

생식소자극호르몬방출호르몬 類似物質에 의한 메기(*Silurus asotus*)의 배란유도

권혁추 · 최낙중* · 박홍양**

선문대학교 식량자원학과 · *국립수산진흥원 청평내수면연구소

**건국대학교 동물자원연구센터

Induced Ovulation in Catfish (*Silurus asotus*) by GnRH-Analogue

Hyuk-Chu Kwon, Nack-Joong Choi and Hong-Yang Park

Department of Food Resources, Sun Moon University, Asan 336-840, Korea

*Cheongpyong Inland Fisheries Research Laboratory, Cheongpyong

**Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University, Seoul

Experiments were carried out to investigate the effect of GnRH-analogue (GnRH-a) on the induction of ovulation in catfish, *S. asotus*. Fully matured female catfish (250~600 g) received a single intraperitoneal injection of GnRH-a (50~200 µg/kg · body weight) showed the successful induction of ovulation. More than 86% of treated females were ovulated after injection of GnRH-a (90 µg/kg) at 25±1°C. The majority of spawning took place within 22 to 25 hours after the injection. The gonadosomatic index (GSI) and pseudo-GSI in the group treated with 120 µg/kg GnRH-a were 23~30% and 18~21%, respectively. Average fertilization and hatching rates were 94% and 81%, respectively.

Electron microscopically, gonadotrophs of maturing female catfish were characterized by the presence of numerous small, electron-dense granules of approximately 150~300 nm in diameter and a few larger, less electron-dense granules of approximately 800~1000 nm in size in their cytoplasm. Gonadotrophs of GnRH-a treated catfish showed that their was a distinct decrease in number of small and large granules. The rough endoplasmic reticulum was composed of numerous cisternae conspicuously dilated to various degrees.

Key words : Induced ovulation, *Silurus asotus*, GnRH-analogue

서 론

상업적으로 중요한 어종의 번식조절은 양어가들에 있어 매우 중요한 과제이다. 보다 효율적이고 경제적인 배란 및 산란 유도기술은 종묘생산 단가를 낮추고 우량종묘를 생산하는데 빼놓을 수 없는 요소중의 하나이다.

메기의 인공부화기술은 많은 발전을 거듭하여 현재 대량생산의 단계에까지 이르러 농어촌의

새로운 소득원으로서 각광을 받고 있다. 메기의 인위적 산란유도를 위해 인간의 태반에서 분비되는 생식소자극호르몬(HCG)이 주로 사용되고 있는데, HCG 사용의 경우 가격과 산란유도를 및 부화율 등에 있어서 개선해야할 점이 많은 것으로 나타나고 있다. 또한 최근 급증하고 있는 양식산 기형메기의 출현은 심각한 문제로서 산란유도를 위해 사용되고 있는 호르몬의 종류 및 과다사용이 그 원인의 하나로 생각되어 지고 있다.

따라서 이러한 문제점들을 해결하기 위한 새로운 호르몬제의 개발 및 적절한 사용법에 대한 검토가 요망되고 있다.

어류의 배란 및 산란을 유도하는 데는 잉어와 연어의 뇌하수체 추출물, 생식소자극호르몬(GTH), HCG, 생식소자극호르몬방출호르몬(GnRH 또는 LHRH) 및 그 類似物質(GnRH-analogue, GnRH-a)들과 tamoxifen 및 clomiphene 등의 antiestrogen이 주로 사용되어 왔다 (Lam, 1982; Donaldson et al., 1983). 그 중 시상하부의 신경분비세포에서 분비되는 GnRH 및 ; GnRH-a에 대한 연구가 국외에서 활발히 진행되어 무지개송어(Crim et al., 1983), 송어(Lee et al., 1987), milkfish (Marte et al., 1987), spotted sea trout (Thomas and Boyd, 1989), sea bass (Garcia, 1990), 대서양 연어(Crim and Glebe, 1984; Taranger et al., 1992), winter flounder (Harmin and Crim, 1992) 및 잉어(Drori et al., 1994) 등 여러 어종의 배란 및 산란유도에 탁월한 효과가 있음이 보고되어 왔다.

한국산 메기의 번식에 관한 연구로서 이 등(1989)이 HCG를, 최 등(1992)이 잉어 뇌하수체 분말을 사용하여 배란 및 산란을 유도한 보고가 있으나, GnRH-a의 사용에 대해서는 아직 국내 외에서 검토되지 않았다.

통상 인위적으로 어류의 배란 및 산란을 유도하는 경우, 자연상태의 산란에 비해 油球數의 이상과 낮은 부화율 등 卵質의 저하를 가져오는 경우가 많아, 인위적 배란유도시 가능한 한 자연조건에 가까운 상태를 유지하는 것이 바람직하다(廣瀨, 1982). 그러나 HCG의 경우 복강에 주사된 호르몬이 난소에 직접 강하게 작용하여 빠른 過熟 등 卵質 저하의 원인이 될 수 있으나, GnRH-a의 경우 뇌하수체에 작용하여 그 결과 분비된 GTH에 의해 배란되어 지는 완만한 과정을 거침으로써 양질의 알을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 연구는 메기의 종묘생산 단가를 낮

추고, 양질의 알을 얻을 목적으로 GnRH-a에 의한 배란 및 산란 유도효과에 대해 검토하고, GnRH-a 주사후의 뇌하수체에서의 GTH 분비 세포의 미세구조적 변화를 관찰했다.

재료 및 방법

본 연구는 1995년 4월부터 6월까지 건국대학교 동물자원연구센터 부설 양어장에서 실시했다. 실험어는 同 대학 및 청평내수면연구소에서 사육된 2~3년생의 250~600 g의 외견상 배가 연하고 부른 성숙된 암컷 메기를 사용했다.

LHRH-a (des-Gly¹⁰, [D-Ala⁶]-luteinizing hormone-releasing hormone-ethylamide; Sigma Co, USA)는 0.7% NaCl에 용해하여 적당량씩 分注하여 사용할 때까지 -20℃에 보관하였다. 산란유도용 암컷메기는 어체중 kg당 50~200 μg의 GnRH-a (LHRH-a)를 복강에 주사한 다음 수온 25±1℃에 수용하였다.

수정은 건식법을 이용하였는데, 구체적으로 복부압박에 의해 채취한 알에 정소를 가위로 잘게 썰어 담수어용 링겔액에 현탁시킨후 상층만을 더하여 수정시켰으며, 용량 400리터 크기의 스테인레스 부화조에 나일론 모기장을 깔아 수정란을 부착시켜 부화시켰다. 부화온도는 27±1℃를 유지하였으며 수정률 및 부화율은 세 곳의 알들을 무작위 채취하여 그 평균값을 구했다.

호르몬 주사후 배란이 일어나기까지의 소요시간 조사는 주사후 20시간후 부터 1시간 간격으로 복부를 가볍게 눌러 알의 방출 유무를 확인하였으며, 알이 부드럽게 방출된 개체만을 배란유도의 성공으로 간주하였다.

생식소중량지수(GSI) 및 pseudo-GSI는 다음과 같이 구했다.

Pseudo-GSI (%) = 복부압박에 의해 채취된 알무게(g) × 100 / 주사하기전 魚체중(g)

GSI (%) = [채취된 알무게(g) + 난소의 무게(g)] × 100 / 주사하기전 어체중(g)

또한 방출된 알의 수는 복부압박에 의해 자낸 알 0.1 g을 달아 그 수를 세어 각 개체의 방출된 전체 알무게를 곱하여 구하였다.

뇌하수체의 생식소자극호르몬 분비세포의 미세 구조적 관찰을 위해 암컷메기에 120 µg/kg의 GnRH-a를 복강에 주사하여 배란이 일어난 개체를 사용하였고, 미성숙어는 부화후 7~8개월된 해부학적으로 난소가 발달되지 않은 개체를 사용하였으며, 대조구로서 0.7% NaCl만을 주사하였다. 채취한 뇌하수체를 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)가 포함된 2.5% glutaraldehyde로 고정한 후 1% OsO₄ 용액으로 後固定했으며, 통상의 방법에 따라 알콜 series로 탈수한 후 Epon 812로 포매, 薄切하여 uranyl acetate 및 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200 EXII, Japan)으로 80 KV의 전압 하에서 검경했다. 회귀공식은 컴퓨터 프로그램 Quattro pro에 의해 계산되었다.

결 과

Table 1에서와 같이 메기의 산란유도를 위해 사용된 GnRH-a는 매우 효과가 있는 것으로 나타났다. GnRH-a 처리된 메기의 산란유도율은 어체중 kg당 70 µg에서 67%, 90 µg에서 86%, 120 µg이상에서는 100%로 나타났다. 대조구에서 NaCl만으로 처리된 메기에서는 산란이 유도되지 않았다.

Table 1. Effect of GnRH-a on ovulation in the female catfish, *S. asotus*.

GnRH-a dose (µg/kg)	Body weight (g)*	No. of fish injected	No. of fish ovulated (%)	Time to ovulation (h)
Control**	375.8±55.8	5	—	—
50	407.6±83.5	5	1(20.0)	25~28
70	455.3±98.7	6	4(66.7)	24~28
90	492.5±63.9	7	6(85.7)	23~26
120	416.8±88.6	9	9(100)	23~26
160	317.6±74.0	5	5(100)	21~25
200	499.5±60.4	4	4(100)	21~25

* Values are mean±SE.

** 0.7% NaCl.

호르몬 주사후 산란까지의 소요시간은 고농도에서 다소 빠른 경향을 보였으나 대체로 22~25시간이 걸렸다. 그러나 약 80% 이상이 주사후 22~24시간 사이에서 산란이 유도되었다(Fig. 1).

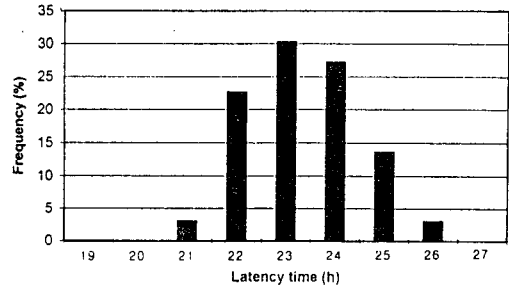


Fig. 1. Frequency of spawning in relation to the latency time after the single injection of GnRH-a (90~120 µg/kg) in the catfish, *S. asotus* held at 25±1°C.

어체중 kg당 120 µg 처리된 군에서의 GSI 및 pseudo-GSI는 각각 23~30 및 18~27로 대체로 고른 분포를 나타냈으며, 방출된 알의 수는 어체중 kg당 58,000~65,000개 였다(Table 2). 호르몬 주사후의 체중의 증가와 GSI와 pseudo-GSI와의 사이에 상관관계는 없었으나, 방출된 알의 수와 체중은 정의 상관을 나타냈다($r=0.78$) (Fig. 2).

또한 100%의 산란유도율을 보인 120 µg/kg 처리된 그룹에서의 수정률 및 부화율은 각각 94%와 81%의 높은 수치를 나타냈다. 부화까지의

시간은 수온 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 26~32시간이 소요되었다(Table 3).

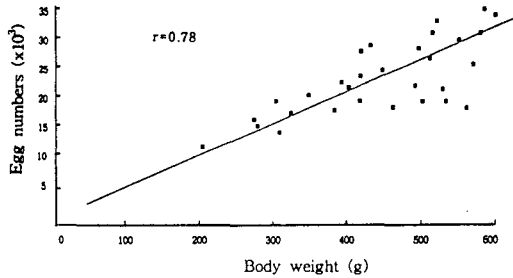


Fig. 2. Relationship between number of artificially spawned eggs and body weight of the females.

GnRH-a 처리가 뇌하수체에 미치는 영향을 조사하기 위해 생식소자극호르몬 분비세포(gonadotrophs)의 미세구조적 변화를 Figs. 3a, b와

4에 나타냈다. 호르몬 주사전 성숙된 암컷메기의 gonadotrophs는 세포질내에 전자밀도가 높은 150~300 nm크기의 수 많은 小顆粒과 800~1,000 nm의 전자 밀도가 다소 낮은 大顆粒의 존재가 관찰되었으며, 약간 팽창된 조면 소포체(rER)와 잘 발달된 골지체가 존재하였다(Fig. 3a). 호르몬 주사후의 암컷메기의 gonadotrophs에서는 대, 소과립들의 현저한 消失이 관찰되었고, 소포성의 rER이 눈에 띄게 증가하였다(Fig. 3b). 한편, 미성숙 암컷메기의 gonadotrophs에서는 대, 소과립들은 성숙 메기의 그것들에 비해 수와 크기에 있어 다소 작은 것이 관찰되었다. 또한 rER의 팽윤은 관찰되지 않았으며, 골지체, 미토콘드리아 등은 성숙 메기에 비해 현저하게 덜 발달되어 있었다(Fig. 4).

Table 2. Egg number, GSI and pseudo-GSI in the female catfish treated with 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ GnRH-a

Fish no.	Initial body weight (g)	Increase body weight (%)	Weight (g)		Egg number	GSI (%)	Pseudo-GSI (%)
			Egg	Ovary			
1	448	7.14	95	40	29,830	30.1	21.2
2	527	3.42	105	40	32,950	29.2	27.5
3	590	5.08	110	45	34,540	26.3	18.6
4	450	2.00	85	20	26,690	23.3	18.9
5	425	4.94	90	22	28,260	26.4	21.2
6	424	4.25	80	20	33,920	23.6	18.9
7	275	0.36	51	17	14,030	24.7	18.5
8	270	4.44	53	18	14,310	26.3	19.6
9	342	5.85	69	24	21,660	27.2	20.2

GSI (%) = gonad weight (g) \times 100/body weight (g) before injection.

Pseudo-GSI (%) = weight (g) of stripped eggs \times 100/body weight (g) of fish before injection.

Table 3. Fertilization and hatching rates in the catfish treated with 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ GnRH-a

Fish no.	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Time to hatching (h)
1	97.5	85.2	26~32
2	96.2	84.4	26~32
3	98.3	82.0	26~32
4	89.4	75.4	26~32
5	93.6	83.7	26~32
6	87.3	69.5	26~32
7	98.2	84.5	26~32
8	90.8	78.3	26~32
9	96.9	82.4	26~32

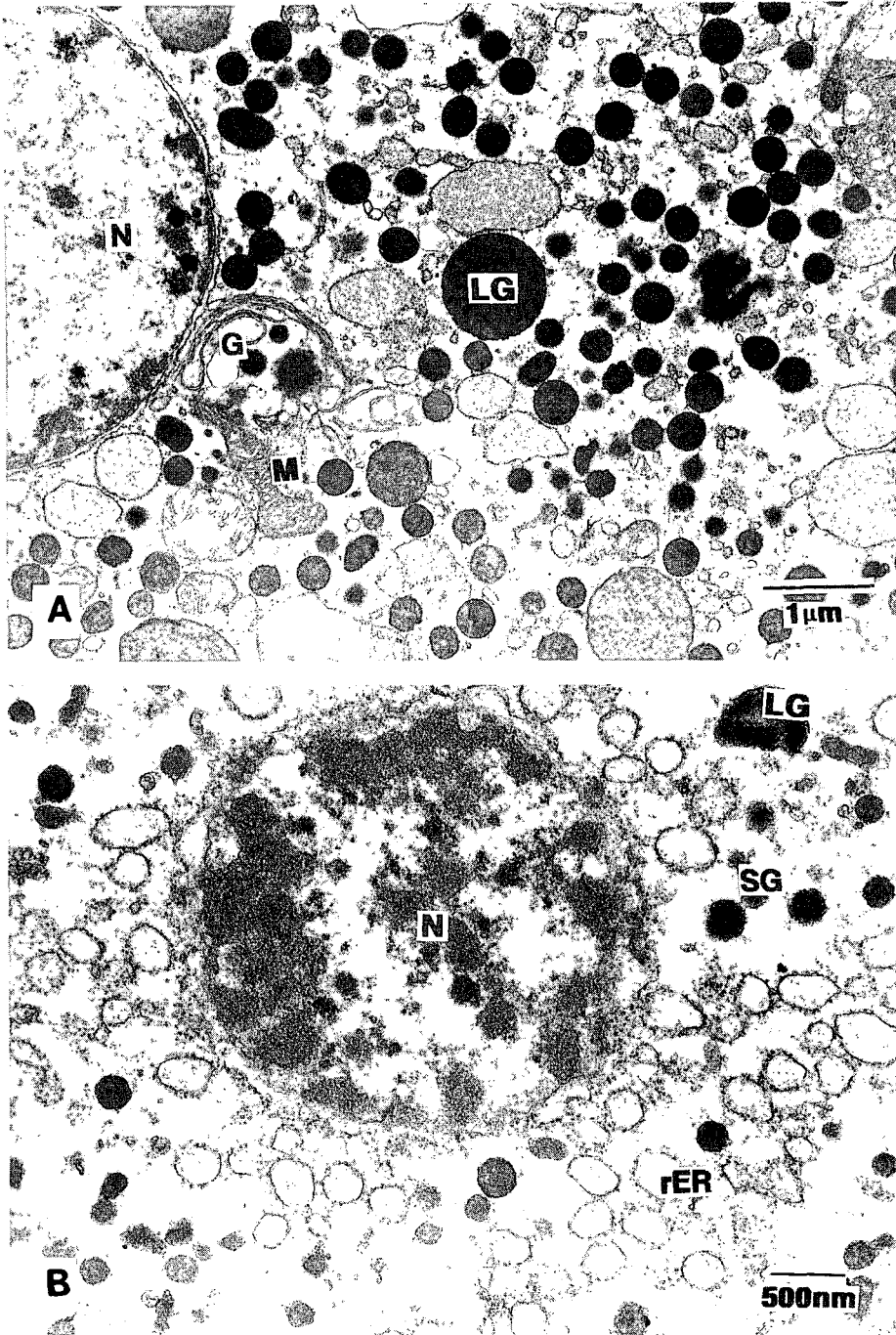


Fig. 3. Electron micrographs of gonadotrophs in the pituitary gland of a saline-injected (A) and a GnRH a-treated maturing female catfish (B). G, Golgi apparatus ; LG, large granule ; M, mitochondrion ; N nucleus ; rER, rough endoplasmic reticulum ; SG, small granule.

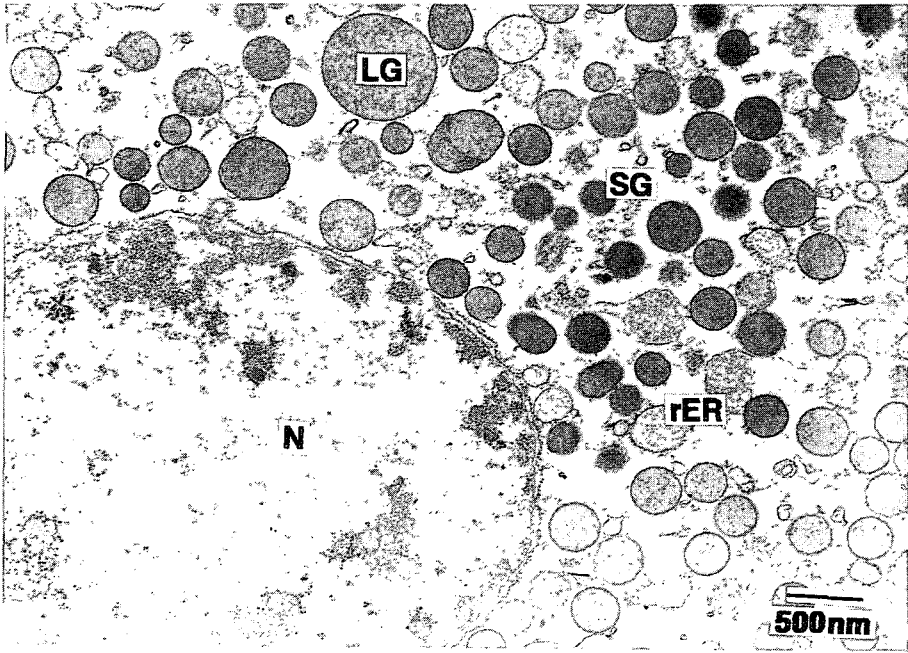


Fig. 4. Electron micrograph of gonadotrophs in the pituitary gland of an immature female catfish. LG, large granule; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum; SG, small granule.

고 찰

한국산 메기의 인위적인 배란 및 산란은 GnRH-a의 단일 주사에 의해 성공적으로 유도되어졌는데 효율과 경제면에서 매우 우수한 것으로 나타났다.

본 연구에서 메기의 산란을 유도하는데 필요한 GnRH-a 투여량은 85% 이상의 높은 배란유도율을 나타낸 90~120 µg/kg으로 사료된다. 이는 백련어 1~10 µg/kg (Billard et al., 1982), 잉어(*Cyprinus carpio*) 5~50 µg/kg (Billard et al., 1984), 은연어의 20~200 µg/kg (Van der Kraak et al., 1983) 등과 비교되어 진다.

호르몬 주사후 산란이 일어나기까지의 소요시간은 사육 수온과 호르몬 농도에 따라 다소 차이가 있지만, GnRH-a가 22~25시간으로 HCG의 15~20시간(이 등, 1989)에 비해 느린 것으로 나타났다. 이것은 GnRH가 HCG (GTH)보다 상위의 호르몬인 것에 기인한다. 일반적으로 호

르몬에 의한 어류의 배란 및 산란 유도시 호르몬 농도는 생리적 적정 농도를 훨씬 초과하여 주사하게 되는데, HCG의 경우 복강 또는 근육에 주사된 다량의 호르몬이 직접 난소에 강하게 작용하여 배란을 유발함으로써 난질의 저하를 가져오고, 호르몬 주사후 배란까지의 타이밍을 놓치는 경우 과숙으로의 이행이 빨라 결국 수정률 및 부화율에 큰 영향을 미치게 된다. 이러한 사실들은 현장에서 양어들이 많은 양의 친어를 일시에 처리할 때 실제로 경험하는 것이다. 반면에 복강에 주사된 GnRH-a는 뇌하수체를 자극하여 GTH를 분비시키는 간접적인 방법을 취하므로 알이 과숙되는 정도가 완만하여 친어의 대량 처리에 매우 유리한 것으로 나타났다. 실제로 부화율에 대한 영향으로서 HCG (이 등, 1989)의 경우 71.1%, 잉어 뇌하수체 분말(최 등, 1992)의 74%에 비하여 GnRH-a의 경우는 81%로 다소 높은 수치를 나타냈다. 여기에서 부화까지의 소요시간이 HCG의 경우 수온 20~24°C에서 50~57

시간 걸렸으나, 본 실험에서는 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 26~32시간으로 나타나 약간의 부화온도 상승이 부화시간을 단축할 수 있을 뿐 아니라 부화율을 높일 수 있는 것으로 나타났다. 그러나 최근 양식산 메기에서 기형어의 발생률이 심각할 정도로 높다고 보고되어 있어, 본 실험에서와 같이 부화수온의 상승에 따른 기형발생에 관한 세심한 연구가 뒤따라야 할 것이다.

호르몬에 의해 인위적으로 산란을 유도할 때 일반적으로 같은 종의 개체간에 있어서도 생식소중량지수(GSI)는 고르지 않은 것으로 나타난다. 즉 한국산 메기의 경우에 있어서도 잉어 뇌하수체 분말을 주사한 경우에는 3.9~34.6%로 커다란 편차를 나타냈으나(최 등, 1992), GnRH-a 사용한 본 연구에서는 GSI가 23~30%로 비교적 일정하게 나타났다. 또한 pseudo-GSI가 18~27%로 비교적 높고 고른 분포를 나타냈으며, 산란수에 있어서도 어체중 kg당 약 60,000개로 산란유도된 대부분의 개체에서 일정한 수의 알을 낳아 GnRH-a가 알의 성숙 및 배란유도에 매우 효과적인 것으로 나타났다.

메기 뇌하수체 전엽주부에 널리 분포하는 gonadotrops는 호염기성의 과립을 갖는 세포로 쉽게 다른 세포들과 구별할 수 있다. 즉, 이들 세포들은 대부분 원형이거나 타원형을 이루고 있어 뇌하수체 전엽주부의 다른 腺細胞들과 구별할 수 있다. 또한 이 세포들은 많은 소과립과 소수의 대과립들이 관찰되는데, GTH는 gonadotrop의 세포질내의 조면소포체에서 만들어진후 이러한 크고 작은 분비과립들로 축적되어 필요에 따라서 분비된다. 따라서 GnRH-a 주사후 이들 과립들의 消失이 눈에 띄게 관찰되었는데, 이는 GnRH-a 주사에 의한 gonadotrops의 분비 결과에 기인한 것으로 사료된다. 이러한 사실들은 Aida (1983)가 은어에서 관찰한 것과 거의 유사한 것으로 나타났다.

이상과 같이 GnRH-a의 사용은 메기의 산란을 유도하는 데 매우 효과적인 것으로 판단되었으며, 경제적인 측면에 있어서도 현재까지 주로 메기의

산란유도를 위해 사용되어온 HCG의 경우 메기 체중 kg당 6,000~8,000원, 잉어 뇌하수체분말의 경우 14,000~16,000원의 호르몬 비용이 소요되는데 비해 GnRH-a는 2,000~3,000원으로 적어도 2-3배 이상의 비용이 절감되는 것으로 나타났다. 그러나 메기의 종묘생산 단가를 더욱 낮추고, 보다 효율 좋은 배란 및 산란유도를 위해서는 GnRH-a와 그외의 호르몬 또는 약물들과의 혼합 투여에 대한 연구도 고려되어야 할 것이다. 실질적으로 현재 국외에서는 GnRH-a와 dopamin에 대한 길항작용을 갖는 pimozide, domperidone, metoclopramide 등을 함께 투여하여 여러 어종의 산란유도에 좋은 효과를 얻고 있다(Billard et al., 1987; Fermin, 1991; Glubokov et al., 1991; Lin et al., 1991). 따라서 이들 물질들과의 적절한 혼합사용은 양질의 알과 정자를 얻고, 보다 값싼 종묘생산을 위해 매우 유용하게 사용될 것으로 기대된다.

요 약

한국산 메기의 경제적이고 효율적인 산란유도를 위한 연구로써 GnRH-a의 이용가능성에 대하여 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

GnRH-a 처리된 메기의 산란유도율은 어체중 kg당 70 μg 에서 67%, 90 μg 에서 86%, 120 μg 이상에서는 100%로 나타났다. 호르몬 주사후 산란이 유도되기까지 대체로 22~25시간이 소요되었다. 생식소중량지수(GSI)는 100%의 산란 유도율을 보인 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 처리된 그룹에서 23~30%를 pseudo-GSI는 18~21%로 비교적 높고 고른 분포를 나타냈으며, 산란된 난의 수는 어체중 kg당 58,000~65,000개 였다. 또한 수정률 및 부화율은 각각 94%와 81%로 나타났다.

GnRH-a 처리에 따른 뇌하수체의 미세구조적 변화를 관찰한 바, 호르몬 주사전 성숙한 암컷 메기의 생식소자극호르몬 분비세포(gonadotrops)는 전자밀도가 높은 150~300 nm 크기의 수 많은 소과립과 800~1000 nm의 전자밀도가

다소 낮은 소수의 대과립의 존재가 관찰되었다. 한편 호르몬주사후의 gonadotropins에서는 대소과립들의 현저한 消失과 rER의 현저한 증가가 관찰되었는데, 이는 GnRH-a에 의해 생식소자극호르몬의 대량방출을 시사하는 것이다.

이상의 결과로부터 GnRH-a의 사용은 기존의 HCG 및 잉어뇌하수체 분말보다 적어도 2~3 배이상의 비용절감을 가져와 메기의 인공 종묘 생산에 매우 효과적이고 경제성이 있는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Aida, K., R. Z. Izumo, H. Satah and T. Hibiya, 1978. Induced of ovulation in plaice and goby with synthetic LH releasing hormone. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44 : 445-450.
- Billard, R., J. Marcel, D. Matei and C. Rusu, 1982. Induction de l'ovulation par un analogue du LHRH chez *Hypophthalmichthys molitrix* (Poisson Teleosteen) place dans diverses conditions d'environnement. Bul. Cercet. Piscic., 4 : 29-34.
- Billard, R., K. Bienarz, R. E. Peter, M. Sokolowska, C. Weil and L. W. Crim, 1984. Effects of LHRH and LHRH-A on plasma GtH levels and maturation/ovulation in the common carp, *Cyprinus carpio*, kept under various environmental conditions. Aquaculture, 41 : 245-254.
- Billard, R., K. Bienarz, W. Popek, P. Epler, B. Breton and K. Alagarwami, 1987. Stimulation of gonadotropin secretion and spermiation in carp by pimozide-LHRH-a treatment : Effects of dose and time of day. Aquaculture, 62 : 161-170.
- Crim, L. W., A. M. Sutterlin, D. M. Evans and C. Weil, 1983. Accelerated ovulation by pelleted LHRH-analogue treatment of spring-spawning rainbow trout held at low temperature. Aquaculture, 35 : 299-307.
- Crim, L. W. and B. D. Glebe, 1984. Advancement and synchrony of ovulation in Atlantic salmon with pelleted LHRH analogue. Aquaculture, 43 : 47-56.
- Donaldson, E. M., G. A. Hunter, 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. p. 351-403. In Hoar, W. S., D. Randall and E. M. Donaldson (Editors). Fish Physiology. Vol. IX (B). Academic Press. New York.
- Drori, S., M. Ofir, B. Levavi-Sivan, and Z. Yaron, 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide : analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture, 119 : 393-407.
- Fermin, A. C., 1991. LHRH-a and domperidone-induced oocyte maturation and ovulation in bighead carp, *Aristichthys nobilis* (Richardson). Aquaculture, 93 : 87-94.
- Garcia, L. and B. Ma, 1990. Advancement of sexual maturation and spawning of sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), using pelleted luteinizing hormone-releasing hormone analogue and 17 α -methyltestosterone. Aquaculture, 86 : 333-345.
- Glubokov, A. I., N. N. Motloch and M. A. Sedova, 1991. Effect of a synthetic LHRH analogue of bream, *Abramis brama* L. Aquaculture, 95 : 373-377.
- Harmin, S. A. and L. W. Crim, 1992. Gonadotropic hormone-releasing hormone analog (GnRH-A) induced ovulation and spawning in female winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). Aquaculture, 104 : 375-390.
- Lam, T. J., 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39 : 111-137.
- Lee, C. S., C. S. Tamaru, G. T. Miyamoto and C. D. Kelley, 1987. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus*) by LHRH-a. Aquaculture, 62 : 327-336.
- Lin, H. R., X. J. Zhoh, G. V. D. Kraak and R. E. Peter, 1991. Effects of gonadotropin-releasing hormone agonists and dopamine antagonists on gonadotropin secretion and ovulation in Chinese loach, *Paramisgurnus dabryanus*. Aquaculture, 95 : 139-147.
- Marte, C. L., N. M. Sherwood, L. W. Crim and Harvey, 1987. Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos chanos Forsskal*) with

- gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues administered in various ways. *Aquaculture*, 60 : 303-310.
- Taranger, G. L., S. O. Stefansson and T. Hansen, 1992. Advancement and synchronization of ovulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following injections of LHRH analogue. *Aquaculture*, 102 : 169-175.
- Thomas, P. and N. W. Boyd, 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture*, 80 : 363-370.
- Van der Kraak, G., H. R. Lin, E. M. Donaldson, H. M. Dye and G. A. Hunter, 1983. Effects of LHRH and des-Gly¹⁰(D-Ala⁶) LH-RH-ethylamide on plasma gonadotropin levels and oocyte maturation in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Com. Endocrinol.*, 49 : 470-476.
- 이생동·최낙중·방종득, 1989. 메기, *Parasilurus asotus*의 인공양식에 관한 연구. 수진연보, 43 : 181~185.
- 최경철·김동수·조재운·김종만, 1992. 메기(*Silurus asotus*)의 산란유도 및 실험실 사육에 관한 연구. 한국양식학회지, 5 : 117-126.
- 廣瀬慶二, 1982. 魚介類の成熟・産卵の制御. 日本水産學會編, 41 : 50-63. 恒星社厚生閣.