

牙鲆鱼白化病因的研究进展

Research developments on the Albinism of *Paralichthys olivaceus*

王伟, 侯林, 姚锋, 高岩, 吕红丽

(辽宁师范大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

中图分类号: S 941.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)06-0060-06

牙鲆鱼 (*Paralichthys olivaceus*) 在我国俗称比目鱼、偏口, 属于鲽形目, 鲽总科, 鲆科, 牙鲆属。该鱼肉细嫩、口感好、营养高, 在我国是一种很受欢迎的经济鱼类。分布于千岛群岛至香港之间, 我国的渤海、黄海、东海、日本沿海、朝鲜半岛西岸均有分布。牙鲆是冷水性、底栖、肉食性经济鱼类, 也是重要的海水养殖鱼类。在国外, 日本最早于 50 年代就开始进行牙鲆人工孵化实验, 大量苗种生产技术的开发是从 70 年代开始的, 到 80 年代中后期苗种生产技术逐渐成熟。在国内, 首先在山东荣成形成规模化养殖, 以后迅速辐射到威海、烟台、青岛、大连、丹东和河北等地, 养殖面积近 30 万 m^2 。在牙鲆育种过程中经常遇到的问题是出现高比例的体色异常苗种, 即有眼侧的局部或全部出现白化现象和无眼侧出现黑色素的黑化现象, 而体色异常的鱼商品价值极低, 放流饲养易被敌害捕食。而导致白化的因素很多, 学者们研究认为与饲料的营养^[1], 仔鱼的饲养密度^[2], 通气量^[3], 光照条件^[4], 水温和换水率^[5], 紫外灯照射率^[6], 海水盐度^[7]等条件都有着一定的关系。而其中最重要的因素就是饲料的营养^[8, 9]。在生产中要保证饲料营养的构成就必须对饲料进行营养强化, 实践中通过对仔鱼开口饲料轮虫 (*Rotifer*) 的营养强化达到抑制白化病发生率的效果。一般使用单胞藻来进行营养强化, 大规模生产中常用小球藻 (*Chlorella* sp.) 和鱼油来强化轮虫, 其效果十分显著。牙鲆白化病的诱因至今尚未清楚, 作者根据国内外有关文献资料, 就这一问题的研究进展做一综述。

1 牙鲆鱼白化病的形态及类型

牙鲆的白化病在外部形态上的特征是在有眼面出现白斑, 即色素减少, 其面积大小和形态不定。而依

据白化的形态和面积, 又可分为 8 种类型^[10]。(1) 躯干部正常, 头部部分白化; (2) 躯干部正常, 头部完全白化; (3) 头部正常, 躯干部部分白化; (4) 头部及躯干均部分白化; (5) 头部完全白化, 躯干部部分白化; (6) 头部正常, 躯干完全白化; (7) 头部部分白化, 躯干部完全白化; (8) 头部及躯干完全白化或几乎完全白化。

2 牙鲆白化病的诱因

牙鲆鱼发生白化是由于基因突变等内部因素和营养、水温等外部因素共同导致的, 而目前世界上对牙鲆白化这一病变的原因尚未完全弄清楚。研究发现导致牙鲆出现白化的关键时期是全长 7.4~8.6 mm 时(即 Seikai 等所规定的 D 期)^[11]。由于实验方法及实验条件的局限, 大部分研究仍只停留在对其外部因素的研究上, 虽可以对白化病的发生进行预防或减少, 但从根本上去除和治愈白化病还有待深入研究。所以对牙鲆鱼白化病的研究仍是科研上的难题。

2.1 饵料

改进饵料的成分是目前抑制白化病出现的最好方法。据报道, 从仔鱼到稚鱼的变态过程初期(全长约 8 mm) 时, 投喂饵料的质量与白化个体的出现有很大影响, 其原因可能是与饵料中高度不饱和脂肪酸 (HUFA)、维生素类和氨基酸等的含量有关, 特别是高

收稿日期: 2003-01-13; 修回日期: 2003-06-01

作者简介: 王伟 (1978-), 男 (蒙古族), 辽宁阜新, 硕士, 研究方向: 海洋生物学, E-mail: tianmajiangwei@etang.com; 侯林, 通讯作者, 教授, 理学博士, E-mail: houlin@lnu.edu.cn

度不饱和脂肪酸的含量关系较大。山本刚史等^[11]通过实验,对变态初期的牙鲆进行各种饵料饲育(维生素强化培育饵料及真鲷受精卵),并就这些饵料与白化个体的出现及影响进行了研究,发现投喂真鲷受精卵可以抑制白化个体的出现,真鲷卵中含有可以抑制白化出现的物质,认为可能是维生素A(VA)。据黄瑞等^[12]发现饵料中添加富含n-3HUFA的鱼肝油和10 000 IU/L的VA降低白化的效果在此次实验中最好。另外,投喂不同产地的卤虫,白化率也有差异,如投喂旧金山卤虫白化率最低,为21.1%~26.1%;而投喂天津产卤虫,白化率为81.3%~84.0%。同时投喂轮虫和天然浮游生物是有效防止白化的方法之一。投喂微粒子配合饵料对白化病的出现也有抑制作用,但单独投喂存活率低,一般与生物饵料并用,效果更佳^[13]。

2.1.1 高度不饱和脂肪酸(HUFA) 近几年关于牙鲆白化诱因的探讨,多数是从营养方面探讨n-3HUFA降低白化率的作用和有效浓度。n-3HUFA能增强幼鱼的耐盐度,提高成活率、生长率,降低白化率,是牙鲆鱼不可缺少的营养成分之一。其中,二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)的作用最为重要,能够加快脑体积的增长,尤其是小脑的增长,但对端脑和间脑没有显著的影响^[14, 15]。发育的仔鱼在饥饿时,DHA在极性脂中优先保存下来。当仔鱼开始摄取外源营养后,DHA又被吸收到仔鱼体内甘油磷脂中,甘油磷脂是生物膜的必要成分,所以直接关系到牙鲆的生长发育。DHA还能有效提高仔鱼的耐盐度,用DHA强化的卤虫作饵料,仔鱼能在盐度为65的海水中生存,这一点要优于EPA。另外,根据Furuita等^[16]通过实验研究发现用浓度分别为2.1%、4.8%和6.2%的n-3HUFA对饵料进行强化,高浓度的n-3HUFA能够提高孵化率,降低白化率的出现,同时还能提高成活率,因此认为n-3HUFA对于牙鲆的生长发育是不可缺少的,而高浓度的n-3HUFA对于牙鲆的生长发育的各项指标是有利的,但过高浓度的n-3HUFA对产卵的质量是不利的,其正确恰当的比例至今尚未弄清楚,但在一定的范围内用高浓度的n-3HUFA对饵料进行营养强化能够大大降低白化率。

2.1.2 维生素 维生素是生命必需的活性有机化合物,其合成与降解过程具有至关重要的调节作用,尽管牙鲆每天对其需要量很少,但自身不能合成

或合成量极低,必须从食物中获得,若长期投入不足,即可出现缺乏症,若缺乏时间较长,也可造成死亡。VA和维生素D(VD)对防除牙鲆无眼侧出现体色异常是有效的,但要注意饵料中两种维生素的平衡^[17]。用富含VA的饵料强化卤虫幼虫后,再喂食牙鲆鱼可明显降低白化率,实验发现,用20L浓度为60%的海水小球藻,6.3g卤化金枪鱼甘油,10000IU/LVA强化培养降低白化率的效果最好^[12]。另外,VA可压缩椎骨,用高浓度的VA复合物强化的卤虫,对牙鲆鱼可能有毒。其原因可能是卤虫中有大量的VA代谢物——视黄酸,视黄酸能控制咽弓、胸鳍发育的基因表达,从而引起咽弓、胸鳍的骨骼畸形^[18]。VA, HUFA能降低白化率,主要是因为它们能作用于神经组织和视觉组织上。因此,仔鱼发育时营养不平衡会严重影响脑发育、神经分化和神经内分泌活动,这又进一步影响如松果体、脑垂体等内分泌腺的发育,这些腺体对于色素形成、黑色素的合成及色素细胞的活动都有重要的意义。Jusadi Dedi等^[19]还发现用VA 1 280 IU/g卤虫(干质量)的强化量投喂仔鱼,可引起慢性中毒,实验证明,VA强化量不宜超过50 IU/g卤虫(干质量)。而且,实验中还发现VA的摄入量与VE的含量呈双曲线的关系(图1)。

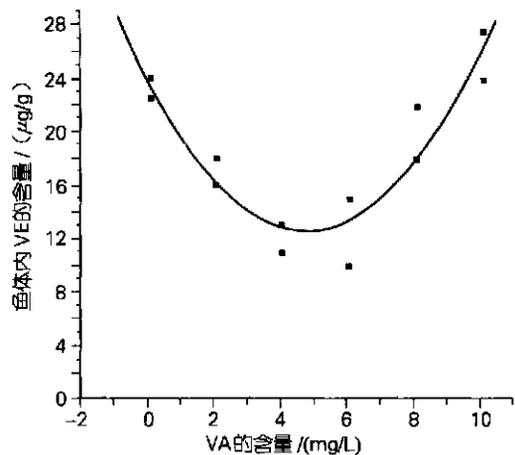


图1 用VA强化卤虫投喂牙鲆仔鱼量与体内VE含量的关系

牙鲆对维生素的适合需要量为: VA 8780 IU/kg, VD 1880 IU/kg, VE 186 mg/kg, VK 11.7 mg/kg, VB₁ 18.2 mg/kg, VB₂ 14.7 mg/kg, 水溶性VB₃ 60 mg/kg,

水不溶 VB₃: 45 mg/kg, VB₅: 106 mg/kg, VB₆: 25.4 mg/kg, 生物素 1.91 mg/kg, 叶酸 9.4 mg/kg, VC 400 mg/kg, 肌醇 2 000 mg/kg。所以说, 维生素对牙鲆鱼白化率的降低有重要的作用, 不过也应适量使用^[20]。

2.1.3 氨基酸 氨基酸也是鱼类不可缺少的营养成分之一, 对于牙鲆鱼白化病的发生率也有一定的影响。以适当的量喂食牙鲆仔鱼, 能够降低白化的出现, 但其具体准确的投喂量在国内外文献中还没有相关报道。

2.2 遗传因素

遗传因素是一个较为隐蔽的, 却是导致白化病发生的较为直接的因素, 应该引起当今学者及养殖人员的注意。目前, 对牙鲆鱼基因的研究进展仍不是很明朗, 国内外相关报道甚少, 而对白化病的致病基因的研究成果更是微乎其微。“九·五”期间, 我国的“863 计划”资助了用细胞工程手段进行牙鲆鱼的遗传育种工程, 虽取得了一定成绩, 但仍不能很好的控制白化病。因此, 只能在一定程度上避免白化病的发生。例如: 在选择亲鱼时, 应选择生长快、健壮的人工养殖鱼或经过人工驯养, 摄食良好的野生鱼作亲鱼进行培养。亲鱼应为 4~6 龄, 野生鱼体质量 1.6~7.0 kg, 养殖鱼 0.9~5.1 kg 为好, 亲鱼需蓄养培育, 促进性腺成熟。蓄养一般在室内圆形水泥池中进行, 池面积 30~50 m², 水深 1~1.2 m^[21]。

2.3 激素和色素细胞

牙鲆鱼产生白化的原因可能与肾上腺皮质激素 (ACTH) 和促黑色素激素 (MSH) 有关, ACTH 和 MSH 是两种可以控制黑色素细胞的激素。Alicia Est vez 等^[11]用花生四烯酸 (ARA) 强化的饵料喂食牙鲆鱼来诱导白化的出现, 并通过免疫细胞化学的方法检验 ACTH 和 MSD 的产生。方法是用鲑眶油 (TOO) 强化的饵料喂食作为对照实验, 用 ARA 强化的饵料分别从 A, C, F, H 期 (分别为孵化后 4, 13, 26 和 35 d) 开始对牙鲆仔鱼喂食。在 TOO 和 ARA 中, 用 12% 大豆磷脂酰胆碱做乳化剂, 并加入抗坏血软脂酸 (100 μg/kg) 和 α-生育酸 (100 μg/kg) 作为抗氧化剂。用 0.6 g/L 的 TOO 或 ARA, 在 28 °C 下强化虫虫 (*Artemia*) 24 h, 用 0.3 g/L 的 TOO 或 ARA, 20 °C 下, 强化轮虫 6 h, 喂食牙鲆仔鱼。43 d 后, 分出正常与白化苗, 发现在变态前期 (A, C, F 期) 喂食 ARA 强化的饵料使牙鲆鱼出现比率较高的体色异常现象, 高达 80%, 其中有 37%~45% 的完全白化苗。而在变态后期 (H 期) 喂食 ARA

强化的饵料则白化率明显降低, 仅为 12.7%, 比用 TOO 强化的饵料喂食的对照实验出现的白化率 (43.1%) 低近 30 个百分点, 效果显著。还发现 ARA 对色素的形成的影响是独立的。用 ARA 强化的饵料喂食, 对脑垂体的体积及 MSH、ACTH 细胞的体积的大小并无明显的作用。虽然 ACTH 和 MSH 细胞的大小没有发生明显的变化, 脑垂体体积也没有发生显著的变化, 但可能是两种激素的产生率和释放率的不同而导致了正常体色苗和白化苗的出现。同时, 该实验还表明 ARA 或其代谢产物对牙鲆仔鱼的皮肤发育或仔鱼发育各阶段的黑色素细胞的形成可能有直接的影响。据 Matsumoto^[6]和 Seikai^[4]研究发现, 牙鲆在变态前成色素细胞分布在身体两侧, 同时二羟苯丙氨酸 (DOPA) 阳性细胞亦均匀分布。当变态开始时, 有眼侧的黑色素细胞具有许多含酪氨酸酶的液泡, 逐步移向皮肤表面, 并迅速扩散。而无眼侧的成色素细胞则逐渐溶解。在变态后, 有眼侧的成色素细胞数量增加, 而无眼侧的数量减少, 这样就形成了一个正常体色的牙鲆鱼。而患白化病的牙鲆鱼则并非如此, 发现在患病皮肤的成黑色素细胞周围有大量的具吞噬功能的噬黑色素细胞。另外, Seikai^[4]还发现患白化病的牙鲆鱼皮肤两侧上粘液细胞比例低而稳定, 而正常牙鲆个体皮肤上的粘液细胞的密度之比明显高于患病个体。

2.4 培养基

培养基 (水池) 的底部有沙和无沙对无眼面有显著的影响, 孵化后 43 d 的幼鱼, 在有沙的水池中有 28% 的鱼苗有色素形成, 而无沙的水池中有 58% 的鱼苗有色素形成。在有沙的水池中, 幼鱼的脑垂体的体积大于无沙的, MSH 的分泌速率高。但在同一环境下, 体色正常的, 白化的, 两侧有色的之间并无明显区别^[12]。不潜沙的牙鲆鱼感到一种持久压力, 处于紧迫状态, 即由丘脑下部分泌促肾上腺皮质激素释放因子, 作为应答。由脑垂前叶分泌促肾上腺皮质激素, 并作为促肾上腺皮质激素应答分泌皮质醇, 这与促黑色素细胞激素功能相同。使色素细胞活性化, 或使其分化为黑色素细胞, 所以, 水池无沙的牙鲆鱼也容易出现黑化。Alicia Est vez 和 Tadahisa Seikai^[12]研究还发现, MSH 和 ACTH 在孵化后一周出现在仔稚鱼的脑垂体中, MSH 在孵化初期分泌较快, 在变态期时变慢, 变态后又恢复正常, 似乎与黑色素细胞的数量无关。有沙可降低黑化和白化, 增大脑垂体体积, 加快 MSH 分泌; 无沙的情况下 ACTH 分泌快些, 这可能与其感受



到的压力有关。以上研究揭示应进一步研究 MSH 的拮抗物(黑色素抑制因子)的功能,并对比血中激素含量以及不同体色鱼的 MSH 受体的特征等因素。

2.5 水温

牙鲆鱼为低温性底栖鱼类,水温的高低对牙鲆鱼白化也有很大的影响。在变态期,过低的水温能使白化率增大,因此,要掌握好适宜的水温,以 19℃ 为宜,水温低至 13℃ 则白化率增大,低于 10℃,完全停止摄食。当水温达到 25℃ 时,牙鲆鱼食欲开始减退,水温超过 27℃,则停止摄食,白化率大增^[21]。同时,饲养水温还影响变态规格,同一发育阶段,饲养水温越高,加快了变态,使规格小型化。

2.6 换水率

饲养牙鲆仔鱼的换水率每日通常循环 0.3%~3.5%。对于白化率,换水率同样是一个重要的指标,换水率越高,白化率也越低^[23]。但也有的学者认为换水率对白化病的发生无影响。作者认为,目前鱼池均为流水式培养,所以换水率对白化病的影响不是很大。

2.7 光照

光照强度是牙鲆白化的重要诱因之一^[12],实验中未受光斜射影响的牙鲆鱼白化率最低,白化率为 2.30%。王吉桥等^[24]认为,患白化病的牙鲆多为盲鱼,这可能是在牙鲆仔鱼眼的视网膜形成时,在光线等环境条件以及 VA, HUFA 等的影响下,使视网膜产生的视紫红质对中枢神经系统的反馈受阻,从而使促黑色素释放激素分泌失调而导致白化和黑化的出现。但具体多大的光照强度对降低白化有明显的作用还有待进一步研究。

2.8 盐度

不同海水盐度对牙鲆仔稚鱼的生长、存活率和白化率均有影响,较低盐度海水中,仔稚鱼呈现较高的存活率和较低的白化率。盐度在 21.0 与 26.0 之间,可能是一个对牙鲆仔稚鱼的存活率及白化率产生显著不同结果的临界盐度阶段^[7]。另外,实验表明,低盐度有利于牙鲆幼鱼白化个体恢复到正常体色,在盐度为 8 和 16 时,白化个体恢复到正常体色的比例较高,盐度越高,越不利于白化个体恢复至正常体色^[25](图 2)。

3 牙鲆白化病的防治方法及原则

3.1 强化饵料

目前,国内外就牙鲆白化病的防治多是从强化

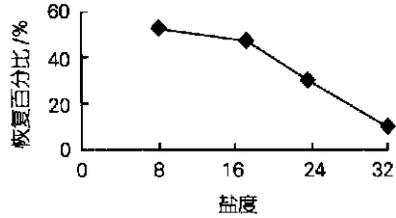


图 2 不同盐度下牙鲆幼鱼白化个体恢复比例

饵料方面进行研究探讨的。轮虫和卤虫在投喂前必须进行营养强化,生物饵料的营养强化对苗种的生长、成活率和白化率有着重大关系。一般,经单胞藻和酵母培养出的轮虫和孵化的卤虫无节幼体含高度不饱和脂肪酸(HUFA)不高,特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)的含量远远不能满足鱼苗所需的量,而 EPA 和 DHA 是鱼苗所必需的脂肪酸,不足会造成鱼苗的大量死亡或产生白化。最近多用小球藻、鱼油和维生素 A、E 等来强化饵料,以降低白化率。这在文章前面已有叙述,在此不再赘述。现在对人工饵料的研究又有了新的进展,比如用 40% 的粉末饲料与冰鲜杂鱼混合,配成湿颗粒饲料。比每公斤鲜杂鱼饲料节省 1.26 元^[13]。通过科学配方,可以即经济又有效的降低白化。投喂配合饲料的初期,应特别注意配合饲料的摄取和驯化,开始时可按鱼苗体质量的 5% 投喂,鱼苗接受后,可按体质量的 7%~10% 投喂,13 mm 后鱼苗体质量增加迅速,可按 4%~5% 投喂。配合饵料与卤虫的投喂交叉期可适当拉长,以免短时间内完成配合饵料的转化造成鱼苗消化不良,出现死亡。王秀良等^[26]发现,眼点拟微绿球藻是一种重要的海产经济微藻,其脂肪酸组成简单,富含 EPA,占总脂肪酸的 35%,总脂含量在稳定期占干质量的 43.3%,在生长对数期, EPA 占总不饱和脂肪酸比例为 27.7%,用来强化轮虫或卤虫,可降低白化,是非常理想的。目前,人工食谱的出现可以完全作为活饵的替代品。过去认为由于在孵化初期,牙鲆鱼体内无足够消化酶,过多的复合食物会使幼鱼肠内大量积累食物而死亡。最近,胰腺消化酶在仔鱼开口前就已被发现,表现出高的水解能力(根据体质量而有差异),胰腺消化酶的活力与年龄有关,但能被摄取的食物成分所调整。如果这种食物是适合的,幼鱼完全有消化、吸收复合食物的能力^[27]。用免疫组织化学的方法,在牙鲆鱼肠绒毛上固着氨基肽酶来跟踪观察在幼鱼时肠绒毛

的消化功能的变化。结果证实,在孵化期,前肠上皮细胞就已开始合成氨基肽酶,孵化后 2 d 即达到成鱼的功能,在孵化后 1 d 就可以喂食。脱脂大豆可代替牙鲆饵料的蛋白来源,牙鲆稚鱼的整个身体的全部蛋白的 45% 均可由脱脂大豆合成物作为蛋白源而替代^[28]。但其对牙鲆白化的影响还不十分了解。

3.2 环境因素

牙鲆的养殖条件对其白化的比率亦有很大的影响,如前所述的水温、光照、盐度、换水率以及水池中有沙、无沙等条件都很重要。水温在 18~ 20 °C 为宜;培育水量由总水量的 2/3 开始,前 4~ 5 d 逐渐加水至满水,以后以流水方式换水,开始流水时,只在白天流水,以后全天流水,换水量随鱼苗的增长而逐渐加大(表 1)。

表 1 牙鲆鱼苗生长过程中各日龄的换水率^[29]

日龄(日)	全长(mm)	换水率(%)
0~ 5	-	0
6~ 10	4.2~ 6.0	15~ 40
10~ 13	6.0~ 7.0	40~ 60
13~ 25	7.5~ 12.5	60~ 120
26~ 30	13.0~ 14.0	120~ 180
31~ 50	14.0~ 28.0	200~ 350

直射阳光对仔鱼有伤害或阻碍生长发育作用,阳光过强,也会造成池壁藻类繁殖过旺,所以应对培育池进行遮光,遮光率为 90%。仔鱼摄食的临界光照度是 0.1 lx,最好保持在 100~ 500 lx,但勿超过 1 000 lx。王迎春等^[30]研究发现,仔鱼的开口期适宜光照度为 40~ 600 lx,光照条件除影响仔鱼的活动和摄食外,还可能影响仔鱼的新陈代谢水平和内分泌,所以对白化病有着一定的影响。而具体的最佳培育条件应视具体情况而定,采取相应的办法。

3.3 细胞工程学

多年来,培育亲鱼多为海捕,卵质量不稳定,育苗靠运气。“九·五”期间,我国的“863 计划”资助了用细胞工程手段进行牙鲆的遗传育种工程,建立牙鲆鱼类纯系,再进行各种遗传改良研究,进一步进行良种培育,可大大减少白化病的出现,目前已取得可喜的成绩。已启动养殖鱼类基因组计划,构建物理图谱和遗传图谱,并进行一定规模的测序工作,筛选出一定数量的功能基因(如与白化相关的基因),这样就

可以为建立和鉴定牙鲆种质和进行大规模的分子标记辅助育种奠定坚实的基础。常用的细胞工程手段还有全雌技术、全雄技术、三倍体技术等。这将使牙鲆白化病减少,消灭牙鲆白化病成为可能。

综上所述,关于牙鲆的白化病的诱因还很复杂,主要为营养因素和遗传因素造成的。根据目前的研究现状及进展,作者认为,在尽量减少环境因素干扰的情况下,应对高度不饱和脂肪酸的研究放在首位,对正常鱼苗和患白化病的鱼苗体内高度不饱和脂肪酸的含量进行比较分析,找出其中的差异。同时,随着基因工程的发展,对牙鲆基因图谱进行深入研究,找出白化病的致病相关基因,对其基因座位进行处理,可从根本上降低白化病的发病率,但这还有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 山本刚史. 牙鲆白化与饵料的影响[J]. 日本水产学会志, 1992, 58(3): 499- 508.
- [2] Takahashi Y. Influence of stocking density and food at late phase of larval period on hypemelanosis on the blind body side in juvenile Japanese flounder[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1994, 60: 593- 598.
- [3] Fukusho K, Yamamoto T, Seikai T. Influence of various amounts of aeration during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of abnormal coloration[J]. **Bull Natl Res Aquaculture**, 1986, 10, 53- 56.
- [4] Sinai T. Influences of fluorescent light irradiation, ocular side pinmentation, and source of fishes on the blind side pigmentation in the young Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. **Suisan Zoshoku**, 1991, 39: 173- 180.
- [5] Sugiyama M, Nakano H, Yano Y, et al. Studies on the culturing technique for flatfish larvae: I. The effect of rate of water supply into rearing tank on the abundance of albinism and reversal larvae[J]. **Bull Hokkaido Reg Fish Res Lab**, 1985, 50: 63- 69.
- [6] Matsumoto J, Ishii T. Induction of melanophore development in plaice juveniles by ultraviolet irradiation[A]. Jimbow K. Structure and Function of Melanin[C]. Japan: Fujii-Shoin, Sapporo, 1986. 75- 81.
- [7] 王涵生. 海水盐度对牙鲆仔稚鱼的生长、存活率及白化率的影响[J]. 海洋与湖沼, 1997, 4: 399- 405.
- [8] Seikai T, watanabe T, Shimozaki M. Influence of three geographically different strains of *artemia nauplii* on occurrence

- of albinism in hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1987, 53: 195-200.
- [9] Yamamoto T, Fukusho K, Okauchi M, *et al.* Effect of various foods during metamorphosis on albinism in juvenile of flounder [J]. **Nippon suisan Gakkaishi**, 1992, 58: 499-508.
- [10] 高桥庸一. 特别研究报告 3 号 [M]. 东京: 日本栽培渔业协会, 1992. 4-50.
- [11] Alicia E, Toyoji K, Tadahisa S, *et al.* ACTH and MSH production in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae fed arachidonic acid-enriched live prey [J]. **Aquaculture**, 2001, 192: 309-319.
- [12] 黄瑞, 北岛力, 柯才焕. 关于牙鲆白化诱因的探讨 [J]. **现代渔业信息**, 1997, 9: 21-23.
- [13] 陈四清, 于东祥, 马爱军, 等. 牙鲆饲喂湿颗粒饲料的应用研究 [J]. **海洋科学**, 2002, 26(7): 59-61.
- [14] Hirofumi F, Toshio T, Kazumasa U. Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. **Aquaculture**, 1998, 161: 269-279.
- [15] Hirofumi F, Kooichi K, Toshio T. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia nauplii* on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. **Aquaculture**, 1999, 170: 59-69.
- [16] Funita H, Tanaka H, Yamamoto T, *et al.* Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. **Aquaculture**, 2002, 210: 323-333.
- [17] 长谷川靖之, 竹内俊郎, 坂垣惠美子, 等. 饲料中脂溶性维生素的强化对牙鲆无眼侧本色异常出现的影响 [J]. **水产增殖**, 1998, 46(2): 279-286.
- [18] Toshio T, Tadahisa S. Effect of vitamin A compounds on bone deformity in larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. **Aquaculture**, 1998, 179(1-4): 365-373.
- [19] Jusadi D, Toshio T, Tadahisa S, *et al.* Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia nauplii* [J]. **Aquaculture**, 1995, 133: 135-146.
- [20] 李爱杰, 张道波, 魏万权, 等. 牙鲆幼鱼营养需要的研究 [J]. **浙江海洋学院学报**, 2001, 20: 6-10.
- [21] 蔡清海. 牙鲆养殖技术的改进 [J]. **科学养鱼**, 2001, 10: 34-35.
- [22] Alicia E, Toyoji K, Tadahisa S, *et al.* Ontogeny of ACTH and MSH cells in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in relation to albinism [J]. **Aquaculture**, 2001, 202: 131-143.
- [23] 宫春光. 牙鲆养殖技术及发展 [J]. **科学养鱼**, 2002, 2: 26-27.
- [24] 王吉桥, 许建和, 张弼. 比目鱼体色异常的机理与对策 [J]. **海洋科学**, 2002, 26(2): 27-30.
- [25] 姜志强, 赵祥东, 王国祖. 不同盐度下牙鲆幼鱼存活、生长和摄食的研究 [J]. **大连水产学院学报**, 2002, 2: 79-83.
- [26] 王秀良, 刘晨临, 张学成, 等. pH 对眼点拟微绿球藻的生长、总脂含量以及脂肪酸组成的影响 [J]. **海洋科学**, 2002, 26(5): 63-67.
- [27] Chantal C. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae [J]. **Aquaculture**, 2001, 194(3-4): 253-262.
- [28] Kotaro K. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. **Aquaculture**, 1999, 179: 3-11.
- [29] 周毅. 大规模人工牙鲆苗种生产过程中白化病的研究 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2000.
- [30] 王迎春, 苏锦祥, 孙琼鹏, 等. 光照对牙鲆胚胎及 10 日龄内仔鱼生长和发育的影响 [J]. **上海水产大学学报**, 1997, 4: 286-290.

(本文编辑: 刘珊珊)