

성전환 및 염색체 공학 기법을 이용한 초수컷(Y_Y) 및 초암컷(Δ Y_Y) 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*) 생산 II. 생산된 초수컷 및 초암컷 나일틸라피아의 자손검정

김동수 · 노충환 · 최윤희 · 남윤권

부산수산대학교 양식학과

Production of Supermale (Y_Y) and Superfemale (Δ Y_Y) Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by Sex Reversal and Chromosome Manipulation II. Progeny Tests with Supermale and Superfemale Nile Tilapia

Dong Soo Kim, Choong Hwan Noh, Yoon-Hee Choi and Yoon Kwon Nam
Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

Gynogenetic males induced from sex reversed female (Δ XY) were crossed with normal female (XX) for analysing their genotypes. The fish tested produced a high percentage of male progenies (93.3 to 100%) and were considered as supermales (Y_Y). Superfemales (Δ Y_Y) were also produced by combination of sex reversal and chromosome manipulation techniques. Superfemale fish can be produced approximetly 90% of male when the fish were crossed with normal male. Chi-square values against an expected 1 : 1 (♂ : ♀) ratio were highly significant for both Y_Y males \times normal females (P<0.01 or P<0.001) and Δ Y_Y females \times normal males (P<0.005 or P<0.001). All male progenies were produced consistently when crossed supermales (Y_Y) with superfemales (Δ Y_Y).

Key words : Nile tilapia, Sex reversal, Superfemale, Supermale

서 론

틸라피아는 전세계적으로 가장 널리 양식되고 있는 어류로 약 75 개국에서 10 여종이 양식되고 있으며 연간 양식 생산량은 50 만톤에 육박하고 있다. 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)는 성장이 빠른 대형종이나 암컷은 조기 성숙에 기인되어 성장이 저해되는데 반해 수컷은 암컷에

비해 성장이 월등히 빨라 생산성 향상을 위하여 수컷 자손만을 생산하여 양식하는 것이 매우 중요하다(Scott et al., 1989).

수컷 자손 집단 생산을 위한 방편 중 종간 교배 방법은 유전적으로 순수한 종의 확보 및 사육 관리가 어려워 수컷 집단의 대량 생산시 바람직한 결과를 얻기 힘든 반면(Wolfarth, 1994), 스테로이드 호르몬을 이용한 생리학적 성전환(phy-

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

siological sex reversal) 방법은 효과적으로 수컷 집단을 생산할 수 있어 가장 많이 이용되고 있다. 그러나 호르몬을 이용한 생리학적 성전환 방법은 양어장 배출수를 통해 호르몬이 자연수계로 유출되어 생태계에 나쁜 영향을 미칠 수 있으며, 또한 호르몬은 이를 다루거나 어체에 잔류된 일부가 인체에 발암 물질로 작용할 수 있다는 유해성의 문제점 등은 양식 산업에서 이들 호르몬을 이용하는 데에 제한 요인으로 작용하고 있다(Scott et al., 1989; Curtis et al., 1991). 이에 비해 유전학적 성전환(genetic sex reversal) 방법은 대상 어류의 성결정 메커니즘을 이용하여 단성 집단(monosex brood)을 생산하는 방법으로 호르몬의 사용없이 단순 교배만으로 단성 자손 집단의 생산이 가능하므로 생산성 향상을 위해 확립되어야 한다(Scott et al., 1989; Kavumpurath and Pandian, 1992).

나일틸라피아의 성결정 메커니즘은 수컷 이형 접합성(male heterogamety, XY)(Mair et al., 1991)으로 염색체 공학 기법을 적용하여 YY 인자형을 가지는 개체를 생산할 수 있는 가능성을 가지고 있으며(Yamamoto, 1955), 이들 YY 수컷은 정상 암컷(XX)과 교배시킬 경우 전수컷 자손 집단(all male progeny)을 생산할 수 있다(Scott et al., 1989).

그러나 YY 수컷을 양식 산업에 이용하기 위해서는 이들 어류의 대량 확보가 필수적이며, YY 수컷을 지속적으로 생산하기 위해서는 YY 암컷의 생산이 수반되어야 한다. 이에 본 연구는 XY 성전환 암컷의 난에 자성발생성 2배체 및 성전환 기법을 적용하여 생산된 어류를 대상으로 이들을 정상 수컷 및 암컷과 교배시킨 후, 자손 검정을 통해 YY 인자형을 가지는 수컷 및 암컷을 선발하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

본 연구에 사용된 실험어는 김 등(1995)이

성전환 처리 및 자손 검정을 통하여 선발한 XY 암컷의 난에 자성발생성 이배체 유도 기법 및 성전환 기법을 적용하여 생산한 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*) 자성발생성 2배체 수컷 및 자성발생성 2배체 암컷을 사용하였다.

2. 교배, 부화 및 자어 사육

자성발생성 2배체 유도 기법 및 성전환 기법을 적용하여 생산한 암컷 및 수컷의 인자형을 동정하기 위하여 각각 정상 수컷(인자형, XY) 및 정상 암컷(인자형, XX)과 교배시켰다.

부산수산대학교 양어장 못에 2.4×1.2×1.2 m 크기의 가두리를 8곳에 설치하고 실험어와 정상 수컷 및 암컷을 각각 암컷 4마리 : 수컷 1마리로 방양하였으며, 대조군으로서 정상 암컷 과 정상 수컷을 1곳의 가두리에 방양하여 자어를 생산하였다.

사료로는 잉어용 부상사료를 1일 2회 공급하였으며 보조 사료로서 개구리밥을 공급하였다. 방양 후 매 일주일마다 암컷의 구강을 조사하여 구강내 부화중인 난 또는 부화 자어를 수거하였으며 구강내 부화 중인 난은 zugar-jar incubator를 본 실험실 조건에 맞게 개조한 인공 부화 장치(노, 1995)로 옮겨 수온을 28±5℃로 유지하면서 부화시켰다. 부화 개체는 생식소 분석시까지 120 l 용량의 순환 여과 수조에서 사육하였다.

교배가 이루어진 가두리내의 실험어에 대해서는 개체별 표지를 하여 원형수조에서 사육하였다.

3. 생식소 분석

부화 후 45~60일 제 사육중인 모든 개체의 복부를 절개하고 생식소를 적출하여 squash method (Guerrero and Shelton, 1974)에 따라 성비를 판별하였다.

4. 통계분석

모든 실험군의 자어 성비 조사 결과는 정상 교배에서 예상되는 1 : 1 성비에 대해 X^2 test를

실시하였다.

결 과

1. 정상 암컷과 정상 수컷간의 교배로 부터 생산된 자손의 성비 조사

교배 시도 기간 동안 3번의 교배가 이루어져 이들의 자손이 생산되었다(Table 1).

생산된 자손의 수컷율은 51.6~55.1%로 수컷의 빈도가 약간 높았으나 X^2 test 결과 예상 성비 1:1에 대하여 유의차가 없는 것으로 나타났다 ($P>0.3$ 또는 $P>0.7$).

2. XY 암컷으로 부터 유도된 자성발생성 2배체 수컷의 자손 검정

교배 시도 기간 동안 실험어 수컷 7마리에 대하여 정상 암컷과 교배가 이루어져 이들의 자손이 생산되었다. 이들 수컷의 자손 검정 결과는 Table 2에 나타내었다.

XY 암컷으로 부터 생산된 자성발생성 2배체 수컷 7마리 중 3마리 수컷의 자손 성비는 정상

교배에서 예상되는 성비 1:1에 대해 유의차가 크게 나타났으며(#11과 #17; $P<0.001$ 그리고 #15; $P<0.01$), 이들 자손의 수컷율은 #11 및 #15 수컷에서 93.3% 및 100.0% 그리고 #17 수컷은 2회에 걸쳐 95.0% 및 96.4%로 조사되어 높은 수컷율을 보였다. 따라서 이들 3마리 수컷의 인자형은 'YY'인 것으로 나타났다.

나머지 4마리 중 2마리 수컷(#14과 #16)의 자손 성비는 정상 교배에서 예상되는 성비인 1:1에 대해 유의차가 없는 것으로 나타났다. 그러나 #12와 #13 수컷의 자손 성비는 각각 25:3, 19:0으로 나타나 XX 인자형을 가지는 수컷과 정상 암컷(인자형:XX)의 교배에서 예상되는 성비와 유의차가 없었다($P>0.5$).

3. XY 암컷으로 부터 유도된 자성발생성 2배체 성전환 암컷의 자손 검정

교배가 이루어진 3마리의 자성발생성 이배체 성전환 암컷의 자손 검정 결과는 Table 3에 나타내었다.

3마리 암컷 중 #11 그리고 #12 암컷은 두번째

Table 1. Progeny test results in crossing normal females with normal males

Mating no.	No. of offspring examined	Sex ratio (♀:♂)	% Male	X^2 values*	Probability
1	45	21:24	53.3	0.56	>0.3
2	62	30:32	51.6	0.06	>0.7
3	49	22:27	55.1	0.51	>0.3

* X^2 against 1:1

Table 2. Progeny test results in crossing gynogenetic males with normal females

Male no. (#)	No. of offspring examined	Sex ratio (♀:♂)	% Male	X^2 values*	Probability	Genotype
11	15	1:14	93.3	11.27	< 0.001	YY
12	28	25:3	10.7	17.29	< 0.001	XX
13	19	19:0	0.0	19.00	< 0.001	XX
14	32	13:19	59.4	1.13	> 0.2	XY
15	7	0:7	100	7.00	< 0.01	YY
16	74	37:37	50.0	0.0	> 0.9	XY
17	20	1:19	95.0	16.20	< 0.001	YY
	28	1:27	96.4	24.14	< 0.001	YY

* X^2 against 1:1

교배가 이루어졌으며 이들의 자손 성비는 각각 1 : 13 및 4 : 25 그리고 2 : 14 및 1 : 19로 조사되었다. 수컷율은 #11 암컷 자손에서 92.9% 및 86.2%, #12 암컷에서 87.5% 및 95.0%로 나타났다. 이들 두마리 암컷의 자손 성비는 정상 교배에서 예상되는 성비인 1 : 1에 대한 X² test 결과 매우 유의하였다(P<0.005). 따라서 이들 암컷의 인자형은 'YY'인 것으로 예상되었다. 나머지 한마리 암컷(#13)의 성비는 정상 교배에서 예상되는 1 : 1로 나타났다.

4. 선발된 YY 수컷과 ΔYY 암컷간의 교배로 부터 생산된 자손의 성비 조사

이상의 실험에서 선발된 YY 수컷과 ΔYY 암컷간 세번의 교배를 통하여 생산된 자손의 수컷율은 모두 100.0%로 조사되어 이들간의 교배에서는 전수컷 자손만이 생산되었다(Table 4).

논 의

YY 인자형을 가지는 수컷 어류의 생산은 송사리 (Yamamoto, 1955), *Poecilia reticulata* (Winge, 1934; Kavumpurath and Pandian, 1992), 붕어 (Yamamoto, 1975), 나일틸라피아(Scott et al.,

1989) 등의 몇 종에서 보고된 바 있으며, YY 수컷은 정상 암컷과 교배할 경우 항상 수컷 자손만을 생산하므로 Hammerman과 Avtalion(1978)은 이들 YY 수컷에 대하여 초수컷(supermale)이라고 일컫은 바 있다. 초수컷 어류는 양식 산업에서 큰 잠재력을 가짐에도 불구하고 대량 생산이 이루어지지 않고 있어 *Oryzias latipes*와 *P. reticulata*의 경우 두마리, 나일틸라피아의 경우 한마리가 생산된 것으로 보고된 바 있으며(Yamamoto, 1955; Scott et al., 1989; Kavumpurath and Pandian, 1992), *Betta splendens*를 대상으로한 연구에서는 한마리도 생산하지 못하였다(George et al., 1994).

YY 어류의 생산을 위해 성전환 기법과 선발육종 기법을 적용시킬 경우 몇 세대에 걸쳐 자손 검정을 실시해야 하므로 장기간이 요구되나 성전환 기법과 자성발생성 이배체 기법을 적용할 경우 성숙 후 교배 및 자손 검정 등의 절차를 생략할 수 있다 (Scott et al., 1989).

본 연구에서 자성발생성 2배체 유도 기법 및 성전환 기법을 적용하여 생산된 어류 중 수컷의 경우 교배가 이루어진 7마리중 3마리가 YY 인자형을 가지는 수컷으로 판정되어 이전의 연구 결과와 비교할 때 YY 수컷의 생산 빈도가 높게 나타났다. 이는 Mair 등(1990)이 제안한 바와 같이 나일틸

Table 3. Progeny test results in crossing sex reversed gynogenetic females with normal males

Female no. (#)	No. of offspring examined	Sex ratio (♀ : ♂)	% Male	X ² values*	Probability	Genotype
11	14	1 : 13	92.9	10.29	<0.005	YY
	29	4 : 25	86.2	15.21	<0.001	YY
12	16	2 : 14	87.5	9.00	<0.005	YY
	20	1 : 19	95.0	16.20	<0.001	YY
13	15	7 : 8	53.3	0.07	>0.7	XX

* X² against 1 : 1

Table 4. Progeny test results in crossing YY males with ΔYY females

Mating no.	No. of offspring examined	Sex ratio (♀ : ♂)	% Male	X ² values*	Probability
1	21	0 : 21	100.0	21.0	< 0.001
2	19	0 : 19	100.0	19.0	< 0.001
3	20	0 : 20	100.0	20.0	< 0.001

* X² against 1 : 1

라피아에 있어 성 변형 인자가 작용한 때문인 것으로 사료된다.

Scott 등(1989)의 연구에서 생산된 1마리의 나일틸라피아 YY 수컷은 10마리의 다른 암컷과의 교배에서 100% 수컷 자손만을 생산하였으나 본 연구에서는 93.3~100.0%의 수컷율을 보여 본 종을 대상으로한 이전의 연구 결과와 같거나 또는 다소 낮게 나타났다.

XY 암컷에서 유도된 자성발생성 2배체 수컷과 정상 암컷과의 교배에서 두마리 수컷의 경우 이들 자손의 성비는 예상치 못한 성비인 거의 1:0으로 나타났다. 나일틸라피아의 성결정 메카니즘은 female homogamety (XX) - male heterogamety (XY)이나 환경 요인이 성결정에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있어(Mair et al., 1990), 본 연구에서 자어의 생산 시기가 33°C~35°C의 고수온기임을 고려할 때 수온 요인이 자어의 성비에 영향을 미친 것으로 사료되므로 이에 대한 정확한 규명이 있어야 할 것이다.

Δ YY 암컷은 YY 수컷과 교배할 경우 YY 수컷을 대량 생산할 수 있으므로 양식 산업에서 YY 수컷의 중요성을 고려할 때 Δ YY 암컷의 확보는 매우 중요하다(Scott et al., 1989; Kavumpurath and Pandian, 1992; George et al., 1994). 이들 Δ YY 암컷 생산에 관한 이전의 연구는 유일하게 *P. reticulata*에서 XY 암컷과 정상 수컷(XY)과의 교배 및 성전환 처리를 통해 생산한 18마리의 암컷 중 1마리의 Δ YY 암컷을 생산하였다고 보고된 바 있다(Kavumpurath and Pandian, 1993). 본 연구에서는 교배가 이루어진 3마리 중 2마리가 Δ YY 암컷으로 판명되었다. 선발된 YY 수컷과 Δ YY 암컷간의 교배에서는 수컷 자손만이 생산되었고 이들은 모두 YY 인자형을 가지는 초수컷으로 생각된다.

양식 산업에서의 이용을 위해 본 연구를 통하여 생산된 초수컷(YY) 및 초암컷(Δ YY)은 이들간의 단순 교배를 통하여 YY 수컷의 대량 생산에 이용될 수 있으며, 앞으로의 연구에서는 대량 생산된 YY 개체를 대상으로 우량 형질을 가진

YY 개체의 선발 육종이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

XY 암컷에서 유도된 자성발생성 2배체 수컷 및 이의 성전환 암컷으로 부터 YY 수컷(초수컷) 및 Δ YY 암컷(초암컷)을 선발하기 위하여 각각 정상 암컷 및 정상 수컷과 교배하여 자손 검정을 실시하였다.

교배가 이루어진 자성발생성 이배체 수컷 7마리 중 3마리가 YY 수컷으로 판정되었으며, 이들 자손의 수컷율은 93.3%~100.0%로서 정상 교배에서 예상되는 성비인 1:1에 대한 X^2 test 결과 매우 유의하게 나타났다($P < 0.01$ 또는 $P < 0.001$). 자성발생성 2배체 성전환 암컷의 경우 교배가 이루어진 3마리 중 2마리가 Δ YY 암컷으로 판정되었으며, 이들 자손의 수컷율은 각각 92.9% 및 86.2% 그리고 87.5% 및 95.0%로서 1:1 성비에 대해 매우 유의하였다($P < 0.005$). YY 수컷과 Δ YY 암컷간의 교배에서 전수컷 자손만이 생산되었다.

참 고 문 헌

- Curtis, L. R., F. T. Diren, M. D. Hurley, W. K. Seim and R. A. Tubb, 1991. Disposition and elimination of 17α -methyltestosterone in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 99: 193-201.
- George, T., T. J. Pandian and S. Kavumpurath, 1994. Inviability of the Fighting fish, *Betta splendens*. *Bamidgeh*, 46: 3-8.
- Guerrero, R. D. and W. L. Shelton, 1974. An aceto-carmines squash method for sexing juvenile fishes. *Prog. Fish-Cult.*, 36: 56.
- Hammerman, I. S. and R. R. Avtalion, 1978. Sex determination in *Sarotherodon (Tilapia)*. Part 2. The sex ratio as a tool for the determination of genotype-a model of autosomal and gonosomal influence. *Theor. Appl. Genet.*, 55: 177-187.
- Kavumpurath, S. and T. J. Pandian, 1992. Pro-

- duction of YY male guppy (*Poecilia reticulata*) by endocrine sex reversal and progeny testing. Asian Fisher. Sci., 5 : 265-276.
- Kavumpurath, S. and T. J. Pandian, 1993. Production of a YY female guppy, *Poecilia reticulata*, by endocrine sex reversal and progeny testing. Aquaculture, 118 : 183-189.
- Mair, G. C., J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski, 1990. Experimental evidence for environmental sex determination in *Oreochromis* species. In : Proc. 2nd Asian Fish. Forum. Tokyo, April 7-22. 1989 (Hirano, R. and I. Hanyu, eds.). Asian Fish Soc., Manila, The Philippines, pp. 555-558.
- Mair, G. C., A. G. Scott, D. J. Penman, J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski, 1991. Sex determination in the genus *Oreochromis niloticus*. 1. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O. niloticus* (L.). Theor. Appl. Genet., 82 : 144-152.
- Scott, A. C., Penmann, D. J. Bearmore and D. O. F. Skibinski, 1989. The 'YY' Supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. Aquaculture, 78 : 237-251.
- Winge, O., 1934. The experimental alteration of sex chromosomes and vice versa, as illustrated by *Lebistes*. C. R. Trans. Lab. Carlsberg. Ser. Physiol., 21 : 1-49.
- Wohlfarth, G. W. 1994. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture. Aquacult. Fish. Manage., 25 : 781-788.
- Yamamoto, T., 1955. Progeny of artificially induced sex reversal of male genotypes (XY) in the medaka (*Oryzias latipes*) with special reference to YY-male. Genetics, 40 : 406-419.
- Yamamoto, T., 1975. A YY male goldfish from mating estrone-induced XY female and normal male. J. Hered., 66 : 2-4.
- 김동수 · 최윤희 · 노충환 · 남윤권, 1995. 성전환 및 염색체 공학 기법을 이용한 초수컷(YY) 및 초암컷(Δ YY) 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*) 생산. I. 성전환된 XY 암컷으로부터 자성발생성 이배체 유도. 한국양식학회지, 8 : 295-306.
- 노충환, 1995. 17α -Methyltestosterone의 침적법에 의한 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 성전환. 부산수산대학교 석사학위 청구 논문. pp. 38.