

GH-Transgenic Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*의 월동기 성장 경향

강 덕 영[†] · Robert H. Devlin¹

국립수산과학원 거제수산종묘시험장 · ¹West Vancouver Laboratory, DFO Canada

Growth Pattern of GH-Transgenic Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch* in Winter Season

Duk-Young Kang[†] and Robert H. Devlin¹

Keoje Marine Hatchery, NFRDI, Keoje 656-840, Korea

¹West Vancouver Laboratory, 4160 Marine Drive, West Vancouver, B.C., Canada

ABSTRACT : Transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* containing a growth hormone gene construct have been examined for their hormone levels and ability to growth for 90 days in winter season. Food intake of the transgenic coho was approximately 4-fold higher than that of nontransgenic coho salmon of similar size, but feed efficiency of the transgenic coho was 1.1-fold lower than that of size-matched control. Specific growth rates of body weight of the transgenic coho were approximately 1.4-fold (length) or 3-fold (weight) higher than that of nontransgenic coho salmon. GH, total-T₄ and total-T₃ levels were increased approximately 2-fold compared to size control salmon. The transgenic animals also displayed head, jaw and opercular abnormalities typical of the effects of this gene construct in coho salmon, indicating that some imbalance in growth processes were induced.

Key words : Transgenic, Coho salmon, Growth hormone, Thyroid hormones.

요 약 : 월동기 90일 동안 transgenic coho salmon의 사료섭식량, 성장도 및 혈중 호르몬 수준을 파악하였다. 실험 종료시 실험구별 사료섭식량은 비교해 볼 때 tGH구가 Wild구보다 약 4배 정도 높게 나타났지만, 사료효율의 경우 오히려 tGH구가 Wild구보다 1.1 배 낮은 것을 알 수 있었다. 한편 생존률은 tGH구가 Wild구보다 높게 나타났고, 성장은 tGH구가 길이에 있어 1.4배, 무게의 경우 약 3배 빠르게 나타났으며, 비만도 역시 tGH구가 Wild구보다 높게 나타났다. 실험구별 성장에 따른 호르몬 분석 결과, GH와 thyroid hormone의 농도는 tGH구가 Wild구에 비해 약 2배 정도 높은 값을 나타냈었다. 실험구별 형태적 특징을 관찰해 본 결과, tGH구들은 Wild구와 비교해 머리가 몸에 비해 상대적으로 크면서 꼬리지느러미의 가랑이 부분이 중심선으로 위, 아래가 확연히 분리되어 있지 않았다. 또한 몸통 부분은 길이에 비해 상대적으로 체고가 높게 나타났다.

서 론

Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*는 세계적으로 오오츠크해, 베링해, 알래스카만 및 북태평양 전 해역과 북동태평양의 캘리포니아 등지에 분포하는 종으로, 우리나라에서는 현재 일부 양식이 이루어지고 있으나 대부분 방류 사업용으로만 들어지고 있다. 그러나 최근 캐나다를 비롯한 몇몇 선진국에서 연어 양식 생산성 증진을 위해 생물공학작 기법, 그 중에서도 대상 종의 사료효율 증진, 성장 향상과 질병내성 강화를 중심으로 소비자의 선호도에 부응하는 우량형질의 개체

생산을 위해 노력 중에 있다. 이러한 측면에서 일부 연구자들은 분자유전학과 내분비학적 방법을 이용한 시도를 진행하였으며, 최근에는 다른 생물체의 특정 유용 유전자를 이용한 transgenic 기술을 활용한 transgenic fish을 만들어 내었다 (Du et al., 1992; MacLachy and Penman, 1990; Fletcher and Davies, 1991; Hackett, 1993; Devlin et al., 1995b). 특히 ocean pout antifreeze promoter와 chinook salmon (*O. tshawytscha*) GH1 cDNA를 함유한 유전자 구조 opAFPGHC (Du et al., 1992; Devlin et al., 1995a,b)와 sockeye salmon (*O. nerka*) metallothionein promotor와 GH1 유전자로 구성된 유전자 구조 OnMTGH1 (Devlin et al., 1994)가 다른 연어과 어류로 이식되었을 때, 이들의 성장에 탁월한 효과가 있는 것으로 나타났다. 이러한 유전자 구조들은 대상 개체의 성장호르몬 (growth hormone: GH) 분비를 자극하며 (Devlin, 1997; Devlin

[†]교신저자: 경남 거제시 남부면 다포리 201, 국립수산과학원 거제수산종묘시험장. (우) 656-840, (전) 011-9980-7116, (팩) 055-633-0891, E-mail: dykang@hotmail.com

et al., 1994; Devlin et al., 2000), 이에 의해 생산된 GH는 IGF-I 유전자 활성을 직접적 자극하거나(Duan et al., 1993), 5'-monodeiodinase 활성 증가에 의한 thyroxine(T₄)의 thyronine(T₃)으로 전환을 증진시키므로(de Luze & Leloup, 1984; MacLatchy et al., 1992), 어류의 변태촉진과 성장 향상에 관여하는 것으로 보고 있다. 이러한 transgenic coho salmon은 자연산 정상 개체들에 비해 평균 2.7~1.7배 정도 빠른 성장을 나타낸다(Devlin et al., 2000).

그러나 연어과 어류의 성장, 혈장 GH 수준 및 대사 기능이 떨어지는 가을에서 겨울 사이(Prunet et al., 1989; Young et al., 1989; Yada et al., 1991), transgenic coho salmon의 성장 및 대사 과정이 도입 유전자에 의해 저수온을 극복하고 가속적 성장 경향을 유지할지에 대해 아직까지 논의된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 월동기 동안 transgenic coho salmon의 성장과 내분비계 변화 관찰을 통해 이들 유전자의 발현 특징을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 사육관리

2001년 10월에 MTGH promoter로부터 생성된 유전자 구조 OnMTGH1를 지닌 2001년산 transgenic coho salmon, *O. kisutch*(전장 20.9±0.2 cm, 체중 112±3 g; Devlin et al., 1994, 1995a)와 동일 크기의 2000년산 자연산 coho salmon, *O. kisutch*(전장 20.3±0.2 cm, 체중 102±3 g) 치어를 1달간 실험 수조에서 적응시킨 뒤, transgenic group(tGH구)와 wild group(Wild구)로 나누어 동절기(2001년 11월~2002년 2월) 약 90일 동안 Canada, West Vancouver, West Vancouver Laboratory (Department Fisheries Oceans Canada)에서 2회 반복으로 사육 실험을 실시하였다. 사육수조는 200 ℓ 사각 수조를 이용하였으며, 사육밀도는 수조 당 30마리로 하였다. 사육수는 여과해수를 유수식으로 계속 신선한 물을 공급하였고, 사육기간 중 환경은 수온 8.08±0.68℃, pH 6.4±0.1, DO 4.6±0.9 mg/ℓ 였다. 실험에 사용된 사료는 chinook salmon 종묘용 상품 사료로서 성분 조성은 Table 1과 같다. 사료 공급은 1일 3~4회로 나누어 실험어가 만복 상태에 이를 때까지 실시하였으며, 이때 포식량을 기록하여 일간 사료섭식량과 사료효율을 각각 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{일간 사료섭식량(mg/fish/day)} =$$

$$\text{소비된 사료의 건조중량}/(\text{사육일수} \times \text{수용마리수})$$

$$\text{사료효율(\%)} =$$

$$(\text{어체의 습중량 증가분}/\text{건조 사료 섭취량}) \times 100$$

Table 1. Proximate composition(% of dry matter) of basal diet

Component	Composition % (Size: 5.0 mm)	Composition % (Size: 3.5 mm)
Crude protein (min)	46	46
Crude fat (min)	28	28
Crude fibre (max)	1.0	1.1
Ash (max)	9.7	8.1
Sodium (actual)	0.5	0.6
Calcium (actual)	2.4	2.0
Phosphorus (actual)	1.6	1.5
Vitamin A (min)	5,000 U/kg	5,000 U/kg
Vitamin D ₃ (min)	3,000 U/kg	3,000 U/kg
Vitamin E (min)	150 IU/kg	150 IU/kg

2. 성장도 측정 및 호르몬 분석

실험어의 전장과 체중의 성장도는 매 4주 간격으로 측정하였고, 실험 종료 시 이들 값으로부터 길이(GRL; growth rate of length)와 무게(GRW; growth rate of weight)의 성장률 및 비만도를 각각 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{GRL(\%)} = (\text{종료시 전장} - \text{개시시 전장})/(\text{개시시 전장}) \times 100$$

$$\text{GRW(\%)} = (\text{종료시 중량} - \text{개시시 중량})/(\text{개시시 중량}) \times 100$$

$$\text{비만도} = \text{최종 어체 습중량}/(\text{전장})^3 \times 100$$

또한 실험 종료 시 관련 호르몬 분석을 위해, 실험어를 100 mg/l sodium bicarbonate로 완충된 100 mg/l MS-222로 마취시키고, ammonium heparin으로 코팅된 capillary tube을 이용해 미부동맥으로부터 혈액을 수집하였다. 4℃에서 5분간 원심분리 후, 혈장을 수집하였고, 개개의 분리액을 GH (Swanson, 1994), total T₄ 및 total T₃ radioimmunoassay를 위해 -80℃에서 냉동 보관하였다.

그리고 채혈 후 전장 및 체중을 측정하였고, 이후 복부를 절개하여 간 및 내장을 적출한 뒤 무게를 달고, 이를 통해 간중량지수(hepatosomatic index: HSI) 및 내장중량지수(visceral-somatic index: VSI)를 다음의 식으로 구하였다.

$$\text{HSI (\%)} = (\text{간중량}/\text{체중}) \times 100$$

$$\text{VSI (\%)} = (\text{내장중량}/\text{체중}) \times 100$$

3. 형태학적 관찰

실험 종료시 실험구별 동일 사이즈의 개체들을 추출하여, 이들의 형태적 특징을 파악하였다. 특히 체색, 두부와 꼬리지느러미의 형태학적 이상 유무를 확인하였다.

4. 통계분석

각 실험 결과는 SPSS 통계패키지를 이용하여 student's T-test에 의해 실시하였다.

결 과

1. 사료섭식량, 사료효율 및 생존율

실험 종료시 실험구별 사료섭식량을 비교해 볼 때 tGH구가 2.37±0.01 mg/fish/day로 Wild구의 0.55±0.01 mg/fish/day보다 4배 정도 높게 나타났다. 하지만 사료효율의 경우 tGH구가 82.3±1.3%로 Wild구의 98.2±2.8% 보다 유의하게 낮은 것을 알 수 있었으며, 생존률은 tGH구가 91.7%로 Wild구의 80.0% 보다 높게 나타났다(Table 2).

2. 성장도 및 생체지수

실험구별 길이 성장은 Fig. 1에서 보는 바와 같이, 실험 개시시(2001년 11월) 평균 전장 20.6±0.3 cm이었던 것이 사육 4주째(2001년 12월)부터 20.7~22.6 cm의 범위로 실험구별 약한 성장차가 보이기 시작했다. 사육 8주째(2002년 1월)에 이르러 그 경향은 더욱 현격해져, tGH구가 26.7~27.0 cm로서 Wild구의 21.1 cm에 비해 유의하게 높은 값을 보였다 (P<0.01). 사육 12주째(2002년 2월) 동절기가 끝나갈 무렵, tGH구는 여전히 빠른 성장 경향을 보였고, 특이하게도 Wild구가 급격한 성장 경향을 나타내었다. 무게 성장의 경우 개시시 체중 103~111 g의 개체들이 사육 4주째 이르러 101.3~149.7 g으로 자라 실험구별 차이를 보이기 시작했다. 이후 8주째에 이르러 tGH구는 Wild구의 성장도와 더욱 격차를 벌렸다. 이후 16주째에 이르러 tGH구는 275.5±13.3 g으로 여전히 빠른 성장을 나타내었고, Wild는 151.1±6.7 g으로 1월 이후 빠른 성장 회복세를 나타내는 것을 알 수 있었다(Fig. 1, P<0.01). 이것을 성장률로 계산해 보면, 실험 종료시의 GRL은 Table 3과 같이 tGH구가 41.2±0.6%로 Wild구 29.0±6.4%에 비해 유의하게 높은 값을 보였다. GRW의 경우 역시, tGH구가 146.4±7.9%, Wild구는 48.4±6.2 %로 높은 값을 나타내었

Table 2. Performance of juvenile coho salmon fed commercial diets in winter[§]

Groups	Food intake (mg/fish/day)	Feed efficiency (%)	Survival rate (%)
tGH	2.37±0.01*	82.3±1.3	91.7±0.6*
WILD	0.55±0.01	98.2±2.8*	80.0±1.2

[§]Values with an asterisk are significantly different within the same column(p<0.05).

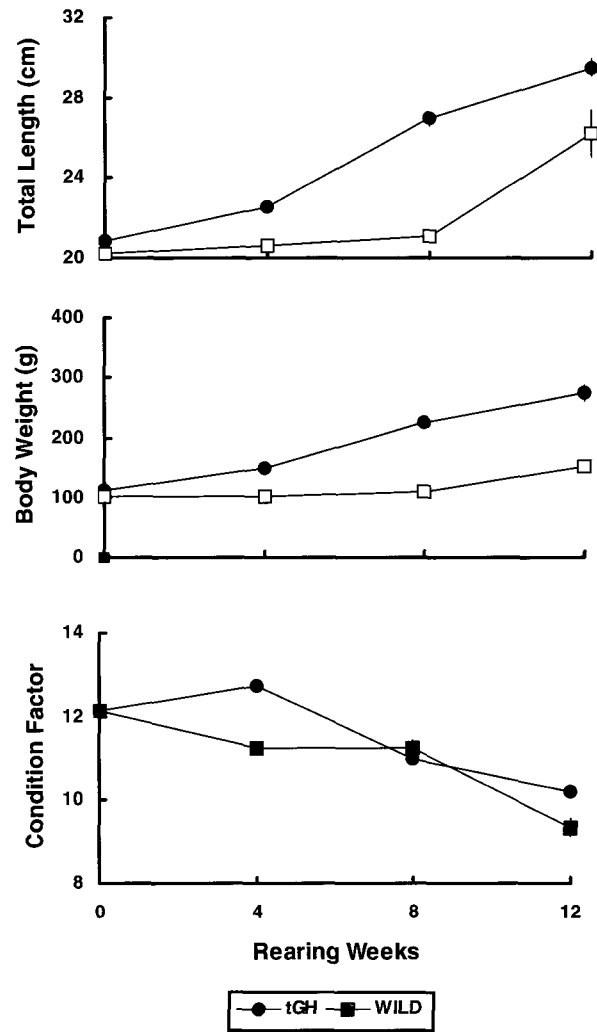


Fig. 1. Growth in transgenic(tGH) and nontransgenic size-control (Wild) coho salmon.

Table 3. Performance of juvenile coho salmon fed commercial diets in winter[§]

Groups	GRL (%)	GRW (%)	HSI (%)	ISI (%)
tGH	41.2±0.6*	146.4±7.9*	1.60±0.06*	7.53±0.17*
WILD	29.0±6.4	48.4±6.2	1.28±0.08	6.03±0.24

[§]Values with an asterisk are significantly different within the same column(p<0.05).

다(P<0.05).

한편 비만도는 실험구 전체가 가을에서 겨울로 진행되는 계절 변화를 거치면서 전반적으로 감소 현상을 보였고, 종료시 실험구별 비교를 통해 보았을 때, 그 값은 tGH구가 10.2±0.2으로 Wild구의 9.4±0.2보다 앞서는 것을 알 수 있었

다(Fig. 1). 또한 HSI와 VSI 둘 다 tGH구가 Wild구보다 높은 것을 알 수 있었다.

3. 호르몬

실험구별 성장에 따른 호르몬 분석 결과는 Fig. 2와 같다. Total-T₄의 경우 tGH구가 Wild구에 비해 유의하게 높은 값을 나타냈다. Total-T₃는 tGH구가 8.36±0.79 ng/ml로 Wild구의 4.05±0.40 ng/ml 보다 유의하게 높은 값을 보였다. 한편 GH는 모든 tGH구가 16.91±1.38 ng/ml로 Wild구보다 약 2배 정도 높은 값을 나타내었다(P<0.05).

4. 형태학적 모습

실험 종료시 Wild구를 기준으로 하여 실험구별 형태적 특징을 관찰해 본 결과, tGH구들은 Wild구와 비교해 뚜렷한 형태학적 이상을 관찰할 수 있었다. Wild구의 경우 두부 전방부의 곡선형이 완만하며, 꼬리지느러미의 가량이 부분이 확

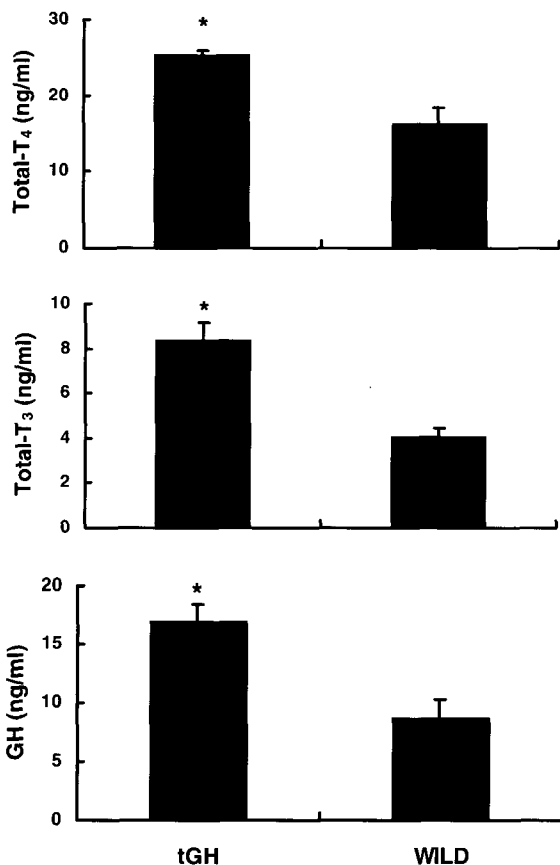


Fig. 2. Hormone levels in transgenic(tGH) and nontransgenic size-matched control(Wild) coho salmon. Each bar represents the mean±SEM. Asterisk above bar indicates a significant difference between tGH group and Wild group (P<0.05).

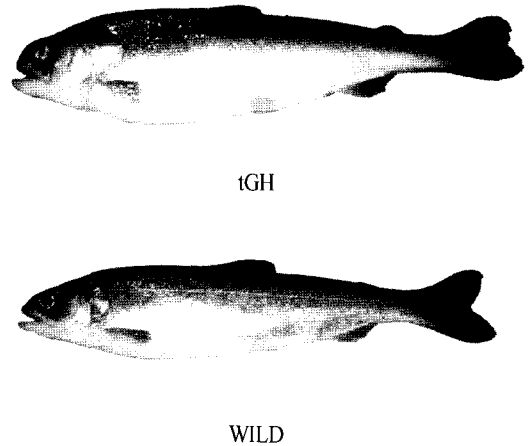


Fig. 3. Transgenic fish in same folk length (25~27 cm) showing morphological abnormalities. Note extensive overgrowth of operculum and head, and abnormality of tail fin in transgenic fish.

연하게 분리되어 있는 특징을 보였다. 이에 비해 tGH구는 머리가 몸에 비해 상대적으로 크면서 골격의 형태적 모양이 각을 지고 있으며, 꼬리지느러미의 가량이 부분이 중심선으로 위, 아래가 확연히 분리되어 있지 않았다. 또한 몸통 부분은 길이에 비해 상대적으로 체고가 높게 나타났다(Fig. 3).

고 찰

GH가 세포증식 및 분화율을 증가시킴으로써 동물 조직 성장을 자극하며(Isaksson et al., 1985), 어류에서 있어서는 성장, 식욕 촉진 및 먹이 경쟁력 강화에 의한 성장증진 효과가 있는 것으로 알려져 있다(McLean & Donaldson, 1993; Björnsson et al., 1987). 현재 성장호르몬의 사용은 미국에서는 젓소 생산에서 법률적으로 합법화되어 있으며(Gershon, 1994), 수산 양식에서 transgenic에 의한 어류의 GH유전자 조작을 통한 GH 사용 가능성을 시험을 통해 성장 1년 후 정상개체에 비해 11배 이상 체중 증가하는 연어를 생산해 내었다(Devlin et al., 1994). 이 transgenic 어류의 초고속 성장은 높은 대사 및 삼투조절 능력(Devlin et al., 2000), 소화관의 표면적과 기능 증대(Stevens & Devlin, 2000), 식욕 및 먹이경쟁력의 증대(Devlin et al., 1999) 등에 의해 나타나는 것으로 보고 있다.

본 연구 결과, 동절기 동안 식욕이 급격히 떨어지는 자연산 coho salmon과 달리 transgenic coho salmon은 높은 사료섭식량을 유지하고 있었지만, 사료효율은 오히려 낮은 것으로

나타났다. 또한 생존율은 transgenic coho salmon가 자연산보다 유의하게 높게 나타났다. 그리고 동절기 동안 성장 저해가 일어나는 자연산 개체들에 비해 transgenic coho salmon 치어는 여전히 길이와 무게의 지속적인 성장 경향을 보였다.

GH (McLean & Donaldson, 1993; Fauconneau et al., 1996)와 thyroid hormone (Farbridge et al., 1992; Kiessling et al., 1994; Gomez et al., 1997)이 성장 유지를 위한 중요한 역할을 하며, 연어과 어류에 있어 성장율에 밀접한 관계가 있다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 특히 연어과 어류들은 가을과 겨울철 동안 매우 낮은 성장율과 혈장 GH 수준을 나타내는 것으로 알려져 있다(Prunet et al., 1989; Young et al., 1989; Yada et al., 1991). 계절적으로 일치하지 않는 성장 패턴을 나타내는 transgenic coho salmon의 경우, 11월경에 약 60~70 ng/ml 혈장 GH 농도를 나타내는 Devlin 등(2000)의 연구 결과와 비교해 동절기 2월에 이르러 평균 17 ng/ml로 4배나 저하하는 본 연구의 결과는, transgenic 개체들 역시 계절적인 분비저하 능력을 보이는 것으로 파악된다. 그러나 여전히 자연산 개체들에 비해 높은 성장율과 거의 2배 높은 GH수준과 높은 성장율은 이들이 동절기에도 빠른 성장 대사를 나타내는 것을 시사한다.

또한 갑상선호르몬의 직접적인 어체 투여는 연어과 어류의 성장을 자극한다는 것이 입증되었다(Higgs et al., 1982). 이러한 갑상선호르몬과 GH 사이 상호관계는 복잡한 것으로 알려져 있다. 성장, 대사 및 삼투조절 평가에서, 이들 두 호르몬은 독립적으로 작용하지 않는다(Björnsson et al., 1987; Farbridge & Leatherland, 1988; Leloup & Lebel, 1993). *In vivo* 상태에서 연어에 대한 GH 투여는 T₄의 T₃ 전환에 관여하는 효소 5'-monodeiodinase의 활성을 증진시키고(de Luze & Leloup, 1984; MacLatchy & Eales, 1990; MacLatchy et al., 1992), 생체 내에서 T₃ 수준을 증가시킬 수 있다. 본 연구에서 GH-transgenic coho salmon은 동일 크기의 대조구보다 유의하게 높은 T₃와 T₄ 농도를 보유하고 있어, 이러한 높은 호르몬 농도는 transgenic fish의 성장 향상에 기여하며, GH-transgenic coho salmon에서 관찰된 기형과 유사한(Devlin et al., 1995b) 극단적인 연골 성장과 두개골의 기형을 초래할 수도 있다(Higgs et al., 1982). 본 연구 역시, 갑상선호르몬 농도가 높은 tGH group이 골격의 이상 발달이 일어난 것으로 관찰되었다. 그러나 본 연구에 사용된 것과 동일한 GH 유전자구조를 함유한 transgenic Atlantic salmon이 동일한 연령 또는 크기의 자연산구에 비해 낮은 T₃ 수준을 지니고 있어, transgenic fish의 내분비적 반응이 종 특이성을 나타낼 수 있음을 보여주고 있다.

인용문헌

- Björnsson, BTh, Yamauchi K, Nishioka RS, Deftos LJ, Bern HA (1987) Effects of hypophysectomy and subsequent hormonal replacement therapy on hormonal and osmoregulatory status of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Gen Comp Endocrinol* 68:421-430.
- de Luze A, Leloup J (1984) Fish growth hormone enhances peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine in the eel *Anguilla anguilla* L. *Gen Comp Endocrinol* 56:308-312.
- Devlin RH (1997) Transgenic salmonids. In: Houdebine LM (ed.), *Transgenic Animals: Generation and Use*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 105-117.
- Devlin RH, Johnsson JI, Smailus DE, Biagi CA, Jönsson E, Björnsson BTh (1999) Increased ability to compete for food by growth hormone-transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture Research* 30:479-482.
- Devlin RH, Swanson P, Clarke WC, Plisetskaya E, Dickhoff W, Moriyama S, Yesaki TY, Hew C-L (2000) Seawater adaptability and hormone levels in growth-enhanced transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture* 191:367-385.
- Devlin RH, Yesaki TY, Biagi CA, Donaldson EM, Swanson P, Chan W-K (1994) Extraordinary salmon growth. *Nature* 371: 209-210.
- Devlin RH, Yesaki TY, Donaldson EM, Du SJ, Hew CL (1995a) Production of germline transgenic Pacific salmonids with dramatically increased growth performance. *Can J Fish Aquat Sci* 52:1376-1384.
- Devlin RH, Yesaki TY, Donaldson EM, Hew CL (1995b) Transmission and phenotypic effects of an antifreeze/GH gene construct in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture* 137:161-169.
- Du SJ, Gong Z, Fletcher GL, Shears MA, King MJ, Idler DR, Hew CL (1992) Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by use of an all fish chimeric growth hormone gene construct. *Biotechnology* 10:176-181.
- Duan C, Duguay SJ, Plisetskaya EM (1993) Insulin-like growth factor I IGF-I mRNA expression in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: tissue distribution and effects of growth hormone r prolactin family proteins. *Fish Physiol Biochem*

- 11:371-379.
- Farbridge KJ, Flett PA, Leatherland JF (1992) Temporal effects of restricted diet and compensatory increased dietary intake on thyroid function, plasma growth hormone levels and tissue lipid reserves of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 104:157-174.
- Farbridge KJ, Leatherland JF (1988) Interaction between ovine growth hormone and triiodo-L-thyronine on metabolic reserves of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish Physiol Biochem* 5:141-151.
- Fauconneau B, Mady MP, LeBail PY (1996) Effect of growth hormone on muscle protein synthesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* and Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Fish Physiol Biochem* 15:49-56.
- Fletcher G, Davies PL (1991). Transgenic fish for aquaculture. *Genetic Eng* 13:331-369.
- Gershon D (1994) Milk hormone clears final hurdle. *Nature* 367: 210.
- Gomez JM, Bøujard T, Bøeuf G, Solari A, Le Bail P-Y (1997) Individual diurnal plasma profiles of thyroid hormones in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* in relation to cortisol, growth hormone, and growth rate. *Gen Comp Endocrinol* 107:74-83.
- Hackett PB (1993) The molecular biology of transgenic fish. In: Hochachka PW, Mommsen TP (eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Volume 2, Molecular Biology Frontiers*. Elsevier, Amsterdam, pp 207-240.
- Higgs DA, Fagerlund UHM, Eales JG, McBride JR (1982) Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. *Comp Biochem Physiol B* 73:143-176.
- Isaksson OGP, Edén S, Jansson JO (1985) Mode of action of pituitary growth hormone on target cells. *Ann Rev Physiol* 47:483-499.
- Kiessling A, Higgs DA, Dosanjh BS, Eales JG (1994) Influence of sustained exercise at two ration levels on growth and thyroid function of all female chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* in seawater. *Can J Fish Aquat Sci* 51: 1975-1984.
- Leloup J, Lebel J-M (1993). Triiodothyronine is necessary for the action of growth hormone in acclimation to seawater of brown (*Salmo trutta*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem* 11:165-173.
- MacLatchy DL, Eales JG (1990) Growth hormone stimulates hepatic thyroxine 5'-monodeiodinase activity and 3,5',3'-triiodothyronine levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comp. Endocrinol.* 78:164-172.
- MacLatchy DL, Kawauchi H, Eales JG (1992) Stimulation of hepatic thyroxine 5'-deiodinase activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* by Pacific salmon growth hormone. *Comp Biochem Physiol A* 101:689-691.
- MacLatchy N, Penman D (1990) The application of gene manipulation to aquaculture. *Aquaculture* 85:1-20.
- McLean E, Donaldson EM (1993) The role of growth hormone in the growth of poikilotherms. In: Schreibman MP, Scanes CG, Pang PKT (eds.), *The Endocrinology of Growth, Development, and Metabolism in Vertebrates*, pp. 43-71. Academic Press, San Diego.
- Prunet P, Bøeuf G, Bolton JP, Young G (1989). Smoltification and seawater adaptation in Atlantic salmon, *Salmo salar*: plasma prolactin, growth hormone, and thyroid hormones. *Gen Comp Endocrinol* 74:355-364.
- Stevens ED, Devlin RH (2000) Intestinal morphology in growth hormone transgenic coho salmon. *J Fish Biology* 56:191-195.
- Swanson P (1994). Radioimmunoassay of fish growth hormone, prolactin, and somatolactin. In: Hochachka PW, Mommsen TP (eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes* vol. 3, Elsevier, Amsterdam, pp. 545-556.
- Yada T, Kobayashi T, Urano A, Hirano T (1991) Changes in growth hormone and prolactin messenger RNA levels during seawater adaptation of amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. *Zool Sci* 8:1171.
- Young G, Björnsson BT, Prunet P, Lin RJ, Bern HA (1989) Smoltification and seawater adaptation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: plasma prolactin, growth hormone, thyroid hormones, and cortisol. *Gen. Comp. Endocrinol.* 74:335-345.