 여부를 확인하였음.
- 갈색점바리의 산란기인 2월부터 원활한 채란을 위하여 집중적인 관리를 진행하였고, 먹이는 고등어 또는 전갱이를 사용하였으며, 첨가제로 비타민 EC, 간장제, 소화제 등을 캡슐로 만들어 생사료 내에 삽입하여 공급함.

(나) 친어 성숙 유도

- 갈색점바리 친어를 관리 중, 2월 21~22일 이틀간 일부 암컷 개체가 가두리 내에서 자연 산란하였음(그림 2-1-76).
- 이후 2월 25~28일 4일간 산란한 개체를 대상으로 포란 정도 확인 및 캐놀레이션 실시하여 미성숙란을 확인함(그림 2-1-77).
- 2019년 3월 인도네시아 현지 가두리에서 80마리의 갈색점바리 친어를 대상으로 성숙도 평가 500 μ m 이상의 난경을 확인한 후, 호르몬을 주사하여 44시간 경과 후 복부팽만과 생식공 발적을 확인하였고 채란에 성공하였음(그림 2-1-78).



그림 2-1-76. 갈색점바리의 캐놀레이션 및 미성숙란 확인.



그림 2-1-77. 갈색점바리 채란.



그림 2-1-78. 자연 산란한 갈색점바리의 수정란.

(다) 능성어의 육상수조와 해상가두리 성숙도 비교

- 기존 연구내용이었던 해외 생산기지인 인도네시아와 국내에서 확보한 갈색점바리 친어를 대상으로 가두리와 육상수조 등에서 성숙도 비교 실험내용은 국내 능성어를 대상으로 가두리와 육상수조에서 채란 가능 시기를 기준으로 성숙 시기를 조사하고 자바리와 대왕바리의 호르몬 주사를 통한 산란 유도를 시행함.
- 경상남도 통영시 소재의 경남수산자원연구소 육상수조에서 사육 중인 능성어와 거문도 오다 수산 해상가두리에서 사육 중인 능성어를 대상으로 각각 성숙 및 산란 유도를 시행함(그림 2-1-79).

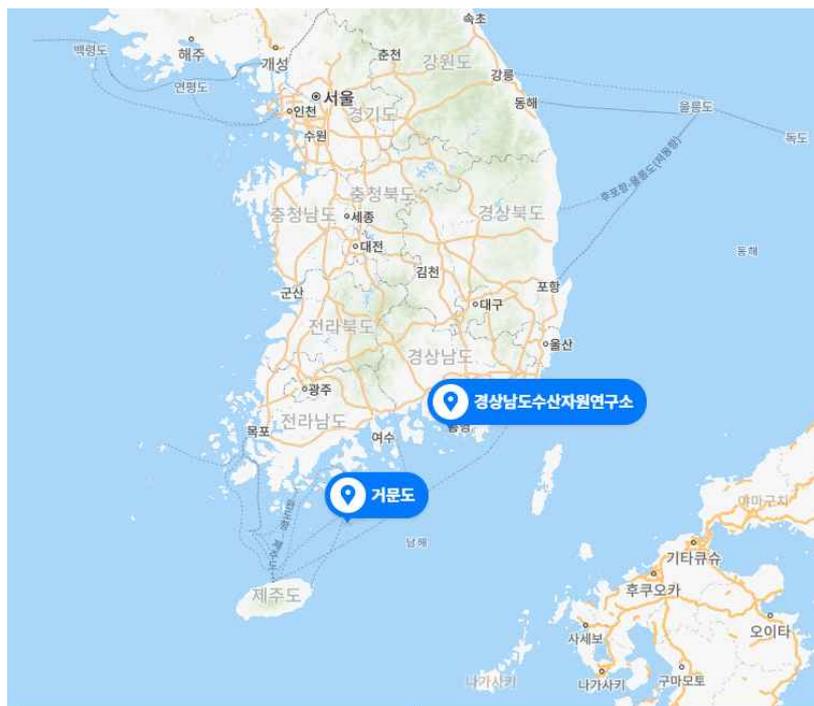


그림 2-1-79. 능성어 가두리(거문도) 및 육상수조(통영) 수정란 생산지역.

- 통영 육상수조의 능성어는 2020년 5월 27일부터 일부 복부팽만이 관찰되어 ovaprim을 사용해 능성어 수정란을 생산하였으며, 7월 1일까지 총 35일간 산란하였고, 거문도 해상가두리는 육상수조보다 늦은 시기인 6월 23일부터 7월 18일까지 총 26일간 산란하였음.
- 산란 시기의 차이를 알아보려고 통영과 거문도의 5월부터 8월까지 연안 수온을 조사함.
- 통영의 경우 5월 27일부터 연안 수온이 17.5℃로 시작해 점차 상승하였으며, 거문도의 수온이 20℃ 일 때 산란을 시작하여 수온이 하강하는 구간에 산란을 계속하다 다시 연안 수온이 20℃였던 7월 18일에 마지막 산란을 하였음.
- 능성어 친어는 17~18℃에서 성숙하여 통영에 비하여 수온이 늦게 상승하는 거문도가 산란 시기가 늦은 것으로 보이며, 수온이 20.5℃ 이하에서 난질이 우수했지만, 온도가 상승함에 따라 난질이 급격히 안 좋아졌음을 확인할 수 있었음. 따라서 해상가두리와 육상수조의 차이보다는 사육 수온이 성숙에 더 밀접한 관계가 있는 것으로 판단됨 (그림 2-1-80).



그림 2-1-80. 통영 및 거문도의 2020년 5월부터 8월까지의 연안 수온(국립수산과학원).

(라) 자바리 호르몬 산란 유도

- 순천향대 해양수산연구소 순환 여과 양식 시스템에서 사육 중인 자바리(*Epinephelus moara*)를 대상으로 사육 수온이 20℃였던 5월부터 복부팽만 개체가 확인되어 LHRH-a 펠릿을 삼입하여 자연 산란을 유도하였으나, 자연 산란하지 않아 인공채란하였으며, 7월 2일까지 사육 수온 21℃를 유지하여 총 2,300cc 채란함(그림 2-1-81 & 2-1-82).



그림 2-1-81. 자바리 호르몬 주사(좌)와 인공채란(우).



그림 2-1-82. 자바리 산란 유도를 위한 호르몬 주사 및 인공 채란 일정.

(마) 대왕바리 자연 산란 유도

- 순천향대 해양수산연구소에서 사육 중인 대왕바리(*Epinephelus lanceolatus*) 개체를 2020년 7월 31일 15:00에 대왕바리 2마리(30, 40kg)의 무게를 측정 후에 성숙호르몬 Ovaprim 계열의 호르몬인 Ovaplant를 이용하여 50µg/kg의 농도로 주사하고, 이때 사용 되는 Ralogun은 구경이 커서, 비늘이 크고 두꺼운 대왕바리는 비늘을 탈락시켜 삼입

후 주사하며 1차 산란 유도(그림 2-1-83).



그림 2-1-83. 대왕바리 Ovaplant 주사.

- 2020년 8월 2일 14:00에 성숙호르몬이 주사된 대왕바리의 사육 수조를 관찰하면서 복부의 팽창이 일어나는 것을 확인함(그림 2-1-84).

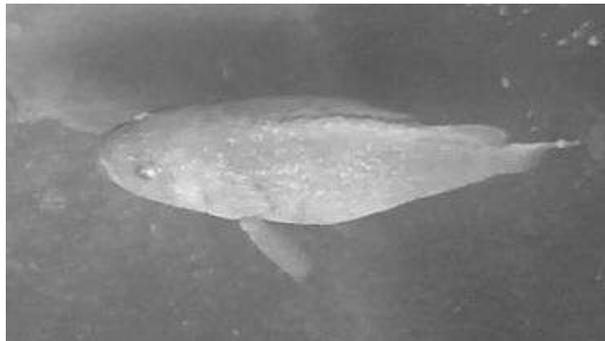


그림 2-1-84. 복부가 팽창된 암컷 대왕바리.

- 2020년 8월 4일 20:00에 1차 산란 확인
 - : 호르몬이 주사된 사육조의 대왕바리 들은 중앙에서 수컷이 암컷을 쫓아가 측부를 비비거나, 수조 구석에서 십자 형태로 천천히 교차하거나, 암컷 주변을 도는 다양한 산란 행동이 관찰됨(그림 2-1-85).
 - : 1차 자연 산란 된 과숙란을 채망하여 현미경으로 관찰한 결과 난황이 일그러진 형태의 과숙란으로 확인됨(그림 2-1-86).



그림 2-1-85. 대왕바리의 산란 행동.



그림 2-1-86. 현미경으로 관찰된 과숙란.

- 2020년 8월 5일

: 16:00에 암컷 1마리에 HCG 주사(500 IU/kg)를 하여 2차 호르몬 주사.

- 2020년 8월 7일 14:00 2차 산란 시작

: 자연 산란을 관찰한 결과 2~3회 산란하였으며, 동일한 시간에 수컷 대왕바리의 방정도 확인됨(그림 2-1-87).

: 자연 산란으로 3.9 kg, 3.4 kg의 부상란을 확인하였으나, 낮은 염분(12~15psu)으로 인해 난할 이후 발생이 정상적으로 진행이 되지 않아 전량 폐사함.

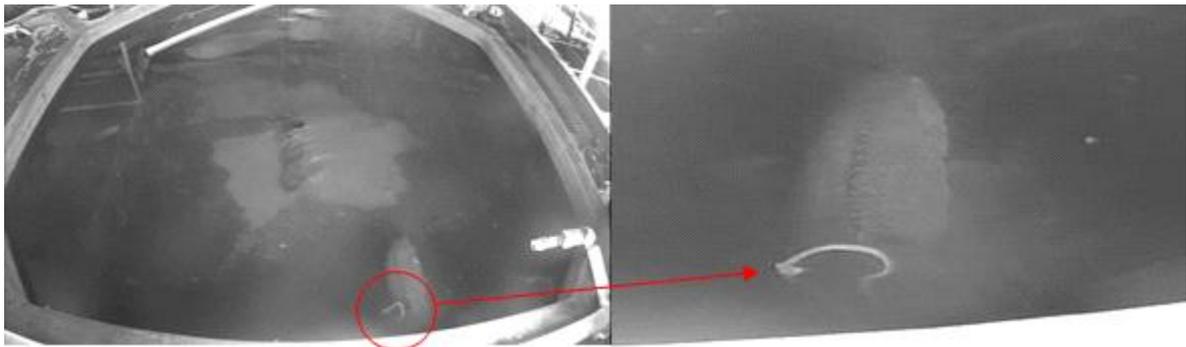


그림 2-1-87. 대왕바리 방정.

- 2020년 8월 8일 14:00, 자연 산란으로 육상수조의 알을 채란하여 무게 측정 결과 3~4 kg 정도를 확보하였으나, 낮은 염분(12~15psu)으로 인해 난할 이후 발생이 정상적으로 진행이 되지 않아 전량 폐사함(그림 2-1-88 & 2-1-89).



그림 2-1-88. 사육 수조에 자연 산란 된 대왕바리 수정란.

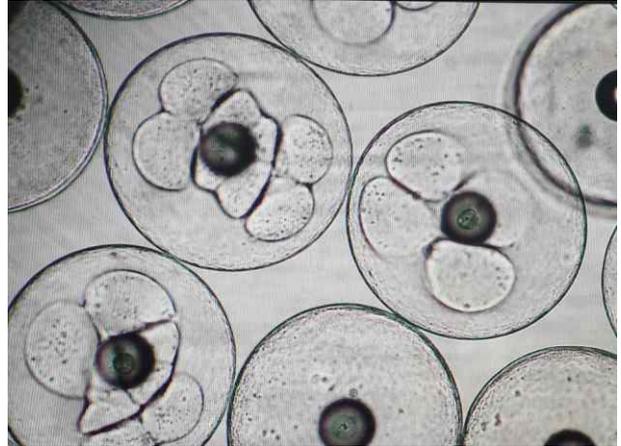


그림 2-1-89. 4~8 cell 대왕바리 수정란.

- 2차 산란 유도 8.17 16:00

: 암컷 40, 50 kg 개체에 Ovaplant 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ + HCG 250IU/kg을 주사하여 산란을 유도 함.

- 8월 24일 자연 산란으로 알 500 g 정도 채란하였고(그림 2-1-90), 인공채란 1.2 kg 모두 과숙됨(그림 2-1-91).



그림 2-1-90. 대왕바리 인공채란.

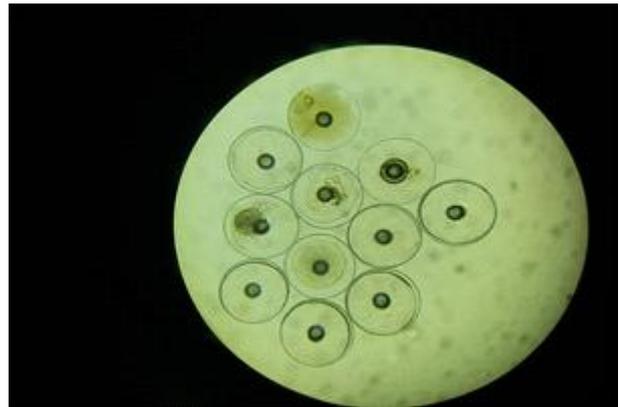


그림 2-1-91. 현미경으로 관찰된 과숙란.

다. 호르몬 처리에 의한 산란 및 난질 비교

- HCG, ovaprim, LHRH 등의 호르몬 등을 차별적으로 사용하여 동일한 사육환경 조건에서 호르몬에 의해 성숙 및 산란량과 수정란의 부상율, 부화율, 기형률 등을 통한 난질 비교 시행하였음(표 2-1-56).

(1) 호르몬 처리에 의한 인공산란 유도

- 호르몬 처리에 의한 산란 유도는 Ovaplant와 LHRH, Ovaprim, HCG 등 총 4개의 호르몬을 이용하였고 실험군은 Ovaplant를 이용한 1차 성숙 유도 및 LHRH와 Ovaprim, HCG를 2차 인젝션을 통한 산란 유도하였음. 비처리군은 Ovaplant 비처리 친어를 대상으로 LHRH와 Ovaprim, HCG만을 인젝션하여 산란을 유도하였음.
- Ovaplant 호르몬 실험군은 2019년 1월 30일에 Ovaplant를 20 µg/kg으로 1차 주입하여 성숙을 유도하였고 30일 후 1월 18일 22:00에 비처리군과 함께 LHRH와 Ovaprim, HCG를 주사하여 산란을 유도하였음.
- 산란 유도에 사용된 호르몬별 주입농도는 LHRH는 5 µg/kg, Ovaprim 0.5 ml/kg, HCG는 1,000 IU/kg으로 산란을 유도하였음.

(2) 호르몬 처리에 의한 자연 산란 유도

- 자연 산란 유도는 new moon 2주 전 갈색점바리 암컷에 Ovaplant를 주사한 후 가두리에서 수컷과 함께 수용한 후 자연 산란하여 채집되는 수정란을 채집하고 채집된 수정란의 부피를 측정하여 일자에 따른 수정란 생산량을 비교함.
- 수정란 채집은 실험수조 밖에서 네트를 이용하여 상층에 부유 중인 수정란만 수거하였으며, 수거된 수정란은 비커에 담아 부피를 측정 후 200L 수조에 옮겨 부화를 유도함.
- 2019년 국내 자바리를 대상으로 대왕자바리를 생산하기 위해 4월부터 성숙 및 산란 유도를 시행하였으며, 호르몬 Ovaprim, LHRH, HCG 등을 사용하여 적정 호르몬을 조사함.
- 캐논레이션을 통해 난경을 확인 후 40시간부터 4시간 간격으로 확인하여 56시간까지 채란을 시도하였으며, 복부 압박법을 통한 건식법으로 인공수정 실시
- 상관분석 결과 호르몬에 따른 부상율, 수정율, 부화율은 LHRH를 제외하고 관계 없었음(LHRH의 호르몬 적정량 연구가 추가로 필요할 것으로 판단됨).
- Ovaprim과 HCG를 이용해서 모두 채란에 성공하였으며, 난경이 클수록 부상율이 좋은 경향을 일부 보였으나, 예외적인 경우도 있었으며 이는 개체별 영양적인 문제로 인한 난질의 영향으로 판단됨.

표 2-1-56. 호르몬과 난경에 따른 대왕자바리 수정란의 부상율, 수정율, 부화율

Hormone&dosage	Egg size (μm)	Amounts of total Eggs (cc)	Floating rate (%)	Fertilized rate (%)	Hatched rate (%)
	350-500	750	73.3	76.2	12.1
Ovaprim 0.5 ml/kg	400-500	600	83.3	68.8	28.3
	400-480	500	50	93.3	9.8
LHRH 5μg/kg	300-450	-	-	-	-
LHRH 10μg/kg	200-300, 450-500	-	-	-	-
	400-500, 150-250	400	10	90	11.5
HCG 500 IU/kg	200-400	200	0	-	-
	300-450	550	87.3	97.6	12.2
LHRH 20μg/kg, HCG 500 IU/kg	400-500	300	33.3	73.7	5.4

라. 우량종자 수정란 부화 및 자어관리 기술개발

- 국내 통영 경남수산자원연구소, 태안 (주)아쿠아바이오텍, 거문도 오다수산 등에서 자바리, 능성어, 대왕자바리 생산을 시행함.
- 능성어는 통영과 거문도에서 4회에 걸쳐 총 9,200cc 채란하여 종자 15만 마리 생산되었으며, 자바리는 태안에서 1,000cc 채란하여 5만 마리 생산되었고, 대왕자바리는 제주도 및 태안에서 3,000cc 채란하여 4만 마리 종자가 생산되었음.
- 2020년 6월 3일 통영에서 생산된 3,000cc의 능성어 수정란은 태안으로 이송 과정 중 1,200cc가 침강하여 최종적으로 1,800cc의 능성어 수정란을 태안 노지에 기형 저감을 위해 수용함.
- 7월 17일 거문도에서 생산된 능성어 자어를 대상으로 먹이생물에 따른 자어 관리 기술개발을 위해 10, 20, 30g /ton의 밀도 3그룹과 노지사육수와 순환 여과수 2그룹, 미네랄1 영양강화, 미네랄2 영양강화, 일반 초기 먹이생물(로티퍼, 아르테미아)로 구분하여 총 8개의 실험군을 세팅함(그림 2-1-92 & 2-1-93).

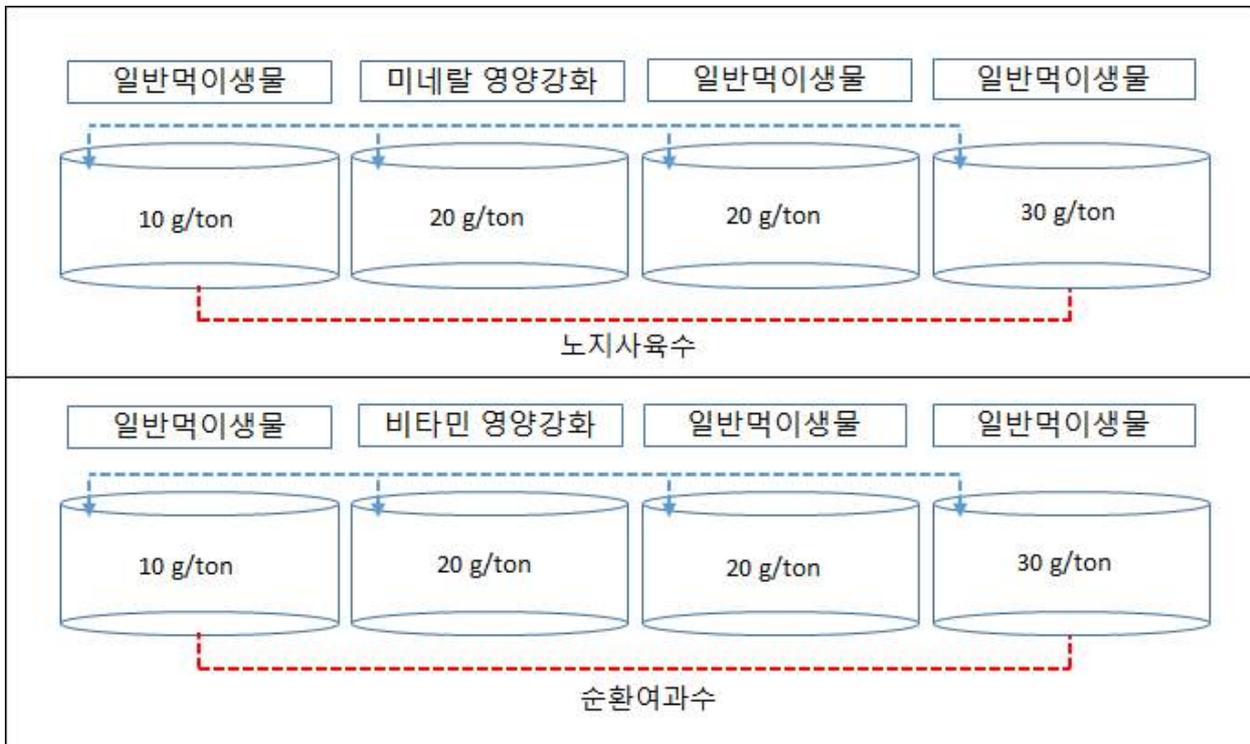


그림 2-1-92. 사육 수와 영양원(먹이생물)에 따른 육상수조 구조도.



그림 2-1-93. 먹이생물 비교 실험수조(좌)와 능성어 자어(우).

- 총 60일의 실험 결과 평균 어체중은 18.3 ± 8.4 g, 전장은 9.7 ± 1.5 cm까지 성장했으며, 미네랄2를 첨가한 그룹을 제외하고 노지사육수에서 사육한 모든 부화자어 그룹은 전량 폐사했으며, 순환 여과수 역시 미네랄1 영양강화를 하지 않은 그룹 중 20g/ton에서

30마리, 30 g/ton에서 161마리 생존함. 전반적으로 노지사육수보다 순환 여과수에서 사육한 부화자어 그룹의 생존율이 더 높았으며, 특히 미네랄2와 미네랄1을 영양 강화하여 급이한 실험군은 타 실험군에 비해 높은 생존률을 보여 부화자어 관리에서 미네랄2나 미네랄1과 같은 영양강화가 필수적으로 필요함(표 2-1-57, 그림 2-1-94).

표 2-1-57. 사육수, 먹이생물 영양강화 및 사육밀도에 따른 생존개체수

	노지 사육수	순환 여과수
10g/ton (2만 마리)	0	0
20g/ton (4만 마리)	0	30
20g/ton (4만 마리, 영양강화)	208 (미네랄2 영양강화)	448 (미네랄1 영양강화)
30g/ton (6만 마리)	0	161



그림 2-1-94. 미네랄2 첨가 순환여과수 자어(좌)와 노지사육수 폐사자어(우).

4. 국내외 우량종자 대량생산 기술개발

가. 우량종자 생산 및 판매

- 대왕범바리와 대왕자바리, 능성어 등으로 나누어 우량종자 생산을 시행 및 기형 저감 기술을 통해 접목해 낮은 기형률의 우량종자 판매 시행
- 국내 고수온 등의 환경변화에 대비하여 고수온에 강한 갈색점바리 친어 및 대왕범바리 수정란 구입과 순환 여과 시스템에서 냉각기 등 수온 조절을 통한 친어의 성숙 유도 진행
- 당초 목표는 해외 생산기지과 국내 참여기업에서 대왕자바리, 대왕범바리, 자바리, 능성어, 무늬바리를 대상으로 우량종자 생산 및 판매였으나, 지속적인 COVID-19로 인해 중국 하이난 지역의 해외 생산기지 구축이 어려워 국내 참여기업의 집중적인 생산과 수출 또한 동일한 이유로 진행이 어려워 내수판매를 실시함.

(1) 능성어

- 능성어 종자는 국내에서 연간 10~50만 마리 정도 생산되며 성어의 어가가 비교적 높아 (30,000원/kg) 통영과 거문도의 가두리양식장에서 선호하는 양식 대상종임.
- 그러나 능성어도 다른 바리과 어류와 마찬가지로 높은 기형률(최대 90%)로 인한 문제가 나타나고 있으며, 이를 해소하기 위해 기형률이 낮은 노지 생산을 검토하였음.

(가) 종자생산 방법

- 능성어는 생산 방법에 따른 기형률을 분석하기 위해 육상수조와 노지로 구분하여 아래와 같은 방법으로 종자를 생산하였음(그림 2-1-95).
- 육상수조 : 6.8 m 원형 PP 수조(수심 1.1 m, 약 40t) 6개, 2019년 5월 25일(채란 수온은 17°C, 입식 수온은 22°C), 부화 직전 800 ml 수용(160만개)
- 노지 : 42 x 42m (534평, 수심 2m, 3,528t) 1개, 2019년 6월 7일(채란 수온은 18°C, 입식 수온은 23°C), 부화 직전 1,000 ml 수용(200만개), 노지 벽면을 높이 3m의 제초 매트 2층으로 커버하여 부니 방지



그림 2-1-95. 능성어 종자 생산용 육상수조와 노지 생산장.

(나) 종자생산 과정 및 결과

- ① 난질 : 능성어 채란 시 수온이 매우 중요함. 올해는 남해안의 수온이 빠르게 상승하지 않아 전반적으로 난질은 좋은 것으로 평가됨.
- ② 육상수조
 - 부화 후 40일간 로티퍼를 공급하여야 하고 사료 공급 이후 매일 사이편을 하는 등 다른 어류에 비해 많은 노동력이 필요한 종임.
 - 50일째 사육밀도가 높아 2개 수조에서 5개 수조로 분조하였음(그림 2-1-96, 약 50만 마리 추정).
 - 분조한 이후 7~9일째 분조한 수조에서만 전량 폐사가 진행(급성 비브리오로 추정). 추후 생산 시 분조 후 항생제 처리 적극 검토 필요
 - 결과적으로 2개 수조에서 종자(전장 5-6 cm) 15만 마리가 생산됨.
 - 이후 8월 말부터 1개월간 우리나라 연안의 바이러스 창궐로 인해 바리과 어류 전형적인 질병인 sleeping disease (VNN) 로 일부 폐사
 - 판매는 남해안의 수온이 하강하는(연안 바이러스로 인해 입식을 꺼림) 10월 중순 이후 입식 희망(생산기간은 총 110일 소요)

- 생존율은 분조 시점까지 31.3%(50만 마리), 최종 9.4%(15만 마리)

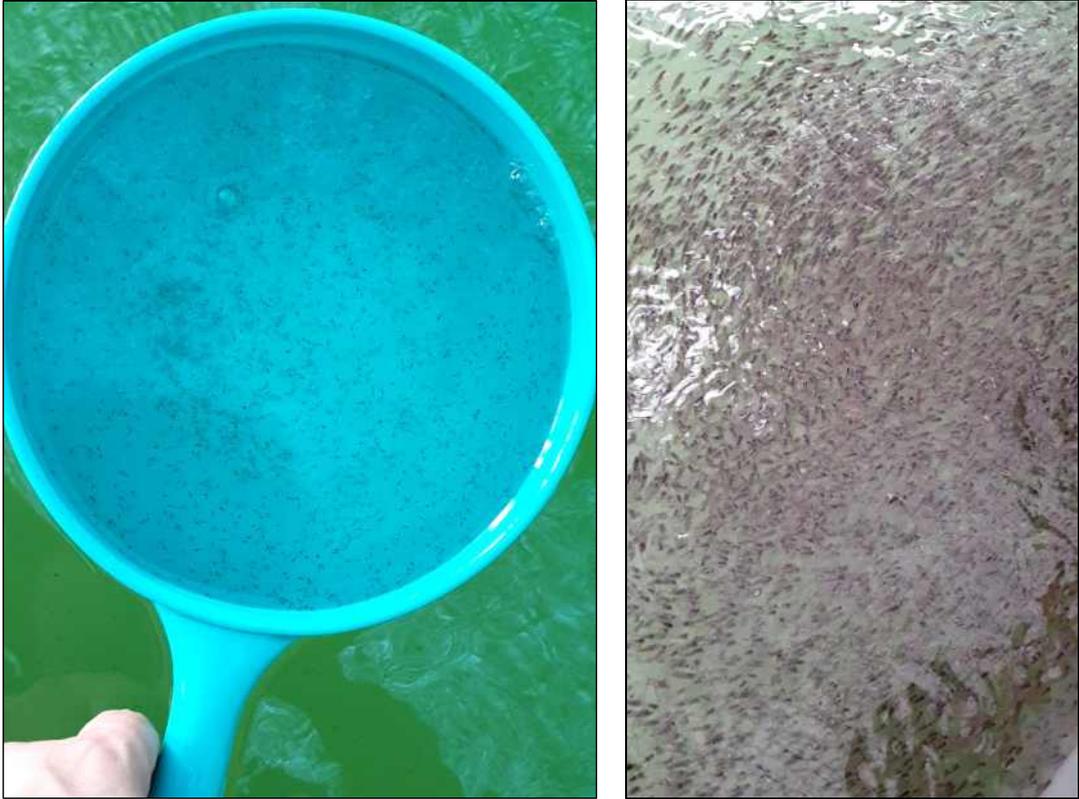


그림 2-1-96. 바가지를 이용한 능성어 자어 분조(수조당 40~60바가지, 약 10만 마리 추정).

③ 노지

- 부화 후부터 수확할 때까지 지속적으로 자치어가 확인되었으며, 통상적으로 50-200여 마리를 한 시야에서 관찰할 수 있었음.
- 부화 후 20일째 1~1.2 cm, 35일째 3~4 cm로 성장함.
- 수확은 45일째 모기장 그물(폭 80m)로 끌어서 포획(총 13,000마리, 전장 4~7 cm, 체중 6g, 약 15cm 크기의 돌돔 5마리도 함께 수확되어 돌돔에 의한 공식 또는 공격당한 다수 개체 확인-전장 1.5 cm, 그림 2-1-97)
- 판매 시 최종 생존율은 0.5%(돌돔에 의한 공식)

④ 육상수조와 노지 생산의 장단점을 표 2-1-58에 정리함.



그림 2-1-97. 노지에서 생산된 건강한 능성어 종자.

표 2-1-58. 능성어 종자생산 방법에 따른 장단점

생산 방법	장 점	단 점
육상수조	<ul style="list-style-type: none"> - 생산량 예측 가능 - 부화 이후 자어 관리 용이 	<ul style="list-style-type: none"> - 높은 기형률 - 많은 노동력이 필요함 - 성장이 느려 생산기간이 김 - 판매단가가 낮음(1,500-2,000원)
노 지	<ul style="list-style-type: none"> - 낮은 기형률 - 노동력이 적게 소요 - 생산기간이 짧음(45일) - 판매단가가 높음(3,000원) 	<ul style="list-style-type: none"> - 생산량 예측 불가(수확 시 가능) - 조성된 먹이생물에 따라 생존율 차이가 큼

(2) 대왕자바리

(가) 1차 채란

- 대왕자바리는 순천향대학교 해양수산연구소에서 관리 중인 5~7 kg의 자바리와 대왕바리 냉동 정액을 이용하여 생산하였음.
- 2019년 5월 2일 성숙한 자바리 4마리로부터 채란한 성숙란(4,000 ml) 중 양질의 수정란 1,000 ml를 부화조로 옮겨 관리하다가 48시간 후 150 ml을 참여기업 아쿠아바이오텍의

6.8 m 원형 수조에 입식함. 채란 당시의 수온은 20℃를 넘어 1단계에서 개발한 부화 기술을 이용하여 배체 형성기까지는 냉각기를 이용하여 18℃로 관리함.

(나) 2차 채란

- 국립수산과학원 제주수산연구소의 협조로 2019년 7월 5일 채란함. 총 12,000 ml의 수정란을 확보하였으며 24시간 후 부상란 800 ml을 수확/항공수송 후 참여기업 가로림양식에 400 ml을 입식함.
- 7월 5일 수온은 이미 22℃에 육박하여 과속으로 넘어가는 단계였으며, 추후 채란을 위해서는 4~5월 중 채란이 진행되어야 할 것임.

(다) 종자생산

① 아쿠아바이오텍

- 약 30만 마리의 부화자어 중 총 48,000마리의 종자가 생산되어 최종 생존율은 16.0%였음(그림 2-1-98).
- 종자의 기형률은 크기에 따라 점점 높아지는 경향이 있으며 현재 체중 45 g 크기에서 약 29%에 육박함.
- 대왕범바리에 비해 공식현상은 빈번하게 관찰되지 않았음.



그림 2-1-98. 대왕자바리 종자(전장 6~8 cm).

② 가로림양식

- 난질이 나빠 부화 과정 중 또는 부화 후 폐사 개체가 많이 나타남.
- 변태기까지 약 10,000마리의 종자가 생산되었으나 이후 사료 적응 과정에서 대량의 감모가 나타나 약 4,000마리가 최종 생산됨(전장 9~10 cm, 그림).
- 생존율은 변태 종료 시 1.3%, 최종 종자 크기까지 0.5%로 나타남(그림 2-1-99).



그림 2-1-99. 대왕자바리 종자 및 중간 육성을 위해 순환 사육 중인 치어.

(라) 종자 수출

- 당초 대만으로 종자를 수출하기로 하였으나(2만 마리, 단가 1.5달러, 덤 5%) 현지 바이어가 단가를 추가로 낮추어달라고 요구하며, 수출날짜를 계속 지연하여 대만 당국에서 정한 치어 수입 조건을 지나버림(생산 2개월 이후는 수입 금지).
- 현재 약 44,000마리를 참여기업에서 2개소에서 사육 중임.

(3) 대왕범바리

(가) 수정란 수입

- 총 3차에 걸쳐 중국 하이난으로부터 수정란 또는 부화자어를 수입하였음(표 2-1-59, 그림 2-1-100).
- 도착 후 생존율은 부상 또는 가라앉은 양의 수정란과 자어의 비율로 환산. 수정란은 1,500,000개/kg, 부화자어는 1,000,000마리/kg으로 환산
- 수정란은 수정 후 2~3시간 이내에 포장하여 항공화물로 수출해야 하므로 미수정란을 제거할 수 있는 시간적 여유가 없어 도착 후 생존율이 낮은 결과로 나타남.
- 이후 부화자어의 경우 40~50%의 생존율을 보여 수정란 대비 4~5배 높은 생존율을 나타내었음.

표 2-1-59. 대왕범بار리 수정란 또는 부화자어 수입량 및 생존율

일자별	수정란 또는 부화자어	수입량	생존율	비 고
5월 14일	수정란	3 kg	10% 내외	보상 요구
6월 7일	부화자어	1 kg	45%	5월 14일 선적 보상건
7월 15일	부화자어	7 kg	40~50%	참여기업 입식
8월 22일	부화자어	3.5 kg	40~50%	참여기업 2개소 입식



그림 2-1-100. 중국 하이난으로부터 수입된 수정란 및 생존율 측정.

(나) 종자생산

① 순천향대학교 해양수산연구소

- 1차 5월 14일 수입된 수정란 3 kg 중 300 g의 수정란을 부화하였으나 대부분 폐사하여 소독 처리하여 폐기함.

② 아쿠아바이오텍

- 2차 6월 7일 보상건으로 수입된 1 kg은 약 45%의 생존율을 나타내어 2개 수조에 각각 200-250 ml (300,000-375,000개)로 나누어 수용함.
- 아르테미아 섭식 초기에 한 번에 너무 많은 양을 섭식하여 대량감모(약 30%)
- 전장 6-8 cm(체중 11-15 g)의 종자 64,000마리를 3개 수조에 분조함(그림 2-1-101).



그림 2-1-101. 42일자 대왕범바리 치어(전장 약 5 cm).

- 8월 말부터 시작된 바이러스성 질병으로 인해 대량감모(인도네시아 바탐의 중간 육성 상황(90% 폐사)과 비슷함 그림 2-1-102)
- 현재 체중 40 g의 종자 약 10,000마리 보유



그림 2-1-102. 바이러스성 질병으로 인해 대량 폐사한 대왕범바리 치어(9월 15일).

③ 가로림 양식

- 3차 및 4차 수입된(7월 15일, 8월 22일) 부화자어를 각각 0.8 kg씩 입식함.
- 3차 부화자어는 변태 완료 시점(전장 1.5~2 cm)까지 약 40,000마리, 최종 20,000마리를 생산하여 현재 순환 여과 시스템으로 사육 중(아쿠아바이오텍의 대량폐사 경험을 바탕으로 어린 개체를 순환 사육으로 질병 문제를 극복함)
- 4차는 생산장을 순환사육장으로 옮기고 초기에 유산균을 대량 사용하거나 햇빛이 차

단되는 구조라 생산이 여의찮았음.

- 최종적으로 약 4,000마리 생산
- 생존율은 3차 5%, 4차 0.5%였음.

④ 삼부수산 : 3차 수입된(7월 15일) 수정란 1.75 kg을 입식하였으나 생존율이 낮아 입식 1주일 후 전량 폐기 조치함.

⑤ 신평 해산 양식

- 4차 수입된(8월 22일) 수정란 1.75 kg을 입식하여 현재 약 40,000마리를 사육 중
- 4차 가로림양식과 비교하여 초기생존율은 차이 없었으나 이후 안정적으로 관리되어 가로림양식에 비해 약 10배 이상(40,000마리) 생존함.
- 생존한 부화자어 기준으로 하여 종자까지 생존율은 약 10%로 나타남.

(4) 무늬바리

- 5월 14일 중국 하이난으로부터 수정란 1 kg이 수입되었으나 도착 후 생존율이 10%에 불과하여 1개 수조에 입식하여 생산함.
- 변태기의 자어 형태는 여타 바리과 어류와 달리 가슴지느러미가 꼬리지느러미 끝에 이를 정도로 길다가 이후 퇴화 흡수됨.
- 초기 감모율이 매우 높아 변태 이후 약 2,000마리가 생산됨.
- 변태 이후 전장 3 cm 크기에서 죽대로 포획하면 순간적으로 폐사함(그림 2-1-103).

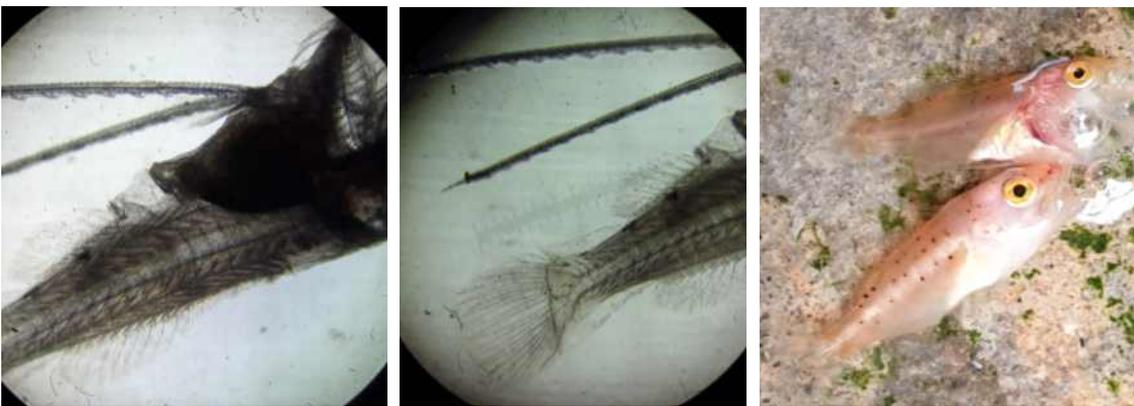


그림 2-1-103. 무늬바리 변태기 자어 및 생산된 종자(전장 3 cm).

(5) 대왕능성어

- 5월 24일 능성어 성숙란을 5,000 ml 채란하여 보유 중인 대왕바리 정액과 수정시켜 대왕능성어 수정란 4,000 ml 확보하였음.

- 경남수산자연원연구소에 1,000 ml과 순천향대학교 해양수산연구소 3,000 ml을 입식하여 부화하였음(그림 2-1-100).
- 99% 이상의 수정란이 부화 직전 또는 부화 직후 기형으로 발생함. 따라서 부화 후 2일째 전량 폐기함. 이러한 현상은 2017년 실험과 같은 결과였으며, 경남수산자연연구소의 상황도 동일하였음(그림 2-1-104).

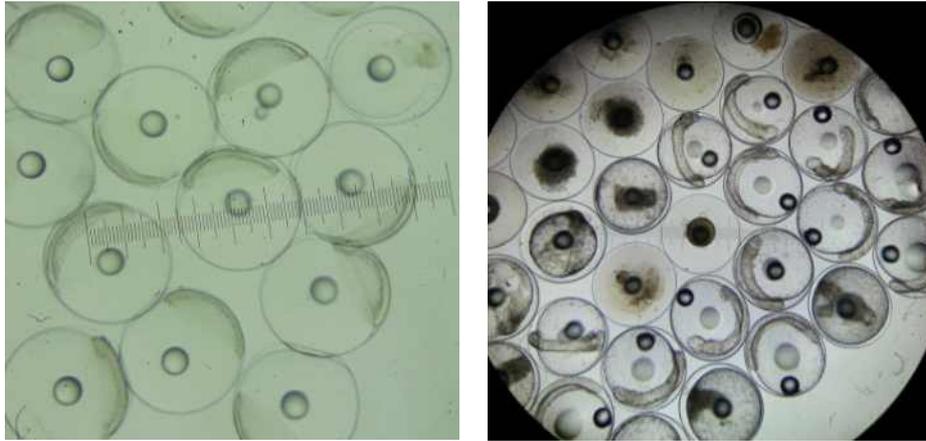


그림 2-1-104. 대왕능성어 수정란 발생. (좌) 낭배기, (우) 기형발생 중인 배체형성기.

- 2020년 해외 생산기지 구축의 어려움으로 국내 생산에 주력하여 능성어, 대왕자바리, 자바리를 생산하였으며, 능성어 26,000마리, 대왕자바리 91,250마리, 자바리 60,000마리에 2019년 생산한 대왕범바리 179,900마리까지 판매하여 국내 매출 267,650천원 달성(표 2-1-60 & 2-1-61) 또한 유통업체 아라 F&D를 통해 대왕자바리 2t(23,000마리), 46,000천원 수출계약 진행하였으나 수출물류비 폭등으로 인해 수출이 지연되고 있음.

표 2-1-60. 2020년 참여기업 국내 매출

참여기업	날짜	거래처	품명	수량	단가	금액
(주)아쿠아 바이오텍	04월 27일	경북수산	대왕범바리	16,000	1,000	16,000,000
	05월 04일	한성수산	대왕범바리	18,800	1,000	18,800,000
	05월 08일	대부수산	대왕범바리	10,700	1,000	10,700,000
	08월 18일	충남수산연구소	능성어	1,000	5,500	5,500,000
	09월 28일	신화수산	대왕자바리	8,050	1,000	8,050,000
	10월 07일	신화수산	대왕자바리	4,600	1,000	4,600,000
	10월 08일	서울양식	대왕자바리	64,000	625	40,000,000
	10월 09일	죽촌수산	능성어	25,000	1,000	25,000,000
			대왕자바리	10,000	1,000	10,000,000
	10월 11일	신화수산	대왕자바리	4,600	1,000	4,600,000
	12월 31일	서울양식	자바리	30,000	1,000	30,000,000
	04월 20일	경북수산	대왕범바리	20,000	1,000	20,000,000
	05월 11일	경북수산	대왕범바리	20,000	1,000	20,000,000
	가로림양식	05월 21일	대부수산	대왕범바리	14,400	1,000
	06월 04일	경북수산	대왕범바리	20,000	1,000	20,000,000
	06월 04일	한성수산	대왕범바리	20,000	1,000	20,000,000
합계				287,150		267,650,000

표 2-1-61. 2020년 참여기업 수출계약

참여기업	날짜	거래처/수출국	품명	수량 (kg)	단가	금액
(주)아쿠아 바이오텍	11~12월	아라 F&D/미국	대왕자바리	2,000	25,000	50,000,000 (\$43,478)

(6) 교잡종 대왕자바리의 3배체 생산

- 태안 순천향대 해양수산연구소에서 보유 중인 자바리를 대상으로 산란 유도하여 대왕자바리 수정란 단계에서 저온 자극을 통해 3배체를 유도함.
- 3배체 유도 실험은 수정 후 4분에 일괄적으로 하였으며, 예비 실험을 통해 2, 4, 6℃에서 실시 결과 2℃는 전량 폐사하였으며, 6℃에서는 100% 3배체가 유도되는 그룹이 없어 수온 자극 온도는 4℃로 고정함.
- 실험은 대조군으로 대왕자바리뿐만 아니라 생존율과 기형률에 난질의 영향이 크기 때문에 순종 자바리도 동시에 실험하였음.
- 실험군은 대조군 2그룹과 10, 15, 20, 25, 30분 처리군까지 총 7그룹으로 진행하였고, 실험군별로 100개 내외의 수정란을 사용하였음.
- 각 실험군은 상실기, 낭배기, 배형성기, 부화자어 단계마다 생존율을 확인하였으며, 최종적으로 부화된 자어를 대상으로 정상 비율과 기형률을 계산하고 Muse 1.8 Analysis를 사용하여 1회당 2마리씩 3배체 유도율을 확인함(그림 2-1-105).

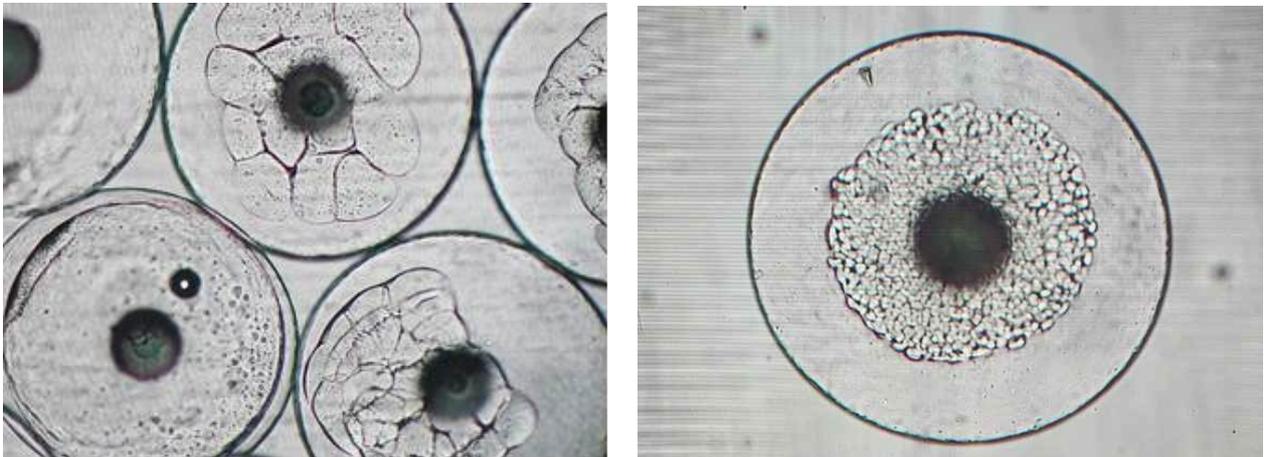


그림 2-1-105. 3배체 유도를 위한 저온 자극 16 cell(좌)과 포배기(우) 수정란.

- 순종 자바리의 부화율은 72.7 ± 4.4 로 가장 높았으며, 대왕자바리 자극 미처리 구는 46.2 ± 6.5 로 15, 20분 처리군과 유의한 차이가 없었고, 기형률은 63.3 ± 18.0 으로 모든 처리 구와 유의한 차이가 없었음(그림 2-1-106).
- 순종 자바리의 정상 개체 비율은 62.6 ± 2.3 , 대왕자바리 저온 자극 미처리 구는 17.0 ± 3.2 였고 3배체 유도율은 20, 25, 30분 처리구간만 100% 유도되어 부화율과 기형률에 유의한 차이가 없으면서 100% 3배체 유도되는 4℃, 20분 처리군이 가장 적합함(그림 2-1-107 & 2-1-108).

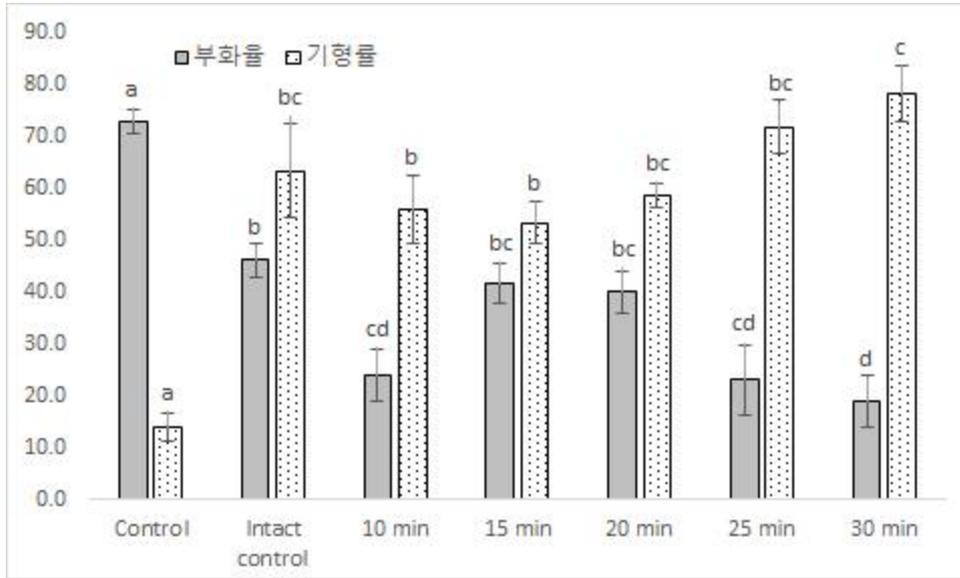


그림 2-1-106. 저운 자극 3배체 실험군의 부화율과 기형률.

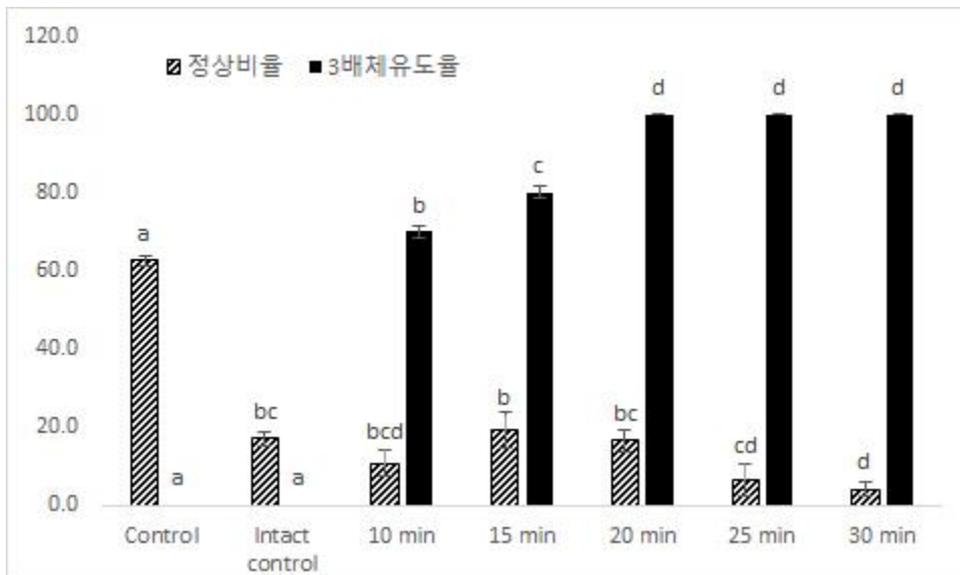


그림 2-1-107. 저운 자극 3배체 실험군의 정상 비율과 3배체 유도율.

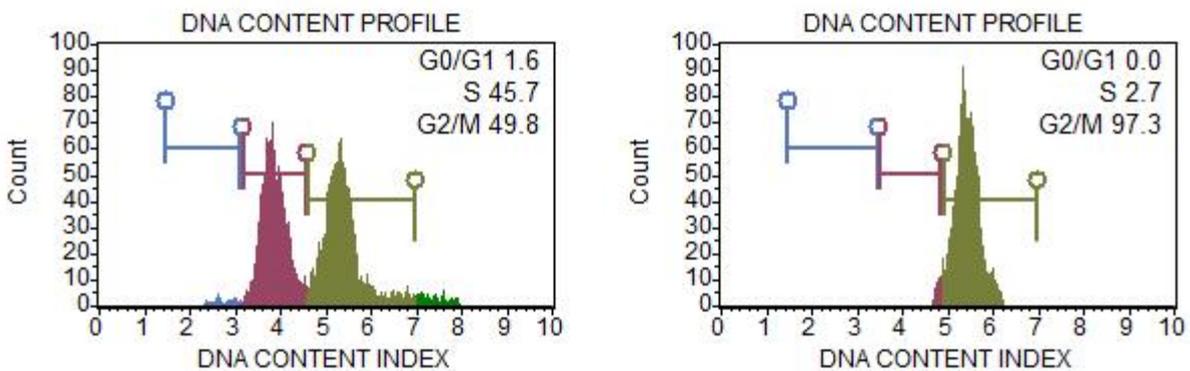


그림 2-1-108. 2배체와 3배체가 확인된 실험군(좌)과 전 3배체 실험군(우).

(7) 내수판매 우량종자 대량생산

- 지속적인 COVID-19로 인해 해외 생산기지 구축이 어려워 국내 참여기업의 집중적인 생산과 수출 또한 동일한 이유로 진행이 어려워 내수판매를 실시함.
- 태안 참여기업의 경우 조기 산란 및 연중 다산란 유도를 위해 히트펌프와 열교환기를 이용해 순환 여과 양식 시스템에서 3월부터 사육 수 가온을 통해 성숙 사육 수온을 조성함(그림 2-1-109).



그림 2-1-109. 조기 산란 유도용 수온 조절을 위한 히트펌프(좌) 및 열교환기(우).

- 자바리와 능성어는 인공성숙 및 인공산란 유도를 시행하였으며, 통영 경상남도 수산자원 연구소 능성어는 5월부터 6월까지 채란하였으며, 사육수 가온을 통해 태안 참여기업에서는 4월 말부터 산란 유도함(표 2-1-62 & 그림 2-1-110).

표 2-1-62. 지역 어종 별 채란 및 채정 시기

대상 품종	지역	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		월	월	월	월	월	월	월	월	월	월	월	월
자바리, 대왕자바리	태안												
대왕바리	태안												
자바리 및 대왕자바리	제주												
능성어	통영												



그림 2-1-110. 대왕자바리, 자바리, 능성어, 대왕바리 수정란 생산지역.

- 자바리 친어는 동시성숙이 진행되지 않아, 태안과 제주지역에서 총 9차례에 걸쳐 산란 유도함. 종자생산은 보유 및 활용 가능한 친어(1마리당 400-1,000 cc 채란)를 통해 총 40 L 채란하여 대왕자바리의 25만 마리와 자바리 15만 마리 종자를 생산함. 능성어는 통영 경상남도수산자원연구소에서 보유 중인 친어를 활용하여 30만 마리의 종자를 생산함(그림 2-1-111 & 2-1-112).



그림 2-1-111. 자바리 친어 채란(좌) 및 부상란 확인(우).



그림 2-1-112. 대왕자바리 수정란(좌)과 부화자어(우).

- 대왕바리의 자연 산란 유도를 위해 5월부터 보유 중인 대왕바리 cannulation을 통해 미성숙란이 확인된 개체를 대상으로 시제품 Ovaplant 및 LHRH-a를 이용한 pellet을 제작해 3마리씩 나누어 pellet 주입 및 가운을 통해 성숙 유도를 하였으나, 복부팽만은 확인하였지만 산란을 하지 않아 채란하지 못함(그림 2-1-113).



그림 2-1-113. 대왕바리 선별 개체(좌)와 복부팽만 개체(우).

- 5차년도 아열대 바리과 어류는 내수판매로 4차년도 생산분까지 포함하여 총 11개의 업체에 판매함. 대상 어종은 순종 2종과 교잡품종 3종으로 (자바리, 능성어, 대왕자바리, 대왕불바리, 대왕범바리) 272.5백만 원 내수 판매함(표 2-1-63).

표 2-1-63. 5차년도 아열대 바리과 어류 내수판매

업체명	대상종	금액 (원)
범수산		275,000
태안군로컬푸드사업단		38,000,000
귀빈수산		2,960,000
영어조합법인 신화수산	대왕자바리	19,576,500
명수산		3,000,000
남해수산연구소		24,000,000
숲속애바다실내낚시터		3,300,000
서울양식	자바리, 능성어	88,000,000
신화유통		37,335,000
만석좌대	대왕범바리	3,000,000
한성수산	대왕불바리, 대왕범바리	53,080,000
	합계	272,526,500

나. 국내외 수정란 입식 시 생존율, 기형률 비교분석

- 주 대상 종인 대왕범바리와 능성어 등 확보 가능한 수정란을 국내외 입식하여 환경과 종에 따른 생존율과 기형률을 비교분석

(1) 바리과 어류 종자 생존율

- 국내 생산 및 수정란 수입을 통해 생산한 대왕자바리, 대왕범바리, 능성어, 무늬바리 대상으로 국내 입식 시 생존율 분석
- 능성어의 경우 노지와 육상수조를 비교하고자 하였으나, 노지에서 돌돔 치어의 유입으로 인해 능성어 자어 공식으로 낮은 생존율을 보였음
- 대왕범바리는 친어확보 전까지 수정란 수입을 계획하고 있었으며, 수정란 수입 결과 생존율은 10% 내외였으며, 이후 수정란 대신 부화자어를 수송하여 40~50%의 생존율을 보였음
- 대왕자바리는 참여기업 (주)아쿠아바이오텍과 가로림양식이 나눠서 생산하였으며, 아쿠아바이오텍은 16%, 가로림양식은 0.5%의 생존율을 보였음(표 2-1-64)

표 2-1-64. 2019년 참여기업에서 생산한 바리과 종자별 생존율

종	생존율(%)	비고
Seven band grouper (능성어, indoor tank)	31.3 → 9.4	분조 시점 → 최종
Seven band grouper (능성어, pond)	0.5	돌돔에 의한 공식으로 생존율 저하
Brown marbled-giant hybrid (대왕범바리)	10 내외 45 40-50	수정란 수입 부화자어 수입 부화자어 수입
Longtooth-giant hybrid (대왕자바리)	16 0.5	아쿠아바이오텍 생산 가로림양식 생산

(2) 바리과 어류 종자 기형률

- 국내에서 생산한 바리과 어류 종자의 기형률을 아래의 표. 2-1-65에 나타내었음. 각 종자 생산업체에 따라 생산방식이 달라 기형률은 종마다 다양하게 나타남.
- 능성어 : 육상수조식에서는 10~90%, 노지는 0.02%
- 대왕범바리 : 육상수조식 A 업체 80%, B 업체 1% 이하, 참여기업 2% 이내
- 대왕자바리 : 2015년 육상수조식 50%, 참여기업 2개소 29%

표 2-1-65. 2019년 참여기업에서 생산한 바리과 종자별 기형률

Species	No. of total fish	No. of normal fish	No. of abnormal fish	Abnormality (%)
Seven band grouper (능성어, pond)	13,000	12,997	3	0.02 (척추만곡)
Seven band grouper (능성어, indoor tank)	100	78	28	28.0
Brown marbled-giant hybrid (대왕범바리)	100	98	2	2.0
Longtooth-giant hybrid (대왕자바리)	100	71	29	29.0

다. 치어 대량 수송 기술개발

- 대왕범바리 치어를 대상으로 수송에 따른 비용 절감을 위해 적절한 포장 및 운송 방법에 따른 수송 시간을 조사함. 적정 밀도 및 수온 실험을 통해 얻은 최적의 수송밀도와 수온 조건에서 약한 농도의 마취제를 이용해 수송 시 소비하는 DO의 양을 감소시켜 대량의 치어 수송 기술을 개발

*치어의 효율적인 대량 수송을 위하여 생존율이 안정적인 수송 시간 구간을 찾고자 하였으나, 주 판매업체 및 국가가 모두 인근 동남아시아 및 중국지역임에 따라 수송 시간은 36시간 내외로 고정적임. 따라서 36시간 기준으로 하여 크기별 밀도 조사 시행으로 대체

- 수정란 수송보다 치어(부화자어) 수송이 생존율이 더 높은 것은 참여기업의 수정란 및 부화자어의 생존율이 약 4배 이상 높아 확인되었음.
- 베트남 현지에서 대왕범바리 치어를 대상으로 25 L 포장 봉투를 사용하여 스티로폼 박스로 수출할 때의 전장에 따른 치어의 밀도와 가격을 정리함.
- 2~5 cm의 대왕범바리 치어는 최소 225마리에서 최대 570마리까지 수송하였으며, 5~7 cm는 크기에 따라 120~150마리, 110~150마리, 225~250마리 그리고 7~10 cm는 90~100, 110~150, 120~150마리 수용함.
- 10 cm 이후로는 10 cm 90마리, 11 cm 80마리, 12 cm 70마리, 13 cm 60마리, 14cm 55마리, 15cm 50마리, 16cm 40마리의 치어를 수송하고 있음(표. 2-1-66).
- 아래의 표 1과 같이 베트남 이외의 주요 수출국을 대상으로 표를 작성하면 추후 참여기업들의 수출 최대수익 산출을 위해 사용 가능함.
- 장거리 해외수출을 위한 대왕자바리의 수송실험은 2020년 9월 16일부터 당년 10월 9일

까지 총 3주간, 평균 700 g의 대왕자바리 300마리를 대상으로 총 212kg의 중량의 개체를 대상으로 점진적으로 수온을 낮춰 최종적으로 수송 수온 15°C로 실험함(그림 2-1-114).

표 2-1-66. 대왕범바리 치어 전장에 따른 밀도와 가격

Product Hybrid grouper	Size (cm)	Price (Won) per cm	Price (Won) per tail	Price (VND) per tail	The number of fish per styrofoam box
Hybrid grouper (cá mú trần châu, 대왕범바리)	3-5 cm	100-125	200- 625	4000- 12500	500~570 300~400 225~250 225~250
	5-7 cm	125-150	625- 1050	12500- 21000	175~200 120~150
	7-10 cm	150-175	1050- 1750	21000- 35000	120~150 110~150 90~100
	10-12 cm	175-200	1750- 2400	35000- 48000	70~90
	12-15 cm	200-220	2400- 3300	48000- 66000	50~70



그림 2-1-114. 실험어 선적을 위한 중량 확인 및 활어차 수용.

- 실험 시작 후, 1일 차에서 7일 차까지 수조 내의 수질과 어체에 이상이 없었으나, 8일 차부터 피부 발적의 병세를 보이는 개체들이 발생하여 11일까지 총 7개체가 나타남.
- 실험 시작 후, 12일 차에서 18일 차까지, 주둥이 발적과 이상 유영을 보이는 개체들이 총 26개체가 나타남.
- 실험 시작 후, 19일 차부터 폐사 개체가 2마리 발생했으며 이후로도 22일 차(실험 종료일)까지 3마리, 5마리씩 총 10개체(7kg)가 폐사함.
- 병어는 68kg으로 총 212kg의 중량에서 32%로 나타났으며 병어의 형태는 90%의 개체들이 배에 복수가 차고, 주둥이 및 배면 부분에 피부 발적이 있으며, 나머지 10%의 개체들은 탈색 및 피부 궤양을 나타내었음. 이러한 원인은 시간에 따른 수조 내의 암모니아 및 비이온화 암모니아의 증가로 사료됨. 또한 25°C에서 사육하던 대왕범바리가 사육 수

온이 18℃인 환경에서 사육될 때 피부에 생채기가 생기며 폐사하는 현상이 나타나 특히 대왕자바리보다 저온내성이 약한 대왕범바리에게서 두드러지게 나타나 낮은 수온의 문제로 판단됨(그림 2-1-115).

- 참돔이나 대왕범바리보다 빛이나 충격 등에 민감하지 않아서 장기 운송에 적합하였으나, 복수가 차면서 보이는 이상 유영의 현상은 비슷하게 나타남.
- 대왕자바리의 장거리 수송 실험 결과, 대왕자바리는 25℃에 사육하고 있던 대왕범바리 개체들을 18℃에 운송하여 수용하던 것에 비해, 물리적인 온도 및 충격 등에 민감하지 않아 장기적인 수송 형태에 적합한 것으로 나타남.



그림 2-1-115. 수송 시간에 따른 폐사 실험어(좌:대왕자바리, 우:대왕범바리).

라. 종자 중간 육성 기술개발

- 국내외 순환 여과 수조를 활용하여 Biofloc 시스템을 세팅하고, 특히 인도네시아에서 일정 크기에서 바이러스 감염 등으로 인한 폐사율 감소를 위해 중간 육성 시스템 개발

(1) 중간 육성 기술개발 필요성

- 인도네시아 바탐 소재 참여기업은 매년 생산된 종자 중간 육성 기간 중 90% 폐사(VNN)를 경험한 후 수온을 33℃까지 상승시켜 생존율을 높이는 전략을 사용함.
- 국내 참여기업 A 업체에서도 여름철 생산된 종자 중 약 80% 이상 대량폐사를 경험함(전장 9~10 cm, 하루 최대 13,000마리 폐사). 따라서 3, 4차 수정란을 입식하여 종자생산 중인 업체에 심각성을 알리고 종자생산 이후 가능한 빠른 시기에 순환 여과 사육을 권장함.
- A 업체는 작년 26,000마리 생산 시 7 cm 크기에 순환여과식 사육을 통해 대량폐사를 극

복하였으나, 올해에는 종자 생산량이 작년보다 많았고 순환 여과 사육시설을 다른 용도로(범بار리 양식) 사용 중이어서 유수식 관리함으로써 여름철 우리나라 연안의 질병 만연으로 인해 80%의 대량폐사로 이어짐.

- 바리과 어류 중 질병에 대한 감수성은 대왕범بار리 > 능성어 > 대왕자바리 순이었음.
- 참여기업 B 업체는 질병 발생이 시작되자마자(전장 7 cm 내외) 플로르페니콜 30ppm으로 약육한 후 빠른 조치로 순환 여과 사육을 통해 곧바로 폐사가 중단되어 대량폐사 문제를 극복하였음.

(2) 참여기업별 순환여과식 사육시설

(가) 참여기업 A

- 원형 PP 수조(직경 8 m, 수심 1.2 m, 60t) 8개 1set
- 드럼 필터는 하이드로텍 60 μm 필터(시간당 700t) 1대
- 살균조는 100 g 용량의 오존발생기를 φ50 mm 벤츄리 인젝터(펌프 1마력)
- 여과조는 4.5 x 5 x 3.2 m 4개조 운영(총 사육체적의 50% 이상)
- 가온 및 pH 조절조(3 x 1.5 m 수조 1개)
- 순환 여과 시스템은 사육수가 모이면 드럼 필터를 거쳐, 오존 살균을 통해 살균과 유기물 분해조를 거치고, 4개 조의 생물 여과조를 순차적으로 거친 다음 최종적으로 가온조를 통해 사육 수조로 재순환되는 구조임(그림 2-1-116).



그림 2-1-116. 참여기업 A 업체의 순환 여과 사육시설 도면.

(나) 참여기업 B

- 사각 콘크리트 수조(6 x 6 x 1.5 m, 44t) 8개 1set
- 침전조는 3 x 4 m 2개조
- 스키머는 시간당 100t 2대 사용(2차 침전조에서 양수)
- 여과조는 4 x 6 x 2 m 4개조 운영(총 사육체적의 50% 이상)
- 사육수가 모이면 1차 침전조를 거쳐 부유 유기물을 제거한 다음 2차 침전조를 통해 스키머 2대를 거친 다음 여과조로 이동함. 순환라인을 히트펌프에 연결하여 가온한 다음 각 수조로 가온수를 분배하는 구조임(그림 2-1-117).

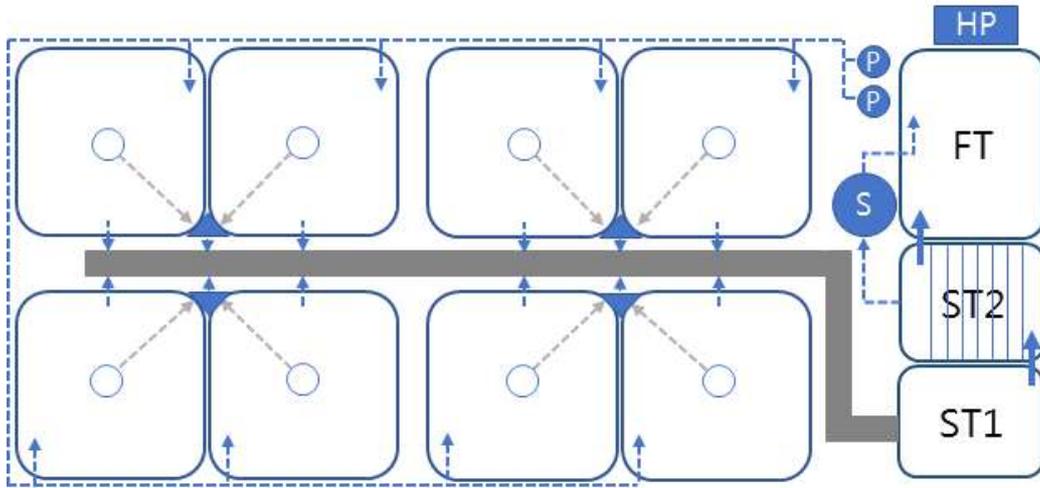


그림 2-1-117. 참여기업 B 업체의 순환 여과 사육시설 도면.

(3) 중간 육성 방법에 따른 생존율

- 해외 : 육상수조에서 유수식 사육 시 폐사율이 90%에 이를 정도로 폐사율이 높음.
- 국내 : 유수 사육 시 질병이 만연하는 하계에 중간 육성하면 폐사율이 80%에 이르는 문제가 대두됨.
- 순환 사육을 통한 대량폐사 극복
: 참여기업 A 및 B 업체는 순환여과식 사육을 통해 생존율 90% 이상의 결과를 얻었는데 이는 외부로부터 유입되는 병원성 세균 또는 바이러스를 살균장치로부터 해결하고 순환 여과 사육을 통해 수질이 안정되어 높은 생존율로 이어짐.
- 결론적으로 중간 육성 시 **대량폐사를 극복하기 위해서는 수질 여건이 나빠지는 하절기에 환수량을 늘리고 사료 공급을 줄여 수질을 잘 유지하여야 하며, 폐사가 감지되면 초기에 플로르페니콜로 약육한 후 수질을 안정화할 수 있는 순환 여과 사육으로 전환하는 것이 바람직함.**

마. 국내 종자생산 기업 기술이전

- 국내 참여기업 가로림양식을 대상으로 친어 교잡 수정란 부화 기술, 종자생산 기술, 종자생산 시 질병 제어 기술, 공식 제어 기술 등 노하우 4건에 대해 기술이전 실시.
- 국내 참여기업 (주)아쿠아바이오텍을 대상으로 자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온 조절을 통한 수율 향상 방법 특허 1건에 대해 기술이전 실시.
- 국내 참여기업을 이용한 종자생산 risk 절감 및 기업을 통한 종자 수출과 국내 바리과 양식의 산업화(그림 2-1-118 & 2-1-119).

기술실시보고서

(단위 : 원)

연구개발과제 현황	사업명	Golden Seed 프로젝트 (GSP)		연구과제번호	213008-05-3-SB410	
	연구과제명	종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축				
	연구기관명	순천향대학교 산학협력단	연구책임자	방 인 철	참여기업명	(주)아쿠아바이오텍 가로림양식 삼부수산 신동해산양식
	연구협약일	2019.1.1	연구기간	2017.1.1.~2021.12.31		
	연구개발비	정부출연금	기업부담금	기타 ()	계	
	310,000,000	103,350,000	-	413,350,000		
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	교잡 수정란 부화 기술, 종자 생산 기술, 종자생산 시 질병 제어 기술, 공식 제어 기술				
	계약(활용)일	2019.04.01	실시(활용)기간	3년		
	지재권 종류	노하우 4건	실시권 유형	통상실시권		
	* 지재권이 특히(출원,등록) 인 경우	명 칭	-			
		번호	-		일 자	-
	실시(활용)기관	기관명	가로림양식		기관유형	중소기업
		주 소	충남 태안군 이원면 내리 462		대 표 자	김 용 구
사업자번호		310-90-25587		전화번호	010-8806-7218	
부서(담당자)		김 용 구		e-mail	garorim@hanmail.net	
기술료산정내역	무상실시					
기 술 료	정액기술료		경상기술료		기타 조건	
	징수(납부)예정일	징수(납부)금액	착수기본료	징수(납부)예정일 징수(납부)금액		
	-	-	매출에 따른 기술료	징수(납부)시작일		결산일
	-	-		-		-
	-	-		징수(납부)종료일		징수율
계	-	-	-	매출액의 (-)%		
기타특기사항	주관연구기간이 비영리기관으로 기술료징수 해당사항 없음					
<p>국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.</p> <p>붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부.</p> <p style="text-align: right;">2019년 10월 25일 순천향대학교 산학협력단장 </p> <p style="text-align: right;">농림수산식품기술기획평가원장 귀하</p>						

그림 2-1-118. 기술 실시보고서-1.

기술실시보고서

(단위 : 원)

연구개발과제 현황	사업명	수산실용화기술개발사업		연구과제번호	213008-05-4-CB410	
	연구과제명	종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축				
	연구기관명	순천향대학교 산학협력단	연구책임자	방 인 철	참여기업명	(주)아쿠아바이오텍 가르림양식 어업회사법인 새원
	연구협약일	2020.01.01	연구기간	2017.01.01~2021.12.31.		
	연구개발비	정부출연금 295,000,000	기업부담금 98,934,000	기타 ()	계	393,934,000
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	자바리와 대왕바리 간 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상방법				
	계약(활용)일	2020.04.01	실시(활용)기간	3년		
	지재권 종류	특허 1건	실시권 유형	통상실시권		
	* 지재권이 특허(출원)등록인 경우	명 칭	자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상 방법		일 자	2019.10.29
		번호	10-2019-0135033		기관유형	법인
		기관명	(주)아쿠아바이오텍		대표자	방 인 철
		실시(활용)기관	주 소	충남 아산시 신창면 순천항로22 3106		전화번호
		사업자번호	333-86-00612		e-mail	menome555@naver.com
	부세(담당자)	박 종 연				
기술로산정내역	-					
기 술 로	정역기술로		경상기술로		기타 조건	
	징수(납부)예정일	징수(납부)금액	착수기분로	징수(납부)예정일	징수(납부)금액	
	-	-	매출에 따른 기술로	징수(납부)시작일	결산일	
	-	-		-	-	
	-	-		징수(납부)종료일	징수율	
계	-	-	-	매출액의 (-)%		
기타특기사항	주관연구기간이 비영리기관으로 기술로징수 해당사항 없음					
<p>국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.</p> <p>붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부.</p> <p style="text-align: right;">2020년 10월 12일 순천향대학교 산학협력단장 [직인]</p> <p style="text-align: center;">농림수산식품기술기획평가원장 귀하</p>						

그림 2-1-119. 기술 실시보고서-2.

바. 국내외 대왕바리 등 동결정액 확보

- 대왕범바리 및 대왕자바리 등 우량 교잡종의 생산을 위해 국내외 활용 가능한(통영 및 인도네시아) 대왕바리 동결정액 확보 시행

(1) 국내 보유 대왕바리의 친어성숙 유도

- 동결정액 확보를 위해 순천향대학교 해양수산연구소에서 관리 중인 대왕바리 친어들을 대상으로 채정하여 사용하였음.
- 대왕바리는 일반적으로 어체중 대비 1~1.5%의 먹이 섭취량을 보이는 것으로 보고되어

있으며, 이에 따라 충분한 성숙을 위하여 대왕바리 친어에게 고등어, 전갱이 등 양질의 생먹이를 1회/2일시 10~20 kg을 공급하여 관리함.

- 생사료 공급 시 영양강화는 vitamin E & C, multi-vitamin, glutathione, fish (or squid) liver oil, taurine을 추가로 공급함.

(2) 국내 대왕바리 수컷 채정

- 국내에서 관리 중인 대왕바리의 자연 성숙을 유도하여 2019년 8월 1일과 9월 23일 2번에 걸쳐 정액을 100, 120 ml 채취하였음(그림 2-1-120, 표 2-1-67)
- 채취된 정액은 향후 연구 진행을 위하여 1세부(순천향대학교)에서 동결 보존하여 보관 중임.



그림 2-1-120. 대왕바리의 정액 채취하는 과정.

표 2-1-67. 대왕바리 채정 시기 및 채정량

Date (year. month. day)	Volume (ml)
2019. 08. 01.	40 + 60 (2 fish)
2019. 09. 23.	50 + 45 + 25 (3 fish)
2020. 06. 02	20 + 80 (2 fish)
2020. 06. 28	40 + 30 (2 fish)

(3) 국외 대왕바리 동결정액 확보

- 인도네시아 현지 연구소에서 보유 중인 대왕바리 친어들을 대상으로 9월에 현지 기술로 동결 시행하였으나 낮은 운동성으로 인해 10월 말~11월 초 국내 연구원 파견으로 동결

정액 재확보할 예정임.

(4) 동결 전 운동성과 운동 시간 관찰

- 채정된 정자는 ASW (Artificial sea water)를 1:100 비율로 희석하여 광학현미경으로 운동성을 관찰하였고, 정자 총 개체 수에서 활동 개체 수의 비율과 ASW 희석 직후부터 활성 개체수의 비율이 10% 미만까지 도달하는 시간을 측정하여, 활동 개체 수의 비율에 따라 5단계로 구분하여 0~4의 등급으로 운동성을 평가하였음(표 2-1-68).
- 대왕바리의 정액동결에 사용된 동해방지제는 DMSO를 사용하였으며, 수컷 친어의 상태에 따라 5~12%의 구간을 나누어 동결시킨 뒤, 얻어진 최적 조건에 따라 동결정액 생산에 사용하였음.

표 2-1-68. 정자의 운동성 등급

	Motility classes				
	0	1	2	3	4
Forward sperm (%)	0	25	50	75	100

(5) 동결 최적 조건에 따른 대왕바리 동결정액 생산

- 1단계 연구에서 규명한 최적 희석액 조성 조건에 따라 대왕바리의 정액을 희석액(ELS3)과 1:2로 혼합하였고, 이때 동해방지제 DMSO의 양은 정액과 희석액(ELS3)의 혼합량을 기준으로 하여 12%를 사용하였으며, 전처리 과정을 끝낸 정자는 각각 0.25 mL 용량의 Straw 에 밀봉하여 액체질소 증기 -76℃에 5 cm에서 5분간 노출시킨 뒤 -196℃ 액체질소에 침지시켜 급속 동결 보존하였음. 사용된 ELS3의 조성 조건은 표 2-1-69에 나타냈음.

(6) 동결 최적 조건에 따른 동결 후 운동성 및 운동 시간 관찰

- 대왕바리의 정액과 희석액(ELS3)의 총량의 동해방지제 DMSO 12%를 혼합하여 straw에 넣어 사용하였으며, 1단계 연구에서 규명한 slow-freezing 시간의 최적 조건에 따라 동해방지제와 정액의 평형 시간, 액체질소와의 거리 등 최적의 조건에 따라 동결 후 운동성과 운동 시간을 관찰함(그림 2-1-121).

표 2-1-69. ELS3 용액의 조성표

Ingredient	ELS3 (mM)
Glucose	92.46
NaCl	171.12
NaHCO ₃	5.95
FBS	10%

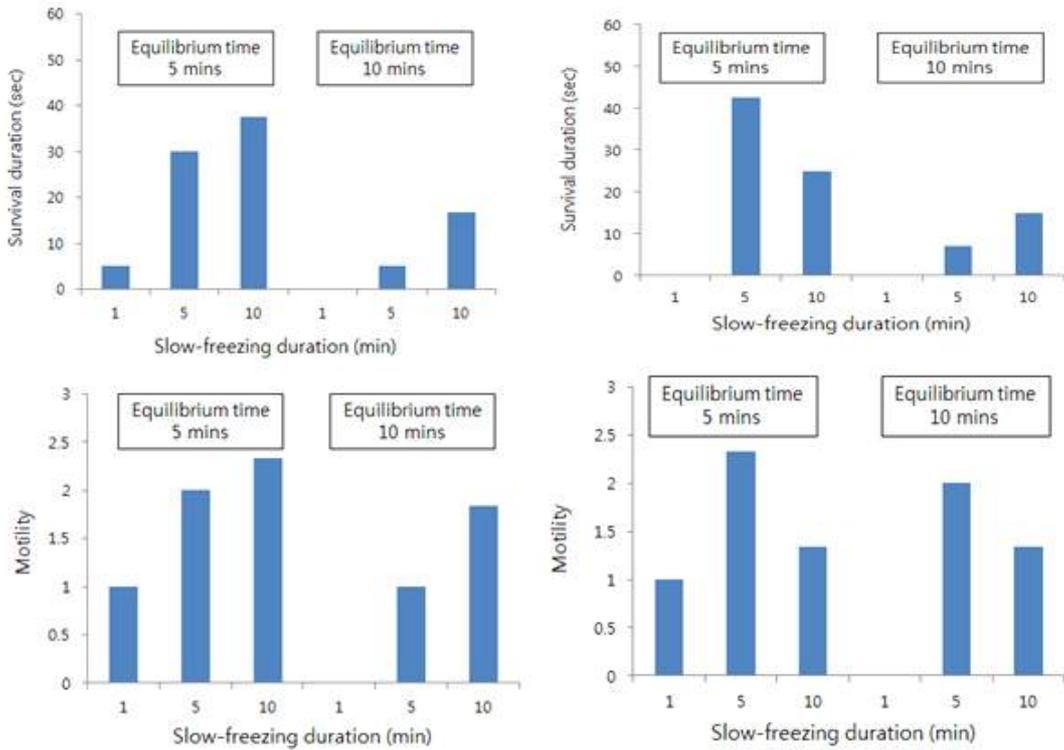


그림 2-1-121. 최적 조건 5 cm-5분(좌), 10cm-10분(우)이며, 평형 시간 5분.

(7) 동결보존 중인 대왕바리의 정액 현황

- 3차년도에 국내에서 생산한 대왕바리의 동결정액은 총 409 ml을 보관하고 있으며, 동해 방지제를 DMSO를 이용하여 보관 중임(표 2-1-70).

표 2-1-70. 동결보존 중인 대왕바리의 정액 현황

Species	Cryoprotectant		Milt (ml)	Stored total volume (ml)	Date of cryopreservation
	External	Internal			
Giant grouper			120	0 (408)	~2019.09.23
	ELS3	DMSO	30	80 (20)	2020.06.02
			20	70	2020.06.28
Total			170	150 (428)	

* ()은 소비된 동결정액.

사. 수송 비용 절감 기술개발

- 수송에 따른 비용 절감을 위해 적절한 포장 및 운송 방법을 조사하기 위해 포장 수온별, 밀도 및 크기별, 용존산소별, 운송 수단 경로별 중 당초 계획이었던 밀도 그리고 해수와 산소의 포장 비율에 따라 대왕범바리를 대상으로 수송 후 암모니아, DO 등 이화학측정과 생존율을 분석함.
- 해당 품종별 사육 적정 수온을 기준으로 실험구간($\pm 3^{\circ}\text{C}$ 씩 5~7구간)을 설정하여 포장 수온에 따른 수송 후 생존율 및 최종 부화율 등을 실험을 통해 비교하고 높은 생존율과 부화율 구간을 보이는 최적 수온을 찾아냄. 이후 최적 수송 시스템 구축의 기반 자료로 활용

(1) 대왕범바리의 포장 밀도에 따른 용존산소량 및 암모니아, 생존율 비교 실험과정

- 2016년 부경수산에서 생산한 대왕범바리의 치어를 실험용 수조에 수용시키고, 수중 히터를 이용하여 해수의 온도를 20°C 로 유지해 안정시킨 후 실험을 진행하였음(그림 2-1-122).



그림 2-1-122. 수조 내 대왕범바리의 치어.

- 실험에 사용하기 전 대왕범바리의 치어의 전장, 체장, 무게를 계측하기 위해 디지털 버니어캘리퍼스(Mitutoyo, 일본)와 전자저울(Cas MW II, 중국)로 측정하였고, 68.19 ± 4.82 mm, 60.84 ± 4.00 mm, 6.28 ± 0.91 g 개체들을 선별하여 실험에 이용하였음(그림 2-1-123).



대왕범바리의 치어



대왕범바리 무게 측정

그림 2-1-123. 밀도 실험에 사용한 대왕범바리 치어.

- 대왕범바리의 치어를 100마리씩 50 L 포장 봉투에 해수 : 산소의 비율을 각각 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 포장하여, 스티로폼 BOX에 30시간 동안 수송 후 생존율과 용존산소량, 암모니아 농도를 측정하였음. 각 실험구 3반복하여 진행하였으며, 수송 시 해수의 온도를 일정하게 유지하기 위해 포장 봉투와 스티로폼 사이에 아이스팩을 1개씩 넣어 주었음. 수송 환경과 비슷하게 맞추기 위해 3시간마다 스티로폼박스를 흔들어 주었음.
- 실험에 사용한 해수는 수온 20.3 °C, DO 7.14 mg/L, pH 8.13 , 염분도 32.7 psu 조건의 해수를 사용하였음.
- 수송 후 포장 봉투 내에 해수의 수온과 용존산소(DO), 암모니아, 생존율을 다항목수질 측정기(YSI 556MPS, 미국)를 이용하여 측정하였음(그림 2-1-124).



실험군 별 포장박스

수송 후 수질 측정

그림 2-1-124. 밀도에 따른 수송실험.

- 치어 150마리씩 50 L 포장 봉투에 해수 : 산소의 비율을 각각 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 포장하여, 스티로폼 BOX에 30시간 동안 수송 후 생존율과 용존산소량, 암모니아 농도를 측정하였음. 각 실험구 3반복하여 진행하였으며, 수송 시 해수의 온도를 일정하게 유지하기 위해 포장 봉투와 스티로폼 사이에 아이스팩을 1개씩 넣어 주었음. 수송 환경과 비슷하게 맞추기 위해 3시간마다 스티로폼박스를 흔들어 주었음.
- 실험에 사용한 해수는 수온 19.00℃, DO 8.54 mg/L, pH 7.60, 염분도 32.95 psu 조건의 해수를 사용하였으며, 30시간 수송 후 포장 봉투 내에 해수의 수온과 용존산소(DO), 암모니아, 생존율을 측정하였음.
- 실험 결과는 100마리, 150마리의 수송 후 생존율, DO, 암모니아의 결과를 비교하여 정리하였으며, 실험 결과에 대한 통계처리는 SPSS 통계 패키지(version 21.0)를 이용하여 one-way ANOVA test로 평균 간의 유의성($P < 0.05$)을 검정.

(2) 대왕범바리의 포장 밀도에 따른 용존산소(DO) 및 암모니아, 생존율 비교분석

- 물 : 산소의 포장 비율에 따른 수송 결과 100마리 밀도의 용존산소(DO)는 산소의 포장 비율이 1:4에 가까울수록 용존산소(DO)의 양이 적어지는 경향을 나타냈음. 1:1, 1:2, 1:3의 용존산소(DO)는 7.11 ± 1.64 mg/L, 5.66 ± 1.14 mg/L, 5.06 ± 1.31 mg/L로 나타났으며 유의한 차이가 없었음($P < 0.05$). 1:1과 1:4 그룹 간에 7.11 ± 1.64 mg/L, 3.68 ± 0.97 mg/L로 유의한 차이를 나타냈음($P < 0.05$, 그림 2-1-125).
- 150마리 밀도의 용존산소(DO)는 1:3이 6.34 ± 0.52 mg/L로 DO가 가장 높았음. 산소의 포장 비율이 높을수록 용존산소(DO)의 양이 많았으며, 100마리 포장과 반대로 1:1에 가까울수록 DO가 감소하는 경향을 보였음. 1:1, 1:2와 1:3 실험군 간에 유의한 차이를 보였음($P < 0.05$).

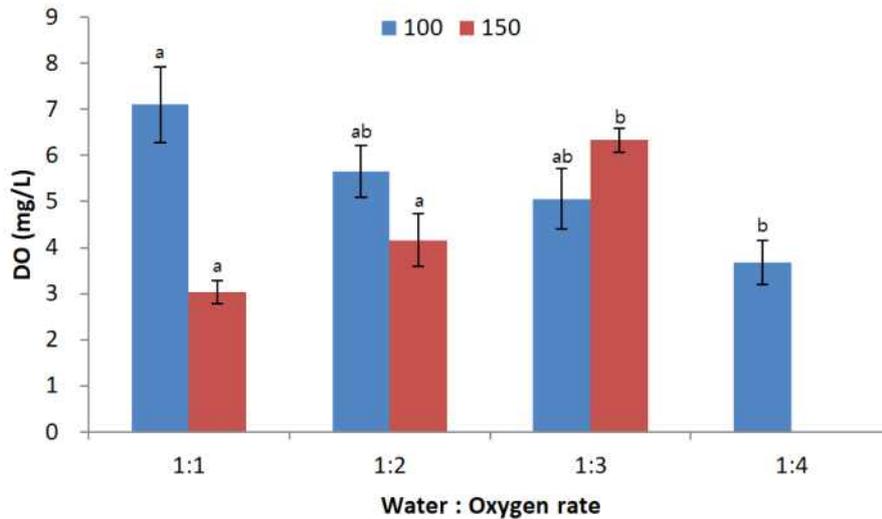


그림 2-1-125. 포장 비율에 따른 DO.

- 포장 비율에 따른 수송 결과 100마리의 암모니아 농도는 1:1 실험군이 1.9 mg/L로 나타났으며 다른 실험군보다 적은 암모니아 농도를 나타냈음(그림 2-1-126). 물 : 산소 포장 비율 1:1 실험군과 1:2, 1:3, 1:4 간에 유의한 차이를 나타냈음($P < 0.05$).
- 150마리의 암모니아 농도는 1:1, 1:2, 1:3 7.89±1.49 mg/L, 8.49±1.63 mg/L, 8.75 mg/L로 나타났음. 암모니아의 농도는 각 실험군 간에 유의한 차이는 나타나지 않았음($P < 0.05$).

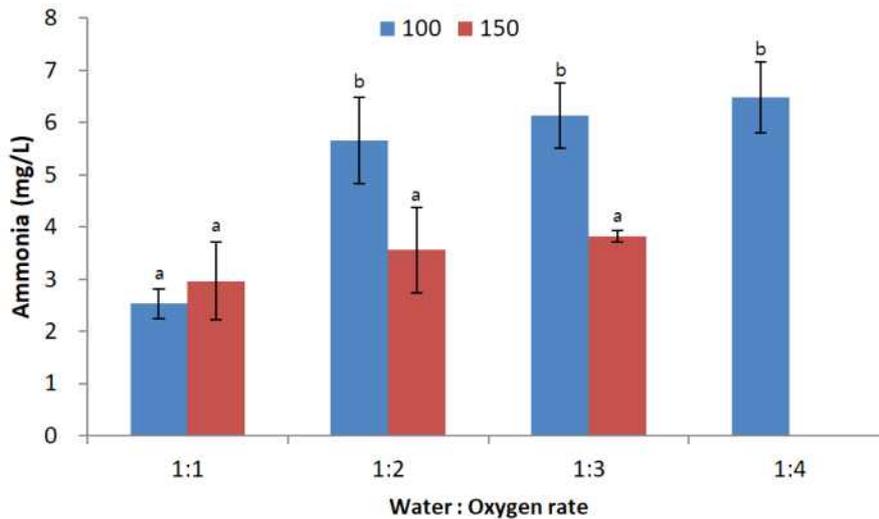


그림 2-1-126. 포장 비율에 따른 암모니아 농도.

- 100마리 치어의 수송 결과 생존율은 전 구간에서 100% 생존하였음. 100마리 치어 밀도의 실험 결과 전 구간에서 100%의 생존율을 나타냈으며, 유의한 차이를 보이지 않았음 ($P < 0.05$). 150마리 치어의 수송 결과 1:1, 1:2, 1:3 생존율은 100%, 99.33±0.58 %로 각 구간 별로 유의한 차이를 나타내지 않았음($P < 0.05$, 그림 2-1-127).

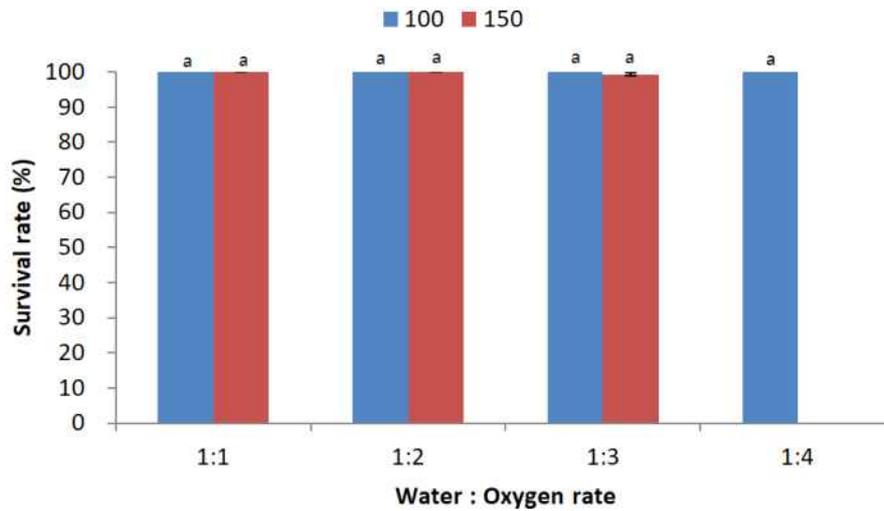


그림 2-1-127. 포장 비율에 따른 생존율.

- 수송 비용 절감을 위해서는 치어 또는 해수의 무게를 줄이는 방법이 필요하지만 무게가 가벼운 어린 치어를 수송할 때 수송 시 스트레스를 견디지 못해 폐사할 확률이 높으며, 수송 시 물의 무게를 줄이는 방법이 최적임. 50L 포장 봉투 기준으로 물 : 산소의 비율이 1:1의 경우 25 L의 해수가 들어가 수송 비용의 증가로 이어짐. 물의 무게가 가벼운 1:4 포장의 경우에도 100% 생존율로 조사되었기 때문에 1:4의 포장 비율로 수송 시 비용 절감을 기대할 수 있을 것임.
- 150마리 치어의 밀도로 수송 실험 조사 결과 이전 실험에서 생존율은 100%였지만 150마리의 실험의 경우 생존율이 1:3에서 99.33%로 폐사 개체를 보였으며, 치어의 움직임과 호흡 반응이 저밀도 실험군의 개체들보다 둔한 경향을 보였음.
- 100마리, 150마리 밀도 수송실험 결과 생존율은 전 실험구간에서 유의한 차이가 없이 굉장히 높았으며, 이에 따라 더 높은 밀도의 실험이 추가로 필요하다고 판단됨. 또한 이화학측정 결과 해수의 양과 실험 결과 암모니아의 양이 반비례로 100마리, 150마리 두 실험구간 모두 같은 양상을 보였으나, DO의 경우 100마리 실험구간에서는 해수와 DO가 비례하였음. 하지만 150마리 실험구간에서는 해수와 DO가 반비례하는 양상을 보여 고밀도, 포장 비율 구간을 추가하여 현재의 실험 결과를 해석하기 위한 연구가 추후 필요함.

(3) 대왕범바리의 수온에 따른 수송 후 용존산소량(DO) 및 암모니아, 생존율 비교 실험과정

- 2017년 10월에 생산한 대왕범바리의 치어를 실험용 수조에 수용시키고, 수중 냉각기를 이용하여 해수의 온도를 15°C와 20°C까지 천천히 냉각시켜 안정화한 후 실험을 진행하였음(그림 2-1-128).



그림 2-1-128. 대왕범بار리 치어.

- 대왕범바리 치어는 크기가 비슷한 개체들을 선별 후 전장, 체장, 무게를 측정하기 위해 디지털 버니어캘리퍼스(Mitutoyo, 일본)와 전자저울(Cas MWⅡ, 중국)을 이용하였고 전장은 52.5 ± 0.3 mm, 체장은 45.6 ± 0.3 mm, 무게는 2.2 ± 0.3 g로 측정된 개체들을 실험에 사용하였음(그림 2-1-129).



그림 2-1-129. 대왕범바리의 무게 측정.

- 수온은 상온(25°C)에서 수송되는 것을 고려하여 5°C 간격으로 15°C , 20°C , 25°C 로 3구간으로 나누었으며, 실험구별로 각각 치어 100마리씩 25L 포장 봉투에 물 : 압축공기의

비율이 1:2가 되도록 포장한 후 스티로폼 박스에 넣었음. 각 실험구 3반복하여 진행하였으며, 수송 시 해수의 온도를 일정하게 유지하기 위해 아이스팩을 넣었으며, 수송 환경과 비슷한 스트레스를 주기 위해 매시간 마다 스티로폼 박스를 흔들어 주었음(그림 2-1-130).



그림 2-1-130. 수온에 따른 수송실험.

- 30시간 수송 후 해수의 수온과 용존산소(DO)는 용존산소측정기(LAQUA DO120, 한국)를 이용하였으며, 암모니아는 휴대용 분광광도계(DR1900, 한국)를 이용해 측정하였음(그림 2-1-131).



그림 2-1-131. 수송 후 수질 측정.

- 실험 결과는 수온에 따른 수송 후 생존율, DO, 암모니아의 결과를 비교하여 정리하였으

며, 실험 결과에 대한 통계처리는 SPSS 통계 패키지(version 21.0)를 이용하여 one-way ANOVA test를 수행하였고 사후검정은 Duncan's test를 이용해 평균간 유의성을 검정하였음($P < 0.05$).

(4) 대왕범바리의 수온에 따른 용존산소량(DO) 및 암모니아, 생존율 비교분석

- 수온에 따른 수송 후 용존산소량(DO) 조사 결과 15°C는 3.5 ± 1.6 mg/L, 20°C는 4.2 ± 1.1 mg/L, 25°C는 5.1 ± 0.4 mg/L로 수온이 증가할수록 용존산소량은 높아지는 경향이 나타났으나, 통계적으로 실험구 간에 유의한 차이는 없었음($P > 0.05$, 그림 2-1-132).

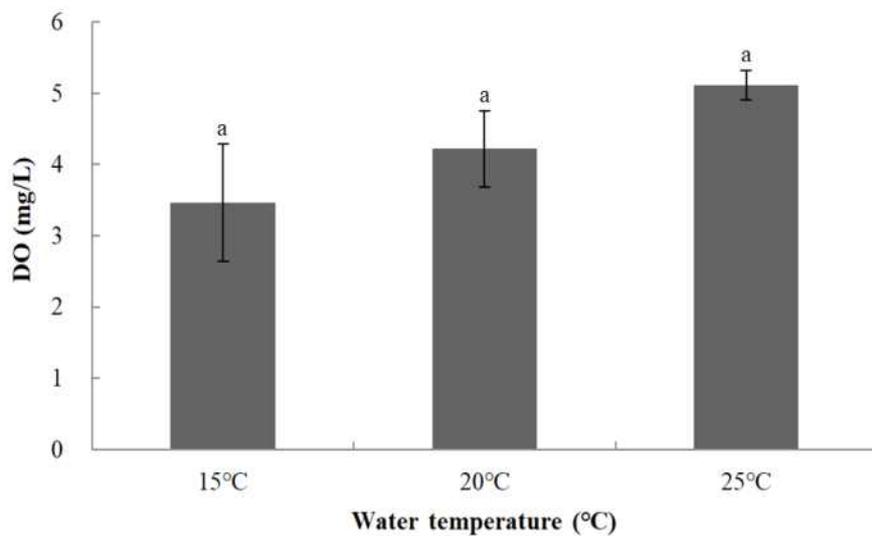


그림 2-1-132. 수온에 따른 수송 후 용존산소.

- 수온에 따른 수송 후 암모니아 조사 결과 15°C는 5.7 ± 0.5 mg/L, 20°C는 7.6 ± 0.5 mg/L, 25°C는 8.23 ± 0.4 mg/L로 수온이 증가할수록 암모니아의 농도는 높아지는 경향을 보였으며, 15°C 실험구와 20°C, 25°C 실험구간에 통계적으로 유의하게 높은 차이를 보였음($P < 0.05$, 그림 2-1-133).

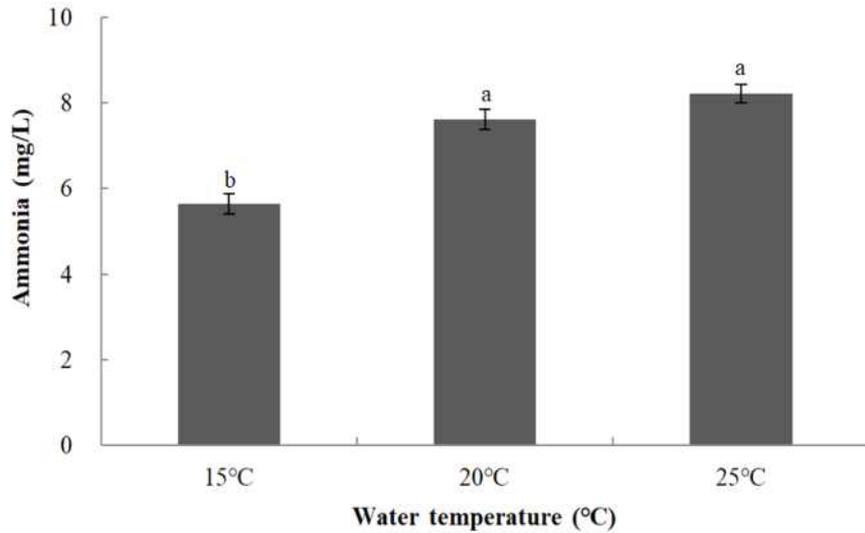


그림 2-1-133. 수온에 따른 수송 후 암모니아.

- 수온에 따른 수송 후 생존율 조사 결과 15°C는 89.5±7.0%, 20°C는 100.0±0.0%, 25°C는 99.8±0.5%로 15°C 실험구와 20°C, 25°C 실험구 간에 통계적으로 유의하게 높은 차이를 보였음($P<0.05$, 그림 2-1-134).

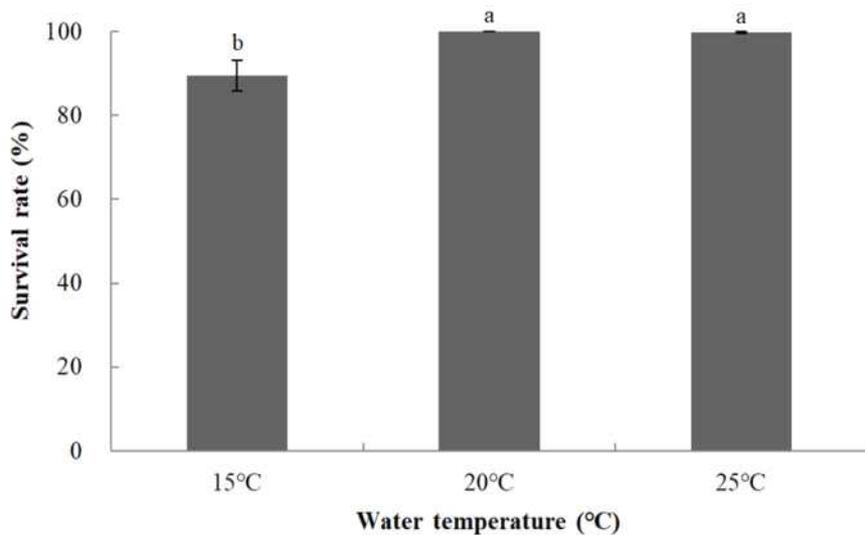


그림 2-1-134. 수온에 따른 수송 후 생존율.

- 대왕범بار리 치어의 수송 비용 절감을 위해서는 무게를 줄이는 것이 중요하며, 또한 수송 과정에서 발생하는 스트레스로 인한 폐사 개체를 최소화하는 것이 중요함. 수온에 따른 수송 후 용존산소(DO) 조사 결과 15~25°C에서 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 저수온 구간에서 대왕범바리의 생존율이 89.5±7.0%로 20°C와 25°C 실험구에 비해 더 낮은 결과를 보였음. 암모니아 농도의 경우 15°C에서 5.7 mg/L으로 가장 낮은 결과를 보였으나, 폐사율이 가장 높은 것으로 나타남. 이는 암모니아의 농도보다 수온으로 인

한 스트레스로 생존율이 낮은 것으로 판단됨. 따라서 대왕범بار리 치어 수송 시 수온 20°C에서 포장하여 운반하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났음.

(5) 치어 대량 수송을 위한 한계 수온 측정 및 수온별 스트레스 분석

- 수송 시 대사 활동성을 낮추기 위해 수온을 일반 사육 수온보다 수온을 낮춰 수송하기 때문에, 대왕자바리를 대상으로 한계 수온을 파악하고 수온의 변화에 따라 스트레스 척도를 분석함.

(가) 한계 수온 실험 설계 및 샘플링

- 대왕자바리의 저온 자극 내성 정도를 확인하기 위해 수온 하강 정도를 달리하여 특정 구간별로 채혈하였으며, 실험어는 어체중 227.2 ± 3.4 g를 30마리씩 사용하였으며, 특정 구간별로 채혈을 통해 cortisol과 glucose 및 GOT와 같은 혈액 분석에 사용함. 모든 실험어는 실험 전 실험수조(직경 50 cm, 250 L)로 이동하여 실험 초기 수온에서 24시간 이상 순치하여 실험에 사용함(그림 2-1-135).



그림 2-1-135. 수온 조절 실험에 사용된 유수식 실험수조.

- 실험은 25°C부터 시작해 8시간마다 1°C 낮춰 대왕자바리가 폐사하는 한계 수온을 파악하였으며, 25, 17, 9°C 세 온도 구간에서 채혈하였음. 다른 실험조건은 27°C부터 시작해 1시간마다 1°C씩 수온을 낮추는 실험군과 5시간마다 5°C씩 하락하는 실험군을 비교하였으며, 27, 22, 17, 12°C 네 온도 구간에서 채혈 및 조직샘플하였음(그림 2-1-136).



그림 2-1-136. 수온 조절 실험에 사용된 대왕자바리 실험어(좌)와 채혈(우).

- 수조 당 30마리씩 3 반복 2회의 실험을 진행하였으며, 이에 따라 총 실험어는 한 실험군 당 180마리를 사용함. 대왕자바리의 폐사는 9°C부터 시작됐으며, 수온이 낮아질수록 대왕자바리의 움직임이 느려졌으며, 9°C에서는 총 180마리 중 58마리만 살아남아 폐사율이 68%였으며, 8°C에서는 2개체만 생존함(그림 2-1-137).
- 대왕자바리의 한계 수온은 폐사가 발생하지 않은 지점인 10°C로 판단되며, 대부분 활동성이 없으며 호흡 활동 또는 지느러미 움직임이 미비해 폐사 및 생존 여부를 파악하기 위해서는 외부자극을 통해서만 확인 가능하여 판단에 어려움이 있음.

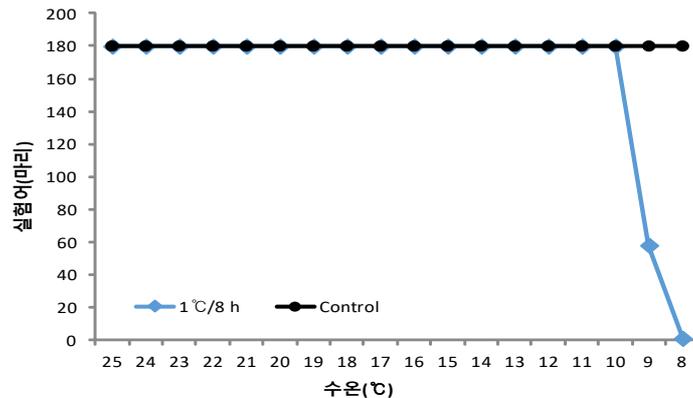


그림 2-1-137. 수온에 따른 대왕자바리의 폐사 패턴.

(나) 혈액 분석

- 각 온도 구간별로 실험어를 사육 수조에서 각각 3마리씩 무작위로 채집하여 150ppm Tricaine-s (MS-222, Syndel)로 마취한 후, heparin sodium 처리된 주사기 (3mL, 바늘 23G)를 사용하여 미부혈관으로부터 채혈하였으며, 원심분리(5°C, 4,000 rpm, 10 min)하여 얻은 혈장은 cortisol 분석용과 glucose, liver function test 용을 각각 나눠 분주하여 분석 전까지 -80°C의 초저온 냉동고에 보관하였음.
- 혈장의 glucose와 liver function test는 국립수산과학원 남해수산연구소에서 건식생화학 분석기(FUJI DRI-CHEM 4000i, Japan)로 측정하였음(그림 2-1-138).

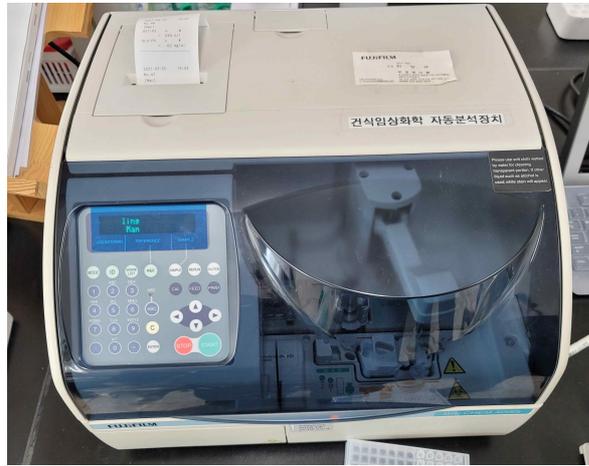


그림 2-1-138. Glucose 및 GOT 분석에 사용된 키트(좌)와 건식생화학분석기(우).

- 혈장의 cortisol 농도는 Fish cortisol ELISA Kit(Cusabio, China)로 아래와 같이 진행하였음(그림 2-1-139).

- ① Antibody(1x) 시약을 개봉 전에 원심분리를 하여 100배 희석(Antibody 10 μ l + Antibody Diluent 990 μ l).
- ② HRP-conjugate(1x) 시약을 개봉 전에 원심분리하여 100배 희석(HRP-conjugate 10 μ l HRP-conjugate Diluent 990 μ l).
- ③ Wash Buffer(1x) 농축액의 결정이 완전히 녹을 때까지 부드럽게 혼합한 뒤 Wash Buffer Concentrate (25x) 20mL를 증류수에 희석하여 Wash Buffer (1x) 500mL를 준비.
- ④ Standard 시약은 개봉 전에 10,000rpm에서 30초간 원심분리 후 1.0mL의 Sample Diluent를 첨가하여 표준시약을 만들고 최소 15분간 부드럽게 교반 시킴.
- ⑤ 1.5mL tube 6개에 Sample Diluent를 각 tube에 150 μ l씩 첨가, Stock solution 사용하여 4-fold dilution series를 제작한 뒤, 각각 tube 별로 완전히 용액을 혼합하고, 10 ng/ml는 high standard로 사용되고, Sample Diluent는 zero standard(0 ng/ml)으로 사용함.
- ⑥ 사용될 각 웰에 50 μ l standard와 sample을 넣고, Antibody(1x) 50 μ l를 즉시 추가하여 피펫으로 잘 섞거나 플레이트를 60초 동안 부드럽게 흔들어 혼합함.
- ⑦ 혼합된 플레이트는 37 $^{\circ}$ C에서 40분간 incubate를 실시함.
- ⑧ 제작된 Wash Buffer를 활용하여 각 웰에 200 μ l를 넣고, 2분간 방치함(각 단계의 용액을 완전히 제거하여 정확한 결과값을 도출하는 것에 효과적), 이 단계를 3회 반복 시행함.
- ⑨ 100 μ l HRP-conjugate(1x)를 각 웰에 추가한 뒤, 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubate 함.
- ⑩ 8번 단계의 washing 과정을 5회 반복함.
- ⑪ 90 μ l의 TMB Substate를 각 웰에 추가하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 incubate하고, 이때 플레이트는 빛으로부터 완전히 차단함.
- ⑫ 각 웰에 50 μ l의 Stop Solution을 추가하고 5-10회의 반복 피펫팅을 통해 완전히 혼합함.
- ⑬ 실험이 완료된 후 Epoch TM Microplate Spectrophotometer(BioTek, U.S.A)을 활용하여 450nm, 540nm, 570nm를 각각 측정함.

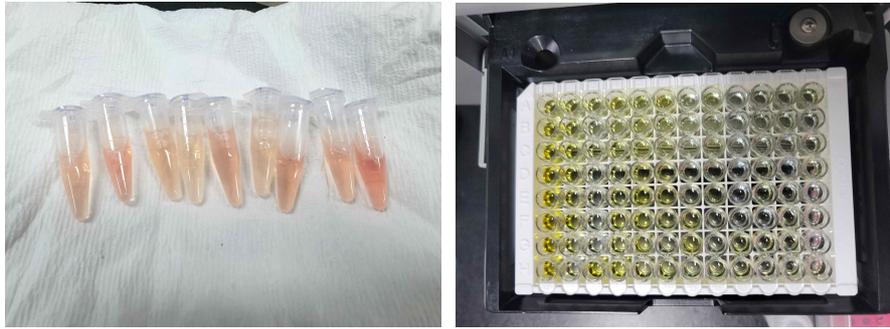


그림 2-1-139. 채혈한 혈액으로부터 분리한 혈장(좌)과 Epoch를 이용한 cortisol reading(우).

- 혈액 분석 결과, cortisol, glucose, GOT 모두 27°C에서 22°C보다 높게 나타나 성장이 빨랐던 고온에서 스트레스를 받고 있음을 확인하였으며, 22°C에서 스트레스 척도가 모두 가장 낮았다가 수온이 내려갈수록 cortisol, glucose, GOT가 모두 점차 높아짐.
- Cortisol 의 경우, 5시간마다 5°C씩 수온을 낮춘 실험구가 1시간 1°C씩 낮춘 것보다 cortisol 값이 더 높게 나타났으며, 특히 12°C에서는 급격하게 5°C를 낮춘 실험구가 2배 이상 높았으며, 1시간에 1°C씩 낮춘 실험구의 경우 17°C와 12°C 간 유의한 차이는 ($p < 0.05$)는 없었음.
- Glucose는 27°C가 각각 66.5 ± 4.2 , 59.0 ± 4.7 mg/dl로 34.3 ± 1.2 , 23.7 ± 0.8 mg/dl인 22°C보다 유의하게 높았으며($p < 0.05$), 5시간마다 5°C씩 수온을 낮춘 실험구보다 1시간마다 1°C씩 낮춘 실험구가 17°C에서 12°C로 낮추는 구간에서 급격히 증가하였음.
- GOT는 선행연구보다 전체적으로 높게 나타났으며, 실험 샘플 간 편차가 커 22°C를 제외하고 유의한 차이를 보이지 않았음. GOT는 간에 축적되어 주로 만성 스트레스를 평가하는 척도로서 본 실험에서는 20시간 안에 진행되어 적합한 스트레스 척도가 아닌 것으로 판단됨(표 2-1-71).

표 2-1-71. 수온 변화 정도에 따른 스트레스 척도(cortisol, glucose, GOT) 분석

	Cortisol (ng/mL)		Glucose (mg/dl)		GOT* (U/L)	
	5°C/5 hours	1°C/1 hour	5°C/5 hours	1°C/1 hour	5°C/5 hours	1°C/1 hour
27°C	3.3 ± 0.3	3.3 ± 0.2	66.5 ± 4.2	59.0 ± 4.7	319.0 ± 32.1	321.3 ± 31.1
22°C	2.5 ± 0.3	2.9 ± 0.4	34.3 ± 1.2	23.7 ± 0.8	120.0 ± 18.0	176.3 ± 15.2
17°C	13.5 ± 1.5	10.7 ± 2.0	54.3 ± 5.8	35.0 ± 8.2	325.7 ± 27.5	313.3 ± 27.7
12°C	20.3 ± 2.7	8.3 ± 3.8	81.7 ± 5.2	80.7 ± 6.4	478.7 ± 51.2	346.0 ± 47.3

*GOT : Glutamic oxaloacetic transaminase

5. 해외 생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매

가. 해외 생산 및 판매기지 구축

- 베트남 Research Institute of Aquaculture No. 3 (RIA3)와 2017년 3월 24일 협력을 위한 최종 MOU를 체결하였으며, RIA3 소유의 육상수조 및 노지 등을 활용하여 바리과 어류 친어를 수용하였고, 우량종자를 시험 생산 시행함. 베트남 현지에서 생산한 우량종자는 수송에 따른 비용 등을 절감할 수 있고, 환경변화에 대한 적응력이 높아 판매가 용이하므로 현지 생산 및 국내에서 생산한 종자의 해외 판매기지를 위한 거리상 장점이 있음. 또한 인도네시아 바탐에 참여기업인 제주대해(주)에서 바리과 양식을 위한 진출을 하였으며, 이를 지원하여 종자생산 및 수출에 성공함.
- 위탁 프로젝트 기관인 (주)아쿠아바이오텍의 베트남 현지 투자법인 설립을 통한 바리과 어류 친어 확보 및 수용 후 우량종자 생산
- 베트남 현지에서 생산한 우량종자는 수송에 따른 비용 등을 절감할 수 있고, 환경변화에 대한 적응력이 높아 판매가 용이하므로 현지에서 생산 및 판매를 위한 해외 생산 및 판매기지 구축
- 1차년도 참여기업인 제주대해(주)에서 인도네시아 바탐에 바리과 양식 진출을 하였으며, 종자 생산기술 및 예산을 지원하여 현지에서 수요가 높은 대왕범바리 및 꼬리큰점범바리 생산(20만 마리) 및 판매기지로 활용함.

(1) 인도네시아

- 2017년 3월 15일 제주대해(주)의 현지 투자법인 Pt. Dae Hae Seng과 국제 공동연구 양해각서 합의각서(MOU)를 체결하였음(그림 2-1-140)
- 생산기지는 인도네시아 바탐섬에 있으며 해상가두리, 유수식·육상·사각 수조에서 관리 및 성숙 유도 예정임(그림 2-1-141)
- 인근 국립수산 연구기관(MDC, Mariculture Development Center)과 유기적 협력 체제를 구축하고 관련 연구진들과 지속적인 수출 성과를 도출하기 위한 논의 및 향후 계획을 협의하였음

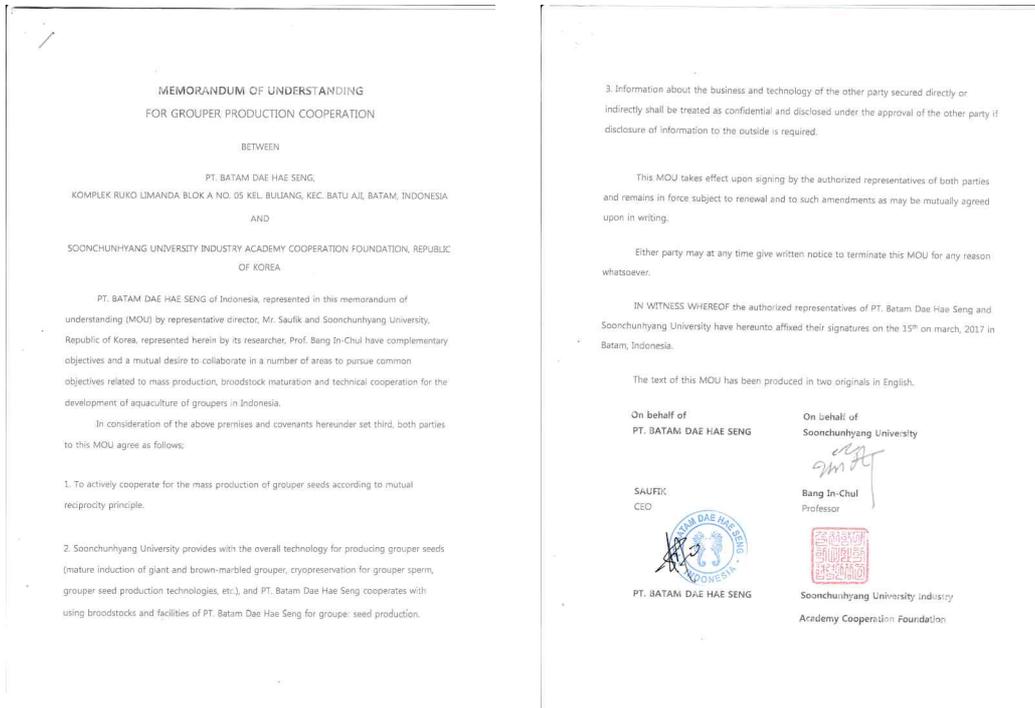


그림 2-1-140. PT. Dae Hae Seng (대해성) MOU.

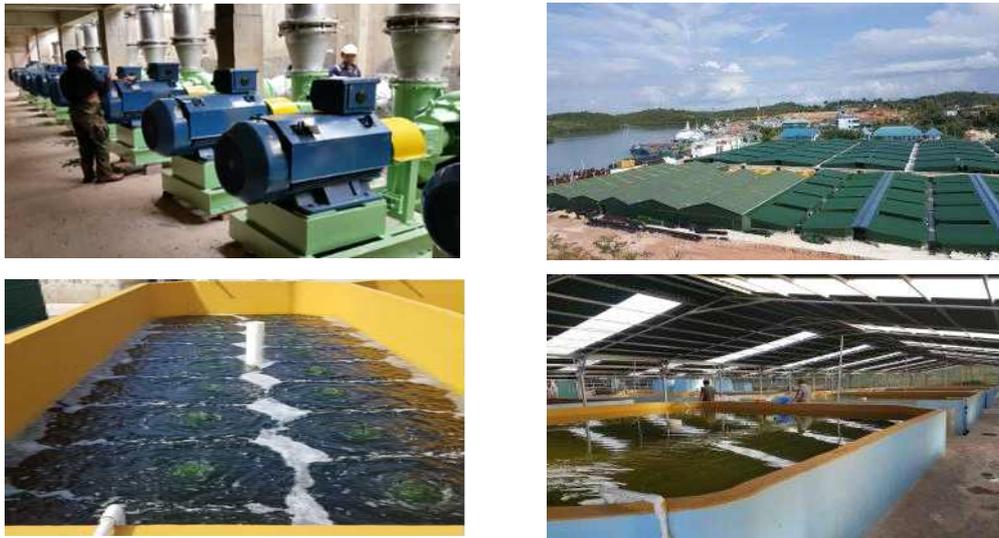


그림 2-1-141. Pt. Dae Hae Seng 시설 및 사육 수조.

(2) 베트남

- 2016년 10월 7일 베트남 나트랑 지역의 Research institute for aquaculture No. 3 (RIA 3)와 국제 공동연구 양해각서 합의각서(MOU)를 체결하였음(그림 2-1-142, 그림 2-1-143).
- 산하의 Mariculture Research and Development Centre (MRDC) 등을 방문하여 관련 연구진들의 자문의견을 교류하였고 이후 현지 양식장을 방문하여 사육 현황 및 환경, 주요 양식 종 등을 조사하였음.



그림 2-1-142. 베트남 RIA3와 양해각서(MOU) 체결.

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING

between

Research Institute for Aquaculture No. 3,
Ministry of Agriculture and Rural Development,
Socialist Republic of Vietnam

and

Group Culture Research Project Team,
Soonchunhyang University, Republic of Korea

The purpose of this Memorandum of Understanding (MOU) is to enhance mutually cooperative relationship between the Research Institute for Aquaculture No. 3 (hereafter, RIA-3) of Vietnam and the Soonchunhyang University (SCH) of Korea in the fields of R&D and technical transfer through exchange of research staff, development of co-project as well as knowledge share for new technology.

Within the framework of the regulations applying in each parties, and subject to the availability of resources, the following programs and activities will be encouraged:

- A) Exchange of research staff for further cooperation and technical transfer. SCH can host a higher education program for the RIA-3 staff if requested.
- B) Joint research activities for any upcoming project will be cooperated by agreement in scope of research plan and availability of facilities in RIA-3.
- C) Exchange of information, publications, and other teaching materials also jointly participate to the seminars, conferences and academic meetings.

The specific areas and details of cooperation within the frame of this agreement shall be discussed and agreed upon in writing notice prior to the initiation of any particular program or activity. These will be constituted in detail at the addendum of this Memorandum of Understanding.

Both parties understand that all financial arrangements will have to be discussed in cooperative manner and decided by the availability of project budgets from both parties.

This agreement will be in effect from the date of the last signature made and for the period duration with 2 years. On the understanding that subjects to revision or renewal, it may be renewed upon each expiry by mutual agreement between the signatories of the Memorandum, or their nominees. Either party may terminate this Memorandum at any time by giving not less than six months notice in writing.

(Dr. Nguyễn Văn Hùng)

Director of Research Institute for
Aquaculture No. 3.

Date: 2014. 7. 10

(Prof. In-Chul Bang)

Department of Life science and
Biotechnology, Soonchunhyang University

Date: 2014. 7. 10

그림 2-1-143. RIA3와 양해각서(MOU) 체결 사본.

- 해외 시험생산기지로 베트남 나트랑의 Dao Ly Seafood와의 임대차계약을 통해 확보된 친어 관리 및 연구를 진행할 수 있도록 함(그림 2-1-144, 그림 2-1-145).
- 직경 10m 수조 4개, 직경 5m 수조 6개, 3.5m 원형 수조 12개와 해상가두리 4×4 10개에서 관리 가능하며 노지는 향후 사용 예정임(그림 2-1-146).



그림 2-1-144. Dao Ly Seafood 임대차계약서.

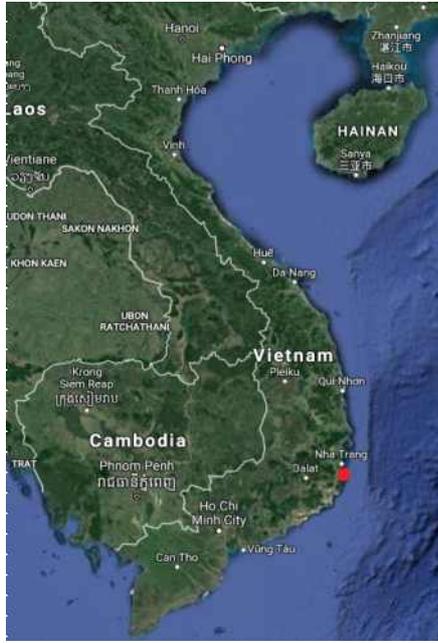


그림 2-1-145. 베트남 해외기지 위치 및 전경.



<직경 5m 원형 수조>



<직경 10m 친어관리수조>



<저수조>



<친어 운반용 자재>

그림 2-1-146. 활용 가능한 베트남 현지 시설.

나. 해외 생산기지 친어 확보

- 해외 수요가 많은 대상종인 대왕바리, 갈색점바리 및 무늬바리 등을 대상으로 2세부의 계획에 따라 인근 해역 또는 국가에서 수집 가능한 친어자원을 확보하였으며, 친어관리 는 국내에서의 방법 및 아열대 환경인 말레이시아에서의 친어관리 방법을 혼용하여 관 리하였음.
- 친어확보 주 대상종은 교잡품종 대왕범바리(갈색점바리♀ × 대왕바리♂) 생산을 위한 순 종 대왕바리와 갈색점바리이며, 인근 해역 또는 해당 국가에서 수집 가능한 갈색점바리 등 교잡종 생산을 위한 바리과 어류를 수집하여 친어자원으로 확보함. 친어 성숙 유도 및 관리를 위해 온도조절 시스템(적정온도 유지를 위한 가온 또는 냉각시설 필요)을 구 축하며 사료 및 호르몬을 등을 이용한 성숙 유도를 진행함.

(1) 인도네시아

(가) 친어 확보 및 관리

- 인도네시아 현지의 친어 확보는 대왕바리, 갈색점바리를 대상으로 수행하였음.
- 친어로 활용 가능한 갈색점바리 40마리, 대왕바리 20마리 확보 및 관리 중임(그림 2-1-147).
- MDC 갈색점바리 친어는 가두리와 육상수조, 육상 가온 수조에 나누어 사육 중이며, 모든 사육조건 내의 암컷 친어의 성숙도를 확인한 결과 난경이 150~200 um로 성숙이 완벽하게 이루어지지 않은 상황이었음.
- 인도네시아 MDC에서 먹이생물에 대한 정보 부족으로 필요한 영양소 공급이 원활하지 못했으나, 향후 성숙에 유리한 생먹이 및 첨가제 등을 제공하여 양질의 수정란을 얻을 것으로 판단됨.
- MDC는 현재까지 자연 산란 유도에만 의존하였으며, 산란 유도 호르몬을 이용한 대량 생산 또는 교잡 종자생산을 성공한 바 없었고, 이에 따라 호르몬 주사, 세란, 먹이, 먹 이첨가제 등에 대한 다양한 논의를 진행하였음.



그림 2-1-147. 친어 관리 및 성숙 유도.

(나) 종자생산

① 바탐 MDC 갈색점바리 친어 성숙도 확인 및 성숙 유도

- 인도네시아 situbondo에 위치한 Eljaya 양식장으로부터 꼬리큰점바리 정액을 확보하였고 바탐 MDC로부터 대왕바리 정액을 구매해 바탐섬에 있는 Dae Hae Sung으로 운반하여 활성도를 확인한 후 ELS3+12% DMSO를 이용해 동결보존하였음(그림 2-1-148).
- luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)를 주사한 결과 24시간 만에 성숙란 크기가 500 μm 까지 증가하였음. 이후 ovaprim을 주사하고, 12시간, 20시간, 24시간 간격으로 성숙란 크기를 확인한 결과 800~820 μm 까지 증가하여 호르몬 효과를 보임.
- 총 3,000cc의 성숙란을 확보하여 수정란 생산을 시도하였으나, 난황의 발달이 최종 성숙단계까지 도달하지 못하였음.



그림 2-1-148. 대왕범بار리 및 꼬리큰점범بار리 종자생산을 위한 채정 및 채란.

② Dae Hae seng 갈색점바리 친어 성숙도 확인 및 성숙 유도

- Dae Hae seng 갈색점바리 친어의 성숙도 조사 결과 성숙란 크기가 420~500 μm 로 ovaprim을 주사하고 24시간 후에 500~550 μm 까지 증가하였으며, 주사 36시간 후에는 720~780 μm 까지 증가하였음.
- 주사 48시간 후에 채란을 시도하였으나, 바탐 MDC 친어와 같이 난황의 발달이 최종 성숙단계까지 도달하지 못하였음.

③ 종자 현황

- 현재 Dae Hae Seng에서 사육 중인 꼬리큰점범바리, 대왕범바리 치어는 약 30여만 마리이며, 수출 판매를 위하여 집중 관리 중임(표 2-1-72, 그림 2-1-149).

표 2-1-72. 인도네시아 꼬리큰점범بار리 및 대왕범بار리 종자 현황

	크기(cm)	수량(마리)
꼬리큰점범바리	13~14	84,000
	10~12	95,000
	3~4	20,000
대왕범바리	8~9	42,000
	4~6	73,000



그림 2-1-149. Pt. Dae Hae Seng에서 사육 중인 치어.

(2) 베트남

(가) 친어 확보 및 관리

- 베트남 현지의 친어 확보는 대왕바리, 갈색점바리, 무늬바리를 대상으로 수행하였음.
- 확보한 친어는 베트남 나트랑으로 수송 후, 직경 10m의 수조와 4×4m 해상가두리에 수용 후 생사료를 공급함.
- 대왕바리 11마리(4월), 갈색점바리 220마리(5월), 무늬바리 80마리(5월)의 친어를 확보하여 Dao Ly Seafood Co.에서 관리 중임(그림 2-1-150).
- 먹이는 현지 수산시장 등에서 전갱이류의 어류를 구매하여 공급함.

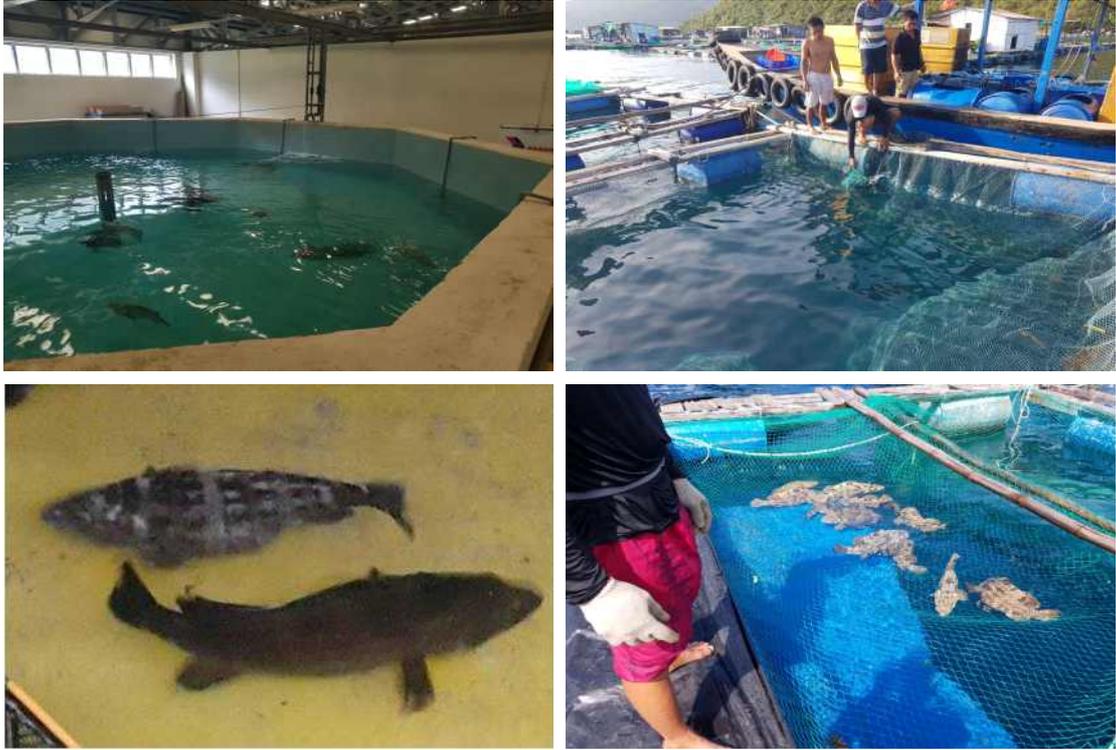


그림 2-1-150. 확보된 베트남 친어 관리.

(나) 종자생산

- 확보된 친어 중 수컷 대왕바리에서 성공적으로 채정된 정액 50 mL를 동결보존함(그림 2-1-151).
- 채정된 정자는 ASW (Artificial sea water)를 1:100 비율로 자극하여 광학현미경으로 운동성을 관찰
- 6월 22일 대왕범바리 수정란 1kg 구매 후 관리하였으나, 전량 7일 내로 폐사
- 갈색점바리 친어의 채란 및 난질 확인 후 약 3,000CC의 대왕범바리 수정란 생산을 시도하였으나, 수정이 되지 않음(그림 2-1-152).



그림 2-1-151. 수컷 대왕바리 채정 및 동결보존.



그림 2-1-152. 갈색점바리 cannulation을 통한 성숙유무 파악 및 채란.

(3) 해외 꼬리큰점바리 및 대왕바리 정액 동결보존

(가) 꼬리큰점바리 채정 동결정액 제조

- 인도네시아 시투본도(Situbondo, Indonesia)에 위치한 Eljaya 양식장에서 사육 중인 꼬리큰점바리 친어 4마리로부터 정액을 확보하였으며, 활성도는 활동 개체 수의 비율에 따라 5단계로 구분하고 0~4의 등급으로 운동성을 평가하여 확인하였음(표 2-1-73). 활성도 확인 후 그루퍼의 정자를 희석액(ELS3)과 1:1로 혼합하였고(표 2-1-74) 내부 동해방지제 양(DMSO)은 희석액 혼합량을 기준으로 12% 이내로 사용해 전처리 과정을 끝낸 정자는 각각 0.5 ml의 Straw에 밀봉하여 액체질소 증기 -76℃에 2분간 노출시킨 뒤 -196℃ 액체질소에 침지시켜 급속 동결 보존하였음

표 2-1-73. 정자의 운동성 등급

	Motility classes				
	0	1	2	3	4
Forward sperm (%)	0	25	50	75	100

표 2-1-74. ELS3 용액의 구성

Ingredient	ELS3
Glucose	92.46 mM
NaCl	171.12 mM
NaHCO ₃	5.95 mM
FBS	10 %

(나) 꼬리큰점바리 채정 및 동결정액 제조 결과

- 인도네시아 시투본도(Situbondo, Indonesia)에 위치한 Eljaya 양식장에서 사육 중인 꼬리큰점바리 친어 4마리로부터 22 ml의 정액을 확보하였으며(그림 2-1-153), 바탐섬에 있는 Dae Hae Sung으로 운반하여 활성도를 확인한 결과 3~4의 운동성을 가진 것으로 나타났으며, 확인 후 ELS3+12% DMSO를 이용해 동결보존하였음. 총동결보존량은 500 ul 스트로우 100개, 1 ml vial 32개로 20 ml 분량을 액체질소 탱크에 보관하였으며, 현재 동결정액의 80%를 보존하고 있음.



그림 2-1-153. 꼬리큰점바리 정액채취.

(다) 대왕바리 채정 및 동결정액 제조

- 바탐 Mariculture Development Centre (MDC)에 사육중인 대왕바리 4마리로부터 정액을 확보하였으며, 활성도는 활동 개체 수의 비율에 따라 5단계로 구분하고 0~4의 등급으로 운동성을 평가하여 확인하였음(표 2-1-68). 활성도 확인 후 그루퍼의 정자를 희석액(ELS3)과 1:1로 혼합하였고(표 2-1-69) 내부 동해방지제(DMSO) 양은 희석액 혼합량을 기준으로 10%로 사용해 전처리 과정을 끝낸 정자는 각각 0.5 ml의 Straw에 밀봉하여 액체질소 증기 -76°C에 2분간 노출시킨 뒤 -196°C 액체질소에 침지시켜 급속 동결 보존하였음.

(라) 대왕바리 채정 및 동결정액 제조 결과

- 바탐 Mariculture Development Centre (MDC) 에서 사육 중인 대왕바리 친어 4마리로부터 100 ml의 정액을 확보하였으며(그림 2-1-154.), Dae Hae Sung으로 운반하여 활성도를 측정한 결과 2~4의 운동성을 가진 것으로 나타났음. ELS3+10% DMSO를 이용하여 동결보존하였음. 총동결보존량은 500 ul 스트로우 90개, 1 ml vial 24개로 16 ml 분량을 액체질소 탱크에 보관하였음. 동결 이후 정자의 활성도는 2~4의 운동성을 가진 것을 확인하였으며, 현재 동결정액의 80%를 보존하고 있음.

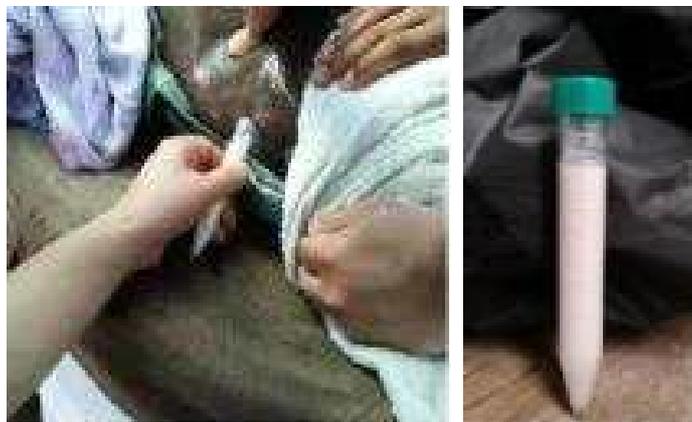


그림 2-1-154. 대왕바리 정액채취.

다. 베트남 종자 대량생산 및 판매기지 확보

(1) 임대 관련

- 육상배양장 임대를 위한 Tuy Hoa, Ving Ninh, Caqm Ranh 지역 양어장 현장 조사하였고 Vang Gia, Cam Ranh 지역 노지 양식장 적지 조사하였음(그림 2-1-155).
- 이미 확보한 친어(대왕바리)관리를 위해 2018년 4월 2일 Kahn hoa 지역의 Nihn Hoa 시에 있는 DAO LY seafood production 해상가두리를 임대하였고, 친어 산란유도와 수정란 생산을 위해 육상배양장은 Nha Trang 시에 있는 RIA3 MRDC 를 임대하였음(그림 2-1-156, 2-1-158).
- (주)아쿠아바이오텍 연구원과 임대한 배양장과 가두리 관리를 위해 베트남 현지 직원 2명을 고용하여 현장을 운영함.
- RIA3와 DAO LY seafood production에서 부화 수조 11개, 종자생산 수조 20개, 양성 수조 1개 해상가두리 (그물 16개) 등 시설을 확보하였고, 저 수소, 먹이생물 생산시설, 여과 시설, 기타 수조 등은 공동으로 사용함(그림 2-1-157, 2-1-159).

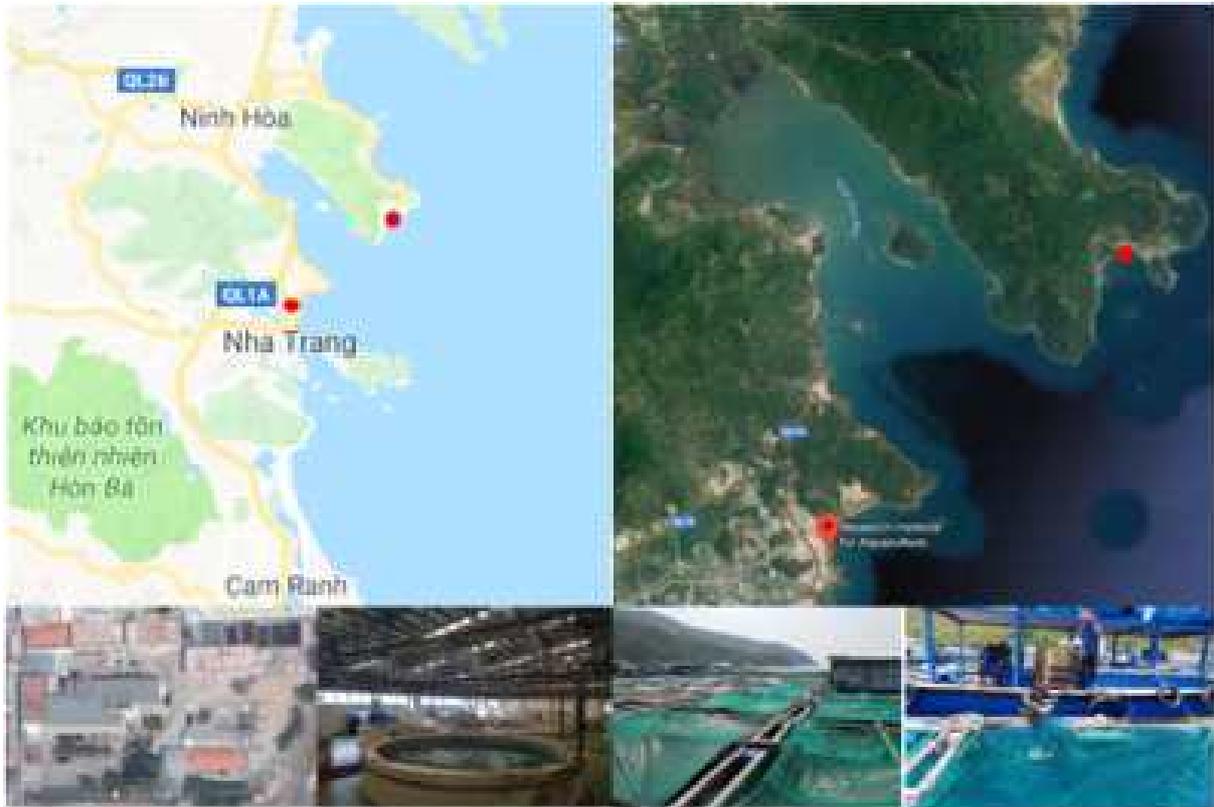


그림 2-1-155. 베트남 RIA3와 DAO LY seafood production 해상 가두리 위치.

FACILITY LEASE AGREEMENT	
THIS FACILITY LEASE (hereinafter "Lease") made as of the Mariculture Research and Development Center, Viet Nam by and between In-Chul Bang, Aqua BioTech Co., Ltd., Korea (hereinafter "Lessor")	
WITNESSETH For the valuable consideration set forth hereunder, the parties covenant and agree as follows:	
Article 1. Agreement to Lease and Purpose Subject to the terms of this Lease, Lessor hereby agrees to lease to Lessee and Lessee hereby agrees to lease from Lessor a "To establish a sustainable aquaculture industry for groupers in Vietnam through the development of seed production and larval-rearing technologies and storing giant grouper sperm," located at Mariculture Research and Development Center, Viet Nam which is use as facilities by Lessee's employees.	
Article 2. Term of Lease A. The initial term of the Lease shall be <u>nine</u> calendar months commencing on <u>02-April-2018</u> . (Commencement Date) and ending on <u>31-December-2018</u> .	
Article 3. Lease amount A. Total amount for facility lease is <u>30,000,000 KRW</u> for twelve calendar months B. A rental fee is paid to the following account; <u>VICTCOMBANK, 0061000613774</u> .	
Article 4. Performance of contract A. Both parties will set up a working group to plan and perform project following objectives and activities of project proposal B. Function and responsibility of working group include planning, organizing, control all activities during the contract period	
Lessor: (name)	In-Chul Bang, Aqua BioTech Co., Ltd. (signature) 
Lessee: (name)	Truong Quoc Thai, Mariculture Research and Development Center (signature) 
02 - April - 2018	

[Attachment: Lease facility details and maintenance]

1. Lease facility details

A. Land base tanks

Function	Size	Amount (no. of tanks)
a. Seed production	∅ 5m×1.5m (cylindrical tanks)	5
	∅ 3m×1.5m (cylindrical tanks)	6
b. Grow out	2m×4m×1m (rectangular tanks)	20
c. Brooder management	∅ 8m×4m (200 tons) (cylindrical tanks)	1

B. Sea cages

Function	Size	Amount (no. of cages)
a. Grow out	3m×3m×3m (rectangular cages)	10

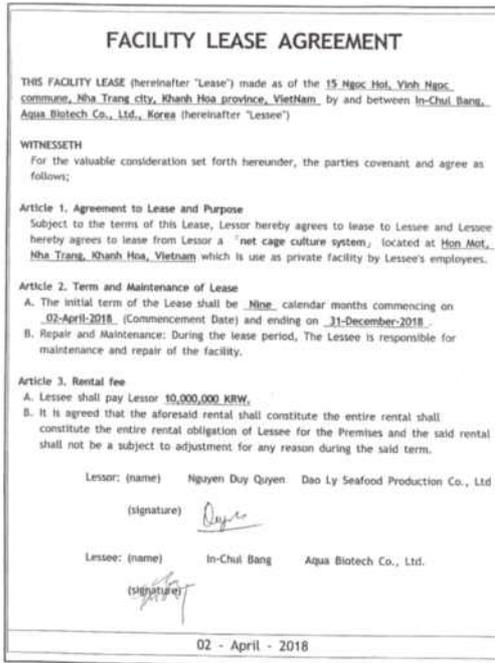
2. Facility maintenance responsibility

- A. Lessee provide any and all equipment (pumps, air-blower, inlet and outlet pipelines, etc.) necessary for its own use.
- B. Damages to any facility are to be paid by lessee immediately after determination of replacement or repair costs, reasonable wear and damage acceptable.

그림 2-1-156. 베트남 배양장 계약서.



그림 3-1-157. RIA3-MRDC 육상시설과 해상가두리, Nha Trang.



[Attachment: Lease facility details and additional costs charge]

1. Lease facility details (sea cages)

Function	Size	Amount (no. of cages)
a. Grow out	1.4m×4m×3m (rectangular cages)	6

2. Facility maintenance responsibility

- A. To provide any and all equipment (nets, etc.) necessary for its own use.
- B. Damages to any facility are to be paid by lessee immediately after determination of replacement or repair costs, reasonable wear and damage acceptable.

3. Additional costs charge

- A. Lessee pay labor and feed costs for fish and facility management.

그림 2-1-158. 베트남 가두리 임대계약서.



그림 2-1-159. DAO LY seafood production 해상가두리, Nihn Hoa.

라. 해외 생산기지 운영을 통한 기업진출 홍보

- 국내기업 (주)제주대해에서는 인도네시아를 거점으로 해외 시장으로 진출하기 위해 올해 5월 인도네시아 바탐섬(싱가포르에서 1시간)에 인도네시아 투자법인 Pt. Batam Dae Hae Seng을 설립한 후, 약 3,000평 부지에 1,537평의 종자장을 완공하고 운영 중(그림 2-1-160)
- 현지 투자법인 Pt. Batam Dae Hae Seng은 전문 육성 기업으로서 종자 중간 육성뿐만 아니라 종자생산을 위한 기술개발에 박차를 가하고 있음. 본 프로젝트에서는 기술이전을 실시하였고, 현지의 바리과 어류 산란 유도 및 교잡수정란 대량생산과 관련하여 성숙 유도 및 대왕바리, 꼬리큰점바리(현지 선호 교잡종 생산 목적) 정액의 동결보존 등 기술지원 진행
- Pt. Batam Dae Hae Seng은 현지에서 선호하는 바리과 어종인 대왕범바리(갈색점바리와 대왕범바리의 교잡종)와 꼬리큰점범바리(갈색점바리와 꼬리큰점바리의 교잡종)를 대상으로 종자 육성 중이며, 1, 2월에는 대왕범바리 12천마리와 105천마리를 생산하여 현지 판매하여 약 15,375, 25,156달러를 수출하는 성과를 달성함. 매월 5만 마리 이상을 목표로 종자생산 및 판매하고 있음(그림 2-1-161).
- Pt. Batam Dae Hae Seng은 해상가두리를 제작하여 본 프로젝트에서 기술을 이전한 친어 성숙유도 기술을 바탕으로 친어관리를 하고 있으며(그림 2-1-162), 지형저감기술을 위한 노지 양식장을 개발하고 있음(그림 2-1-163).
- 한국의 바리과 종자생산 기업으로서 현지 판매 및 종자생산 성공사례를 통한 국내기업 해외 진출 사례로 2018년에 홍보계획 중에 있음.
- 중국 하이난 지역으로 2020년 1월 연구원(권성민, 우인기)을 파견하여 중국 생산기지를 설립하고 우량종자를 생산하여 해당 연구내용인 신품종 우수성 홍보를 수행할 계획이었으나, 해양시설 임대계약 직후 COVID-19로 인해 파견 연구원이 전원 철수하여 생산기지 구축을 하지 못하고 본 연구내용 수행도 미달성함.



그림 2-1-160. Pt. Batam Dae Hae Seng의 육상종자배양장 전경 및 인공위성사진.



그림 2-1-161. Pt. Batam Dae Hae Seng의 종자 판매.



그림 2-1-162. Pt. Batam Dae Hae Seng 가두리.



그림 2-1-163. 인도네시아 노지 양식장 후보지.

마. 해외 생산기지 운영을 통한 생산 및 판매

- 1차년도 참여기업은 제주대해(주)에서 인도네시아 바탐에 바리와 양식 진출을 하였음. 따라서 인도네시아 현지에서 수요가 높은 대왕범بار리 및 꼬리큰점범바리에 대한 종자 생산기술 및 예산을 지원하여 우량종자 생산 및 판매기지로 활용함(그림 2-1-164).
- PT. BATAM NARA INDONESIA로 17년도 1회, 18년도 23회, 꼬리큰점범바리 총 144,500마리, 대왕범바리 230,200마리를 수출하였음(표 2-1-75). 18년도 11~12월에 걸쳐 각각 50,000마리씩 추가 수출 예정으로 당초 판매목표보다 높은 수출실적을 보임(그림 2-1-165).



그림 2-1-164. 육상수조에서 육성 중인 판매 대상 우량종자.

표 2-1-75. 인도네시아 우량종자 판매 실적

No.	Date	Name	Size (cm)	Quantity	price (Rp)	Amount (Rp)
1	17.12.21	대왕범بار리	14	4,800	18,000	86,400,000
2	18.01.04	꼬리큰점범بار리	13	10,000	16,714	167,142,857
3	18.01.23	꼬리큰점범بار리	13	12,000	16,714	200,571,429
4	18.01.24	대왕범بار리	14	7,500	18,000	135,000,000
5	18.01.27	꼬리큰점범بار리	12	17,000	15,429	262,285,714
6	18.01.29	꼬리큰점범بار리	12	16,000	15,429	246,857,143
7	18.02.03	꼬리큰점범بار리	12	15,000	15,429	231,428,571
8	18.02.06	꼬리큰점범بار리	12	15,000	15,429	231,428,571
9	18.02.13	꼬리큰점범بار리	12	8,000	15,429	123,428,571
10	18.02.20	꼬리큰점범بار리	12	12,500	15,429	192,857,143
11	18.07.01	꼬리큰점범بار리	19	9,000	22,800	205,200,000
12	18.07.02	꼬리큰점범بار리	16	16,000	19,200	307,200,000
13	18.07.10	꼬리큰점범بار리	15	14,000	18,000	252,000,000
14	18.07.24	대왕범بار리	15	5,900	18,000	106,200,000
15	18.08.31	대왕범بار리	9	40,000	8,100	324,000,000
16	18.08.31	대왕범بار리	13	16,000	14,300	228,800,000
17	18.08.31	대왕범بار리	14	14,000	15,400	215,600,000
18	18.10.05	대왕범بار리	8	16,000	7,200	115,200,000
19	18.10.10	대왕범بار리	9	11,000	8,100	89,100,000
20	18.10.10	대왕범بار리	8	15,000	7,200	108,000,000
21	18.11.20	대왕범بار리	9	32,000	8,100	259,200,000
22	18.11.21	대왕범بار리	8	21,000	7,200	151,200,000
23	18.12.29	대왕범بار리	9	15,000	8,100	121,500,000
24	18.12.30	대왕범بار리	8	32,000	7,200	230,400,000
Total				374,700		4,590,999,999



그림 2-1-165. 대왕범بار리, 꼬리큰점범بار리 판매실적 invoice.

6. 국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축

가. 국내외 유통업체와 협력체계 구축

- 해외 기지를 구축한 베트남에서 수출 및 내수판매를 위한 현지 유통업체인 ‘Quang Sang Seafood’와 MOU를 맺었으며, 제주대해(주)의 인도네시아 현지 투자법인 Pt. Dae Hae Seng의 종자 유통업체와 치어 매매계약을 통한 협력체계를 구축하였음.
- 해외 생산기지 및 국내 참여기업에서 생산된 바리과 우량종자의 원활한 판매를 위해 구축된 유통채널과의 종자생산 후 판매단가 조정과 판매업체 추가확보를 통한 협력체계를 구축하여 판매촉진
- 유통업체 조양수산식품을 통해 4차년도 수출을 진행하지 못한 대왕자바리 2t(25,000마리), 46,0천 원 수출계약을 진행하고 있으나 수출물류비 폭등 등의 문제로 수출이 지속적으로 지연되고 있음(그림 2-1-166).

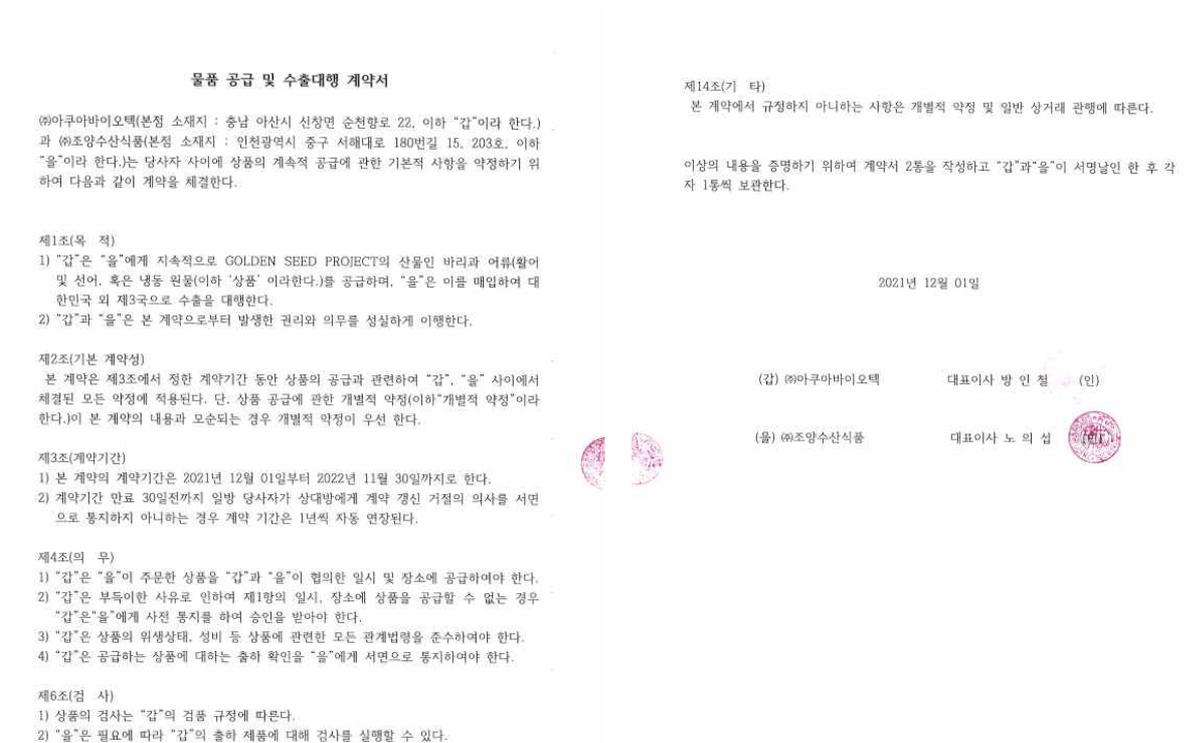


그림 2-1-166. 조양수산식품 수출대행계약서

(1) 베트남 Quang Sang Seafood

- 2017년 1월 18일 종자 유통시장 구축을 위한 현지 생산 및 유통업체(Quang Sang Seafood)와 MOU 체결(그림 2-1-167)
- 업체 노지 활용 등 종묘 생산에 관한 협의와 향후 종묘 유통에 관한 협력체계를 구축

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING
FOR GROUPER MARKETING COOPERATION

BETWEEN

QUANG SANG SEAFOOD Limited Company,
294 Nguyen Trong Ky, Cam Loi, Cam Ranh, Khanh Hoa, VIETNAM

AND

GROUPER RESEARCH PROJECT TEAM,
SOONCHUNHYANG UNIVERSITY, REPUBLIC OF KOREA

Quang Sang Seafood Limited Company of Vietnam, represented in this memorandum of understanding (MOU) by CEO, Mr. Phan Kieu Sang and Soonchunhyang University, Republic of Korea, represented herein by its Professor, Dr. In-Chul Bang have complementary objectives and a mutual desire to collaborate in a number of areas to pursue common objectives related to marketing, exporting and technical cooperation for the development of aquaculture of groupers in Vietnam.

In consideration of the above premises and covenants hereunder set forth, both parties to this MOU agree as follows;

1. To cooperate on nursery culture of grouper seed and basements for introduction and exchange of advanced production technologies and attraction of investment to grouper culture in Vietnam.
2. To cooperate on marketing of grouper seed produced from Korea through importing.
3. To collaborate with best effort of each party in order to marketing for purpose of effective publicity and sale of Korean grouper seed
4. To execute separate agreements in writing for any particular undertaking to be jointly implemented, wherein responsibilities and activities of each party shall be specified and such agreements shall be made as Appendix to this MOU in due course.

This MOU takes effect upon signing by the authorized representatives of both parties and remains in force subject to renewal and to such amendments as may be mutually agreed upon in writing.

Either party may at any time give written notice to terminate this MOU for any reason whatsoever.

IN WITNESS WHEREOF the authorized representatives of Quang Sang Seafood Limited Company and Soonchunhyang University have hereunto affixed their signatures on the ___day of January, 2017 in Nha Trang, Vietnam.

The text of this MOU has been produced in three originals in English.

<p>On behalf of Quang Sang Seafood Ltd. Co.</p>  <p>Phan Kieu Sang CEO</p>	<p>On behalf of Soonchunhyang University</p>  <p>Sang Bong Han Researcher</p>
--	--



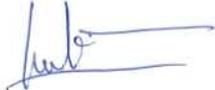
<p>On behalf of Quang Sang Seafood Ltd. Co.</p>  <p>Phan Kieu Sang CEO</p>	<p>On behalf of Soonchunhyang University</p>  <p>Sang Bong Han Researcher</p>
---	--

그림 2-1-167. Quang Sang Seafood와 MOU 체결.

(2) 인도네시아 Pt. Batam Nara Indonesia

- 2017년 인도네시아 종자 유통시장 구축을 위한 현지 생산 및 유통업체인 Pt. Batam Nara Indonesia와 유기적인 관계를 유지하며 해당 기업과 종자 수출 시행(그림 2-1-168)

치어 매매 계약서

매수인 PT. Batam Nara Indonesia (이하 '갑'이라 한다)와 매도인 PT. Dae Hae Seng (이하 '을'이라 한다)은 다음과 같이 치어 공급 기본계약을 체결한다.

제 1조 [매매 품목]

품명	규격	수량	단가	금액	비고
Kerapu Canggih	15 cm	32,000	₩ 2,000 / 마리	₩ 64,000,000	할인 20%
Kerapu Canggih		18,000		₩ 36,000,000	
Total		50,000		₩ 100,000,000	

제 2조 [거래 방법]

갑은 을이 요구하고 있는 치어의 상태를 확인하여 문제가 없음을 확인한 후 갑이 지정한 장소로 을은 치어를 제공한다.

제 3조 [치어 가격]

- 을이 갑에게 제공하는 치어의 판매가격은 제 1조에 정한 가격으로 한다.
- 필요한 경우 갑과 을은 상호 합의하여 치어의 수량과 가격을 조정할 수 있다.

제 4조 [수출 인도]

- 갑은 치어인도 후쿠발 5, 말린채치 5을에게 치어 인도를 요청한다.
- 갑은 치어 인수 즉시 영인입검을 포함한 치어 인수증을 을에게 교부한다.

제 5조 [대금결제]

갑은 치어 인수증을 받은 날로부터 1개월 내에 치어 대금을 지급한다.

제 6조 [계약기간]

이 계약의 유효기간은 '갑'과 '을'의 합의까지 존치한다.

제 7조 [기타]

본 계약에 관하여 이견이 발생할 경우, 양측은 상호합의에 의하여 해결하기로 한다.

효력시효

본 계약에 대하여 계약당사자는 이미 알음을 확인하고 서명 날인한 후, 각자 1통씩 보관한다.

2017년 05월 26일

매수인	주 소	Pukuh Nipah, Jemberan II, Setroko, Bulang, Batam, Kepulauan Riau, Indonesia
사업자번호		3310310114449
회사명		PT. Batam Nara Indonesia
대표이사		김영민 박종민 서민
매도인	주 소	Pukuh Nipah, Jemberan II, Setroko, Bulang, Batam, Kepulauan Riau, Indonesia
사업자번호		3310310114449
회사명		PT. Dae Hae Seng
대표이사		김영민 이준민 서민

PT. BATAM DAE HAE SENG

Kantor Pusat: Lantai 25, BDA A No. 1, Jln. Aji - BATAM - INDONESIA
Telp: +62 78 822261 No. +62 78 822262 E-mail: sales@batamnara.com

INVOICE

Bill to: PT. BATAM NARA INDONESIA
Jl. Jemberan II, Bulang, Batam, Kepulauan Riau, Indonesia
No. 3310310114449
Telp: +62 78 822261

NO	DATE	ITEM NAME	SIZE	QTY	UNIT PRICE	AMOUNT
1	8 Jun 2017	Kerapu Canggih	15cm	32,000	₩ 2,000	₩ 64,000,000
2	8 Jun 2017	Kerapu Canggih	15cm	18,000	₩ 2,000	₩ 36,000,000
3	8 Jun 2017	Kerapu Canggih	15cm	2,000	₩ 2,000	₩ 4,000,000
Total						₩ 104,000,000
						After Discount (20%)
						Rp 83,200,000

Page: 1/1

BANK DETAILS

Bank: PT. BATAM DAE HAE SENG
Bank Branch: PT. BATAM DAE HAE SENG
Bank Account: PT. BATAM DAE HAE SENG
Bank Account Number: PT. BATAM DAE HAE SENG
Bank Branch: PT. BATAM DAE HAE SENG
Bank Account: PT. BATAM DAE HAE SENG

PT. BATAM DAE HAE SENG

PT. BATAM NARA INDONESIA

그림 2-1-168. Pt. Batam Nara Indonesia와의 치어 매매계약서 및 invoice.

나. 바리과 어류 주요 생산 및 소비국가 시장동향 파악

- 주요 바리과 생산 및 소비국가 중 베트남을 대상으로 문헌조사(통계자료, 시장 규모, 판매단가 등) 인적 네트워크 활용, 현지 자료조사 등을 병행하여 시장동향을 파악하였음. 그리고 양식생산량 변화추이 통계자료로부터 종자 수요를 예측하였음.

- 주 수출 대상 국가군(중국, 대만 등)을 대상으로 시장조사를 계획하였으나, COVID-19로 인해 수출 판매가 어려워져 참여기업을 지원해 내수판매를 적극적으로 지원하였음. 이에 따라 해외 시장뿐만 아니라 국내 신제품 및 종자 시장도 동시에 파악할 필요가 있어 국내시장 및 해외수출 판매전략을 수립함.

(1) 베트남 - 해외 생산국가

- 베트남의 인구는 세계 15위로 약 1억 명에 달하며 베트남의 GDP(\$)는 2010년에는 112.771, 2011년 134.598, 2012년 155.565, 2013년 170.565, 2014년 185.897로 19.4, 15.6,

9.6, 9.0% 성장률을 보였으며, 2017년도 베트남 경제 성장률은 약 6.3% 수준임(World bank).

- 베트남은 꾸준한 경제 성장률과 잠재력을 보여주고 있으며 인구와 함께 경제 성장으로 내수시장이 점차 커지고 있음.
- 바리과 어류의 주요 소비국은 홍콩이며, 동시에 주 수출대상국 역시 홍콩이기 때문에 운송비용을 고려할 때 지역적으로 베트남은 유리한 위치에 있음.
- 특히 MOU를 맺은 RIA3가 위치해 있으며, 베트남 주요 지역 양식 현황에서 바리과 어류 양식에 가장 적합하다고 판단된 지역인 나트랑 인근 지역은 홍콩과 무역을 하기에 굉장히 지리적으로 유리한 위치에 있음(그림 2-1-169).



그림 2-1-169. 바리과 어류 주요 시장인 홍콩과 해외 생산기지 대상 및 기타 동남아 국가.

(2) 베트남 종자 유통구조 조사

- 베트남의 바리과 양식생산량은 약 6,500t 정도로 추정되나, 현지의 종자생산 보급률은 매우 낮아 20%에 머물고 있음.
- 따라서 80%에 해당하는 종자를 외국에서 수입하여 중간 육성하여 판매하거나 또는 양식업체가 수입 등록업체에 의뢰하여 간접 수입하는 방법을 따르고 있음. 수입 등록업체에 의뢰하면 3개월의 수입 허가 기간에 건당 100만 원의 수수료를 요구하고 있음(그림 2-1-170).
- 인도네시아산 종자는 자국의 양식업 보호를 위해 인도네시아 수산해양부 장관이 수출 금

지령을 내린 적도 있어, 품질이 낮은 종자가 수입되어 수입 후 7~8 cm까지의 생존율이 50% 정도임.

- 대만에서의 수정란 수입 또한 베트남 정부에서 한시적으로 제한하여 금지된 일도 있어 장기적으로 친어를 대량으로 확보하여 안정적으로 수정란을 생산하는 체계가 아니면 대량 종자생산이 한계에 이를 것임.
- 베트남 현지의 종자 단가는 7 cm의 경우 1,000-1,200원 정도로 다른 국가에 비해 높은 편이나 북부지방(하이퐁 인근 해역)은 겨울철 수온이 낮아 남쪽 지방에 비해 조기 종자 수요가 많음.
- 현지 생산 -> 현지 수출하는 것이 수익성이 높을 것이나, 국내에서 생산하여 수출하는 것도 고려하여야 함.



그림 2-1-170. 베트남의 바리와 종자 유통체계.

(3) 베트남 주요 지역 양식 현황

- 베트남 주요 지역 양식 현황에 대한 자료 수집은 직접 방문 조사 위주로 시행했으며, 지역은 north east, south central, south east, mekong delta 총 4구역으로 나누어 지역 수산업체 및 유통업자들의 자문을 통한 정보 수집을 진행하였음(그림 2-1-171).
- 베트남 현지의 종묘 공급은 자연산 채포와 국내 생산 및 수입 종묘로 이루어져 있으며, 그중 자연산 채포 종묘의 경우는 수급의 불안정성과 입식 후 순치 과정에서의 폐사의 문제점이 있고, 국내 생산의 경우는 종묘 생산 업체의 영세성과 기술력 부족으로 인한 대량 우량 종묘 생산의 한계를 가지고 있음. 따라서 대다수의 종묘를 수입에 의존하고 있는 실정.

- 베트남 현지 기지구축에 있어서 가장 우선시 되어야 할 현재 환경요건에 대한 조사를 수행함과 동시에 주변 유해 환경 요소를 고려한 조사를 수행함. 또한 베트남 정부의 지역 개발 계획에 의한 향후 토지 사용 제한으로 인한 불이익에 대비한 정부 정책 방향에 대한 조사도 병행하여 진행함으로써 향후 베트남 현지 기지구축에 필요한 환경적인 요소와 행정적인 면을 고려한 적지 조사를 진행하였으며, 특히 열대 지방의 특성상 건기와 우기 환경의 변화가 심한 상황을 고려하여 우기철의 환경적인 특성이 중요하였고, 현지 기지구축 적지를 결정하기 전에 해당 지역의 계절별 정확한 기후 파악이 선행되어야 할 것으로 판단됨.
- 수출실적을 달성하기 위해서는 현지 정부 기관의 행정적인 지원이 필요한 부분은 인정되나 실질적인 생산 및 유통 사업을 수행하는 데는 절차상의 비효율성과 수익사업에 대한 인식 부족이 존재, 그래서 독자적인 운영체계의 사업장이나 현지 민간업체와의 협업 형태의 회사설립이 절실히 요구됨.



그림 2-1-171. 베트남 주요 지역 양식 현황; 1-North east (Quang Ninh, Hai Phong), 2-South central (Phu Yen, Khanh Hoa), 3-South east (Ba Ria Vung Tau), 4-Mekong delta (Kien Giang, Phu Quoc).

(가) 베트남 지역별 양식환경 여건

① North east (Quang Ninh, Hai Phong) 지역

- RIA1 소재 육상시설 및 가두리가 있으며 육상시설은 종묘배양장으로 활용하고 있고 종묘배양장의 대상 종은 바리과 어류, 코비아, 굴 등이 있음(그림 2-1-172).
- 주로 양식 어종은 갈색둥근바리를 하고 있으며, 대왕범바리는 폐사가 많아 생존율이 낮다는 평이 주를 이루지만 대량생산 시도 계획 중임.
- 가두리는 친어관리 및 채란 용도로 사용하며, 가두리의 주 대상 어종으로는 바리과 어류 순종 및 교잡종, 코비아, Asian sea bass 등이 있음. 인근 수심은 작은 섬들을 끼고 있어서 약 8~10 m로 깊지 않으며, 수색은 우리나라 남해안과 비슷. 10~2월 노지의 수온은 16℃까지 떨어짐.



그림 2-1-172. North east area 가두리 양식장 및 RIA1 연구소.

② South central (Phu Yen, Khanh Hoa) 지역

- 노지 및 종묘배양장이 주를 이루며, 전체 노지의 35%는 바리과 어류양식을 하고 있음(그중 55%는 갈색등근바리 양식, 그림 2-1-173).
- 주요 대상은 대왕범바리와 갈색등근바리이며 연간 약 1,500t의 바리과 어류가 생산됨. South central 지역은 저밀도 양식을 주로 하고 있으며, 질병 및 충이 거의 없음.
- South central 지역에만 약 600~700개의 양식업체가 있음. 대표업체로 Quang sang seafood가 있으며, 갈색등근바리와 대왕범바리를 대상으로 노지 15 ha에서 100t을 생산하고 있음. 홍콩과 광저우를 대상으로 6~70t의 활어 선박 수출을 하고 있음(그림 2-1-174).

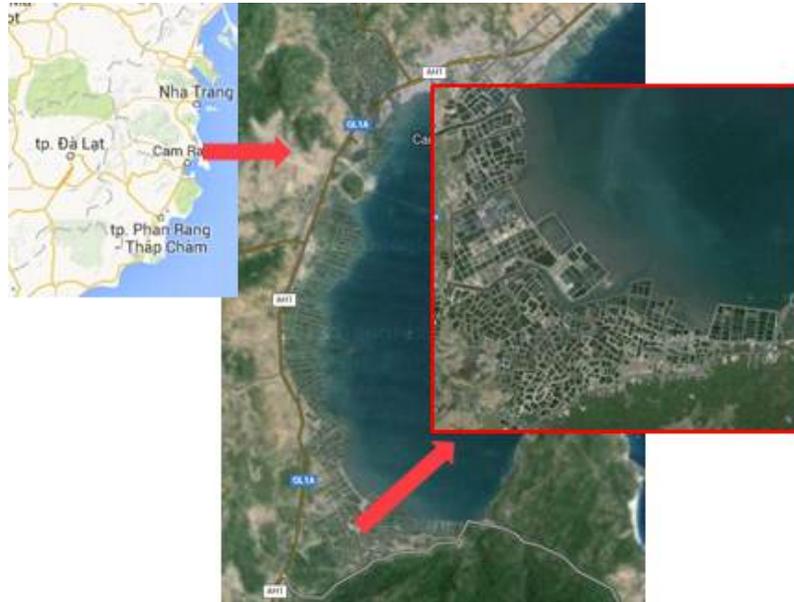


그림 2-1-173. South central 지역의 바리과 어류를 생산하는 노지 양식장 인공위성사진.



그림 2-1-174. Quang sang seafood 노지 및 종묘배양장(육상수조).

③ South east (Ba Ria Vung Tau) 지역

- 오폐수로 인한 호찌민 지역의 강, 하천 오염이 극심하여 인근 해역까지 영향이 미칩. 우기에 오염물질이 대량 증가하며, 태풍의 영향권에 있음.
- 가두리와 노지 양식을 하고 있으며, 가두리는 농어와 코비아, 노지는 새우양식을 하고 있음. 쓰엉 산맥에서 시작되는 담수의 유입으로 수온과 염분이 낮아지기 때문에 가두리에서 바리과 어류양식은 불가능함(그림 2-1-175).



그림 2-1-175. South east (Ba Ria Vung Tau) 지역 지도 및 가두리 양식장 위성사진.

④ Mekong delta (Kien Giang, Phu Quoc) 지역

- 베트남 정부에서 베트남의 마카오 관광단지로 개발 추진 중인 지역이라 양식보다는 리조트 등을 통한 관광산업이 발전하고 있음(그림 2-1-176).
- 환경적으로는 바리와 어류양식에 적합하지만 섬이라는 제한적인 특성상 물류와 시장 접근이 어려움. Mekong delta 지역에서는 성장이 빠른 이유로 대왕범바리의 요구가 많음. 현지 타지역 어민들의 주요 자연산 친어 확보 지역으로 활용되고 있음. 생산된 수산물은 주로 내수용으로 호찌민 등에 공급됨.



그림 2.1-176. Mekong delta (Kien Giang, Phu Quoc)의 위성사진 및 지도.

(나) 베트남 양식 현황 종합평가

① 시장 규모 및 생산 유통

- 전체 6,500t(Petersen et al., 2015)
- 현재 바리과 어류 주요 양식 대상은 green grouper
- 현지에서 Hybrid grouper 양식을 희망하나, 기술력과 양질 수정란 확보체계가 확립되지 못한 실정
- Hybrid grouper 생산 공급이 가능할 시 주요 양식 대상을 대체 가능성 큼
- 현재 내수시장 약 2,000t 규모. 베트남 경제 성장에 따른 향후 고급 어종 수요가 기대됨.
- 수출시장 약 4,500t
- 주요 소비 시장인 홍콩 및 중국(광저우, 상해 등)과 인접
- 수출에 용이한 지리적인 이점(냐짱)
- 적합한 양식환경(태풍, 적조 없음)

② 양식 현황

- 현재 종묘 수급은 자연산 포획과 수입(대만, 태국 등)
- 국제 규제 강화로 인한 자연산 포획 감소
- 정부 정책하에서 인공 증·양식 지원 증가
- 종묘 수입 의존량 감소와 자국 내 생산량 증가를 원하나 기술력 부재
- 종묘 공급량 연간 약 3~400만 마리

③ 종묘 수급

- 종묘 가격 증 약 20% 운반비용(대만 6cm, 150원/마리) 발생
- 우수한 종묘 확보의 어려움
- 질병 감염 및 운반 스트레스 등으로 인한 낮은 생존율(30%)
- 자연산 종묘 채집은 별도 통계자료 없음

(4) 국내 식품종 및 종자 시장

- 2020년 농림어업총조사에 의하면 국내 양식어가 중 종묘 생산 어가는 278개 가구로, 2015년 551가구 대비 연평균 -13%의 감소율을 보이고 있음. 종묘 생산 어가 뿐 아니라 전체 양식 어가가 감소하였으나, 비중 자체만을 두고 보아도 2015년 3.5%에서 2020년 2.5% 수준으로 감소하였음(그림 2-1-177).

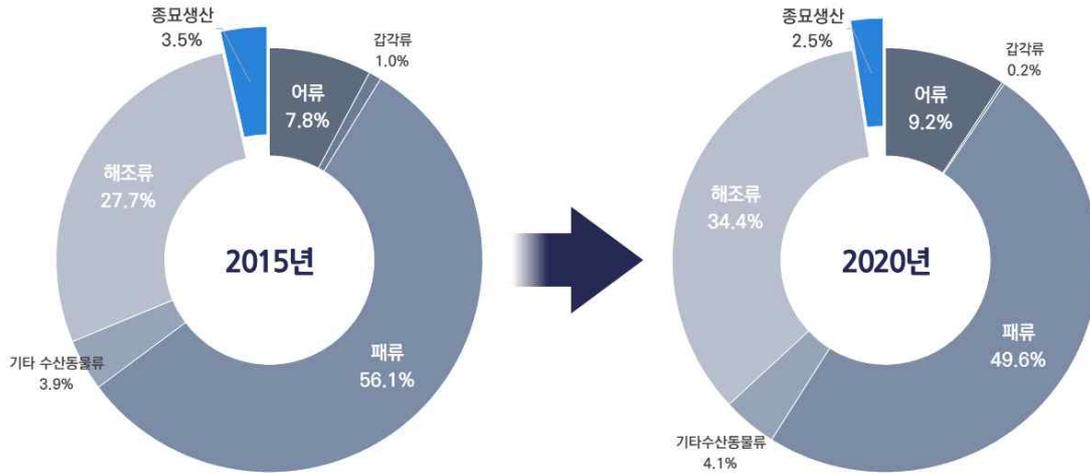


그림 2-1-177. 양식 품종별 어가 현황(통계청, 농림어업총조사, 2021)

- 세계 종자 시장은 621억 달러, 2023년까지 860억 달러 규모로 성장할 것으로 전망되고 있음. 국내 종자산업 규모는 5억 달러 규모로, 이 가운데 수산 종자산업의 규모는 약 4,900억 원 규모임. 이는 세계 수산 종자 시장의 1.3%로 미미한 수준임.
- 수산업 중 양식산업은 발전 가능성이 가장 크다고 평가받으며 세계 각국에서 미래 식량 산업으로서 양식산업에 주목하고 이에 대한 투자를 강화하고 있음. 이러한 양식산업에서의 가장 필수적인 요소도 역시 수산 종자산업이라고 할 수 있음. 일본, 중국, 미국 등 해외 양식 선진국에서는 양식용 종자생산을 위한 품종 개량과 정부 주도형 수산 종자 경영체 관련 정책 추진 등으로 수산 종자산업을 정책적으로 지원하고 있음.
- 농업 종자산업의 경우, 우수한 식품종이 개발되어도 소비자 및 농가는 관행적으로 기존 품종을 선택하는 경향이 있어 시장진입이 지연되는 경우가 많은데, 이는 농가뿐 아니라 어업을 포함한 모든 종자산업에 공통으로 해당하는 문제임.
- 국내에서 유사 어종에 대한 부정적인 인식은 일부 판매처에서 저렴한 어종을 고가 어종으로 속여서 판매하는 문제로 심화하고 있는데, 이는 어종에 대한 소비자 인지도가 매우 낮기 때문임. 그러나 최근에는 어류 시장에서의 정보 불균형으로 인한 소비자의 낮은 구매협상력을 개선하기 위해 수산물 이력제 등 다양한 시도들이 이어지고 있음.
- 최근 ‘하비슈머(Hobby+Consumer)’라는 말이 생길 정도로 취미 중심의 라이프 스타일이 확산하고 있는데, 이와 관련하여 낚시나 요리 등의 분야에 전문가 못지않은 지식을 갖춘 소비자들이 생기면서 정보에 대한 공유와 확산이 활성화되고 있음. 특히 최근 ‘대왕자바

리'와 유사 어종들이 낚시터를 중심으로 공급이 확산하면서 어종에 대한 정보들과 긍정적인 평이 함께 입소문을 타고 있음. 또, 최근에는 콘텐츠 크리에이터나 인플루언서들이 유튜브와 SNS 콘텐츠를 통해 관련 정보를 공유하기도 하는데, 실제로 국내 유명 콘텐츠 크리에이터인 '수빙수tv(구독자 101만 명)', '입질의 추억(구독자 71.8만 명)' 등이 대왕자바리 및 유사 어종에 대한 콘텐츠와 정보를 공유하기도 함(그림 2-1-178).



그림 2-1-178. 온라인 매체에서의 바리과 교잡종(유튜브, 좌-수빙수tv, 우-입질의 추억).

(5) 해외 시장 분석

(가) 해외 수산물 시장 현황

- 수산물은 주요 단백질 공급원으로 소비자에게는 영양 공급 및 식품 소비의 다양성 측면에서, 생산자에게는 안정적인 수입원이라는 측면에서 중요한 품목임.
- 지난 60년간 (1961~2017) 연평균 수산물 소비(3.1%)는 인구 증가율(1.6%)보다 빠르게 증가하였으며, 단백질 섭취원(2.7%) 중에서는 가금류(4.7%)를 제외하고 가장 빠른 성장률을 기록함. 이러한 소비 확대는 수산물 생산 증가를 비롯하여 소득 증가, 가공 산업 및 콜드 체인 등의 유통 산업 발전에 기인함. 건강한 식생활에 관심 증대는 현 수산물 소비를 지속해서 증가시켜 나가는 데 중요한 역할을 할 것으로 기대되며, 제품 수명 주기(Product Life Cycle)상에서도 '성장국면(Growth Phase)'에 놓인 시장으로, 지속적인 성장 여지가 있음(그림 2-1-179).

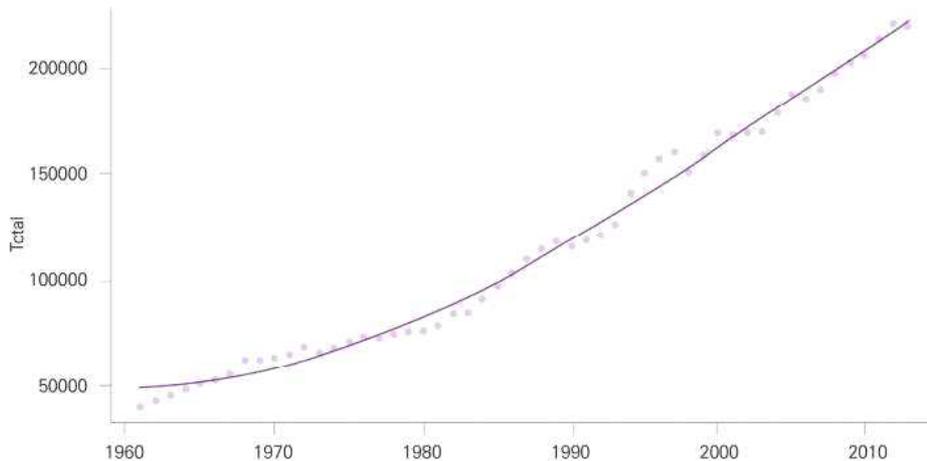
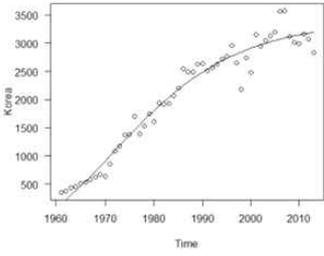


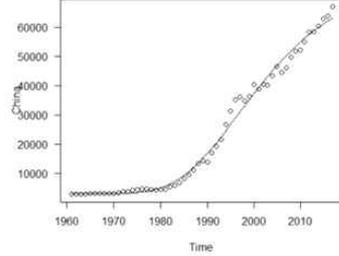
그림 2-1-179. 글로벌 수산물 소비 성장 추세(한국해양수산개발원, 2020).

- 국가별 수산물 소비 시장의 성장 추세는 지리, 경제, 그리고 문화 등에 따라 큰 차이를 보이나, 뚜렷한 소비 성장패턴이 발견되고 있음. FAO에 따르면 전반적으로 개발도상국의 수산물 소비는 ‘증가’하지만, 소득수준이 높은 국가의 수산물 소비는 ‘정체 또는 감소’ 양상을 보이고 있음.
- 동북아시아의 경우 중국 ‘성장’, 한국 ‘정체’, 일본 ‘감소’, 동남아시아는 베트남·말레이시아 ‘성장’, 태국 ‘감소’, 북미는 미국·멕시코 ‘정체’, 캐나다가 ‘감소’, 유럽은 프랑스·이탈리아 ‘정체’, 스페인·영국·독일은 ‘감소’ 양상을 보임. 태국과 같이 일부 차이가 있는 국가도 있으나 전반적으로 FAO(2020)와 유사한 성장패턴이 발견되고 있음(그림 2-1-180).
- 바리과외의 경우 고급 어종으로, 고가 프리미엄 제품 특성상 소득수준이 높은 국가들로 우선 진입하는 것이 안정적이거나, 현재 소득수준이 높은 국가의 수산물 소비가 정체 또는 감소하고 있어서 전략적인 수출전략 수립이 요구됨.

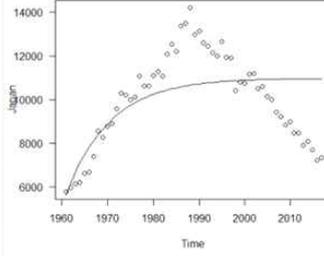
동북아시아



한국

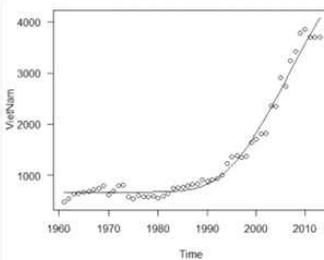


중국

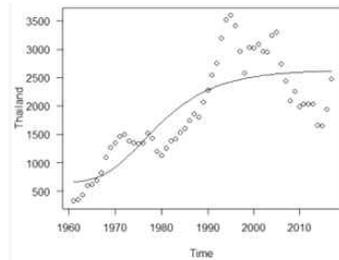


일본

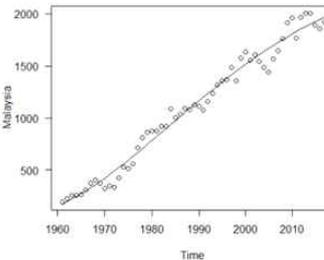
동남아시아



베트남

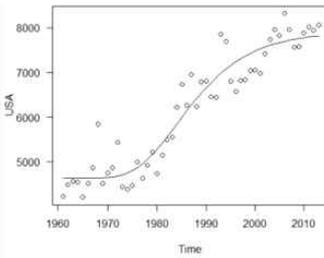


태국

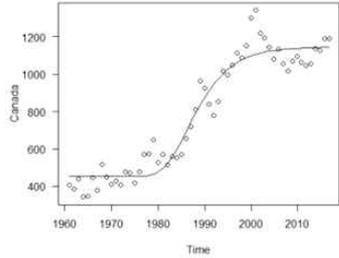


말레이시아

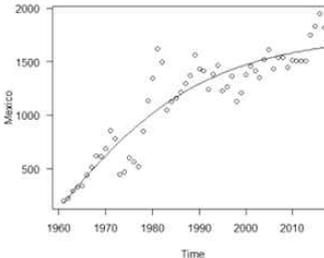
북미



미국

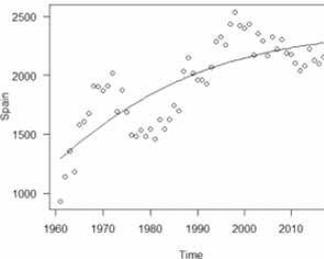


캐나다

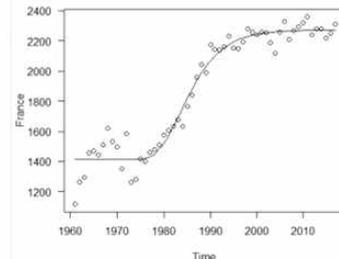


멕시코

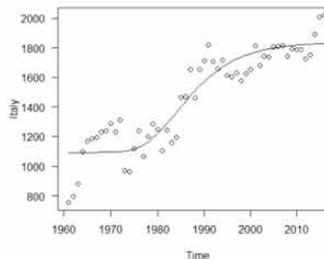
유럽



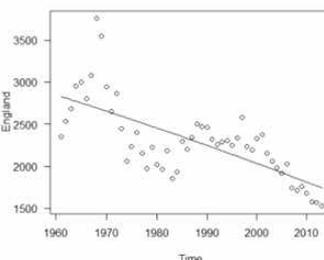
스페인



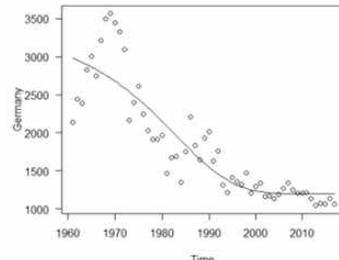
프랑스



이탈리아



영국



독일

그림 2-1-180. 국가별 수산물 소비 성장 추세 (한국해양수산개발원, 2020).

(나) 수출전략

- 수산물 수출시장의 핵심은 안정적인 공급 물량으로, 이는 해외 수출뿐 아니라 국내시장에도 적용됨. 실제로 유통업계나 외식업계에서는 활어보다 양식을 선호하는 경향을 보이는데, 이 역시 수요처에서 안정적인 물량을 주기적으로 공급받고자 하기 때문임. 활어는 수급이 불안정하나, 양식 어류는 상대적으로 일정한 생산이 가능하여 양식을 더욱 선호함. 수산물의 수출은 물류비용 등 추가 비용이 발생하여 내수시장에 집중하는 경향을 보임. 따라서 국내 수급에 따라 수출 물량이 확보되지 않는 경우가 있음.
- 한편, 바리과 어종의 경우 상대적으로 고급 어종으로 능성어는 2017년 7만 달러의 수출을 기록하였으며, 2019년에는 4.3만 달러를 수출하였으나 2020년에는 7천 달러 규모로 수출 규모가 감소하였음. 수출 규모는 크지 않으나, 수출에 참여하는 어가 역시 많지 않다는 점을 고려하면 수익은 높은 편임. 그러나 그림 2-1-181 와 같이 수급이 일정하지 않다는 문제가 있음.



그림 2-1-181. 능성어 수출 현황(관세청, 2021).

- 고가 어류를 소비할만한 미국, 일본 등의 국가로의 수출은 물류비가 상당한 규모로 소요됨. 주로 항공을 이용한 활어의 대미 수출은 물류비용이 수출 원가의 30% 이상을 차지하는 등 문제가 있음.
- 수출대상국은 바리과 어종의 특성상 고가라는 점에서, ①소비 시장이 형성될 수 있을 만한 경제적 수준을 갖춘 국가여야 하며, ②수산물 시장 전망이 좋은 시장일수록 유리함. 또한 ③관세나 물류 등 수출과정에서의 비용 절감이 가능한 국가가 우선 국으로 선정될 필요가 있음.

표 2-1-76. 주요 수출대상국 분석

구분	경제수준*	시장규모**	PLC(소비추세)	관세혜택
일본	A	A	성숙	
미국	A	C	성숙	
중국	C	A	성장	×
대만	B	B	성장	
캐나다	A	C	성숙	×
이탈리아	B	C	성숙	
태국	C	C	성숙	
베트남	D	B	성장	×

*경제수준 : 1인당 GDP 기준

**시장규모 : 1인당 수산물 소비량 기준

- 일본의 경우, 섬으로 이루어진 국가인 만큼, 해산물을 섭취하는 식문화가 발달해 있는데, 세계에서 가장 많은 수산물을 소비하는 국가 중 하나로, 수산물 소비 시장이 매우 크며, 경제 수준도 높은 편임. 그러나 수산물 소비추세를 PLC(Product Life Cycle)에 적용해 보면 성숙기에 있다는 약점이 있음. 실제로 2009년 1인당 수산물 소비량은 55kg 이나, 최근 다소 감소하였음.
- 대만은 바리과 양식 종주국인 만큼 바리과 어종에 대한 대중성이 있을 것으로 판단되며, 최근 경제 수준의 향상과 시장 규모 확대 추세가 기회로 작용할 것으로 판단됨. 대만은 종자 수출 이력이 있는 만큼, 종자 수출의 가능성도 존재함.
- 중국과 캐나다, 베트남은 활어를 기준으로 관세 혜택이 없으며, 캐나다와 베트남에 한해서는 필렛 및 가공 어육의 경우에는 관세가 대폭 축소되고, 중국은 필렛 및 가공육의 관세율이 활어 관세율보다 더 높음.
- 하지만 중국의 경우 전 세계 바리과 시장의 70% 이상을 차지하고 있으며, 생산량이 높은 만큼 수요량도 높아 세계 최대 시장임. 이에 따라 관세 혜택이 없음에도 불구하고 최대 시장(월등한 시장 규모)이라는 이점과 현지에서의 높은 수요량 및 성장하는 소비추세의 이점을 고려하여 우선 대상국으로 판단됨(표 2-1-76).

다. 생산량, 바리와 양식생산 현황 조사

(1) 베트남 수산 현황

- 베트남의 수산업은 1986년 개방 이후 급속히 성장하고 있으며, 어획 생산량은 9,345만 톤(해수 8,155만 톤, 담수 1,190만 톤)으로 해수어 어획 생산량은 중국, 인도네시아, 미국, 러시아 순에 이어 8위(271만 톤)이며, 담수어 생산량은 16위(20만 톤) 수준임. 또 한 양식생산량은 전 세계 7,380만 톤 중 중국(60%인 4,550만 톤)에 이어 인도네시아, 베트남, 방글라데시, 이집트 순으로 3위(364만 톤)를 차지함.
- 베트남의 수산업은 3분야 (천해어업, 내수면어업, 양식)로 나눌 수 있으며, 수산중에서 레크레이션 부분은 관상어 생산만 있을 뿐 아직 개발되지 않고 있음. 천해어업은 수산업 생산 중 가장 큰 비중을 차지하며, 그다음 양식이 차지하고 있음.
- 천해어업은 베트남의 중부 및 최남단 해역에서 가장 많이 이루어지고 있음. 전체 천해어획량의 75% 이상이 Mekong 강 델타에서 생산되므로, 수산업 대부분은 Khanh Hoa 부터 Ca Mau 까지의 베트남 남부지방에 집중되어 있음. 총의 생산량의 절반 이상을 차지하고 있음. 최근 평가에 따르면, 천해어업의 잠재 자원량은 4,200,000t으로 추정하고 있으며, 이중 저서성 어류 850,000t, 소형 원양어업 700,000t, 원양어업 120,000t을 포함한 1,700,000t을 연간 어획량을 가지고 있음(그림 2-1-182).
- 주요 어업자원은 2,000종 이상의 어류가 있으며, 이 중 130종이 상업적으로 중요하며, 갑각류는 1,600종, 조개류 2,500종 및 다수종의 해조류가 있지만, 가장 중요한 수산자원은 새우, 참치, 오징어, 참돔, 돛류, 능성어류 및 소형 심해어류임.

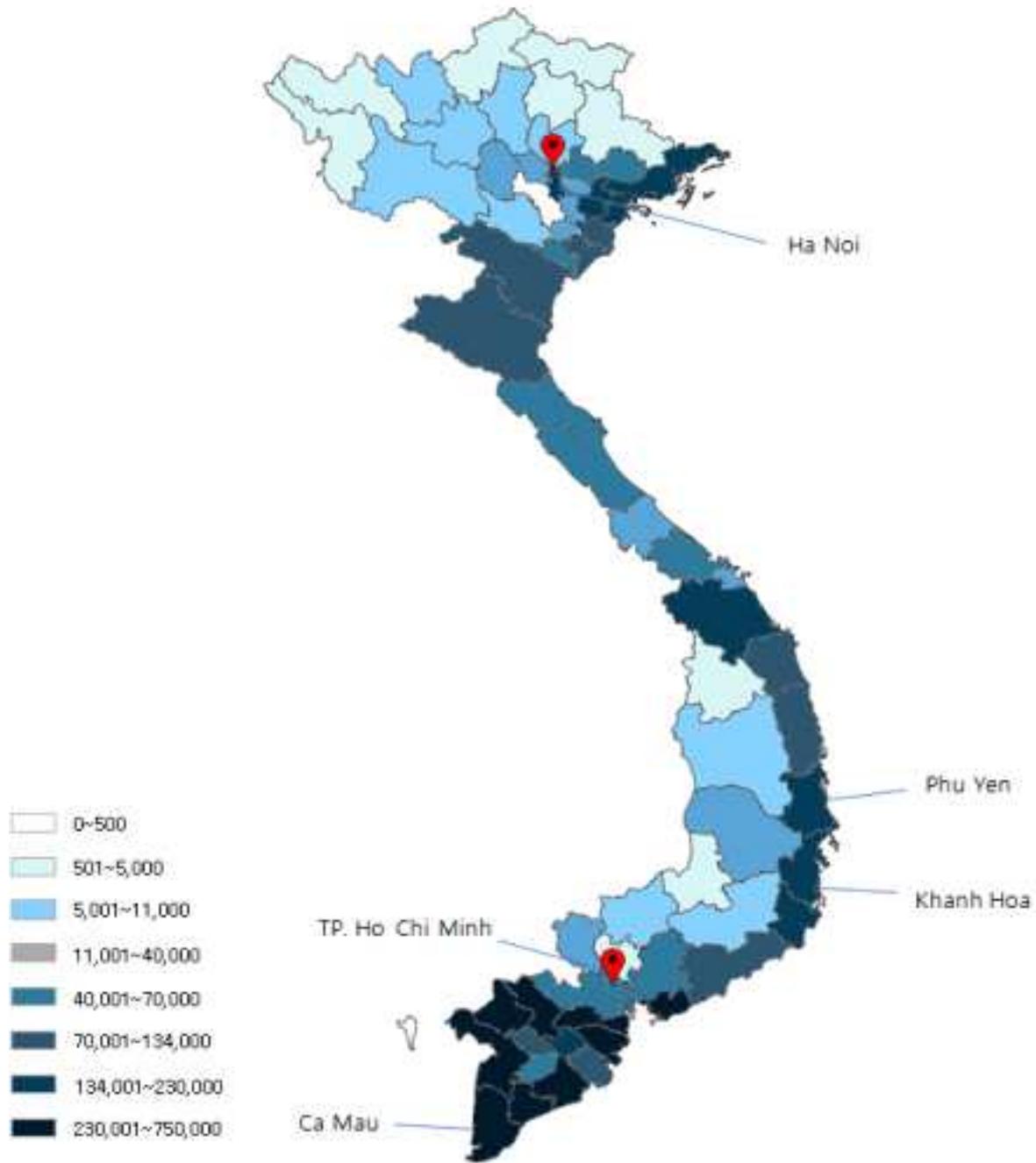


그림 2-1-182. 베트남 지역별 수산물생산량 <2017 Statistical yearbook of Vietnam>.

- 양식 분야는 천해양식, 기수양식 및 담수양식으로 나뉘며, 총 양식 면적은 2003년에 902,000 ha로 천해양식과 기수양식의 면적이 573,137 ha (63.7%)이며, 담수양식이 327,092 ha (36.3%)를 차지함.
- 베트남의 천해양식을 다른 나라와 비교해 보면 여전히 미개발된 상태임. 양식업은 자연에서 치어를 잡아 상업적 크기까지 가두리에서 양성하는 것을 기반으로 하고 있으며, 담수 어종과는 달리 해산어류의 인공 종자생산 기술은 여전히 잘 개발되어 있지 않은 실정임. 천해양식 방법에는 능성어류와 cobia (날새기)의 가두리 양식, 가두리를 이용한 lobster 양식, 진주 생산을 위한 굴 양식, 해산어 노지 양식 및 연체동물 양식임.
- 기수양식은 베트남은 현재 새우양식을 포함한 연안 양식의 거대한 잠재성을 가지고 있음. 기수양식의 사육 시스템은 전통 조방양식과 개량 조방양식, 반 집약양식 및 집약양식으로 나뉨. 기수양식에 속하는 어종으로는 새우, mud crab이 대표종임.
- 담수양식은 못, 도랑을 비롯하여 가두리와 그물 차단 시설을 설치한 저수지, 호수 및 논이 해당함. 북부지역에서는 못의 복합양식이 가장 중요한 양식 시스템으로 주로 중국산 잉어(백련어, 초어 및 대두어)들을 사육함. 주요 담수양식 생산지역은 남부지역이며 특히, Mekong 강과 Bassac 강에서 가두리 양식으로 생산하고 있음. Basa, Tra(메기), 잉어, 인도산 잉어류 (rohu, mrigal), 가물치의 가두리 양식이 캄보디아 국경지대에서 되고 있음. 논에서는 참새우 한 가지만 양식되고 있는데, Mekong강 삼각주에서 조방적으로 양식되고 있으며, 붉은 틸라피아는 못에서 집약적으로 양식되지만, 자이언트 새우는 반집약적으로 양식되고 있음.
- 종자생산 현황은 담수어종인 경우 메기, 단성 틸라피아 등 외래종에 대한 인공 생산이 시도되고 있고, 현재 354개의 종자생산장이 있으며 총 40억 마리를 생산하고 있음. 기수종은 2,125개의 새우 종자 생산장이 있으며 주로 중부에 위치하며, 포스트라바 (postlarvae 이하 'PL' 로) 15일째(PL-15)의 치하를 34억 마리 정도 생산하여 베트남 전 지역으로 공급하고 있음. 최근 종자의 과잉 생산 결과로 치어나 치하 시장에 심각한 불균형이 이루어져 소규모 종자 생산업자들이 경영상 많은 어려움을 겪고 있고, 대량생산 위주의 치하 생산은 결과적으로 치하의 질도 나빠지게 되는 결과를 초래하여 양성 단계의 생존율에 영향을 주고 있음.
- Phu Yen 지역의 Song Cau는 그루피와 새우양식을 소규모 농장에서 하고 있으며 Nha Trang에서 그루피 3~5cm fingerling 크기를 가져와 1~1.2 kg에서 수확함. 21개월 키우는 동안 50%가 생존하며, 그루피 판매가격은 20,000~250,000 VND/kg임. 이 지역을 그루피 생산 특구로 계획 중임.
- Kieng Giang은 약 200km 해안선이 있으며 환경과 인력이 풍부하여 해양 경제발전의 중요한 지역이며 양식생산량이 높음. 이 지역의 주요 해양양식업은 케이지 양식으로 그루피, 코비아를 Kien hai, Phu Quoc, Kien Luong, Ha Tien지역에서 집중적으로 생산하고 있음. 2017년 이 지역의 2,720t으로 2013년에 비해 1.4배 증가하였으며 2018년 계획은 3,200t으로 예상함(표 2-1-77).
- Binh Thuan은 192 km 해안선을 이용하여 다양하고 풍부한 양식업을 하고 있으며, 특히 새우생산량이 ha 당 9~10t에 이르며, 또한 90 CV (Cheval-vapeur) 이상의 선박의 수가 증가하고, 해양 관련 인력이 유지되거나 증가하여 5개의 조합이 생성되어 있으며, 2020년까지 20만 톤 생산량을 유지하며 매년 5% 이상의 성장률을 달성하리라 기대.

- Ca Mau는 삼면이 바다에 인접하고 있는 유리한 환경과 함께 국제시장에서 높은 경쟁력을 가지고 있는 그루퍼, 큰입선농어, 도미류, 코비아와 연체동물, 갑각류 등 주요 해양생물에 초점을 두어 양식산업을 향상할 계획. Ca Mau는 삼면이 바다에 인접하고 있는 유일한 주이며, 베트남 4대 주요 어장 중 하나임. 하지만 자연재해와 기술 수준이 낮고 투자 제한이 되어 있어 국내 및 수출 시장 수요를 충족시키지 못함. 이런 단점을 보완하여 산업발전과 기술 촉진을 위해 2020년까지 개발계획을 수립하였음. 새우 세계시장이 유기농과 친환경 생산물을 선호하는 추세에 따라 사육 중에 어떤 화학약품을 사용하지 않을 뿐만 아니라 어민의 수입 증대에 도움을 주며 맹그로브 숲의 보호와 개발에 기여할 계획임. 또한 80,000ha에 15,000t으로 새우생산량을 늘릴 계획임(표 2-1-78).
- Thanh Hoa는 해양 양식은 8,000t, 기수양식은 3,000t, 담수양식은 14,500t으로 작년 대비 100%를 초과하였음. 기수지역 새우생산량은 40,793 ha, 조개양식은 1,500 ha, 해양 양식은 1,400 케이지, 민물양식은 11,300 ha에 이르렀음. 그루퍼, 코비아, 농어와 같은 어류양식은 150t을 생산하였음.
- Dong Thap와 An Giang지역은 판가시우스(메콩강메기)치어와 육종을 위한 계획을 세워 생산 인프라에 투자하고 기업참여와 농장과 연결하여 생산을 극대화할 계획이며, 최근 kg당 60,000VND 이상였지만, 생산량 증가로 2018년 7월 7,000 VND/kg 로 감소

표 2-1-77. 베트남 해산어류 주요 양식 대상종.

species	Seed supply	Culture form	Market size (kg/ind.)	Culture Location/province
Grouper (<i>Epinephelus</i> spp.)	Wild, imported, hatchery	Cage, pond	0.5~1.0	Quang Ninh, Hai Phong, Phu Yen, Khanh Hoa
Cobia (<i>Rachycentron canadum</i>)	Hatchery	Cage	6.0~10.0	Quang Ninh, Hai Phong, Khanh Hoa
Barramundi (<i>Lates calcarifer</i>)	Hatchery	Cage, pond	0.8~1.2	Quang Ninh, Khanh Hoa
Snubnose pompano (<i>Trachinotus blochii</i>)	Hatchery	Cage, pond	0.8~1.2	Quang Ninh, Khanh Hoa
Snapper (<i>Lutjanus</i> spp.)	Wild, Hatchery	Cage	0.8~1.0	Khanh Hoa
Red drum (<i>Sciaenops ocellatus</i>)	Hatchery	Cage, pond	0.8~1.0	Hai Phong, Quang Ninh, Nghe An
Sea bream (<i>Sparus</i> spp.)	Wild, Hatchery	Cage	0.5~1.0	Quang Ninh
Rabbit fish (<i>Spiganus guttatus</i>)	Wild, Hatchery	Cage	0.5~1.0	Khanh Hoa

표 2-1-78. 베트남 양식생산량 <Statistical Yearbook of Vietnam 2017>

Year	Total	Marine aquaculture			Inland aquaculture		
		total	Fish	Shrimp	total	Fish	Shrimp
2010	2728.3	163.9	6.6	1.3	2564.4	2095.0	448.4
2011	2933.1	168.1	6.8	1.3	2765.0	2248.8	477.4
2012	3115.3	173.7	7.0	1.4	2941.6	2395.2	472.5
2013	3215.9	221.8	9.0	1.7	2994.1	2342.6	558.8
2014	3412.8	231.5	9.4	1.8	3181.3	2449.3	613.4
2015	3532.2	252.1	10.2	2.0	3280.1	2526.6	632.8
2016	3644.6	289.3	12.0	2.3	3355.3	2573.9	654.1
2017	3835.7	307.4	13.3	2.2	3528.3	2681.0	721.6
Index (Previous year =100) - %							
2010	105.3	86.0	85.7	86.7	106.9	107.2	107.3
2011	107.5	102.6	103.0	100.0	107.8	107.3	106.5
2012	106.2	103.3	102.9	107.7	106.4	106.5	99.0
2013	103.2	127.7	128.6	121.4	101.8	97.8	118.3
2014	106.1	104.4	104.4	105.9	106.3	104.6	109.8
2015	103.5	108.9	108.5	111.1	103.1	103.2	103.2
2016	103.2	114.8	117.6	115.0	102.3	101.9	103.4
2017	105.2	106.3	110.8	95.7	105.2	104.2	110.3

*Marine finfish farming in Vietnam: status and direction

- 베트남 수산 정책 2020-2030 마스터플랜
- 베트남의 수산 발전 마스터플랜은, 고부가가치와 지속 가능한 개발, 높은 경쟁력과 많은 상품을 생산할 수 있는 양식 분야 개발에 대한 것임.
- 전반적인 목표는 2020년까지 산업화를 시행하고, 2030년까지 현대화를 진행할 예정임. 2020년, 2030년의 목표 지수는 아래 표 2-1-79에 나타냄.

표 2-1-79. 2020년, 2030년 베트남 수산 정책의 구체적 목표 지수

목표 지수	2020년	2030년
총어획량	7,000,000톤	9,000,000톤
어획량	약 35% 증가	약 30% 증가
양식	약 65% 증가	약 70% 증가
수산물 수출액	약 \$110,000,000	약 \$2,000,000,000
연평균 성장률	7~8%	6~7%
수출 부가가치 제품 비중	50%	60%
어업인 교육 시행	약 50%	약 60%
근로자 평균 1인당 소득	현재의 3배 증가	
해상포획 수확 후 손실	20% 이상->10% 이하	

표 2-1-80. 2016년 주요 어종 생산량 및 국가 (FAO, 2018)

Major species produced in 2016			Major country producers in 2016		
Marine fishes nei	844,305 mt	(30.7%)	China	1,353,059 mt	(49.3%)
European seabass	191,003 mt	(7.0%)	Japan	234,346 mt	(8.5%)
Gilthead seabream	185,980 mt	(6.8%)	Egypt	221,711 mt	(8.1%)
Large yellow croaker	165,496 mt	(6.0%)	Viet Nam	156,333 mt	(5.7%)
Mulletts nei	163,646 mt	(6.0%)	Turkey	142,685 mt	(5.2%)
Groupers nei	153,261 mt	(5.6%)	Bangladesh	113,239 mt	(4.1%)
Japanese seabass	148,925 mt	(5.4%)	Greece	97,866 mt	(3.6%)
Japanese samberjack	140,895 mt	(5.1%)	India	90,000 mt	(3.3%)
Snubnose pompano	115,331 mt	(4.2%)	Korea Rep.	79,755 mt	(2.9%)
Porgies/seabreams nei	75,615 mt	(2.7%)	Spain	46,287 mt	(1.7%)
Silver seabream	72,286 mt	(2.6%)	Taiwan	38,002 mt	(1.4%)
Red drum	71,293 mt	(2.6%)	Indonesia	29,831 mt	(1.1%)
Lefteye flounder nei	68,509 mt	(2.5%)	Malaysia	24,445 mt	
Turbot	59,616 mt	(2.2%)	Italy	15,499 mt	
Bastard halibut	43,929 mt	(1.6%)	Tunisia	15,239 mt	
Cobia	43,107 mt	(1.6%)	Croatia	11,008 mt	
Tiger pufferfish	26,847 mt		Australia	10,913 mt	
Amberjacks nei	24,121 mt		Iran	10,162 mt	
Pacific bluefin tuna	22,169 mt		Mexico	9,246 mt	
korean rockfish	18,032 mt				
Righteye flounders nei	15,117 mt				
Flathead grey mullet	13,682 mt				
Mangrove red snapper	10,420 mt				

(2) 세계 바리과 양식 현황

(가) 연도별 세계 바리과 양식 생산현황(2016-2018)

- 2016년 FAO 통계에 의하면 전 세계 grouper 생산량은 약 15만 톤이며, 아시아에서 150,000t으로 대부분 아시아에서 생산되고 있음. 특히 중국에서 107,203으로 생산량이 가장 높으며, 다음은 타이완 20,479t, 인도네시아 11,503t, 말레이시아 6,167t으로 동남 아시아에서 주로 생산되었음(그림 2-1-183).
- 국내 바리과 어류생산량은 2010년 270t이었지만 2012년 52t으로 감소하였다가 점점 증가하여 2016년 217t 생산하였음.

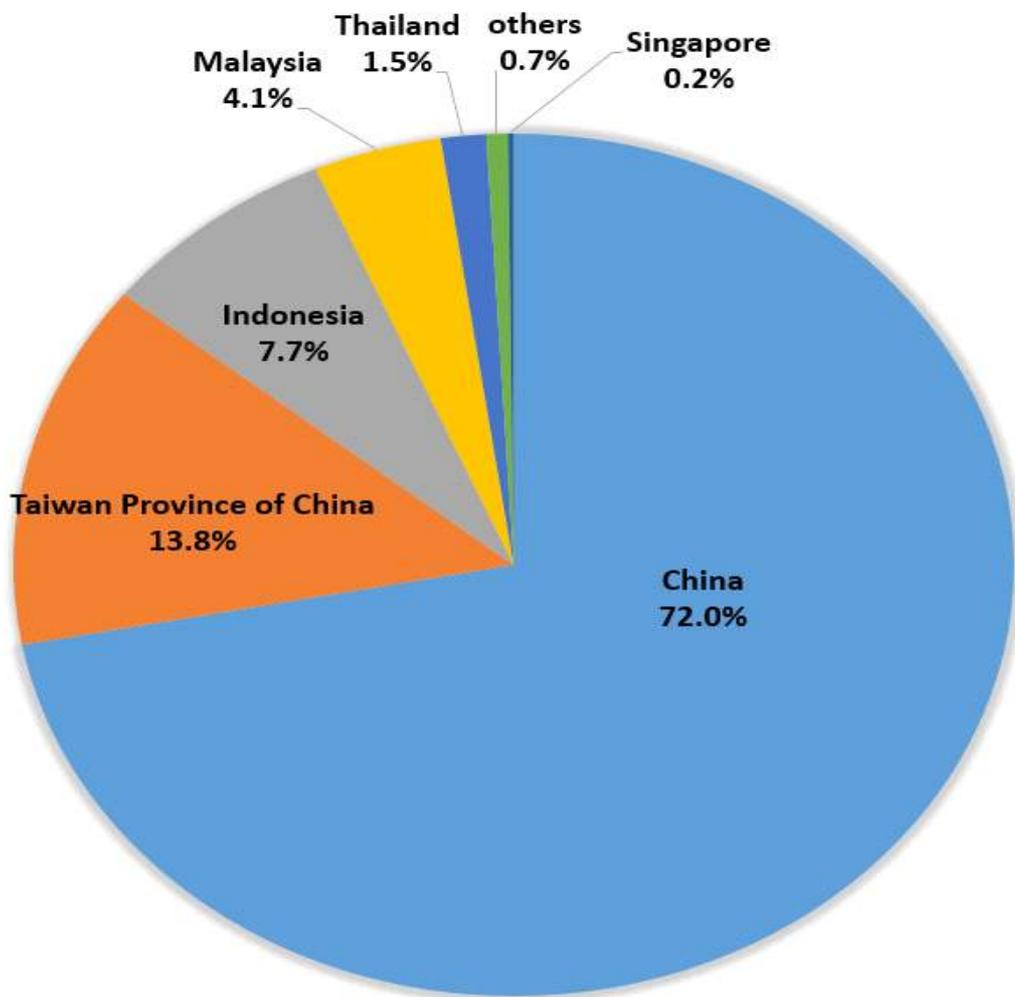


그림 2-1-183. 2016 세계 바리과 어류 양식생산량 비율.

- FAO 통계자료에 의하면 2017년 전 세계 바리과 어류 양식생산량은 약 23만 톤으로 집계되었으며, 그중 56.3%에 해당하는 131,536t을 중국이 생산하였음. 대만은 생산량은 21,787t으로 소폭 증가하였으나 세계에서 차지하는 생산 비중이 감소하는 추세를 보이며 9.3%, 인도네시아가 70,294t으로 생산량이 대폭 상승하여 30.1%였음. 3개국의 생산량 비중은 95.7%였음(그림 2-1-184).

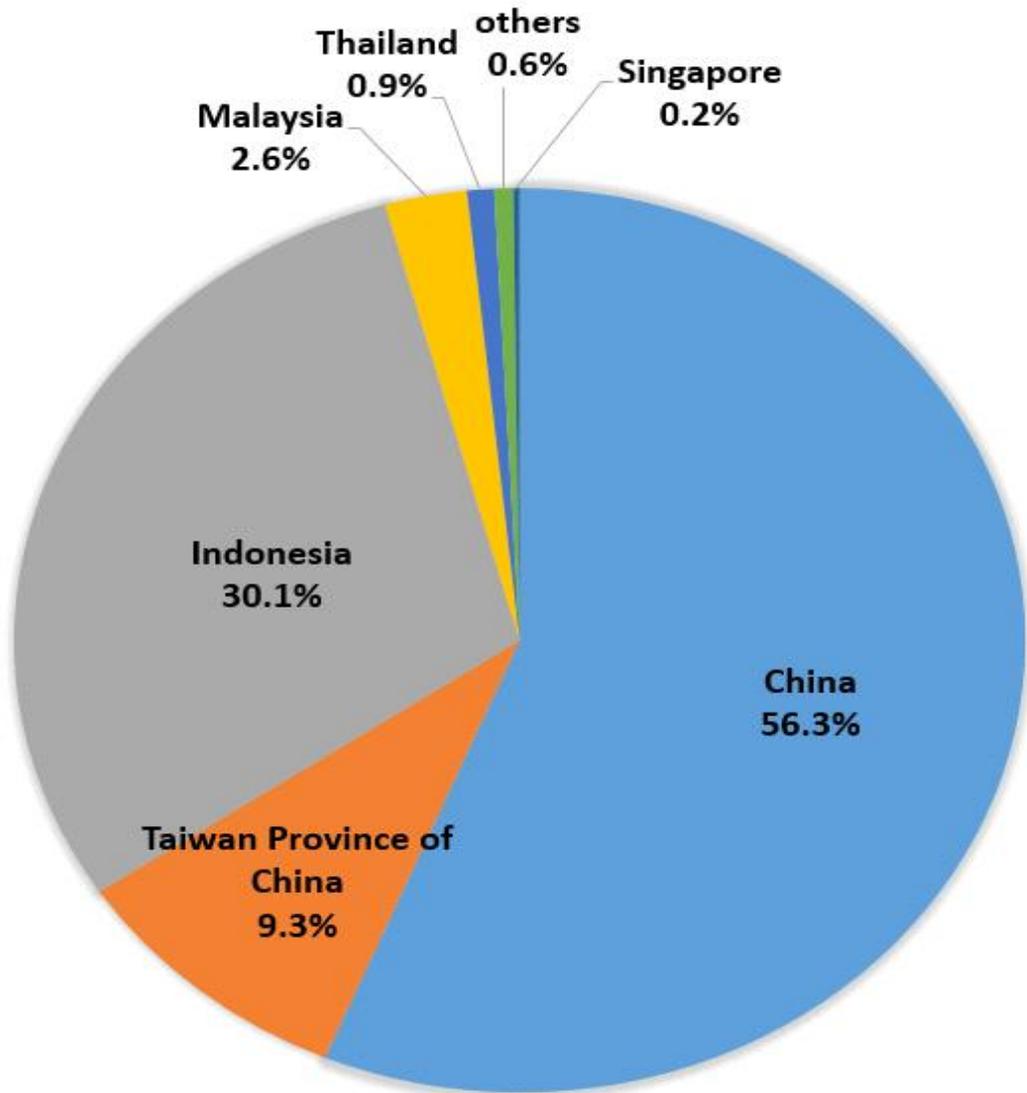


그림 2-1-184. 2017년 세계 바리과 어류 국가별 양식생산량 비율.

- FAO 통계자료에 의하면 2018년 전 세계 바리과 어류 양식생산량은 약 21만 톤으로 집계되었으며, 중국이 159,579 생산하여 작년보다 생산량은 소폭 상승하였으나 76.2%로 세계생산량 비중은 크게 상승함(그림 2-1-185).
- 대만은 생산량은 21,301t으로 소폭 감소하였으나 세계에서 차지하는 생산 비중이 다시 상승하여 10.2%, 인도네시아가 16,414t으로 생산량이 대폭 하락하여 7.8%였음.
- 2018년 인도네시아의 생산량 하락은 순다 해협 쓰나미로 인한 자연재해 발생으로 생산이 일시적으로 감소하였다고 판단됨.

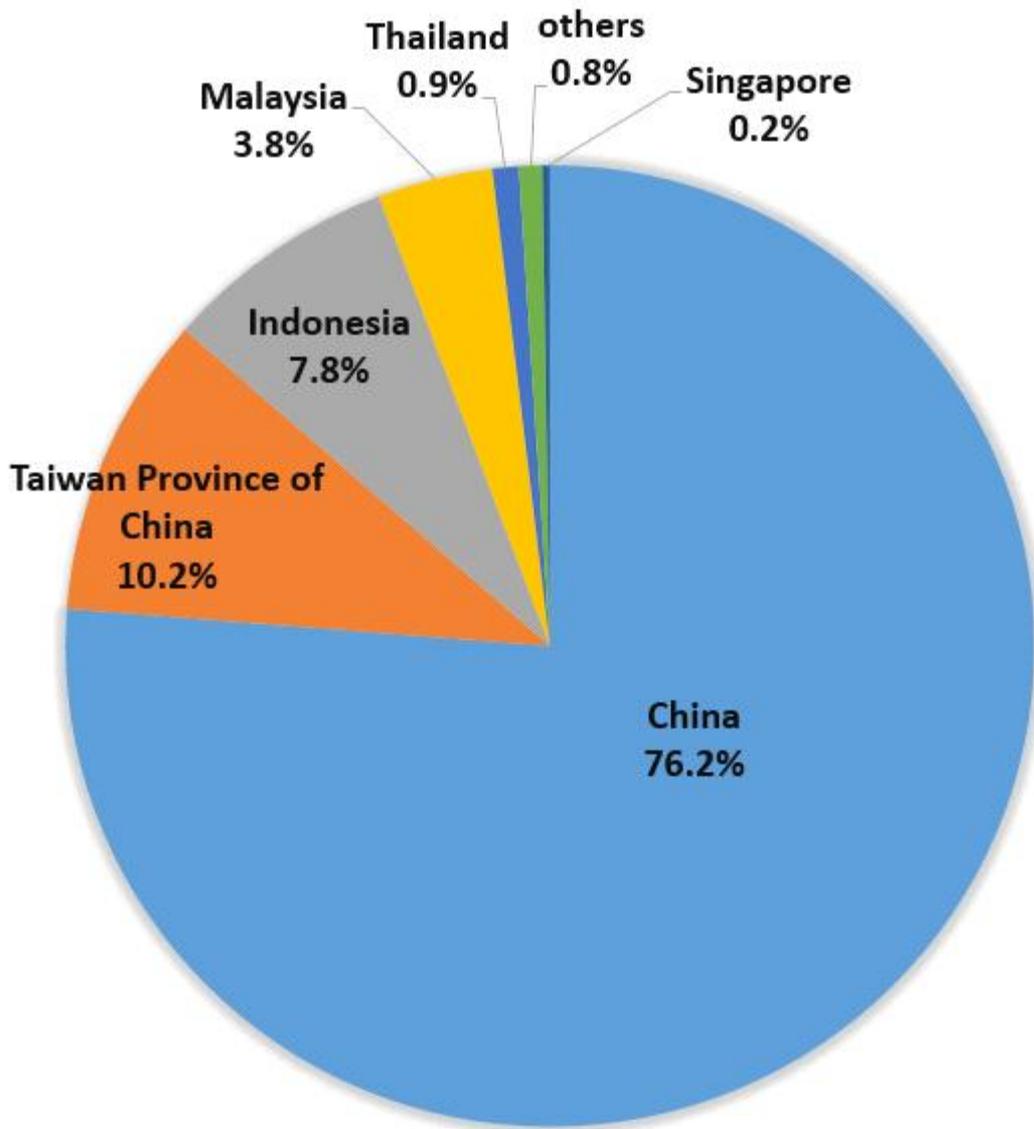


그림 2-1-185. 2018년 세계 바리과 어류 국가별 양식생산량 비율.

- 국내에서 생산한 종자를 수출하기 위한 대상국으로 예상되는 중국과 베트남에 대한 종자생산 동향을 분석하였음. 중국은 생산량이 많은 하이난 지역의 어류 종자협회 방문을 통해서 진행하였고, 베트남은 현지 바이어를 통해 문의한 내용임.
- 중국은 작년 약 16만 톤을 생산한 것으로 추정되며, 올해에는 2만 톤이 늘어난 18만 톤으로 추정하고 있음(하이난 어류 종묘 협회). 양식생산량의 증가에 따라 종자의 판매량도 늘어났지만, 전체적인 종자 단가는 약간 증가하였음(그림 2-1-186). 2015년부터 2019년까지의 양식생산량 증가율은 연평균 16.5%에 이르고 있음. 국가별 종자 수요는 그림 2-1-184에 나타냄.
- 중국 대상(바리과 시장 중 가장 큰 점유율)으로 시장 및 문헌조사, 인근 종자생산 시설 및 중간 육성 기업 등을 방문해 선호하는 종자 단가와 크기를 파악. 바리과 양식장의 품종 및 종자 생산량을 조사함(그림 2-1-187).

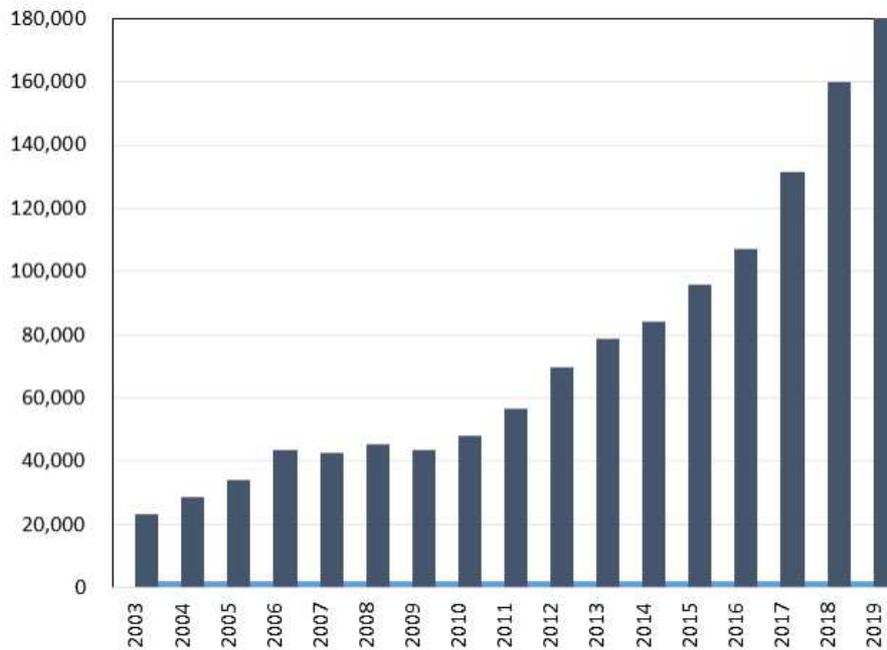


그림 2-1-186. 중국의 바리과 어류 양식생산량 통계(2003~2017년 FAO 통계자료, 2018~2019년은 추정치).

□ 바리과 어류 종자 수요량 분석

	2013년	2017년
양식 생산량	14만 M/T	19만 M/T
종자 수요량	3.4억 마리	4.8억 마리

* 종자수요=생산량 X 2.5 (Innovation Norway, 2014)



그림 2-1-187. 국가별 바리과 어류 생산량과 종자 수요.

(3) 수출 대상 국가(중국 및 베트남)의 종자생산 동향

(가) 중국

- 중국의 주요 양식 대상 종은 **70%가 대왕범바리**이며, 무늬바리, 대왕바리, 대왕자바리, 갈색둥근바리, 무늬바리, 물방울무늬바리, 자바리, 꼬리큰점바리 등이 해당함.
- 올해 중국의 바리과 양식생산량은 총 180,000t으로 추정되며 작년(160,000t) 대비 12.5% 증가할 것으로 분석됨(하이난 어류 종묘 협회).
- 따라서 정확한 종자생산 규모는 파악이 어려우나 올해에는 작년에 비해 종자 생산량이 늘어난 것으로 추정되나 주요 종의 종자 단가는 큰 변동이 없음.
- 국내에서 생산한 종자를 중국으로의 수출을 검토하기 위해 무늬바리 종자의 수출 가능성을 협의한 결과, 무늬바리 종자 가격이 1,700원(전장 10 cm)으로 고가에 거래되어 유망한 수출품종이나 신규종을 수입하기 위해서는 **중앙정부의 리스크 평가**를 통해 진행되어야 하므로 위험부담이 크다고 함(그림 2-1-188).



그림 2-1-188. 중국의 유망양식 대상 바리과 어류, 무늬바리, 하이난어류종묘협회 사무실에서 종자 수출 협의.

- 조피볼락을 중국에 수출하기 위해 다년간 노력하였으나 계속 반려되는 것을 유념하여야 할 것임.
- 중국의 바리과 어류 성어 판매가격은 생산량 증가에 힘입어 지속해서 하락하는 추세이며 연간 50t 정도가 낚시터 입식용 또는 식용으로 수입되나 국내 판매가 원활하지는 않음.
- 대왕바리와 갈색점바리 친어관리는 노지 하우스 내 PE sheet로 라이닝한 대형수조나 콘크리트 수조를 사용하여 대왕바리는 6월부터 10월까지 수정란을 생산하고 갈색점바리는 연중 채란하였음(그림 2-1-189).



그림 2-1-189. 중국의 대왕바리와 갈색점바리의 친어관리 수조.

- 현지 진출을 위한 종자 시범 생산 : 중국 하이난해산수산양식회사와 지봉구 대표가 협의하여 무늬바리 노지 종자를 시범 생산하였음. 1차 시도 후 가능성을 평가하여 계속 사업을 추진하는 것으로 합의(그림 2-1-190)
- 종자 판매단가는 대왕범바리 8 cm 기준 800~900원, 무늬바리 8 cm 1,350원, 10 cm 1,700원으로 형성됨.



그림 2-1-190. 노지 종자생산을 위한 작업 및 노지 수확 후 중간 육성을 위한 콘크리트 수조.

(나) 베트남

- 대왕범بار리가 주요 양식종이며, 올해의 종자생산은 지역마다 차이가 있음.
- 나트랑은 대만으로부터 수정란을 수입하여 약 150,000마리의 종자가 생산됨.
- 깜란지역도 대만으로부터 수정란을 수입하여 5만마리의 종자가 생산됨, 모자라는 수요를 충당하기 위해 인도네시아나 말레이시아로부터 약 40만 마리의 치어를 수입하여 양식업체에 공급함.
- 끼엔장과 붕따우 지역은 약 20만 마리의 종자를 수입하여 공급함.
- 하이퐁 지역은 30만 마리의 종자가 수입되는 것으로 분석됨.
- 전체적으로 국내 공급이 수요를 따라가기에는 한계가 있어 80% 이상의 종자가 외국으로부터 수입되는 상황임.
- 대만, 인도네시아 등 국가는 우량의 종자가 해외로 수출되는 것을 차단하기 위하여 한시적으로 수출제한 조치를 발동하기도 함.
- 2018년과 비교하여 바리와 종자 수요는 2배 정도 증가함. 특히 양식 면적의 증가로 인해 깜란은 1백만 마리, 푸엔 50만, 끼엔장 1백만, 하이퐁 50만, 붕따우 50만, 탄호아 30만, 다낭 30만 마리의 종자 수요가 분석됨(그림 2-1-191). 따라서 최근 종자 수요가 급증하고 있는 베트남 지역의 현지 진출은 매우 유망한 것으로 판단됨.
- 현재 국내에서 현지에 진출한 기업은 아열대 바리와 어류 프로젝트 제 2세부 프로젝트의 1개 업체가 있음. 올해 현지 자체 생산량은 약 16만 정도로 추정됨.

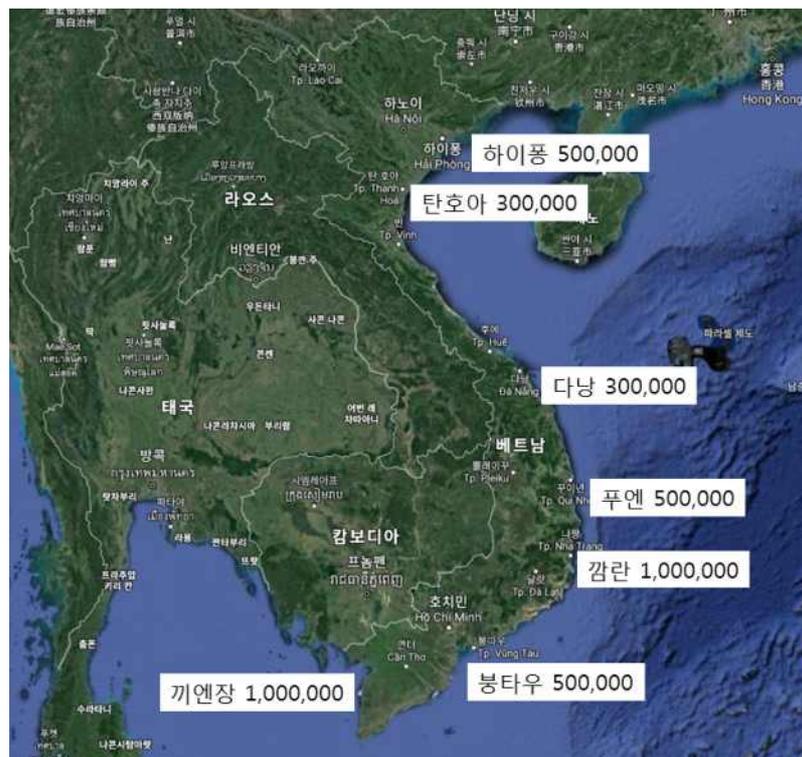


그림 2-1-191. 2019년 베트남 지역별 바리와 종자 수요 예측(북동, 중부 연안, 남중앙, 남동, 메콩델타 지역으로 구분).

라. 동남아시아 바리과 시장동향 파악

(1) 동남아시아 지역 신규 유통채널 구축

- 인도네시아에서 생산된 바리과 우량종자의 원활한 수출입을 위한 신규 유통채널 구축
- 기존 판매업체였던 PT. BATAM NARA와 위탁판매계약서 작성 및 신규 업체와 판매를 위한 위탁판매 실시(그림 2-1-192)

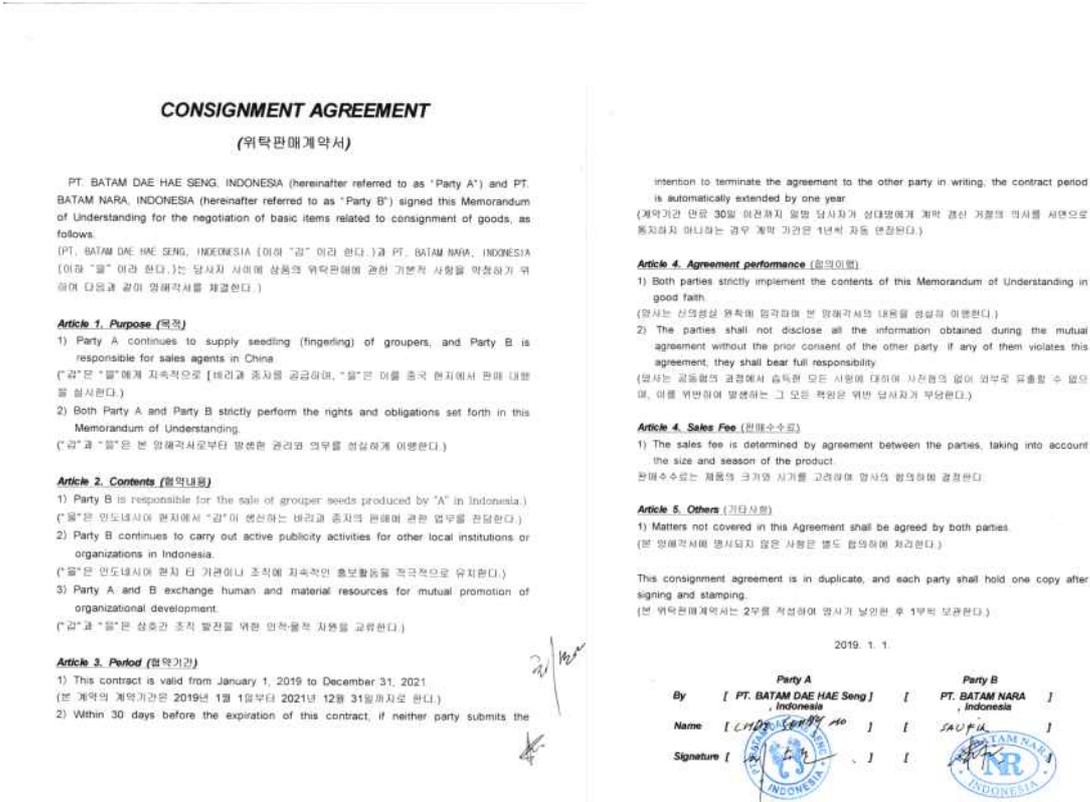


그림 2-1-192. PT BATAM NARA와 위탁판매계약서 체결.

표 2-1-81. 바리과 어류 동남아시아 유통 시세

2018. 10 기준

Country	Size	Price	Price(₩/cm)	
China	1cm	0.8 ¥	131	CNY ₩164.04 기준
Vietnam	1cm	3500 đ	169.75	VND 100 ₩4.85 기준
Thailand	5~7cm	\$ 0.4~0.5	452~565 90.4~80.7(1cm)	USD ₩1,130 기준

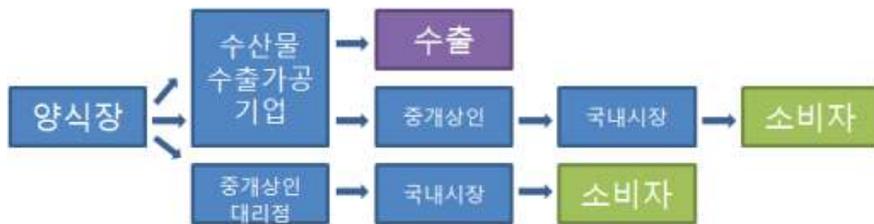


그림 2-1-193. 베트남 수산물 유통경로(메기).

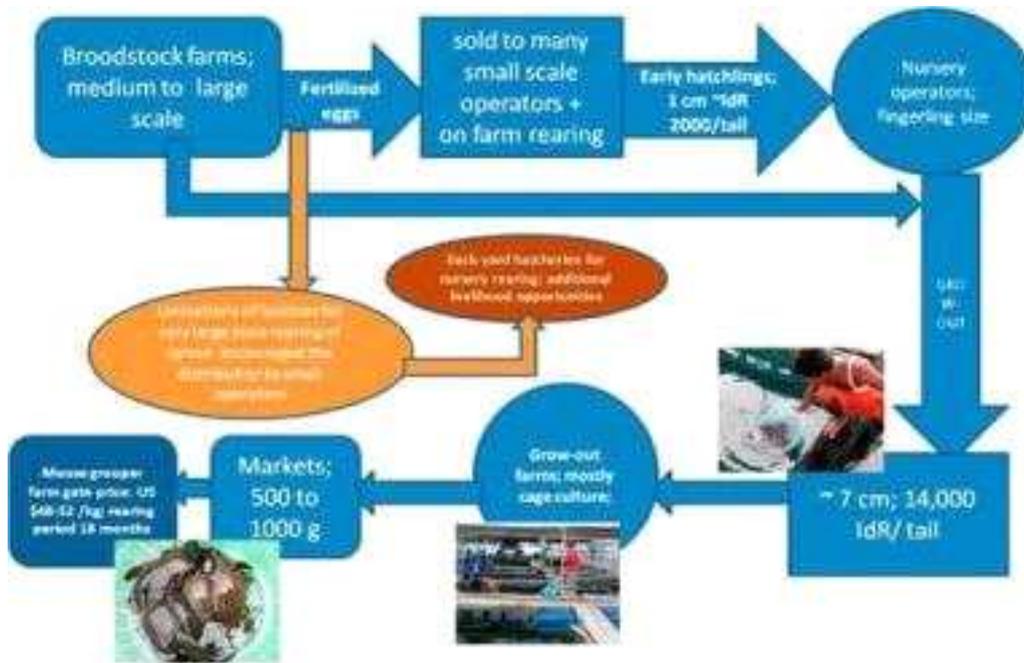
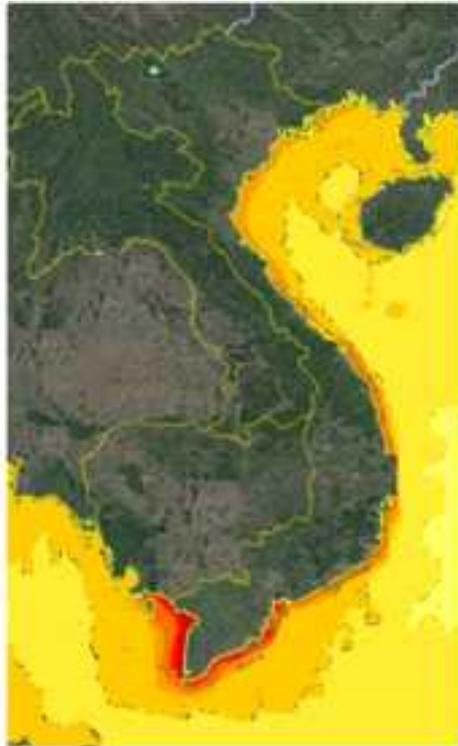


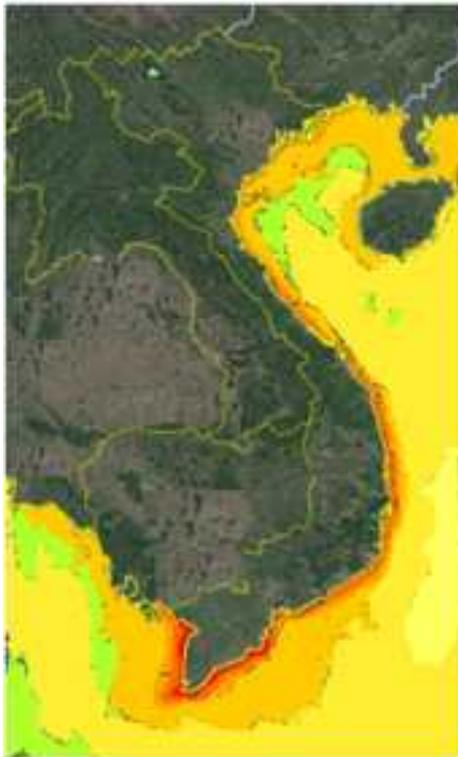
그림 2-1-194. 베트남 내에서 소비되는 물고기 유통경로.



11월



12월



1월



2월

* world sea temperature org

그림 2-1-195. 베트남 동절기 평균 수온.

(2) 동남아시아 판매업체 확보

- 인도네시아 및 기타 동남아시아 국가를 상대로 국내외에서 생산한 우량종자 판매업체 확보
- 신규 유통채널을 통한 인도네시아에서 생산한 바리과 종자 판매업체 확보
- PT. BATAM NARA를 통한 Anambas 지역의 PAK DODO, Tanjung Pinang 지역의 Pak Joni 신규 판매업체 확보(그림 2-1-196, 2-1-197)



그림 2-1-196. 위탁판매업체 PT. BATAM NARA와 인도네시아 지역 신규 판매업체 2곳.



그림 2-1-197. 신규판매업체 PAK JONI 및 PAK DODO invoice.

마. 해외 종자생산 관련 기업 기술이전 실시

- 한국해양과학기술원은 대왕범바리의 양성 및 수정란 생산기술을 2017년 2월 4일에 계약서를 작성하고 기술이전을 하였음(표 2-1-82, 그림 2-1-198).
- 대왕범바리 양성 기술의 내용은 대왕범바리 양성 기술은 종자부터 상품어까지 양성하는 동안 생존율과 성장률 증가에 관한 내용을 담고 있음.
- 대왕범바리 수정란 생산기술의 내용은 성숙도 분석 후 인위적인 성숙·산란 유도하여 갈색 점바리(tiger grouper) 암컷으로부터 우량 알을 얻고, 대왕바리(giant grouper) 수컷으로부터 정액을 얻어 수정란을 생산한 후 부화율을 높이는 내용을 담고 있음.

표 2-1-82. 종자생산 관련 기업 기술이전

구분	명칭	일자	기술과의 관계
보고서	수출용 아열대 바리과 어류의 우량종자 개발	2017. 2. 4	바리과 어류 상품 생산과 우량수정란 생산기술

기술이전계약서[안]

2018 . 08 . 31

기술명 : 대왕범바리의 양성 및 수정란 생산기술

실시기업 : Dao Ly Seafood Production Co. Ltd.



2018 년 08월 31 일

"해양과기원"

주 소 : 부산시 영도구 해양로 385
한국해양과학기술원
원장 김용서

"실시기업"

주 소 : 15 Ngoc Hoi, Xa Vinh Ngoc, Thanh pho
Nha Trang, Tinh Khanh Hoa, Viet Nam
상 호 : Dao Ly Seafood Production Co. Ltd.
대표이사 : 송 남 진

그림 2-1-198. 해외 종자생산 관련 기업 기술이전 계약서.

바. 국내의 바리과 어류 생산 동향 및 수입량

- 국내 및 해외의 바리과 어류의 양식생산량과 종자 수요 추정치(FAO 근거)와 양식, 유통과정에서의 장단점을 비교하여 신품종의 상품성과 동향 파악

(1) 개발된 바리과 신품종의 상품성

- 우리나라 바리과 어류의 판매시장, 양식 및 유통과정에서의 장단점을 비교 정리함
- 우리나라의 바리과 어류 양식생산량은 2017년 기준 443t으로 종자 수요는 100만 마리 정도로 추정됨.
- 국내 생산량은 400t 내외로 추정되며, 주요 종은 능성어, 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 대왕바리, 붉바리 등임(FAO 통계, 2017).
- 바리과 어류의 총수입량은 약 150t이며 수입금액 275억 원임. 주요 수입종에 대한 정보를 아래에 설명함(표 2-1-83, 2-1-84).

(가) 능성어

- 공급이 수요를 따라가지 못해 일본으로부터 72t이 수입되었으며, 수입원 가는 2만 원 선이나 도매단가는 약 30,000-33,000원/kg
- 일본으로부터 수입량은 72t, 금액은 115억 원임.

(나) 자바리

- 수입량은 21t, 금액은 5.3억 원, 단가는 25,000원. 제주도 내 시장은 한계가 있으며, 서해안의 바다 낚시터를 중심으로 하는 낚시터 입식용과 식용어 시장 일부로 판매되며 수입원 가는 25,300원이지만 10월 현재 도매단가 2만 원으로 재고 처리 중. 국내의 양식업체 1곳은 소비가 부진하여 1 kg 미만의 자바리를 21,000원에 유통함.

(다) 대왕범바리

- 주로 중국과 대만에서 수입되며, 수입량은 12t, 금액은 1.6억 원. 수입단가는 13,600원. 교잡품종은 낚시터 입식용으로 이식이 허용되지 않아 국내에서 생산된 어류가 유통되나 일부 식용으로 수입된 개체를 불법적으로 입식하는 사례가 있음. 재고 처리 중인 단가는 18,000원

(라) 대왕자바리

- 2개 품종이 등록되어 있음. 45t이 수입되며, 수입금액은 6억 원, 수입단가는 1,300원임. 식용으로 수입되어 판매가 부진하자 단가를 낮추어 재고 처리 중

(마) 식용 유통상 문제점

- 대왕범바리와 대왕바리는 낮은 수온에 대한 내성이 낮아 28℃ 사육 후 24℃로 물갈이한 후 도매점의 수조에 20℃ 수용한 다음 서서히 수온을 낮춰 16℃로 소매 유통함.

- 통상적으로 다른 어류의 보관 온도가 13℃인 수조에 수용하여 반포사례가 늘고 있음.
 - 대왕자바리는 온도 적응을 통해 수온 8℃에서도 안정적이라고 함.

표 2-1-83. 국내에 수입되는 바리과 어류 수입량, 금액 및 수입단가

종 명	수입량	금 액(\$)	1 kg 단가	수입국
능성어	71,925	1,205,627	20,115	일본
자바리	20,999	442,569	25,290	중국
대왕범바리	12,069	136,764	13,598	중국, 대만
대왕자바리 <i>E. bruneus</i> × <i>E. lanceolatus</i>	32,305	369,186	13,713	중국
대왕자바리 <i>E. moara</i> × <i>E. lanceolatus</i>	13,315	138,923	12,520	중국
합 계	150,613	2,293,069		

표 2-1-84. 주요 바리과 어류의 시장특성

종 명	성장	국내시장	유통용이성	판매단가
자바리	-	+	++	+++
능성어	-	+++	++	++
대왕바리	+++	-	-	-
대왕범바리	++	+	-	-
대왕자바리	++	+	+	+

7. 연구성과

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

성과목표	품종 및 브랜드 개발		특허		논문		해외 기지 구축	MOU 체결	기술 이전	종자 생산	인력 양성	유통 채널 구축	품종 분양 보급	홍보	관 매 업 체 확 보	국내 매출액 (백만원)	종자 수출액 (만불)	
	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI												
최종목표	1		3	3	6	5	2	2	3	1,700	2	3	1	4	9	100	405	
1차 년도	목표			1	1	1	1	1	1	300		1	1	2	3	100	100	
	실적			1			2	2	1	900		1	1	0	2	247.1	28.8	
2차 년도	목표				1	1			1	200					1		65	
	실적				3	1			1	260				1	1		33.7	
3차 년도	목표		1	-	2	1		1	-	300	-	1			1	-	60	
	실적		1	1		1		1	1	491	2	1			2	10	63.9	
4차 년도	목표		1	1	1	2			1	400	1			1	2		90	
	실적		1		2	2			1	357	1	1		1	7	267.7	-	
5차 년도	목표	1		1	1	1				500	1	1		1	2		90	
	실적	1		1	1	1				700	1	1		1	8	292.5		
소계	목표	1		3	3	6	5	1	2	3	1,700	2	3	1	4	9	100	405
	실적	1		3	3	6	4	2	3	4	2,708	4	3	1	3	20	817.3	126.4
종료1차년도																		
종료2차년도																		
종료3차년도																		
종료4차년도																		
종료5차년도																		
소계	1		3	3	6	5	2	2	3	1,700	2	3	1	4	9	100	405	
합계	1		3	3	6	4	2	3	4	2,708	4	3	1	3	20	817.3	126.4	

다. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
등록	갈색점바리와 대왕바리의 잡종 수정란의 거리 수송방법	대한민국	순천향대 산학협력단	2016.02.26	10-2016-0023234	순천향대 산학협력단	2017.12.29	10-1815487-0000	-
	갈색점바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 부화율 향상방법	대한민국	순천향대 산학협력단	2016.12.30	10-2016-0183263	순천향대 산학협력단	2019.10.24	10-2038705-0000	
출원	자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온 조절을 통한 수율향상방법	대한민국	순천향대 산학협력단	2019.10.29	10-2019-0135033				
	교잡종 대왕자바리의 저온자극을 통한 3배 체 유도방법	대한민국	순천향대 산학협력단	2020.11.27	10-2020-0162159				
	자바리 × 대왕바리 교잡종 왕자바리 생산 향상기술	대한민국	순천향대 산학협력단	2021.12.29	10-2021-0191413				



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년01월05일

(11) 등록번호 10-1815487

(24) 등록일자 2017년12월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 61/00 (2017.01) **A01K 63/02** (2006.01)
A01K 63/04 (2014.01)

(52) CPC특허분류
A01K 61/00 (2013.01)
A01K 61/90 (2017.01)

(21) 출원번호 **10-2016-0023234**
(22) 출원일자 **2016년02월26일**
심사청구일자 **2016년02월26일**

(65) 공개번호 **10-2017-0100849**
(43) 공개일자 **2017년09월05일**

(56) 선행기술조사문헌
KR1020010007937 A
KR101262626 B1
노승환 외, '붉바리(Epinephelus akaara)와 Brown-Marbled Grouper(E. fuscoguttatus) 종간 잡종 수정란의 부화율, 한국어류학회지 제27권 제1호 pp.16-20 (2015.03)*
Choon Looi CH'NG 외, 'Egg and Larval Development of a New Hybrid Grouper, Tiger Grouper Epinephelus fuscoguttatus × Giant Grouper E. Inaceolatus' Aquaculture sci. 56(4), 505-512(2008)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
순천향대학교 산학협력단
충청남도 아산시 신창면 순천향로 22, 순천향대학교내

(72) 발명자
방인철
충청남도 천안시 서북구 김은들2길 14, 104동 803호 (불당동, 불당아이파크)

임한규
전라남도 목포시 남악1로52번길 83 근화옥암베아채 109동 501호
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
박노춘

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 이원섭

(54) 발명의 명칭 **갈색점바리와 대왕바리의 잡종 수정란의 장거리 수송방법**



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년10월30일

(11) 등록번호 10-2038705

(24) 등록일자 2019년10월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 67/033 (2014.01)

(52) CPC특허분류
A01K 67/033 (2018.05)

(21) 출원번호 **10-2016-0183263**
(22) 출원일자 **2016년12월30일**
심사청구일자 **2016년12월30일**

(65) 공개번호 **10-2018-0078492**
(43) 공개일자 **2018년07월10일**

(56) 선행기술조사문헌
KR1020010007937 A
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
순천향대학교 산학협력단
충청남도 아산시 신창면 순천향로 22, 순천향대학교내

(72) 발명자
방인철
서울특별시 강남구 선릉로69길 19 역삼래미안아파트 108동 703호

임한규
전라남도 목포시 남악1로52번길 83 근화옥암베아채 109동 3106호
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
박노춘

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 박영관

(54) 발명의 명칭 **갈색점바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 부화율 향상방법**



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0050679
(43) 공개일자 2021년05월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 61/17 (2017.01) A01K 61/95 (2017.01)
A01K 63/06 (2014.01)

(52) CPC특허분류
A01K 61/17 (2017.01)
A01K 61/95 (2017.01)

(21) 출원번호 10-2019-0135033
(22) 출원일자 2019년10월29일
심사청구일자 2019년10월29일

(71) 출원인
순천향대학교 산학협력단
충청남도 아산시 신창면 순천향로 22, 순천향대학교내

(72) 발명자
방인철
서울특별시 강남구 선릉로69길 19 역삼래미안아파트 108동 703호

박종연
충청남도 아산시 신창면 순천향로 37 오피스텔효정빌 305호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
박노춘

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상방법

발송번호: 9-5-2021-100126739

발송일자: 2021. 12. 22.

수신 대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호(PNC국제특허법률사무소)
박노춘 귀하(귀중)

35236

특 허 청 특허결정서

출원인	성명	순천향대학교 산학협력단 (특허고객번호: 220040359422)
주 소	충청남도 아산시 신창면 순천향로 22, 순천향대학교내	
대리인	성명	박노춘
주 소	대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호(PNC국제특허법률사무소)	
발명자	성명	방인철
주 소	서울특별시 강남구 선릉로69길 19 역삼래미안아파트 108동 703호	
발명자	성명	박종연
주 소	충청남도 아산시 신창면 순천향로 37 오피스텔효정빌 305호	
발명자	성명	김용휘
주 소	충청북도 청주시 상당구 증고개로337번길 108 1층	
발명자	성명	김근식
주 소	경기도 용인시 기흥구 중부대로746번길 21 지석마을진흥더루벤스	
발명자	성명	문신주
주 소	충청남도 아산시 배방읍 모산로139번길 19 303호	
출원번호	호	10-2019-0135033
발명명의 명칭	청	자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상방법
청구항 수	수	2

이 출원에 대하여 특허법 제66조에 따라 특허결정합니다.

(특허권은 특허료를 납부하여 특허법 제87조에 따라 설정등록을 받음으로써 발생하게 됩니다.)

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2020.11.27
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)
출원번호 10-2020-0162159 (접수번호 1-1-2020-1281638-83)
(DAS접근코드 E04F)
출원인명칭 순천향대학교 산학협력단(2-2004-035942-2) 외 1명
대리인성명 김순웅(9-2006-000534-4)
발명자성명 방인철 김동수 박종연 권성민
발명의명칭 교잡종 대왕자바리의 저온자극을 통한 3배체 유도방법

특 허 청 장

관인생략
출원번호통지서

출원일자 2021.12.29
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)
출원번호 10-2021-0191413 (접수번호 1-1-2021-1523415-53)
(DAS접근코드14A0)
출원인명칭 (주)아쿠아바이오텍(1-2018-015527-7) 외 1명
대리인성명 김순웅(9-2006-000534-4)
발명자성명 방인철 박종연 형덕탐
발명의명칭 자바리 x 대왕바리 교잡종 대왕자바리 생산성 향상기술

특 허 청 장

라. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper <i>Epinephelus lanceolatus</i> (♀) × <i>E. moara</i> (♂)	Mitochondrial DNA Part B	박종연	3(2)	영국	Taylor & Francis	SCI
2	Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper <i>Hyporthodus septemfasciatus</i> (♀) × <i>Epinephelus lanceolatus</i> (♂)	Mitochondrial DNA Part B	박종연	5(3)	영국	Taylor & Francis	SCI
3	Distribution of nervous necrosis virus (NNV) in infected sevenband grouper, <i>Hyporthodus septemfasciatus</i> by intramuscular injection or immersion challenge	Aquaculture	김재욱	489	미국	ELSEVIER	SCI
4	The Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> (♀) × <i>E. polyphkadion</i> (♂)	Mitochondrial DNA Part B	박종연	5(3)	영국	Taylor & Francis	SCI
5	The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper <i>Epinephelus lanceolatus</i> (♀) × <i>E. akaara</i> (♂)	Mitochondrial DNA Part B	김재훈	3(2)	영국	Taylor & Francis	SCI
6	Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper <i>Hyporthodus septemfasciatus</i> (♀) × <i>Epinephelus moara</i> (♂) (Perciformes, Serranidae) and results of a phylogenetic analysis	Mitochondrial DNA Part B	김용휘	6(3)	영국	Taylor & Francis	SCI
7	대왕범바리 (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂) 수정란의 장거리 수송을 위한 염분, 수온 및 발생단계에 따른 생존율 및 부화율	Ocean and Polar Research	김강래	40(3)	한국	해양과학기술원	비SCI
8	수입산 바리과(Family Serranidae) 잡종 어류(<i>Epinephelus moara</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂)의 분자생물학적 판별	한국수산과학회지	김용휘	53(4)	한국	한국수산과학회	비SCI
9	자바리(<i>Epinephelus moara</i> ♀)와 대왕바리(<i>E. lanceolatus</i> ♂) 간 교잡종 대왕자바리의 형태 비교	한국수산과학회지	박종연	53(4)	한국	한국수산과학회	비SCI
10	자바리(<i>Epinephelus moara</i>)와 대왕자바리(<i>E. moara</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂)에 대한 MS-222의 마취효과	한국어류학회	박종연	31(4)	한국	한국어류학회	비SCI

Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus lanceolatus* (♀) × *E. moara* (♂)

Jong Yeon Park^a , Ji Hun Yoon^a, Choong Hwan Noh^b, Min Joo Kang^b and In-Chul Bang^a

^aDepartment of Life Science and Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Republic of Korea; ^bMarine Bio Resources Research Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology, Busan, Republic of Korea

ABSTRACT

The complete mitochondrial genome of the novel hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♀ and *E. moara* ♂) includes 13 protein-coding genes, 2 ribosomal RNAs, 22 transfer RNA genes, and 1 control region (D-loop), for a total length of 16,743 bp. The overall nucleotide compositions encoded on the heavy strand are 29.73% A, 28.84% C, 15.08% G, and 26.64% T.

ARTICLE HISTORY

Received 12 June 2018
Accepted 29 July 2018

KEYWORDS

Hybrid grouper; *Epinephelus lanceolatus*; *E. moara*; complete; mitogenome

Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Hyporthodus septemfasciatus* (♀) × *Epinephelus lanceolatus* (♂)

Jong Yeon Park , Yong-Hwi Kim and In-Chul Bang

Department of Life Science & Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Republic of Korea

ABSTRACT

The complete mitochondrial genome of the novel hybrid grouper (*Hyporthodus septemfasciatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) includes 13 protein-coding genes, 2 ribosomal RNAs, 22 transfer RNA genes, and 1 control region (D-loop) for a total length of 16,559 bp. The overall nucleotide composition encoded on the heavy strand comprises 28.64% A, 28.26% C, 16.26% G, and 26.84% T.

ARTICLE HISTORY

Received 12 July 2020
Accepted 1 August 2020

KEYWORDS

Complete mitogenome; *Epinephelus lanceolatus*; hybrid grouper; *Hyporthodus septemfasciatus*



Distribution of nervous necrosis virus (NNV) in infected sevenband grouper, *Hyporthodus septemfasciatus* by intramuscular injection or immersion challenge



Jae-Ok Kim, Soo-Jin Kim, Jong-Oh Kim, Wi-Sik Kim, Myung-Joo Oh*

Department of Aquaculture Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea

The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (♀) × *E. polyphemus* (♂)

Jong Yeon Park^a , Yong-Hwi Kim^a, Jae Hoon Kim^b and In-Chul Bang^a

^aDepartment of Life Science & Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Republic of Korea; ^bJeju Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Jeju, South Korea

ABSTRACT

This study determined the complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. polyphemus* ♂. The complete mitochondrial genome is 16,648 bp and includes 13 protein-coding, 2 ribosomal RNA, 22 transfer RNA genes, and a control region (D-loop). The nucleotide composition of the L-strand was A 29.12%, C 28.33%, G 15.65%, and T 26.90%. All except the NADH dehydrogenase subunit (ND6) and eight tRNA genes are encoded on the H-strand.

ARTICLE HISTORY

Received 12 July 2020
Accepted 12 August 2020

KEYWORDS

Epinephelus fuscoguttatus;
E. polyphemus; hybrid
grouper; mitochon-
drial genome

The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus lanceolatus* (♀) × *E. akaara* (♂)

Jae Hoon Kim^a, Jong Yeon Park^a , Choong Hwan Noh^b, Min Joo Kang^b, Thai Quoc Truong^c and In-Chul Bang^a

^aDepartment of Life Science & Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Republic of Korea; ^bMarine BioResources Research Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology, Busan, Republic of Korea; ^cResearch Institute for Aquaculture No. 3, Mariculture Research and Development Center No. 2, Nha Trang, Vietnam

ABSTRACT

This study determined the complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus lanceolatus* ♀ × *E. akaara* ♂. The complete mitochondrial genome is 16,743 bp long and includes 13 protein-coding genes, two ribosomal RNA genes, 22 transfer RNA genes, and a control region. The nucleotide

ARTICLE HISTORY

Received 26 July 2018
Accepted 10 August 2018

Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Hyporthodus septemfasciatus* (♀) × *Epinephelus moara* (♂) (Perciformes, Serranidae) and results of a phylogenetic analysis

Yong Hwi Kim^a , Jong Yeon Park^b , Duc Tam Huynh^b, Kang Rae Kim^a  and In-Chul Bang^{a,b} 

^aDepartment of Life Science and Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Republic of Korea; ^bAqua Biotech Co., Ltd., Daejeon, Republic of Korea

ABSTRACT

The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Hyporthodus septemfasciatus*

ARTICLE HISTORY

Received 23 December 2020

Note

대왕범바리(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) 수정란의
장거리 수송을 위한 염분, 수온 및 발생단계에 따른 생존율 및 부화율

김강래¹ · 문신주¹ · 박종연¹ · Duc Tam Huynh¹ · 박종열² · 김근식³ · 한상봉⁴ · 방인철^{1*}

¹순천향대학교 자연과학대학 생명시스템학과
(31538) 아산시 순천향로 22

²목포대학교 자연과학대학 해양수산자원학과
(58554) 무안군 영산로 1666

³한국해양과학기술원 울릉도·독도해양과학기지
(40205) 울릉군 현포2길 127
*뉴아쿠아바이오텍
(31538) 아산시 순천향로 22

KFAS 한국수산과학회지

한수지 53(4), 566-571, 2020

Note

Korean J Fish Aquat Sci 53(4), 566-571, 2020

수입산 바리과(Family Serranidae) 잡종 어류(*Epinephelus moara* ♀ ×
E. lanceolatus ♂)의 분자생물학적 판별

김용휘 · 박종연 · 김재훈¹ · 방인철^{*}

순천향대학교 생명시스템학과, ¹국립수산과학원 제주수산연구소

Molecular Biological Species Identification of Imported Groupers
(*Epinephelus moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)

Yong Hwi Kim, Jong Yeon Park, Jae Hoon Kim and In-Chul Bang*

Department of Life Science and Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea
Jeju Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Jeju 63610, Korea

KFAS 한국수산과학회지

한수지 53(4), 572-576, 2020

Note

Korean J Fish Aquat Sci 53(4), 572-576, 2020

자바리(*Epinephelus moara* ♀)와 대왕바리(*E. lanceolatus* ♂) 간 교잡종
대왕자바리의 형태 비교

박종연 · 김용휘 · 방인철^{*}

순천향대학교 생명시스템학과

Comparison of Morphological Characteristics and Its Parent Species Hybrid
Grouper between a *Epinephelus moara* ♀ and *E. lanceolatus* ♂

Jong Yeon Park, Yong Hwi Kim and In-Chul Bang*

Department of Life Science & Biotechnology, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan 31538, Korea

자바리(*Epinephelus moara*)와 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)에 대한 MS-222의 마취효과

박종연 · 김강래 · 방인철*

순천향대학교 생명시스템학과

The Anaesthetic Effect of MS-222 for Longtooth Grouper, *Epinephelus moara* and the Hybrid Grouper, *E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ by Jong Yeon Park, Kang-Rae Kim and In-Chul Bang* (Department of Life Science & Biotechnology, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan 31538, Republic of Korea)

마. 분자마커 : 해당 없음

바. 친어확보 : 갈색점바리 50마리

연도	대상어종	생산량	국명	기타
4차년도	갈색점바리	50마리	대한민국	(주)조양수산식품 수입대행계약

수입대행계약서

수입대행자(갑) (주)조양수산식품
 인천 중구 서해대로 180번길 15 e-203호

수입위탁자(을) 순천향대학교 산학협력단
 충남 아산시 신항면 순천항로 22

상기 당사자간에 다음 조항에 의거 수입대행계약을 체결함에 있어 편의상 수탁자를 갑이라 칭하고 위탁자를 을이라 칭한다.

다 음

제1조 갑은 을의 요청에 의하여 다음 상품을 수입대행한다.

품명	규격	수량	단가	금액(₩)	원산지	비고
점바리 친어 (Tiger Grouper)		50마리		37,000,000	중국	

제2조 을은 본 계약 체결과 동시에 위 수입품에 대한 확정오차 금액의 (100)%에 해당하는 일금(₩37,000,000)원을 계약보증금(선적서류 인수보증금)으로 갑에게 예치한다.

제3조 확정오차는 을의 부담으로 하고 본건 대형수류 건담(₩)원씩 을은 갑에게 지불하기로 한다.

제4조 을은 선적서류 인수지급(재비용포함)을 B/L도착후 3일 이내에 부담하여야 하며 이를 지체하여 갑의 대불시에는 을은 대불료를 추가 지불하고, 온재일까지 년(10)%의 해당금액을 지체가산금으로 갑에게 지급하여야 하며, 20일 이상 온재시에는 을이 갑에게 예치한 계약보증금은 갑에게 귀속되고 갑은 일방적으로 물품을 판매 처분할 수 있다. 단 갑의 임의 처분시 발생하는 손해금이 있을시에는 을은 갑에게 변상하여야 한다.

제5조 을이 제시한 확정오차로 인하여 발생하는 사고 및 재발규제의 지속, 편의상 갑의 명의로 간곡서에 제출되는 각서, 기타 증명서류에 대한 확인 및 관제지변 등 불가항력으로 발생하는 손해에 대해서는 을이 부담하고 갑은 이에 대한 책임을 지지 아니한다.

제6조 을은 수입신용장 개설 및 통관시 소요되는 제세공과금과 부대비용 일체를 부담한다.

제7조 을은 수입허가 유효기일 이전에 수입 통관을 종료하기 위한 조치를 취하여야 하며, 이의 불이행으로 인하여 발생하는 과태료 및 행정상의 제반책임은 을이 부담하여야 한다.

<갈색점바리 친어구매 - 50마리>

사. 국내매출액 : 817,276,000

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액
1	2017.10.01. ~ 2017.10.30	덕홍수산	5,000,000
		해연수산	12,000,000
		서울대학교 산학협력단	500,000
		박송렬(거제)	108,000,000
		백조수산	14,000,000
		강진군	38,100,000
		한국수산자원관	69,500,000
2	2019.09.02	비금수산	10,000,000
3	2020.04.20	경북수산	20,000,000
4	2020.04.27	경북수산	16,000,000
5	2020.05.04	한성수산	18,800,000
6	2020.05.08	대부수산	10,700,000
7	2020.05.11	경북수산	20,000,000
8	2020.05.21	대부수산	14,400,000
9	2020.06.04	경북수산	20,000,000
10	2020.06.04	한성수산	20,000,000
11	2020.08.18	충남수산연구소	5,500,000
12	2020.09.28	신화수산	8,050,000
13	2020.10.07	신화수산	4,600,000
14	2020.10.08	서울양식	40,000,000
15	2020.10.09	죽촌수산	35,000,000
16	2020.10.11	신화수산	4,600,000
17	2020.12.31	서울양식	30,000,000

(뒷장 이어짐)

18	2021.01~	범수산	275,000
		태안군로컬푸드사업단	38,000,000
		영어조합법인 신화수산	19,576,000
		귀빈수산	2,960,000
		명수산	3,000,000
		남해수산연구소	24,000,000
		숲속애바다실내낚시터	3,300,000
		서울양식	88,000,000
		신화유통	18,960,000
		(주)신화유통	18,375,000
		만석좌대	3,000,000
		한성수산	53,080,000
		삼부수산	20,000,000
합계		817,276,000	

아. 종자수출액 : \$1,264,949

종자 수출 판매 실적				
번호	일자	판매처	국가	매출액 (\$)
1	2017.06 ~ 2017.12	PT. BATAM NARA	인도네시아	288,302
2	2018.02 ~ 2018.12	PT. BATAM NARA	인도네시아	337,760
3	2019.06	PT. BATAM NARA	인도네시아	118,964
4	2019.08.01	PAK DODO	인도네시아	69,322
5	2019.09.07	PAK JONI	인도네시아	17,232
6	2019.09.20	PAK DODO	인도네시아	79,860
7	2019.08.22	SUN TAT MARINE PRODUCTS COMPANY Ltd,	홍콩	240,883
8	2019.11 ~	PT. BATAM NARA	인도네시아	112,626
합계				1,264,949

자. 기술이전

기술이전					
번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료
1	통상실시권	기술(특허 및 노하우) 이전	제주대해(주)	2017.3.15	무상
2	통상실시권	교잡 수정란 부화 기술, 종자 생산 기술, 종자생산 시 질병 제어 기술, 공식 제어 기술	가로림양식	2019.04.01	무상
3	통상실시권	자바리와 대왕바리의 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상방법	(주)아쿠아 바이오텍	2020.04.01	무상

기술실시보고서						
(단위 : 원)						
연구개발과제 현황	사업명	Golden Seed Project (GSP)		연구과제번호	213008-05-1-CG400	
	연구과제명	아열대 바리와 우량종자 개발과 국내외 산업화				
	연구기관명	순천향대학교 산학협력단	연구책임자	방 인 철	참여기업명	제주대해(주)
	연구협약일	2017.1.1	연구기간	2017.1.1.~2021.12.31		
기술실시계약 및 성과활용 현황	연구개발비	정부출연금	기업부담금	기타 ()	계	
		1,030,000	210,000	-	1,240,000	
	계약(활용)명	아열대바리(대왕바리 등) 정자 동결보존 기술(노하우), 호르몬에 의한 산란유도(노하우), 교잡 종자 생산기술(노하우), 수정란 수송 및 부화기술(특허),				
	계약(활용)일	2017.3.15	실시(활용)기간	2021.12.31		
기술료산정내역	지재권/특허(출원/등록)인 경우	노하우 3건, 특허출원 1건	실시권 유형	통상실시권		
	실시(활용)기관	주소	제주특별자치도 제주시 노형4길 10 101호	대표자	임종윤	
	사업자번호	885-88-00530	전화번호	010-3691-4852		
	부세담당자	임종윤	e-mail	jmllee9@hanmail.net		
기술료	정액기술료	무상실시				
	정수(남부)예정일	정수(남부)금액	정수(남부)잔액	기타 조건		
	-	-	-	-		
	-	-	-	-		
	-	-	-	-		
	계	-	-	-		
기타특기사항	주관연구기간이 비영리기관으로 기술료정수 해당사항 없음					
국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.						
붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부.						
2017년 3월 15일 순천향대학교 산학협력단장 [직인] 농림수산식품기술기획평가원장 귀하						

기술실시보고서						
(단위 : 원)						
연구개발과제 현황	사업명	수산물용화기술개발사업		연구과제번호	213008-05-4-CB410	
	연구과제명	중자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축				
	연구기관명	순천향대학교 산학협력단	연구책임자	방 인 철	참여기업명	(주)가로림양식
	연구협약일	2020.01.01	연구기간	2017.01.01.~2021.12.31.		
기술실시계약 및 성과활용 현황	연구개발비	정부출연금	기업부담금	기타 ()	계	
		295,000,000	92,334,000	-	387,334,000	
	계약(활용)명	자바리와 대왕바리 간 교잡종 수정란의 수온조절을 통한 수율향상방법				
	계약(활용)일	2020.04.01	실시(활용)기간	3년		
기술료산정내역	지재권/특허(출원/등록)인 경우	종허 1건	실시권 유형	통상실시권		
	실시(활용)기관	주소	충남 아산시 신항면 순천항로22 3106	대표자	방인철	
	사업자번호	899-06-00212	전화번호	010-4841-3477		
	부세담당자	박종연	e-mail	menome555@naver.com		
기술료	정액기술료	-				
	정수(남부)예정일	정수(남부)금액	정수(남부)잔액	기타 조건		
	-	-	-	-		
	-	-	-	-		
	-	-	-	-		
	계	-	-	-		
기타특기사항	주관연구기간이 비영리기관으로 기술료정수 해당사항 없음					
국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.						
붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부.						
2020년 10월 12일 순천향대학교 산학협력단장 [직인] 농림수산식품기술기획평가원장 귀하						

기술실시보고서						
(단위 : 원)						
연구개발과제 현황	사업명	Golden Seed 프로젝트 (GSP)		연구과제번호	213008-05-3-SB410	
	연구과제명	종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축				
	연구기관명	순천향대학교 산학협력단	연구책임자	방 인 철	참여기업명 (주)아쿠아바이오텍 가로림양식 삼부수산 신용해산양식	
	연구협약일	2019.1.1	연구기간	2017.1.1.-2021.12.31		
	연구개발비	정부출연금	기업부담금	기타 ()	계	
	310,000,000	103,350,000	-		413,350,000	
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	교잡 수정란 부화 기술, 종자 생산 기술, 종자생산 시 질병 제어 기술, 공식 제어 기술				
	계약(활용)일	2019.04.01	실시(활용)기간	3년		
	지재권 종류	노하우 4건	실시권 유형	통상실시권		
	* 지재권이 특허(출원, 등록)인 경우	명 칭	-			
		번호	-			
	기관명	가로림양식		기관유형	중소기업	
	실시(활용)기관	주 소	충남 태안군 이원면 내리 462		대표 자	김 용 구
사업자번호		310-90-25587		전화번호	010-8806-7218	
부서(담당자)		김 용 구		e-mail	garorim@hanmail.net	
기술요산정내역	무상실시					
기 술 료	정액기술료		정상기술료		기타 조건	
	정수(납부)계약일	정수(납부)금액	착수기분료	정수(납부)계약일	정수(납부)금액	
	-	-	-	-	-	
	-	-	매출에 따른 기술료	정수(납부)시작일	결산일	
	-	-	-	정수(납부)종료일	정수율	
계	-	-	-	매출액의 (-)%	-	
기타특기사항	후관연구기간이 비영리기관으로 기술료정수 해당사항 없음					
<p>국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.</p> <p>붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부.</p> <p style="text-align: center;">2019년 10월 25일 순천향대학교 산학협력단장  농림수산식품기술기획평가원장 귀하</p>						

차. 홍보

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
연도	일자	활용명칭	활용내역
2차년도	2018. 08. 07	(주)아쿠아바이오텍, '대왕범바리' 어종 첫 출하	
4차년도	2020. 07. 18	목포MBC 다시쓰는 자산어보(바리과 어종 이야기)	
5차년도	2021. 12. 27	바리과 어류 홍보용 브로슈어	

㈜아쿠아바이오텍, '대왕범بار리' 어종 첫 출하

대왕범바리(사진)를 출하했다고 7일 밝혔다.



순천향대학교 기술지주회사 자회사 ㈜아쿠아바이오텍은 최근 수확성이 높은 대왕범바리(사진)를 출하했다고 7일 밝혔다.

대왕범바리는 내병성이 뛰어나고 성장이 빠르다. 이 어종은 가로 35cm 세로 13cm, 무게 800g이상 8~9개월 정도 중간 육성 후 출하한다.

고수에는 문제가 없어 육성이 계속되는 여름철 국내수요가 높아 1kg 전후 상품이 연안 가두리 양식장과 서해안 바다낚시터로부터 인기를 얻고 있다.

대왕범바리 출하는 '아열대 바리와 우항종자 개발과 국내외 산업화' 프로젝트 일환이다. Golden Seed Project(이하 GSP) 연구를 추진 중인 방인철 순천향대 생명시스템학과 교수팀이 노력해 생산으로 이어진 것이다.

연구팀은 지난 2015년 대만에서 아열대 바리와 어류인 '갈색점바리'와 '대왕바리' 진어를 국내에 이식했다. 꾸준한 연구 결과 지난 2016년 내병성과 고육성장을 가진 고잡종 대왕범바리 종자 대량생산에 성공했다.

방 교수는 "일반적으로 아열대 바리와 어류는 수온 30도가 넘는 고수온에도 성장에 전혀 문제가 없는 아열대 어류이기 때문에 국내 가두리 양식장에는 돌풍이 어려워 연중 양식이 불가능하다"며 "하지만 순환여과 방식 양식 또는 중간육성어(300g)를 가두리 양식장이나 노지양식장에서 당년에 생산해 판매하는 전략을 수립한다면 국내에서도 얼마든지 양식이 가능하다"고 말했다.

대왕범바리라고 하는 바리와 어류중에서 가장 큰 어종입니다

방인철 교수
순천향대학교

제주도에 가서는 자연산 바리 먹어봐야 하지 않겠습니까? #대왕범바리 #범바리 #바리과

유튜브 채널 정보:
유튜브 구독: 1,025 / 14,102
최근 업로드: 2020. 7. 18.

포유MBC
크리에이티브인용

[양양]바리과
이 어종, 제주도 수산시장엔
적용을 못한 상항 번식용으로 기록됩니다.
양식여과 시설을 육종까지
대량인 육종으로 옮겨오는 데요.
제주도를 대표하는 대양양 어종을 통해서도
육종업질 저를
사업을 이루겠다는 자연산 자바리,
바리의 계통 잡게 맞도 가르도 1등.

인양, 양양서프프로젝트(국가프로젝트)로 개발된 신종은 대왕범바리(대왕범바리)

AQUA BIOTECH

국가연구과제 (Golden Seed Project)로 개발한 신종은
더 맛있고 더 건강하고 더 무지방 대왕범바리

Aqualitech Co., Ltd
주소: 대전광역시 유성구 유성4동1189번길 11-24, A305호 (유성동) 제천군 남문 빌딩 84-3
사업장: 충청남도 예산군 예산읍안동 236
Tel. +82-415-8870-0474

Aqua Biotech | Catalogue

국가연구과제 (Golden Seed Project)로 개발한 신종은
더 맛있고 더 건강하고 더 무지방

· 대왕범바리

AQUA BIOTECH

Hybrid goby

AQUA BIOTECH

아쿠아바이오텍 · 개요

01. 소개

회사	해다쿠아바이오텍
주소	대전광역시 유성구 유성대로 1188번길 11-24, A305호
사업장	충청남도 태안군 천수리로 230
대표/CEO	정인철
전화	82-10-8870-0474

01. 양식장비 34년 간 약 30억불 (태양, 해안어류, 해초, 갑각류 등)의 총자산인 경영

02. Golden Seed 프로젝트 중대 2013~2021년 (9월)대 배양

03. 국립수산물품질관리원 9년 근무

04. 순천향대 생물과학과 교수 1998~현재

02. 연혁

- 2013:
 - 가톨릭대학교 벤처기업 인증
 - 해당사업 GDP 리얼리테이션 공제 인정
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정
- 2018:
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정(대안형)
- 2019:
 - 본사 장비 연구개발특구지원
 - 연구소기업 등록
 - 지역혁신산업육성 연구공적 인정
 - 해양수산부청년창업자 유치
- 2020:
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정(대안형)
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정(대안형)
- 2021:
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정(대안형)
 - 순천향대 창업수업연구과제 선정(대안형)

제품소개

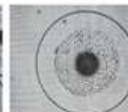
해리과 어류는 우리나라의 대표적인 수산물 중의 하나이며, 대만, 그리고 동남아 국가에서 전통적인 고부가 가치 수산물로서 소비량이 지속적으로 증가하고 있으며, 특히 국가에서 청사양식을 통한 육질을 위해 많은 노력을 기울이고 있습니다.

03. 대왕자바리

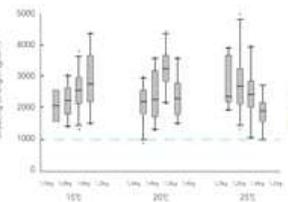




국가연구개발과제 Golden Seed Project를 통해 개발된 대왕자바리 (hybrid grouper)는 제주도에서 다량어획되고 있는 자바리 (Banggai grouper, *Epinaphelus mooki*)와 해초와 어류에서 가장 대량 어획된 대왕자바리 (light grouper, *Epinaphelus lanceolatus*) 간에 교잡종으로 자바리 대비 근육 내 총지질 함량이 70%가 높아 건강에도 좋으며, 사육도 더 쉽습니다.


대왕자바리 수정란 (자바리 배란)



생장량 (g/100g)

1998 2019 2021

남치 대비 약 2배 이상 높은 성장률
대왕자바리, 종상 종사, 최연 종으로 알려진 남치 종상

카. 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	2019	1	1			1	1			2				
2		2020	1				1				1				
3		2021		1			1				1				

국회도서관 소장자료 | 위부기관 소장자료 | 태미 컬렉션

전체(초록·목록·본문제약) | **백문헌**

키워드: "백문헌" (문제 484건) | **키워드** | **본문검색**

자료구분: **내서** | **국립중앙도서관** | **한국학중앙연구원** | **국립중앙도서관**

제목: **Doc. 1 of 484**

▶ **논문명/저자명** | 저해리 Epinephelus moara ♀와 대항바리 E. lanceolatus ♂ 간 잡종 대항바리의 알도와 형태학적, 유전학적 및 생리학적 분석 = Hybrid induction between Epinephelus moara ♀ and E. lanceolatus ♂, and its morphological, genetical and physiological analysis / 백문헌

▶ **발행사항** | 이산 - 순천향대학교 대학원, 2019.8

▶ **장구기호** | TD 570-19-374

▶ **발행처** | xiv, 139 p. : 26 cm

▶ **자료실** | 석박사학위논문실(107호) | **도움말**

▶ **외부기관 명문** | KOTIS

▶ **제어번호** | KOMT1201953724

▶ **주기사형** | 학위논문(박사) - 순천향대학교 대학원, 생물학과, 2019.8. 지도교수: 백인봉

국회도서관 소장자료 | 위부기관 소장자료 | 태미 컬렉션

전체(초록·목록·본문제약) | **백문헌**

키워드: "백문헌" (문제 652건) | **키워드** | **본문검색**

자료구분: **내서** | **국립중앙도서관** | **한국학중앙연구원** | **국립중앙도서관**

제목: **Doc. 1 of 265**

▶ **논문명/저자명** | 백리진 역을 포함한 대항바리(Epinephelus fuscoguttatus ♀ × E. lanceolatus ♂)와 대항꽃대리(E. kaara ♀ × E. lanceolatus ♂)의 분자생물학적 동종 = Molecular biological identification for two hybrid groupers, Epinephelus fuscoguttatus ♀ × E. lanceolatus ♂ and E. kaara ♀ × E. lanceolatus ♂ / 서정민

▶ **발행사항** | 이산 - 순천향대학교 대학원, 2019.2

▶ **장구기호** | TM 578.77-19-24

▶ **발행처** | ix, 38 p. : 26 cm

▶ **자료실** | 석박사학위논문실(107호) | **도움말**

▶ **제어번호** | KOMT1201920938

▶ **주기사형** | 학위논문(박사) - 순천향대학교 대학원, 해양생물학과, 2019.2. 지도교수: 백인봉

▶ **문헌** | **원문보기** (원문제약) | **다운로드**

국회도서관 소장자료 | 위부기관 소장자료 | 태미 컬렉션

키워드: huynh dac tam

키워드: "huynh dac tam" (문제 2건) | **키워드** | **본문검색**

자료구분: **내서** | **국립중앙도서관** | **한국학중앙연구원** | **국립중앙도서관**

제목: **Doc. 1 of 2**

▶ **논문명/저자명** | Development of intensive recirculating aquaculture systems using probiotics for the hybrid grouper, Epinephelus fuscoguttatus ♀ × E. lanceolatus ♂ = 양적세균질 미생물 대항바리(Epinephelus fuscoguttatus ♀ × E. lanceolatus ♂)의 순환여과 영식시스템 개발 / Huynh Duc Tam

▶ **발행사항** | 이산 - 순천향대학교 대학원, 2020.2

▶ **장구기호** | TD 570-20-173

▶ **발행처** | x, 134 p. : 26 cm

▶ **자료실** | 석박사학위논문실(107호) | **도움말**

▶ **제어번호** | KOMT1202022970

▶ **주기사형** | 학위논문(박사) - 순천향대학교 대학원, Dept. of Biology, 2020.2. 지도교수: In-Chul Bang

▶ **문헌** | **원문보기** (원문제약) | **다운로드**

SCH Seonchunhyang University Graduate School

석 제 3873 호

학 위 기

성 명 / 백인국
1987년 08월 06일생

논문제목:
저수온 노출에 의한 대항자바리 (Epinephelus moara ♀ × E. lanceolatus ♂)의 스트레스 반응 및 면역 관련 유전자의 발현

2021년 08월 19일

순천향대학교 대학원장 | 이학박사 박두순

위의 인정에 의하여 | 이학 석사 | 학위를 수여함.

2021년 08월 19일

순천향대학교 총장 | 공학박사 김승

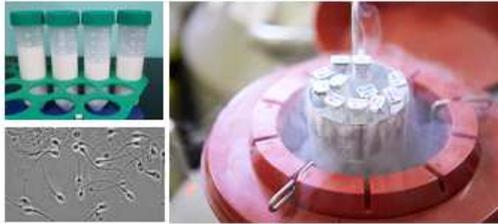
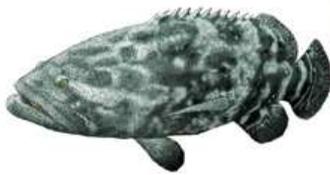
학위번호 : 순천향대 2020(석)211

카. 매뉴얼 제작

연도	내용	기 타
4차년도	바리과 어류 대왕바리의 정자동결보존 매뉴얼	

바리과 어류의 정자동결보존 매뉴얼

(GSP 프로젝트 아열대 바리과 우량종자 기술개발 사업)



2020. 11. 30



순천향대학교 산학협력단

제 2 절 우량수정란 생산과 품종 고도화 기술개발

1. 어종별 친어자원 확보 및 관리

- 2세부 프로젝트는 당초 “우량수정란 생산과 품종 고도화 기술개발” 연구를 수행하였으나, 2차년도부터 베트남 사업을 병행하였고, 3차년도부터는 베트남 사업만 전담하게 되었음. 따라서 세부 프로젝트명과 세부 연구내용에는 차이가 있음. 그리고 3차년도 최초 협약 시 세부 프로젝트명은 『베트남 우량종자 생산 기반 구축 및 산업화』 였으나, 농기평의 사후 지적에 따라 현재의 세부 프로젝트명으로 변경되었음.

가. 친어자원 확대 및 사육관리(표. 2-2-1)

- 1차년도에는 동남아 어종인 대왕바리(giant grouper), 갈색점바리(brown-marbled grouper, tiger grouper), 무늬바리(leopard coral grouper) 그리고 우리나라 어종인 자바리를 구입하여 친어자원을 확대하였으며, 확보한 친어는 구입국 및 어종별 특성에 따라 경남수산자원연구소, 순천향대학교 해양수산연구소 그리고 베트남의 임대시설(베트남 국립양식연구소 RIA 3-MRDC와 Dao Ly Co LTD)에 수용하였음.
- 2차년도에는 갈색점바리 친어를 베트남 현지에서 확보하여 RIA3-MRDC와 Dao Ly Co LTD 시설에 수용하였음. 1, 2차년도에 구입한 친어는 기존 친어자원과 함께 국내외 종자 생산용 교잡 수정란을 생산에 사용하였음.

표 2-2-1. 바리류 친어 관리

	대왕바리 (giant grouper)	자바리 (kelp grouper)	붉바리 (red-spotted grouper)	갈색점바리 (brown marbled grouper)
관리장소	경남수산자원 연구소 (육상수조)	경남수자연/제다양식 (육상수조) 거문도(해상가두리)	거문도 (해상가두리)	베트남 (해상가두리, 육상수조)
사육수온	25℃~30℃	13℃(2월)→19℃(3월~) 자연수온	자연수온	자연수온
배우자 생산시기	7월~9월	4월~6월 7월~10월	7월~8월	7월~10월

* 자바리는 조기 산란 유도를 위해 제다양식에서 염지하수를 이용함.

- 17년 11월 베트남 현지의 태풍 Damrey (23호) 로 인하여 친어 20마리와 친어후보군 200여 마리가 손실되었으며, 2차년도(18년) 중 125마리(친어와 친어후보군)를 구매하였으나 총

분한 수정란 생산을 위하여 3, 4차년도에도 계속하여 친어자원을 확대하였음. 갈색점바리 (brown-marbled grouper, tiger grouper) 친어를 베트남 현지에서 확보하여 대왕범바리 수정란을 생산하고, 기존 및 신규 친어자원을 이용하여 국내외 종자 생산용 교잡 수정란을 생산함. 그리고 국내와 해외 현지에서 생산한 교잡 수정란은 필요시 국가 간 이동하여 종자 생산에 사용함.

- 3차년도 중 수정란 생산이 가능한 4~6 kg 크기의 갈색점바리 친어를 사육 이력 파악 후 2~4월에 베트남 현지 구입
- 현재 관리 중인 갈색점바리 친어는 임대 예정인 베트남 국립양식연구소의 해상가두리 시설에서 사육·관리하며, 사육 수온은 자연 수온(25~31°C)에 따름. 먹이는 인근 수산시장에서 구입이 가능한 전갱이류를 공급하며, 이때 영양제 캡슐을 같이 공급함.

(1) 친어자원 확대

- 1차년도에는 순종 4종, 모두 245마리 그리고 2차년도에는 갈색점바리 125마리를 확보하였고, 1차년도에는 향후 친어자원으로 양성할 갈색점바리 200마리(체중 2kg)를 추가 확보하였음(표 2-2-2). 2차년도부터 참여한 청솔수산이 보유한 붉바리 1,500여 마리가 추가 되었음.

표 2-2-2. 바리과 어류 친어 구입 및 보유 현황

구분	어명	연차별 보유 마리 수			사육관리 장소
		1차년도 (‘17년)	2차년도 (‘18년)	3~5차년도 (‘19~’21년)	
친어확보 현황	대왕바리*	5	-	- *현지기관 공동사용 6마리	베트남 RIA3-MRDC Dao Ly Co LTD
	갈색점바리	20	77 *친어후보 60마리	104 *현지기관 공동사용 40마리	"
	무늬바리	100	50	48	"
	자바리	112	-	-	경남수산자원연구소 *3세부 시설로 이동
친어보유 현황 -해외-	갈색점바리		104		베트남 RIA3-MRDC (임대시설)
	무늬바리		10		"
친어보유 현황 -국내-	대왕바리		6		경남수산자원연구소 *1세부 시설로 이동
	자바리		262		청솔수산 262마리
	불바리		1,500		청솔수산 1,500여마리

* 1차년도 구입했던 대왕바리 전량이 태풍 담레이에 의해 손실되었으며, 2차년도에는 RIA3 소유 친어를 교잡에 사용함. 1차년도 연차실적계획서에 반영되었던 순천향대 보유친어(대왕바리, 자바리)는 제외함.

- 베트남 태풍 담레이(Damrey, '17년 11월 4일)에 의해 대왕바리 친어 11마리, 갈색점바리 친어 14마리, 양성어 200여마리, 무늬바리 친어 90여 마리 손실되었음(그림 2-2-1). 그리고 친어관리 중 수질 악화 및 핸들링에 따른 사망으로 현재 보유 중인 국내외 친어는 대왕바리 6마리, 갈색점바리 137마리, 무늬바리 10마리, 자바리 332마리 그리고 불바리 1,500마리임.



그림 2-2-1. 태풍 담레이(Damrey)에 의한 베트남 현지 기지(해상가두리) 피해

- 2차년도('18년) 구입한 친어후보군 60마리(구입 당시 2.5 kg) 중 사망 개체를 제외한 54마리가 3차년도('19년)에 친어군으로 가입되어, 2차년도 77마리('18년 10월 기준)에서 3차년도 104마리로 친어자원이 확대되었음.
- 3차년도 이후 이 사업에서 친어의 신규 구입은 없었으나, 현지 협력 기관(RIA3-MRDC)이 구입한 대왕바리 4마리를 포함해서 대왕 바리(6마리)와 갈색점바리(40마리) 친어를 공동으로 사용하였음.

(가) 대왕바리(giant grouper, *Epinephelus lanceolatus*)

- 17년 4월에 베트남 빈딘과 깜란에 위치한 업체로부터 13마리(평균 체중 41.8 kg, 체중 범위 27~56 kg, 그림 2-2-2) 구입 후 베트남 임대시설인 베트남 양식연구소(RIA3, Research Institute for Aquaculture 3) 소속 MRDC (Mariculture Research and Development Center)에서 일시 보관 후 인근의 민간업체(Dao Ly Co LTD)에서 사육관리 중 태풍으로 전량 손실되었음.



<친어 채포용 그물 설치>



<친어 채포>



<건강도 검사>



<활어차>



<활어차 수조 내 친어 수용>

그림 2-2-2. 베트남 대왕바리 친어 구입.

(나) 갈색점바리(brown marbled grouper 또는 tiger grouper, *E. fuscoguttatus*)

- 베트남 캄란에 위치한 업체로부터 '17년 1월에 친어 20마리, '18년 3월과 8월에 모두 125마리를 구입 후 베트남 기지인 베트남 양식연구소 소속 MRDC에 일시 사육 후 현재 인근의 민간업체(Dao Ly Co LTD)에서 사육 관리 중임(그림 2-2-3).

-1차년도



<활어차>



<활어차 수조내 친어 수용>



<해상가두리 이동을 위한 선박수송>



<해상가두리 입식>

- 2차년도



<친어 선별>



<해상 운송>



<해상가두리 입식>



<입식 후 다음날-사망개체 없음>

그림 2-2-3. 베트남 갈색점바리 친어 구입 작업.

(다) 무늬바리(orange spotted grouper, *Plectropomus leopardus*)

- 17년 5월에 나트랑 인근 해상가두리 업체가 보유한 자연산 500여 마리중 건강 상태가 양호한 개체 100마리(체중 300g~1kg)를 구입하여 RIA3-MRDC 인근 코코넛 해상가두리에서 태풍에 손실되지 않고 남은 10여 마리를 사육 관리 중임. 무늬바리는 체색이 붉어 향후 새로운 교잡품종 개발을 위한 사용할 계획임(그림 2-2-4).



<해상 운송>



<해상가두리 친어 수용>

그림 2-2-4. 베트남 무늬바리 친어 구입.

(라) 자바리(longtooth grouper, *E. bruneus*)

- 17년 8월에 국내 유통업자를 통해서 양식산 자바리 112마리(평균 체중 4.6kg)를 구입 하였으며, 경남수산자원연구소에서 수용 후 후 순천향대로 옮겨 사육 관리함(그림 2-2-5).



<활어차>



<활어차 수조내 친어 수용>

그림 2-2-5. 국내 자바리 친어 구입

(2) 친어사육관리

- 대왕바리, 갈색점바리, 자바리, 붉바리, 무늬바리 모두 5 어종의 친어자원을 해외 1곳(베트남 RIA3-MRDC), 국내 3곳(경상남도수산자원연구소, 제다양식, 청솔수산)에서 사육 관리하였음. 무늬바리는 2차년도 중 체색형질 발현을 위한 교잡품종 개발에 암컷 친어로 사용하였으나, 수정란의 발생 중 기형률이 높았고 친어 마리수가 적어 이 결과에서는 제외하였음.

(가) 대왕바리

- 국내 1곳과 해외 1곳에서 사육 관리하였음, 사육관리 방법은 아래와 같음. 베트남의 대왕바리는 태풍('17년 11월, 담레이)으로 전량 손실되어 1차년도 결과만 제시함.

① 경남수산자원연구소(그림 2-2-6과 7)

- 크기 : 1단계 1차년도('13년) 국내 이식 후 순치 또는 수정란 생산 과정에서 사망한 개체를 제외하고 현재 기준 총 6마리를 50t 용량(깊이 2.5 m)의 수조에서 사육하고 있으며, 체중은 60~130 kg임.
- 먹이 : 고등어와 전갱이를 가공하지 않고 주 6일 공급하였으며, 2차년도에는 오징어를 추가하여 공급함.
- 수온 : 1차년도에는 저수온기인 12월~4월 중에 20~23℃를 유지하다가 점차 올려 5월 13일부터 약 28℃에서 성숙과 산란을 유도하였고, 11월부터는 20~25℃로 낮추었음. 그리고 산란 유도를 위해 단기간 동안 1℃ 정도 올려 29℃를 유지하기도 하였음. 2차년도에는 성숙과 산란을 1차년도보다 앞당기기 위하여 4월부터 수온을 28℃ 그리고 8월부터 30℃로 올렸음. 10월부터 23℃ 이하로 유지할 계획임.

② 베트남 RIA3-MRDC, Dao Ly Co Ltd (그림 2-2-6)

- 크기 : 구입 후 RIA3-MRDC에 단기 보관 후 인근의 해상가두리(코코넛 해상가두리)로 옮겨 13마리를 사육 관리하였으며, 구입 후 추가적인 계측은 하지 않았음(구입시 크기 : 27~56 kg).
- 먹이 : 베트남 나트랑 수산시장에서 구입할 수 있는 고등어, 전갱이류와 기타 어류를 주 6일 또는 7일 공급하였음.
- 수온 : 아열대 환경임을 고려하여 별도의 가온 없이 자연 수온을 그대로 따라 24.8℃~29.7℃ 범위에서 사육 관리하였음(그림 2-2-9).

(나) 갈색점바리(그림 2-2-7)

- 국내 1곳과 해외 1곳에서 사육 중이며, 사육관리 방법은 아래와 같음.

① 경남수산자원연구소

- 크기 : '15년(3차년도) 국내에 이식한 후 경남수산자원연구소의 15t 용량의 사각 수조에서 사육 관리하였음(어체중 4~6 kg).

- 먹이 : 고등어와 전갱이를 1/2 또는 1/3로 절단한 후 주 5일 공급하였으며, 먹이 첨가제(유산균제, 비타민 C, E, 간 기능 강화제)를 캡슐에 담아 먹이에 삽입하여 매일 공급하였음(그림 2-2-8).
- 수온 : 저수온기인 11월~5월까지 21℃ 내외에서 관리하다가 자연 수온이 올라가는 5월 중부터 24℃ 내외로 유지하였음.



<대왕바리-경남수산자원연구소>



<먹이 공급> * 1단계 보고서 사진 인용



<베트남 Dao Ly 해상가두리>



<대왕바리-베트남 RIA3-MRDC 육상수조>

그림 2-2-6. 대왕바리 친어사육 관리.



<갈색점바리-경남수산자원연구소>



<갈색점바리-베트남 RIA3-MRDC>

그림 2-2-7. 갈색점바리 친어사육 관리.

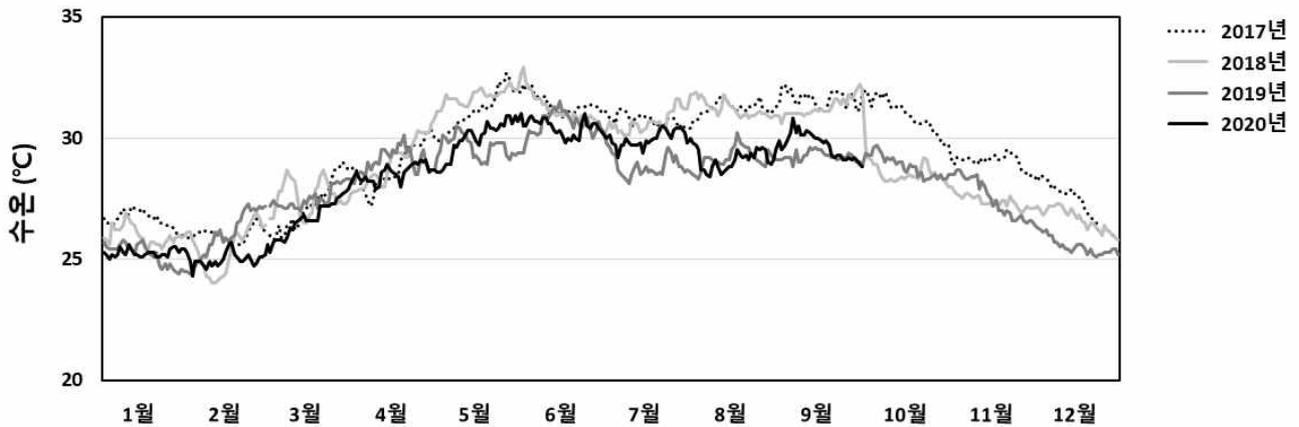
※ 경남수산자원연구소에서 사육 관리하던 갈색점바리 친어군은 순천향대학교 해양수산연구소로 옮긴 후 '17년 9월에 질병 발병 및 처치 과정에서 전량 폐사하였음.

② 베트남 RIA3-MRDC (그림 2-2-7과 9)

- 크기 : 1차년도 한 차례, 2차년도 두 차례에 구입 후 산란 유도 및 채란과정에서 다수 죽어 현재 104마리를 보유하고 있으며, 채란 시 측정한 체중은 5~9 kg임.
- 먹이 : 베트남 나트랑 수산시장에서 구입한 고등어, 전갱이류와 기타 어류를 주 7 일 공급하였으며, 국내에서와 마찬가지로 먹이 첨가제를 공급하였음.
- 수온 : 아열대 환경임을 고려하여 별도의 가온 없이 자연 수온을 그대로 따랐으며, 연평균 수온은 '17년 29.4℃, '18년 28.9℃, '19년 28.1℃ 그리고 '20년(9 월까지) 28.3℃였음(그림 2-2-9).



그림 2-2-8. 갈색점바리 친어용 먹이 첨가제(일부 대왕바리에도 공급).



수온(°C)	2017년	2018년	2019년	2020년
평균	29.4	28.9	28.1	28.3
최고	32.7	32.9	31.5	31.0
최저	25.6	24.0	24.4	24.3

그림 2-2-9. 베트남(나트랑 해역)의 해수온.

(다) 자바리

- 1단계(381마리, 3, 4차년도)와 1차년도 구입한 친어(112마리) 중 채란·채정 그리고 사육관리 중 죽은 개체를 제외하고 모두 332마리를 보유하고 있음. 1차년도에는 국내 2곳(경남수산자원연구소 162마리, 제다양식 180마리)에 분산하였고, 2차년도에는 이중 생존한 개체 262마리를 거문도 해상가두리로 옮겼으며, 사육관리 방법은 아래와 같았음.

① 경남수산자원연구소(1차년도, 그림 2-2-10과 11)

- 크기 : 1단계 중 구입한 후 일부를 입식하여 사육 중이며, 50t 용량의 원형 수조에서 사육관리 후 '16년 10월 500t 용량의 대형수조에 능성어와 함께 수용한 후 산란기에 다다른 7월에 15t 용량의 수조로 옮겼으며, 당시 크기는 체중 3.2~10.3 kg이었음.
- 먹이 : 고등어와 전갱이를 1/2 또는 1/3로 절단한 후 주 5일 공급하였음.
- 수온 : 자연 수온에서 관리하였으며, 산란 시기인 8월 중 갑작스러운 자연수온 상승에 따라 최고 27.5℃의 고수온이 지속되면 냉각기를 사용하여 약 23℃로 낮추어 관리하였음.

② 제다양식(1, 2차년도, 그림 2-2-10과 11)

- 크기 : 1단계 중 제주에서 구입한 개체를 입식하여 사육 중이며, 80t 용량의 사각 수조에서 사육관리 중임(어체중 3.8~7.9 kg).
- 먹이 : 달걀노른자와 각종 영양제를 혼합한 배합사료 위주로 하여 주 6일 또는 7일 공급하였음(6일 또는 7일/주).
- 수온 : 표층해수와 지하 해수를 사용하여 자연 수온에서 관리하였으며, 저수온기(12월~3월)에는 지하 해수 위주로 공급하였음. 갑작스러운 자연수온 상승에 따라 최고 28.0℃의 고수온이 수일 지속되면 지하 해수를 이용하여 약 24℃를 유지하였음. 친어 수조만 단독으로 수온 조절이 불가능하여 어려움이 있었음.

③ 청솔수산(2차년도, 그림 2-2-10과 11) : 거문도 해상가두리

- 먹이 : 고등어와 전갱이를 주 5일 공급하였음.
- 수온 : 자연 수온에서 관리하였으며, 8월 9일 최고 27.3℃ 그리고 1월 31일 10.8℃였음.



<자바리-경남수산자원연구소>
-500t 수조-



<자바리-경남수산자원연구소>
-산란기 15t 수조-



<자바리-제다양식>



<붉바리-경남수산자원연구소>



<자바리-청솔수산(거문도)>



<붉바리-청솔수산(거문도)>

그림 2-2-10. 자바리와 붉바리 친어.

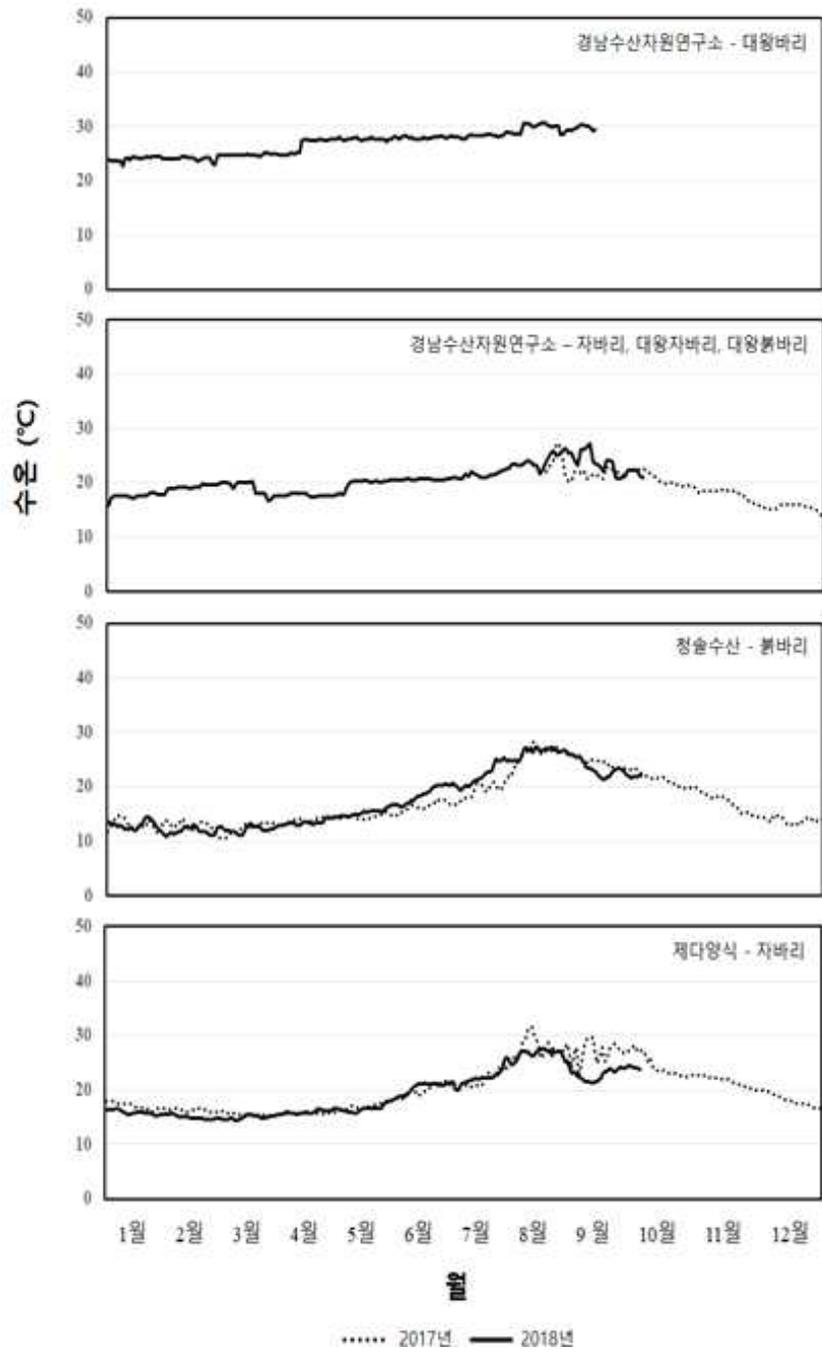


그림 2-2-11. 시설 및 어종별 사육 수온.

(라) 붉바리

① 경남수산자원연구소(1차년도, 그림 2-2-10과 11)

- 크기 : 1단계 3차년도에 구입한 44마리와 올해 제주대에서 이관받은 73마리 중 죽은 개체를 제외하고 어체중 0.35~1.2kg 범위의 80마리를 경남수산자원연구소의 15t 용량의 사각 수조에서 사육 관리하였음.
- 먹이 : 친어의 크기를 고려하여 고등어와 전갱이를 1~3 cm 두께로 잘라 주 5일 공급하였음.
- 수온 : 자연 수온에서 관리하였으며, 갑작스런 자연수온 상승에 따라 최고 27.5°C의 고수온이 2주간 지속되어 산란에 어려움이 있었음.

② 청솔수산(1차년도, 그림 2-2-10과 11)-거문도 해상가두리

- 먹이 : 고등어와 전갱이를 주 5일 공급하였음(주 5일).
- 수온 : 자연 수온에서 관리하였으며, 8월 9일 최고 27.3°C 그리고 1월 31일 10.8°C였음.

(3) 후보 친어자원 확보

- 향후 친어자원으로 활용 예정인 3품종(대왕자바리, 대왕붉바리, 갈색점바리)을 1차년도에는 국내 4곳, 해외 1곳 그리고 2차년도에는 국내 1곳, 해외 1곳에서 사육관리 중임. 대왕자바리와 대왕붉바리는 각각 '15년 8월과 7월에 청솔수산에서 수정하고 생산한 종자이며, 갈색점바리는 1차년도에 베트남 현지에서 구입하였음(표 2-2-3, 그림 2-2-12). 1차년도 중 구입한 갈색점바리는 현지의 태풍(Damrey, '17년 11월 4일)에 의해 전량 손실되었음.

(가) 대왕자바리

- 국내 : 생산한 종자를 한국해양과학기술원 동해연구소로 옮겨 수온별 실험 후에 한 수조에서 혼합 사육하였음. 대량폐사에 따른 위험 분산을 위해 '17년 7월에 400여 마리중 200마리를 순천향대학교 해양수산연구소로 옮겼고, '17년 12월에 전량 경남수산자원연구소로 옮겼으며, '18년 10월에 이 중 101마리를 청솔수산(거문도 해상가두리)으로 옮겨 사육관리하고 있음. 현재 모두 300마리를 관리 중임.
- 해외 : 국내와 동일한 종자를 말레이시아 Aqua Harvest Ltd에 운송·입식한 후 향후 친어로 활용하기 위해 사육관리하고 있으며, 현재 50여 마리를 보유하고 있음.

(나) 대왕불바리

- 생산한 종자를 그해 한국해양과학기술원, 경남수산자원연구소 그리고 둔덕수산(해상가두리)으로 옮겨 사육 관리하였으며, '18년 7월 중 다른 두 기관의 집단을 모두 경남수산자원연구소로 옮겼음. 그 후 '19년 12월 중 이 중 70여 마리를 3세부 기관에 양도하였으며, 거문도 해상가두리에 입식하였음.

(다) 갈색점바리

- 베트남 현지에서 1차년도에 1~1.3kg 크기 210마리를 '17년 4월에 구매하여 RIA3-MRDC 인근의 Dao Ly Co Ltd의 코코넛 해상가두리에 입식하여 사육 관리하였음. '17년 태풍 담레이에 의해 전량 손실되었음.

표 2-2-3. 바리과 어류 후보 친어자원 확보 실적

품종명	마리수	평균체중	사육관리 장소	비고
대왕자바리	300마리	3.8 kg ('18년 9월)	경남수산자원연구소	
	약 1,000마리	4.5 kg ('17년 5월)	Aqua Harvest Ltd	말레이시아
대왕불바리	110마리	1.2 kg ('18년 9월)	한국해양과학기술원	'18년 8월에 경남수산자원연구소에 한 수조에 수용하여 관리
	약 50마리	874.0 g ('17년 9월)	둔덕수산	
	약 200마리	541.8 g ('17년 9월)	경남수산자원연구소	
갈색점바리	200마리	2 kg ('17년 10월)	Dao Ly Co Ltd	베트남, 전량손실

나. 친어 데이터베이스 확보

- 친어 데이터베이스는 친어 개체별 성장, 번식, 유전 특성에 관한 정보를 축적하고 각 환경에서의 사육 특성을 분석하여 향후 친어관리 뿐만 아니라 육종품종 개발의 자료로 활용하기 위하여 수행함.
- 신규 구입한 친어를 대상으로 크기(길이, 무게) 등 표현 형질 데이터를 수집하였고, 수정란 생산에 사용한 친어는 개체 식별용 transponder ID chip을 등 근육에 삽입하였음. 갈색점바리는 동남아 현지에서 종 동정이 불분명하고 유통업체와의 신뢰가 확립되지 않아 저가의 교잡품종이 둔갑하여 거래되는 경우가 있음. 따라서 1차년도에 한하여 유전분석용 시료로서 각 개체의 지느러미 일부를 확보한 후 COX1과 RAG2 유전자를 이용해 종 동정을 시행하였음.
- 생산한 데이터는 웹기반 'GSP 아열대바리 품목의 자료관리 프로그램'을 적용한 사이트 (<http://192.168.31.100>)에 데이터베이스화하였음.
- 1, 2차년도 중 신규 구입한 친어의 표현형 데이터를 이용하여 데이터베이스를 구축하고

있으며, 동남아 현지에서 구입한 갈색점바리는 교잡품종을 속여 거래되는 경우가 많아 유전적 종 동정을 수행하였음. 이 어종별 친어집단에 대해서는 매년 1회 주기적인 계측을 시행

(1) 표현형 데이터

- 대왕바리, 갈색점바리, 자바리 그리고 무늬바리의 크기를 측정하였으며, 이 결과를 제시함(표 2-2-4).
- 이 중 1차년도에 구입한 갈색점바리 친어 200마리는 현지의 태풍(Damrey, '17년 11월 4일)에 의해 전량 손실되었음. 이에 따라 2차년도에 갈색점바리 친어를 신규 구입하였으며, 마리수와 평균 체중은 각각 60마리와 65마리 그리고 5.0 kg과 2.5 kg이었음.

표 2-2-4. 2017년과 2018년 구입 친어자원의 체중

	2017년(1차년도)				2018년(2차년도)	
	대왕바리	갈색점바리	무늬바리	자바리	갈색점바리	
마리수	13마리	200마리	100마리	112마리	60	65
평균체중	41.8 kg	4.0 kg	0.46 kg	4.6 kg	5.0 kg	2.5 kg
체중범위	27~56 kg	5~7 kg	0.3~1.0 kg	3.8~6.2 kg	3.5~6.0 kg	1.8~3.2 kg



<대왕자바리-한국해양과학기술원>



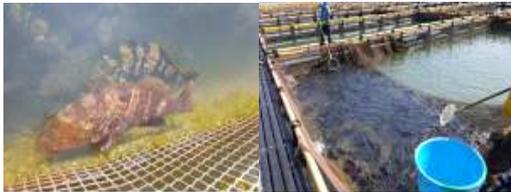
<대왕불바리-한국해양과학기술원>



<대왕자바리-경남수산자원연구소>



<대왕불바리-경남수산자원연구소>



<대왕불바리-둔덕수산>



<갈색점바리-베트남 RIA3-MRDC>

그림 2-2-12. 바리과 어류의 후보 친어자원.

(2) 유전형 데이터

- 베트남 현지에서 1차년도에 구입 후 RIA3-MRDC 인근의 해상가두리 양식장에서 사육관리 중인 갈색점바리에 대하여 꼬리지느러미 샘플, 개체별 ID chip 삽입 후 국내에서 분석을 시행하였음(그림 2-2-13).



<꼬리지느러미 샘플>



<개체별 ID chip 삽입>



<ID serial number 확인>

그림 2-2-13. 유전형 데이터 획득을 위한 베트남 현지 작업.

(가) 미토콘드리아 COX1 유전자

- 베트남 바리과 어류 시료 20개 중 18개는 유전자은행에 확보되어있는 갈색점바리와 대왕바리 교잡품종 및 갈색점바리 haplotype과 동일하였고, 나머지 2개는 2013년도 확보한 갈색점바리 haplotype과 동일하였음(그림 2-2-14). 또한 이들은 하나의 분기(clade)를 이뤘으며 bootstrap 값이 100으로 통계적으로 유의하였음.

(나) 핵 RAG2 유전자

- 분자계통수 작성 결과 20개 시료 모두 유전형은 갈색점바리와 동일하였음(그림 2-2-14). 교잡품종에서 나타나는 double peak 양상을 분석하기 위해 정리한 결과 빨간색 화살표를 제외한 나머지 double peak는 개체 변이에서 기인한 것으로 추정됨(그림 2-2-15). 4FPKTX 프라이머를 이용해 PCR을 수행한 결과 대조구인 대왕범바리는 100 bp와 250 bp의 증폭산물을 모두 가지고 있었음. 대왕바리는 250 bp, 갈색점바리는 100 bp의 증폭 산물을 확인할 수 있었고, 조사 대상 시료 20개 중 PCR 증폭에 실패한 S7을 제외한 19개는 갈색점바리와 동일한 증폭 산물을 확인할 수 있었음(그림 2-2-16).
- 이상의 조사에서 베트남에서 구입한 개체는 모두 갈색점바리인 것으로 판단되었음.

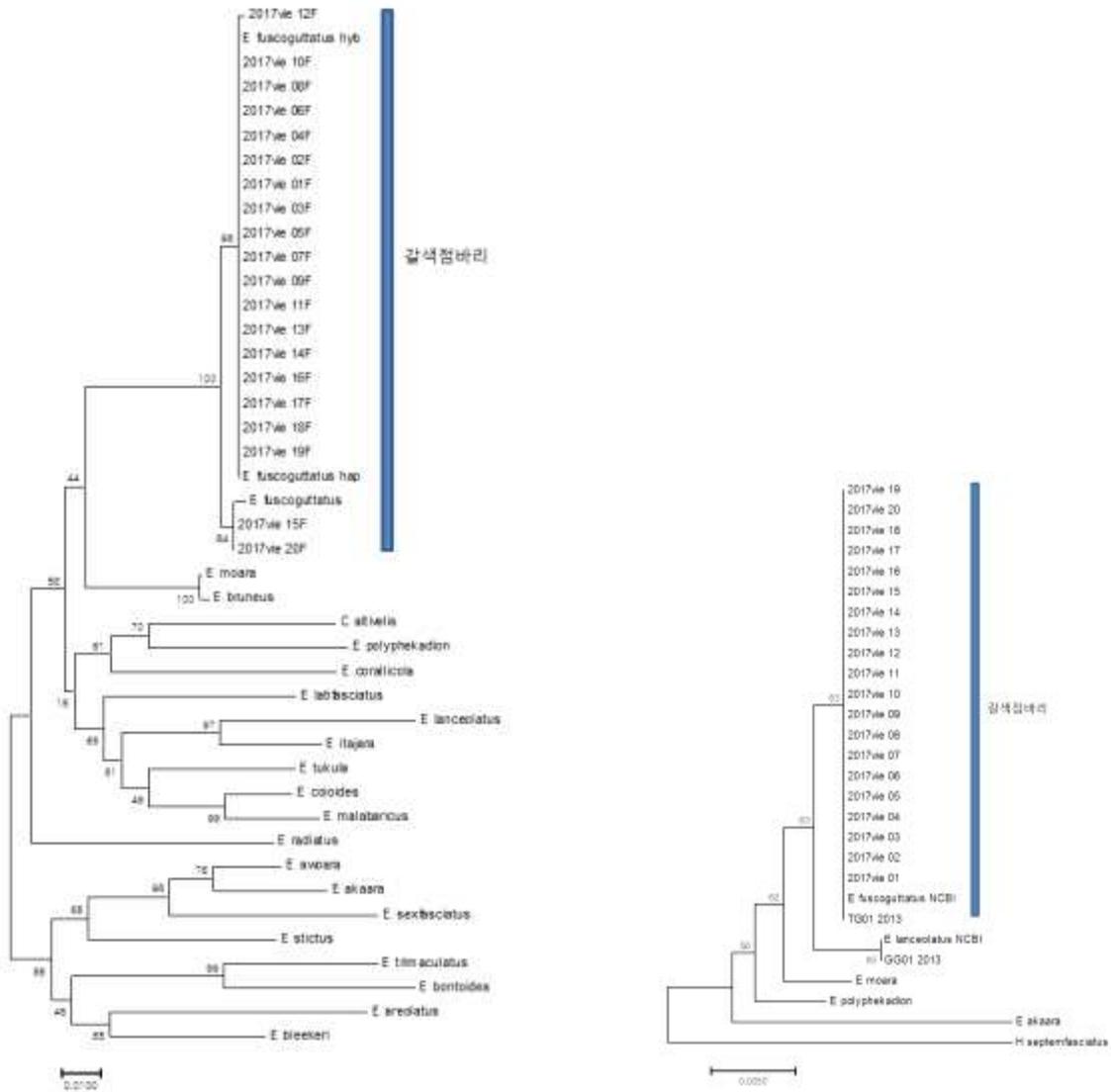


그림 2-2-14. 베트남에서 1차년도(2017년)에 구입한 갈색점바리의 종 동정 분석 결과.

(왼쪽, 미토콘드리아 COX1 유전자의 핵산 염기서열 정보에 기초하여 작성된 분자계통수; 오른쪽, RAG1 유전자의 핵산 염기서열 정보에 기초하여 작성된 분자계통수)

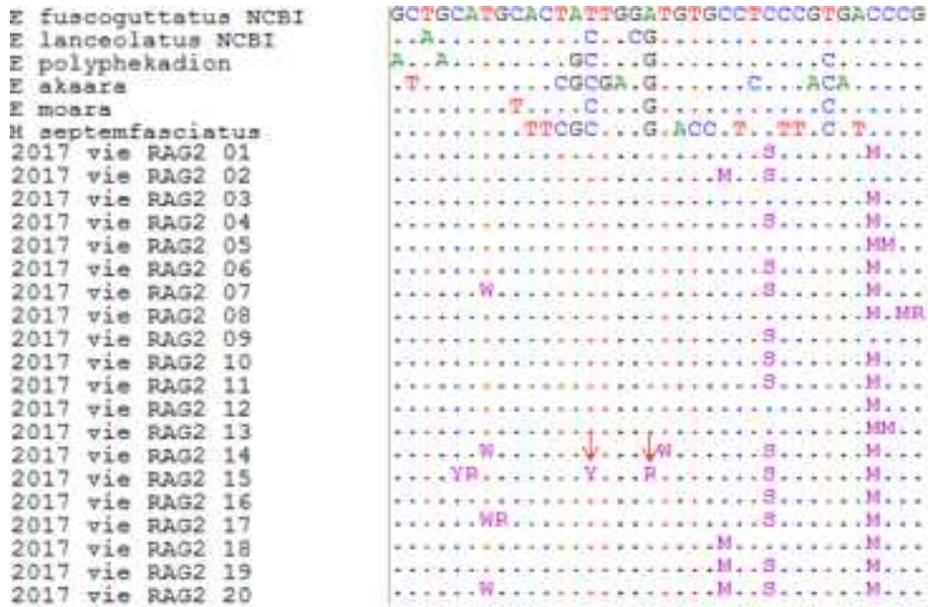


그림 2-2-15. 베트남에서 1차년도(2017년)에 구입한 갈색점바리에서 나타난 double peak 양상.
(붉은색 화살표는 중 간 기인한 변이일 확률이 있는 double peak를 의미함)

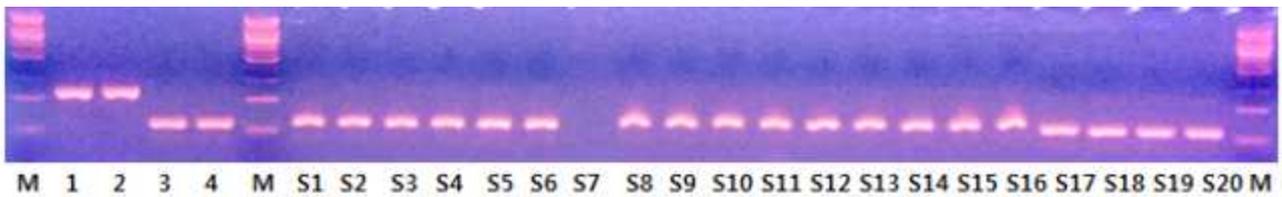


그림 2-2-16. 4FPTKX 프라이머를 이용한 대왕바리, 갈색점바리와 베트남 구입 갈색점바리의 증폭 양상(M lanes, 100 bp DNA ladder; 1-2 lanes, 대왕바리; 3-4 lanes, 갈색점바리; S1-S20 lanes, 베트남 구입 갈색점바리).

(3) 데이터베이스 구축

- 친어자원의 지속적·체계적 관리를 위해 1단계부터 웹 기반의 “GSP 자료 관리 프로그램”을 개발하였으며, 생산한 데이터를 입력하여 관리 중임.
- 생물정보(친어정보), 발생 정보(교잡품종 개발 등), 성장정보(목적 형질 발현 특성 등)를 총괄적으로 확인할 수 있음. 계측일별, 어류종별, 학명, 장소, 계측원, 파일명 등으로 정렬할 수 있음.
- 접속주소는 <http://192.168.31.100>으로 기관 보안관리 지침에 따라 한국해양과학기술원 내부통신망에서만 접속할 수 있음(그림 2-2-17 와 18).

Golden Seed Project

GSP 골든시드프로젝트

계속 정보 - 전체

구분 전체 | 계속임 전체 | 검색 | 양식 다운로드 | 엑셀 출력

계속 정보										
계속일	어류종(K)	어류종(E)	계속장소	계속원	구분	파일명	비고			
x	x	x	x	x	x	x	x			
1	2017-09-13	대왕볼바리	E. bruneus <E. lanceolatus>	경남 수산자원연구소	노충환	성장	[GI_20170913_대왕볼바리_계속실험.xls]			
2	2017-07-26	대왕자바리	E. bruneus <E. lanceolatus>	한국해양과학기술원	노충환	발성	[II_20170726_대왕자바리_수정안_발성실험.xls]			
3	2017-07-13	갈색점바리	Epinephelus fuscoguttatus	경남 수산자원연구소	노충환	성장	[GI_20170713_갈색점바리_성숙도_조사.xls]			
4	2017-07-12	대왕바리	Giant grouper	경남수산자원연구소	노충환	성장	[GI_20170712_대왕바리_성숙도_조사.xls]			
5	2017-06-20	자바리	Epinephelus bruneus	제주대	노충환	성장	[GI_20170620_자바리_성숙도_조사.xls]			
6	2017-04-25	무늬바리	Leopard coral grouper	버트랩 RIA3	노충환	발성	[II_20170425_무늬바리_수정안_발성실험.xls]			
7	2016-07-28	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	노충환, 최문정, 박서윤	발성	[II_20160728_볼바리_교배실험.xls]			
8	2016-07-16	아열대바리	-	통영	-	발성	[II_20160716_자바리_농성어_암컷별_교잡물종의_발성특성.xls]			
9	2016-07-04	아열대바리	-	제주 제다	-	발성	[II_20160704_자바리_농성어_암컷별_교잡물종의_발성특성.xls]			
10	2016-06-28	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	-	성장	[GI_20160628_제주대_볼바리_성분필.xls]			
11	2016-06-26	아열대바리	-	제주 제다	-	발성	[II_20160626_자바리_농성어_암컷별_교잡물종의_발성특성.xls]			
12	2016-06-01	아열대바리	-	제주 제다	-	발성	[II_20160601_자바리_농성어_암컷별_교잡물종의_발성특성.xls]			
13	2016-05-17	아열대바리	-	중국 영파	-	발성	[II_20160517_자바리_농성어_암컷별_교잡물종의_발성특성.xls]			
14	2016-01-19	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	최문정, 박서윤	발성	[II_20160119_볼바리_자수검종을_위한_교배실험.xls]			
15	2015-08-18	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	노충환, 최문정, 박서윤	발성	[II_20150818_볼바리_유전능력_검정을_위한_교배실험.xls]			
16	2015-07-16	볼바리	Epinephelus akaara	영종수산, 육포대	-	발성	[II_20150716_볼바리_발성실험.xls]			
17	2015-06-19	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	최문정, 박서윤	발성	[II_20150619_볼바리_유전능력_검가를_위한_교배실험.xls]			
18	2015-06-09	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	최문정, 박서윤	성장	[GI_20150609_볼바리_밀도별_사육실험구_4차_장기계속.xls]	밀도 4차, 수온 6차		
19	2015-06-09	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	최문정, 박서윤	성장	[GI_20150609_볼바리_수온별_사육실험구_6차_장기계속.xls]	밀도 4차, 수온 6차		
20	2015-04-29	볼바리	Epinephelus akaara	제주대 해양과학연구소	최문정, 박서윤	성장	[GI_20150429_볼바리_밀도별_사육실험구_3차_장기계속.xls]	밀도 3차, 수온 5차		

Columns Page 1 of 2 View 1 - 20 of 33

그림 2-2-17. "Golden Seed 프로젝트 아열대 바리 자료관리 프로그램"(웹 기반)

Tiger grouper ♀ maturation record			year 2017				year 2018				year 2018					
			1st-Hormone injection time: 10:00AM/27/06/2017				2nd-14/06/2018 eggs striped (25/06 tagging)				3rd-19/08/2018 eggs striped (23/08 tagging)					
ID	Times (no.) of maturation	BW (kg)	Egg size (µm)	Hormone treatment	Results		BW (kg)	Egg size (µm)	Hormone treatment	Results		BW (kg)	Egg size (µm)	Hormone treatment	Results	
					Amount: eggs (g)	Egg quality				Amount: eggs (g)	Egg quality				Amount: eggs (g)	Egg quality
#1	435-128															
#2	577-945	1	5	640~760	done (HCG)	? ?										
#3	626-994															
#4	495-356	1	7	750	done (HCG)	? ?										
#5	463-351	1	5	670	done (HCG)	? ?										
#6	466-795															
#7	367-094	2	3.5	480	done (GnRH)	? ?										
#8	426-984															
#9	481-849															
#10	477-957 (7 불명확)															
#11	626-994															
#12	566-892	1	4	750~781	done (HCG)	? ?										
#13	499-190															
#14	493-483															
#15	419-471															
#16	499-697															
#17	487-560															
#18	615-064															
#19	613-663															
#20	514-827	1	4	610~670	done (HCG)	? ?										
#21	462-428	2	8.5	460~500	done (GnRH)	? ?	400~700	done	? ?							
#22	262-992	1					400~700	done	? ?							
#23	378-297	1					400~700	done	? ?							
#24	482-028	1					400~700	done	? ?							
#25	068-263	1					400~700	done	? ?							
#26	408-051773	1					400~700	done	? ?							
#27	068-176	1					400~700	done	? ?							
#28	068-205	1					400~700	done	? ?							
#29	513-948	1														
#30	576-502	1														
#31	160-618	1														
#32	481-853	1														
#33	262-997	1														
#34	610-351	1														
#35	422-837	1														

그림 2-2-18. 데이터베이스 각 항목별 sheet의 내용 예(산란 유무, 난질, 난 크기, 종자생산에 사용 유무 등).

다. 유전 특성 조사-대왕자바리 발현 유전체 분석

- mRNA 추출 및 라이브러리 제작, 염기서열 분석

: 대왕자바리 12마리를 대상으로 마취한 후 살아있는 상태로 간과 근육조직을 적출한 후 RNeasy Mini Kit (QIAGEN, USA)을 이용해 전체 RNA를 추출하였음. 추출한 RNA는 Agilent 2100 Bioanalyzer에 RNA 6000 Nano Chip (Agilent Technologies, Amstelveen, The Netherlands)을 이용해 RNA integrity number (RIN) 값을 산출하였음.

: 라이브러리 제작을 위해 Illumina's TruSeq RNA 프로토콜에 따라 수행하였음. 제작된 라이브러리는 Agilent 2100 Bioanalyzer를 이용해 크기와 양을 측정 후 Illumina High-seq 2000 sequencing system을 이용해 제작된 라이브러리의 염기서열 결정을 수행하였음.

: 확보한 염기서열은 100 bp 길이의 서열 중 전반 10 bp는 1 bp 단위로 품질 검사를 진행하였고, 이후는 10 bp 단위로 품질 검사를 한 후 서열 필터링을 시행하여 생산된 서열 중 분석에 적합하지 않거나, 인공적으로 생긴 오류, 실험 결과에 악영향을 줄 수 있는 서열을 제거하였음.

: 유전자 염기서열의 상동성 검색은 Blastx를 이용해 NCBI nr 데이터베이스를 대상으로 진행하였으며, 각 서열과 상동성이 있는 결과 중 가장 높은 유의성을 나타내는 것을 기준으로 NCBI Genbank에서 사용하는 12개의 division으로 분류하였음. 이후 InterProScan (Mulder and Apweiler, 2007)을 이용해 CDS를 예측하였음.

- 발현 유전자 분석

- : 조직별 발현량 분석은 RSEM (Li and Dewey, 2011) 프로그램을 이용하여 리드를 전사체에 정렬한 후에 directed graph model을 이용하여 전사체의 발현량을 측정하였음.
- : 수온별 차이를 보이는 유전체를 대상으로 FDR (False Discovery Rate)이 적용된 p값인 q-값을 기준으로 0.05 이하의 발현 유전자를 대량 확보하였으며, 발현 차이를 보이는 유전자들의 gene ontology를 분석해 DB를 구축하였음.
- : 성장이 빠른 개체와 성장이 느린 개체 간 발현 차이를 보이는 유전자를 수온별로 선별하고, 공통으로 발현이 높거나 낮은 유전자를 대상으로 성장 관련 유전자 후보군을 선별하였음.
- 대왕자바리의 근육조직에서 발현 유전자 중 23°C와 31°C 사육 수온에서 차이를 보이는 유전자가 1,480개로 가장 많았으며, 27°C와 31°C 사육 수온에서 차이를 보이는 유전자는 289개, 23°C와 27°C 사육 수온에서 차이를 보이는 유전자는 259개 순으로 조사되었음 (q-value<0.05; 표 2-2-5).

표 2-2-5. 대왕자바리 근육조직에서 사육 수온과 연관된 발현 차이를 보이는 유전자 수

번호	1 그룹 (G1)	2 그룹 (G2)	유전자		
			계	Up (G2 only)	Down (G1 only)
1	23°C muscle	27°C muscle	259	112 (24)	147 (40)
2	23°C muscle	31°C muscle	1,480	417 (48)	1,063 (186)
3	27°C muscle	31°C muscle	289	72 (18)	217 (51)

- 각 사육 수온별 대왕자바리 근육조직에서 확보한 발현 유전자들에 대한 gene ontology 분석 결과 23°C vs. 31°C 그룹에서 발현 차이를 보이는 유전자의 수가 가장 많았음(표 2-2-6).
- 23°C vs. 31°C 그룹의 발현 유전자 기능을 분석한 결과 분자적 수준에서의 유전자 산물의 역할(molecular function) 항목에서는 13개의 범주가 나타났으며(p<0.001), 생물체, 세포, 조직 등의 기능 작용(biological process) 항목에서는 42개, 세포 내 또는 밖의 환경에서의 구성 요소(cellular component) 항목에서 3개의 범주가 나타났음.

표 2-2-6. 대왕자바리 근육조직에서 사육 수온과 연관된 발현 유전자의 gene ontology 결과

Group	# DEG	# GO	molecular function	biological process	cellular component
23°C vs. 27°C muscle	167	800	5/146 (3.4%)	16/514 (3.1%)	4/140 (2.9%)
23°C vs. 31°C muscle	874	2738	13/577 (2.3%)	43/1813 (2.4%)	9/348 (2.6%)
27°C vs. 31°C muscle	202	1038	17/205 (8.3%)	34/685 (5.0%)	3/148 (2.0%)

- 분자적 수준에서의 유전자 산물의 역할(molecular function) 항목 중 분자결합과 촉매활성 관련 유전자들이 가장 많았음(그림 2-2-19). 특히 가수 분해 효소 활성 관련 발현 유전자가 16종류로 가장 많았으며, isomerase activity 관련 발현 유전자가 7종류로 나타남.

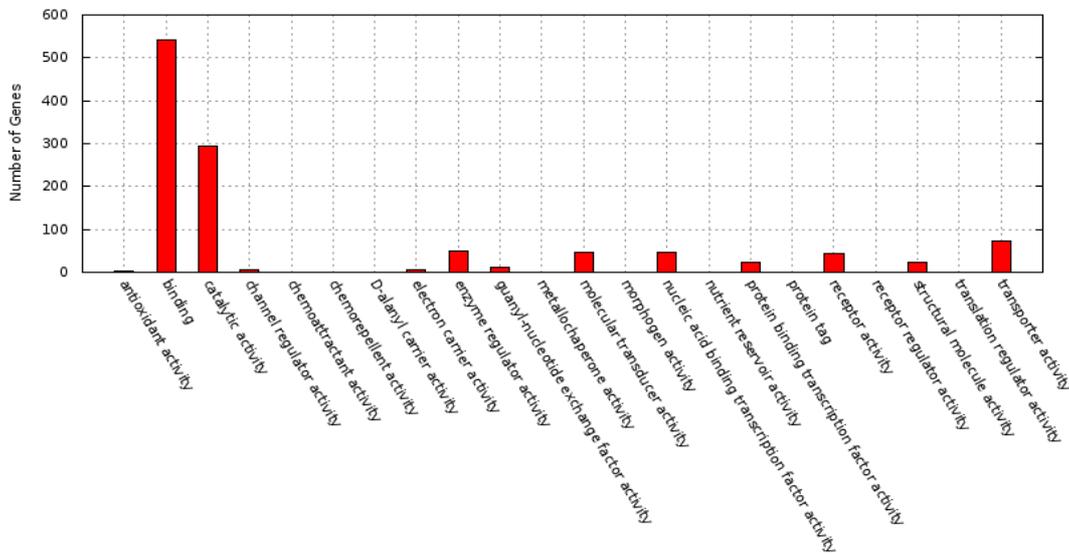


그림 4-2-19. 23°C와 31°C에서 사육한 대왕자바리 근육조직에서 발현차 유전자의 gene ontology- 분자적 수준에서의 유전자 산물의 역할.

- 생물체, 세포, 조직 등의 기능 작용(biological process) 항목 중 세포 작용(cell process)과 관련된 유전자들이 가장 많았음(그림 2-2-20). 작은 분자 대사 관련 발현 유전자가 39종류, 지질 대사 관련 발현 유전자가 17종류 순으로 나타남.

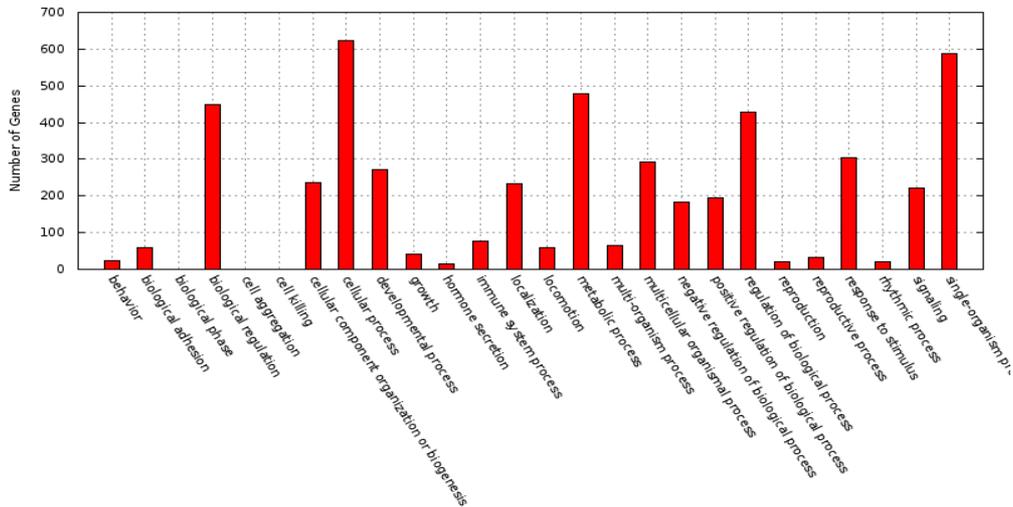


그림 2-2-20. 23°C와 31°C에서 사육한 대왕자바리 근육조직에서 발현차 유전자의 gene ontology-세포 내 또는 밖의 환경에서의 구성 요소.

- 세포 내 또는 밖의 환경에서의 구성 요소(cellular component) 항목 중에서는 cell, cell part 와 관련된 유전자들이 가장 많았음(그림 2-2-20). 세포질 주변의 핵 영역 관련 발현 유전자가 43종류, 근원섬유 관련 발현 유전자가 21종류, 미오신 필라멘트(myosin filament) 관련 발현 유전자가 17종류 순으로 나타남.
- 각 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직의 발현 유전자를 비교 분석한 결과 성장 차이를 다른 사육조건에서도 유사한 발현 차이를 보이는 유전자 15개를 확보하였음(q-value<0.05; 그림 2-2-21).
- 23°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 up regulation을 보이는 유전자는 10개였으며, 27°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 up regulation을 보인 유전자는 2개였음. 이 중 TRY_CANFA (Anionic trypsin)은 27°C에서 down regulation으로 이를 제외한 11개의 유전자를 확보하였음.
- 23°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 down regulation을 보이는 유전자는 1개였으며, 27°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 down regulation을 보인 유전자는 3개였음.

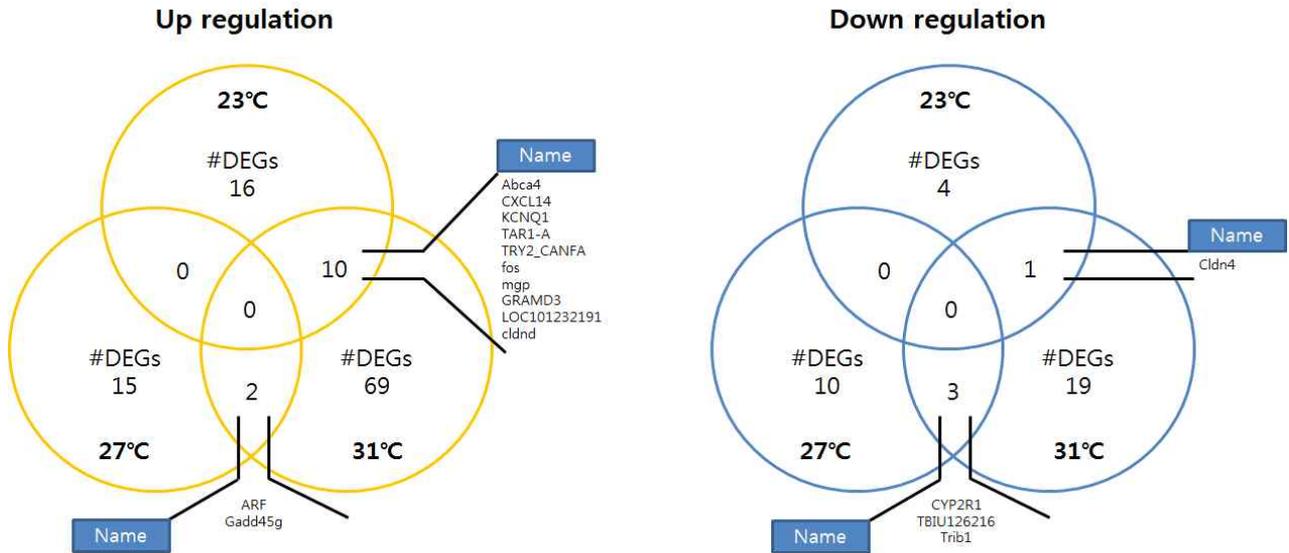


그림 2-2-21. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직에서 확인된 동일 양상의 발현 유전자.

- 각 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직의 발현 유전자를 비교 분석한 결과 다른 사육조건에서도 유사한 발현 차이를 보이는 유전자 3개를 확보하였음 (q-value<0.05; 그림 2-2-22).
- 23°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 up regulation을 보이는 유전자는 1개였음.
- 23°C와 31°C에서 사육한 성장이 빠른 개체가 동일하게 down regulation을 보이는 유전자는 2개였음.

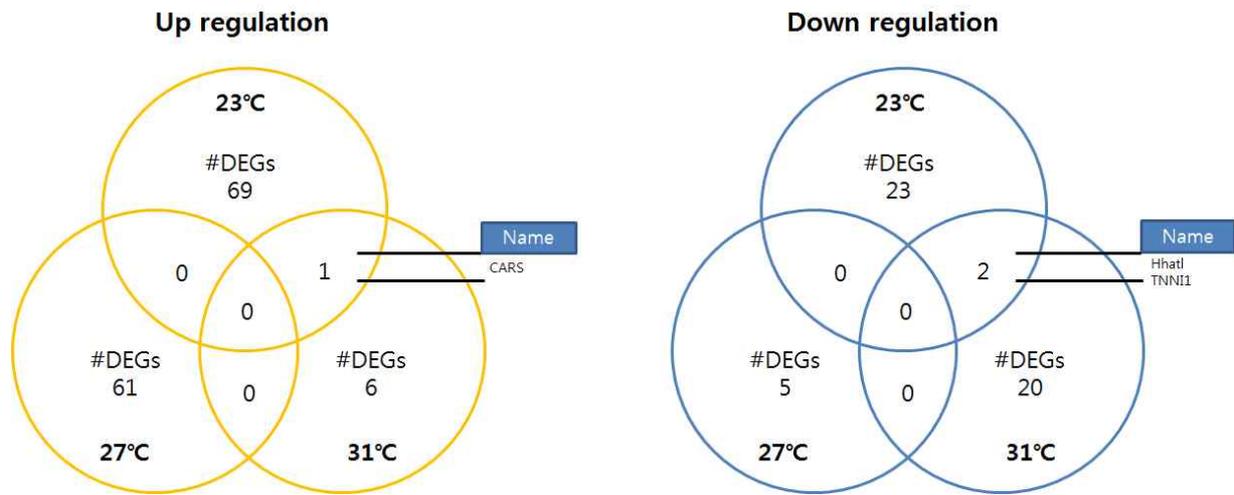


그림 2-2-22. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직에서 확인된 동일 양상의 발현 유전자.

- 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자들의 수온별 발현양상을 비교한 결과 GRAMD3, LOC1012321, fos의 3개의 발현 유전자를 제외한 12개의 발현 유전자들은 유사한 발현양상을 보임(그림 2-2-23).

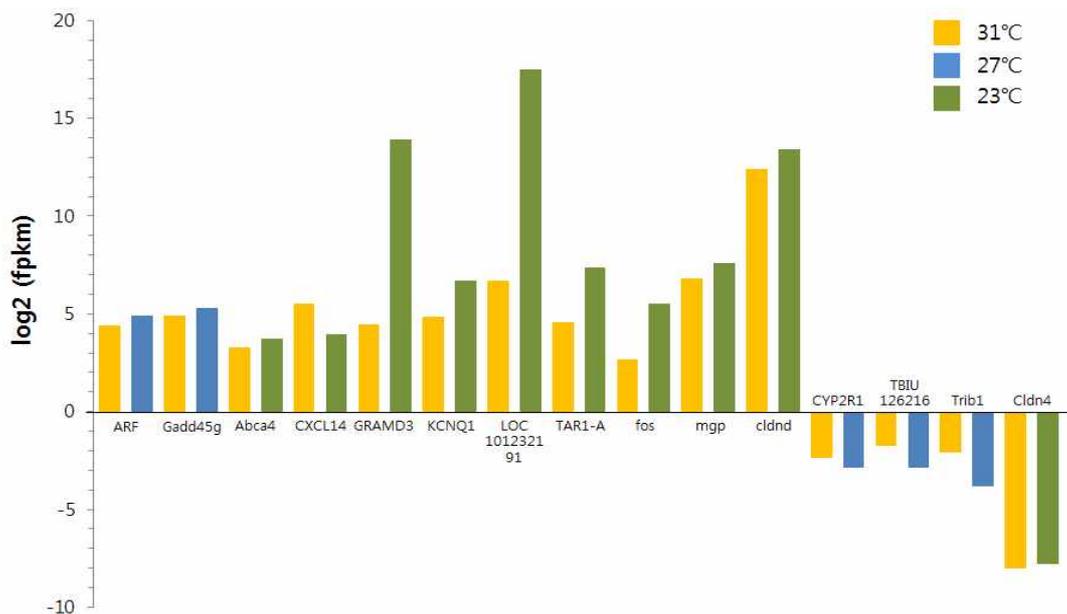


그림 2-2-23. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 간 조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자의 수온별 발현양상(FDR q-value<0.05).

- 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자들의 수온별 발현양상을 비교한 결과 CARS 1개의 발현 유전자를 제외한 2개의 발현 유전자들은 유사한 발현양상을 보임(그림 2-2-24).
- 따라서 향후 성장 차이를 보이는 14개의 발현 유전자들에 대한 real-time PCR을 이용한 발현량 비교를 통해 검증할 것이며, 유사한 발현량을 보이는 유전자들을 대상으로 pathway, 유전자형 등의 특성을 분석하고 후보 발현 유전자들과 연관된 유전자들을 대상으로 성장 관련 유전자들을 지속해서 선별

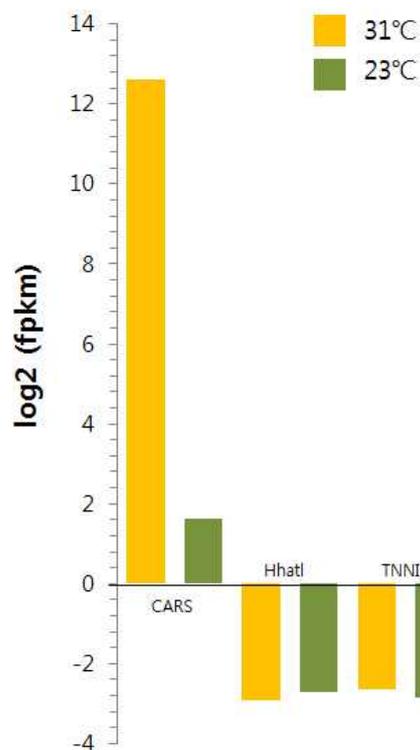


그림 2-2-24. 사육 수온별 성장 차이를 보이는 대왕자바리 근육조직에서 확인된 동일 양상 발현 유전자의 수온별 발현양상(FDR q-value<0.05).

라. 생식 특성 조사 : 대왕바리 성숙도 및 성비 조사

- 대왕바리를 포함한 바리과 어류는 자성선숙형 자웅동체(proto gynous hermaphrodite)로 알려져 있음. 그러나 이전 연구에서 암컷 시기를 거치지 않고 정액 또는 정세포를 생산하는 1차 수컷(primary male)의 존재가 밝혀짐(Palma et al., 2019). 이는 그동안 성전환을 통해서만 수컷이 된다고 알려진 것과 달리 성 결정 시기에 이미 수컷으로서의 성이 결정됨을 의미함. 따라서 이 연구를 통해 경상남도수산자원연구소에서 관리 중인 대왕바리 중 1차 수컷 또는 성전환으로 인한 수컷의 존재를 조직학적 분석을 통해 밝혀내고 해당

연령에서 나타나는 성비와 성숙단계를 조사하고자 함.



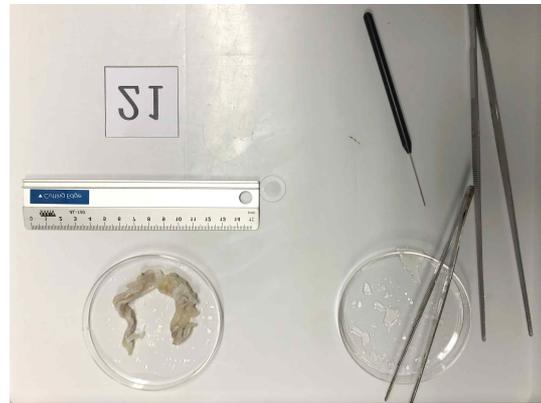
<사육 중인 대왕바리>



<해부 시 관찰한 생식소>



<생식소 적출 및 육안관찰>



<생식소 무게 측정>

그림 2-2-25. 대왕바리 계측 및 조직적출.

(1) 외형계측 및 생식소 조직적출

- 2017년 6월 13일, 경남수산자원연구소에서 폐사한 대왕바리 암컷(체중 : 26.2 kg)과 수컷(체중 : 57 kg)에 대한 생식소의 조직학적 분석을 시행하였음.
- 2020년 12월에 순치하여 약 21.9°C에서 사육하였던 대왕바리를 대상으로 시행함. 사육 중 사망한 대왕바리 개체는 발견 즉시 냉동하였으며, 복부 절개가 가능한 정도로만 상온에서 해동한 뒤 간, 내장 그리고 생식소를 적출함(그림 2-2-25). 간과 내장은 적출 즉시 무게를 측정하였으며, 생식소는 10% 중성 포르말린(10% neutral buffered formalin solution, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 고정한 뒤 다음날 측정하여 생체지수를 계산함.

(2) 조직학적 분석

- 생식소는 수세 및 탈수 과정을 거쳐 파라핀 포매법으로 조직 표본을 제작하였음. 연속절편기(LEICA RM2125 RTS, Wetzlar, Germany)를 이용하여 두께 6 μ m의 절편으로 박절한 뒤, Harry's Hematoxylin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 0.05% Eosin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 비교염색을 시행하였음.
- 광학현미경(Nikon, ECLIPSE Ni, Nikon, Tokyo, Japan) 하에서 관찰하면서 부착된 카메라(Nikon DS-Fi2 microscope, Nikon, Tokyo, Japan)로 촬영하였음.
- 난모세포의 크기는 tpsDig2 (Version 2.31)를 이용하여 난의 장경과 단경을 측정하였고, 그 평균을 사용하였음(그림 2-2-26).

(3) 대왕바리 성숙도 조사

- 2017년 6월 13일, 경남수산자원연구소에서 폐사한 대왕바리 암컷(체중 : 26.2 kg)과 수컷(체중 : 57 kg)에 대한 생식소의 조직학적 분석을 시행하였음.

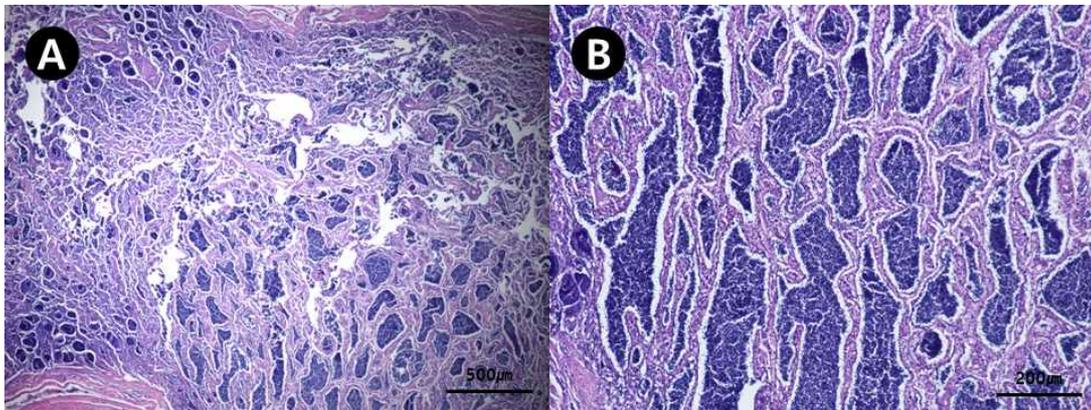


그림 2-2-27. 대왕바리 암컷의 생식소 조직 검경.

- 대왕바리 암컷은 수컷으로의 성전환이 이루어지고 있는 중으로 보임(그림 2-2-27). 육안 관찰 시 외부형태는 난소의 모습이었지만 조직 검경 결과, 난소 내막 부근에 일부 초기 어린 난모세포가 존재하였으며, 내부에는 성숙한 정자가 관찰되었음. 암컷으로서의 생식 능력은 상실되고 수컷으로서의 생식능력을 얻은 것으로 보임.

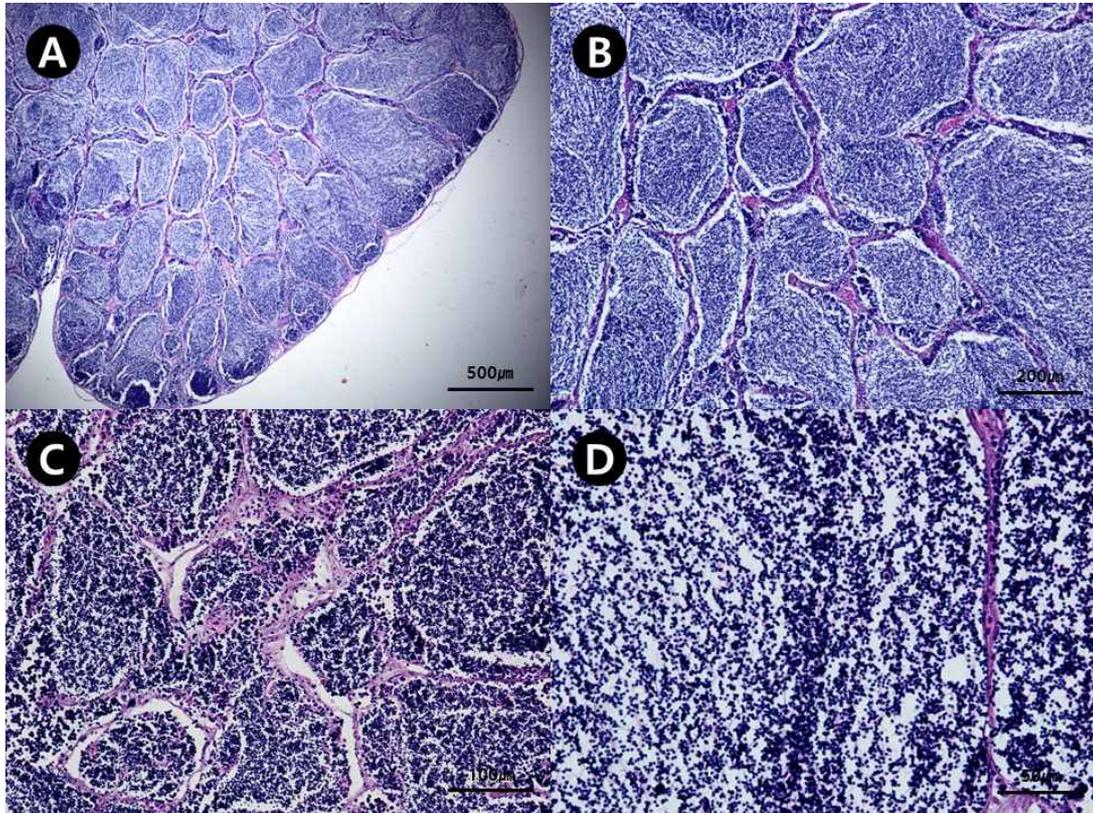


그림 2-2-28. 대왕바리 수컷의 생식소 조직 검경.

- 완전한 수컷의 기능을 하고 있음(그림 2-2-28). 육안 관찰 시 외부형태가 정소의 모습을 띠고 있었음. 정소 내 방정 직전의 성숙한 정자로 가득 차 있었음.

(4) 대왕바리 성비 조사

- 2020년 12월에 순치하여 약 21.9°C에서 사육하였던 대왕바리 22마리를 대상으로 시행함 (표 2-2-7).

표 2-2-7. 대왕바리의 생체지수

생체지수	평균±표준오차 (n=22)
전장 (cm)	52.7±0.58
체중 (kg)	3.21±0.13
비만도(CF) ¹	2.19±0.08
간중량지수(HSI) ²	1.47±0.11
내장중량지수(VSI) ³	4.94±0.16
생식소중량지수(GSI) ⁴	0.07±0.01

¹비만도(CF)=(체중/전장³)×100

²간중량지수(HSI)=(간중량/체중)×100

³내장중량지수(VSI)=(내장중량/체중)×100

⁴생식소중량지수(GSI)=(생식소중량/체중)×100

- 대왕바리 성비 조사 결과, 모두 성 분화가 일어난 것으로 확인되었으며, 암컷인 것으로 판명됨(그림 2-2-29)
- 이전 연구에서 대왕바리의 1차 수컷과 암컷의 비율은 1:2.25(필리핀산)와 1:2(베트남산)라는 결과가 있었음(Palma et al., 2019). 성전환을 통해 수컷(2차 수컷, secondary male)이 되는 시기는 붉바리(*E. akaara*)의 경우 전장이 24 cm일 때(Kayano, 1996), 능성어(*Hyporthodus septemfasciatus*)의 경우 체중이 6 kg 이상일 때(Tsuchihashi et al., 2003), 머구리농어(*E. marginatus*)의 경우 생후 14~17년부터임(Glamuzina et al., 1998). Orange-spotted grouper (*E. coioides*)의 경우, 부화 후 105주가 지나면 생식소 내에서 남자형성과정 및 정자 형성과정의 공존이 관찰됨(Liu and Mitcheson, 2008).

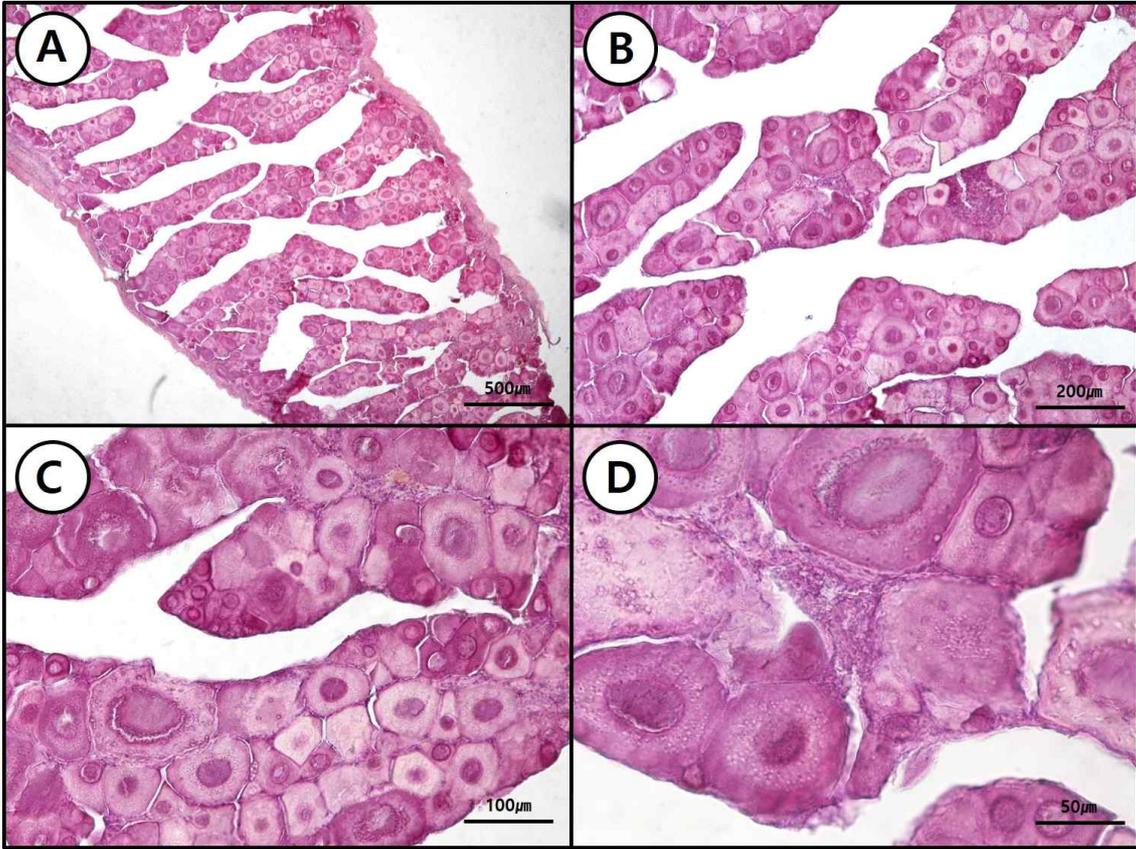


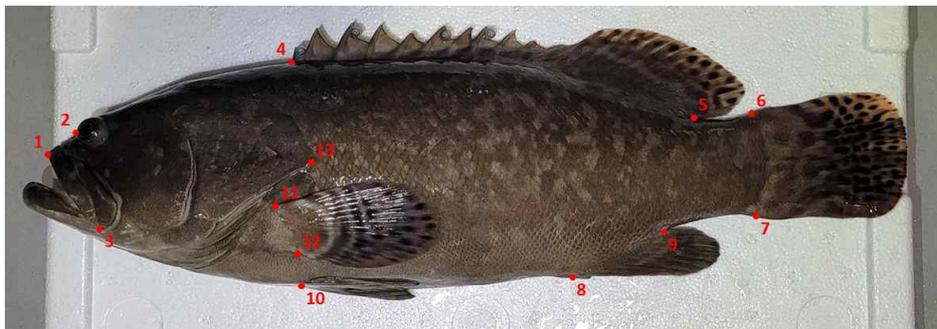
그림 2-2-29. 대왕바리 암컷 생식소 조직학적 분석(Hematoxylin-Eosin 염색).

- 겨울철은 비 산란기로 이 시기 생식소 발달단계는 성장기(growing stage)로 보임. 난소 소엽에 난경 29.09~136.13µm 인 초기 어린 난모세포(염색인기 및 주변인기 단계)로 가득하였음. 일부 개체에서는 유구 및 난황포 형성이 시작되는 난모세포가 관찰되었으나 이는 소수에 불과함
- 이전 연구에서 호주산 대왕바리는 전장 47.8 cm, 체중 2.5 kg 시기에 성 분화 및 난경 21.03~54.97 µm인 초기 어린 난모세포가 생식소에서 관찰되었음(Palma et al., 2019). 초기 어린 난모세포는 붉바리와 도도바리(*E. awoara*)의 경우 부화 후 27주 후 그리고 18~23주 후에 생식소에서 관찰되었음(Liu et al., 2016). Humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)는 부화 후 78주 후(15.6 cm SL)에 난경 27.8~94.57 µm의 초기 어린 난모세포가 관찰되었음(Liu and Mitcheson, 2008)
- 현재 사육 중인 대왕바리의 성 성숙 개시까지의 최소 3~4년 이상이 소요될 것으로 보임
- 성 분화 후, 암컷의 성 성숙 개시는 필리핀산 대왕바리의 경우 전장 96.9 cm, 체중 23.5 kg일 때였고, 베트남산 대왕바리의 경우 전장 103.0 cm, 체중 33.5 kg일 때였음
- 태국산 대왕바리(60.35 cm TL, 4.41 kg) 기준, 사육 4년간 평균 증체량은 1.05 cm/month, 585.31 g/month 임(Vatanakul et al., 1995)
- 다른 바리과 어류인 orange-spotted grouper와 humpback grouper는 성 성숙이 관찰된 최소 전장이 각각 35.5 cm (부화 후 113주)와 15.5 cm (부화 후 83주)이었음(Liu and

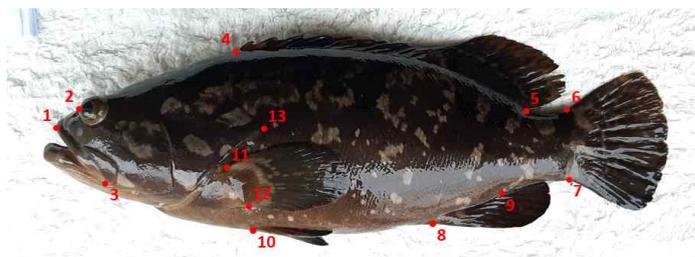
Mitcheson, 2009).

마. 형태 비교 : 대왕불바리 체형

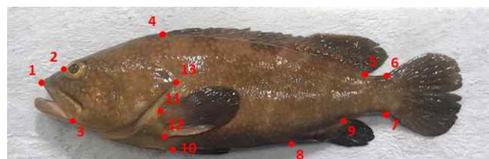
- 어류의 체형은 상품성에 영향을 주며 주로 유전 요인에 의해 결정됨(Taylor et al., 1986; Currens et al., 1989; Park et al., 2001). 바리류의 체형분석은 주로 순종에 대해서만 이루어졌으며, 우리나라에서 자바리, 불바리, 능성어의 순종에 관한 연구가 있음(Lim et al., 2016). 교잡종의 체형분석은 부모 어종과 비교를 통해 모계 또는 부계의 유전 영향을 조사할 수 있음(Taylor et al., 1986, Costa et al., 2020, Park et al., 2020). 계측형질 분석 방법 중 classical dimension, head part dimension 그리고 truss dimension 방법은 어체의 주요 부위를 지정화(landmark)하여 수평적(horizontal), 수직적(longitudinal) 그리고 기능적 단위로 분석할 수 있음(Strauss and Bookstein 1982). 이 연구는 우리나라에서 종자 대량생산 기술이 안정적으로 확립된 대왕불바리의 체형을 분석하여, 부계(대왕바리)와 모계(불바리)의 유전적 영향을 조사하고 품종 판별의 수단으로 사용하기 위하여 수행됨.



<대왕바리>



<대왕불바리(불바리♀×대왕바리♂)>



<불바리>

그림 2-2-30. 대왕바리, 대왕불바리 그리고 불바리에 표시한 landmark.

(1) 계측형질 비교

- 경남수산자원연구소에서 사육 중인 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리를 대상으로 계측 및 외형 사진을 촬영한 후 이를 바탕으로 체형분석을 시행함.
- Lim et al. (2016)과 Okomoda et al. (2018)의 방법을 참고하여 외부형태의 주요 지점에 13개의 landmark를 표시하였음(그림 2-2-30). 계측 형질은 체장(standard length), 두장(head length), 눈 직경(eye diameter), 체고(body height) 그리고 각 landmark 간의 거리로 tpsDig2 (Version 2.31)를 사용하여 측정하였음(표 2-2-8). 이 형질들을 각각 classical dimension, head part dimension 그리고 truss dimension으로 분류하여 classical dimension과 truss dimension은 체장 비를, head part dimension은 두장 비를 사용하였음. 모든 값은 백분율로 계산하여 평균±표준오차로 나타내었음.
- 세 어종 간 형태학적 거리는 one-way ANOVA로 유의성을 검정하였음. 사후분석으로는 분산의 동질성을 갖추었으면 Tukey's honestly significant difference (HSD) test를 실시하였고, 그렇지 않았을 때 Dunnett T3 test를 실시하여, 95% 신뢰수준에서 검정하였음(P<0.05). 통계 분석프로그램은 SPSS Statistics 21 (IBM SPSS Statistics Version 21 program, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였음.
- 분석에 활용한 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리의 외형 계측자료는 표 4-2-7에 나타냄.

표 2-2-8. 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리의 외형 계측자료

	전장(cm)	체장(cm)	체중(kg)	비만도	계측일
대왕바리 (n=40)	56.02±0.51	46.19±0.45	3.43±0.10	1.93±0.03	2020. 10. 21
붉바리 (n=30)	39.87±0.59	32.99±0.50	1.01±0.05	1.57±0.02	2018. 03. 06
대왕붉바리 (n=33)	43.22±0.64	35.77±0.53	1.57±0.07	1.90±0.03	2019. 09. 09

- 대왕바리, 대왕붉바리 그리고 붉바리 간 형태학적 거리는 대왕붉바리를 기준으로 5가지 유형으로 분류하였고, 각각에 해당하는 형태학적 거리는 표 2-2-9에 나타냄.
- 부계 어종과 유사한 형태학적 거리 : BH/SL, 1×8/SL, 4×5/SL, 4×7/SL, 4×8/SL, 4×13/SL, 5×6/SL
- 모계 어종과 유사한 형태학적 거리 : 1×3/HL, 2×4/HL, 2×10/HL, 2×11/HL, 5×8/SL, 6×8/SL, 6×10/SL, 8×9/SL, 8×10/SL, 8×11/SL, 10×13/SL, 11×12/SL
- 세 어종이 모두 유사한 형태학적 거리 : 4×9/SL
- 부모 어종의 중간 특성을 가진 형태학적 거리 : 1×6/SL, 7×9/SL, 10×11/SL

- 세 어종이 모두 구별되는 형태학적 거리 : 1×10/SL, 1×11/SL, ED/HL, 1×2/HL, 2×6/HL, 2×7/HL, 2×8/HL, 2×9/HL, 2×13/HL, 4×11/SL, 5×7/SL, 5×9/SL, 5×10/SL, 6×7/SL, 6×9/SL, 6×11/SL, 7×11/SL, 11×13/SL
- 대왕붉바리의 classical dimension은 모계 어종보다 부계 어종인 대왕바리의 영향을, head part dimension은 부계 어종보다 모계 어종인 붉바리의 영향을 많이 받았으며, truss dimension은 부모 어종의 영향을 더 많이 받은 부분이 각각 존재하였음. 모든 dimension에서 부계와 모계의 중간형질이 관찰되었음.
- 특히 외부형태 중 눈앞에서부터 꼬리지느러미 상부와 하부 기저, 뒷지느러미 극조와 마지막 연조 기저까지의 길이(2×6/HL, 2×7/HL, 2×8/HL, 2×9/HL)는 쉽게 측정이 가능하면서 대왕붉바리와 부모 어종 간 차이가 큰 형태학적 거리이기 때문에 품종 판별에 유용할 것으로 판단됨.
- Classical dimension 분석 결과, 대왕붉바리가 부계 어종인 대왕바리와 유사하다고 나타난 거리는 체고(BH/SL)와 입에서부터 몸통의 중앙을 잇는 길이(1×8/SL)였음. 두 부모 어종의 중간 특성을 가진 거리는 입에서부터 꼬리지느러미 상부까지의 길이(1×6/SL)였음. 세 어종 간 유의한 차이가 있는 거리는 입에서부터 배지느러미 기저와 가슴지느러미 상부 기저까지의 길이(1×10/SL, 1×11/SL)였음($P < 0.05$).
- 다른 바리과 교잡종인 대왕자바리는 입에서부터 배지느러미 기저까지의 길이(1×10/SL)가 부계 어종인 대왕바리와 유사하였고, 체고(BH/SL)와 입에서부터 뒷지느러미 기저까지의 길이(1×8/SL)가 모계 어종인 자바리와 유사하였음(Park et al., 2020).
- Head part dimension 분석 결과, 대왕붉바리가 모계 어종인 붉바리와 유사하다고 나타난 거리는 윗입술의 튀어나온 지점에서부터 윗입술이 끝나는 지점까지의 길이(1×3/HL), 눈앞에서부터 등지느러미 제 1극조 기저, 배지느러미 기저 그리고 가슴지느러미 상부 기저까지의 길이(2×4/HL, 2×10/HL, 2×11/HL)였음.
- 그중 윗입술 길이(1×3/HL)는 우리나라 바리과 순종을 대상으로 한 Lim 등(2016)의 연구에서 자바리가 가장 길었고 그다음으로는 능성어가 길었으며 붉바리가 가장 짧았음. 이 길이는 동일한 과에 속하는 어종을 구별하는 특징이 될 수 있으며, 육안으로도 관찰 가능하므로 활용도도 높을 것으로 보임. 하지만 입의 형태에 대한 landmark의 수가 적기 때문에 추가작업을 통해 mouse dimension 영역으로 확장한다면 이를 어종 고유의 특징으로 발전시킬 수 있을 것으로 사료됨.
- Head part dimension에서 세 어종 간 유의한 차이가 있는 거리는 눈 직경(ED/HD), 윗입술의 튀어나온 지점에서부터 눈앞까지의 길이(1×2/HL) 그리고 눈앞에서부터 꼬리지느러미 상부와 하부 기저, 뒷지느러미 극조와 마지막 연조 기저, 아가미덮개 끝 뾰족한 지점까지의 길이(2×6/HL, 2×7/HL, 2×8/HL, 2×9/HL, 2×13/HL)이었음($P < 0.05$).
- 눈 직경은 대왕자바리에서도 부모 어종과 유의한 차이가 있어 교잡 자손이 부모 어종과 구별되는 특징으로 나타났음(Park et al., 2020).

- Truss dimension 분석 결과, 대왕불바리가 부계 어종인 대왕바리와 유사한 길이는 등지느러미 길이($4 \times 5/SL$), 등지느러미 제 1극조 기저에서 시작하는 길이($4 \times 7/SL$, $4 \times 8/SL$, $4 \times 13/SL$) 그리고 꼬리자루 상부 길이($5 \times 6/SL$)이었음. 모계 어종인 불바리와 유사한 길이는 가슴부터 배 그리고 후미 부에 해당하는 길이($5 \times 8/SL$, $6 \times 8/SL$, $6 \times 10/SL$, $8 \times 9/SL$, $8 \times 10/SL$, $8 \times 11/SL$, $10 \times 13/SL$, $11 \times 12/SL$)로 나타남. 세 어종이 모두 유사한 길이는 몸통을 대각선으로 가로지르는 길이($4 \times 9/SL$)였음. 두 부모 어종의 중간 특성을 가진 거리는 꼬리자루 하부 길이($7 \times 9/SL$) 그리고 배지느러미와 가슴지느러미를 연결하는 길이($10 \times 11/SL$)였음. 세 어종 간 유의한 차이가 있었던 거리는 꼬리자루 길이($5 \times 7/SL$, $5 \times 9/SL$, $6 \times 7/SL$, $6 \times 9/SL$)와 등지느러미 제 1극조 기저에서 가슴지느러미 상부 기저까지의 길이($4 \times 11/SL$), 등지느러미 마지막 극조 기저에서 배지느러미 기저까지의 길이($5 \times 10/SL$), 꼬리지느러미 상부/하부 기저에서 가슴지느러미 상부 기저까지의 길이($6 \times 11/SL$, $7 \times 11/SL$) 그리고 가슴지느러미 상부 기저에서 아가미덮개 끝 뿔쪽한 지점까지의 길이($11 \times 13/SL$)였음($P < 0.05$) (표2-2-10).
- 대왕자바리의 경우, 꼬리자루의 높이가 모계 어종인 자바리와 유사하다는 결과가 있어 (Park et al., 2020), 대왕불바리의 결과와는 상이하였음.
- Truss dimension은 다른 두 dimension에 비해 많은 정보를 담고 있음. 특히, 계군 간 구별 시 truss dimension이 classical dimension에 비해 이론적으로 체형분석에 우수하다고 알려져 있음(Humphries et al., 1981; Straüss and Bookstein, 1982; Winans, 1984; Currens et al., 1989).
- 이 연구에서도 classical dimension과 head part dimension이 각각 부계 어종과 모계 어종을 닮았음을 증명했다면, truss dimension은 부모 어종을 각각 닮았을 뿐만 아니라 부모 어종의 중간 특성 그리고 구별되는 특징을 모두 보여주고 있었음.

표 2-2-9. 대왕바리, 대왕불바리 그리고 불바리의 형태학적 거리

Dimension	대왕바리(%)	대왕불바리(%)	불바리(%)
BH/SL*	36.07±0.33 ^a	36.46±0.29 ^a	34.25±0.22 ^b
1×4/SL	36.79±0.28 ^b	38.51±0.27 ^a	37.26±0.31 ^b
1×6/SL	98.51±0.16 ^b	98.77±0.16 ^{ab}	99.20±0.13 ^a
1×8/SL	73.29±0.38 ^a	73.71±0.28 ^a	72.08±0.25 ^b
1×10/SL	40.36±0.27 ^c	43.65±0.25 ^a	42.03±0.21 ^b
1×11/SL	32.54±0.27 ^c	35.03±0.22 ^a	33.74±0.27 ^b
1×13/SL*	37.43±0.28^b	40.80±0.19^a	37.91±0.26^b
ED/HL	12.17±0.17 ^c	14.44±0.15 ^b	15.09±0.22 ^a
1×2/HL	14.35±0.21 ^c	15.99±0.23 ^b	20.42±0.24 ^a
1×3/HL	34.14±0.30^b	35.71±0.26^a	35.85±0.33^a
2×3/HL	39.22±0.28 ^a	37.52±0.28 ^b	39.71±0.34 ^a
2×4/HL	85.98±0.48 ^a	79.29±0.81 ^b	78.86±0.56 ^b
2×5/HL*	232.98±1.45 ^a	210.64±1.11 ^b	228.70±1.68 ^a
2×6/HL*	254.89±1.86 ^a	229.70±1.19 ^c	246.50±1.92 ^b
2×7/HL*	258.76±2.01 ^a	232.73±1.16 ^c	248.69±1.87 ^b
2×8/HL	190.24±2.01 ^a	171.21±0.84 ^c	177.96±1.27 ^b
2×9/HL	226.84±1.42 ^a	202.22±1.02 ^c	214.44±1.54 ^b
2×10/HL	105.18±0.66 ^a	100.83±0.62 ^b	102.68±0.61 ^b
2×11/HL	80.14±0.50 ^a	76.26±0.44 ^b	76.34±0.39 ^b
2×13/HL	90.91±0.24 ^a	87.25±0.24 ^b	83.24±0.28 ^c
3×13/HL	87.01±0.56^a	83.78±0.35^b	85.98±0.89^a
4×5/SL	56.69±0.23 ^b	56.79±0.26 ^b	59.81±0.39 ^a
4×7/SL	68.78±0.29 ^{ab}	68.42±0.27 ^b	69.54±0.34 ^a
4×8/SL	48.80±0.27 ^{ab}	49.16±0.23 ^a	48.07±0.24 ^b
4×9/SL	58.07±0.19 ^a	57.27±0.28 ^a	57.79±0.31 ^a
4×10/SL*	33.80±0.26 ^b	35.85±0.22 ^a	34.29±0.21 ^b
4×11/SL	20.77±0.27 ^c	23.71±0.31 ^a	22.41±0.31 ^b
4×13/SL	15.12±0.28^a	14.74±0.23^a	13.06±0.22^b
5×6/SL	8.21±0.28 ^a	7.87±0.24 ^a	6.75±0.22 ^b
5×7/SL*	17.42±0.21 ^a	15.82±0.14 ^b	13.77±0.17 ^c
5×8/SL	30.93±0.21 ^a	29.38±0.19 ^b	29.39±0.22 ^b
5×9/SL	16.90±0.13 ^a	15.54±0.14 ^b	14.57±0.12 ^c
5×10/SL	61.23±0.30 ^a	57.81±0.30 ^c	59.15±0.21 ^b
5×11/SL	60.04±0.28 ^a	58.28±0.28 ^b	60.40±0.26 ^a
6×7/SL	15.24±0.18 ^a	13.89±0.13 ^b	12.07±0.12 ^c
6×8/SL	36.81±0.26 ^a	35.30±0.29 ^b	34.76±0.22 ^b
6×9/SL	20.48±0.22 ^a	19.64±0.28 ^b	18.62±0.20 ^c
6×10/SL	68.79±0.33 ^a	65.10±0.32 ^b	65.44±0.27 ^b
6×11/SL	68.07±0.32 ^a	65.97±0.24 ^c	66.97±0.29 ^b
7×9/SL*	12.33±0.30 ^b	12.90±0.24 ^{ab}	13.27±0.21 ^a
7×11/SL*	67.41±0.33 ^a	65.07±0.22 ^c	66.21±0.25 ^b
8×9/SL	17.64±0.19 ^a	16.45±0.19 ^b	16.90±0.18 ^b
8×10/SL	36.23±0.30 ^a	33.06±0.32 ^b	32.91±0.29 ^b
8×11/SL	40.97±0.31 ^a	38.79±0.29 ^b	38.48±0.28 ^b
8×13/SL	37.90±0.26^a	36.66±0.26^b	37.74±0.003^a
10×11/SL	13.71±0.15 ^a	13.22±0.21 ^{ab}	0.129±0.25 ^b
10×13/SL	19.36±0.26 ^b	22.33±0.35 ^a	21.74±0.22 ^a
11×12/SL*	8.32±0.12 ^a	7.59±0.18 ^b	7.55±0.09 ^b
11×13/SL	8.26±0.25^c	12.01±0.29^a	10.87±0.22^b

*분산의 동질성 없는 형태학적 거리로 사후검정을 위해 Dunnett T3 test를 실시함(P < 0.05)

표 2-2-10. Landmark를 이용하여 측정한 형태학적 거리(morphometric distances)

Dimension	시작 지점	종료 지점
Classical dimension	SL	체장(standard length)
	BH	체고(body height)
	1×4	윗입술의 튀어나온 지점
	1×6	등지느러미 제 1극조 기저
	1×8	꼬리지느러미 상부 기저
	1×10	뒷지느러미 극조 기저
	1×11	배지느러미 기저
	1×11	가슴지느러미 상부 기저
	1×13	아가미덮개 끝 뾰족한 지점
	HL	두장(head length)
Head part dimension	ED	눈 직경(eye diameter)
	1×2	윗입술의 튀어나온 지점
	1×3	눈 앞
	2×3	윗입술이 끝나는 지점
	2×4	등지느러미 제 1극조 기저
	2×5	등지느러미 마지막 연조 기저
	2×6	꼬리지느러미 상부 기저
	2×7	꼬리지느러미 하부 기저
	2×8	뒷지느러미 극조 기저
	2×9	뒷지느러미 마지막 연조 기저
Truss dimension	2×10	배지느러미 기저
	2×11	가슴지느러미 상부 기저
	2×13	아가미덮개 끝 뾰족한 지점
	3×13	윗입술이 끝나는 지점
	4×5	등지느러미 제 1극조 기저
	4×7	꼬리지느러미 하부 기저
	4×8	뒷지느러미 극조 기저
	4×9	뒷지느러미 마지막 연조 기저
	4×10	배지느러미 기저
	4×11	가슴지느러미 상부 기저
Truss dimension	4×13	아가미덮개 끝 뾰족한 지점
	5×6	등지느러미 마지막 극조 기저
	5×7	꼬리지느러미 상부 기저
	5×8	꼬리지느러미 하부 기저
	5×9	뒷지느러미 극조 기저
	5×9	뒷지느러미 마지막 연조 기저
	5×10	배지느러미 기저
	5×11	가슴지느러미 상부 기저
	6×7	꼬리지느러미 상부 기저
	6×8	꼬리지느러미 하부 기저
6×8	뒷지느러미 극조 기저	
6×9	뒷지느러미 마지막 연조 기저	
6×10	배지느러미 기저	
6×11	가슴지느러미 상부 기저	
7×9	꼬리지느러미 하부 기저	
7×11	뒷지느러미 마지막 연조 기저	
	가슴지느러미 상부 기저	

표 2-2-10. (계속)

Dimension	시작 지점	종료 지점
Truss dimension	8×9	뒷지느러미 극조 기저
	8×10	뒷지느러미 마지막 연조 기저
	8×11	배지느러미 기저
	8×13	가슴지느러미 상부 기저
	10×11	아가미덮개 끝 뽕족한 지점
	10×13	가슴지느러미 상부 기저
	11×12	가슴지느러미 하부 기저
	11×13	가슴지느러미 하부 기저
		아가미덮개 끝 뽕족한 지점

(2) Dendrogram 분석

- 세 어종에서 구한 각각의 형태학적 거리는 RStudio (Version 1.3.1093)를 사용하여, 유클리드 거리를 구한 후 계층적 분석 방법인 평균 연결법을 이용하여 dendrogram 분석을 시행하였음.
- 군집 간의 거리는 대왕붉바리와 모계 어종인 붉바리가 8.18로 11.05인 대왕바리와의 거리보다 가까웠음(표 2-2-11).

표 2-2-11. 대왕바리(GG), 대왕붉바리(RGGG) 그리고 붉바리(RG)의 유클리드 거리

	대왕바리	대왕붉바리	붉바리
대왕바리	-	11.05	10.25
대왕붉바리	11.05	-	8.18
붉바리	10.25	8.18	-

- 세 어종의 체형 간에는 이질성이 존재하며, 어종별 군집이 형성되었음.
- 대왕붉바리의 체형은 모계 어종인 붉바리의 유전적인 영향을 많이 받았음(그림 2-2-31).
- 대왕바리와 붉바리 중에서도 대왕붉바리의 체형과 흡사한 경우(GG-F37, RG-F10), 대왕붉바리 군집에 속하였음.
- 대왕붉바리의 체형은 다른 교잡 자손과 비교하였을 때, 부계 어종인 대왕바리와의 거리가 가까운 편이라고 볼 수 있음.
- Serrasalimidae에 속하는 Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)와 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)의 교잡종인 Paqui (Tambaqui ♀ × Pacu ♂)와 Tambacu (Pacu ♀ × Tambaqui ♂)의 경우에는 각각 부계 어종과의 유클리드 거리가 모계 어종과의 거리보다 더 가까웠음(32.52 vs. 115.30, 74.06 vs. 158.48, Costa et al., 2020).

- 육안상 체형 비교에는 한계가 존재함.
- 체고가 높거나 꼬리자루가 짧은 대왕붉바리 기형개체들(RGGG-F4, F7, F12, F14, F18)은 붉바리보다 유클리드 거리가 더 멀었음. 이 개체들은 대왕붉바리의 표준체형에서 벗어났다고 해석할 수 있음.
- 대왕붉바리 중 육안상으로는 표준체형으로 분류되지만 dendrogram 결과 표준체형에서 벗어나는 개체(RGGG-F26)가 존재함. 동일한 경우가 붉바리(RG-F1, F26, F31)에게서도 발견됨.

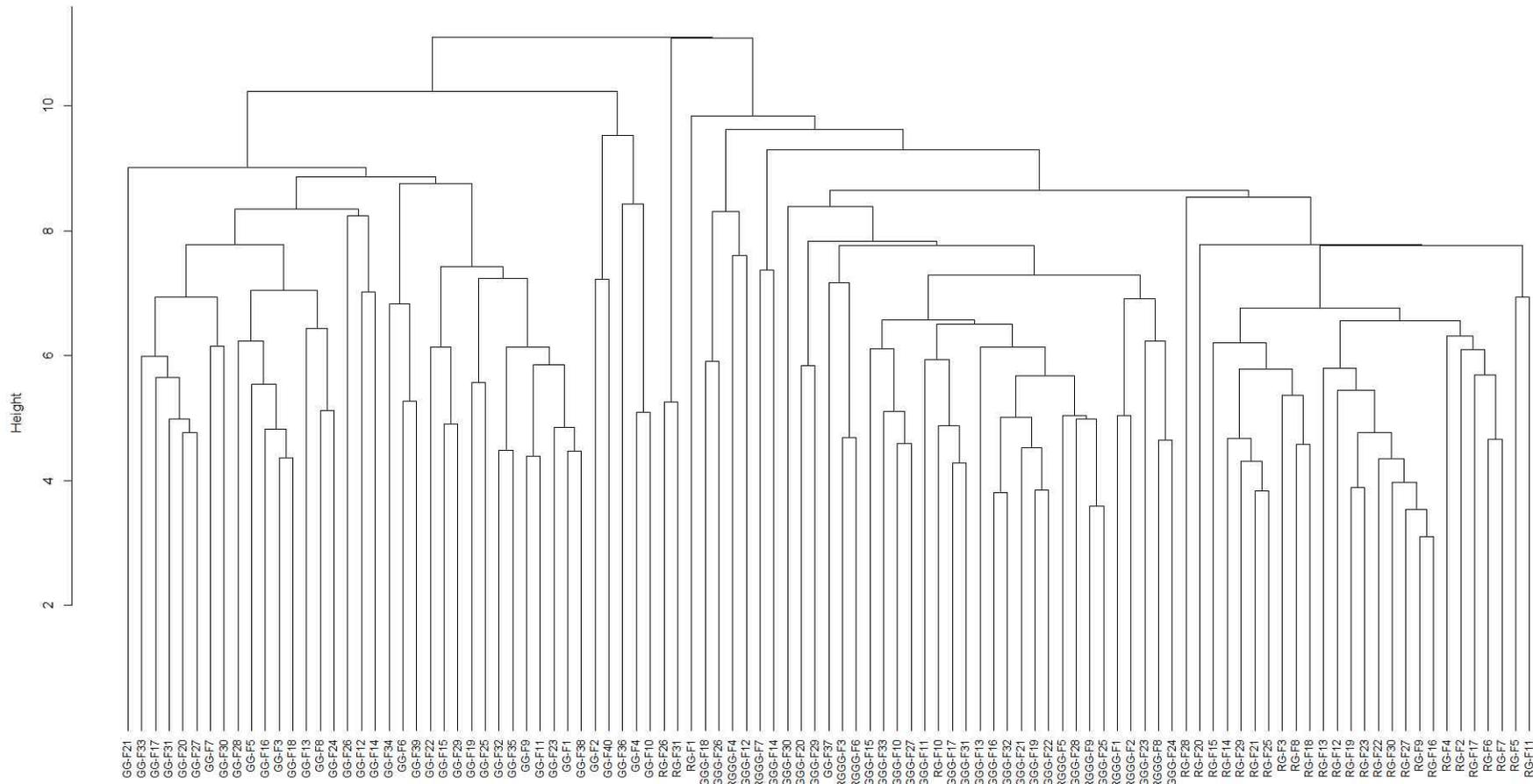


그림 2-2-31. 대왕바리(GG), 대왕불바리(RGGG) 그리고 불바리(RG)의 계측 형질을 이용한 dendrogram.

바. 교잡품종의 성 성숙 조사

- 15년 생산한 후 한국해양과학기술원과 경남수산자원연구소에서 관리 중인 대왕자바리와 대왕붉바리 성어를 대상으로 성호르몬(testosterone과 estradiol-17β)을 분석하였으며, 제한된 친어수를 고려하여 생식소 분석은 최소한의 범위에서 실시하였음.
- 일반적으로 어류의 교잡품종은 불임인 것으로 알려져 있으나 분류군에 따라서 번식이 가능한 사례가 있음. 바리과 어류의 교잡품종인 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂) 역시 교잡조합에 따라 번식능력이 있는 것으로 알려져 있음. 이에 본 사업을 통해 개발한 두 교잡품종의 번식능력을 확인하기 위하여 ‘15년 생산한 대왕자바리와 대왕붉바리 양성어를 대상으로 성호르몬을 분석하였으며, 제한된 친어수를 고려하여 생식소 분석은 최소한의 범위에서 실시하였음. 이 두 교잡품종의 번식능력이 확인되면 초대형 어류인 대왕바리의 친어관리의 어려움(대형수조, 경비, 핸들링 등)을 극복할 수 있음.

(1) 생식소 육안 관찰

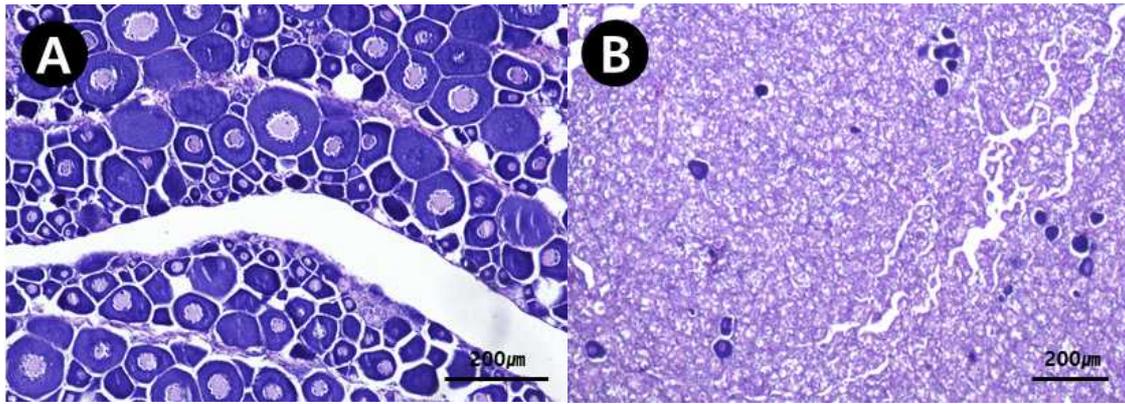
- 26개월령의 대왕자바리 5마리(평균 체중 2.9 kg)와 27개월령의 대왕붉바리 1마리(체중 1.44 kg)에서 해부를 통해 생식소를 관찰할 수 있었음.



그림 2-2-32. 대왕자바리 및 대왕붉바리의 생식소.

- 37개월령의 대왕자바리 2마리(체중 3.47 kg과 4.22 kg)에서 각각 3 cm와 4 cm의 생식소를 관찰하였고, 38개월령의 대왕불바리 1마리(체중 0.53 kg)에서도 2 cm의 생식소를 관찰하였음(그림 2-2-32).

(2) 생식소 조직관찰



<대왕자바리 난소 조직>

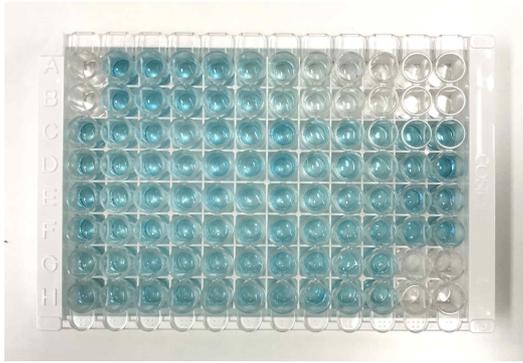
<대왕불바리 난소 조직>

그림 2-2-33. 대왕자바리와 대왕불바리 생식소 조직(scale bar=100 μm).

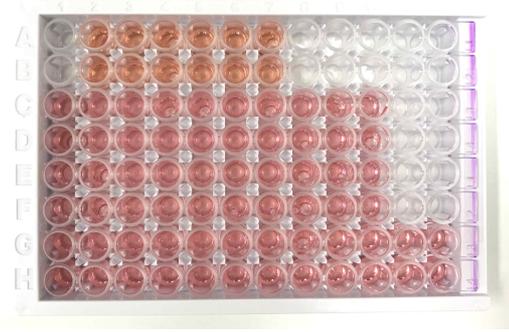
- 대왕자바리(체장: 45.5 cm, 체중: 2.85 kg) 생식소는 미성숙한 상태인 주변인기 단계(perinucleolus stage)였고, 10~150 μm 크기의 주변인기 난모세포(perinucleolus oocyte)로 구성되어 있어 향후 배우자 생산이 가능할 것으로 기대됨(그림 2-2-33-A).
- 대왕불바리(체중: 1.44 kg) 생식소는 46.92 μm 크기의 주변인기 단계의 난모세포가 드물게 관찰되었으나, 현재까지 정상적인 생식소 발달을 기대할 수 있는 상태로 보이지 않음(그림 2-2-33-B).

(3) 성호르몬 분석

- 2018년 9월, 37개월령인 대왕자바리(평균 체장 : 49.6±2.9 cm, 평균 체중 : 3.8±0.6 kg)과 38개월령인 대왕불바리(평균 체장 : 32.8±2.7 cm, 평균 체중 : 1.2±0.3 kg)을 대상으로 성호르몬 분석을 시행함.



<Cortisol antibody 분주 직후>



<Estradiol-17β antibody 분주 직후>

<Washing buffer 분주>

<흡광도(450 nm) 측정>

그림 2-2-34. 혈장 cortisol 및 Estradiol-17β 농도 측정을 위한 ELISA 분석

- 혈장 cortisol 분석에는 Fish cortisol ELISA kit(CUSABIO® , Cat #CSB E08487f, Cusabio Technology, Houston, USA), 혈장 estradiol-17β 분석에는 Fish estradiol(E2) ELISA kit(CUSABIO® , Cat #CSB E13017Fh, Cusabio Technology, Houston, USA)를 사용함.
- 흡광도는 450 nm에서 microplate reader (Biotek Synergy HTX Multi-Mode Reader, Biotek, Vermont, USA)를 이용하여 측정함(그림 2-2-34).

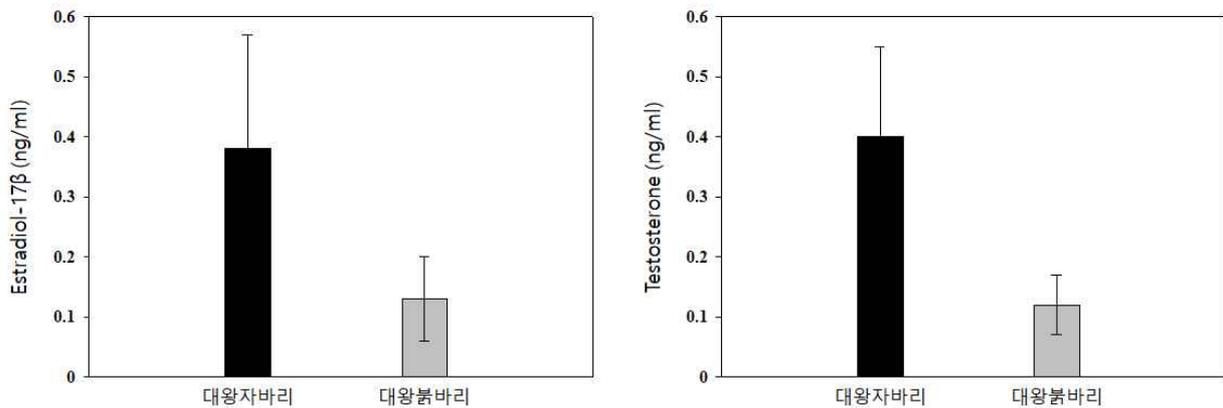


그림 2-2-35. 대왕자바리와 대왕붉바리 성호르몬(estradiol 17β와 methyltestosterone).

- 생식소 분석 시기의 혈중 성호르몬 농도는 대왕자바리가 어류의 난성숙기(난황축적)에 접어든 시기의 농도와 비슷한 값을 보였으나, 대왕불바리는 휴지기의 값을 보였음(그림 2-2-35).
- 대왕자바리(평균 체장 : 49.6 cm, 평균 체중 : 3.8 kg)의 혈중 estradiol-17β는 평균 0.40±0.15 ng/ml 그리고 testosterone은 0.38±0.19 ng/ml였음.
- 대왕불바리(평균 체장 : 32.05 cm, 평균 체중 : 1.2 kg)의 혈중 estradiol-17β는 평균 0.12±0.05 ng/ml 그리고 testosterone은 0.13±0.07 ng/ml였음.
- 이상의 생식소와 혈중 성호르몬 분석 결과, 대왕자바리는 주변인기의 난모세포 단계까지는 정상적인 생식소 발달이 진행되는 것으로 조사되었으며, 향후 정상적인 생식소 발달 및 배우자 생산이 기대됨.
- 대왕자바리는 생식소 수준의 불임은 아닌 것으로 판단되지만, 정상적인 난과 정자 생산이 되지 않는 배우자 수준의 불임일 가능성도 있으므로 지속해서 분석할 예정임.
- 자바리와 대왕바리의 산란수온이 각각 19℃~23℃와 25℃~30℃로 서로 달라 이 두 종의 교잡품종인 대왕자바리의 적정 성숙 및 산란수온에 관한 조사가 필요함.
- 대왕불바리는 성숙 크기에 도달하지 않을 수도 있으므로 지속해서 분석할 예정임.

사. 건강도 조사

- 2020년 9~10월경 경상남도수산자원연구소에서 관리 중인 대왕자바리와 대왕불바리 그리고 대왕바리에 대하여 무작위로 선정한 24마리를 대상으로 실시함(표 2-2-12).

표 2-2-12. 대왕자바리·대왕불바리·대왕바리의 사육수온 및 계측자료

어종	사육수온(℃)	전장(cm)	체장(cm)	체중(kg)	비만도(%)
대왕자바리	21.8~22.4	69.79±0.71	58.05±0.58	6.31±0.21	3.20±0.05
대왕불바리	22.2	47.39±0.70	39.35±0.61	2.03±0.08	3.31±0.06
대왕바리	21.1	56.31±0.63	46.39±0.54	3.54±0.13	3.51±0.06

- Glucose, GOT 그리고 GPT는 각각 GLU-PⅢ, GOT/AST-PⅢ 그리고 GPT/ALT-PⅢ kit (Fujifilm Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 FUJI DRI-CHEM 4000i (Fujifilm Co., Tokyo, Japan)로 측정함(그림 2-2-37).

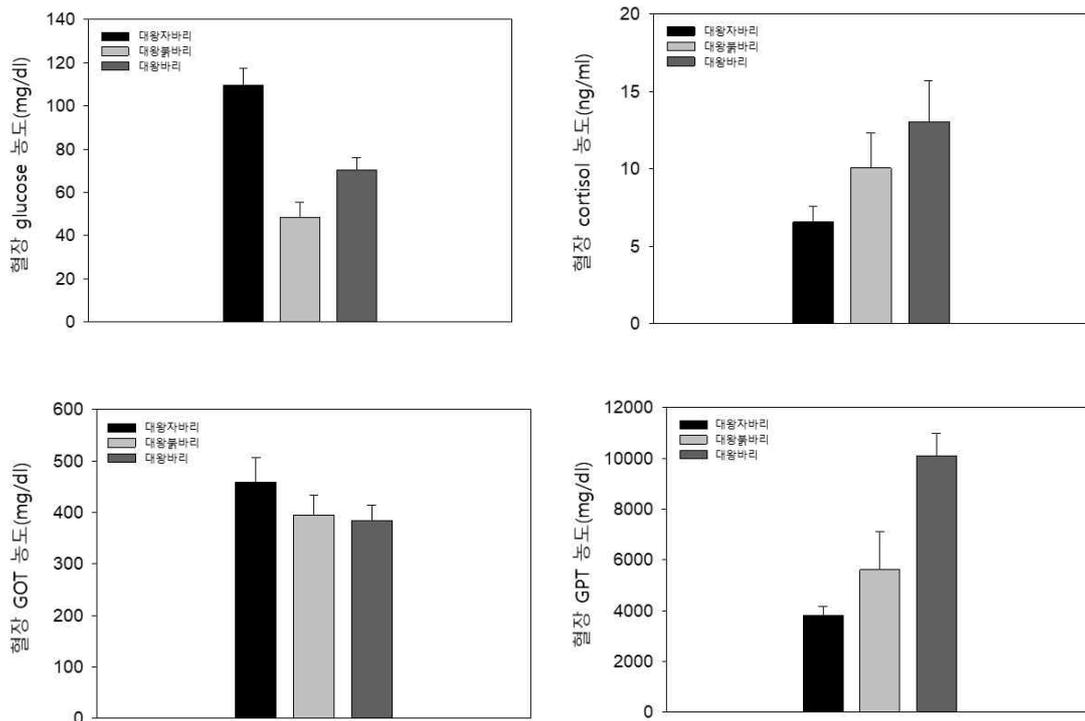


그림 2-2-38. 대왕자바리, 대왕불바리 그리고 대왕바리의 건강도 분석 결과.

- 분석을 위해 채혈한 9월 수온은 우리나라 여름철 수온으로 두 교잡종의 부계 어종인 대왕바리(적수온: 30℃)의 적수온은 아님.
- 21.8~22.4℃에서 대왕자바리의 혈중 glucose 농도는 109.69±7.80 mg/dl, 혈중 cortisol 농도는 6.56±1.05 ng/ml이었음(그림 2-2-38).
- 이전 연구에서 24.0℃에서 사육되었던 대왕자바리(680.35±39.84 g)의 혈중 glucose 농도는 약 2.5 mmol/l (27mg/dl)이었고, 혈중 cortisol 농도는 약 25 ng/ml이었고(Jia et al., 2021), 23~25℃에서 대왕자바리의 모계 어종인 자바리(254±4.2 g)의 혈중 glucose 농도는 약 4 mmol/l (43.2 mg/dl)이었고, 혈중 cortisol 농도는 약 15 ng/ml이었음(Sun et al., 2019).
- 대왕자바리가 모계 어종인 자바리의 적정 수온에서 보인 낮은 혈중 glucose 농도는 선호하는 수온보다 낮은 수온 환경에 노출됨에 따라 느려진 에너지대사의 결과로 보임. 이는 고수온(30℃)을 선호하는 부계 어종인 대왕바리의 영향으로 보임.
- 이 연구에서 대왕자바리의 혈중 glucose 농도가 이전의 두 연구 결과보다 높게 나온 이유는 스트레스 반응으로 카테콜아민의 증가에 따른 혈중 glucose 농도의 증가 또는 분석

- 개체 중 37.5%를 차지하는 복부, 측면, 꼬리지느러미 또는 몸 전체에 퍼진 피부병으로 인해 회복에 필요한 대사 과정 때문으로 추측할 수 있음.
- 혈중 cortisol 농도는 스트레스의 원인에 따라 양의 상관관계 또는 음의 상관관계를 가지거나 수온의 변화에 따른 변화양상을 보이지 않았다는 연구 결과가 있음. 이 연구의 경우 해당 수온에서 장기간 사육되었기 때문에 이에 대한 적응 가능성도 고려해야 함. 또 다른 스트레스 지표인 혈중 GOT 와 GPT 농도도 스트레스 환경에서 높아진다는 연구 결과가 있으나 이 연구 결과만으로는 비교하기가 어려움.
 - 22.2°C에서 대왕붉바리의 혈중 glucose 농도가 48.60±6.90 mg/dl이었고, 혈중 cortisol 농도가 10.06±2.25 ng/ml이었음(그림 2-2-38).
 - 이전 연구에서 20°C에서 사육되었던 대왕붉바리(11.78±0.58 g)의 혈중 glucose 농도는 약 50 mg/dl, 혈중 cortisol 농도는 약 12 ng/ml이었고(Cho et al., 2021), 24°C에서 대왕붉바리의 모계 어종인 붉바리(13.68±0.93 g)의 혈중 glucose 농도는 203±21.9 mg/dl, 혈중 cortisol 농도는 약 75 ng/ml이었음(Cho et al., 2015).
 - 대왕붉바리는 모계 어종인 붉바리의 적정 수온보다 낮은 수온에서 혈중 glucose 농도와 혈중 cortisol 농도가 낮았음.
 - 모계 어종인 붉바리는 스트레스를 받을 만큼 낮은 수온(15°C)에 노출되었을 때 단기간(노출 2일 차)에는 혈중 glucose 농도의 변화를 보이지 않았지만, 수온 스트레스 환경에 장기간(노출 7일 차)에는 혈중 glucose 농도가 유의하게 증가하였음(이때, 혈중 cortisol 농도의 유의한 차이는 없었음).
 - 대왕붉바리는 해당 수온 환경에서 장기간 사육되었으므로 만약 이 수온이 스트레스를 주는 수온이었다면 혈중 glucose 농도는 높게 유지되었을 것으로 추측됨. 하지만 이 연구 결과 혈장 glucose 농도는 상대적으로 낮게 유지되고 있었으므로 저수온 환경에 의해 느려진 에너지대사로 인한 결과로 보임.
 - 이 수온에서도 스트레스로 인한 눈에 띄는 혈중 변화가 없는 것은 부모 어종 중 모계 어종인 붉바리의 적정 수온 부근의 온도이기 때문으로 추측됨.
 - 21.1°C에서 대왕바리 순종의 혈중 glucose 농도는 70.35±5.94 mg/dl, 혈중 cortisol 농도는 13.04±2.66 ng/ml이었음(그림 2-2-38).
 - 이전 연구에서 27°C의 대왕바리(평균 전장 30.7±0.4 cm, 평균 체중 544.6±24.4 g) 혈중 glucose 농도는 145.3±7.8 mg/ml이었고, 혈중 cortisol 농도는 2.6±0.1 µg/dl이었음(Jung et al., 2012).
 - 대왕바리의 생리적인 반응이 성어기에 도달하였을 때도 유사하다고 가정하였을 때, 적정 수온과 유사한 온도에서 사육된 대왕바리보다 낮은 혈중 glucose 농도는 저수온 환경에 노출됨에 따라 느려진 에너지대사의 결과로 보이며, 높은 혈중 cortisol 농도는 해당 수온이 스트레스 요인으로 작용하고 있다는 것을 의미함. 따라서 현재 사육 수온은 대왕바리의 사육 수온으로 적합하지 않다고 판단됨.

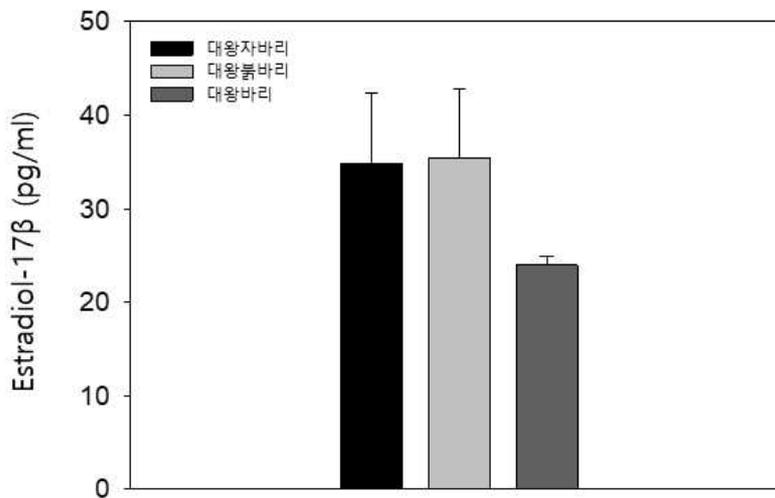


그림 2-2-39. 대왕자바리, 대왕불바리 그리고 대왕바리의 혈중 estradiol-17β 농도.

- 대왕자바리, 대왕불바리 그리고 대왕바리의 혈장 estradiol-17β 농도는 각각 34.80 ± 7.52 pg/ml, 35.39 ± 7.47 pg/ml 그리고 23.97 ± 0.91 pg/ml이었음(그림 2-2-39).
- 유사한 수온에서 대왕자바리의 모계 어종인 자바리 암컷의 혈중 estradiol-17β 농도는 0.97 ± 0.141 ng/ml로 매우 높았고, 대왕자바리와 비슷한 혈중 estradiol-17β 농도를 가질 때는 27°C에 노출된 암컷 또는 유사한 수온에서의 수컷에서 나타남(Masuma et al., 2021).
- 대왕불바리의 모계 어종인 불바리 암컷의 혈중 estradiol-17β의 농도가 대왕불바리와 유사하였을 때는 생식소에 1차 난모세포와 극소수의 정원세포가 존재하였고, 생식소가 성숙한 시기의 혈중 estradiol-17β의 농도는 평균 3000 pg/ml 이었음(Chen et al., 2016).
- 대왕바리의 혈중 estradiol-17β에 대한 이전연구가 없어 비교가 어렵지만, 성숙 수온에 미치지 못하는 수온에서 사육되고 있어서 생식소는 미성숙한 상태일 것이며, 해당 농도 역시 미숙한 상태에서의 혈중 estradiol-17β 농도일 것으로 보임.
- 이 연구에서 측정된 estradiol-17β 농도는 유사 수온에서의 자바리 수컷 또는 미숙한 불바리 암컷의 혈중 농도와 유사하였음.
- 대왕자바리와 대왕불바리에 대하여 미숙한 상태에서의 성전환 가능성을 염두에 두고 어류의 응성호르몬인 혈중 11-ketotestosterone 분석을 추가로 시행하여 비교 예정임.

(2) 장내 미생물 균집 분석



<카테터 삽입>

<멸균 PBS 주입 및 흡입 반복>

그림 2-2-40. 대왕붉바리의 장내 미생물 샘플 채취.

- 2020년 7월 22일, 경상남도수산자원연구소에서 21.1°C로 관리 중인 대왕붉바리 중 무작위로 추출된 15마리(전장: 45.36±0.84 cm, 체중: 1.8±0.10 kg)를 대상으로 조사하였음(그림 2-2-40).
- 매일 2회, 아침에는 까나리 생사료를, 저녁에는 11mm EP 사료(물고기 배합사료 EP 사료, Aller Aqua, Christiansfeld, Denmark)를 급여하였음.
- 장내 미생물을 샘플하기 위해서 대왕붉바리의 항문에서부터 약 5 cm 깊이까지 후장 부위에 카테터(All-Silicone Foley Balloon Catheter 8 Fr, Sewoon Medical Co., LTD., Cheonan, Korea)를 삽입함. 5 ml 멸균 PBS (phosphate buffer saline)를 주입하여 장 내용물과 혼합된 상태로 채취하여 2~4°C에 보관하였음.
- 샘플은 vortex-mixer로 균질화한 뒤 3분간 방치하여 배설물 등 불순물을 가라앉히고 상등액만 채취하였음. 20분간 4000×g로 원심분리(2236HR high-speed centrifuge, GYROZEN Co., Ltd, Daejoen, Korea)하여 얻은 pellet에서 QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA를 추출함.
- 분자 마커로 이용되는 16S rRNA의 V3-V4 region을 target으로 Universal primer set 341F (5'-CCTACGGGNBGCASCAG-3')와 805R (5'-GACTACNVGGGTATCTAAT-3')을 사용하여 Takara Ex Taq (Takara Bio, Shiga, Japan)로 PCR(polymerase chain reaction)을 진행하였음. PCR은 GeneAtrons Thermocycler에 의해 수행되었으며 1차 PCR은 95°C에서 5분간 반응 후, 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 1분씩 25회 반복되었고, 마지막에 72°C에서 10분간 더 반응하였음. 이후 Miseq 기반 library 제작을 위해 Index sequence와 함께 2차 PCR을 진행하였고 같은 조건에서 cycle 수는 5번으로 설정하였음.
- PCR 산물은 QIAquick® PCR Purification Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 정제하였고, 1% agarose gel electrophoresis 및 분광광도계(NanoDrop2000, Thermo Scientific,

Waltham, MA, USA) 측정으로 DNA의 농도(순도)와 질을 측정하였음.

- 제작된 sample library는 Illumina Miseq platform을 통해 sequencing을 진행하였음. Sequencing 완료 후 길이가 짧거나 품질이 좋지 못한 서열들(reads)은 제거하였음.
- 선별된 서열들은 샘플에 특이적인 Index sequence를 기준으로 분류한 뒤, tag와 tail이 포함된 primer 서열을 제거하였음.
- BLAST 방법으로 EzTaxon-e database의 서열과 비교하여 분자분류를 수행하였고, 이를 CLCommunity™ (Ver 3.43) browser를 이용하여 가공하였음.
- 경상남도수산자원연구소에서 21.1°C로 관리 중인 대왕붉바리 중 무작위로 추출된 15마리 (전장: 45.36±0.84 cm, 체중: 1.8±0.10 kg) 중 4마리만이 DNA 추출 및 증폭됨(표 2-2-13).

표 2-2-13. 장내 미생물 군집 분석에 사용된 대왕붉바리의 계측자료

No.	전장(cm)	체장(cm)	체중(kg)	비만도(%)
2	45.0	37.4	1.69	3.23
6	47.9	39.2	2.25	3.73
8	48.6	39.9	2.20	3.46
11	46.5	39.1	2.29	3.82

- 증폭된 PCR 산물의 전기영동 결과, 음성 대조군을 제외한 전체 샘플에서 500bp 부근에서 single band가 확인됨(그림 2-2-41).
- 증폭된 PCR 산물의 정제 후 평균 농도는 20 ng/μl이었음.
- 분광광도계로 순도를 확인한 결과 260/280 비가 1.8~1.9 사이로 일정하였음.
- Sequencing에는 50~100 ng을 사용하였음.

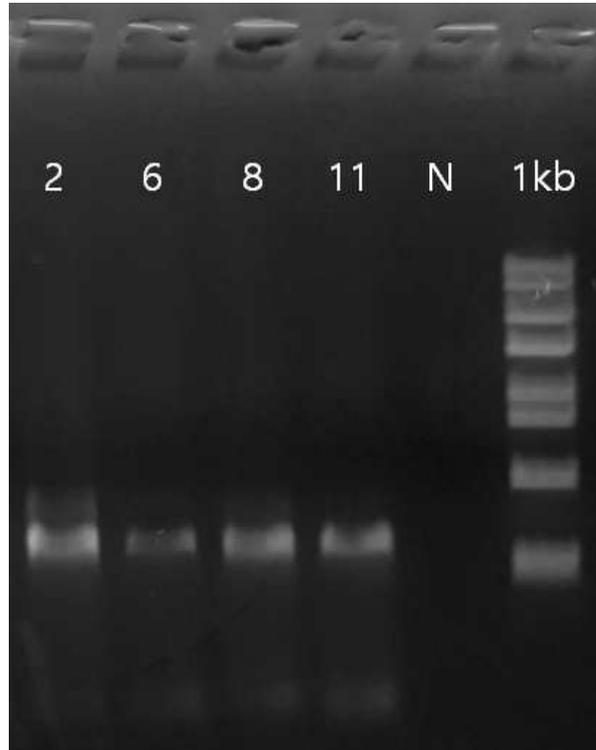


그림 2-2-41. 대왕북바리 장 내용물 PCR 산물의 전기영동 결과.

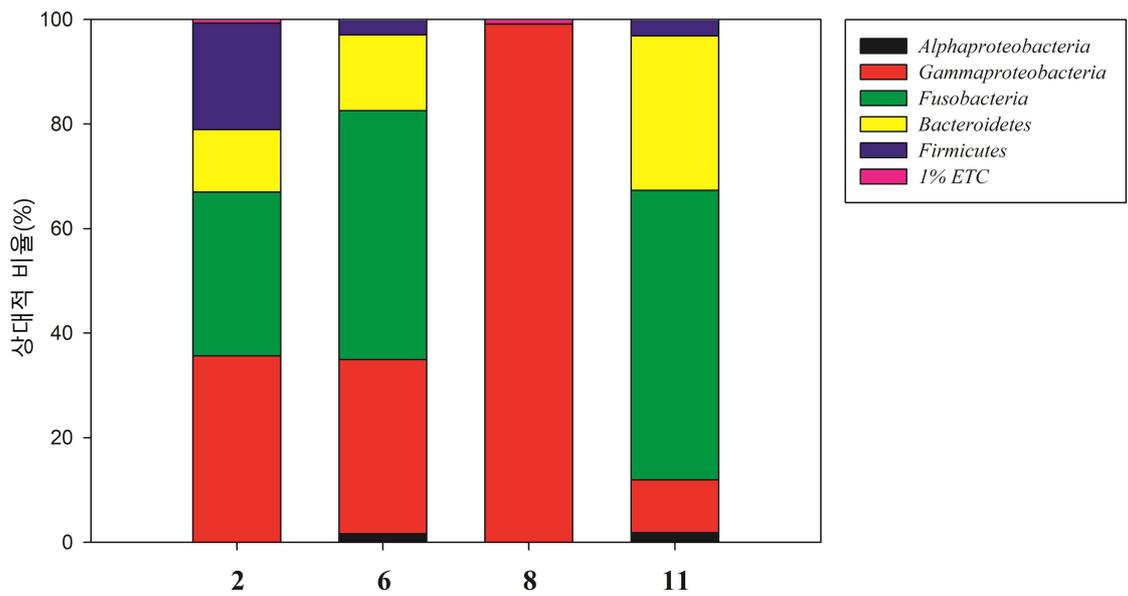


그림 2-2-42. 대왕북바리 장내 미생물군의 문(phylum) 수준에서 분류학적 분포.

- 문(phylum) 수준에서 대왕북바리의 장내 미생물 군집은 예외적인 분포를 보이는 8번 개체를 제외하면 모두 *Proteobacteria* 문 중 *Gammaproteobacteria* 문, *Fusobacteria* 문, *Bacteroidetes* 문, *Firmicutes* 문으로(그림 2-2-42), 일반적인 해산어의 미생물 구성을 보였고, 개체별로 각 분류군 비율의 차이를 보였음.

- 주요 우점 문(phylum)은 평균 $44.77 \pm 7.07\%$ 를 차지하는 *Fusobacteria* 문이었음.
- 포유류에서 *Fusobacteria* 문에 속하는 균은 대사물질로 낙산염(butyrate)을 생산한다고 알려져 있음(Bennett and Eley 1993). 이는 위장 세포의 주된 에너지 공급원으로(von Engelhardt et al. 1998; Collinder et al. 2003), 점액 생성 강화, 항암 및 항염 기능, 포만감 형성 등 숙주에게 많은 이점을 제공함(McBain et al. 1997; von Engelhardt et al. 1998; Andoh et al. 1999; Hamer et al. 2007).
- Nuez-Ortin et al. (2012)는 낙산(butyric acid)의 잠재적인 담수어 병원체 억제 기능을 증명하였으며, 현재 sodium butyrate의 형태로 어류의 건강과 성장을 촉진하기 위한 식품 첨가물로 판매되고 있음(Larsen et al., 2014).
- 두 번째로 우점하는 문은 *Alphaproteobacteria* 강(class) (평균 $1.86 \pm 0.11\%$)과 *Gamma-proteobacteria* 강(평균 $26.26 \pm 8.18\%$)을 포함하는 *Proteobacteria* 문으로 평균 $27.51 \pm 7.79\%$ 를 차지하였음.
- *Proteobacteria* 문은 *Fusobacteria* 문과 *Firicutes* 문과 함께 다양한 해수 및 담수 어종의 장내 미생물 군집에서 최대 90%까지 우점할 수 있는 대표적인 문임(Larsen et al., 2014; Eichmiller et al., 2016; Hennersdorf et al., 2016; Liu et al., 2016; Tarnecki et al., 2017).
- 이 문은 부계 어종이 동일한 교잡 자손인 대왕범바리의 장내에서도 42.92%로 가장 우점함(Ye et al., 2020).
- 다음으로 우점하는 문은 대표적인 혐기성 장내 미생물인 *Bacteroidetes* 문으로 평균 $18.67 \pm 5.50\%$ 를 차지하고 있었으며, *Firmicutes* 문이 평균 $8.80 \pm 5.78\%$ 로 나타났음.
- 이 두 문은 대왕범바리의 장내에서 각각 16.53%와 18.18%로 존재함(Ye et al., 2020).

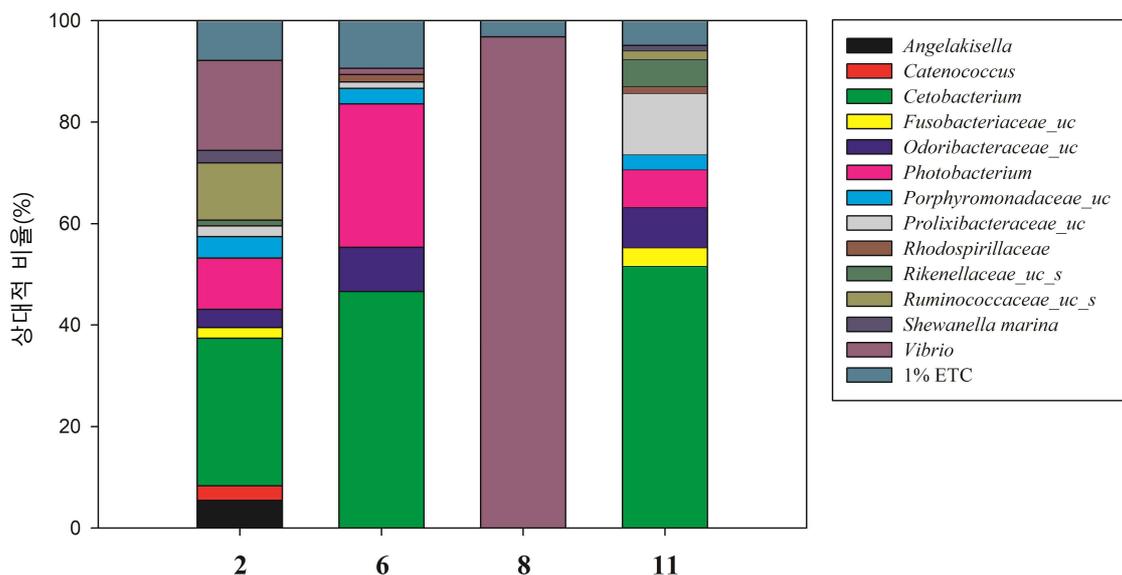


그림 2-2-43. 대왕범바리 장내 미생물군의 속(genus) 수준에서 분류학적 분포.

- 속(genus) 수준에서는 예외적으로 *Proteobacteria* 문이 99.12%를 차지했던 8번 개체의 장내 미생물군은 *Vibrio* 속이었음(그림 2-2-43).
- 그 외 개체들에서는 *Cetobacterium* 속이 평균 $42.43 \pm 6.85\%$ 로 가장 큰 비중을 차지하고 있었음. 그 밖에 *Photobacterium* 속이 평균 $15.27 \pm 6.56\%$ 그리고 *Vibrio* 속은 2번과 6번 개체에서 각각 17.72%와 1.24% 존재하였음.
- *Vibro* 속은 Orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) 치어의 속성장 및 저성장 개체들에서 각각 3.6%와 12.3%로 속성장 개체의 장내에서 차지하는 비율이 더 낮았음(Sun et al., 2009).
- 대왕붉바리의 경우에서도 동일한 시기에 생산되었지만, 체중이 2.25 kg인 6번 개체는 1.69 kg인 2번 개체보다 장내 *Vibrio* 속의 비율이 더 낮았음.
- 대왕붉바리 장내 미생물 군집 중 우점 속인 *Cetobacterium* 속은 담수어와 해수어에서 흔히 발견되는 장내 공생미생물로 이들의 장내 미생물 군집에서 우점한다고 알려져 있음(Merrifield et al., 2013; Hassenrück et al., 2020).
- 이들의 대사산물에는 비타민 B₁₂가 풍부하여 어류의 건강을 증진시키며(Sugita et al., 1991; Bhute et al., 2020), 장의 상피층 장막을 강화시켜 장 건강에 도움을 준다고 알려져 있음(Canfora et al., 2015).

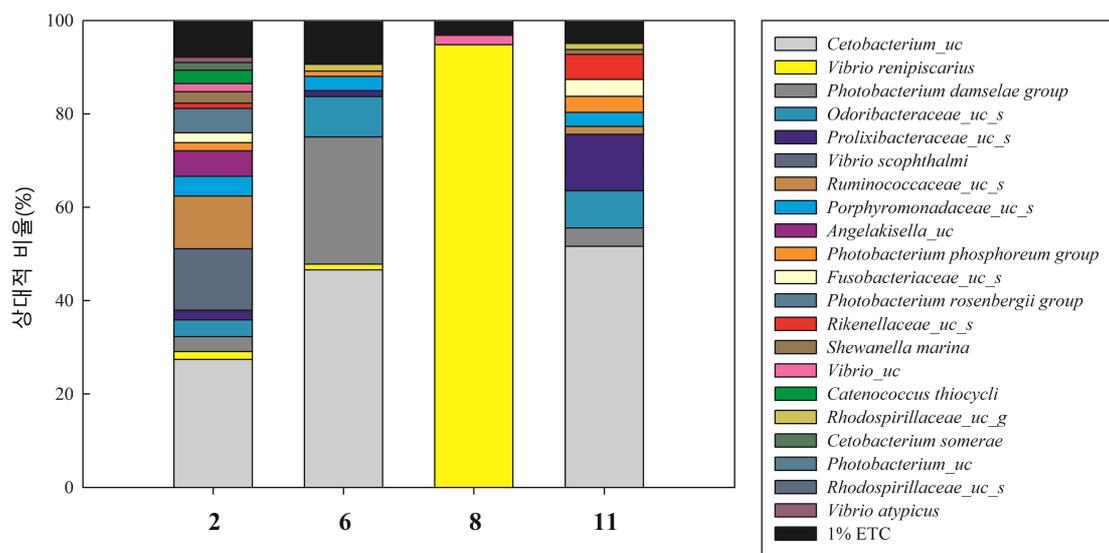


그림 2-2-44. 대왕붉바리 장내 미생물군의 종(species) 수준에서 분류학적 분포.

- 종(species) 수준에서 8번 개체의 장내에는 특이적으로 *Vibrio renipiscarius*로 배정된 하나의 *Vibrio* 속 OTU에 의해 94.79%라는 압도적인 비율로 우점하고 있었음(그림 2-2-44)
- *Vibrio renipiscarius*는 지중해에서 양식된 건강한 먹도미(gilthead sea bream, *Sparus aurata*)의 신장에서 분리된 균주로(Tarazona et al., 2015) 어류에 대한 병원성 여부는 명확히 밝혀지지 않았고, 해당 어류에서도 육안상 병증은 관찰되지 않았음. *Vibrio* 속의 경우 미생

물 분석의 생물학적 마커인 16S rRNA 서열이 아주 잘 보존되어 있기 때문에 종 수준에서의 정확한 결과라고 볼 수 없다는 점을 고려하여야 함.

- 그 외 개체들에서는 공통으로 *Cetobacterium* 속에 속하는 종이 평균 41.89±7.38%로 가장 우점하였음.
- 두 번째 우점종은 *Photobacterium damsela* group으로 11.44±7.89%를 차지하였음.
- 이 종은 해수어, 패류, 갑각류 등 광범위한 해양생물에 상처 감염과 패혈증을 일으키는 병원균으로 고수온과 관련 있다고 알려져 있음(Matanza et al., 2018).

- 종합적으로 보았을 때, 대왕붉바리의 장내 미생물 군집에서 가장 큰 비중을 차지하는 미생물은 *Fusobacteria* 문 중에서도 *Cetobacterium* 속이었음.
- 양식어종인 대왕붉바리는 대량생산 과정에서 성장과 면역이 매우 중요한 요소이기 때문에 이와 상호작용하는 우점 미생물군에 대한 역할이 명확히 밝혀져야 한다고 사료됨.
- 대왕붉바리의 사육환경 및 내외부적인 요인에 따른 장내 미생물 군집 변화 및 병원성 균과의 연관성 분석이 필요
- 고수온 환경에서 어류에 병원성을 나타내는 것으로 알려진 *Photobacterium damsela* group이 발견되었는데, 여름철 고수온 시 증가하는 대왕붉바리의 폐사 원인은 아닌지 연관성 조사가 필요

2. 순종 및 교잡수정란 대량생산 및 공급 기술개발

가. 정자 대량 동결보존

(1) 문헌조사

- 바리과에 속하는 주요 연구 대상종을 기준으로 문헌조사를 실시하였음.
: 대상종은 대왕바리, 자바리, 붉바리, 능성어였으며, 학술논문과 학위논문으로부터 종별 생존율과 운동성이 좋은 것으로 보고된 희석액 및 동해방지제를 검색하였음.

- 문헌조사 결과 바리과 어류 중 본 연구의 주요 대상종을 기준으로 하여 정자 동결보존에 이용한 희석액과 적정 동결보존액 자료를 확보하였음.
: 확보한 문헌에서 발췌하여 각 희석액에 이용하는 시약 명과 조성을 정리하였으며(표 4-2-14), 300 mM glucose를 제외한 6종류의 희석액을 제조하였음.

표 2-2-14. 문헌조사를 통해 확보한 주요 연구 대상종의 적정 희석액 및 동결보존액

대상종	적정 희석액	적정 동결보존액	참고문헌
대왕바리	MPRS, TS-19	12% DMSO	Fan et al., 2014
	ELRS3, ELS3	15% DMSO	Tian et al., 2015
자바리	ASP II	10% Glycerol	Lim and Le, 2013
붉바리	300 mM glucose	10% DMSO	안재연, 2017
능성어	ES1-3	10% DMSO	Tian et al., 2013

(2) 적정 희석액 확인

- 대왕바리, 자바리, 붉바리 정액을 대상으로 적합한 희석액을 확인하였고, 대왕바리와 꼬리큰점바리 정액은 대량 동결보존을 수행하였음. 대왕바리와 꼬리큰점바리 정액은 해동한 다음 냉장보관 이후 생존율 및 운동성을 확인하였음.
- 대왕바리는 경남수산자원연구소(경남 통영시)와 인도네시아 바탐섬에 위치한 The Mari-culture Development Center (MDC) of Batam에서 확보한 정액을 이용하였고, 자바리와 붉바리는 통영 경남수산자원연구소에서 확보한 정액을 이용하였음. 꼬리큰점바리는 인도네시아 시투본도에 위치한 Eljaya 양식장에서 확보한 정액을 이용하였음.
- 정자의 운동성은 해수를 이용하여 1:100 비율로 자극하여 광학현미경 하에서 관찰하였고, 정자 총 개체수 대비 활동 개체수의 비율과 해수 자극 이후 활동이 저하되는 시점까지의 시간을 측정하였음. 운동속도에 따라 1~4 등급까지의 운동성을 평가하였음.
- 동결보존은 희석액과 정액을 2:1을 기준으로 진행하였음. 바리와 어류의 적정 동해방지제는 대부분 glycerol과 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 조사되었으나, glycerol은 장기간 보관할 시 일부 동결정액 내용물이 굳는 등의 문제가 있어 DMSO로 고정하여 수행하였음. 동해방지제의 농도는 10~15%로 정액별로 조절하였음(표 4-2-15).
- 각각의 희석액과 동해방지제는 15 ml 튜브에 넣어 혼합액을 만들었으며, 각각의 혼합액에 정액을 1:1의 비율로 희석하여 5분간 평형시간을 준 후 동결을 진행하였고, 액체질소 증기(-76℃)에서 2분간 1차 동결 후 액체질소(-196℃)에 넣는 2단계 동결을 실시하였음.
- 1차년도에는 위의 방법에 따라 대왕바리, 자바리, 붉바리, 꼬리큰점바리 정액을 대량 동결보존한 후 장소, 일자, 보존량을 정리하였음. 2차년도에는 1단계 참여기관인 목포대학교에 위탁하여 대왕바리 정액을 대량 동결 보존하였음.
- 대왕바리 정액을 대상으로 동해방지제의 종류 및 농도는 15% DMSO로 고정하여 6종의 적정 희석액을 확인한 결과 ASP II와 ELS3가 가장 높은 생존율을 보였으며(그림 2-2-45), ELS3가 가장 높은 운동성을 보였음(그림 2-2-46).
- 동결 전 정액의 생존율은 약 60%였으며, 동결 3일 후 ASP II는 43.8 ± 6.25%, ELS3는

37.1 ± 2.20%로 다른 희석액들에 비해 높은 생존율을 보였으며, 두 희석액 간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았음(p>0.05).

표 4-2-15. 바리과 어류의 정자 동결보존을 위한 희석액의 조성

시약명	희석액						
	ELRS3	ELS3	MPRS	TS-19	ASPII	ES1-3	300mM Glucose
Sucrose (mM)				50.00			
Glucose (mM)	277.37	92.46	55.55	36.00		333.04	300
NaCl (mM)	111.23	171.12	60.35	78.00	154.004	171.12	
KCl (mM)	1.88		5.23		1.341		
NaHCO3 (mM)	2.38	5.95	3.00	25.00	5.952	5.95	
NaH2PO4 (mM)	0.082		1.80				
CaCl2,2H2O (mM)	0.82				0.541		
MgCl2,6H2O (mM)					0.840		
KHCO3 (mM)				35.00			
MgCl2 (mM)			1.13				
CaCl2 (mM)			1.13				
Tris (mM)				20.00			
Albumin (g/L)					0.02		
FBS	10%	10%		10%			

- 동결 3일 후 ELS3의 sperm activity index (SAI)가 2.40 ± 0.071로 가장 높았으며, TS-19의 SAI가 2.27 ± 0.370으로 다른 희석액들에 비해 높은 운동성을 보였음.
- 따라서 ELS3, TS-19, ASP II가 대왕바리 정자 동결보존에 적절한 것으로 판단되었으며, 해동 이후 정자 운동 시간은 모두 10분 이상으로 조사되었음(ELS3 : 20분, ASP II : 25분, TS-19 : 16분 40초).
- 자바리 정액을 대상으로 동해방지제의 종류 및 농도는 12% DMSO로 고정하여 6종의 적정 희석액을 확인한 결과 ELRS3와 ELS3가 가장 높은 생존율과 운동성을 보였음.
- 동결 전 정액의 생존율은 65%였으며, 동결 1일 후 ELS3는 50%, ELRS3는 60%로 다른 희석액들(20~30%)에 비해 높은 생존율을 보였음.
- 자바리 동결 정자의 특징은 ASP II, ELS3, ELRS3가 원을 그리며 빙글빙글 도는 특징을 보였고, 나머지 희석액에서는 이와 같은 현상이 관찰되지 않았음.
- 동결 1일 후 ELS3와 ELRS3의 sperm activity index (SAI)가 4.0으로 가장 높았으며, 그 밖에 MPRS, TS-19는 3.5, ASP II와 ES1-3은 2.0으로 관찰되었음.
- 붉바리 정액을 대상으로 동해방지제의 종류 및 농도는 12% DMSO로 고정하여 6종의 적정 희석액을 확인한 결과 ELS3와 ES 1-3이 높은 생존율을 보였으며, 그 중 ELS3가 운동

성이 높았음.

- 동결 전 정액의 생존율은 90%였으며, 동결 1일 후 ELS3는 90%, ES 1-3은 85%로 다른 희석액들(10~60%)에 비해 높은 생존율을 보였음. 동결 1일 후 ELS3의 sperm activity index (SAI) 3.5로 가장 높았으며, ES 1-3은 3.0으로 관찰되었음.
- ASP II와 ELRS3 희석액은 생존율이 각각 20%, 60%로 ELS3와 ES 1-3에 비해 생존율이 낮았으나, 운동성은 3.5로 ES 1-3보다 높은 특징을 보였음.

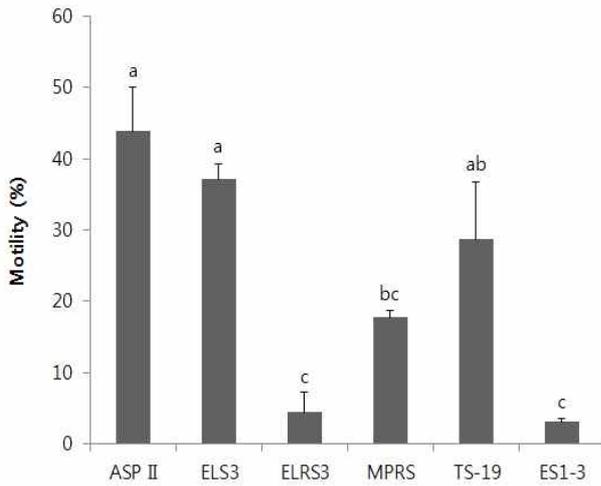


그림 2-2-45. 대왕바리 정액의 희석액별 생존율

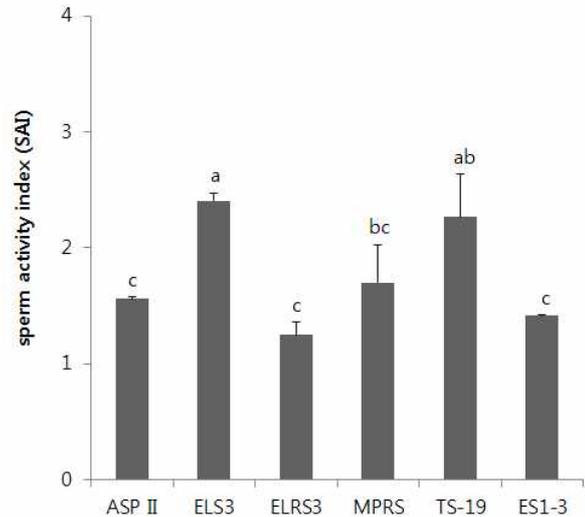


그림 2-2-46. 대왕바리 정액의 희석액별 SAI (sperm activity index)

(3) 정자 대량 동결보존

- 대왕바리 정액은 총 6회 동안 326 ml, 자바리 정액은 1회 3.6 ml, 붉바리 정액은 1회 6.0 ml, 그리고 꼬리큰점바리 정액은 1회 20 ml을 동결보존하였고, 수정에 사용하였음(표 2-2-16, 그림 2-2-47).

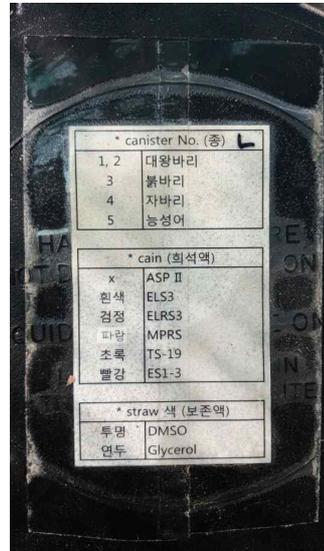


그림 2-2-47. 바리과 어류의 정액동결보존(왼쪽-질소용기, 오른쪽-질소용기의 라벨).

표 2-2-16. 바리과 어류의 정자 동결보존 현황(2017년, 2018년)

보관장소	제작 일자	대상종	희석액	동해방지제	동결보존량(ml)
한국해양과학기술원	17. 07. 14	대왕바리	ASP II	15% DMSO	6.0
			ELS3	15% DMSO	6.0
			ELRS3	15% DMSO	6.0
			MPRS	15% DMSO	6.0
			TS-19	15% DMSO	6.0
			ES1-3	15% DMSO	6.0
	17. 08. 11	자바리	ASP II	12% DMSO	0.6
			ELS3	12% DMSO	0.6
			ELRS3	12% DMSO	0.6
			MPRS	12% DMSO	0.6
			TS-19	12% DMSO	0.6
			ES1-3	12% DMSO	0.6
	17. 08. 11	붉바리	ASP II	12% DMSO	1.0
			ELS3	12% DMSO	1.0
			ELRS3	12% DMSO	1.0
			MPRS	12% DMSO	1.0
			TS-19	12% DMSO	1.0
			ES1-3	12% DMSO	1.0
순천향대학교	17. 07. 13	대왕바리	ELRS3	15% DMSO	40.0
	17. 09. 13	대왕바리	ELS3	15% DMSO	60.0
Dae He Seng (인도네시아)	17. 08. 20	꼬리큰점바리	ELS3	12% DMSO	20.0
청솔수산	17. 08. 22	대왕바리	ELS3	10% DMSO	40.0
	17. 05. 11	대왕바리	Glucose	10% DMSO	100.0
	17. 08. 22	대왕바리	Glucose	10% DMSO	50.0

나. 성숙 제어 및 난질향상

- 1단계 중 성숙 유도에 실패했던 대왕바리(국내), 우량 난 대량생산에 어려움이 있었던 자바리(국내) 그리고 베트남에서 대왕범바리 생산을 위한 갈색점바리를 대상으로 환경조절과 호르몬 종류에 따른 성 성숙 제어와 난질 향상 시도 결과를 제시하였음 .
- 대왕바리는 호르몬 처리 후 수온 자극(1°C 상승)을 시행하여 성숙촉진 및 동시화(synchronizing)를 유도했음. 자바리는 1차년도에는 저수온 기간 중 기존의 50t 수조 대신 500t 수조로 옮겨 사육관리 하면서 호르몬 처리 후 수온 자극(1~2°C)하여 산란의 동시화를 유도하였고, 2차년도에는 제다양식(제주도)과 청솔수산의 거문도 해상가두리 양식장에서 관리하면서 성숙 및 산란을 유도하였음. 호르몬은 Ovaplant™ (Syndel LTD), Ovaprim™ (Syndel LTD), HCG 외에 salmon LHRH (Sigma LTD)를 사용하였음.
- 베트남에서는 2, 3차년도에 확보한 친어자원(대왕바리와 갈색점바리)을 해상가두리에서 사육 관리하면서 배부른 개체들을 대상으로 캐놀레이션 한 후 적정 알을 가진 암컷에만 선별하여 HCG와 LHRH (또는 GnRH)를 주사하여 성숙 및 산란을 유도하였음.

(1) 대왕바리

- 경남수산자원연구소에서 사육관리 중이던 암컷을 대상으로 수행하였으며, 수컷은 1단계 중에도 가온 및 호르몬(HCG) 주사를 통해 정액 수집이 원활하여 2단계 1차, 2차년도에서는 별도의 실험을 수행하지 않고 1단계의 방법을 따름(그림 2-2-48).

(가) 수온 및 광 조절

- 저수온기인 12월~4월 중에는 수온을 20~23°C를 유지하다가 1차년도에는 5월 13일부터 그리고 2차년도에는 4월 6일부터 점차 올려 약 28°C에 도달하였고, 호르몬 주사 전까지 이 수온을 계속 유지하였음.
- 1차년도에는 가온 후 4개월 경과 후에 암컷 3마리 모두 복부가 다소 팽창한 것으로 관찰되어 수온 조절에 의한 성숙 유도 방법이 적절한 것으로 판단되었음. 그러나 2차년도에는 복부팽창 정도가 1차년도에 못 미쳐 7월 30일부터 수온을 30°C로 더 올렸음.
- 1차년도에는 3마리 암컷 중에서 9월 11일에 처음으로 한마리, 9월 18일에 한마리 그리고 9월 20일에 마지막 한마리의 복부가 확연히 팽창하였음. 2차년도에는 7월 21일에 한 마리 그리고 8월 18일에 또 다른 한 마리의 복부가 다소 팽창하기 시작하였음. 그러나 난 크기가 100~150 μm 에 머무르고 더 이상 커지지 않았음.
- 1차년도에 호르몬 처리(주사 또는 펠릿 삼입) 이후에는 수조 바닥까지 자연광이 도달하도록 차광막을 제거하였고, 동시에 수온을 1°C 올려 29°C를 계속 유지하였음.



<암컷-1, 9월 11일 복부팽만>



<암컷-2, 9월 18일 복부팽만>



<암컷-3, 9월 20일 복부팽만>



<복부팽만 수컷 개체>

그림 2-2-48. 경남수산자원연구소의 난 발달 중인 대왕바리 친어.

(나) 호르몬 처리

- 대왕바리 난 성숙·산란 유도에 사용한 호르몬은 Ovaplant™ (Syndel Ltd)와 HCG (대성 미생물)로서, 발달 중인 난 상태에 따라 종류를 달리하였음(표 2-2-17, 그림 2-2-49)
- 복부가 팽창한 것으로 관찰된 암컷을 대상으로 호르몬을 달리하여 처리(주사 또는 펠렛 삼입)하였음.
- 호르몬 처리 여부를 판단하기 위하여 도뇨관(catheter)을 삼입하여 캐눌레이션(canulation) 후 발달 중인 난 크기와 모양을 관찰
- 난의 조직학적 분석 결과, 난황형성과정(vitellogenesis)이 진행 중인 것으로 보이며(그림 2-2-50-A), 일부 난은 난황과립으로 가득한 성숙한 상태였음(그림 2-2-50-B)
- 난 크기가 200~300 μm 에 도달하였을 때 Ovaplant™를 삼입(두 마리, 암컷-1과 2) 하고 나머지 한 마리에는 HCG를 주사(한마리, 암컷-3)하였음.
- Ovaplant™ : 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도, HCG : 300 IU/kg 농도

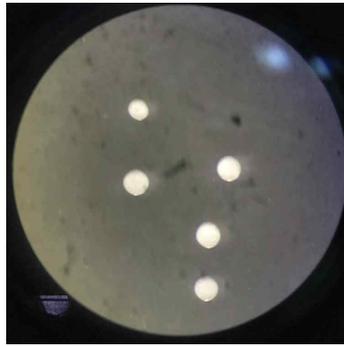
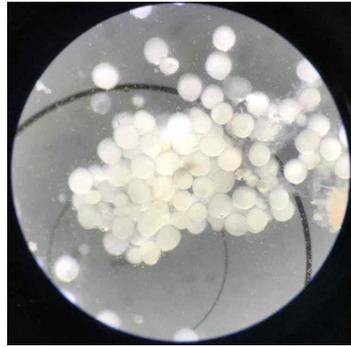
표 2-2-17. 대왕바리의 발달 중인 난 상태와 호르몬 종류에 따른 난질

	알 크기	호르몬 처리	호르몬 처리후 경과일	난질
암컷-1	· 350~400 μm : 80% · 100~300 μm : 20%	Ovaplant TM (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	7일	매우 불량 (난 크기, 난황발달)
암컷-2	· 200~300 μm	Ovaplant TM (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	6일	매우 불량 (난 크기, 난황발달)
		처리하지 않음	-	매우 양호 (순종 수정률 93.4%)
암컷-3	· 300~400 μm	HCG-2차* (250 IU/kg)	2일 (약 48시간)	불량 (순종 수정률 20.0%)

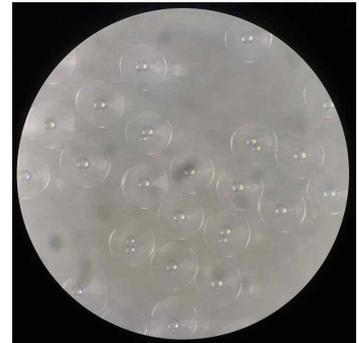
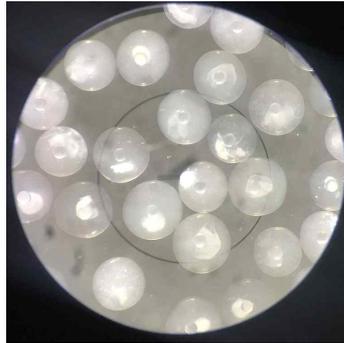
* 암컷-3은 HCG를 1차 주사한 후 4일 경과 시에 2차 주사하였음.

- 세마리 암컷 모두에게서 복부를 압박하여 채란이 가능하였지만, HCG를 주사한 한마리 암컷에서만 양질의 난을 얻을 수 있었음(표 2-2-17)
- 암컷-1은 9월 13일 OvaplantTM를 삽입한 후 7일 경과 후인 9월 20일에 1.5리터 채란하였지만, 알 크기는 700~800 μm 로 정상 난 크기보다 작았지만 모두 과숙이었음
- 암컷-2는 9월 20일 OvaplantTM를 삽입한 후 6일 경과 후인 9월 26일에 0.5리터 채란하였지만, 알 크기는 900~950 μm 로 난황이 불규칙 모양으로 발달하였으며 수정이 가능한 상태는 아니었음
- 암컷-3은 9월 26일 HCG를 주사한 후 이틀(45시간) 경과 후 채란하였고, 생식소 일부가 썩여 채란되기는 하였지만 양질의 난을 얻을 수 있었음
- 이상의 결과를 보면 난질은 호르몬의 종류·처리시기 보다는 발달 중인 난의 크기와 모양에 크게 좌우되는 것으로 판단됨.

호르몬
처리시
난상태



채란시
난상태



<암컷-1>

<암컷-2>

<암컷-3>

그림 2-2-49. 대왕바리 호르몬 처리 시 그리고 채란 시 난 상태.

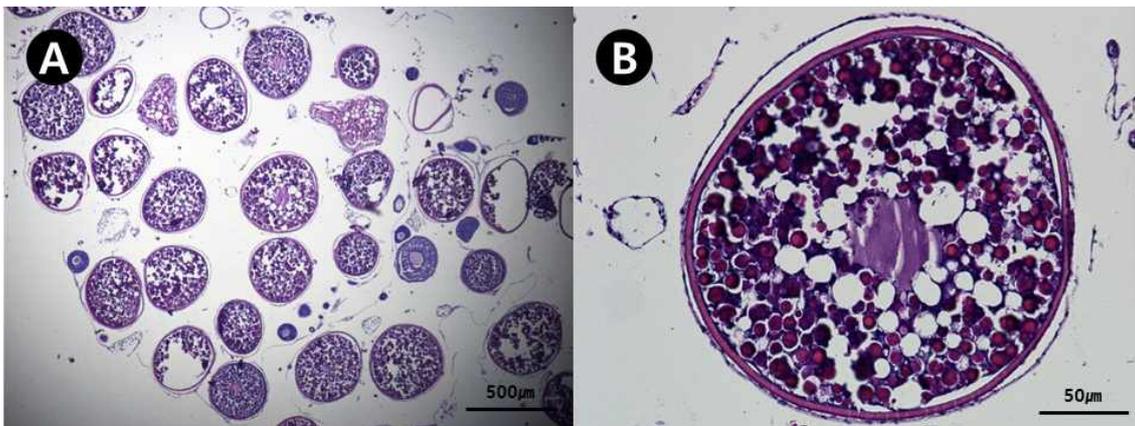


그림 2-2-50. 캐놀레이션한 대왕바리 난의 조직검경.

(2) 자바리

- 자바리는 국내에서 서식하는 어종으로 주 산란기인 6월, 7월에 자연성숙 기간 동안 채란을 위한 별도의 수온조절은 실시하지 않았으며, 양질의 난을 얻기 위하여 사육환경(수조 크기)의 변화를 시도하였으며 그 결과를 제시하였음. 친어는 경남수산자원연구소(육상수조), 제다양식(육상수조) 그리고 청솔수산(거문도 해상가두리)에서 관리하였으나, 수정란은 경남수산자원연구소와 제다양식에서 생산이 가능하였음. 따라서 청솔수산의 데이터는 이 보고서에서 제외하였음.

(가) 경남수산자원연구소

① 수조 크기, 수온 및 광 조절

- 구입 후 50톤 용량의 원형 수조에서 사육관리 시 섭식 활동이 둔하여 양질의 난을 얻기 어려웠음을 고려하여 '16년 10월 500t 용량의 대형수조에 능성어와 함께 수용하였으며, 저수온기인 12월~5월 중에는 12~17℃를 유지하다가 주 산란기에 접어든 6월 초순에 18℃에 도달하였고, 7월 초순에는 19℃에 도달하였음.
- 복부 팽만 개체가 다수 관찰된 후 7월 24일(21.5℃)에 호르몬 처리 및 채란 작업의 용이성과 자연 광량을 증가시키기 위하여 15t 용량의 수조로 옮겼으며, 호르몬 처리(주사 또는 펠릿 삽입) 후 표층수를 이용해 수온을 올려 22.0~22.5℃를 유지하였음.

② 호르몬 처리 및 채란

- 자바리 난 성숙 및 산란 유도에 사용한 호르몬은 Ovaplant™와 HCG로서, 발달 중인 난 상태에 따라 종류를 달리하였음.
- 복부가 팽창한 것으로 관찰된 암컷 26마리를 대상으로 호르몬을 처리(주사 또는 펠릿 삽입)하였음.
- 호르몬 처리 여부를 판단하기 위하여 도뇨관을 삽입하여 캐놀레이션 후 발달 중인 난 크기와 모양을 관찰
- 난 크기가 100~300 μm인 암컷(24마리)에는 Ovaplant™를 삽입하였고 450~ 550 μm인 암컷에는 HCG를 주사(두마리, 암컷-3)하였음
- Ovaplant™ : 15 μg/kg 농도, HCG : 500 IU/kg 농도
- 호르몬 처리 36시간 후부터 복부를 부드럽게 만져 채란 가능성을 조사하였고, 44시간 후 암컷 6마리(Ovaplant™ 삽입 4마리, HCG 주사 2마리) 복부를 압박하여 채란하였음(표 2-2-18) 호르몬 처리 3일과 4일 후에 추가로 10마리(모두 Ovaplant™ 삽입 개체)에서 채란이 가능하였음.

표 2-2-18. 자바리의 발달 중인 난 상태와 호르몬 종류에 따른 난질

알 크기	마리수	호르몬 종류	호르몬 처리 후 경과일	난질
100~300 μm	24마리	Ovaplant™ (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	2일 (약 45시간)	1마리-양질 (교잡수정률 $\geq 80\%$) 4마리-불량 (교잡수정률 $\leq 5\%$)
			3, 4일	9마리-불량 (교잡수정률 $\leq 5\%$)
450~550 μm	2마리	HCG (500 IU/kg)	2일 (약 45시간)	2마리-양질 (교잡수정률 $\geq 80\%$)

(나) 제다양식(1,2차년도)

① 수조 크기, 수온 및 광 조절

- 1차년도 중 180여 마리 그리고 2차년도 중 80여 마리를 80톤 용량의 사각 수조에서 계속 관리하였음(어체중 3.8~7.9 kg). 자연 해수를 사용하면서 간헐적으로 지하 해수를 보충하였음. 연중 자연 광주기를 따랐으나 양식장 내 어두운 환경을 고려하여 난이 커지기 시작하는 3월부터 자연 광주기에 맞춰 LED 등으로 투가 조명하였음.
- 먹이 : 평소 달걀노른자와 각종 영양제를 혼합한 배합사료 위주로 하여 1일 1회 공급하였음(주 7일).
- 수온 : 표층해수와 지하 해수를 사용하여 자연 수온에서 관리하였으며, 저수온기(12월~3월)에는 지하 해수 위주로 공급하였음. 갑작스러운 자연수온 상승에 따라 최고 28.0°C의 고수온이 수일 지속되면 지하 해수를 이용하여 약 24°C를 유지하였음.

② 호르몬 처리 및 채란

- 자바리 난 성숙 및 산란 유도에 사용한 호르몬은 HCG를 단독으로 사용하였음. 복부가 팽창한 것으로 관찰된 암컷 7마리를 대상으로 호르몬을 처리(주사 또는 펠릿 삽입) 하였음. 호르몬 처리 여부를 판단하기 위하여 도뇨관을 삽입하여 캐놀레이션 후 발달 중인 난 크기와 모양을 관찰하였음.
- 난 크기가 450~ 550 μm 인 암컷에 HCG (500 IU/kg)를 주사하였음. 주사한 개체들은 10t 용량으로 별도 수조로 옮겼으며, 호르몬 처리 24시간 후부터 복부를 부드럽게 만져 채란 가능성을 조사하였고, 40시간 후 암컷 3마리로부터 채란하였음. 채란하지 못한 나머지 4마리에 대해서 추가로 24시간 관찰 및 채란 시도 하였으나 복부가 팽창하지 않아 난을 얻지 못하였음.

(3) 갈색점바리-베트남

(가) 기존 방법 적용

① 수조 크기, 수온 및 광 조절

- 18년 3월 5일 60마리를 구입한 후 민간업체(Dao Ly Co Ltd)의 4m×4m×3m 크기의 해상가두리 세 조에 나누어 수용하였으며, 별도의 수온 조절 없이 자연 수온(약 24.8°C~29.7°C)에 따랐음. 해상가두리에서 관리 중이던 친어는 산란 기간 중 인공채란에 사용할 개체들은 베트남 국립양식연구소(RIA3)의 산하기관인 MRDC (Mariculture Research & Development Center)로 옮겼음.

- 먹이 : 베트남 나트랑 수산시장에서 구입한 고등어, 전갱이류와 기타 어류를 1일 1회 공급하였음.

② 호르몬 처리 및 채란

- 갈색점바리의 난 성숙 및 산란 유도에 사용한 호르몬은 성숙 중인 난 상태에 따라 HCG 단독, HCG+LHRH 또는 HCG+GnRH를 사용하였음(그림 2-2-51). 복부가 팽창한 암컷을 대상으로 도뇨관을 삽입하여 캐놀레이션 후 발달 중인 난 크기가 450~550 μm이고 모양이 완전한 구형에 가까운 개체들만 호르몬 주사를 한 후 육상시설(RIA3-MRDC)로 옮겼음. 필요시 해상가두리에서 복부가 팽창한 암컷을 선별한 후 육상으로 옮겨 캐놀레이션 후 호르몬을 주사하기도 하였음.

- 호르몬 주사 후 24시간~48시간 중 복부와 생식공을 관찰한 후 준비된 개체들만 선별하여 복부압박을 통한 채란을 실시하였음.



<HCG>

<LHRH-s>

<혼합액>

그림 2-2-51. 갈색점바리 성숙·배란 유도에 사용한 호르몬.

(나) 난질 향상을 위한 성 성숙 제어와 산란·배정 유도

- 베트남 현지의 대상품종인 대왕범바리(갈색점바리 ♀과 대왕바리 ♂의 교잡품종) 생산을 위해 3차년도에 호르몬 종류에 따른 성 성숙 제어와 난질향상을 시도하였으며, 이 결과를 바탕으로 3, 4차년도에 수정란 생산에 적용한 결과를 제시하였음.

① 난질향상을 위한 성 성숙 제어

- 세 번의 시도에서 HCG+LHRH-s 혼합 주사 개체들로부터 생산한 수정란(대왕바리 정액과 수정)의 생존율은 90.8~98.9% (평균 95.8±3.5%)로서 HCG 단독 주사 개체들(84.7~90.8%, 평균 88.0±3.1%)에 비해 유의하게 높았음($p < 0.05$, 표 2-2-19).
- 2차년도에서는 성숙·산란을 위해 HCG (500~1,400 IU/kg BW)와 LHRH-s (10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BW)를 혼합하여 두 번 주사(double injection)하였으며, 이 경우 난이 과숙하는 경우가 많았음. 그리고 20여 마리가 호르몬 주사 및 채란에 따른 스트레스 등으로 폐사하여 새로운 방법의 정립이 필요하였음.
- 채란한 알(미수정란)의 크기는 HCG 단독 주사구가 평균 769.6±16.6 μm 그리고 HCG+LHRH-s 혼합 주사구가 평균 781.1±16.0 μm 로서, 유의한 차이는 없었음($p > 0.05$).
- 수정 직후 비이커에 30분간 둔 후 가라앉은 수정란은 주로 미수정란이었으며, 호르몬 종류와 무관하게 단독 주사와 혼합 주사 간 차이는 없었음.
- HCG 단독 주사 개체들로부터 생산한 수정란의 생존율은 이 사업과 다른 바리 연구에 비해 높은 값을 보인 것으로, 생식소 내 완전한 구형에 가까운 알을 가진 개체들만 대상으로 호르몬 주사를 하였기 때문인 것으로 판단됨.
- 다른 어류(gilthead seabream)에서도 HCG+LHRH 혼합 주사가 HCG 단독 주사에 비해 수정율과 부화율 뿐 아니라 로티퍼 공급 시기의 생존율 향상에서도 효과적인 것으로 알려져 있음(Wahbi et al., 2017).
- 따라서 보관 및 사용의 용이성 그리고 저렴한 가격으로 어류에 많이 사용하고 있는 HCG는 종자생산성을 고려하여 LHRH와 혼합하여 사용하는 것이 바람직하며, 친어의 스트레스 최소화를 위해 한 번의 주사를 통해 우량 난을 생산할 수 있었음. 그리고 현재까지 채란에 사용한 친어 63마리 중 3마리만 폐사하여 이 방법의 안정성과 효용성이 검증되었음을 증명하였음.

표 2-2-19. 호르몬 종류에 따른 갈색점바리 암컷의 난질

	호르몬 처리시 알 크기 (n=20 이상)	호르몬 종류*	호르몬 처리 후 채란 시간	채란시 알 크기 (n=20 이상)	난질** (생존율)
Trial I	405 μm	HCG	20시간	747.4 \pm 38.4 μm	84.7%
	408 μm	HCG + LHRH-s	20시간	786.2 \pm 25.3 μm	98.9%
Trial II	450 μm	HCG	24시간	734.2 \pm 41.3 μm	88.4%
	414 μm	HCG + LHRH-s	24시간	798.7 \pm 21.9 μm	96.7%
Trial III	350 μm	HCG	24시간	760.5 \pm 20.6 μm	90.8%
	410 μm	HCG	26시간	767.1 \pm 35.6 μm	90.8%
Total	364 μm	HCG + LHRH-s	26시간	778.9 \pm 19.5 μm	96.7%
		HCG	20~26시간	769.6 \pm 16.6 μm^a	88.0 \pm 3.1% ^a
	HCG + LHRH-s	781.1 \pm 16.0 μm^a		95.8 \pm 3.5% ^b	

* 호르몬 농도 : HCG 500 IU/kg BW, LHRH-s 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BW

** 갈색점바리로부터 생산한 알은 대왕바리 정자와 수정시킨 수정란을 수정 직후 비이커에서 수용하였으며, 30분 경과 시점에 부상한 수정란을 대상으로 조사함(난할기)

② 산란·배정 유도

- 3차년도 7차례 그리고 4차년도 5차례에 걸쳐 채란한 알의 생존율(낭배기~발안기)은 각각 평균 42.4%와 61.2%였음. 베트남에서 수정란을 처음 생산한 2차년도의 생존율이 약 20% 인 점을 감안하면, 알의 생존율이 연차별로 점차 향상되고 있음(표 2-2-20).
- 2차년도에서는 3, 4차년도와 친어 선별 방법(복부 팽만 개체 육안 관찰 vs. 캐논레이션)을 통한 성숙란 검경)과 호르몬 종류(HCG vs. HCG+LHRH-s)가 달라 직접적인 비교에 어려움이 있었음.
- 수정란의 생존율은 현지 인력의 채란 및 수정작업의 숙련도에도 영향을 받은 것으로 생각되며, 특히 4차년도에서 생존율이 크게 향상된 것은 COVID-19로 인해 친어관리용 해상가두리 인근의 유원지에서 발생하는 오수와 소음 등이 크게 감소한 영향도 배제할 수 없음.

표 2-2-20. 산란 유도를 통한 대왕범바리 수정란의 생존율

생산일자	채란 압컷 수	생존율	생산일자	채란 압컷 수	생존율
[3차년도, 2019년]			[4차년도, 2020년]		
04/06~04/08 (1차)	6	35.4%	03/27 (1차)	8	65.0%
05/30~06/01 (2차)	5	58.0%	05/11~12 (2차)	14	83.4%
07/11~07/14 (3차)	8	43.0%	05/24~25 (3차)	6	55.0%
07/22 (4차)	3	50.0%	09/11~12 (4차)	8	60.0%
08/03~08/06 (5차)	5	27.4%	09/16 (5차)	2	42.5%
09/02~09/03 (6차)	6	43.0%			
10/07~10/08 (7차)	12	39.8%			
평균		42.4%	평균		61.2%

*생존율은 채란 알들을 모아 부화조(250리터)에 넣어 종자생산 수조 입식 직전(낭배기~발안기)에 조사하였음[생존율=수거량/사란]

- 대왕바리의 정액은 갈색점바리 채란 전 24시간 이내에 채정하였으며, 채정 24시간 전에 배정유도를 위해 HCG을 주사하였음.
- 채정 시 대부분 호르몬 주사 없이 충분한 양의 정액을 상시 얻을 수 있었으나, 채란 작업이 수일에 걸쳐 진행되는 경우 더 많은 정액을 얻기 위해 간헐적으로 사용하였음.

다. 수정란 대량생산

- 수정란 대량생산은 국내에서 1단계 중 수정란 생산에 실패했던 대왕바리, 수정률과 부화율이 낮았던 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂)를 대상으로 수행하였으며, 2차년도에는 베트남 현지에서의 대왕범바리를 추가하여 수행하였음. 그리고 베트남에서 대왕범바리를 대상으로 수행하였으며, 인공채란 및 수정 그리고 자연수정 및 수거(대왕바리에 한함)의 결과를 제시하였음.

(1) 대왕바리(순종)

- 양질의 난을 생산하였던 1차년도의 결과를 제시하였음.

(가) 인공채란 및 수정(그림 2-2-52)

- 도뇨관으로 성숙 상태를 확인한 후 자연배란을 유도하기 위해 호르몬을 처리하지 않

은 암컷을 대상으로 실시하였으며, 복부 압박을 통해 채란 후 채정한 신선한 정액으로 인공수정을 실시하였음.

- 채포 및 마취 과정에서 생식공으로 난의 일부가 흘러나와 손바닥으로 막았으며, 마취 후 복부 압박을 통해 채란하였음.
- 채란 후 같은 수조에서 사육하고 있던 수컷으로부터 채정하였음.
- 플라스틱 비이커에 받은 난을 원형플라스틱 용기(30리터)로 옮긴 후 정액을 섞고 해수를 조금씩 첨가하면서 수정하였음.
- 수정란은 20여 분 동안 원형 플라스틱 용기에 그대로 둔 후 부화망으로 옮겨 세란하고 발생시켰음. 다음날 08시(수정 후 14시간)에 수정란을 수거하여 부경수산과 경남수산자원연구소의 종자생산 수조에 입식하였음.
- 수정란 2,160 ml 중 부상란 기준으로 부경수산에는 1,600 ml (비닐+스티로폼 박스 포장) 그리고 경남수산자원연구소에는 250 ml를 입식하였음.

(나) 자연산란 및 수거(그림 2-2-53)

- 수조 내 부유 또는 부상한 난과 부화자어를 모두 2회 관찰하였지만 첫번째는 미수정란이거나 난 또는 부화자어 수가 너무 적어 수거하지 않았으며, 두번째에 부화 자어의 상태가 양호하고 양이 많았음.
- 첫 번째('17년 9월 26일 관찰)
: 9월 23일~24일 기간에 자연 산란한 것으로 추정되며, 난황 흡수가 다소 진행된 부화자어와 미수정란이 관찰되었음.
- 두 번째('17년 9월 28일 관찰)
: 9월 25일 야간에 자연 산란한 것으로 추정되며, 수조 내 다량의 부화 자어가 관찰되어 수거망을 설치(오후 5시)하여 다음 날 10시까지 수거하였음.
- 인공수정 후 입식한 수정란의 부화자어의 양과 비교하였을 때 수거한 부화자어의 양은 수정란 300 ml에 해당하는 것으로 판단하였음.

(2) 대왕자바리

(가) 인공채란

① 경남수산자원연구소

- 500톤 수조에서 월동한 후 자연 산란 시기에 15t 수조로 옮겨 수용한 친어집단 중 26마리를 대상으로 호르몬 처리하였으며, 이 중 16마리에서 채란이 가능하였음.
- Ovaplant™를 삽입했던 한 마리와 HCG를 주사했던 두 마리로부터 양질의 난을 2ℓ를 채란하였음. 나머지 암컷으로부터 생산한 난은 난질이 불량하여 교잡에 사용하지 않고 모두 폐기하였음.



<채포 후 마취>



<발달중인 난 관찰을 위한 캐놀레이션>



<호르몬 주사>



<채란>



<수정 및 부상란(부화망 수용전) 일부>



<부화망-2개 사용>



<부화 자어(50톤 수조)-첫먹이 먹는 시기>

그림 2-2-52. 대왕바리 수정란 생산.



그림 2-2-53. 수조에서 수거한 대왕바리 부화자어.

② 제다양식(그림 2-2-55)

- 자바리 친어 80마리 중 복부가 팽창하고 도뇨관으로 성숙 중인 난을 확인하고 호르몬 주사했던 7마리 중 3마리로부터 난을 생산하여 2ℓ의 난을 채란 하였음.

③ 정석수산(그림 2-2-56)

- 거문도 해상가두리에서 사육관리 중이던 자바리 친어 16마리를 대상으로 HCG (500 IU/kg)와 Ovaprim™ (0.5ml/kg, Syndel Ltd)을 주사하여 약 10ℓ 채란하였음.

(나) 인공수정

① 경남수산자원연구소

- 교잡수정을 위해 동결보존 중이던 대왕바리 정액을 사용하였으며, 해동 후 자바리 난에 뿌린 후 해수를 첨가하면서 수정시켰음(그림 2-2-54).
- 대왕바리 정액은 경남수산자원연구소에서 사육관리 중인 개체로부터 채정한 후 동결보존하였음.
- 수정란은 부화망에서 발생시킨 후 수정 6시간에 비닐+스티로폼 박스 포장 후 화물차로 순천향대학교 해양수산연구소로 운송하였음(포장 시점 부상란 기준 1.5ℓ).

② 제다양식

- 채란한 난의 교잡수정은 경남수산자원연구소의 방법과 동일하게 실시하였으나, 다만 대왕바리 정액은 동결보존 정액을 사용하지 않고 채란 1일 전 채정한 후 냉장 보관한 신선한 정액을 사용하였음(그림 2-2-54).

③ 정석수산

- 채란한 난의 교잡수정은 경남수산자원연구소의 방법과 동일하게 실시하였음.
- 수정란은 부화망에서 발생시켰으며, 비닐+스티로폼 박스 포장 후 부정수산(700 ml)과 정석수산(800 ml)으로 옮겨 종자생산 수조에 입식하였음.



<채란 대상 자바리 암컷>



<자바리 채란>



<대왕바리 동결보존 정액과 수정>



<부화망 수용>



<포장 직전 부상란>

*오른쪽 비이커 3개는 능성어 수정란



<포장>

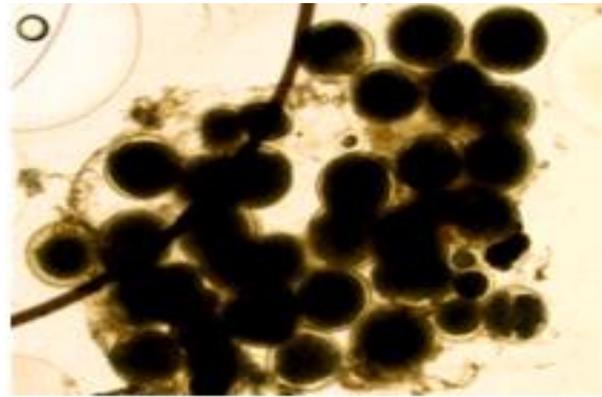
그림 2-2-54. 대왕자바리 수정란 생산-경남수산자원연구소.



<자바리 암컷 선별>



<주사 전 알 크기 관찰을 위한 캐논레이션>



<주사전 알 상태>



<호르몬 주사>



<호르몬 주사 후 36시간 후 암컷>



<채란>-난질 불량으로 수정하지 않음

그림 2-2-56. 대왕자바리 수정란 생산-청술수산.

(3) 대왕범바리와 꼬리큰점바리(베트남)

(가) 부화력

- 이 교잡종은 이미 말레이시아에서 개발한 품종이지만, 말레이시아와 수온이 다른 베트남에서 난발생 데이터를 확보하기 위하여 수행되었음.
- 크고 작은 유구가 다수 존재하는 수정란이 많았으며, 유구의 개수와는 관계없이 수정 후 30분이 경과하자 난할이 시작됨(그림 2-2-57-①, 표 2-2-21). 난할 시작 후 10분이 경과하자 4세포기 난이 관찰되었으며(그림 2-2-57-②), 이후 20분이 더 경과하자 8세

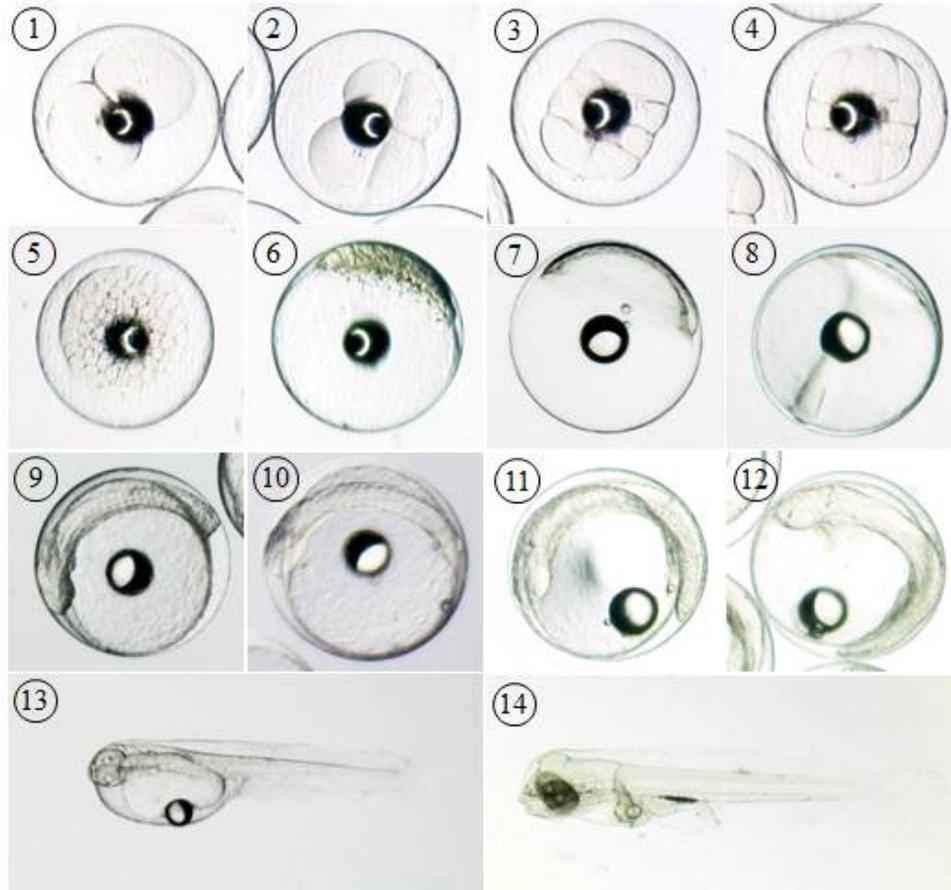
포기 난이 관찰되었음(그림 2-2-57-③). 16세포기가 관찰되기까지 약 25분이 더 소요 되었으며(그림 2-2-57-④), 난할 시 세포질이 불균등한 난이 일부 있었으나 상실기와 포배기에 가까워지면서 대부분 할구의 크기와 세포질이 균등해짐(그림 2-2-57-⑤, ⑥).

- 수정 후 약 5시간 30분 경과 시, 대부분 낭배기 초기에 접어들었으며(그림 2-2-57-⑦) 수정 후 약 9시간이 경과하자 낭배기 말기의 신경배가 관찰됨(그림 2-2-57-⑧). 배의 머리, 몸통 그리고 꼬리의 구분이 가능해지며 체절형성과 동시에 시각기관인 안포와 수정체, 청각기관인 이포, 배의 꼬리부분에 쿠퍼소낭이 나타나기 시작하였으며(그림 2-2-57-⑨), 약 3시간이 더 경과하자 각각의 기관 형태가 뚜렷해짐(그림 2-2-57-⑩). 수정 후 15시간 30분 경과 시, 쿠퍼소낭이 사라지고 뭉툭하고 둥글었던 꼬리가 신장하면서 난황과 분리되기 시작함(그림 2-2-57-⑪).
- 수정 후 약 19시간이 경과하자 부화하기 위해서 배가 꼬리치기 시작하였으며(그림 2-2-57-⑫), 수정 후 약 22시간 30분이 경과하자 부화하기 시작함(그림 2-2-57-⑬). 수정 후 약 73시간 경과 시, 대부분의 부화자어가 난황을 모두 흡수함(그림 2-2-57-⑭).

표 2-2-21. 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂) 수정란의 각 발생단계별 소요시간

발생 단계	경과 시간	발생 단계	경과 시간
2세포기	00:30	신경배 형성	08:58
4세포기	00:40	체절 형성기	09:11
8세포기	00:59	쿠퍼소낭 관찰	12:10
16세포기	01:25	꼬리분리	15:35
상실기	01:40	꼬리치기	18:55
포배기*	-	부화	22:20
낭배기	05:23	난황흡수자어	73:05

* 포배기에 실험장소 이동으로 인해 경과 시간을 확인하지 못함



① 2세포기, ② 4세포기, ③ 8세포기, ④ 16세포기, ⑤ 상실기, ⑥ 포배기, ⑦ 낭배기, ⑧ 신경배 형성, ⑨ 체절 형성기, ⑩ 쿠퍼소낭 관찰, ⑪ 꼬리분리, ⑫ 꼬리치기, ⑬ 부화자어, ⑭ 난황흡수자어

그림 2-2-57. 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂) 난 발생 및 부화자어.

(나) 수정란 대량생산

- 베트남의 대왕범바리 수정란 생산량은 3차년도에 4월~10월 7차례 14.9 리터, 4차년도에 3월~9월 5차례 모두 14.8 리터 그리고 5차년도에 3월~9월 7차례 모두 14.8리터였음(표 2-2-22).
- 2차년도('18년)에는 5차례에 모두 7.7리터 생산하였으나 정확하지 않아 표에서는 제외함.
- 생산 수정란 중 3차년도에는 13.4리터 그리고 4, 5차년도에는 전량 종자생산에 사용하였음
- 3차년도 : 육상수조(10톤, 20톤, 120톤)에 4.1리터, 못 시설(500평 규모)에 9.3리터 입식
- 4차년도 : 육상수조(10톤, 20톤)에 3.8리터, 못 시설(500평 규모)에 10.0리터 입식
- 5차년도 : 육상수조(10, 20톤)에 2.1리터, 못 시설(500평 규모)에 12.7리터 입식

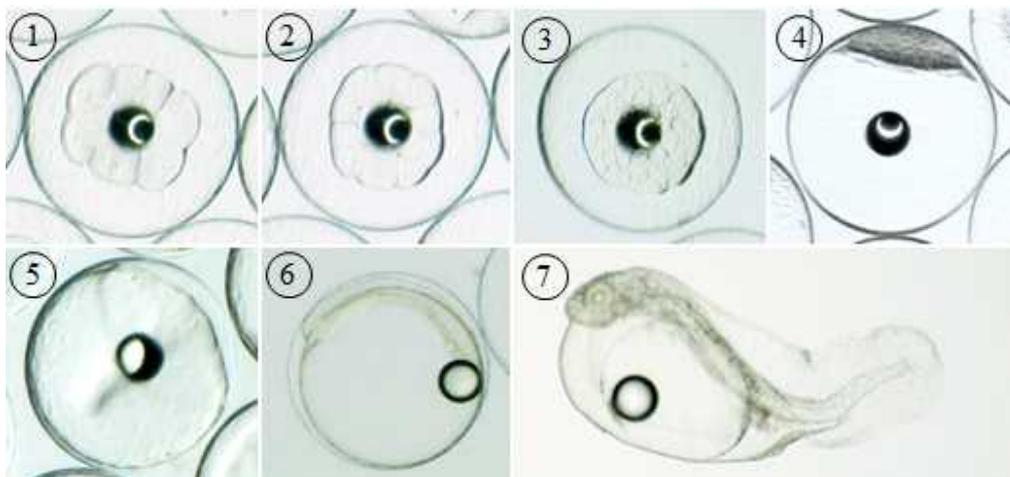
표 2-2-22. 베트남 대왕범بار리 수정란 생산 결과

생산일자	생산량	처리
[3차년도]		
04/06~04/08 (1차)	2.1리터	협력업체(못) 시설에 입식
05/30~06/01 (2차)	1.5리터	협력업체(못) 시설에 입식
07/11~07/14 (3차)	2.5리터	임대시설(육상수조)에 1.5리터 입식 협력기관에 1.0 리터 분양
07/22 (4차)	0.8리터	임대시설(육상수조)에 입식
08/03~08/06 (5차)	1.5리터	협력업체(못) 시설에 1.0리터 입식 협력기관에 0.5리터 분양
09/02~09/03 (6차)	2.7리터	협력업체(못) 시설에 입식
10/07~10/08 (7차)	3.8리터	임대시설(육상수조) 1.8리터 입식 협력업체(못) 2.0리터 입식
소계	14.9리터	
[4차년도]		
03/27 (1차)	3.0리터	임대시설(육상수조)에 1.0리터 입식 협력업체(못) 시설에 2.0리터 입식
05/11~12 (2차)	4.8리터	임대시설(육상수조)에 0.8리터 입식 협력업체(못) 시설에 4.0리터 입식
05/24~25 (3차)	2.0리터	임대시설(육상수조)에 0.5리터 입식 협력기관(못) 시설에 1.5리터 입식
09/11~12 (4차)	4.0리터	임대시설(육상수조)에 1.5리터 입식 협력기관(못) 시설에 2.5리터 입식
09/16 (5차)	1.0리터	협력업체(못) 시설에 1.0리터 입식
소계	14.8리터	
[5차년도]		
3/17~19 (1차)	2.0리터	임대시설(육상수조)에 0.5리터 입식 협력업체(못) 시설에 1.5리터 입식
4/24~26 (2차)	2.0리터	협력업체(못) 시설에 2.0리터 입식
5/14~17 (3차)	3.0리터	협력기관(못) 시설에 2.0리터 입식
6/10~12 (4차)	1.2리터	임대시설(육상수조)에 1.2리터 입식
7/09~11 (5차)	1.8리터	협력업체(못) 시설에 1.8리터 입식
8/06~09 (6차)	2.4리터	임대시설(육상수조)에 0.4리터 입식 협력기관(못) 시설에 2.0리터 입식
9/25~27 (7차)	2.4리터	협력업체(못) 시설에 2.4리터 입식
소계	14.8리터	
총계	44.5리터	

- 3~5차년도 중 대왕범바리 수정란 생산을 위한 갈색점바리 암컷은 모두 89마리였으며, 19회의 채란 시도 중 암컷 한 마리로부터 최대 채란 회수는 6회였음(그림 2-2-58).
- 6회 채란 1마리, 4회 채란 4마리, 3회 채란 20마리, 2회 채란 30마리, 1회 채란 34마리

(다) 꼬리큰점바리(무늬바리♀×대왕바리♂)의 생산 가능성 조사

- 1단계 중 붉은 체색의 고부가 교잡품종인 대왕붉바리를 생산한 바 있으나, 체색 발현 향상을 위한 연구를 수행함과 동시에 붉은 체색의 아열대 어종인 무늬바리를 이용한 교잡품종 개발연구를 수행하였음. 비록 외국의 연구에서 이 교잡품종은 생존력이 매우 낮거나 없는 것으로 보고된 바 있으나, 계통의 차이에 따른 가능성을 조사하기 위하여 수행되었음.
- 난할이 활발하게 일어나 부화 후 약 1시간이 경과하자 대부분의 수정란은 8세포기와 16세포기까지 도달함(그림 2-2-59-①과 ②). 일부 비균등 난할이 관찰되었으나 대부분은 세포질이 균등하게 난할됨.
- 수정 후 약 1시간 20분이 경과하자 상실기에 도달하였고(그림 2-2-59-③), 이후 약 2시간 뒤에는 포배기가 관찰됨(그림 2-2-59-④). 수정 후 약 7시간 50분 경과 시, 낭배기 말기에 도달하였으며 신경배가 형성되기 시작함(그림 2-2-59-⑤). 수정 후 약 11시간 25분이 경과하자 머리와 꼬리의 구분이 가능해졌으며, 체절과 쿠퍼소낭, 안포가 관찰됨(그림 2-2-59-⑥).
- 부화자어는 대부분 척추만곡과 이포와 같은 기관의 비정상적인 발달 등의 기형 현상을 보였으며(그림 2-2-59-⑦), 난막을 뚫고 나오지 못해 부화하지 못한 경우도 존재함. 따라서 무늬바리♀×대왕바리♂의 교잡품종은 새로운 교잡품종으로 개발이 어려울 것으로 조사되었음.
- 난할과 배 형성 초기단계까지 발생이 정상적으로 이루어지는 것으로 보였으나 이후 발생단계에서 거의 대부분 배의 꼬리가 제대로 형성되지 않은 것으로 보임.



① 8세포기, ② 16세포기, ③ 상실기, ④ 포배기, ⑤ 신경배 형성, ⑥ 쿠퍼소낭 출현, ⑦ 부화자어
 그림 2-2-59. 대왕무늬바리의 난 발생 및 부화자어.

라. 발생률 향상

(1) 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 수정란의 기형 조사

- 1단계 중 자바리♀×대왕바리♂ 교잡(대왕자바리)에서 낮은 수정률과 부화율의 주원인인 발생 중 기형에 관한 조사 결과를 제시하였음. 교잡수정란은 제다양식에서 사육관리 중인 자바리 친어로부터 채란한 난과 동결보존 대왕바리 정액을 교잡수정시켜 생산하였음.

(가) 정상 난 발생

- 수정 후 3시간 이내 16세포기까지 난할이 진행되며, 난할된 할구의 세포질은 균등하게 분포하였음. 수정 후 4시간 경과 시, 32세포기에 도달하였음. 정상 난은 이전 단계에서 일부 비균등한 난할이 이루어졌더라도 이후 난할이 거듭되면서 세포질이 균등하게 난할이 진행되었음(그림 2-2-60-①, ②와 ③). 수정 후 6시간 경과 시, 난은 상실기~포배기 단계에 도달하였음(그림 2-2-60-④).
- 수정 후 약 13시간 경과 시, 낭배기에 접어들어 약 7시간동안 낭배기 초기→중기→말기를 거치며 낭배기 말기에는 신경배의 모습이 보임. 발생이 진행됨에 따라 신경배는 배의 모습을 갖추게 되었음(그림 2-2-60-⑤와 ⑥). 수정 후 23시간 경과 시, 배(embryo) 형성이 시작되고 이후 약 7시간동안 발달과정에서 체절이 형성되었음(그림 2-2-60-⑦과 ⑧).
- 정상적인 배는 체폭이 일정하며 배를 둘러싼 얇은 막지느러미를 가지고 있었음.
- 두부와 꼬리의 구분이 가능하며, 두부가 가장 크고 몸통과 꼬리의 두께는 같았음.
- 꼬리신장이 이루어지기 전이기 때문에 꼬리는 가늘고 길지 않고 뭉툭하며 둥그스름하였음.
- 배가 발달함에 따라 시각기관인 안포와 수정체가 발달하고 청각기관인 이포가 발달하였음.
- 체절형성기 말기에는 배의 꼬리부분에 복부 방향으로 투명한 구형의 쿠퍼소낭이 발달하였음.
- 수정 후 44시간 경과 시, 부화하기 위해 난황으로부터 꼬리가 분리되고 꼬리치기(tail beating)가 관찰된 후 약 8시간 후 부화하였음(그림 2-2-60-⑨와 ⑩).

(나) 기형 난 발생

- 수정 후 3시간 경과 시, 정상 난과 동일하게 16세포기까지 난할이 진행되었고, 4시간 경과 시, 32세포기에 도달하였음(그림 2-2-61-①, ②와 ③).
- 정상 난과 달리 세포질이 불균등한 난할을 하였고, 난막이 매끄럽지 않게 관찰되었음
- 수정 후 6시간 경과 시, 난은 상실기~포배기 단계에 도달하였음(그림 2-2-61-④).
- 1개의 난에서 일부분은 세포질이 상대적으로 적은 상태에서, 다른 일부분은 세포질이 많은 상태에서 비대칭적인 난할이 관찰되었음.

- 수정 후 23시간 경과 시, 정상 난과 동일하게 신경배가 보이는 낭배기 말기를 지나 배 형성이 시작되었음(그림 2-2-61-⑤). 배 발달과정에서 기형 현상이 두드러지게 나타났음.
- 꼬리와 체절형성이 불완전하고(그림 2-2-61-⑥, ⑦과 ⑧), 배의 길이나 체폭이 일정하지 않았음(그림 2-2-61-⑥과 ⑧).
- 불완전한 꼬리 끝으로 다수의 쿠퍼소낭을 가지고 있었고(그림 2-2-61-⑦), 막지느러미가 퍼지지 않고 주름진 것으로 관찰되었음(그림 2-2-61-⑧).
- 부화 전 발생단계에서부터 배의 척추가 흰 개체가 관찰되었으며, 수정 후 44시간 경과 시, 정상 난과 동일하게 부화를 위해 꼬리가 난황으로부터 분리되고 꼬리치기를 시작하여 약 8시간 후 부화함(그림 2-2-61-⑨와 ⑩).

(다) 부화자어의 기형 유형

- 기형현상은 주로 부화자어의 등이나 꼬리에서 나타났음(그림 2-2-62).
- 척추기형은 L자, C자 또는 S자로 꺾였거나 휘어진 기형 유형이 관찰되었음.
- 척추가 등쪽으로 L자 형태로 꺾인 경우(그림 2-2-62-①과 ⑧), 측면으로 L자 형태로 꺾인 경우(그림 2-2-62-②), 측면으로 C자 형태로 완만하게 휘어져있는 경우(그림 2-2-62-③) 그리고 배쪽으로 꺾여 S자 형태를 보인 경우(그림 2-2-62-⑥과 ⑦)가 관찰되었음.
- 꼬리가 J자 또는 C자로 휘어진 기형 유형이 관찰되었음.
- 꼬리가 배쪽을 향해 J자 형태로 완만하게 휘어있는 경우(그림 2-2-62-④) 그리고 배쪽을 향해 C자 형태로 둥글게 말려있는 경우(그림 2-2-62-⑤)가 관찰되었음.
- 난황이 8자 모양으로 2개가 있거나 난황 개수는 정상지만 타원형 모양이 아닌 기형 유형이 관찰되었음(그림 2-2-62-⑦과 ⑩).
- 유구 주변을 다수의 소포가 둘러싸고 있는 경우가 관찰되었음(그림 2-2-62-⑨).

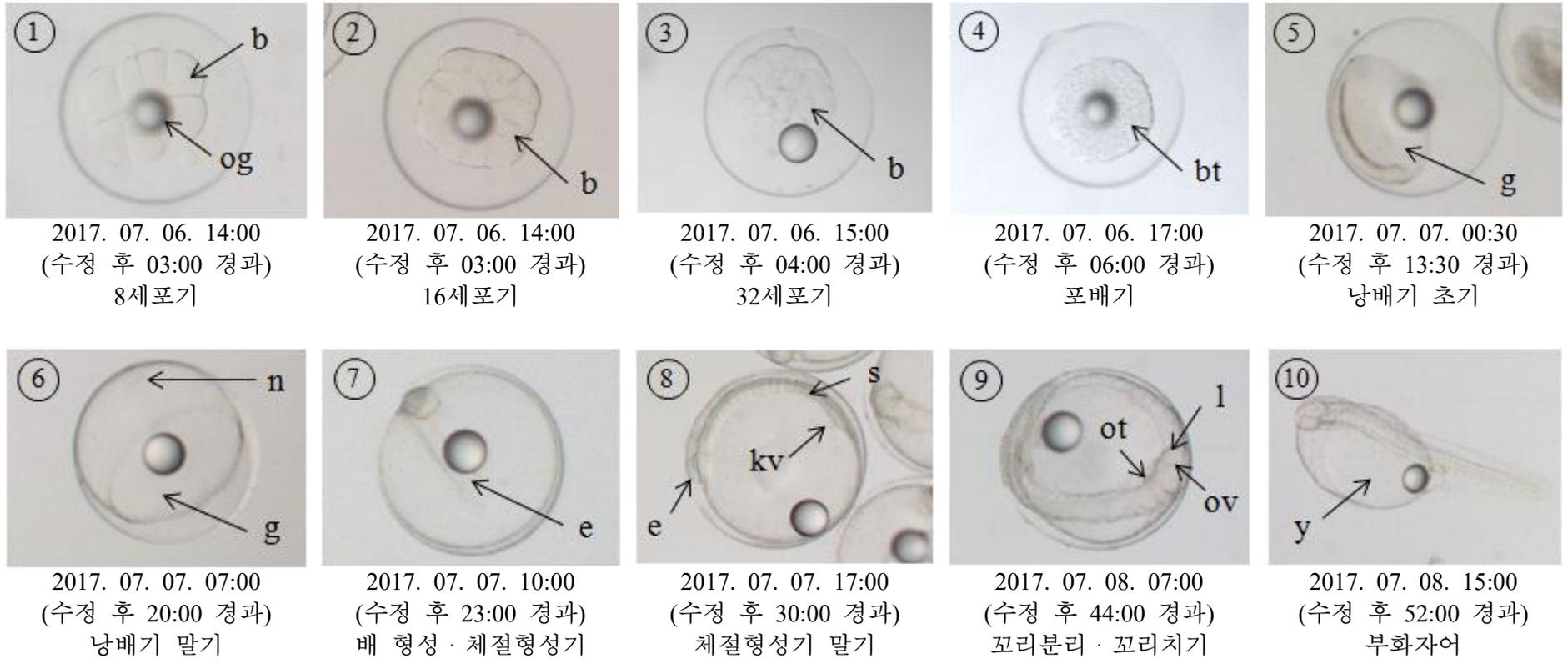
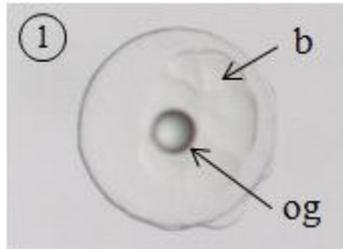
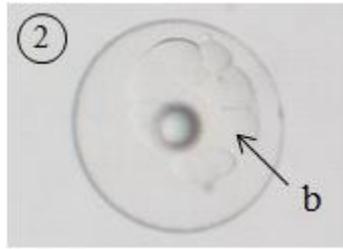


그림 2-2-60. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 정상 난 발생.

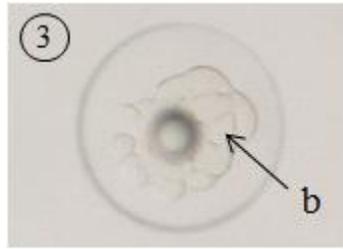
b, blastomere (난할구); bt, blastula (포배기); e, embryo (배); g, gastrula (낭배기); kv, kupffers vesicle (쿠퍼소낭); l, lens (수정체); n, neurula (신경배); og, oil globule (유구); ot, otocyst (이포); ov, optic vesicle (안포); s, somites (체절); y, yolk (난황)



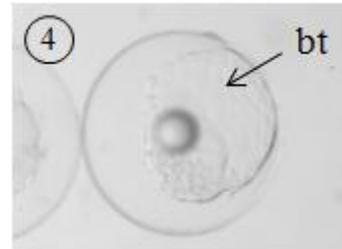
2017. 07. 06. 14:00
(수정 후 03:00 경과)
8세포기



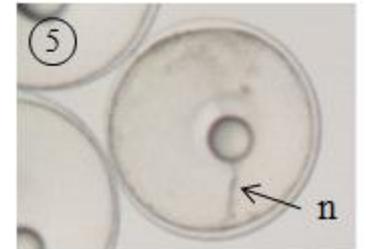
2017. 07. 06. 14:00
(수정 후 03:00 경과)
16세포기



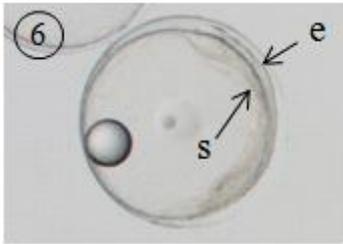
2017. 07. 06. 14:00
(수정 후 03:00 경과)
32세포기



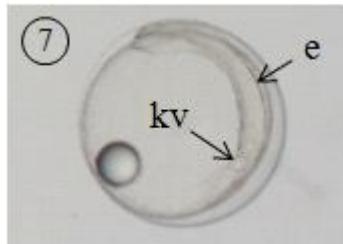
2017. 07. 06. 17:00
(수정 후 06:00 경과)
포배기



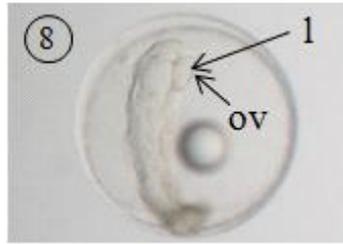
2017. 07. 07. 10:00
(수정 후 23:00 경과)
배 형성



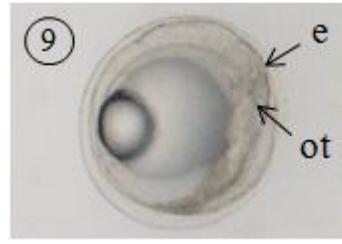
2017. 07. 07. 14:30
(수정 후 27:30 경과)
체절형성기



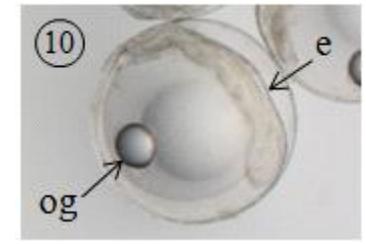
2017. 07. 07. 14:30
(수정 후 27:30 경과)
체절형성기



2017. 07. 08. 01:00
(수정 후 38:00 경과)
체절형성기



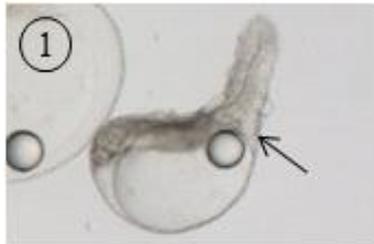
2017. 07. 08. 07:00
(수정 후 44:00 경과)
꼬리분리 · 꼬리치기



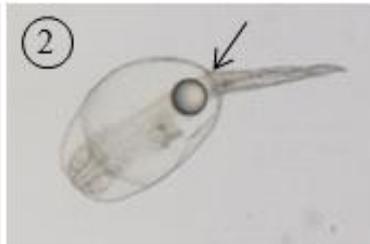
2017. 07. 08. 11:00
(수정 후 48시간 경과)
꼬리치기

그림 2-2-61. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 기형 난 발생.

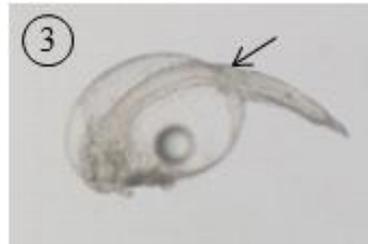
b, blastomere (난할구); bt, blastula (포배기); e, embryo (배); kv, kupffers vesicle (쿠퍼소낭); l, lens (수정체); n, neurula (신경배); og, oil globule (유구); ot, otocyst (이포); ov, optic vesicle (안포); s, somites (체절)



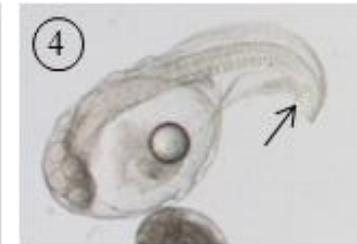
2017. 07. 08. 15:00
(수정 후 52시간 경과)
부화자어
척추 L자 기형



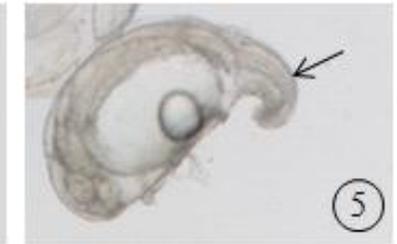
2017. 07. 08. 15:00
(수정 후 52시간 경과)
부화자어
척추 L자 기형



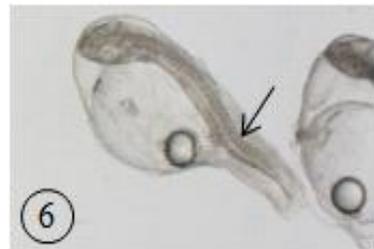
2017. 07. 08. 15:00
(수정 후 52시간 경과)
부화자어
척추 C자 기형



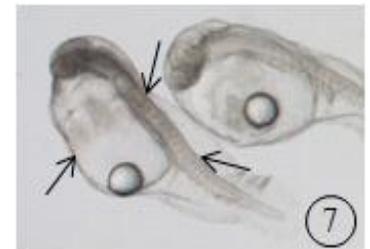
2017. 07. 08. 21:00
(수정 후 58시간 경과)
부화자어
꼬리 J자 기형



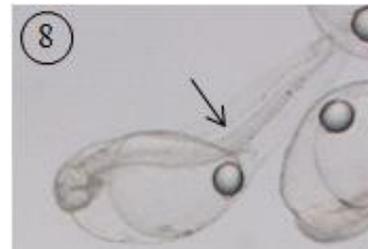
2017. 07. 08. 21:00
(수정 후 58시간 경과)
부화자어
꼬리 C자 기형



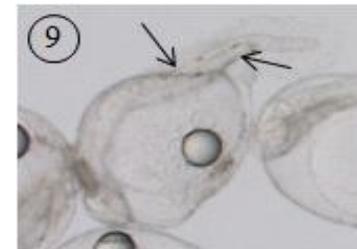
2017. 07. 08. 21:00
(수정 후 58시간 경과)
부화자어
척추 S자 기형



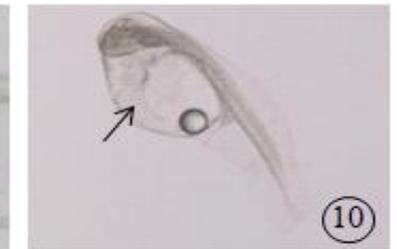
2017. 07. 08. 21:00
(수정 후 58시간 경과)
부화자어
척추 S자 및 난황 기형



2017. 07. 08. 22:00
(수정 후 71시간 경과)
부화자어
척추 L자 기형



2017. 07. 08. 22:00
(수정 후 71시간 경과)
부화자어
척추 S자 및 유구 기형



2017. 07. 08. 22:00
(수정 후 71시간 경과)
부화자어
난황 기형

그림 2-2-62. 대왕자바리(자바리♀×대왕바리♂) 기형 부화자어.

(2) 대왕바리 난을 이용한 교잡품종(대왕바리♀×자바리♂ 또는 붉바리♂)

- 1단계 중 개발한 대왕자바리 수정란 생산에 있어 교잡에 따른 우량 난 생산의 어려움(낮은 생존률, 높은 기형률)을 극복하고 문제점을 조사하기 위하여 자바리를 수컷으로 이용하여 대왕바리 암컷과 교잡을 시도하였고, 동시에 붉바리 수컷을 이용한 교잡을 시도하였음. 또한 이 두 교잡은 대왕바리 친어관리(대형어 관리+연중 고수온 유지에 따른 고비용)의 어려움 극복하고자 성장이 빠른 대왕바리 난에 자바리와 붉바리 정액을 각각 수정시켜 단기간에 다량의 친어를 확보하는 목적도 있었음.

(가) 대조구(대왕바리♀×♂, 순종)의 난 발생

① 발생률

- 부화율은 12.3%로 교잡구에 비해 약 5배(대왕바리♀×자바리♂) 또는 30배(대왕바리♀×붉바리♂) 이상 높았음.
- 사망률은 각각 낭배기에서 39.5%, 체절형성기에서 31.7%, 부화시기에는 16.7%로 낭배기에서 가장 높았고, 그 다음으로는 체절형성기에 높았음. 부화가 시작된 후에는 다른 발생 단계에 비해 사망률이 1/2 이하로 낮았음.

② 수정 후 경과시간에 따른 난 발생단계 및 특징

- 수정 후 4시간 경과 시, 대부분의 난이 포배기 후기~낭배기 초기 단계였음(그림 2-2-63-①과 ②)
- 수정 후 12시간 경과 시, 신경배가 형성되었고 배 형성과 체절형성이 시작되었음. 일부 배에서는 안포와 수정체가 관찰되었음(그림 2-2-63-③과 ④)
- 수정 후 17시간 경과 시, 체절형성이 완료되었으며 이포와 쿠퍼세포가 뚜렷하게 보였음. 이후 꼬리분리가 시작되었음(그림 2-2-63-③, ④, ⑤와 ⑥)
- 수정 후 21시간 경과 시, 부화하기 위한 꼬리치기가 시작되었고, 부화하는 난과 부화자어가 관찰되었음(그림 2-2-63-⑦과 ⑧)
- 수정 후 22시간 경과 시, 난의 50% 이상이 부화하였고, 72시간 경과하자 대부분의 부화자어들은 난황을 모두 흡수하였음(그림 2-2-63-⑨와 ⑩)

③ 난황흡수자어의 크기

- 난황흡수자어의 평균 전장은 2.57 ± 0.15 mm로 두 교잡구(대왕바리♀×자바리♂와 대왕바리♀×붉바리♂)와 차이는 없었음.

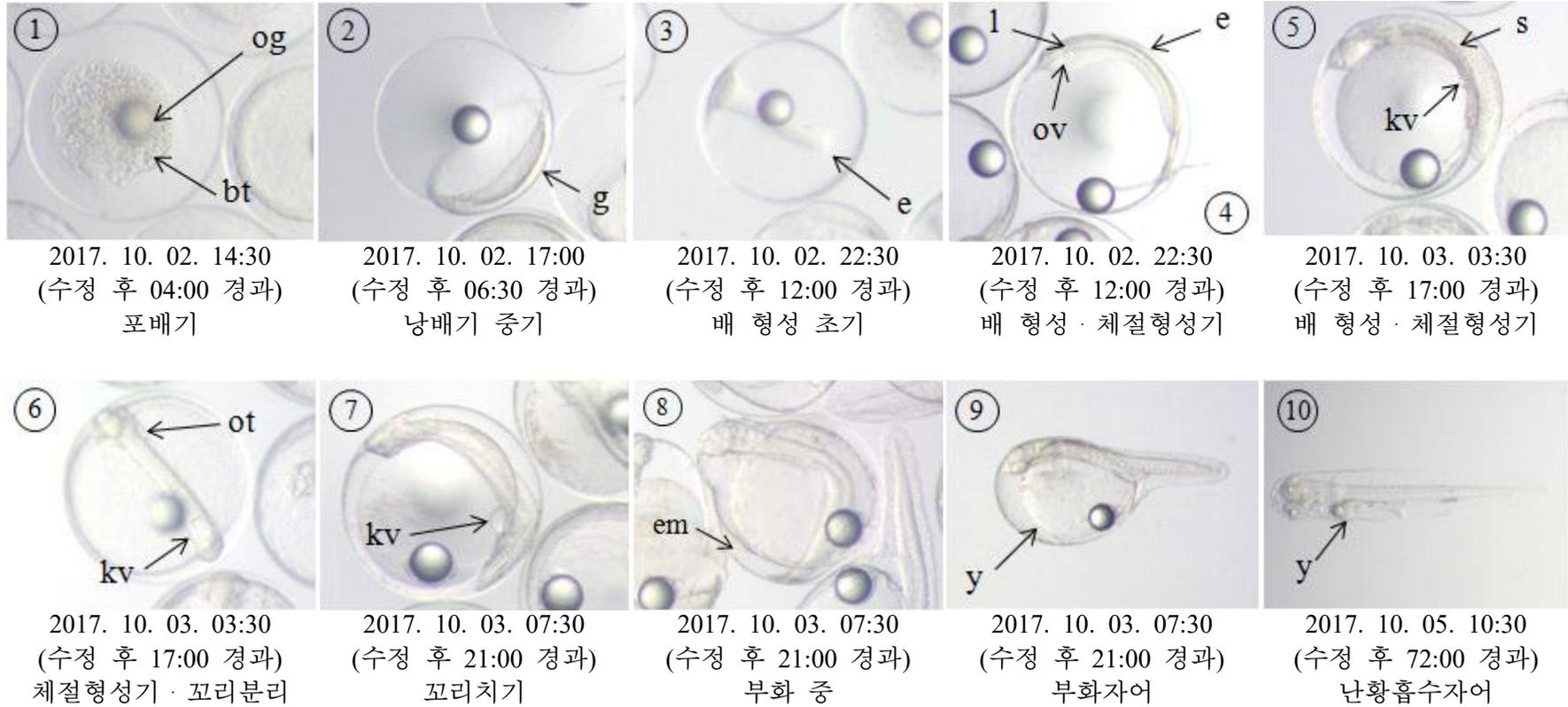


그림 2-2-63. 대왕바리 순종(대왕바리♀×♂)의 난 발생.

bt, blastula (포배기); e, embryo (배); em, egg membrane (난막); g, gastrula (낭배기); kv, kupffers vesicle (쿠퍼소낭); l, lens (수정체); og, oil globule (유구); ot, otocyst (이포); ov, optic vesicle (안포); s, somites (체절); y, yolk (난황)

(나) 대왕바리♀×자바리♂ 교잡구의 난 발생

① 발생률

- 부화율은 대조구(순종)의 21.1%에 해당하였음.
- 사망률은 각각 낭배기에서 41.1%, 체절형성기에서 47.0%, 부화시기에는 9.4%로 체절형성기에 가장 높았고, 그다음으로는 낭배기에서 높았음. 부화가 시작된 후에는 다른 시기에 비해 사망률이 1/5 이하로 낮았음.

② 수정 후 경과 시간에 따른 난 발생단계 및 특징

- 수정 후 5시간 경과 시, 대조구(순종)와 동일하게 대부분의 난이 포배기~낭배기 초기 단계였음(그림 2-2-64-①, ②와 ③).
- 수정 후 14시간 경과 시, 신경배가 형성되었음(그림 2-2-64-④). 이후 10시간동안 배 발달 및 체절형성이 완료되었음. 발생 중인 배에서는 안포, 수정체, 이포, 그리고 쿠퍼소낭이 뚜렷하게 관찰되었음(그림 2-2-64-④, ⑤와 ⑥). 교잡구(대왕바리♀×자바리♂)는 위 과정이 수정 후 14~24시간에 걸쳐 진행되었으나 대조구(순종)는 수정 후 21시간 경과 시에 이미 위 단계를 모두 마쳤음.
- 수정 후 24시간 경과 시, 부화하기 위해 꼬리분리 및 꼬리치기가 시작되었고 부화가 시작되었음(그림 2-2-64-⑦과 ⑧).
- 수정 후 약 28시간 경과 시, 난의 50% 이상이 부화하였고, 72시간 경과하자 대부분의 부화자어들은 난황을 모두 흡수하였음(그림 2-2-64-⑨와 ⑩). 대조구(순종)보다 50% 이상 부화 시까지 약 6시간 더 걸렸음.
- 대조구(순종)과 비교하였을 때, 발생과정이 약 1단계 정도 늦었음.

③ 난황흡수자어의 크기

- 난황흡수자어의 평균 전장은 2.55 ± 0.13 mm로 대조구(대왕바리 순종)와 유의한 차이는 없었음.

④ 기형 난발생

- 포배기에 할구끼리 뭉쳐있는 정상 난과 달리 할구들이 흩어져있었음(그림 2-2-65-①)
- 배의 길이가 짧고 체폭이 일정하지 않으며 꼬리와 체절형성이 불완전하였음(그림 2-2-65-②).
- 정상 난에는 쿠퍼소포가 1개 존재하지만, 기형 난에서는 2개 존재하거나 크기가 큰 것으로 관찰되었음(그림 2-2-65-③과 ④).
- 막지느러미가 퍼지지 않고 주름져있으며 정상적으로는 배쪽을 향하고 있어야 하는 쿠퍼소포가 측면을 향해있었음(그림 2-2-65-⑤와 ⑥).
- 불완전한 꼬리 끝으로 다수의 쿠퍼소낭을 가지고 있었음(그림 2-2-65-⑦).
- 척추 두 군데가 배쪽으로 꺾였음(그림 2-2-65-⑧).

- 배의 체폭이 일정하지 않으며 몸의 중앙에서부터 꼬리 끝까지 다수의 쿠포소낭이 분포하고 있음(그림 2-2-65-⑨).
- 부화자어가 유구를 2개 가지고 있음(그림 2-2-65-⑩).

(다) 대왕바리♀×붉바리♂ 교잡구의 난 발생

① 발생률

- 부화율은 0.4%로 순종과 비교하였을 때, 2.9%에 해당함.
- 사망률은 각각 낭배기에서 25.7%, 체절형성기에서 30.2%, 부화시기에는 43.7%로 부화시기에 가장 높았고, 그다음으로는 체절형성기에 높았음. 낭배기의 사망률은 대조구(순종)과 교잡구(대왕바리♀×자바리♂)와 비교하였을 때, 약 1/2 정도 낮았음.

② 수정 후 경과시간에 따른 난 발생단계 및 특징

- 수정 후 약 5시간 경과 시, 낭배기 초기 단계까지 진행되었던 대조구(순종)과 달리 대부분의 난이 포배기였음(그림 2-2-66-①과 ②).
- 수정 후 8시간 경과 시, 난 발생단계는 낭배기 초기와 중기였으며, 이 시기에 이미 대조구(순종)는 낭배기 말기와 배 발달이 시작되었음(그림 2-2-66-③과 ④).
- 수정 후 약 12시간 경과 시, 대조구(순종)과 유사하게 배의 체절이 형성되어있었으며 안포, 수정체, 이포가 관찰되었음(그림 2-2-66-⑤).
- 수정 후 23시간 경과 시, 대조구(순종)과 유사하게 난황으로부터 꼬리가 분리되고 꼬리치기를 시작하였으며 몸의 중앙부분과 꼬리 끝부분 사이에 쿠퍼소낭이 나타났음(그림 2-2-66-⑥, ⑦과 ⑧).
- 수정 후 약 28시간 경과 시, 난의 50% 이상이 부화하였고, 72시간 경과하자 대부분의 부화자어들은 난황을 모두 흡수하였음(그림 2-2-66-⑨와 ⑩). 대조구(순종)보다 50% 이상 부화 시까지 약 6시간 더 걸렸음.
- 대조구(순종)과 비교하였을 때, 발생과정이 약 1단계 정도 늦음. 발생과정에서 걸리는 시간은 비슷하나 부화하는데 시간이 많이 걸렸고 부화하지 못하고 죽는 난이 많았음.

③ 난황흡수자어의 크기

- 난황흡수자어의 평균 전장은 2.60 ± 0.09 mm로 대조구(대왕바리 ♀×♂)와 유의한 차이는 없었음.

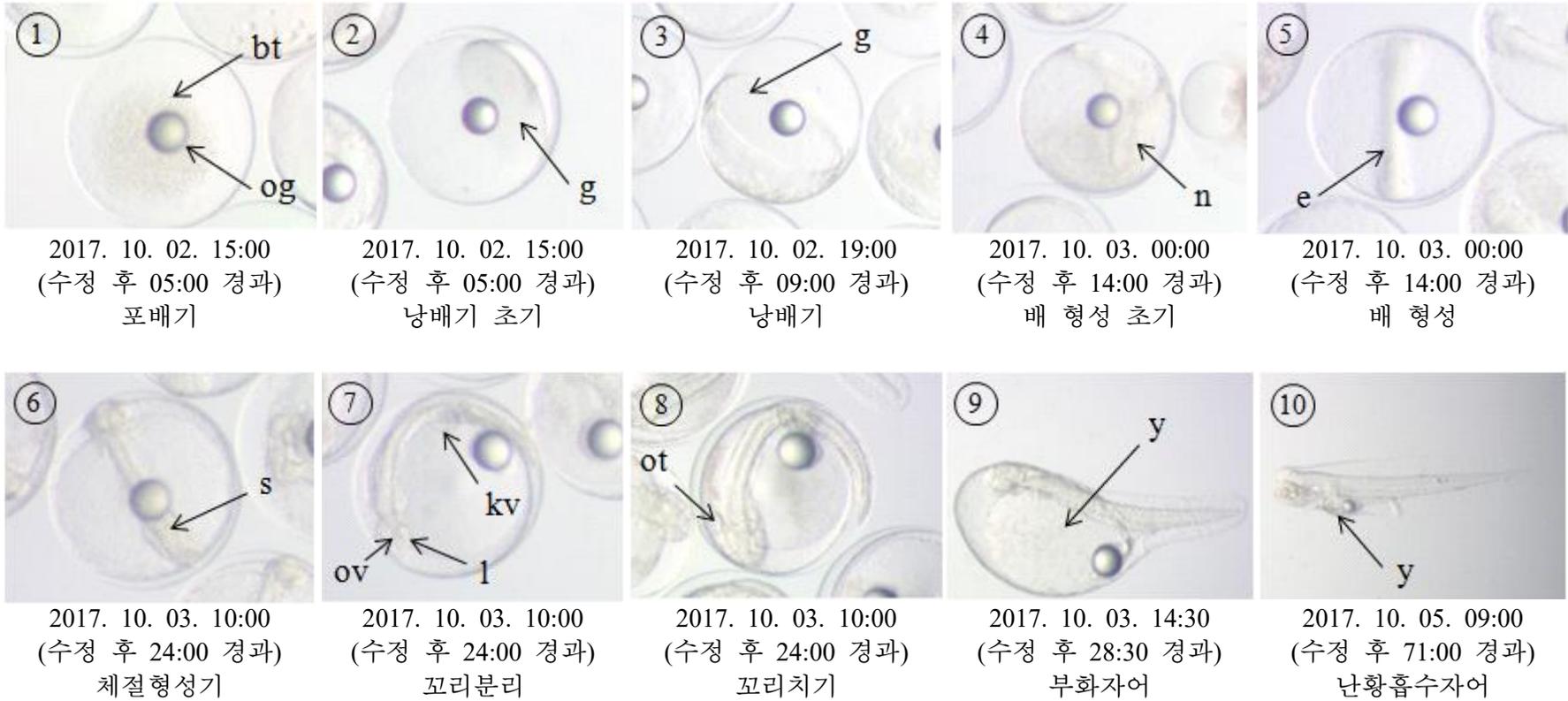


그림 2-2-64. 대왕바리♀×자바리♂ (대왕자바리의 상반 교잡구)의 난 발생.

bt, blastula (포배기); e, embryo (배); g, gastrula (낭배기); kv, kupffers vesicle (쿠피소낭); l, lens (수정체);
og, oil globule (유구); ot, otocyst (이포); ov, optic vesicle (안포); s, somites (체절); y, yol k(난황)

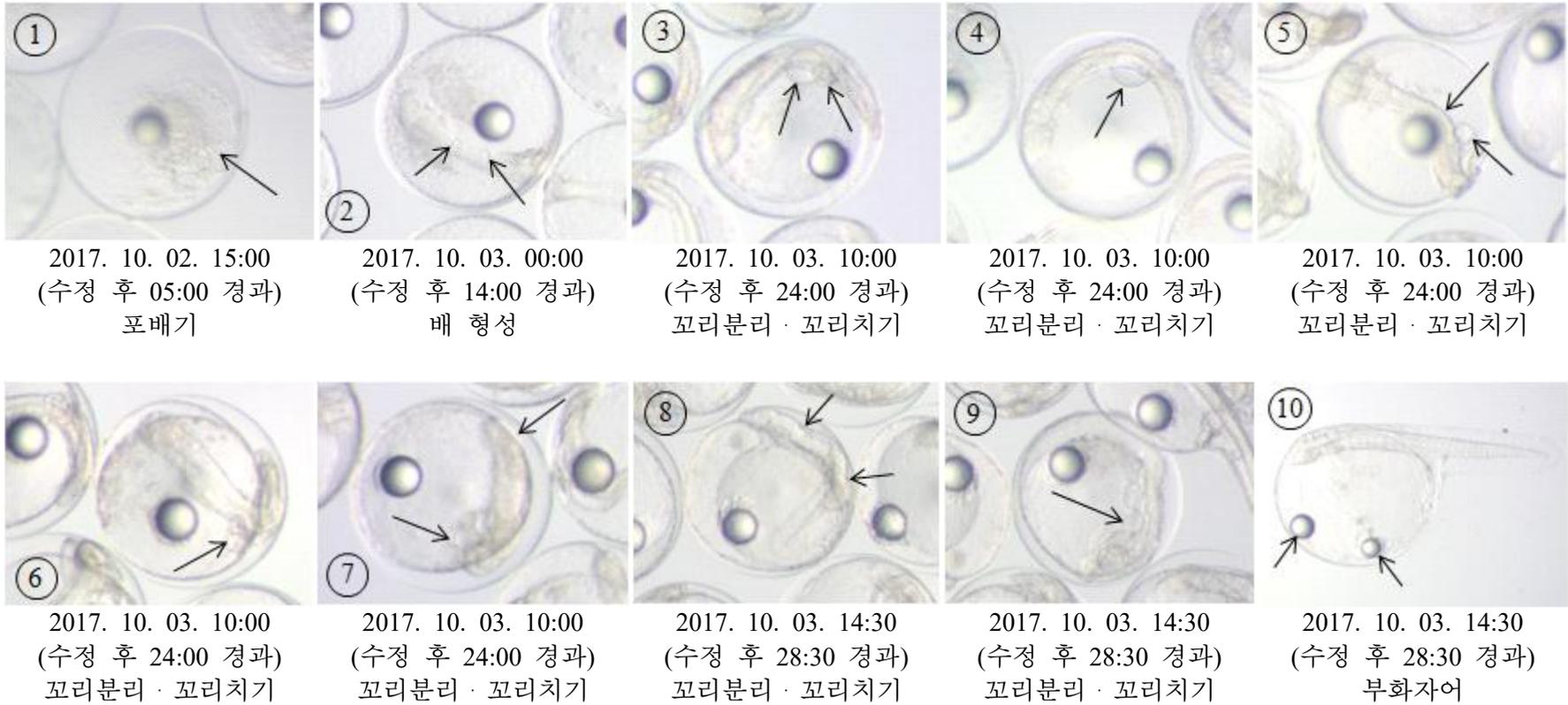


그림 2-2-65. 대왕바리♀×자바리♂ (대왕자바리의 상반 교잡구)의 기형 난 발생.

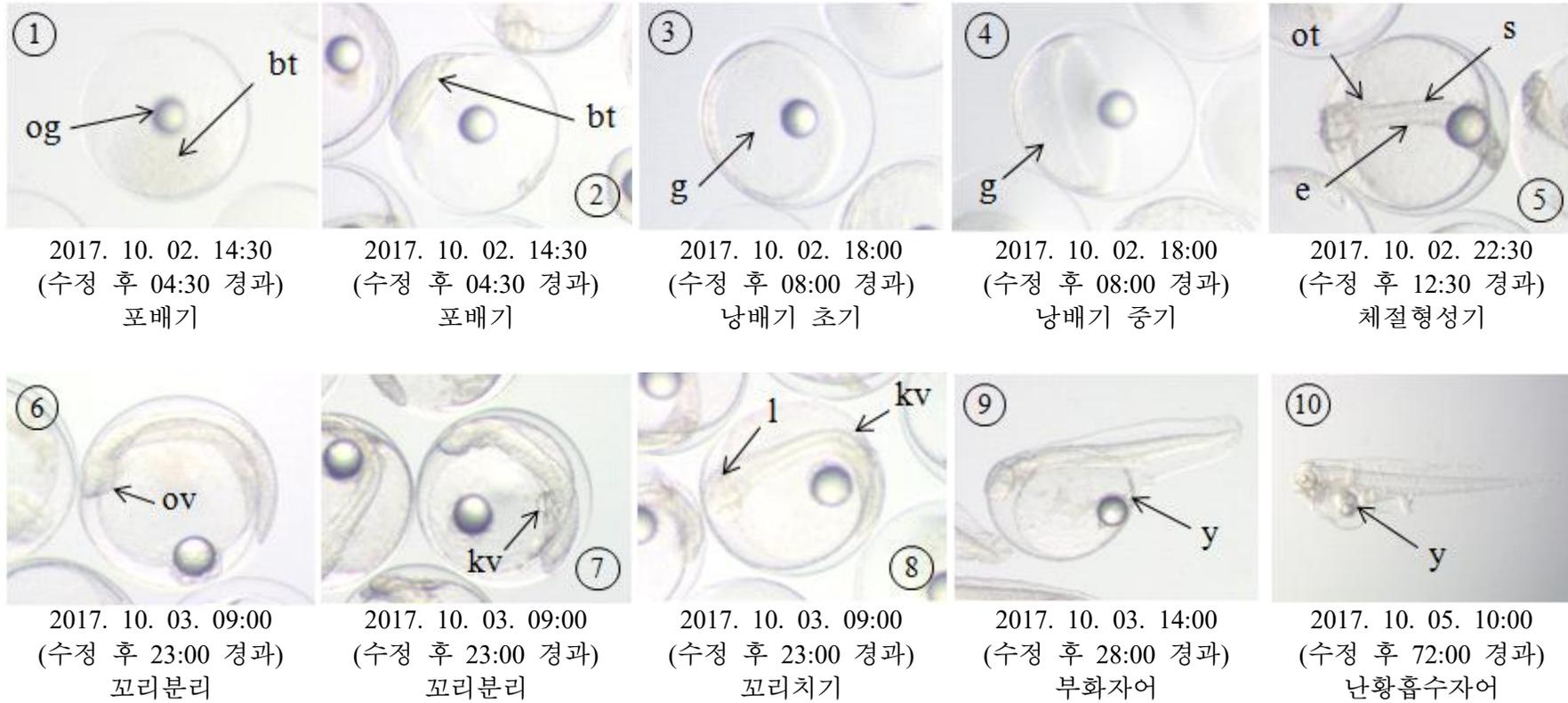


그림 2-2-66. 대왕바리♀×붉바리♂ (대왕붉바리의 상반 교잡구) 난 발생.

bt, blastula (포배기); e, embryo (배); g, gastrula (낭배기); kv, kupffers vesicle (쿠퍼소낭); l, lens (수정체);
og, oil globule (유구); ot, otocyst (이포); ov, optic vesicle (안포); s, somites (체절); y, yolk (난황)

(3) 자바리와 붉바리의 상반교잡

- 자바리를 이용한 교잡 수정란의 낮은 수정률과 부화율 그리고 높은 기형률을 극복하기 위한 조사의 일환으로 대왕바리 ♀ × 자바리 ♂ 교잡 이후 자바리와 붉바리의 상반교잡 수정란의 부화력을 조사하였으며, 이의 결과를 아래와 같이 제시함.

(가) 수정률과 부화율

- 자바리와 붉바리의 채란 알은 투명한 구형으로 분리 부성 타입이었고, 유구수는 거의 100%가 1개였음. 채란 난들의 평균 지름은 자바리가 $908.12 \pm 21.03 \mu\text{m}$ (n=110) 그리고 붉바리가 $814.41 \pm 17.46 \mu\text{m}$ (n=130)이었음.
- 평균 수정률은 두 모계 순종 간 유의한 차이가 없었지만(p>0.05, 표 2-2-23), 교잡종에서는 붉바리 ♀×자바리 ♂ (RGKG)가 $89.61 \pm 1.58\%$ 로서 자바리 ♀×붉바리 ♂ (KGRG, $74.82 \pm 4.23\%$)에 비해 유의하게 높았다(p<0.05). 수정률과는 다르게, 수정란들의 부화율은 교잡종과 모계 순종 간 유의한 차이가 없었고(p<0.05), KGRG가 $71.45 \pm 3.23\%$ 그리고 RGKG가 $75.23 \pm 2.20\%$ 로서 비슷하였음.
- 이 조사에서, 비록 수정률이 모계 순종에 비해 낮았지만, 두 상반 교잡종 수정란의 부화율은 모계 순종보다 크게 낮지 않았고 이전 연구의 다른 바리 교잡종에 비해 낮지 않았음.

(나) 난발생과 기형률

- RGKG와 KGRG의 정상 발생난의 난발생은 각각의 모계 순종과 비슷하였음(그림 2-2-67과 2-2-68). 그러나 두 교잡종의 발생 난들에서 기형(irregular cleavage, asymmetric blastoderm, curved spine and shortened tail in just hatched larvae)이 각각의 모계 순종에 비해 높은 빈도로 관찰되었음(그림 2-2-69).
- 부화자어의 기형률은 KGRG가 $17.47 \pm 1.28\%$ 그리고 RGKG가 $7.11 \pm 0.54\%$ 로서 각각의 모계 순종에 비해 유의하게 높았음(p<0.05). 그리고 RGKG의 부화자어 기형률은 KGRG에 비해 유의하게 낮았음(p<0.05).

(다) 부화시간

- 부화 시간은 교잡종과 모계 순종 간 차이는 없었고, 모계 어종에 따라 결정되었음.

(라) 결론

- 이 조사에서 기존의 자바리를 이용한 교잡에서 부화력(수정률, 부화율, 기형률)이 불량했던 것과는 달리, 자바리를 암컷 친어로 사용한 결과 뿐 아니라 수컷으로 사용한 결과에서도 대량생산이 가능한 교잡 수정란을 얻을 수 있는 것으로 나타남.
- 따라서 자바리와 대왕바리와 교잡에서 낮은 부화력을 보인 것은 교잡 대상 종의 특이

성으로 판단됨.

표 2-2-23. 자바리와 붉바리 상반교잡 수정란의 배발생 및 부화력

교배조합	자바리 ♀		붉바리 ♀	
	× 붉바리 ♂ (KGRG)	× 자바리 ♂ (KG)	× 자바리 ♂ (RGKG)	× 붉바리er ♂ (RG)
수정률(%)	74.82±4.23 ^{Bc}	93.63±3.85 ^{Aab}	89.61±1.58 ^{Bb}	96.51±0.82 ^{Aa}
부화율(%)	72.74±3.60 ^{Ab}	75.77±1.64 ^{Aab}	75.23±2.20 ^{Aab}	77.46±3.11 ^{Aa}
부화소요시간(hh:mm)	51:27±01:43 ^{Aa}	49:56±01:23 ^{Aa}	31:12±01:41 ^{Ab}	29:10±01:12 ^{Ab}
부화자어의 기형률(%)	17.47±1.28 ^{Aa}	6.80±0.87 ^{Bb}	7.11±0.54 ^{Ab}	2.71±0.14 ^{Bc}

* 평균(±표준편차) 위의 영어 알파벳 대문자는 동일한 모계 어종을 가진 두 교잡종 간 비교 결과(independent-samples t-test), 그리고 소문자는 네 교잡종 간 비교 결과(one-way ANOVA-test and Duncan's multiple range test)의 유의성을 나타냄(p<0.05).

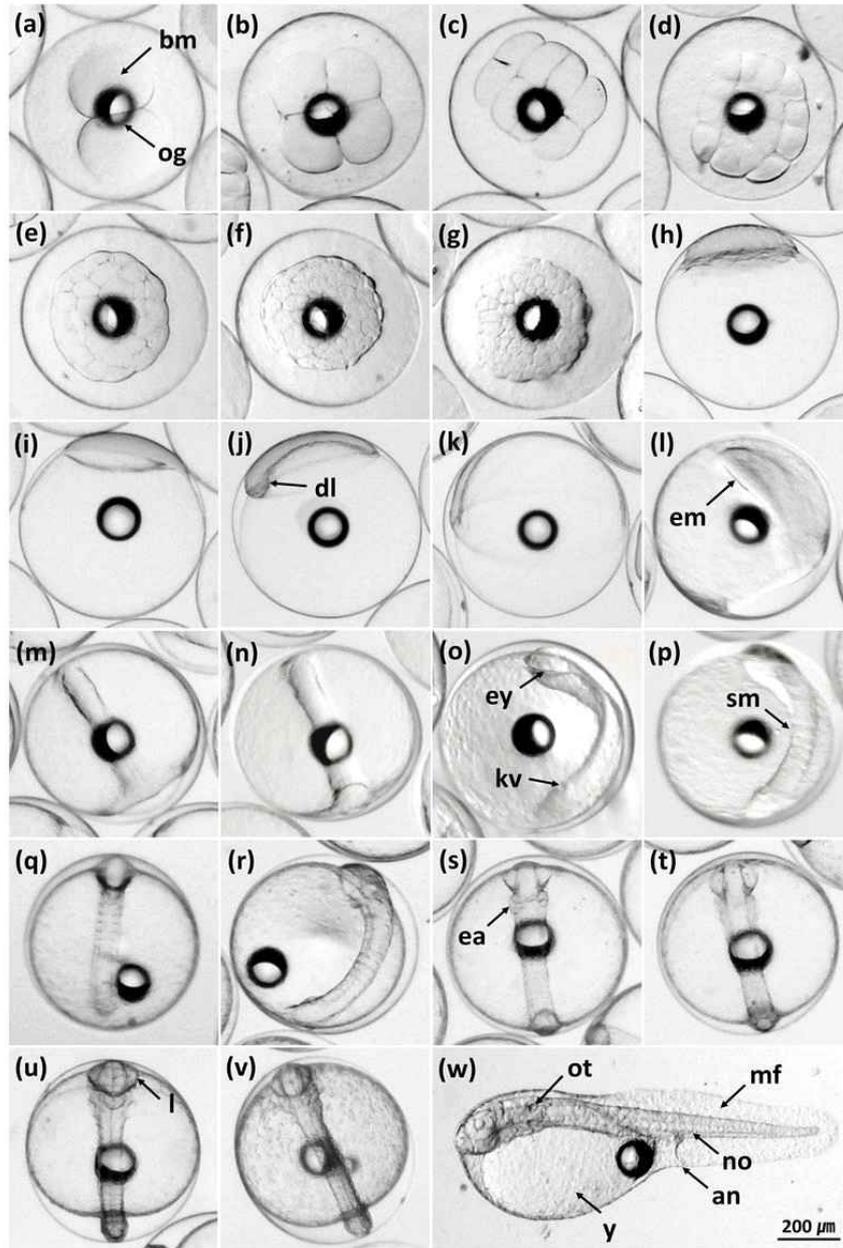


그림 2-2-67. 붉바리(*Epinephelus akaara*) ♀ × 자바리(*E. bruneus*) ♂ 교잡 수정란의 배발생.

(a) 2-cell stage; (b) 4-cell stage; (c) 8-cell stage; (d) 16-cell stage; (e) 32-cell stage; (f) 64-cell stage; (g) morula stage; (h) blastula stage; (i) early gastrula stage; (j) thickened dorsal lip of the blastoderm; (k) middle gastrula stage; (l) embryonic body formation; (m) late gastrula stage; (n) completely closed blastopore; (o) appearance of optic vesicles and Kupffer's vesicle; (p) 5 somites; (q) 6 somites; (r) 7 somites; (s) optic vesicles formation; (t) a groove in each optic vesicle; (u) tail separated from yolk sac and neural fold along the body; (v) tail beating; (w) newly hatched larva. an, anus; bm, blastomeres; em, embryonic body; ea, otic vesicle; ey, optic vesicle; dl, dorsal lip of blastopore; kv, Kupffer's vesicle; l, lens; mf, membranous fin; no, notochord; og, oil globule; ot, otolith; sm, somite; y, yolk-sac

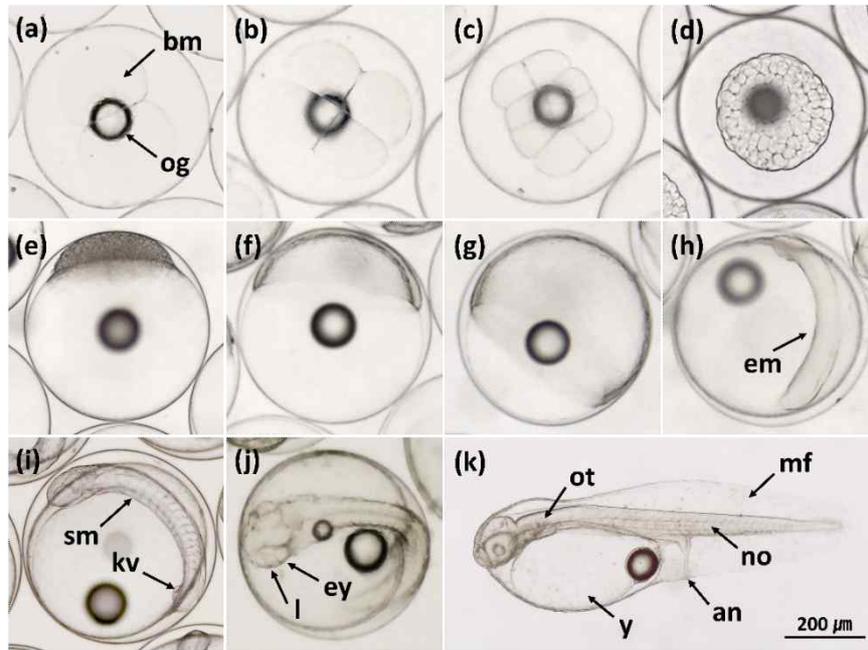


그림 2-2-68. 자바리(*Epinephelus. bruneus*) ♀ × 붉바리(*E. akaara*) ♂ 교잡 수정란의 배발생.

(a) 2-cell stage; (b) 4-cell stage; (c) 8-cell stage; (d) morula stage; (e) blastula stage; (f) early gastrula stage; (g) middle gastrula stage; (h) embryonic body formation; (i) Kupffer's vesicle appearance; (j) tail beating; (k) newly hatched larva. an, anus; bm, blastomeres; em, embryo; ey, optic vesicle; kv, Kupffer's vesicle; l, lens; mf, membranous fin; no, notochord; og, oil globule; ot, otolith; sm, somites; y, yolk-sac

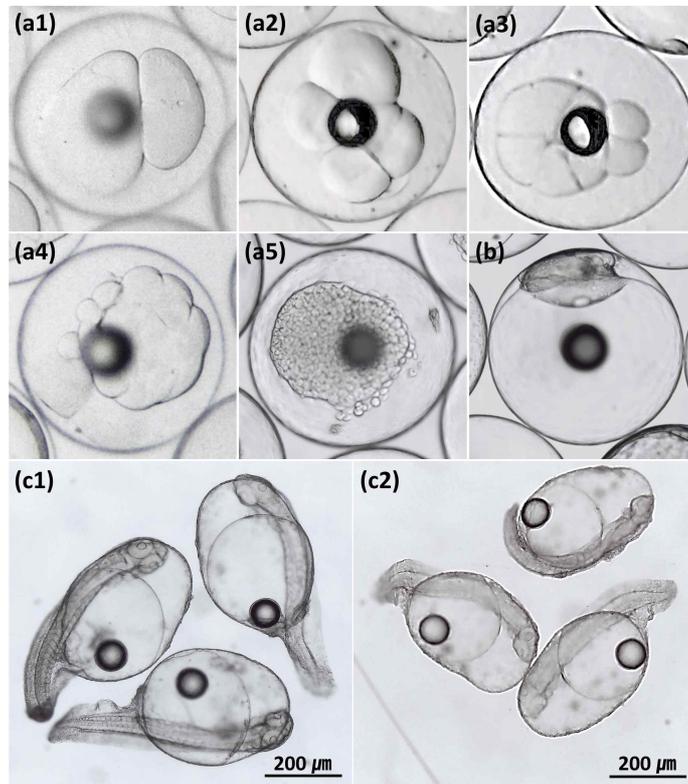


그림 2-2-69. 자바리(*Epinephelus bruneus*) ♀ × 붉바리(*E. akaara*) ♂ 수정란의 기형 배발생.
 (a) irregular cleavage in 2-cell stage (a1), 4-cell stage (a2), 8-cell stage (a3), 16-cell stage (a4) and morula stage (a5); (b) asymmetric blastoderm; (c) curved spine and shortened body in newly hatched larvae (c1 and 2)

3. 수출용 품종 다양화 기술개발

가. 적정 교잡조합 선택을 위한 부화력 조사

(1) 수정률과 부화율

(가) 붉바리 암컷을 이용한 교잡

- 붉바리 암컷은 대왕바리, 자바리 그리고 갈색점바리 수컷과 교잡하였으며, 이 결과를 제시함(표 2-2-24).
- 붉바리♀×대왕바리♂의 수정률과 부화율이 가장 뛰어났음. 온대성인 붉바리와 달리 대왕바리는 열대·아열대성이므로 부화에 적절한 수온을 찾기 위해 여러 수온에서 수정란을 배양하였음. 이 교잡의 수정률과 부화율은 25°C에서 가장 좋았으며, 붉바리 순종교배와 차이는 없었다(수정률 95.90% vs. 96.33%, 부화율 76.22% vs. 77.17%). 22°C에서 이 교잡의 부화율은 높았으나 붉바리 순종교배는 매우 낮았으며(22.07% vs. 69.39%), 28°C에서는 다른 수온에 비해 낮았으나 붉바리 순종교배에 비해서는 높았다(12.39% vs. 7.78%).
- 붉바리와 자바리는 모두 맛이 뛰어나며, 성장은 자바리가 더 빠르다. 그리고 두 바리 모두 우리나라 해역에 서식하므로, 이 교잡의 자손은 낮은 수온에서 생존력이 높을 것을 기대하고 유도하였음. 붉바리♀×자바리♂는 붉바리 순종교배에 비해 수정률은 낮았으나(89.61% vs. 96.51%), 부화율은 차이가 없었음(75.23% vs. 77.46%).
- 그 밖에 붉바리♀×갈색점바리♂의 교잡을 유도하였음. 이 교잡은 붉바리 순종교배에 비해 수정률은 낮았지만(76.70% vs. 90.90%), 어류의 일반적인 수정률에 비해 낮지 않았음. 그러나 이 교잡의 가장 높은 부화율은 25°C에서 9.80%였으나, 다른 수온(22°C, 28°C 그리고 31°C)에서 붉바리 순종교배에 비해 매우 낮았음.

(나) 자바리 암컷을 이용한 교잡

- 자바리 암컷을 대왕바리와 붉바리 수컷과 교잡하였음(표 2-2-24)
- 자바리♀×대왕바리♂은 맛과 빠른 성장을 기대하면서 유도하였으며, 이 교잡은 여섯 차례의 시도에서 수정률은 자바리 순종교배보다 조금 낮거나 비슷하였음(71.5-96.6% vs. 93.3-95.6%). 그러나 이 교잡의 부화율은 24°C에서 가장 높았지만, 자바리 순종교배보다 매우 낮았음(24°C에서 11.90%, 14.60% vs. 21~27°C에서 21.08-86.00%). 이 교잡의 부화율 향상을 위해 15~30°C 범위에서 수정란을 배양하였으나, 부화자어의 대량 확보가 가능한 수준의 부화율을 얻지 못하였음.
- 자바리♀×붉바리♂은 상반교잡(reciprocal hybrid)인 붉바리♀×자바리♂과 같은 형질(맛, 체색, 그리고 빠른 성장)을 기대하면서 유도하였음. 이 교잡의 수정률은 자바리 순종교배에 비해 높았으나(67.00% vs. 64.00%), 부화율은 다소 낮았음(19.00-20.00% vs. 21.00-34.00%).

(다) 능성어 암컷을 이용한 교잡

- 능성어 ♀×대왕바리 ♂은 능성어의 강한 생존력과 대왕바리의 빠른 성장을 기대하면서 유도하였음(표 2-2-24).
- 이 교잡의 수정률과 부화율은 능성어 순종교배에 비해 낮았으나(수정률 69.36% vs 93.82%, 부화율 58.99% vs. 79.03%), 부화 자어의 대량생산이 가능한 수준이었음.

(2) 배(embryo) 발생 중 기형

- 교잡 수정란의 기형 유형은 난 발생 중 비균등 난할(irregular cleavage)과 비대칭 배반엽(asymmetry blastoderm), 그리고 부화자어의 척추 휘어짐(curved spine) 그리고 짧은 꼬리(shortened tail)였고(Noh, 2020), 출현 빈도는 모계 순종교배보다 높았으나 교잡조합들 간 차이가 있었음.
- 붉바리♀×대왕바리♂의 부화자어 기형률은 배양 수온에 따라 약간의 차이는 있었으나, 붉바리 순종교배와 다르지 않았음(2.61-3.82% vs. 0.72-1.58%, 표 2-2-24). 그리고 붉바리♀×자바리♂의 부화자어 기형률은 7.11%로서 붉바리 순종교배(2.71%)보다 높았음. 붉바리♀×갈색점바리♂은 부화자어 기형률 조사는 이루어지지 않았지만, 붉바리 순종교배에 비해 비균등 난할이 다소 많이 관찰되었음. 위의 세 교잡은 공통적으로 붉바리 암컷을 사용하였으며, 따라서 부화 자어의 낮은 기형률은 이 어종의 종 특이성으로 간주할 수 있음.
- 능성어♀×대왕바리♂ 역시 부화자어 기형률이 능성어 순종교배보다는 높았지만(6.24% vs. 2.19%, 표 2-2-24), 정상 부화자어의 대량 확보가 가능한 수준이었음.
- 자바리를 암컷으로 사용한 교잡의 부화자어 기형률은 다른 교배 조합보다 높았음. 자바리♀×대왕바리♂의 부화자어 기형률은 수온에 따라 약간의 차이는 있었지만, 자바리 순종교배에 비해 매우 높았음(27.30-100% vs. 0-23.3%, 표 2-2-24). 이 교잡은 상업적으로 유망함에도 불구하고, 부화율이 매우 낮을 뿐 아니라 부화자어의 기형률이 매우 높았음. 여러 수온 조건에서 그리고 친어집단을 달리하여 여러 차례 교잡을 유도했지만, 부화율과 기형률을 향상시킬 수 없었음. 그리고 자바리♀×붉바리♂의 부화자어 기형률은 자바리 순종교배와 차이가 없었으며(5.30% vs. 5.60%), 정상 부화자어의 대량 확보가 가능한 수준이었음. 그런데도 이 교잡의 기형률은 상반교잡인 붉바리 ♀×자바리 ♂ 보다 높으므로 상업적 가치는 상대적으로 낮은 것으로 판단되었음.

(3) 부화 소요시간

- 붉바리 ♀×대왕바리 ♂ 수정란의 부화 소요 시간은 붉바리 순종교배에 비해 다소 느렸지만 유의한 차이는 없었음(22°C에서 32시간 33분 vs. 32시간 13분, 25°C에서 27시간 55분 vs. 26시간 57분, 28°C에서 21시간 37분 vs. 21시간 02분).
- 붉바리 ♀×자바리 ♂ (31시간 12분 vs. 29시간 01분)과 능성어 ♀×대왕바리 ♂ (31시간 47분 vs. 29시간 54분)의 부화 소요 시간은 각각 붉바리와 능성어 순종교배와 차이가 있었

음.

- 따라서 바리류의 교잡 수정란의 부화 소요 시간은 교잡에 사용한 암컷 어종에 따르며, 공통적으로 모계 순종교배에 비해 느린 경향을 보였음.

(4) 결론

- 이전 연구에서 바리류의 교잡과 모계 순종교배 수정란의 부화율 차이는 사용한 어종에 따라 달랐음. 붉바리♀×대왕바리♂은 중국에서도 유도하였으며, 부화율은 우리나라에서 유도한 교잡과 비슷하게 붉바리 순종교배에 비해 다소 낮았음(75.56% vs. 81.54%, Tian et al., 2015). Tain et al. (2015)의 연구에서 이 교잡의 부화자어 기형률은 14.35%로서 우리나라에서 유도한 같은 교잡조합의 기형률 보다 높았으며, 두 연구 간 약간의 차이는 난질 또는 부화조건에 의한 것으로 판단됨. 이 교잡은 부화자어 기형률이 어류에서 일반적으로 관찰되는 10% 이하의 범위(Klumpp and Von, 1995)에서 크게 벗어나지 않았으며, 수정률과 부화율이 다른 바리류의 순종교배와 교잡뿐 아니라 다른 분류군 어류의 순종교배보다 크게 낮지 않았음. 그리고 이 교잡의 부화력은 현재 상업적으로 가장 성공한 갈색점바리♀×대왕바리♂ (수정률 86.8%, 부화율 87.2%, Ch'ng and Senoo, 2008) 보다 높아서, 상업 생산에 유망할 것으로 판단함.
- 붉바리♀×자바리♂과 능성어♀×대왕바리♂은 외국에서는 유도되지 않아 비교할 수 없지만, 붉바리♀×대왕바리♂ 보다는 부화력이 조금 낮았지만 종자생산을 위한 부화자어의 대량 확보가 가능한 것으로 판단함.
- 중국에서 유도한 자바리♀×대왕바리♂의 수정률과 부화율은 자바리 순종교배에 비해 매우 낮았으며(14.35% vs. 93.60%, Chen et al., 2018), 우리나라의 같은 교잡조합과 비슷한 경향을 보였음. 그리고 이 교잡의 부화자어 기형률은 Chen et al. (2018)에서 85~90%로서 우리나라의 결과(52.8-100%)와 크게 다르지 않았음. 부화자어의 기형은 생산된 종자의 품질을 낮추므로 상업 생산에서 매우 중요한 요인임. 이 교잡의 상업적 중요성을 고려하여 우리나라에서 부화율과 기형률을 개선하기 위해 다양한 수온 그리고 친어집단을 달리하면서 수정란을 배양했지만, 좋은 결과를 얻지 못하였음.
- 외국의 다른 교잡의 경우, goldbloch grouper ♀×dusky grouper ♂ 역시 부화율(70% vs. 75%)과 부화자어의 기형률(22% vs. 20%)이 goldbloch grouper 순종교배와 다르지 않았음 (Glamuzina et al., 2001). 그리고 갈색등근바리♀×대왕바리♂은 갈색등근바리 순종교배와 비슷하였으나(51.33% vs. 48.00%), 부화자어의 기형률은 크게 높았음(47.0% vs. 21.33%, Kiriyaikit et al., 2011).
- 어류에 있어서 교잡 수정란의 부화 소요 시간은 부모 어종의 중간이거나 어느 한쪽과 비슷하며, 드물게는 부모 어종보다 더 느리다고 알려져 있음(Chevassus, 1983). 외국의 연구에서 바리류 교잡 수정란의 부화 소요 시간은 모계 순종교배에 비해 dusky grouper ♀ × white grouper ♂과 자바리♀×대왕바리♂에서는 각각 5시간과 1시간 더 짧았으며(Glamuzina

et al., 1999; Chen et al., 2018), 갈색등근바리♀×대왕바리♂에서는 차이가 없는 것으로 보고되었음(Kiriyakit et al., 2011). 우리나라에서 유도한 교잡 수정란의 부화 소요 시간이 공통적으로 모계 순종교배보다 느리게 조사된 것은 발생란의 사망과 관련이 있을 수 있음. 수정란은 죽더라도 일정 시간 부상력을 가지는 특성 그리고 부화 소요 시간을 수정란의 50%가 부화한 시간으로 구한 점을 고려하면, 현미경 관찰 시에 사망 직후의 발생란이 다수 포함되어 실제보다 느리게 조사되었을 가능성도 있음. 그러나 부화 소요 시간이 약 1시간 더 소요되는 것은 정상 부화자어의 생산 효율에 크게 영향을 미치는 않을 것으로 판단함.

- 우리나라에서 유도한 교잡조합은 크게 우리나라와 열대·아열대 해역 서식 어종 간 교잡 유형 그리고 우리나라 서식 어종 간 교잡유형으로 나눌 수 있으며, 각 교잡유형에서 붉바리♀×대왕바리♂과 붉바리♀×자바리♂의 부화자어 생산 효율이 가장 높았음. 자바리♀×대왕바리♂은 앞의 두 교잡에 비해 성장이 빠르고 대만과 중국에서 선호도가 높을 것으로 예상되지만, 상업 생산을 위해서는 낮은 부화력이 크게 개선되어야 함.
- 교잡 자손은 빠른 성장을 위해 고수온에서 사육이 적합하다. 비록 자연에서 선호 서식 수온이 붉바리, 자바리, 능성어와 대왕바리, 갈색점바리(평균 20.3-20.6°C vs. 27.0-28.1°C, Kashner et al., 2016) 간 차이가 크기 때문에 교잡 자손의 적정 사육 수온은 교잡에 사용한 부모 어종 중 한쪽을 따를 수 있음. 그러나 붉바리와 자바리 순종의 사육 경험과 일반적인 바리류의 적정 사육수온(26.032.4°C, De et al., 2016; Bunlipatanon and U-taynapun, 2017; Lee and Baek, 2018)을 감안할 때, 우리나라에서 유도한 이들 교잡(우리나라 서식 어종 간 교잡 포함) 자손은 해상가두리에서 저수온 기간 동안 성장이 둔화될 뿐 아니라 생존율이 낮을 것으로 예상됨. 따라서 이들 교잡자손의 상업생산은 열대아열대 해역에 적합하며, 우리나라에서는 자연해수 보다 약 7-10°C 높은 발전소 온배수(=effluent water of power plants), 연중 16°C가 유지되는 지하염수 그리고 연중 약 28°C가 유지되는 지하담수를 열원으로 이용할 수 있는 시설이 필요할 것으로 생각됨.

표 2-2-24. 바리류 교잡 수정란의 부화율

암컷 친어	수컷 친어	교잡				모계 순종			
		배양수온	수정률	부화율	기형률	수정률	부화율	기형률	
붉바리 (<i>Epinephelus akaara</i>)	대왕바리 (<i>E. lanceolatus</i>)	22°C	95.90%	22.07%	2.61	96.33%	69.39%	0.72%	
		25°C		76.22%	3.36		77.17%	1.58%	
		28°C		12.39%	3.82		7.78%	1.33%	
	자바리(<i>E. moara</i>)	23.1-23.4°C	89.61%	75.23%	7.11%	96.51%	77.46%	2.71%	
	갈색점바리 (<i>E. fuscoguttatus</i>)	22°C	76.70%	0%	-	90.9%	20.1%	-	
		25°C			9.8	-	36.3	-	
		28°C			5.5	-	32.2	-	
		31°C			2.0	-	13.5	-	
	자바리(<i>E. moara</i>)	대왕바리 (<i>E. lanceolatus</i>)	trial I						
			21°C	96.60%	5.40%	27.30%	93.30%	75.80%	0.00%
24°C					11.90%	52.80%		84.90%	9.90%
27°C					1.40%	40.00%		86.00%	6.70%
30°C					2.50%	50.00%		61.60%	23.30%
trial II									
15°C			75.10%	0.00%	-	95.60%	0.00%	-	
18°C					9.70%	99.40%	-	17.70%	9.70%
21°C					14.60%	98.00%	-	34.90%	14.60%
24°C					10.20%	100.00%	-	21.00%	10.20%
27°C			0.50%	100.00%		26.70%	0.50%		

표 2-2-24. (계속)

암컷 친어	수컷 친어	교잡				모계 순종			
		배양수온	수정률	부화율	기형률	수정률	부화율	기형률	
자바리(<i>E. moara</i>)	대왕바리 (<i>E. lanceolatus</i>)	trial III 18°C	71.50%	39.20%	60.60%	-	-	-	
		21°C		25.30%	59.80%	-	-	-	
		24°C		14.60%	77.50%	-	-	-	
		trial IV				-	-	-	
		18°C	90.60%	45.10%	98.20%				
		21°C		43.60%	55.30%	-	-	-	
		24°C		45.00%	74.10%	-	-	-	
		trial V				-	-	-	
		18°C	89.00%	66.10%	60.80%				
	21°C		86.60%	62.00%	-	-	-		
	24°C		45.10%	98.20%	-	-	-		
	trial VI				-	-	-		
	18°C	89.90%	66.60%	81.10%					
	21°C		78.70%	61.50%	-	-	-		
	24°C		82.40%	83.90%	-	-	-		
		붉바리 (<i>Epinephelus akaara</i>)	22°C	67.00%	19.00%	-	64.00%	26.00%	-
			25°C		20.00%	5.30%		34.00%	5.60%
			28°C		19.00%	-		21.00%	-
능성어 (<i>Hyporthodus septemfasciatus</i>)	대왕바리 (<i>E. lanceolatus</i>)	22.3 - 24.3°C	69.36%	58.99%	6.24%	93.82%	79.03%	2.19%	

나. 목적 형질 발현을 향상

- 1차년도에는 대왕붉바리를 대상으로 체색 형질 그리고 2차년도에는 성장 형질에 관한 연구를 수행하였음.

※ 2차년도에도 대왕붉바리의 종자를 대상으로 산업 규모에서 체색발현 연구를 수행할 예정이었지만 종자생산이 되지 않아 대왕붉바리의 종자부터 상품어까지의 성장발현 향상 연구로 대체하였음.

- 대왕붉바리는 대왕자바리에 비해 성장이 느리지만 붉은색을 선호하는 중화권과 동남아시아에서 부가가치가 높을 것을 예상하고 개발한 품종이지만, 예상과는 달리 체색발현이 저조하여 사육관리 방법을 개선하여 이를 극복하고자 이 실험을 수행하였음.
- 체색(반점-spot 포함) 발현에 크게 도움되는 카로티노이드계 색소가 다량 함유되어 있고 쉽게 구할 수 있으면서 저렴한 파프리카를 사료에 5% 첨가하여 공급하여 붉은 체색발현을 시도하였음.
- 그리고 카로티노이드계 색소가 다량 함유된 곤쟁이류를 일반사료에 추가하여 간헐적(주 1, 2회, 6개월)으로 공급하여 붉은 체색발현을 시도하였음.
- 대왕붉바리는 대왕자바리와 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂, 말레이시아 개발품종)에 비해 성장이 느린 품종으로, 붉은 체색 발현을 통해 고부가 품종으로 개발하고자 하는 품종임. 하지만 성장은 체색발현과 동시에 상업적으로 매우 중요한 형질로서 적절한 사육 수온을 통해 최대의 성장발현을 유도할 수 있음. 이를 위해 대왕붉바리의 시장성 향상을 위한 연구의 일환으로 성장실험을 수행하였음(일부 1단계 결과 포함됨).
- 3개월령의 종자를 실내 사각 수조에 소형 가두리(150cm×90cm×90cm) 16개를 설치하여 4개 수온 범위(19℃, 23℃, 27℃, 31℃)에서 8주간 성장특성(생존율, 일일 성장률, 증체율, 사료효율)을 조사하였음.
- 8주간 수온별 성장실험 종료 후부터 네 수온 실험구를 한 수조에 혼합 수용한 후 만 3세 어까지('18년 9월 종료) 우리나라 자연수온+2~3℃에서 배합사료를 공급하면서 성장실험을 계속하였음.

(1) 대왕붉바리의 체색형질 향상

- 대왕붉바리는 대왕자바리에 비해 성장이 느리지만 붉은색을 선호하는 중화권과 동남아시아에서 부가가치가 높을 것을 예상하고 개발한 품종이지만, 예상과는 달리 체색이 어두웠으며, 사육관리 방법을 개선하여 이를 극복하고자 이 실험을 수행하였음.

(가) 파프리카 첨가사료 공급

- 체색(반점-spot 포함) 발현에 크게 도움이 되는 카로티노이드계 색소가 다량 함유되어 있고 쉽게 구할 수 있으면서 저렴한 파프리카를 사료에 5% 첨가하여 공급한 결과와 수조 색상에 따른 체색 발현 효과도 함께 실험한 결과를 제시하였음.

① 수조 색상과 파프리카 첨가사료 공급 효과

- 붉은색과 흰색 수조를 설치하여 파프리카 첨가사료를 60일(2회/일) 동안 공급하였으나 사료 종류와 수조 색상에 따른 체색의 변화는 관찰되지 않았음(그림 2-2-70).



<대조사료+흰색수조>



<대조사료+붉은색수조>



<파프리카사료+붉은색수조>



<대조사료-일반사료>



<파프리카 첨가사료>

그림 2-2-70. 수조 색상과 파프리카 첨가사료 공급 효과 실험(12마리/0.5t).

- 이에 따라 1t 용량의 흰색 수조에 파프리카 사료를 공급하는 실험을 60일 동안 추가하여 실시하였음(그림 2-2-71과 2-2-72).
- 수조 내 실험어를 관찰할 때 실험구가 대조구에 비해 전반적으로 등 부분에 있는 반점(spot), 등지느러미 그리고 꼬리지느러미 끝부분이 주황색을 띠고 체색이 밝은 경향을 보였음.
- 그러나 마취 후 색도 분석 결과 유의미한 차이는 없었음.

(나) 곤쟁이 공급

- 카로티노이드계 색소가 다량 함유된 곤쟁이류를 일반사료에 추가하여 간헐적(주 1, 2회, 6개월)으로 공급한 결과를 제시하였음.
- 수조 내에서 관찰하였을 때 곤쟁이류를 공급한 실험어 중 약 1/3이 붉은색 반점이 확

연히 발현하여, 곤쟁이류를 적극적으로 공급할 때 대왕붉바리의 체색(반점) 발현을 향상시켜 상품성을 개선할 수 있을 것으로 판단하였음.

- 같은 수조에서도 2/3는 발현 정도가 두드러지지 않거나 대조구와 동일하였음
- 반점의 붉은색은 체색분석을 위해 채포·마취하는 과정에서 다소 흐려지는 경향을 보였으나 체색분석 결과 유의하게 높은 값을 보였음.
- 체색분석(red color) 결과 붉은 반점을 발현 개체는 $R=147\pm 12.6$ (24마리)으로서 대조어 ($R=89\pm 4.2$, 12마리)에 비해 유의하게 높았음.

<대조구-일반사료>



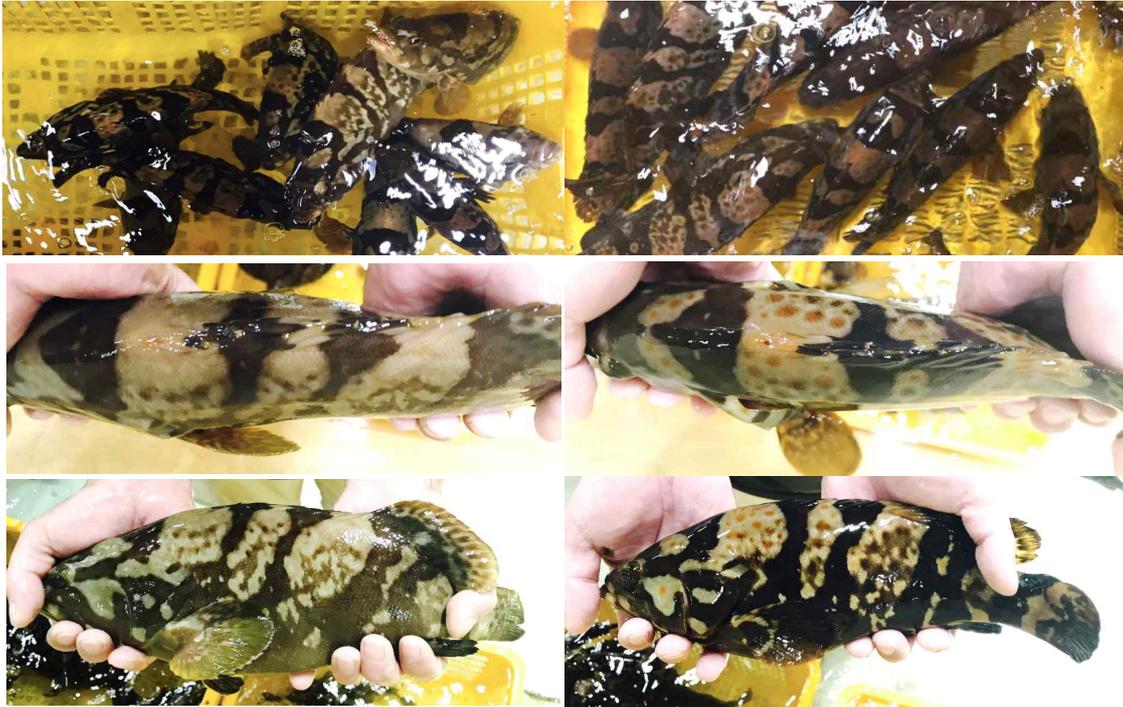
<실험구-파프리카 사료>



그림 2-2-71. 파프리카 첨가 사료 공급 효과 실험(모두 흰색수조)-마취 후 사진.

<대조어>

<붉은 반점 발현어>



<붉은 반점 발현이 가장 뛰어난 개체-수조 내>

그림 2-2-72. 곤쟁이류를 간헐적으로 공급한 실험.

(2) 대왕붉바리의 성장 형질 향상

- 대왕붉바리는 대왕자바리와 대왕범바리(갈색점바리♀×대왕바리♂, 말레이시아 개발품종)에 비해 성장이 느린 품종으로, 붉은 체색 발현을 통해 고부가 품종으로 개발하고자 하는 품종임. 하지만 성장은 체색발현과 동시에 상업적으로 매우 중요한 형질로서 적절한 사육 수온을 통해 최대의 성장발현을 유도할 수 있음. 이를 위해 대왕붉바리의 시장성 향상을 위한 연구의 목적으로 성장실험을 수행하였음(일부 1단계 결과 포함됨).

(가) 어린 시기의 수온별 성장

- 생존율은 대왕붉바리의 31℃ 수온구에서 5주부터 8주까지 기간에 공식에 의해 5마리

가 죽은 것으로 제외하고는 모두 100%였음. 실험 시작 시에 대왕붉바리의 체장과 체중은 붉바리보다 유의하게 높은 값을 보였으며($p < 0.05$, 그림 2-2-73), 이것은 같은 날 수정된 이후부터 실험 시작까지의 기간 동안 두 품종간 성장의 차이에 의한 것임.

① 같은 품종(대왕붉바리와 붉바리) 내에서 수온별 성장특성

- 대왕붉바리의 체장과 체중은 2주에 수온구 간 유의한 차이가 나타났으며, 수온이 높을수록 유의하게 높아지는 경향을 보였음($p < 0.05$, 그림 4-2-73). 붉바리에서 가장 낮았던 19°C 수온구를 제외한 나머지 세 수온구(23°C, 27°C 그리고 31°C) 간에 체장과 체중의 유의한 차이는 없었음($p > 0.05$).
- 8주째에 대왕붉바리의 일일 성장률과 증체율은 27°C (각각 $2.57 \pm 0.01\%$ /일과 $311.56 \pm 1.29\%$)와 31°C 수온구(각각 $3.15 \pm 0.01\%$ /일과 $466.54 \pm 3.09\%$)가 다른 두 수온구(19°C와 23°C) 보다 유의하게 높았음($p < 0.05$, 표 2-2-25).
- 대왕붉바리의 비만도는 27°C 수온구가 다른 세 수온구(19°C, 23°C 그리고 31°C)에 비해 유의하게 낮았음($p < 0.05$).
- 그리고 8주째에 붉바리의 일일 성장률과 증체율은 가장 낮았던 19°C를 제외한 나머지 세 수온구 간 유의한 차이는 없었고($p < 0.05$), 붉바리의 비만도는 23°C 수온구가 다른 세 수온구에 비해 유의하게 높았음($p < 0.05$).
- 사료효율은 대왕붉바리와 붉바리가 공통적으로 수온구 간 유의한 차이는 없었음($p > 0.05$).

② 같은 수온에서 두 품종(대왕붉바리와 붉바리) 간 성장특성

- 8주째에 대왕붉바리의 일일 성장률은 27°C와 31°C 수온구에서 각각 $2.57 \pm 0.01\%$ /일 및 $3.15 \pm 0.01\%$ /일로서 붉바리보다 유의하게 높았음($p < 0.05$). 그리고 WG 역시 SGR 과 동일한 경향을 보였음.
- 대왕붉바리의 사료효율(FE)은 31°C 수온구에서만 붉바리보다 유의하게 높았으며 ($p < 0.05$), 비만도는 2.73 ± 0.02 (27°C)~ 2.91 ± 0.01 (23°C) 범위 그리고 사료효율은 0.69 ± 0.06 (19°C)~ 0.84 ± 0.03 (23°C) 범위로서, 수온구 간의 유의한 차이는 없었음($p > 0.05$).

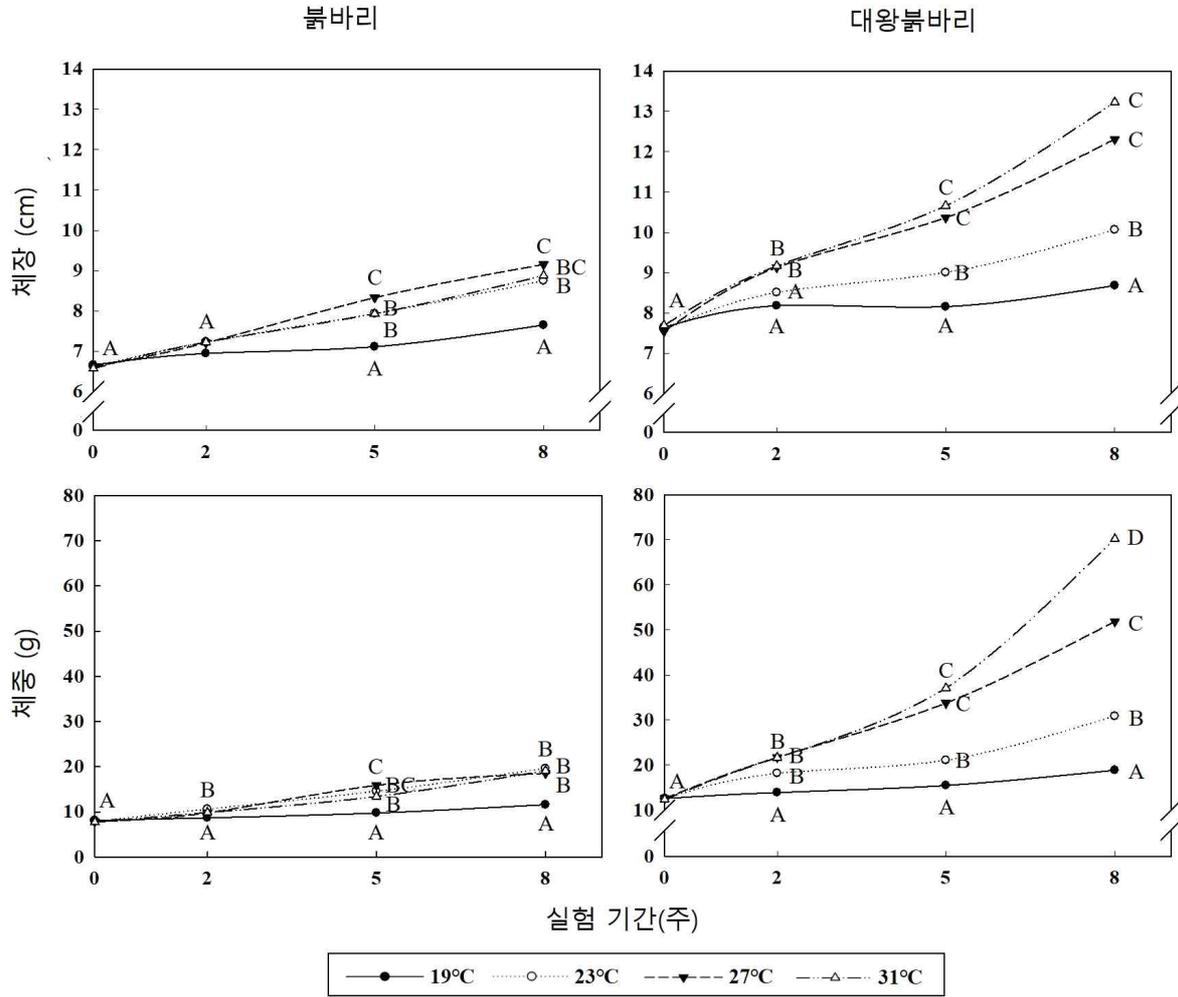


그림 2-2-73. 대왕불바리와 불바리의 8주간 수온별 성장 양상.

(나) 상품어까지의 성장

- 8주간 수온별 성장실험 종료 후부터 네 수온 실험구를 한 수조에 혼합 수용한 후 202 일('16년 11월 22일 종료) 동안 우리나라 자연수온+2~3°C에서 배합사료를 공급하면서 성장실험을 계속한 결과를 제시하였음(표 2-2-26).
- 낮은 수온(19°C와 23°C)에서 사육하였던 수온 실험구의 개체들은 보상성장 효과가 나타났으나, 실험 종료 시점에서 19°C를 제외한 세 수온 실험구의 개체들은 평균 체중 약 400g 이상으로서 상품 크기에 도달하였음.

표 2-2-25. 대왕불바리와 불바리의 8주간 수온별 성장 양상

사육수온	불바리				대왕불바리			
	19°C	23°C	27°C	31°C	19°C	23°C	27°C	31°C
시작								
체장 (cm)	6.66±0.01 ^{Aa}	6.61±0.09 ^{Aa}	6.62±0.13 ^{Aa}	6.57±0.02 ^{Aa}	7.64±0.01 ^{Ab}	7.59±0.06 ^{Ab}	7.54±0.01 ^{Ab}	7.69±0.01 ^{Ab}
체중 (g)	8.12±0.14 ^{Aa}	7.85±0.22 ^{Aa}	7.86±0.42 ^{Aa}	7.69±0.05 ^{Aa}	12.59±0.06 ^{Ab}	12.58±0.31 ^{Ab}	12.61±0.18 ^{Ab}	12.39±0.10 ^{Ab}
최종 (8주 후)								
체장 (cm)	7.65±0.15 ^{Aa}	8.75±0.06 ^{Ba}	9.15±0.08 ^{Ca}	8.87±0.01 ^{BCa}	8.68±0.10 ^{Ab}	10.06±0.16 ^{Bb}	12.31±0.10 ^{Cb}	13.23±0.00 ^{Cb}
체중 (g)	11.58±0.39 ^{Aa}	19.59±0.70 ^{Ba}	18.53±0.38 ^{Ba}	19.07±0.19 ^{Ba}	18.86±0.84 ^{Ab}	30.84±1.55 ^{Bb}	51.88±0.88 ^{Cb}	70.17±0.16 ^{Db}
비만도 (%)	2.57±0.05 ^{ABa}	2.91±0.05 ^{Ca}	2.39±0.01 ^{Aa}	2.70±0.03 ^{Ba}	2.82±0.03 ^{Bb}	2.91±0.01 ^{Ba}	2.73±0.02 ^{Ab}	2.89±0.04 ^{Bb}
일일성장률(%/일)	0.64±0.03 ^{Aa}	1.66±0.01 ^{Ba}	1.56±0.03 ^{ABa}	1.65±0.01 ^{Ba}	0.73±0.07 ^{Aa}	1.63±0.05 ^{Aa}	2.57±0.01 ^{Bb}	3.15±0.01 ^{Cb}
증체율(%)	42.54±2.37 ^{Aa}	149.41±2.01 ^{ABa}	136.04±7.69 ^{ABa}	148.00±0.77 ^{Ba}	49.15±6.64 ^{Aa}	145.03±6.41 ^{Ba}	311.56±1.29 ^{Bb}	466.54±3.09 ^{Cb}
사료효율	0.63±0.05 ^{Aa}	0.68±0.06 ^{Aa}	0.67±0.03 ^{Aa}	0.54±0.04 ^{Aa}	0.69±0.06 ^{Aa}	0.84±0.03 ^{Aa}	0.77±0.04 ^{Aa}	0.79±0.03 ^{Ab}

* 평균(±표준오차) 위의 영어 알파벳 대문자는 같은 품종 내에서 수온 간 비교 결과(one-way ANOVA-test and Duncan's multiple range test) 그리고 소문자는 같은 수온에서 두 품종간 비교 결과(independent-samples t-test)의 유의성을 나타냄(p<0.05).

표 2-2-26. 대왕불바리의 성장-8주간 수온별 실험 종료 후 동일수온에서 사육

사육수온	대왕불바리			
	19°C (n=27마리)	23°C (n=32마리)	27°C (n=37마리)	31°C (n=45마리)
	최종 (16년 11월 22일)			
체장 (cm)	22.0±3.0	28.6±3.2	28.4±3.6	29.5±3.7
체중 (g)	305.5±39.5	397.2±140.3	400.8±148.8	455.4±184.0

- 이상의 실험에서 대왕불바리 ‘대왕바리와 교잡’에 의한 성장향상 효과가 나타났고, 빠른 성장에 적합한 사육 수온은 모계어종이 아닌 부계어종인 대왕바리와 유사한 것으로 나타났음.
- 대왕불바리는 고수온인 27°C와 31°C에서 빠른 성장 양상을 보이므로 아열대와 열대 지역에서 양식에 적합하며, 상품어 크기가 400~500 g인 점을 고려하면 이 지역에서 만 1년에 충분히 상품 크기까지 성장이 가능할 것으로 판단됨.

다. 육종효율 현지 모니터링

- 1단계 중 개발한 대왕자바리('15년 8월 수정)와 대왕불바리('15년 7월 수정)를 국내외(해외 2곳, 국내 3곳)에 판매 또는 분양 후 성장을 모니터링한 결과를 제시하였음. 말레이시아는 현지업체와 협조가 이루어지지 않았고, 제다양식은 모니터링 대상 어류의 판매로 인해 2차년도에는 성장 모니터링을 시행하지 못하였음. 2차년도에는 한국해양과학기술원과 둔덕수산의 대왕자바리와 대왕불바리는 경남수산자원연구소로 옮겨 성장 모니터링을 시행하였고, 베트남 현지에서 대왕범바리의 성장 모니터링 결과를 추가로 제시함.
- 해외-말레이시아 Borneo Aqua Harvest LTD, 대만-Thetis Co, 베트남-국립양식연구소(그림 2-2-74)
- 국내-제다양식, 둔덕수산, 경남수산자원연구소, 한국해양과학기술원(그림 2-2-74)

(1) 해외

- 말레이시아와 대만에 대왕자바리와 대왕불바리를 판매하였으나, 말레이시아에서는 사육 중 고수온으로 인해 대왕불바리가 전량 폐사하였고 대만에서는 대왕자바리를 조기에 판매하여 성장 데이터를 확보하지 못하였음.

(가) 말레이시아는 연중 30°C 내외의 수온이 유지되는 곳으로 대왕자바리는 '17년 5월 기

준으로 평균 4.5 kg (최대 7 kg)에 달하였으며, 같은 시기에 국내(한국해양과학기술원)의 1.5 kg (최대 2.9 kg)에 비해 3배 무거운 것으로 조사되었음.



<대만 Thetis Co-대왕불바리>



<둔덕수산-대왕불바리>



<제다양식-대왕자바리>



<제다양식-대왕불바리>



<한국해양과학기술원-대왕불바리>



<한국해양과학기술원-대왕자바리>

그림 2-2-74. 대왕자바리와 대왕불바리 국내외 사육.

(나) 대만에서 사육한 대왕불바리는 '17년 5월에 평균 2.5 kg이었으며, 18년 3월에는 평균 3.4 kg으로 국내(한국해양과학기술원, 1.2 kg)에 비해 2.8배 무거운 것으로 조사되었음.

(다) 베트남의 대왕범바리는 평균체중 약 7 g인 종자를 육상에서 중간 양성한 후 약 40 g 일 때부터 해상가두리로 옮겨 양성하였음. 현지의 수온 여건(월평균 25°C~30°C, 그림

2-2-75)을 고려하여 빠른 성장보다는 생존율을 향상하기 위하여 배합사료 공급량을 조절하면서 천천히 성장시켰음. 체중은 7월 중 평균 약 650 g에 도달하였고, 9월에는 선별 상위 집단은 평균 약 0.9 kg 그리고 선별 하위 집단은 평균 체중 약 0.7 kg이었음(표 2-2-27).

표 2-2-27. 세 교잡품종의 국내의 사육장소 및 성장 모니터링 결과

품종	대왕자바리('15년 8월 수정)			대왕범바리(수정일 아래 참조)*	
	사육장소	말레이시아	제다양식	한국해양 과학기술원	경남수산 자원연구소
최종 계측시기	'17. 5	'17. 4	'17. 10	'18. 9	'18. 9
평균크기	4.5 kg (최대 7 kg)	1.8 kg	3.8 kg (최대 5.4 kg, 66.0 cm)	860 g (최대 1.3 kg, 39.3 cm)	0.9 kg / 0.7 kg

품종	대왕붉바리('15년 7월 수정)				
	사육장소	대만	제다양식	둔덕수산	경남수산 자원연구소
최종 계측시기	'18. 3	'17. 10	'17. 9	'17. 9	'18. 9
평균크기	3.4 kg	1.3 kg	874.0 g	541.8 g 31.6 cm	1.2 kg (최대 2.3 kg, 48.0 cm)

* 대왕범바리 수정시기-경남수산자원연구소 '16년 8월 수정, 베트남(Dao Ly) '17년 9월

※ 말레이시아-Borneo AquaHarvest Ltd, 대만-Thetis Co

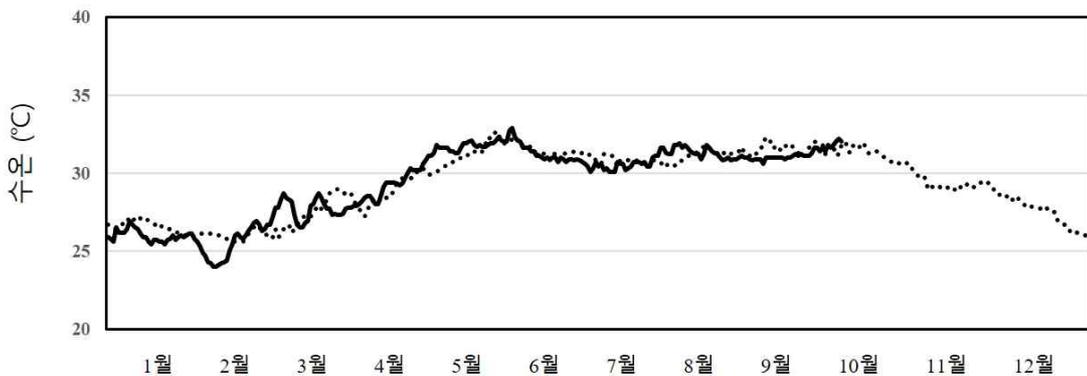


그림 2-2-75. 성장 모니터링 기간 중 베트남 나트랑 해역의 해상가두리에서 대왕범바리 사육 수온(점선-2017년, 실선-2018년).

(2) 국내

- 둔덕수산과 경남수산자원연구소의 대왕불바리 그리고 한국해양과학기술원의 대왕불바리와 대왕자바리 성장 모니터링 결과를 제시하였음.

(가) 제다양식(저주도 표선)

- 80톤 용량의 사각 콘크리트 수조에서 배합사료에 영양제를 첨가하여 사육하였으며, 대왕자바리는 '17. 4월 판매할 때 평균 1.8 kg, 대왕불바리는 10월 기준으로 1.3kg이었음. 계측 이후 제다양식의 대왕자바리와 대왕불바리는 '18년 봄까지 전량 판매되어 18년 모니터링은 시행하지 못하였음(표 2-2-27).

(나) 둔덕수산(경상남도 거제시)

- 해상가두리에 능성어, 불바리와 함께 대왕불바리를 MP사료와 배합사료를 공급하면서 사육하였고, '17년 9월 기준으로 평균 체중은 874.0 g이었음. 이후 둔덕수산의 대왕불바리는 경남수산자원연구소로 옮겨 수용하였으며, 모니터링은 더 이상 실시하지 않았음(표 2-2-27).

(다) 경남수산자원연구소(경상남도 통영시)

- 15톤 용량의 수조에서 배합사료를 주로 공급하면서 대왕불바리를 사육하였고, '17년 9월 기준으로 평균 체중은 874.0 g (전장 평균 31.6 cm)이었음. '18년에는 둔덕수산 대왕불바리와 혼합 사육하였고 마리수가 적어 모니터링을 실시하지 않았음(표 2-2-27).

(라) 한국해양과학기술원 동해연구소(경상북도 울진군)

- 10t 용량의 수조에서 연중 최소 20℃ 이상 유지하면서 배합사료를 공급하였고, 평균 체중은 '18년 9월 기준으로 대왕자바리 3.8 kg (최대 5.4 kg) 그리고 대왕불바리 1.2 kg (최대 2.3kg)이었음(표 2-2-27; 그림 2-2-76).
- 수온별 성장실험이 종료된 후 혼합사육을 시작한 시기(7개월령)의 대왕자바리와 대왕불바리의 평균 체중은 각각 0.11 ± 0.04 kg과 0.04 ± 0.02 kg이었으며, 대왕자바리는 15개월령(1.01 ± 0.24 kg) 그리고 대왕불바리는 21개월령(0.50 ± 0.17 kg)에 각 교잡품종의 상 품어 크기에 도달하였음.
- 26개월령에 대왕자바리는 2.67 ± 0.65 kg 그리고 대왕불바리는 1.12 ± 0.26 kg으로 사육 기간이 길어질수록 두 교잡품종간 성장의 차이는 크게 나타났음. 최종 계측한 37개월령('18년 9월)에 대왕자바리는 3.77 ± 0.61 kg 그리고 대왕불바리는 1.22 ± 0.30 kg이었으며, 이 두 교잡품종은 친어로 활용하기 위하여 지속해서 사육 예정임.

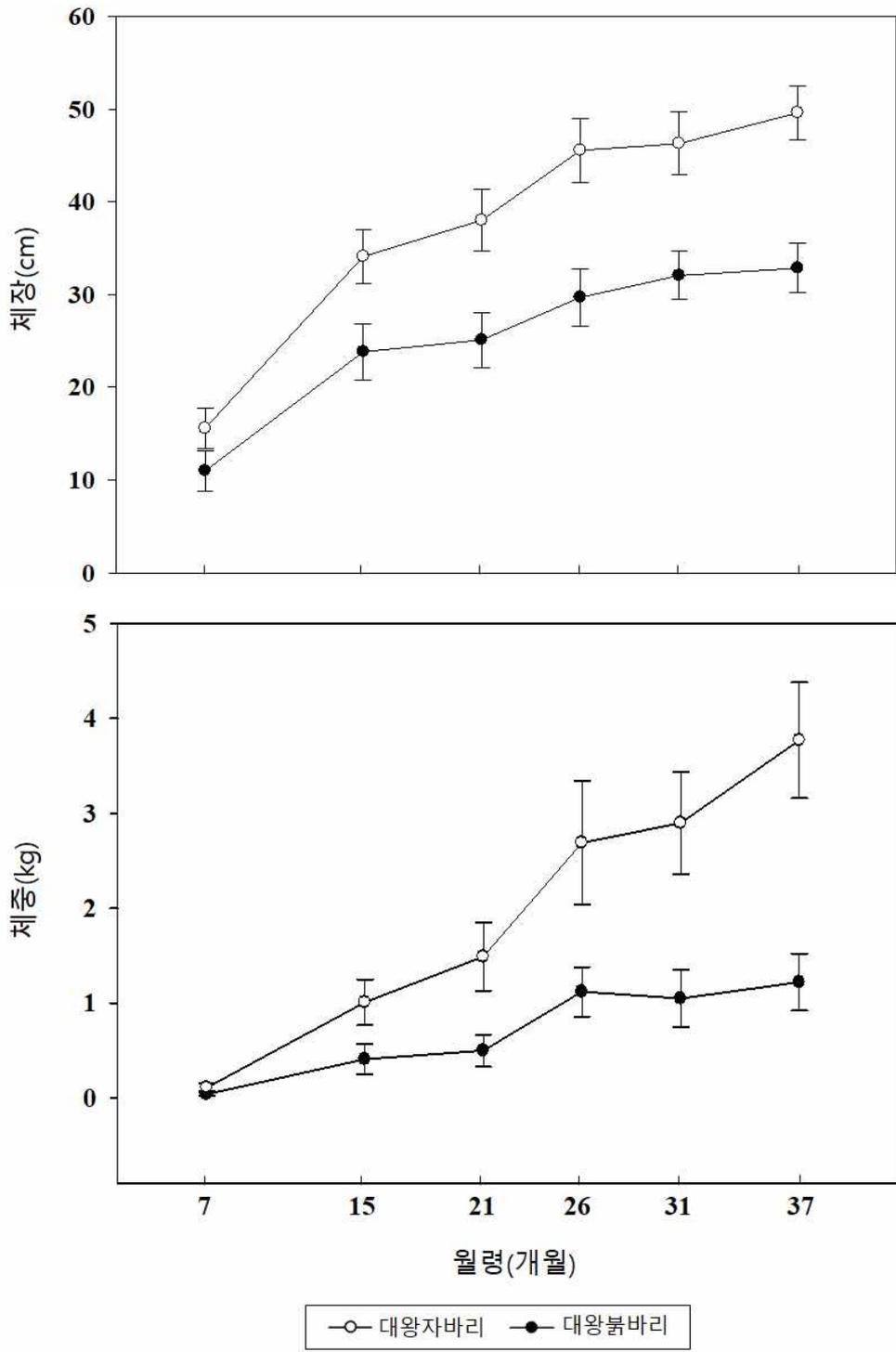


그림 2-2-76. 대왕자바리와 대왕붉바리의 체장 및 체중 변화.

4. 베트남 생산기지 구축

- 현지 민간업체의 생산시설, 전기 등의 인프라가 열악한 상황을 감안할 때, 국내 자본 투입 등으로 선진화된 생산시설의 독자보유가 필요하지만, 초기 투자 비용의 과다와 재산권 확보의 어려움 등 위험부담을 줄이고자 2차년도('17년)부터 임대하여 사용하였던 현지의 국립기관 시설을 계약 연장하여 사업을 수행하였음. 당초 육상수조와 해상가두리 시설 외에 못 시설 임대를 추진하였으나, 시설보수(전기시설 등)에 따른 추가 비용 발생, 주 사업 활동지(나트랑시)로부터의 접근성 등의 문제로 적당한 시설을 임대하지 못하였음. 이를 보완하고자 현지 위탁업체(빈안아쿠아컬처)의 협력업체가 보유한 못 시설을 이용하였음.

가. 시설 임대기관

- 기관명 : 베트남 국립양식연구소 산하 해산양식연구개발센터(RIA3-MRDC)*
*Research Institute for Aquaculture 3, Marine Aquaculture Research and Development Institute
- 위 치 : 나트랑(Nha Trang)시

나. 임대시설의 규모

- 베트남 현지에서 「친어관리-수정란·종자생산-중간양성-판매」 체계 구축을 위해 육상과 해상의 시설을 임대하였으며(표 2-2-28, 그림 2-2-77), 임대시설 외에 실내외 먹이 배양시설과 연구·생산 기자재를 사용토록 협의하였음.
- 육상수조 시설 : 종자 생산용 원형 수조 11개(10t 용량 6개, 30t 용량 5개), 중간 양성용 사각수조 20개(8t 용량) 그리고 친어관리를 대형 원형 수조 1개(200t 용량)
- 해상가두리 시설 : 종자 중간양성과 친어관리를 4×4×3 m 크기 10칸

표 2-2-28. 베트남 임대시설의 규모

시설형태	용도	수량
육상수조	종자생산	30t 용량(Ø 5m×1.5m) 5개 10t 용량(Ø 3m×1.5m) 6개
	종자 중간양성	2×4×1 m 20개
	친어관리	200t 용량(Ø 8m×4m) 1개
해상가두리	종자 중간양성 친어관리	4×4×3 m 크기 10칸



그림 2-2-77. 베트남 현지 임대시설(육상수조, 해상가두리).

다. 못 시설(협력업체, 그림 2-2-78)

- 업체명 : Nga Fisheries Enterprise / 판티엣(Phan Thiet)
- 시설 규모 : 55×35m (약 2,000㎡ 약 600평), 40×35m (약 1,500㎡ 약 450평) 각 2개
- 특징 : 해수어 종자생산 전문업체이며, 전체 시설 중 일부분을 사용하면서 종자생산, 중간양성 등에 관한 기술 교류를 통해 상호협력



그림 2-2-78. 베트남 현지 협력업체 시설(못, 육상시설).

5. 베트남 수정란·종자 대량생산 체계 구축

- 베트남은 인근 동남아 바리양식 선진국가에 비해 수정란·종자 생산기술이 뒤쳐져 있을 뿐만 아니라 현지 유통구조가 후진적이어서 대량 판매의 어려움이 있음. 이를 극복하기 위해 메이저 유통업체를 확보하여 베트남 국내뿐 아니라 인근 국가(대만, 중국)로 판매를 꾀하고자 함. 그리고 현지 생산한 대왕범바리와 국내에서 생산한 대왕자바리와 대왕범바리 등을 대만 및 중국으로 수출하기 위한 거점(국내 종자생산→베트남 양성→인근국가 수출)으로 활용하기 위하여 베트남에 전시포를 운영하고자 함.

가. 수정란·종자 현지 대량생산 체계 구축

- 베트남 현지에서 3차년도에 『친어확보·관리-수정란·종자생산-판매』 체계를 구축하기 위하여 수행한 결과를 주로 제시하였으며, 4차년도 결과를 일부 반영하였음.

(1) 친어관리 체계(표 2-2-29, 그림 2-2-79)

- 시설은 RIA3-MRDC의 시설 일부를 임대하여 사용하였으며, 상대 기관과의 기술 교류를 통한 우호적인 관계 증진을 꾀하고 있음.
- 대왕바리, 갈색점바리 친어확보가 쉽지 않으나, 현지 유통업체로부터 베트남 환경에 적응한 친어 확보가 가능하였음. 그리고 RIA3-MRDC 보유의 친어 공동사용 협약을 통해 사업비의 절감을 꾀할 수 있었음.

표 2-2-29. 베트남 친어관리 체계

항 목	내 용
시설확보	<ul style="list-style-type: none"> - 해상가두리 / 4×4×3 m 크기 10칸 / 나트랑시 인근해역 - 육상수조 / 200톤 용량(Ø 8m×4m) 1개 / 나트랑시
현지 친어확보	<ul style="list-style-type: none"> - 보유친어 <ul style="list-style-type: none"> · 사업내 : 갈색점바리 104 마리, 무늬바리 10마리 · 사업외 : 대왕바리 12마리(최종 6마리), 갈색점바리 40마리 - 친어구입 경로 <ul style="list-style-type: none"> · 친어의 원활한 구입이 가능한 현지 유통업체 두 곳 확보 <ul style="list-style-type: none"> * Gia Bao Dung Co. Ltd., Private Enterprise-Nguyen T.D.H - 시설 <ul style="list-style-type: none"> · 갈색점바리와 무늬바리는 해상가두리에서 관리하면서 채란 시 육상수조로 옮겨 수용. 대왕바리는 연중 육상수조에서 관리 - 먹이 <ul style="list-style-type: none"> · 공급하는 잡어(정어리류, 까나리류 등)는 나트랑 인근의 수산시장에서 쉽게 구입하여 사용 · 친어의 영양·면역관리를 위한 약품제제(간기능 강화제, 비타민제, 유산균제 등)는 국내 또는 현지의 시판제품을 구입하여 사용
친어관리 (시설 및 먹이조달)	
인력운용	<ul style="list-style-type: none"> - 해상가두리와 육상수조에서 친어관리는 기관 간 협력을 통해 RIA3-MRDC 직원이 각각 2명과 3명이 상시 관리하며, 위탁업체 직원(6명)에서 수시 방문하여 기술적 지원 실시



<활어차>



<활어차 수조내 친어 수용>



<해상가두리 이동을 위한 선박수송>



<해상가두리 입식>

그림 2-2-79. 베트남 현지 친어 확보(구매).

(2) 수정란 생산체계(표 2-2-30, 그림 2-2-80)

- 관리 중인 친어로부터 수정란을 생산하는 일련의 과정이 현지에서 성공적으로 구축되었음
- 해상가두리에 사육 중인 친어는 채란을 위해 선별하여 육상수조로 옮겨야 하며, 이 과정 중의 경비 부담, 물리적 충격과 스트레스로 인한 친어 손상을 최소화하기 위해 4차년도에 해상가두리에서 채란 후 수정란만 육상수조로 옮기는 방법을 시도하였으나 수정 후 입식까지의 생산 효율이 낮았음
- 채란작업(1박 2일 또는 2박 3일) 동안 수정란 부화 시설 부재, 수정란 운송에 따른 낮은 생존율 등
- 2차년도('18년) 중에는 우량수정란 생산을 위해 필요한 친어관리 기간이 짧고 난질이 불량하여 수정란 생산량(수조 입식 기준)이 7.7ㄷ에 그쳤으나, 3차년도에는 14.9ㄷ(7차례) 그리고 4차 연도에는 14.8 ㄷ(5차례)의 생산되었음.

표 2-2-30. 베트남 현지에 구축한 수정란 생산체계

항 목	내 용
친어선별 및 수송	<ul style="list-style-type: none"> - 친어선별 · 3월~12월 기간 중 월 2회(음력 1일, 15일 전후) 해상가두리의 친어 복부 관찰 및 성숙 중인 난 관찰(cannulation+현미경 검정) · 발달 중인 알의 크기(350~450 μm), 모양(원형), 난황물질 축적 정도를 기준으로 채란용 친어 선별 - 친어수송(해상가두리→육상수조) · 까우다(Cau Da)항을 경유하여 활어선과 활어차(또는 오토바이)를 이용(2시간여 소요) · 수송한 친어는 육상수조(10톤 또는 30톤)에 수용하면서 채란에 사용
수정란 생산	<ul style="list-style-type: none"> - 장소 : RIA3-MRDC 내 임대시설 - 성숙·산란유도 · 대왕바리 (♂) : 마취(MS-222) 후 복부를 살짝 눌렀을 때 흘러나오는 정액을 수집. 필요 시 HCG 500~1,000 IU/kg 단독주사해서 채정. 정액은 냉장 보관하면서 수정에 사용(48시간 이내) · 갈색점바리 (♀) : 육상수조로 옮기면서 HCG (500 IU/kg)와 LHRH-s (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$)을 혼합하여 주사함. 채란이 지연되면 같은 방법으로 추가 주사(이 경우 대개 12~36시간 내 채란 가능하지만, 난질이 불량해짐) - 교잡수정 · 수정(건식법) 및 세란 후 80ℓ 용량의 원형 플라스틱 수조에 낭배기(수정 후 약 5시간)~체절형성기(수정 후 약 9시간)까지 수용
수정란 입식	<ul style="list-style-type: none"> - 종자생산 시설 · 육상수조 : 30t 용량 5개, 120t 용량 1개(필요시 임대수조 외 RIA3-MRDC 시설 활용) · 못 : 450평 또는 600평 규모 4개(위탁업체의 협력업체) - 수용밀도 · 육상수조 : 약 150~300 cc 수정란/20t 수조(100 cc = 30만개) · 못 : 2.5~5ℓ/못

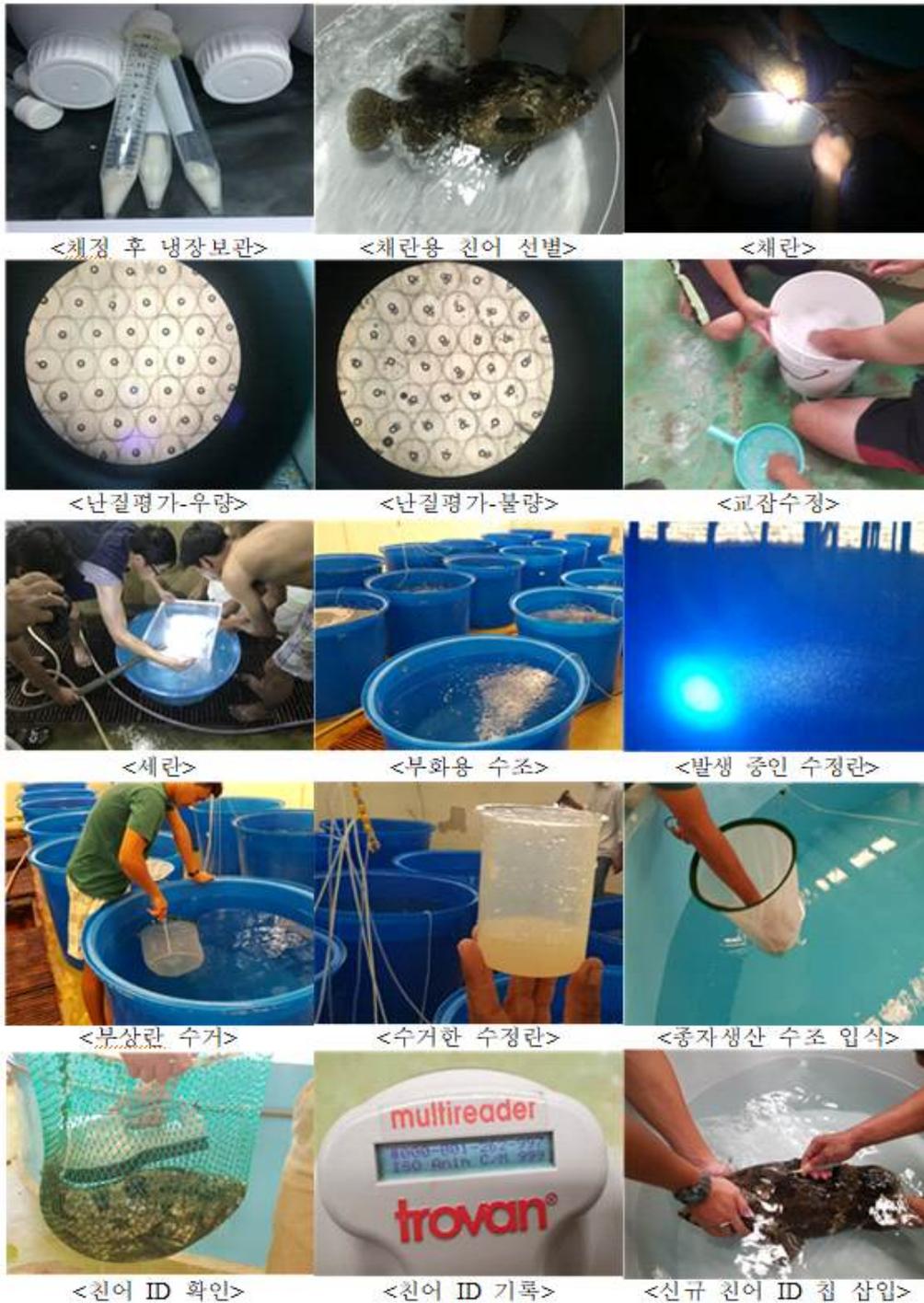


그림 2-2-80. 베트남의 대왕범بار리 수정란 생산을 위한 운송 경로 및 과정.

(3) 먹이생물 대량생산 체계

- 현지의 시설 임대기관인 RIA3-MRDC의 먹이 배양시설을 사용하고 있으며, 먹이 배양 기술의 현지화를 위한 노력이 이루어졌음(그림 2-2-81).
- 로티퍼 배양 밀도는 1,500개체/cc 정도이었으며, 고밀도 배양(5,000개체/cc)을 시도하였으나 미세조류 공급의 어려움 등의 문제로 성공하지 못하였음.

- 아르테미아와 영양강화제는 시판용 제품(INVE Co.)을 현지에서 구입 가능함.

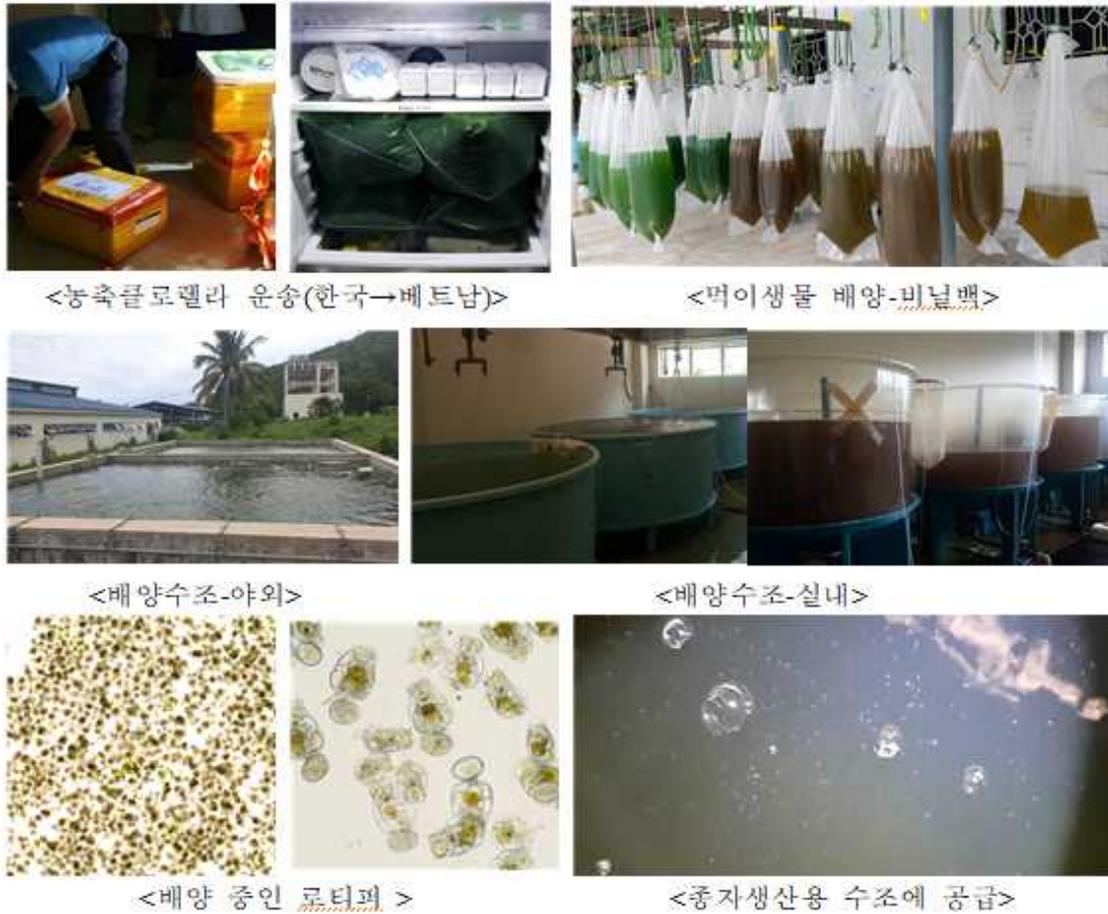


그림 2-2-81. 베트남에서 먹이생물 배양 및 공급 절차.

- 로티퍼 배양을 위해 3차년도에는 국내 시판용 농축 클로렐라를 베트남으로 운송하여 사용하였으나, 운송 과정의 비용과 번거로움(호찌민 공항→나트랑 픽업)을 피하고자 4차년도에는 현지에서 동남아의 고수온 환경에 적합한 *Nannocloropsis oculata*를 배양하여 사용하였음(표 2-2-31).
- 운송비용(농축 클로렐라 20ℓ × 5개 기준) : 1,346,100원

*항공운임 564,200원, 공항 터미널 화물취급료 124,400원, 서류발급 비용 60,500원, 세관통관 수수료 77,000원, 도착지 통관 및 세금 480,000원, 아이스팩 구매비용 40,000원

- 임대시설(RIA3-MRDC)의 야외수조(50t 용량, 6×6×1.5 m) 2개와 실내수조(1t 용량, Ø 1.5×0.6 m) 6개에서 대량 배양하였으며(표 2-2-31), 야외수조에서 1×10⁷ cells/ml의 농도로 생산할 수 있었음.

표 2-2-31. 베트남 현지 미세조류 대량 배양에 사용한 시비제(fertilizer) 포블러

구성성분	정량	구성성분	정량
[실내수조 배양용, f/2]		[야외수조 배양용]	
KNO ₃	89.2 mg/L	Ammonium sulphate	100 ppm
KH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	5.6 mg/L	Superphosphate lime	10 ppm
EDTA	4.36 mg/L	Urea	10 ppm
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.15 mg/L	EDTA	5 ppm
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 mg/L		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.02 mg/L		
CoCl ₃ ·6H ₂ O	0.01 mg/L		
MnCl ₂ ·6H ₂ O	0.18 mg/L		
NaMoO ₄ ·6H ₂ O	0.06 mg/L		
Thiamin·HCl	0.1 µg/L		
Biotin	0.5 µg/L		
B ₁₂	0.5 µg/L		

(4) 종자 대량생산 체계

- 베트남은 우리나라와 생산환경(시설, 기술, 수온 등)이 달라 국내기술의 현지화가 필요함. 이를 위해 2, 3, 4차년도에 수행하였던 종자생산 경험을 바탕으로 종자 대량생산 체계를 구축하였음(표 2-2-32, 그림 2-2-82과 2-2-83).
- 대왕범بار리 종자생산 공정은 그림 2-2-84에 나타내었으며, 대왕범بار리와 친어 어종(대왕바리, 갈색점바리)의 종자생산에 관한 문헌을 미리 조사하여 참고하였음(표 2-2-33).
- 종자의 중간 육성은 3차년도에는 10 cm까지 육상수조, 이후부터는 해상가두리 그리고 4차년도에는 해상가두리 시설의 부족으로 10 cm 이후에도 못과 육상수조 시설에서 시행하였음.

표 2-2-32. 베트남 현지에 구축한 종자생산 체계

항 목	내 용
시설 및 수정란 입식	<ul style="list-style-type: none"> - 종자생산 시설 <ul style="list-style-type: none"> · 육상수조 : 20t 용량 5개, 120t 용량 1개(필요시 임대 수조 외 민간업체의 시설 활용) · 못 : 450, 600평 규모 4~6개(위탁업체의 협력업체) - 수용밀도 <ul style="list-style-type: none"> · 육상수조 : 약 150~300cc 수정란/20t 수량(100 cc = 20만개) * 사육 수 1ℓ에 10마리 자어를 기준으로 난질, 초기 감모, 먹이 공급의 용이성 등을 고려하여 1.5~3배 입식 · 못 : 1.5~2.5 리터/못(3차년도), 2.5~5.0ℓ/못(4차년도)
자어관리	<ul style="list-style-type: none"> - 먹이 <ul style="list-style-type: none"> · 로티퍼(SS~L-타입, 60~350 μm)-아르테미아-배합사료(200~500μm) 계열에 따라 일정 기간 중복되게 공급 - 수질관리 <ul style="list-style-type: none"> · 환수 : 수질 안정제를 사용하며 7일간 지수식, 이후 10~50%/일, 30일령(전장 2.5 cm)부터 100% 이상/일 환수 · 바닥 청소(siphoning) : 자어의 운동성이 활발해지는 시기(10일령)부터 1일 1회 실시 · 소독 : 차아염소산칼슘(calcium hypochlorite)으로 소독한 후, 공급하는 사육수는 오존 살균을 시행 - 선별 : 자어 크기 약 3 cm에 도달하거나, 공식 행동이 심해지는 시기에 실시
종자관리 (중간양성)	<ul style="list-style-type: none"> - 중간육성 시설 : RIA-3 MRDC의 육상수조 및 해상가두리 그리고 못 (임대 외 시설 포함) - 종자 육성관리 <ul style="list-style-type: none"> · 입식 : 전장 3~10 cm 육상수조, 10 cm부터 육상수조, 못 그리고 해상가두리로 옮겨 수육 · 먹이 : 현지 판매 배합사료*와 영양제 첨가 <p style="text-align: center;">*단백질 55% 이상, 지방 9% 이상, 섬유소 1.9% 이하</p>



<종자생산용 실내 원형수조(30톤)>



<종자생산용 실외 원형수조(20톤)>



<종자생산용 실외 사각수조(120톤)>



<육상 사각수조내 자어>



<선별 전 종자>



<선별을 위한 종자 수집 작업>



<종자 크기별 선별 작업>



<선별 후 종자>



<중간육성용 선별 종자>



<중간육성용 수조에 입식>

그림 2-2-82. 베트남 육상수조에서의 대왕범바리 종자생산 및 선별.



<종자생산용 못 시설(450, 600평/못)>



<부화 및 초기 자어 사육용 시설>



<종자(3 cm 내외) 수거 작업>



<크기에 따른 종자 선별 작업>



<중간육성용 선별 종자>



그림 2-2-83. 베트남 못 시설에서의 대왕범بار리 종자생산 및 선별.

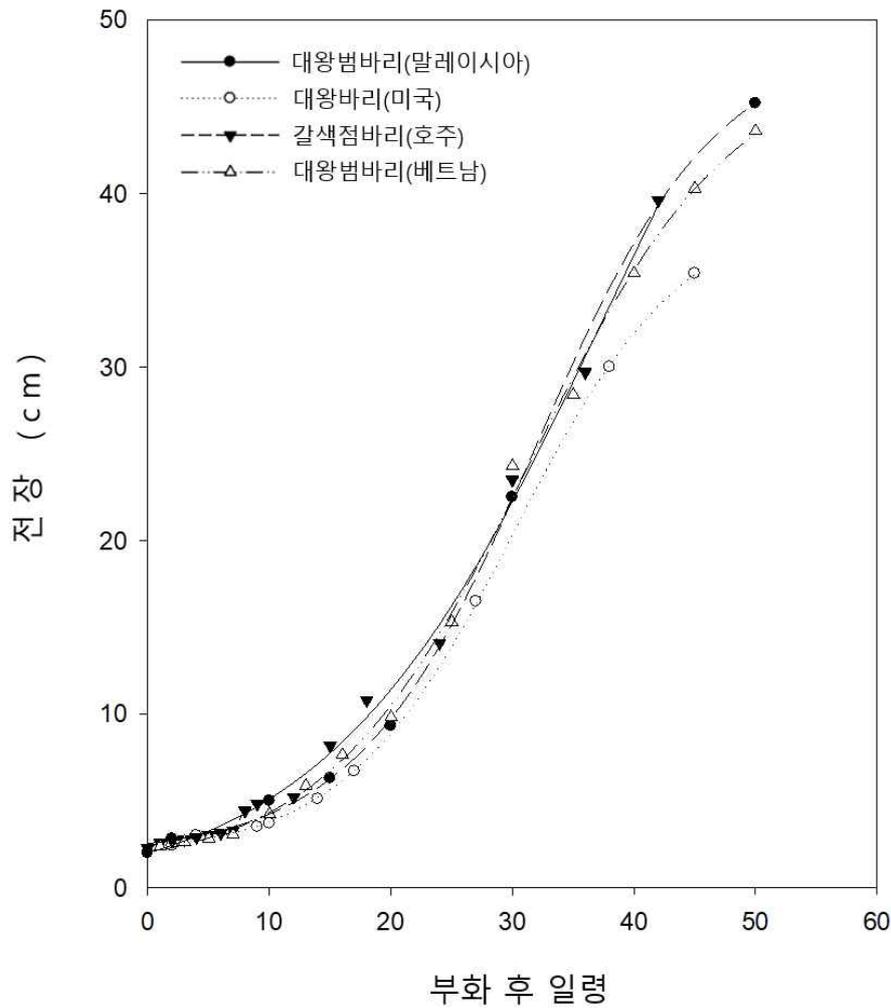
Days after hatching	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Feed management											
Rotifer (10~15 ind/mL)											
Rotifer (15~20 ind/mL)											
Artemia (0.5~1.0 ind/mL)											
Artemia (1.0~2.0 ind/mL)											
Artificial diet - 100~200 μm											
- 200~300 μm											
- 300~500 μm											
Water management											
Water exchange - 10%/day											
- 20%/day											
- 50%/day											
Flow-through (100%/day)											
Water conditioning											
Chlorella + Microbiota											
Larval size											
Total length (mm)	2.0		4.2		9.8		24.3		35.4		40.3

그림 2-2-84. 베트남 대왕범بار리 종자생산 공정.

표 2-2-33. 대왕범بار리와 친어 어종(대왕바리, 갈색점바리)의 종자생산 방법(문헌조사 결과)

품종	대왕바리 (Garcia-Ortega et al., 2013)
국가/지역	미국/Hawaii (Pacific Aquaculture & Coastal Resources Center)
생산공정	<ul style="list-style-type: none"> - 사육환경 : 육상수조, 수온 27.6±0.2℃, 염분 29.5±0.3 ppt, 광주기 0~20 일령 24L:0D, 21일령~12L:12D - 먹이공급 : 1~20일령에 <i>Isochrysis galvana</i> 매일 30,000~45,000 세포/ml 밀도로 공급; 3~20일령에 코페포다(<i>Parvocalanus crassirotris</i>) 유생 (nauplii와 copepodite, 60~800 μm) 0.5~3.0 개체/ml 와 영양 강화된 로티퍼 s-타입 (10개체/ml) 1일 2회 병행 공급; 17일령에 배합사료(200~300 μm)와 영양강화 아르테미아 유생(1~3 개체/ml) 추가 공급; 20일령에 로티퍼와 코페포다 공급 중지; 20~45일령까지 아르테미아(1~3개체/ml)와 배합사료(200~800 μm) 병행 공급; 46일령부터 배합사료만 공급
품종	갈색점바리 (Aiemsomboon et al., 2017)
국가/지역	태국/Krabi (Coastal Aquaculture Research & Development Regional Center)
생산공정	<ul style="list-style-type: none"> - 사육환경 : 육상수조, 수온 29~30℃, 염분 30~33 ppt, DO 7~9 mg/l, pH 7.9~8.5 - 먹이 공급 : 2~6일령에 로티퍼(<i>Brachionus</i> spp.) SS-타입(80~90 μm) 5~15 개체/ml 밀도로 공급하면서 3~5일령에는 코페포다 유생(nauplii) 3~4 개체/ml 밀도로 병행 공급; 6~24일령에 로티퍼, s-타입(120~150 μm) 10~15 개체/ml 밀도로 공급하면서, 로티퍼 먹이로서 클로렐라 2~3×10³ 세포/ml 밀도로 병행 공급. 이 기간 동안 영양 강화된 냉동 아르테미아 유생 5개체/ml 밀도로 병행 공급; 24~34일령에 아르테미아 성체 5개체/ml 밀도로 1일 5회 공급(08시, 11시, 13시, 16시, 18시); 35~42일령에 냉동 아르테미아(2~3 개체/ml)와 배합사료(1.2 mm~2.0 mm, 09시와 13시) 병행 공급
품종	대왕범바리 (Ch'ng and Senoo, 2008)
국가/지역	말레이시아/Sabah (Borneo Marine Research Institute)
생산공정	<ul style="list-style-type: none"> - 사육환경 : 육상수조, 수온 27.0~29.5℃, 염분 31.0~32.0 ppt, DO 5.5~7.2 mg/l, pH 7.5~8.6 - 먹이 공급 : 0~5일령에 대구간유, 달걀노른자 혼합액 공급, 3~16일령에 로티퍼(150 μm), 12~27일령에 아르테미아 유생(350~540 μm)을 공급. 이 시기에 <i>Nannochloropsis</i> sp.를 10⁶ 세포/ml 밀도로 공급; 코페포다는 18~32일령에 공급; 배합사료는 26~55일령 그리고 다진 잡어는 32일령부터 공급

- 베트남에서 생산한 대왕범بار리 종자의 성장(전장의 일일 성장률 5.96%/일)은 다른 문헌에 나타난 동일 및 유사 품종에 비해 다소 느렸지만 유의미한 차이는 없었으며(그림 2-2-85), 이는 생산환경(수조 크기, 먹이생물과 배합사료 종류 및 공급 방법 등)에 의한 것으로 판단됨.
- 대왕범바리(말레이시아, Ch'ng and Senoo 2008) : 6.25 %/일
- 대왕바리(미국, Garcia-Ortega 등 2013) : 6.26 %/일
- 갈색점바리(호주, Aiamsomboon 등 2017) : 6.8 %/일



$y = 1.92 + \frac{47.08}{1 + e^{-\left(\frac{x-31.95}{7.41}\right)}} \quad (R^2 = 0.9992)$	$y = -0.48 + \frac{67.77}{1 + e^{-\left(\frac{x-37.91}{11.57}\right)}} \quad (R^2 = 0.9967)$
$y = 1.86 + \frac{37.43}{1 + e^{-\left(\frac{x-30.17}{6.94}\right)}} \quad (R^2 = 0.9999)$	$y = 0.93 + \frac{47.14}{1 + e^{-\left(\frac{x-31.45}{8.38}\right)}} \quad (R^2 = 0.9981)$

그림 2-2-85. 베트남 대왕범바리 종자생산 기간 동안의 성장(문헌의 결과와 비교하여 나타냄).

- 동남아 지역에서 바리류의 종자생산 시 가장 흔한 질병은 바이러스성 신경 괴사증(VNN)으로서, 수평감염을 예방하기 위하여 수조, 사육수, 사육 용품 등은 약품(차아염소산칼슘) 또는 오존 살균을 시행하였으며, 전장 1.5 cm 이후부터 자어의 상태에 따라 약품(doxycycline, cephalixin, florphenicol)을 처리하였음(그림 2-2-86).
- 약품 외에 유산균 제제의 적절한 사용으로 육상수조와 못 시설에서 종자생산 기간 중 질병 발생으로 인한 대량폐사는 발생하지 않았음.



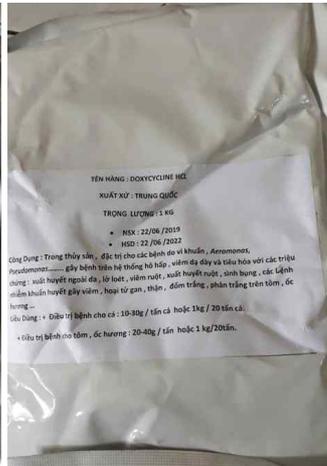
<오존 살균기>



<cephalexin>



<florphenicol>



<doxycycline>

그림 2-2-86. 질병의 수평감염 예방을 위해 사용한 소독 및 약품(현지 판매 제품).

- 종자 생산량은 판매량 기준으로 2차년도에 약 20만 마리, 3차년도에 39.5만 마리, 4차년도에 63.5만 마리, 5차년도에 73.5만 마리로서, 모두 176.5만 마리를 생산하였음(표 2-2-34).

표 2-2-34. 베트남 대왕범바리 종자생산 현황(중간 육성 종자 포함)

수정란 입식일	수정란 입식량	종자 생산량	비고
[3차년도] 목표 30만 마리			
04/06~04/08 (1차)	2.1ℓ	생산 실패	육상수조 시설
05/30~06/01 (2차)	1.5ℓ	5.5만 마리	못 시설
07/11~07/14 (3차)	1.5ℓ	5만 마리	육상수조 시설
07/22 (4차)	0.8ℓ	5만 마리	육상수조 시설
08/04~08/06 (5차)	1.0ℓ	6만 마리	못 시설
09/02~09/03 (6차)	2.7ℓ	10만 마리	못 시설
10/07~10/08 (7차)	3.8ℓ	8만 마리	육상수조 및 못 시설
소계		39.5만 마리(판매	마리수)
[4차년도] 목표 50만 마리			
03/27 (1차)	3.0ℓ	12만 마리	육상수조 및 못 시설
05/11~12 (2차)	4.8ℓ	23.5만 마리	육상수조 및 못 시설
05/24~25 (3차)	2.0ℓ	8만 마리	육상수조 및 못 시설
09/11~12 (4차)	4.0ℓ	20만 마리	육상수조 및 못 시설
09/16 (5차)	1.0ℓ		못 시설
소계		63.5만 마리(판매	마리수)
[3차년도] 목표 30만 마리			
3/17~19 (1차)	2.0ℓ	31.5만 마리	육상수조 시설
4/24~26 (2차)	2.0ℓ		못 시설
5/14~17 (3차)	3.0ℓ	22만 마리	육상수조 시설
6/10~12 (4차)	1.2ℓ		육상수조 시설
7/09~11 (5차)	1.8ℓ	8만 마리	못 시설
8/06~09 (6차)	2.4ℓ	6만 마리	못 시설
9/25~27 (7차)	2.4ℓ	6만 마리	육상수조 및 못 시설
소계		73.5만 마리(1~4차는 판매	마리수)
총계		176.5만 마리	

6. 교잡종자 판매망 확보 및 판매

가. 종자 유통망 구축

- 2차년도 중 종자 판매에서 경험한 유통의 어려움(소량 판매, 은행거래 등)을 개선할 수 있고, 대만, 중국 등과 유통 경험이 풍부한 업체를 추가 확보함.
- 베트남 현지의 종자 판매의 어려움(수량 거래, 언어소통 등)을 극복할 수 있고, 대만, 중국 등과 유통 경험이 있는 3개 업체를 확보한 결과를 제시하였음(그림 2-2-87).

(1) Khanh Hoa Seafood Investment Co. Ltd.

- 위 치 : 베트남 칸호아 주 호찌민시
- 업 종 : 활수산물, 종자(어류, 갑각류 등)의 종자, 수산 식품의 베트남 및 인근국가 유통
- 거래 실적 : 2차년도에 27.1만 불, 3차년도에 53.7만 불 거래
- 특 징 : 2차년도에 GSP 사업의 친어 구입 및 종자 판매 거래 경험이 있는 업체로서, 중국(하이난 지역), 대만과 종자 수출입 경험이 풍부함.

(2) Khanh Ha Aquaculture Trading, Service and Investment Co. Ltd. (4차년도 거래 업체)

- 위 치 : 베트남 칸호아 주
- 업 종 : 양식수산물(성어, 종자) 베트남 및 인근국가 유통
- 거래 실적 : 4차년도 거래 중
- 특 징 : 4차년도에 구축한 업체로서 동남아 인근 국가와 일본 등에 수산물 유통 실적을 보유하고 있으며, 특히 COVID-19로 인해 GSP 사업에서 생산한 종자의 대량 판매(선 출하 후 입금)가 가능하였음.



<종자생산 · 판매 계획 협의>

<현지 거래 실적>

‘19년 4월 8일, Khanh Hoa Fisheries Co.

‘17년 친어구매(왼쪽), ‘18년 종자판매(오른쪽)

그림 2-2-87. 베트남 현지 종자 유통망 구축 활동.

나. 종자 판매

- 베트남의 일반적인 종자생산 시기는 4월~12월이지만, 이 사업에서는 3차년도에 8월부터 그리고 4차년도에 6월부터 종자가 생산되었음. 그리고 현지에서 종자 가격은 3차년도에 종자 가격이 크게 하락(0.17불/cm→0.11불/cm)하였고, 4차년도에는 COVID-19로 인해 더욱 하락(0.65불/10~15 cm)하여, 중간양성을 통해 종자 마리 당 부가가치를 높이기 위해 중간양성을 실시하였음. 그리고 베트남 현지에서 십만 마리 단위의 종자 판매가 드물어서, 현지 시세보다 다소 낮은 가격으로 판매하였고 4차년도에는 “선 출하 후 입금” 방식에 따라 판매가 이루어졌음(그림 2-2-88).

- 종자 판매액은 3차년도에 53.7만불(목표 40만불), 4차년도에는 66.5만불(목표 80만불) 그리고 5차년도에는 11월 말 기준으로 57.8만불(목표 68만불)로서, 2차년도 판매액(27.1만불)을 포함하면 2단계 중 총 205.1만불(목표 188만불)을 달성하였음.

- 위 판매액 외에 5차년도 12월 중 중간양성 중인 종자(15~20만 마리)의 추가 판매 예정임
- 판매가격 : 3차년도 1.69불/15 cm, 1.3불/10~15 cm, 0.74불/5~10 cm
4차년도 1.30불/20 cm 이상, 1.2불/10~15 cm, 0.65불/5~10 cm
5차년도 1.40불/15~20 cm, 0.70불/5~10 cm



<종자 선별>

<중간양성-못, 육상수조>

<중간양성 후 선별>



<출하 전 수거>

<판매 전 선별>

<출하>

그림 2-2-88. 대왕범بار리 중간 육성 종자 출하.

다. 현지 시험·전시포 운영

- 베트남 진출 해외기업으로서 시장개척과 생산한 종자의 우수성을 홍보하고 판매촉진 하기 위하여 현지의 시설을 이용하여 시험포를 운영하고 있음(그림 2-2-89, 중간육성장 검 용).
- 우리 생산 종자는 현지의 최고급 배합사료를 공급하며, 영양제 첨가를 통해 종자의 해상 가두리 입식 후 생존력이 향상되어 지역 양식업체에서 많은 관심 가짐.
- 기존 30~50% → 2차년도 70% 이상(150 g 기준), 3차년도 86% (117 g 기준)
- 현지의 양성 또는 유통업체에서 생산 중인 종자는 위탁업체의 임대시설(RIA3-MRDC) 그 리고 중간양성 중인 종자는 협력업체(Nga Fisheries Co. Ltd)에 3~5차년도 중 30여 회 이 상 방문
- 당초 국내에서 생산된 품종(대왕자바리, 대왕불바리)의 베트남 현지 전시를 계획하였으나, 국내 생산이 미진하여 실행하지 못함.



<시험·전시 시설>

<종자견학-해상가두리>

<종자 견학-못>

<종자 견학-수조>

그림 2-2-89. 베트남 현지의 시험·전시 시설.

7. 연구성과

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

성과목표	품종 및 브랜드 개발		특허		논문		친어 (모패, 계통주) 확보	종자 생산 수 (천마리)	수출액 (만불)	해외 기지 구축 수	분자 마커	DB 시스템 구축	육종 특성(성장, 체색, 내병성 등) 개발 수*	매뉴얼 제작 건수	품종 분양 보급	홍보	
	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI											
최종목표	5	1	8	4	14	1	280	1,500	188	1	19	1	5	1	2	3	
1차년도	목표	1	-	1	-	3	1	100	-	-	-	2	-	1	-	-	-
	실적	2	-	0	-	0	0	245	-	-	-	2	-	1	-	-	-
2차년도	목표	1	-	1	1	3	-	100	-	-	-	-	-	1	-	1	-
	실적	2	2	0	3	0	-	125	200	27.1	-	-	-	1	-	1	1
3차년도	목표	1	-	1	1	2	-	80	300	40	1	5	-	1	1	1	1
	실적	1	-	2	0	1	-	94	395	53.7	1	5	-	1	1	1	1
4차년도	목표	1	-	2	1	3	-	-	500	80	-	6	-	1	-	-	1
	실적	0	1	-	3	-	3	-	635	66.7	-	7	-	1	-	-	1
5차년도	목표	1	1	3	1	3	-	-	700	68	-	6	1	1	-	-	1
	실적	0	0	0	0	1	-	-	735	57.8	-	6	1	1	-	-	-
합계	목표	5	1	8	4	14	1	280	1,500	188	1	19	1	5	1	2	3
	실적	5	3	2	6	2	3	464	1,965	205.3	1	20	1	5	1	2	3
종료1차년도																	
종료2차년도																	
종료3차년도																	
종료4차년도																	
종료5차년도																	
소계	5	1	8	4	14	1	280	1,500	188	1	19	1	5	1	2	3	
합계	5	3	2	6	2	3	464	1,965	205.3	1	20	1	5	1	2	3	

나. 품종 및 브랜드 개발

구분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
상표출원 및 등록	대왕범바리	대한민국	한국해양과학기술원	17.10.25	40-2017-0135122	한국해양과학기술원	18.07.11	40-137692	
	꼬리큰점범바리			17.10.25	40-2017-0135120		18.07.11	40-1376919	
	대왕능성어			18.05.03	40-2018-059921				
	대왕능성어			18.05.03	40-2018-059922				
	cá mú K-lai			19.09.19	40-2019-0144130		20.09.24	40-1646242	

- 품종등록 : 특허정보넷 키프리스

<input checked="" type="checkbox"/> 등록  꼬리큰점범바리 공보		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> 꼬리큰점범바리 </div>	상품분류: 29 31 출원(국제등록)번호: 4020170135120 등록번호: 4013769190000 출원공고번호: 4020180026678 도형코드:	출원인: 한국해양과학기술원 출원(국제등록)일자: 2017.10.25 등록일자: 2018.07.11 출원공고일자: 2018.03.20 대리인: 박노춘

<input checked="" type="checkbox"/> 출원  대왕능성어		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> 대왕능성어 </div>	상품분류: 29 출원(국제등록)번호: 4020180059921 등록번호: 출원공고번호: 도형코드:	출원인: 한국해양과학기술원 출원(국제등록)일자: 2018.05.03 등록일자: 출원공고일자: 대리인: 특허법인다래

<input checked="" type="checkbox"/> 출원  대왕능성어		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> 대왕능성어 </div>	상품분류: 31 출원(국제등록)번호: 4020180059922 등록번호: 출원공고번호: 도형코드:	출원인: 한국해양과학기술원 출원(국제등록)일자: 2018.05.03 등록일자: 출원공고일자: 대리인: 특허법인다래

<input checked="" type="checkbox"/> 등록  대왕범바리 공보		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> 대왕범바리 </div>	상품분류: 29 31 출원(국제등록)번호: 4020170135122 등록번호: 4013769200000 출원공고번호: 4020180026679 도형코드:	출원인: 한국해양과학기술원 출원(국제등록)일자: 2017.10.25 등록일자: 2018.07.11 출원공고일자: 2018.03.20 대리인: 박노춘

<input type="checkbox"/> 등록  [1] cá mú K-lai 공보		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> cá mú K-lai </div>	상품분류: 31 출원(국제등록)번호: 4020190144130 등록번호: 4016462420000 출원공고번호: 4020200065483 도형코드:	출원인: 한국해양과학기술원 출원(국제등록)일자: 2019.09.19 등록일자: 2020.09.24 출원공고일자: 2020.07.07 대리인: 특허법인다래

- 품종등록 : 상표등록공고

	
상표등록공고 40-2020-0087664	
	(190) 대한민국특허청(KR) 등록공고상표공보
(112) 등록공고번호	40-2020-0087664
(450) 등록공고일자	2020년10월05일
(611) 상품분류	11판 31
(210) 출원번호	40-2019-0144130
(220) 출원일자	2019년09월19일
(260) 출원공고번호	40-2020-0065483
(442) 출원공고일자	2020년07월07일
(111) 등록번호	40-1646242
(151) 등록일자	2020년09월24일
(732) 상표권자	한국해양과학기술원 부산광역시 영도구 해양로 385(동삼동)
(740) 대리인	특허법인다나
담당심사관 : 정현석	
<p>(611) 지정상품(업무)</p> <p>제 31 류</p> <p>부화용 수정란, 살아있는 어패류, 활어(活魚), 살아있는 바리, 생 바리,</p> <p>상표경본</p>	

cá mú K-lai

다. 특허

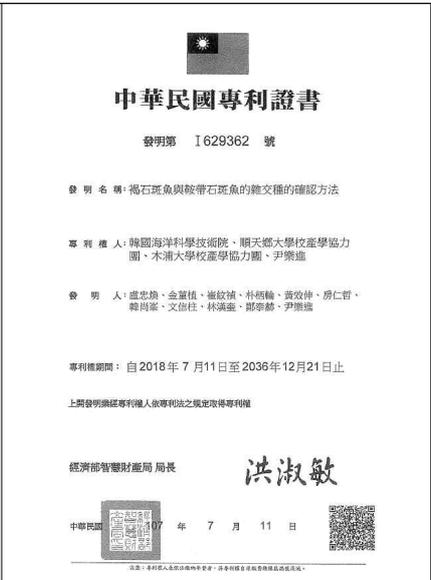
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출 원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명 특허 출원 및 등록	자바리와 대왕바리의 교잡품종 및 그 생산방법	대한민국	한국해양과학기술원	15.12.24	1020150185564	해양과학기술원 외 3명	18.02.07	10-1829052	
	광학센서를 이용한 해양생물의 연속생리반응 측정 시스템	"	한국해양과학기술원	16.11.11	1020160150144	해양과학기술원	18.04.24	10-1853272	
	A hybrid between longtooth grouper and giant grouper and a hybridization method thereof	대만	한국해양과학기술원	16.12.22	105142671	해양과학기술원 외 3명	18.07.11	I629362	
	보강구조를 갖는 회전연결 장치	대한민국	한국해양과학기술원	19.10.30	10-2019-0136603	한국해양과학기술원	20.02.10	10-2077773	분할특허로서일청로2개출원등록
	보강구조를 갖는 회전연결 장치	대한민국	한국해양과학기술원	19.10.30	10-2018-0117486	한국해양과학기술원	20.02.10	10-2077779	
	褐石斑魚與鞍帶石斑魚的雜交種的確認方法	중국	한국해양과학기술원	16.12.22 (1단계)	ZL 201611196783.0	한국해양과학기술원	20.06.12	CN107027661 B	



자바리와 대왕바리의 교잡종 및 그 생산방법



광학센서를 이용한 해양생물의 연속생리반응 측정 시스템



A hybrid between longtooth grouper and giant grouper and a hybridization method thereof



보강구조를 갖는 회전연결장치



보강구조를 갖는 회전연결장치



褐石斑魚與鞍帶石斑魚的雜交種的確認方法

라. 논문

번호	논문명	학술지명	주저자명	권(호)	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Embryonic development and hatchability of red-spotted grouper ♀ X giant grouper hybrid at three incubation temperature	Aquaculture Research	노충환	51 (11)	미국	Wiley	SCI
2	Comparison of Intestine Microbiota Between Wild and Farmed Korean Rockfish, <i>Sebastes schlegelii</i>	Ocean Science Journal	유지현	56	대한민국	한국해양과학기술원	SCI
3	우리나라에서 생산한 바리류 교잡 수정란의 부화력: 상업적으로 유용한 교배조합 선택을 위한 총설	한국수산과학회지	노충환	53 (4)	대한민국	한국수산과학회	비SCI
4	대왕바리 암컷을 사용한 두 교잡 (대왕바리♀× 자바리♂, 대왕바리♀× 붉바리♂) 수정란의 난 발생과 부화력	한국수산과학회지	강민주	53 (4)	대한민국	한국수산학회	비SCI
5	Embryonic Development and Hatchability in the Reciprocal Hybrids of Kelp Grouper (<i>Epinephelus bruneus</i>) and Red-Spotted Grouper (<i>Epinephelus akaara</i>)	Ocean and Polar Research	강민주	42(4)	대한민국	한국해양과학기술원	비SCI

Embryonic development and hatchability of red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*) ♀ × giant grouper (*E. lanceolatus*) ♂ hybrid at three incubation temperatures

Choong Hwan Noh^{*}, Min Joo Kang, Sung Jin Yoon

First published: 25 August 2019 | <https://doi.org/10.1111/are.14306>

FIND IT @KIOST

Read the full text >

[PDF](#) [TOOLS](#) [SHARE](#)

ARTICLE



Comparison of Intestine Microbiota Between Wild and Farmed Korean Rockfish, *Sebastes schlegelii*

Jihyun Yu^{1,3}, Min Joo Kang^{2,4}, Yun Jae Kim¹, Mi-Jeong Park^{1,3}, Jae Kyu Lim¹, Choong Hwan Noh², Sung Gyun Kang^{1,3}, Hyun Sook Lee^{1,3}, Jung-Hyun Lee^{1,3}, Kae Kyoung Kwon^{1,3}

Received: 27 December 2020 / Revised: 12 April 2021 / Accepted: 2 May 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Korea Institute of Ocean Science & Technology (KIOST) and the Korean Society of Oceanography (KSO) and Springer Nature B.V. 2021

KFAS 한국수산과학회지
한수지 53(4), 479-485, 2020

Review Article
Korean J Fish Aquat Sci 53(4):479-485, 2020

KFAS 한국수산과학회지
한수지 53(4), 557-562, 2020

Short Communication
Korean J Fish Aquat Sci 53(4):557-562, 2020

우리나라에서 생산한 바리류(Subfamily Epinephelinae) 교잡 수정란의 부화력: 상업적으로 유용한 교배조합 선택을 위한 총설

노충환*

한국해양과학기술원 해양생물자원연구단

Hatchability of Fertilized Eggs from Grouper (Subfamily Epinephelinae) Hybrids in Korea: A Mini Review for Selection of Commercially Promising Cross Combinations

Choong Hwan Noh*

대왕바리 암컷을 사용한 두 교잡(대왕바리♀×자바리♂, 대왕바리♀×붉바리♂) 수정란의 난 발생과 부화력

강민주^{1,2}, 노충환^{1*}, 김재훈³, 박종연⁴, 박대환⁵

¹한국해양과학기술원 해양생물자원연구단, ²부산대학교 해양생물학과, ³국립수산과학원 미래양식연구센터, ⁴순천향대학교 생명시스템학과, ⁵경상남도수산자원연구소

The Embryonic Development and Hatchability of Two Hybrids with Giant Grouper Female: Giant Grouper ♀×Kelp Grouper ♂ and Giant Grouper ♀×Red-Spotted Grouper ♂

Min Joo Kang^{1,2}, Choong Hwan Noh^{1*}, Jae Hun Kim³, Jong Yeon Park⁴ and Dae Won Park⁵

Vol. 42(4):303-311 http://dx.doi.org/10.4217/OPR.2020.42.4.303	Ocean and Polar Research	December 2020
---	--------------------------	---------------

Note

Embryonic Development and Hatchability in the Reciprocal Hybrids of Kelp Grouper (*Epinephelus bruneus*) and Red-Spotted Grouper (*Epinephelus akaara*)

Min Joo Kang^{1,2}, Choong Hwan Noh^{1*}, Hee Jung Choi¹, Dae Won Park³, and Sung-Pyo Hur⁴

¹Marine Bio-Resources Research Unit, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Busan 49111, Korea

²Department of Marine Biology, College of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

³Gyeongangnam-do Fisheries Research Institute, Tongyeong 53080, Korea

⁴Jeju Marine Research Center, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Jeju 63349, Korea

마. 친어 확보

연차	종명	마리수	사육관리 장소
1차 (2017)	대왕바리(giant grouper)	13	베트남 MRDC/다올리 Co Ltd
	갈색점바리(tiger grouper)	20	"
	무늬바리(leopard coral grouper)	100	"
	자바리(longtooth grouper)	112	3세부 협력기관(주일수산) 1세부 위탁기관(아쿠아바이오텍)
2차 (2018)	갈색점바리(tiger grouper)	60	베트남 MRDC
	"	65	다올리 Co Ltd
3차 (2018)	갈색점바리(tiger grouper)	94	베트남 MRDC

* 베트남국립양식연구소(RIA3-MRDC)

- 1차년도(2017년)

HO KHINH DOANH NGUYEN THI DIEU HAI
QUOTATION (Bảng báo giá)
Date : Mar 23rd, 2017

Buyer: Korea Institute of Ocean Science & Technology (KIOST)
c/o Ngh Chong Hwan
Jukbyeon-myeon, Ulgjin,
Gyeongbuk, 36315, KOREA

No	Description	Unit Price (USD)	Qty (tail)	Amount (USD)
1	Giant grouper (56 kg)	26.1	1	261.6
2	Giant grouper (53 kg)	26.1	1	261.3
3	Giant grouper (48 kg)	26.1	2	522.6
4	Giant grouper (46 kg)	26.1	1	261.0
5	Giant grouper (39 kg)	26.1	2	522.0
6	Giant grouper (37 kg)	26.1	1	261.0
7	Giant grouper (29 kg)	26.1	2	522.0
8	Giant grouper (27 kg)	26.1	1	261.0
Sum				1178.9
				Tax (10%+VAT) 117.89
				Total 1296.8

Sir Name: Nguyen Thi Dieu Hai,
Director of Private Enterprise

Payment
After signing the Sales Agreement, the Buyer shall pay the Contract Price to the Seller via wire transfer in Viet Nam dong to the following bank account
Name of account: **Nguyen Thi Dieu Hai** Phone: +84 985978089
Address: No. 148, Bach Dang street, Nha Trang city, Khanh Hoa province.
Savings Account No. **0061000456402**

Name of Bank: Vietcombank
Address: No. 31 Quang Trung street, Nha Trang city, Khanh Hoa province
SWIFT code: BTVI VNX

HO KHINH DOANH NGUYEN THI DIEU HAI
QUOTATION (Bảng báo giá)
Date : May 5th, 2017

Buyer: Korea Institute of Ocean Science & Technology (KIOST)
c/o Ngh Chong Hwan
Jukbyeon-myeon, Ulgjin,
Gyeongbuk, 36315, KOREA

No	Description	Unit Price (individual of fish)	Qty (number)	Amount (USD)
1	Leopard coral grouper	40	100	4000
Sum				100 kg x 40 USD 4000
				Tax (10%+VAT) 400
				Total 4400

Sir Name: Nguyen Thi Dieu Hai,
Director of Private Enterprise

Payment
After signing the Sales Agreement, the Buyer shall pay the Contract Price to the Seller via wire transfer in Viet Nam dong to the following bank account
Name of account: **Nguyen Thi Dieu Hai** Phone: +84 985978089
Address: No. 148, Bach Dang street, Nha Trang city, Khanh Hoa province.
Savings Account No. **0061000456402**

Name of Bank: Vietcombank
Address: No. 31 Quang Trung street, Nha Trang city, Khanh Hoa province
SWIFT code: BTVI VNX

거래명세표

2017년 5월 5일	계좌번호	285-97-00052	
<i>S. Park</i>	상호	강릉수산	강흥철
	Mobile	010-8389-2351	

월	일	품명	수량	단가	금액
		대왕바리	13	26.1	339.3
		갈색점바리	20	26.1	522.0
		무늬바리	100	26.1	2610.0
		자바리	112	26.1	2923.2
		합계			4400.0

운임
합계

전미수
총합계
인수자

농협 : 351.0474.9816.43 김현정 * 감사합니다 *

- 2차년도(2018년)

QUOTATION (Bảng báo giá)
Date : August 9th, 2018

Buyer: Korea Institute of Ocean Science & Technology (KIOST)
c/o Noh Choonhwan
385m Haeryang-ro, Yeongdo-gu, Busan
49111, KOREA
chnoh@kiost.ac.kr

No	Description	Unit Price (USD/kg)	Q'ty (kg)	Amount (USD)
1	Pure tiger grouper Broodstock (2.5 kg per each tail X 60 subset/30 kg)	40	150	6,000
Sum				150 kg x 40 USD = 6,000
				Tax (10%+VAT) = 600
				Total = 6,600

Sir Name: Nguyen Thi Dieu Hai,
Director of Private Enterprise

Payment
After signing the Sales Agreement, the Buyer shall pay the Contract Price to the Seller via wire transfer in Viet Nam dong or US dollar to the following bank account:
Name of account: **Nguyen Thi Dieu Hai** Phone: +84 988978080
Address: No. 148, Bach Dang Street, Nha Trang city, Khanh Hoa province.
Savings Account No. **0061000456402**
Name of Bank: Vietcombank
Address: No. 17 Quang Trung Street, Nha Trang city, Khanh Hoa province
SWIFT code: vietwv

Quotation
Date: January 29, 2018

GIA BAO DUNG COMPANY LIMITED (CÔNG TY TNHH GIA BẢO DUNG)
148/17 Đường số 11, Phường Bình Hưng Hòa, Quận Bình Tân, Thành Phố Hồ Chí Minh, Việt Nam (Tel: 0936388800, e-mail: thuy2018@protonmail.com)

To: Korea Institute of Ocean Science & Technology (c/o Noh Choonhwan)
385 Haeryang-ro Yeongdo-gu, Busan 49111, Korea

PART DESCRIPTION	QTY (KG)	UNIT PRICE (USD/KG)	LINE TOTAL (USD)
TIGER GROUPEE (40KG, 5 KG)	65	253	16,445.0
SUBTOTAL			16,445.0
SALES TAX			1,644.5
TOTAL			18,089.5

Quotation prepared by: Trần Hoàng Dâm Thủy
(Director of Gia Bao Dung Company Limited)

Payment
Account No: 475539271254, Ngân Hàng Vietcombank, Chi nhánh Tân Ninh Khánh Hòa
Address: 148 Hàng Hoàng Văn Giáp phố, Khánh Hòa
Name of Account: Trần Hoàng Dâm Thủy

- 3차년도(2019년)

Memorandum of Understanding
on Cooperative Utilization of Grouper Broodstock

1. Object of Cooperation:
c) To establish the techniques of broodstock management for egg production of hybrids between tiger grouper and giant grouper by cooperative utilization of tiger grouper broodstock

2. Areas of Cooperation:
(a) Broodstock management of tiger grouper
(b) Induced breeding by hormone treatment
(c) Production of hybrid eggs between tiger grouper and giant grouper

3. Activities for Cooperation:
(a) Cooperative utilization of the tiger grouper broodstock
- Mariculture Research & Development Center possession: 40 tails
- Korea Institute of Ocean Science & Technology possession: 100 tails
(b) Scientific activities such as final maturation of eggs, etc.
(c) Sharing the produced hybrid eggs between tiger grouper and giant grouper

4. Financial consideration
Nothing in this MOU shall be deemed to commitment or obligation of funds.

5. Termination and Signatures with Dates
This MOU will continue for a period of 10 months from the date of signature

05-March-2019
Mariculture Research & Development Center
Research Institute for Aquaculture
Director: Trương Quốc Thái, DR
Binh An Aquaculture Co Ltd
Director: Han Sang Bong, MR

<친어공동활용(RIA3-MRDC) 협약서 40마리>

친어확보 보고서-1 (갈색점바리 54마리)
2019년 10월 1일

2단계 3차년도 중 베트남 현지에서 갈색점바리(brown mottled grouper, tiger grouper) 친어 확보 결과를 아래와 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

- 교잡수정란 생산을 위한 갈색점바리 친어 확보 목적으로 2차년도(18년) 중 갈색점바리 미성숙 개체(평균 체중 약 2.5 kg) 60마리를 구매하였음
- 이들 개체들은 1년간 사육·관리 후에 3차년도(19년) 중 54마리가 친어자원에 가입하였음(평균 체중 3.8 kg, 나머지 6마리는 폐사, 7월 22일 기준)
- 새끼이 확보한 총 54마리 중 11마리로부터 계란에 성공하였음
- 07/22 3마리, 08/03 8마리

<그림 1. 3차년도(19년) 확보한 친어-해상기쿠리 관리>

<친어 확보 보고서-54마리>

바. 종자생산

연도	대상품종	생산량	국명	기타
3차년도	대왕범بار리	39.5만 마리	베트남	판매 마리수 기준
4차년도	"	63.5만 마리	"	"
5차년도	"	73.5만 마리	"	"

- 3차년도(2019년)

대왕범بار리 종자생산 보고서-1 [대왕범بار리 17.5만 마리]

2019년 9월 30일

2단계 3차년도 중 번째까지(9월 30일) 범바리 센터 대왕범بار리 종자생산 관계관 아래에 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

1. 수질단체 종자 생산 현황

- 3차년도(2019년) 중 번째까지 대왕범بار리 수질단체 모두 총계 길이 11.3 리터 생산 되었으며, 이 중 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) 13리터와 제1차원 9.8 리터 등 21리터에 사용됨(표 1, 그림 1) 2) ;
- 생산한 수질단체는 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) Co L4의 일대시일(독상수조)과 필리핀계 시일(독상수조)을 이용하여 종자생산에 사용하였음(표 2, 그림 3)
- 총계 49(20-29리터) 생산 수질단체(27리터)는 현재 종자생산 중이므로 이 보고서에서는 제외하였음

표 1. 베트남 현지 대왕범بار리 수질단체 생산현황

생산일지 (2019년)	생산량	처리
04-06-04(08 시)	21	필리핀계 및 시일에 일지
05-10-06(01 시)	15	필리핀계 및 시일에 일지
07-11-07(14 시)	23	일대시일(독상수조) 일지 일대시일(독상수조) 1.0 리터 분양
07-22 (04시)	0.8	일대시일 일지
08-03-08(06 시)	1.5	필리핀계 '독상수조' 일지
08-03-08(16 시)	27	필리핀계 및 시일에 일지 (현재 종자생산 중)
총계	113	

* 수질단체 생산량은 일지 직원 투입량 기준임

대왕범بار리 종자생산 보고서-2 [대왕범بار리 7.5만 마리]

2019년 10월 28일

2단계 3차년도 중 범바리 센터 대왕범بار리 종자 7.5만 마리 생산 관계관 아래에 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

1. 수질단체 종자 생산 현황

- 3차년도(2019년) 중 3차 7차에 걸쳐 수질단체 생산하였음(표 1, 그림 1), 이 중 7차 생산한 수질단체(27리터)는 모두 필리핀계 종자 생산
- 생산한 수질단체는 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) Co L4의 일대시일(독상수조)과 제1차원 이용하여 종자생산에 사용하였음(표 2)
- 1-3차 생산 수질단체 종자생산은 현재는 "대왕범بار리 종자생산 보고서"에서 보고하였음

표 1. 베트남 현지 대왕범بار리 수질단체 생산현황

생산일지 (2019년)	생산량	처리
04-06-04(08 시)	21리터	필리핀계(독상수조) 일지
05-10-06(01 시)	15리터	필리핀계(독상수조) 일지
07-11-07(14 시)	23리터	일대시일(독상수조) 1.5리터 일지 일대시일(독상수조) 1.0리터 분양
07-22 (4시)	0.8리터	일대시일(독상수조)에 일지
08-03-08(06 시)	1.5리터	필리핀계(독상수조) 일지 일대시일(독상수조) 1.0리터 일지 (현재 종자생산 중)
08-03-08(16 시)	27리터	필리핀계(독상수조) 1.0리터 일지 일대시일(독상수조) 2.0리터 일지
총계	149리터	* 분양된 11.4리터의 종자생산에 사용

* 수질단체 생산량은 일지 직원 투입량 기준임

- 4차년도(2020년)

대왕범بار리 종자생산 보고서-1 [대왕범بار리 43.5만 마리]

2020년 9월 4일

2단계 4차년도 중 번째까지(9월 30일) 범바리 센터 대왕범بار리 종자생산 관계관 아래에 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

1. 수질단체 종자 생산 현황

- 4차년도(2020년) 중 번째까지 대왕범بار리 수질단체 모두 총계 길이 9.3kg 생산되었 으며, 모두 종자생산에 사용됨(표 1, 그림 1)
- 생산한 수질단체는 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) Co L4의 일대시일(독상수조)과 필리핀계 시일(독상수조)을 이용하여 종자생산에 사용하였음(표 1, 그림 2)
- 종자생산용 일지에 계절별 양의 수질단체 생산하지 못한 사례(2건)은 이 보고서에서 제외하였음

표 1. 베트남 현지 대왕범بار리 수질단체 및 종자 생산현황(2020년 4차년도, '20년)

수질단체	생산량	종자생산
08-27 (1시)	3.0 kg	종상수조 12만 마리
09-11-12 (2시)	4.5 kg	종 상 4.0 kg 종상수조 8.8 kg 3만 마리
09-24-25 (3시)	2.0 kg	종 상 1.5 kg 종상수조 4.3 kg 3만 마리
총계	9.5 kg	총계 43.5만 마리

* 수질단체 생산량은 일지 직원 투입량 기준임

대왕범بار리 종자생산 보고서-2 [대왕범بار리 20만 마리]

2020년 10월 27일

2단계 4차년도 중 범바리 센터 대왕범بار리 종자생산 등 번째 관계관 아래에 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

1. 수질단체 종자 생산 현황

- 4차년도(2020년) 중 4차 5차에 걸쳐 수질단체 생산하였음(표 1, 그림 1), 이 중 5차 생산한 수질단체(1.5리터)는 모두 필리핀계 종자 생산
- 생산한 수질단체는 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) Co L4의 일대시일(독상수조)과 필리핀계 시일(독상수조)을 이용하여 종자생산에 사용하였음(표 1, 그림 2)

표 1. 베트남 현지 대왕범بار리 수질단체 및 종자 생산현황(2020년 4차년도, '20년)

수질단체	생산량	종자생산
08-11-12 (4시)	4.0 리터	종상수조 1.5리터 2만 마리
08-16 (3시)	1.0 리터	종 상 2.5리터 11.5만 마리
08-16 (3시)	1.0 리터	종 상 1.0리터 4만 마리
총계	5 kg	총계 20만 마리

* 수질단체 생산량은 일지 직원 투입량 기준임

- 5차년도(2021년)

대왕범بار리 종자생산 보고서 [대왕범بار리 73.5만 마리]

2021년 12월 6일

2단계 5차년도 중 범바리 센터 대왕범بار리 종자생산 등 번째 관계관 아래에 같이 보고함

한국해양과학기술원 노 중 권

1. 수질단체 종자 생산 현황

- 5차년도(2021년) 중 4, 5차 수질단체 모두 5.0리터 생산되었음, 모두 종자생산에 사용하였음(표 1, 그림 1)
- 생산한 수질단체는 필리핀계(2019년 국립생태원 수조용) Co L4의 일대시일(독상수조)과 필리핀계 시일(독상수조)을 이용하여 종자생산에 사용하였음(표 1, 그림 2)

표 1. 베트남 현지 대왕범بار리 수질단체 및 종자 생산현황(2021년 5차년도, '21년)

수질단체	수질단체 일지량	종자생산
3월 23일(1시)	2.0리터	31.5만 마리
4월 24일(2시)	2.0리터	31.5만 마리
5월 11일(3시)	1.0리터	22만 마리
6월 15일(4시)	1.0리터	22만 마리
7월 11일(5시)	1.0리터	22만 마리
8월 11일(6시)	2.0리터	44만 마리
8월 25일(7시)	2.0리터	44만 마리
총계	11.0리터	73.5만 마리

* 수질단체 생산량은 일지 직원 투입량 기준임

사. 수출액

연도	수출품목	수출액		
		수출일	수출국	수출금액(USD)
2차년도	대왕범بار리 종자	2018.01 ~	베트남	271,000
3차년도	대왕범بار리 종자	2019.11 ~ 2019.12	베트남	536,465
4차년도	대왕범بار리 종자	2020. 09 ~ 2020. 10	베트남	667,454
5차년도	대왕범بار리 종자	2021.08 ~ 2021.09	베트남	578,000
“	“	2021.12	베트남	146,000 (합계 미반영)
			합계	2,052,919

Vietcombank SAO KẾ TÀI KHOẢN
Account statement

Chủ tài khoản/account name: CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN

CF: 01532148
Số tài khoản/account number: 006100159937
Loại tiền/currency: VND
Ngày thực hiện/Date: 01/12/2019
Chi nhánh/Branch: Khánh Hòa

Từ ngày/From: 01/11/2019 Đến ngày/To: 04/12/2019

Số dư đầu kỳ/carryed balance: 14,59,680

Ngày GD / CT Date	Số tiền ghi nợ / Debit	Số tiền ghi có / Credit	Số dư / Remaining B/C	Nội dung chi tiết / Description in detail
11/11/2019	0.000.000.000	0.014.139.880	TRAI SAN THIE GO THUY MAT	
04/12/2019	3.420.000.000		TRAI SAN THIE GO THUY MAT	
Tổng số / Total	3.420.000.000	0.014.139.880	12.420.200.000	
Số dư cuối kỳ / Balance			12.434.359.880	

Xác nhận của ngân hàng / bank's confirmation
P. DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

Vietcombank SAO KẾ TÀI KHOẢN
Account statement

Chủ tài khoản/account name: CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN

CF: 001532148
Số tài khoản/account number: 006100159937
Loại tiền/currency: VND
Ngày thực hiện/Date: 23/11/2020
Chi nhánh/Branch: Khánh Hòa

Từ ngày/From: 25/10/2020 Đến ngày/To: 22/11/2020

Số dư đầu kỳ/carryed balance: 5.342.754

Ngày GD / CT Date	Số tiền ghi nợ / Debit	Số tiền ghi có / Credit	Số dư / Remaining B/C	Nội dung chi tiết / Description in detail
04/11/2020		4.500.000.000	4.500.342.754	NGUYEN THI HOANG
09/11/2020		5.000.000.000	9.500.342.754	LE THI THU THAO CT
14/11/2020		1.900.000.000	11.400.342.754	NGUYEN DUC THINH NT
Tổng số / Total	0.000.000.000	11.400.000.000	11.400.342.754	
Số dư cuối kỳ / Balance			11.407.262.754	

Xác nhận của ngân hàng / bank's confirmation
P. DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

Vietcombank SAO KẾ TÀI KHOẢN
Account statement

Chủ tài khoản/account name: CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN

CF: 001532148
Số tài khoản/account number: 006100159937
Loại tiền/currency: VND
Ngày thực hiện/Date: 18/03/2021
Chi nhánh/Branch: Khánh Hòa

Từ ngày/From: 25/02/2021 Đến ngày/To: 05/03/2021

Số dư đầu kỳ/carryed balance: 3.881.014,29

Ngày GD / CT Date	Số tiền ghi nợ / Debit	Số tiền ghi có / Credit	Số dư / Remaining B/C	Nội dung chi tiết / Description in detail
25/2/2021		380.000.000	4.161.014,29	NGUYEN THI CHE CT
28/2/2021		500.000.000	4.661.014,29	CAO DONG PHUC CT
01/3/2021		1.200.000.000	5.861.014,29	KH LI PHAN BAO NGOC NT
04/3/2021		1.200.000.000	7.061.014,29	VO THI DUNG NT
05/3/2021		600.000.000	6.461.014,29	TRAN THI THAO NT
Tổng số / Total	0.000.000.000	3.880.000.000	6.461.014,29	
Số dư cuối kỳ / Balance			3.881.014,29	

Xác nhận của ngân hàng / bank's confirmation
P. DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

<'19년 수출실적>

<'20년 수출실적>

Vietcombank SAO KẾ TÀI KHOẢN
Account statement

Chủ tài khoản/account name: CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN

CF: 001532148
Số tài khoản/account number: 006100159937
Loại tiền/currency: VND
Ngày thực hiện/Date: 16/09/2021
Chi nhánh/Branch: Khánh Hòa

Từ ngày/From: 01/09/2021 Đến ngày/To: 15/09/2021

Số dư đầu kỳ/carryed balance: 967.770

Ngày GD / CT Date	Số tiền ghi nợ / Debit	Số tiền ghi có / Credit	Số dư / Remaining B/C	Nội dung chi tiết / Description in detail
09/09/2021		1.500.000.000	1.500.967.770	HANH NT
09/09/2021		1.500.000.000	3.000.967.770	THU THAO NT
10/09/2021		1.250.000.000	4.250.967.770	NGUYEN THI THAO NT
13/09/2021		1.500.000.000	5.750.967.770	NGUYEN THI THAO NT
14/09/2021		1.000.000.000	6.750.967.770	NGUYEN THI TIN CT
Tổng số / Total	0.000.000.000	6.750.000.000	6.750.967.770	
Số dư cuối kỳ / Balance			6.750.967.770	

Xác nhận của ngân hàng / bank's confirmation
P. DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

Vietcombank SAO KẾ TÀI KHOẢN
Account statement

Chủ tài khoản/account name: CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN

CF: 001532148
Số tài khoản/account number: 006100159937
Loại tiền/currency: VND
Ngày thực hiện/Date: 29/09/2021
Chi nhánh/Branch: Khánh Hòa

Từ ngày/From: 23/09/2021 Đến ngày/To: 28/09/2021

Số dư đầu kỳ/carryed balance: 3.467.370

Ngày GD / CT Date	Số tiền ghi nợ / Debit	Số tiền ghi có / Credit	Số dư / Remaining B/C	Nội dung chi tiết / Description in detail
23/09/2021		1.250.000.000	1.253.467.370	THU THAO NT
24/09/2021		1.785.000.000	3.038.467.370	VU THI THAO NT
27/09/2021		1.215.000.000	4.253.467.370	VU THI THAO NT
28/09/2021		1.700.000.000	5.953.467.370	NGUYEN QUYNH CHAU NT
Tổng số / Total	0.000.000.000	6.250.000.000	6.253.467.370	
Số dư cuối kỳ / Balance			6.253.467.370	

Xác nhận của ngân hàng / bank's confirmation
P. DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

SALES CONTRACT

DATE: 24 December 2021

[Binh An Aquaculture Co. Ltd., as Seller, hereby confirms having sold to [Khanh Hoa Seafood Investment Co. Ltd.] as Buyer, the following items by this sales contract made on the above date.

ITEM	DESCRIPTION (SIZE)	UNIT PRICE (VND/TALE)	Q'TY (TALES)	AMOUNT (VND)
Tiger Hybrid Grouper Seed	15-20 cm	32,000	59,000	1,680,000,000
	10-15 cm	25,000	73,000	1,825,000,000
	5-10 cm	13,000	125,000	1,625,000,000
TOTAL AMOUNT				5,050,000,000

SELLER: Binh An Aquaculture Co. Ltd.
BUYER: Khanh Hoa Seafood Investment Co. Ltd.

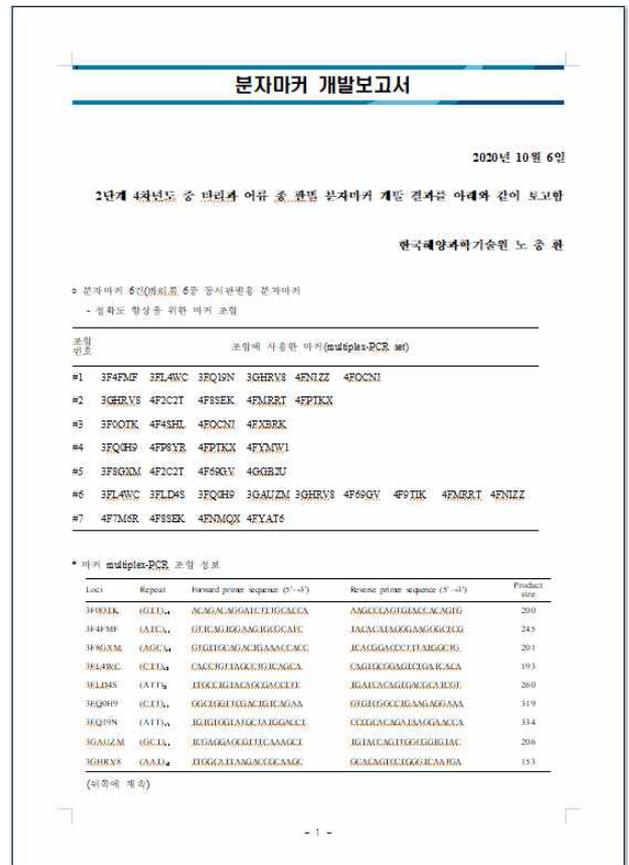
Payment to: Name of account: Binh An Aquaculture Co. Ltd. (CT TNHH TM DV THUY SAN BINH AN) Savings Account No: 0061001159937 Name of Bank: Vietcombank (Branch: Khanh Hoa) Address: 17 Quang Trung, Van Thanh, Nha Trang city, Khanh Hoa province. S.R Vietnam SWIFT code: BFTV VNVX

<'21년 수출실적-입금증>

<'21년 판매계약서>

아. 분자마커

구분	특성	보유건수	주요내용	활용년도
3차년도	바리과 어류 6종 동시판별용 분자마커	5건	대왕바리, 갈색점바리, 자바리, 대왕자바리, 대왕범바리, 능성어를 동시에 판별할 수 있는 보조 분자마커	상시 활용 가능
4차년도		7건	바리과 순종 6종과 교잡종 2종 대상의 마커 조합	
5차년도		6건		
※ 대왕바리/타 바리과 어류 교잡종 인증 및 유통관리에 활용				



<분자마커개발 보고서> 왼쪽 3차년도(2019년), 오른쪽 4차년도(2020년)

자. 육종특성 개발수

연도	대상 특성	기 타
3차년도	대왕자바리의 성장형질	품종별 적정 성장에 적합한 수온
4차년도	대왕자바리와 대왕불바리 성어의 성장 형질 특성	*국내와 동남아 수온 환경에서 비교
5차년도	대왕불바리 성어의 체색 형질 특성	먹이 조절을 통한 붉은 반점/체색 향상

육종특성개발 보고서
(대왕자바리의 성장형질 향상)

2단계 3차년도 중 육종특성개발 결과를 아래와 같이 보고함
2019년 9월 4일
한국해양과학기술원 노 중 환

대왕자바리는 우리나라뿐 아니라 주요 수온 대상국인 대만과 중국에서도 수요가 높으며, 기존의 대왕자바리(慈鯛科의 대왕자바리, 말레이시아 개발품종)보다 고가에 거래될 수 있는 고급품종임. 성장은 양식산업에서 가장 중요한 형질로서 수출 대상국의 시육환경을 감안하여 최대의 성장발현을 유도할 수 있는 적정 사육수온 구별이 필요함. 이를 위해 대왕자바리의 종자의 종보·판매를 위한 기초자료로서 수온에 따른 성장 형질 발현 실험을 수행하였음

1. 어린 시기의 수온별 성장

- 생존율은 대왕자바리의 19°C 수온구에서 실험 시작부터 2주까지 기간 중에 10마리가 폐사한 것을 제외하고는 모두 100%였음. 실험 시작 시에 19°C를 제외한 모든 수온구에서 대왕자바리의 체장과 체중은 저비리보다 유의하게 높은 값을 보였으며(p<0.05, 표 1), 이것은 같은 날 수정된 이후부터 실험 시작까지의 기간 동안 두 품종 간 성장의 차이가 의한 것임
- 같은 품종(대왕자바리와 저비리) 내에서 수온별 성장특성
- 대왕자바리의 체장과 체중은 가장 낮은 19°C 수온과 나머지 세 수온구(23°C, 27°C 그리고 31°C) 사이에서 유의한 차이가 나타났으며, 수온이 높을수록 유의하게 높아지는 경향을 보였음(p<0.05, 그림 1). 저비리에서는 낮은 수온인 19°C와 23°C 수온구에서 체장과 체중의 유의한 차이가 없었음(p>0.05)
- 8주째에 대왕자바리의 일일성장률과 종체율은 19°C 수온구(각각 0.65±0.03%/일과 43.21±3.86%), 23°C 수온구(각각 1.54±0.01%/일과 133.02±1.47%), 27°C 수온구(각각 2.29±0.02%/일과 252.32±12.3%) 그리고 31°C 수온구(각각 2.70±0.01%/일과 340.4±3.08%)로 높은 수온일수록 일일성장률과 종체율이 유의하게 높았음(p<0.05, 표 1)
- 대왕자바리의 비만도는 모든 수온구(19°C, 23°C, 27°C 그리고 31°C)에서 유의한 차이가 없었음(p>0.05, 표 1)

<대왕자바리의 성장형질 발현 향상>

육종특성개발 보고서
(대왕자바리와 대왕불바리 성어의 성장 형질 특성)

2단계 4차년도 중 육종특성개발 결과를 아래와 같이 보고함
2020년 10월 8일
한국해양과학기술원 노 중 환

대왕자바리와 대왕불바리는 우리나라의 고부가가치 어종인 자바리와 불바리 업종과 성장이 매우 빠른 아열대 어종인 대왕바리 수컷의 교잡으로 생산한 품종으로, 어린 시기 동안 각각의 모계 어종에 비해 성장이 월등히 향상되었음. 산업적 이용성이 더 높은 품종을 선택하기 위하여, 이 두 교잡품종 간 성장 특성을 Ludwig von Bertalanffy (LVB)의 성장모델을 이용하여 성어 시기까지 비교한 결과를 이 보고서에 제시하였음

1. 실험 및 분석모델

- 2016년 5월 3일부터 2020년 4월 14일까지 사육한 대왕자바리(월령 6.9-56.3)와 대왕불바리(월령 7.6-57.0)를 대상으로 하였음
- 실험기간 동안 연 2회(3-4월과 9월) 제육을 실시하였으며, 제육일 하루 전에는 결사시켰음
- 두 교잡품종의 체장성장자료에 Ludwig von Bertalanffy (LVB) 성장모델 중 오차항을 더하기 (Additive error)로 가정한 모델과 곱하기(Multiplicative error)로 가정한 모델을 모두 적용시킨 후 두 가지 모델 중 체장과 체중 성장에 각각 적합한 모델을 선정하여, 우도함수법(Likelihood)으로 모수를 추정하였음

2. 결과

- LVB 성장모델을 적용한 체장 성장
- 고려한 LVB 성장모델 중 오차항을 더하기로 가정한 $L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(t-t_0)}] + \epsilon_t$, where $\epsilon_t \sim N(0, \text{var}(\epsilon_t))$ 가 적합하였음
- 대왕자바리의 체장성장식은 $L_t = 56.515 [1 - e^{-0.061(t-1.421)}] + \epsilon_t$ 이었음(그림 1). 이론적 최대 체장(L_{∞})은 56.515 cm 이었고, 성장계수(k)는 0.061 month⁻¹로 산정되었음(표 1, (1))
- 대왕불바리의 체장성장식은 $L_t = 36.650 [1 - e^{-0.069(t-2.199)}] + \epsilon_t$ 이었음(그림 1). 이론적

<대왕자바리와 대왕불바리 성어의 성장 형질 특성>

육종특성개발 보고서

[대왕붉바리의 체색형질 향상]

2년째 5월연도 중 육종특성개발 결과를 아래와 같이 보고함

2021년 12월 6일

한국해양과학기술원 노 중 권

현황(붉바리)는, 현황(붉바리)에 비해 장장이 느린 반면 붉은색을 선호하는 중화권과 동남 아시아에서 부가가치가 높은 것을 예상하고 개발한 품종이지만, 예상과는 달리 체색이 어두웠으며, 사육관리 방법을 개선하여 이를 극복하고자 이 실험을 수행하였음

(가) 파프리카 첨가 사료 공급

체색(반점-spot 포함) 발전에 크게 도움이 되는 카로티노이드계 색소가 다양 함유되어 있고 쉽게 공급할 수 있으면서 저렴한 파프리카를 사료에 5% 첨가하여 공급한 결과와 수조 색상에 따른 체색 발전 효과도 함께 설명한 결과를 제시하였음

(나) 수조색상과 파프리카 첨가 사료 공급 효과

- 붉은색과 흰색 수조를 설치하여 파프리카 첨가사료를 60일(2회/일) 동안 공급하였으나 사료 종류와 수조 색상에 따른 체색의 변화는 관찰되지 않았음(그림 4-2-64)



그림 1 수조색상과 파프리카 첨가사료 공급 효과 실험(12마리/0.5톤)

- 1 -

<대조인>

<붉은 반점 발전인>



<붉은 반점 발전이 가장 뛰어난 개체수조 내>

그림 4-3. 붉은반점 품종 간헐적으로 공급한 실험

- 이에 따라 1톤 용량의 흰색수조에 파프리카 사료를 공급하는 실험을 60일 동안 추가하여 실시하였음(그림 4-2-65와 66)

- 수조 내 설정되었던 관찰할 때 실험구가 현황(붉바리)에 비해 전반적으로 붉은색을 띠지 않은 반점 (spot), 등지느러미 그리고 꼬리지느러미 끝부분이 주황색을 띠고 체색이 밝은 경향을 보였음

- 그러나 마취 후 색도분석 결과 유의미한 차이는 없었음

(다) 순쟁이 공급

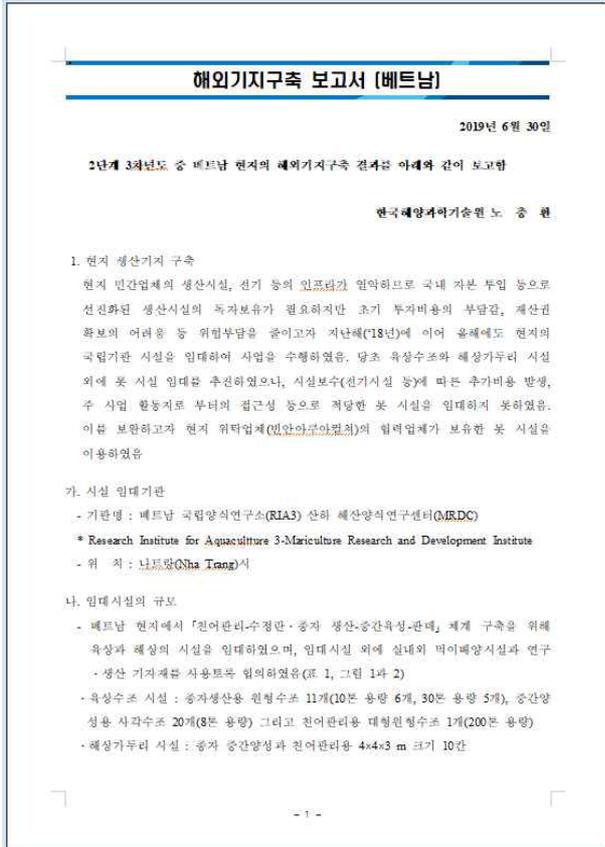
카로티노이드계 색소가 다양 함유되어 있는 순쟁이류를 일반사료에 추가하여 간헐적(주 1, 2회, 6개월)으로 공급한 결과를 제시하였음

- 2 -

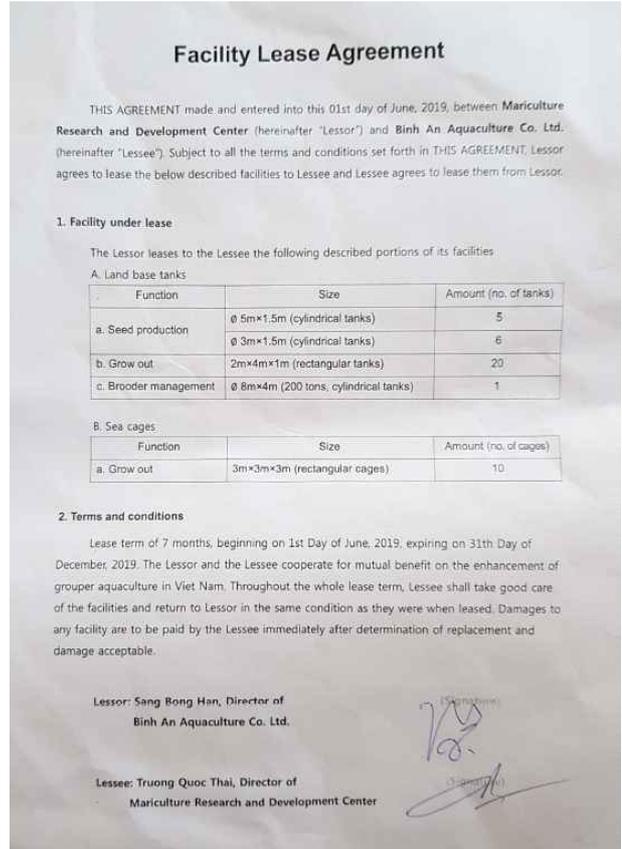
<대왕붉바리의 붉은 반점/체색 형질 향상>

차. 해외기지 구축

연도	내용	기 타
3차년도	베트남국립양식연구소(RIA3-MRDC)의 시설(육상수조, 해상가두리) 일부를 임대 * 임대기간 : 2019년 6월 1일~12월 31일(6개월간)	4차년도에도 임대계약 갱신 후 계속 사용 중



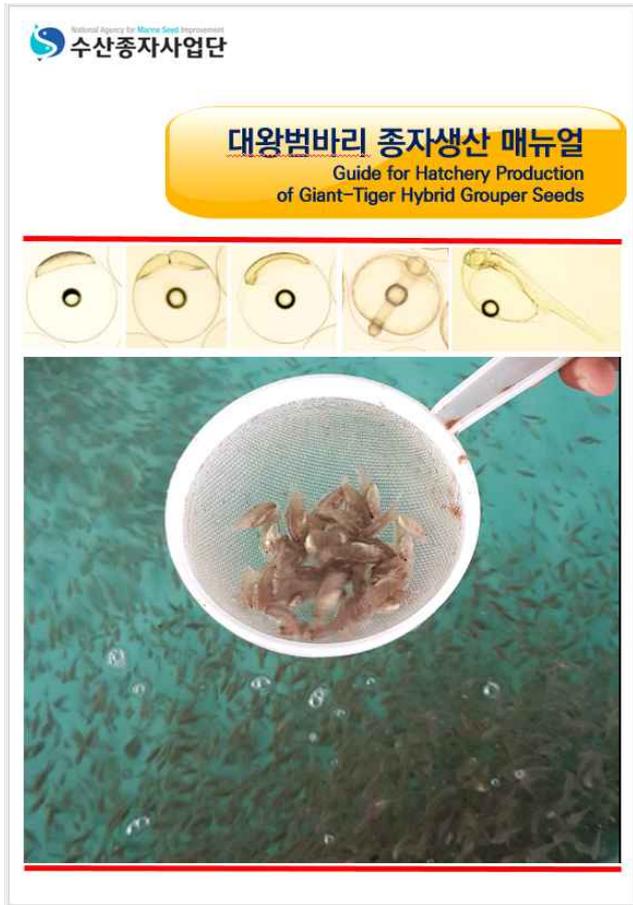
<해외기지구축 보고서>



<임대계약서>

카. 매뉴얼 제작

연도	내용	기 타
3차년도	친어관리, 성숙·산란유도, 채란 및 수정, 종자생산 등 일련의 과정을 통한 대왕범바리의 종자생산	



<매뉴얼-대왕범바리의 종자생산> 왼쪽 앞 표지, 오른쪽 뒷 표지

타. 품종분양보급

연도	내용	기 타
3차년도	대왕범بار리 수정란 1.5 리터 분양	

CONFIRMATION OF TRANSFERRING

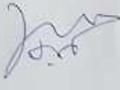
Date: 15/August/2019

Assignor: Binh An Aquaculture Co. Ltd. 270/31 Luong Dinh Cua, Vinh Ngoc, Nha Trang Khanh Hoa, Vietnam	Assignee: Mariculture Research & Development Center Nguyen Tat Thanh Road, Phuoc Dong, Nha Trang Khan Hoa, Vietnam 84-583-710-474
---	--

Total	1,500 cc
--------------	-----------------

No.	Date	Description	Qty (volume)
1	13-07-2019	Fertilized eggs of hybrid grouper (just fertilized stage)	1,000 cc
2	03-08-2019	"	500 cc

We confirmed that the above item have been transferred to Mariculture Research & Development Center (MRDC) to establish the seed production techniques by co-working between MRDC and Binh An Aquaculture Co.

Assignor: Truong Quoc Thai (Director)	Assignee: Han Sang Bong (Director)
 (Stamps and/or Signature)	 (Stamps and/or Signature)

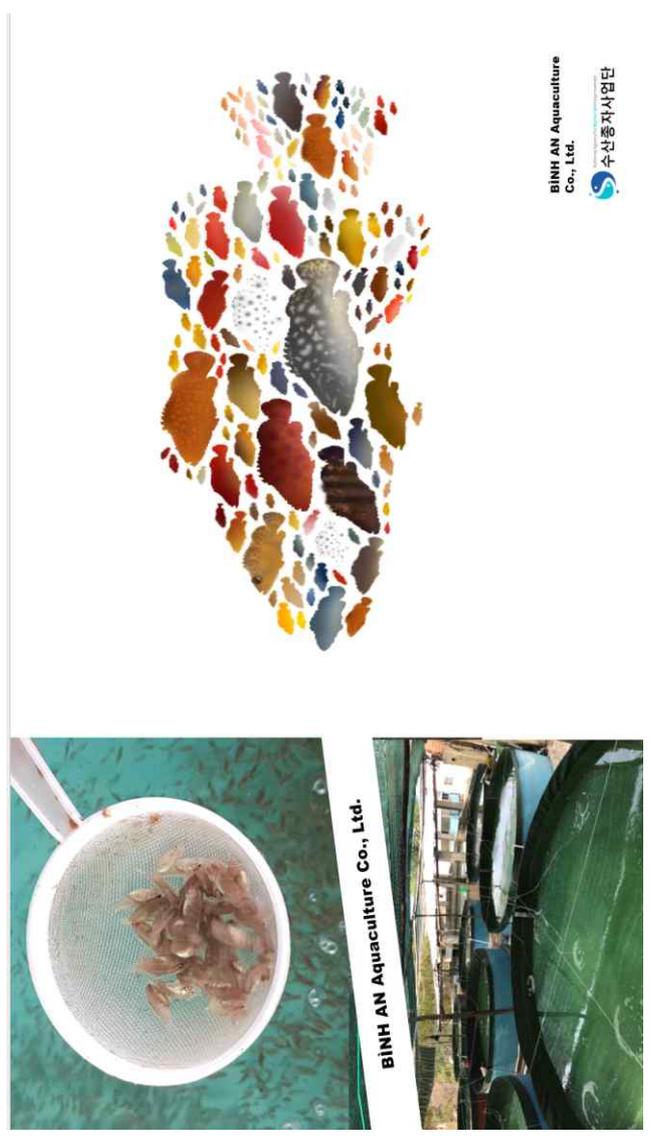
<품종분양 확인서-대왕범바리 수정란>

파. 홍보

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
연도	일자	활용명칭	활용내역
3차년도	2019. 09. 30	국내 생산 대왕자바리, 대왕붉바리 수출용 리플렛	베트남 유통업체 대상 과일형식의 설명자료로 사용
4차년도	2020. 08. 30	베트남 현지 진출기업의 대왕범바리 판매용 리플렛	



<대왕자바리, 대왕붉바리 수출용 리플렛, 3차년도>



<베트남 현지 대왕범바리 홍보용 리플렛, 4차년도>

제 3 절 우량종자 대량생산 기술개발 및 산업화

1. 바리과 친어 확보 및 관리

- 거문도는 연중 12℃ 이상의 수온을 나타내는 지역으로 월동 및 생사료 공급이 용이하고, 붓바리, 자바리, 능성어 등 친어군 확보에 유리하여 거문도 가두리에서 2018년부터 2021년까지 바리과 친어군을 관리
- 친어의 사육환경은 자연 상태에 의존하였고, 7m×7m×5m 가두리에 각각 종별로 입식하였으며, 사료는 까나리, 멸치, 썩치, 고등어, 동갈매기 등을 공급하였으며, 능성어는 친어군을 대량 확보하기보다 거문도 내 친어군을 대량 확보한 업체에 협조받았고, 붓바리와 자바리는 자체 확보한 친어군을 이용하여 종자생산에 활용함.
- 자바리 친어는 제주 어가에 의뢰하여 약 3kg 내외의 자연산 친어를 체포될 때마다 자체 가두리에서 관리하였으며, 2018년 90개체, 2019년 200개체를 확보하여 거문도 가두리로 이송하여 월동하였고, 이송 후 먹이 공급은 최소한으로 하였으며, 기보유 중인 친어와 분리하여 관리함으로써 환경적응으로 인한 개체 간 스트레스를 낮추도록 조성
- 붓바리 친어는 통영 육지도 인근에서 체포된 약 600g 내외의 암컷 친어를 선발하여 매년 일부를 입식하여 약 3천 마리를 유지하였으며, 자바리와 같이 거문도 가두리에 수용하여 관리(그림 2-3-1).



그림 2-3-1. 바리과 친어 관리(A: 능성어; B: 붓바리; C: 자바리).

- 친어의 사료 공급은 능성어, 자바리, 붉바리 모두 동일한 사료를 공급하였으며, 수용개체 수에 따라 조절하였으나 1회 어체중의 1~2%의 생사료를 공급하였고, 동절기 약 1주일에 1회 이후 수온 상승기인 3월부터는 1일 1회, 5월부터는 1일 1~2회를 공급하여 생식소 발달에 충분한 영양분을 공급하여 관리(그림 2-3-2; 표 2-3-1).



그림 2-3-2. 바리과 친어 먹이공급.

- 친어관리 중 망갈이를 제외하고는 가두리내 그물을 들어 올리거나 이동 등의 자극을 주지 않았으며, 특히, 성숙 시기인 5~7월 중에는 먹이 공급 시 섭식을 위해 수면으로 올라오는 개체를 유관으로 확인하여 성숙 유무를 확인하고 성숙 개체 확인할 때 개체를 마취한 후 성숙 유도를 시행하였고, 2021년에는 개체 수가 비교적 많은 붉바리 친어 약 300개체를 육상에서 가온하며 시험 관리하였으며, 먹이 조건은 해상가두리에 수용한 친어과 동일하게 유지함.

표 2-3-1. 바리과 친어 사료 공급 주기

	월											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
사료 공급주기	1회/5~7일		1회/1일		2회/1일				1회/1일		1회/5~7일	
사료원	생사료(까나리, 멸치, 쫄치, 고등어, 동갈메기 등)											
공급량	어체중의 1~2%/1회											

2. 바리와 친어 산란유도 및 수정란 생산

가. 균성숙도

- 능성어와 붉바리는 2018년 이전부터 거문도에서 관리하고 있어 비교적 균성숙도가 높은 반면, 자바리는 친어입식 기간이 짧고 개체수가 적어 양질의 수정란을 얻을 만큼의 균성숙도를 나타내지 못함.
- 바리와 어류인 능성어, 붉바리, 자바리 모두 수온 20℃ 전후에서 성숙하는 것으로 알려져 있으나 능성어와 자바리는 수온 21℃ 이상에서는 대부분 과숙을 하는 것으로 나타났으며, 능성어와 붉바리 모두 23℃ 이상부터는 양질의 수정란을 얻기 힘들어 성숙 수온에 가까울수록 세심한 관찰 필요
- 능성어의 친어군의 성숙 비율은 2018년 12.40%, 2019년 5.65%, 2020년 11.00%, 2021년 8.20%로 4년간 평균 약 9.31%였으며, 붉바리는 2018년 9.80%, 2019년 4.13%, 2020년 21.00%, 2021년 13.30%로 평균 12.06%였고, 자바리는 2018년 9.20%, 2019년 2.86%, 2020년 1.33%, 2021년 8.20%로 평균 3.92%였음.
- 능성어와 붉바리는 약 10%내외의 성숙비율을 보였으나 자바리는 계획생산을 하기 위한 성숙개체수가 매우 낮았으며, 수온, 염분 등의 환경변화에 의한 성숙소 과숙이 비교적 빠르게 진행되 친어군의 대량확보가 요구된다고 판단됨.
- 가두리와 육상수조에서 관리한 바리와 친어의 성숙도를 확인하기 위해 2020년 12월 월동 전 붉바리 친어 300마리를 청솔수산으로 이송하여 가온하며 관리하였고, 동절기(12월~2월)까지는 12~13℃로 유지하였으며, 2021년 3월부터 1주일 간격으로 1℃씩 상승시켜 관리한 결과 약 13.30%가 성숙하여 육상수조에서도 가두리와 같이 성숙이 가능한 것으로 나타났음(그림 2-3-3).
- 한편, 가두리에서 관리한 붉바리 친어는 1~2%정도의 낮은 성숙도를 보였는데 이는 급격한 수온상승으로 인한 성숙교란으로 판단되며, 능성어에서도 유사한 결과를 나타내 육상수조에서 관리를 관리하는 것이 안정적인 종자생산에 유리하다고 판단됨.

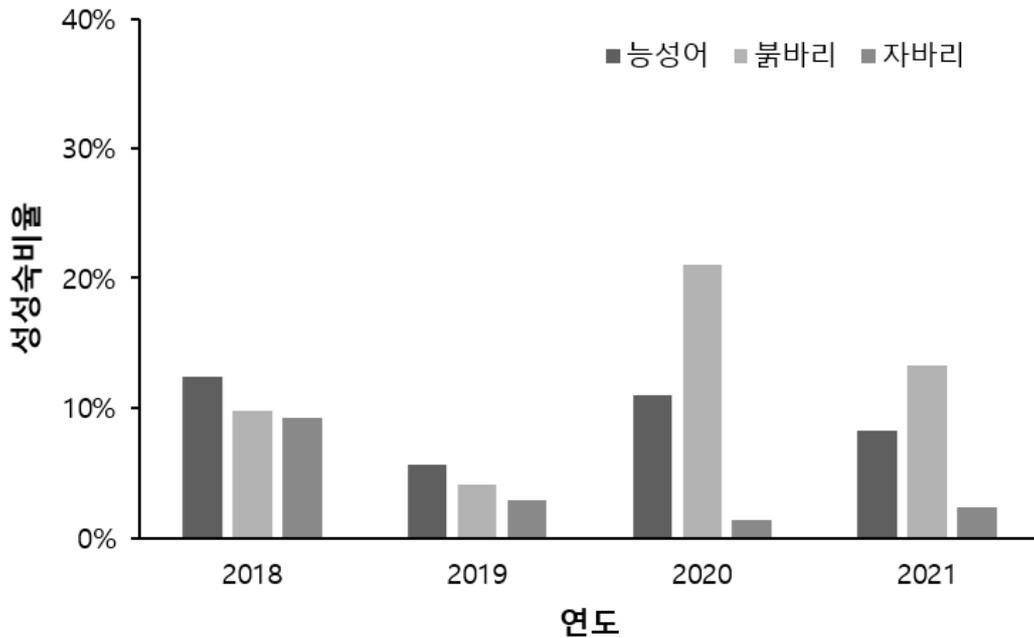


그림 2-3-3. 바리과 어종별 친어의 성숙 비율(%).

나. 산란유도

- 바리과 친어인 능성어(전장 약 80cm), 붉바리(전장 약 40cm), 자바리(전장 약 60cm)의 주 산란 시기인 6월~8월까지 각각 친어의 성숙 정도를 먹이 공급 시 유관으로 확인하였으며, 성숙 진행 정도가 확인된 개체는 별도 관리하며 호르몬을 이용하여 성숙을 유도함.
- 호르몬을 이용한 산란 유도는 능성어, 붉바리, 자바리 모두 동일한 조건으로 수행하였으며, 2-phenoxyethanol (Sigma Co., USA)을 200 ppm 농도로 희석시킨 해수로 마취시켜 어체의 등근육에 LHRH(luteinizing hormone-releasing hormone) 100µg/kg 농도로 주사한 후 분리 수용하여 약 2일간 관찰하며, 성숙 개체에 복부 압박법을 이용하여 채란하여 종자생산에 사용.
- 한편, 능성어, 자바리는 개체의 크기가 붉바리에 비하여 크고 수송에 의한 스트레스로 생식소 흡수 또는 과숙될 가능성이 커 거문도 현장에서 채란 및 수정하여 이동하였으며, 붉바리는 개체를 선별하여 청솔수산으로 이송 후 산란 유도를 시행함.

다. 수정란 생산

- 바리과 어류인 능성어, 붉바리, 자바리의 유효 수정란은 수정 후 부상하며, 침강한 수정란은 부화하지 못하는 특성으로 구분할 수 있으며, 3종의 수정란의 난경은 1, 2세부 연구 결과와 같이 약 770~870µm로 유사한 값을 보임(그림 2-3-4).

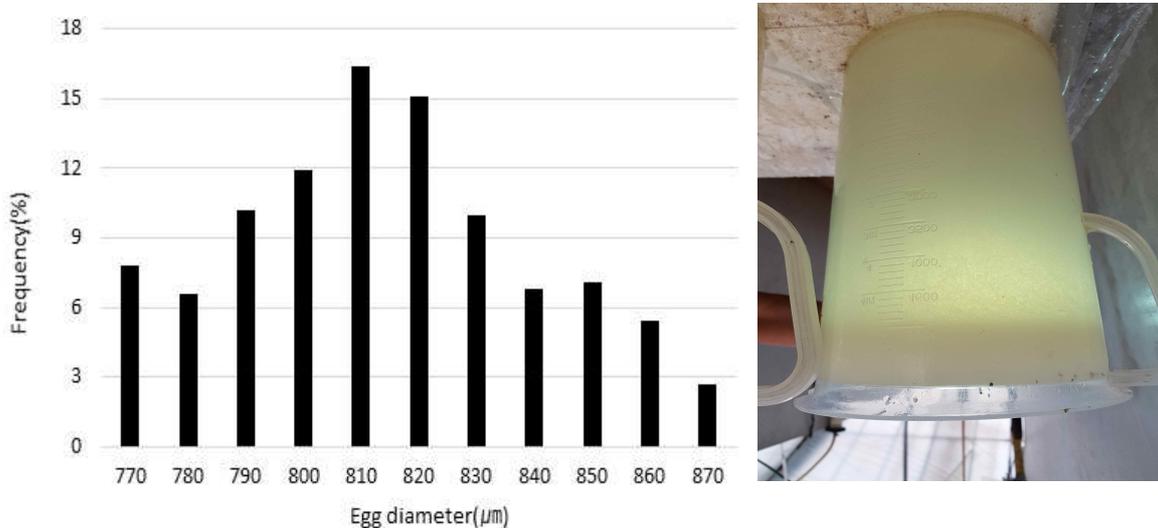


그림 2-3-4. 능성어 수정란의 난경 빈도(%).

- 성숙한 바리과 친어는 2-phenoxyethanol (Sigma Co., USA)을 200 ppm 농도로 희석한 해수에 수용하여 마취 후 복부 압박법을 이용하여 채란하였으며, 능성어 순종을 제외하고 붉바리는 동결보존된 대왕바리의 정액을 이용하여 건식법으로 수정하여 대왕붉바리 수정란을 생산(그림 2-3-5, 2-3-6)
- 바리과 종자별 수정란은 흐르는 해수에 세란 과정을 4~5회 반복하였고, 세란된 수정란은 다시 수집하여 부성란과 침성란을 구분하여 사육 수조에 부성란만 입식함(그림 2-3-7).
- 2018년 능성어 수정란은 약 3,000cc를 생산하였으며, 그 중 부상란은 약 1,000cc로 30%가 유효 수정란이었고, 대왕붉바리 수정란은 약 1,000cc를 생산하였고, 그 중 부상란은 500cc로 약 50%가 유효 수정란 있었다. 자바리는 수온상으로 인한 성숙 교란으로 수정란이 생산되지 않음.



그림 2-3-5. 능성어 수정란 생산 과정.

- 2019년 능성어 수정란은 약 5,000cc를 생산하였으며, 이중 부상란이 약 3,500cc로 약 70%가 유효 수정란이었으며, 불بار리 채란은 2,000cc를 생산하였으나 동결보존된 대왕바리 정액과 수정한 대왕불바리 유효 수정란이 약 500cc로 약 25%가 유효 수정란 있었다. 2018년도와 비교하여 대왕불바리의 유효 수정란이 낮게 나타난 것은 대왕바리 정액의 보관기간이 3년 경과하여 정자의 활력이 낮은 이유도 있었으나 바리과 어류의 특성이 정상적으로 성숙한 경우에도 스트레스에 의한 급격한 난질 변화가 초래될 수 있으므로 향후 연구가 더욱 필요할 것으로 판단됨.
- 한편, 2020년에는 해양수산부 친환경 양식어업육성 지원사업으로 신축하며 종자생산 환경을 개선하여 대량 종자생산의 기반을 다졌으며, 장기간 장마가 유지되어 7월 말까지 성숙수온인 20℃ 전후를 유지하여 능성어 수정란 3,000cc를 생산하여 이중 부상란이 약 2,000cc로 약 66.6%의 유효 수정란을 생산하였고, 대왕불바리 수정란은 약 4,500cc를 생산하여 이중 부상란 약 2,500cc로 약 55.6%의 유효 수정란을 생산하였다. 한편 자바리는 성숙 유도한 4개체가 모두 과숙되어 종자생산에 활용하지 못함.

- 2021년 능성어 수정란은 약 3,000cc를 생산하였으며, 이중 부상란이 30%로 900cc가 유효 수정란이었으며, 불바리는 순종은 약 5,000cc를 생산하여 이중 3,000cc(60.0%)가 유효수정란이었으며, 대왕불바리 역시 약 6,000cc를 생산하여 유효수정란 약 3,000cc(50%)를 확보하였고, 자바리는 약 1,300cc를 생산하였고, 이중 유효수정란 500cc(38.5%)를 입식하였음.



그림 2-3-6. 불바리, 대왕불바리 수정란 생산 과정.



그림 2-3-7. 청솔수산 사육환경.

라. 부화 및 초기 생존율 향상

(1) 환경 조건별 능성어 수정란의 부화율

- 능성어 수정란의 부화율은 부상란을 대상으로 조사하였으며 수온은 자연 수온 조건($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$)으로 동일하게 하였고, 염분농도는 급격한 강우와 담수 유입을 고려하여 연안에서 발생할 수 있는 20, 25, 30, 35psu와 자연 해수(32psu)를 설정하여 조사함.
- 능성어 수정란은 자연 해수와 30psu 이상의 실험구에서는 대부분 90% 이상의 부화율을 나타내어 차이를 보이지 않았으나 20, 25psu 실험구에서는 각각 79.4%, 88.7%의 부화율을 보였으며, 부화까지 걸리는 시간은 약 36시간으로 각 실험구별로 차이를 나타내지 않았고, 선행연구에서도 같은 경향을 보여 부화에 미치는 영향은 수온이 높은 것으로 판단됨(그림 2-3-8).

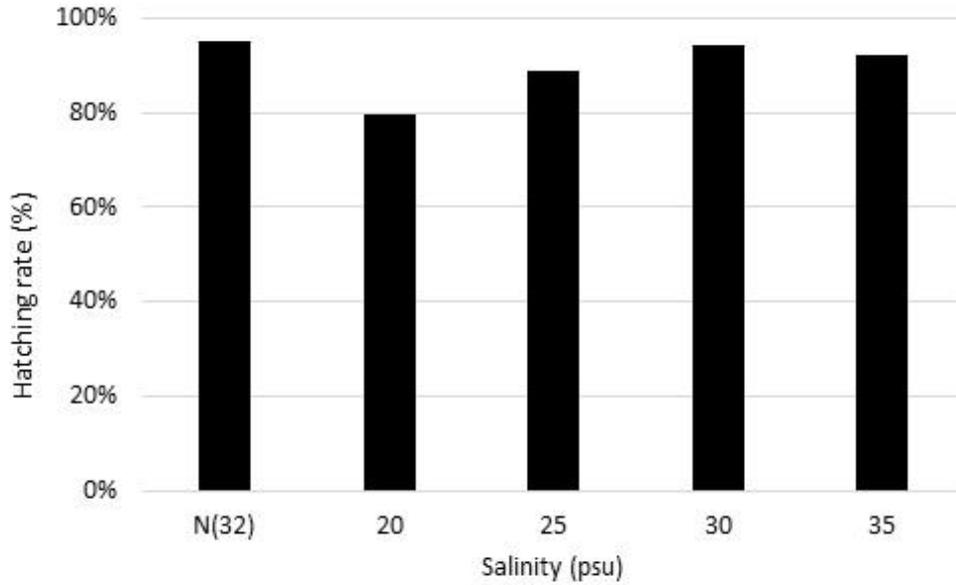


그림 2-3-8. 염분농도에 따른 능성어 수정란의 부화율(%).

- 염분농도에 따른 부화자의 기형율은 저농도 및 고농도에서 비교적 높은 기형율을 보였으나 모두 20% 이하였고, 30psu 실험구와 자연 해수(32psu)에서 각각 9.1%, 9.4%의 낮은 기형률을 보여 자연 해수를 초과하여 공급하는 일반 양식장에서도 생산이 적합하다고 판단됨(그림 2-3-9).
- 또한, 수온에 따른 능성어 수정란의 부화율은 문헌조사를 통하여 기초데이터를 확보한 후 자연 수온(26℃)과 20℃의 실험구를 설정하여 조사하였으며, 자연 해수(32psu, pH 7.98)를 이용
- 각 수온별 부화까지 걸리는 시간은 각각 20℃ 약 48시간이 소요되었으며, 26℃에서는 약 36시간으로 약 12시간 차이가 있었으며, 부화율은 각각 68.4%, 91.5%로 25℃에서 높은 부화율을 보였고, 기형률은 20℃에서 32.8%, 25℃에서 9.8%로 나타나 25℃가 적정 부화 수온으로 판단됨.

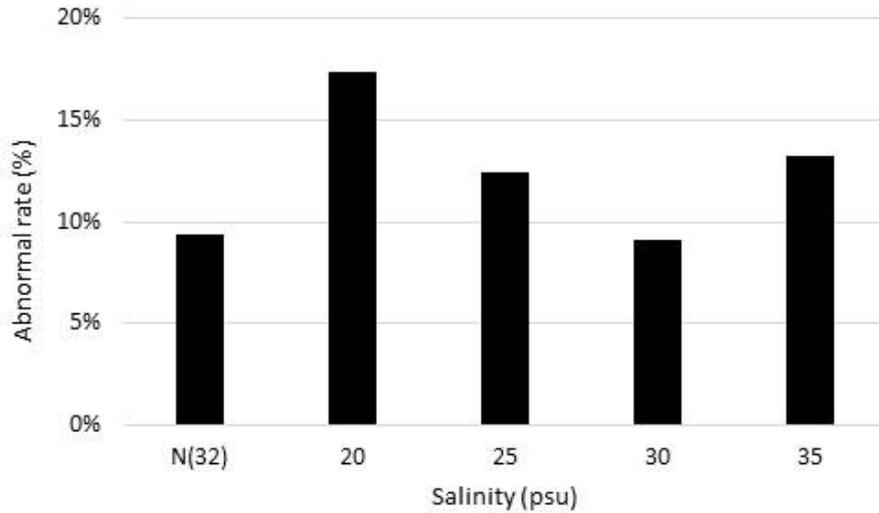


그림2-3-9. 염분농도에 따른 능성어 수정란의 기형률(%).

- 20~23℃에서 수정한 능성어와 대왕불바리 수정란은 약 30~40시간이 경과하며 난발생과정을 마치고 부화하였으며, 모두 난황을 가지고 부화하여 유영하였고, 약 4~5일 이후 난황을 흡수하고, 개구한 뒤 미리 배양된 초기 먹이생물을 섭이(그림 2-3-10)

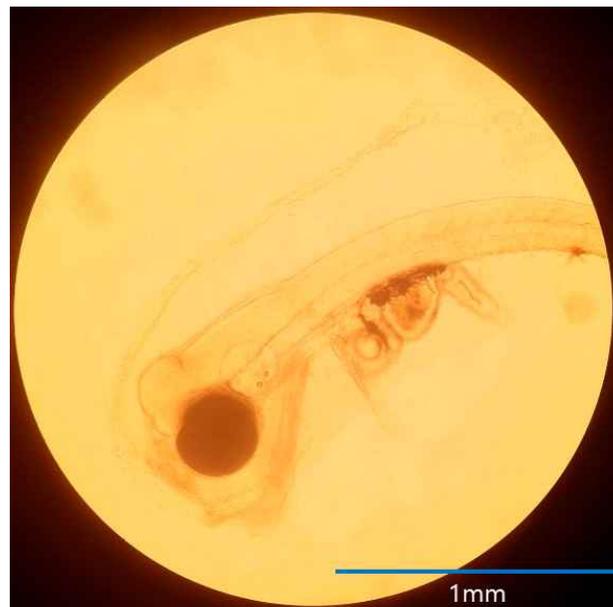


그림 2-3-10. 난황흡수기의 능성어 자어(부화 4일).

(2) 능성어 초기 부화자어의 환경조건

- 초기 먹이생물을 섭식하기 전 난황의 영양물질로만 생존하는 기간은 해양생태계에서 매우 미약한 존재로서 물리화학적 환경에 대한 매우 약한 내성을 지니고 있으며, 특히, 난황을 흡수하고 개구가 되더라도 유영 능력이 약하여 먹이생물을 쉽게 찾아 섭이하는 것이 어려워 대부분 근접한 먹이생물만을 대상으로 섭이하는 행동을 반복함.

- 초기 부화자어의 생존율을 높이기 위한 환경조건을 구명하기 위해 냉각기와 히터를 활용하여 수온을 20, 23, 26, 29℃로 유지하고 23℃에서 사육하고 있는 능성어 부화자어를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였으며, 능성어 부화자어는 순응 기간 없이 투입되었고, 4시간 동안 생존율을 조사를 시행함.
- 능성어 부화자어의 수온별 생존율은 20, 23, 26℃에서는 각각 96.7, 98.3, 98.3%로 모두 90% 이상으로 나타났으며 유의한 차이를 보이지 않았으나 29℃ 실험구에서는 41.7%로 타 실험구와 유의한 차이를 보여 25℃ 전후가 적정환경으로 판단됨(그림 2-3-11).

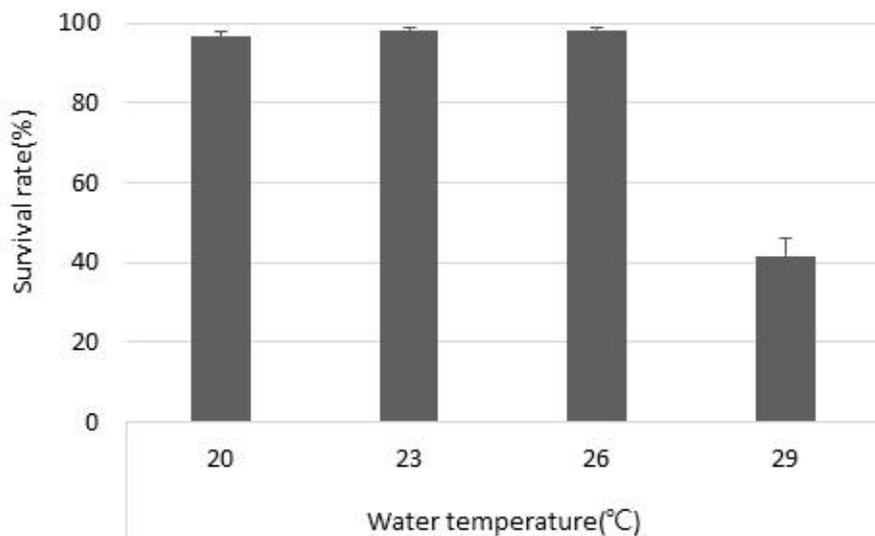


그림 2-3-11. 능성어 부화자어의 수온별 생존율.

- 천일염과 증류수를 이용하여 염분농도를 20, 25, 20, 35psu로 유지하고 31psu에서 사육하고 있는 능성어 부화자어를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였으며, 능성어 부화자어는 순응 기간 없이 투입되었고, 4시간 동안 생존율을 조사를 수행함.
- 능성어 부화자어는 25psu 실험구의 생존율은 96.7%였으며, 30, 35psu 실험 구에서는 생존율이 100%로 생존하였고, 20psu 실험구에서는 45.0%의 생존율을 보여 낮은 생존율을 보임(그림 2-3-12).
- 20psu 실험구는 순치 기간 없이 노출되 급격한 염분 충격에 의한 결과로 생각되며, 장마 또는 담수의 급격한 유입이 초기 자어의 생존에 영향을 미칠 수 있을 것으로 예상되 25psu 이상의 염분농도를 유지하는 것이 중요할 것으로 판단됨.
- 또한, 여과해수의 pH를 각각 6, 7, 8, 9로 설정하고 pH 7.82에서 사육하고 있는 능성어 부화자어를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였고, 능성어 자어는 순응 기간 없이 투입되었으며, 3반복으로 실험하였고, 4시간 동안 생존율을 조사를 수행함.
- 능성어 부화자어는 pH 7, 8 실험구에서는 생존율이 모두 100%로 생존에 적합한 농도였으나 pH 6과 9에서는 각각 6.67, 0%의 생존율을 보여 낮은 생존율을 보임(그림 2-3-13).
- 초기 종자생산 단계에서는 지수식으로 사육하며, 약 70일째까지 선별과 이동 없이 사육

하므로 pH가 7.8 전후의 조건을 유지하는 것이 바람직하다고 판단됨.

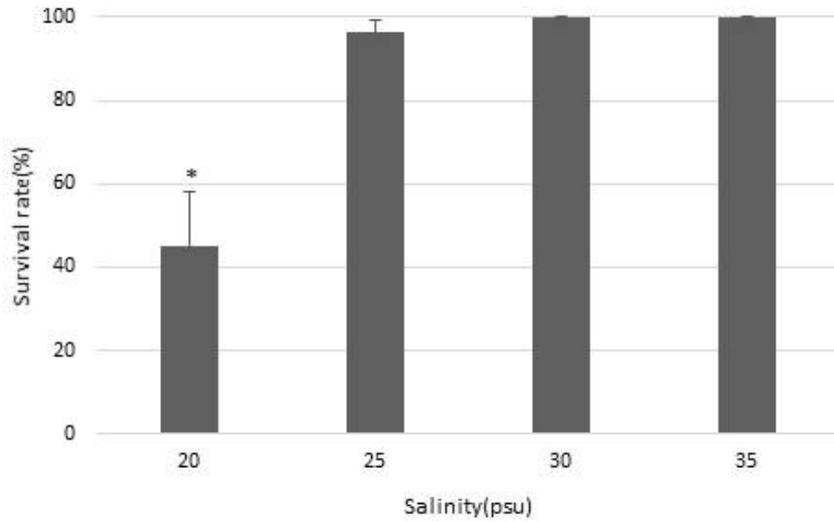


그림 2-3-12. 능성어 부화자어의 염분농도별 생존율.

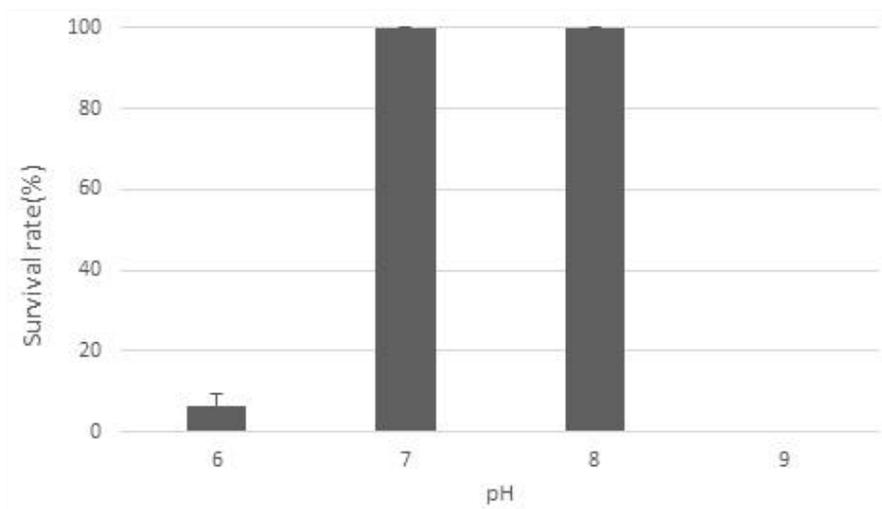


그림 2-3-13. 능성어 부화자어의 pH 농도별 생존율.

(3) 대왕붉바리 초기 부화자어의 환경조건

- 대왕붉바리 부화자어의 초기 생존율을 높이고자 냉각기와 히터를 활용하여 수온을 20, 23, 26, 29℃로 유지하고 26℃에서 사육하고 있는 난황 흡수기의 대왕붉바리 자어(평균 2.21±0.11mm)를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였다. 수온 외의 환경은 염분 28psu, DO 7.08mg/L, pH 7.65였으며, 대왕붉바리 자어는 각 실험구에 즉시 분주하였고, 4시간 동안 생존율을 조사하고, 모든 실험은 3반복으로 시행함.
- 각 실험 수온에 노출된 대왕붉바리 자어의 수온별 생존율은 20, 23, 26℃에서는 각각 96.67%, 98.33, 98.33%로 모두 90% 이상으로 나타났으며 유의한 차이를 보이지 않았으나 29℃ 실험구에서는 73.33%로 타 실험구와 유의한 차이를 보였으나 능성어 부화자어의

생존율인 41.7%에 비하여 높은 생존율을 나타냄(그림 2-3-14).

- 20°C 에 노출된 대왕불바리 자어는 초기 움직임이 둔화하였으나 약 2~30분 뒤 정상적인 행동 패턴을 보였고, 29°C 실험구에서는 빠른 호흡을 보이다 점차 행동이 둔화되고 일부 개체에서 폐사가 나타났으나 이후 안정된 개체는 환경에 적응하는 모습을 보여 교잡종이 고수온에 비교적 높은 환경적응성을 가지는 것으로 생각되며, 단계적 수온 상승 조건에서는 보다 높은 생존율을 나타낼 것으로 예상됨.

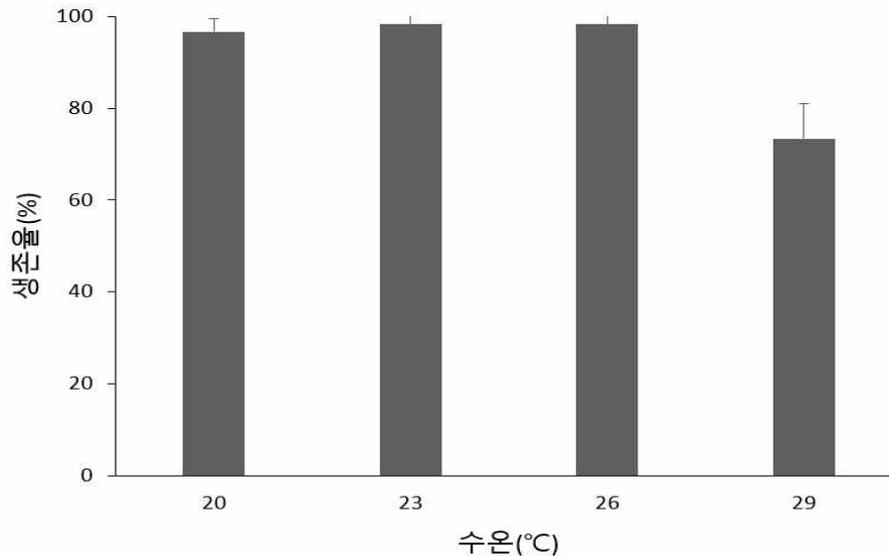


그림 2-3-14. 대왕불바리 부화자어의 수온별 생존율.

- 또한, 염분농도를 20, 25, 30, 35psu로 유지하고 약 20psu에서 사육하고 있는 난황 흡수기의 대왕불바리 자어를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였으며, 염분 외의 환경은 수온 26°C, DO 7.10mg/L, pH 7.68였고, 대왕불바리 부화자어를 각 실험구에 분주 후 4시간 동안 생존율을 조사를 수행함.
- 대왕불바리 부화자어는 25psu 실험구의 생존율은 100.0%였으며, 20, 30psu 실험구에서는 생존율이 각각 93.3, 95.0%로 나타났고, 35psu 실험구에서 상대적으로 낮은 81.7%의 생존율을 보임(그림 2-3-15).
- 능성어 부화자어의 생존율은 염분농도 20psu에서 45%의 낮은 생존율을 보였으나 대왕불바리 부화자어는 93.3%의 비교적 높은 생존율을 보여 광염성 특성을 가지는 것으로 보이나, 초기 수정란 입식에서 부화까지 환경이 20psu 전후의 염분농도에 순응하고 있었으므로 이미 환경에 적응하였을 경우를 고려할 필요가 있으며, 35psu 실험구에서 81.7%의 비교적 낮은 생존율을 보인 것은 급격한 환경변화에 의한 폐사로 판단됨.

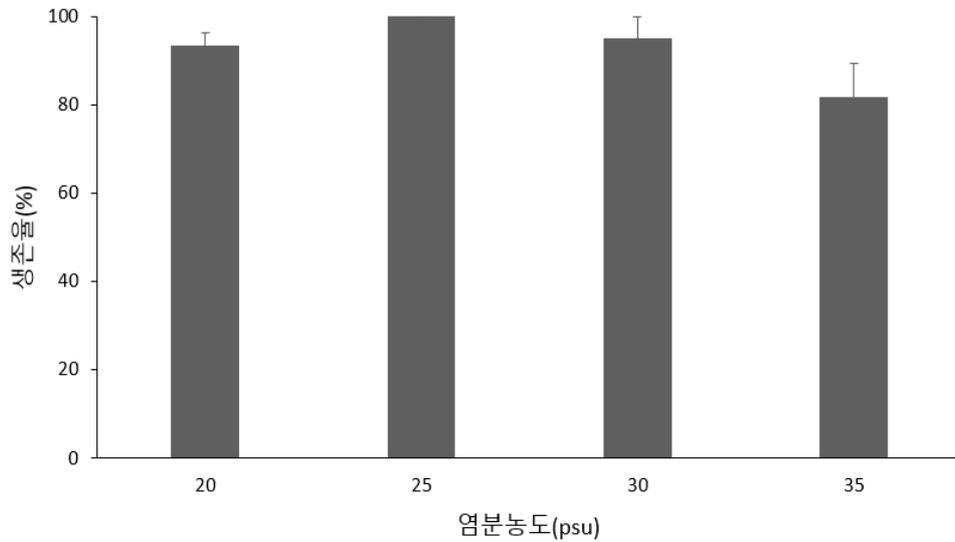


그림 2-3-15. 대왕붉바리 부화자어의 염분농도별 생존율.

- 한편, pH농도별 대왕붉바리 부화자어의 생존율을 조사하기 위하여 여과 해수의 pH를 각각 6, 7, 8, 9로 설정하고 pH 7.62에서 사육하고 있는 난황 흡수기 대왕붉바리 자어를 각각 20개체씩 투입하여 생존율을 조사하였다. pH 외의 환경은 수온 26℃, DO 7.10mg/L, 염분농도는 사육환경에서 큰 차이를 갖지 않는 25psu로 조성하였고, 3반복으로 실험하였으며, 4시간 동안 생존율을 조사를 수행함.
- 대왕붉바리 부화자어는 pH 7, 8 실험구에서는 생존율이 모두 100%로 생존에 적합한 농도였으나 pH 6과 9에서는 각각 13.3, 0.0%의 생존율을 보여 낮은 생존율을 보임(그림 2-3-16).

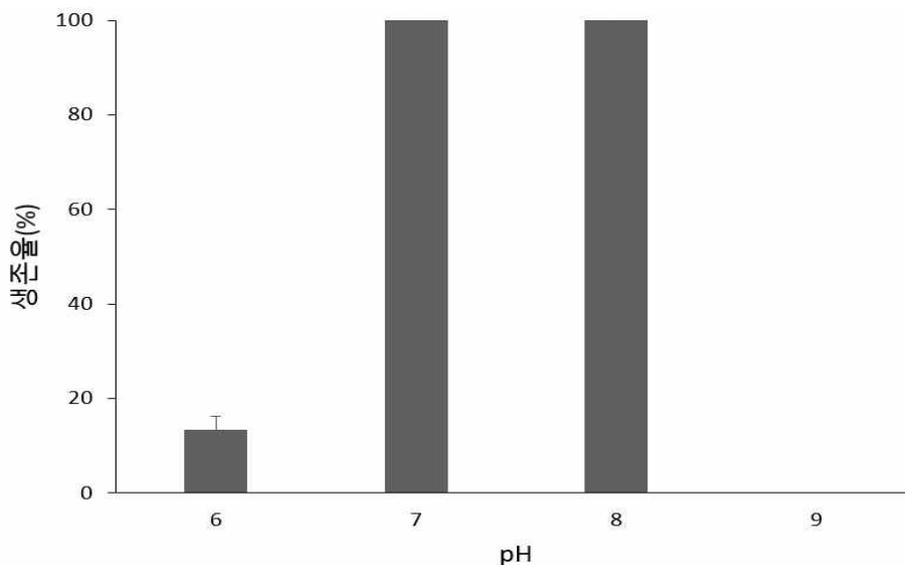


그림 2-3-16. 대왕붉바리 부화자어의 pH 농도별 생존율.

- 해수를 이용하는 양식에서 유수식일 경우 약 염기성의 해수가 지속적으로 공급되기에 pH의 변화가 크게 일어나지 않음.

- 반면, 바리와 종자생산에서는 유속에 따른 기형발생 및 개체간 스트레스, 적정 수온 유지 등으로 배설물, 사체 등을 제거하기 위한 바닥 청소를 제외하고는 초기 사육 시 대부분 지수식으로 사육하므로 pH 조절에 유의하여야 함.
- 본 실험에서도 능성어를 포함한 난황 흡수기 대왕붉바리 자어가 pH가 6, 9에서 낮은 생존율을 보여 적정 사육환경조성이 중요하다고 판단됨.

(4) 대량 종자생산 환경에서의 저염분의 영향

- 상기 데이터를 기반으로 대량 종자생산에 적용하였으며, 2018~2019년 자연환경이 비교적 종자생산에 안정적이었던 반면, 2020년에 장기간 장마로 인한 저염분 기간이 장기화하였으며, 대량생산 수조에서 실제로 능성어와 대왕붉바리를 각각 50t 수조(그림 2-3-17)에 입식한 결과 저염분으로 인한 낮은 부화율을 나타냄(그림 2-3-18).
- 이때 수온은 약 25°C 전후였으며, 염분농도는 21.05psu, pH 7.67, 용존산소 농도는 6.58mg/L였고, 지수 상태에서 산소만 공급하여 부화율을 확인
- 장기간 장마로 인한 낮은 염분농도를 극복하고자 천일염을 별도 수조에 첨가하고, 염분농도를 높인 해수를 일부 주수하는 방식을 사용하였으나 대량의 해수를 적정농도로 완충하기에는 부족하였으며, 특히, 일부 용해되지 않은 천일염의 유입이 우려되어 약 21psu 정도로 유지하였고, 이 상태에서 먹이 생물배양 및 수정란의 부화를 추진함.
- 이후 자연 해수의 염분농도 회복에 따라 점진적으로 염분농도를 높였으나 초기 낮은 염분농도로 인해 유효 수정란 2,000cc 중 능성어의 부화율은 약 1%(약 20,000개체)로 낮았으며, 대왕붉바리는 약 4%(약 180,000개체)로 능성어와 같이 낮은 생산량을 보임.

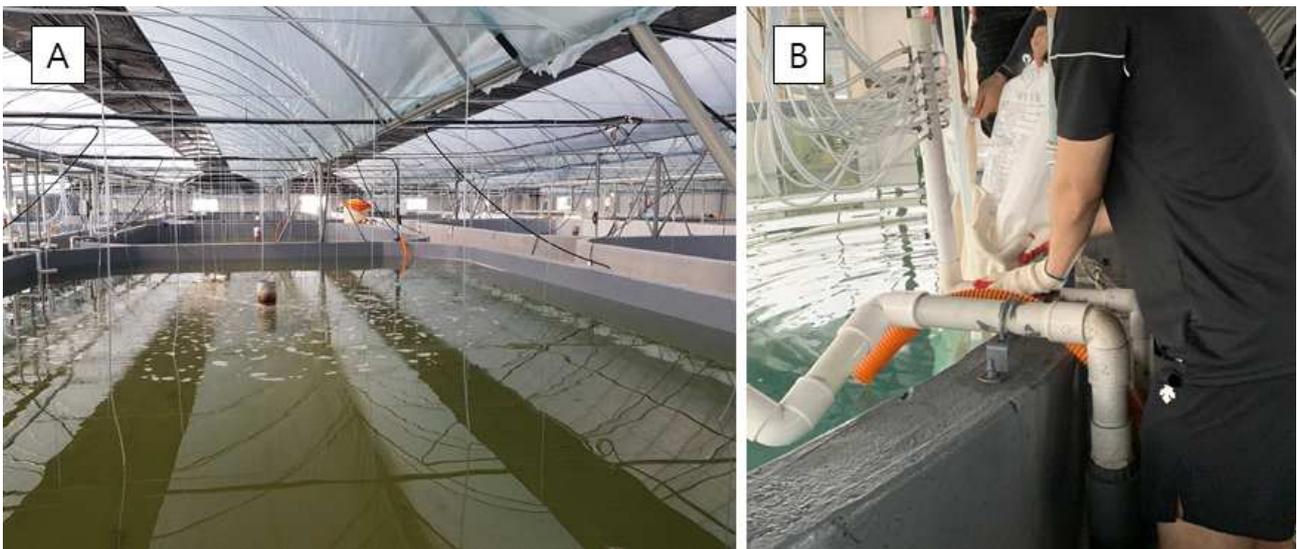


그림 2-3-17. 2020년 바리와 종자생산 사육수조.
(A: 신축 수조 전경; B: 염분농도 유지를 위한 천일염 투입)

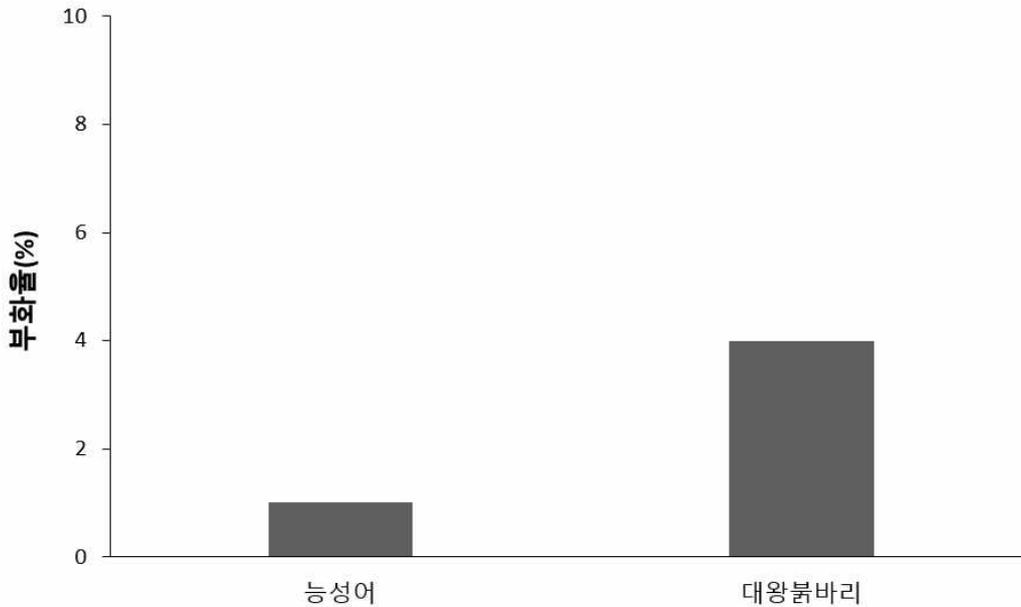


그림 2-3-18. 저염분환경에서 바리과 대량종자생산시 부화율.
(수질환경: 염분 21psu, 수온 26°C, pH 7.67)

3. 종자생산 단계별 먹이공급 방법 개선

가. 부화 자어의 초기 먹이용 microplankton 탐색 및 배양

- 부화자어의 구경과 성장에 적합한 초기 먹이생물을 탐색하며, 탐색종의 대량 배양 가능성을 조사하여 먹이생물로 적용하였고, 배양된 초소형 운충은 Phylum Protozoa 원생동물문, Subphylum Oligotrichida 유모충아문, Suborder Tintinnina 유종아목, Family Tintinnididae 유종충과, Genus Tintinnopsis, *Tintinnopsis beroidea* Stein, 1,867인 것으로 동정됨(그림 2-3-19).



그림 2-3-19. 부화 자어의 초기 먹이용 microplankton.

- 탐색 된 초소형 윤충의 초기 배양조건은 해수 1톤당, N 28~32%, N-NO₃ 4~7%, N-NH₄ 2~4%, N-NH₃ 20~25%, P₃O₃ 13~18%, K₂O 13~18%로 이루어지는 무기물질 4~6g과, 25~35g의 계분, NaNO₃ 1.5~2.0g, Na₂HPO₄·12H₂O 0.2~0.3g, Na₂SiO₃·9H₂O 0.15~0.25g, NaHCO₃ 0.2~0.3, Na₂EDTA 0.2~0.3g로 조성하여 배양하였고, 이후 60~80μm 크기의 초소형 윤충을 16~24℃의 온도 조건 및 10~15psu의 염분 조건에서 *Tetraselmis suecica*를 먹이생물로 하여 배양함.

나. 단계별 먹이생물 적용 부화자어의 생존율 및 대량생산

- 능성어 부화자어를 대상으로 초기 먹이생물인 미소플랑크톤(microplankton) 대량 종자 생산 시 공급과 기간에 따른 생존율과 기형율을 조사하여 먹이생물로서의 적합성과 적정 공급 기간을 탐색하기 위하여 배양된 초소형 윤충을 부화자어에 공급 10~15inds./cc 의 농도로 rotifer를 섭식할 수 있는 시기인 개구 후 5~7일간 공급함(그림 2-3-20).
- 30t 수조 내 능성어 개체의 계수는 무작위로 해수 300mL를 채취하여 개체수를 조사한 후 이를 수량에 산입하여 계수하였으며, 기형은 폐사와 동일하게 구분하여 생존율을 조사를 수행함.
- 초소형 윤충을 섭식한 능성어 부화자어의 7일간 초기 생존율은 1차 조사에서 약 20% 였으며, 부화자어의 기형률은 5, 7일간 초소형 윤충을 공급한 수조에서 약 5% 내외로 차이를 나타내지 않았으나 섭식 기간이 길수록 기형률이 비교적 낮은 결과를 나타내었다. 기존 연구에서 rotifer를 공급하여 사육한 능성어의 경우 초기 10일간 생존율이 9.2%로 보고하였는데(Yasushi Tsuchihashi, 2007) 이와 비교하였을 때 초기 적정 먹이 공급을 통하여 생존율 및 기형률을 낮출 수 있는 것으로 판단됨.



그림 2-3-20. 부화 후 5일째 능성어 자어.

- 2차 실험에서는 1차 실험의 결과를 기준으로 난황 흡수기 이후 부화자어에 초기 먹이생물 공급 기간에 따른 생존율 향상을 조사하기 위하여 대형수조 4개를 이용하여 4, 5, 7, 9일 동안 각각 차등 공급하였고, 1차와 같이 10~15inds./cc 의 밀도로 *Tintinnopsis beroidea* 를 공급하였으며, 이때 각 수조별 능성어 초기 자어의 밀도는 2.5마리/L로 수용함(그림 2-3-21)
- 4, 5, 7, 9일 동안 *Tintinnopsis beroidea*를 공급한 수조에서 생존율은 각각 68.4, 74.0, 76.7, 74.7%로 비교적 큰 차이는 보이지 않았으나(그림 2-3-22), 초기 먹이생물을 보다 오래 공급하는 것이 높은 생존율을 유지하는데 도움이 되는 것으로 판단되며, 로티퍼를 공급하더라도 1~2일은 혼합급이하는 것이 먹이 전환에 따른 바람직하다고 사료됨.
- 1차 실험에 비하여 2차 실험에서 높은 생존율을 나타낸 것은 초기 난질에 대한 영향도 미쳤을 것으로 생각되나 초기 사육환경에서 1차 실험에서는 배설물과 폐사 개체로 인한 수질 영향을 고려하여 바닥을 사이편으로 청소를 수행하였고, 2차 실험에서는 청소를 수행하지 않은 것이 생존율 차이에 큰 영향을 미쳤을 것으로 사료됨.



그림 2-3-21. 바리과 종자 사육수조 전경.

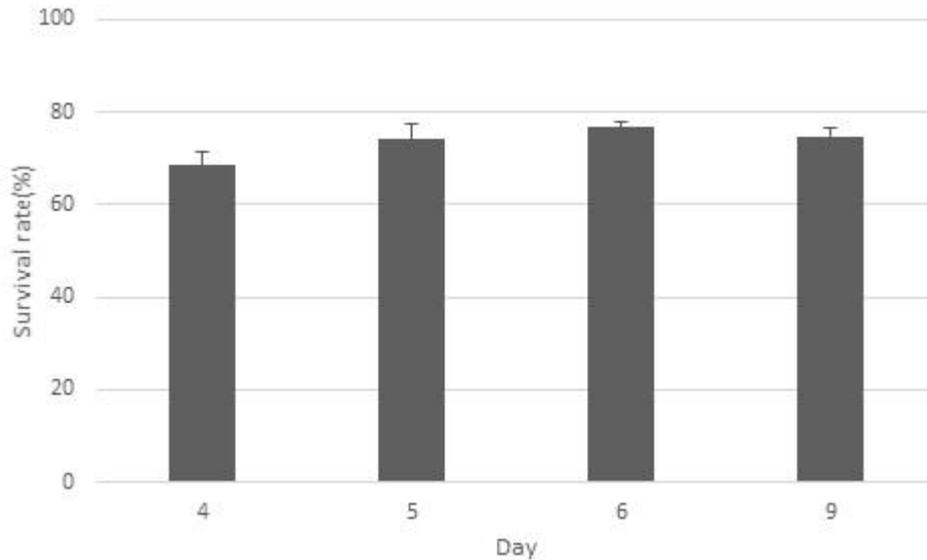


그림 2-3-22. *Tintinnopsis beroidea* 섭이기간에 따른 생존율.

- GSP 연구에서 나타난 바와 같이 국내 서식하는 바리과 순종 또는 교잡종의 경우 종자생산에 있어서 유사한 조건을 적용하여 사육할 수 있었으며 초기 먹이 공급에 따라 기존 연구와 달리 비교적 높은 생산성을 얻을 수 있었음.
- 능성어 및 대왕붉바리(우붉바리+송대왕바리)를 대상으로 대량 종자생산에 있어 단계별 먹이 공급 결과 초소형 윤충인 *Tintinnopsis beroidea*를 미리 배양하고 부화자어의 개구 후 약 5~7일간 공급하는 것이 초기 생존율을 높이고 기형발생을 저감시키는 것으로 나타났으며, 이때는 지수식, 무환수를 기본으로 하고 청소를 최소로 행하여 사육환경변화를 최소화하는 것이 중요하였음
- 개구 후 5~7일째부터는 미리 배양된 클로렐라 및 로티퍼를 초소형 윤충을 대체하여 공급하되 종자 생산시설에 여유가 된다면 *Tintinnopsis beroidea*를 혼합급이하는 것도 방법이나 성장과 먹이생물 배양의 체계를 효율적으로 관리하기 위해서는 5~7일 정도로 유지하는 것이 경제적으로 유리할 것으로 판단되며, 아르테미아를 공급할 수 있는 약 1.5cm(부화 후 약 40~45일)까지 성장할 때까지 유지
- 전장 1.5cm(부화 후 약 45일)까지 성장하면 로티퍼와 아르테미아를 공급하며, 환수량을 1일 1회전으로 하는데 이는 아직 유영능력이 약하고, 적정 수온을 효율적으로 유지하기 위함이며, 선별 없이 지속 관리하였다. 또한, 로티퍼에서 아르테미아로 먹이 단계를 전환할 때 일시에 변경하기보다는 초기에 혼합급이하며 점차 아르테미아로 전환하는 것이 보다 성장과 먹이붙임에 적합하다고 판단되며, 본 종자생산에서는 부화 후 40일째부터 로티퍼와 아르테미아를 혼합급이했고 부화 후 60일째까지 혼합급이를 지속함.
- 바리과 종자의 전장이 1.8~2cm(부화 후 약 60일) 크기로 성장하면 초미립자 사료를 (200~300 μ m 이하) 공급하게 되는데 초기에는 *artemia*와 같이 공급하였으며, 영양강화를 위하여 시중에서 시판중인 copepoda를 같이 공급하여 영양부족으로 인한 기형발생을 예방

하고자 하였고 부화 후 약 80일까지(전장 약 50mm) 공급함.

- 이후 입자 크기 약 1mm의 배합사료를 반복 급이하여 약 6~8cm 까지 성장시켰고, 출하 종자까지 사육하는데 약 90일 정도 기간이 소요됨(그림 2-3-23, 2-3-24).



그림 2-3-23. 바리과 종자 단계별 먹이 공급 및 영양강화용 copepoda.

- 한편, 종자생산시 성장에 따라 사육밀도를 낮추기 위하여 타 수조로 분주를 하되, 종자의 손실을 최소화하고자 사육수를 이송하는 방식을 이용하였으며, 부화 후 약 60~80일째까지 선별하지 않기에 질병 발생과 공식에 주의하여 관리가 필요
- 2021년 종자생산에서 이상 고수온으로 비브리오 질병이 발생하여 바리과 종자(능성어, 대왕붉바리, 붉바리)의 폐사가 발생하였고, 질병 발생에 시 종자의 상태에 따라 여유 수조에 분주 후 밀도를 낮추고 약제를 이용하여 약욕을 수행해 회복을 돕는 것이 바람직하다고 판단됨.



그림 2-3-24. 바리과 치어 및 출하 종자.

- 60일째(전장 18~20mm) 이후부터는 종자를 선별하여 크기 차에 의한 성장 저하를 예방하였으며, 선별시 기형개체는 바로 제거하였다. 주로 기형 개체는 초기에 자연 도태되거나 생존한 기형개체는 대부분 선별과정에 제거하였음.
- 기형의 형태는 단순기형, 등지느러미가 척추 방향으로 함입되거나, 꼬리자루가 굽은 형태 등이 있으나 이러한 기형 개체는 비교적 쉽게 구분할 수 있어 선별이 아니라도 수시로 제거하였고, 아가미를 덮는 새개의 발달이 늦거나 결손되어 일부 아가미가 일부 노출되는 개체 또는 지느러미 일부의 기형은 선별과정과 출하전 검수에서 제거하여 단계별 먹이생물을 적용한 연차별 바리과 우량 종자 생산량은 2018년 3,500백마리, 2019년 4,200백마리, 2020년 1,600백마리, 2021년 5,500백마리를 생산하였음(그림 2-3-25).

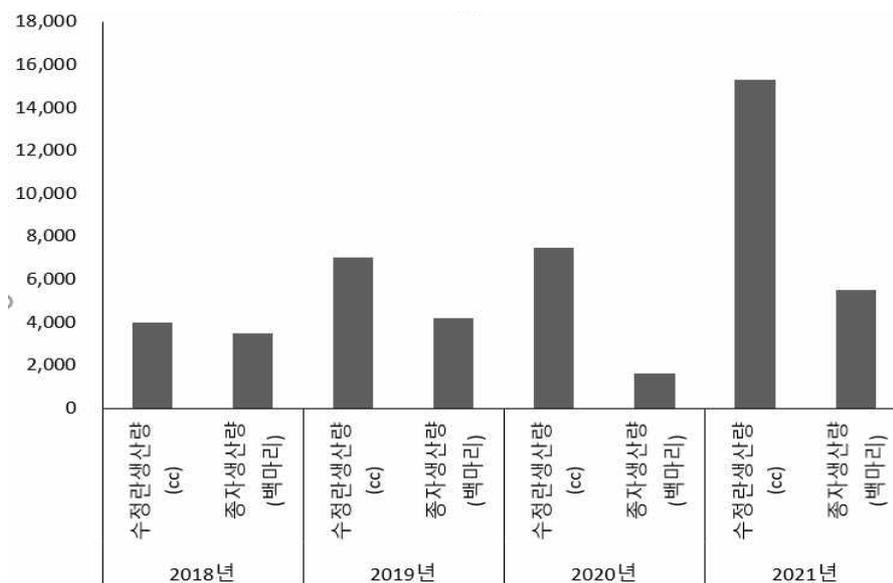


그림 2-3-25. 연차별 바리과 우량 종자 생산량.

4. 연구성과

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

성과목표	특허		논문		해외 기지 구축	MOU 체결	기술 실시 (이전)	종자 생산 (천마 리)	유통 채널 구축	친어 자원(종/마 리)	홍 보	품 종 설 명 회	관 매 업 체 확 보	국내 매출액 (백만 원)	종자 수출액 (만불)
	출 원	등 록	SCI	비 SCI											
최종목표	3	1		3			1	1,700		1/50				650	245
1차 년도	목표														
	실적														
2차 년도	목표			1			1	300			1		2	120	65
	실적			-			1	350		1/90	2	1	9	352.8	-
3차 년도	목표	1		1			1	400		1/50	1	1	1	150	60
	실적	-		1			-	420		1/200	1		24	499	-
4차 년도	목표	1		-				300			1	1	2	180	30
	실적	-		-				160			-		1	80	6.6
5차 년도	목표	1	1	1				700			1	1	1	90	90
	실적	-	-	-				550			1	2	1	161	-
소계	목표	3	1		3		1	1,700		1/50	4		6	650	245
	실적	-	-		1		1	1,480		1/290	4		35	1092.8	6.6
종료1차년도															
종료2차년도															
종료3차년도															
종료4차년도															
종료5차년도															
소계				3			1	1,700		1/50	4		6	650	245
합계	-	-		1			1	1,480		1/290	4		35	1092.8	6.6

나. 논문

논문명	저자	학술지정보	학술지구분
능성어 (<i>Hyporthodus septemfasciatus</i>) ♀ × 대왕바리 (<i>Epinephelus lanceolatus</i>) ♂ 수정란의 난발생	노충환, 윤낙진	한국어류학회지 2019, 31(1):23-29	KCI

농성어 (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀ × 대왕바리 (*Epinephelus lanceolatus*) ♂ 수정란의 난발생

노충환* · 윤낙진¹

한국해양과학기술원, ¹청송수산

Embryonic Development of Fertilized Eggs of Convict Grouper (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀ × Giant Grouper (*Epinephelus lanceolatus*) ♂ by Choong Hwan Noh* and Nak Jin Yoon¹ (Korea Institute of Ocean Science & Technology, 385 Haeyang-ro, Yeongdo-gu, Busan 49111, Republic of Korea; ¹Cheong Sol Fisheries Co., Muan, Jeonnam 58509, Republic of Korea)

ABSTRACT The embryonic development and hatchability of the artificially fertilized eggs of convict grouper (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀ × giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*) ♂ (CGGG) were compared to those of the maternal pure species (convict grouper ♀ × ♂, CG) to establish a novel grouper hybrid for aquaculture industry. The fertilized eggs were divided into nine 5-L beakers (3,000~5,000 eggs/beaker) filled with UV sterilized seawater and incubated at a temperature range of 23.5~24.8°C (32.1~32.8 psu). The percentages of fertilization and hatching of CGGG were 69.4±1.5% and 59.0±5.1%, respectively and were significantly lower than those of CG ($p < 0.05$). The CGGG proceeded normal embryonic development similar to that of CG, but showed an irregular cleavage, immature embryonic body and spinal deformity in hatched larvae. The incubation time from fertilization to hatching of CGGG was 31 hrs, which was approximately 2 hrs slower than that of CG. Our study provided the possibility of mass production of grouper hybrid CGGG larvae.

Key words: *Hyporthodus septemfasciatus*, *Epinephelus lanceolatus*, grouper hybrid, embryonic development, hatched larvae deformity

서 론

바리과 (family Serranidae)에 속하는 어종은 자원량 감소에 따라 우리나라 뿐만 아니라 아시아 아열대 지역의 국가(중국, 대만 그리고 동남아)와 지중해 연안국을 중심으로 양식 생산 수요량이 많다(Pierre *et al.*, 2008).

이 중 농성어 (convict grouper, *Hyporthodus septemfasciatus*)는 우리나라의 남해안과 제주도, 일본의 남부 그리고 중국의 일부 해역에서 서식하는 어종으로 (Kim *et al.*, 2005), 선호하는 서식수온은 15.9~24.1°C (평균 20.3°C)이다 (Heemstra and Randall, 1993). 우리나라에서 농성어에 관한 연구는 성숙과

배란 유도 등 수정란 생산 (Kim *et al.*, 1997; Song *et al.*, 2008) 그리고 난 발생 및 종자 대량 생산 (Lee and Go, 2003; Lee *et al.*, 2008; Cho *et al.*, 2015) 등의 연구가 수행되었다. 위 연구들을 통하여 현재 우리나라에서 농성어의 수정란 및 종자 생산 기술이 산업화 수준에 도달하였다. 농성어는 거문도 해역의 해상가두리에서 종자 입식 후부터 상품어 크기 (0.8~1.2 kg)까지 사육하는데 약 2년이 소요되어, 산업 생산성 향상을 위해 성장속도 향상을 위한 육종 연구가 필요하다.

종간 교잡은 교잡강세 (hybrid vigor)를 통해 성장, 질병내성 그리고 환경내성 향상 등 산업적으로 유용한 형질을 발현시킬 수 있는 매우 유용한 육종 도구로서 (Bartley *et al.*, 2001), 최근까지 바리과 및 어종에서 성공적으로 유도되어 산업화되었다 (Glamuzina *et al.*, 2001; Ch'ng and Senoo, 2008; Koh *et al.*, 2010; Kiriya *et al.*, 2011).

*Corresponding author: Choong Hwan Noh. Tel: 82-51-664-3333, Fax: 82-51-955-3981, E-mail: chnoh@kiost.ac.kr

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액(원)
16	2019.09.23	정현수산	20,000,000
17	2019.09.23	일성수산	60,000,000
18	2019.09.23	용진수산	20,000,000
19	2019.09.23	선강수산	12,500,000
20	2019.09.23	종신수산	12,500,000
21	2019.09.23	일번수산	12,500,000
22	2019.09.23	13호수산	12,500,000
23	2019.09.23	거남수산	12,500,000
24	2019.09.23	명윤수산	12,500,000
25	2019.09.23	희순수산	12,500,000
26	2019.09.23	갈릴리수산	12,500,000
27	2019.09.23	혜성수산	12,500,000
28	2019.09.23	미래수산	12,500,000
29	2019.09.23	푸른수산	12,500,000
30	2019.09.23	거수수산	12,500,000
31	2019.09.23	푸른수산	6,000,000
32	2019.09.25	죽춘수산	40,000,000
33	2019.09.30	전남대학교 산학협력단	1,000,000
34	2020.12.14	제다수산	80,000,000
35	2021.09.28	제다수산	100,000,000
36	2021.11.22	만해수산	41,000,000
37	2021.11.22	주일수산	20,000,000
합계			1,092,800,000

마. 종자수출액/수입대체 효과

종자수출액(USD) - \$85,893				
번호	수출품목	수출액		
		수출일	수출국	수출금액
1	능성어 / 대왕붉바리	2017.12.04	대만	\$19,106
2	능성어 / 대왕붉바리	2019.12.31	대만	\$66,792

사. 마케팅 및 홍보

번호	일자	활용명칭	활용내역
1	2018.06.	홍보용 브로슈어 제작	- 국내외 바이어에 바리과 우량 종자 홍보
2	2018.07.24	바리과 우량종자 설명회	- 해양수산부, 중국 농업농촌부 어업어정 관리국, 전라남도, 무안군, 중국수산과학연구원 황해수산연구소에 대하여 붉바리 종자의 우수성 홍보
3	2019.04.01	제8회 수산인의 날 표창	- 대통령 표창
4	2019.07.26	메스컴 홍보(월간 시사투데이)	- 붉바리 대량 종자생산 홍보
5	2021.11.03	메스컴 홍보(무안신문뉴스)	- 바리과 순종 및 교잡종 대량 종자생산 홍보
6	2021.12.05	바리과 우량종자 홍보 및 마케팅	- 국내 바리과 종자시장 확대를 위해 중간 양성 업체에 생산 종자 홍보
7	2021.12.10		

Cheongsol Fishery Co.

Golden Seed Project

- What is the Golden Seed Project(GSP)?
- The GSP is a strategic national R&D project for sea-bass in collaboration with MARA (The Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs) / MAF (Ministry of Ocean and Fisheries) / RDA (Rural Development Administration) / KFS (Korea Forest Service)
- Vision: To be a powerhouse in fish seed production to take the lead in the global fishery industry
- Strategies:
 - Increase seed exports by developing strategic export markets
 - Increase variety production rights and import substitution
 - Establish a foothold for increasing competitiveness in the private sector
 - Utilize genetic technologies and precision technologies
- Established 2004.05.31
- Major products: Marine fishes breeding production (Red spotted grouper, Longhorn grouper, Spotted grouper, Milkfish, Rockfish, etc.)
- Participated in the national project: GSP Marine seeds projects (Developing the suboptimal Hybrid Groupers broods for export, Developed a red spotted grouper brood for export)
- Marine product commercialization, technology development project (Development of products for improving biological activity and body colors of farmed marine animals by utilizing Korean chromosomal microorganisms)
- Seed Development System:
 - Stage 1-1: Utilization of optimal strong points (Development of genetic technologies)
 - Stage 1-2: Main-production of genetic broods (Main-production of genetic broods)
 - Stage 1-3: Main-production of genetic broods (Main-production of genetic broods)
 - Stage 1-4: Main-production of genetic broods (Main-production of genetic broods)
 - Stage 2-1: Application of breeding technology (Crossbreeding)
 - Stage 2-2: Main-production of new broods (Main-production of genetic broods)
 - Stage 2-3: Main-production of genetic broods (Main-production of genetic broods)
 - Stage 2-4: Accomplishment of export targets (Exporting strategy)
 - Production system / technology transfer (Seed export)

Cheongsol Fishery Co.

1. Cheongsol Fishery Co. Introduction

2. Cheongsol Fishery Co. Overview

3. Seed stock of red spotted grouper (S. altivelis)

4. Mainstream objective for genetic improvement of red spotted grouper (S. altivelis)

5. Egg development of red spotted grouper (S. altivelis)

6. Development of young red spotted grouper (S. altivelis)

7. Mass seed production of red spotted grouper (S. altivelis)

8. Hybrid Groupers

9. Biological Characteristics for Hybrid Groupers

10. Export sales

11. Thank you for visiting Cheongsol Fishery Co.

제 217804 호

트랑장

출산
제품
운
다
진

귀하는 수산업 어촌진흥을 통하여 국가 산업 발전에 이바지한 공로가 크므로 이에 트랑합니다.

2019년 4월 1일

대통령
문
재
환

이 공을 대통령 표창장에 기재합니다.

행정안전부장관 권 부

시사투데이 "고급어종 바리류 중요생산 세계최고 기술력 인정"

세계 최초 황태란 대량생산 성공...수산업의 고부가가치 창출 [2019-07-26 11:28:57]

장흥수산 중간장 대표

「선도농어가 탐방(10) 하이브리드종 개발 성공, 환경 정수산 윤낙진 대표

“너무 비싸서 먹기 힘든 횡감의 대명사 다관바리를 광어보다 조금 더 주면 먹을 수 있는 시장 구조를 만들기 위해 노력하고 있습니다. 1kg의 성어가 되려면 4~5년 걸리는 성장속도를 4~5배 빨리해 1년이면 생산할 수 있는 품종을 개발했습니다. 고수온에 강한 바리류가 앞으로 보편적인 횡감으로 성장하고 수출 전락품목이 되길 기대합니다.”

무안신문뉴스

아. 바리과 품종 분양

항목	내용	<div style="text-align: center;"> <p>인 수 증</p> <table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td>품종명</td> <td>양적</td> <td>단위</td> <td>수량</td> <td>장소</td> </tr> <tr> <td>대왕붉바리</td> <td>8cm</td> <td>마리</td> <td>6만여</td> <td></td> </tr> </table> <p>상기 품종을 청솔수산에서 분양 받아 경이 인수합니다.</p> <p>2018년 1월 15일</p> <p>○ 인수자 인혁사항 - 주소: 통영시 목지면 풍촌길 113 - 직위: 대표 이태균</p> <p>성명: 이태균 (인) </p> <p>청솔수산 대표 귀하</p> </div>	품종명	양적	단위	수량	장소	대왕붉바리	8cm	마리	6만여	
품종명	양적		단위	수량	장소							
대왕붉바리	8cm		마리	6만여								
연차	2차년도(2018)											
분양 장소	통영 옥지도 태양수산 대표 이태균											
종명	대왕붉바리											
마리수	60,000											

○ 사업화실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	5			
	소요예산(백만원)	1,000			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		18.9	20	30	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	10%	15%	20%
국외		0.5%	1%	2%	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	아열대 바리과 어류의 신교잡종 생산 및 가공을 통한 활어, 펠렛, 밀키트 등의 제품 개발			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	15	20	30	
	수 출	57.4만\$	100만\$	150만\$	

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	18.9억원/338.1만\$	
			향후 3년간 매출	20억원	
		관련제품	개발후 현재까지	18.9억원/338.1만\$	
			향후 3년간 매출	20억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 10 % 국외 : 0.5 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 20 % 국외 : 1 %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 10 % 국외 : 0.5 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 15 % 국외 : 1 %	
		세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		7 위
			3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		5 위

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제 1 절 목표

(1세부/2세부/3세부)

항목	기초	상용화	산업화	세부평가항목	가중치	목표					
						1차 상용화	2차 산업화	3차 산업화	4차 산업화	5차 산업화	합계
제품경쟁력강화	50	40	20	논문 SCI	4	4 (1/3)	4 (1/3/0)	4 (2/2/0)	4 (1/3/0)	4 (1/3/0)	20 (6/14/0)
				논문 비 SCI	4	2 (1/1)	2 (1/0/1)	2 (1/0/1)	2 (2/0/0)	1 (0/0/1)	9 (5/1/3)
				분자마커 개발	3	2 (0/2)	0 (0/0/0)	5 (0/5/0)	6 (0/6/0)	6 (0/6/0)	19 (0/19/0)
				친어 확보	3	100 (0/100)	100 (0/100/0)	200 (70/80/50)			400 (70/280/50)
				DB시스템 구축	3					1 (0/1/0)	1 (0/1/0)
				육종 특성 개발 수	3	1 (0/1)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	5 (0/5/0)
권리확보	25	20	20	품종(브랜드) 출원	5	1 (0/1)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	5 (0/5/0)
				품종(브랜드) 등록	5					1 (0/1/0)	1 (0/1/0)
				특허출원	5	1 (0/1)	1 (0/1/0)	3 (1/1/1)	4 (1/2/1)	5 (1/3/1)	14 (3/8/3)
				특허등록	5	1 (1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)	2 (1/1/0)	3 (1/1/1)	8 (3/4/1)
생산업역강화	10	10	5	해외기지 구축수	1	1 (1/0)		1 (0/1/0)			2 (1/1/0)
				MOU체결수	0.5	1 (1/0)		1 (1/0/0)			2 (2/0/0)
				기술이전 건수	1	1 (1/0)	1 (1/0/0)	1 (0/0/1)	1 (1/0/0)		4 (3/0/1)
				매뉴얼 제작건수	0.5			1 (0/1/0)	1 (0/0/1)		2 (0/1/1)
				종자생산수(천 마리)	1	300 (300/0)	500 (200/0/300)	1,000 (300/300/400)	1,400 (400/500/600)	1,700 (500/500/700)	4,900 (1,700/1,300/2,000)
				인력양성	1				1 (1/0/0)	1 (1/0/0)	2 (2/0/0)
유통경쟁력강화	5	10	10	유통채널 구축 수	5	1 (1/0)	1 (0/0/1)	1 (1/0/0)	1 (0/0/1)	1 (1/0/0)	5 (3/0/2)
				품종 분양 보급	5	1 (1/0)	1 (0/1/0)	1 (0/1/0)			3 (1/2/0)
홍보역량강화	5	10	10	홍보건수	5	2 (2/0)	1 (0/0/1)	2 (0/1/1)	2 (1/1/0)	3 (1/1/1)	10 (4/3/3)
				품종 설명회/박람회참여	5			1 (0/0/1)	1 (0/0/1)	1 (0/0/1)	3 (0/0/3)
목표고객	5	5	10	국내외 판매업체 확보수	10	3 (3/0)	3 (1/0/2)	2 (1/0/1)	4 (2/0/2)	3 (2/0/1)	15 (9/0/6)
매출및수출	0	5	25	국내 매출액(백만원)	12	100 (100/0)	120 (0/0/120)	150 (0/0/150)	180 (0/0/180)	200 (0/0/200)	750 (100/0/650)
				수출액(만달러)	13	100 (100/0)	130 (65/0/65)	160 (60/40/60)	200 (90/80/30)	248 (90/68/90)	838 (405/168/245)

제 2 절 목표 달성여부

1. 제품경쟁력강화	목표	달성	달성여부
논문 SCI	20	8	×
논문 비SCI	9	8	×
분자마커 개발	19	19	○
친어 확보	330	754	○
DB시스템 구축	1	1	○
육종 특성 개발	5	5	○
2. 권리확보			
품종출원	5	6	○
품종등록	1	3	○
특허출원	14	5	×
특허등록	8	9	○
3. 생산역량강화			
해외기지 구축	3	3	○
MOU 체결	2	3	○
기술이전	4	5	○
매뉴얼 제작	1	1	○
종자생산(천마리)	4900	6,153	○
인력양성	2	4	○
4. 유통경쟁력강화			
유통채널 구축	3	3	○
품종 분양 보급	3	3	○
5. 홍보역량강화			
홍보	10	10	○
품종 설명회 및 박람회	3	3	○
6. 목표고객			
국내외 판매업체	9	55	○
7. 매출 및 수출			
국내매출액(백만원)	750	1,890.6	○
종자수출액(만불)	838	338.1	×

제 3 절 목표 미달성 사유 및 차후대책

- 산업 관련 실적(특히, 종자생산, 수출 등)에 인력 및 예산의 우선 투입으로 SCI 논문은 13편 미달되었음. 사업 수행 중 획득한 분석 결과와 보유 중인 샘플을 바탕으로 향후 3년 이내에 아래와 같은 계획에 따라 5편의 논문을 게재할 계획임
- 기업형 대량 종자생산의 재현성을 확인하기 위해 연차별 데이터가 요구되었으며, 사업 이후에도 데이터를 확보하여 산업적 결과를 전문학술지에 투고할 예정
- 바리과 어류 종자생산관련 노하우를 사업이후에도 지속적으로 지적재산권 확보

논문제목	게재연도	게재지
Growth performance of juvenile red-spotted grouper (<i>Epinephelus akaara</i>) ♀ × giant grouper (<i>E. lanceolatus</i>) ♂ hybrid across temperatures	2022	Fishes
Microbiota symbionts of three groupers, kelp grouper (<i>Epinephelus bruneus</i>), red-spotted grouper (<i>E. akaara</i>) and giant grouper (<i>E. lanceolatus</i>)	2023	Ocean Science Journal
Cytogenetic analysis of three artificial grouper hybrids, <i>Epinephelus bruneus</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂ and <i>Epinephelus akaara</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂ and <i>E. fuscogutattus</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂	2023	Fishes
Vertically and horizontal transmitted microbial symbiontants shape of two grouper hybrids, <i>Epinephelus bruneus</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂ and <i>Epinephelus akaara</i> ♀ × <i>E. lanceolatus</i> ♂	2024	Frontiers in Microbiology
Glucose-related signatures of healthy in the brown-marbled grouper (<i>Epinephelus fuscogutattus</i>) ♀ × giant grouper (<i>E. lanceolatus</i>) ♂	2024	BMC Microbiology

- 국내 양성업체는 대리점, 도매상이 없이 유통채널을 겸하고 있음. 수출 이후 해외시장 요 구성이 높아지고 있어 책임있는 판매를 유도하기 위해 사후에 유통채널을 구축할 예정
- 국내생산 종자 수출로 참여기업의 성공적인 바리과 어류 종자생산 기업으로의 성장 관련 내용 및 가공판매 등으로 홍보하려 했으나 수출지원과 가공유통기술 개발 지원으로 인해 홍보 지원. 지속적인 친어의 관리 및 종자생산으로 과제 종료 이후에도 생산 및 판매를 통한 종자홍보를 지속할 계획임
- 해외 수출 이후 바리과 종자에 대한 주문이 있었으나 COVID-19 상황으로 인한 교역 난항으로 지연되고 있으나 시장확대를 위해 기존 교역처 활용 및 해외(대만, 중국 등 동남아시아)시장 개척에 지속 투자할 예정임
- 목표 성과 중 수출 성과는 COVID-19로 인해 지연되고 있으나 확보된 친어의 지속적인 관리와 생산으로 달성할 수 있을 것이나, 논문 및 특허 성과는 바리과 어류의 학술적인 연구와 기술개발과 관련되어 있음. 하지만 지속적인 예산삭감(당초 계획대비 60%)으로 연구 및 기술개발이 제한이 있어 당초 예산으로 정했던 목표치를 달성하기 어려웠으므로 후속연구로 예산을 편성해 연구와 기술개발을 지원할 필요가 있음

제 4 장 연구결과의 활용 계획 등

제 1 절 실용화·산업화 계획

1. 교육·지도·홍보 등 기술 확산

- 국내 바리과 양식시장 활성화를 위해 구축된 양식시스템을 리빙랩과 같이 개방하여 양식품종 전환을 고려하는 어업인 및 신규창업자와 정보공유
- 국내외 종자 수급 업체와 지속적 피드백으로 기술지원 및 종자 홍보로 시장요구에 적합한 우수 형질 발현에 기여
- 산학연 바리과 종자생산 정보 공유로 신규인력 양성, 양식기술 상호발전 및 타품종 개발에 기초자료로 활용

2. 베트남 등 해외 진출 기업 지원

- 이 사업을 통해 개발한 기술, 축적한 경험 그리고 구축한 현지 생산기지는 희망 기업의 베트남 진출 기지로 활용
 - 생산기지와 친어 등 인수인계를 통한 사업 지속(추적평가에 활용)
 - 매뉴얼 기반의 기술지도를 통한 산업화 협력
 - 인적 네트워크, 종자구입 업체, 유통망 활용



그림 4-1-1. 베트남 생산기지(왼쪽)와 대왕범바리 종자생산 매뉴얼(오른쪽)

- 현지 진출 기업의 지속적인 사업화를 위한 기술이전
 - 기술실시계약을 통해 위탁으로 참여한 현지 진출 기업(빈안아쿠아컬처)의 지속적으로 사업 활동을 지원
 - 종자생산 및 판매 등 도출된 실적(판매 등)은 추적평가에 활용함

3. 실용화 및 산업화

- 양식품종 다양화 및 고부가가치 양식을 통해 고급 단백질 생산 및 어가 소득 향상 기여
- 시장 요구에 맞춤형 우량종자 생산으로 종자시장에 대한 기술력 우위 선점
- 개발된 바리과 종자생산 기술을 이전하여 종자산업의 다분화 및 산업활성 유도
- 바리과 대량 종자생산 과정 중 획득한 노하우로 특허, 논문 등 지식재산권 확보하여 산업적 기반 확립

제 2 절 지식재산권 확보 계획

1. 특허

- 교잡 신품종(대왕자바리) 생산 방법에 관한 특허를 우리나라, 바리과 종주국인 대만 그리고 가장 큰 종자 소비시장인 중국을 대상으로 등록완료 하였으나, 관련된 세부 기술에 관한 출원을 통해 이 사업의 개발 성과에 대한 지식재산권을 확보할 계획임
 - 출원 예정인 기술 : 바리류 특이 공생 미생물 조성 방법(우리나라, 중국)



그림 4-2-1. 바리고잡종 생산에 관한 특허증(왼쪽 대만, 오른쪽 중국)

제 3 절 추가연구 및 타사업 활용계획

1. 아열대 바리고 추가 연구

- 본 사업을 통해 아열대 바리고 신품종을 개발하고 국내외 판매 및 수출을 통한 우리나라 바리고 종자산업에 기여했으나, 국내 부족한 시장과 활어 수출 시 발생하는 유통 등의 문제를 감안하여 시장형성 또는 인식개선이 가능한 대량생산 기술 및 마케팅 관련 사업과 활어 대신 가공 등의 수단을 통하여 물류비를 절감할 수 있도록 아열대 바리고 어류를 이용한 제품개발 연구 계획 중

2. 동남아 ODA 및 연구개발 사업에 활용

- 이 사업을 통해 베트남에서 종자생산 사업화를 위한 “친어관리-수정란-종자 생산-증가양성-판매” 체계를 성공적으로 완성하였으며, 상대국의 국가연구기관, 민간업체 그리고 유통업체 등과 인적 네트워크를 구축한 경험이 있음. 이는 환경이 비슷한 다른 동남아 국가에서도 사업화를 위한 기술개발 또는 이전이 가능할 것으로 판단됨
 - 한국해양과학기술원 한·인니 해양과학 공동연구센터를 통한 ODA사업 발굴 중
 - 동남아시아에서 다른 어종 대상으로 국가연구개발사업 발굴 중

참고문헌

- Aiemsomboon K, Khammee W, Bunlipatanon P, Na-Nakorn U, 2017. Ontogenetic development of the digestive tract and ultrastructure of the anterior intestinal epithelia in tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskål, 1775) larvae. *Agriculture and Natural Resources*, 51(6), 445-453.
- Al-Marzouk AE, 1999. Association of *Pseudomonas anguilliseptica* with mortalities in cultured marine orange spotted grouper *Epinephelus coioides* in Kuwait. *Fish Pathology*, 34(3), 167-168.
- Andoh A, Bamba T and Sasaki M, 1999. Physiological and anti-inflammatory roles of dietary fiber and butyrate in intestinal functions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 23, S70-S73.
- Baliao, D. D., De los Santos, M. A., Rodriguez, E. M., & Ticar, R. B, 1998. Grouper culture in brackishwater ponds. (Aquaculture extension manual No. 24). Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Bartely DM, Rana K and Immink AJ, 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Rev Fish Biol Fisheries* 10, 325-337.
- Bennett KW and Eley A, 1993. Fusobacteria - new taxonomy and related diseases. *J Med Microbiol* 39, 246-254.
- Bhute SS, Escobedo B, Haider M, Mekonen Y, Ferrer D, Hillyard SD, Friel AD, van Breukelen F and Hedlund BP, 2020. The gut microbiome and its potential role in paradoxical anaerobism in pupfishes of the Mojave Desert. *Anim Microbiome*. 2 (1), 20.
- Bunlipatanon P and U-Taynapun K, 2017. Growth performance and disease resistance against *Vibrio vulnificus*, infection of novel hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* × *Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquac Res* 48, 1711-1723.
- Canfora EE, Jocken JW and Blaak EE, 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol*. 11 (10), 577-591.
- Chen Y, Hong WS, Wang Q and Chen SX., 2016. Cloning and pattern of *gsdf* mRNA during gonadal development in the protogynous *Epinephelus akaara*. *Animal reproduction science*, 165, 46-55.
- Chen ZF, Tian YS, Wang PF, Tang J, Liu JC, Ma WH, Li WS, Wang XM and Zhai JM, 2018. Embryonic and larval development of a hybrid between kelp grouper *Epinephelus moara* ♀ × giant grouper *E. lanceolatus* ♂ using cryopreserved sperm. *Aquac Res* 49, 1407-1413. <https://doi.org/10.1111/are.13591>.
- Ch'ng CL and Senoo S, 2008. Egg and larval development of a new hybrid grouper, tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* × giant grouper *E. lanceolatus*. *Aquac Sci* 56, 505-512.
- Chevassus B, 1983. Hybridization in fish. *Aquac* 33, 245-262.
- Cho HC, Kim JE, Kim HB and Baek HJ, 2015. Effects of water temperature change on the hematological responses and plasma cortisol levels in growing of red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Development & reproduction*, 19(1), 19.

- Chua FHC, Ng ML, Ng K, Loo JJ, Wee JY, 1994. Investigation of outbreaks of a novel disease, 'Sleepy Grouper Disease', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. *Journal of Fish Diseases*, 17(4), 417-427.
- Collinder E, Bjornhag G, Cardona M, Norin E, Rehbinder C and Midtvedt T, 2003. Gastrointestinal host-microbial interactions in mammals and fish: comparative studies in man, mice, rats, pigs, horses, cows, elk, reindeer, salmon and cod. *Microb Ecol Health Dis* 15, 66-78.
- Costa AC, Serafini MA, Neto RVR, Santos PF, Marques LR, de Rezende IR, Mendonça MAC, Allaman IB and de Freitas RTF, 2020. Similarity between *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* and their interspecific hybrids. *Aquaculture*, 526, 735397.
- Cruz-Lacierda ER, Toledo JD, Tan-Fermin JD, Bureson EM, 2000. Marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*) infestation in cultured orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 185(3-4), 191-196.
- Currens KP, Sharpe CS, Hjort R, Schreck CB and Li HW, 1989. Effects of different feeding regimes on the morphometrics of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*O. mykiss*). *Copeia*, 689-695.
- Delamare-Deboutteville J, Bowater R, Condon K, Reynolds A, Fisk A, Aviles F, Barnes AC, 2015. Infection and pathology in Queensland grouper, *Epinephelus lanceolatus* (Bloch), caused by exposure to *Streptococcus agalactiae* via different routes. *Journal of fish diseases*, 38(12), 1021-1035.
- De M, Ghaffar MA, Bakar Y and Das SK, 2016. Effect of temperature and diet on growth and gastric emptying time of the hybrid, *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂. *Aquac Rep* 4.
- Eichmiller JJ, Hamilton MJ, Staley C, Sadowsky MJ and Sorensen PW, 2016. Environment shapes the fecal microbiome of invasive carp species. *Microbiome* 4, 44.
- von Engelhardt W, Bartels J, Kirschberger S, Duttingdorf HDMZ and Busche R, 1998. Role of short-chain fatty acids in the hind gut. *Vet Q* 20, S52-S59.
- Fan B, Liu XC, Meng ZN, Tan BH, Wang L, Zhang HF, Zhang Y, Wang YX, Lin HR, 2014. Cryopreservation of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* (Bloch, 1790) sperm. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(2), 334-339.
- FAO, 2021. Fisheries and Aquaculture – Global aquaculture production Quantity(1950 – 2019). Statistical Query Panel. <https://www.fao.org/fishery/statistics-query/en/aquaculture>.
- Fennessy S, Pollard DA and Samoilys M, 2018. *Epinephelus lanceolatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T7858A100465809 Downloaded on 22 February 2021.
- Fukuda Y, Furuhashi M, Nakai T, 1996. Mass mortality of cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, associated with viral nervous necrosis. *Fish Pathology*, 31(3), 165-170.
- Glamuzina B, Glavić N, Skaramuca B, Kožul V, 1998. Induced sex reversal of dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe). *Aquaculture Research*, 29(8), 563-567.
- Glamuzina B, Kožul V, Tutman P, Skaramuca B, 1999. Hybridization of Mediterranean groupers: *Epinephelus marginatus* ♀ × *E. aeneus* ♂ and early development. *Aquac Res* 30, 626-628.

- Glamuzina B, Glavić N, Skaramuca B, Kozul V and Tutman P, 2001. Early development of the hybrid *Epinephelus costae* ♀ × *E. marginatus* ♂. *Aquac* 198, 55-61.
- Golden Seed Project, 2017. Development of golden seeds production techniques from the subtropical serranids fishes. 479-492p.
- Gracia-López, V., Kiewek-Martínez, M., & Maldonado-García, M, 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture*, 237(1-4), 485-498.
- García-Ortega A, Daw A, Hopkins K, 2013. Feeding hatchery-produced larvae of the giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. In : Rust MP, Olin A, Bagwill, Fujitani M, (eds). *Hatchery Technology for High Quality Juvenile Production: Proceedings of the 40th U.S. - Japan Aquaculture Panel Symposium*, Honolulu, Hawaii, October 22-23, 2012. U.S. Dept. Commerce, NOAA Tech. Memo. NMFS-F/SPO-136. pp. 36-42.
- Hamer H, Jonkers D, Troost FJ, Bast A, Vanhoutvin S, Venema K and Brummer RJ, 2007. Butyrate modulates oxidative stress in the colonic mucosa of healthy humans. *Gastroenterology* 132, A79
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS, 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1-4), 1-15
- Hashim P, Ridzwan MM, Bakar J, Hashim MD, 2015. Collagen in food and beverage industries. *International Food Research Journal*, 22(1), 1.
- Hassenrück C, Reinwald H, Kunzmann A, Tiedemann I and Gärdes A, 2020. Effects of thermal stress on the gut microbiome of juvenile milkfish (*Chanos chanos*). *Microorganisms* 9 (1), 5.
- Hennersdorf P, Kleinertz S, Theisen S, Abdul-Aziz M, Mrotzek G, Palm HW and Saluz HP, 2016. Microbial diversity and parasitic load in tropical fish of different environmental conditions. *PLoS ONE* 11, e0151594
- Heemstra PC and Randall JE, 1993. *FAO Species Catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (family Serranidae, subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date.* Rome: FAO. *FAO Fish. Synop.* 125(16):382 p. (Ref. 5222)
- James CM, Al-Thobaiti SA, Rasem BM, Carlos MH, 1999. Potential of grouper hybrid (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. polyphkadion*) for aquaculture. *Naga, the ICLARM Quarterly*, 22(1), 19-23.
- Jia Y, Gao Y, Jing Q, Huang B, Zhai J and Guan C, 2021. Gastric evacuation and changes in postprandial blood biochemistry, digestive enzymes, and appetite-related genes in juvenile hybrid grouper (*Epinephelus moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂). *Aquaculture*, 530, 735721.
- Kaschner K, Kesner-Reyes K, Garilao C, Rius-Barile J, Rees T and Froese R, 2016. *AquaMaps: predicted range maps for aquatic species.* World wide web electronic publication, www.aquamaps.org, Version 08/2016.
- Kayano Y, 1996. Yearly change in egg production of the red spotted grouper *Epinephelus akaara* in a rearing tank. *Saibai Gyogyo Gijutsu Kaihatsu Kenkyu* (Japan).

- Keene JL, Noakes DLG, Moccia RD, Soto CG, 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29(2), 89-101.
- Kim KS, Lee HR, Sade A, Bang IC, 2014. Identification of Hybrid between the Tiger Grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and the Giant Grouper *E. lanceolatus* by Analyzing COX I and RAG 2 Sequences. *Korean Journal of Ichthyology*, 26(1), 70-73.
- King' Ori AM, 2011. Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *International Journal of poultry science*, 10(6), 483-492.. collagen.
- Kiriyakit A, Gallardo WG and Bart AN, 2011. Successful hybridization of groupers (*Epinephelus coioides* × *Epinephelus lanceolatus*) using cryopreserved sperm. *Aquac* 320, 106-112.
- Kline RJ, Khan IA, Soyano K, Takushima M, 2008. Role of follicle-stimulating hormone and androgens on the sexual inversion of sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *North American Journal of Aquaculture*, 70(2), 266-272.
- Klumpp DW and von Westernhagen H, 1995. Biological effects of pollutants in Australian tropical coastal waters: Embryonic malformations and chromosomal aberrations in developing fish eggs. *Mar Pollut Bul* 30, 158-165
- Kuo CM, Ting YY, Yeh SL, 1988. Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture*, 74(1-2), 113-126.
- Larsen A M, Mohammed HH and Arias CR, 2014. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warm water fish species. *Journal of applied microbiology*, 116(6), 1396-1404
- Lavilla-Pitogo CR, Castillo A R, Cruz MCDL, 1992. Occurrence of *Vibrio* sp. infection in grouper, *Epinephelus suillus*. *Journal of applied ichthyology*, 8(1-4), 175-179.
- Lee JW and Baek HJ, 2018. Determination of optimal temperature(s) in juvenile red-spotted grouper *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel) based on growth performance and stress responses. *Aquac Res* 49, 3228–3233.
- Lee CH, Hur SW, Kim BH, Soyano K and Lee YD, 2020. Induced maturation and fertilized egg production of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*, using adaptive physiology of photoperiod and water temperature. *Aquac Res* 51, 2081-2090.
- Liao IC, Su HM, Tseng KF, Su MS, Sorgeloos P, 2001. Development of larviculture techniques for the enhanced production of grouper *Epinephelus coioides*. *Larvi'01: Fish and Shellfish Larviculture Symposium*, EAS Special Publication No. 30.
- Liao IC, 1995. Aquaculture in Taiwan: Towards a sustainable industry. In: DS Liao (ed.). *International Cooperation for Fisheries and Aquaculture Development: Proceedings of the 7th Biennial Conference of the International Institute of Fisheries Economics and Trade (Vol. II)*.
- Lim SG, Jeong MH, Kim BS, Lee TH, Gil HW and Park IS, 2016. Landmark-based morphometric and meristic analysis of Serranidae. *Development & reproduction*, 20(2), 73
- Lim HK and Le MH, 2013. Evaluation of extenders and cryoprotectants on motility and morphology of longtooth grouper (*Epinephelus bruneus*) sperm. *Theriogenology*, 79(5), 867-871.

- Liu M and de Mitcheson YS, 2009. Gonad development during sexual differentiation in hatchery-produced orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) and humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)(Pisces: Serranidae, Epinephelinae). *Aquaculture*, 287(1-2), 191-202.
- Liu H, Guo X, Gooneratne R, Lai R, Zeng C, Zhan F and Wang W, 2016. The gut microbiota and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels. *Sci Rep* 6, 24340.
- Marcus NH, 1996. Ecological and evolutionary significance of resting eggs in marine copepods: past, present, and future studies. *Hydrobiologia*, 320(1), 141-152.
- Marino G, Panini E, Longobardi A, Mandich A, Fioia MG, Zohar Y, Mylonas CC, 2003. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRHa implant. *Aquaculture*, 219(1-4), 841-858.
- Masuma S, Kusunoki Y and Aoki R, 2021. Seasonal changes of plasma sex steroids in captive longtooth grouper *Epinephelus bruneus* (Bloch) in subtropical regions. *Aquaculture Research*
- Matanza XM and Osorio CR, 2018. Transcriptome changes in response to temperature in the fish pathogen *Photobacterium damsela subsp. damsela*: clues to understand the emergence of disease outbreaks at increased seawater temperatures. *PLoS One*, 13(12), e0210118
- McBain JA, Eastman A, Nobel CS and Mueller GC, 1997. Apoptotic death in adenocarcinoma cell lines induced by butyrate and other histone deacetylase inhibitors. *Biochem Pharmacol* 53, 1357-1368
- Mendeley data, <https://data.mendeley.com/drafts/pf53pxf6f> (accessed 29 June 2020).
- Merrifield DL, Shaw BJ, Harper GM, Saoud IP, Davies SJ, Handy RD and Henry TB, 2013. Ingestion of metal-nanoparticle contaminated food disrupts endogenous microbiota in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Pollut.* 174, 157-163.
- Mylonas CC, Cardinaletti G, Sigelaki I, Polzonetti-Magni A, 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*, 246(1-4), 467-481.
- Noh CH, Kim KS, Myoung JG, Cho JK, Yun NJ, Lim HG and Bang IC, 2015. The hatchability of fertilized eggs of interspecific hybrid between red spotted grouper (*Epinephelus akaara*) and brown-marbled grouper (*E. fuscoguttatus*). *Korean J. Ichthyol* 27, 16-20 (in Korean)
- Noh CH, Kang MJ and Yoon SJ, 2019a. Embryonic development and hatchability of red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*) ♀ × giant grouper (*E. lanceolatus*) ♂ hybrid at three incubation temperatures. *Aquac Res* 50, 3477-3481.
- Noh CH and Yoon NJ, 2019b. Embryonic development of fertilized eggs of convict grouper (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀ × giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*) ♂. *Korean J. Ichthyol* 31, 23-29 (in Korean)
- Nuez-Ortin WG, Prado S and Toranzo AE, 2012. Antimicrobial properties of butyric acid and other organic acids against pathogenic bacteria affecting the main aquatic species. In *AQUA 2012*.

Prague.

- Hall T, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Nucleic Acids Symp. Ser. (Vol. 41, pp. 95-98).
- Humphries JM, Bookstein FL, Chernoff B, Smith GR, Elder RL and Poss SG, 1981. Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Systematic Biology*, 30(3), 291-308
- Oh SR, 2006. Seed production of longtooth grouper, *Epinephelus bruneus* with induced sex reversal and maturation. Ph. D. Thesis, Jeju Nat. Univ, Jeju, Korea. (in Korean)
- Okomoda TV, Koh ICC, Hassan A, Amornsakun T and Shahreza SM, 2018. Morphological characterization of the progenies of pure and reciprocal crosses of *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Scientific reports*, 8(1), 1-13.
- Palma P, Takemura A, Libunao GX, Superio J, de Jesus-Ayson EG, Ayson F, Nocilladoc J, Dennisc L, Chana J, Thaid TQ, Ninhd NH and Elizur A, 2019. Reproductive development of the threatened giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture*, 509, 1-7.
- Park IS, Im JH, Ryu DK, Nam YK and Kim DS, 2001. Effect of starvation on morphometric changes in *Rhynchocypris oxycephalus* (Sauvage and Dabry). *Journal of Applied Ichthyology*, 17(6), 277-281.
- Park JY, Kim YH and Bang IC, 2020. Comparison of Morphological Characteristics and Its Parent Species Hybrid Grouper between a *Epinephelus moara* ♀ and *E. lanceolatus* ♂. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(4), 572-576.
- Pati F, Adhikari B and Dhara S, 2010. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource technology*, 101(10), 3737-3742.
- Petersen EH, Glencross BD, Van Tien N, Than VA, Phuong TH, 2015. Recent changes in the bioeconomic of finfish mariculture in Vietnam. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(1).
- Pottinger TG and Carrick TR, 1999. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*, 175(3-4), 351-363.
- Roumbedakis K, Marchiori NC, Paseto Á, Gonçalves ELT, Luque JL, Cepeda PB, Sanches EG, Martins ML, 2013. Parasite fauna of wild and cultured dusky-grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) from Ubatuba, Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 73, 871-878.
- Rimmer MA and Glamuzina B, 2019. A review of grouper (Family Serranidae: Subfamily *Epinephelinae*) aquaculture from a sustainability science perspective. *Rev. Aquac* 11, 58-87.
- Saeed MO, 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. *Aquaculture*, 136(1-2), 21-29.
- Seatemperature org, <https://www.seatemperature.org/asia/south-korea> (accessed 29 June 2020).
- Shapawi R, Abdullah FC, Senoo S, Mustafa S, 2019. Nutrition, growth and resilience of tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*)× giant Grouper (*Epinephelus lanceolatus*) hybrid-a review. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1285-1296.

- Shein NL, Chuda H, Arakawa T, Mizuno K, Soyano K, 2004. Ovarian development and final oocyte maturation in cultured sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fisheries science*, 70(3), 360-365.
- Song YB, Baek HJ, Kim HB, Soyano K, Kim SJ, Lee YD, 2008. Induction of maturation and ovulation with hCG treatment in the sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Journal of Aquaculture*, 21(2), 96-101.
- Straüss RE and Bookstein FL, 1982. The Truss: bodyform reconstructions in morphometrics. *Systematic Biology*, 31, 113-135.
- Sugita H, Miyajima C and Deguchi Y, 1991. The vitamin B12 -producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. *Aquaculture* 92 (1), 267-276.
- Su HM, Tseng KF, Su MS, Liao IC, 2001. Effect of ozone treatment on eggs and larvae of grouper *Epinephelus coioides*. In 6 th Asian Fisheries Forum Book of Abstracts. (p. 232).
- Summerfelt RC and L S Smith, 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. In *Methods for fish biology*. R. C. Schreck and P. B. Moyle, eds. Am. Fish. Soc., Bethesda, MD, U.S.A., pp. 213-272.
- Sun P, Tang B and Yin F, 2019. Physiological responses and non-specific immune parameters in *Epinephelus moara* exposed to repeated physical stress. *Indian Journal of Animal Research*, 53(5), 578-582.
- Sun Y, Yang H, Ling Z, Chang J and Ye J, 2009. Gut microbiota of fast and slow growing grouper *Epinephelus coioides*. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 637-640.
- Tamaru CS, Carlstrom-Trick C, Fitzgerald Jr WJ, Ako H, 1996. Induced final maturation and spawning of the marbled grouper *Epinephelus microdon* captured from spawning aggregations in the Republic of Palau, Micronesia. *Journal of the world Aquaculture Society*, 27(4), 363-372.
- Tarazona E, Ruvira MA, Lucena T, Macián MC, Arahál DR and Pujalte MJ, 2015. *Vibrio renipiscarius* sp. nov., isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(Pt_6), 1941-1945.
- Tarnecki AM, Burgos FA, Ray CL and Arias CR, 2017. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics. *Journal of applied microbiology*, 123(1), 2-17.
- Taylor JN, Snyder DB and Courtenay Jr WR, 1986. Hybridization between two introduced, substrate-spawning tilapias (Pisces: Cichlidae) in Florida. *Copeia*, 903-909.
- Tian Y, Jiang J, Wang N, Qi W, Zhai J, Li B, Liang Y, Chen Y, Yang C and Chen S, 2015. Sperm of the giant grouper: cryopreservation, physiological and morphological analysis and application in hybridizations with red-spotted grouper. *J. Reprod. Develop* 61, 333-339.
- Tian Y, Qi W, Jiang J, Wang N, Wang D, Zhai J, Chen C, Chen S, 2013. Sperm cryopreservation of sex-reversed seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Animal reproduction science*, 137(3-4), 230-236.
- Tseng W and Poon C, 1983. Hybridization of *Epinephelus* species. *Aquac* 34, 177-182.
- Tsuchihashi Y, Tanaka H, Kuromiya Y, Kashiwagi M and Yoshioka M, 2003. Control of induction of sex reversal in the sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture Science*,

51(2), 189-196.

- Tsuehishashi, Y, 2007. 능성어 종묘생산에 관한 연구. *Korean Aquaculture*, 19(1), 13-17.
- Tucker JW, 1994. Spawning by captive serranid fishes: a review. *J. World Aquac Soc* 25, 345-359.
- Vatanakul V, Kongkumtnerd J, Rojanapitayakul S, Yashiro R and Kongkio PP, 1995. Brood stock development of giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Library, enaca*, 1-6.
- Wang J, Jiang Y, Li X, Han T, Yang Y, Hu S and Yang M, 2016. Dietary protein requirement of juvenile red spotted grouper (*Epinephelus akaara*). *Aquac* 450, 289-294.
- Watanabe WO, Ellis SC, Ellis EP, Head WD, Kelley CD, Moriwake A, Lee CS, Bienfang PK, 199. Progress in controlled breeding of Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) broodstock by hormone induction. *Aquaculture*, 138(1-4), 205-219.
- Winans GA, 1984. Multivariate morphometric variability in Pacific salmon: technical demonstration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41(8), 1150-1159.
- Won KM, Lee JT, Cho MY, Kim MS, Kim NY, Jung SH, Lee NS, 2017. A case study of mortality caused by viral encephalopathy and retinopathy (VER) in cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* during Winter. *Korean Journal of Ichthyology*, 29(3), 157-164.
- Xie M, Zhou W, Xie Y, Li Y, Zhang Z, Yang Y, Olsen RE, Ran C and Zhou Z, 2021. Effects of *Cetobacterium somerae* fermentation product on gut and liver health of common carp (*Cyprinus carpio*) fed diet supplemented with ultra-micro ground mixed plant proteins. *Aquaculture*, 543, 736943.
- Yamaoka K, Nanbu T, Miyagawa M, Isshiki T, Kusaka A, 2000. Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. *Aquaculture*, 189(1-2), 165-176.
- Ye G, Dong X, Yang Q, Chi S, Liu H, Zhang H, Tan B and Zhang S, 2020. A formulated diet improved digestive capacity, immune function and intestinal microbiota structure of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂) when compared with chilled trash fish. *Aquaculture*, 523, 735230.
- 강언중, 김은미, 김영자, 임상구, 심두생, 김용호, 박인석, 2005. 각시붕어, *Rhodeus uyekii* 와 칼납자루, *Acheilognathus koreensis* 에 대한 염산리도카인과 Clove oil 의 마취효과. *한국양식학회지*, 18(4), 272-279.
- 안재연, 2017. 희석액, 동해방지제 및 동결속도가 붉바리(*Epinephelus akaara*) 정자의 동결보존에 미치는 영향. *국내석사학위논문 목포대학교 대학원, 전라남도*.
- 수산정보포털, 2021. 수산통계, 해양수산부, <https://www.fips.go.kr/p/S02/>.
- 정민환, 김문진, 임한규, 손맹현, 장영진, 2012. Giant grouper *Epinephelus lanceolatus*의 담수순화 동안 혈액특성 변화. *한국수산과학회 양식분과 학술대회*, 56-56.
- 통계청, 2021. 농림어업총조사. KOSIS 국가정보포털, <https://kosis.kr/index/index.do>.
- 한국해양수산개발원, 2020. 글로벌 수산 식품 소비 트렌드 분석. *한국해양수산개발원*

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화				
	(영문) Development of Golden Seed and Domestic and International Commercialization for Groupers				
프로젝트 연구기관	순천향대학교 산학협력단		프로젝트연구 책임자	(소속)	순천향대학교
참 여 기 업	(주)아쿠아바이오텍, 가로림양식, 어업회사법인 새원, 청솔수산, 신평해산양식, 삼부수산			(성명)	방인철
총연구개발비 (4,724,136.5천원)	계	4,724,136.5천원	총 연구 기간	2017.01.01.~2021.12.31 (5년)	
	정부출연 연구개발비	4,031,000천원	총 참여 연구원 수	총 인원	123
	기업 부담금	693,136.5천원		내부인원	54
	연구기관 부담금	-		외부인원	69

○ 연구개발 목표 및 성과

- 목표 : 아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화
- 성과 : 품종 출원 6건, 등록 3건, 특허 출원 5건, 등록 9건, SCI논문 8편, 비SCI논문 8편, 분자마커 19건 개발, 국내판매 1,890.6백만원, 종자수출액 338.1만\$, 기술이전 7건, 인력양성 4명 등

○ 연구내용 및 결과

- 종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축
 - 개발 교잡품종 및 순종 종자생산과 바리과 외형분석(기형분석 및 외형비교 국내학술지 1건)과 유전적 특성 분석(종 동정 및 mitochondrial DNA 유전정보 확보 : SCI 논문 5건 및 비SCI 논문 1건) 및 국내 참여기업 대상 종자육성기업 육성
 - 국내 및 해외 질병 모니터링 및 배양, 분리, 동정을 통한 질병제어기술 개발(관련 SCI 논문 1건)
 - 해외생산기지(인도네시아, 베트남) 구축과 국내외 활용 가능한 친어를 이용한 인공성숙 (호르몬-HCG, LHRH-a, pellet 등) 및 산란유도와 우량종자 대량생산 (2,708천마리 생산)
 - 교잡품종의 수송기술, 수율향상기술, 3배체 유도기술 특허출원 및 등록과 대왕바리 정자 동결기술 등 종자생산 관련 기술 참여기업 기술이전 실시
 - 중국, 베트남 등의 동남아시아 지역 국제 시장동향 파악과 수출 대상 국가의 종자생산 동향 파악
 - 국내외 참여기업 및 생산기지를 통한 수출액 338.1만\$ 및 내수판매 1,890.6백만원
- 우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술 개발
 - 어종별 친어확보 및 관리 기술개발 : 어종별 친어확보 및 국내외 관리(5어종 1,882마리)
 - 순종 및 교잡 수정란 대량생산 공급 : 4어종 정액 355.6 ml 동결보존 및 수정에 사용, 4품종 수정란 66리터 생산, 대왕범바리 수정란 생존율 향상(42.4→61.2%)
 - 수출용 품종 다양화 및 교잡품종의 육종효율 향상 : 5어종 대상 상업화 가능한 9 교잡조합 발굴, 대왕바리 암컷 이용 교잡종 생산가능성 확인, 성장 모니터링(국내외) 및 체색 발현 향상
 - 베트남 생산기지 구축 및 종자 대량생산 기술개발 : “친어관리-수정란-종자생산-중간양성-판매”체계

구축(기술 및 시설, 베트남), 대왕범바리 종자 4년간 1.9백만 마리 생산

- 베트남 교잡종자 판매망 확보 및 판매 : 동남아 판매 가능 3개 유통업체 확보, 판매 205.1만불 달성
- 우량종자 대량생산 기술 개발 및 산업화
- 바리과 친어확보 및 관리 : 어종별 친어확보 관리(2어종(붉바리, 자바리) 2,400마리)
- 순종 및 교잡 수정란 대량생산 : 4품종 수정란 28,000cc 생산
- 초기 먹이용 미소플랑크톤 탐색 및 대량배양 : *Tintinnopsis beroidea* 동정 및 대량배양조건 확인
- 초기 먹이용 미소플랑크톤 적정 공급확인 : 난황흡수기 부화자어기 5~7일간 공급, 10~15 inds./cc 밀도로 공급이 적정, 난황흡수기 부화자어 생존율 향상(약 74%)
- 대량종자생산 단계별 먹이공급 체계 확립

먹이생물	부화 후 일수								
	~10	20	30	40	50	60	70	80	90
<i>T. beroidea</i>	↔								
Rotifer		← →							
Artemia				← →					
Copepoda						← →			
배합사료						←(Ø200~300µm) (Ø1mm)→			

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 확보된 친어를 통한 지속적인 교잡품종 생산과 국내 바리과 어류 시장 형성
- 국내 기업을 대상으로 종자생산기술 기술이전과 바리과 종자기업으로 육성
- 구축된 순종 및 교잡종의 유전적 정보를 통한 국내 수출입 바리과 어류 종 동정
- 해외생산기지 구축 및 “친어관리-수정란-종자생산-중간양성-판매”체계 구축
- 해외생산기지 대왕범바리 종자 대량생산 및 판매 실적 달성
- 동남아시아 바리류 교잡품종 시장 점유율 확대 및 신규 연구사업 발굴(ODA, R&D)
- 국내 바리과 우량종자 생산시스템 구축 및 단계별 먹이체계 확립
- 아열대 바리과 우량종자 대량 생산 및 판매
- 국내외 바리과 우량종자 판매 및 시장점유율 확대

프로젝트별 현장실태조사표 (2021)

2021.12.31.

1. 과제개요

과제번호	213008-05-5-CG400	연구기간	2021년01월 ~ 2021년 12월(총 1년)		
사업단명	수산종자사업단				
프로젝트명	아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화				
세부프로젝트 연구기관	세부프로젝트명	연구기관	세부프로젝트 책임자	해당 연구개발비(천원)	
	종자 대량생산 기술개발 및 국내외 생산기반 구축	순천향대학교 산학협력단	방인철	2,490,240	
	우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술 개발	한국해양과학 기술원	노충환	1,599,444.5	
	우량종자 대량생산 기술개발 및 산업화	청술수산	윤낙진	634,668	
연구개발비총괄 (단위 : 백만원)	정부출연금	참여기업 부담금			합 계
		현금	현물	소계	
1차년도	1,030,000	21,000	189,000	210,000	1,240,000
2차년도	980,000	8,611.5	77,500	86,111.5	1,066,111.5
3차년도	686,000	14,535	130,815	145,350	831,350
4차년도	666,000	41,000	114,000	126,668	786,668
5차년도	675,000	12,501	112,506	125,007	800,007
합계	4,037,000	97,647.5	623,821	693,136.5	4,724,136.5

2. 연구추진실적(현재까지 추진실적)

가. 연구개발내용

연구기관	주요연구내용	연구개발비 (천원)	가중치 (%)
순천향대학교 산학협력단	○ 친어관리 및 우량종자 대량생산	233,340	55
	○ 우량종자 중간육성을 통한 마케팅 및 판매	130,000	30
	○ 국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축	50,000	15
한국해양과학기술원	○ 어종별 친어 관리	80,000	30
	○ 현지 종자 대량생산 기술적용	190,000	60
	○ 현지 산업화 효율성 제고	30,000	10
청술수산	○아열대 바리과 친어 관리	20,000	23
	○교잡품종 종자 생산성 향상 기술개발	16,721	19
	○아열대 바리과 어류 대량 종자생산 및 산업화	50,000	58

나. 연구계획대비 진도표

개발내용	구분	연구개발기간(월)												진도 (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
○ 친어관리 및 우량종자 대량생산														100
○ 우량종자 중간육성을 통한 마케팅 및 판매														100
○ 국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축														100
○ 어종별 친어 관리														100
○ 현지 종자 대량생산 기술적용														100
○ 현지 산업화 효율성 제고														100
○ 아열대 바리과 친어관리														100
○ 교잡품종 종자 생산성 향상 기술개발														100
○ 아열대 바리과 어류 대량 종자생산 및 산업화														100
총 진도율														100

3. 연구개발비 집행실적(연구개발비 기준)

(현재까지, 단위 : 천원)

<총괄>

비목	세목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	내부인건비	미지급		(75,600)			
		지급	현금	148,083.2	147,848.088	235.112	
			현물				
	외부인건비	미지급					
		지급	현금	34,494.193	34,494.193	0	
			현물	28,800	28,800	0	
	연구 지원인력인건비						
	학생인건비				6,480	6,480	0
	인건비 소계				217,857.393	217,622.281	235.112
	연구시설장비비	현금	일반	9,262	9,262	0	
			통합관리				
		현물		83,706	83,706	0	
	연구활동비				19,022.834	14,988	4,034
	연구재료비				244,928.724	229,109.724	15,819
	연구수당				54,168	63,400	0
위탁연구개발비				75,000	75,000	0	
직접비 소계				703,944.951	693,088.005		
간접비	간접비			96,326	96,326		
연구개발비 총액				800,270.951	789,414.005	20,323.224	

(단위 : 천원)

<1세부>

비목	2021년		당초예산	실행예산	집행	잔액
	세목					
직접비	인건비	미지급용	(59,280)			
		지급용	94,233.6	94,233.6	93,998.488	235.112
		현물	28,800	28,800	28,800	
	학생인건비		6,480	6,480	6,480	0
	연구장비·재료비	현금	108,511.54	108,599.322	108,599.322	0
		현물	64,206	64,206	64,206	
	연구과제추진비					
	연구활동비		7,663.86	7,672.38	6,624.741	1,047.639
	연구수당		36,500	36,500	36,500	0
위탁연구개발비						
간접비	간접비		66,945	66,945	66,945	0
연구개발비 총액			413,340	413,436.302	412,153.551	1,282.751

* 실행예산에 이월액(96,302원 포함)

<2세부>

비목	2021년		당초예산	실행예산	집행	잔액
	세목					
직접비	인건비	미지급용				
		지급용	134,509.6	88,343.793	88,343.793	0
		현물				
	학생인건비					
	연구장비·재료비	현금	21,863.12	78,370.402	62,555.402	15,815
		현물				
	연구과제추진비					
	연구활동비		12,346.280	11,350.454	8,363.66	2,986.794
	연구수당		26,900	17,668	17,668	0
위탁연구개발비		75,000	75,000	75,000	0	
간접비	간접비		29,381	29,381	29,381	0
연구개발비 총액			300,000	300,113.649	281,311.855	18,801.794

* 실행예산에 이월액(113,649원 포함)

<3세부>

비목	2021연도		당초예산	실행예산	집행	잔액
	세목					
직접비	인건비	미지급용	(16,320)	(16,320)	(16,320)	0
		지급용				
		현물				
	학생인건비					
	연구장비·재료비	현금	67,167	67,221	67,217	4
		현물	19,500	19,500	19,500	0
	연구과제추진비					
	연구활동비					
	연구수당					
위탁연구개발비						
간접비	간접비					
연구개발비 총액			86,667	86,721	86,717	4

* 실행예산에 이월액(54,442원 포함)

4. 참여기업 재무현황(현재기준)

가. (주)아쿠아바이오텍

사업자등록번호	333-86-00812	대 표 자	-
설립년도	2017년 10월 27일	주요생산품	어류 종자
실무책임자	-	연 락 처	-
주 소	대전광역시 유성구 유성대로1184번길 11-24		

자 본 금	5천만원		
연간 매출액	30천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	0천만원	매출액대비 비율	0%
총 종업원수	6명	연구가용인력	3명
재무상황			
프로젝트 책임자의 종합의견	특이사항 없음		

나. 가로림양식

사업자등록번호	310-90-25587	대 표 자	-
설립년도	2000년	주요생산품	수산종자생산
실무책임자	-	연 락 처	-
주 소	충청남도 서산시 읍내동 624-5 부영아파트 103-1104 35		

자 본 금	70천만원		
연간 매출액	39천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	천만원	매출액대비 비율	- %
총 종업원수	5명	연구가용인력	5명
재무상황			
프로젝트 책임자의 종합의견	특이사항 없음		

다. 어업회사법인 유한회사 새원

사업자등록번호	108-86-16829	대 표 자	-
설립년도	2018년	주요생산품	유통(새우)
실무책임자	-	연 락 처	-
주 소	전라북도 부안군 보안면 신복길 132-36		

자 본 금	20천만원		
연간 매출액	6.2천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	천만원	매출액대비 비율	- %
총 종업원수	4 명	연구가용인력	2 명
재무상황			
프로젝트 책임자의 종합의견	특이사항 없음		

라. 청솔수산

사업자등록번호	414-98-38420	대 표 자	-
설립년도	2004년 5월 31일	주요생산품	어류 종자
실무책임자	-	연 락 처	-
주 소	전라남도 무안군 현경면 현해로 335-35 청솔수산		

자 본 금	146천만원		
연간 매출액	30천만원	수출액	천만원
연구개발투자비용	11천만원	매출액대비 비율	36.70%
총 종업원수	1명	연구가용인력	1명
재무상황	부채비율이 매우 낮아 우량한 상태로 평가됨		
프로젝트 책임자의 종합의견	특이사항 없음		

5. 기타의견

가. 연구관리 규정 및 제도개선이 필요한 사항

- 없음

나. 연구수행 중 애로사항 및 건의사항

- 없음

다. 성과에 대한 홍보 요청사항

- 없음

6. 프로젝트 책임자의 종합의견

- 없음

자체평가보고서

사업단명	수산중자사업단	과제번호	213008-05-5-CG400		
프로젝트명	아열대 바리와 우량종자 개발과 국내외 산업화				
프로젝트연구기관	순천향대학교 산학협력단				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	방인철			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	순천향대학교 산학협력단	성명	방인철
		기관(부서)	한국해양과학기술원	성명	노충환
		기관(부서)	청술수산	성명	윤낙진
연구기간	총기간	2017. 1. 1 - 2021. 12. 31 (5년)	당해연도기간	2021. 01. 01 - 2021. 12. 31	
연구비(천원)	총규모	4,724,136.5	당해연도규모	800,007	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행 계획대로 진행 계획대로 진행되지 못함

계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음 어느 정도 얻음 얻지 못함

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	5	1	14	8	20	9	19			750	838	4		2
연구기간 내 달성실적	6	3	5	9	8	8	20			1910.1	338.1	6		4
달성율(%)	120	300	36	113	40	89	105			255	40	150		200

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

- 바리과 교잡종 수송기술 확립
- 바리과 어류 종자의 단계별 먹이 체계 구축으로 생존율 및 생산성 향상
- 바리과 어류 종자의 대량 종자생산
- 바리류 5어종 대상 상업화 가능한 9개의 교잡조합 발굴 및 2개 교잡 품종 상업화
- 베트남 현지 환경에 적합한 “친어관리-수정란-종자 생산-중간양성·판매” 체계 구축

3-2 과학적 성과

- 바리과 교잡종의 유전자원 정보 확보 및 서열 등록
- 바리류 기술개발 종주국인 대만과 최대 생산국인 중국에 특허 획득
- 바리과 어류 종자의 대량 종자생산 체계 자료 제공
- 미소플랑크톤을 이용한 난황흡수기 초기 생존율 향상

3-3 경제적 성과

- 국내 바리과 종자 보급 및 시장 성장 기반 조성파 판매
- 바리과 종자 성장 자료를 기반으로 대만 시장 교두보 마련 및 수출
- 베트남 진출 기업을 통한 종자판매 205.1만 USD 달성 및 향후 판매액 증가 예상

3-4 사회적 성과

- 우리나라 수산종자업체의 동남아 진출 교두보 마련 및 수산종자 시장 진출 확대
- 우리나라 수산양식 품종 다양화를 통해 품종 집중화 완화 및 경제성 향상
- 귀어자 또는 신품종 양식대상자 육성기반 마련

3-5 인프라 성과

- 국내 유통채널 구축을 통한 수출판매 인프라 구축
- 베트남 나트랑 지역에 수산종자 생산기지 구축 및 운영(3년간)
- 대량 종자생산을 위해 추진한 시설현대화사업을 리빙랩과 같이 활용하여 개방
- 바리과 종자 육성 기술자문으로 국내외 인프라 구축 및 판매활용

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 : 2천만원

- 해당 없음

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

- 없음

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 : COVID-19 및 무역마찰로 인해 수출이 어려웠으나, 내수 판매를 통해 연구개발을 진행함)

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

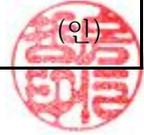
4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

- 즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

- 해당 없음

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	순천향대학교 산학협력단	교수	방 인 철 (인)



연구성과 활용계획서 (2017~2021)

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
프로젝트명	아열대 바리과 우량종자 개발과 국내외 산업화			
프로젝트 연구기관	순천향대학교 산학협력단	프로젝트연구책임자	방인철	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	4,031,000천원	693,136.5천원	-	4,724,136.5천원
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

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
1. 종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 생산기반 구축	
① 종자생산 및 질병제어 기술개발	· soft x-ray를 통한 기형 비교 및 유전체 특성확보 · 대왕자바리 3배체 생산 및 질병 모니터링
② 우량종자 대량생산 및 상품성 검증	· 호르몬 별 성숙 및 산란비교와 수온자극을 통한 수율 향상기술 개발 · 관능평가 및 collagen 분석을 통한 상품성 검증
③ 친어관리 및 수정란 생산	· 국내외 활용가능한 친어의 연중 사육관리와 조기 및 다산란유도 실시 · 순종 자바리, 능성어, 대왕바리, 교잡종 대왕범바리, 대왕자바리, 대왕능성어 등 수정란 생산
④ 국내외 우량종자 대량생산 기술개발	· 국내외 수정란 입식 시 바리과 어류 종자의 생존율 및 기형을 비교 · 수정란 및 치어 대상 수온, 밀도, 염분, DO 등을 고려한 대량 수송 기술 개발 · 국내외 상시 사용가능한 대왕바리 동결정액 확보 및 매뉴얼 제작
⑤ 해외 생산기지 운영을 통한 현지 마케팅 및 판매	· 해외생산기지를 통한 수출 126.7만\$
⑥ 국제 시장동향 파악 및 유통채널 구축	· 동남아시아 등 전 세계주요시장 바리과 어류 종자시장 동향 파악 · 유통채널 3건 구축

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
2. 우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술개발	
① 어종별 친어확보 및 관리 기술개발	· 5어종 1,882마리 확보(국내외) · 1,2,3세부 기관에서 친어로 활용
② 순종 및 교잡 수정란 대량생산 공급	· 4어종 정액 355.6 ml 동결보존·수정에 사용 · 수정란 생존율 향상(42.4→61.2%) · 4품종(1 순종, 3 교잡종) 수정란 66리터 생산
③ 수출용 품종 다양화 및 교잡품종이 육종효율 향상	· 5어종 대상 상업화 가능한 9 교잡조합 발굴 · 대왕바리 암컷 이용 교잡종 생산가능성 확인 · 성장 모니터링(국내외) 및 체색 발현 향상
④ 베트남 생산기지 구축 및 종자 대량생산 기술개발	· “친어관리-수정란-종자생산-중간양성-판매”체계 구축 (기술 및 시설, 베트남) · 종자 4년간 1.9백만 마리 생산
⑤ 베트남 교잡종자 판매망 확보 및 판매	· 동남아 판매 가능 3개 유통업체 확보 · 베트남 현지생산판매 205.1만불 달성

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
3. 우량종자 대량생산 기술 개발 및 산업화	
① 난황흡수기 초기 먹이 미소플랑크톤 대량배양	· <i>Tintinnopsis beroidea</i> 동정 및 대량배양조건 확인 · 적정 먹이 공급 밀도(10~15 inds./cc) 제시
② 난황흡수기 생존율 향상	· 생존율 향상을 위한 환경조건 구명 · 기존연구 생존율 9.2% 대비 약 74%로 향상
③ 순종 및 교잡종 수정란 대량생산	· 4품종 수정란 28,000cc 생산
④ 바리과 종자생산 단계별 먹이공급 체계	· 부화 후 단계별 성장에 따른 먹이 공급 체계 구축
⑤ 대량종자생산 시스템	· “친어관리 육상관리→수정란 및 종자생산→판매” 체계 구축(시설 확장 및 현대화) · 종자 4년간 1,480천마리 생산
⑥ 바리과 종자 유통망 구축 및 판매	· 국내 23개업체 확보 및 판매(10.44억원 판매) · 국외 1개 업체 확보 및 판매(6.6만불 판매) · 국외(중국, 일본 등) 업체 종자 홍보

3. 연구비 집행실적 (2017~2021)

구분	금액 세부프로젝트명	계 획금액 (천원)	사 용액 (천원)	잔액 (천원)	비고	
아열대 바리	제1세부 (종자 대량생산 기술 개발 및 국내외 산업화)	1차년도	840,000	840,000	269.1	-이자발생액 269,115원 포함
		2차년도	430,269.1	396,203.2	34,262.3	-이자발생액 196,369원 포함
		3차년도	447,612.3	421,209.2	26,540.8	-이자발생액 137,743원 포함
		4차년도	419,874.8	419,874.8	87.8	-이자발생액 87,782원 포함
		5차년도	413,427.8	413,427.8	0	
		소계	2,551,184	2,490,715	0	
	제2세부 (우량 수정란 생산과 품종 고도화 기술 개발)	1차년도	400,000	399,320.9	679.1	-이자발생액 120,215원 포함
		2차년도	370,243.8	370,053.3	190.5	-이자발생액 110,709원 포함
		3차년도	250,301.2	249,616.4	684.8	-이자발생액 80,532원 포함
		4차년도	280,765.4	280,703.8	61.6	-이자발생액 52,088원 포함
		5차년도	300,113.6	300,113.6	0	
		소계	1,601,424	1,599,808	0	
	제3세부 (우량 종자 대량생산 기술개발 및 산업화)	2차년도	266,667	232,965	33,702	-이자발생액 91,458원 포함
		3차년도	201,702	181,616	20,170	-이자발생액 83,785원 포함
		4차년도	133,504	133,503	54	-이자발생액 53,534원 포함
		5차년도	86,721	86,752	4	-이자발생액 34,226원 포함
		소계	634,668	634,664	4	-3,783원 반납예정
	총계		4,787,276	4,725,187	4	-3,783원 반납예정

4. 연구목표 대비 성과

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	5	1	14	8	20	9	19	-	-	750	838	4	-	2	
최종실적	6	3	5	9	8	8	20	-	-	1890.6	338.1	6	-	4	
달성율(%)	120	300	36	113	40	89	105	-	-	252	40	150	-	200	
1차 년도	목표	1	0	1	1	4	2	2	-	-	100	100	1	-	0
	실적	2	0	0	1	0	0	2	-	-	247.1	28.8	1	-	0
	달성률	200	-	0	100	0	0	100	-	-	247	29	100	-	-
2차 년도	목표	1	0	1	1	4	2	0	-	-	120	130	1	-	0
	실적	2	2	0	3	3	1	0	-	-	352.8	60.8	3	-	0
	달성률	200		0	300	75	50	-	-	-	294	47	300	-	-
3차 년도	목표	1	0	3	1	4	2	5	-	-	150	160	1	-	0
	실적	1	0	3	1	1	2	5	-	-	500	117.6	1	-	2
	달성률	100	-	100	100	25	100	100	-	-	333	74	100	-	-

4차 년도	목표	1	0	4	2	4	2	6	-	-	180	200	1	-	1
	실적	0	1	1	3	2	5	7	-	-	347.7	73.1	1	-	1
	달성률	0		25	150	50	250	117	-	-	193	37	100	-	100
5차 년도	목표	1	1	5	3	4	1	6	-	-	200	248	0	-	1
	실적	1	0	1	1	2	0	6	-	-	453.5	57.8	0	-	1
	달성률	100	0	20	33	50	0	100	-	-	226.8	23	-	-	100

5. 핵심기술

구분	핵심기술 명
①	바리과 어류 종자 기형저감 기술
②	바리류 교잡 수정란 생산
③	바리과 어류 대량 종자 생산
④	바리과 어류 종 동정 기술
⑤	수정란 수송기술 개발

6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	v	v					v	v		
②의 기술	v	v					v			
③의 기술	v	v					v			
④의 기술		v			v					v
⑤의 기술	v	v				v		v		

* 각 해당란에 v 표시

7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	바리과 어류 건강종자 생산
②의 기술	교잡품종의 상업화/세계 교잡품종 시장 점유율 확대
③의 기술	바리과 어류 종자의 국내외 시장 확대 및 양식품종 다양화
④의 기술	국내로 수입되는 바리과 어류의 정확한 종 동정
⑤의 기술	바리과 어류 수정란 수출입 시 생존율 향상

8. 연구종류 후 성과창출 계획

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	5	1	14	8	20	9	19	-	-	750	838	4	-	2
연구기간 내 달성실적	6	3	5	9	8	8	20	-	-	1910.6	338.1	6	-	4
연구종료 후 성과창출 계획	-	1	2	1	3	7	-	-	-	600	300	-	-	-

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed프로젝트사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.