

比目鱼体色异常的机理与对策

MECHANISM AND CONTROL OF MALPIGMENTATION IN FLAT-FISH

王吉桥¹ 许建和¹ 张弼²(¹ 大连水产学院养殖系 116023)(² 大连湾海珍品育苗厂 116023)

正常的比目鱼,有眼面呈褐色或棕褐色,无眼面呈白色。但是,在自然界和人工养殖的鲆鲽中常大量出现体色异常的个体。这些鱼售价低,放流时易被敌害捕食,成活率低,是比目鱼养殖中的主要难题之一,引起国内外的广泛关注,并进行了深入地研究。

1 体色异常的形态特征

据 Seikai 1985 年报道,比目鱼的体色异常主要有 3 种情况:一是有眼面出现白斑即色素减少症,称为拟白化或白化症;二是无眼面出现黑斑即色素增加症;三是两面均有色素,称为双色症。依白化的形态和面积,拟白化又分为 8 种类型。

Roberts 1971 年的研究表明,鲆(*Pleuronectes platessa* L.)的皮肤由 4~12 层细胞厚而高度分化的膜结构,起保护和渗透调节功能。Seikai 1992 年认为,幼鱼的表皮由表皮细胞、氯细胞、成纤维细胞、黑色素细胞、虹细胞和黄色素细胞等构成。Seikai 和 Matsumoto 1992 年,1994 年也发现,变态前,成色素细胞分布在身体两侧,二羟苯丙氨酸(DOPA)阳性细胞均匀分布。一开始变态,有眼侧的黑色素细胞具有许多液胞,内含酪氨酸酶,逐步移向皮肤的表面,迅速扩散;变态后数量增加;而无眼侧的成色素细胞则逐渐溶解,数量减少。双色比目鱼两侧的黑色素细胞数相等。拟白化牙鲆皮肤上无色素区内黑色素细胞或成黑色素细胞周围具有许多具吞噬功能的噬黑色素细胞^[7]。Seikai 1985 年经过大量研究认为,体色正常的牙鲆变态期间,身体左右两侧皮肤黏液细胞的密度之比明显增加,而体色异常个体皮肤上的黏液细胞比例则低而稳定。

Seikai 等 1987 年,1992 年的研究表明,鲆(*Pleuronectes platessa*)变态期间,有眼面色素形成过程中色素细胞的变化是:变态前以黑色素细胞和黄色素细胞为主,而牙鲆的黄色素细胞退化,以黑色素细胞为主;眼开始移动时这些色素细胞的密度显著减少,牙

鲆变态期间色素细胞的密度无显著变化;眼移动期间和移至右侧后色素细胞,主要是黑色素细胞增加,稳定在成体密度(35 个/mm²)^[1],比马舌鲆(*Reinhardtius hippoglossoides*)低(220 个/mm²)。不同鲆鲽皮肤色素细胞的组成和变化特点为通过杂交等育种手段预防体色异常开阔了思路。体色异常还常引起其他形态和结构异常。Seikai 1980 年发现,正常体色的牙鲆全长 20.2 mm 时,首先沿侧线后半部分形成初生鳞,全长 54.0 mm 时全身被鳞。而体色异常的个体全长 22.1 mm 时才开始形成鳞片,全长 51.8 mm 时完成。虽然体色正常和异常牙鲆鳞片形成的部位相同,与李思发 1983 年等认为罗非鱼、鳗鲡、眼斑拟石首鱼和鲈等均属由后向前发展型是一致的,但 Seikai 早在 1980 年就发现,体色正常牙鲆初生鳞的发育速度较异常个体快得多,而且鳞大,棘和嵴多。Kawamura 和 Ishida 1985 年观察发现,牙鲆孵出后 3 d,眼色素加深,视觉系统的形态结构形成,呈正趋光性,开始主动摄食;孵出后 25~29 d,视杆细胞分化,视锥成对,变态结束转入底栖生活。因此,有人认为,体色异常的牙鲆视力弱,甚至是盲鱼,不能将光信号传入神经系统而导致体色异常。据 Seikai 等 1987 年和 Naess 1996 年测定,决定牙鲆仔鱼体色的关键时期是 D 期(全长 7.4~8.6 mm);庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)为开始摄食后 11~17 d(体长 16 mm)。

2 体色异常的机理

关于比目鱼体色异常的机理,目前研究较多。综

第一作者:王吉桥,出生于 1950 年,博士,教授。在研课题:辽宁省农业科技攻关项目“对虾健康养殖技术的研究”。

E-mail: dlmel@pub.dl.lnpta.net.cn

收稿日期:2000-07-25;修回日期:2001-03-10

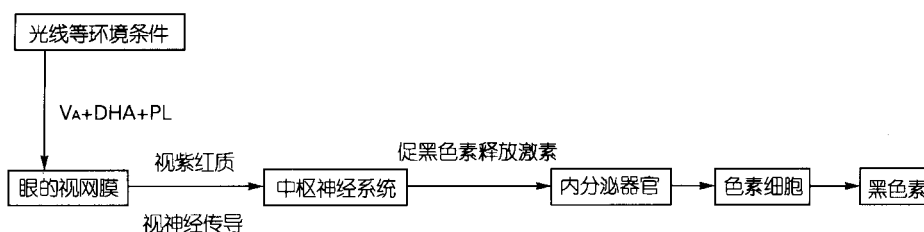


图1 比目鱼体色的形成和调控

合国内外的资料,笔者认为,比目鱼体色的形成受“环境-感觉器官-中枢神经-皮肤细胞”轴的调控(图1)。

2.1 视觉与体色异常

早在1985年, Hughes就报道了鲑鳟鱼的营养性眼病:缺乏维生素A(V_A)引起眼球突出、混浊,角膜和视网膜退化;缺乏维生素B₁(V_{B1})视网膜浑浊;缺乏维生素B₂(V_{B2})视网膜和晶体退化;缺乏含硫氨基酸、色氨酸或锌导致晶体浑浊。10日龄牙鲆摄食以脱脂乌贼和磷虾粉为蛋白源、以鳕肝油为脂源的饲料时,体色正常率(60.0%)明显高于摄食低蛋氨酸和高氧化油脂饲料的牙鲆(46.0%和37.6%),其视网膜结构的异同点列于表1。体色正常的牙鲆白天喜欢在有遮盖的暗处,晚间在无遮盖处,白化个体全天均在明暗处分散分布,表明其视觉接受光的能力弱。弱视力不能将视觉传递到中枢神经系统,进而不能产生促黑色素细胞激素,导致黑色素形成受阻。

2.2 中枢神经与体色异常

硬骨鱼类的色素形成受神经和内分泌的调控。Fujii和Oshima 1986年研究发现,释放儿茶酚胺的神经原控制脑垂体分泌促黑色素细胞生成激素,进而影响体色。肾上腺素、去甲肾上腺素和多巴胺等儿茶酚胺是应激时调控菱鲆(*Scophthalmus aquosus*)体色变化的主要激素。儿茶酚胺-O甲基转移酶与体色的缓慢变化有关,而酪氨酸酶则是黑色素生成的关键酶。黑色素在黑色素细胞内的合成分3步:酪氨酸先氧化成

二羟苯丙氨酸(DOPA);后者生成多巴奎宁;多巴奎宁在酪氨酸酶的作用下聚合成黑色素。通常,鱼的背部表面酪氨酸酶的含量和活性较腹面高,体色也较深。有些体色淡的鱼类酪氨酸酶的活性也很高,但黑色素细胞中没有黑色素,可能是存在多种形式的酪氨酸酶,其中有的处于抑制状态。

2.3 环境与体色异常

环境条件会影响鱼的色素形成,鱼也会改变体色适应其生活的背景。据Ellis T.等1997年报道,鲱鲈类的体色变化分为色素在色素细胞内移动而形成的快速应激变化和细胞间色素物质质量引起的缓慢变化两类。Gartner 1986年归纳了当时自然界出现的体色异常的鲱鲈类资料,发现体色异常的个体多见于沿岸浅水处,认为深度(即光照)与体色异常有关。后来证实紫外线B辐射能刺激牙鲆黑色素的生成。又据Densonl 1997年报道,孵出后第37天增加光照强度,可使低光照下部分白化的漠斑牙鲆(*Pamlichthys lethostigm*)体色正常,但变态时光照过强也会导致白化。Sdbakken等^[6]的实验也证实,饲养池水深40、10 cm或1.5 cm对庸鲈的体色无显著影响。Iwata和Kikuchi^[4]将全长50 mm的牙鲆饲养在3种背景下:(1)底无沙,具由下至上的光照;(2)无沙无光照;(3)有沙和光照。结果表明,(3)背景下的牙鲆无眼侧色素面积最低;(2)背景下色素面积最大;养殖水体的沙底对无眼侧色素增多的影响比光照更为重要。Seikai

表1 体色正常和异常牙鲆的视网膜结构比较

牙 鲆	色 素 上 皮	光 感 受 器
正常体色 牙 鲆	由构成玻璃膜的基膜上的单层立方细胞组成。这些细胞的顶部覆以不规则的长绒毛突起,与光感器外层交叉,黑色素颗粒就在顶区的细胞质中。细胞质中充满光面内质网,髓样体小而多,位于细胞基部近核处,为滑面内质网包围。	外层由双层膜盘迭成,膜盘平行完整,内外层之间有椭圆区,内含线粒体、粗面和滑面内质网和纵向微管束。
异常体色 牙 鲆	色素上皮细胞中的髓样体大而少,几乎充满整个细胞,位于顶部突起,与视锥交叉,无滑面内质网。	膜盘畸形:侧扁,边缘波浪形,间隔远。核退化、死亡。

1985 年也证实, 黑色池子中牙鲆的白化率比透明池子低。

2.4 营养与体色异常

人工饲养的白化鲆生长和存活正常, 表明造成白化的物质是与色素形成有关的营养成分。Yamamoto 等 1992 年报道, 摄食真鲷卵和天然浮游动物的牙鲆白化率最低。Estevez 1996 年和 Miki 等 1990 年在饵料(轮虫和卤虫)中添加适量的 $n-3$ 系列高度不饱和脂肪酸(HUFA), 尤其是二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)和维生素 E, 使 DHA/EPA 比值在 1.36, 也可有效预防大菱鲆和牙鲆^[1] 的白化病。大量实验表明, 维生素 A 和 E, DHA, EPA, 二十碳四烯酸(AA)和磷脂等是防止比目鱼体色异常的物质基础。但是, 这些物质的确切数量和适宜比例, 依实验条件的不同, 目前尚无一致的结论。

3 预防比目鱼体色异常的主要途径

孙光 1988 年曾从营养学(饲料的 EFA 与维生素组成及活饵的强化技术等)、生理学(细胞色素和神

经内分泌)和生态学(放养、养殖环境等)综述了体色异常的原因及预防措施。轮虫、卤虫幼体和成体大小适宜, 适口性和可得性强, 易于强化, 营养价值高, 是目前鱼类和甲壳类育苗中常用的活饵料, 也是经过强化后预防比目鱼体色异常的有效途径之一。但由于生活环境不同, 不同地区的天然活饵料营养成分和预防体色异常的效果也各异。Seikai 等 1987 年的实验表明, 牙鲆稚鱼摄食不同产地卤虫的白化率由高至低依次为: 巴西产卤虫(99.5%~100%)> 中国天津产卤虫(81.3%)> 美国旧金山产卤虫(21.1%~26.1%)。Estevez 等 1997 年的实验表明, 几种饵料生物或鱼油饲养或强化活饵料(轮虫和卤虫及其无节幼体)对防止牙鲆白化病的效果由强至弱依次为: 等鞭金藻> 小球藻、角毛藻> 面包酵母> 油脂酵母; 金枪鱼眼眶油> 乌贼肝油> 绿鳕肝油> 甲基油酸或 $n-3$ HUFA 甲酯。既然鲆的体色异常与 EFA 的含量及其比例有关, 饲料中 EFA 的种类组成、数量及其比例可参照鱼眼和天然饵料中 EFA 的数量比(表 2)。

Miki 等 1988 年, 1989 年, 1990 年和 Dedi 等 1995 年

表 2 牙鲆稚鱼视网膜和几种天然饵料中主要必需脂肪酸的组成

脂 肪 酸	牙鲆视网膜 (占极性脂肪酸%) ^①	哲水蚤无节幼体 (占总脂的%) ^②	绿光等鞭金藻 (占总脂肪酸%) ^[5]	真鲷卵 (占总脂肪酸的%) ^③
20: 4n-6	2.1		0.3	0.7~0.8
20: 5n-3	2.4	18.1	2.2	5.5~6.7
22: 6n-3	40.1	25.2	25.7	13.3~10.5
DHA/EPA	16.7	1.39	11.7	1.91~1.99

资料来源: ①Kanazawa (1993 年); ②Sargent 和 Falk - Petersen (1988 年); ③Yamamoto (1992 年)。

的研究证明, 用 $V_A(100 \times 10^3 \text{ IU})$ 强化的卤虫喂牙鲆, 可有效防止白化病, 但过量的 $V_A(500 \times 10^3 \text{ IU})$ 会引起尾骨畸形, V_A 软脂酸盐的安全剂量为 2 mg/L 卤虫培养液。 V_A 主要储存在肝里, 与视黄酸结合蛋白(RBP)结合运输到靶组织。 V_A 量超过了 RBP 的结合能力, 就会出现 V_A 副作用。 V_A 的主要活性物是视黄酸(RA), 其与特殊血清结合蛋白——视黄酸结合蛋白(RABP)结合。细胞中 RABP 的生产能力明显弱于 RBP, 所以, RA 是影响牙鲆脊椎发育的重要因素。RA 强化轮虫的浓度为 $5 \times 10^{-3} \sim 10 \times 10^{-3} \text{ L}$ 时, 牙鲆稚鱼的体色异常率和脊椎畸形率增加^[3]。综合各种资料及黄瑞等 1997 年报道, 用海水藻类和金枪鱼肝油(0.63 g/L), 再加 $V_A(10\ 000 \text{ IU/L})$ 强化轮虫, 预防牙鲆体色异常的效果较好。

鲆体色异常不仅与仔、稚鱼饲料中高度不饱和脂肪酸的种类及其比例有关, 还与亲鱼的营养有关。在相同的生产条件和管理下, 不同批次的卵孵出的仔

鱼体色异常率各异, 其原因就在于此。半同胞变异分析表明, 遗传力对牙鲆仔鱼体色异常率的影响显著地大于对生长和成活率的影响^[2]。因此, 预防鲆白化应从亲鱼营养抓起, 或是加强亲鱼的必需脂肪酸营养, 或是选择野生亲鱼。

Sobakken 等^[6]实验证实, 在饲料中添加 0.1×10^{-3} 饲料四碘甲状腺素(T_4)能促进庸鲆的变态, 防止体色异常。根据鱼体色素形成的机理, 在投喂全价饲料和加强饲养管理的同时, 在饲料中适量添加色素形成的限制性酶类——酪氨酸酶和 T_4 , 可能是一种生理和生态相结合预防鲆类体色白化的途径之一。

此外, 适宜的放养密度、良好的水质环境和科学的管理也是防止鲆体色异常的重要措施。Seikai 1985 年和 Takahashi 1994 年的实验证实, 适当的高密度($25\ 000 \sim 30\ 000 \text{ 尾/m}^3$)和连续的光照能减少泥鲆(*Limanda yokohamae*)和牙鲆有眼面的白化率, 却增加了无眼面的黑化率。

参考文献

- 1 Christensen M. N. and Korsgaard B. Protein metabolism, growth and pigmentation patterns during metamorphosis of plaice (*Pleuronectes platessa*) Larvae, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 237: 225 ~ 241
- 2 Furutsuka Uozumi and Tabata K. . Estimation of the heritability of quantitative traits in fry and juvenile hiraie, *Pamlichthys olivaceus*, *Suisanzoshoku*, 1999, 47(1): 49 ~ 54
- 3 Haga Y., Takeuchi T., and Seikai T. . Effect of retinoic acid on larval Japanese flounder, *Pamlichthys olivaceus*, reared on *Artemia* nauplii, *Suisanzoshoku*, 1999, 47: 559 ~ 566
- 4 Iwata N., and Kikuchi K. . Effects of sandy substrate and light on hypermelanosis of the blind side in cultured Japanese flounder *Pamlichthys olivaceus*, *Environmental Biology of Fishes*, 1998, 52: 291 ~ 297
- 5 Nanton D., Castell J.D. . The effect of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae, *Aquaculture*, 1999, 175: 167 ~ 181
- 6 Solbakken J. S., Norberg B., Watanabe K. . Thyroxine as a mediator of metamorphosis of Atlantic halibut, *Hippoglossus*

hippoglossus, *Environmental Biology of fishes*, 1999, 56: 53 ~ 65

- 7 Venizelos A. and Benetti D. . Pigment abnormalities in flatfish, *Aquaculture*, 1999, 176: 181 ~ 188

辅助参考文献

黄 瑞 北岛力 柯才焕. 关于牙鲆 *Pamlichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel) 白化诱因的探讨, 现代渔业信息, 1997, 12(9): 21 ~ 23

Denson M. R., Smith T. I. J. . Diet and light intensity effects on survival, growth and pigmentation of southern flounder *paralichthys lethostigma*, *Journal of World Aquaculture Society*, 1997, 28(4): 366 ~ 373

Ellis T., Howell B. R., Hughes R. N. . The cryptic responses of hatchery-reared sole to a natural sand substratum, *Journal of Fish Biology*, 1997, 51: 389 ~ 401

Estevez A., Sameshima M., Ishikawa M. . Effect of diets containing low levels of methionine and oxidized oil on body composition, retina structure and pigmentation success of Japanese flounder, *Aquaculture Nutrition*, 1997, 3: 201 ~ 215

(本文编辑: 刘珊珊)