

海水仔稚鱼的营养需求与微颗粒饲料研究进展

常 青^{1,2} 梁萌青¹ 张汉华² 陈四清¹ 王家林¹

(¹农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室, 广州 510300)

摘要 综述了近年来海水仔稚鱼对蛋白质、脂肪和维生素营养需求的研究状况, 同时对其微颗粒饲料的特性和制作工艺进行探讨, 以期为研制海水仔稚鱼的微颗粒饲料提供参考。

关键词 海水仔稚鱼 营养需求 微颗粒饲料

中图分类号 Q963.72; Q959.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)01-0130-07

Advances in nutritional demands and microdiet for marine fish larvae

CHANG Qing^{1,2} LIANG Meng-qing¹ ZHANG Han-hua²

CHEN Si-qing¹ WANG Jia-lin¹

(¹Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Key Laboratory of Fisheries Genetic Resource & Aquaculture, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Guangzhou 510300)

ABSTRACT This paper reviewed the research progress of protein, lipid and vitamin requirement for marine fish larvae. Meanwhile, it introduced characteristics and production technology of microdiet. This review is expected to be a reference for the development of formulated diet of marine fish larvae.

KEY WORDS Marine fish larvae Nutritional requirement Microdiet

迄今为止,在海水鱼类育苗生产中,尽管活饵要优越于人工配合饲料,但是生产活饵料的高昂代价、环境因素对活饵料生产量的影响以及活饵料营养价值的变化,给仔稚鱼的人工培育带来诸多的不便和潜在的威胁。因此,寻找粒度适宜、诱食性好、营养平衡和易消化的人工微粒饲料来替代活饵料饲养仔稚鱼就成为了当前各国营养学家们致力研究的热点。本文就近年来海水仔稚鱼的营养需求以及微颗粒饲料的制作工艺等方面的进展作一简述。

1 仔稚鱼的营养需求

1.1 对蛋白质和氨基酸的需求

与成鱼相比,仔稚鱼的瞬间生长速率很高,主要是体蛋白的积累,从而需要从食物中获得更多的蛋白质。

中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项资金和中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室基金共同资助

收稿日期:2007-10-24;接受日期:2008-01-09

作者简介:常青(1971-),女,博士,副研究员,主要从事鱼类营养生理学研究。E-mail:changqing@ysfri.ac.cn, Tel:(0532)85822914

此外,氨基酸还是海水硬骨鱼类早期发育阶段的重要能源(Rønnestad *et al.* 1993,1999;Finn *et al.* 1995;Sivaloganathan *et al.* 1998;Parra *et al.* 1999)。所以仔稚鱼对蛋白质的需求要明显高于成鱼。海水仔稚鱼对蛋白需要量的研究比较少,仔稚鱼饵料中所需的蛋白量一般在 50%~70%之间变动(Cahu *et al.* 2001)。Péres 等(1996)用鱼粉和水解酪蛋白作为蛋白源,设计了不同水平的等能饲料,研究了 15~35 日龄的舌齿鲈 *Dicentrarchus labrax* 仔鱼饵料中适宜蛋白水平。结果表明,50%蛋白水平组的生长最佳,其次是 60%组、30%和 40%蛋白水平的生长最差。

由于设想单种蛋白源所含的氨基酸不能满足仔稚鱼对所有氨基酸的需求,所以在设计人工饲料时,一般考虑采用多种蛋白源,以保证仔稚鱼能够获得平衡的氨基酸。Zambonino 等(1994b)采用鱼粉、虾粉、鱿鱼粉和酵母的混合物作为蛋白源饲喂 25 日龄的舌齿鲈。利用不同的鱼粉、酵母、磷虾粉、蟹粉以及面筋粉的混合物作为牙鲆稚鱼饲料的蛋白源,取得了良好的生长结果(Kanazawa *et al.* 1988)。一些研究者为了了解仔鱼的营养需要量认为应该简化配方,采用单一的蛋白源,在 20 日龄舌齿鲈的饲料中使用 65%的鱼粉作为主要蛋白源(Zambonino *et al.* 1997)。在淡水鱼中常使用纯化或半纯化的饲料,以酪蛋白作为主要的蛋白源,但是在海水仔稚鱼上使用生长效果不理想(Brinkmeyer *et al.* 1998;Cahu *et al.* 1995)。蛋白水解物(Hydrolysate)一直都被认为是仔稚鱼的优质蛋白源,它主要由一些低分子量的蛋白质(小肽)构成。许多实验都证明了蛋白水解物在仔稚鱼营养中的地位和作用(Zambonino *et al.* 1997;Carvalho *et al.* 1997)。围绕着蛋白水解物进行了一系列研究,包括不同种类、年龄、蛋白来源和水解物及氨基酸的浓度等(Kolkovski *et al.* 2000;Cahu *et al.* 1999,2001)。尽管蛋白水解物的应用很多,但是对于其中小肽的构型研究很少。Carvalho 等(2004)研究证实了饲料中蛋白的可溶性以及肽的构型会显著影响仔鱼的生长效果。因此,在使用蛋白水解物作为仔鱼蛋白源时,其中肽的构型是个需要重点考虑的因素。

目前海水仔稚鱼对氨基酸需要量以及在个体发育中的变化的研究还是空白。利用传统的方法来研究仔稚鱼的氨基酸需要量是不可行的,近年来不少研究者采用同位素标记的方法来推测仔稚鱼的氨基酸需要量(Rønnestad *et al.* 2001b;Ma *et al.* 2005)。

1.2 对脂类的需求

脂类是海水仔稚鱼所必需的营养物质,也是其所需能量的主要来源。通过模拟养殖鱼类卵或者卵黄囊的脂肪含量,来确定其脂类需要量被认为是个简单易行的好方法(Mourente *et al.* 1996;Pousão-Ferreira *et al.* 1999;Sargent *et al.* 1999a),而卵或卵黄囊的脂肪酸组成会随着亲鱼的营养状况而变化(Estévez *et al.* 1999)。饵料中的脂肪酸组成与卵或卵黄囊仔鱼的相近,对于开始外源性摄食的仔鱼而言应该是理想的(Rainuzzo *et al.* 1997)。

近年来,国内外研究证实,海洋鱼类需要 3 种多不饱和脂肪酸,它们分别是 DHA(22:6n-3)、EPA(20:5n-3)和 ARA(20:4n-6)来维持正常生长和发育(Castell *et al.* 1994;Koven *et al.* 1990;Lie *et al.* 1992;Sargent *et al.* 1997;Watanabe 1993),这 3 种脂肪酸被认为是海水鱼类的必需脂肪酸(刘镜恪 2002)。一般认为在提高仔稚鱼生长和成活方面,DHA 的作用比 EPA 的作用更为明显(Watanabe 1993;Takeuchi *et al.* 1990)。但是也有研究表明,若饵料中含有适量的 EPA,一些比目鱼类的仔鱼如塞内加尔鳎(Morais *et al.* 2004b;Villalta *et al.* 2005b)、牙鲆(Izquierdo *et al.* 1992)和白齿海鲷 *Pleuronectes platessa* (Dickey-Collas *et al.* 1992)并不需要 DHA,与之相反,另外一些比目鱼类如大菱鲆(Bell *et al.* 1985)和黄尾黄盖鲷 *Limanda ferruginea* (Copeman *et al.* 2002),它们的浮游期比塞内加尔鳎长,则需要外源补给 3 种 EFA 来保证正常的生长,低水平的 DHA 会造成高死亡率。Zambonino 等(1999)指出,EPA+DHA 在海水仔稚鱼饵料的干物质中的最适水平为 3%左右。近年来研究表明,DHA 和 EPA 的比例平衡对于维持生物膜的流动性极为重要,一旦比例不平衡,特别是高 EPA 而低 DHA 时,会引起磷脂结构组成的不平衡,能影响仔稚鱼的正常生长(Rainuzzo *et al.* 1997)。过去 20 年,国内外主要关注 n-3 系列脂肪酸,最近 ARA 的作用越发引起人们的重视。ARA 为 n-6 系列的一种多不饱和脂肪酸,由它衍生的二十烷类化合物包括前列腺素、凝血恶烷以及白三烯的前体物质,对鱼类具有广泛生理活性,比如有利于仔鱼的渗透压调节、调节免疫力和抗应激能力(Sar-

gent *et al.* 1999a; Koven *et al.* 2001; Tocher *et al.* 2003)。Anholt 等(2004)研究了ARA对金头鲷 *Sparus aurata* 仔鱼抗应激反应(盐度变化和暴露于空气)的调节作用。一般认为比目鱼类有眼侧色素沉着不良是由于DHA、EPA和ARA的比值失调,使视网膜和脑的正常组织发生了变化,尤其是对视觉有影响(张其永等2001)。Bell等(2003)认为饵料中DHA/EPA >2 ,而且EPA/ARA >5 能够改善大菱鲆和庸鲽有眼侧的色素沉着。Villalta等(2005)研究发现,ARA对变态的塞内加尔鳎的色素调控方面起着重要作用,饵料中ARA/EPA的含量以及头部ARA的含量与色素沉积有明显的负相关。Bransden等(2005),通过两个因素的正交设计(ARA的含量和池子的颜色),分别在绿色和灰色的池子中,用含4个梯度水平ARA的轮虫在孵化后第2天至28天饲喂大西洋鳕仔鱼,首次研究了色素沉着与碳酸之间的关系。

微颗粒饲料中脂肪一方面来源于鱼粉和其他作为蛋白源的物质,另一方面来源于鱼油、鳕鱼肝油和植物油等,磷脂来源于大豆卵磷脂、蛋黄磷脂和海洋磷脂(Marine phospholipids)。海水仔稚鱼在天然环境下,主要通过摄取活饵料来得到所需要的磷脂,而仔稚鱼体内生物合成磷脂的能力十分有限。因而需要从饲料中摄取磷脂用于甘油三酯的运输,将其以乳糜微粒和脂蛋白的形式从肠内粘液细胞运送到淋巴细胞,仔稚鱼能够很容易地进行饲料甘油酯的再酰化作用(刘镜恪2002)。不少研究报道,添加大豆卵磷脂对于仔稚鱼的生长有促进作用,最佳添加量的范围在2%~7.4%(Geurden *et al.* 1995)。海洋磷脂富含可以维持仔稚鱼生长和存活的多不饱和脂肪酸,比如EPA和DHA(Watanabe *et al.* 1982),因此被认为是海水仔稚鱼开口饵料中良好的脂肪源。Sargent等(1999a)认为仔稚鱼饲料中海洋磷脂的添加量应为10%。Leifson等(2003)研究发现,海洋磷脂比大豆卵磷脂更加适宜作为大菱鲆仔鱼开口饲料中的脂肪源和磷脂,使用大豆磷脂作为脂肪源会造成肠细胞的线粒体肿大。这是因为大豆卵磷脂中含有丰富的亚麻酸(18:2n-6),在饲料中过多的亚麻酸会造成它在细胞脂质中的积累,而在仔稚鱼组织的脂质中过高水平的亚麻酸会影响细胞膜的功能,使得细胞膜的渗透性加大,最终出现线粒体肿大(Lie *et al.* 1992; Tocher *et al.* 1993)。

1.3 对维生素的需求

关于海水仔稚鱼维生素需求的研究很少,主要集中于对维生素C的研究。由于仔稚鱼不能合成维生素,在饵料中必须添加维生素。在仔鱼饵料中添加维生素C,可以提高生长和存活,以及仔鱼骨骼的发育,还可以提高对有毒物质的抵抗力和抗应激能力(Dabrowski *et al.* 1992)。Merchie等(1996b)通过强化活饵给大菱鲆仔鱼提供低、中、高3个水平的维生素C,发现补充维生素C对仔鱼的生长、存活都没影响,但是可以提高抗应激能力,并且发现高水平组(约为2600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 干重)对大菱鲆的色素沉着似乎有帮助。Merchie等(1997b)发现在饵料中提供稳定的有生物活性的较低水平的维生素C(20~130 mg维生素C/kg饲料)可以维持其正常生长和成活,而在饵料中添加维生素C的浓度达到1500 mg/kg时,则可以增强其对胁迫和疾病的抵抗力。此外Haga等(2002)研究了在活饵中添加视黄酸(VA的一种类型),对于牙鲆仔鱼着色和骨骼形成的影响。结果发现,视黄酸的影响依赖于牙鲆的不同发育阶段,形态和体色的不正常是由视黄酸在活饵中积累造成的,尤其是在发育的早期(A~B阶段)影响显著。

2 微颗粒饲料的特性和加工工艺

微颗粒饲料(Micro-partical diet,简称MD)是20世纪70年代中期兴起的一种人工饲料,用以替代生物饵料作为水产养殖苗种的开口饵料。仔稚鱼饲料是否成功的影响因素很多,首先微颗粒饲料能被仔鱼看到和捕捉到,这就意味着微颗粒饲料的大小、形状、颜色、沉降特性和诱食性等相当重要。其次,仔稚鱼必需能够消化微颗粒饲料,吸收同化其中的营养,在这个过程中,饲料的消化率、粘结特性以及营养物质的释放和生物利用率都很关键。最后,微颗粒饲料的营养组成必需能够满足仔稚鱼的营养需求。

2.1 MD的粒径

由于仔稚鱼的口裂大小对所摄取的食物的大小有着明显的限制性,因此,微颗粒饲料的粒径对于仔稚鱼摄食可得性至关重要,太小(直径小于50 μm)、过小则可见性差,摄食耗能大。太大无法吞食,或即使吞食了,也

会造成消化道堵塞而死(Walford *et al.* 1991)。MD 的粒径必须适应海水仔稚鱼不同发育阶段的口径的大小,这样才能保证 MD 能被有效摄食,又避免浪费。MD 的粒径应随着鱼体生长相应增大,一般不宜超过其口径的 20%(Dabrowski *et al.* 1984)。研究表明,仔稚鱼摄取的饵料宽度一般占其口宽(左右口角之间的最大宽度)的 20%~50%,上限为 80%(殷名称 1995),通常小于 0.1 mm(Glamuzina *et al.* 1989)。Fernandez 等(1995)研究认为,金头鲷仔稚鱼选择摄食的 MD 粒径与其个体大小和口宽有关。金头鲷的全长小于 4.5 mm 时选择 50~150 μm 直径的 MD;全长为 4.5~6.0 mm 时,选择 151~250 μm 的 MD;全长超过 6.0 mm,会摄食 250 μm 以上的 MD。

2.2 悬浮性和消化性

MD 的沉降速度是仔稚鱼能否摄食到它的一个关键因素。在仔稚鱼发育早期,其游泳能力较差,而生物饵料因游泳速度较慢而易被仔稚鱼发现和捕捉。在大多数情况下,只有 MD 在水中下落过程中仔稚鱼才捕食它。Yufera 等(1999)曾报道低密度(400~600 g/L)的 MD 具有良好的浮性,可以在水面停留一段时间,然后以 25cm/h 的速度下沉。

在金头鲷的饲料中补充胰酶会显著的增加仔鱼的消化和同化效率,促进生长(Kolkovski *et al.* 1993)。然而外源性酶的效果没有定论,还要依据鱼的种类、年龄、酶的类型以及饵料的特性等。另一个在 MD 中提高消化率的方法是使用一定比例的水解蛋白(预消化蛋白),既可以作为蛋白源,又可以作为诱食剂,增加摄食率(Hardy 1991)。

2.3 诱食性

鱼类寻找食物要通过视觉、机械感觉和化学感觉,其中已证明嗅觉对许多鱼类确定食物的位置起重要作用。在仔鱼转换配合饵料时,饲料的诱食性是个关键因素。活饵料和配合饲料必须含有化学的刺激物质,引诱仔鱼接近食物,最终完成摄食。这些物质包括游离氨基酸比如甘氨酸、丙氨酸和精氨酸,以及核苷酸和氨基类物质(Kolkovski *et al.* 1997a)。起摄食作用的氨基酸都是左旋性氨基酸。氨基酸在水中浓度为 10^{-8} ~ 10^{-2} mol/L 时有明显的促摄食作用(Kolkovski *et al.* 2004)。给体重 120mg 左右的欧鳎转食配合饲料,使用肌苷、甜菜碱和甘氨酸的混合物有明显的诱食效果(Métailler *et al.* 1983)。

2.4 MD 的加工工艺

由于仔稚鱼的消化道发育不完全,微颗粒饲料必须足够柔软易于消化,而要保证营养物质能够有效地传递给仔稚鱼,微颗粒饲料又必须有很好的稳定性。这两方面的统一是开发微颗粒饲料过程中最主要的难题。几十年来,研究人员主要围绕以下 3 种微颗粒饲料开展了一系列的研究:微粘合饲料(Microbound Diet, MBD)、微包膜饲料(Microcoated Diet, MCD)和微胶囊饲料(Micro-encapsulated Diet, MED)。

微粘合饲料(MBD)是一种用粘合剂将饲料原料粘合而成的饲料。这种饲料在水中稳定性主要靠粘合剂来维持。微粘饲料中粉状的营养物质要用水稳定性的基质,如琼脂、角叉藻胶(Carrageenan)或褐藻酸钙(Calcium alginate),或是用一种蛋白质如酪蛋白(Casein)、玉米醇溶蛋白作为粘合剂。粘合剂的类型会影响饲料颗粒在水中的稳定性、营养物质的溶失以及适口性和消化性(Person *et al.* 1993;Guthrie *et al.* 2000)。一种粘合剂不可能适合所有品种。例如 Person 等(1993)利用褐藻胶和玉米蛋白作为粘合剂的 MD 饲喂金头鲷仔鱼获得了成功,但是这两种粘合剂却不适合尖吻鲈 *Lates calcarifer* 仔鱼,而明胶和角叉藻胶则比较适合(Partridge *et al.* 1999)。目前商业生产中 MD 的主要类型是 MBD,因为它具有制作简单、经济和不含潜在有毒物质等优点。MBD 的主要缺点在于一些低分子量如氨基酸和水溶性营养物质的快速溶失。

微膜饲料(MCD):是一种用被膜将微粘合饲料包裹起来的饲料,可提高饲料在水中的稳定性。MCD 要用糖类(角叉藻胶,海藻胶)或蛋白类(明胶,玉米醇溶蛋白)物质作为粘合剂。

微胶囊饲料(MED):是一种液状、胶状、糊状或固体状等不含粘合剂的饲料原料用被膜包裹而成的饲料,这种饲料在水中稳定性主要靠被膜来维持。相对于前两种饲料而言,MED 在水中的稳定性更好,而且具有可

以延缓活性物质的释放速度,增加活性物质稳定性,降低毒副作用,掩蔽异味,隔绝配伍禁忌等特点(王素芬等 2003)。用于 MED 包被胶囊的方法以及胶囊的材料很多,主要包括交联蛋白质包被胶囊(Cross-linked protein-walled capsules)、脂质膜微胶囊(Lipid-walled microcapsules)、脂质体(Liposomes)、脂质喷雾珠(Lipid spray beads)和颗粒复合体(Complex particles)(Langdon 2003)。这些方法所使用的有机溶剂、化学交联剂和特殊的设备等,使得制作成本高。但是 MCD 具有很好的稳定性和均一性,可以作为研究仔稚鱼营养需要的一种工具。最近 Yúfera 等(2005)利用藻酸盐的内部凝结方法制得一种 MCD,它比交联蛋白质包被的胶囊的成本低廉,而且对环境污染小,在金头鲷和塞内加尔鳎仔鱼的养殖试验中获得成功。目前关于胶囊的消化问题仍没有得到很好的解决。仔稚鱼破坏胶囊的能力受以下几个方面的影响:(1)仔稚鱼的年龄;(2)饵料中是否加入外源消化酶;(3)交联剂的浓度;(4)微胶囊制作好后的分离过程(Fernandez-Diaz *et al.* 1995)。Yúfera 等(1993)、Fernández - Díaz 等(1995)和 Sarasquete 等(1995)在研究中都发现微胶囊囊壁的质地和硬度都影响幼体对微胶囊饲料的分解能力。以乙醇作为分离剂所得到的微胶囊饲料的囊壁厚而硬,金头鲷幼体很难消化这种类型的微胶囊饲料。而以明胶作为分离剂所得到的软囊壁的微胶囊饲料易被幼体消化。

参 考 文 献

- 王素芬,王安利,孙翠慈,胡俊荣. 2003. 鱼虾贝幼体微胶囊饲料的研究进展. 海洋科学, 27(3):21~26
- 刘镜恪. 2002. 海鱼早期阶段必需脂肪酸和磷脂的研究现状与展望. 海洋水产研究, 23(2):58~64
- 张其永, 洪万树. 2001. 海洋养殖鱼类仔稚鱼摄食和营养研究的进展. 台湾海峡, 20(增刊): 1~10
- 殷名称. 1995. 鱼类仔鱼期的摄食和生长. 水产学报, 19(4):335~342
- Bell, M. V., Henderson, R. J., Pirie, B. J. S., and Sargent, J. R. 1985. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill structure in the turbot (*Scophthalmus maximus* Linnaeus). J. Fish Biol. 26:181~191
- Bell, M. V., Henderson, R. J., and Sargent, J. R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. Comp. Biochem. Physiol. B: Comp. Biochem. 83:711~719
- Bell, J. G., McEvoy, L. A., and Estevez, A. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. Aquaculture, 227:211~220
- Brandsen, M. P., Butterfield, G. M., Walden, J., McEvoy, L. A., and Bell, J. G. 2005. Tank colour and dietary arachidonic acid affects pigmentation, eicosanoid production and tissue fatty acid profile of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture, 250: 328~340
- Brinkmeyer, R. L., and Holt, G. J. 1998. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (*Scianops ocellatus*) larvae. Aquaculture, 162:253~268
- Cahu, C. L., and Zambonino Infante, J. L. 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. Fish Physiol. Biochem. 14:431~437
- Cahu, C., Zambonino Infante, J., and Quazuguel, M. M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture, 171:109~119
- Cahu, C. L., and Zambonino Infante, J. L. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. Aquaculture, 200:161~180
- Carvalho, A. P., Escaffre, A. M., Oliva Teles, A., and Bergot, P. 1997. First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. Aquaculture International, 5:361~367
- Carvalho, A. P., Sá, R., Oliva Teles, A., and Bergot, P. 2004. Solubility and peptide profile affect the utilization of dietary protein by common carp (*Cyprinus carpio*) during early larval stages. Aquaculture, 234: 319~333
- Castell, J. D., Bell, J. G., Tocher, D. R., and Sargent, J. R. 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 128: 315~333
- Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A., and Harel, M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): A live food enrichment experiment. Aquaculture, 210:285~304
- Dabbrowski, K., and Bardega, K. 1984. Mouth-size and recommendation of feed size preferences in three cyprinid fish. Aquaculture, 40:27~40
- Dabrowski, K. 1992. Ascorbate concentration in fish ontogeny. Journal of Fish Biology, 40: 273~279
- Dickey-Collas, M., and Geffen, A. J. 1992. Importance of the fatty acids 20:5n3 and 22:6n3 in the diet of plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae. Mar. Biol. 113:463~468
- Estévez, A., McEvoy, L. A., Bell, J. G., and Sargent, J. R. 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in Arachidonic and Eicosapentaenoic acids. Aquaculture, 180:321~343

- Fernandez-Diaz, C., and Yufera, M. 1995. Capacity of gilthead seabream *Sparus aurata* L. larvae to break down dietary microcapsules. *Aquaculture*, 134:269~278
- Finn, R. N., Rønnestad, I., and Fyhn, H. J. 1995b. Respiration, nitrogen and energy metabolism of developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comp. Biochem. Physiol. A*, 111:647~671
- Geurden, I., Raduenco Neto, J., and Bergot, P. 1995. Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 131: 303~314
- Glamuzina, B., Jug-Dujakovic, J., and Katavic, L. 1989. Preliminary studies on reproduction and larval rearing of common *Dentex dentex* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 77:75~84
- Guthrie, K. M., Rust, M. B., Langdon, C. J., and Barrow, F. T. 2000. Acceptability of various microparticulate diets to first feeding walleye (*Stizostedion vitreum*) larvae. *Aquac. Nutr.* 6:153~158
- Haga, Y., Takeuchi, T., and Seikai, T. 2002. Influence of all-*trans* retinoic acid on pigmentation and skeletal formation in larval Japanese flounder. *Fisheries Science*, 68:560~570
- Hardy, R. W. 1991. Fish hydrolysates; production and use in aquaculture feeds. *Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*, Thailand, 109~115.
- Izquierdo, M. S., Arakawa, T., Takeuchi, T., Haroun, R., and Watanabe, T. 1992. Effect of n-3 HUFA levels in *Artemia* on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 105: 73~82
- Kolkovski, S., Tandler, A., and Kissil, W. G. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 12(3):203~209
- Kolkovski, S., Arieli, A., and Tandler, A. 1997a. Visual and chemical cues stimulate microdiet ingestion in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture International*, 5:527~536
- Kolkovski, S., Yackey, C., and Czesny, S. 2000. The effect of microdiet supplementation of dietary digestive enzymes and a hormone on growth and enzyme activity in yellow perch juveniles. *North American Journal of Aquaculture*, 62:130~134
- Kolkovski, S. 2004. Marine fish larvae diets. *International Aquafeed*, 7(4):8~12
- Koven, W. M., Tandler, A., Kissil G. W., Sklan, D., Friezlander, O., and Harel, M. 1990. The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 91: 131~141
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., and Tandler, A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193: 107~122
- Langdon, C. 2003. Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture*, 227: 259~275
- Leifson, R. M., Homme, J. M., and Jøstensen, J. P. 2003. Phospholipids in formulated start-feeds Effect on turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larval growth and mitochondrial alteration in enterocytes. *Aqua. Nutr.* 9:43~54
- Lie, O., Hemre, G. I., and Lambertsen, G. 1992. Influence of dietary fatty acids on the glycerophospholipid composition in organs of cod (*Gadus morhua*). *Lipids*, 27: 770~775
- Ma, H., Cahu, C., Zambonino, J., Yu, H., Duan, Q., Le Gall, M., and Mai, K. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, 245:239~248
- Merchie, G., Lavens, P., and Dhert, Ph. 1996b. Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. *J. Fish Biol.* 49:573~583
- Merchie, G., Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1997b. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae; A review. *Aquaculture*, 155:165~181
- Métailler, R., Cadena-Roa, M., and Person-Le Ruyet, J. 1983. Attractive chemical substances for the weaning of Dover sole (*Solea vulgaris*): Qualitative and quantitative approach. *J. World Maricul. Soc.* 14: 679~684
- Mourente, G., and Vásquez, R. 1996. Changes in the content of total lipid, lipid class and their fatty acids of developing eggs and unfed larvae of the Senegal sole, *Solea senegalensis* Kaup. *Fish Physiol. Biochem.* 15:221~235
- Moraís, S., Narciso, L., Dores, E., and Pousao-Ferreira, P. 2004b. Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae; Effect on larval growth, survival and fatty acid profile. *Aquac. Int.* 12: 281~298
- Parra, G., Rønnestad, I., and Yufera, M. 1999. Energy metabolism in developing eggs and unfed larvae of *Solea senegalensis*. *J. Fish Biol.* 55: 205~214
- Partridge, G. J., and Southgate, P. C. 1999. The effect of binder composition on ingestion and assimilation of microbound diets (MBD) by barramundi *Lates calcarifer* Bloch larvae. *Aquac. Res.* 30: 879~886
- Péres, A., Cahu, C., and Zambonino Infante, J. L. 1996. Amylase and trypsin response to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the development stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 15:237~242
- Person Le Ruyet, J., Alexandre, J. C., Thébaud, L., and Mugnier, C. 1993. Marine fish larvae feeding; Formulated diets or live preys? *J. World*

- Aquacult. Soc. 24:211~224
- Pousão-Ferreira, P., Morais, S., Dores, E., and Narciso, L. 1999. Eggs of gilthead seabream *Sparus aurata* L. as a potential enrichment product of *Brachionus* sp. in the larval rearing of gilthead seabream *Sparus aurata* L. Aquacult. Res. 30:751~758
- Rainuzzo, J. R., Reitan, K. I., and Olsen, Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review. Aquaculture, 155:103~115
- Rønnestad, I., and Fyhn, H. J. 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. Rev. Fish. Sci. 1:239~259
- Rønnestad, I., Thorsen, A., and Finn, R. N. 1999. Fish larval nutrition; a review of recent advances in the roles of amino acids. Aquaculture, 177:201~216
- Rønnestad, I., Rojas-García, C. R., Tonheim, S., and Conceição, L. E. C. 2001b. In vivo studies of digestion and nutrient assimilation in marine fish larvae. Aquaculture, 201:161~175
- Sargent, J. R., McEvoy, L. A., and Bell, J. G. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Aquaculture, 155:117~127
- Sargent, J. R., Bell, J. G., McEvoy, L. A., Tocher, D. R., and Estevez, A. 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture, 177:191~199
- Sarasquete, M. C., Polo, A., and Yúfera, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture, 130:79~92
- Sivaloganathan, B., Walford, J., Ip, Y. K., and Lam, T. J. 1998. Free amino acids and energy metabolism in eggs and larvae of seabass, *Lates calcarifer*. Mar. Biol. 131:695~702
- Takeuchi, T., Toyota, M., and Satoh, S. 1990. Requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids Nippon Suisan Gakkaishi, 56:1263~1269
- Tocher, D. R. 1993. Elongation predominates over desaturation in the metabolism of 18:3n-3 and 20:5n-3 in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. Lipids. 28:267~272
- Tocher, D. R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Rev. Fish. Sci. 2:107~184
- Van Anholt, R. D., Koven, W. M., Lutzky, S., and Wendelaar Bonga, S. E. 2004. Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture. 238:369~383
- Villalta, M., Estévez, A., Bransden, M. P., and Bell, J. G. 2005b. The effect of graded concentrations of dietary DHA on growth, survival and tissue fatty acid profile of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae during the Artemia feeding period. Aquaculture, 249:353~365
- Villalta, M., Estévez, A., and Bransden, M. P. 2005. Arachidonic acid enriched live prey induces albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. Aquaculture, 245:193~209
- Walford, J., Lim, T. M., and Lam, T. J. 1991. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of sea bass (*Lates calcarifer*) larvae: do they ingest and digest protein-membrane microcapsules? Aquaculture, 92:225~235
- Watanabe, T., Ohta, M., Kitajima, C., and Fujita, S. 1982. Improvement of the dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on 3 highly unsaturated fatty acids. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 48:1775~1782
- Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. J. World Aquacult. Soc. 24:152~161
- Yúfera, M., Fernández-Díaz, C., and Pascual, E. 2005. Food microparticles for larval fish prepared by internal gelation. Aquaculture, 248:253~262
- Yúfera, M., Pascual, E., and Fernández-Díaz, C. 1999. A highly efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. Aquaculture, 177:249~256
- Zambonino Infante, J. L., and Cahu, C. L. 1994b. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiol. Biochem. 12:399~408
- Zambonino Infante, J. L., Cahu, C. L., and Péres, A. 1997. Partial substitution of di- and tripeptides for native protein in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. J. Nutr. 127:608~614
- Zambonino Infante, J. L., and Cahu, C. L. 1999. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. J. Nutr. 129:1195~1200