

文章编号: 1000-0615(2017)05-0678-09

DOI: 10.11964/jfc.20160910563

圆斑星鲈仔稚鱼色素细胞发育和体色变化

严俊丽^{1,2}, 陈四清¹, 常青^{1*}, 刘长琳¹, 胡建成¹, 王志军³

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 山东科合海洋高技术有限公司, 山东 威海 264500)

摘要: 为研究圆斑星鲈早期发育过程中色素细胞的形态和分布, 实验对1~72日龄的圆斑星鲈鱼苗进行了连续的显微观察, 并绘制了早期发育生长曲线。结果显示, 圆斑星鲈从20日龄开始进入快速的增长期, 在水温12~19.5 °C时完成变态发育需要50 d, 黑色素细胞最早出现, 数量最多, 黄色素细胞次之, 虹彩细胞最后发育, 数量最少。变态前黑色素细胞密度先升高后降低, 在9日龄密度最大为1390个/mm², 色素细胞逐渐密集鱼体两侧对称分布; 变态开始后鱼体两侧色素不对称, 有眼侧体表黑色素细胞逐渐溶解消退, 由成体黑色素细胞代替, 体色变深, 黑色素细胞密度稳定在150个/mm²; 无眼侧黑色素细胞逐渐溶解退化, 体色逐渐变白。白化个体在变态开始后出现, 有眼侧不能形成成体黑色素细胞, 形成白化。

关键词: 圆斑星鲈; 黑色素细胞; 黄色素细胞; 虹彩细胞; 形态学观察

中图分类号: S 965.3

文献标志码: A

圆斑星鲈(*Verasper variegatus*)属鲈形目(Pleuronectiformes)、鲈科(Pleuronectidae)、星鲈属, 主要分布在我国黄渤海、日本的北部沿海境内。圆斑星鲈肉质鲜美, 营养价值高, 抗病力强、生长快, 具有广泛的市场前景, 是一种名贵的海水鱼种。圆斑星鲈的繁育生物学开始于20世纪80年代, 日本和韩国学者对圆斑星鲈的早期发育和生长特征^[1-3]进行了研究, 我国学者对圆斑星鲈的早期发育也有大量的报道, 王开顺等^[4]报道了胚胎及仔稚鱼的发育, 陈四清等^[5]详细描述了胚胎发育和胚后发育的特征, 2012年国内圆斑星鲈大规模工厂化培育技术项目通过成果鉴定, 重点突破了亲体生殖调控、优质受精卵获得、黑化防控、大规模苗种培育等技术^[6], 而近年来圆斑星鲈大规模人工养殖中体色异常频发有发生, 严重影响圆斑星鲈的市场价格, 对其体色的研究迫在眉睫。国内关于圆斑星鲈色

素细胞发育的研究较少, 仅宁鑫等^[7]观察圆斑星鲈早期发育时对仔稚鱼体表色素带的变化进行了描述。本实验对圆斑星鲈早期发育和色素细胞的形态学进行连续观察, 比较1~72 d鱼苗体表色素细胞的形态变化, 为圆斑星鲈体色调控提供理论依据。

1 材料与方 法

实验样品为受精卵至孵化后72 d的圆斑星鲈鱼苗, 于2016年4—6月取自山东威海科合海洋高技术有限公司, 为人工养殖的健康圆斑星鲈亲鱼自然产卵、人工受精孵化鱼苗。受精卵在水温10~12.5 °C、盐度28~31、pH 8.0~8.2、溶解氧大于5 mg/L的条件下, 连续充气, 经153~159 h完成孵化。仔稚鱼在室内容积为5 m³的水泥池中进行培育, 培育的条件: 水温12~19.5 °C、盐度28~31、pH 7.8~8.2、溶解氧大于6 mg/L、光照

收稿日期: 2016-09-29 修回日期: 2017-01-17

资助项目: 农业部“南极海洋生物资源开发项目”; 山东省自主创新成果转化专项(2013ZAXZA0803); 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务专项(20603022016005)

通信作者: 常青, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

300~500 lx, 仔鱼开口后开始投喂轮虫, 同时添加小球藻, 15日龄停止投喂轮虫和小球藻, 开始增加卤虫的投喂量。实验期间, 每隔7 d取样一次, 每次取样30尾, 测量其全长、总高(包括鱼鳍在内的最高部位), 绘制早期生长发育曲线, 显微镜(Nikon ECLPSE 80i)连续观察色素细胞的形态及密度变化, 并拍摄1~72 d圆斑星鲈鱼苗的色素细胞早期形态发育图。

2 结果

2.1 圆斑星鲈的生长发育曲线

圆斑星鲈鱼苗1~20日龄的生长速度较慢, 从20日龄开始进入快速增长期, 全长和总高呈现快速增长趋势(图1-a), 鱼体也明显增宽, 这一过程持续到45日龄, 之后鱼的体型变化不大, 总高/

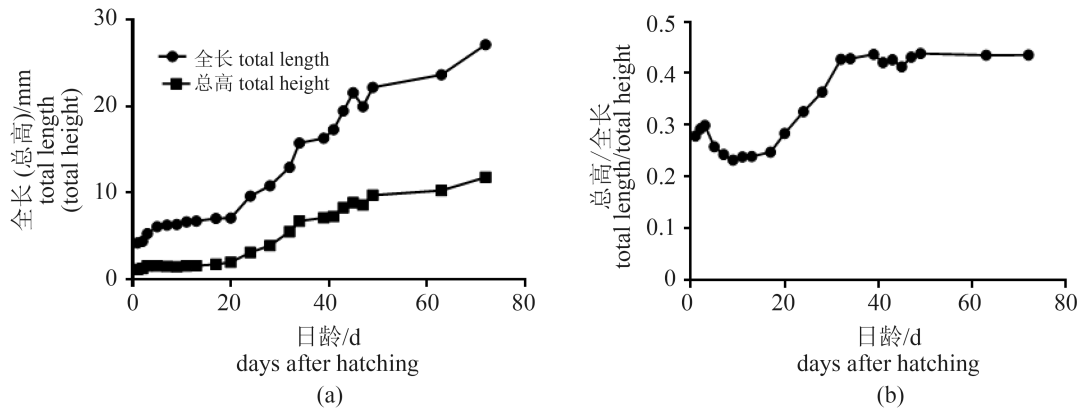


图1 圆斑星鲈早期发育阶段的生长曲线

(a)全长和总高的生长曲线; (b)总高/全长的生长曲线

Fig. 1 Growth curve in larval stage of *V. variegatus*

(a) change of total length and total height; (b) change of total height/total length

5日龄仔鱼全长(6.12±0.05) mm, 总高(1.58±0.02) mm。仔鱼开口, 卵黄囊呈梨形, 明显变小, 体表黑色素细胞的数量明显增加。此时黑色素细胞呈粗树枝状, 胞体体积变大, 树突变短而多, 躯体部黑色素细胞颜色加深, 鱼体色明显变深。

9日龄仔鱼全长(6.37±0.04) mm, 总高(1.48±0.01) mm。卵黄囊塌陷, 变得很小, 仔鱼遍布大量密集的幼体黑色素细胞, 黑色素细胞体积增大, 呈雪花状(图版-4)。鳃丝出现, 并且周围出现橙红色黄色素。背、臀鳍膜上的色素丛扩大, 延伸至躯体部。

全长维持在0.44(图1-b)。

2.2 圆斑星鲈早期色素细胞发育

卵黄囊仔鱼 初孵仔鱼全长(4.23±0.06) mm, 总高(1.18±0.03) mm。仔鱼全身遍布黑色素细胞和黄色素细胞, 无虹彩色素细胞分布。黄色素细胞呈点状和星状, 黑色素细胞呈点状和细树枝状(图版-1)。躯干部以点状居多, 头部色素最多, 细树枝状色素细胞主要集中在晶体周围和卵黄囊外围; 尾尖部和围鳍膜上无色素细胞。

3日龄仔鱼全长(5.31±0.06) mm, 总高(1.59±0.04) mm。细树枝状黑色素细胞遍布整个卵黄囊(图版-2), 眼周有明显的浅黄色素, 肠道膨大, 近肛门处点状色素沉积。背鳍膜和臀鳍膜各有一处色素丛, 呈黄棕色(图版-3), 不断延伸向鳍膜扩散, 尾端透明。

后期仔鱼 11日龄仔鱼全长(6.66±0.08) mm, 总高(1.59±0.05) mm。卵黄囊完全消耗, 此时仔鱼转为外源性营养。体被黑褐色色素细胞, 呈星状、雪花状, 背、臀鳍膜上的色素约占背、臀鳍膜总面积的1/2, 此时仔鱼幼体黑色素细胞密度最大, 尾部的色素细胞密度高于躯干部和头部。尾中部色素向鱼体两侧增多延伸, 新生的色素细胞呈细树枝状, 树突少, 胞体体积小。

13日龄仔鱼全长(6.77±0.06) mm, 总高(1.62±0.02) mm。体被大型的菊花状幼体黑色素细胞, 此时色素细胞体积增加, 密度降低。色素细胞开始由躯体向两侧扩散, 且尾中部最先扩散,

扩散处黑色素和黄色素细胞相间分布。躯干部黑色素和黄色素细胞沿肌节方向排列,分布浓密,此时仔鱼体色为浓黑色。

17日龄仔鱼全长(7.06±0.15) mm,总高(1.75±0.05) mm。稚鱼进入尾椎弯曲期,体表侧线清晰可见,开始出现背鳍原基和臀鳍原基。黑色素细胞体积变大(图版-5),头部的黑色素细胞较躯干部小,形态和密度接近,呈菊花状。色素沿鳍条原基开始扩散,鳍条色素逐渐增多。

24日龄仔鱼全长(9.63±0.93) mm,总高(3.14±0.55) mm。仔鱼尾部脊椎骨上曲,尾骨形成。背臀鳍膜上黑色素增多形成间断的色素带(图版-9)。尾部黑色素细胞密度仍最高,头部可见数个体积较大的星状和菊花状的黑色素(图版-6),尾部色素细胞向尾鳍部位延伸,尾端部可观察到明显的点状黄色素(图版-8, 12),此时可观察到躯干部黑色素细胞聚集的现象(图版-7)。

28日龄仔鱼全长(10.83±0.33) mm,总高(3.94±0.68) mm。仔鱼体被黑色,内脏团清晰,尾椎上翘,尾鳍、腹鳍和臀鳍逐渐发育完善,条数清晰。数条鳍膜色素带形成,背部脊索处有1条黑色素带,背鳍和臀鳍上各有2~3条间断的黑色素带(图版-10),尾鳍脊索部有2条黑色素带,背鳍和臀鳍黑色素带逐渐与尾鳍黑色素带相接。尾鳍端部鳍条发育完整清晰可见,但仍没有黑色素细胞。仔鱼躯体表面的黑色素细胞密度逐渐降低并趋于稳定,头部和尾部的黑色素还在降低。

变态期稚鱼 34日龄稚鱼全长(15.75±0.81) mm,总高(6.75±0.65) mm。稚鱼此时全身体色仍较黑,由于变态鱼体两侧出现差异,肉眼看无眼侧皮肤稍浅,左眼开始向右侧偏转,身体变宽,仔鱼开始伏底。光镜下可以看到鱼体两侧有分散的不规则的黑色素,幼体黑色素细胞逐渐溶解,体积变小变散,形态多样(图版-15, 16)。有眼侧臀鳍、背鳍间断的色素带增多至4~5个,色素带由密集的黑色素细胞组成(图版-11),黑色素由此逐渐向外延伸。

43日龄稚鱼全长(19.46±1.94) mm,总高(8.30±0.82) mm。稚鱼体两侧的色素细胞已有较明显的差异,有眼侧黑色素细胞多而密,黄色素细胞次之,幼体色素逐渐溶解由成体黑色素代替(图版-17),无眼侧色素细胞大量减少,体色变浅,幼体黑色素逐渐溶解,可见正在溶解的黑色素

斑(图版-19),黄色素与黑色素细胞相间分布,呈点状和星状(图版-18),因外界和内部因素的作用,胞体中的色素颗粒呈现不同程度的聚集(图版-20)和扩散。有眼侧尾鳍上已有3~4处黑色素丛,由雪花状黑色素细胞团组成,逐渐向尾鳍端部延伸(图版-13)。白化个体开始出现,有眼侧的色素明显低于正常个体。

49日龄稚鱼全长(22.18±0.75) mm,总高(9.73±0.50) mm。此时的稚鱼已经完成变态,背鳍和臀鳍上的色素细胞发育完善,黑色素细胞密集。尾鳍上的色素也逐渐增多,逐渐完善。有眼侧幼体黑色素细胞逐渐溶解,分支状的成体黑色素细胞出现。无眼侧黑色素和黄色素细胞呈不规则的星状,仍在减少。

变态后期幼鱼 63日龄幼鱼全长(23.65±0.34) mm,总高(10.29±0.51) mm。幼鱼开始长出不规则圆形的鳞片,数量较少,分布较散。色素细胞围绕鳞片周围分布,黑色素细胞此时形态多样,有圆形状、分枝状和辐射的蒲公英状,无眼侧色素细胞变态后形态发生变化,有不规则的星状变为近圆形,黑色素细胞逐渐分支溶解,此时鳍条间发现明显的呈银白色的虹彩细胞(图版-14)。

72日龄幼鱼全长(27.12±0.51) mm,总高(11.81±0.46) mm。此时鳞片逐渐增多,为无体刺的圆鳞,有色素细胞分布,鳞片相间分布,有明显的分界(图版-21),有眼侧躯体部的黑色素细胞形态趋于稳定成蒲公英状,虹彩细胞和黄色素细胞与之相间分布(图版-22)。无眼侧没有鳞片形成,也未发现虹彩色素细胞,色素细胞逐渐减少并趋于稳定(图版-23)。

2.3 色素细胞密度变化

1日龄仔鱼至9日龄仔鱼黑色素细胞呈快速增长的趋势,由1日龄的380个/mm²急剧增至9日龄的1350个/mm²,之后呈现快速的下降趋势,50日龄左右时鱼体有眼侧黑色素细胞趋于稳定,维持在160~200个/mm²左右,成体黑色素细胞取代幼体黑色素细胞,而无眼侧黑色素细胞密度持续下降,72日龄时黑色素细胞密度32个/mm²,不再出现成体黑色素细胞。本实验中白化个体在36日龄以后出现,即变态开始后开始出现,白化个体有眼侧黑色素细胞密度明显低于正常个体,至72日龄仔鱼白化个体有眼侧黑色素细胞密

度降至37个/mm², 与无眼侧黑色素细胞密度接近(图2)。

2.4 白化个体变态期稚鱼色素细胞发育

47日龄白化苗两侧体表的黑色素细胞同时减少, 随着生长和发育, 白化程度逐渐加重, 皮肤透明, 内脏团和骨骼清晰可见, 仅头部和尾部有少量色素分布(图版-24), 而尾鳍及尾中部体色最深, 色素细胞最后消退。白化个体两侧

的色素细胞形态和密度想近, 色素细胞逐渐降低最终达到稳定(图版-26, 28)。正常个体通体发黑, 头部黑色素密集呈规则的雪花状(图版-25), 而有眼侧躯干部成体黑色素细胞长成, 色素细胞体积较大, 呈分支多的菊花状, 色素细胞密度明显高于白化个体(图版-27)。轻度白化个体有眼侧体表还有少量的星状幼体黑色素斑, 由密集的星状黑色素细胞组成。

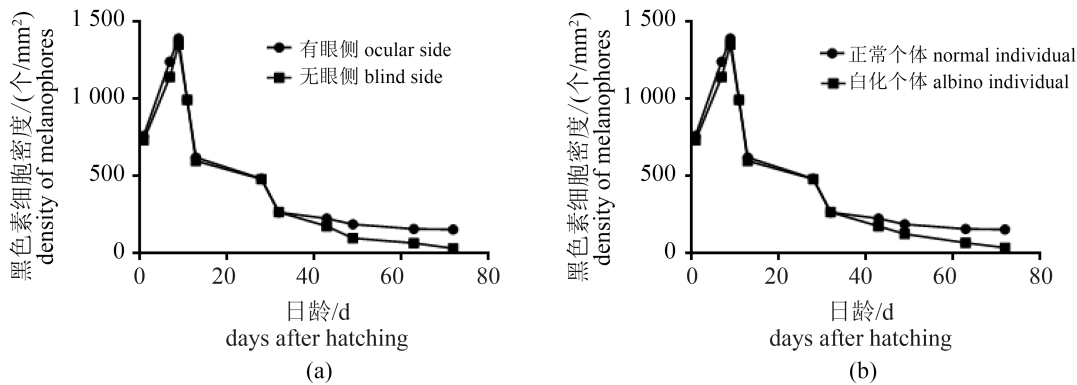


图2 圆斑星鲈不同发育阶段体表黑色素细胞密度的变化

(a)正常个体两侧体表黑色素细胞密度变化; (b)正常个体和白化个体有眼侧黑色素细胞密度变化

Fig. 2 Change of density of melanophores on body surface of *V. variegatus* related to different development stages

(a) change of density of melanophores on both sides of spotted halibut; (b) change of density of melanophores on ocular side of normal and albino individuals

3 讨论

3.1 圆斑星鲈早期生长发育

圆斑星鲈在12~19.5 °C水温条件下培育, 完成整个变态发育需要50 d左右, 较大菱鲈(*Scophthalmus maximaza*)短^[8], 而与其他鲆鲽类相比却较长, 如漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)^[9]约40 d, 牙鲆(*Paralichthys olibaceus*)^[10]约33 d, 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[11]约30 d, 一定程度上增加了育苗的难度。圆斑星鲈的变态发育主要分为4个阶段: 1~11日龄主要为器官的发育, 卵黄囊耗尽, 由内源性营养转为外源性营养; 12~49日龄主要为形态上的变化, 此时期生长迅速, 32日龄开始变态, 左眼上升, 身体开始出现不对称变化, 体形变宽, 总高/全长的比值显著增加, 变态完成时最高值达到0.44; 50~70日龄变态已经完成, 此时体形接近成鱼, 总高/全长的比值基本稳定, 此后鱼的体形变化不大。

3.2 圆斑星鲈早期发育过程色素细胞形态变化

鲆鲽类皮肤的结构由4~12层高度分化的细胞组成^[12-13], 包括黑色素细胞、黄色素细胞、白色体和虹彩细胞^[14-15]。从圆斑星鲈的早期发育来看, 黑色素细胞是皮肤中最主要的色素细胞, 黑色素细胞有很多分支, 内含黑色素颗粒, 胞体内有许多树突并延伸至放射状, 比其他色素细胞要大。黄色素细胞相对较小, 大多为辐射星状和点状。虹彩色素最小, 呈不规则圆形状。从色素细胞出现的时序和形态来看, 黑色素细胞最早在神经胚期开始发育, 其次是黄色素细胞在器官发生期开始出现, 虹彩细胞在圆斑星鲈完成变态后才开始发育, 这与牙鲆^[16]、大菱鲈^[16]、半滑舌鳎^[17]和黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegeli*)^[18]的色素发育时序一致。鲆鲽类虹彩色素主要以白色或银白色呈现在鱼体腹部, 虹彩色素与其他色素一起可变现出多种颜色^[9], 其反光特性根源于细胞内反射板的存在^[20], 本实验可以观察到变态之前呈黑色的对称分布的幼体黑

色素细胞、呈黄色或橙红色的黄色素细胞,变态时呈黑色的不对称分布的成体黑色素细胞,及变态后期呈银白色或白色的不对称分布的虹彩色素细胞,这3种色素细胞的分布和密度共同构成鱼类体色的主要色素细胞类型,这也与Bolker^[16]和Roberts等^[21]报道的海鲈(*Pleuronectes platessa*)的研究一致。Seikai等^[22]还发现牙鲆在变态之前皮肤表面有对称分布的幼体白色素,在本研究中光镜下未观察到这种白色体。此外,Nakamura等^[23]最新发现可能有两种类型的黄色素,一种为变态前鱼体两侧大小形态相同的幼体黄色素细胞,一种为变态完成后有眼侧成体黄色素细胞,细胞稍大于无眼侧。有关圆斑星鲈色素细胞的类型和分类还需更深入的研究。

鳍也是皮肤的衍生物,早期发育过程中圆斑星鲈鳍条上色素或色素细胞的类型和形态与鱼体具有一致性,这与对鲫(*Carassius auratus*)^[24]和月光鱼(*Xiphophorus maculatus*)^[25]的色素细胞研究一致。圆斑星鲈鳍条上色素细胞的出现晚于鱼体,含有黑色素、黄色素和虹彩色素细胞,鳍条的色素以色素带的特有形式向远处延伸,直至鳍条上多处色素带相接形成与鱼体相同的体色,这与梭鱼(*Liza haematocheila*)^[26]早期鳍条色素细胞的分化相吻合。

3.3 圆斑星鲈早期发育的色素变化规律

圆斑星鲈的早期发育过程有几个明显的转变,初孵仔鱼至5日龄体色透明,逐渐变深;从7日龄开始至40日龄,体色发黑;40~50日龄的稚鱼体色开始变浅,呈浅棕色;50日龄以上的稚鱼体表形成明显的斑纹,形成花斑。这几种体色的转变和其他鲆鲽类相似,如褐牙鲆^[27]、大菱鲆^[8]和半滑舌鲷^[11]。

圆斑星鲈在神经胚期最先出现幼体色素,逐渐增多,以点状和星状为主。初孵仔鱼背鳍膜和臀鳍膜上各有一处黑色素细胞丛,其分布的黑色素和黄色素细胞逐渐密集持续到9日龄,这与大菱鲆^[8]基本一致。卵黄囊初期出现少量点状和树枝状色素细胞,卵黄囊后期树枝状黑色素细胞逐渐增多,而鱼体头部浅黄色素明显,黑色素密度最大以星状较多,胞体体积增大成菊花状色素,鱼体色加深。变态前期鱼体躯干部黑色素细胞逐渐密集,以菊花状为主,背鳍膜和臀鳍膜上形成间断的色素带,黄色素和虹

彩色素细胞清晰可见,此时(28日龄以前)幼体色素至最发达时期。变态期时鱼体有眼侧和无眼侧的幼体色素细胞均逐渐溶解,有眼侧出现成体黑色素细胞,无眼侧的幼体色素细胞逐渐溶解减少至稳定,呈不规则星状的黑色素和黄色素细胞,不出现成体色素细胞,这与Seikai等^[15, 28]对牙鲆的研究结果一致。

早期仔鱼两侧黑色素细胞呈对称分布,密度呈先增加后降低的趋势,这与大菱鲆皮肤发育的结果一致^[8],与朱杰等^[27]对褐牙鲆的研究有相近的趋势但也有差异,早期牙鲆黑色素细胞密度先缓慢增加后降低,而后迅速升高至变态前期。白化个体不能正常度过变态期,有眼侧黑色素细胞密度持续降低,明显低于正常个体有眼侧,这与其他鲆鲽类如牙鲆^[27]和大菱鲆^[8]的白化个体相似。

3.4 圆斑星鲈早期形态发育时期划分

目前,鱼类早期生活史阶段分为卵(胚胎)、仔鱼和稚鱼3个时期,早期研究主要就是这3个时期,有时也包括当年幼鱼,但仔鱼最重要^[29]。以往对圆斑星鲈胚后发育的报道一般结合圆斑星鲈的卵黄囊、鳍条、鳞片和体色特征将其分为仔鱼期、稚鱼期和幼鱼期^[3, 5, 7]。圆斑星鲈早期发育阶段从初孵仔鱼开始,5 d开口,9 d卵黄囊消失,36 d后进入稚鱼期,50 d后进入幼鱼期。有关达氏鳇(*Huso dauricus*)幼鱼分类的研究指出:仔鱼结束的时期一般为各鳍条开始形成,鳞片形成之前^[30]。对橘色双冠丽鱼(*Amphilophus citrinellus*)的胚后体色研究指出:稚鱼期为仔鱼到幼鱼的过渡时期,主要完成鱼体的变态过程^[31]。结合前面的划分方式,本研究将从初孵仔鱼到开口转为外源性营养定为前期仔鱼,到卵黄囊消失,各鳍条开始发育,色素细胞增多,变态开始之前为定后期仔鱼。稚鱼期主要完成仔鱼到幼鱼的变态过程,期间鱼体两侧色素细胞出现差异,鱼体鳍条分化完全。鱼体全身覆盖鳞片,体色斑纹和成鱼相同时为幼鱼期。

3.5 圆斑星鲈早期发育过程的白化现象

经实验观察发现,圆斑星鲈变态后期开始出现少量的有眼侧部分白化或全部白化的个体。白化个体有眼侧体表无成体色素分布,主要是因为变态期(36日龄以后)幼体色素细胞逐渐

退化溶解后, 成体色素细胞形成受阻, 不能像正常个体一样在体表形成和分布。有关鲆鲽类的白化机理表明形成白化的原因与饲料的营养和培育环境息息相关, 饲料中高不饱和脂肪酸, 特别是DHA和EPA的含量不足是造成大菱鲆和牙鲆白化的重要原因^[32], 而适宜的水温可以有效降低鲫^[33]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[34]和尖吻黄盖鲈(*Pseudopleuronectes herzensteini*)^[35-36]体色异常的发生率, 适当的高密度和持续光照可以降低美洲拟鲈(*Pseudopleuronectes americanus*)和牙鲆有眼侧的白化率^[37]。造成圆斑星鲈白化发生的深层机制和调控研究目前尚未开展, 还需从组织水平、分子水平上进一步揭示鲆鲽类白化的深层机理。

参考文献:

- [1] Aritaki M, Suzuki S, Watanabe K. Morphological development and growth of laboratory-reared barfin flounder *Verasper moseri*[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 2000, 66(3): 446-453.
- [2] Cho K H, Kim J H, Go C S, et al. A study on seedling production of the spotted flounder, *Verasper variegatus*[J]. Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency (Korea), 1995(50): 41-57.
- [3] Kim Y. On the egg development and larvae of right-eye flounder, *Kareius bicoloratus*(Basilewsky)[J]. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1982, 15(4): 323-328.
- [4] 王开顺, 张志峰, 康庆浩等. 圆斑星鲈胚胎及仔鱼发育的观察[J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 451-456.
Wang K S, Zhang Z F, Kang Q H, et al. Embryonic and larval development in *Verasper variegatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 10(6): 451-456(in Chinese).
- [5] 陈四清, 高天翔, 王琛等. 圆斑星鲈早期发育特征的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(2): 282-286.
Chen S Q, Gao T X, Wang C, et al. Study on development characters in early stage of spotted halibut *Verasper variegatus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2006, 36(2): 282-286(in Chinese).
- [6] 佚名. 圆斑星鲈大规模苗种工厂化培育技术项目鉴定[J]. 中国水产, 2012(11): 35-36.
anon. "Large-scale industrial breeding technology of spotted halibut *Verasper variegatus*" Project through the achievements appraisal[J]. Chinese Fisheries, 2012(11): 35-36(in Chinese).
- [7] 宁鑫, 柳学周, 孙中之, 等. 圆斑星鲈的早期生长发育特征[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(2): 7-15.
Ning X, Liu X Z, Sun Z Z, et al. Morphological development and growth pattern of *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel in early life stages[J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(2): 7-15(in Chinese).
- [8] 朱杰, 张秀梅, 高天翔, 等. 大菱鲈早期变态发育和体表黑色素细胞形态学观察[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 193-200.
Zhu J, Zhang X M, Gao T X, et al. The metamorphosis of turbot *Scophthamus maximus* and morphological observation on melanophores in larval skin[J]. Journal of Fisheries China, 2002, 26(3): 193-200(in Chinese).
- [9] 马学坤, 柳学周, 温海深, 等. 漠斑牙鲆胚胎及仔稚鱼发育的形态学观察[J]. 南方水产, 2008, 4(1): 41-48.
Ma X K, Liu X Z, Wen H S, et al. Embryonic and larval development in southern flounder *Paralichthys lethostigma*[J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(1): 41-48(in Chinese).
- [10] 张孝威, 何桂芬, 沙学坤. 牙鲆和条鳎卵子及仔稚鱼的形态观察[J]. 海洋与湖沼, 1965, 7(2): 158-181.
Zhang X W, He G F, Sha X K. A description of the important morphological characters of the eggs and larvae of two flat fishes, *Paralichthys olivaceus* and *Zebrias zebra*(Bloch)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1965, 7(2): 158-181(in Chinese).
- [11] 马学坤, 柳学周, 温海深, 等. 半滑舌鳎早期发育过程中色素变化的研究[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* Gunther[J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(2): 62-68(in Chinese).
- [12] Roberts R J, Young H, Milne J A. Studies on the skin of plaice (*Pleuronectes platessa* L.): 1. The structure and ultrastructure of normal plaice skin[J]. Fish Biology, 1971, 4(1): 87-98.
- [13] 朱杰, 张秀梅, 高天翔, 等. 大菱鲈皮肤发育及超微结构[J]. 水产学报, 2003, 27(2): 97-101.
Zhu J, Zhang X M, Gao T X, et al. Development and ultrastructure of larval skin in *Scophthamus maximus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(2): 97-101(in Chinese).
- [14] Burton D. Flatfish (Pleuronectiformes) chromatic

- biology[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2010, 20(1): 31-46.
- [15] Seikai T. Process of pigment cell differentiation in skin on the left and right sides of the Japanese flounder during metamorphosis[J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1992, 39(3): 85-87.
- [16] Bolker J A and Hill C R. Pigmentation development in hatchery reared flatfishes[J]. *Journal of Fish Biology*, 2000, 56(5): 1029-1052.
- [17] 史学营, 徐永江, 武宁宁, 等. 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)体表色素细胞观察及POMC表达特性分析[J]. *渔业科学进展*, 2016, 36(2): 45-48.
- Shi X Y, Xu Y J, Wu NN, *et al.* Preliminary studies on blind-side Hypermelanosis of *Cynoglossus semilaevis*: Chromatophores observation and expression of proopiomelanocortin[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 36(2): 45-48(in Chinese).
- [18] 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 schegeliai*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2012, 33(5): 1-7(in Chinese).
- [19] Dolater S M and Meadows M G. Iridescence: a functional perspective[J]. *Interface*, 2009, 6(Suppl. 2): 115-132.
- [20] Fujii R. Cytophysiology of fish chromatophore[J]. *International Review of Cytology*, 1993, 143: 193-255.
- [21] Roberts R J, Young H and Milng J A. Studies on the skin of plaice(*Pleuronectes platessa* L.)[J]. *Journal of Fish Biology*, 2010, 4(1): 87-98.
- [22] Seikai T. Mechanism of abnormal pigmentation[C]// Minami T, Tanaka M (eds). *Biology and stock enhancement of Japanese flounder*. Tokyo: Koseisha Koseikaku, 1997: 63-73.
- [23] Nakamura M, Seikai T, Aritaki M. Dual appearance of xanthophores, and ontogenetic changes in other pigment cells during early development of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Fish Science*, 2010, 76: 243-250.
- [24] 易云海, 宋一舸, 杨舟, 等. 鱼鳍和鳞片色素组成的比较观察[J]. *激光生物学报*, 2014, 23(1): 79-83.
- Yi Y H, Song Y G, Yang Z, *et al.* A study on the pigment of fins and scales in fish[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2014, 23(1): 79-83(in Chinese).
- [25] 郑曙明, 吴青, 李小兵, 等. 月光鱼色素细胞分布及特征的显微观察[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2014, 36(11): 13-17.
- Zheng S M, Wu Q, Li X B, *et al.* Observation of the distribution and microstructure of chromatophores in *Xiphophorus maculatus*[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2014, 36(11): 13-17(in Chinese).
- [26] 聂广峰, 李加儿, 区又军, 等. 梭鱼早期发育阶段体色形成与鳍的分化[J]. *动物学杂志*, 2016, 51(3): 395-401.
- Nie G F, Li J E, Qu Y J, *et al.* Body color variation and fins differentiation during early development of mullet (*Liza haematocheila*)[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2016, 51(3): 395-401(in Chinese).
- [27] 朱杰, 张秀梅, 高天翔. 体色异常褐牙鲆皮肤发育及鳞片发育的形态学研究[J]. *水生生物学报*, 2004, 28(6): 654-658.
- Zhu J, Zhang X M, Gao T X. Morphological studies on the development of melanophores and scales in malpigmented *Paralichthys olivaceus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(6): 654-658(in Chinese).
- [28] Seikai T. Mechanism of pseudo albinism in flatfish: an association between pigment cell and skin differentiation[J]. *World Aquaculture Society*, 1994, 25(1): 78-85.
- [29] 殷名称. 鱼类早期生活史研究与其进展[J]. *水产学报*, 1991, 15(4): 348-358.
- Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1991, 15(4): 348-358(in Chinese).
- [30] 李艳华, 危起伟, 王成友, 等. 达氏鳇胚后发育的形态观察[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(3): 585-591.
- Li Y H, Wei Q W, Wang C Y, *et al.* Morphological observation of postembryonic development in Kaluga, *Huso dauricus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(3): 585-591(in Chinese).
- [31] 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): 28-31.
- Wei M X, Song H M, Qi B L, *et al.* Pigment cells development and body color variation of postembryonic development in *Amphilophus citrinellus*(Günther 1864)[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2015, 24(1): 28-31(in Chinese).

- [32] 马爱军, 雷霖霖, 陈四清, 等. 鲆鲽类白化机理的研究进展[J]. 海洋水产研究, 2003, 24(3): 80-85.
Ma A J, Lei Q L, Chen S Q, *et al.* Progress of research on albinism mechanisms of flatfish[J]. Marine Fisheries Research, 2003, 24(3): 80-85(in Chinese).
- [33] Gouveia L, Rema P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation[J]. Aquaculture Nutrition, 2005, 11(1): 19-25.
- [34] No H K, Storebakken T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures[J]. Aquaculture, 1991, 97: 203-216.
- [35] Aritaki M, Seikai T, Kobayashi M. Reduction of morphological abnormalities brown sole by larval rearing with higher temperature and early feeding of *Artemia salina*[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1996(62): 857-864.
- [36] Aritaki M, Seikai T. Temperature effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological abnormalities in hatchery-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*[J]. Aquaculture, 2004(240): 517-522.
- [37] Seikai T. Reduction in occurrence frequency of albinism in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery-reared on wild zooplankton[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1985, 51(8): 1261-1267.

Early ontogeny of chromatophores and skin color changes of spotted halibut (*Verasper variegatus*)

YAN Junli^{1,2}, CHEN Siqing¹, CHANG Qing^{1*}, LIU Changlin¹, HU Jiancheng¹, WANG Zhijun³

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

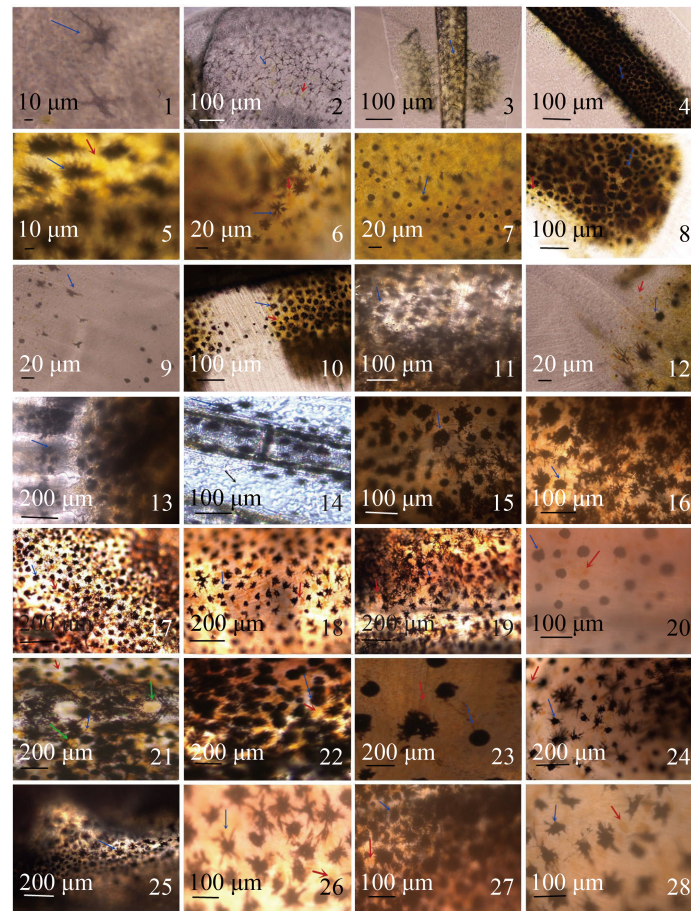
3. Kehe Ocean High-Technologies Company of Shandong, Weihai 264500, China)

Abstract: The abnormality of flatfish is very common in seeding breeding in aquaculture, and the morphological characteristics and distribution of chromatophores, as well as skin color changes during early life history(0–72 d) of *Verasper variegatus* were continuously observed and photographed, in order to offer reference for research and practice later. Results showed that the whole period of early development of spotted halibut lasted about 50 days in spawning water at 12–19.5 °C, and there was a rapid growing period after 20 days old. The larval melanophores occurred first and had the most contents, then xanthophores occurred, and iridophores occurred finally. The larval cytochrome of fry body were distributed symmetrically before metamorphosis, with an increase of the melanophores density firstly and a decrease of the density followed, and the maximal density of melanophores were 1390 cells/mm² at 9 days old. When metamorphosis occurred, the cytochrome and skin color of fry became asymmetrical. On ocular side, larval melanophores of fry body disappeared and were replaced by adult ones, and skin color was saturated and black, and the density of melanophores was stable, about 150 cells/mm². However, on blind side, larval melanophores disappeared and no adult ones appeared, and skin color was white. In our study, albinism often occurred at metamorphosis (35 days old), and adult melanophores of ocular side were blocked, and could not pass the metamorphosis period, and became albino.

Key words: *Verasper variegatus*; melanophores; xanthophores; iridophores; morphological observation

Corresponding author: CHANG Qing. E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

Funding projects: Agriculture ministry's science subject "The Antarctic Marine Biological Resources Development and Utilization"; Independent Innovation Project of Shandong Province(2013ZAXZA0803); Special Funds for the Basic R & D Program in the Central Non-profit Research Institutes (20603022016005)



图版 圆斑星鲈1~72 d的色素细胞形态变化

1. 初孵仔鱼卵黄囊上色素细胞；2. 3 d仔鱼卵黄囊色素细胞；3. 3 d仔鱼背鳍膜和臀鳍膜对称的色素丛；4. 9 d仔鱼躯干部色素细胞；5. 17 d躯干部色素细胞；6. 24 d仔鱼头部色素细胞；7. 24 d仔鱼尾部黑色素细胞聚集；8. 24 d仔鱼尾部色素细胞；9. 24 d臀鳍膜；10. 28 d臀鳍色素带逐渐增大及色素细胞逐渐增多；11. 34 d臀鳍基部色素细胞；12. 24 d尾鳍原基及尾鳍端部上的色素细胞；13. 43 d尾鳍黑色素丛处细胞团；14. 63 d尾鳍色素细胞；15. 34 d有眼侧躯干部色素细胞；16. 34 d无眼侧躯干部色素细胞；17. 43 d有眼侧躯干部色素细胞；18. 43 d无眼侧躯干部色素细胞；19. 43 d无眼侧尾部色素细胞；20. 43 d无眼侧躯干部色素细胞聚集；21. 72 d有眼侧躯干部鳞片上色素细胞；22. 72 d有眼侧躯干部色素细胞；23. 72 d无眼侧躯干部色素细胞；24. 白化个体有眼侧头部色素细胞；25. 正常个体有眼侧头部色素细胞；26. 白化个体有眼侧躯干部色素细胞；27. 正常个体有眼侧躯干部色素细胞；28. 白化个体无眼侧躯干部色素细胞。注：图版的标号首字母1~4、5~8、9~14、15~23、24~28分别代表卵黄囊仔鱼、变态前期仔鱼、鳍条色素细胞发育、变态期仔鱼和变态后期稚鱼、及白化个体与正常个体色素细胞的比较；蓝色箭头代表黑色素细胞；红色箭头代表黄色素细胞；黑色箭头代表虹彩细胞；绿色箭头代表鳞片

Plate Morphological development of chromocytes of *V. variegatus* during 1-72 days old

1. chromocytes at 1 days old after hatching; 2. chromocytes of yolk sac at 3 days old; 3. symmetrical pigmented band of the origin of dorsal fin and anal fin; 4. chromocytes of trunk at 9 days old; 5. chromocytes of trunk at 17 days old; 6. chromocytes of head at 24 days old; 7. concentrating of melanin at 24 days old; 8. chromocytes of tail at 24 days old; 9. origin of anal fin at 24 days old; 10. increscent pigmentation band of anal fin and chromocytes; 11. chromocytes of anal fin at 34 days old; 12. origin of tail fin and chromocytes at 24 days old; 13. pigmentation band of tail fin at 43 days old; 14. chromocytes of tail fin at 63 days old; 15. chromocytes of ocular side at 34 days old; 16. chromocytes of blind side at 34 days old; 17. chromocytes of ocular side at 43 days old; 18. chromocytes of blind side at 43 days old; 19. chromocytes of tail of blind side at 43 days old; 20. melanin concentrating of blind side at 43 days old; 21. squama and chromocytes of ocular side at 72 days old; 22. chromocytes of ocular side trunk at 72 days old; 23. chromocytes of blind side at 72 days old; 24. chromocytes of albino ocular side head; 5-2. chromocytes of normal ocular side head; 25. chromocytes of albino ocular side trunk; 26. chromocytes of normal ocular side trunk; 27. chromocytes of albino blind side trunk. Note: The first letter (1-4, 5-8, 9-14, 15-23, 24-28) of plate label represented a special period (1- fry at 1-9 days old; 2- postlarva at 17-28 days old; 3- pterygiophore pigmentation at 28-63 days old; 4- postlarva at 34-43 days old during metamorphosis and juvenile fish at 72 days old after metamorphosis; 5- comparison chromocytes with albino individual and normal individual. The blue arrow represented melanophores; The red arrow represented xanthophore; The black arrow represented iridocyte; The green arrow represented squama