

3 배체 나일틸라피아 생산에 관하여

김동수 · 최경철 · 박인석*

부산수산대학교 생물공학과 · *한국해양연구소 해양생물공학실

Triploidy Production of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*

Dong Soo Kim, Gyeong Cheol Choi and In-Seok Park*

Department of Biological Science and Technology
National Fisheries University of Pusan
Pusan 608-737, Korea

*Marine Bioengineering Lab., KORDI, Ansan
425-600, Korea

ABSTRACT

Fertilized eggs of *Oreochromis niloticus* were subjected to cold treatments at 14 °C for 30, 45 and 60 minutes starting 5 minutes after insemination at 27 °C. Ploidy levels were determined by chromosome preparations and the analysis of both cell and nuclear sizes. A temperature shock of 14 °C for 60 minutes yielded the best results (83.3%). Gonadal development in both sexes was severely retarded in all triploid groups at 6 months of age.

서 론

틸라피아는 Cichlidae 과에 속하는 아프리카 원산의 열대성 담수어류로서(Trewavas, 1982), 여타 어종에 비해 낮은 용존 산소와 나쁜 수질에 잘 견디며, 광범위한 염분 농도는 물론, 어병에 대해 높은 저항성이 있고, 우수한 육질 등으로 인하여 전 세계적인 양식 대상으로 각광받고 있다. 근간 우리나라의 틸라피아 생산고는 급격한 증가 추세에 있어 양식 대상으로 크게 각광을 받을 것으로 전망되고 있다(Kim *et al.*, 1988b).

본 종은 부화 후 4~5 개월만에 성 성숙이 이루어지며 특히, 성숙된 암컷은 최적 환경 조건 하에서는 10~15일만에 재성숙 및 산란이 이루어지는 등, 높은 생식력으로 인하여 과밀도에 의한 성장 저해가 일어나 양식 산업에 큰 장애 요인이 되고 있다(Bardach *et al.*, 1972 ; Wohlfarth and Hulata, 1983).

어류에서 유도된 3배체는 불임화를 동반한다(Purdom, 1983 ; Thorgaard, 1986). 불임화로 인해 3배체 어류는 산란기의 생식소 성숙 및 왕성한 물질대사가 억제되어 에너지 재회수를 이룰 수 있어 육질부의 증가와 아울러 사료 효율 및 성장이 증가된다. 따라서 양식 산업시 3배체 어류의 경제성은 매우 크며 특히 몇몇 어종에 있어서는 성 성숙기에 3배체의 사망율이 감소됨이 보고되고 있다(Allen and Stanley, 1979 ; Don and Avtalion, 1986 ; Refstie *et al.*, 1977 ; Thorgaard and Gall, 1979 ; Wolters *et al.*, 1982a).

어류의 3배체는 여러가지 방법에 의해 유도 될 수 있으나, 수정후에 화학적 처리보다는 물리적 처리가 제 2극체 방출 억제에 효과적이다(Thorgaard, 1986). 특히 온도 처리에 의한 유도법은 그 처리 방법의 간편성으로 인하여 널리 사용되고 있다. 온도처리법중 고온 처리에 의한 틸라피아 3

배체는 *Oreochromis aureus* (Don and Avtalion, 1986 ; Penman *et al.*, 1987a & b ; Valenti, 1975), *O. mossambicus* (Pandian and Varadaraj, 1987 ; Penman *et al.*, 1987a & b)와 *O. niloticus* (Chourrout and Itskovich, 1983 ; Don and Avtalion, 1988 ; Penman *et al.*, 1987a & b)에서 유도된 바 있으나 그리 좋은 성적을 얻지 못하였다. 이에 저온 처리에 의한 틸라피아 3배체 유도가 시도되어 *O. aureus* 와 *O. niloticus* (Don and Avtalion, 1988)에서 고온 처리보다 좋은 결과를 얻은 바 있다.

본 연구는 여타 틸라피아 종에 비해 높은 성장을 보이는 나일틸라피아 (Nile tilapia ; *O. niloticus*)를 대상으로 3배체를 생산하기 위하여, 3배체 유도시의 적정처리 조건을 구하였으며 아울러 성숙 크기에 도달한 유도 3배체의 생식소 발달 유무 및 발달 정도를 조직학적으로 조사하여 틸라피아 양식시 불임화에 의한 생산성 향상을 위한 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 어류는 일본으로부터 도입하여 부산수산대학 양어장에서 사육중인 나일틸라피아 (Nile tilapia ; *Oreochromis niloticus*)이다.

2. 방법

2-1. 산란 및 수정

친어의 사육 및 산란을 위하여 400l 용량의 유리수조 (60cm×90cm×60cm) 2개를 사용하였으며 이를 700l 용량의 여과조에 연결 시켜 분당 약 5l의 사육수를 순환시켰다. 지하수로 매일 전체 사육수 용량의 1/5 정도를 환수하였으며 사육수온도 27.0±1℃로, 용존산소는 3~4ppm이 되게 유지하였다. 수조 바닥은 약 5cm 두께로 잔 자갈을 깔아 친어의 산란장이 될 수 있도록 하였고, 시판 사료를 충분히 공급하였으며 잔존 사료 및 배설물을 자주 제거하였다.

성숙한 암컷 및 수컷 친어의 선별은 밝은 체색, 생식 돌기의 돌출 등 Rothbard and Pruginin(1975)의 기준에 의하였으며, 특히 암컷 친어로는 생식 돌기가 붉은 색을 나타내며 팽창한 개체를 사용하였다. 선별된 암수 친어는 각 수조당 수컷 1 마리에 암컷 4 마리의 비율로 수용하였다. 수컷과 암컷 사이에 1 : 1의 짝짓기가 이루어진 후 산란 행위에 의해 산란이 이루어지기 직전 암컷 친어 및 수컷 친어를 수조에서 꺼내어 Rothbard and Pruginin(1975)의 방법에 의해 착출법으로 채란, 채정하였다. 착출시, 혈관 및 결체조직이 보이지 않으며 손가락 압력으로 쉽게 깨어지는 완숙된 난만을 채란하였다. 수컷 친어를 착출시 처음 몇 방울의 정액은 오줌의 오염을 방지하기 위해 수정에 사용하지 않았다. 수정 방법은 습식법에 의하였으며 난에 정자를 첨가하는 시간을 수정 시작 시간으로 정하였다.

2-2. 3배체 유도

3배체를 유도하기 위해, 수정난을 수온 27℃의 조건하에서 5분간 안정시킨 후 14℃의 냉각 항온 수조 내에서 30, 45 및 60분간 저온 처리를 하였다. 처리군 및 처리를 하지 않은 대조군은 27℃로 항온 조절된 개량된 Zuger glass에 옮겨 배양하였다.

2-3. 수정율, 부화율 및 초기 생존율 분석

저온 처리가 난의 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 실험군 및 대조구에서 무작위로 알을 선택하여 수정후 6시간에 수정율을 조사하였으며 부화 시에 부화율 및 부화에서 난황 흡수기까지의 초기 생존율을 구하였다. 수정율, 부화율 및 초기 생존율은 해당 개체수를 백분율로 환산하여 계산 하였다.

2-4. 3배체 유도율분석

3배체 유도율을 조사하기 위하여 체중 약 20g에 달하는 개체를 대조군 및 각 실험군당 각 20 마리씩 사용하였다. 3배체 유도율 측정에는 세포 및 핵의 크기 측정과 아울러 이들의 비교 분석에 의하였으며, 염색체 수 조사 및 분석에 의하였다.

2-5. 세포 및 핵의 크기측정

대조군 및 유도 3배체의 유도율을 측정하기 위하여 세포 및 핵의 크기를 측정하였으며 이들의 비교 분석을 실시하였다. 1 ml 주사기를 사용하여 각 개체의 미부 정맥으로부터 말초 혈액을 채취한 후 slide에 도말하여 고정하였다. 작성된 표본 slide는 Giemsa 혹은 MayGrünbaldt Giemsa 용액으로 염색하였다. 각 개체 당 110 개의 적혈구를 선택하여 세포 및 핵의 장경 및 단경을 배율 1,000배의 현미경하에서 micrometer로 측정하였다. 세포 및 핵의 표면적과 부피는 Lemoine and Smith(1980)의 방법에 의해 구하였다.

2-6. 염색체 및 핵형 분석

대조군 및 처리군의 3배체 유도율을 측정하기 위하여 염색체 분석과 아울러 핵형분석을 실시하였다. 대조군 및 각 실험군 당 각 개체에 colchicine를 10 µg/g 체중의 용량으로 복강 주사한 후 3~4 시간 후에 신장을 적출하여 일반적인 직접 방법으로 염색체 표본을 작성하였다. 적출된 신장 세포는 상온에서 0.05M KCl의 저장액에 20 분간 처리한 후 1 : 3 Acetic acid-methanol에 고정하였다. 고정액을 2 번 교환 후 세포를 재고정하였으며 공기 건조법으로 slide 표본을 작성하였다. 작성된 slide 표본은 5% Giemsa 용액에 10 분간 염색하였다.

3배체 유도율을 측정하기 위하여 배율 1,000배의 현미경 하에서 각 개체 당 20 개 이상의 중기 염색체 상을 관찰하였으며, 분열 상이 좋은 중기 상을 대상으로 idiogram을 작성하였다. 염색체의 분류는 Levan *et al.*, (1964)의 기준에 의거하였다.

2-7. 생식소의 조직학적 분석

유도된 3배체의 불임 정도 및 여부를 확인하기 위하여 기존의 microtechnique 방법에 따라 생식소의 조직학적 분석을 실시하였다. 성 성숙이 이루어질 수 있는 시기인 부화 후 약 6 개월에 3배체 및 대조군인 2배체 나일틸라피아의 생식소를 적출하여 Bouin 용액에 24 시간 고정하였다. 고정된 생식소는 4µm의 두께로 조직 절편을 만든 후 Harris's hematoxylin과 eosin-phroxine으로 염색하였으며 현미경 하에서 검경하여 3배체 나일틸라피아 암컷 및 수컷 생식소의 조직과 2배체 나일틸라피아 암컷 및 수컷의 생식소 조직과의 비교 분석을 실시하였다.

결 과

1. 수정율, 부화율, 초기 생존율 및 3배체 유도율

수정후 5 분간 수온 27 °C의 조건하에서 부화시킨 후 14 °C로 30, 45 및 60 분간 저온처리한 결과는 Table 1에서 나타나듯이 수정율은 대조군에서는 53.7%, 온도 처리군에서는 55.2~61.2%를 나타내었다. 부화율은 대조군이 75.6%인 반면 온도 처리군은 68.4~73.5%로 다소 감소하였다. 부화 후 난황 흡수기까지의 초기 생존율은 대조군이 68.3%인 반면 처리군은 49.2~57.4%로 나타났다. 3배체의 생산은 대조군에서는 이루어지지 않았으며 30, 45 및 60 분간의 처리군에서는 처리 시간의 증가에 비례하여 46.7~83.3%로 3배체 유도율이 증가하였다.

Table 1. Effect of different treatment durations starting 5 minute after insemination at 14 °C

Treatment duration (min.)	No. of eggs treated	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Early survival rate (%)	Triploid rate (%)
0	177	53.7	75.6	68.3	0
30	404	55.2	73.5	49.2	46.7
45	750	61.2	68.4	57.4	75.0
60	641	57.9	68.4	56.7	83.3

2. 염색체 및 핵형 분석

나일틸라피아의 염색체 분석 결과 대조군에서의 염색체 수는 $2n=44$ 로 나타났으며 핵형 분석 결과 5 쌍의 차중부 염색체와 17 쌍의 단부 염색체로 구성되어 있었고 이중 1 쌍의 차중부 염색체는 여타 염색체보다 매우 컸다(Fig. 1a). 처리군의 유도 3배체의 염색체수는 $3n=66$ 로 나타나 3배체임을 확인할 수 있었다(Fig. 1b).

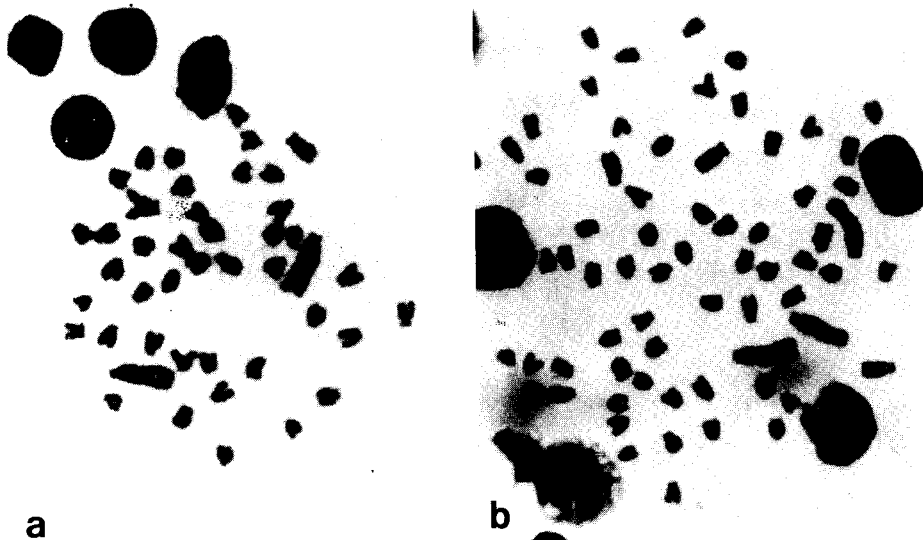


Fig. 1. Metaphase chromosome spreads from kidney tissue of diploid (a : $2n=44$) and triploid (b : $3n=66$) fish of *O. niloticus*.

3. 세포 및 핵의 크기 측정

대조군 및 유도된 3배체 나일틸라피아의 세포 및 핵의 장경, 단경의 크기 및 이에 따른 표면적 및 부피의 크기는 Table 2에서 보듯이 2배체 세포의 장, 단경은 각각 $10.0\mu\text{m}$ 및 $7.1\mu\text{m}$ 이며 3배체 세포의 장, 단경은 $13.2\mu\text{m}$ 및 $7.5\mu\text{m}$ 로서 3배체는 2배체에 비해 세포의 장, 단경에 있어 각각 1.32배 그리고 1.05배의 증가를 보였다. 적혈구 표면적에 있어 2배체는 $54.7\mu\text{m}^2$ 이며 3배체는 $77.3\mu\text{m}^2$ 으로서 3배체가 2배체에 비해 적혈구 표면적에 있어 1.41배의 증가를 보였다. 적혈구 부피는 2배체가 $254.3\mu\text{m}^3$ 이며 3배체는 $384.8\mu\text{m}^3$ 으로서 2배체에 비해 적혈구 부피에 있어 1.51배의 증가를 보였다. 2배체

Table 2. Comparison of erythrocytic size between diploid and triploid of Nile tilapia

		2n*	3n*	Ratio of 3n/2n
Erythrocyte	Major axis (μm)	10.0 \pm 0.1	13.2 \pm 0.8	1.32
	Minor axis (μm)	7.1 \pm 0.2	7.5 \pm 0.1	1.05
	Surface area (μm^2)	54.7 \pm 0.8	77.3 \pm 4.3	1.41
	Volume (μm^3)	254.3 \pm 7.6	384.8 \pm 22.1	1.51
Nucleus	Major axis (μm)	4.8 \pm 0.2	6.1 \pm 0.1	1.26
	Minor axis (μm)	2.9 \pm 0.1	3.2 \pm 0.0	1.11
	Surface area (μm^2)	11.1 \pm 0.2	15.4 \pm 0.4	1.39
	Volume (μm^3)	21.5 \pm 0.6	33.0 \pm 1.1	1.53

* Values are means \pm S. D.

핵의 장, 단경은 4.8 μm 및 2.9 μm 이며 3배체 핵의 장, 단경은 6.1 μm 및 3.2 μm 로서 3배체는 2배체에 비해 핵의 장, 단경에 있어 각각 1.26배 그리고 1.11배의 증가를 보였다. 핵의 표면적에 있어 2배체는 11.1 μm^2 이며 3배체는 15.4 μm^2 로서 3배체가 2배체에 비해 표면적에 있어 1.39배의 증가를 보였다. 핵의 부피에 있어 2배체는 21.5 μm^3 이며 3배체는 33.0 μm^3 로서 3배체가 2배체에 비해 1.53배의 증가를 보였다. 이상의 결과로 볼 때 3배체화 시 세포 크기의 신장은 단축에 비해 장축이 현저하였으며 적혈구의 단축 신장에 대한 장축 신장은 1.26배로서 핵의 단축 신장에 대한 장축 신장의 1.14배에 비해 컸다(Fig. 2).

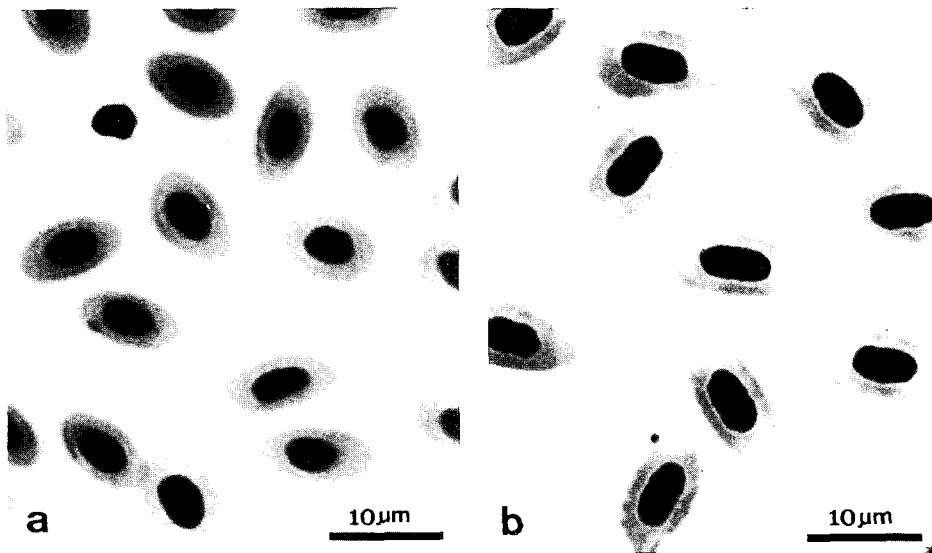


Fig. 2. Microphotographs of diploid (a) and triploid (b) erythrocytes of *O. niloticus*.

4. 생식소 분석

Fig. 3은 부화 후 6 개월된 3배체 나일틸라피아의 외형으로서 혼인색 및 생식 돌기의 돌출 등이

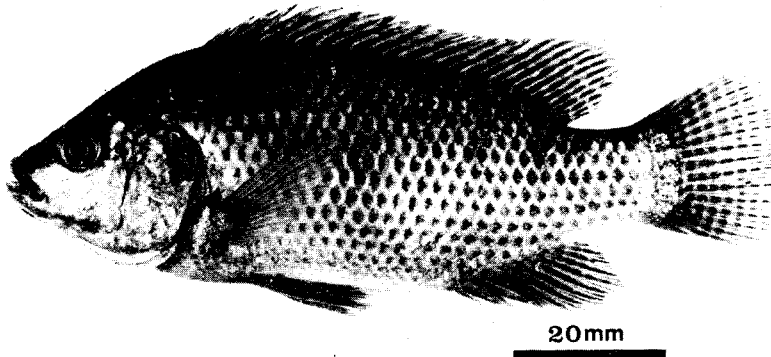


Fig. 3. External morphology of triploid *O. niloticus*.

나타나지 않았다. 이들 개체의 생식소의 조직학적 분석 결과 2배체의 난소는 난모 세포로 구성되어 난황 물질이 축적된 단계 및 성숙난 단계였으며(Fig. 4a) 유도된 3배체 나일틸라피아의 난소는 난소강에 미 분화된 난모 세포가 일부 산재하였으나 생식소 조직 내에서 전체적인 감수 분열이 관찰되지 않아 생식소 수준의 불임이었다(Fig. 4b). 2배체 정소는 정 세포 및 정자로 이루어져 정자 형성 과정이 활발히 이루어지고 있었고(Fig. 4c) 3배체 정소는 2배체 정소에 비하여 생식소 크기가 작았으며 거의 정모세포로 이루어져 있으나 일부 개체에서는 정자가 국소적으로 존재함이 관찰되었다(Fig. 4d).

고 찰

3배체 어류의 산업적 가치성은 기능적 불임으로서 산란시의 높은 사망율, 육질 저하, 사료 효율 감소 및 식욕 감소 등의 부작용을 감소시킨다 (Thorgaard, 1986). 3배체 나일틸라피어를 유도하기 위해 본 실험에 사용된 최초 처리 시간인 수정 후 5분(사육수온 27℃)은, 기존 틸라피아 어종의 3배체 유도 실험에 사용된 사육 수온과 틸라피아의 중간 초기 발생 수온이 거의 유사함을 고려할 때 나일틸라피아에 적절한 최초 처리 시간으로 사료된다. 그러나 본 실험 결과 나타난 대조군의 낮은 수정율과 부화율을 감안하여 앞으로 양질의 정, 난자를 얻을 수 있는 연구가 수반되어야 하리라 생각된다.

3배체 유도시 저온 또는 고온 처리는 방추사의 변성을 일으킴으로써 제 2 감수 분열을 억제한다 (Purdom, 1983). 본 실험에 사용된 저온 처리는 대조구와 비교시 수정율, 부화율 및 초기 생존율에 있어 거의 유사하여 난의 발생 초기에 심한 영향을 주지 않음을 알 수 있으며 특히 60분간의 저온 처리는 83.3%의 비교적 높은 3배체 유도율을 나타내었다. 그런데 *O. aureus*에 있어 3배체 유도시 11℃의 저온 처리는 90%의 높은 부화율과 아울러 75%의 3배체 유도율을 나타내 38℃의 고온 처리시 10%의 3배체 유도율에 비해 효율적이었다 (Don and Avtalion, 1988). 따라서 본 연구의 처리 조건을 앞으로 약간 수정, 보완하여 3배체율을 더욱 높이기 위한 연구가 수행 되어야 할 것이다.

나일틸라피아의 염색체 및 핵형분석 결과는 Kim and Park (1990a)의 보고와 같이 같았으며, 본 실험에서 유도된 나일틸라피아 3배체는 3 개조의 염색체를 가지며 특히 3 개조의 큰 차중부 염색체는 명확하였다. 이와같은 큰 차중부 염색체는 차후 틸라피아에서 배수화의 수준을 판별하는 marker

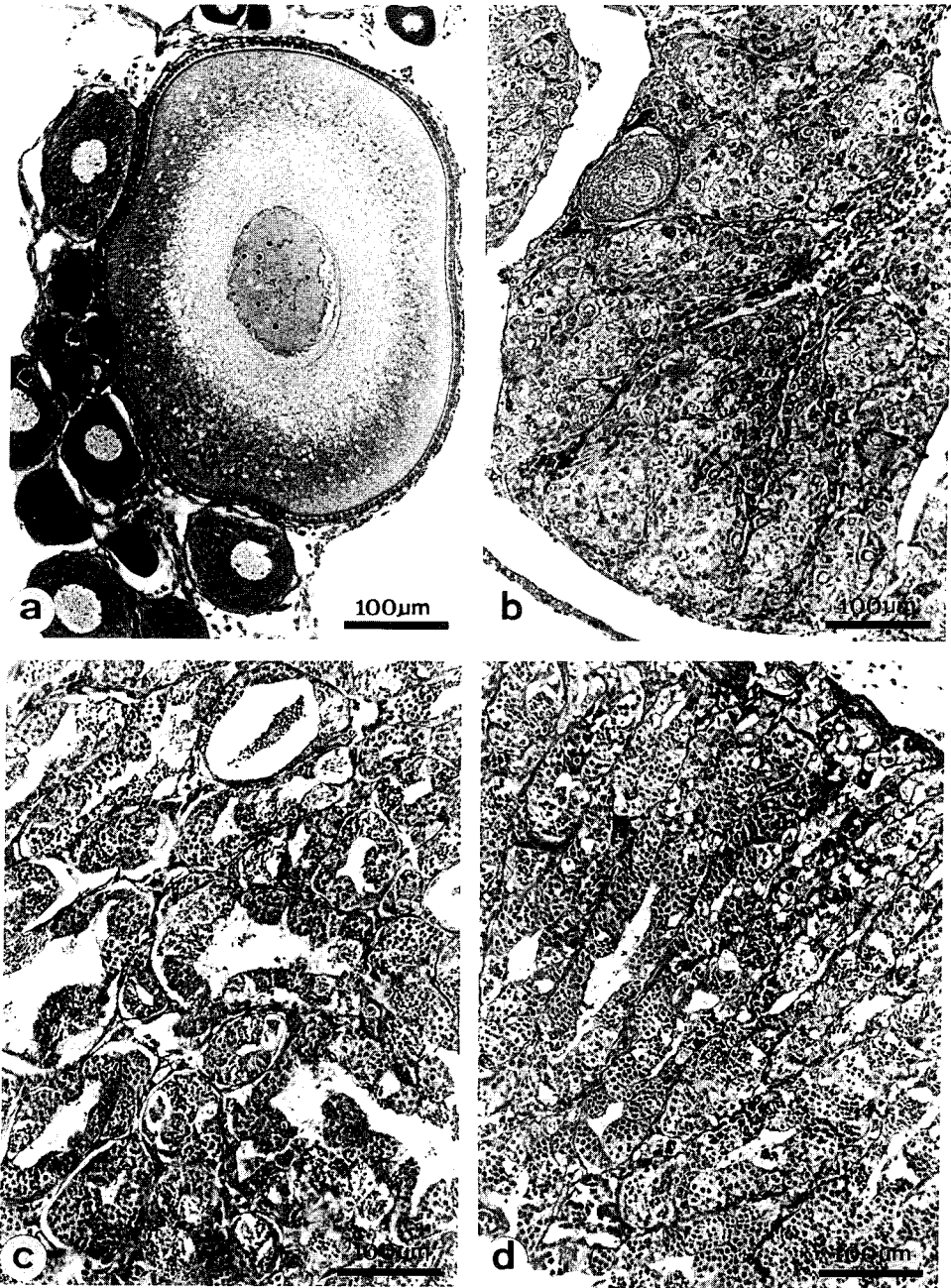


Fig. 4. Transverse section of ovaries (a : 2n & b : 3n) and testes (c : 2n & d : 3n) of *O. niloticus*

염색체로 유용하게 사용되리라 생각된다.

어류에서 적혈구 세포 및 핵의 크기는 배수화에 기인하여 증가된다 (Swarup, 1959 ; Sezaki *et al.*, 1977). 본 실험에서의 3배체 나일틸라피아는 2배체에 비해 세포의 장, 단경에서 1.32배 및 1.05배 그리고 핵의 장, 단경에서 1.26 배 및 1.11배의 크기 증가를 보였다. 본 결과는 염색체 조의 증가에 기인된 세포 및 핵의 크기 증가로 사료되며 더우기 장축이 단축에 비해 증가되는 현상은 이미 Channel catfish에서 3배체화시 세포 및 핵의 크기 증가는 장축이 현저함이 보고된 바 있다 (Wolters *et al.*, 1982b ; Kim *et al.*, 1990b).

3배체 어류에서의 2 차 성징은 2배체에 비해 명확하지 않다 (Stanley *et al.*, 1984). 본 실험에서의 나일틸라피아 3배체의 2 차 성징이 2배체에 비해 뚜렷하지 않는 이유는 은어 (Ueno *et al.*, 1986)에서와 동일하게 생식소의 미 발달로 인한 성 호르몬의 합성 및 분비에 장애를 일으켜 2 차 성징 발현의 억제에 기인된 것으로 사료되며 *O. aureus* 3배체 역시 암수의 생식 돌기 발달에 있어서 2배체보다 미약함이 보고된 바 있다 (Don and Avtalion, 1986).

3배체 어류의 양식 산업에 이용은 성장 증가 및 세포 생리의 변화와 아울러 3배체 어류의 정, 난자 형성 시 감수 분열 이상에 기인한 불임화의 효과로 궁극적으로 양식 생산고의 증대를 목적으로 한다 (Benfey and Sutterlin, 1984 ; Kim *et al.*, 1988a ; Purdom, 1983 ; Thorgaard, 1986). 3배체 틸라피아의 생식소를 조직학적으로 분석한 결과 3배체의 난소 조직은 단지 일부만 제 1 난포 세포 단계에 머물러 있어 생식소 수준의 불임이었으나, 3배체 나일틸라피아의 정소는 일부 정자가 형성되어 생식 가능성을 보였다. 그런데 초어 3배체의 경우 형성된 정자는 그의 DNA 함량이 반수체부터 6배체까지의 비 정상적인 분포를 보여 배우자 수준의 불임으로 판명된 바 있다 (Allen *et al.*, 1986). 따라서 앞으로 본 종의 정자에 대한 세포 화학적 분석이 필요하리라 사료되며 아울러 2배체와 3배체와의 성장율 및 제조성 등 산업과 연관된 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

틸라피아는 전 세계적인 양식 대상종으로 크게 각광 받고 있다. 그러나 본 종은 부화후 4~5 개월만에 성 성숙이 이루어지며 높은 산란력을 가져 우리 나라와 같이 1 kg 전후의 개체가 상품가치를 갖는 경우 대형개체를 빠른 시간내에 생산하기 어려운 문제점을 지니고 있다. 이에 본 연구는 불임 틸라피아를 생산하기 위하여 틸라피아중 비교적 성장이 빠른 나일틸라피아(*O. niloticus*)를 대상으로 수정난을 저온처리하여 3배체를 유도한 후, 그 경제성 평가의 일환으로 생식소의 불임여부를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 3배체 유도율은 수정 5 분 후 14 °C의 조건하에서 30~60 분간 저온처리한 결과 46.7~83.3 %의 3배체 유도율을 나타내었다.
2. 2배체 나일틸라피아의 염색체수는 $2n=44$ 였으며 3배체의 염색체수는 $3n=66$ 이었고 세포 및 핵의 부피는 3배체가 2배체에 비해 모두 1.5배 정도 컸다.
3. 유도된 3배체의 암컷은 생식소 수준에서 불임이었고 수컷의 경우에는 배우자 수준에서 불임이 관찰되었다.

참 고 문 헌

- Allen, S. K. and J. G. Stanley. 1979. Polyploid mosaics induced by cytochalasin B in landlocked Atlantic salmon, *Salmo salar*. Trans. Am. Fish. Soc. 18 : 462~466.

- Allen, S. K., R. G. Thiery and N. T. Hägstrom. 1986. Cytological evaluation of the likelihood that Triploid Grass Carp will Reproduce. *Trans. Am. Fish Soc.* 115 : 841~848.
- Bardach, J. E., J. H. Ryther and W. O. McLarney. 1972. *Aquaculture : The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms*. Wiley-Interscience Publication, New York, pp. 1~869.
- Benfey, T. J. and A. M. Sutterlin. 1984. The haematology of triploid landlocked Atlantic salmon(*Salmo salar* L.). *J. Fish Biol.* 24 : 333~338.
- Chourrout, D. and J. Itskovich. 1983. Three manipulations permitted by artificial insemination in tilapia : induced diploid gynogenesis, production of all triploid populations and intergeneric hybridization. In : *Int. Symp. on Tilapia in Aquaculture*(Fishelson, L. and Z. Yaron, eds.). pp. 246~255.
- Don, J. and R. R. Avtalion. 1986. The induction of triploidy in *Oreochromis aureus* by heat shock. *Theor. Appl. Genet.* 72 : 186~192.
- Don, J. and R. R. Avtalion. 1988. Comparative study on the induction of triploidy in tilapias, using cold-shock and heat-shock techniques. *J. Fish Biol.* 32 : 665~672.
- Kim, D. S. and I. -S. Park. 1990a. Genetic identification of hatchery reared tilapia strains. *J. Aquaculture.* 3 : 31~37(in Korean).
- Kim, D. S., G. C. Choi and J. -Y. Jo. 1990b. Induced triploid in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Kor. J. Genet.* 12 : 229~235.
- Kim, D. S., I. -B. Kim and Y. G. Baik. 1988a. Early growth and gonadal development of triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Aquaculture.* 1 : 41~51.
- Kim, D. S., I. -C. Bang and I. -B. Kim. 1988b. Sexual differentiation and androgen sex reversal of *Oreochromis niloticus*. *J. Aquaculture.* 1 : 53~66(in Korean).
- Lemoine, H. L. Jr. and L. T. Smith. 1980. Polyploidy induced in brook trout by cold shock. *Trans. Am. Fish. Soc.* 109 : 626~631.
- Levan, A., K. Fredga and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52 : 201~220.
- Pandian, T. J. and K. Varadaraj. 1987. Techniques to regulate sex ratio and breeding in tilapia. *Curr. Sci.* 56 : 337~343.
- Penman, D. J., M. S. Shah, J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski. 1987a. Sex ratios of gynogentic and triploid tilapia. In : *Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture*, Vol. II(Tiews, K., ed.). pp. 267~276. Heenemann Verlags. mbH, Berlin.
- Penman, D. J., M. S. Beardmore and D. O. F. Skibinski. 1987b. Survival, growth ratio and maturity in triploid tilapia. In : *Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture*, Vol. II(Tiews, K., ed.). pp. 277~288. Heenemann Verlags. mbH, Berlin.
- Purdom, C. E.. 1983. Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. *Aquaculture* 33 : 387~390.
- Refstie, T., V. Vassvik and T. Gjedrem. 1977. Induction of polyploidy in salmonids by cytochalasin B. *Aquaculture* 10 : 65~74.

- Rothbard, S. and Y. Pruginin. 1975. Induced spawning and artificial incubation of tilapia. *Aquaculture* 5 : 315~321.
- Sezaki, K., H. Kobayashi and M. Nakamura. 1977. Size of erythrocytes in the diploid and triploid specimens of *Carassius auratus langsdorfi*. *Jap. J. Genet.* 24 : 135~140.
- Stanley, J. G., H. Hidu and S. K. Allen. 1984. Growth of American oysters increased by polyploidy induced by blocking meiosis I but not meiosis II. *Aquaculture* 37 : 147~155.
- Swarup, H. 1959. Production of triploidy in *Gasterosteus aculeatus* L. *J. Genet.* 56 : 129~142.
- Thorgaard, G. H. 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture* 57 : 57~64.
- Thorgaard, G. H. and G. A. E. Gall. 1979. Adult triploids in rainbow trout family. *Genetics* 93 : 961~973.
- Trewavas, E. 1982. Tilapias : taxonomy and speciation. In : *The Biology and Culture of Tilapias* (Pullin R. S. V. and R. H. Lowe-McConnel, eds). International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, pp. 3~13.
- Ueno, K., Y. Ikenaga and H. Kariya. 1986. Potentiality of application of triploidy to the culture of ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck et Schlegel. *Jap. J. Genet.* 61 : 71~77.
- Valenti, R. J. 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *J. Fish Biol.* 7 : 519~528.
- Wohlfarth, G. W. and G. Hulata. 1983. Applied genetics of tilapias. ICLARM Studies and Reviews 6, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, pp. 1~25.
- Wolters, W. R., G. S. Libey and C. L. Chrisman. 1982a. Effect of triploidy on growth and gonad development of channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111 : 102~105.
- Wolters, W. R., G. S. Libey and C. L. Chrisman. 1982b. Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Biol.* 20 : 253~258.