

细锯脂鲤银膜及全透两个品系的体色及发育的对比

王韶伟^a, 李贝^a, 刘至治^{a,b}, 刘志伟^{a,b}

(上海海洋大学 a.水产科学国家级实验教学示范中心;b.上海市水产养殖工程技术研究中心,上海 201306)

摘要:细锯脂鲤(*Pristella maxillaris*)因其成鱼体色透明而越来越受到模式生物研究学者们的青睐.本研究从组织形态学和细胞学水平连续观察了银膜和全透两个品系细锯脂鲤不同发育时期眼睛、鳃部、腹部、背鳍、臀鳍及尾鳍的特征.结果表明:(1)银膜系鱼中观察到 3 种色素细胞,发育时序为黑色素细胞、虹彩细胞和黄色素细胞;全透系鱼中仅先后出现黑色素细胞与黄色素细胞 2 种色素细胞.(2)背鳍中部,银膜系鱼仅有树突状黑色素细胞,全透系鱼还具有颗粒状黄色素细胞;臀鳍中部,银膜系鱼的黑色素细胞均为树突状,但全透系鱼中黑色素细胞与黄色素细胞形态都为颗粒状;尾鳍中部,银膜系鱼均匀分布着散射线状黄色素细胞,而全透系鱼黄色素细胞形态除散射线状外还呈颗粒状形态.(3)银膜系鱼眼睛、背鳍与臀鳍上的黑色素细胞数量均多于全透系鱼,而黄色素细胞数量则相反.上述研究结果可为后续相关鱼类体色发育机制及可视化模式生物的建立提供重要的基础资料.

关键词:细锯脂鲤;体色发育;色素细胞;黑色素细胞;虹彩细胞;黄色素细胞

中图分类号:S917.4

文献标志码:A

鱼类的体色发育在物种识别、仔鱼发育进程鉴别及观赏鱼体色调控等方面具有一定价值.鱼类体色通常由鳞片与皮肤中色素细胞选择性地吸收或反射特定波长的光来体现^[1].迄今为止,鱼类中已发现黑色素细胞、黄色素细胞、虹彩细胞及红色素细胞 4 种常见的色素细胞^[2],少数鱼类中还发现蓝色素细胞和白色素细胞^[3-4].学者们常采用斑马鱼^[5](*Danio rerio*)、青鳉^[6](*Oryzias latipes*)等模式生物来研究鱼类体色形成的分子机制与发育基础,但在色素细胞的表型发育及细胞机制方面还缺乏深入探讨.

鱼类在胚胎期和初孵仔鱼时期通常呈通体透明,色素细胞形状多呈星状或点状分布.随着鱼体的生长发育,出现了树突状的色素细胞,可连成网状形成明显体色表型.幼鱼时期色素细胞逐渐成熟,数量、形状及分布都趋于稳定,表现出鱼体特有的体色,此时幼鱼的体表特征与成鱼无异^[7].目前,在孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)^[8]、橘色双冠丽鱼(*Amphilophus citrinellus*)^[9]、瓯江彩鲤(*Cyprinus carpio* var. *color*)^[10]、鲮鲃(*Rhodeinae*)^[11]等体色图案显著的鱼类中均有关于体色的研究.

细锯脂鲤(*Pristella maxillaris*)在分类学中属于辐鳍亚纲(Actinopterygii),鲤形目(Cypriniformes),脂鲤亚目(Characoidei),脂鲤科(Characini),细锯脂鲤属(*Pristella*),又称玻璃扯旗鱼、黄扯旗鱼^[12].细锯脂鲤通体透明,可在体外清晰地观察到其脊椎骨及内脏形态,很多生命状态肉眼可见,有望成为生物研究领域理想的模式生物,应用于进化生物学及鱼类生物学等基础研究^[13].细锯脂鲤的色素细胞在发育进程中种类较少,且分布范围及变化规律非常明显,容易观察记录,以它来作为色素细胞发育时序的研究非常高效,但迄今未见对细锯脂鲤等体色发育的报道.

目前实验室培育有两个细锯脂鲤品系,银膜系鱼的腹部和鳃部由一层银色腹膜覆盖,而全透系鱼则没有银色腹膜而使其内脏器官清晰可见.本文采用体式显微镜,对银膜系和全透系两个细锯脂鲤品系的体色发育

收稿日期:2020-08-23;修回日期:2020-10-12.

基金项目:国家自然科学基金(31101050);上海市教委创新计划(13YZ094).

作者简介:王韶伟(1994-),男,河南濮阳人,上海海洋大学硕士研究生,研究方向为鱼类分子生物学,E-mail:670561652@qq.com.

通信作者:刘志伟(1978-),男,讲师,博士,研究方向为发育生物学,E-mail:zwliu@shou.edu.cn.

时序进行观察分析,来探究两个品系色素细胞的发育特征及差异,为后续鱼类体色发育机制的研究提供理论基础,以及为可视化模式生物研究提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 仔稚鱼来源

1.1.1 亲鱼饲养及交配

细锯脂鲤饲养于上海海洋大学水产与生命学院鱼类学养殖实验室内循环水养殖系统。待鱼性成熟后,将雌雄隔离饲养,温度稳定在 25.0 ℃,pH 控制为 7.2,每日光照时间段为 7:00—21:00,每日早晚喂养 2 次孵化 36 h 的丰年虫。一个交配周期 9 d,交配时取干净孵化盒,放入雌、雄鱼各一条,每 24 h 更换一次水,36 h 后观察产卵与否并收集胚胎。

1.1.2 受精卵孵化及仔稚鱼饲养

用滴管吸入受精卵转移至培养皿中,加入曝气后的纯水放置于 28.5 ℃ 恒温培养箱中,24 h 后仔鱼出膜。待出膜后将仔鱼转移至 250 mL 烧杯中饲养,每个烧杯 25~30 条。出膜 3 d 的仔鱼开始喂食活体小球藻轮虫 5 滴。出膜后 6 d 的仔鱼可投喂孵化 36 h 的丰年虫,每日喂养 2 次,并在喂养 3 h 后及时吸出剩余丰年虫。直至饲喂至出膜第 14 d 时,将仔鱼转入循环水系统。在此期间对各个时期的仔鱼进行固定并拍照观察。

1.2 观察方法

1.2.1 实验鱼选取

实验室经长期培育有银膜系和全透系两个品系。银膜系鱼的典型特征为腹部由一层银色腹膜覆盖;而全透系鱼的内脏器官没有银色腹膜包裹,在体外清晰可见。将出膜后 24 h、36 h、48 h、60 h、72 h、96 h 的幼鱼取出置于 0.5 mL EP 管中保留 0.4 mL 水,加入 0.1 mL 质量浓度为 100 mg/L 的 MS-222 溶液。待仔鱼静止不动时吸出 0.25 mL 溶液加入 0.25 mL 体积分数为 4% 的多聚甲醛(PFA)4 ℃ 固定 30 min 后将参与液体吸出加入 0.5 mL 体积分数 4% 的多聚甲醛溶液(PFA)固定 12 h。固定好的鱼吸出 PFA 加入甲醇在 -20 ℃ 脱水以备用。每日观察鱼体的发育情况。

1.2.2 显微镜观察

待鱼麻醉后,使用徕卡体式显微镜对整鱼进行拍摄和照片拼接。对鱼体的眼睛、鳃部、腹部、背鳍、臀鳍及尾鳍部位进行拍摄记录,并使用配套软件进行后续的图像显示处理。

整个实验鱼的准备和拍摄过程完全遵循中国科学技术应用的法律法规。

2 结 果

2.1 细锯脂鲤两个品系成鱼差异对比

经多代全同胞建系,目前本实验室有两种体色的细锯脂鲤品系:一种为头腹部由一层银膜覆盖,称为银膜系细锯脂鲤(图 1 c1);一种为全身透明且内脏器官清晰可见,称为全透系细锯脂鲤^[12](图 1 d1)。银膜系细锯脂鲤的发育过程特征表现为眼睛、腹部及鳃部出现虹彩细胞聚集形成明显银膜(图 1 c4,c5),背鳍与臀鳍中的黑色素细胞数量集中分布于中部与基部(图 1 a2~a3,c2~c3);但是全透系细锯脂鲤的发育过程中未观察到虹彩细胞的出现,其明显特征为眼睛呈半透明(图 1 b5,d4)。

2.2 细锯脂鲤两个品系非眼部组织色素细胞种类及形态

两个品系细锯脂鲤体色发育过程中,本研究一共观察到 3 种色素细胞类型,分别为黑色素细胞、黄色素细胞以及虹彩细胞,每种色素细胞都具有两种不同的形态(图 2),具体如下。

树突状黑色素细胞(图 2 a):细胞中黑色素呈分散状态,形似树枝突出;其多分布于背鳍及臀鳍中部。

颗粒状黑色素细胞(图 2 b):黑色素在细胞内聚集,使细胞呈现圆形;其在背鳍及臀鳍基部、顶部均有分布。

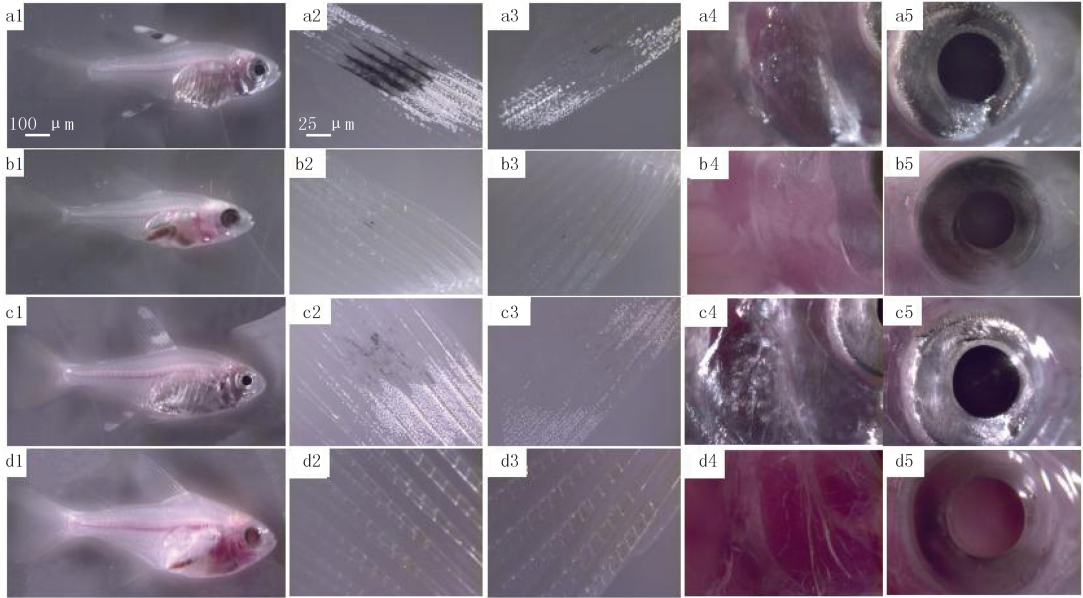
散射状黄色素细胞(图 2 c):细胞内黄色素更为分散,使细胞形态呈现散射状;该细胞多沿着鳍条分布,在背鳍、臀鳍和腹鳍中均有明显分布。

颗粒状黄色素细胞(图 2 d):黄色素聚集使得细胞呈现橙黄色,多在鳍条与鳍条间分布,主要在臀鳍中部

集中分布。

颗粒状虹彩细胞(图 2 e):银膜系细锯脂鲤在发育早期出现的虹彩细胞体积较小,呈颗粒状,分布于眼睛、腹部及鳃部。

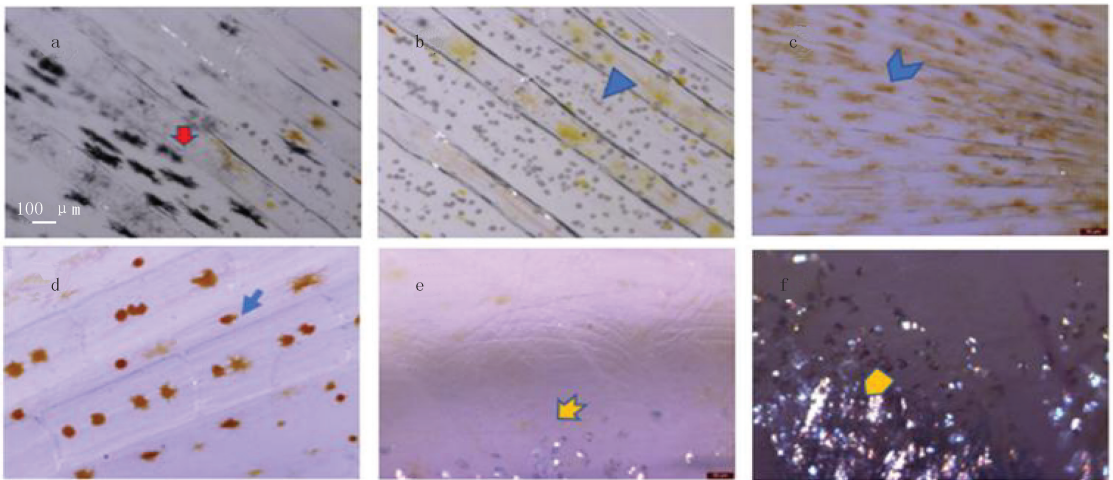
长棒状虹彩细胞(图 2 f):发育后期银膜系细锯脂鲤中的虹彩色素大量聚集,使细胞体积增大,呈现长棒状,分布部位与颗粒状虹彩细胞相同。



a1:2月龄银膜系细锯脂鲤;b1:2月龄全透系细锯脂鲤;c1:5月龄银膜系细锯脂鲤;
d1:5月龄全透系细锯脂鲤;a2~d2:背鳍;a3~d3:臀鳍;a4~d4:腮部;a5~d5:眼睛。

图1 细锯脂鲤两个品系成鱼体色观察

Fig. 1 The comparison of body color in two strains of *P. maxillaris*



a:树突状黑色素细胞(►);b:颗粒状黑色素细胞(►);c:散射状黄色素细胞(►);
d:颗粒状黄色素细胞(►);e:小型颗粒状虹彩细胞(►);f:长棒状虹彩细胞(►)。

图2 两个品系细锯脂鲤色素细胞种类及形态特征

Fig. 2 Types and morphological characteristics of pigment cells in *P. maxillaris*

2.3 细锯脂鲤两个品系眼部组织体色发育差异

初孵仔鱼:两品系细锯脂鲤均在出膜后眼形成视网膜包裹晶状体结构,且未观察到色素出现(图 3 a)。

1 d:两个品系细锯脂鲤眼睛的视网膜均出现黑色素层,呈零星状分布(图 3 b);

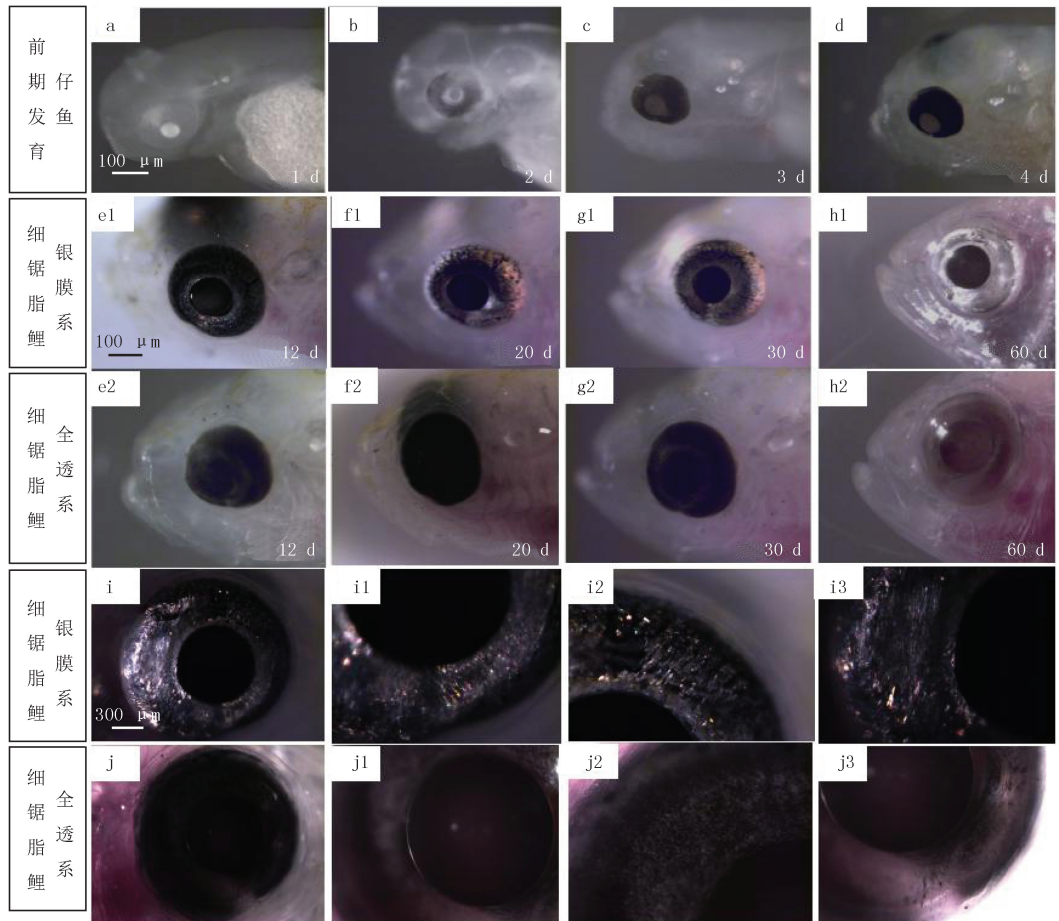
4 d:两个品系细锯脂鲤眼睛中晶状体呈现褐色(图 3 d).

12 d:银膜系细锯脂鲤晶状体周围开始出现虹彩色素,呈点状分布(图 3 e1);全透系细锯脂鲤眼睛仍呈黑色(图 3 e2).

30 d:银膜系细锯脂鲤眼睛发育完全,同时虹彩色素形成一层银膜(图 3 f1~g1);全透系细锯脂鲤中黑色素含量开始减少,眼球呈现褐色(图 3 f2~g2).

60 d:银膜系细锯脂鲤眼睛中虹彩色素呈银膜状(图 3 h1,i~i3);全透系细锯脂鲤眼睛呈现半全透状态(图 3 h2,j~j3).

仔鱼发育过程中,眼睛均为两个品系最先出现黑色素的器官.银膜系细锯脂鲤眼睛于 12 d 出现虹彩色素,形成明显银膜特征;而全透系细锯脂鲤眼睛中只出现黑色素,且于 30 d 黑色素逐渐减少至半透明状态.



放大倍数:a~d, i, j (50倍);e1~h2 (32倍);i1~j3 (160倍).

图3 不同发育时期的两个品系鱼眼睛中色素细胞的细胞形态及数量

Fig.3 Morphologic changes of pigment cells in eyes of two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages

2.4 细锯脂鲤两个品系鳃部及腹部体色发育差异

25 d:银膜系细锯脂鲤腹部及鳃部开始出现虹彩色素,呈点状分布(图 4 a1,c1);

45 d:银膜系细锯脂鲤腹部及鳃部上局部区域的虹彩色素逐渐聚集连成片状(图 4 a2,c2);

60 d:银膜系细锯脂腹部及鳃部虹彩色素密度增大,各大小片状趋于相连,初步形成银膜形状(图 4 a3,c3);

90 d:银膜系细锯脂鲤鳃部及腹部的银膜相连,呈现包裹内脏状态(图 4 a4,c4).

全透系细锯脂鲤腹部及鳃部在整个发育过程中均未出现虹彩细胞,鱼体的内脏肉眼与体外清晰可见

(图4 b1~b4, d1~d4).



放大倍数: a1~b2 (32倍); a3~b4 (25倍); c1~d4 (50倍).

图4 不同发育时期2种品系腹部与鳃部色素细胞种类、数量及分布

Fig. 4 Morphologic changes of pigment cells in abdominal and gill of the two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages

2.5 细锯脂鲤两个品系的背鳍体色发育差异

两个品系的背鳍中均观察到黑色素细胞与黄色素细胞.黑色素细胞有两种不同的形态:一类细胞体积较大且颜色深,有树突状分枝,为树突状黑色素细胞(图5 a3, b3);另一类细胞体积小且颜色浅,呈团块状,为颗粒状黑色素细胞(图5 a2).背鳍中黄色素细胞呈散射状形态(图5 b2).

20 d:两个品系细锯脂鲤背鳍原基均开始出现,此时无色素出现(图5 a1, b1).

25 d:两个品系细锯脂鲤背鳍基部均开始出现颗粒状黑色素细胞与散射状黄色素细胞(图5 a2, b2).

45 d:两个品系细锯脂鲤均可观察到,散射状黄色素细胞沿着鳍条分布于背鳍中下部;树突状黑色素细胞在背鳍中部出现,分布于鳍条间(图5 a3, b3).银膜系细锯脂鲤中2种形态的黑色素细胞分布范围较全透系细锯脂鲤广.

60 d:两个品系细锯脂鲤背鳍顶部出现颗粒状黑色素细胞,分布于鳍条间(图5 a4, b4).

90 d:两个品系细锯脂鲤背鳍中部主要为树突状黑色素细胞;顶部和基部为颗粒状黑色素细胞,呈紧密排列;同时散射状黄色素细胞于背鳍基部分布(图5 c~d3).另外,全透系细锯脂鲤背鳍中部还有颗粒状黄色素细胞的分布.

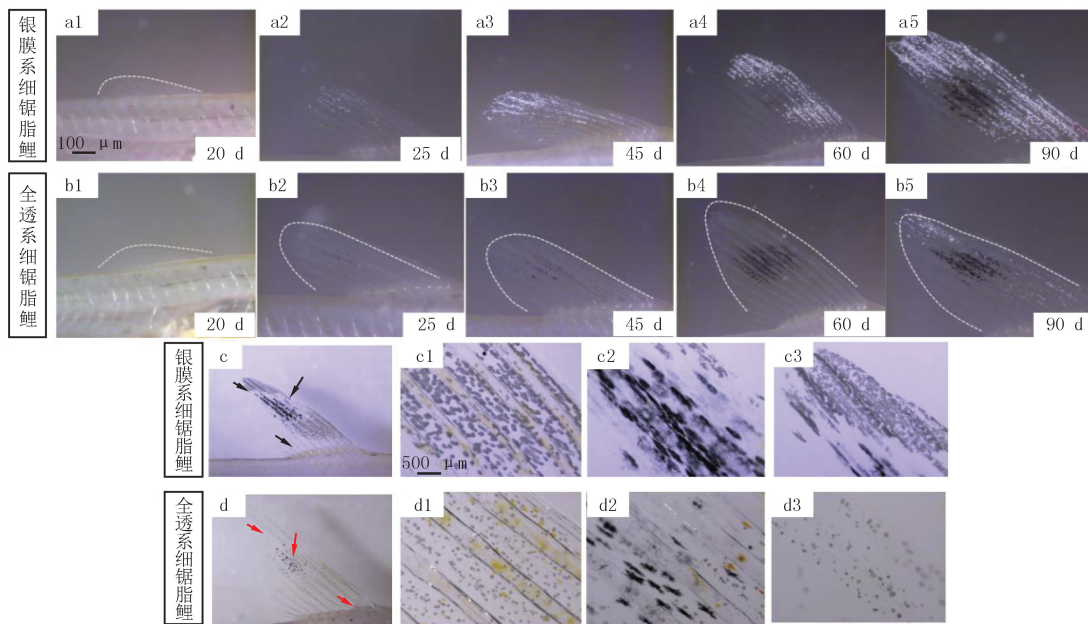
两个品系背鳍中色素细胞的发育时序与种类一致,但银膜系细锯脂鲤背鳍黑色素在细胞中的分布更为分散,使背鳍中黑色体色较为明显.

2.6 细锯脂鲤两个品系的臀鳍体色发育差异

18 d:两品系细锯脂鲤臀鳍开始出现分化,且时序一致,此时未观察到色素细胞(图6 a1, b1).

25 d:两品系细锯脂鲤臀鳍均出现黑色素细胞及黄色素细胞,散射状黄色素细胞沿臀鳍基部的鳍条分布;树突状黑色素细胞分布臀鳍基部的鳍条间(图6 a2, b2).

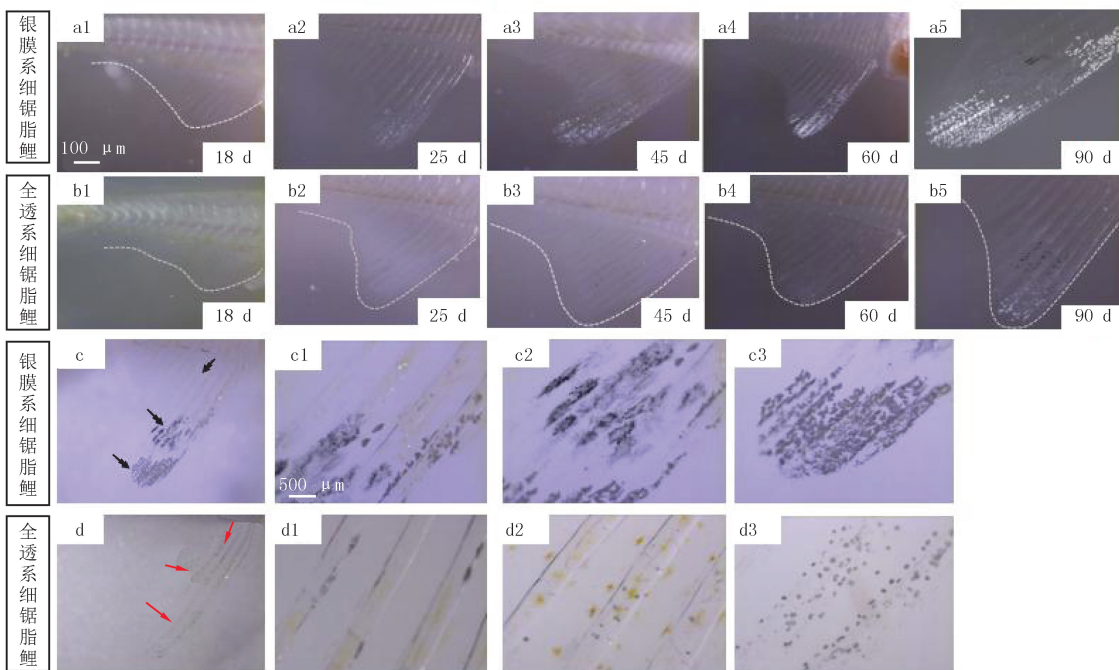
45 d: 银膜系细锯脂鲤臀鳍基部与中部的树突状黑色素细胞数量增加, 分布于鳍条上; 全透系细锯脂鲤臀鳍中部出现黄色素细胞及黑色素细胞, 均呈颗粒状(图 6 a3, b3).



放大倍数: a1~b5, c, d (32倍); c1~d3 (160倍).

图 5 不同发育时期的 2 种品系实验鱼背鳍的色素细胞种类、数量及分布

Fig.5 Morphologic changes of pigment cells in the dorsal fin of the two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages



放大倍数: a1~b5, c, d (32倍); c1~d3 (160倍).

图 6 不同发育时期的两个品系实验鱼臀鳍的色素细胞种类、数量及分布

Fig.6 Morphologic changes of pigment cells in the anal fin of the two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages

60 d:两个品系细锯脂鲤臀鳍顶部均出现颗粒状黑色素细胞,但银膜系细锯脂鲤的细胞面积较大且数量多(图6 a4,b4).

90 d:银膜系细锯脂鲤臀鳍的基部与中部存在树突状黑色素细胞,顶部为颗粒状黑色素细胞;全透系细锯脂鲤臀鳍基部为树突状黑色素细胞,中部与顶部为颗粒状黑色素细胞.银膜系细锯脂鲤黑色素细胞只分布于臀鳍基部,而全透系细锯脂鲤中散射状黑色素细胞分布在臀鳍基部,颗粒状黑色素细胞分布在臀鳍中部(图6 c~d3).

细锯脂鲤两个品系差异集中在两种色素细胞的分布、形态与数量上.

2.7 细锯脂鲤两个品系的尾鳍体色发育差异

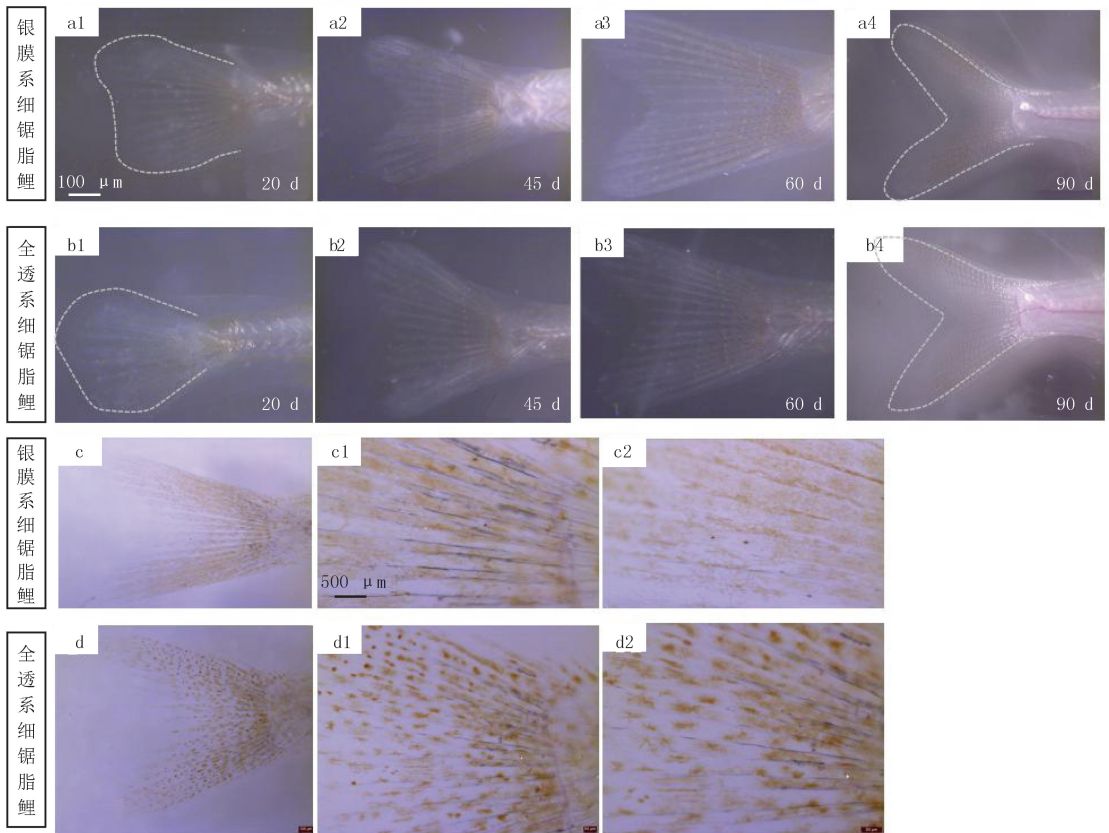
20 d:两个品系细锯脂鲤尾鳍均开始发育,同时散射状黑色素细胞出现,沿尾鳍基部的鳍条分布(图7 a1,b1).

45 d:两个品系细锯脂鲤尾鳍发育完全,黑色素细胞分布向尾鳍中部迁移,细胞形态依旧为散射状(图7 a2,b2).

60 d:银膜系细锯脂鲤尾鳍顶部出现散射状黑色素细胞;但全透系细锯脂鲤尾鳍顶部的黑色素细胞为颗粒状(图7 a3,b3).

90 d:两个品系细锯脂鲤尾鳍上的黑色素细胞均沿着鳍条分布.银膜系细锯脂鲤尾鳍中均为散射状黑色素细胞;全透系细锯脂鲤尾鳍基部与中部分布着散射状黑色素细胞,顶部为颗粒状黑色素细胞(图7 c~d2).

两个品系细锯脂鲤尾鳍上均出现黑色素细胞,无黑色素细胞出现,差异主要表现在全透系细锯脂鲤尾鳍中出现颗粒状黑色素细胞,而在银膜系细锯脂鲤尾鳍中未观察到.



放大倍数:a1~b5, c, d(32倍);c1~d2(160倍).

图7 不同发育时期的两个品系实验鱼尾鳍的色素细胞种类、数量及分布图

Fig.7 Morphologic changes of pigment cells in the caudal fin two of the two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages

3 讨 论

3.1 两个品系细锯脂色素细胞发育时序差异

目前,在鱼类体内共发现 6 种色素细胞,且均由神经嵴细胞分化而来.研究表明,不是所有鱼类都具有这 6 种色素细胞,例如在半滑舌鳎^[14](*Cynogiossus semiaevis* Günther)、红鳍笛鲷^[15](*Lutjanus erythropterus*)等鱼类中只观察到 3 种色素细胞.在银膜系细锯脂鲤中也观察到黑色素细胞、虹彩细胞及黄色素细胞 3 种色素细胞,全透系细锯脂鲤中观察到黑色素细胞与黄色素细胞.学者们在大多数硬骨鱼类如大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)及黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)中发现各色素细胞的发育顺序为黑色素细胞、黄色素细胞及虹彩细胞^[16].但本研究发现,银膜系细锯脂鲤中虹彩细胞先于黄色素细胞出现,推测是由于细锯脂鲤体色透明,黄色素细胞分布范围小且数量少,而眼睛的色素发育要早于各鱼鳍色素,因此虹彩色素先于眼睛中沉积.

3.2 两个品系细锯脂鲤眼睛、腹部与鳃部色素细胞差异

鱼类眼睛发育过程中,色素颗粒通常伴随着视觉系统的发育而出现^[17].本研究中两个品系细锯脂鲤眼睛均在 1 dph 时出现黑色素沉积,表明此时鱼类具备初始的视觉系统.两个品系细锯脂鲤早期仔鱼眼睛的黑色素细胞发育时序一致.不过,银膜系细锯脂鲤于 12 dph 时开始出现虹彩色素,在眼睛的最外层聚集后形成一层银膜.研究者在美洲鲈^[18](*Alosa sapidissima*)眼睛早期发育研究中也观察到这一现象.一些学者利用透明表型的斑马鱼突变体作为实验对象,研究眼睛中色素沉积对其视觉系统的影响,结果表明该种斑马鱼的视动反应与野生型无明显差异^[19].本研究中全透系细锯脂鲤眼睛中黑色素于 30 dph 开始减少,直至成鱼眼睛呈现半透明状,养殖过程中也未见视觉异常行为.因此,本研究认为全透系细锯脂鲤的眼部单一色素的变化特征可作为鱼类黑色素发育机制的研究模型.

研究表明,在聚集状态下的虹彩细胞通过反射相应波长的光而呈现出银白色^[20].大多数硬骨鱼类腹腔壁都有一层银膜附着^[21].通过对银膜系细锯脂鲤的腹部与鳃部虹彩色素的发育情况研究,可以看出银膜是由大量虹彩色素聚集而成.李凯彬^[22]在探究突变型虹鲷(*Poecilia reticulatus*)时也发现,鱼体因缺失虹彩细胞而使内脏在体外清晰可见,与本研究中全透系细锯脂鲤体色呈现机理一致.虹彩细胞中的虹彩色素还能与黑色素、红色素等呈现绿色、银色等特殊色彩,使鱼体呈现丰富的体色^[23].本研究中全透系细锯脂鲤虹彩细胞缺失的特点也可作为生物模型用于研究虹彩色素表达作用机制.

3.3 两个品系细锯脂鲤背鳍、臀鳍及尾鳍色素细胞差异

已有研究表明,黑素体的聚集与分散促使黑色素细胞具有颗粒状和树突状两种细胞形态^[24].本研究中,两个品系细锯脂鲤的背鳍与臀鳍中均出现两种不同细胞形态的黑色素细胞.黑色素细胞的数量及分布会随着鱼体的生长发育而产生规律性变化^[25].两个品系细锯脂鲤中,颗粒状黑色素细胞多分布在背鳍与臀鳍的顶部与基部,树突状黑色素细胞分布在鱼鳍的中部,这是由于色素体在细胞中可以进行迁移.色素体在鱼鳍的发育过程中由基部向顶部迁移,中部色素体迁移速度较快,使色素细胞呈现树突状^[26].本研究与斑马鱼^[5](*Danio rerio*)、黑鲷^[16](*Acanthopagrus schlegelii*)的鳍和鳞片中色素细胞的形态和分布研究结果相一致.

在鱼体中黄色素细胞是主要的显色细胞,分为散射状和颗粒状两种形态^[16].本研究发现,两个品系细锯脂鲤中黄色素细胞在鱼鳍中的分布最为广泛且数量较多,分布状态均为沿鳍条分布,其数量随着鱼体的生长而呈现逐渐增多至稳定状态,使成鱼的鱼鳍呈现淡黄色.这与海葵双锯鱼(*Amphiprion percula*)的黄色体色研究一致^[27].除此之外,NAKAMURA^[28]等在牙鲆中发现黄色素细胞与黑色素细胞共存可使鱼体呈现褐色.本研究中两个品系细锯脂鲤的表皮中虽然存在少量黄色素细胞,但呈分散状态,且无黑色素细胞存在,故鱼体呈现色彩不明显,依旧以透明状态为主.

本研究表明,细锯脂鲤体色透明品系用于发育过程研究可摒除斑马鱼在出膜 14 d 左右不透明的缺点,作为新型可视化模式生物上具有潜在的价值.特别是细锯脂鲤在无需基因敲除的情况下便可看到内部器官,使得器官发育、细胞分化及分子调控机制的研究得到有效开展.总之,本研究从组织形态学、细胞学水平,分析了细锯脂鲤两个品系体色发育过程及差异,为后续相关体色发育机制及可视化模式生物的建立,提供了重

要的基础资料.

参 考 文 献

- [1] 蒋焯,黄权. 鱼类体色成因及影响因素研究进展[J].水产科技情报,2019,46(2):110-113.
JIANG C,HUANG Q.Research progress on the cause and influencing factors of fish body color[J].Fisheries Science & Technology Information,2019,46(2):110-113.
- [2] 王兰梅,宋飞彪,朱文彬,等.温度对马来西亚红罗非鱼越冬期体色的影响[J].水产学报,2018,42(1):72-79.
WANG L M,SONG F B,ZHU W B,et al.Effects of temperature on body color of Malaysian red tilapia overwintering period[J].Journal of Fisheries of China,2018,42(1):72-79.
- [3] SCHARTL M,LARUE L,GODA M,et al.What is a vertebrate pigment cell? [J].Pigm Cell Melanoma R,2016,29(1):8-14.
- [4] 孙学亮,高微微,石洪玥,等.血鸚鵡 TYR 基因表达 qPCR 分析的引物设计与评估[J].天津农业科学,2018,24(12):50-54.
SUN X L,GAO W W,SHI H Y,et al.Design and evaluation of primers for analysis of TYR gene expression in Blood Parrot (*Amphiprophus*) by using real-time fluorescence quantitative PCR technique[J].Tianjin Agricultural Sciences,2018,24(12):50-54.
- [5] 林金杏,冯雨萍,胡建华,等.斑马鱼鳍和鳞片色素细胞的显微观察[J].实验动物与比较医学,2017,37(2):94-101.
LIN J X,FENG L P,HU J H,et al.Microscopical observation on pigment cells in fins and scales of zebrafish[J].Laboratory Animal and Comparative Medicine,2017,37(2):94-101.
- [6] NAGAO Y,SUZUKI T,SHIMIZU A,et al.Sox5 functions as a fate switch in Medaka pigment cell development[J].2014,10(4):1-14.
- [7] 区又君,李加儿,艾丽.条石鲷早期发育阶段体表色素的变化和色素带的形成[J].水产学报,2014,28(10):1722-1728.
QU Y J,LI J E,AI L.Studies on body pigment variation and band formation during early development stages in *Oplegnathus fasciatus* [J].Journal of Fisheries of China,2014,28(10):1722-1728.
- [8] KOTTLER V A,FADEEV A,WEIGEL D,et al.Pigment pattern formation in the guppy,*Poecilia reticulata*, involves the Kita and Csf1ra receptor tyrosine kinases.[J].Genetics,2013,194(3):631-646.
- [9] 韦敏侠,宋红梅,祁宝伦,等.橘色双冠丽鱼胚后色素细胞发育与体色变化[J].上海海洋大学学报,2015,24(1):28-35.
WEI M X,SONG H M,QI B L,et al.Pigment cells development and body color variation of postembryonic development in *Amphiprophus citrinellus* (Günther 1864)[J].Journal of Shanghai Ocean University,2015,24(1):28-35.
- [10] 朱丽艳,马玉清,项松平,等.不同体色瓯江彩鲤生长动态的观察与分析[J].上海海洋大学学报,2013,22(3):341-348.
ZHU L Y,MA Y Q, XIANG S P,et al.Observation and analysis of the growth dynamics in Oujiang color common carp with different pigmentation types[J].Journal of Shanghai Ocean University,2013,22(3):341-348.
- [11] 赵朝阳,姜彦珍,方秀珍,等.鳊鲂的生物学特性及观赏价值[J].生物学通报,2010,45(4):7-9.
ZHAO C Y,JIANG Y Z,FANG X Z,et al.Biological characteristics and ornamental value in Rhodeinae[J].Bulletin of Biology,2010,45(4):7-9.
- [12] 余陆伟,张梦茹,刘晨辉,等.黄扯旗鱼核型分析方法及核型特征[J].动物学杂志,2018,53(1):99-105.
YU L W,ZHANG M L,LIU C H,et al.Karyotyping the *Pristella Tetra* (*Pristella maxillaris*) [J].Chinese Journal of Zoology,2018,53(1):99-105.
- [13] 顾新国.玻璃扯旗鱼的繁育技术[J].海洋与渔业,2008(6):41-42.
GU X G.Breeding technology of glass swordfish[J].Ocean & Fishery,2008(6):41-42.
- [14] 马学坤,柳学周,温海深,等.半滑舌鳎早期发育过程中体表色素变化的研究[J].海洋水产研究,2006,27(2):62-68.
MA X K,LIU X Z,WEN H S,et al.Changes of melanophores in the larval skin of *Cynoglossus semilaevis* Günther[J].Marine Fisheries Research,2006,27(2):62-68.
- [15] ZHANG Y P,WANG Z D,GOU Y S,et al.Morphological characters and transcriptome profiles associated with black skin and red skin in Crimson Snapper (*Lutjanus erythropterus*) [J].International journal of molecular sciences,2015,16(11):26991-27004.
- [16] 于道德,刘洪军,关键,等.黑棘鲷早期色素细胞发育与体色变化[J].渔业科学进展,2012,33(5):1-7.
YU D D,LIU H J,GUAN J,et al.Early ontogeny of chromatophores and body color changes of *Acanthopagrus schlegelii* [J].Progress in Fishery Sciences,2012,33(5):1-7.
- [17] 何滔,肖志忠,刘清华,等.条石鲷视觉器官早期发育的组织学观察[J].海洋科学,2012,36(3):49-53.
HE T,XIAO Z Z,LIU Q H,et al.Histological observation of eye ontogeny in rock bream larvae (*Oplegnathus fasciatus*) [J].Marine Sciences,2012,36(3):49-53.
- [18] 高小强,洪磊,刘志峰,等.美洲鲈(*Alosa sapidissima*)眼睛早期发育的组织学观察[J].渔业科学进展,2016,37(2):76-83.
GAO X Q,HONG L,LIU Z F,et al.Histological observation of the eye of American Shad (*Alosa sapidissima*) at the early developmental stage[J].Progress in Fishery Sciences,2016,37(2):76-83.
- [19] ANTINUCCI P ,HINDGES R .A crystal-clear zebrafish for in vivo imaging[J].Scientific Reports,2016,6(1):29490.
- [20] FAILDE L D,BERMUDEZ R,VIGLIANO F,et al.Morphological,immunohistochemical and ultrastructural characterization of the skin

- of turbot (*Psetta maxima* L.)[J].Tissue and Cell,2014,46(5):334-342.
- [21] FADDEV A,KRAUSS J,SINGH A P,et al.Zebrafish leucocyte tyrosine kinase controls iridophore establishment,proliferation and survival[J].Pigment cell & melanoma research,2016,29(3):284-296.
- [22] 李凯彬,常藕琴,刘春,等.虹鲚透明突变的遗传特征及其组织学观察[J].动物学杂志,2011,46(5):16-23.
LI K B,CHANG O Q,LIU C,et al.The genetic characteristics and histological defects in transparent mutant of *Guppy Poecilia reticulata* [J].Chinese Journal of Zoology,2011,46(5):16-23.
- [23] FUJII R.The regulation of motile activity in fish *Chromatophores*[J].Pigment Cell Research,2001,13(5):300-319.
- [24] NAKO F M M,TAKETO M M,VLADIMIR K,et al.Spatial and temporal regulation of Wnt/ β -catenin signaling is essential for development of the retinal pigment epithelium[J].Developmental Biology,2009,334(1):31-45.
- [25] MICHIELS N K,ANTHES N,HART N S,et al.Red fluorescence in reef fish:A novel signalling mechanism? [J].BMC Ecology,2008,8(1):1-14.
- [26] MILLS M G ,PATTERSON L B .Not just black and white:pigment pattern development and evolution in vertebrates[J].Seminars in Cell & Developmental Biology,2009,20(1):72-81.
- [27] DUTTON K,DUTTON J R,PAULINY A,et al.A morpholino phenocopy of the colourless mutant[J].Genesis,2001,30(3):188-189.
- [28] NAKAMURA M,SEIKAI T,ARITAKI M,et al.Dual appearance of xanthophores,and ontogenetic changes in other pigment cells during early development of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J].Fisheries Science,2010,76(2):243-250.

Study on the development of body color in two strains of *Pristella maxillaris*

Wang Shaowei^a, Li Bei^a, Liu Zhizhi^{a,b}, Liu Zhiwei^{a,b}

(a. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education;

b. Shanghai Aquaculture Engineering Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Because of its transparent body, *Pristella maxillaris* become more and more popular among model organisms researchers. We cultured two strains, silver peritoneum (hereinafter referred to as SP) and adult transparent (hereinafter referred to as AT). The abdomen and gills of SP are covered by a layer of silver materials, while in AT its internal organs can be clearly observed because of no silver materials present. We used stereoscopic microscope to observe the pigment cells in eyes, gills, abdomen, dorsal fin, anal fin and caudal fin in two strains of *P. maxillaris* at different developmental stages. The results showed that: (1) There were 3 types of pigment cells being observed in the SP fish. The developmental order was melanophore, iridophore and xanthophore. But only melanophore and xanthophore appeared in the AT. (2) In the SP fish, dendritic melanophores present in the middle part of the dorsal and anal fin. While in the AT fish, the melanophore and xanthophore in the middle part of the dorsal and anal fin were granular. Moreover, the melanophore at the middle of the tail fin were evenly distributed in SP fish. Differently, the morphology of the xanthophore in AT fish was granular and scattering. (3) The number of melanophore at the eyes, dorsal fin and anal fin in SP fish was more than that in AT fish, while the number of xanthophore was the opposite. Our results demonstrated the development process and differences of body color in two strains at the level of histomorphology and cytology. It will provide basic data for further studying the molecular mechanism on the development of body color in *Pristella maxillaris*.

Keywords: *Pristella maxillaris*; body color development; pigment cells; melanophore; iridophore; xanthophore

[责任编辑 刘洋 杨浦]