

외인성 호르몬 처리가 강도다리 (*Platichthys stellatus*)의 배정에 미치는 영향

임한규* · 김성연
국립수산과학원 양식관리팀

Effect of Exogenous Hormones on Spermiation in the Starry Flounder *Platichthys stellatus*

Han Kyu LIM* and Sung Yeon KIM

Aquaculture Management Team, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-705, Korea

Two experiments were designed to examine short-term effects of human chorionic gonadotropin (hCG), and long-term effects of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa), 17α -hydroxyprogesterone (17P), and $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one ($17,20\beta$ P), alone or in combination, on milt production of the starry flounder *Platichthys stellatus*. In the first experiment, fish were injected with either 200 IU hCG/kg body weight or the same volume of marine fish Ringer's solution (MFRS). In the second experiment, each fish was implanted with a blank cholesterol pellet (control), 200 μ g GnRHa, 500 μ g 17P, or 100 μ g $17,20\beta$ P/kg body weight alone or in combination. In the first experiment, hCG injection resulted in an increase in the expressible milt volume and a decrease in the spermatocrit (Sct). After pellet implantation in the second experiment, the milt volume was increased in males treated with GnRHa, GnRHa+17P, or GnRHa+ $17,20\beta$ P. On day 7 after hormone pellet implantation, the milt volume began to increase, and on day 14, the milt volume in the GnRHa+500 μ g 17P group was significantly higher than that in the control group. Compared with the control group, the hormone pellet-treated groups had a significant reduction in the mean Sct and sperm concentration (Sc) at day 7 after pellet implantation, while there were no differences in total sperm number. The results suggest that increases in milt volume are generally associated with decreases in Sct and SC, suggesting that the main mechanism for the increase in milt volume was milt hydration.

Key words: Starry flounder, *Platichthys stellatus*, Spermiation, Hormone

서 론

인위적 사육조건 아래에서 많은 어류의 수컷들은 배정(spermiation) 실패, 높은 점성과 낮은 활성의 정액 생산, 배정할 수 있는 정액량의 감소 등과 같은 생식장애현상을 보이는 경우가 많다. 따라서 최근까지도 많은 연구자들이 양식과정 중 발생하고 있는 이러한 생식장애현상을 해결하기 위하여 다각적인 측면에서 연구를 수행해 왔다. 이들 연구의 대부분은 내분비학적 방법으로 초기에는 다른 어류의 뇌하수체를 추출하여 이용하였고, 이후에는 정제된 생식선자극호르몬(gonadotropin, GtH)을 사용하였으며, 최근에는 기술이 발달하여 인위적으로 합성한 생식선자극호르몬 방출호르몬(gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRHa) 등을 사용하고 있다(Zohar and Mylonas, 2001). GtH와 GnRH의 처리는 이미 많은 경골어류에서 정액의 질과 양을 향상시킨다는 사실이 입증되고 있다(Garcia, 1993; Harmin and Crim, 1993; Sorbera et al., 1996; Mylonas et al., 1997; Clearwater and Crim, 1998; Shangguan and Crim, 1999; Pankhurst and

Poortenaar, 2000; King and Young, 2001; Mylonas and Zohar, 2001; Zohar and Mylonas, 2001; Lim et al., 2002; Mañanós et al., 2002; Moon et al., 2003; Lim et al., 2004). 위의 연구들에서 수컷에 GnRH의 처리는 체내에서 GtH의 생산을 촉진하여 지속적으로 정액량 증가를 유도하였다. 또한 GtH의 처리는 배정의 유도(Linhart et al., 1995; Sorbera et al., 1996; Mylonas et al., 1997)와 수화(hydration) 과정(Ueda et al., 1985; Clearwater and Crim, 1998; Vermeirssen et al., 2000)을 통하여 정액생산을 촉진하는 것으로 추정된다. 또한 수컷에서의 수화현상은 progestin인 $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one ($17,20\beta$ P) 또는 유사한 progestin들에 의해 조절된다(Pankhurst, 1994). 지금까지 이들 외인성 호르몬의 처리는 주로 주사하는 방법과 체내에 펠렛이나 캡슐을 이식하는 방법이 많이 사용되었다. 주사하는 방법은 정액증산이나 혈중 호르몬 변화에 영향을 미치는 시간이 짧은(Garcia 1991; Harmin and Crim, 1993; Linhart and Billard 1994; Pankhurst, 1994; Mylonas et al., 1997; Pankhurst and Poortenaar, 2000; Zohar and Mylonas, 2001; King and Young, 2001) 반면 외인성 호르몬 펠렛의 체내 이식 방법은 장기간 효과를 발휘하

*Corresponding author: limhk@nfrdi.re.kr

는 특성이 있다 (Lim et al., 2002; Moon et al., 2003; Lim et al., 2004).

이 연구는 우리나라 동해 중부해역에 분포하며 새로운 양식 대상종으로 주목받고 있는 강도다리 (*Platichthys stellatus*)를 대상으로 현재 양식 어류의 배란을 유도하기 위하여 가장 많이 이용하고 있는 human chorionic gonadotropin (hCG)의 주사에 의한 단기적인 정액증산효과를 조사하였다. 또한 GnRHa와 17 α -hydroxyprogesterone (17P) 및 17, 20 β P의 혼합 펠렛이 정액량 증가와 수화현상에 미치는 장기적인 영향을 함께 조사하였다.

재료 및 방법

실험어

실험 어류는 국립수산물과학원 동해특성화연구센터와 양식 관리팀의 사육실에서 사육중인 수컷 어미 60마리 (전장 29.1 \pm 0.6 cm, 체중 643.0 \pm 24.4 g)를 사용하였으며, 실험 전 모든 어류들은 등 근육에 PIT tag (Identification Devices, USA)를 삽입하여 각 개체를 구별할 수 있도록 하였다. 실험어를 2톤 용량의 원형 FRP수조에 수용하여 자연 수온과 광주기 조건 아래에서 사육하였으며, 시판되는 넙치용 배합사료 (수협사료, 한국)가 1일 1회 매일 오전 10시에 공급되었다. 해수나 배설물에 의해 오염되지 않게 정액을 채취하기 위하여 실험어들을 ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate (Sigma, USA) 200 ppm에 마취시킨 다음, 복부를 부드럽게 압박하여 정액을 채취하였고, 정액의 특성을 조사하기 전까지 0 $^{\circ}$ C에서 냉장보관 하였다. 정자농도 (sperm concentration: Sc)는 2% eosin 용액으로 염색한 후 광학현미경 아래에서 혈구계산판을 이용하여 계수하였고, spermatocrit (Sct)는 일반적인 혈액분석 방법인 microhematocrit법을 변형하여 측정하였다.

외인성호르몬 처리 및 실험조건

Human chorionic GtH (hCG; Sigma, USA)는 해산 어류용 생리식염수에 희석하여 사용하였으며, GnRHa (des-Gly¹⁰[D-Ala⁶]-luteinising hormone releasing hormone ethylamide; Sigma, USA) 펠렛은 Lee et al. (1986)의 방법을 변형하여 제작하였다. 첫 번째 실험은 산란기 초기에 hCG의 단기효과를 조사하기 위하여 12마리씩 두 그룹으로 나누어 어체중 1 kg당 200 IU 농도의 hCG와 같은 양의 생리식염수를 등 근육에 주사한 후 2일째와 5일째 채취된 정액량 (milt volume: Mv)과 Sc, Sct 및 총 정자수 (total sperm number: TSN)를 측정하였다. 정자의 활성을 측정하는 요인으로는 Strüssmann et al. (1994)의 방법을 변형하여 정자활성지수 (sperm activity index: SAI), 움직이는 정자의 비율 (percentage of motile sperm, PMS) 및 운동하는 정자의 속도 (swimming speed: SS)를 계산하였다. 정자의 활성을 평가하기 위하여 채취된 정액을 인공해수에 희석하여 관찰용 슬라이드글라스 (Teflon Printed Glass Slide; 21 wells; 4 mm diameter of each well; Funakoshi Co., Japan) 위에 활성화된 정자를 즉시 옮기고, cover slip 없이 운동을 관찰하였다.

운동은 현미경 (Zeiss, Germany)에 부착되어 있는 video camera와 video-timer가 있는 VHS video-recorder로 기록하였다. Video-timer는 정자의 희석과 함께 동시에 시작하였고, 정자 운동은 운동이 종료할 때까지 녹화하였다. 인공해수로 희석 후 5초의 연속된 video frame 아래에서 정자 머리가 앞으로 운동할 때의 정자를 운동하는 것으로 간주하였다. 운동성은 각 측정마다 무작위로 선택한 최소 50개의 정자들을 평가하는 것으로 결정하였다. 각 희석액에서 측정은 두 개의 tube를 사용하여 두 번 반복하였고, data 분석에는 평균 결과를 사용하였다. 두 번째 실험은 산란기의 후반에 GnRHa와 함께 17P 및 17, 20 β P가 배정에 미치는 장기영향을 파악하기 위하여 각 호르몬의 펠렛이나 혼합 펠렛을 등 근육에 삽입하였다. 실험구들은 호르몬이 함유되지 않은 대조구 펠렛을 투여한 실험구 (control)와 어체중 1 kg당 GnRHa 200 μ g 펠렛을 투여한 실험구 (GnRHa), 17P 500 μ g 펠렛을 투여한 실험구 (17P), 17,20 β P 100 μ g 펠렛을 투여한 실험구 (17,20 β P), GnRHa 200 μ g+17P 500 μ g 펠렛을 투여한 실험구 (GnRHa+17P) 및 GnRHa 200 μ g+17,20 β P 100 μ g 펠렛을 투여한 실험구 (GnRHa+17,20 β P) 등 6개로 설정되었다. 각 실험구는 6마리의 수컷으로 구성되었고, 정액은 7일 간격으로 28일간 채취하였으며 1차 실험과 같이 Mv, Sc, Sct 및 TSN를 측정하였다. 각 실험 결과로부터 얻어진 모든 측정값들은 평균 \pm 표준오차로 표시하였으며, 측정값들 사이의 유의차 유무는 SPSS-통계 패키지(version 11.5)를 사용하여 95%의 신뢰수준에서 t-test와 ANOVA 및 Tukey's multiple range test로 검정하였다.

결 과

강도다리의 자연산란기 초반에 hCG를 주사하여 배정을 유도한 결과는 Fig. 1과 같다. hCG 주사한 실험구에서 48시간 후 Mv는 어체중 100 g당 0.19 \pm 0.03 mL로 대조구의 0.16 \pm 0.02 mL 보다는 많았지만 유의적인 차이는 없었다 ($P>0.05$). 그러나 120시간 후에는 hCG를 주사한 실험구가 대조구와 비교하여 유의하게 Mv가 증가하였다 ($P<0.05$). Sct는 48시간과 120시간 모두에서 hCG를 주사한 실험구에서 대조구보다 유의하게 낮은 값을 보였으며, Sc도 Sct와 같은 경향이었지만 hCG를 주사한 그룹과 대조구 사이에서 유의한 차이는 찾아 볼 수 없었다. TSN의 경우도 정액량과 같이 hCG를 주사한 실험구가 대조구보다 많았으나 유의한 차이는 없었다 ($P>0.05$).

hCG 주사 후 정자 운동성의 변화를 조사한 결과, hCG를 주사한 어류에서 얻은 정자의 SAI와 PMS 및 SS는 각각 2.0 \pm 0.2, 38.1 \pm 7.5%, 126.3 \pm 7.3 μ m/sec로 대조구의 1.9 \pm 0.3, 20.0 \pm 3.6%, 114.4 \pm 9.4 μ m/sec와 유의한 차이가 없었다 ($P>0.05$) (Table 1). 호르몬 펠렛을 등 근육에 삽입하여 28일간 정액증산 효과를 관찰한 결과, 7일째 어체중 1 kg 당 GnRHa 200 μ g+17P 500 μ g 펠렛을 투여한 실험구의 Mv가 가장 많았으며, 다음이 GnRHa 단독 처리구였고, 세 번째가 GnRHa와 17,20 β P의 혼합 처리 실험구였다. 그러나 대조구와는 유의한

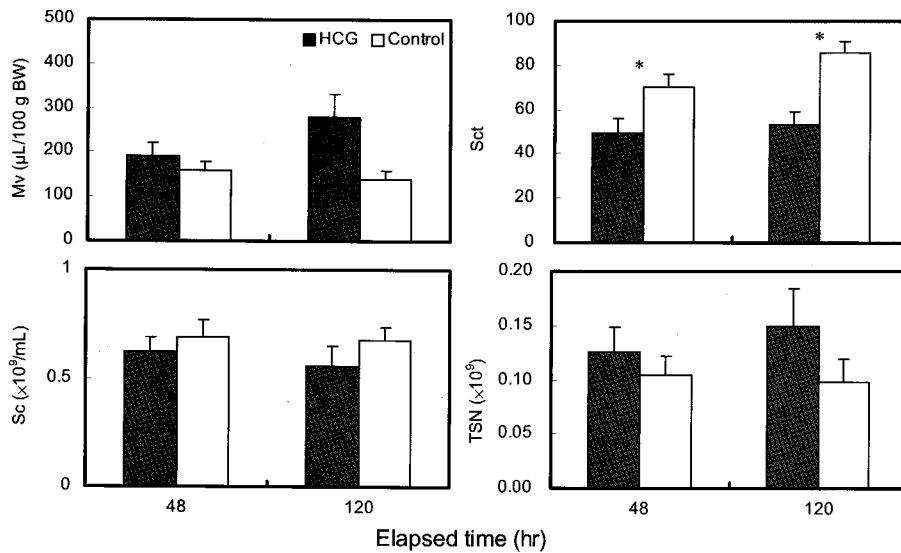


Fig. 1. Milt volume (Mv), spermatocrit (Sct), sperm concentration (Sc) and total sperm number (TSN) in starry flounder injected early in the spermiation period with 200 IU hCH and marine fish Ringer's solution (MFRS) per 1 kg body weight. Asterisks show treatments that were significant differences between treatments at the time (P<0.05). BW: body weight.

Table 1. Sperm activity index (SAI), percentage of motile sperm (PMS) and swimming speed (SS) in starry flounder injected early in the spermiation period with 200 IU hCH and marine fish Ringer's solution (MFRS) per 1 kg body weight

	SAI	PMS	SS
hCG injection	2.0±0.2	38.1±7.5	126.3±7.3
MFRD injection	1.9±0.3	20.0±3.6	114.4±9.4

차이를 보이지 않았다 (P>0.05). 14일째도 GnRH_a 단독 처리구와 GnRH_a와 17P의 혼합 처리구가 대조구보다 Mv가 많게 나타났으나, GnRH_a+17P 실험구만이 대조구보다 유의하게 높은 값을 보였다 (P<0.05). 그러나 TSN의 경우 전 실험기간 동안 실험구들 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다 (P>0.05). 호르몬 펠렛 이식 후 Sct와 Sc는 호르몬 처리 실험구들에서 낮아지는 경향을 보였다. 호르몬 처리 후 7일째 모든 호르몬 처리구는 대조구와 비교하여 유의하게 Sct가 낮아졌으며, Sc도 17,20βP 100 μg 펠렛을 투여한 실험구를 제외하고 다른 실험구들은 대조구보다 낮아졌다 (P<0.05). 그러나 Sct는 21일째부터 실험구 사이에 유의한 차이가 나타나지 않았으며, Sc는 14일째부터 대조구와 호르몬 처리구 사이에서 유의한 차이가 없었다 (P>0.05) (Fig. 2).

고 찰

많은 경골어류에서 배정을 유도하기 위하여 외인성 호르몬을 처리한 경우 처리방법에 상관없이 대부분 정액증산 효과를 관찰할 수 있었다 (Garcia, 1993; Harmin and Crim, 1993; Sorbera et al., 1996; Mylonas et al., 1997; Clearwater and Crim, 1998; Shangguan and Crim, 1999; Pankhurst and Poortenaar,

2000; King and Young, 2001; Mylonas and Zohar, 2001; Zohar and Mylonas, 2001; Lim et al., 2002; Mañanós et al., 2002; Moon et al., 2003; Lim et al., 2004). 강도다리를 대상으로한 이전의 연구에서도 저자 등은 GnRH_a 펠렛의 장기 정액 증산 효과를 이미 보고하였다 (Lim et al., 2002; Moon et al., 2003). 그러나 강도다리에 대한 GtH의 주사효과나 정액의 수화현상에 영향을 미치는 progestin이나 그 전구체에 대한 효과는 아직 알려져 있지 않다. 이 연구에서 hCG를 주사한 실험어와 GnRH_a 펠렛을 이식한 실험어 모두에서 정액량이 증가하였고, Sct는 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 이미 이전의 연구 (Lim et al., 2002; 2004)에서 언급한 것처럼 증가한 정액량과 감소한 Sct 사이에 연관성이 있음을 나타낸다. 즉 정액량 증가의 주요 메카니즘은 수화현상에 의한 것임을 의미한다. 이 실험에서도 외인성 호르몬이 일부 배정을 유도하여 mL당 정자 수를 증가시켰지만, 수화현상에 따른 정장 (seminal plasma) 성분의 양적 증가가 더 빠르게 일어났다. 호르몬처리 후 Sct의 감소는 이미 저자 등이 보고한 강도다리 (Lim et al., 2002) 및 winter flounder (*Pleuronectes americanus*) (Shangguan and Crim, 1999)와 plaice (*Pleuronectes platessa*) (Vermeirssen et al., 1998)에서 보고되었다. 그러나 winter flounder (Harmin and Crim, 1993), white bass (*Morone chrysops*) (Mylonas et al., 1997) 및 yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*) (Clearwater and Crim, 1998)에서는 정액량 증가가 Sct 감소와 연관성이 없었다. 이러한 차이는 산란시기의 차이, 정액 채취빈도, 호르몬 처리방법의 차이 또는 종 특이성 등에 의해 유발될 수 있지만 아직까지 그 원인은 명확하지 않다. 본 연구에서도 산란기 초기에 hCG를 주사한 경우와 후반에 GnRH_a 펠렛을 처리한 경우 정액 증산 효과에서 차이를 보

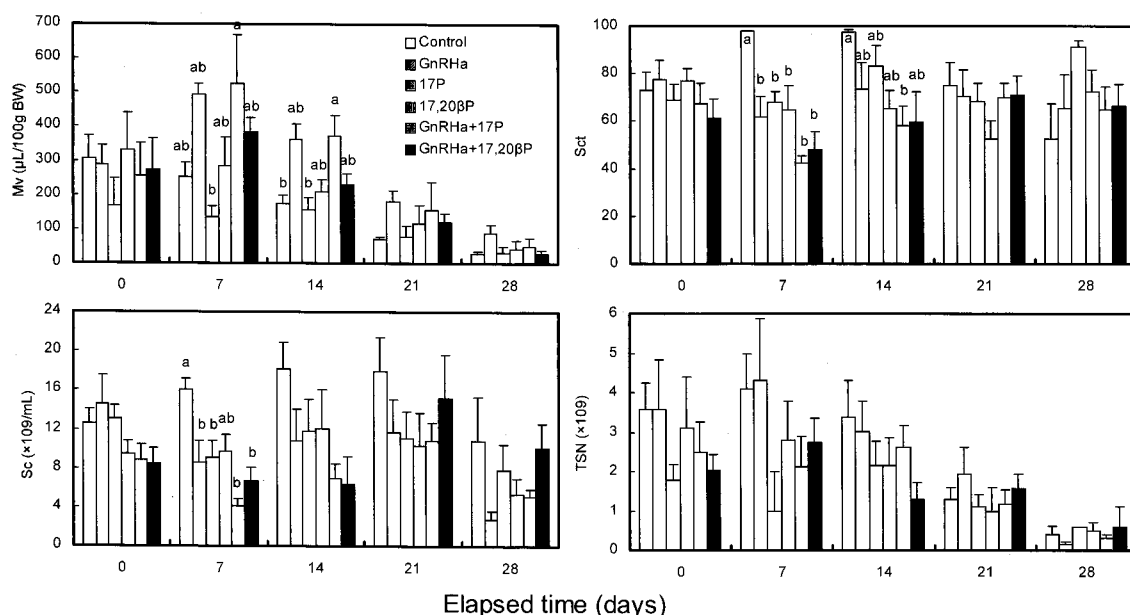


Fig. 2. Milt volume (Mv), spermatocrit (Sct), sperm concentration (Sc) and total sperm number (TSN) in starry flounder treated late in the spermiation period with 0 μg GnRHa (control), 200 μg GnRHa (GnRHa), 500 μg 17P (17P), 100 μg 17,20 βP (17,20 βP), 200 μg GnRHa + 500 μg 17P (GnRHa + 17P) and 200 μg GnRHa + 100 μg 17,20 βP (GnRHa + 17,20 βP) per 1 kg body weight. Different superscripts indicate significant differences between treatments at that sampling time ($P < 0.05$). BW: body weight.

였다. Clearwater and Crim (1998)은 yellowtail flounder에서 GnRHa 처리는 정자 운동성과 정장의 pH를 증가시킨다고 하였고, Lahnsteiner et al. (1996)은 잉어류에서 정장의 pH와 움직이는 정자의 비율에서 유의한 상관관계를 보였다. 저자 등도 이전의 연구 (Lim et al., 2002)에서 강도다리의 정자 운동성이 어체중 1 kg 당 200 μg GnRHa 펠렛을 처리한 실험어에서 실험 종료 시까지 높게 유지되는 것을 확인하였다. 그러나 그 실험의 결과는 호르몬 처리가 정자의 활성화에 긍정적인 영향을 미친다는 명확한 증거를 제시하지 못했다. 따라서 이번 연구에서 외인성 호르몬 처리가 정자의 활성화에 미치는 영향을 파악한 결과 정액량과 Sct의 유의적인 변화에도 불구하고 정자의 활성화는 변화가 없었다. 저자 등은 이미 greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*) (Lim et al., 2004)에서도 같은 결과를 보고한바 있다.

17,20 βP 는 경골어류에서 정액량과 배정조절에 깊이 관여하고 있다 (Pankhurst, 1998). 그러나 가자미류에서는 혈중 17,20 βP 의 농도와 정액량 사이에서 명확한 상관관계를 찾을 수 없었다 (Scott et al., 1991; Scott and Vermeirssen, 1994). 비록 이 연구에서 외인성 호르몬 처리 후 혈중 17,20 βP 의 농도를 측정하지 않았지만 17,20 βP 와 17,20 βP 의 전구체인 17P의 인위적 투여가 정액량 증가에는 영향을 미치지 않았다. 반면에 greenback flounder에서는 GnRHa 펠렛 처리 후 정액량 증가와 함께 17,20 βP 의 농도가 증가하여 배정과 혈중 17,20 βP 농도 사이에서 뚜렷한 상관관계를 찾을 수 있었고 (Lim et al., 2004), in vitro 실험에서도 배양액 1 mL 당 100 μg 17P와

100 IU hCG에 정소 조직을 배양한 경우 17,20 βP 농도가 유의하게 증가하였다 (unpublished data). 따라서 강도다리에서도 배정유도와 정액량 조절에 대한 17,20 βP 의 역할을 명확히 구명하기 위하여 차후 전 산란기간 동안 체계적인 연구가 요구된다.

사 사

이 연구는 국립수산과학원의 수산시험연구과제인 수산생물의 번식기구 연구 (RP-2007-AQ-053)의 일부로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Clearwater, S.J. and L.W. Crim. 1998. Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 19, 349-357.
- Garcia, L.M.B. 1991. Spermiation response of mature rabbitfish, *Siganus guttatus* Bloch, to luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) injection. *Aquaculture*, 97, 291-300.
- Garcia, L.M.B. 1993. Sustained production of milt in rabbitfish, *Siganus guttatus* Bloch, by weekly injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa). *Aquaculture*, 113, 261-267.

- Harmin, S.A. and L.W. Crim. 1993. Influence of gonadotropic hormone releasing hormone analog (GnRH-A) on plasma sex steroid profiles and milt production in male winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). *Fish Physiol. Biochem.*, 10, 399-619.
- King, H.R. and G. Young. 2001. Milt production by non-spermiating male Atlantic salmon (*Salmo salar*) after injection of a commercial gonadotropin releasing hormone analog preparation, 17-dihydroxy-4-pregnen-3-one, alone or in combination. *Aquaculture*, 193, 179-195.
- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann and R.A. Patzner. 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem.*, 15, 167-179.
- Lee, C.S., C.S. Tamaru, C.D. Kelley and J.E. Banno. 1986. Induced spawning of milkfish, *Chanos chanos*, by a single application of LHRH-analogue. *Aquaculture*, 58, 87-98.
- Lim, H.K., H.S. Han and Y.J. Chang. 2002. Effects of gonadotropin-releasing hormone analog on milt production enhancement in starry flounder *Platichthys stellatus*. *Fish. Sci.*, 68, 1197-1204.
- Lim, H.K., N.W. Pankhurst and Q.P. Fitzgibbon. 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder, *Rhombosolea tapirina*. *Aquaculture*, 240, 505-516.
- Linhart, O. and R. Billard. 1994. Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *J. Appl. Ichthyol.*, 10, 182-188.
- Linhart, O., R.E. Peter, S. Rothbard, Y. Zohar and P. Kvasnicka. 1995. Spermiation of common tench (*Tinca tinca* L.) stimulated with injection or implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *Aquaculture*, 129, 119-121.
- Mañanós, E., M. Carrillo, L.A. Sorbera, C.C. Mylonas, J.F. Asturiano, M.J. Bayarri, Y. Zohar and S. Zanuy. 2002. Luteinizing hormone and sexual steroid plasma levels after treatment of European sea bass with sustained-release delivery systems for gonadotropin-releasing hormone analogue. *J. Fish Biol.*, 60, 328-339.
- Moon, S.H., H.K. Lim, J.Y. Kwon, J.K. Lee and Y.J. Chang. 2003. Increased plasma 17-hydroxyprogesterone and milt production in response to gonadotropin-releasing hormone agonist in captive male starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Aquaculture*, 218, 703-716.
- Mylonas, C.C., A. Gissis, Y. Magnus and Y. Zohar. 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRH-a-delivery system. *Aquaculture*, 153, 301-313.
- Mylonas, C.C. and Y. Zohar. 2001. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture*, 202, 205-220.
- Pankhurst, N.W. 1994. Effects of gonadotropin releasing hormone analogue, human chorionic gonadotropin and gonadal steroids on milt volume in the New Zealand snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae). *Aquaculture*, 125, 185-197.
- Pankhurst, N.W. 1998. Reproduction. In: *Biology of Farmed Fish*. Pickering, A.D. and K.D. Black, eds. Sheffield Academic Press, Sheffield, 1-16.
- Pankhurst, N.W. and C.W. Poortenaar. 2000. Milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder *Rhombosolea tapirina* following treatment with exogenous hormones. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.*, 33, 141-159.
- Scott, A.P., A.V.M. Canario, N.M. Sterwood and C.M. Warby. 1991. Levels of steroids, including cortisol and 17,20-dihydroxy-4-pregnen-3-one, in plasma, seminal fluid, and urine of Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*) and North Sea plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Can. J. Zool.*, 69, 111-116.
- Scott, A.P. and E.L.M. Vermeirssen. 1994. Production of conjugated steroids by teleost gonads and their role as pheromones. In: *Perspectives in Comparative Endocrinology*. Davey, K.G., R.E. Peter and S.S. Tobe, eds. National Research Council of Canada, Ottawa, 645-654.
- Shangguan, B. and L.W. Crim. 1999. Seasonal variations in sperm production and sperm quality in male winter flounder, *Pleuronectes americanus*: the effects of hypophysectomy, pituitary replacement therapy, and GnRH-A treatment. *Mar. Biol.*, 134, 19-27.
- Sorbera, L.A., C.C. Mylonas, S. Zanuy, M. Carrillo and Y. Zohar. 1996. Sustained administration of GnRH-a increases milt volume without altering sperm counts in the sea bass. *J. Exp. Zool.*, 276, 361-368.
- Strüssmann, C.A., P. Renard, H. Ling and F. Takashima. 1994. Motility of pejerrey, *Odontesthes bonariensis-spermatozoa*. *Fish. Sci.*, 60, 9-13.

- Ueda, H., A. Kambegawa and Y. Nagahama. 1985. Involvement of gonadotropin and steroid hormones in spermiation in the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus* and goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol., 59, 24-30.
- Vermeirssen, E.L.M., A.P. Scott, C.C. Mylonas and Y. Zohar. 1998. Gonadotrophin releasing hormone agonist stimulates milt fluidity and plasma concentrations of 17,20-dihydroxylated and 5-reduced, 3-hydroxylated C21 steroids in male plaice (*Pleuronectes platessa*). Gen. Comp. Endocrinol., 112, 163-177.
- Vermeirssen, E.L.M., R.J. Shields, C. Mazorra de Quero and A.P. Scott. 2000. Gonadotrophin-releasing hormone agonist raises plasma concentrations of progestogens and enhances milt fluidity in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Fish Physiol. Biochem., 22, 77-87.
- Zohar, Y. and C. Mylonas. 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture, 197, 99-136.

2007년 8월 13일 접수
2007년 11월 21일 수리