

虹鳉透明突变的遗传特征及其组织学观察

李凯彬 常藕琴 刘春 王芳 马必勇 梁慧丽 吴淑勤*

中国水产科学研究院珠江水产研究所 广州 510380

摘要: 采用杂交方法对虹鳉(*Poecilia reticulata*)透明性状的遗传规律进行了研究。从F1自交和回交后代的表型分析,该性状由1对等位基因控制,呈隐性遗传,其遗传特征符合孟德尔基因分离定律。采用体视镜观察比较不同表型虹鳉体表色素细胞的差异,并应用石蜡切片和电镜技术对不同表型鱼的皮肤、腹膜等结构进行研究,结果显示,与野生型虹鳉比较,透明个体没有虹彩色素细胞。组织学研究表明,透明虹鳉皮肤和腹膜的结构基本完整,但缺少了虹彩色素细胞层。由于突变个体虹彩色素细胞的缺失,导致光线可透过身体,因而变得透明。虹鳉的透明突变并不致死,也可育,且能稳定遗传。不论幼鱼或成鱼,透明突变体的心、肝、肾、肠、鳔、鳃、脊椎等内部器官可肉眼直接观察,为相关实验提供了极大便利,是进行体内实验研究的优良材料。

关键词: 虹鳉;透明;虹彩色素细胞

中图分类号: Q953, Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2011)05-16-08

The Genetic Characteristics and Histological Defects in Transparent Mutant of Guppy *Poecilia reticulata*

LI Kai-Bin CHANG Ou-Qin LIU Chun WANG Fang

MA Bi-Yong LIANG Hui-Li WU Shu-Qin*

Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China

Abstract: The transparent mutant of *Poecilia reticulata* was hybrid with wild type for genetic study. The analysis of offspring phenotype showed that the transparent characteristics was recessively inherent, controlled by an allele in line with Mendelism. Stereomicroscopy was used to examine the types and patterns of chromatophores for each phenotype, and it was found that the transparent mutant exhibited loss of iridophore. The paraffin section examination and electronic microscopy on the skin and peritoneum of guppy showed that the transparent mutant had an intact structure of skin and peritoneum, except for the absence of iridophore layer in contrast to wild-type individual. Reflective iridophore was absent in transparent mutant to the penetration of light, resulting in transparent appearance. The mutants were healthy and fertile, showing a stably genetic trait, and the main internal organs, such as heart, liver, gut, gonads, kidney, gills, and spinal cord, were naked-eye visible in living fish. Therefore, the *P. reticulata* transparent mutant is an excellent experimental resource for *in vivo* studies.

Key words: *Poecilia reticulata*; Transparent; Iridophore

基金项目 科技部公益项目(No. 2004DIB1J029);

* 通讯作者, E-mail: wushuqin001@21cn.com;

第一作者介绍 李凯彬,男,副研究员;研究方向:水生实验动物;E-mail: likaibins@126.com。

收稿日期:2011-02-22,修回日期:2011-04-30

哺乳动物只有 1 种色素细胞(chromatophore)——黑素细胞(melanocyte),而硬骨鱼类却存在多种色素细胞类型,包括黑色素细胞(melanophore)、黄色素细胞(xanthophore)、红色素细胞(erythrophore)、虹彩色素细胞(iridophore)以及白色素细胞(leucophore)等^[1]。鱼类不同的色素细胞因具独特细胞器而呈现其特有颜色,黑色素细胞中不同的黑色素颗粒能够吸收特定波长的入射光,使鱼体出现黑、棕等颜色;黄色素细胞的呈色物主要为喋啶,它们通过滤过特定波长的光使鱼体发色;红色素细胞的发色主要与胞质中类胡萝卜素有关,其成色原理与黄色素细胞相似;虹彩色素细胞呈色物质是与水结合成晶体形式的鸟嘌呤,属构形色,利用结晶状平板反射一定波长的光而使鱼体形成虹彩般颜色;白色素细胞存在于少数鱼类,其发色原理与虹彩色素细胞类似^[2-3]。

不同色素细胞的呈色特点造就了鱼类体色的丰富多彩,某种色素细胞的发育异常可导致鱼类体色突变,最为常见的白化突变就是黑色素细胞缺乏或黑色素的生成障碍引起,剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)、青鲮(*Oryzias latipes*)等鱼类都有白化突变体被固定下来。虹彩色素细胞能反射光线,阻止光线通过鱼体,与鱼体透明密切相关^[3-6]。斑马鱼(*Danio rerio*)的透明突变品系 *casper* 就是由于虹彩色素细胞缺失所致,青鲮 *il-1* 突变也与虹彩色素细胞的发育缺陷有关^[7-8]。

虹鲮(*Poecilia reticulata*)原产于南美洲的委内瑞拉、圭亚那、巴西北部等地,为卵胎生鱼类,有体型小、色彩艳丽、活泼好动、食性广、饲养容易等特点,颇受观赏鱼爱好者喜爱,其人工培育历史已近 100 年,并有多种表型被固定下来,已成为鱼类表型遗传研究的重要材料^[9]。虹鲮还是科学研究较为常用的鱼类材料,为国际标准化组织推荐的毒性试验标准材料之一。与斑马鱼和青鲮相似,虹鲮也存在透明突变,透过皮肤和肌肉,其内脏和脊椎骨等组织肉眼清晰可见。虹鲮的透明突变首先由观赏鱼爱好者

发现并固定,后经台湾、香港传播到海外,国外水族爱好者对虹鲮的透明表型有较为详细的介绍,肯定了该表型良好的应用前景^[10]。目前未见虹鲮透明的结构机理及遗传规律的报道,我们开展了透明虹鲮组织学和遗传学的相关研究,对透明的结构基础和遗传规律进行了探讨,旨在为后续应用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验鱼管理 实验鱼饲养于 20 L 玻璃缸,水温控制于(26 ± 2)℃,每隔 2 d 换去四分之一的水。饲养环境每天保持约 14 h 的光亮时间。采用卤虫(*Artemia* sp.)、摇蚊(*Chironomus* sp.)幼虫和配合饲料喂养,每天投喂 2 次。

1.2 虹鲮透明性状的遗传分析 野生型和透明型虹鲮,均为本实验室收集。透明型虹鲮(♀)与野生型虹鲮(♂)杂交,饲养、观察所产后代,了解 F1 代个体的表型。当 F1 个体出现性别特征时,雌、雄分开饲养。饲养至约 90 日龄,挑选 F1 中健壮个体,配对繁殖,并与透明型和野生型个体进行回交,统计各杂交组合后代的表型。F2 中选择健壮的透明型个体自交,并观察后代的表型。

1.3 不同表型虹鲮色素细胞的分布 60 日龄的野生型和透明型虹鲮,于体视镜下观察不同表型个体皮肤色素细胞的种类和分布。将鱼麻醉,处死,解剖使腹膜裸露,于体视镜下观察不同表型个体腹膜上色素细胞的种类和分布。

1.4 显微结构分析 60 日龄的野生型和透明型虹鲮于 Bouin's 液中固定 24 h,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。腹部位置垂直于体轴方向连续切片,厚度为 5 μm, H. E 常规染色,光学显微镜观察,了解野生型和透明型虹鲮皮肤、腹膜等组织结构上的差异。

1.5 超微结构观察 60 日龄野生型和透明型虹鲮皮肤组织,用 2.5% 戊二醛固定 24 h, 1% 锇酸后固定,系列乙醇脱水, Epon 812 树脂包埋后,进行超薄切片,醋酸铀柠檬酸铅双染色,并用 CM 10 Philips 透射电子显微镜于 40 kV 条件下观察皮肤结构的差异。

2 结果

2.1 杂交后代的形态特征 虹鳉的雌鱼和雄鱼差别明显,雄鱼腹部侧扁,体色鲜艳;雌鱼体型较大,腹部圆,体色素淡。透明型与野生型虹鳉杂交,其后代皆为野生性状。F1 自交,其后代出现了性状分离,有 2 种表现型:野生型和透明型。野生型雄鱼体侧有黑色、绿色、橙色等斑块分布,尾鳍有橙色斑纹(图 1:A);野生型雌鱼背部暗灰,腹部银白(图 1:B)。透明型雄鱼身体透明,鳃丝、肝、肠道等组织肉眼可辨,体侧有黑色和橙色斑块(图 1:C);透明型雌鱼身体透明,各内脏器官清晰可见,肉眼可辨,在生殖期,雌鱼的卵巢可占据腹腔近一半的体积,能轻易区分单个卵粒,胚胎在腹腔内的发育可活体直接观测(图 1:D)。

由于虹鳉品系体表固有斑纹影响了观察,通过与白化突变杂交,引入了白化基因,获得了白化且透明的虹鳉个体(图 1:E,F),大大便利内脏等组织器官的活体观察。

2.2 遗传分析 透明虹鳉与正常个体杂交,产下 1 窝共 29 尾 F1 后代,其后代都表现为野生型,其中雌鱼 15 尾,雄鱼 14 尾。F1 中选择不同体型个体,进行自交和回交,其后代性状的统计见表 1。

从表 1 可看出,F1 自交获得的后代有 218

尾,其中透明型个体 54 尾,与野生型比例接近 1:3。F1 与透明型回交,正交和反交(即透明个体为父本或母本)各产下 2 窝,其后代透明个体的比例相仿,透明型与野生型的比例接近 1:1。F1 与野生型回交,其后代皆为野生型。F2 中选择透明个体交配,后代都是透明型。通过对杂交和回交后代表型的分析,我们可以推断,虹鳉的透明性状是可遗传的,呈隐性遗传,为 1 对等位基因控制,其遗传特征符合孟德尔基因分离定律。

2.3 不同表型虹鳉色素细胞的分布 虹鳉表皮存在 3 种类型色素细胞:黑色素细胞、黄色素细胞和虹彩色素细胞。体视镜下可以看到,野生型雄鱼皮肤有不同类型的色素细胞(图 2:A),黑色斑块处有大量的黑色素细胞和虹彩色素细胞聚集,而橙色斑块处主要为黄色素细胞和虹彩色素细胞,绿色处主要为虹彩色素细胞;透明型雄鱼身体黑斑主要是黑色素细胞,橙色斑块主要是黄色素细胞聚集,体表皮未发现有虹彩色素细胞(图 2:B)。野生型雌鱼皮肤主要分布的是黑色素细胞和虹彩色素细胞(图 2:C),其中背侧以黑色素细胞数量占优,而腹部主要是虹彩色素细胞;透明型雌鱼皮肤只发现黑色素细胞和黄色素细胞散在分布(图 2:D)。

腹膜主要有两种细胞色素:黑色素细胞和虹彩色素细胞。野生型虹鳉的腹膜为银色,体

表 1 虹鳉不同杂交组合后代的表型分布

Table 1 Phenotypic distribution in the progenies of crossed, self-bred and backcrossed guppies

杂交组合 Crossing	窝数 Numbers of brood	产仔数(ind) Numbers of progeny	子代表现型 Phenotype of offspring		
			野生型(ind) Wild type	透明型(ind) Transparent	透明型比例(%) Ratio of transparent
透明×野生 Tr×WT	1	29	29	0	0.0
野生 F1×野生 F1 WT(F1)×WT(F1)	7	218	164	54	24.8
野生 F1×透明 WT(F1)×Tr	4	98	50	48	49.0
野生 F1×野生 WT(F1)×WT	3	85	85	0	0.0
透明 F2×透明 F2 Tr(F2)×Tr(F2)	5	117	0	117	100.0

Tr:Transparent; WT:Wild type.



图1 虹鳉及其透明突变

Fig.1 Guppy and the transparent mutants

A: 雄性虹鳉; B: 雌性虹鳉; C: 透明雄性虹鳉; D: 透明雌性虹鳉; E: 透明白化雄性虹鳉; F: 透明白化雌性虹鳉。标尺 = 5 mm
 A: Male guppy; B: Female guppy; C: Transparent male guppy; D: Transparent female guppy; E: Transparent and albinoid male guppy; F: Transparent and albinoid female guppy. Bar = 5 mm

视镜下可见银白色的虹彩色素细胞布满整个腹膜,其上有若干黑色素细胞分散分布(图2:E)。透明突变个体的腹膜未发现虹彩色素细胞,只有黑色素细胞分布,与野生型比较,其黑色素细胞也大大减少,表现为腹膜透明,血管可见(图2:F)。

2.4 显微结构和超微结构的观察 虹鳉皮肤由表皮和真皮层组成,嵌有鳞片。表皮为复层上皮,由数层上皮细胞构成。真皮层位于表皮

和肌肉之间,主要由纤维细胞组成。皮肤的虹彩色素细胞分布于真皮纤维与肌肉层中间,经H.E染色略显棕黑色(图3:A)。比较发现,透明突变体表皮的基本结构完整,鳞片完好无缺,真皮的纤维层也未见异常,但真皮下的虹彩色素细胞层完全缺失(图3:B)。虹鳉腹膜层在腹腔和肌肉之间(图3:C),主要由间皮细胞和色素层构成。间皮细胞位于腹腔侧,为单层扁平细胞。色素层分布于肌肉和间皮细胞间,显微

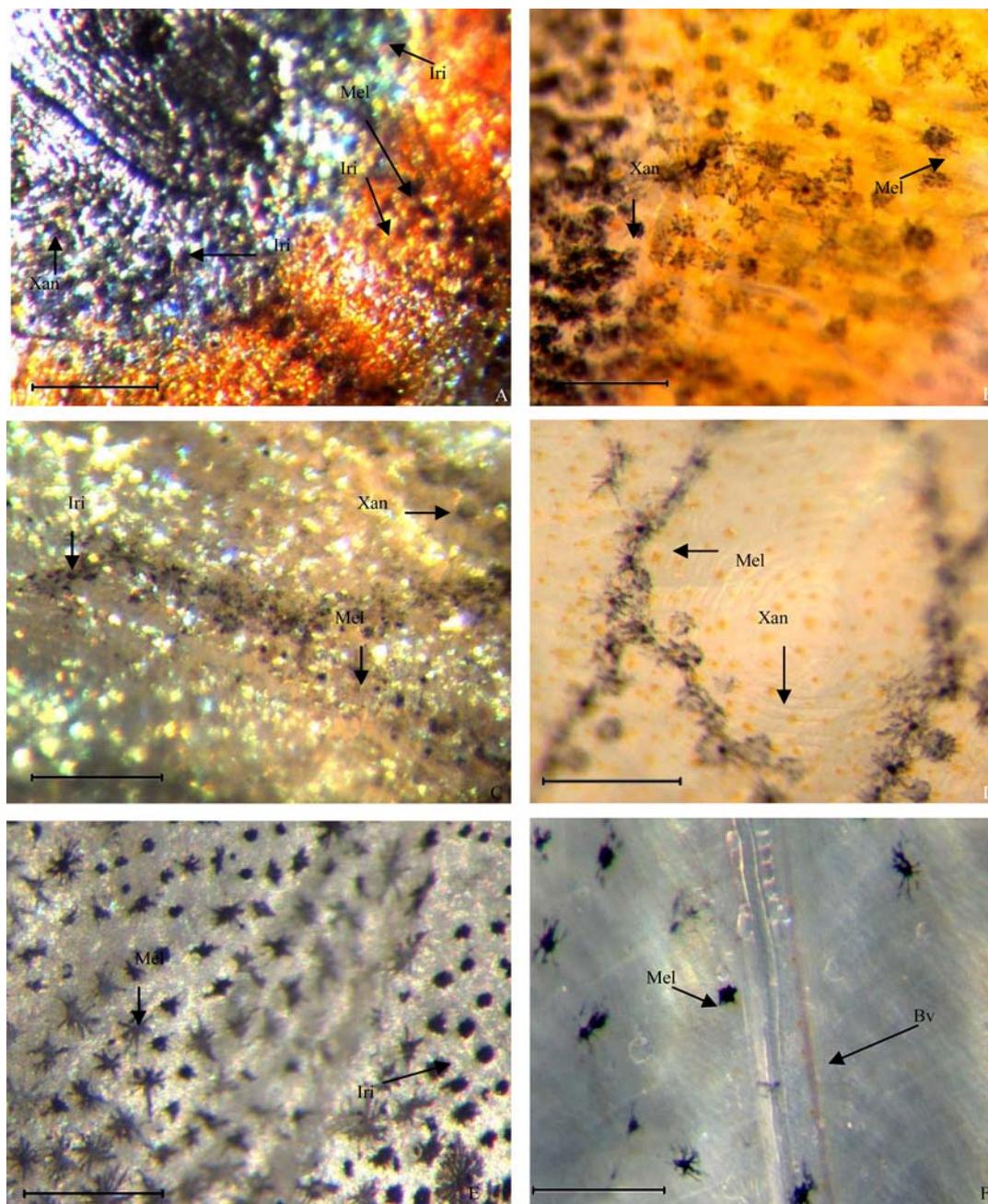


图2 虹鳞野生型与透明突变体色素细胞的差异

Fig.2 Mutants exhibit differences in chromatophores compared to wild-type guppy

A:野生型雄性虹鳞皮肤色素细胞; B:透明型雄性虹鳞皮肤色素细胞; C:野生型雌性虹鳞皮肤色素细胞; D:透明型雌性虹鳞皮肤色素细胞; E:野生型虹鳞腹膜色素细胞; F:透明型虹鳞腹膜色素细胞。标尺 = 100 μm

A: The chromatophores existed in skin of wild-type male guppy; B: The chromatophores existed in skin of wild-type female guppy; C: The chromatophores existed in skin of transparent male guppy; D: The chromatophores existed in skin of transparent female guppy; E: The chromatophores existed in peritoneum of wild-type guppy; F: The chromatophores existed in peritoneum of transparent guppy. Bar = 100 μm

Mel:黑色素细胞; Xan:黄色素细胞; Iri:虹彩色素细胞; Bv:血管。

Mel:Melanophores; Xan:Xanthophores; Iri:Iridophores; Bv:Blood vessel.

镜下呈棕黑色,为腹膜组织最为明显的细胞层。在透明突变个体中,仅能观察到薄薄的间皮细胞层,而未发现色素细胞层(图3:D)。

电镜下,虹彩色素细胞分布于真皮层靠近肌肉位置,细胞的形态多变,多为长条状或树枝状。虹彩色素细胞有狭长形的核,而各类细胞

器中,除了局部有线粒体的分布,细胞质布满了网状结构,每个网格由膜包围,形成了大小不同的空腔,沿不同方向排列于细胞中(图3:E)。每个空腔的内容物为反光平板(reflecting platelets),由结晶的鸟嘌呤(guanine)构成,在样品处理过程容易丢失,故于电镜下观察到的

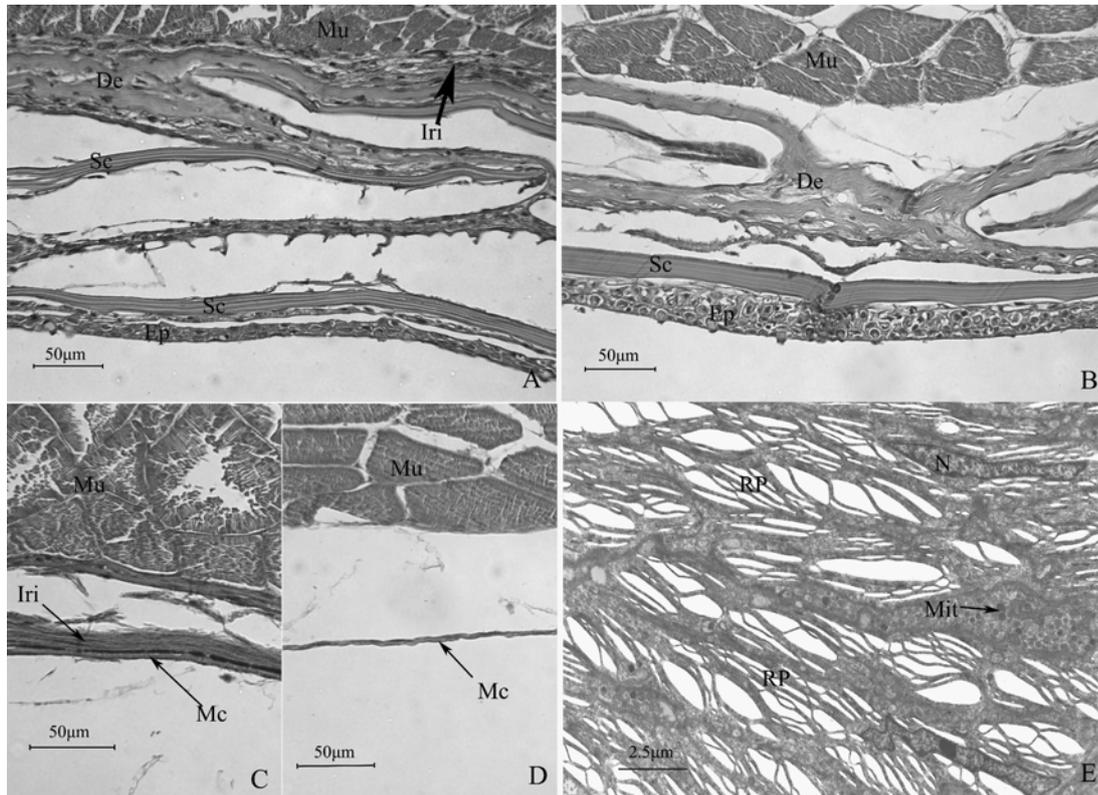


图3 虹鲮野生型与透明突变色素细胞的差异

Fig. 3 The absence of iridophore in the transparent body

A: 虹鲮皮肤由表皮、鳞片 and 真皮组成,虹彩色素细胞主要分布于真皮层紧靠肌肉处; B: 透明突变虹鲮皮肤结构基本完整,但缺少了虹彩色素细胞层; C、D: 与正常个体(C)比较,透明突变个体(D)腹膜缺少色素层; E: 透射电镜下,虹彩色素细胞紧靠肌肉层分布,细胞质内有大量的反光平板,由于绝大部分反光平板在样品处理过程丢失,观察到的是由膜包围的空腔。

A: The skin of guppy consisted of epidermis, scales, and dermis. Iridophores were mainly located in the dermal layer in close proximity to the muscles; B: In the presence of a grossly intact cutaneous structure but in the absence of iridophore layer in transparent mutant; C, D: In contrast to the wild type (C), the chromatophoric layer of peritoneum was also absent in transparent mutant (D); E: The transmission electron microscopy showed that iridophores were located in the dermal layer in proximity to the muscles. A large number of reflecting platelets were presented in the cytoplasm, the majority of which were erased by the sample processing, manifested as empty chambers.

Iri: 虹彩色素细胞; Sc: 鳞片; Ep: 表皮; De: 真皮; Mu: 肌肉; Mc: 间皮细胞; RP: 反光平板; N: 细胞核; Mit: 线粒体。

Iri: Iridophores; Sc: Scale; Ep: Epidermis; De: Dermis; Mu: Muscle; Mc: Mesothelial cell; RP: Reflecting platelets; N: Nucleus; Mit: Mitochondria.

多为不规则的网状结构。而在透明突变个体中并未发现虹彩色素细胞。

3 讨论

皮肤、腹膜、眼球为鱼类色素细胞主要分布组织,鱼体颜色取决于色素细胞的类型及数量^[2]。研究显示,虹鳞主要有 3 种类型的色素细胞:黑色素细胞、黄色素细胞和虹彩色素细胞。而透明突变个体中,只发现了黑色素细胞和黄色素细胞,未见虹彩色素细胞。鱼类虹彩色素细胞是通过反射一定波长的光而形成特定颜色的,呈色原理与鱼类其他色素细胞不同,虹彩色素细胞在野生型虹鳞皮肤不同位置的分布不尽相同,通常腹部的细胞数量略多于背侧,这可能是鱼体腹部为银白色的重要原因。而腹膜也是虹彩色素细胞分布的主要位置,大量虹彩色素细胞聚集形成了明显的银色反光层。因而,鱼体的透明与否,应与其虹彩色素细胞的分布密切相关。斑马鱼 *shady*、*roy* 等透明突变就是由于虹彩色素细胞的缺失所致^[8,11]。我们的显微和超微结构研究结果均表明,透明虹鳞与野生型的区别是虹彩色素细胞层的缺失,这与 White 等在斑马鱼中的研究类似^[8]。可以推断,虹彩色素细胞的缺失导致了虹鳞的透明突变。

虹彩色素细胞是一种独特的鱼类色素细胞类型,结构上与其反射光线的功能相适应。反光平板是虹彩色素细胞最为重要的细胞器,由结晶的鸟嘌呤构成,用以反射光线,每个平板都由膜包围。对暗公沙塘鳢 (*Odontobutis obscura*)、虹鳞等鱼类皮肤超微结构研究发现,由于电镜样品需经固定、脱水、包埋等处理过程,成熟虹彩色素细胞的反光平板结构消失了^[12-14],透射电镜下经常观察到的是由膜包围的大量空腔。本研究也得到了类似的结果,虹彩色素细胞胞质中除了线粒体等少量细胞器,布满了由空腔组成的网状结构。反光平板是虹鳞虹彩色素细胞最主要的结构。由于反光平板排列方向的差异,切片时每个平板展示的面有所不同,故形成的空腔大小不一。由于反光平

板在虹彩色素细胞中大量分布,在野生型虹鳞中,虹彩色素细胞的存在使得光线无法通过鱼体,鱼体并不透明。而透明个体的皮肤和腹膜均无虹彩色素细胞以反射光线,故内脏器官可直接观测。这也进一步证实虹彩色素细胞的缺失是虹鳞透明突变的结构基础。

无论是胚胎还是成鱼时期,透明虹鳞各器官均可直接观测,机体的一些实验反应和变化不需解剖或借助复杂的仪器,可在活体情况下对动物进行连续观察,为不同研究提供了便利。虹鳞为卵胎生鱼类,其胚胎的发育过程在体内进行,相关图像资料需连续的解剖采样或复杂的体外培养^[15]。而在透明个体中,体内的胚胎发育过程可直接观测,从同一动物可能获得一系列的动态试验数据,更能真实地反映其生物学过程,其应用优势十分明显。透明虹鳞健康可育,且能稳定遗传,作为实验材料资源进行系统研究有较好的实用意义。

斑马鱼透明突变 *shady*、*roy* 不仅仅表现为虹彩色素细胞的缺失,其黑色素细胞的数量也大为减少^[8,11]。在虹鳞的透明突变中也发现了类似的现象。从杂交结果看,两种鱼的透明性状皆由隐性基因控制,遗传特征也符合孟德尔基因分离定律,其突变的机制可相互借鉴。研究表明,斑马鱼的 *shady* 个体是由于其 *Ltk* 基因产生无义突变,编码的相应肽链缩短,造成蛋白质功能的丧失所致^[11]。可以推测,虹鳞的透明突变或与色素细胞发育的某个基因类似突变相关。脊椎动物的色素细胞起源于神经嵴,其发育过程受不同信号通路基因的精细调节,相关基因的突变将影响色素细胞的形成,导致成熟色素细胞的减少乃至缺失^[16-21]。研究发现, *Sox10*^[11,18]、*Ednrb*^[22]、*Bnc2*^[23] 等基因的突变不仅影响鱼类黑色素细胞的正常发育与分化,也可造成虹彩色素细胞的缺失或异常。这些工作为以后虹鳞透明突变分子机制研究提供了重要方向。

参 考 文 献

- [1] Kelsh R N. Genetics and evolution of pigment patterns in

- fish. *Pigment Cell Research*, 2004, 17(4): 326–336.
- [2] Braasch I, Brunet F, Volf J N, et al. Pigmentation pathway evolution after whole-genome duplication in fish. *Genome Biology and Evolution*, 2009, 1(1): 479–493.
- [3] Hawkes J W. The structure of fish skin. II. The chromatophore unit. *Cell and Tissue Research*, 1974, 149(2): 159–172.
- [4] Kelsh R N, Harris M L, Colanesi S, et al. Stripes and belly-spots: a review of pigment cell morphogenesis in vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2009, 20(1): 90–104.
- [5] 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. *Mechanisms of Development*, 2004, 121(7/8): 841–859.
- [6] Rawls J F, Mellgren E M, Johnson S L. How the zebrafish gets its stripes. *Developmental Biology*, 2001, 240(2): 301–314.
- [7] Wakamatsu Y, Pristiyazhnyuk S, Kinoshita M, et al. The see-through medaka: a fish model that is transparent throughout life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98: 10046–10050.
- [8] White R M, Sessa A, Burke C, et al. Transparent adult zebrafish as a tool for *in vivo* transplantation analysis. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(2): 183–189.
- [9] Tripathi N, Hoffmann M, Dreyer C. Natural variation of male ornamental traits of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Zebrafish*, 2008, 5(4): 265–278.
- [10] Shaddock P. The See-thru guppy: a transparent fish model. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation, International Journal of the Bioflux Society*, 2009, 2(2): 137–145.
- [11] Lopes S S, Yang X Y, Müller J, et al. Leukocyte tyrosine kinase functions in pigment cell development. *Public Library of Science Genetics*, 2008, 4(3): e1000 026. doi: 10.1371/journal.pgen.1000026.
- [12] Matsuno A, Iga T. Ultrastructural observations of motile iridophores from the freshwater goby, *Odontobutis obscura*. *Pigment Cell Research*, 1989, 2(5): 431–438.
- [13] Morrison R L. A transmission electron microscopic (TEM) method for determining structural colors reflected by lizard iridophores. *Pigment Cell Research*, 1995, 8(1): 28–36.
- [14] Gundersen R E, Rivera E R. An ultrastructural study of the development of the dermal iridophores and structural pigmentation in *Poecilia reticulata* (Peters). *Journal of Morphology*, 1982, 172(3): 349–359.
- [15] Martyn U, Weigel D, Dreyer C. *In vitro* culture of embryos of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Developmental Dynamics*, 2006, 235(3): 617–622.
- [16] Le Guellec D, Morvan-Dubois G, Sire J Y. Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*). *The International Journal of Developmental Biology*, 2004, 48(2/3): 217–231.
- [17] Kondo S, Shirota H. Theoretical analysis of mechanisms that generate the pigmentation pattern of animals. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2009, 20(1): 82–89.
- [18] Mills M G, Nuckels R J, Parichy D M. Deconstructing evolution of adult phenotypes: genetic analyses of *kit* reveal homology and evolutionary novelty during adult pigment pattern development of *Danio* fishes. *Development*, 2007, 134(6): 1081–1090.
- [19] Parichy D M. Homology and the evolution of novelty during *Danio* adult pigment pattern development. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 2007, 308(5): 578–590.
- [20] Quigley A K, Turner J M, Nuckels R J, et al. Pigment pattern evolution by differential deployment of neural crest and postembryonic melanophore lineages in *Danio* fishes. *Development*, 2004, 131(24): 6053–6069.
- [21] Kelsh R N, Brand M, Jiang Y J, et al. Zebrafish pigmentation mutations and the processes of neural crest development. *Development*, 1996, 123: 369–389.
- [22] Parichy D M, Mellgren E M, Rawls J F, et al. Mutational analysis of *endothelin receptor b1* (*rose*) during neural crest and pigment pattern development in the zebrafish *Danio rerio*. *Developmental Biology*, 2000, 227(2): 294–306.
- [23] Lang M R, Patterson L B, Gordon T N, et al. *Basonuclin-2* requirements for zebrafish adult pigment pattern development and female fertility. *Public Library of Science Genetics*, 2009, 5(11): e1000744. doi: 10.1371/journal.pgen.1000744.