

범가자미, *Verasper variegatus*의 생식소 발달단계에 따른 혈중 난황단백전구체 (vitellogenin)와 성 스테로이드 호르몬 변화

김 윤·백혜자·한창희*·會田勝美**·小林牧人**
국립수산진흥원 양식개발과, *동의대학교 생물학과, **일본 동경대학 수권생물학과

Changes in Plasma Sex Steroid Hormone and Vitellogenin Levels during Gonadal Development of the Spotted Flounder, *Verasper variegatus*

Yoon KIM, Hea-Ja BAEK, Chang-Hee HAN*, Katsumi AIDA** and Makito KOBAYASHI**
Aquaculture Division, National Fisheries Research and Development Institute, Kijang-gun, Pusan 619-900, Korea
*Department of Biology, Dong-Eui University, Pusan, 614-714, Korea
**Department of Aquatic Bioscience, Tokyo University, Bunkyo, Tokyo, 113, Japan

Annual plasma levels of vitellogenin and sex steroids were investigated in relation to the gonadal development for understanding the endocrine control of reproduction in spotted flounder, *Verasper variegatus*. The plasma vitellogenin level was highest, 6.36 mg/ml, in November when vitellogenesis was most active. The level, thereafter, decreased to 3.81 mg/ml in December with the initiation of spawning. On the other hand, estradiol-17β was highest, 2.7 ng/ml, in December, and rapidly decreased in January when spawning occurred. The decreased level of estradiol-17β, around 0.2 ng/ml, remained unchanged until May. The profiles of plasma testosterone were similar to those of estradiol-17β in the fish. The plasma 17α-hydroxyprogesterone level was relatively low throughout the spawning period, but increased slightly with the initiation of ovarian development. In males, the plasma testosterone and 11-ketotestosterone were highest in December when spermiation actively proceeded, but rapidly decreased during the spawning period (January).

Key words: *Verasper variegatus*, vitellogenin, estradiol-17β, 11-ketotestosterone.

서 론

일반적으로 어류는 종에 따라 매년 정해진 계절에 각각의 번식기를 맞이하는 주기성을 보이면서 생식세포 즉, 알과 정자를 생산·방출한다. 생식세포가 성장하여 성숙, 배란/산란에 이르는 일련의 과정에는 생식선의 기능을 지배하는 생식내분비계 호르몬의 활성화에 좌우되며, 또한 이것은 년 주기적으로 변동하는 수온, 광주기 등의 외부 환경요인에 의존하여 일어난다 (Aida, 1991; Yoshikuni and Nagahama, 1991; Jalabert et al., 1991).

생식세포 발달단계에 따른 혈중 vitellogenin (난황단백질의 전구체)과 estrogens, androgens, progestogens과 같은 성 스테로이드 호르몬들의 양적 변화는 어류의 성숙과정이나 생식주기를 판단하는데 중요한 요인으로 작용한다 (Han et al., 1995; Kwon et al., 1990; Nagahama et al., 1993).

암컷의 경우 난황형성기에 이르면 혈중 estradiol-17β의 농도에 따라 난황축적이 시작되며, 난모세포가 최종적으로 성숙되어 배란되는 과정에는 progestogens의 농도 변화와 밀접한 관련이 있다 (Goetz, 1983). 수컷의 경우에는 정자형성에 관여하는 내분비 관련 호르몬으로 많은 어종에서 testosterone과 11-ketotestosterone을 지적하고 있으며, 몇몇 어종에서는 배정에 17α-hydroxy,20β-dihydroprogesterone이 관여하고 있음을 보고하였다 (Fostier et al., 1983, 1987; Nagahama, 1987a).

범가자미 (*Verasper variegatus*)는 분류학적으로 가자미아목 (Pleuronectoidei), 가자미과 (Pleuronectidae)에 속하는 어류로서 (Kim and Yoon, 1994) 우리나라 서남부 연해 및 일본 중부이남 연해에 분포하는 양식대상의 고급어종이다. 본 종의 안정된 종묘

생산을 위하여 호르몬이나 환경조절에 의한 성숙, 산란 제어 실험이 최근에 이루어지면서 (Kim, 1996; 백 등, 1998, Baek and Kim, 1996) 이 종의 성숙과 산란에 관여하는 내분비학적 연구가 절실히 요구된다.

따라서 본 연구에서는 범가자미의 생식소 발달단계에 따른 내분비 기작 해명에 기초정보를 제공하고자 vitellogenin, estradiol-17β, testosterone, 11-ketotestosterone, 17α-hydroxyprogesterone과 17α-hydroxy,20β-dihydroprogesterone의 혈중 농도 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 범가자미는 1992년 12월부터 1993년 11월까지 매월 1회씩 남해중부해역인 전남 여천, 고흥 근해, 그리고 경남 삼천포 인근 연안어장에서 어획된 것으로, 구입 즉시 활어 상태로 실험실에 옮겨졌다. 이후 며칠간 안정시킨 실험어를 대상 (군성숙도 50% 즉, 암컷 전장 42.0~44.0 cm, 수컷 전장 28.0~30.0 cm 이상의 개체, Kim et al., 1998)으로 혈액 채취와 함께 전장과 체장, 체중 및 생식소 중량을 측정하였다. 채취된 혈액은 원심분리 후 혈장만을 취하여 호르몬 분석 때까지 -70℃에 보관하였다.

1. Vitellogenin (난황단백질의 전구체) 측정

혈장 vitellogenin 농도 측정은 EIA (enzyme immunoassay)법으로 행하여졌다 (Han et al, 1995).

희석한 시료의 혈장과 standard를 200 μl씩 EIA용 well plate에

넣어 4°C에서 하루 밤 방치하여 well에 항원을 부착시킨 후 PBS-TA (0.05% Tween 20, 0.15N NaCl 그리고 0.02% NaN₃가 포함된 0.1M phosphate buffer, pH 7.2)로 well을 3회 세척하였다. 항체 (Kim et al., 1997)를 well에 넣을 때 항원이 붙지 않은 여분의 well 벽에 항체가 붙지 않도록 하기 위하여 0.01% NaN₃가 함유된 PBS (pH 7.2)로 희석한 1%의 BSA (bovine serum albumin) 용액을 300 µl씩 각 well에 넣어 37°C에서 2시간 동안 방치시켜 BSA를 흡착시킨 후 PBS-TA로 3회 세척하였다. 이어서 이미 제작된 항 난황단백혈청 (Kim et al., 1997)을 PBS-TA로 2,500배 희석하여 각 well에 200 µl씩 넣어 37°C에서 1시간 반응시킨 후, well 표면에 흡착된 항원과 결합되게 하였다. 이 후 PBS-TA로 3회 세척한 뒤 alkaline phosphatase가 표지된 항토끼 IgG 염소항체 (Sigma)를 PBS-TA로 8,000배 희석한 것을 각 well에 200 µl씩 넣어 37°C에서 1시간 반응시킨 후 PBS-TA로 3회 세척하였다. 이어서 p-nitrophenylphosphate를 0.5 mM MgCl₂가 함유되어 있는 10% diethanolamine buffer (pH 9.8)로 0.1% 용액이 되도록 용해하여 각 well에 200 µl씩 넣어 실온에서 2시간 반응시킨 후 이들의 반응을 정지시키기 위하여 5N NaOH를 100 µl씩 넣었다. 황색으로 발색된 이들 각 well에 대하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Standard는 토끼에 면역시켜 얻은 항 난황단백혈청을 PBA-TA로 2,500배 희석하여 정량에 사용하였다. 또한 gel 여과에 의하여 분리한 난황단백질을 0.1M sodium carbonate buffer (pH 9.6)로 희석하여 7.8 ng/ml에서 1000 ng/ml 까지 8단계의 standard를 제작하였다.

성숙중인 암컷 혈장 시료는 같은 sodium carbonate buffer로 50,000배 희석시킨 후 사용하였다.

2. 스테로이드 호르몬 측정

범가자미의 혈장 estradiol-17β, testosterone, 11-ketotestosterone과 17α-hydroxyprogesterone과 17α-hydroxy,20β-dihydroprogesterone의 농도측정은 RIA (radioimmunoassay)법으로 이루어졌으며, 스테로이드 추출에서부터 RIA 측정은 일본 동경대학 농학부 수산학과 어류생리실에서 이루어졌다.

스테로이드 추출은 혈장 250 µl에 2.0 ml의 diethyl ether를 첨가하여 잘 혼합한 후 5~10분간 -80°C 상태로 두었다. 상층의 유기용매층 (free steroid)만을 시험관에 옮겨 원심분리기로 완전 건조시켰으며, 위의 추출과정을 2회 반복 실시하였다. 각각의 추출물은 1 ml의 0.1% gel-PBS 완충용액 (pH 7.5)에 재용해되어 정량할 때까지 -20°C에 보관되었다.

스테로이드 호르몬 측정은 Aida et al. (1984)의 방법에 따랐다. 3.84~0.03 ng/ml까지 8단계로 만들어진 standard와 시료 각각 200 µl에 ³H으로 방사표지된 스테로이드 (NEN과 Amersham제품) 100 µl (약 10,000 cpm)씩 첨가 후 희석 항체를 200 µl씩 넣고 교반시켜 4°C하에서 12 시간 동안 반응시켰다. 항원 항체의 결합형과 유리형을 분리하기 위해 DCC (dextran coated charcoal)를 250 µl씩 첨가하여 4°C에서 15분간 방치한 후 원심분리 (4°C, 2000×G, 15min.)한 뒤, 결합형 상등액을 취하여 여기에 3 ml의 scintillation cocktail (liquifluor와 toluene의 혼합)을 넣

고 액체섬광계측기로 측정하였다.

Estradiol-17β, testosterone 과 17α-hydroxyprogesterone에 대한 항체는 Sigma제품을 사용하였으며 11-ketotestosterone과 17α-hydroxy,20β-dihydroprogesterone에 대한 항체는 일본 국립기초생물학 연구소로부터 제공받은 것을 사용하였다.

결 과

1. 혈중 vitellogenin 농도의 주년변화

Fig. 1에 나타난 바와 같이 산란기가 시작되는 12월 (Kim et al., 1998)에 vitellogenin의 농도는 3.81 mg/ml 이었으며, 주 산란기인 1월에 2.28 mg/ml, 산란이 거의 종료되는 2월에는 0.59 mg/ml로 급격히 감소하였다. 이후 7월 (최저치, 0.27 mg/ml)까지 낮은 농도로 유지되다가 범가자미 난소가 비후되기 시작하는 8월부터 다시 급격히 증가되어 2.40 mg/ml, 9월에 2.96 mg/ml을 나타내었다. 산란이 시작되기 전인 11월에는 6.36 mg/ml로 연중 최고치를 보였고, 산란이 시작되는 12월에 다시 감소하였다.

2. 혈중 스테로이드 농도의 주년변화

암컷의 경우 Fig. 2에서처럼 vitellogenin 합성에 관여하는 estradiol-17β의 혈중 농도는 1월 (산란기)에서 5월까지 큰 변화 없이 연중 가장 낮은 농도 (평균 0.2 ng/ml)로 유지되다가 6월 이후 점차 증가하기 시작하여 12월에 이르러 최고치인 평균 2.7 ng/ml을 나타내었다.

Testosterone 농도 변화도 일반적으로 estradiol-17β와 거의 유사한 경향을 보였으며, 17α-hydroxyprogesterone (17α-OHP)는 난소가 활성화되기 시작하는 6월부터 산란 시작전인 10월을 제외하고는 일반적으로 낮은 농도로 뚜렷한 변화는 보이지 않았다.

수컷의 경우 혈장의 testosterone과 11-ketotestosterone 농도는 12월에 각각 최고치인 0.8 ng/ml와 2.35 ng/ml를 나타냈으며 1월에

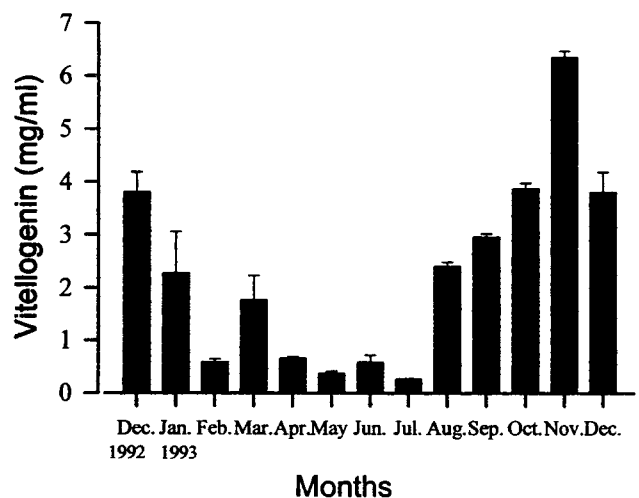


Fig. 1. Annual changes of vitellogenin in female plasma of spotted flounder, *Verasper variegatus*. Values are mean ± SEM.

급격히 감소하였다 (Fig. 3).

3. 생식소 발달단계별 혈중 스테로이드의 변화

범가자미 난소와 정소의 조직학적 발달단계에 따른 (Kim, 1996; Kim et al., 1998) 생식소중량지수 (GSI)와 혈중 성 스테로이드 호르몬 변화를 관찰해보면 Fig. 4, 5와 같다.

Fig. 4에서처럼 난소의 경우 7단계로 분류하였다. 난모세포가 성장하기 시작하는 염색인기와 주변인기의 GSI는 여전히 낮은 값을 유지하고, 성 스테로이드 역시 17 α -OHP를 제외하고는 뚜렷한 변화를 보이지 않았다. GSI의 증가와 함께 난황포가 출현하고 난황이 축적되는 시기에 estradiol-17 β 와 testosterone의 농도는 증가하는 한편 17 α -OHP는 약간 낮은 값을 보였다. 완숙기에서 산란기로 넘어가면서 estradiol-17 β 와 testosterone의 농도 변화가 뚜렷하게 감소하는 반면, 17 α -OHP는 다소 증가하는 경향을 보였다.

정소의 경우 GSI의 증가와 함께 정모세포들이 발달하는 단계에 testosterone의 농도는 약간 증가하기 시작하나 11-ketotestosterone는 검출되지 않았다 (Fig. 5). 이후 정세포기로 접어들면서 testosterone과 11-ketotestosterone은 최고치에 달하며 (각각 0.735, 1.049 ng/ml) 특히 11-ketotestosterone의 농도 변화는 뚜렷하게 관찰할 수 있었다. 이때의 GSI 값도 가장 높게 나타났다. 정자가 활발하게 만들어지는 시기에는 GSI의 감소와 함께 11-ketotestosterone는 급격히 낮아졌으며 이후 검출되지 않았고, testosterone 역시 낮은 농도로 관찰되었다.

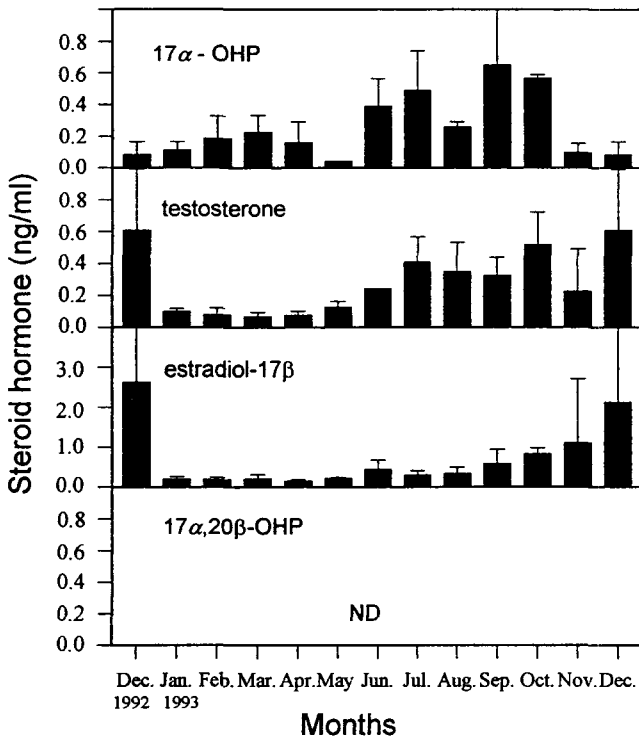


Fig. 2. Annual changes in plasma levels of 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP), testosterone, estradiol-17 β and 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone (17 $\alpha,20\beta$ -OHP) in female spotted flounder, *Verasper variegatus*. Values are mean \pm SEM. ND: not detectable.

고찰

어류의 생식소 발달과정 중 estradiol-17 β 의 혈중 농도변화는 일반적으로 난소발달단계 그리고 GSI 변화와 일치한다. 난소내 난모세포에 난황축적이 활발히 진행될 때 estradiol-17 β 의 농도는 증가하여 산란 후 난소의 퇴화와 함께 급격히 감소하는데, 이것은 난황형성기에 estradiol-17 β 이 vitellogenin의 합성을 촉진시킨다는 것이다 (Fostier et al., 1983; Whitehead et al., 1983; Kobayashi et al., 1986).

본 연구에서도 범가자미의 산란이 시작되기 전인 11월에 vitellogenin 농도는 연중 최고값을 나타내다가 주 산란기인 1월 이후 estradiol-17 β 의 급격한 농도변화와 함께 감소하였다.

암컷의 난소발달과정에서 testosterone의 역할은 여전히 불분명하지만 (Matsuyama et al., 1991) 스테로이드 대사물질 생성과정에서 보면 testosterone은 estradiol-17 β 합성을 위한 전구물질이므로 이들의 연중농도 변화는 비슷한 경향을 보이나 난소발달단계에 따른 농도변화는 estradiol-17 β 이 더 뚜렷하게 관찰되었다.

정어의 경우 암컷의 생식주기 동안 testosterone은 전혀 검출되지 않았는데 이것은 짧은 순간 testosterone이 estradiol-17 β 로 전환되거나 또는 estradiol-17 β 합성을 위한 다른 pathway 가능성을 시사하였다 (Matsuyama et al., 1991). 송어에서는 난황형성이 완료되고 성숙기에 접어들면서 estradiol-17 β 농도는 감소하는 반면 testosterone은 증가한다고 보고하였다 (Tamaru et al., 1991).

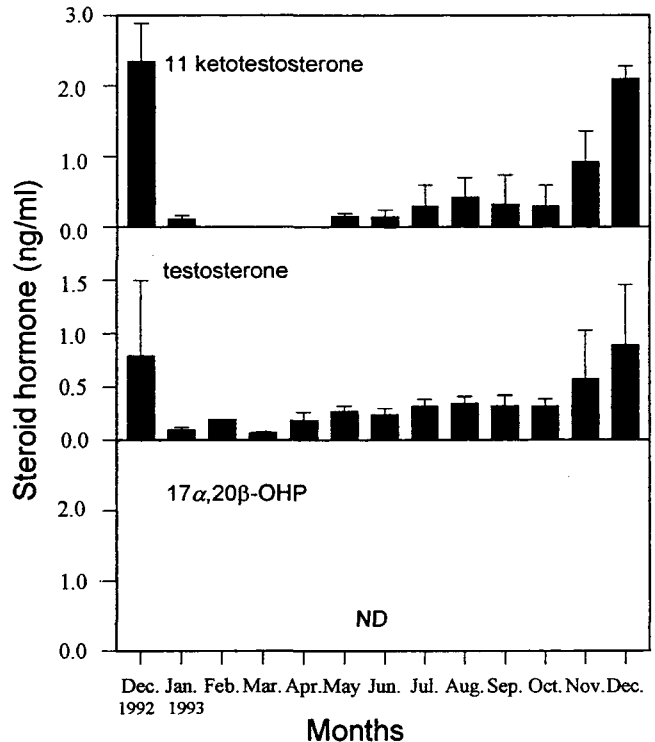


Fig. 3. Annual changes in plasma levels of 11-ketotestosterone, testosterone and 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone (17 $\alpha,20\beta$ -OHP) in male spotted flounder, *Verasper variegatus*. Values are mean \pm SEM. ND: not detectable.

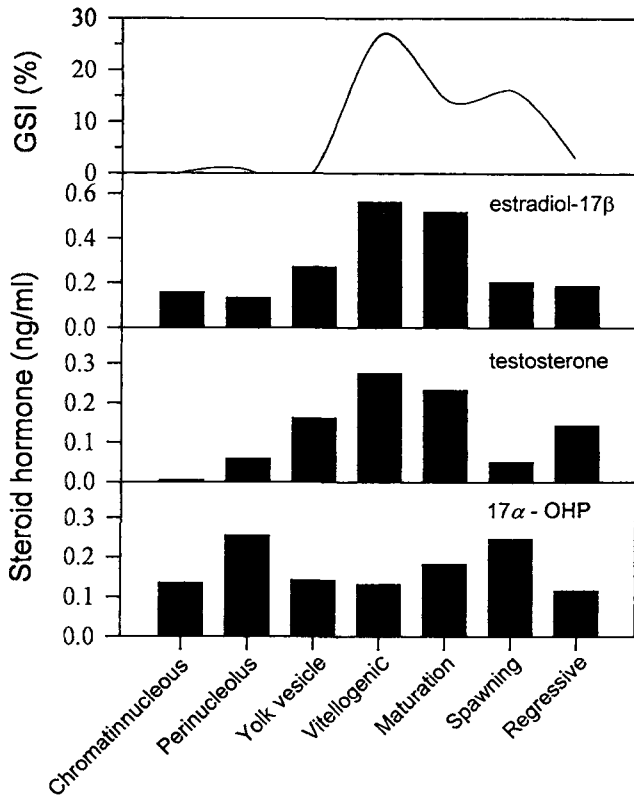


Fig. 4. Changes in gonadosomatic index (GSI) and plasma steroid levels at different developmental stages of ovary in spotted flounder, *Verasper variegatus*.

이것은 progestogens의 합성에 필요한 주요 효소들이 활성을 띠면서 다른 물질로 전환되는 과정에서 나타나는 현상으로 추측하였다 (Nagahama, 1987b).

성숙과 배란기의 중요한 성 스테로이드 호르몬으로 알려진 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone의 연중 혈중농도도 조사하였으나 본 실험에서는 검출되지 않았다. 전 연구에서 범가자미는 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone처리 (*in vitro* 실험)에 의해 난소 성숙이 유도되었으나 (Baek and Kim, 1996), *in vivo* 실험에서는 아주 저농도 (4~11 pg/ml)로 존재하거나 또는 검출되지 않았다 (백 등, 1998). 따라서 본 종의 경우 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone는 매우 적은 농도로 성숙에 관여하거나 아니면 다른 성숙관련 호르몬이 존재하는 것으로 생각된다 (Baek et al., unpublished data).

경골어류의 수컷에 있어서 testosterone 농도는 정자형성기동안 증가하다가 정자의 변태 (spermiation)가 시작됨과 동시에 감소하며, 11-ketotestosterone은 정자의 변태기 때 높은 농도를 유지하다가 이후 감소하기 시작한다고 보고하였다 (Fostier et al., 1983).

본 연구 결과 testosterone과 11-ketotestosterone의 농도 증가는 GSI 증가와 일치하며, 정세포에서 정자로 변태되는 시기에 높은 값을 보였다. 특히 testosterone은 정자형성기동안 서서히 증가하고 11-ketotestosterone은 정세포 단계에서 정자로 만들어지는 시기에 최대값을 나타내며 이후에는 거의 검출되지 않았다. 황놀래기의 경우에도 방정 직전 11-ketotestosterone의 농도는 상승하다가 방정기때 감소하여 본 실험과 유사한 결과를 보였다 (Morita et

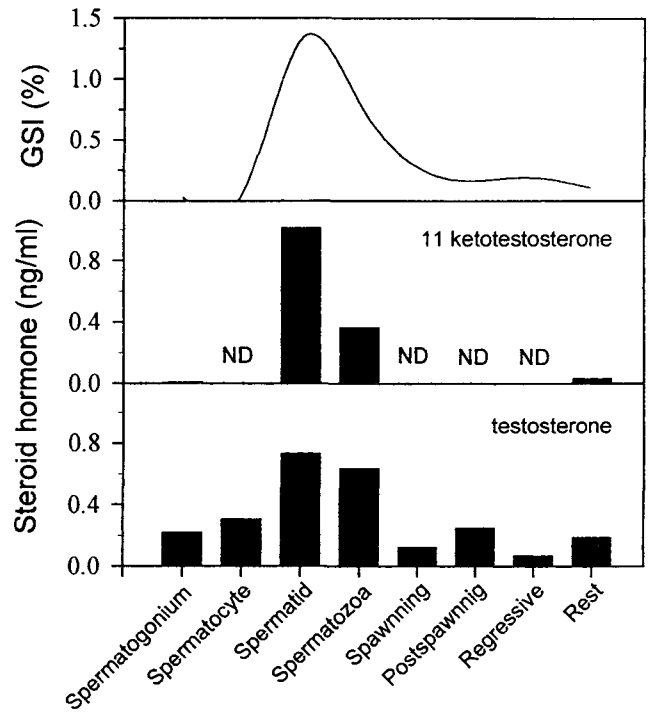


Fig. 5. Changes in gonadosomatic index (GSI) and plasma steroid levels at different developmental stages of testis in spotted flounder, *Verasper variegatus*. ND: not detectable.

al., 1997). 그러나 정어리 수컷의 경우, 정자형성기 동안 testosterone은 약간 증가하다가 정자변태가 시작되면서 현저히 증가하여 변태기 때 높은 농도로 유지되다가 방정 후 급격히 감소하였다. 이것은 testosterone이 정자형성기간 보다 정자변태기 때 더 깊이 관여한다고 하였으며, 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone는 정자형성기와 정자변태기에 걸쳐 높은 농도로 유지되었다고 보고하였다 (Matsuyama et al., 1991).

대부분의 연어류와 잉어류를 대상으로 한 보고에 의하면 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone의 역할은 배정에 깊이 관여한다고 하였다. 따라서 방정기 때 11-ketotestosterone은 감소하는 반면 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone은 증가한다는 것이다 (Fostier et al., 1983; Baynes and Scott, 1985).

본 실험에서도 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone의 농도를 측정하였으나 검출되지 않았다. 그러나 *in vivo* 실험에서 LHRHa (lutinizing hormone-releasing hormone analog)를 주사한 후에 17 α -hydroxy,20 β -dihydroprogesterone이 낮은 농도 (30~144 pg/ml)로 측정되었으나 (백 등, 1998), 배정에 깊이 관여하는 것 같지는 않았다. 다른 관련 호르몬의 존재를 밝히는 것이 앞으로의 연구대상이다.

요 약

범가자미의 인위적인 번식제어를 목적으로 생식소 활성에 따른 혈중 vitellogenin (난황단백전구체)과 성 스테로이드 호르몬의 계절적 농도 변화를 조사하였다.

암컷에 있어서 혈중 vitellogenin의 농도는 난황축적이 활발한 11월에 연중 최고치를 나타내다가 산란이 시작되는 12월에 감소하기 시작하면서 estradiol의 농도는 이 시기에 연중 최고치를 나타내었다 (2.7 ng/ml). 산란이 활발히 진행중인 1월에 혈중 estradiol 농도는 급격히 감소하여 5월까지 연중 매우 낮은 농도 (0.2 ng/ml)로 유지되었다. Testosterone도 estradiol과 유사한 경향을 보였다. 17 α -hydroxyprogesterone은 난소가 활성화되어 성장되는 시기를 제외하고는 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

수컷의 경우 testosterone과 11-ketotestosterone의 혈중농도는 12월에 최고치를 나타내었으며, 이 시기에 정자변태가 가장 활발하게 이루어지고 있음을 관찰하였다. 이후 완숙 및 방정기(1월)에 이르러 이들의 농도는 급격히 감소하였다.

감사의 글

이 논문의 일부는 1993년도 과학기술처 특정연구개발비 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다. 또한 11-ketotestosterone과 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone에 대한 항체를 제공해주신 일본 국립기초생물학 연구소의 Nagahama 교수님께도 감사의 말씀을 전합니다.

참 고 문 헌

- 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.
- Aida, K. 1991. Environmental regulation of reproductive rhythms in teleosts. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, Monograph 16: 173~187.
- Baek, H.J. and Y. Kim. 1996. Effects of human chorionic gonadotropin (HCG) and steroids on *in vitro* germinal vesicle breakdown in the spotted halibut, *Verasper variegatus*. J. Aquaculture, 9(1), 57~63 (in Korean).
- Baynes, S.M. and A.P. Scott. 1985. Seasonal variations in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Gen. Comp. Endocrinol., 57, 150~160.
- Fostier, A., B. Jalabert, R. Billard, B. Breton and Y. Zohar. 1983. The gonadal steroids. In "Fish physiology", Vol IX A: Reproduction, W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds., Academic Press, New York. 277~372.
- Fostier, A., F. Le Gac and M. Loir. Steroids in male reproduction. In "Proc. 3rd Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish", D. R. Idler, L. W. Crim, and J. M. Walsh, eds., Memorial University Press, St. John's, 1987, 239~245.
- Goetz, F.W. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In "Fish physiology", Vol IX/B: Reproduction, W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds., Academic Press, New York, 117~170.
- Han, C.H., M.H. Yang, J.M. Paek, S.K. Lim and K.H. Kim. 1995. Enzyme immunoassay for the plasma vitellogenin and early determination of ovarian maturation in red sea bream, *Pagrus major*. J. Aquaculture, 8(1), 1~19 (in Korean).
- Jalabert, B., A. Fostier, B. Breton and C. Weil. 1991. Oocyte maturation in vertebrates. In "Vertebrate Endocrinology", Fundamentals and Biomedical Implications. P. K. T. Pang and M. P. Schreiber, eds., Academic Press, New York, 21~90.
- Kim, I.S. and C.H. Youn. 1994. Taxonomic revision of the flounders (Pisces: Pleuronectiformes) from Korea. Korean J. Ichthyol., 6(2), 99~131 (in Korean).
- Kim, J.H., Y. Kim, W.J. Kim, H.J. Baek, J.Y. Park and C.H. Han. 1997. Purification and immunological characterization of yolk protein in spotted flounder, *Verasper variegatus*. J. Kor. Fish. Soc., 30(3), 473~479 (in Korean).
- Kim, Y. 1996. Endocrinological control of maturation and ovulation of spotted flounder, *Verasper variegatus*. Ph. D. thesis, Dong-Eui University, pp. 1~142 (in Korean).
- Kim, Y., C.M. An, K.K. Kim and H.J. Baek. 1998. Sexual maturation of the spotted flounder *Verasper variegatus*. Korean J. Ichthyol. 10(2), 191~199 (in Korean).
- Kobayashi, M., K. Aida and I. Hanyu. 1986. Annual changes in plasma levels of gonadotropin and steroid hormones in goldfish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52(7), 1153~1158.
- Kwon, H.C., A. Hara, Y. Mugiya, and J. Yamada. 1990. Enzymelinked-immunosorbent assay (ELISA) of vitellogenin in whitespotted charr, *Salvelinus leucomaenis*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido. Univ., 41, 162~180.
- Matsuyama, M.S. Adachi, Y. Nagahama, C. Kitajima and S. Matsuura. 1991. Testicular development and serum levels of gonadal steroids during the annual reproductive cycle of captive Japanese sardine. Japan. J. Ichthyol., 37(4), 381~390.
- Matsuyama, M.S. Adachi, Y. Nagahama, C. Kitajima and S. Matsuura. 1991. Annual reproductive cycle of the captive female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*: relationship to ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones. Mar. Biol., 108, 21~29.
- Morita, S., M. Matsuyama and M. Kashiwagi. 1997. Seasonal changes of gonadal histology and serum steroid hormone levels in the bamboo leaf wrasse, *Pseudolabrus japonicus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 63(5), 694~700.
- Nagahama, Y. 1987a. Gonadotropin action on gametogenesis and steroidogenesis in teleost gonads. Zool. Sci., 4, 209~222.
- Nagahama, Y. 1987b. 17 α -20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one: a teleost maturation inducing hormone. Dev. Growth Differ., 29(1), 1~12.
- Nagahama, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, N. Sakai and M. Tanaka. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. Fish Physiol. Biochem., 11, 3~14.
- Tamaru, C.S., C.D. Kelley, C.S. Lee, K. Aida, I. Hanyu and F. Goetz. 1991. Steroid profiles during maturation and induced spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus* L. Aquaculture, 95, 149~168.
- Whitehead, C., N.R. Bromage and B. Breton. 1983. Changes in serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 β and vitellogenin during the first and subsequent reproductive cycles of female rainbow trout. Aquaculture 34, 317~326.
- Yoshikuni, M. and Y. Nagahama. 1991. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, Monograph 16, 139~172.
- 백혜자 외 19명. 1998. 범가자미의 종묘생산 방법개발. 해양수산특성연구사업 최종연구보고서, 해양수산부, pp. 138.

1999년 6월 11일 접수
1999년 9월 13일 수리