

〈寄稿〉

## 海産真骨魚卵の浮遊性調節機構とその生態的役割

松原孝博

Control mechanisms for egg buoyancy in marine teleosts  
and their ecological role

Takahiro MATSUBARA

Egg quality is controlled by a variety of factors such as physiological properties of eggs, maternal influences like endocrine and nutritional conditions, timing of ovulation and spawning, genetic factors, etc. and affects adaptability of eggs and their hatched larvae to environment. Among these, buoyancy of eggs in marine teleosts is one of an important factor which insures survival of developing eggs in oxygen and food rich surface water layer. Specific gravity of egg is mainly controlled by oocyte hydration being caused by a limited yolk proteolysis during oocyte maturation. In higher taxonomic members of teleost, three types of vitellogenin (Vg: egg yolk precursor protein) have been discovered. Two of them are the major Vgs (VgA and VgB) having complete domain structure and the minor one is an incomplete Vg lacking phosphovitin domain. Vitellogenin A and B play distinct roles in regulation of egg buoyancy through unequal proteolysis of their product yolk proteins into free amino acids which are the major osmotic effectors for oocyte hydration. Thus, with respect to buoyancy of marine pelagic eggs, specific gravity appeared to be controlled by the ratio of accumulated VgA vs. VgB in oocytes and the ratio is so far genetically controlled.

**Key words:** egg quality, egg buoyancy, vitellogenin, yolk protein, oocyte hydration

## 1. はじめに

真骨魚類の多くは卵生であり、卵は体外で受精、発生して棲息環境中で生存可能な仔魚にまで形態的、生理的に発達すると孵化に至る。孵化仔魚は摂餌可能になるまで卵由来の栄養である卵黄に依存して成長する。そのため卵は胚発生に使われる栄養をすべて不足なく含んでいる必要がある。また、真骨魚類の卵の特徴として、水中で発生する胚を物理的に保護するための硬い卵膜 (chorion) を持つ点が挙げられる。

漁業や養殖業の発達とともに、対象魚種の生態やそれに基づく資源管理、また増養殖のための種苗生産に関する研究や技術開発が進む中で、「良い卵」「悪い卵」といった卵質とそれを決定づける要因について強い興味を持たれてきた。卵質の評価には主として受精率や孵化率、仔魚の生残率などを指標としているが、ここには卵の発生に関する生理的なコンディションのよし悪しが問題である場合と、卵の受精率や孵化率は良好であっても卵の性質やそこから孵

化した仔魚が生息環境に適応しない場合の全く異なる2つの事象を内包している。Brooks et al. (1997) は、総説の中で、卵質に影響を与える要因を (1) 内分泌要因、(2) 卵の大きさ、(3) 親魚の年齢、(4) 環境による影響、(5) 遺伝的要因などに整理している。これらの各要因について、いずれも数々の研究が試みられ、多くの報告が紹介されている。しかしながら、対象種が持つ生殖様式や卵の性質が多岐にわたることや、自然環境と飼育下で起こる事象の相違が妨げとなり、いずれの要因も現在まで明確な結論が得られるに至っていない。加えて、(4) の環境要因については、近年、人間の活動による地球温暖化のような自然環境の変化や内分泌かく乱化学物質のような生殖に影響を及ぼす水質汚染など、新たに顕在化してきた要因も含まれ、問題をさらに複雑なものとしている。

このように多岐にわたる卵質悪化の要因の中で、資源生態学的観点から再生産の成否を考える場合と、増養殖における種苗生産に用いる卵のよし悪しを考える場合で重要視される点は大きく異なっている。前者では、産卵場の環境での卵や仔魚の生残に焦点を当て、卵のサイズや比重、また親魚の年齢や栄養状態に起因する卵質を問題としている。一方、種苗生産の場では、親魚が自発的に成熟、産卵することはむしろまれで、多くの魚種で水温変化などの環

2009年8月19日受付, 2009年12月21日受理

愛媛大学南予水産研究センター

Ehime University, South Ehime Fisheries Research Center, 1289-1 Funakoshi, Ainan, Ehime 798-4292, Japan

matsu@agr.ehime-u.ac.jp

境刺激やホルモン投与など人為的に最終成熟や排卵、産卵を誘発する場合が多い。こうした人為催熟の場合の受精率や孵化率低下要因の主なもの、排卵後の時間経過に伴う過熟 (over ripen) や人為催熟のためのホルモンの種類や投与量、また投与のタイミングなど、自然界では通常起こらない現象が問題となっている。栽培漁業や養殖の盛んな日本では、特に種苗生産における「卵質」改善策についての研究が進められているものの、問題点は魚種ごとに大きく異なっている。そこでこの項では、自然界でみられる「卵質」の問題の中で、特に卵の浮遊性調節に関する生理学的な側面に焦点をあてて、新たな視点からこの問題をとらえるための材料を提供したい。

## 2. 「卵質」と卵の浮遊性

資源変動要因の一因となり得る卵質の問題に関しては、前出の (2) 卵の大きさ、(3) 親魚の年齢、(4) 環境による影響に興味が持たれてきた。このうち卵の大きさは仔魚の栄養状態や体サイズを左右し、一般的に大きい卵ほど生残に有利であると考えられている (Brooks et al., 1997; Green, 2008)。しかし、飼育下では卵の大小による生残への影響はないとする報告もある。また、親魚の年齢に関しては、初回成熟の若い親魚よりも既に産卵経験のある親魚から産み出された卵のほうが卵質がよいと考えられている (Bromage and Cumaranatunga, 1988; Trippel, 1998; Vallin and Nissling, 2000)。産卵魚では、卵形成を制御する内分泌系が安定していることや、体が大きく卵黄蓄積に必要な栄養の蓄えが多いことなどがその原因であると予想されている。

一方、産卵環境の変化に影響を受ける卵の性質として、海産真骨魚類の浮遊性卵の比重がある。真骨魚類の卵はそれらが産み出される環境水に対して相対的に浮くか、あるいは中立となる浮遊性卵 (pelagic egg) と沈む沈性卵 (demersal egg) に大別される。浮遊性卵の多くはおおむね海水と同じかやや軽い比重をもち、それぞれの種あるいは個体群が利用する産卵場の環境に適した性質の卵を産んでいる。すなわち、卵の浮遊性は厳密に制御され、さらにその種の産卵場の拡大や変更に伴って変化する環境水の比重に適応していく必要がある。端的な例はバルチック海の Atlantic cod *Gadus morhua* でみられる (Nissling and Westin, 1991)。バルチック海の個体群は約 12–15 の極めて低い塩分の海域で産卵し、産卵場の環境は北海からの水の流入の影響を受けて変動をする。一方、卵のは海水の塩分に換算して 12.3–16.9 に相当する比重であるため、海水の塩分が低下した年あるいは場所で産卵が行われた場合、卵は底層にある低酸素層まで沈降し、死亡すると考えられている。Atlantic cod には個体群により前出のような低塩分の海域で産卵するものと塩分 32 の外洋で産卵するグループがあり、こうした環境にそれぞれ順応した比重の卵が産み出されて

いる (Thorsen et al., 1996)。カレイ類での実験結果から、個体群ごとの卵の比重は基本的に遺伝的に制御されていると考えられている (Solemdal, 1967, 1973)。このように産卵環境と卵の浮遊性のミスマッチが再生産の失敗の原因となる可能性がある。これらは劇的な環境の変化がみられる特殊な海域での事例であるが、栽培漁業において産卵場の異なるグループを親魚に用いて種苗を生産し、放流した場合に、卵の浮遊性の違いとその遺伝性により、在来グループの再生産にまで負の影響を与える可能性があることを示している。

## 3. 卵の浮遊性調節機構

浮遊性卵を産む真骨魚類にはクロマグロ *Thunnus orientalis*、スケトウダラ *Theragra chalcogramma*、マダイ *Pagrus major*、マイワシ *Sardinops melanostictus*、ウナギ *Anguilla japonica* など漁業資源や増養殖対象の主要魚種が多く含まれる。一方、沈性卵を産む種にはサケ *Oncorhynchus keta*、コイ *Cyprinus carpio* といった淡水中で産卵する魚種やマダラ *Gadus macrocephalus*、ホッケ *Pleurogrammus azonus*、ニシン *Clupea pallasii* など沿岸の浅海域で産卵するものが含まれる。真骨魚類の卵にみられる浮遊性、沈性といった性質には、系統分類学的な傾向はなく、浮遊性卵を産むマイワシと沈性卵のニシン、浮遊性卵のスケトウダラと沈性卵のマダラのように近縁種であっても異なる場合が数多くみられる。浮遊性卵と沈性卵を分かつ生理的差異は明確でない場合もあるが、一般に浮遊性卵では内部に多量の水を蓄えていることが知られている (Cerdà et al., 2007 参照)。通常、沈性卵の水分は 60% から 70% であるのに対して浮遊性卵では 90% 以上である。卵の構造の中で、卵を被覆する卵膜はタンパクにより構成される密な構造を持ち、海水と比較して比重は高い (Oppen-Berntsen et al., 1990)。また、卵細胞質中には浮遊性、沈性の別なく含まれるタンパク質、核酸、塩類のほか、比重の軽い油球 (oil droplet) を含む。油球の量は浮遊性、沈性といった卵の性質とは必ずしも一致せず、浮力の一助とはなるものの主要な原動力ではないとされている (Craik and Harvey, 1987; Thorsen et al., 1996)。一方、海産魚の浮遊性卵には、多量の水が含まれているが、卵内の浸透圧は通常の細胞と同様であり、Atlantic cod では 328 mOsm 程度 (Nissling et al., 1994) と、海水に比べて著しく低張である。このように卵内部に蓄えられた低張な溶液により、卵は浮力を獲得していると考えられる (Cerdà et al., 2007 参照)。

浮遊性卵が水を蓄えるのは卵の発達の最終段階である最終成熟期 (final oocyte maturation) に限定される。通常、真骨魚類では約 1 ヶ月から半年ほどの長い時間をかけて卵黄を蓄積し、著しい成長をする。この時期は卵黄形成期と呼ばれる (高野, 1989)。組織学的観察では、卵黄形成期の卵母細胞の像は浮遊性卵と沈性卵で大きな差はなく、水

分もマツカワ *Verasper moseri* の卵黄形成終了期の卵母細胞で69%と沈性卵と同程度の値を示すが、最終成熟を経ると水分は91%にまで顕著に増加する (Matsubara and Koya, 1997). 最終成熟期の水分の増加は吸水 (oocyte hydration) と呼ばれ、程度の差はあるものの浮遊性卵, 沈性卵双方にみられる (Cerdà et al., 2007 参照).

浮遊性卵の顕著な吸水を引き起こす原因は遊離アミノ酸の増加にあることが示唆されている (Craig and Harvey, 1987; Thorsen and Fyhn, 1996; Matsubara and Koya, 1997). 増加した遊離アミノ酸は卵母細胞内部の浸透圧を高め、母体からの水の移動を引き起こす。この遊離アミノ酸は卵黄タンパクの一部が分解されて生じ (Wallace and Begovac, 1985; Wallace and Selman, 1985; Greeley et al., 1986; Matsubara and Sawano, 1995; Thorsen et al., 1996; Ohkubo et al., 2006), これが卵の浮遊性獲得の主体的役割を担っていると考えられている。近年、海産魚の卵の浮遊性調節機構について新たな展開がみられている。その1つは、棘鱗上目や側棘鱗上目といったいわゆる高等なグループにおいて、2型のビテロジェニン (vitellogenin; Vg) に由来する卵黄タンパクを不均等に分解することで、大量でしかも一定量の遊離アミノ酸を作り出している点である (Matsubara et

al., 1999; Reith et al., 2001; Sawaguchi et al., 2006; Finn, 2007; Amano et al., 2008; Reading et al., 2008). こうした高等な魚種には、ビテロジェニン A, B, C (VgA, VgB, VgC) と呼ばれる3型のビテロジェニン遺伝子が存在する (Matsubara et al., 2003; Sawaguchi et al., 2005a; Hiramatsu et al., 2006). これらはまた、Finn and Kristoffersen (2007) により VgAa, VgAb, VgC と呼ぶことが提唱されている。各 Vg 遺伝子の解析とタンパクの分析から、VgA と VgB はその内部に N 末端側からリポビテリン重鎖、ホスピチン、リポビテリン軽鎖、ベータ成分、C 末端成分からなる将来卵黄タンパクとなる部分を含む完全な構造をもつものに対し、VgC はホスピチン以下の構造が不完全であることが明らかになっている。また、量的解析からも VgC に由来する卵黄タンパクは VgA, B に比べて少なく、主要な卵黄タンパクではないと考えられる (Ohkubo et al., 2003; Sawaguchi et al., 2005b).

Fig. 1 に複数のビテロジェニン由来の卵黄タンパクによる卵の浮遊性調節機構の模式図を示した。VgA と VgB は卵黄形成期を通じて卵母細胞内に取り込まれ、3種類の卵黄タンパク (リポビテリン: lipovitellin, ホスピチン: phosvitin, ベータ成分:  $\beta'$ -component) に分解されて卵黄球 (yolk globule) 内に蓄積される。最終成熟期には VgA,

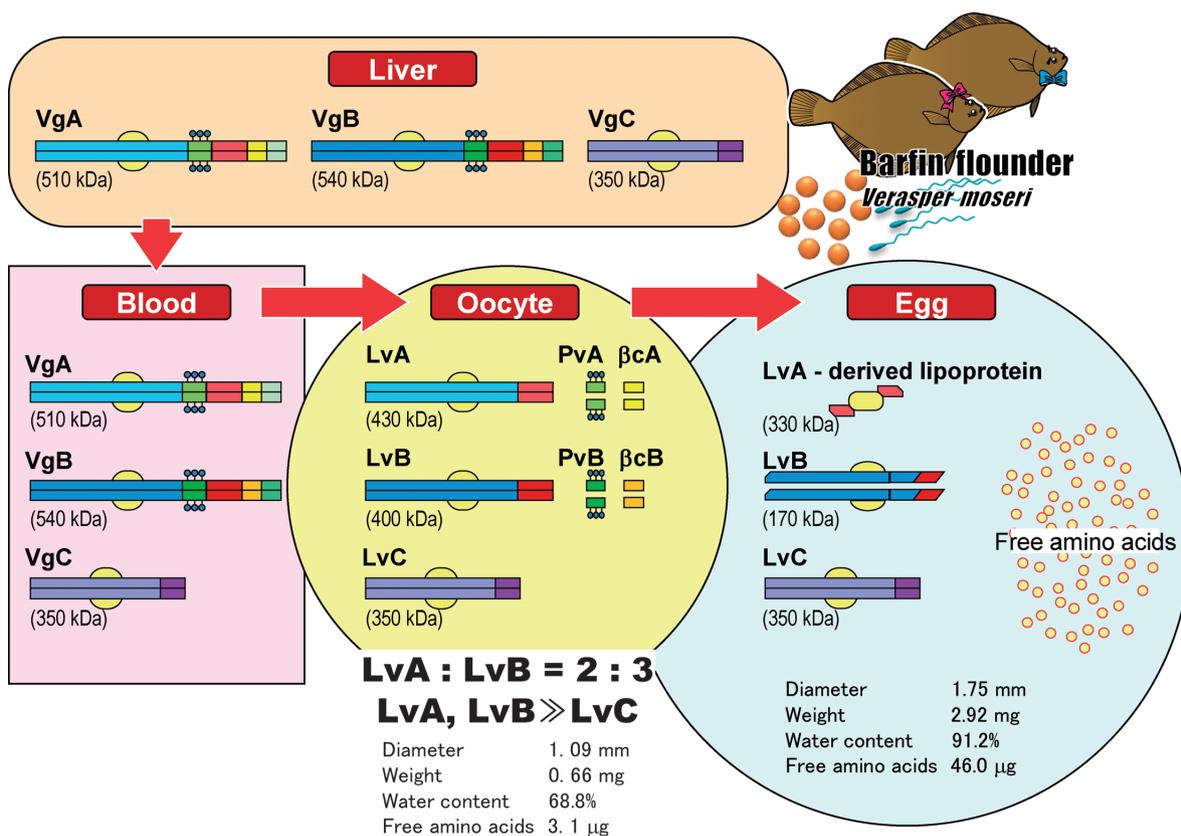


Figure 1. Dual-Vg control system for oocyte hydration in barfin flounder *Verasper moseri*. Vg: vitellogenin, Lv: lipovitellin, Pv: phosvitin,  $\beta$ :  $\beta'$ -component.

B由来のホスピチンとベータ成分はいずれも分解され遊離アミノ酸になる。一方、最も分子量の大きいリポビテリンAとBは全く異なった運命をたどり、リポビテリンAはその分子の大半の部分が分解されるのに対し、リポビテリンBはほとんど分解を受けない。こうした不均等な分解によって大量の遊離アミノ酸が作り出され、それらが卵母細胞内部の浸透圧を高めることによって内部への水の流入を引き起こす。卵黄タンパクの限定的分解にはシステインプロテアーゼであるカテプシンBやLが関与しており (Carnevali et al., 1999; Matsubara et al., 2003; Febra and Cerdà, 2004), それらはプロトンポンプを介した卵内部のpH調節により活性が制御されていると考えられる (Selman et al., 2001; Matsubara et al., 2003)。卵内への水の移動には水分子のみを選択的に通すアクアポリン (aquaporin 1o) という膜タンパクが関与していることが知られている (Cerdà et al., 2007 参照)。

2型のビテロジェニンを利用した吸水機構では、卵母細胞内に蓄積されるVgA, VgB由来の卵黄タンパクの量的比率により卵内に導かれる水の量が調節されていると考えられる (Matsubara et al., 1999)。蓄積されるVgA, VgB由来の卵黄タンパクの比率は種ごとに、さらには産卵環境を異にする個体群毎に遺伝的に決定づけられていると推察される。たとえば、より塩分濃度の低い産卵環境に対応するためにはVgAの比率を高めていると予測される。最近、VgA, VgB, VgCを特異的に定量するための免疫測定系がボラ *Mugil cephalus* (Amano et al., 2008) やマツカワ (Sawaguchi et al., 2008) で確立されたことから、それぞれのビテロジェニンの合成、取り込みの遺伝的制御について今後解明されることが期待される。

#### 4. まとめ

浮遊性卵を産む多くの魚種は多回産卵し、一産卵期に繰り返し産卵を行う。これは最終成熟期の極度の吸水により、一度に多数の卵を産むことが困難であることに起因すると思われる。多回産卵魚の成熟様式には2つのタイプがあり、その年の産卵期に産み出される卵母細胞がそろって発達し、産卵期を迎える卵群同期発達型 (group-synchronous oocyte development) と卵母細胞が逐次発達し、卵黄蓄積を完了した卵母細胞から最終成熟、排卵へと至る非同期発達型 (asynchronous oocyte development) に分類される (高野, 1989)。前者には、同期的に発達した卵群の中から産卵期に一部ずつ最終成熟・排卵へと繰り返し進むマツカワやスケトウダラのほか、1年に1回産卵するニジマス *Onchorhynchus mykiss* やトラフグ *Takifugu rubripes* などの魚種も含まれる。また、非同期発達型にはマダイやカタクチイワシ *Engraulis japonicus* などが属する。

こうした多回産卵魚では産卵期間中に卵の大きさや比重に変化がみられる場合がある。Trippel (1998) によれば、

Atlantic codでは約1ヶ月の産卵期間に産み出される卵の卵径は経産卵魚で約11% (1.6mmから1.4mm程度へ) 減少し、それに伴って仔魚の体長や乾燥重量も減少する。この魚種の場合には産卵期中の卵の小型化と卵内部の栄養の減少は一致して起こっている。しかしながら、卵の浮遊性は卵黄タンパクの限定的分解とそれによって導入される水の量により決定づけられ、卵内に取り込まれたVgAとVgBの比率により変化する。したがって、卵の大きさの変化や比重の変化については、卵内の栄養量の変化とは独立したものであることに注意する必要がある。Atlantic codで、産卵期を通して卵の比重が比較的安定していることを考えれば、水分含量、内部のVgAとVgB由来の卵黄タンパクの比率、卵膜重量は卵サイズの変化と共に高度なバランスがとられている。すなわち、産卵期にみられる卵サイズの変化は、単純に親からの供給栄養の欠乏によって小型化したと考えるよりも、比重の安定化を伴う複雑な調節を内包した変化である可能性がうかがわれる。卵の大きさや比重の変化の原因を知るには蓄積されたVgAとVgBの比率を調べる必要がある。現在、VgAとVgBに由来する各卵黄タンパクを特異的に測定することが可能となっており、それらを駆使した研究が今後の課題といえよう。

多回産卵魚では、卵のサイズ以外に卵質に関してもう一つ興味深い現象がみられる場合がある。産卵期が長く、卵母細胞が同期的な発達を遂げるマツカワでは、産卵期の初期に産み出される卵と後期のもでは卵黄蓄積終了後に経過する時間が大きく異なり、長時間排卵されることなく卵巣内で維持される間に卵質は低下し、受精率が下がる現象がみられる (Koya et al., 1994)。こうした卵質低下は卵母細胞の退行初期の現象である可能性があり、同様の成熟・排卵様式をもつ魚種では、野生の状態でも起こり得る可能性がある。

今回は、海産魚類の浮遊性調節機構に着目した「卵質」に限って述べた。しかしながら、先に紹介したように、産み出された卵のよし悪しは、親由来の遺伝子の問題にはじまり、卵形成期の親魚が生息した海域の物理環境や餌料の豊度と卵母細胞の退行の有無、親魚の産卵経験や卵形成にかかわる内分泌応答、産卵場での雌雄の産卵行動や産卵のタイミングと排卵後の経過時間、産卵場の水温、塩分濃度、気象と卵の性状など多くの段階を経た複合的な結果であり、卵質低下の原因を特定することは容易ではない。さまざまな魚種で、「卵質」低下の原因解明やその改善に関する研究への要望は強く、最新の実験技術による新たな視点からの研究が期待されている。

#### 引用文献

Amano, H., T. Fujita, N. Hiramatsu, H. Kagawa, T. Matsubara, C. V. Sullivan and A. Hara (2008) Multiple vitellogenin-derived yolk proteins in grey mullet (*Mugil cephalus*): disparate proteolytic patterns associated with ovarian follicle maturation. *Mol. Reprod. Develop.*, **75**,

- 1307–1317.
- Bromage, N. R. and R. Cumaranatunga (1988) Egg production in the rainbow trout. In: Recent Advances in Aquaculture, eds. J. F. Muir and R. Roberts, Croom Helm, London and Sydney, 63–138.
- Brooks, S., C. R. Tyler and J. P. Sumpter (1997) Egg quality in fish: What makes a good egg? *Rev. Fish Biol. Fish.*, **7**, 387–416.
- Carnevali, O., R. Carletta, A. Cambi, A. Vita and N. Bromage (1999) Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*. Involvement of two lysosomal proteases. *Biol. Reprod.*, **60**, 140–146.
- Cerdà, J., M. Febra and D. Raldúa (2007) Physiological and molecular basis of fish oocyte hydration. In: The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications, eds. P. J. Babin, J. Cerdà and E. Lubzens, Springer, Dordrecht, 349–396.
- Craik, J. C. A. and S. M. Harvey (1987) The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **67**, 169–182.
- Febra, M. and J. Cerdà (2004) Ovarian cysteine proteases in the teleost *Fundulus heteroclitus*: molecular cloning and gene expression during vitellogenesis and oocyte maturation. *Mol. Reprod. Dev.*, **67**, 282–294.
- Finn, R. N. (2007) The maturational disassembly and differential proteolysis of paralogous vitellogenins in a marine pelagophil teleost: a conserved mechanism of oocyte hydration. *Biol. Reprod.*, **76**, 936–948.
- Finn, R. N. and B. A. Kristoffersen (2007) Vertebrate vitellogenin gene duplication in relation to the “3R hypothesis”: correlation to the pelagic egg and the oceanic radiation of teleosts. *PLoS ONE* 2(1): e169 doi: 10.1371/journal.pone.0000169.
- Greeley, M. S., D. R. Calder Jr. and R. A. Wallace (1986) Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation: Correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration. *Comp. Biochem. Physiol.*, **84B**, 1–9.
- Green, B. S. (2008) Maternal effects in fish populations. *Adv. Mar. Biol.*, **54**, 1–105.
- Hiramatsu, N., T. Matsubara, T. Fujita, C. V. Sullivan and A. Hara (2006) Multiple piscine vitellogenins: biomarkers of fish exposure to estrogenic endocrine disruptors in aquatic environments. *Mar. Biol.*, **149**, 35–47.
- Koya, Y., T. Matsubara and T. Nakagawa (1994) Efficient artificial fertilization method based on the ovulation cycle in barfin flounder *Verasper moseri*. *Fish. Sci.*, **60**, 537–540.
- Matsubara, T. and Y. Koya (1997) Course of proteolytic cleavage in three classes of yolk proteins during oocyte maturation in barfin flounder *Verasper moseri*, a marine teleost spawning pelagic eggs. *J. Exp. Zool.*, **278**, 189–200.
- Matsubara, T., M. Nagae, N. Ohkubo, T. Andoh, S. Sawaguchi, N. Hiramatsu, C. V. Sullivan and A. Hara (2003) Multiple vitellogenins and their unique roles in marine teleosts. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 295–299.
- Matsubara, T., N. Ohkubo, T. Andoh, C. V. Sullivan and A. Hara (1999) Two forms of vitellogenin, yielding two distinct lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of barfin flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. *Dev. Biol.*, **213**, 18–32.
- Matsubara, T. and K. Sawano (1995) Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). *J. Exp. Zool.*, **272**, 34–45.
- Nissling, A., H. Kryvi and L. Vallin (1994) Variation in egg buoyancy of Baltic cod *Gadus morhua* and its implications for egg survival in prevailing conditions in the Baltic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **110**, 67–74.
- Nissling, A. and L. Westin (1991) Egg buoyancy of Baltic cod (*Gadus morhua*) and its implications for cod stock fluctuations in Baltic. *Mar. Biol.*, **111**, 33–35.
- Ohkubo, N., K. Mochida, S. Adachi, A. Hara, K. Hotta, Y. Nakamura and T. Matsubara (2003) Development of enzyme-linked immunosorbent assays for two forms of vitellogenin in Japanese common goby (*Acanthogobius flavimanus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **131**, 353–364.
- Ohkubo, N., S. Sawaguchi, T. Hamatsu and T. Matsubara (2006) Utilization of free amino acids, yolk protein and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of walleye pollock *Theragra chalcogramma*. *Fish. Sci.*, **72**, 620–630.
- Oppen-Berntsen, D. O., J. V. Helvik and B. T. Walther (1990) The major structural proteins of cod (*Gadus morhua*) eggshells and protein crosslinking during teleost egg hardening. *Dev. Biol.*, **137**, 258–265.
- Reading, B. J., N. Hiramatsu, S. Sawaguchi, T. Matsubara, A. Hara, M. O. Lively and C. V. Sullivan (2008) Conserved and variant molecular and functional features of multiple egg yolk precursor proteins (vitellogenins) in white perch (*Morone americana*) and other teleosts. *Mar. Biotechnol.*, **11**, 169–187.
- Reith, M., J. Munholland, J. Kelly, R. N. Finn and H. J. Fyhn (2001) Lipovitellins derived from two forms of vitellogenin are differentially processed during oocyte maturation in haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *J. Exp. Zool.*, **291**, 58–67.
- Sawaguchi, S., H. Kagawa, N. Ohkubo, N. Hiramatsu, C. V. Sullivan and T. Matsubara (2006) Molecular characterization of three forms of vitellogenin and their yolk protein products during oocyte growth and maturation in red seabream (*Pagrus major*), a marine teleost spawning pelagic eggs. *Mol. Reprod. Dev.*, **73**, 719–736.
- Sawaguchi, S., Y. Koya, N. Yoshizaki, N. Ohkubo, T. Andoh, N. Hiramatsu, C. V. Sullivan, A. Hara and T. Matsubara (2005a) Multiple vitellogenins (Vgs) in mosquitofish (*Gambusia affinis*): Identification and characterization of three functional Vg genes and their circulating and yolk protein products. *Biol. Reprod.*, **72**, 1045–1060.
- Sawaguchi, S., N. Ohkubo, H. Amano, N. Hiramatsu, A. Hara, C. V. Sullivan and T. Matsubara (2008) Controlled accumulation of multiple vitellogenins into oocytes during vitellogenesis in the barfin flounder, *Verasper moseri*. *Cybio*, **32**, 262.
- Sawaguchi, S., N. Ohkubo, Y. Koya and T. Matsubara (2005b) Incorporation and utilization of multiple forms of vitellogenin and their derivative yolk proteins during vitellogenesis and embryonic development in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Zool. Sci.*, **22**, 701–710.
- Selman, K., R. A. Wallace and J. Cerdà (2001) Bafilomycin A1 inhibits proteolytic cleavage and hydration but not yolk crystal disassembly and meiosis during maturation of sea bass oocytes. *J. Exp. Zool.*, **290**, 265–278.
- Solemndal, P. (1967) The effect of salinity on buoyancy, size and the development of flounder eggs. *Sarsia*, **29**, 431–442.
- Solemndal, P. (1973) Transfer of Baltic flatfish to a marine environment and the long term effects on reproduction. *Oikos Suppl.*, **15**, 268–276.
- 高野和則 (1989) 卵巣の構造と配偶子形成。「水族繁殖学」隆島忠夫・羽生 功編, 緑書房, 東京, 3–34.
- Thorsen, A. and H. J. Fyhn (1996) Final oocyte maturation *in vivo* and *in vitro* in marine fishes with pelagic eggs; yolk protein hydrolysis and free amino acid content. *J. Fish Biol.*, **48**, 1195–1209.
- Thorsen, A., O. S. Kjesbu, H. J. Fyhn and P. Solemdal (1996) Physiological mechanisms of buoyancy in eggs from brackish water cod. *J. Fish Biol.*, **48**, 457–477.
- Trippel, E. A. (1998) Egg size and viability and seasonal offspring production of young Atlantic cod. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **127**, 339–359.
- Vallin L. and A. Nissling (2000) Maternal effects on egg size and egg buoyancy of Baltic cod, *Gadus morhua*: implication for stock structure effects on recruitment. *Fish. Res.*, **49**, 21–37.
- Wallace, R. A. and P. C. Begovac (1985) Phosvitins in *Fundulus* oocytes and eggs. Preliminary chromatographic analyses together with biological considerations. *J. Biol. Chem.*, **260**, 11268–11274.
- Wallace, R. A. and K. Selman (1985) Major protein changes during vitellogenesis and maturation of *Fundulus* oocytes. *Dev. Biol.*, **110**, 492–498.