

# 17β-Estradiol에 의한 나일틸라피아 (*Oreochromis niloticus*)의 성전환\*

김동수\*\* · 조재윤\*\* · 방인철\*\*\*

부산수산대학교 양식학과\*\* · 국립수산진흥원 어류양식과\*\*\*

## Effects of 17β-Estradiol on the Sex Reversal of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*

Dong Soo KIM,\*\* Jae-Yoon JO\*\* and In Chul BANG\*\*\*

\*\*Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,  
Pusan 608-737, Korea

\*\*\*Fish Culture Division, National Fisheries Research and Development  
Agency, Yangsan-gun, Kyongsangnam-do 626-900, Korea

### ABSTRACTS

To determine the effective dose of 17β-estradiol on the production of all female populations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, the first feeding-stage larvae were fed 0, 60, 120, 240 and 480 ppm of 17β-estradiol in the diet for 30 days. Rates of sex reversal, survival and growth of each treated group were analyzed. Effects of 3 different treatment durations, 10, 20 and 30 days, treated with 480 ppm 17β-estradiol in the diet to produce all females, were also evaluated.

The incidence of female fish were clearly dose and time dependent. The female induction rate of 0, 60, 120, 240 and 480 ppm were 47.5, 86.4, 91.3, 97.0 and 100%, respectively. Female induction rates of 480 ppm treated for 10, 20 and 30 days were 64.2, 84.3 and 100% respectively. The survival rate of each treated group was not different from the control, and the growth rates of the treatment groups decreased as the treatment duration and the concentration of the estrogen hormone increased.

### 서 론

틸라피아는 열대 및 아열대 지역뿐만 아니라 우리 나라에서도 양식 대상종으로 각광을 받고 있으나, 숫컷의 성장이 암컷보다 빨라 암수간 크기의 차이가 많이 나며, 번식력이 강하여 쉽게 과밀도로 되고,

\* 이 연구는 한국과학재단지정 우수공학연구센터인 부산수산대학교 해양산업개발연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

부화 후 6개월 이내에 성숙이 이루어져 성장이 둔화되는 등의 문제점을 지니고 있다(Lovshin 1982 ; Wohlfarth and Hulata 1983). 따라서 틸라피아 양식에 있어 mono-sex 집단, 특히 전 숫컷 종묘의 생산과 이의 양식이 매우 중요시 되고 있다(Guerrero 1975, 1982 ; Jensen 1976 ; Jo 1988).

틸라피아에 있어 mono-sex 집단의 양식을 위하여는 중간 교배에 의해 잡종을 생산하는 방법과 steroid hormone 처리에 의해 생리학적 성전환을 유도하는 방법이 있으나, 사용되는 친어가 유전적으로 순수하지 못하여 중간 교배시 100%의 mono-sex 집단을 생산하기 어려운 점 및 steroid hormone 처리시 유해성 등의 문제점이 있어 성전환된 개체들 간의 직접 교배를 통한 mono-sex 집단의 생산이 중요시되고 있다(Scott et al. 1989).

*Oreochromis* 속에 속하는 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)는 그의 성결정 기작이 아직 분명히 밝혀져 있지는 않으나, male heterogamety에 의한 기본 성결정 양식에 여타 요인이 게재될 것으로 예측되고 있다(Jalabert et al. 1974 ; Wohlfarth and Wedekind 1991). 따라서, 본 종의 숫컷 만을 생산하기 위하여 우선 초숫컷(YY)을 생산한 후 정상 암컷과의 교배로 유전학적 성전환을 유도하는 방법이 이미 Scott 등(1989)에 의해 제안된 바 있다. 그러나 YY 수컷의 생산을 위하여는 그 첫 단계로, 숫컷을 성전환시켜 성 유전자형이 XY인 암컷을 생산하여야 하나 아직 성호르몬 처리에 의해 100% 암컷이 유도된 보고는 없다.

본 연구는 나일틸라피아의 초숫컷(YY)을 생산하기 위한 연구의 일환으로 17 $\beta$ -estradiol 을 이용하여 100% 암컷을 유도할 수 있는 적정 처리 농도와 처리 기간에 따른 암컷 유도율을 구하였고, 이에 따른 생존율 및 성장율을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어 및 인공부화

실험어는 부산수산대학교 양어장에서 사육되고 있는 100~200 g의 나일틸라피아 수컷 2마리와 암컷 8마리를 200 l 유리 수조에 넣어 28 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C로 유지하면서 산란시켰다. 부화는 40 l 유리 수조에 Rothbard and Hulata(1980) 등의 Zuger jar technique을 약간 수정하여 사용하였다.

### 2. 사육

15 l 유리 수조에 자갈을 깔고 air lift를 설치하여 물을 순환시키면서 매일 1/3 씩 교환하였고, 수온은 28 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C로, 용존 산소는 3~4 ppm을 유지하면서 실험어를 사육하였다.

### 3. 성전환 처리 및 분석

실험 사료는 17 $\beta$ -estradiol (Sigma, USA) 0, 60, 120, 240 및 480 mg을 Kim 등 (1988)의 방법에 따라 사료에 섞어 반죽한 후 냉장 보관하면서 치어에 반죽 사료로 공급하였다.

성전환 처리를 위해 부화 7일째 되는 날로부터 30일간 실험 사료를 공급하였고, 그 후에는 일반 시판용 사료를 공급하였다. 처리 기간에 따른 성전환율의 검토를 위하여 상기 실험에서 100% 암컷이 유도된 농도인 480 ppm의 17 $\beta$ -estradiol을 10, 20 및 30일간 처리하였다.

성전환율 분석을 위하여 부화 80일째 되는 실험어의 복부를 절개하고 생식소를 적출하여 슬라이드에 압착시켜 암, 수를 구별하였다.

4. 성장 및 condition factor

성장율은 최초 처리 (7 일째) 후 10 일마다 70 일째되는 시기까지 전장과 체중을 측정하였고, condition factor (K)는 Carlander(1977)의 식을 약간 수정하여 구하였다.

결 과

1. 처리 농도에 따른 성전환율

17β-estradiol을 먹이에 섞어 부화 후 7 일째 부터 30 일간 먹인 후 치어의 생존율과 부화 후 80 일째의 생식소 압박 방법에 의해 구분된 암수의 비와 생존율을 Table 1 에 나타내었다.

Table 1. Sex ratios of experimental group reared with a normal diet for 50 days after cessation of 30-days 17β-estradiol treatment

Dose (ppm)	No. of fish treated	No. of fish survived	Survival rate (%)	No. of fish observed	No. of fish having a normal testis	No. of fish having a normal ovary	Freauency of female (%)
0	190	160	84.2	80	42	38	47.5
60	190	168	88.4	88	12	76	86.4
120	190	183	96.3	103	9	94	91.3
240	190	180	94.7	100	3	97	97.0
480	190	164	86.3	84	0	84	100.0

Table 1 에서 보듯이 호르몬 농도의 증가에 따라 암컷의 비가 높게 나타나 60 ppm에서 86.4%로 나타났고, 120 ppm이상 처리군의 경우 모두 90% 이상의 암컷 유도율을 보였고 240 ppm이상의 농도에서는 97.0%, 그리고 480 ppm의 경우 분석된 모든 어류가 암컷으로 나타났다.

2. 처리 시간에 따른 성전환

480 ppm의 농도로 처리 시간에 따른 17β-estradiol의 성전환 유도율은 Table 2에 나타내었다. 처리 시간에 따른 암컷의 유도율은 처리 시간이 길수록 높게 나타났고, 특히 30 일간 처리한 군에서는 앞서의 결과와 마찬가지로 100% 암컷이 유도되었다. 생존율은 모든 실험군에서 95% 이상으로 나타나

Table 2. Effects of various treatment durations of 17β-estradiol in the diet on the sex reversal of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*

Duration (days)	No. of fish treated	No. of fish survived	Survival rate (%)	No. of fish having a normal testis	No. of fish having a normal ovary	Freauency of female (%)
0	55	52	94.5	27	25	48.1
10	55	53	96.4	19	34	64.2
20	55	51	92.7	8	43	84.3
30	56	54	96.4	0	54	100.0

실험군에 따른 차이는 보이지 않았다.

### 3. 성장 및 condition factor

모든 실험군의 실험 기간 중의 체중을 Fig. 1에 나타내었다. 모든 실험군 간의 체중은 30 일 까지는 큰 차이가 없으나 40 일 이후부터 대조군과 처리군과의 뚜렷한 성장차를 보였다. 특히 처리 60 일 후 대조군은 여타 처리군보다 빠른 성장을 함이 관찰되었고 농도에 따른 성장율의 차이도 보여 17 $\beta$ -estradiol의 농도가 높을수록 성장이 저해됨을 알 수 있었다.

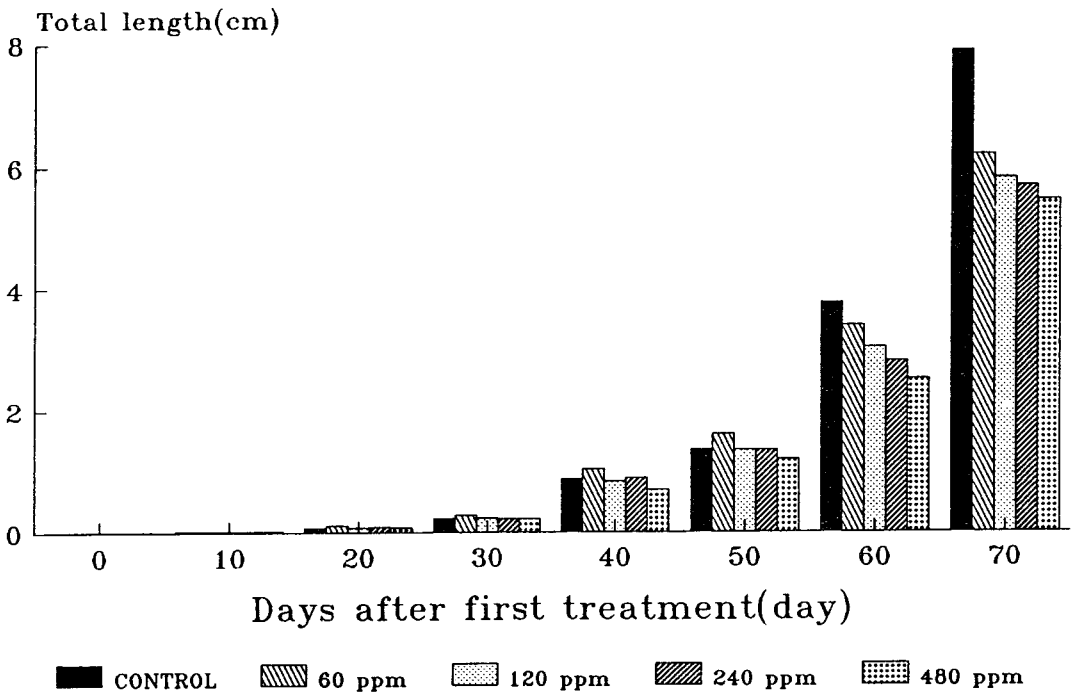


Figure 1. Growth of Nile tilapia, *O. niloticus* treated with 0, 60, 120, 240 and 480 ppm 17 $\beta$ -estradiol in the diet.

Condition factor (K)는 전 실험 기간 중 10 일과 20 일째의 모든 실험군에서 가장 낮은 값을 나타냈고 체중의 증가폭이 작은 50 일째에 다소 낮은 수치를 보였으나, 60 일 이후의 모든 실험군에서는 높게 나타났다(Table 3). 호르몬 처리 농도에 따른 condition factor는 대조군과 비교하여 처리 농도 증가에 따라 큰 차이를 보이지는 않았다( $P>0.05$ ).

17β-Estradiol에 의한 나일틸라피아의 성전환

Table 3. Treatment effects of 17β-estradiol on the mean condition factor (K)\* of Nile tilapia, *O. niloticus*

Days after treatment	Concentration of β-estradiol (ppm)				
	0	60	120	240	480
10	2.60± 0.40	2.62± 0.27	2.52± 0.19	2.45± 0.15	2.46± 0.20
20	2.73± 0.41	3.20± 0.47	2.95± 0.24	2.82± 0.18	2.64± 0.28
30	3.40± 0.30	3.20± 0.81	3.21± 0.29	3.20± 0.36	3.29± 0.18
40	3.30± 0.33	3.40± 0.23	3.18± 0.17	3.11± 0.16	2.99± 0.18
50	3.14± 0.15	3.01± 0.40	3.09± 0.11	3.00± 0.11	3.04± 0.18
60	3.40± 0.47	3.40± 0.14	3.48± 0.53	3.38± 0.33	3.45± 0.21
70	3.66± 0.27	3.69± 0.24	3.45± 0.13	3.35± 0.22	3.42± 0.56

\* (Body weight/Total length<sup>3</sup>)×10<sup>5</sup>

논 의

틸라피아의 성전환에 있어 호르몬의 종류와 그 농도는 전환율에 크게 영향을 미친다(Nakamura and Iwahashi 1982). 틸라피아의 여성 호르몬 처리에 의한 기존의 성전환 결과는 Table 4에 종합하였다. Table 4에서 보듯이 Nakamura and Takahashi (1973)는 *O. mossambicus*의 경우 50 ppm ethynylestradiol을 처리하여 100% 암컷이 유도됨을 보고한 바 있다. 그러나, *O. niloticus*의 경우 Tayamen과 Shelton (1978)에 의해 100 ppm의 diethylstilbestrol을 이용하여 90% 정도의 암컷이 유도한 바 있으나 100%

Table 4. A review of estrogen treatment in tilapias for sex reversal

Species	Steroid	Dose (ppm)	Duration (days)	% females	References	
<i>O. aureus</i>	Stilbestrol	50-100	35-42	sterile	Ecsktein & Spira (1965)	
	Esterone Estradiol	30-120	21-35	no sex inversion	Hopkins (1977)	
		EE <sup>1</sup>	25-200	35-56	60-64	Hopkins (1977)
		DES <sup>1</sup>				
	Estradiol <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>	100	42	90	Hopkins et al. (1979)
	<i>O. mossambicus</i>	EE	50	19	100	Nakamura & Takahashi (1973)
<i>O. niloticus</i>	DES	25, 100	25-59	62-90	Tayamen & Shelton (1978)	
	Esterone	100	∞			
	EE	20-60	20	no sex inversion	Yoshikawa & Oguri (1978)	
	Estradiol	60-480	30	86.4-100	Present study	
	480	10-30	64.2-100			

<sup>1</sup> with Cryproterone acetate 100 ppm ; <sup>2</sup> with methallibure 100 ppm ; EE=17α-ethynylestradiol ; DES=diethylstilbestrol.

암컷이 유도된 결과는 보고된 바가 전혀 없다. 그러나, 본 연구에서 17 $\beta$ -estradiol 을 480 ppm 의 농도로 30 일 처리한 군에서 100% 암컷이 유도되었고 생존율도 대조군과 큰 차이를 보이지 않는 것으로 미루어 본 실험에서 사용된 농도는 *O. niloticus*의 암컷 유도에 적합한 농도로 생각된다.

어류의 성전환에 영향을 미치는 여러 요인 중 처리 기간은 성분화와 관계되어 매우 중요시 된다. Kim 등 (1988)은 본 계통의 성분화가 15~20 일째에 이루어짐을 조직학적으로 밝힌 바 있고, 부화 후 7 일 부터 30 일간 17 $\alpha$ -methyltestosterone을 처리하여 100% 숫컷을 유도한 바 있다. 본 연구에서도 17 $\beta$ -estradiol을 이용하여 480 ppm으로 처리 기간이 다소 짧은 10 일과 20 일간 처리한 군에서는 낮은 성전환율을 보였으나 30 일간 처리한 군에서는 100% 암컷이 유도되었다. 이 결과는 처리 기간 30 일이 *O. niloticus*의 성분화 및 성결정 시기와 연관지어 볼 때 수온 28 $^{\circ}$ C의 사육 조건에서 가장 최소의 처리 기간으로 판단된다.

본 연구의 각 실험군의 성장에 있어서는 90% 이상의 암컷 유도율을 나타낸 120 ppm 이상의 모든 처리군에서 대조군보다 낮은 수치를 보였고, 특히 부화 60 일 이후부터는 더욱 큰 성장차를 나타냈으며, 17 $\beta$ -estradiol의 농도 증가에 따라 뚜렷한 성장 저해를 보였다. 이는 Phelps 등 (1992)이 본 종에 대하여 fluoxymesterone 처리시 성장이 저해되는 결과와 일치하는 것으로 17 $\beta$ -estradiol도 본 계통의 성장에 나쁜 영향을 끼치는 것으로 생각된다. 실험 결과 나타난 17 $\beta$ -estradiol 처리 농도에 따른 condition factor는 유의차가 나타나지 않아( $P > 0.05$ ), 17 $\beta$ -estradiol이 본 종의 비만도에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. Malison 등 (1985)은 Yellow perch에서 동일한 결과를 보고한 바 있다.

앞으로 본 종의 유전학적 성전환을 유도하기 위하여 생리학적인 성전환이 유도된 성체들을 대상으로 progeny test를 행한 후 초숫컷(YY)을 유도하기 위한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

나일틸라피아의 전 암컷 생산을 유도하기 위하여 난황을 흡수하고 먹이를 먹기 시작하는 자어에 여성 호르몬인 17 $\beta$ -estradiol을 0, 60, 120, 240, 480 ppm 농도로 먹이에 섞어 30 일간 먹인 다음 성전환율, 생존율, 성장률 등을 조사하였다. 또한 이 호르몬 480 ppm 농도에서 투여 기간을 달리하여 10, 20, 30 일간 먹인 효과도 조사하였다.

암컷의 출현 비율은 사료 중의 호르몬의 농도와 투여 기간에 비례하였고 0, 60, 120, 240, 480 ppm 농도에서의 암컷 출현율은 각각 47.5%, 86.4%, 91.3%, 97.0% 및 100% 로 나타났으며, 480 ppm에서 10, 20, 30 일간 먹인 결과는 암컷 출현율이 각각 64.2%, 84.3%, 및 100%로 나타났다.

농도나 기간에 따른 생존율은 대조군과 차이가 없었으며 성장은 농도와 투여 기간에 비례하여 낮게 나타났다. 따라서 이 종의 17 $\beta$ -estradiol에 의한 전 암컷 생산 가능 농도 및 기간은 480 ppm으로 30 일간 먹이는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

- Carlender, K. D., 1977. Handbook of freshwater fishery biology. Vol. 2. Iowa State University Press, Ames, IA. pp. 1~431.
- Eckstein, B., and M. Spira, 1965. Effect of sex hormones on the gonadal differentiation in a cichlid, *Tilapia aurea*. Bio. Bull., 129 : 482~489.
- Guerrero, R. D., 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindach-

- ner). Trans. Amer. Fish. Soc., 22 : 342~348.
- Guerrero, R. D., 1982. Control of tilapia reproduction. In : The Biology and Culture of tilapias. (R. S. V. Pullin and R. H. Lowe-MaConnel, Editors). International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, pp. 309~316.
- Hopkins, K. D., 1977. Sex reversal of genotypic male *Sarotherodon aureus*(Cichlidae). M. S. Thesis, Auburn University, Auburn, Alabama.
- Hopkins, K. D., W. L. Shelton, and C. R. Engle, 1979. Estrogen sex-reversal of *Tilapia aurea*, *Aquaculture*, 18 : 263~268.
- Jalabert, B., Moreau, J., Planquette, D. and Billard, R., 1974. Determinisme du sexe chez *Tilapia macrochir* et *Tilapia nilotica* : action de la methyltestosterone dans l'alimentation des alevins sur la differentiation sexuelle ; proportion des sexes dans la descendance des males "inversés". Ann. Biol. Anim., Biophys., 14 (4B) : 729~739 (in French with English summary).
- Jensen, G. L., 1976. The effects of several naturally occurring estrogens on *Sarotherodon aureus* (Steindachner) and their potential application to yield monosex genetic male. M. S. Thesis, Auburn Univ., Auburn, Alabama.
- Jo, J.-Y., 1988. Effects of 17 $\alpha$ -methyltestosterone in the diet of sex reversal, growth, body composition, and gonadosomatic indices of *Tilapia aurea* and on sex reversal and growth of *T. nilotica*. Ph. D. Thesis, Auburn, Alabama.
- Kim, D. S., I. C. Bang and I.-B. Kim, 1988. Sexual differentiation and androgen sex reversal of *Oreochromis niloticus*. J. Aquaculture, 1 : 53~66.
- Lovshin, L. L., 1982. Tilapia hybridization, In : The biology and Culture of Tilapias (R. S. V. Pullin and R. H. Lowe-McConnell, Editors). International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, pp. 279~308.
- Malison J. A., C. D. Best, T. B. Kayes, C. H. Amundson and B. C. Wentworth, 1985. Hormonal growth promotion and evidence for a size-related difference in response to estradiol-17 $\beta$  in yellow perch, *Perca flavescenu*. Can. J. Fsh. aquat. Sci., 42 : 1627~1633.
- Nakamura, M. and M. Iwahashi, 1982. Studies on the practical masculinization in *Tilapia mossambica* by the oral administration of androgen. Bull. Jap. Soc. Fish., 48 : 763~769.
- Nakamura, M. and H. Takahashi, 1973. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica* with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 24 : 1~13.
- Phelps, R. P., W. Cole and T. Katz, 1992. Effect of fluoxymesterone on sex ratio and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquat. Fish. Manage., 23 : 405~410.
- Rothbard, S. and G. Hulata, 1980. Closed system incubator for cichlid eggs. Prog. Fish-Cult., 42 : 203~204.
- Scott, A. G., Penman, D. J., Beardmore, J. A. and Skibinski, D. O. F., 1989. The 'YY' supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. *Aquaculture*, 78 : 237~251.
- Tayamen, M. M. and W. L. Shelton, 1978. Inducement of sex reversal in *Sarotherodon nilotica* (Linnaeus). *Aquaculture*, 14 : 349~354.

- 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.
- Wohlfarth, G. W. and H. Wedekind, 1991. The heredity of sex determination in tilapias. *Aquaculture*, 92 : 143~156.
- Yoshilcawa, H. and M. Oguri, 1978. Effects of steroid homones on the sex differentiation in a cichlid fish, *Tilapia zillii*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 44 : 1093~1097.