

ブリの卵黄形成期における血中ステロイドホルモン 並びにビテロゲニン量の変動

大池 数臣・原 彰彦^{1*}・足立 伸次^{2*}・有元 操^{3*}
水田 洋之介^{3*}・長浜 嘉孝^{2*}

Changes in Serum Concentrations of Steroid Hormones and Vitellogenin During the Period of Vitellogenesis in the Yellowtail *Seriola quinqueradiata*

Kazuomi OUCHI, Akihiko HARA, Shinji ADACHI, Misato ARIMOTO,
Younosuke MIZUTA and Yoshitaka NAGAHAMA

Changes in serum concentrations of estradiol-17 β , testosterone, 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17 α ,20 β -diOHprog) and vitellogenin during the period of vitellogenesis in the yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) were investigated. Serum estradiol-17 β levels gradually increased during the course of vitellogenesis to reach a peak (8-9 ng/ml) in late vitellogenesis. The changes in estradiol-17 β levels were correlated with changes in gonadosomatic index and ovarian histology. Furthermore, the variations in estradiol-17 β levels coincided well with those of serum vitellogenin levels. The changes of serum testosterone levels were almost similar to those of estradiol-17 β during the period of vitellogenesis, although the magnitude of the elevation in testosterone was larger than in estradiol-17 β . 17 α ,20 β -diOHprog levels were very low (30-170 pg/ml) during the period of vitellogenesis. These results are discussed in relation to other studies on the role of these steroid hormones in the vitellogenesis of yellowtail.

魚類の卵形成機構に関しては、主として数種の淡水産魚類やサケ科魚類を中心に研究が行われてきており、生殖腺刺激ホルモンの作用により卵巣で生成される種々のステロイドホルモンが卵形成に重要な役割を果たすことが明らかにされている。中でも卵黄形成を促進するエストラジオール-17 β やサケ科魚類で卵の最終成熟を誘起すると考えられている黄体ホルモンの一種である17 α , 20 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (17 α , 20 β -diOHprog) などが硬骨魚の卵形成を調節する主な性ステロイドとして知られている (FOSTIER et al. 1983, GOETZ 1983, NAGAHAMA 1987)。

1988年4月12日受理, 南西海区水産研究所業績第206号, 〒739-04 広島県佐伯郡大野町

*1 北海道大学水産学部附属し飯養魚実習施設 (Nanae Fish Culture Experimental Station, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Nanae, Kameda-gun, Hokkaido 041-11, Japan)

*2 基礎生物学研究所 (National Institute for Basic Biology, Okazaki 444, Japan)

*3 日本栽培漁業協会五島事業場 (Goto Station, Japan Sea Farming Association, Tamanoura, Minamimatsuura-gun, Nagasaki 853-05, Japan)

しかし、海産魚類におけるこの種の研究は少なく (CAMPBELL et al. 1976, WINGFIELD and GRIM 1977, YARON and BARTON 1980, 大池他 1985, 1988), 卵形成に関与するホルモン調節機構はほとんど調べられていない。近年、海産魚類の増養殖が盛んとなり、性成熟・産卵についての研究は親魚養成の管理技術や種苗生産の安定化のために重要な課題となっている。前報 (大池他 1985) では、産卵期におけるブリの卵巣卵熟度と性ステロイドの関係についての観察を行った。本研究ではブリの親魚養成技術の向上に資することを目的に、卵形成、特に比較的長期にわたる卵黄形成期におけるエストラジオール-17 β 、テストステロン、17 α , 20 β -diOHprog およびビテロゲニンの血中量の変動についてさらに詳細な検討を行った。

材料及び方法

実験魚は1983年5月に長崎県南松浦郡三井楽町の定置網で捕獲後、同郡玉之浦町荒川郷の日本栽培漁業協会五島事業場に運び地先の海上生簀で飼育したブリ *Seriola quinqueradiata* を用いた。これらの魚を1983年12月に循環濾過方式の屋内水槽 (ドーナツ型コンクリート製, 400 t) とかけ流し方式の屋外水槽 (角形コンクリート製, 60 t) の2水槽に88尾, 12尾をそれぞれ収容した。収容時の平均体重は10.2kg, 平均尾又長は86.7cmであった。飼育期間内における各水槽の水温変化を Fig. 1 に示した。このさい、屋内水槽の水温は2月上旬から3月中旬までは14°C以下にならないように維持し、その後3月下旬には17°Cとなるように徐々に水温を上げ、4月上旬に18°C強に加温調節した。屋外水槽の場合は天然海水温下に置かれた。その間の水温は2月上旬の約12°Cから、変動しながら徐々に上昇し、4月20日には約19°Cとなった。飼育期間中のブリの餌料は主としてアジを用いた。実験魚は2月から4月にかけて、屋内水槽から5回計10尾、屋外水槽から4回計5尾を釣りまたは網によって採捕した。採捕後直ちに動脈球から注射器で採血し、遠心分離後に得られた血清は分析に供するまで-20°Cで保存した。生殖腺指数 (GSI) は卵巣重量 $\times 10^4$ /尾又長 3 として算出した。また卵巣卵の発達状態をみるために、卵巣中央部より細片を切り出し、10%ホルマリン液で固定後、定法に従って7 μ mのパラフィンまたはパラフィン-セロイジン切片を作製し、デラフィールドのヘマトキシリンとエオシンの染色を施し検鏡した。

ラジオイムノアッセイ エストラジオール-17 β 、テストステロンおよび17 α , 20 β -diOHprogの血中量は特異的ラジオイムノアッセイ法 (KAGAWA et al. 1981, KAGAWA et al. 1983b, YOUNG et al. 1983) によって測定した。

ビテロゲニンの抗血清 卵黄形成期の雌血清に対する家兎抗血清は、雌ブール血清と Complete adjuvant (Freund) を等量混合し乳化した液を家兎の背部皮下へ注射した。その量は1回目は2 ml, 2回目以降は1 mlを計4回、免疫間隔7—10日で行い、最終免疫7日後に頸静脈より全採血し抗血清を得た。作製した雌血清に対する抗血清は、さらに1/2量の成魚雄ブール血清を加え、一晚放置後遠心分離し上清を集め、抗雌血清を作製しビテロゲニンの測定に用いた。

ビテロゲニンの定量 血清中のビテロゲニンの定量はロケット免疫電気泳動 (WEEKE 1973) により行った。吸収抗雌血清の濃度は5%とし、試料の添加量は5 μ lとした。血清ビテロゲニン

の標準血清は産卵期雌の1個体の血清を便宜的に16,000単位とし、倍々希釈をしビテロゲンのスタンダードを作製した。一方、測定した血清は原血清を21倍、または41倍に希釈して電気泳動に供した。

結 果

生殖腺指数および生腺線組織像の変化 屋内水槽と屋外水槽のブリの GSI を Fig. 1 に示した。屋内水槽におけるブリの GSI は、2月6日では1.7と極めて低く、それらの卵巣の大部分

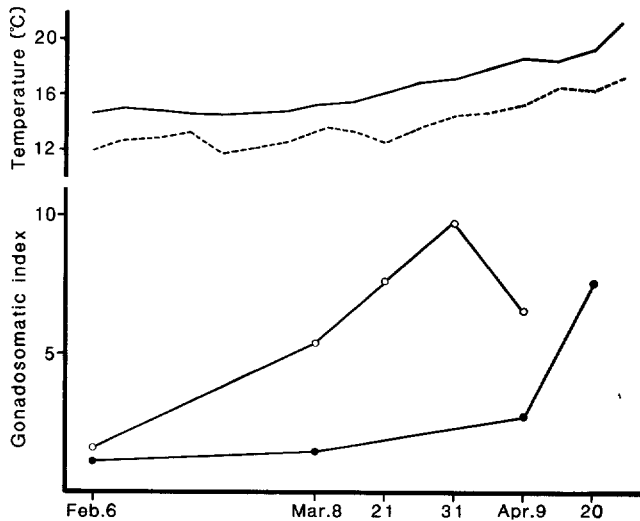


Fig. 1. Changes in gonadosomatic index and water temperature during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quiqueradiata*.
 —, water temperature in indoor tank;
 ·····, water temperature in outdoor tank;
 ○, fish in indoor tank;
 ●, fish in outdoor tank.

は周辺仁期の卵母細胞からなっていたが、ごく少数の卵黄胞期および第一次卵黄球期の卵母細胞も認められた (Plate 1-A)。その後 GSI は増加し、3月8日の個体では第三次卵黄球期まで発達した卵母細胞が出現した (Plate 1-B)。3月21日の個体では第三次卵黄球期の卵母細胞はさらにその数を増した。3月21日になるとブリの GSI は9.8と増大したが、その卵巣には第三次卵黄球期の大型卵母細胞に退行変性の組織像を示すものが多数観察された (Plate 1-C)。そして4月9日には GSI は減少し、それらの卵巣には著しく退行変性を呈する卵黄球期の卵母細胞が極めて多数認められた (Plate 1-D)。これに対して、屋外水槽のブリの GSI は、2月6日では1.2と低く、それらの卵巣のほとんどが周辺仁期の卵母細胞からなっていた (Plate 1-E)。その後 GSI は徐々に増加し、3月8日の個体の卵巣には少数の卵黄胞期と第一次卵黄球期の卵母細胞が出現した (Plate 1-F)。4月9日の個体では第二次卵黄球期の卵母細胞が認められるようになり (Plate 1-G)、さらに4月20日になると、GSI は7.6と急激に増加し、その卵巣に

は第三次卵黄球期の卵母細胞が多数観察された (Plate 1-H)。

血中ステロイドホルモン量の変化 屋内水槽のブリの血中エストラジオール-17 β 量は、2月6日では4.0 ng/mlであったが、第三次卵黄球期の卵母細胞が出現した3月8日には9.2 ng/mlと急激に増加した。その後3月31日まで高値を維持したが、4月9日には急減し、0.8 ng/mlと極めて低い値となった。これに対して、屋外水槽のブリの血中エストラジオール-17 β 量は2月6日の低い値(1.4 ng/ml)から卵黄形成期の卵母細胞の出現と発達に伴って徐々に増加し、4月9日には7.6 ng/mlと高い値を示した (Fig. 2)。

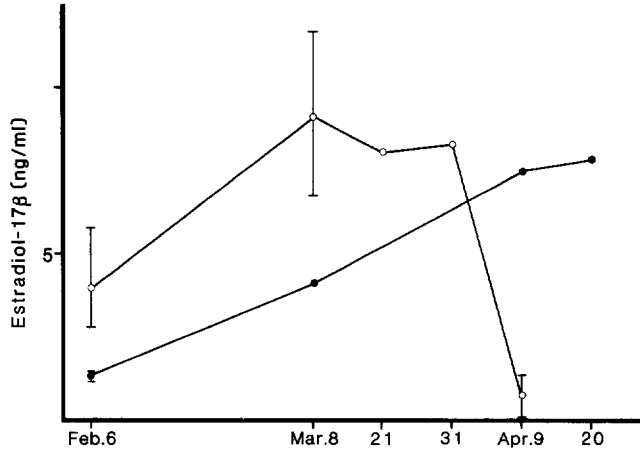


Fig. 2. Changes in serum estradiol-17 β levels during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Vertical bars indicate the range of levels.

○, fish in indoor tank;
●, fish in outdoor tank.

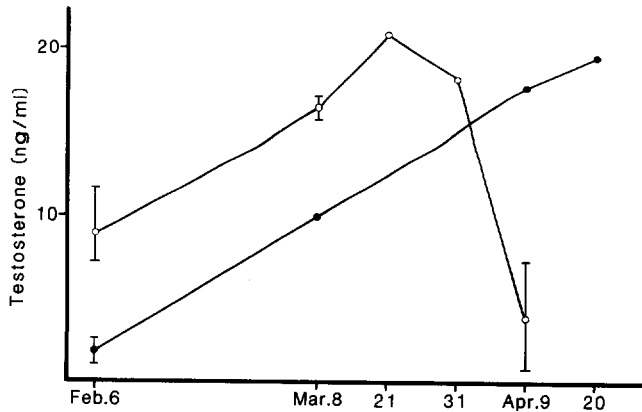


Fig. 3. Changes in serum testosterone levels during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Vertical bars indicate the range of levels.

○, fish in indoor tank;
●, fish in outdoor tank.

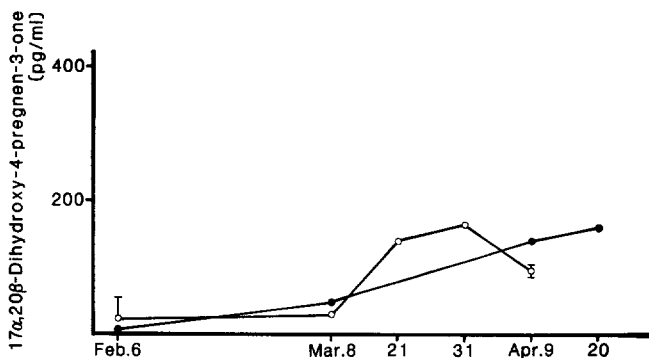


Fig. 4. Changes in serum $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Vertical bars indicate the range of the levels.

○, fish in indoor tank;
●, fish in outdoor tank.

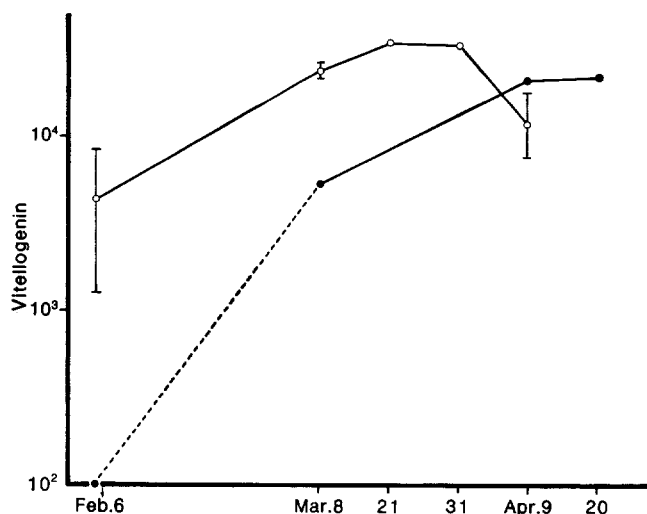


Fig. 5. Changes in serum vitellogenin levels during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Vertical bars indicate the range of the levels.

○, fish in indoor tank;
●, fish in outdoor tank.

屋外水槽のブリの血中テストステロン量は2月6日の8.8 ng/mlから増加し、3月8日から3月31日まで約16—20 ng/mlの高い値を維持したが、4月9日には4.0 ng/mlと急減した。これに対して、屋外水槽のブリの血中テストステロン量は、2月6日の低い値(1.8 ng/ml)から直線的に増加し、4月9日には19.5 ng/mlと高い値を示した (Fig. 3)。

血中 $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン量の変動もエストラジオール- 17β やテストステロンのそれに対応している傾向が示されたが、その量は170 pg/ml以下で、かなり低い値を維持した (Fig. 4)。

血中ビテロゲン量の変動 屋内水槽のブリの血中ビテロゲン量は、2月6日で4,350であったが、3月8日には23,900と急激に増加した。そして3月21日および31日も高値を維持したが、4月9日には11,800と急減した。これに対して、屋内水槽のブリの血中ビテロゲン量は、2月6日の低い値(100以下)から、3月8日には5,300と急増し、4月9日並びに20日には約20,000強の高い値を示した (Fig. 5)。

考 察

飼育水温が屋外水槽より約2℃高い屋内水槽で飼育したブリの性成熟は屋外水槽のブリのそれと比較してかなり速く進行した。しかし3月31日頃から退行卵が出現した。4月9日には退行卵の数が著しく増加すると共に GSI も低下した。ブリ退行卵の出現状態は、先づ第三次卵黄球期の卵母細胞の中でも特に大型の卵から始まり、順次小型の卵黄球期卵母細胞へと進む傾向がみられる。従って、卵黄形成後期の卵ほど退行が早いものと推察される。魚類卵巣での退行卵出現の原因については、前報(大池他 1985)でも述べた如く、主として釣り、網などによる採捕という人為的刺激的の反復がストレスとして影響したものと考えられるが、この点については親魚養成上重要な問題であり、今後さらに検討する必要がある。

屋内、屋外両水槽のブリで、血中エストラジオール-17 β 量の上昇は GSI の増大および卵黄蓄積卵の出現と増加によく一致した。さらに、エストラジオール-17 β 量の変動は血中ビテロゲン量の相対値のそれともよく一致し、ブリにおけるビテロゲンの合成はエストラジオール-17 β によって支配されていることが示唆された。このようなエストラジオール-17 β とビテロゲンの関係はブラウントラウト *Salmo trutta* (CRIM and IDLER 1978)、ニジマス *Salmo gairdneri* (IDLER and CAMPBELL 1980, van BOHEMEN and LAMBERT 1981) およびシロザケ *Oncorhynchus keta* (UEDA et al. 1984) などでも知られている。これらのことから、他の多くの魚と同様、海産魚ブリでもエストラジオール-17 β は肝臓でのビテロゲン合成を介して卵巣卵の卵黄形成を促進するホルモンであると考えられる。一方、卵黄球期の卵母細胞が著しく退行した4月9日の屋内水槽のブリで血中エストラジオール-17 β 量は極めて低い値を示した。前報(大池他 1985)でも述べたように、キンギョ *Carassius auratus* (長浜他 1983)*、やアマゴ *Oncorhynchus rhodurus* (KAGAWA et al. 1983b) の濾胞組織つき卵母細胞を *in vitro* 条件下で生殖腺刺激ホルモンと培養すると、エストラジオール-17 β が生成されるのは卵黄形成期の卵母細胞を取り囲む濾胞組織でのみ行われることが示されている。本研究のブリの場合も退行過程にある卵黄球期卵母細胞の濾胞組織は組織学的に退行像を呈しており、ステロイド生成能を欠くものと考えられ、これを反映して血中エストラジオール-17 β 量が低い値を示したものと推察される。なお、前報のブリ(大池他 1985)の場合よりも、血中エストラジオール-17 β 量が全体的に高い値を示したが、これは同じ魚種でも生理状態の相違でステロイド産生に差が生じたことによるものと思われる。本研究において、ブリの血中テストステロン量は卵黄蓄積卵の増加に伴っ

* 長浜嘉孝・足立伸次・香川浩彦:昭和59年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 162.

て上昇し、卵黄形成期卵母細胞の著しい退行と共に低下した。このように血中テストステロン量の変動はエストラジオール-17 β 量のそれとよく一致し、これまで報告されたキンギョ (KAGAWA et al. 1983a), カレイの一種である *Pseudopleuronectes platessa* (CAMPBELL et al. 1976), ツノガレイの一種である *Pleuronectes platessa* (WINGFIELD and GRIMM 1977) マダイ *Pagrus major* (大池他 1988) の例ともよく符号する。現在のところ雌魚の卵形成におけるテストステロンの正確な役割は不明であるが、これまでの *in vitro* の実験 (YOUNG et al. 1982, KAGAWA et al. 1982) などから、テストステロンがエストラジオール-17 β 生合成の前駆体となることが示唆されている。本研究におけるブリの血中テストステロン量の挙動から、海産魚ブリにおいてもテストステロンはエストラジオール-17 β 生合成の前駆体である可能性が示唆された。

2, 3の淡水魚並びに主として多くのサケ科魚類では17 α , 20 β -diOHrogの血中量が卵の最終成熟に著しく高い値を示すことが報告されている (YOUNG et al. 1983, KAGAWA et al. 1983a, UEDA et al. 1984, YAMAUCHI et al. 1985, HIROSE et al. 1985, KOBAYASHI et al. 1985)。さらに、17 α , 20 β -diOHprogは *in vitro* で、これまで調べられた殆んどすべての魚種で最も強い卵成熟誘起効果を示すことが知られている (GOETZ et al. 1983, NAGAHAMA et al. 1983)。最近、NAGAHAMA and ADACHI (1985) によってサケ科魚アマゴの卵成熟誘起物質が単離され、17 α , 20 β -diOHprogと同定された。これらの結果から、17 α , 20 β -diOHprogは数種の硬骨魚の卵成熟誘起ホルモンであると考えられている。この17 α , 20 β -diOHprogは海産魚でも、前産卵期並びに産卵期のツノガレイの一種 (WINGFIELD and GRIMM 1977) の血中でかなりの量が検出され、最近、産卵期のブリ (大池他 1985) の血中にもかなり存在することが判っている。本研究で得られたブリ血中の17 α , 20 β -diOHprog量は卵黄蓄積卵の増加に伴って僅かながら上昇する傾向がみられたが、その量は170 pg/ml以下と産卵期のブリの値 (400~1,000 pg/ml) よりもかなり低い値であった。ブリの卵黄形成期における17 α , 20 β -diOHprogの産生能はかなり低いことから、このホルモンは卵巣卵の卵黄形成には特に関与しないものと推察される。今後最終成熟過程 (卵黄蓄積を完了した卵母細胞が排卵直前の卵成熟を完了した透明卵になるまで) における種々のステロイドホルモンの経時変化を調べると共に、卵成熟誘起ホルモンについて、さらに検討することが必要である。

文 献

- CAMPBELL, C. M., J. M. WALSH, and D. R. IDLER, 1976: Steroids in the plasma of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* W. A seasonal study and investigation of steroid involvement in oocyte maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **29**, 14-20.
- CRIM, L. W., and D. R. IDLER, 1978: Plasma gonadotropin, estradiol, and vitellogenin and gonad phosphitin levels in relation to the seasonal reproductive cycle of female brown trout. *Ann. Biol. Biochem. Biophys.*, **18**, 1001-1005.
- FOSTIER, A., B. JALABERT, R. BILLARD, B. BRETON, and Y. ZOHAR, 1983: The gonadal steroid. In "Fish physiology" (ed. by W. S. HOAR, D. J. RANDALL and E. M. DONALDSON), Vol. IXA, Academic Press, New York, 277-372.

- GOETZ, F. W., 1983: Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In "Fish physiology" (ed. by W. S. HOAR, D. J. RANDALL and E. M. DONALDSON), Vol. IXB, Academic Press, New York, 117-170.
- HIROSE, K., Y. NAGAHAMA, S. ADACHI, and K. WAKABAYASHI, 1983: Changes in serum concentrations of gonadotropin, 17α -hydroxy-progesterone and $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one during synthetic LH-RH-induced final oocyte maturation and ovulation in the ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**(8), 1165-1169.
- IDLER, D. R., and C. M. CAMPBELL, 1980: Gonadotropin stimulation of estrogen and yolk precursor synthesis in juvenile rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **41**, 384-391.
- KAGAWA, H., K. TAKANO, and Y. NAGAHAMA, 1981: Correlation of plasma estradiol- 17β and progesterone levels with ultrastructure and histochemistry of ovarian follicles in the white-spotted char, *Salvelinus leucomaenis*. *Cell Tissue Res.*, **218**, 315-329.
- KAGAWA, H., G. YOUNG, S. ADACHI, and Y. NAGAHAMA, 1982: Estradiol- 17β production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: Role of the thecal and granulosa cells. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **47**, 440-448.
- KAGAWA, H., G. YOUNG, and Y. NAGAHAMA, 1983a: Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish *Carassius auratus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49** (12), 1783-1787.
- KAGAWA, H., G. YOUNG, and Y. NAGAHAMA, 1983b: Relationships between seasonal plasma estradiol- 17β and testosterone levels and *in vitro* production by ovarian follicles of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Biol. Reprod.*, **29** 301-309.
- KOBAYASHI, M., K. AIDA, and I. HANYU, 1985: Radioimmunoassay for silver carp gonadotropin. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**(7), 1085-1091.
- NAGAHAMA, Y., 1987: Gonadotropin action on gametogenesis and steroidogenesis in teleost gonads. *Zoological Science*, **4**, 209-222.
- NAGAHAMA, Y. and S. ADACHI, 1985: Identification of maturation-inducing steroid in a teleost, the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Develop. Biol.*, **109**, 428-435.
- NAGAHAMA, Y., K. HIROSE, G. YOUNG, S. ADACHI, K. SUZUKI, and B. TAMAOKI, 1983: Relative *in vitro* effectiveness of $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one and other pregnen derivatives on germinal vesicle breakdown in oocytes of ayu (*Plecoglossus altivelis*), amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*), rainbow trout (*Salmo gairdneri*), and goldfish (*Carassius auratus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **51**, 15-23.
- 大池一臣, 足立伸次, 長浜嘉孝, 松本 淳, 1985: 産卵期の養殖ブリと天然産ブリの卵巣卵熟度と血中ステロイドホルモン. *養殖研報.*, **7**, 13-20.
- 大池一臣, 足立伸次, 長浜嘉孝, 1988: マダイ雌の性成熟に伴う血中ステロイドホルモン量の変動. *日本誌.*, **54**(4), 585-591.
- UEDA, H., O. HIROI, A. HARA, K. YAMAUCHI, and Y. NAGAHAMA, 1984: Changes in serum concentrations of steroid hormones, thyroxine, and vitellogenin during migration of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **53**, 203-211.
- van BOHEMEN, Ch. G., and J. G. D. LAMBERT, 1981: Estrogen synthesis in relation to estrone, estradiol, and vitellogenin plasma levels during the reproductive cycle of the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **45**, 105-114.
- WEEK, B., 1973: Crossed immunoelectrophoresis. *Scand. J. Immun.*, **2**, Suppl. 1, 47-56.
- WINGFIELD, J. C. and A. S. GRIMM, 1977: Seasonal changes in plasma cortisol, testosterone and oestradiol- 17β in the plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **31**, 1-11.

- YAMAUCHI, K., H. KAGAWA, M. BAN, N. KASAHARA, and Y. NAGAHAMA, 1984: Changes in plasma estradiol-17 β , 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during final maturation of the masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**(12), p. 2137.
- YARON, Z. and C. BARTON, 1980: Stimulation of estradiol-17 β output from isolated ovarian fragments of the plaice (*Pleuronectes platessa*) by homologous pituitary extract. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **42**, 151-154.
- YOUNG, G., L. M. CRIM, H. KAGAWA, A. KAMBEGAWA, and Y. NAGAHAMA, 1983: Plasma 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): Correlation with plasma gonadotropin and *in vitro* production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **51**, 96-105.
- YOUNG, G., H. KAGAWA, and Y. NAGAHAMA, 1982: Secretion of aromatizable Δ^4 androgens by thecal layers during estradiol-17 β production by ovarian follicles of amago salmon (*Oncorhynchus rhodrus*) *in vitro*. *Biomed. Res.*, **3**, 659-667.

Plate 1

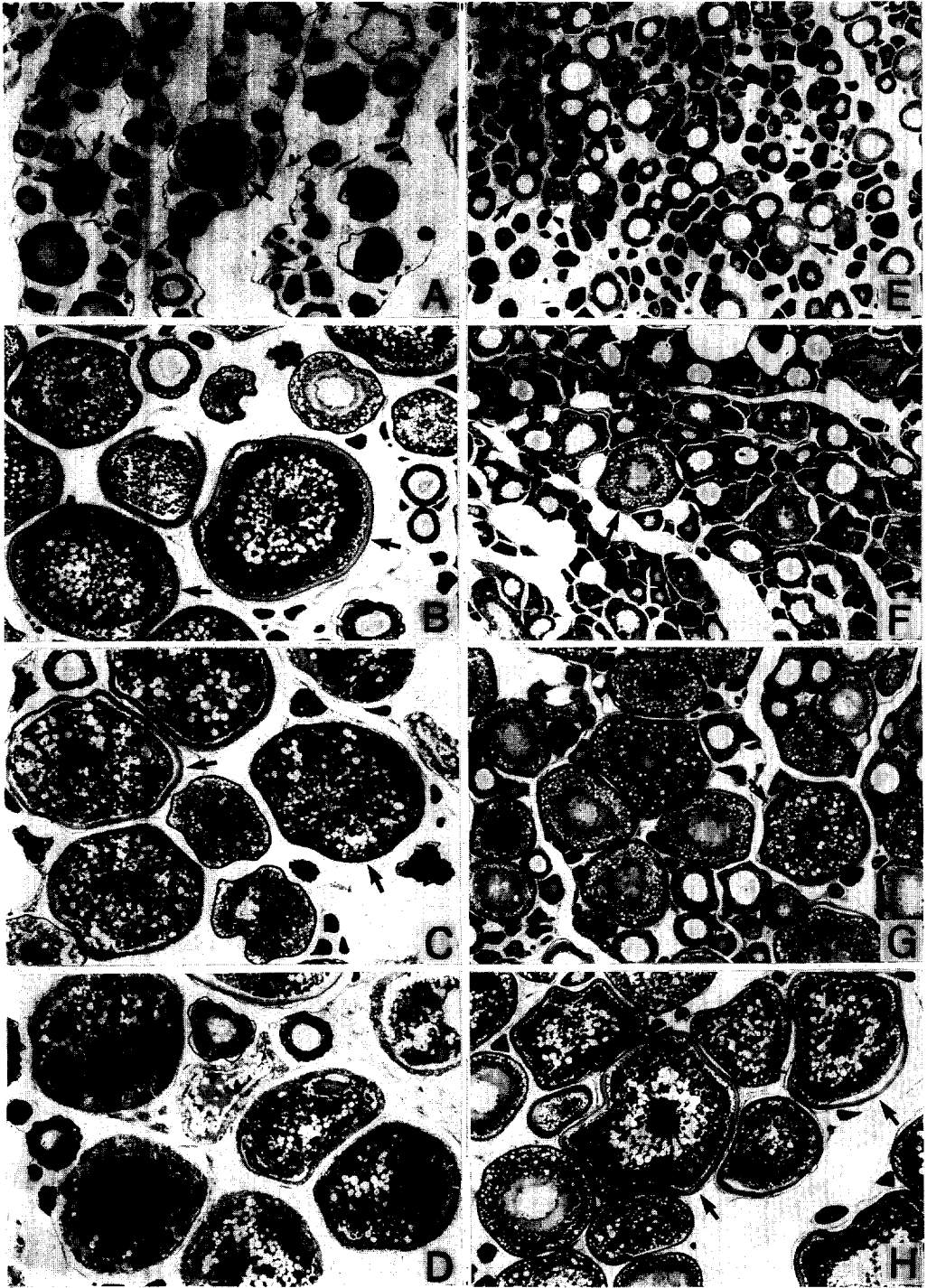


Plate 1. Variations in ovarian histology during the period of vitellogenesis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*.

A-D, Ovaries of fish in indoor tank; E-H, Ovaries of fish in outdoor tank. x42

- A. Ovary of an early vitellogenic fish collected on February 6. Oocytes in the primary yolk globule stage (arrows) are observed.
- B. Ovary of a late vitellogenic fish collected on March 21. Oocytes in the tertiary yolk globule stage (arrows) are visible.
- C. Ovary of a fish collected on March 31. Note a number of atretic oocytes (arrows).
- D. Ovary of a fish collected on April 9. A large number of advanced atretic oocytes are visible.
- E. Ovary of an immature fish collected on February 6. Only oocytes in the perinucleous stage (arrows) are observed.
- F. Ovary of an early vitellogenic fish collected on March 8. An oocyte in the primary yolk globule stage (arrow) is visible.
- G. Ovary of a middle vitellogenic fish collected on April 9. Oocytes in the secondary yolk globule stage (arrows) are observed.
- H. Ovary of a late vitellogenic fish collected on April 20. Oocytes in the tertiary yolk globule stage (arrows) are observed.