

文章编号: 1674-5566(2010)03-0321-06

日本鳗鲡繁殖生物学研究概述

肖利, 吴惠仙, 薛俊增, 吴嘉敏, 陈文银

(上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 是中国和日本最广泛养殖的鱼类之一。其养殖基于对天然玻璃鳗的捕捞, 从而导致天然玻璃鳗资源逐渐出现严重的匮乏。为解决此问题, 众多研究者致力于玻璃鳗的人工繁殖。主要阐述了 30 年来日本鳗鲡繁殖生物学研究的相关成果: 在亲鳗催熟前需进行强化培育, 雌、雄鳗达到性成熟需要不同的催熟药物和催熟时间, 17-20 β -二羟孕酮 (DHP) 的催产效果较好; 温度、盐度、水体离子含量等环境因子对胚胎和仔鱼发育影响较大; 自由氨基酸、卵黄脂蛋白和硝化甘油是受精卵及卵黄囊期仔鱼的主要能源物质, 磷脂是辅助能源物质; 用鲨鱼卵冷冻干燥粉末添加复合维生素、磷虾提取液等制成的浆状饵料是仔鱼较适宜的开口饵料; 胚胎发育进程为初孵仔鱼体长 3.5 mm, 仅分化出咽, 从第 7 天开始, 仔鱼具有消化和吸收食物的能力并出现大幅生长, 到 100 d 时, 仔鱼已具有较强的免疫能力。

关键词: 日本鳗鲡; 人工繁殖; 催熟; 催产; 仔鱼

中图分类号: S961.2 **文献标识码:** A

A review reproductive biology research on the Japanese eel

XIAO Li, WU Hui-xian, XUE Jun-zeng, WU Jia-min, CHEN Wen-yin

(Key Laboratory of Exploitation and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: The Japanese eel (*Anguilla japonica*) is one of the most widely cultivated fishes in China and Japan. Because eel aquaculture is capture based, where glass eels are caught in the wild for aquaculture seed, glass eel shortage has increasingly become a serious problem. To solve this problem, the production of glass eels under culture conditions has been attempted for more than 30 years. This paper reviewed the research of reproductive biology on the Japanese eel. Some enhanced training to bloodstock before maturation are needed. Female and male eels that reach sexual maturity require different drugs and ripening time. Currently known DHP has better effect of ovulation compared to other drugs. Some environmental factors have important impact on embryonic and larval development, i.e. temperature, salinity, water ions content, etc. Free amino acids, egg yolk lipoprotein and nitroglycerin are main energy sources for fertilized egg and yolk sac stage larvae, while phospholipids are supplementary energy source. There is one kind of slurry food made by freeze-dried shark egg powder added with complex vitamins and krill extract. Newly hatched fish about 3.5 mm in length only has differentiated pharynx. Starting from the 7th day, the larval fish acquires the ability to digest and absorb food, followed by a sharp growth. On the 100th day, the larval fish already has a strong

收稿日期: 2009-09-29

基金项目: 上海市重大项目 (D-8003-08-032902)

作者简介: 肖利 (1985-), 男, 硕士研究生, 专业方向为胚胎发育生物学。E-mail: xiaoli329046438@163.com

通讯作者: 陈文银, E-mail: wyc@shou.edu.cn

immunity

Key words: Japanese eel; artificial reproduction; maturation; ovulation; larvae

日本和中国都是养殖日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 的大国, 目前在日本, 每年大约可以养殖日本鳗鲡 30 000 尾, 但仍需从中国及其他一些国家进口 80 000 尾。日本鳗鲡养殖业的苗种都来源于对野生玻璃鳗的捕捞, 随着捕捞量的逐年加大, 野生玻璃鳗资源逐渐变得匮乏, 苗种价格越来越昂贵, 因此开展玻璃鳗的人工培育显得尤为重要。

自 20 世纪 70 年代, 日本鳗鲡的人工繁殖研究便得到了研究者的极大重视。1974 年, Yamamoto 和 Yamauchi^[1] 使用外源激素处理, 首次获得了日本鳗鲡的受精卵和刚孵化仔鱼, 并于 1976 年将仔鱼的存活期成功延长至 14 d^[2]。此后, 许多研究者虽同样获得了日本鳗鲡刚孵化的仔鱼, 但所获仔鱼的存活时间仍极短, 在卵黄还未被完全吸收时就基本死亡^[3]。不完善的亲鳗催熟、催产及仔鱼培育技术可能是开展规模化人工繁殖玻璃鳗失败的主要原因。近几年, 硬骨鱼类的繁殖生物学研究, 尤其是鱼类卵子和精子的内分泌学研究取得了重大进步, 致使人们对人工规模化繁殖日本鳗鲡玻璃鳗的成功又充满了期待。本文从亲鳗的催熟、催产, 仔鱼发育及相关环境因子的影响等方面探讨了日本鳗鲡繁殖生物学研究的有关成果。

1 亲鳗的培育与催熟

在进行日本鳗鲡人工繁殖研究时, 亲鳗一般来源于两种类型: 一是养殖场的人工饲养鳗; 另一则是河口 (少数在湖泊中) 捕捞的天然降海鳗。由于在整个催熟期间, 亲鳗不摄食, 性腺发育所需的能量全部来自其本身的脂肪储备, 因此在催熟前对人工饲养鳗需进行必要的强化培育。Fujita 等^[4] 曾在亲鳗食物中添加 3:6 脂肪酸, 发现食物中脂肪酸的组成直接影响亲鳗及其卵子的脂肪酸组成, 一定量的 3:6 脂肪酸对亲鳗的生长和繁殖是必要的, 但含量过高则不利于胚胎形成。在催熟期间, 给亲鳗注射一定量的维生素 C 和维生素 E 同样可以提高卵子的维生素含量, 从而提高卵子的质量^[5]。

人工饲养鳗以雄鳗数量居多 (高密度养殖条件下), 因此在催熟前往往需要对亲鳗进行雌性化处理。自白仔鳗 (性别未分化) 开始, 连续往饲料中按 25 mg/kg 比例添加 17 β 雌二醇 6 个月, 可获得大量雌鳗, 所得到的雌鳗蛋白质含量下降, 脂肪含量升高^[6]。天然降海鳗性别比受地域、气候、水温等环境因子影响较大, 可能全是雄性, 也可能雌性数量占优^[7], 但雌性个体一般较雄性个体偏大。我国的研究者大多采用个体重量在 300 ~ 800 g 之间的天然降海鳗作为亲鳗进行催熟。

人工饲养的日本鳗鲡体内缺乏垂体促性腺激素的合成和释放, 所以性腺不能发育^[8], 可能是由于多巴胺类物质合成受阻引起了垂体促性腺激素 II (GTHII) 释放受阻^[9-10]。在天然降海鳗下海季节, 如果将在淡水中养殖的日本鳗鲡转移到海水中养殖, 雌性个体也仅仅只有少量的卵黄合成发生。因此, 人工饲养鳗的性腺发育必须通过人工催熟才能完成。即使是每年 10-12 月份在河口捕捉的天然降海鳗, 雌鳗的卵母细胞最多也只能发育到 III 期, 雄鳗的精巢更是基本尚未成形, 所以同样需外源激素刺激才能使其性腺完全发育成熟。

目前已证明有明显效果的外源激素有四大类: (1) 垂体类物质 (鲑或鲤脑垂体匀浆液); (2) 促性腺激素释放激素类似物 (如 IHRH-A 等); (3) 促性腺激素 (如 HCG 等); (4) 类固醇激素 (如雄烯二酮、甲基睾酮等)。这些激素都能成功催熟^[11-13]。催熟药剂可采取注射、包埋或投喂等给药途径, 邓岳松等^[14-17] 曾就给药途径进行了大量研究, 包括各种激素的药条埋植法、药物微囊注射法、水油/水复乳注射法等。其中注射法相对埋植法操作更为简单, 大部分研究者均采用此方法。注射时间间隔 (针距) 一般在 7 ~ 15 d 之间, 注射次数视具体情况而定, 一般为 8 ~ 12 次。雄鳗所需注射次数略少, 最快在第 5 次注射后就能挤出精液。由于性腺发育所需外源激素的量随时间呈曲线变化, 因此在总剂量保持不变的情况下, 宜采用药剂梯度注射法。

Ohno 等^[18] 曾发现在注射 8 ~ 13 次鲑脑垂体

匀浆液(每星期每条注射 20 mg)之后,雌鳗的卵子完成了卵黄物质的积累并发育至出核阶段(直径大约在 750~800 μm 之间),但随后这些卵子变得过熟(卵子细胞质发生降解且卵内有大块白色斑点),无法进行受精。这可能是卵黄物质的不正常积累造成的,因为卵黄蛋白具有保护卵子免受铜离子介导的氧化损伤的功能^[19],所以正常发育成熟的卵子呈无色透明状。在卵黄物质积累完成后,卵子需进一步成熟才能成功受精。卵子成熟包括胚泡的降解、减数分裂的重新开始以及卵子细胞质的成熟^[20],这些过程都需要催产药物的刺激才能完成。常用的催产药物有鱼类脑垂体、人绒毛膜促性腺激素(HCG)、促性腺释放激素(GnRH-A)、地欧酮(DOM)、17,20- β -二羟孕酮(DHP)等。目前认为DHP效果最好,DHP是由一种鲑鱼(*Oncorhynchus rhodurus*)分泌、人工提取的内固醇激素^[21]。最后一次注射催熟药剂24 h后再注射DHP,发现雌鳗排卵时立即进行人工受精,可得到质量相对较高的受精卵^[22]。

也可采用自然交配产卵受精的方法,在下午两点之前注射DHP,雌鳗排卵通常发生在注射完DHP 14~18 h之后^[23],即第2天凌晨5点前后。如果太晚,光线太强,有可能影响其交配行为。我国学者王义强等^[24]于1974年利用鲤鱼脑垂体匀浆液加上HCG首次让亲鳗自然交配产卵成功,获得了大量受精卵。

2 环境因子对胚胎和仔鱼发育的影响

Kurokawa等^[25]分析水温和日本鳗鲡卵黄囊吸收期仔鱼的畸变率的关系后指出:过低水温下培育的仔鱼的一些畸变(如围心囊肿大、下鄂变形等)出现的机率将增大,24~26 $^{\circ}\text{C}$ 是受精卵孵化及胚胎培育的最适温度。这和Chang等^[26]、Okamura等^[27]的研究结果相统一。在此基础上,Takum等^[28]观察水温25 $^{\circ}\text{C}$ 时,不同盐度(24,30,33,36和42)下孵出的日本鳗鲡仔鱼的存活率和畸变率,在比较前人的研究后发现34~35是日本鳗鲡受精卵孵化及胚胎发育的最适盐度。此外,我们应注意到:水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的含量及 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ 比值分别为330~450 mg/L,990~1300 mg/L和2.6~3.4时,日本鳗鲡的受精卵才能孵化^[29];上浮卵比非上浮卵含有更多的水分

(93.1%~87.5%)和自由氨基酸(573.5 $\mu\text{mol/g}$; 385.8 $\mu\text{mol/g}$)^[30],表现出更高的受精率和孵化率^[31];随着胚胎发育的进行,需要加大培育水体中的溶氧量,尤其是在耗氧量特别大的原肠期和出膜期^[32]。王广军等^[33]认为盐度下降和温度上升会引起初孵仔鱼的耗氧率升高,并且自然光条件下的耗氧率比遮光条件下高。Ohta等^[34]在人工精浆(ASP)稀释精子时,发现升高ASP中 K^{+} 、 HCO_3^{-} 离子浓度可以明显提高精子活力,因此在日本鳗鲡人工受精时,可以采用此种改良精浆使精子维持较高的活力。

3 胚胎营养物质的利用

目前很难将日本鳗鲡仔鱼培育成玻璃鳗的主要原因是研究者还没有发现它们的天然开口饵料,并且关于成功诱导日本鳗鲡仔鱼进食的报道极少^[24,35-38]。Nobuyuk等^[39]阐述了受精卵及卵黄囊期仔鱼期主要卵黄营养物质的利用情况:从开始受精到第4天,总自由氨基酸含量降到原来的45%(到第2天谷氨酸含量已急剧地降到原来的5%);卵黄脂蛋白从第4天起开始减少,硝化甘油从第2天到第8天均下降;另一方面,磷脂在整个卵黄吸收期都下降。从而确定了日本鳗鲡受精卵及卵黄囊期仔鱼对主要卵黄营养物质的利用规律:从第1天开始,利用自由氨基酸(尤其是谷氨酸)和卵黄脂蛋白,第2~4天利用硝化甘油,到第4天为止,超过30%的自由氨基酸和几乎全部的卵黄脂蛋白被利用完;另外,在整个发育期间,磷脂作为辅助的能量来源;受精后第8天,几乎所有的卵黄营养物质被吸收完,所以在此之前必须投喂饵料。目前研究发现日本鳗鲡仔鱼最适宜的开口饵料是用鲨鱼卵冷冻干燥粉末添加20%的大豆肽制成的浆状饵料,利用此饵料投喂仔鱼18 d,仔鱼体长从3.7 mm延长至8.1 mm,且存活率达56%。18 d后再分别按3.5%,1.5%比例添加复合维生素和复合矿物质,以及1:1的磷虾提取液一起制成浆状饵料,投喂日本鳗鲡仔鱼50 d,仔鱼全长达16 mm,并且体高逐渐增加,开始向柳叶状转变^[39]。氨基葡聚糖(GAG)被认为是柳叶状仔鱼的重要结构成分,并有在仔鱼变态时作为代谢能源的作用。研究发现日本鳗鲡仔鱼在人工饲养条件下同样具有合成GAG的能力,因此,在研发仔鱼饵料时不必

考虑添加 GAG

4 仔鱼发育

Kurokawa等^[40]在水温 22~23 °C条件下,成功培育日本鳗鲡仔鱼 13 d并利用组织比较学方法对仔鱼发育进行了跟踪观察,作出比较系统的描述:日本鳗鲡仔鱼刚孵出时,体长 3.5 mm,仅分化出咽;第 1天,在咽部和可能发育成肛门的部位之间出现一条狭窄的管道;第 3天,口和肛门打开,消化道分化成食道和肠道,肝脏和胰脏基原细胞形成;第 6天,使用组织免疫化学法可检测到胰脏中出现胰蛋白酶原;8~13 d用轮虫投喂仔鱼,仅发现 3条仔鱼进食;从第 7天开始,这些用轮虫投喂的仔鱼全部停止生长。近几年,生态学者借助耳石分析法,得知日本鳗鲡拥有极其长的仔鱼期和异常短暂的从浮游的柳叶鳗到底游的玻璃鳗的变形期^[41]。Sasa等^[42]利用组织免疫化学法,发现日本鳗鲡中期仔鱼(体长 32.2 mm)的未发育完全的鳃片组织中开始出现大量泌氯细胞,这种细胞具有帮助仔鱼抵抗海水中高渗环境的作用。日本鳗鲡仔鱼孵出后第 7天,眼睛的黑色素开始沉着和胰腺的消化酶开始合成^[43],表明从第 7天开始,仔鱼已具备吸收和消化食物的能力。YuiCh等^[44]利用 RT-PCR和组织免疫化学法发现在受精卵孵化后第 6天和第 10天,能检测到生长激素 mRNA的转录及其蛋白的高表达,而在第 6天前没有检测到此现象,推测仔鱼从第 6天起开始出现大幅生长活动。日本鳗鲡的第一页甲状腺叶片组织出现在仔鱼孵出后的第 29天(体长 12 mm),当到达第 100天时(体长 25 mm),每条仔鱼拥有 1~2片完整的甲状腺叶片组织,但其中一片对甲状腺抗体呈现极弱地免疫反应,随着仔鱼的继续生长,甲状腺叶片组织数量逐渐增多,免疫能力增强^[45]。

5 展望

迄今为止,经国内外(尤其是日本)研究者 30多年的不懈努力,日本鳗鲡繁殖生物学的研究已取得不少突破,日本中央水产研究所甚至成功培育了少量能持续存活 200余天的玻璃鳗。但总体而言,日本鳗鲡人工繁殖技术仍未完全成熟,要实现玻璃鳗的大量生产,亟需解决一系列的核心技术问题。

首先是对提高亲鳗的催产率,卵子的受精率以及仔鱼的存活率关键技术的攻关。不少研究者已通过对其亲鳗的人工催熟、催产,获得了一些受精卵,并成功地将其刚孵化的仔鱼培育了一定时间,但这仅仅是在室内可控环境及精心培育的条件下进行的,且能够存活到“前柳叶鳗”时期的仔鱼的数量极少。如果采取让其自然交配产卵受精,效率将会更低。此类技术在生产中应用其付出远远大于收获。因此,进一步开展日本鳗鲡繁殖生理的研究,特别是下丘脑—垂体—性腺三位一体的轴调控机制,以期获取性腺完全成熟并能大量产下高质量卵子的雌鳗和精子能持续保持高活力的雄鳗,为人工受精提供良好条件,是大量繁殖玻璃鳗的首要条件。

其次人工苗种的质量问题也不容忽视。和野生苗相比,人工苗生长速度缓慢,从初孵仔鱼发育成玻璃鳗所需时间将近野生苗的一倍^[46],并且人工苗体质较差,当外界环境条件稍有不利时,容易发生大批量的死亡。其原因是亲鳗催熟、催产,受精等技术还没有完全符合生产出优质受精卵的要求,另外和温度、盐度、水体离子含量等环境因子以及仔鱼饵料也有密切的关系。相关研究者应该从催熟前亲鳗的强化培育方面着手,尽可能地改善亲鳗体质,提高卵子质量并掌握有效筛选含有高水分和自由氨基酸的优质卵的技术方法,同时根据仔鱼各阶段不同的营养需求,以鲨鱼卵、磷虾水解物等浆状饵料为基础^[46],结合生物化学方法,把原物质转化成更有利于仔鱼消化吸收的高生物活性物质,研制出更适合仔鱼生长发育的饵料。

此外,加强对仔鱼培育装置的开发研究也是至关重要的。日本鳗鲡天然产卵场是一个高盐、高压、稳定且营养丰富的水体环境,目前的人工仔鱼培育装置无法完全模拟自然产卵环境。因此除温度、盐度、溶氧量、水体离子含量之外,还应充分了解和掌握其他一些环境因子或微量元素等对仔鱼发育的影响,从而研制开发出对仔鱼伤害更小的、功能更为完善的仔鱼培育装置,以达到人工规模化繁殖玻璃鳗的目的。

参考文献:

- [1] Yamanoto K, Yamauchi K. Sexua lmaturation of Japanese ee l and production of eel larvae in the aquarium [J]. Nature,

- 1974, 25(1): 220-222.
- [2] Yamauchi K, Nakamura M, Takahashi H et al. Cultivation of larvae of Japanese eel [J]. *Nature*, 1976, 263: 412-414.
- [3] Satoh H. Try for perfect culture of the Japanese eel [J]. *Iken*, 1979, 33: 23-30.
- [4] Furuta H, Ohta H, Unuma T et al. Effect of n3 and n6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2007, 267: 55-61.
- [5] Furuta H, Hori K, Sugita T et al. Vitamin content and quality of eggs produced by broodstock injected with vitamins C and E during artificial maturation in Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2009, 289: 334-339.
- [6] Chiba H, Iwasaki K, Hayami K et al. Effects of dietary estradiol 17 β on feminization, growth and body composition in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Comp Biochem Phys* 1993, Part A 106(2): 367-371.
- [7] Tzeng W, Cheng P, Lin F. Relative abundance, sex ratio and population structure of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the Tanshui River system of northern Taiwan [J]. *Fish Biol*, 1995, 46: 183-201.
- [8] Fontaine Y, Dufour S. The eels: from life cycle to reproductive endocrinology [J]. *Bull Inst Acad Sci Monogr*, 1991, 16: 237-248.
- [9] Dufour S, Lopez E, Menn F et al. Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development by the administration of a gonadoliberin agonist and of dopamine antagonists in female silver eel pretreated with estradiol [J]. *Gen Comp Endocr* 1988, 70: 20-30.
- [10] Lin H, Zhang M, Zhang S et al. Stimulation of pituitary gonadotropin and ovarian development by chronic administration of testosterone in female Japanese silver eels *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 1991, 96: 87-95.
- [11] 汪小东, 谢刚, 林浩然. 鲤脑垂体匀浆液和人绒毛膜促性腺激素混合注射对鳗鲡脑区促性腺激素释放激素和血清促性腺激素及性类固醇激素含量的影响 [J]. *水产学报*, 2000, 16(2): 123-129.
- [12] 邓岳松, 林浩然. 鳗鲡繁殖生物学与人工育苗研究概况 [J]. *湛江海洋大学学报*, 2001, 21(2): 77-82.
- [13] 张利红, 张为民, 林浩然. 雄烯二酮和甲基睾酮诱导雄性日本鳗鲡性腺发育的作用 [J]. *动物学研究*, 2001, 22(2): 89-92.
- [14] 邓岳松, 林浩然, 谢骏, 等. 注射含雄烯二酮的微囊诱导日本鳗鲡性腺发育成熟的研究 [J]. *热带海洋学报*, 2002, 21(4): 1-7.
- [15] 邓岳松, 林浩然, 谢骏, 等. 埋植雄烯二酮包膜型药条诱导雌性日本鳗鲡性腺发育成熟的研究 [J]. *大连水产学院学报*, 2001, 16(3): 163-167.
- [16] 邓岳松, 林浩然, 谢骏, 等. 注射含 HCG 和 CPE 的 W/O/W 复乳诱导日本鳗鲡性腺发育成熟的研究 [J]. *中国水产科学*, 2001, 8(2): 44-47.
- [17] 邓岳松. 鳗鲡仔鱼微型胶囊饲料的初步研究 [J]. *水产科学*, 2001, 20(5): 8-10.
- [18] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H et al. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1997, 17: 163-169.
- [19] Seiichi A, Kenji Y. Susceptibility to oxidation of copper induced plasma lipoproteins from Japanese eel: protective effect of vitellogenin on the oxidation of very low density lipoprotein [J]. *Comp Biochem Phys Part C* 1999, 123: 1-7.
- [20] Nagahama Y, Yamashita M, Tokumoto T et al. Regulation of oocyte maturation in fish [J]. *Curr Top Dev Biol* 1995, 30: 103-145.
- [21] Hiromi Q, Hirohiko K, Hideki T et al. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17, 20 α -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 1996, 139: 291-301.
- [22] Nagahama Y, Adachi S. Identification of a maturation inducing steroid in a teleost: the amago salmon (*Oncorhynchus thymus*) [J]. *Dev Biol* 1985, 109: 428-435.
- [23] Dou S, Yamada Y, Okamura A et al. Observations on the spawning behavior of artificially matured Japanese eels *Anguilla japonica* in captivity [J]. *Aquaculture*, 2007, (1-4): 117-129.
- [24] 王义强, 赵长春, 施正峰, 等. 河鳗人工繁殖的初步研究 [J]. *水产学报*, 1980, 4(2): 147-156.
- [25] Kurokawa T, Okamoto T, Gen K et al. Influence of water temperature on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel *Anguilla japonica* at completion of yolk resorption [J]. *World Aqua Soc* 2008, (39): 726-735.
- [26] Chang S, Kuo G, Liao J et al. Temperature adaptation of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) in its early stages [J]. *Zool Stud* 2004, 43: 571-579.
- [27] Okamura A, Yamada Y, Horie N et al. Effects of water temperature on early development of Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Fish Sci* 2007, 73: 1241-1248.
- [28] Takuma Q, Tadahide K, Koichiro G et al. Influence of salinity on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel *Anguilla japonica* at completion of yolk resorption [J]. *Aquaculture*, 2008, 76: 1104-1115.
- [29] 王广军, 谢骏, 潘德博. 海水中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的含量及 Mg^{2+}/Ca^{2+} 对日本鳗鲡受精卵孵化率的影响 [J]. *海洋科学*, 2002, 26(2): 69-31.
- [30] Manabu S, Satoshi Y, Yuzoh J et al. Differences in the biochemical content of buoyant and non-buoyant eggs of the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2003, 216: 355-362.
- [31] Tatsuya U, Shigenori K, Hideki T et al. Relationship between egg specific gravity and egg quality in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2005, 246: 493-500.
- [32] 谢刚, 祁宝伦, 余德光, 等. 鳗鲡胚胎和早期仔鱼的耗氧率 [J]. *大连水产学院学报*, 2000, 15(4): 250-253.
- [33] 王广军, 谢骏, 潘德博. 日本鳗鲡初孵仔鱼耗氧率的初步

- 研究[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(1): 52—55
- [34] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H et al. Control by the environmental concentration of ions of the potential fertility in Japanese eel spermatozoa[J]. *Aquaculture*, 2001, 198: 339—351.
- [35] Tanaka H, Kagawa H, Ohta H et al. The first report of eel larvae ingesting rotifers[J]. *Fish Sci*, 1995, 61(1): 171—172.
- [36] Tanaka H, Kagawa H, Ohta H. Production of leptocephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity[J]. *Aquaculture*, 2001, 204: 51—60.
- [37] Kurokawa T, Kagawa H, Ohta H et al. Development of digestive organs and feeding ability in larvae of Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Fish Aquat Sci*, 1995, 52: 1030—1036.
- [38] Kurokawa T, Tanaka H, Kagawa H et al. Absorption of protein molecules by the rectal cells in eel larvae *Anguilla japonica* [J]. *Fish Sci*, 1996, 62(5): 832—833.
- [39] Nobuyuki O, Sayumi S, Kazuharu N et al. Utilization of free amino acids, yolk protein and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2008, 282: 130—137.
- [40] Kurokawa T, Kagawa H, Ohta H et al. Development of digestive organs and feeding ability in larvae of Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Fish Aquat Sci*, 2008, 52: 1030—1036.
- [41] Otake T, Ishii T, Nakahara M et al. Drastic changes in otolith strontium/calcium ratios in leptocephali and glass eels of Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1994, 112: 189—193.
- [42] Arai T, Otake T, Tsukamoto K. Drastic changes in otolith microstructure and microchemistry accompanying the onset of metamorphosis in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2007, 364: 17—22.
- [43] Kawakami Y, Mochizuki N, Nakazono A. Immigration patterns of glass eels *Anguilla japonica* entering river in northern Kyushu [J]. *Bull Mar Sci*, 1999, 64(2): 315—327.
- [44] Yuichi O, Hanhisa F, Hideki T et al. Expression of growth hormone family and growth hormone receptor during early development in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Comp Biochem Phys*, 2006, 145: 27—34.
- [45] Keisuke Y, Kazuharu N, Hideki T. Development of thyroid gland and changes in thyroid hormone levels in leptocephali of Japanese Eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Aquaculture*, 2007, 270: 499—504.
- [46] Tanaka H, Kagawa H, Ohta H et al. The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture [J]. *Fish Physiol Biochem*, 2003, 28: 493—497.