

Sammendrag

Metamorfose er overgangsfasen fra larve til yngel og er ferdig når fisken får sin endelige form. Det er mange innvendige og utvendige endringer som påvirkes av endogen tyroidhormonaktivitet samt diett og miljø. Dette kapitlet skal gjennomgå disse i lys av dagens kunnskap om hva som kan bestemme at kveiten fullfører metamorfose og blir til salgbar yngel.

I naturen

I naturen er det funnet kun 4 atlantiske kveitelarver med plommesekk og omtrent 60 kveiter under metamorfose i hele det nordlige Atlanterhavet. Mesteparten av disse ble tatt i diagonale tråltrekk, så fangstdybde kan ikke fastslås med sikkerhet. Dessuten manglet mage-tarm på de fleste av disse villfangede kveitelarvene, så man kunne heller ikke bestemme fødevalg. Derfor er det meste av det vi vet i dag om kveiten under metamorfose ny viten skapt gjennom oppdrett.

Likevel er det noen generelle trekk som er felles for flatfisk som gjennomgår metamorfose – de endrer på adferd, økologi, og energiallokering og fysiologi, samt inntar en ny økologisk nisje da de går fra pelagiske larver til bunnslåtte yngel. I oppdrett er det under metamorfose at antallet levedyktige yngel bestemmes.

I oppdrett

I oppdrett har man brukt begrepene ”fullstendig metamorfose” og ”ufullstendig metamorfose” på bunnslåtte kveiteyngel. Dette gjenspeiler realiteten – den bilateralt symmetriske, gjennomslåtte, pelagiske larven har enten gjennomgått en vellykket øyenvandring, fått asymmetrisk pigmentering, et normalt skjelett og standardlengde/myotomhøyde forhold og bunnslått (Pittman et al. 1998). Det er også mange innvendige endringer i form og funksjon som er blitt påvirket. Prosessene som regulerer og inngår i metamorfose skal beskrives i de følgende sider.

Om metamorfose

Metamorfose er en endring i de ikke-reproduktive organer og strukturer til kveiten i stadiet mellom larve og yngel. Hele metamorfosen styres av både interne (hormonell) og eksterne (miljø, ernæring) signaler, og kan sies å begynne allerede ved startfôring. På den tiden har larven egne hormonproduserende kjertler nær ventral aorta under tungebeinet og disse produserer tyroidhormon som er sentral for metamorfose hos kveite (de Roode 1997; Solbakken et al. 1999). Første indikasjon på hormonell kontroll av metamorfose hos marine fiskelarver ble observert for over 70 år siden ved en økt aktivitet i skjoldbruskevvet (Sclower 1930).

Tyroidhormonet (TH) tyroksin (T₄), som blir produsert i fiskens skjoldbruskkjertel, er med i metamorfosen hos kveite ved at det påvirker øyevandring, utvikling av pigmentering, nyre, bloddannende vev (nyre, tymus og milt) og røde blodceller. T₄ påvirker også utvikling av funksjonell magesekk (gastriske kjertler og pepsinogen), fordøyingsenzym, muskelvev og nevralt vev, og er derfor nødvendig for å få gjennomført metamorfose hos flatfisk (Inui & Miwa 1985, Evans & Fernald 1990, Inui et al. 1995, Huang et al. 1998, Screiber & Specker 1998, Solbakken et al. 1999a, Solbakken et al. 1999b). Virkningen av hormonet er svært stadiespesifikt. Nevrofysiologisk er dette underlagt stimulering av hypofyse-tyroid akselen (hjerneutvikling), og spiller sammen med andre endogene hormoner som f.eks. kortisol og veksthormon (Miwa & Inui 1987, de Jesus et al. 1993).

Tarmsystemet er i en dynamisk utvikling og endrer på sin evne til å ta opp næringsstoffer. Spesielt fettsyrer og aminosyrer er viktige. De brukes både som byggesteiner for utvikling av hjerne- og nervesystem, muskel og skjelett og som en del av melanin (pigment) og tyroid (styrehormonet). Disse påvirker så utviklingen av andre organer og det som trengs for å bygge opp disse. Det vil si at larvens evne til å ta opp

det som blir tilbudt via føret er avhengig av utviklingsstadiet. Man kan kalle dette for et ”vindu” da det må være en overlapp i tid og rom mellom opptaksevne, innholdet i førtilbudet og fiskens behov. Betydningen av stamfisk-kernæring for yngelkvalitet må heller ikke undervurderes. Morfiskens forsyner larven med bl.a. hormoner og essensielle næringsstoffer i plommesekken, slik at den primitive larven er i stand til å danne sine egne organer og ta til seg føde.

Innvendige forandringer

Fordøyelsessystemet er egentlig først ute og må gjennomgå en endring fra en udifferensiert tarm hos larver til en nesten voksen fordøyelse. Larver har ingen mage, men de har for-, midt- og baktarm. Næringsopptak foregår ved pino-cytose og det fins ingen fordøyelseskjertler som skiller ut enzymer. Fordøyelsesenzymer trypsin kan dannes ved ca 160 døgngader etter klekking (lengde før ca. 230 døgngader, som er dagens praksis for startfóring). Under metamorfose blir tarmfoldene mer tydelige, tarmen snor seg og får acinare (sekretoriske) strukturer samt et økende opptak av lipider. Etter metamorfose har kveiten en ekte mage og fire blindsekker (pyloric caeca) der de acinare strukturene er blitt til gastriske kjertler, som skiller ut et proteolytisk enzym, pepsin, og HCL for å kutte opp proteiner til mindre polypeptider. Det er også andre enzymendringer. Kveiten får en gradvis økning i lipidopptak. Konsekvensen er en økende forutnyttelse samt at gradvis flere næringssemner blir tilgjengelig for resten av kroppen for å kunne gjennomgå metamorfose.

Respirasjon hos kveitelarven er gjennom huden (kutant). Den har ikke gjeller eller røde blodlegemer (Pittman et al. 1990). Når kveitelarven begynner å gjennomgå metamorfose begynner produksjonen av røde blodceller samtidig som gjellene differensieres i forberedelse til brankial respirasjon. Hos enkelte arter er det en nedgang i oksygenopptak under metamorfose. Etter metamorfose finnes det en voksen type røde blodceller og gjellene er fullt

funksjonelle. Oksygenopptaket kan da øke igjen hos enkelte flatfiskarter. Med andre ord, larven var avhengig av god vannutskifting og stabile oksygenforhold for å vokse optimalt, mens den bunnslette kveiten kan binde oksygen effektivt i blodet. Dette betyr at den bunnslette fisken nå kan inneha en annen nisje enn den gjorde som larve. Dette kan være et miljø med mer variabelt oksygen uten at det påvirker veksten så mye som hos en larve.

Det som endres mest hos en fisk under metamorfose er sansesystemet (øyne, otolithene, laterallinjen og luktegroppen) og hvordan den kan oppfatte miljøet omkring seg. Det blir en endring fra generelle (larven) til spesifikke sensoriske inntrykk (yngelen).

Kveitelarvens øyne har bare tapper (cones) som visuelle celler (Kvenseth et al. 1996). Dette betyr at de ser under forholdsvis høye lysnivå og at de ser farger. Imidlertid har de ingen måte å fokusere på da linsen sitter rett på netthinnen på dette stadiet. Under metamorfose, etter at myotomhøden har begynt å øke, begynner staver (rods) å dannes samtidig som den tilfeldige organiseringen av stavene blir til en regelmessig mosaikk. Synet blir skarpere og fokus mulig da linsen separerer seg fra netthinnen og muskler som beveger øyne videreutvikles. Det venstre øye begynner å vandre mot toppen av hodet. Etter metamorfose, når myotomhøyde/standardlengde er størst, er øyenvandringen ferdig og det ”venstre” øyet skal befinne seg på samme side av hodet som høyre øyet. De to celletypene er godt etablerte, så fisken kan ha fargesyn, fokus, syn under svake lysforhold i tillegg en generell økning i lysfølsomhet. Den visuelle akuitet (hvor stort/lite et objekt må være for å synes) øker slik at små byttedyr kan oppdages lengre fra fisken.

Det hender at øyenvandring ikke følger dette mønsteret. Det venstre øyet forblir på den ”abokulare” siden og bidrar ikke så mye til byttejakt (Pittman et al. 1998). Dette forekommer ofte i forbindelse med utvikling av en såkalte ”hanekam” (se avsnittet om skjelettdannelsen) og påvirkes kort etter startfóring.

En kveitelarves balansesans (otolithene og

labyrintene, også kalt det vestibulo-okular komplekset) er bilateralt symmetrisk, indikerer opp-ned og sender relativt få nerver til hjernen. Under metamorfose får disse nervene en omkobling fra otolittene til øyemuskulaturen når øyenvandringen tar til og fisken begynner å svømme med en tilting mot venstre. Imidlertid beholder otolittene den opprinnelige orienteringen til kroppsaksen og følger ikke med øyenvandring. Det vil si at den orientering i fisken som før betydde opp-ned nå betyr venstre-høyre og det er følgelig en omkobling til hjernen både under og etter metamorfose. Det er mange nerver som går fra begge sider av den vestibulo-okular komplekset til musklene rundt det vandrede øyet. Hjernen er midlertidig asymmetrisk.

Kveitelarven har et lite antall frie neuromaster, mesteparten på hodet og noen få langs kroppen. Da disse er eksponerte til miljøet er de ikke så retningsspesifikke. Under metamorfose øker antallet neuromaster og et kanalsystem blir dannet. Etter metamorfose er kanalene sunket inn og stimuli som vannbevegelser og lyd når neuromastene gjennom porer. Dette kalles sidelinjen og er svært retningsfølsom både på hodet og langs kroppen. Hos kveite er det flere neuromaster på den øyde (okulare) enn den ikke-øyde (abokular) siden og reagerer mer spesifikk på stimuli etter bunnslåing.

Kveitelarven har ikke luktegrep før den begynner å søke mot bunnen. Lukteorganet er et flatt lukteepitel som er eksponert mot vannet (retning vanskelig å bestemme). Under metamorfose begynner dette sensoriske vevet å synke innover, mens det vokser ut to hudlapper på hver side. Etter metamorfose møtes hudlappene og danner et tak over gropen (Solbakken & Pittman upubl.). Dette gjør at vannstrømmen som når de sensoriske cellene er mer retningsbestemt. Luktegrepene vandrer i takt med øyenvandring. Det er mulig at sansescellene også endrer på sin kjemiske følsomhet.

Hjernen gjennomgår under alt dette en rekke endringer, noe som understreker behovet

for fettsyrer. Det er også midlertidig asymmetri i flere hjernedeler sånn som optisk tektum og telecefalon.

Larver har "hvit muskel" innerst langs ryggsoylen, "rød muskel" i et tynt lag utenfor og alle fibrene er tynne. Larven er forholdsvis slank og myotomhøyden liten. Under metamorfose øker myotomhøyden og myomerformen - svømmehastigheten øker samtidig med en økning i fiberdiameter og en endring i muskelproteiner. Etter metamorfose er myotomhøyden gjerne 20-30% av total lengden, de "røde" fibrene er samlet langs midtlinjen. Konsekvensen er en økning i svømmehastighet og -bevegelse i vannet. Denne endringen er delvis styrt av tyroidhormon, andre hormoner samt temperatur og diett.

Utvendige forandringer

Pigmenteringen er det man oftest legger merke til hos en flatfisk i oppdrett. Normalt skal fisken være mørk på oversiden og hvit på undersiden men flatfisk i oppdrett kan ha mange varianter av dette. Utvikling av pigmentering er underlagt en fysiologisk kontroll som er litt forskjellig fra det som styrer resten av metamorfose, nemlig cholinergisk. Derfor kan man ha feilpigmenterte fisk som ellers er normale og omvendt, eller en uforutsigbar blanding. Metabolsk inngår aminosyren tyrosin i både utviklingen av pigmenteringen og i de metamorfiske endringer, mens det er godt bevis for at fettsyresammensetningen av dietten i tillegg til tid i utviklingen denne er tilbudt larven, påvirker den endelige pigmenteringen (Næss & Lie 1998).

Før metamorfose er larven svakt og symmetrisk pigmentert, men får gradvis flere celler med rødt, gult og svart pigment. Under metamorfosen øker antallet kromatoforer på den prospektivt okular siden og destrueres på den prospektivt abokular siden. Vandring av disse pigmentcellene til et mønster er under adrenergisk kontroll og er fleksibel selv etter metamorfose. At det er en diett komponent i utvikling av pigment er helt klart – forsøk har vist

at naturlig dyreplankton gir hele spekteret av rød, gul og svarte celler tidlig under metamorfose, mens kveitelarver føret på anriket *Artemia* utviklet bare svarte pigmentceller på samme stadiet. Dessverre er det ennå ikke klart hvilke komponenter i et ”naturlig diett” som er nødvendig for normal pigmentering. Det anbefales å føre med naturlig dyreplankton tidlig i metamorfosevinduet for å få normal pigmentering (Næss & Lie op. cit., Seikai et al. 1987). Den kritiske periode for introduksjon av naturlig dyreplankton er en kort interval innen larven har nådd en standardlengde på 16 mm.

Fiskens svømmeevne er bestemt av finner, muskler og kroppsform. Det er de dorsale og ventrale finnene som er mest utslagsgivende, da de erstatter den primordiale finnen som omslutter larvekroppen og bestemmer den endelige formen på fisken. Like før metamorfose bøyes ryggstrengen i haleenden (flexion) og urostylen og hypurale stråler dannes. Under metamorfose øker forbeiningen på halen og kraniet, kranieplatene beveger på seg for å tilpasses til øyenvandringen og virvelsøylen dannes med neurale og hemale pigger. Mellom neuralpiggen og finnestrålene kommer et uparet benapparat, pterygioforer. Disse danner knokler eller ledd med finnestrålene slik at det er et en-til-en forhold mellom disse. Det er uklart hva som er utslagsgivende for om kveiten vil se normal ut eller få en såkalt ”hanekam” der den fremste delen av dorsalfinnen ligger separat fra kraniet. Personlige observasjoner tyder på at stadiet der dette bestemmes er kort etter startføring og blir karakterisert av økt forbeining fremst på neurokraniet (Pittman et al. 1998).

Brystfinnerne er utviklet på plommesecklarven men får ikke stråler før under metamorfose. Bukfinnerne dukker opp når bunnslåingen nærmer seg, under metamorfose. Sammen med muskelendringer påvirker dette fiskens hydrodynamiske evner. Det er en påvirkning av diett på skjelettdannelse, men andre faktorer kan også spille en rolle.

Endokrinologi

Når bidraget av hormoner fra morfisken har avtatt, må larven produsere hormonene sine selv, og studier fra andre flatfisk tyder på at de er i stand til det når øyet er pigmentert og når ca. 50% av plommesecklen gjenstår. Kapasiteten til å produsere høye konsentrasjoner oppnåes imidlertid ikke før begynnelsen av metamorfose (Takaka et al. 1995; Solbakken et al. 2000). T4 begynner normalt å øke i det øyet begynner å vandre, og har en topp i det øyet passerer dorsalmidtlinjen. T4 blir omdannet til T3 hovedsakelig i lever, og dette hormonet er mer potent for påvirkning av gjennomføring av metamorfose. Men det foreligger til gjengjeld i mye mindre konsentrasjon enn T4 gjennom metamorfose.

I tillegg til TH har også andre hormoner effekt på metamorfose, og noen har også samvirkende effekt med TH gjennom denne fasen. Kortisol (F) som sekreseres fra spesialiserte celler i hodenyren, virker akselererende på metamorfose sammen med TH, men alene har F ingen effekt på de ytre synlige forandringene. Denne effekten er fremtredende tidlig i metamorfosen, når øyet akkurat har startet å vandre. F er også et stresshormon som gir utslag på ulike stressorer. Det er usikkert hvilken effekt dette har på utviklingen av larven, men det har vist seg at F har en reduserende effekt på tymus som er sentral i dannelsen av hvite blodlegemer. Larven kan derfor være følsom ovenfor stress situasjoner, noe som kan ha sammenheng med den høye dødeligheten som er observert tidlig i metamorfose i norske kveiteklekkeri. Kjønnsteroidene testosteron og østradiol, som sekreseres fra spesialiserte celler i gonadene, har også et hevet nivå samtidig med TH. Sammen med TH, og alene, virker disse retarderende på metamorfose. De kan være involvert i kjønnsdifferensieringen, da metamorfose også er utviklingsfasen der gonadeanleggene utvikles til ovarium og testis (21-38 mm FL hos kveite) (de Jesus et al. 1993, Tanaka et al. 1995, Schreiber & Specker 1998, Hendry et al. 1999).

Det er flere eksempler på induksjon av organ og organfunksjoner som er ute av fase med den ytre synlige metamorfosen ved tilsetninger av T4 i karet. Dette inkluderer utvikling av funksjonell magesekk, bloddannende vev og røde blodceller med hemoglobin. Utnyttelsen av dette i marin yngelproduksjon kan være fordelaktig, da utvikling av en funksjonell magesekk kan forbedre fordøyelsen av proteiner, og tidlig utvikling av flere hemoglobintyper kan bedre oksygenopptak. Effekten på tilvenning til tørrfor, yngelkvalitet, vekst og overlevelse hos metamorfoserende larver og ferdig metamorfosert yngel, har til nå ikke gitt utslag (Huber et al. 1999, Solbakken et al. 1999b).

Redusert jod tilgang gjennom diett hos mor resulterer som oftest i deformiteter og psykisk tilbakestående hos fosteret. Jod er en viktig bestanddel i TH og ca. 80 % av alt jod i en vertebrat befinner seg i skjoldbruskkjertelen (Hetzel & Maberly 1986; Leatherland 1994; Eales 1995). I naturlig dyreplankton er det funnet 700 ganger høyere jodinnhold enn i *Artemia*, og kveitelarver som har spist naturlig dyreplankton har 2-3 ganger høyere jodinnhold og dobbelt så høyt TH nivå i begynnelsen av metamorfose enn de som har spist *Artemia* fra startfôring til bunnslåing (Solbakken et al. 2000). Dette tyder på at dietten har en klar innvirkning på endokrinologien som igjen påvirker fenotypen.

Betydningen av miljø

Det er en positiv sammenheng mellom alder og størrelse ved endt metamorfose, noe som illustreres ved at larver som vokser raskt vil metamorfosere ved en mindre størrelse enn de som vokser sent (Chambers & Leggett 1987). Økt temperatur i larvehabitatet nedsetter generelt alder, størrelse ved og varighet av metamorfose. I disse larvene er det funnet en bedre sammenheng mellom larvens innhold av T4 og utviklingsstadium enn mellom førstnevnte og størrelse (Tanangonan et al. 1989). Fra andre arter enn flatfisk, er det kjent at

pinealorganet i hjernen er sentral i overvåkingen av miljøsignal som temperatur, som stimulerer indre mekanismer (aktivitet i hjernen, hypofyse-tyroidaksen) som initierer metamorfose (se Youson 1988). Dette illustreres ved at kveite med høy vekstrate (utvikler seg fort) gjennomgår metamorfose tidligst (Gara et al. 1998).

En annen miljøfaktor som kan ha tilsvarende effekt er daglengde eller endring i denne. For flatfisk er det oppnådd bedre vekst og overlevelse ved kontinuerlig lys enn ved kortere daglengder (Huber et al. 1999). En stadiespesifikk reduksjon i daglengde i begynnelsen av metamorfose hos kveite kan akselerere metamorfose (Solbakken & Pittman unpubl.). Effekten av daglengde på metamorfose kan imidlertid bli redusert dersom larvene føres med *Artemia* i stedet for naturlig dyreplankton (Solbakken & Pittman unpubl.; Solbakken et al. 2000).

Redusert saltholdighet har vist seg å akselerere utviklingen og påvirke nivåer av visse hormoner gjennom metamorfose hos andre flatfiskarter (Hiroi et al. 1997, Specker et al. 1999). I tillegg til å være et mulig miljøsignal for metamorfose kan redusert saltholdighet være med på å redusere den osmotiske gradienten mellom mediet og larven, og kan medføre en energiallokering til andre funksjoner som utvikling og vekst.

Siden TH og F virker synergistisk på metamorfose, er det stilt spørsmål om det er mulig å indusere eller modulere metamorfose gjennom en såkalt "stress induisert metamorfose". Spørsmålet dukket opp i forbindelse med utsortering og overføring av premetamorf larver til grunne lengdestrømsrenner (7mm vannstand), der larven ikke har annen mulighet enn til å ligge på bunn (Klokseth & Øiestad 1999). Dette har resultert i økt overlevelse. Et forsøk med premetamorf larver i vannstand på 1,5 cm gjennom første halvdel av metamorfose induerte et økt larveinnhold av kortisol, men dette gav ingen utslag i den ytre synlige metamorfose (Solbakken et al. 1999a).

I utviklingen av en ny oppdrettsart vil en etter en tid ha tilpasset et produksjonskonsept der kriterier er valgt delvis på bakgrunn av forskningsresultater, men også på bakgrunn av erfaringskriterier som gir best vekst og lignende. Imidlertid kan valgte kriterier undertrykke indre rytmer hos larven som igjen kontrollerer utvikling. I overgangsfaser som metamorfose, bør en derfor tenke igjennom hvilke miljøendringer larvene er utsatt for i naturen, og implementere disse via forsøk til produksjonslinjen i klekkeriet.

Praktiske kriterier

Det er klart at behandlingen under larvestadiet har konsekvenser for yngelstadiet, og at det er gjennom metamorfose prosessen at mange av de viktigste konsekvensene kommer til uttrykk. Det er også klart fra andre flatfiskarter at metamorfose egentlig består av en rekke endringer som finner sted på ulike tidspunkt inne i fisken og at enkelte endringer kan påvirke de påfølgende som f.eks. tarmendring.

Men når begynner metamorfose egentlig? Vi mener at metamorfose må betraktes som påbegynt kort etter startfóring hos kveite når myotomhøyden begynner å øke og øyenvandring normalt tar til. Øyenvandring er et upålitelig tegn hos kveite da dette ofte ikke blir gjennomført til tross for andre endringer. Hos andre arter er prosessen begynt når finnestrålene dannes. Det har ikke vært mulig å kontrollere om fisken skal gjennom metamorfose hverken ved å bruke graden av øyenvandring ved en gitt alder eller forholdet standardlengde/myotomhøyde.

Metamorfose kan sies å være ferdig eller fullstendig når fisken har gjennomgått de ovenstående endringer og ser ut som en voksen kveite. Mesteparten av endringene som fisken er i stand til å gjennomføre er unnagjort ved bunnslåing. Ufullstendig metamorfose ved dette tidspunkt er lett å identifisere, men vanskelig å gjøre noe med.

Hos kveite er det foreslått et metamorfosevindu for fenotypebestemmelse, som åpner

ved 16mm og begynner å lukke ved 22-23mm standardlengde. I begynnelsen av dette vinduet har kortisol en topp, mens tyroksin øker kraftig mot slutten, samtidig som øyet normalt er i ferd med å passere dorsalmidtlinjen (Solbakken et al. 1999a). Innen dette vinduet kan tilstrekkelige mengder av bestemte ernæringsfaktorer være en forutsetning for gjennomføring av en normal metamorfose (Solbakken et al. 2000).

Konklusjon

Tyroid hormoner er en sentral faktor i de morfologiske, fysiologiske, biokjemiske og atferdsmessige tilpasninger av en flatfisk larve til det voksne habitatet. Hormontilsetninger er imidlertid utelukket fra norsk akvakultur. Derfor er det viktig å etablere kunnskap om betydningen av stamfiskens bidrag til larvens hormonnivå, om hvilke miljø og ernæringsfaktorer som påvirker metamorfose, og hvordan disse virker i samspill med kveitelarvens hormoner.

Referanser

- Chambers, R.C. & Leggett W.C., 1987. Size and age at metamorphosis in marine fish: an analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 1936-1947.
- De Rhode, D. 1997. Metamorphosis in Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: effects of light regime, thyroid hormones and disease. Second Thesis Report for Environmental Biology at Utrrecht University. 54pp (mimeo).
- de Jesus, E.G., T. Hirano & Inui Y., 1993. Flounder metamorphosis: Its regulation by various hormones. *Fish Physiology and Biochemistry* 11: 323-328.
- Eales, J.G. 1995. Regulation and measurements of thyroidal status in fish. *Netherlands Journal of Zoology* 45: 175-180.
- Evans, B. & R.D. Fernald. 1990. Metamorphosis and fish vision. *Journal of Neurobiology* 21: 1037-1052.
- Gara, B., Shields, R.J. & McEvoy, L. 1998. Feeding strategies to achieve correct metamorphosis of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), using enriched *Artemia*. *Aquaculture Research* 29: 935-948.
- Hendry, C.I., Martin-Robichaud, D.J. & Benfey, T.J. 1999. Histological determination of sexual differentiation in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). In: *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Institute of Marine Research and University of Bergen, 4-9 July.
- Hetzel, B.S. & Maberly, G.F. 1986. Iodine. In: *Trace elements in human nutrition*, vol. 2. Academic Press, Inc.
- Hiroi, J., Kaneko, T., Seikai, T. & Tanaka, M. 1998. Developmental sequence of chloride cells in the body skin and gills of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. *Zoological Science* 15: 445.
- Huber, M., Moore, E., Marcaccio, N., Katersky, R. and Bengtson, D., 1999. Effects of photoperiod on survival, growth and pigmentation of summer flounder (*Paralichthys dentatus*) larvae in laboratory culture. *Journal of Shellfish Research* 18: 268 (Abstract).
- Inui, Y. & Miwa, S. 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology* 60: 450-454.
- Inui, Y., K. Yamano & Miwa, S. 1995. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture* 135: 87-98.
- Kloksleth V. & Øiestad, V., 1999. Forced settlement of metamorphosing halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in shallow raceways: growth pattern, survival, and behaviour. *Aquaculture* 176: 117-133.
- Kvenseth, A.M., Pittman, K. & Helvik, J.V. 1996. Eye development in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): differentiation and development of retina from yolk sac stages through metamorphosis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 2524-2532.
- Miwa, S. & Inui, Y. 1987. Histological changes in the pituitary-thyroid axis during spontaneous and artificially induced metamorphosis of larvae of the flounder *Paralichthys olivaceus*. *Cell and Tissue Research* 249: 117-123.
- Pittman, K., Skiftesvik, A.B. & Berg, L. 1990. Morphological and behavioral development of halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.), larvae. *Journal of Fish Biology* 37: 455-472.
- Pittman, K., Jelmert, A., Næss, Harboe, T. & Watanabe, K. 1998. Plasticity of viable postmetamorphic forms of farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture Research* 29: 949-954.

- Schreiber, A.M. & Specker, J.L. 1998. Metamorphosis in the Summer flounder (*Paralichthys dentatus*): stage-specific developmental response to altered thyroid status. *General and Comparative Endocrinology* 111: 156-166.
- Slower, A. 1930. Die bedeutung der schilddrüse für die metamorphose des aales und der plattfische (The involvement of the thyroid in the metamorphosis of eels and flatfishes). *Forsch. Fortschr. Deutsch. Wiss.* 6: 435-436.
- Seikai, T., Shimozaki, M. & Watanabe, T. 1987. Estimation of larval stage determining the appearance of albinism in hatchery reared juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suissan Gakkaishi* 53: 1107-1114.
- Solbakken, J.S., Norberg, B., Watanabe, K. & Pittman, K. 1999a. Thyroxine as a mediator of metamorphosis of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Environmental Biology of Fishes* 56: 53-65.
- Solbakken, J.S., Mangor Jensen, A, Norberg, B. & Pittman, K. 1999b. Metamorphosis in Atlantic halibut: Stage responses to exogenous thyroxine. *European Aquaculture Society, Trondheim 1999, Special publication No 27.*
- Solbakken, J.S., Hamre, K., Berentsen, M., Opstad, I., Norberg, B. & Pittman, K. 2000. Nutritional effects on whole body thyroid hormone levels, larval development and juvenile quality in Atlantic halibut. *Conference of European Comparative Endocrinologists, 5-9 th September, Faro, Portugal (Abstract)*
- Specker, J.L., Schreiber, A.M., McArdle, M.E., Poholek, A., Henderson, J. & Bengtson, D.A. 1999. Metamorphosis in summer flounder; effects of acclimation to high and low salinities. *Aquaculture* 176: 145-154.
- Tanaka, M., J.B. Tanangonan, M. Tagawa, E.G. de Jesus, H. Nishida, M. Isaka, R. Kimura, & T. Hirano. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture* 135: 111-126.
- Tanangonan, J.B., Tagawa, M., Tanaka, M. & Hirano, T. 1989. Changes in tissue thyroxine level of metamorphosing Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) reared at different temperatures. *Nippon Suissan Gakkaishi* 55: 485-490.
- Youson, J. 1988. First metamorphosis. pp. 135-196. In: Hoar, W.S. & D.J. Randall (ed.) *Fish Physiology*, Volume 11B. Academic Press Inc., San Diego.