

温度对马来西亚红罗非鱼越冬期体色的影响

王兰梅¹, 宋飞彪², 朱文彬¹, 董娟娟², 傅建军¹, 董在杰^{1,2*}

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,
农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081;
2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214128)

摘要: 为了解马来西亚红罗非鱼体色分化变异的遗传分子机制, 以期解决其越冬期的体色变异问题, 本研究比较了越冬期不同温度处理(16、20、25和30 °C)对其表观体色、酪氨酸酶活性以及皮肤色素带和黑色素细胞的影响。实验50 d后发现, 16 °C组大部分鱼体较实验开始时变黑, 整个鱼体呈现青灰色, 20 °C组多数鱼体腹部也变为青灰色。随着温度的升高, 红罗非鱼背部皮肤、腹部皮肤和血清中酪氨酸酶的活性逐渐升高, 25 °C时达到最高值, 而随着温度的继续升高, 30 °C组鱼的酪氨酸酶活性反而降低。血液中 *tyr* mRNA 的表达量随着温度的升高而升高, 25和30 °C组红罗非鱼肌肉中的 *tyr* mRNA 表达量也显著高于16和20 °C组。切片显微结构发现, 随着温度的升高, 红罗非鱼背部皮肤的黑色素细胞数量减少。研究表明, 马来西亚红罗非鱼越冬期的体色变异可能是其皮肤黑色素细胞数量和体内酪氨酸酶活性改变的结果, 深入研究其调控机制有助于了解鱼类体色遗传机理并进行体色性状的改良。

关键词: 红罗非鱼; 温度; 体色; 酪氨酸酶; 皮肤显微切片; 越冬

中图分类号: S 965

文献标志码: A

罗非鱼是重要的热带淡水养殖品种, 也是目前世界上最重要的食用鱼之一。其种类繁多, 一般认为马来西亚红罗非鱼是由突变型红色莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)与其他罗非鱼种类如尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)杂交, 在马来西亚经过多代选育而得到的一种拥有优良经济性状的红罗非鱼品系。近年来, 由于其腹腔无黑膜、体色艳丽、适应性强及口感清新等优点, 在东南亚和我国的养殖面积不断扩大, 市场空间巨大^[1-2]。但是其遗传选育过程中的体色分化和越冬期间的体色变异是限制其商业化大面积养殖推广的主要问题, 其中体色分化是不可逆的, 而体色变异随着环境温度的升高则具有一定的可逆性^[3]。目前马来西亚红罗非鱼的体色类型主要有3种: 粉白色、粉白色带有大面积的白斑以及粉白色带有大面积的黑斑^[3]。

动物皮肤的颜色是由色素细胞分泌的不同色素合成的结果, 并受遗传、环境、营养或生理等多种因素的影响^[4]。在人类和哺乳动物中, 已经针对动物体色形成的分子机制从黑色素合成通路方面进行了大量深入的研究, 并认为黑色素合成通路在脊椎动物中是保守的^[5-6]。黑色素细胞产生的两种类型的黑色素对体色表型有极为重要的影响, 一种是真黑色素, 负责产生黑色和棕色表型; 另一种是褐黑色素, 负责产生黄色和红色表型^[7]。还发现了两种色素共同的遗传信号通路, 真黑色素是以体内的酪氨酸为起点合成的, 酪氨酸在酪氨酸酶的作用下, 经过一系列氧化和催化聚合反应形成真黑色素, 而当酪氨酸酶活性降低时, 则转向了褐黑色素的合成途径^[7-8]。而相较于哺乳动物, 有关鱼类体色分化变异的研究则相对有限, 主要集中在

收稿日期: 2016-11-03 修回日期: 2017-03-17

资助项目: 江苏省自然科学基金—青年基金(BK20160203); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2017HY-XKQ0203)

通信作者: 董在杰, E-mail: dongzj@ffrc.cn

模式动物斑马鱼相关基因的发现和克隆上^[9-11]。近年来,在非模式动物鲤(*Cyprinus carpio*)上,报道了不同体色的转录组分析^[4, 12]。但至今鱼类体色分化变异的分子机制尚不清楚。

目前,本实验室在马来西亚红罗非鱼的体色分化变异方面已经做了相关的研究,包括不同体色红罗非鱼生长性能比较及遗传多样性研究,通过分子标记发现了不同体色红罗非鱼的遗传差异,且粉白色红罗非鱼的生长速率高于红斑和黑斑红罗非鱼^[13];通过不同体色红罗非鱼的转录组分析,筛选出了显著差异表达的功能基因^[3]。在此基础上,本研究针对红罗非鱼越冬期间的体色变异问题,研究不同温度对其表现体色、酪氨酸酶活性以及皮肤色素带和色素细胞的影响,以期红罗非鱼体色分化变异的遗传分子机制研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验对象

实验用马来西亚红罗非鱼由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心于2009年从马来西亚引进,并在淡水渔业研究中心宜兴杞亭试验基地进行养殖繁育。挑选当年繁育、体色粉白均匀的红罗非鱼在温室内暂养2周,投喂配合饲料,用于温度实验。实验鱼初始体质量(40.4±0.14) g,实验开始前禁食24 h。实验在淡水渔业研究中心南泉试验基地室内养殖室进行。

1.2 实验设计与日常管理

实验设计4个温度水平(16、20、25和30 °C),分别记为T16、T20、T25和T30,每组3个重复,每个重复20尾鱼。实验采用循环水过滤系统。每天分别在09:00和16:00各投喂1次。养殖实验开始于2015年12月8日,实验期间,加热棒控制各养殖桶的温度,pH值范围为7.0~8.5,溶解氧大于

6 mg/L。2016年1月28日实验结束,实验结束时禁食24 h,记录每桶鱼的条数、称重并观察其体色变化情况,然后每桶鱼用丁香油麻醉后,随机取5尾,获得其背部皮肤、腹部皮肤以及血清样品后混合存放,用于酪氨酸酶活性的测定。同时获得全血、肝脏和肌肉用于酪氨酸酶基因(tyrosinase, *tyr*)的mRNA表达分析,样品测定前置于-80 °C冰箱中保存。并固定鱼的背部和腹部皮肤,用于石蜡切片的制作。

1.3 检测分析

红罗非鱼皮肤和血清中的酪氨酸酶活性采用国药集团的酪氨酸酶(TYR)酶联免疫试剂盒在酶标分析仪(Rayto RT-6100)上测定,测定方法采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附测试。

*Tyr*基因mRNA表达分析 红罗非鱼组织及血液总RNA的提取根据原平皓(天津)生物技术有限公司的组织RNA快速提取试剂盒(DR104)的操作步骤完成,分别用核酸蛋白检测仪(OD260:OD280) (Eppendorf, 德国)和琼脂糖凝胶电泳检测RNA的浓度和质量。然后用PrimeScript™ Real-time PCR试剂盒(TaKaRa, 日本)将500 ng的总RNA反转录成cDNA模板。

实时荧光定量PCR用CFX96™ Real-time System (Bio-Rad, 美国)完成, *tyr*和 β -*actin*基因的实时荧光定量PCR引物(表1)根据马来西亚红罗非鱼皮肤转录组数据(NCBI SRA数据库SRP076062)中已知的cDNA序列设计完成。实验结束后,每个养殖缸中随机取3条鱼解剖取其血液、肌肉和肝脏,3条鱼混合为一个样本。检测时,以 β -*actin*为内参,每个样本3个重复。反应体系为25 μ L: 1.0 μ L cDNA模板, 12.5 μ L 2 $\times$ SYBR PreMix Ex-Taq (TaKaRa, 日本), 9.5 μ L ddH₂O₂和上下游引物各1.0 μ L。反应条件: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共40个循环。实验结果用CFX Manager™软

表 1 实时荧光定量PCR引物

Tab. 1 Primer sequences used in the Real-time quantitative RT-PCR analyses

引物 primers	序列 sequences (5'-3')	PCR产物大小/bp PCR product length
酪氨酸酶正向引物 tyrosinase forward	TGTAATGCCACAGGGGAGGG	126
酪氨酸酶反向引物 tyrosinase reverse	TCCTGTCTCGTACTCGGGGA	
β -actin正向引物 β -actin forward	GTACCACCATGTACCCTGGC	224
β -actin反向引物 β -actin reverse	TGAAGTTGTTGGGCGTTTGG	

件(1.0版本)进行分析, 用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法运算得到 tyr 相对表达量的比值。

红罗非鱼皮肤组织石蜡切片的制作 鱼的皮肤组织于中性福尔马林中固定后, 依次梯度酒精进行脱水后浸蜡, 与包埋机内进行包埋切片, 片厚3 μm 。H.E染色, 显微镜观察并拍照。

1.4 数据处理与分析

实验结果用平均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SE)表示。应用SPSS 22.0软件包对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 并对差异显著者进

行Duncan's多重比较, 显著水平为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 温度对红罗非鱼越冬期生长和表观体色的影响

在红罗非鱼越冬期, 随着温度的升高, 鱼末体质量和体增重增加($P<0.05$)(表2)。而成活率各组间无显著差异($P>0.05$), 但在温度为16和20 $^{\circ}\text{C}$ 时, 鱼的成活率有降低的趋势, 均在90%以下, 而T25和T30组的鱼成活率则均在90%以上。

表 2 温度对红罗非鱼越冬期生长性能的影响

Tab. 2 Effects of temperature on growth performance of red tilapia during overwintering period

项目 item	组别 groups			
	T16	T20	T25	T30
初体质量/g initial body weight	40.44 $\pm$ 0.08	40.48 $\pm$ 0.07	40.46 $\pm$ 0.07	40.40 $\pm$ 0.04
末体质量/g final body weight	41.68 $\pm$ 0.32 ^a	46.26 $\pm$ 1.70 ^b	50.98 $\pm$ 1.09 ^c	59.03 $\pm$ 1.91 ^d
体增重/g weight gain	1.24 $\pm$ 0.32 ^a	5.77 $\pm$ 1.70 ^b	10.52 $\pm$ 1.12 ^c	18.63 $\pm$ 1.21 ^d
成活率/% survival	81.67 $\pm$ 1.67	83.33 $\pm$ 7.26	95.00 $\pm$ 5.00	90.00 $\pm$ 2.89

注: 同列标注不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同
Notes: in the same column, values with different small superscript letters mean significant differences ($P<0.05$), the same below

实验开始时, 各实验组红罗非鱼背部均为粉白色, 腹部颜色稍浅。实验结束时, T16组大部分鱼体较实验开始时变黑, 整个鱼体呈现青灰色; T20组鱼体也有变黑的趋势, 但背部皮肤仍为粉白色, 多数鱼体腹部变为青灰色; T25组少数鱼体腹部皮肤有轻微的灰黑色, 背部皮肤仍为粉白色; T30组整个鱼体仍为鲜艳的粉白色, 与实验开始时相比基本无变化(图1)。

2.2 温度对越冬期红罗非鱼皮肤和血清酪氨酸酶活性的影响

酪氨酸酶是黑色素合成通路的关键酶, 其活性高低影响着真黑色素和褐黑色素的生成速率和数量, 而真黑色素与褐黑色素含量、比例的不同决定了动物的体色。随着温度的升高, 红罗非鱼背部皮肤、腹部皮肤和血清中酪氨酸酶的活性表现出了相同的变化趋势(表3)。随着温度的升高, 其活性逐渐升高, 25 $^{\circ}\text{C}$ 时达到最高值, 而随着温度的继续升高, T30组鱼的酪氨酸酶活性反而降低。同时, 皮肤中酪氨酸酶的活性主要集中在背部, 腹部的含量低于背部, 这与红罗非鱼腹部皮肤的颜色比背部浅相适应。



图 1 温度对越冬期红罗非鱼表观体色的影响

从左至右分别为实验结束时温度16、20、25和30 $^{\circ}\text{C}$ 组红罗非鱼的表现体色

Fig. 1 Effects of temperature on apparent skin color of red tilapia during overwintering period

From left to right show the apparent skin colors of red tilapia reared at 16, 20, 25 and 30 $^{\circ}\text{C}$ respectively

2.3 温度对越冬期红罗非鱼肌肉、肝脏和全血中酪氨酸酶基因mRNA表达的影响

由于已经检测了红罗非鱼皮肤中的酪氨酸酶活性, 且为了观察各组织中酪氨酸酶的变

表 3 温度对越冬期红罗非鱼皮肤和血清中酪氨酸酶活性的影响

酪氨酸酶活性 tryosinase activity	组别 groups			
	T16	T20	T25	T30
背部皮肤/(U/g) back skin	0.068±0.02 ^b	0.075±0.03 ^b	0.085±0.03 ^a	0.067±0.03 ^b
腹部皮肤/(U/g) abdominal skin	0.033±0.003 ^c	0.040±0.000 ^{bc}	0.055±0.002 ^a	0.042±0.002 ^b
血清/(U/L) serum	11.50±0.30 ^d	13.04±0.24 ^b	15.07±0.09 ^a	12.07±0.22 ^c

化, 本研究紧接着检测了各组鱼肌肉、肝脏和全血中*tyr* mRNA的表达变化。在同一温度下, 红罗非鱼血液中*tyr*基因的mRNA相对表达量显著高于肝脏和肌肉($P<0.05$)(图2)。随着温度的升高, 血液中*tyr* mRNA的表达量升高($P<0.05$), T25和T30组红罗非鱼肌肉中的*tyr* mRNA表达量显著高于T16和T20组($P<0.05$), 但T25与T30组之间无显著差异($P>0.05$), 而肝脏中各组间无显著差异($P>0.05$)。

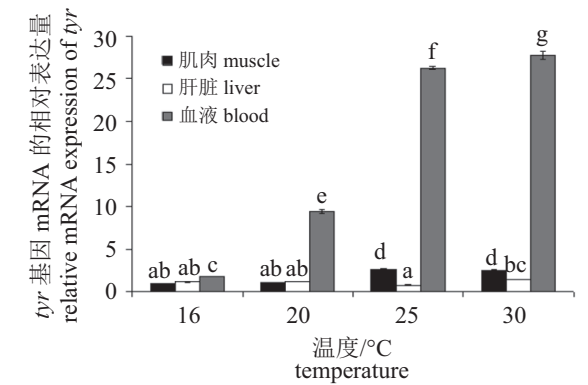


图 2 温度对越冬期红罗非鱼酪氨酸酶基因mRNA 相对表达量的影响
不同字母表示差异显著($P<0.05$)

Fig. 2 Effects of temperature on relative mRNA expression of tryosinase in red tilapia during overwintering period
Different letters mean significant differences ($P<0.05$)

2.4 不同温度下红罗非鱼皮肤组织显微结构观察

由于皮肤中酪氨酸酶的活性主要集中在背部, 所以实验主要观察了红罗非鱼背部皮肤的显微结构。图版为不同温度下红罗非鱼背部皮肤组织中色素带和黑色素细胞的显微结构。其中1~4为背部皮肤横切图, 5~8为背部皮肤纵切图。由图版箭头所示, T16和T20组鱼的背部皮

肤色素带清晰连续, 黑色素细胞数量多。随着温度的升高, 其色素带出现断裂, 黑色素细胞数量减少, 在T30组中几乎观察不到黑色素细胞的存在。这与实验结束时, T16和T20组鱼的背部皮肤变黑, T30组鱼体色无变化, 仍为鲜艳的粉白色相适应。

3 讨论

鱼类体色变化的生物学基础是体表皮肤和鳞片不同色素细胞的数量、形态和分布状态。相对于哺乳动物的只有一种色素细胞(黑色素细胞), 硬骨鱼类中目前已经发现了6种色素细胞, 包括黑色素细胞、红色素细胞、黄色素细胞、虹彩细胞、白色素细胞和蓝色素细胞, 这使得鱼类体色的形成变化更加复杂^[14-15], 但不同鱼类色素细胞的组成不同^[16]。鱼类体色分化变异分为两类: 一种是色素细胞的形态和数量改变引起的, 另一种是生理性颜色改变, 是色素细胞的运动所致, 包括温度、光线以及机械刺激等改变引起的反应。鱼类黑色体色的形成主要依赖于皮肤、鳞片中成熟的黑色素细胞数量、分布、密度, 以及黑色素颗粒在黑色素细胞中的分布状态^[17]。已经在黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvid-raco*)^[18-19]、胡子鲇(*Clarias fuscus*)^[20]以及一些观赏鱼类中发现了黑色素数量增加的现象。本实验中, 马来西亚红罗非鱼在越冬期间, 16 °C体色变黑以及20 °C腹部体色变黑的趋势, 可能也是黑色素细胞数量增加的结果, 对其皮肤组织黑色素细胞的显微切片观察也印证了此结果, 但红罗非鱼皮肤色素细胞的形态、分布状态对其体色的影响, 还需进一步研究。对胡子鲇正常鱼体和“沙皮”化鱼体皮肤切片也发现, 其“沙皮”化的主要原因是黑色素细胞不能正常发育, 但具体是黑色素细胞发生分化还是黑色素细胞的生物合成发生障碍还有待研究^[20]。

酪氨酸酶是黑色素合成的限速酶,其活性高低影响着真黑色素和褐黑色素的生成速率和数量。酪氨酸在酪氨酸酶的作用下,经过一系列氧化和催化聚合反应形成真黑色素,而当酪氨酸酶活性降低时,则转向了褐黑色素的合成途径^[7-8]。其中真黑色素负责产生黑色和棕色表型;褐黑色素负责产生黄色和红色表型^[7]。目前在无有效方法测定鱼体黑色素含量和体色指标的情况下,酪氨酸酶活性成为反映鱼体黑色素形成能力的重要间接指标。本实验中,红罗非鱼皮肤和血清中的酪氨酸酶活性在16~25 °C时,随着温度的升高而增强,表明其黑色素合成能力增强,可能更多地合成为真黑色素,这与T16组鱼体较实验开始时变黑,整个鱼体呈现青灰色,以及T20和T25组腹部变青灰色的趋势相适应。而当温度高于25 °C时,T30组皮肤和血清中的酪氨酸酶活性下降,黑色素的合成通路更多地向褐黑色素的形成过程转变,以保持T30组整个鱼体仍为鲜艳的粉白色。黑色素合成通路是一个多基因参与和调控的复杂过程,具体代谢通路见Zhu等^[3]的研究,决定动物体色的真黑色素与褐黑色素的含量和比例需要进一步确认。

而不同部位酪氨酸酶活性大小与鱼体黑色素合成部位有关^[21]。本实验中皮肤是红罗非鱼色素的主要合成部位,这与其他的研究结果相一致^[18, 21-22],血液中 tyr mRNA的表达量高则可能与代谢有关。同时对红罗非鱼肌肉和全血中 tyr mRNA的表达研究发现,T25和T30组的 tyr mRNA表达量显著高于T16和T20组,这与皮肤中酪氨酸酶的活性结果并不完全一致。研究表明,在红罗非鱼中,随着温度的升高,肌肉和全血中 tyr mRNA的表达升高说明其黑色素合成代谢速率加快,而到达靶组织皮肤后,高温组的酪氨酸酶活性下降,使黑色素的合成通路更多地向褐黑色素转变以保持体色。而整体的黑色素含量以及真黑色素与褐黑色素的比值,红罗非鱼体色变异的分子代谢机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Jayaprasad P P, Sriyaya T C, Jose D, *et al.* Identification of diploid and triploid red tilapia by using erythrocyte indices[J]. *Caryologia*, 2011, 64(4): 485-492.
- [2] Pradeep P J, Sriyaya T C, Hassan A, *et al.* Optimal conditions for cold-shock induction of triploidy in red tilapia[J]. *Aquaculture International*, 2014, 22(3): 1163-1174.
- [3] Zhu W B, Wang L M, Dong Z J, *et al.* Comparative transcriptome analysis identifies candidate genes related to skin color differentiation in red tilapia[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31347.
- [4] Jiang Y L, Zhang S H, Xu J, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals the genetic basis of skin color variation in common carp[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108200.
- [5] Li S J, Wang C, Yu W H, *et al.* Identification of genes related to white and black plumage formation by RNA-Seq from white and black feather bulbs in ducks[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36592.
- [6] Logan D W, Burn S F, Jackson I J. Regulation of pigmentation in zebrafish melanophores[J]. *Pigment Cell Research*, 2006, 19(3): 206-213.
- [7] Hoekstra H E. Genetics, development and evolution of adaptive pigmentation in vertebrates[J]. *Heredity*, 2006, 97(3): 222-234.
- [8] Ito S, Wakamatsu K. Human hair melanins: what we have learned and have not learned from mouse coat color pigmentation[J]. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 2011, 24(1): 63-74.
- [9] Kelsh R N, Inoue C, Momoi A, *et al.* The Tomita collection of medaka pigmentation mutants as a resource for understanding neural crest cell development[J]. *Mechanisms of Development*, 2004, 121(7-8): 841-859.
- [10] Kelsh R N, Brand M, Jiang Y J, *et al.* Zebrafish pigmentation mutations and the processes of neural crest development[J]. *Development*, 1996, 123(1): 369-389.
- [11] Parichy D M. Evolution of danio pigment pattern development[J]. *Heredity*, 2006, 97(3): 200-210.
- [12] Wang C H, Wachholtz M, Wang J, *et al.* Analysis of the skin transcriptome in two Oujiang color varieties of common carp[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90074.
- [13] 公翠萍. 不同体色红罗非鱼生长性能比较及遗传多样性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [14] Gong C P. The growth performance comparison and genetic diversity analysis of different body color red tilapia[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [15] Braasch I, Schartl M, Völff J N. Evolution of pigment synthesis pathways by gene and genome duplication in

- fish[J]. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7(1): 74.
- [15] Kelsh R N. Genetics and evolution of pigment patterns in fish[J]. Pigment Cell Research, 2004, 17(4): 326-336.
- [16] 王成辉. 鱼类体色变异的遗传基础研究进展简述[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(5): 737-742.
- Wang C H. Brief summary on genetic basis of pigmentation in fish[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(5): 737-742(in Chinese).
- [17] Sugimoto M. Morphological color changes in fish: regulation of pigment cell density and morphology[J]. Microscopy Research and Technique, 2002, 58(6): 496-503.
- [18] 丁小峰, 叶元土, 蒋蓉, 等. 饲料色素对黄颡鱼皮肤类胡萝卜素、叶黄素含量和酪氨酸酶活力的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(11): 1728-1735.
- Ding X F, Ye Y T, Jiang R, *et al.* Effects of feed pigments on carotenoids, lutein content and tyrosinase activity in the skin and serum of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(11): 1728-1735(in Chinese).
- [19] 王鲁波, 薛敏, 王嘉, 等. 天然叶黄素对黄颡鱼生长性能和皮肤着色的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(7): 1102-1110.
- Wang L B, Xue M, Wang J, *et al.* Effect of natural xanthophylls on growth performance and body pigmentation of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(7): 1102-1110(in Chinese).
- [20] 唐精. 微量元素的补充和全植物蛋白对胡子鲶生长、生理机能和体色的影响[D]. 苏州: 苏州大学, 2007.
- Tang J. Effects of supplemental elements and whole of vegetable protein feed on growth, physiological engineering and body color of the *Clarias fuscus*[D]. Suzhou: Suzhou University, 2007 (in Chinese).
- [21] 诸葛燕, 叶元土, 高艳玲, 等. 七种淡水鱼类色素含量和酪氨酸酶活力的比较研究[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(5): 431-436.
- Zhuge Y, Ye Y T, Gao Y L, *et al.* The comparison of pigment and tyrosinase activity in seven species of freshwater fishes[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(5): 431-436(in Chinese).
- [22] 冷向军, 石英, 李小勤, 等. 饲料中添加叶黄素对金鱼体色的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2010, 36(2): 168-174.
- Leng X J, Shi Y, Li X Q, *et al.* Effect of dietary xanthophyll level on body colour of goldfish (*Carassius auratus*)[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2010, 36(2): 168-174(in Chinese).

Effects of temperature on body color of Malaysian red tilapia during overwintering period

WANG Lanmei¹, SONG Feibiao², ZHU Wenbin¹, DONG Juanjuan²,
FU Jianjun¹, DONG Zaijie^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture,
Freshwater Fisheries Research Centre of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

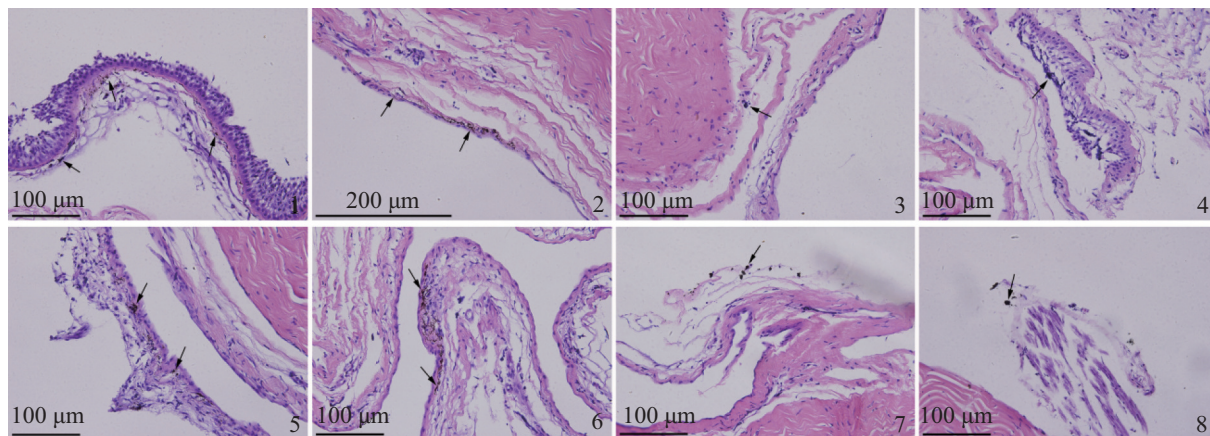
2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214128, China)

Abstract: In recent years, red tilapia has been gaining popularity due to its very fast growth, the absence of black peritoneum, salinity tolerance and adaptability to any culture system. However, the pigmentation differentiation in genetic breeding and skin color variation during the overwintering period are the main problems limiting the development of commercial red tilapia culture. The pigmentation differentiation is not reversible and skin color variation during overwintering period is reversible with the environmental temperature increasing. Coloration patterns including whole pink, pink with scattered black spots and pink with scattered red spots have been found in our breeding population. In order to further understand the genetic molecular mechanism of pigmentation differentiation and variation so as to solve the skin color variation during overwintering period, this research compared the effects of different temperatures (16, 20, 25 and 30 °C) on apparent color, tyrosinase (Tyr) activity and skin pigment cells of Malaysian red tilapia during overwintering period. After fifty days experiment, we found the body color of most fish in T16 group changed to pewter from pink at the beginning. Most of the abdominal skin color in T20 group fish also varied to pewter. But the fish body color in T25 group had only slight change and the body color of T30 group was still whole pink. The Tyr activity of fish back skin, abdominal skin and serum increased with increasing of temperature, and was the highest in 25 °C group fish. However, the Tyr activity decreased in 30 °C group fish. The blood *tyr* mRNA expression increased with increasing of temperature, and the muscle *tyr* mRNA expression in 25 and 30 °C group fish were higher than that in 16 and 20 °C group. The melanocytes of fish dorsal skin decreased in number with increasing of temperature by slice microstructure observation. The results suggest that the color variation during overwintering period of red tilapia may be related to the changes of skin melanocytes and Tyr activity. The further study of the regulatory mechanism would help to understand the genetic mechanism of fish body color and improve the body color features.

Key words: red tilapia; temperature; body color; tyrosinase; slice microstructure; overwintering

Corresponding author: DONG Zaijie. E-mail: dongzj@ffrc.cn

Funding projects: Jiangsu Natural Science Foundation for Young Scholar (BK20160203); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2017HY-XKQ0203)



图版 红罗非鱼背部皮肤显微结构

1~4分别为温度15、20、25和30 °C组红罗非背部皮肤横切图; 5~8分别为温度15、20、25和30 °C组红罗非背部皮肤纵切图

Plate Microstructure section of back skin in red tilapia

1-4 show the crosscutting of back skin in red tilapia reared at 15, 20, 25 and 30 °C respectively; 5-8 show the longitudinal cutting of back skin in red tilapia reared at 15, 20, 25 and 30 °C respectively