

17 α -methyltestosterone에 의한 능성어 *Epinephelus septemfasciatus*의 성전환 유도

송영보, 백혜자¹, 김형배², 이경준³, Kiyoshi Soyano⁴, 이영돈*
제주대학교 해양과환경연구소, ¹부경대학교 자원생물학과, ²강원도립대학 해양생물자원개발과,
³제주대학교 해양과학부, ⁴Nagasaki University

Induced Sex Reversal of Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus* by 17 α -methyltestosterone

Young-Bo Song, Hae-Ja Baek¹, Hyung-Bae Kim², Kyeong-Jun Lee³, Kiyoshi Soyano⁴ and Young-Don Lee*

Marine and Environmental Research Institute, Cheju National University, Jeju 695-814, Korea

¹Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Department of Marine Bio-resource, Gangwon Provincial University, Gangnung 201-804, Korea

³Faculty of Ocean Science, Cheju National University, Jeju 695-756, Korea

⁴Marine Research Institute, Nagasaki University, Nagasaki 851-2213, Japan

Sex reversal to a functional male of sevenband grouper (41.0 \pm 1.3 cm TL, 1.4 \pm 0.1 kg BW) was induced by 17 α -methyltestosterone (MT, 0.5~2.0 mg/kg BW) implantation from March 17 to May 12, 2002. Gonad of control group was composed of gonial cells and peri-nucleolus oocyte during the experimental period. Gonad of fish treated with 0.5 mg MT/kg BW had peri-nucleolus oocytes, spermatogonia, spermatids and spermatozoa at the late stages of spermatogenesis, while the fish group treated with 1.0 and 2.0 mg MT/kg BW contained spermatozoa in the efferent duct. Sperm were obtained from the experimental groups treated with a dose of 1.0~2.0 mg MT/kg BW. In the MT treated groups, testosterone and 11-ketotestosterone levels were higher than those in the control group during the 2~6 weeks of the experimental period ($P < 0.05$). Estradiol-17 β was detected from fish in the experimental fish.

Keywords: Grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, Sex reversal, 17 α -methyltestosterone

서 론

능성어, *Epinephelus septemfasciatus*는 우리나라의 제주도를 포함한 남해안과 일본 홋카이도 이남, 남중국해, 인도양 해역에 분포하고 있다(Kim et al., 2001). 능성어는 제주도에서 자바리, *E. burunus*와 함께 지역 특산품으로 알려져 있으며, 제주도와 남해안 일부에서 자연에서 채집된 종묘를 이용하여 양식을 하고 있으나, 최근 급격한 자원 감소로 자원회복 방안이 요구되고 있다.

능성어류의 성 특성은 자성선속형 자웅동체어(protogynous hermaphrodite)로서, 붉바리, *E. akaara*는 전장 24 cm 이상부터 성전환이 일어나고(Kayano, 1996), 능성어는 체중 6 kg 이상부터 성전환이 일어난다(Tsuchihashi et al., 2003). *E. tauvina*와 *E. marginatus*는 각각 생후 7년과 14년부터 성전환이 일어난다(Chao and Lim, 1991; Glamuzina et al., 2000). 이와 같이 수컷의 확보가 어려운 능성어류의 성 특성으로 인해 음성호르몬

을 사용하여 붉바리, *E. fario*, *E. tauvina*, *E. coioides* 등에서 인위적인 성전환을 유도하여 정자를 확보하기 위한 연구가 수행되어왔다(Kuo et al., 1988; Chao and Chow, 1990; Hwang et al., 1998; Yeh et al., 2003b).

능성어류의 성전환 유도에는 17 α -methyltestosterone (MT), 11-ketotestosterone (11-KT), testosterone (T) 등의 호르몬을 단독 또는 혼합 투여하는 방법이 사용되고 있으며, *E. fario*와 *E. tauvina*에서는 경구투여 방법을 이용하였으나 성전환 유도에 많은 양의 호르몬을 장기간 처리해야 하는 문제점이 발생한 바 있다(Kuo et al., 1988; Chao and Lim, 1991). 이와 같은 문제점을 해결하기 위하여 최근 *E. tukula*, *E. coioides*, *E. merra* 등에서는 주사 및 피하 주입 방법 등을 이용하여 성전환 유도를 하고 있다(Yeh et al., 2003b, c; Bhandari et al., 2004).

이 연구는 능성어의 안정적 정자 확보를 하기위하여 제주도 연안에서 채집된 미성숙한 능성어를 대상으로 음성화 유도를 하기위한 적정 호르몬 처리농도와 호르몬 처리에 따른 체내 호르몬 변화를 조사하였다.

*Corresponding author: leemri@cheju.ac.kr

재료 및 방법

통계프로그램을 이용하여 검정하였다.

호르몬 처리

능성어의 응성화 유도실험은 연안에서 채집된 미성숙한 능성어를 대상으로 2002년 3월 17일부터 5월 12일까지 8주간 실시하였다. 실험어 크기는 전장 30.7~47.0 cm (평균 41.0±1.3 cm), 체중 0.72~1.80 kg (평균 1.4±0.1 kg)이었다. 응성호르몬으로서는 MT (Sigma Co., USA)을 사용하였고, MT 처리 농도는 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg BW였다. 호르몬처리는 MT를 에틸알코올(95%)에 용해시켜 cocoa butter와 1:9비율로 혼합 후 어체의 등 근육 제1극조 아래 부분에 삽입하였으며, 주 1회씩 4주간 처리하였다. 대조구 실험어는 cocoa butter만을 주사하였다.

조직학적 관찰 및 배정유도

MT 처리 전과 처리 후, 성전환 유무 및 생식소 발달단계를 탐색하기위해 실험 시작과 종료 때 체중과 생식소 중량을 조사하였고, 생식소중량지수(gonadosomatic index, GSI)는 '생식소 중량×100/어체중'으로 계산하였다.

생식소는 Bouin's solution에 고정하였고, paraffin 절편법에 의해 조직표본을 제작하였다. 그리고 Hansen's hematoxylin과 0.5% eosin으로 비교염색 하여 MT 처리에 따른 생식소의 변화를 조직학적으로 조사하였다.

응성화 유도를 파악하기위하여 MT처리 8주 후에 실험어를 200~300 ppm의 2-phenoxyethanol에 마취시킨 후 복부 압박법으로 배정 유무를 확인하였다.

혈중 호르몬 변화

응성화 유도과정 중 혈중 성 스테로이드 호르몬인 T와 11-KT, Estradiol-17β (E₂)의 농도 변화를 조사하기 위하여 2주 간격으로 실험어의 미부동맥에서 주사기를 이용하여 5 ml의 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 원심분리(5,000×G, 10분) 후 혈장을 -70의 냉동고에 분석시 까지 냉동보관 하였다. 성 스테로이드 호르몬의 변화는 Aida et al. (1984)의 방법에 따라 방사면역측정법(RIA, radioimmunoassay)으로 분석하였다.

통계분석

모든 결과의 통계처리는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 SAS

결 과

성전환과 정자형성

2002년 3월부터 5월까지 MT를 사용한 응성화 유도실험에서 GSI 변화는 대조구에서 시작시 0.03±0.02에서 종료 시 0.04±0.01로 변화가 없었다. 0.5, 1.0, 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 종료 시 각각 0.06±0.01, 0.12±0.04, 0.11±0.03로 대조구 GSI 보다 높은 경향을 보이거나 처리구간 유의차는 없었다(P>0.05, Fig. 1).

조직학적 관찰을 통한 MT처리에 따른 성전환 유무를 조사한 결과 대조구의 실험어는 성전환이 일어나지 않았으나, MT를 처리한 모든 처리구에서 수컷으로 성전환 되었다(Table 1). 대조구 생식소는 실험 시작과 종료 때 난소 박판에 대부분 주변인기 난모세포와 생식원세포들로 구성되었다(Fig. 2A). 그러나 0.5 mg MT/kg BW 처리구 생식소는 실험 종료 때 소엽내강에 정원세포와 정세포 그리고 정자무리들이 대부분 차지하고 기부에 수정관이 형성되었으나, 일부 어린 난모세포들이 산재하였다(Fig. 2B). 1.0과 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 소엽내강과 기부의 수정관에 정자무리들로 가득 차 있었다(Fig. 2C). MT

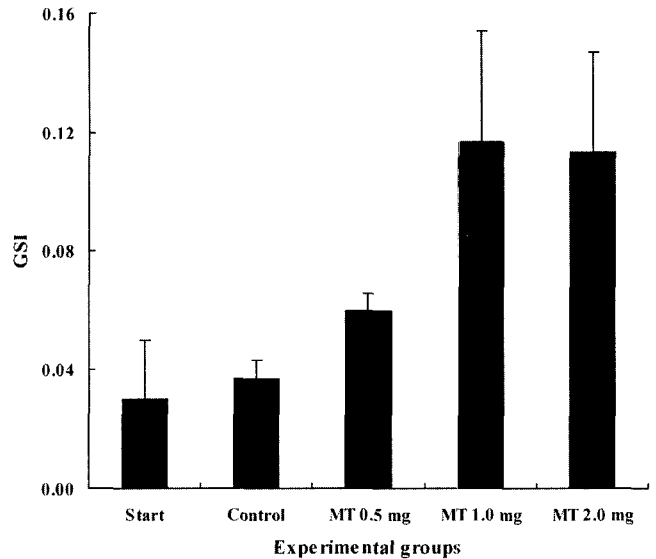


Fig. 1. Gonadosomatic index (GSI) of *E. septemfasciatus* by various 17α-methyltestosterone (MT) treatment. Vertical bars denote standard error of means.

Table 1. Sex reversal of *E. septemfasciatus* females by 17α-methyltestosterone implantation during the experimental period (March 17 to May 12, 2002)

Experimental group	Total length (cm, mean±S.E. ¹⁾)	Body weight (g, mean±S.E.)	GSI ²⁾ (Mean±S.E.)	Sex distribution		No. of spermatied fish
				F ³⁾	M ⁴⁾	
Control ⁵⁾	36.9±2.6	787.5±65.8	0.04±0.01	3	0	0
0.5 mg	38.6±1.0	871.5±123.7	0.06±0.01	0	3	0
1.0 mg	37.5±1.5	750.5±98.5	0.12±0.04	0	3	3
2.0 mg	39.2±1.7	876.8±192.4	0.11±0.03	0	3	3

¹⁾S.E.: Standard error of means. ²⁾GSI: gonadosomatic index. ³⁾F: female. ⁴⁾M: male. ⁵⁾Treated with cocoa butter only.

능성어의 성전환 유도

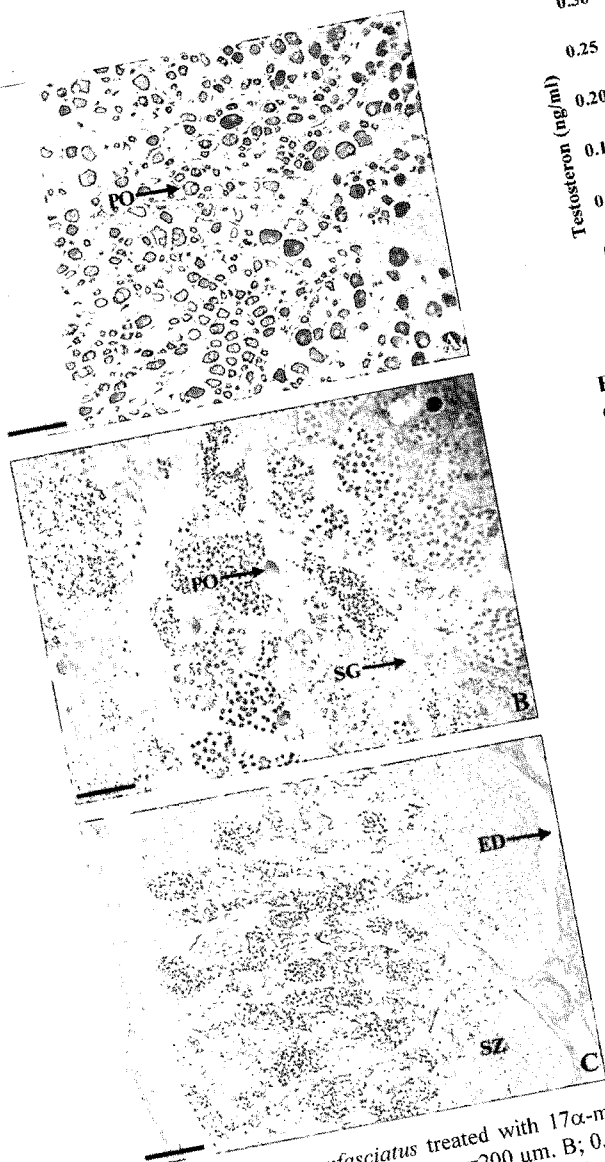


Fig. 2. Gonads of *E. septemfasciatus* treated with 17 α -methyltestosterone (MT). A: Control group, scale bar=200 μ m. B: 0.5 mg MT/kg BW treatment group, scale bar=50 μ m. C: 1.0, 2.0 mg MT/kg BW treatment group, scale bar=200 μ m. ED: effluent duct, PO: perinucleolus oocyte, SG: spermatogonia; SZ: spermatzoa.

를 처리하여 웅성화를 유도한 정소는 소엽내강에 정자부리들이 분포하고 기부에 새로운 수정관이 형성되었다(Fig. 2C). MT 처리 8주후 배정유도 실험에서 0.5 mg MT/kg BW 처리구에서는 복부압박법을 이용한 정자채취가 이루어지지 않았으나, 1.0과 2.0 mg MT/kg BW 처리구에서는 정자채취가 가능하였다(Table 1).

혈중 호르몬의 변화

웅성화 유도과정 중 혈중 T의 농도는 대조구에서 0.116-0.073 ng/ml로 실험기간 중 변화가 없었으나, 0.5, 1.0, 2.0 mg MT/kg BW 처리구에서 4주 후 각각 0.136, 0.140, 0.163 ng/ml로 대조구의 0.083 ng/ml보다 높았다(P<0.05, Fig. 3). 6주 후 1.0, 2.0 mg

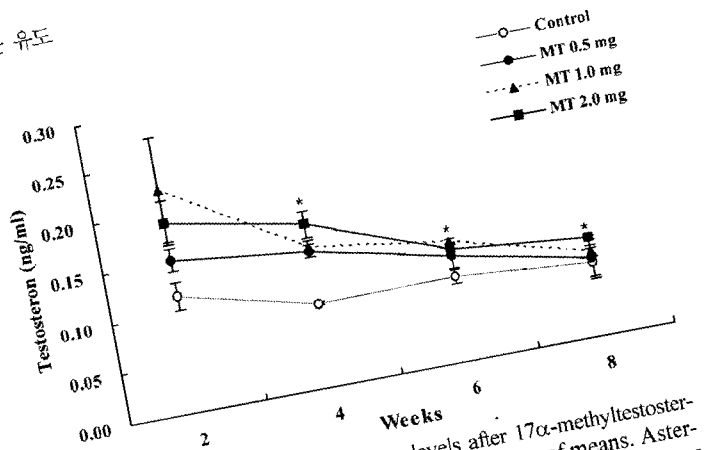


Fig. 3. Changes in plasma testosterone levels after 17 α -methyltestosterone (MT) treatment. Vertical bars denote standard error of means. Asterisks indicate significant differences between treatment and control groups (P<0.05).

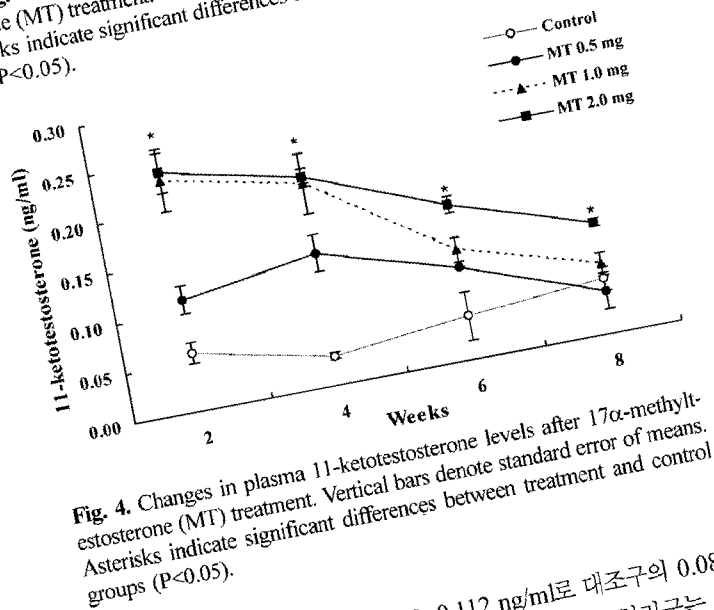


Fig. 4. Changes in plasma 11-ketotestosterone levels after 17 α -methyltestosterone (MT) treatment. Vertical bars denote standard error of means. Asterisks indicate significant differences between treatment and control groups (P<0.05).

MT/kg BW 처리구는 각각 0.119, 0.112 ng/ml로 대조구의 0.084 ng/ml보다 높았으나(P<0.05), 0.5 mg MT/kg BW 처리구는 대조구와 유사하였다(P>0.05). 8주 후 모든 MT 처리구는 0.078-0.098 ng/ml로 대조구와 유사하였다(P>0.05). 혈중 11-KT 농도는 대조구에서 실험기간 동안 0.029-0.059 ng/ml로 실험기간 중 변화가 없었다. 0.5 mg MT/kg BW 처리구에는 4주 후까지 대조구보다 높았으나(P<0.05, Fig. 4), 이후 대조구와 유사하였다(P>0.05). 1.0 mg MT/kg BW 처리구는 0.110-0.232 ng/ml로 2주 후부터 6주 후까지 대조구보다 높았다(P<0.05). 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 0.112-0.211 ng/ml로 2주 후부터 실험 종료까지 대조구보다 높았다(P<0.05). 혈중 E₂ 농도는 성전환 유도과정 중 모든 처리구의 일부 개체에서 검출되었으나, 일정한 변화 형태는 없었다(Fig. 5).

고찰

능성어류 성전환 유도에는 MT, 11-KT, T, testosterone propion (TP), androgen mixture (AM), aromatase inhibite (AI) 등이

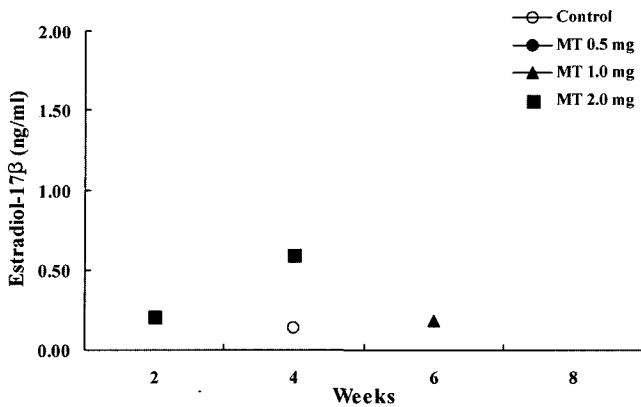


Fig. 5. Changes in plasma estradiol-17 β levels after 17 α -methyltestosterone (MT) treatment.

독 또는 혼합하여 사용되고 있으며(Table 2), *E. coioides*를 대상으로 호르몬 종류에 따른 응성화 유도결과 서로 다른 호르몬을 동일농도를 처리했을 때 응성화 유도에 가장 효과가 있는 것으로는 MT와 AM를 사용했을 때 다른 호르몬(11-KT, T, TP)보다 더 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Yeh et al., 2003b).

MT를 사용한 능성어류 성전환 유도 실험에서 경구투여 방법을 이용했을 때, *E. tauvina*는 1년에 145 mg MT/kg BW과 7개월에 120 mg MT/kg BW 농도로 처리했을 때 성전환 유도가 가능하였다(Chen et al., 1977; Chao and Chow, 1990). 그리고 *E. tario*와 *E. salmonoides*의 성전환 유도에는 각각 70 mg MT/kg BW과 104 mg MT/kg BW 처리하였다(Kuo et al., 1988). 주사방법을 이용한 성전환 유도에서 *E. suillus*는 30 mg MT/kg BW를 격주로 6회 주사 하였을 때 성전환 유도가 가능하였다(Tan-Fermin et al., 1994). *E. tauvina*는 0.5 mg MT/kg BW의 silastic capsule을 제작하여 피하 주입 했을 때, 4개월 후 기능적 수컷으로 유도 할 수 있었다(Chao and Lim, 1991). 이 연구에서 능성어를 대상으로 0.5~2.0 mg MT/kg BW를 4회 처리했을 때 8주후 응성화 유도가 가능하였다.

호르몬을 사용한 능성어류의 성전환 실험에서 GSI 변화는

AM을 사용하여 성전환 유도 실험에서 *E. coioides*의 성숙시기의 암컷 GSI는 1.58이었고, 성전환된 수컷의 경우 0.11이었다(Yeh et al., 2003a). AI를 사용하여 성전환 유도한 *E. merra* 암컷의 성 성숙 시기 GSI는 3.5 내외였으나, 성전환된 수컷의 GSI는 0.5 내외였다(Bhandari et al., 2004). 그리고 자성선속형 어류인 놀래기류의 성숙시기에 1차 수컷보다 성전환된 2차 수컷의 GSI가 낮은 것으로 보고되고 있다(Lee et al., 1993). 이와 같이 암컷에서 수컷으로 성전환되었을 때 일반적으로 GSI가 낮아지는 경향을 보이고 있는데, 성전환된 능성어의 배정유도가 가능한 시기의 GSI는 각각 1.0과 2.0 mg MT/kg BW 처리구에서 0.11~0.12이었으나, 대조구의 GSI는 0.06으로 시작시와 유사하였다. 이 실험에 사용한 능성어는 생식소 내에 대부분 주변인기 난모세포를 가지고 있는 성적으로 미숙한 개체에서 MT 처리에 의한 정자 형성으로 GSI가 대조구나 실험시작시 보다 높은 값은 나타낸 것으로 생각된다.

성전환된 능성어의 생식소 구조는 기존의 난소강을 가지고 있으며, 소엽내강에 정자무리들이 분포하고 기부에 새로운 수정관이 형성되었다. 이러한 특징은 자성선속형 자용동체어류인 놀래기류에서 성전환된 2차 수컷의 정소구조가 난소강이 정소의 중앙에 위치하고 정자형성은 난소 소낭에서 이루어지며 기부에 수정관을 형성하는 구조를 가지는 구조적 특징과 일치하고 있다(Lee et al., 1993).

능성어의 성전환 유도실험에서 0.5, 1.0, 2.0 mg MT/kg BW 처리한 모든 처리구에서 성전환이 일어났으나, 정자채취는 1.0과 2.0 mg MT/kg BW 처리 모든 개체서 가능하였다. AM를 이용한 *E. coioides*의 응성화유도 실험에서 10~20 mg AM/kg BW처리 했을 때는 성전환은 이루어졌으나, 이들 중 배정 가능한 수컷은 14%였으며(Yeh et al., 2003a), *E. tukula*의 성전환 유도 실험에서는 67%가 성전환이 되었고, 이들 중 28%에서 정자 채취가 가능하였다(Yeh et al., 2003c). *E. merra*를 대상으로 AI 1,000 /fish를 처리한 결과 성전환 유도율은 38%였다(Bhandari et al., 2004). 0.5 mg MT/kg 처리구에서 성전환은 유도되었으나, 배정이 이루어지지 않은 것은 운동성을 가진 정자로 분화

Table 2. Induction of sex reversal of grouper, *Epinephelus sp.* by hormone

Experimental fish	Hormone	Times	Methods	Authors
<i>E. tauvina</i>	145 mg MT ¹⁾ /kg	1 years	Oral administration	Chen et al., 1977
	120 mg MT/kg	7 months	Oral administration	Chao and Chow, 1990
	0.5 mg MT/kg	4 months	Silastic capsule	Chao and Lim, 1991
<i>E. fario</i>	0.5~1.0 mg MT/kg	5 months	Oral administration	Kuo et al., 1988
<i>E. suillus</i>	30 mg MT/kg	3 months	Injection	Tan-Fermin et al., 1994
<i>E. coioides</i>	1.0~20.0 mg T ²⁾ , 11-KT ³⁾ , TP ⁴⁾ , MT or AM ⁵⁾ /kg	90 days	Implantation	Yeh et al., 2003a, b
<i>E. tukula</i>	1.0 mg AM/kg	70 days	Implantation	Yeh et al., 2003c
<i>E. merra</i>	1,000 AI ⁶⁾ /fish	4 months	Implantation	Bhandari et al., 2004
<i>E. septemfasciatus</i>	0.5~2.0 mg MT/kg	8 weeks	Implantation	in this study

¹⁾MT: 17 α -methyltestosterone. ²⁾T: testosterone. ³⁾11-KT: 11-ketotestosterone. ⁴⁾TP: testosterone propionate. ⁵⁾AM: androgen mixture (containing T, MT, and TP in equal ratios). ⁶⁾AI: aromatase inhibitor.

가 덜된 것으로 생각된다.

일반적으로 어류에서 E₂는 암컷 특이 성 스테로이드 호르몬이고 11-KT는 수컷 특이 성 스테로이드 호르몬으로 알려지고 있으나, 능성어류인 *E. merra*와 *E. coioides*의 암·수컷의 혈중에서 E₂와 11-KT가 검출되었다(Bhandari et al., 2003; Yeh et al., 2003b). 생식소에 주변인기 단계의 난모세포 등을 가지는 미숙한 능성어 개체에서 11-KT가 검출되었고, 수컷으로 성전환 유도 과정에서도 MT 처리구에서 E₂가 일부 검출되었다. 이와 같이 수컷 특이적인 11-KT가 암컷에서 분비되는 것은 자웅동체어의 성적 특징의 하나로 사료된다.

능성어의 성전환 유도과정 중 대조구에서 T 혈중 농도 변화는 시작시 0.216 ng/ml에서 종료 때에는 0.085 ng/ml로 감소하였다. MT 처리구의 T 혈중농도는 대조구보다 2주 후부터 6주 후까지 높았으나(P<0.05), 배정이 가능한 8주째 대조구와 유사하였다(P>0.05). 11-KT 혈중농도는 대조구에서는 실험기간 동안에 0.029~0.059 ng/ml로 낮았으나, MT 1.0 처리구는 2주 후부터 6주째까지 0.110~0.232 ng/ml, 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 2주 후부터 실험 종료 때까지 0.112~0.240 ng/ml로 대조구보다 높았다(P<0.05). *E. merra*의 성전환 유도 실험에서 실험종료시 11-KT 농도는 성전환된 수컷에서 대조구의 암컷보다 높은 값을 나타내었으나, T의 변화는 없었다(Bhandari et al., 2004). 그리고 자연조건에서 *E. merra*의 11-KT는 정소조직이 발달하는 시기에 증가하고(Bhandari et al., 2003), 놀래기류에서는 성전환 시작이후 급격히 증가하는 것으로 알려져 있다(Nakamura et al., 1989). 자연조건에서 *E. morio* 수컷에서 성성숙시기 혈장내 11-KT와 T 농도 또한 높은 것으로 보고되고 있다(Johnson et al., 1998). 능성어에서 T의 역할은 성전환 유도 초기에 영향을 미치고, 11-KT는 성전환 및 정자형성과정에 작용하는 것으로 사료된다.

자웅이체어에서 성전환 유도는 성분화 이전에 호르몬 처리 및 환경조절을 통해 가능한 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1996; Lee et al., 2000). 이 연구에서 자성선속형 자웅동체어인 미성숙한 능성어를 대상으로 MT 처리에 의한 성전환 유도가 가능한 이유는 양성능(bipotentiality)을 가지는 생식원세포가 항상 존재하기 때문이라고 여겨진다.

요 약

능성어 정자의 안정적 확보를 위하여 MT 0.5~2.0 mg/kg BW를 어체 근육내 삽입하여 성전환을 유도하였다. 사용한 실험어는 전장 41.0±1.3 cm, 체중 1.4±0.1 kg 이었다. 실험 시작시 능성어 생식소는 주로 gonial cells과 주변인기 단계 난모세포를 가지고 있었다. 실험 종료시 대조구의 생식소는 실험 시작시와 유사하였다. 0.5 mg MT/kg BW 처리구 생식소는 실험 종료 때 소엽내강에 정원세포와 정세포 그리고 정자무리들이 대부분 차지하고 기부에 수정관이 형성되었으나, 일부 어린 난모세포들

이 산재 하였다. 1.0과 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 소엽내강과 기부의 수정관에 정자무리들로 가득 차 있었다. 정자는 1.0~2.0 mg MT/kg BW 처리구에서 얻을 수 있었다. MT 처리구의 T 혈중농도는 대조구보다 2주 후부터 6주 후까지 높았으나(P<0.05), 배정이 가능한 8주째 대조구와 유사하였다(P>0.05). 11-KT 혈중농도는 MT 1.0 처리구는 2주 후부터 6주째까지, 2.0 mg MT/kg BW 처리구는 2주 후부터 실험 종료 때까지 대조구보다 높았다(P<0.05). E₂는 모든 실험어 일부에서 검출되었다.

사 사

이 연구는 해양수산부 수산특정연구과제(2000-2003년) 및 2004년도 제주대학교 두뇌한국(BK) 21 사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Aida, K. T. Kato and M. Awaji, 1984. Effects of castration on the smoltification of precocious male masu salmon *Oncorhynchus masou*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 50, 565-571.
- Bhandari, R. K., H. Komuro, S. Nakamura, M. Higa and M. Nakamura, 2003. Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in protogynous honerycomb grouper (*Epinephelus merra*). Zoological Science, 20, 1399-1404.
- Bhandari, R. K., H. Komuro, M. Higa and M. Nakamura, 2004. Sex inversion of sexually immature honerycomb grouper (*Epinephelus merra*) by aromatase inhibitor. Zoological Science, 21, 305-310.
- Chao, T. M. and M. Chow, 1990. Effects of methyltestosterone on gonadal development of *Epinephelus tauvina* (Forsk.). Singapore J. Pri. Ind., 18, 1-14.
- Chao, T. M. and L. C. Lim, 1991. Recent development in the breeding of grouper (*Epinephelus* spp.) in Singapore. Singapore J. Pri. Ind., 19, 79-93.
- Chen, F. Y., M. Chow, T. M. Chao and R. Lim, 1977. Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore. Singapore J. Pri. Ind., 5, 1-21.
- Duncan, D. B., 1955. Multiple-range test and multiple F test. Biometrics, 11, 1-42.
- Glamuzina, B. N. Glavic, P. Tutman, V. Kozul and B. Skaramuca, 2000. Notes on first attempt at artificial spawning and rearing of early stages with gold blotch grouper, *Epinephelus costae* (Steindachner, 1875). Aquaculture International, 8, 551-555.
- Hwang, S. I, Y. D. Lee, C. B. Song and S. Rho, 1998. Gonadal development and the effect of 17 α -methyltestosterone on sex inversion of the red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. J. Aquaculture, 11, 173-182.
- Johnson, A. K., P. Thomase and Jr. R. R. Wilson, 1998. Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in *Epinephelus morio*, a protogynous grouper in the eastern gulf of Mexico. J. Fish Biol., 52, 502-518.

- Kayano, Y., 1996. Yearly change in egg production of the red spotted grouper, *Epinephelus akaara* in a rearing tank. Saibai. Giken., 25, 47–52.
- Kim, I. S., Y. Choi and B. J. Kim, 2001. Percoidae fishes of Korea. Korea research institute of bioscience and biotechnology, Korea, 279 pp.
- Kim, K. K., I. C. Bang and Y. Kim, 1996. Studies on the production of all-female populations of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. IV. sex determination by water temperature during sex differentiation period. J. of Aquaculture. 9, 429–435.
- Kuo, C. M., Y. Y. Ting and S. L. Yeh, 1988. Induced sex reversal and spawning of blue spotted grouper, *Epinephelus fario*. Aquaculture, 74, 113–126.
- Lee, Y. D., H. B. Go, H. B. Kim, I. S. Park and J. J. Lee, 1993. Sex reversal of protogynous hermaphrodite fish. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat. Univ., 17, 115–127.
- Lee, C. H., O. S. Na, I. K. Yeo, H. J. Baek and Y. D. Lee, 2000. Effects of sex steroid hormones and high temperature on sex differentiation in black rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish. Soc., 33, 373–377.
- Nakamura, M., T. F. Hourigan, K. Yamauchi, Y. Nagahama and G. E. Grau, 1989. Histological and ultrastructural evidence for the role of gonadal steroid hormones in sex change in the protogynous wrasse *Thalassoma duperrey*. Env. Biol Fish., 24, 117–136.
- Tan-Fermin, J. D. and L. M. B. Garcia and A. R. Jr. Castillo, 1994. Induction of sex inversion in juvenile grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes) by injections of 17 α -methyltestosterone. Jap. J. Ichthyol., 40, 413–420.
- Tsuchihashi, Y., H. Tanaka, Y. Kuromiya, M. Kashiwagi and M. Yoshioka, 2003. Control of induction of sex reversal in the sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. Suisanzoshoku, 51, 189–196.
- Yeh, S. L., C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang, 2003a. The effects of exogenous androgens on ovarian development and sex change in female orange-spotted protogynous grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 218, 729–739.
- Yeh, S. L., C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang, 2003b. Androgens stimulate sex change in protogynous grouper, *Epinephelus coioides*: spawning performance in sex-changed males. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 135, 375–382.
- Yeh, S. L., Q. C. Dai, V. T. Chu, C. M. Kuo, Y. Y. Ting and C. F. Chang, 2003c. Induced sex change, spawning and larviculture of potato grouper, *Epinephelus tukula*. Aquaculture, 228, 371–381.

원고접수 : 2005년 6월 10일

수정본 수리 : 2005년 7월 22일