

## 호르몬 처리에 의한 범가자미, *Verasper variegatus*의 성숙과 배란유도

백혜자 · 김 윤 · 안철민 · 조기채 · 명정인 · 이남주\*

국립수산진흥원 양식개발과  
\*성지실업(주)

### Effects of Hormonal Treatment on Induced Maturation and Ovulation in the Spotted Halibut, *Verasper variegatus*

Hea Ja Baek, Yoon Kim, Cheul Min An, Kee Chae Cho,  
Jeong In Myeong and Nam Ju Lee\*

Aquaculture Division, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 629-900, Korea  
\*Aquaculture Technology Laboratory Section, Sung-Gi Industry, Tongyeong-si 651-940, Korea

Hormone induction in maturation and ovulation was carried out with spotted halibut (*Verasper variegatus*) which normally does not spawn spontaneously in captivity.

Prior to spawning, females were treated with human chorionic gonadotropin (HCG, 265~678 IU/kg BW), 17  $\alpha$ -hydroxy,20  $\beta$ -dihydroprogesterone (17  $\alpha$  20  $\beta$  OHP, 0.5~1.0  $\mu$ g/kg BW) and luteinizing hormone-releasing hormone analogue pellet (LHRHa pellet, 63~81  $\mu$ g/kg BW). In all the trials, HCG injection succeeded in inducing ovulation at 265~300 IU/kg BW. HCG at 620 or 678 IU/kg BW was ineffective in inducing a good rate of ovulation. Final maturation and ovulation were not stimulated by treatment of 17  $\alpha$  20  $\beta$  OHP and LHRHa pellet. These results suggest that HCG injection (around 300 IU/kg BW) is more effective compared with LHRHa pellet implantation.

Key words : Final maturation, Ovulation, LHRHa pellet implantation, HCG, Spotted halibut

### 서 론

사육수조내 산란이 이루어지지 않는 고급 어종을 대상으로 계획적이고 안정적인 종묘를 생산하기 위해서는 인위적으로 성숙·배란을 유도시킬 수 있는 방법을 찾는 것이 우선 과제이다.

인위적인 성숙·배란 유도 방법에는 각종의 호르몬제를 사용하던지 또는 사육 환경조건을 변화시키는 방법 등이 있는데(Donaldson and Hunter, 1983) 호르몬제를 사용할 경우, 자연산란과 비교해볼 때 난질이 좋지않아 수정률 저하를 초래할 경우가 많다(廣瀨, 1982). 따라서 인위적 조절은 가능한 자연산란 조건에 가까운 상태에서 시도하는 것이 좋다. 그러기 위해서는 투여하는 호르몬이 생체 내의 생식관련 내분비기관에 어떤 영향을 미치며, 그 농

도는 어느 정도인가를 분명히 밝힐 필요가 있으나 이에 대한 연구는 여전히 미흡한 실정이다.

범가자미를 양식품종으로 개발하기 위하여 최근 몇 해 전부터 자연산 어미를 대상으로 한 인공종묘생산 실험이 진행되어왔다. 그러나 본 종은 사육수조 내에서 자연산란을 잘 하지 않으므로 산란시기에 복부가 팽만한 개체를 선택하여 인공수정을 시도했으나 매년 어려운 실정이었다.

따라서 본 연구에서는 범가자미(*Verasper variegatus*) 난의 최종성숙을 위한 HCG와 각종 스테로이드 호르몬제의 생체 외(in vitro)에서의 실험 결과(백과 김, 1996)를 바탕으로 사육현장에서 직접 HCG (human chorionic gonadotropin)와 17  $\alpha$  20  $\beta$  OHP(17  $\alpha$ -hydroxy,20  $\beta$ -dihydroprogesterone) 그리고 황체형성호르몬방출호르몬합성제(LHRHa)

처리에 의한 성숙·배란유도 효과를 관찰하였으며, 동시에 혈장중의 스테로이드 호르몬 농도변화도 조사하였다.

## 재료 및 방법

사용된 실험어는 1996~1998년까지 범가자미 산란기인 1~2월에 충무 성지실업 사육실에서 사육중인 전장 36~41.5 cm, 체중 960~1,490 g에 해당되는 일본산 범가자미 암컷 (15마리, 만2년생)과 전남 여천군, 고흥군, 그리고 경남 삼천포 인근 연안어장에서 어획된 활어를 수집하여 즉시 사육실로 옮겨 실내 순치시킨 것 (20마리, 전장 41.3~59.7 cm, 체중 1,165~3,800 g)이다.

### 1. 호르몬 제조

① HCG (human chorionic gonadotropin, Sigma) 주사 용액

분말상태의 HCG를 여과 멸균된 0.8% NaCl에 용해시켜 사용하였다.

② 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP (17 $\alpha$ -hydroxy,20 $\beta$ -dihydroprogesterone, Sigma)

에탄올에 용해되어 보관된 것을 일정량 취하여 질소가스조 건조시킨 뒤 여과 멸균된 0.8% NaCl에 다시 용해시켜 사용하였다.

③ LHRHa (luteinizing hormone-releasing hormone analogue, Sigma) 펠렛

분말상태의 LHRHa를 50% 에탄올에 용해시켜 콜레스테롤과 혼합한 뒤 37~39°C에서 1~2시간 건조시킨 후 액체 상태의 코코아 버터와 혼합하여 펠렛을 만들었다(Lee et al., 1986). 펠렛 크기는 tag sensor 크기(길이 1.2 cm, 직경 2.0 mm)와 일치시켰다. 호르몬 제조 과정은 가능한 한 소독 멸균 상태에서 이루어졌다.

### 2. 호르몬 처리

호르몬 처리 직전 체장과 체중을 측정하였으며, LHRHa 펠렛은 범가자미 등지느러미 기저부 부근에 범가자미 체중 kg당 63~81 $\mu$ g 농도로 이식하였다.

HCG는 265~678 IU/kg, 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP는 0.5~1.0  $\mu$ g/kg 농도로 복강 주사하였다.

호르몬 처리 효과는 일정기간 간격으로 복부 팽만 정도나 복부 압박에 의한 채란량 또는 혈액중의 성 스테로이

드 호르몬 분석으로 이루어졌다. 혈액은 원심분리 후 상층액의 혈장만을 채취하여 호르몬 분석 때까지 -20°C에 보관하였다.

### 3. 호르몬 분석

성숙과 산란에 관여하는 범가자미 혈중 성 스테로이드 호르몬 분석은 방사면역측정법 (RIA, radioimmunoassay)으로 이루어졌다. 스테로이드 측정은 Aida et al. (1984)의 방법에 따랐으며, 본 실험에 사용된 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone과 testosterone 항체는 Sigma 제품을 estradiol 항체는 프랑스 INRA 연구소 (어류 생식생리실)로부터 제공 받은 것을 사용하였다. 방사선 표지 스테로이드는 Amersham에서 구입하였다.

## 결 과

### 실험 1

범가자미 산란기인 1월에 복부가 약간 팽대한 암컷을 선별하여 수컷과 함께 수용, 순치시키면서 태반선성선자극호르몬(HCG)과 성 스테로이드 호르몬의 일종인 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP를 복강 주사한 후 24시간 간격으로 약 8일 동안 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

주사한 후 5일째에 HCG 실험군에서 미성숙란과 성숙란이 함께 소량 방출되는 것이 관찰되었으며, 대조군과 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP 실험군에서는 아무런 변화가 없었다. 7일째에 같은 농도의 HCG와 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP의 2차 주사가 이루어졌다. 24시간 뒤 (8일째) HCG 실험군에서만 복부 압박시 배란이 되는 개체 2마리가 관찰되었다. 따라서 HCG 처리 실험군이 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP나 대조군 보다 성숙, 배란 유도효과가 있는 것으로 나타났다. Fig. 1, 2, 3은 HCG 처리에 의한 범가자미 암컷의 혈중 성 스테로이드 호르몬 농도 변화를 나타낸 것이다. 주사한 후 1일째, 17 $\alpha$ OHP (17 $\alpha$ -hydroxy progesterone), testosterone, estradiol의 농도가 대조군에 비해 급격히 증가한 것을 알 수 있었다. 5일째 복부 압박에 의해 배란 여부를 관찰한 뒤 7일째 재주사한 후 그 다음날 testosterone 과 estradiol의 농도는 다시 약간 증가한 것을 알 수 있었다(Fig. 2, 3). 곧이어 2마리 개체에서 재배란되는 것을 관찰할 수 있었다.

### 실험 2

난황형성기 난모세포들이 주를 이루고 일부 성숙초기

Table 1. Effects of HCG and  $17\alpha,20\beta$ OHP ( $17\alpha$ -hydroxy, $20\beta$ -dihydroprogesterone) on ovarian maturation and ovulation in spotted halibut, *Verasper variegatus*

Hormone treatment	Number of fish	Body weight (g)		Injection protocol			
		Initial	Final	Day 0	Day 5	Day 7	Day 8
HCG	1	974	1093	300 IU/kg BW	Partial ovulation with immature oocytes; urogenital area heavily damaged	HCG	-
	2	1001	1161	"	Partial ovulation	"	Ovulated
	3	1014	1013	"	-	"	-
	4	1127	1346	"	Partial ovulation	"	-
	5	1491	1695	"	Partial ovulation	"	Ovulated
$17\alpha,20\beta$ OHP	1	940	935	500 ng/kg BW	-	$17\alpha,20\beta$ OHP	-
	2	967	Death	"	-	"	-
	3	1012	1018	"	-	"	-
	4	1025	1035	"	-	"	-
Control	1	959	966	TBSS <sup>*</sup>	-	TBSS <sup>*</sup>	-
	2	999	1020	"	-	"	-
	3	1055	1070	"	-	"	-
	4	1217	1222	"	-	"	-

\*Saline (TBSS, Trout Balanced Salt Solution) was injected at 300 $\mu$ l.

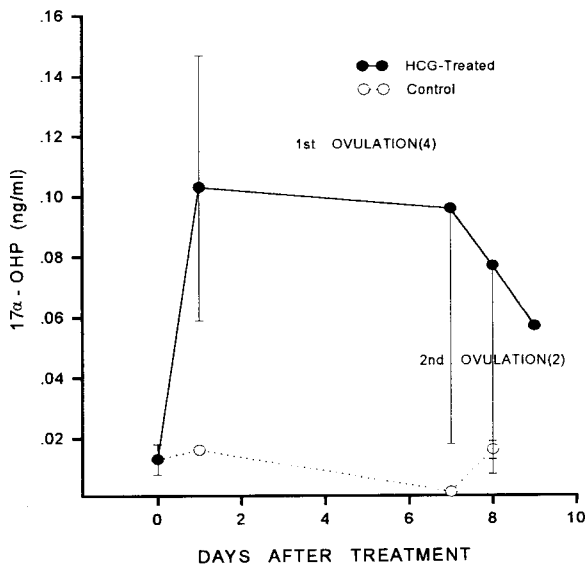


Fig. 1. Changes in plasma  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone levels during HCG-induced ovulation in spotted flounder, *Verasper variegatus*.

The value represents means  $\pm$  s.e.m.

현상의 난모세포들이 나타나기 시작하는 12월초에 LHRHa 호르몬을 펠렛으로 만들어 등지느러미 기저부에 이식한 후 일정기간 간격으로 복부팽만 정도와 배란유무를 관찰한 결과는 Table 2와 같다.

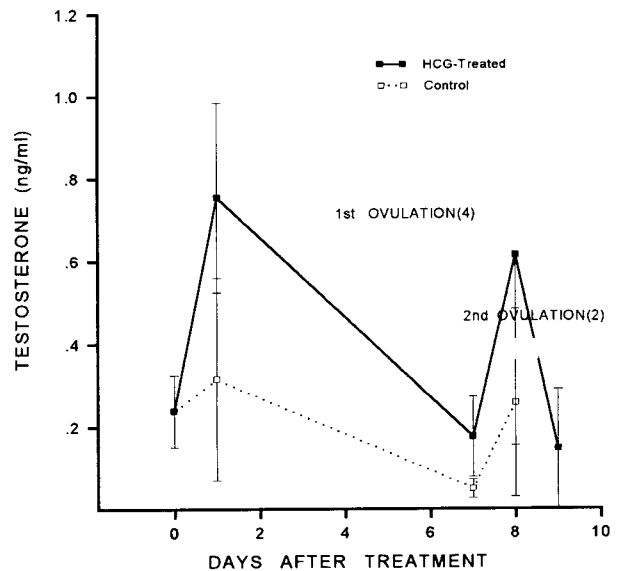


Fig. 2. Changes in plasma testosterone levels during HCG-induced ovulation in spotted halibut, *Verasper variegatus*.

The value represents means  $\pm$  s.e.m.

암컷은 호르몬 처리 10일째부터 복부팽만 개체가 발견되었으나 실험 종료시 까지 이들의 산란 유무는 관찰되지 않았다. 대조군 I, II에서는 실험시작 후 58일째(1월말)부터 체란 가능한 개체들을 발견할 수 있었다. 이것은 자

Table 2. Effect of LHRHa cholesterol pellet on ovarian maturation and ovulation in spotted halibut, *Verasper variegatus*

Hormone	Fish No.	Total length (cm)	Body weight (g)	Dose/kg ( $\mu$ g)	Days of implantation										
					Day3	10	22	35	44	58	64	65	71	84	103
LHRHa (pellet implant)	1 (♀)	45.5	1655	75		++									
	2 (♀)	41.3	1165	69		+									
	3 (♀)	43.2	1235	81		+									
	4 (♀)	50.5	2091	76	died										
	5 (♀)	43.0	1196	63						died					
Control-I (blank pellet implant)	1 (♀)	41.2	1133	-				+		++	egg taking				
	2 (♀)	44.8	1459	-											
	3 (♀)	41.5	1197	-											
	4 (♀)	44.0	1302	-						+					
Control-II	1 (♀)	43.5	1346	-						++	egg taking			egg taking	
	2 (♀)	50.0	1776	-						egg taking	egg taking		egg taking		

++ swollen abdomen, + slightly swollen abdomen

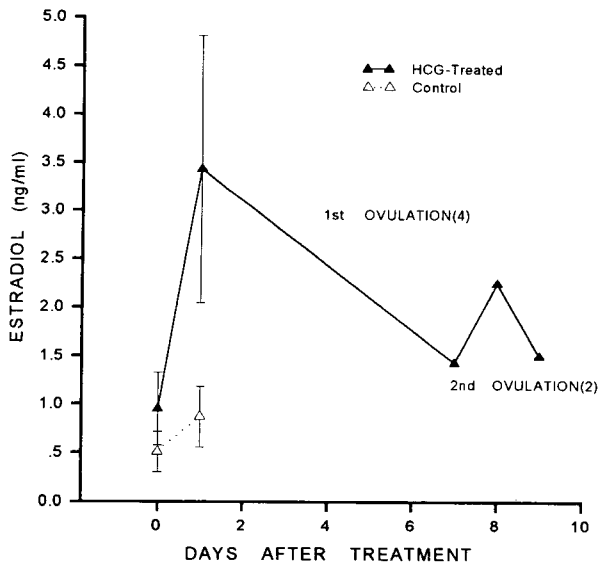


Fig. 3. Changes in plasma estradiol-17 $\beta$  levels during HCG-induced ovulation in spotted halibut, *Verasper variegatus*.

The value represents means  $\pm$  s.e.m.

연의 산란기와 비슷한 시기이다 (김 등, 1998).

### 실험 3

범가자미의 난성숙이 시작되는 12월에 외관상 복부가

약간 팽만하다고 판단되는 개체가 전혀 관찰되지 않았으므로 호르몬 처리에 대한 어미의 반응시기와는 관계없이 우선적으로 LHRHa 호르몬 펠릿 이식을 실시하였다. 이식 후 40일째(2월 초)까지도 뚜렷한 성숙현상이 관찰되지 않아(자연에서는 2월에 거의 산란이 종료되는 시기임) 48일째에 HCG 또는 HCG + 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP 주사를 실시하였다(Table 3, 4). 6마리 중 4마리는 주사 후 10 또는 11일째부터 1일 간격으로 채란이 가능하였다. 체중 kg당 HCG 620과 678 IU로 투여된 개체에서는 복부이상 팽만으로 사망하거나 약간의 채란이 이루어졌다 (Table 4).

호르몬 처리 실험 기간 동안 한 두 마리 개체에서 복부가 약간 부른 것을 제외하고는 자연상태의 범가자미 대조군은 대부분 성숙이 진행되지 않은 상태였다.

## 고찰

인위적인 호르몬 처리에 의해 어류종묘를 생산하는 기술개발은 실내 사육하에서 성숙·산란하지 않는 어종 또는 자연 산란하는 종에 있어서도 산란기를 앞당기거나 늦추고 싶은 경우 등에 주로 사용되고 있다.

양식현장에서는 상품화된 HCG가 널리 사용되어 왔으며, 최근에는 LHRHa를 이용한 성숙·배란유도가 성행되

Table 3. Induction of ovarian maturation and ovulation by HCG+17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP injection in spotted halibut, *Verasper variegatus* which were received a single LHRHa pellet implant (Dec. 30, 1997)

Hormone	Days	Fish Number								
		1			2			3		
		Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks	Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks	Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks
HCG+ 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP	'98 2. 18	3,800	7.6	265 IU/kg 0.88 $\mu$ g/kg	2,800	5.9	271 IU/kg 0.9 $\mu$ g/kg	3,020	5.9	300 IU/kg 1 $\mu$ g/kg
	'98 2. 24	3,860	7.3				3,110	6.0		
	'98 2. 27	4,200	9.1	E.T. 220ml	2,670	6.5	E.T. 100ml	3,400	7.3	E.T. 100ml
	'98 2. 28	4,200	8.1	E.T. 260ml	2,550	5.7	E.T. 120ml	3,400	9.7	E.T. 180ml
	'98 3. 1				2,500	5.5	E.T. 70ml	3,400	6.6	E.T. 180ml
	'98 3. 2	4,000	7.5	E.T. 100ml	2,450	5.4	E.T. 42.5ml	3,300	6.8	E.T. 200ml
	'98 3. 3	4,000	7.1	E.T. 100ml	2,500	5.2	E.T. 20ml	3,170	6.6	E.T. 90ml

E.T.: egg-taking

Table 4. Induction of ovarian maturation and ovulation by HCG injection in spotted halibut, *Verasper variegatus* which were received a single LHRHa pellet implant (Dec. 30, 1997)

Hormone	Days	Fish Number								
		1			2			3		
		Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks	Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks	Body weight (g)	Body width (cm)	Remarks
HCG	'98 2. 18	3,700	7.5	270 IU/kg	2,800	5.8	678 IU/kg	2,900	5.8	620 IU/kg
	'98 2. 24	3,650	7.2	not ovulated	3,250	9.2	not ovulated			
	'98 2. 27	3,800	7.1	genital pore was opened by pipette			death	2,900	5.8	
	'98 2. 28	3,900	7.4	E.T. 100ml				3,000	5.9	
	'98 3. 1	3,950	8.0	E.T. 100ml				3,070	6.7	
	'98 3. 2			E.T. 100ml				3,250	6.3	E.T. 40ml
	'98 3. 3	3,770		E.T. 100ml				3,300	6.7	E.T. 120ml

E.T.: egg-taking

고 있다 (Marte et al., 1987; Ayson, 1991; Okumura and Sakae, 1993; Leu and Chou, 1996).

호르몬 처리에 의한 성숙·산란유도는 적절한 시기에 호르몬 처리에 반응하는 어류선택, 적절한 호르몬 선택, 그리고 호르몬의 농도 등을 고려하지 않고는 그 효과를 기대하기 어렵다. 범가자미의 경우는 이미 생체의 (*in vitro*) 실험에서 성숙유도를 위한 적정호르몬과 농도 테스트가 이루어졌다 (백·김, 1996). 그 결과 HCG와 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP가 최종성숙 유도에 효과적이었으므로 이들 두 호르몬과 최근에 많이 사용하고 있는 LHRHa가 범가자미의 난성숙과 배란유도 호르몬제로 선택되어졌다.

현장실험에서 범가자미 체중 kg당 HCG 300 IU, 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP 500 ng 농도로 복강주사 한 결과 HCG 실험군이 대조군과 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP 실험군에 비해 성숙·배란유도 효과가 인정되었으며, 혈중 17 $\alpha$ -OHP, testosterone과 estradiol의 활성변화도 큰 폭으로 증가하였다. 즉 주사 후 24시간 뒤 17 $\alpha$ -OHP 농도는 HCG 처리 직전이나 대조군에 비해 높은 값으로 측정되었으며, testosterone과 estradiol은 HCG 처리 직전보다 각각 3배와 3.6배의 높은 값으로 나타났다. HCG 처리직후의 이러한 호르몬의 증가는 배란에 이르기 전의 성숙에 관여하는 것 같았다. 감성돔의 경우에도 산란 시기에 도달한 암컷에 LHRHa

또는 HCG 주사 후 testosterone과 estradiol의 농도 증가가 관찰되었으며 이것은 난모세포의 최종성숙을 촉진한다고 보고하였다(Chang et al., 1991).

HCG의 농도를 체중 kg당 620, 678 IU로 투여된 개체는 갑자기 복부 이상 팽만으로 죽거나 소량의 배란현상을 나타내었다. 이러한 결과로 보아 HCG 투여 농도는 300 IU/kg 정도가 효율적인 것으로 생각된다. 그러나 63~81 $\mu$ g/kg 농도의 LHRHa 처리는 범가자미 난의 최종성숙과 배란유도에 효과가 없는 것으로 나타났으므로 이에 대한 농도별 실험이 재 요구된다.

Canario와 Scott (1990)는 가자미류, *Limanda limanda*와 *Pleuronectes platessa*를 대상으로 호르몬을 처리한 결과 HCG에 대한 난의 반응이 스테로이드 처리에 대한 반응보다 더 민감하다고 보고하여 본 종의 생체내 (*in vivo*) HCG 처리 효과를 뒷받침해주는 것 같았다.

물가자미, *Eopsetta grigorjewi*에서는 HCG와 백련어 뇌하수체(SP, salmon pituitary)를 혼합 주사하여 종묘생산을 하고있지만 수정률과 부화율이 낮아 LHRHa 펠렛을 성숙·산란 촉진용으로 사용하였다고 보고하였다 (Okumura and Sakae, 1993). 그 결과 LHRHa 실험군이 HCG+SP 실험군보다 과숙란이 적어 더 효율적이라고 하였다. 한편 자주복의 난모세포 성숙과 배란유도는 HCG와 HCG+SP 실험군에서 관찰되었으며, LHRHa 처리 실험군에서는 소량의 배란이 일어났다고 보고하였다(Suzuki and Takemura, 1996).

본 연구에서의 LHRHa 펠렛 처리는 이식 후 10일 뒤 복부가 약간 팽만한 것을 제외하고는 아무런 반응을 보이지 않았으므로 그 효과를 인정할 수 없었지만 성숙유도와는 관련이 있는 것으로 추정된다. 범가자미처럼 다회 산란을 하는 종에 있어서는 너무 많은 투여량이 본래의 산란리듬을 혼란시킬 수 있기 때문에 (廣瀨 1991) 정확한 성숙 단계별 적정 투여량과 효과적 투여방법에 대한 세밀한 검토가 요구된다.

## 요 약

사육수조내 자연산란이 이루어지지 않는 범가자미 암컷을 대상으로 호르몬 처리에 의한 인위적 성숙·배란 유도 실험이 이루어졌다.

산란시기에 범가자미 체중 kg당 HCG 265~678 IU, 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP 0.5~1.0  $\mu$ g 농도의 복강주사와 LHRHa 63~

81  $\mu$ g의 펠렛을 투여한 결과, HCG 농도 약 300 IU가 범가자미의 최종성숙과 배란유도에 효과적인 것으로 나타났다. 17 $\alpha$ 20 $\beta$ OHP와 대조군에서는 난의 성숙이 거의 진행되지 않았으며, LHRHa 펠렛 실험군에서도 난의 최종성숙과 배란이 일어나지 않았다.

따라서 범가자미 암컷의 경우 현재 많이 사용되고 있는 LHRHa 펠렛 투여보다도 저농도의 HCG (약 300 IU/kg 체중) 주사가 난의 최종성숙과 배란에 더 효과적인 것으로 나타났다.

## 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.
- Ayson, F. G. 1991. Induced spawning of rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 95 : 133-137.
- Canario, A. V. M. and A. P. Scott., 1990. Effects of steroids and human chorionic gonadotropin on *in vitro* oocyte final maturation in two marine flatfish: the dab, *Limanda limanda*, and the plaice, *Pleuronectes platessa*. Gen. Comp. Endocrinol., 77 : 161-176.
- Chang, C. F., W. S. Yueh and M. F. Lee. 1991. Effects of LHRH-a and HCG on the steroid profiles of bisexual and mature male and female protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. Aquaculture, 92 : 83-92.
- Donaldson, E. M. and G. A. Hunter. 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish: in "Fish Physiology" (ed. by W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson), Vol. IX B, Academic Press, New York, 1983 : 351-404.
- Lee L.-S., C. S. Tamaru and C. D. Kelley. 1986. Technique for making chronic-release LHRH-a and 17 $\alpha$ -methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. Aquaculture, 59 : 161-168.
- Leu, M.-Y. and Y.-H. Chou. 1996. Induced spawning and larval rearing of captive yellowfin porgy, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). Aquaculture, 143 : 155-166.
- Marte, C. L., N. M. Sherwood, L. W. Crim and B. Harvey. 1987. Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues administered in various ways. Aquaculture, 60 : 303-310.
- Okumura, S. and K. Sakae, 1993. Effect of LHRH-a

cholesterol pellet on ovarian maturation and spawning in roundnose flounder, *Eopsetta grigorjewi*. *Suisanzoshoku*, 41 : 13-18.

Suzuki Y. and A. Takemura. 1996. Comparison of hormonal treatments for induction of oocyte maturation and ovulation in the Tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Suisanzoshoku*, 44 : 85-90.

김윤 · 안철민 · 김경길 · 백혜자, 1998. 범가자미, *Verasper*

*variegatus*의 성숙. 어류학회지, 10 : 191-199.

백혜자 · 김윤, 1996. 범가자미, *Verasper variegatus*의 난모세포성숙 (GVBD)유도를 위한 HCG와 스테로이드 호르몬의 *in vitro* 효과. 한국양식학회지, 9 : 57-63.

廣瀬慶二. 1982. 魚介類の成熟・産卵の制御, 日本水産學會編, 41, 愼星社 厚生閣, 東京, pp.50-63.

廣瀬慶二. 1991. 最近の成熟・産卵制御法. 海産魚の成熟・産卵リズム, 愼星社 厚生閣, 東京, pp. 125-137.