

양식 틸라피아에 대한 유전학적 동정

김동수* · 박인석**

*부산수산대학 생물공학과, **한국과학기술연구원 해양연구소 생물응용연구실

Genetic Identification of Hatchery Reared Tilapia Strains

Dong Soo Kim* and In-Seok Park**

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

**Marine Biotechnology Lab., Korea Ocean Research and Development Institute, KIST Ansan, P. O. Box 29, Seoul 425-600, Korea

ABSTRACT

Ten strains of tilapiine species from genus *Oreochromis* were cytogenetically studied for genetic stock identification. Both the chromosome numbers($2n=44$) were identical in all 10 strains. Heteromorphic sex chromosome pair were not found in any strains. Nuclear volumes vary between *O. niloticus*($21.0 \mu m^3$) and *O. aureus*($22.4 \mu m^3$)

서론

틸라피아(*Tilapia*)속 어류는 농어(Perciformes)목, Cichlidae과에 속하는 아프리카가 원산인 열대성 담수어류로써(Berra 1981) 식성, 형태 및 난의 부화 방법 등을 기준으로 최근 *Tilapia*속, *Sarotherodon*속 및 *Oreochromis*속으로 재분류 되었으나 아직 종의 동정 및 분류에 많은 문제점을 지니고 있다(Trewavas 1982). 상기 어종들은 각 종간에 자연교배가 이루어지며, 잡종 개체도 생식능력을 가지는 등 원산지에서조차도 유전적으로 순수한 종을 찾기 힘들어 Wohlfarth and Hulata(1983)는 양식 대상종에 대하여는 종 수준으로 분류하기 보다는 계통(strain)으로 명명하고자 제안한 바 있다.

틸라피아는 맛이 좋고 주로 식물성 및 잡식성의 식성을 가지고 있으며 담수에서 해수에 이르기까지 광범위한 염분농도는 물론 낮은 용존산소에서도 잘 견디는 등 환경의 변화에 대하여 비교적 저항력이 강하고 번식력 또한 강해 이미 열대 및 아열대 지역 국민의 단백질 공급원으로서 중요한 역할을 담당하고 있는 양식어종이다(Hickling 1963). 우리나라에서는 1955년에 태국으로부터 최초로 도입되었으나 열대성 어류인 관계로 열관리 등 사육 방법의 미숙으로 인해 양식어종으로 크게 각광을 받지 못하였다. 그러나 최근 김(1983)의 순화여과식에 의

본 연구는 1988년도 본교부 자유공모과제 학술연구 조성비에 의해 수행 되었음.

한 사육방법의 개발로 생산량이 증대되어 1986년에는 36ton의 생산량을 기록하는 등 최근들어 급격한 생산 증가 추세를 보이고 있으나 아직 소비에 비해 공급의 절대량이 부족한 실정이다 (농림수산부 1987).

현재 산업적인 중요성이 날로 더해가고 있는 틸라피아는 양식에 있어 중요한 형질인 성장을 및 최대 크기가 각 종간은 물론 동일종이라도 각 계통간에 매우 큰 차이를 보인다. 예컨대 *O. mossambicus*는 최대 성장이 25-30cm정도이며 성장율도 낮으나, *O. niloticus*의 경우는 각 계통에 따라 최대 크기가 60cm 이상까지도 성장하며 성장율도 여타 종에 비해 높다(Trewavas 1982). 따라서 우량형질을 가진 계통의 양식을 위하여 이들 어류에 대한 정확한 분류 및 동정이 절실히 요구되나 앞서 언급한 바와같이 순계를 찾기 매우 어려워 틸라피아 양식이 성행하고 있는 나라에서는 그 나라 실정에 맞는 계통의 선발육종 및 순계유지를 위해 유전학적 동정(genetic identification)에 심혈을 기울이고 있다(Avtalion *et al.* 1976; Cruz *et al.* 1982; Macaranas *et al.* 1986; Majumdar and McAndrew 1986; McAndrew and Majumdar 1983; Taggart and Ferguson 1984).

우리나라에서는 이제까지 주로 태국, 일본 및 대만 등지에서 *O. mossambicus*, *O. niloticus* 및 *O. aureus*계통의 틸라피아 및 이들간의 잡종이 도입되어 각 양식장에서 혼합 사육되고 있다. 그 결과 각 양식장마다 성장율에 있어서 크게 차이가 나고 있음은 물론 틸라피아 육종에 있어 중요한 스킷만의 생산을 위한 유전학적 성전환 조차도 불가능한 실정이다(Kim *et al.* 1988).

이에 본 연구는 틸라피아의 유전육종 시 우량형질을 가진 계통을 선발하기 위한 연구의 일환으로 현재 국내에서 양식되고 있는 틸라피아와 최근 도입된 비교적 순계로 판단되는 틸라피아 등 모두 10계통을 선정하여 이들을 세포유전학적 방법으로 유전학적 동정을 실시하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 어류는 부산수산대학 양어장에서 사육중인 대만으로부터 도입된 *O. aureus*의 1계통, *O. mossambicus*의 2계통(검은색 및 빨간색 돌연변이) 그리고 일본에서 도입된 *O. niloticus*와 미국으로부터 도입된 이집트계 *O. niloticus* 등 비교적 순계로 생각되는 5계통과 상기 3종간의 종간 교배에 의해 유도된 것으로 판단되는 5계통, 즉 *O. aureus*와 *O. mossambicus*의 잡종, *O. aureus*와 *O. niloticus*의 잡종 그리고 *O. mossambicus*와 *O. niloticus*간의 잡종 중 그의 색깔이 뚜렷이 구별되는 3계통(검은색, 빨간색 및 청록색)등 모두 10계통을 실험에 사용하였다.

염색체 분석을 위하여는 기존의 방법을 약간 수정하여 염색체 표본을 작성하고, 유침 검경하여 염색체수 및 핵형을 비교 분석 하였고 현미경 사진을 찍어 idiogram을 작성하였으며, 염색체의 분류는 Levan *et al.*(1964)의 방법에 따랐다. 세포 및 핵의 크기 측정을 위하여는 기존의 방법에 의거 적혈구 세포를 대상으로 하였다. 즉, 각 계통당 4마리의 어류를 대상으로 말초 혈액을 채취하여 슬라이드에 도말하고 May-Grünbaldt Giemsa 또는 Giemsa용액으로 염색한 후 각 개체당 110개씩의 세포를 선택하여 장경과 단경 및 핵의 장, 단경을 측정 한 후 세포 및 핵의 크기, 표면적 및 부피를 계산하였다. 이때 표면적은 $ab\pi/4$, 부피는 $4\pi/3(a/2)(b/2)^2$ 의 공식을 사용하였다(a: 장경, b: 단경).

결과

염색체가 분석된 순계 5계통과 5계통의 잡종 모두 $2n=44$ 개의 염색체수가 관찰되었으며 개체간의 염색체 다형현상은 보이지 않았다(Table 1). 핵형분석 결과 10계통 모두 5쌍의 차중부 염색체와 17쌍의 단부염색체로 구성되어 있었고 이중 1쌍의 차중부염색체는 여타 염색체들

양식 틸라피아에 대한 유전학적 동정

Table 1. Diploid chromosome number of tilapia species

Species and strains	Specimens examined	Chromosome numbers						Total cells
		41	42	43	44	45	46	
<i>O. aureus</i>	11(6F+5M)	4	4	2	87			97
<i>O. mossambicus</i> (B*)	10(5F+5M)	2	7	11	106	1	1	128
<i>O. mossambicus</i> (R*)	12(6F+6M)	1	4	3	84	1		93
<i>O. niloticus</i> (Jap**)	14(6F+8M)	9	9	16	259	1		294
<i>O. niloticus</i> (Am**)	11(5F+6M)	2	12	11	103			128
<i>O. aureus-mossambicus</i>	7(4F+3M)	3	3	2	41	1		50
<i>O. aureus-niloticus</i>	9(4F+5M)	1	4	6	62	2	1	76
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (B*)	14(9F+5M)	1	16	8	167			192
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (R*)	6(3F+3M)	1	4	4	72	1		82
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (BG*)	7(3F+4M)	3	2	7	64			76

(B*):black color variant

(Jap**):from Japan

(R*):red color variant

(Am**):from America.

(BG*):blue-green color variant

Table 2. Cell and nuclear sizes in oreochromid species used in this study.

Species and strains	cell				Nucleus			
	Major axis ^a	Minor axis ^a	Surface area ^b	Volume ^c	Major axis ^a	Minor axis ^a	Surface area ^b	Volume ^c
<i>O. aureus</i>	10.0±0.1	7.0±0.1	54.7	254.2	5.0±0.1	2.9±0.1	11.5	22.4
<i>O. mossambicus</i> (B*)	10.0±0.1	7.0±0.3	55.2	258.9	4.8±0.2	2.9±0.1	10.9	21.1
<i>O. mossambicus</i> (R*)	10.0±0.1	7.0±0.3	54.4	253.0	4.8±0.3	2.9±0.1	11.1	21.7
<i>O. niloticus</i> (Jap**)	10.0±0.1	7.1±0.2	55.8	264.1	4.8±0.2	2.9±0.1	10.9	21.0
<i>O. niloticus</i> (Am**)	10.0±0.1	7.1±0.2	55.7	263.1	5.0±0.1	2.9±0.2	11.2	21.3
<i>O. aureus-mossambicus</i>	9.9±0.1	7.0±0.1	54.5	254.6	4.9±0.2	2.9±0.1	11.2	21.8
<i>O. aureus-niloticus</i>	10.0±0.1	6.9±0.2	54.1	248.0	4.9±0.2	2.9±0.1	11.2	21.6
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (B*)	10.0±0.1	7.0±0.2	55.0	256.0	4.8±0.2	2.9±0.1	11.0	21.2
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (R*)	10.0±0.0	7.1±0.2	55.4	260.9	4.8±0.2	2.9±0.2	11.0	21.4
<i>O. mossambicus-niloticus</i> (BG*)	10.0±0.3	6.9±0.2	54.3	249.4	4.8±0.1	2.9±0.1	11.0	21.2

(B*):black color variant

(Jap**):from Japan

(R*):red color variant

(Am**):from America

(BG*):blue-green color variant

a: μm , b: μm^2 , c: μm^3

보다 컸다(Fig. 1). 또한 암수간에 heteromorphic한 염색체쌍을 찾아볼 수 없어 성염색체는 존재하지 않는 것으로 나타났다.

세포의 크기는 10계통 모두 장경 9.9~10.0 μm , 단경은 6.9~7.1 μm 정도의 범위였으며, 표면적은 약 55 μm^2 그리고 부피는 250~260 μm^3 정도였다. 핵의 크기는 장경 4.8~5.0 μm , 단경 2.9 μm , 표면적은 11 μm^2 내외, 그리고 부피는 21.0~22.4 μm^3 정도였으나 계통에 따라 크기에 약간의 차이가 있어 *O. niloticus*가 가장 작아 21.0 μm^3 이었고, *O. aureus*가 가장 커 22.4 μm^3 이었다(Table 2).

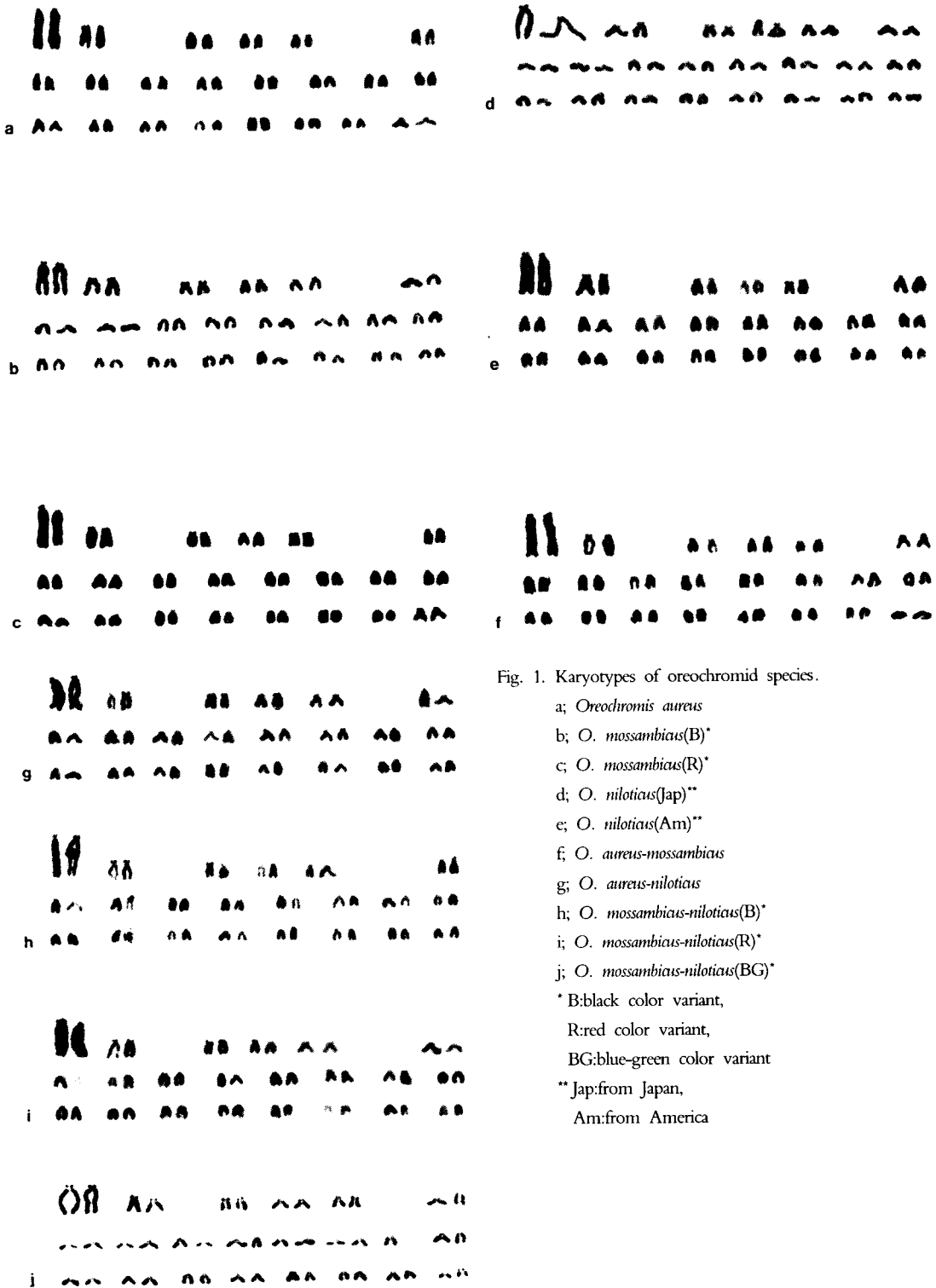


Fig. 1. Karyotypes of oreochromid species.

- a; *Oreochromis aureus*
 - b; *O. mossambicus*(B)*
 - c; *O. mossambicus*(R)*
 - d; *O. niloticus*(Jap)**
 - e; *O. niloticus*(Am)**
 - f; *O. aureus-mossambicus*
 - g; *O. aureus-niloticus*
 - h; *O. mossambicus-niloticus*(B)*
 - i; *O. mossambicus-niloticus*(R)*
 - j; *O. mossambicus-niloticus*(BG)*
- * B:black color variant,
 R:red color variant,
 BG:blue-green color variant
 ** Jap:from Japan,
 Am:from America

고찰

틸라피아는 각 종간 및 계통간 성장율에 큰 차이를 보이며 동일종 내에서도 암, 수간에 커다란 성장차를 보여 성장율이 높은 순계를 유전학적 방법으로 동정하는 것은 매우 중요하다 (Wohlfarth and Hulata 1983). 그간 틸라피아에 대한 유전학적 동정은 주로 유전생화학적 측면에서 동위효소나 혈청 단백질을 분석하여 유전자변이를 조사하였으나 계통간, 집단간 심지어는 개체간에도 큰 차이를 보여 많은 문제점을 던져주고 있다(Avtalion *et al.* 1976; Cruz *et al.* 1982; McAndrew and Majumdar 1983; Macaranas *et al.* 1986). Majumdar and McAndrew(1986)는 이러한 문제를 해결코자 7종의 틸라피아에 대하여 DNA함량과 염색체수 및 그 핵형을 분석함으로써 최초로 세포유전학적 측면에서의 유전학적 동정을 실시한 바 있다.

본 연구결과 나타난 비교적 순계로 판단되는 3종에 걸친 5계통의 염색체는 *O. niloticus*를 제외하면 핵형에 있어 저자들간에 다른 염색체 동정상의 문제점을 제외하면 그간의 여타 연구결과와 잘 일치하고 있다(Majumdar and McAndrew 1986; Thompson 1981; Wohlfarth and Hulata 1983). 그러나, *O. niloticus*의 경우에는 사용된 2계통 모두 $2n=44$ 로써 이집트의 Badr and El-Dib(1977)이 보고한 $2n=40$ 과 그 염색체수에서 차이를 보이고 있다. 따라서 본 연구에 사용된 1계통인 미국에서 도입된 이집트계 틸라피아의 원산지가 이집트인지를 재 확인할 필요가 있으리라 사료된다. Table 3은 *O. niloticus*의 염색체에 대한 그간의 연구결과를 정리한 것이다. Table 3에서 보듯이 Badr and El-Dib(1977) 뿐만 아니라, Myers(1985)도 Ivory coast 계통의 *O. niloticus*의 염색체수가 $2n=40$ 임을 보고한 바 있다. 따라서 본종은 일본산 *Pseudobagnus aurantiacus*(Ueno 1974)의 경우와 같이 염색체 재배열에 따른 집단간의 염색체 다형 현상이 존재하는 것으로 생각되나 실험상의 잘못에 의한 결과일 가능성도 전혀 배제할 수 없다.

Table 3. Reported chromosome data on *O. niloticus*.

Chromosome number	Reference
44	Chervinski (1964)
44	Jalabert <i>et al.</i> (1971)
40	Badr and El-Dib (1977)
44	Nijihar <i>et al.</i> (1983)
44	Arai and Koike (1980)
40	Myers (1985)
44	Majumdar and McAndrew (1986)
44	Present study

3종간에 만들어진 5계통의 잡종에 대한 염색체수와 핵형은 모두 순계 3종과 잘 일치하고 있다(Table 1, Fig. 1). 따라서 잡종 개체들도 감수분열 시 염색체 분리 이상이 일어나지 않을 것으로 추측되며 이는 본 연구에 사용된 3종의 틸라피아가 자연집단내에서 잡종이 잘 형성되고 그 잡종도 생식능력을 갖는 이유로 생각된다. 따라서 앞으로 틸라피아에 대하여는 새로운 관점에서 종 수준의 분류 체계가 필요할 것으로 보인다.

Genome size의 증가는 일반적으로 세포 크기의 증가를 수반한다(Szarski 1970). 따라서 어류의 세포 및 핵의 크기에 관한 연구는 genome size를 간접적으로 비교 분석함에 있어 중요시된다(Szarski 1976; Park and Chung 1985). 본 연구에서 나타난 순계 5계통의 핵의 크기는 *O. aureus*가 3종 중 그 크기가 가장 컸다. 본 결과는 *O. aureus*의 DNA함량이 약 1.2 pg정도로써 *O. mossambicus* 및 *O. niloticus*의 1.0 pg보다 약간 genome size가 크다고 보고한 Majumdar and

McAndrew(1986)의 결과와 잘 일치하고 있다.

앞으로 본 실험에 사용된 각 계통에 대한 성장율의 분석과 아울러 유전생화학적 및 세포화학적 측면에서의 동정이 함께 이루어진다면 우량형질을 선택함에 있어 도움을 줄 것으로 사표된다.

요약

*Oreochromis*속 틸라피아 10계통에 대한 세포유전학적 분석을 실시하였다. 염색체수($2n=44$)와 각 염색체쌍은 10계통 모두에서 동일하였으며 heteromorphic한 성염색체는 어떠한 계통에서도 나타나지 않았다. 그러나 세포의 크기는 다양하여 *O. niloticus*는 핵의 부피가 $21.0 \mu m^3$, *O. aureus*는 $22.4 \mu m^3$ 로 가장 컸다.

참고문헌

- Arai, R. and A. Koike. 1980. A karyotype study on two species of freshwater fishes transplanted into Japan. Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo 7:87-100.
- Avtalion, R. R., D. Duczyniner, A. Wondari, and Y. Pruginin. 1976. Determination of allogenic and xenogenic markers in the genus of *Tilapia*. I. Identification of *T. aurea*, *T. vulcani* and *T. nilotica* by electrophoretic analysis of their serum proteins. Aquaculture 7:255-266.
- Badr, E. A. and S. I. Ei-Dib. 1977. Cytological Studies on three species of the cichlid fish. Egypt. J. Genet. 6:44-51.
- Berra, T. M. 1981. An atlas of distribution of the freshwater fish families of the world. University of Nebraska Press, Lincoln and London, pp. 1-197.
- Chervinski, J. 1964. preliminary experiments in cichlids hybrids. Bamidgeh 16:95-105.
- Cruz, T. A., J. P. Thorpe, and R.S.V. Pullin. 1982. Enzyme eletrophoresis in *Tilapia zillii*: a pattern for determining biochemical genetic markers for use in tilapia stock identification. Aquaculture 29:311-329.
- Hickling, C. F. 1963. The cultivation of *Tilapia*. Sci. Amer. 208:143-152.
- Jalabert, B., P. Kammacher, and P. Lessent. 1971. Determinisme du sexe chez les hybrides entre *Tilapia macrochir* et *Tilapia nilotica*. Etude de la sex-ratio dan les recrisements des hybrides de premiere generation par les especes parentes. Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys. 11:155-165.
- Kim, D. S., I. C. Bang, and I. B. Kim. 1988. Sexual differentiation and androgen sex reversal of *Oreochromis niloticus*. J. Aquat. 1:53-66.
- Levan, A., K. Fredga, and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.
- Macaranas, J. M., N. Taniguchi, M. J. R. Pante, J. B. Capili, and R. S. V. Pullin. 1986. Electrophoretic evidence for extensive hybrid gene introgression into commercial *Oreochromis niloticus*(L) stocks in the Philippines. Aqua. Fish. Manage. 17:249-258.
- Majumdar, K. C. and B. J. McAndrew. 1986. Relative DNA content of somatic nuclei and chromosomal studies in three genera, *Tilapia*, *Sarotherodon* and *Oreochromis* of the tribe Tilapiini-(Pisces, Cichlidae). Genetica. 68:175-188.
- McAndrew, B. J. and K. C. Majumdar. 1983. *Tilapia* stock identification using electrophoretic markers. Aquaculture 30:229-261.
- Myers, J. M. 1985. An assesment of spawning methodologies and the induction of tetraploidy in

- two oreochromid species. M. S. Thesis, Washington Univ., 83pp.
- Nijjar, B., C.K.Nateg, and S.D.Amedjo. 1983. Chromosome studies on *Sarotherodon niloticus*, *S. multifasciatus* and *Tilapia busumana*. Proceedings of International Symposium on *Tilapia* in Aquaculture, pp. 256-260.
- Park, E.-H. and C. Y. Chung. 1985. Genome and nuclear sizes of Korean cobitid fishes(Teleostomi : Cypriniformes). Korean J. Genet. 7:111-118.
- Szarski, H. 1970. Changes in the amount of DNA in cell nuclei during vertebrate evolution. Nature 226:651-652.
- Szaraki, H. 1976. Cell size and nuclear DNA content in vertebrates. Inter. Rev. Cytol. 44:93-112.
- Taggart, J. B. and A. Ferguson. 1984. An electrophoretically-detectable genetic tag for hatchery reared brown trout(*Salmo trutta* L.). Aquaculture 41:119-130.
- Thompson, K. W. 1981. Karyotypes of six species of African Cichilidae(Perciformes) Experientia 37:351-352.
- Trewavas, E. 1982. Tilapias : taxonomy and speciation. In : The Biology and Culture of Tilapias(R. S. V. Pullin and R. H. Lowe-McConnell, editors). ICRAM, Manila, pp. 3-13.
- Ueno, K. 1974. Chromosomal polymorphism and variant of isozymes in geographical populations of *Pseudobagnis aurantiacus*, Bagridae. Japan J. Ichthyol. 21:158-164.
- Wohlfarth, G. W. and G. Hulata. 1983. Applied Genetics of Tilapias. ICRAM. Manila, pp. 1-26.
- 김인배. 1983. 무 여과 순환수 탱크이용 *Tilapia*의 고밀도 사육실험. 한수지 16:59-67.
- 농림수산부. 1987. 농림수산통계연보. 동양문화인쇄주식회사. p. 243-441. 성문사, 서울, pp. 1-227.