

두꺼비 (*Bufo gargarizans*) 난소주기에 관한 연구

박세화 · 고선근^{1,*}

NSenc, ¹호남대학교 물리치료학과

A Study on the Ovarian Cycle of Asian Toad (*Bufo gargarizans*)

Se-Hwa Park and Sun-Kun Ko^{1,*}

NSenc, Sinan-dong, Buk-gu, Gwangju 61250, Korea

¹Department of Physical Therapy, Honam University, Gwangju 62399, Korea

Abstract - In order to determine the ovarian cycle of Asian Toad, *Bufo gargarizans*, the developmental stage based on the gonadosomatic index (GSI), size of follicle oocytes in ovary and vitellogenesis for adult females were investigated all around the year. The weight of ovary and GSI were the lowest from April, and all follicle oocytes exist in the pre-vitellogenic form, indicating that the vitellogenesis was suspended. The follicle oocytes in early-vitellogenic stage appeared in ovary during May when the weight of ovary and GSI start to increase, and the follicle oocytes in mid-vitellogenic and pre-vitellogenic stages existed during June and the weight of ovary and GSI also increased. This indicates that vitellogenesis has been carried out actively during this period. The follicle oocytes in mid-vitellogenic stage and late-vitellogenic stage when the vitellogenesis was also completed existed on September. Post-vitellogenic follicle oocytes after vitellogenesis started to appear from October and rapidly increased from December in hibernation. The full grown follicle oocytes existed during February, indicating the ovarian cycle that all follicle oocytes in ovary are developed separately, not synchronized, during the growing period of follicle oocytes and the post-vitellogenic follicle oocytes are maintained the ovulation period.

Key words : gonadal cycle, GSI, amphibian

서 론

대부분의 양서류는 난생 (oviparous)으로 번식하며 (Degani *et al.* 1997) 그들의 서식지 기후와 종 (species)에 따라 다양한 번식주기 (reproductive cycle)를 나타내는 것으로 알려져 있다 (Kera and Iwasawa 1981; Bentley 1982; Yoneyama and Iwasawa 1985). 열대나 아열대 지역에 서식하는 종들은 연중 번식이 가능하며 온대 지역의 대부분 종들은 봄철이나 여

름에 번식을 한다 (Goin *et al.* 1978). 우리나라에 서식 중인 양서류들의 일부 종들은 아직 추운 겨울인 2월 중순부터 번식을 시작하며 다른 종들은 6~7월의 장마철까지 번식하는 종들이 관찰되어져 종에 따라 생식주기에 차이가 있는 것으로 나타나 이러한 현상은 암컷의 각기 다른 번식주기에 의한 생식소 내부의 주기에 의해 나타나는 것으로 난소 내 여포난자의 성장과 성숙에 대한 시기와 양상이 서로 다를 수 있다. 그러나 서로 다른 번식주기를 갖는 종들에 대한 생식소 주기를 파악하여 이들의 생식소 주기를 구체적으로 파악하고자 하는 연구는 참개구리 (*Rana nigromaculata*) (Ko 1997a), 움개구리 (*Rana rugosa*) (Yoo *et al.* 1995; Ko 1997b),

* Corresponding author: Sun-Kun Ko, Tel. 062-940-5432, Fax. 062-940-5196, E-mail. sunkun@honam.ac.kr

Table 1. Characteristics of the follicles at different development stages in *B. gargarizans*

Class	Diameter (mm)		Discription
	Range	Mean \pm SEM	
A	0.21-0.50	0.37 \pm 0.07	Pre-vitellogenic oocyte Transparent cytoplasm, white and small follicular oocyte
B	0.50-0.78	0.62 \pm 0.07	Early-vitellogenic oocyte Yellowish follicular oocyte with yolk
C	0.66-1.34	0.94 \pm 0.19	Mid-vitellogenic oocyte Light-brown follicular oocytes, animal and vesital poles are not distinguished
D	1.31-1.98	1.52 \pm 0.15	Late-vitellogenic oocyte Animal and vegetal hemispheres become differentiated clearly and delineated at equator
E	1.71-2.23	1.93 \pm 0.11	Post-vitellogenic oocyte Full grown follicular oocytes later or after hibernation (In breeding season)

한국산 개구리 (*Rana coreana*) (Shin and Ko 2014) 등을 대상으로 난소주기 (ovarian cycle)에 대한 연구가 진행되었다. 이들 양서류의 난소주기는 난소 내 여포난자의 크기와 색소 분포의 변화 양상을 관찰하여 여포난자의 발달과정을 분석하여 파악할 수 있다 (Iwasawa and Asai 1959; Rastogi 1976; Polzonctti-Magni *et al.* 1990). 본 연구에서는 국내에 서식 중인 두꺼비 (*Bufo gargarizans*) 암컷의 난소 내 여포난자를 크기와 색소 분포를 기준으로 여포난자를 구분하여 이들의 성장단계에 따른 변화 양상을 연중 조사하여 난소주기를 파악하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 서식지 기후조건

두꺼비 (*Bufo gargarizans*)는 전라북도 정읍시에서 포획허가를 받아 2012년 3월부터 2013년 2월까지 정읍시 일대의 평야지대에서 매월 하순에 매월 3마리 이상의 성체 (체중 100 g 이상)를 채집하여 3일 이내에 실험을 실시하였으며 총 43 개체가 실험에 사용되었다. 이들의 서식지 기후조건을 조사하기 위해 기상연보 (Korea Meteorological Administration 2012, 2013)를 활용하여 채집지역의 강수량과 기온, 낮의 길이 등을 조사하였다.

2. 체중, 난소 무게, GSI 산출

동물 저울 (triple beam balance, OHAUS: GT480)을 이용하여 각 개체들의 체중을 측정 후 난소를 채취하여 화학천칭 (Denver instrument CO., AA-250: GT4800)으로 난소의 무게를 측정하였으며 gonadosomatic index (GSI)는 난소 무

게 값을 체중으로 나누어 100을 곱하여 구하였다.

3. 여포난자의 크기 측정

복강에서 난소를 적출하여 Amphibian Ringer용액 (AR, NaCl 6.6 g L⁻¹, CaCl₂ 0.15 g L⁻¹, KCl 0.15 g L⁻¹)으로 헹구어 혈액을 제거하고 AR용액이 들어있는 배양접시에 놓은 뒤 핀셋 (watch maker's forcep)을 사용해 전체 난소에서 여포난자들을 무작위로 취하여 각 발달단계의 여포난자 직경을 AM-423x Dino-Eye와 Dinocapture 2.0 program (ANMO)를 이용하여 측정하였다.

4. 여포난자의 발달 단계 구분과 난소주기분석

여포난자의 발달단계는 Dumont (1972)의 방법에 따라 각 단계의 여포난자 직경과 난황 형성 정도를 기준으로 하여 다섯 단계로 나누었다. 즉, 여포난자 내 난황 축적이 진행되지 않고 세포질이 투명한 상태를 나타내며 직경이 0.21~0.50 mm 이내로 난황 축적 이전 상태를 A Class로 정하였으며 (Fig. 4A), 여포난자에 난황 축적이 시작되어 전체적으로 노란색을 띠며 직경이 0.50~0.78 mm 이내로 난황 축적 초기 단계를 B Class로 정하였다 (Fig. 4B). 여포난자에 난황 축적량이 증가하여 갈색을 띠기 시작하나 동물극과 식물극의 구분은 되지 않는 직경은 0.66~1.34 mm 이내로 난황 형성의 중간단계를 C Class로 정하였다 (Fig. 4C). D Class는 여포난자의 동물극과 식물극이 뚜렷하게 구분되어 갈색과 흰색으로 나뉘어 보이며 성장이 거의 이루어진 상태로 직경은 1.31~1.98 mm 이내로 난황 축적의 후기단계로 정하였다 (Fig. 4D). D Class보다 어두운 갈색을 띠고 여포난자의 성장단계 중 가장 크고 번식기에 주로 관찰되며 직경이 1.71~2.23 mm 이내의 여포난자를 E Class로 정하였다 (Fig. 4E)

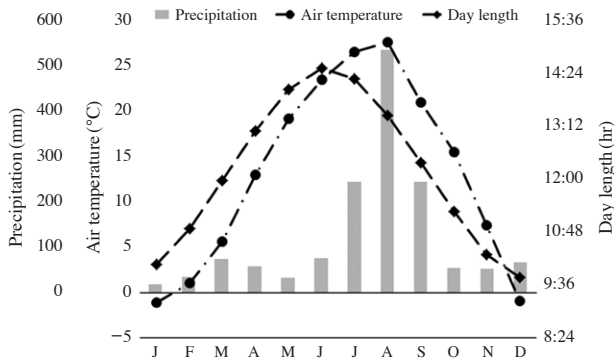


Fig. 1. Air temperature, precipitation and day length in Jeongeup area in 2012, 2013.

(Table 1). 매달 일정 시기에 전체 난소에서 여포난자들을 무작위로 취하여 해부현미경 (Nicon, 20x)으로 관찰하면서 여포난자들을 발달단계에 따라 구분한 후 단계별 비율을 조사한 후 연중 변화 양상을 분석하여 난소주기를 파악하였다.

5. 통계처리

난소 무게 변화에 의한 GSI(난소 무게/체중×100)의 연중 변화검정은 one way analysis of variance (ANOVA)에 이은 Duncan's multiple range test를 통해 유의성 검정을 실시하였다.

결 과

1. 서식지 연중 기후 변화

두꺼비 서식지의 계절 변화에 따른 환경 요인을 조사하기 위하여 기온과 낮의 길이 및 강수량의 연중 변화를 기상청의 2012, 2013년 월별 평균자료를 참고한 결과 정읍시의 겨울철(12~2월) 평균온도는 -1.1~1.1°C였으며 여름철(6~8월)의 평균온도는 23.5~27.6°C를 나타냈으며 강수량은 7~9월에 240 mm 이상을 기록했으나 이 시기 이외에는 80 mm 이하를 나타냈다. 낮의 길이는 1월에는 약 10시간을 나타냈으며 이후 점차 낮의 길이가 길어져 여름철인 6월에는 14.5시간으로 가장 길었고 겨울철인 12월에는 9.8시간으로 가장 짧았다(Fig. 1).

2. 체중과 난소의 무게, GSI의 연중 변화

매월 3~5마리의 두꺼비를 취하여 체중과 난소 무게에 따른 GSI를 산출하여 연중 변화를 조사한 결과 GSI는 4월에 연중 가장 낮게 존재하다가 이후 8월까지 점차적으로 증가

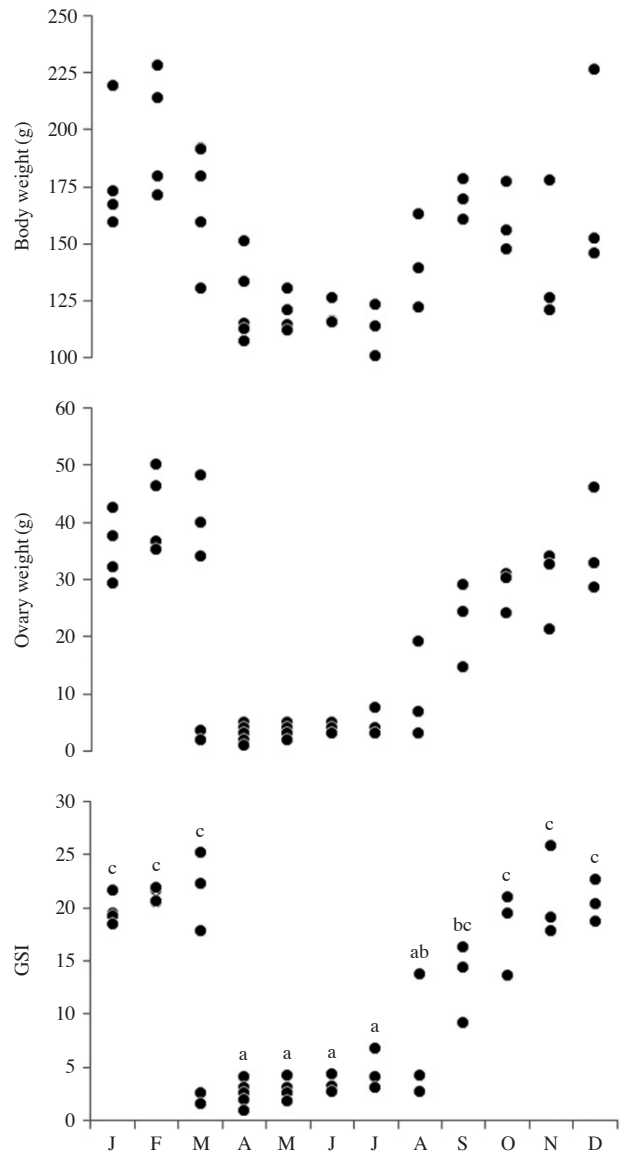


Fig. 2. Annual changes in Body weight (A), Ovary weight (B) and gonadosomatic index (GSI) (C) in *B. gargarizans*. Frogs were collected per month throughout the year. body weight (A), ovary weight (B) and GSI (C) of individual frogs were plotted in the figure. Significant differences at the $p < 0.05$ level.

하였으나 유의한 변화는 나타나지 않았다. 9월부터 GSI가 급격히 증가하였고 이듬해 2월에 가장 높게 나타났으며($p < 0.05$) 난소의 무게와 GSI는 거의 일치하여 연중 변화하였다. 3월에 난소 무게와 GSI가 2월에 비해 낮게 나타나는 현상으로 보아 암컷들은 2월부터 3월에 배란이 시작되는 것을 의미하며 이들 값이 낮아지기 시작한 것은 일부 개체들의 난소에서 배란 직전의 상태로 성장한 여포난자들이 배란되어지고 난소 내에는 난황 형성이 시작되기 전의 여포난자들만이 남

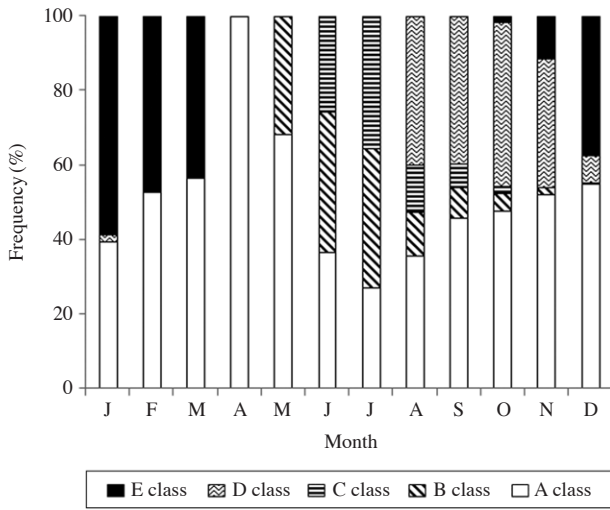


Fig. 3. Annual changes of the follicles at different developmental stages frequency in *B. gargarizans*.

아 있기 때문이다(Fig. 2).

3. 난소주기분석

난소 내 여포난자의 성장변화에 따른 난소주기를 파악하기 위해 여포난자의 난황 축적에 의한 피질색소 변화와 난자의 직경 등을 기준으로 성장 단계를 다섯 단계로 나누어 그 비율을 연중 조사하였다(Table 1). A class에 해당하는 여포난자들은 난소 내에 1월부터 12월까지 연중 존재하였으며 B class의 여포난자들은 5월부터 12월까지 존재하는 기간 중 6월에 가장 높은 비율로 존재하였고(37.6%) 12월에 가장 낮은 비율을 나타냈다(0.2%). C class에 해당하는 여포난자들은 6월부터 10월까지 존재하였고 성장이 거의 이루어진 D class에 해당하는 여포난자들은 8월부터 이듬해 1월까지 존재하였다. E class인 여포난자들은 10월부터 나타나기 시작하여 이듬해 1월에 가장 높은 비율로 존재하였다. 이러한 사실들을 계절별로 살펴보면 봄(3~5월)에는 A, B, E class의 여포난자만이 존재하였고 여름(6~8월)에는 A, B, C, D class의 여포난자가 존재하였다. 가을(9~11월)에는 모든 class의 여포난자가 존재했고 겨울(12~2월)에는 A, D, E class의 여포난자가 존재하는 양상을 나타냈다(Fig. 3).

논 의

두꺼비를 포함한 양서류와 같은 변온동물의 경우 대사, 행동, 번식 등이 온도와 밀접한 연관을 가지고 있는 것으로 알

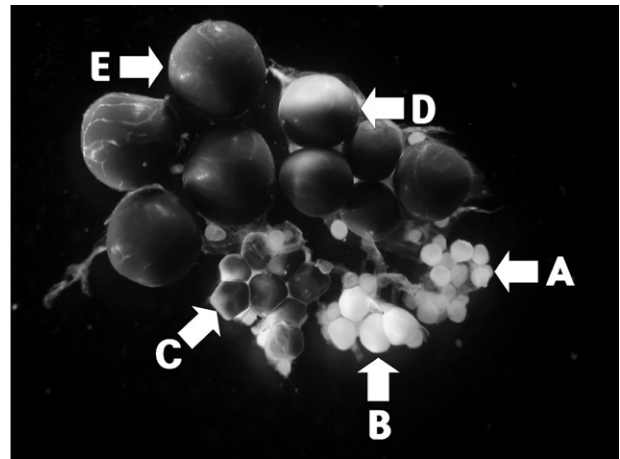


Fig. 4. Photographic illustration of ovary showing the main characteristics of the follicles at different developmental stages in *B. gargarizans* (Class A; Transparent cytoplasm white and small follicular oocytes, Class B; Yellowish follicular oocytes, Class C; Light-brown follicular oocytes, animal and vegetal poles are not distinguished, Class D; Animal and vegetal hemispheres become differentiated clearly and delineated at equator, Class E; Full grown follicular oocytes in breeding season).

려져 있으며(Jørgensen *et al.* 1978; Rastogi *et al.* 1978; Fraile *et al.* 1989) 온도와 낮의 길이는 대부분의 척추동물과(Norris and Jones 1987) 양서류의 번식기에 영향을 미치는 가장 중요한 환경요인으로 여겨지고 있다(Bush 1963; Horseman *et al.* 1978). 계절에 따라 환경요인의 변화가 심한 온대지방에 서식하는 양서류들은 계절의 변화에 따라 생식세포를 형성하며 매년 일정한 시기에 번식기를 가지며(Delgado *et al.* 1989; Yoo *et al.* 1995) 개구리와 같이 계절적 생식활동을 하는 동물들은 생식세포형성의 연중 주기 변화에 있어 개체의 gonadosomatic index (GSI) 변화가 생식활동의 중요한 지표가 될 수 있다.

개구리 여포난자의 성숙은 뇌하수체호르몬이 여포세포를 자극하여 estradiol의 생성을 촉진하고 이때 생성된 estradiol-17β가 간세포를 자극하면 난황단백질의 합성이 촉진되고 이들이 난소로 이동되어 여포난자 내에 난황단백질을 축적하게 되고 이로 인해 여포난자의 크기가 점차 변화하는 것으로 알려져 있다(Wallace *et al.* 1974; Follett and Redshaw 1974). 이러한 사실들을 바탕으로 두꺼비의 난소 무게와 GSI를 확인한 결과 난소 무게와 GSI는 4월에 최저를 나타냈으며 모든 여포난자들이 난황 축적 전단계(A class)의 상태로 나타나 이 시기에는 난황 형성이 중단된 것으로 판단되며 다음 달인 5월부터 난황 축적 전단계(B class)의 여포난자들이 관찰되기 시작하여 여포난자의 성장이 바로 이어져 나타남

이 확인되었다. 6월에 관찰된 난소에서는 난황 축적 전기단계(B class) 및 난황 축적 중기단계(C class)의 여포난자가 출현하기 시작하였다. 이후 8월에는 난황 축적 후기단계(D class)의 여포난자가 출현하기 시작하였으며 9월에는 난소 무게와 GSI가 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 현상은 이 시기에 난황 축적 현상이 활발하게 진행되는 것을 의미하며 기온과 강수량, 낮의 길이가 연중 가장 긴 시기인 7~9월에 난황 축적이 활발하게 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 이후 기온이 20°C 이하로 낮아지고 낮의 길이가 12시간 이내로 줄어든 10월부터 A, B, C, D class와 난황 축적을 마치고 성장이 완료된 단계(E class)의 여포난자들이 관찰되기 시작하여 거의 난황 축적이 완성되어져 가는 것으로 여겨진다. 동면이 시작되어지는 11월에는 기온이 10°C 이하를 나타내고 낮의 길이 역시 11시간 이내로 짧아지는 시기에 E class의 여포난자가 점차 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 동면 중인 12월에는 E class 여포난자의 수가 급격하게 증가하였으며 2월의 난소에서는 성장이 완료된(E class) 여포난자가 전체적으로 존재하여 여포난자의 성장기에는 난소 내의 모든 여포난자들의 발달이 동시적(synchronized)으로 진행되지 않고 각각의 여포난자에 따라 진행되다 배란시기 근처에서 성장이 완료된 상태를 유지하는 것으로 생각된다. 3월에 일부 개체의 난소에서 E class의 여포난자가 존재하지 않고 A class의 여포난자만이 존재하여 이 시기에 배란이 이루어졌음을 알 수 있으며 이는 야외관찰에서 두꺼비의 포집 활동과 산란된 알덩이가 관찰된 시기와 일치하여 두꺼비의 번식기는 2~3월임을 확인할 수 있었다.

이상의 두꺼비 난소 내의 변화 결과들을 유사한 시기에 번식을 하는 것으로 알려진 한국산 개구리(Shin and Ko 2014)와 비교해 보면 한국산 개구리의 경우 배란 후 3월부터 5월까지 난황 축적 전단계(A class)만이 존재하였으나 두꺼비의 경우는 4월에만 A class의 여포난자들만이 존재하고 5월부터 바로 난황 축적 전기단계(B class)의 여포난자들이 형성되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 성장이 완료된 단계(E class)의 여포난자의 형성 시기도 한국산 개구리는 12월부터 출현한 데 비해 두꺼비는 10월부터 관찰되어 두 종 간의 발달단계에 따른 여포난자의 출현시기가 서로 다르게 나타나 유사한 시기에 번식하는 하는 종이라 하더라도 종에 따라 난소 내 여포난자의 발달이 서로 다르게 진행됨을 확인할 수 있었다. 또한, 두꺼비와 번식 시기가 다른 옴개구리(Yoo *et al.* 1995; Ko 1997b)와 참개구리(Ko 1997a)의 경우 한국산 개구리와 두꺼비와 달리 A class만이 존재하는 시기는 확인되지 않았다. 옴개구리의 경우 A class와 B class의 여포난자가 연중 존재하였으며 E class는 4월부터 7월까지 존재하였다. 참개구리의 경우 A class는 5월부터 6월까지 B class는 5

월부터 8월까지 존재하였으며 E class는 1월부터 5월까지 관찰되어 두꺼비와 다른 양상을 나타냄을 확인할 수 있었다.

참개구리와 옴개구리의 경우, 참개구리의 난소 무게와 GSI는 6월에서 8월까지 가장 낮게 나타났으며 3월에서 4월이 가장 높게 나타났다. 옴개구리의 경우 난소 무게와 GSI가 5월에서 8월까지 가장 낮게 나타났으며 3월에서 4월에 가장 높은 것으로 나타났다. 반면, 두꺼비는 난소 무게와 GSI가 4월부터 6월까지 가장 낮게 나타났으며 12월부터 2월에 가장 높게 나타나 참개구리와 옴개구리의 연중 변화와 다른 양상을 나타내어 각 개구리류의 종들의 난소주기의 양상이 각각 다른 양상으로 진행되어지는 것을 확인하였으나 이러한 현상을 설명할 수 있는 자료는 아직 없다.

본 연구에서도 환경적 요인과 두꺼비 난소 내 여포난자의 발달이 서로 연관성이 있음은 확인할 수 있었으나 정확히 영향을 미친다는 직접적인 증거는 확인되지 않아 이러한 여포난자의 성장과 환경적 요인과의 관계를 규명하기 위해서는 각 발달단계의 여포난자를 대상으로 환경적 조절요인에 의한 발달과정을 파악하는 구체적인 연구가 더 필요한 것으로 판단된다.

적 요

두꺼비(*Bufo gargarizans*)의 난소주기를 파악하기 위해 암컷 성체를 대상으로 gonadosomatic index (GSI)와 난소 내 여포난자의 크기와 난황 축적 정도를 기준으로 발달과정을 연중 조사하였다. 4월에는 난소 무게와 GSI가 가장 낮게 나타났으며 모든 여포난자들은 난황 축적 전단계의 상태로 존재하여 난황 형성이 중단된 것으로 판단된다. 난소 무게와 GSI가 증가하기 시작한 5월의 난소에서는 난황 축적 전기단계의 여포난자가 출현하였고 6월에는 난황 축적 중기단계와 난황 축적 전단계의 여포난자가 존재하여 난소 무게와 GSI도 증가하여 나타났다. 이러한 현상은 이 시기에 난황 축적 현상이 진행되는 것을 의미하며 난소 무게와 GSI가 급격히 증가하기 시작한 9월에는 난황 축적 중기단계의 여포난자들과 난황 축적이 거의 완성된 난황 축적 후기단계의 여포난자들이 존재하였다. 난황 축적을 마치고 성장이 완료된 여포난자들은 10월부터 일부 출현하기 시작하여 동면기인 12월에 급격히 증가하였으며 2월의 난소에서는 성장이 완료된 여포난자가 전체적으로 존재하여 여포난자의 성장기에는 난소 내의 모든 여포난자들이 동시적(synchronized)으로 진행되지 않고 각각의 여포난자에 따라 진행되다가 배란시기에 성장이 완료된 상태를 유지하는 난소주기를 나타내었다.

REFERENCES

- Bentley PJ. 1982 Comparative Vertebrate Endocrinology, 2nd Ed. pp. 338-365. Cambridge University Press. Cambridge.
- Bush FM. 1963. Effects of light and temperature on the gross composition of the toad *Bufo fowleri*. J. Exp. Zool. 153:1-13.
- Degani G, R Sharon and M Warburg. 1997. Ovarian Steroid Levels in *Salamadra salamadra infraimmaculata* during the Reproductive Cycle. Gen. Comp. Endocrinol. 106:356-360.
- Delgado MJ, P Gutierrez and M AlonsoBedate. 1989. Seasonal cycles in testicular activity in the frog. *Rana perezi*. Gen. Comp. Endocrinol. 73:1-11.
- Dumont JN. 1972. Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin): 1. Stages of the oocyte development in laboratory maintained animals. J. Morph. 136:153-180.
- Follett BK and MR Redshaw. 1974. The physiology of vitellogenesis. Physiol. Amphibia 2:219.
- Fraille B, R Paniagua, FJ Saez and MC Rodriguez. 1989. Effects of moderately high temperature on the testis of marbled newt, *Triturus marmoratus*. Amphibia-Reptilia. 10:117-124.
- Goin CJ, OB Goin and GR Zug. 1978. Introduction to Herpetology. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Horseman ND, CA Smith and DD Culley Jr. 1978. Effects of age and photoperiod on ovary size and condition in bullfrogs (*Rana catesbeiana* Shaw) (Amphibia, Anura, Ranidae). J. Herpetol. 12:287-290.
- Iwasawa H and O Asai. 1959. Histological observations on the seasonal change of the testis and the thumb pad in the frog, *Rana nigromaculata*. J. Fac. Sci., Nigata Univ., Ser. II. 2: 213-218.
- Jørgensen CB, PE Hede and LO Larsen. 1978. Environmental control of annual ovarian cycle in the toad *Bufo Bufo Bufo* L.: Role of temperature. pp. 28-36. In Environmental endocrinology (eds.) I Assenmacher and DS Farner (Berlin: Springer-Verlag).
- Kera Y and H Iwasawa 1981. Functional histology of the testis in the process of sexual maturation in the frog. *Rana nigromaculata*. Zool. Mag. 90:6-14.
- Korea Meteorological Administration. 2012. Annual Climatological Report. pp. 190-192. Korea Meteorological Administration, Seoul, Korea.
- Korea Meteorological Administration. 2013. Annual Climatological Report. pp. 209-211. Korea Meteorological Administration, Seoul, Korea.
- Ko SK. 1997a. Studies on the Reproductive Cycle in *Rana nigromaculata*. J. Indust. Technol. 4:269-277.
- Ko SK. 1997b. Studies on the Reproductive Cycle in *Rana Rugosa*. J. Honam Univ. 18:539-549.
- Norris DO and RE Jones. 1987. Hormones and reproduction in Fishes, Amphibians, and Reptiles. In: J. M. Whittier and D. Crews Seasonal reproduction; pattern and control. pp. 283-314. Plenum Press. New York.
- Polzonetti-Magni A, R Curini, O Carnevali, C Novora, M Zerani and A Gobetti. 1990. Ovarian development sex steroid hormones during the reproductive cycle of *Rana esculenta* complex. Zool. Sci. 7:265-271.
- Rastogi RK. 1976. Seasonal cycle in anuran (amphibia) testis: the endocrine and environmental controls. Bull. Zool. 43: 151-172.
- Rastogi RK, L Lela, G Delrio, MA Russo Meglio and G Chieffi. 1978. Environmental influence on testicular activity in the green frog *Rana esculenta*. J. Exp. Zool. 206:49-63
- Shin JM and SK Ko. 2014. A Study on the Ovarian Cycle of Korean Brown Frog (*Rana Coreana*). Korean J. Environ. Ecol. 28:287-292.
- Wallace RA and GW Bergink. 1974. Amphibian vitellogenin: properties hormonal regulation of hepatic synthesis and ovarian uptake, and conversion to yolk proteins. Amer. Zool. 14:1159-1175.
- Yoneyama H and H Iwasawa. 1985. Annual changes in the testis accessory sex organs of the bullfrog *Rana catesbeiana*. Zool. Sci. 2:229-237.
- Yoo MS, CH Ra, JY Kim, SG Kang and HB Kwon. 1995. Reproductive Cycle and Maturation Induction of Oocytes in *Rana Rugosa*. Korean J. Zool. 38:96-105.

Received: 27 October 2015

Revised: 8 December 2015

Revision accepted: 8 December 2015