

黄鳢由间性发育转变为 雄性发育的细胞生物学研究

肖亚梅 刘筠

(湖南师范大学生物系,长沙 410006)

摘要 黄鳢雄性性成熟产卵后,卵细胞败育,卵巢逐渐退化。同时,分布于生殖褶上的原始精原细胞开始生长发育,形成精小囊。这样,残留的雌性生殖细胞与发育的雄性生殖细胞共同存在于生殖囊腔内,此为黄鳢的雌雄间性发育阶段,这一阶段可分为早、中、晚三个时期。黄鳢雄性个体是由雌性个体通过性变化发育而来,这种性别的变化是单方向的。黄鳢的雄性性成熟发育也可以划分为六个时期(I→VI),雄性发育为多周期类型。

关键词 黄鳢,间性发育,雄性发育,生殖细胞,性变化

近五十年来,关于黄鳢(*Monopterus albus* Zuiew)生殖腺发育及其变化机理,一直是生物学界十分关注的一个问题。Chan和Phillips[1967]、刘修业[1990]对黄鳢性别发生变化时生殖腺结构的变化,分别进行过研究。本文针对黄鳢性变化过程的间性发育阶段变化为雄性发育时生殖腺在显微、亚显微结构上的变化进行了研究。

1 实验材料和方法

实验所用黄鳢材料,均取自我系实验基地汉寿县特种水产研究所的养殖池内。每月定期取样一次,每次约10—15尾黄鳢。

解剖黄鳢,取出性腺。组织细胞学观察材料皆用Bouin氏液固定,常规石蜡包埋,Harris苏木精染液染色,曙红(0.5%酒精溶液)复染。同时部分生殖腺用戊二醛与锇酸双重固定,进行透射电镜制样。

用显微测微尺对生殖腺有关部分进行测量。

2 实验结果

2.1 黄鳢间性发育阶段

黄鳢排卵后,生殖腺囊内的雌性生殖细胞逐渐败育,与此同时,生殖褶上的原始精原细胞生长发育,进入雌、雄性生殖细胞共存的间性发育阶段。根据生殖腺囊中雌雄两种生殖细胞发育状况,将黄鳢的间性发育分为早、中、晚三个时期。

间性发育早期:黄鳢生殖腺囊松软,肉眼可见发白的卵粒。组织学切片上,生殖囊结构很

松散,囊腔内有一些败育的Ⅵ时相卵母细胞、产后空滤泡腔,以及Ⅳ时相。Ⅲ时相和Ⅱ时相卵母细胞,生殖腺内腔扩大(图版Ⅰ-1),生殖褶结构未见明显变化(图版Ⅰ-2)。在电子显微镜下,Ⅵ时相卵母细胞质中出现大液泡,微绒毛断裂,放射膜中的放射状条纹消失;滤泡细胞肥大,滤泡细胞质中观察到数目较多的圆形线粒体和一些小液泡及分泌颗粒(图版Ⅰ-3)。

间性发育中期:生殖腺囊呈乳白色的索条状,肉眼不见卵粒。切片观察,生殖腺囊腔内已无Ⅵ、Ⅳ时相卵母细胞,只有一些Ⅱ、Ⅲ时相卵母细胞(图版Ⅰ-4)。生殖褶增宽为29—43 μm ,生殖褶内侧缘性原细胞数目增多(图版Ⅰ-5)。

电镜下,间性发育中期黄鳝生殖腺囊腔内的Ⅲ时相卵母细胞中,正在形成的卵黄颗粒发生液化,细胞质中的高尔基复合体、线粒体等细胞器明显减少(图版Ⅰ-6)。生殖褶结缔组织中分布着精原细胞(图版Ⅰ-7)。放大观察,精原细胞核大,靠近核膜的内缘处,有一个电子密度很高的大核仁,核物质较均匀,线粒体丰富,集中分布于核外的一侧细胞质中,同时在胞质中还观察到群集成团的电子致密物(图版Ⅰ-8)。进一步放大,这团电子致密物的电子密度低于核仁,主要是由一些纤丝状物质所组成(图版Ⅰ-9)。

间性发育晚期:生殖腺囊腔内的Ⅱ时相卵母细胞已减少为少数几个(图版Ⅰ-10),生殖褶增宽为42—54 μm ,精原细胞发育形成精小囊,并由生殖褶内侧缘逐渐扩展,有的精小囊内的生精细胞已发育为初级精母细胞(图版Ⅰ-11)。

超薄切片,间性发育晚期生殖褶上,生精细胞形成无腔精细管,精细管周围有间质细胞包裹;精细管内为精原细胞、初级精母细胞组成的精小囊(图版Ⅰ-12)。放大观察,初级精母细胞核较大、卵圆形,核内染色质集聚成团块状,不均匀分布于核质中;胞质中的电子致密物仍存在,但已明显减少;线粒体少,分布较均匀;相邻的初级精母细胞之间或初级精母细胞与支持细胞间的细胞膜局部消失,形成细胞质间桥(图版Ⅰ-13)。

间性发育阶段的生殖腺囊内,血管显著增大,血管外有游走的单核细胞和吞噬细胞(图版Ⅰ-1)。单核细胞,吞噬细胞可能与滤泡细胞一起,参与了对卵母细胞的吸收过程。

黄鳝间性发育可持续到雄性成熟。在水稻田里,曾先后捕捉到16尾守洞亲鳝。组织学切片检查,除1尾的生殖腺囊为产后卵巢(Ⅵ期)、4尾为典型的产后精巢外,其余11尾皆为间性发育个体。这11尾间性发育黄鳝中,3尾的生殖腺囊外观呈不透明的白色,肉眼不能分辨雌雄;另8尾的生殖腺囊为灰色或灰黑色,半透明,肉眼判断为精巢。在切片上,这11尾间性发育的守洞鳝的生殖褶部分或全部被精细管占满,细管腔中的精子已排空或残留有少量精子,但在生殖褶外的生殖腺囊腔中,仍观察到几个甚至数十个Ⅱ时相卵母细胞(图版Ⅱ-2,3)。进一步放大,Ⅱ时相卵母细胞的细胞核已发生偏位,核膜不清晰,部分核仁解体或空泡化,有核仁外排现象;细胞质不均匀,整个卵母细胞呈败育状态(图版Ⅱ-4)。

2.2 黄鳝的雄性发育阶段

黄鳝雄性发育的生殖腺囊长圆棒状,实验时若用两手指捏生殖腺囊,可明显感到其内两生殖褶滑动;在横断面上,肉眼可看到生殖腺囊腔内的两条生殖褶。

在黄鳝的生长发育过程中,雄性生殖腺发育的分期是从性变化为雄性以后进行划分的。根据性变化后生殖腺囊内雄性生殖细胞发育情况,黄鳝的雄性发育可分为6个时期:

第Ⅰ期:生殖腺囊处于性变化晚期。生殖褶内侧缘的精小囊已发育,由精小囊组成精细管还比较小,无腔。精小囊内的生精细胞以精原细胞为主,有的已发育为初级精母细胞(图版Ⅱ-1)

5),生殖褶上结缔组织仍占一定比例。生殖腺囊腔内还可见极少数Ⅱ时相卵母细胞(图版Ⅰ-11)。

第Ⅰ期:精细管数量增多,逐渐向生殖褶外侧缘发展,同时精细管直径也增大,个别精细管中出现小腔隙,精细管内除H·E着色浅的精原细胞外,较多的为初级精母细胞(图版Ⅱ-6)。

第Ⅲ期:生殖腺囊腔被两条宽大的生殖褶(175—210μm)充满(图版Ⅱ-7)。放大观察,具腔的精细管已完全挤满了整个生殖褶,各精细管间的结缔组织中可见微血管和梭形的间质细胞核;精原细胞分散于精细管边缘,精细管中的生精细胞以初级精母细胞和次级精母细胞为主(图版Ⅱ-8)。同时,生殖腺内腔背壁的生殖腺囊壁上,出现数个裂隙状空腔(图版Ⅱ-7)。

第Ⅳ期:精细管中初级精母细胞减少,次级精母细胞经第二次成熟分裂发育为精子细胞(图版Ⅱ-9)。

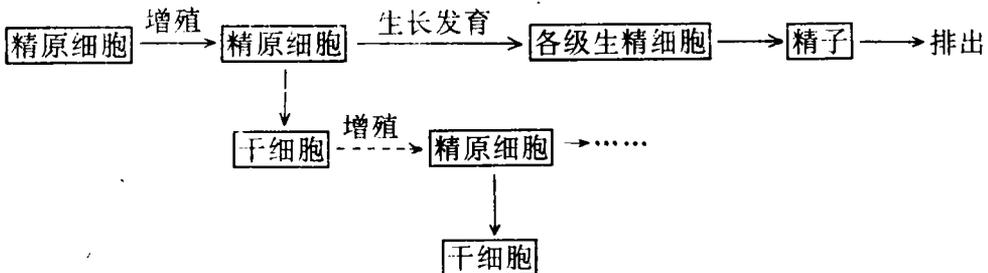
第Ⅴ期:两生殖褶曲折于生殖腺囊腔内,生殖腺囊壁很薄(图版Ⅱ-10,11)。放大观察,发育成熟的精小囊之间的隔膜消失,形成大的管腔,成熟精子汇集于管腔中;但部分精小囊仍由精子细胞组成,精原细胞数量少,分布于精细管壁(图版Ⅱ-12)。同时,构成生殖腺内腔背壁的生殖腺囊壁上的空腔增多,并且在这些空腔内,大多数都可观察到成熟精子(图版Ⅱ-13)。生殖腺囊壁上这些空腔的壁为结缔组织构成,未观察到任何生精细胞。5—7月的黄鳍雄性个体的发育处于这一时期。

第Ⅵ期:为排精后阶段,生殖腺囊的两生殖褶横切面不再似第Ⅴ期那样曲折,而是显得比较平直(图版Ⅱ-14)。放大观察,生殖褶上分布着许多空管腔,有的管腔中还残存少量精子,管壁内侧也有尚未变态的精子细胞;空管腔四周的管壁上精原细胞数目增多,有的已形成精小囊(图版Ⅱ-15)。同时,生殖腺内腔背壁的生殖腺囊壁上的空腔数量减少,且留下来的空腔体积小,腔内无精子(图版Ⅱ-14)。

实验结果表明,黄鳍的雄性发育有如下几个特点:

(1)黄鳍雄性个体是由雌性个体通过性变化发育而来的,研究中未发现雌性个体有再向雌性发育的迹象,由此可见,黄鳍生殖腺由雌性发育变化为雄性发育是单方向进行的。

(2)黄鳍雄性发育阶段中,第Ⅰ、Ⅱ期精巢只出现于第一次雄性性成熟发育过程。已达性成熟的雄性个体,在上次性周期结束后,直接进入第Ⅲ期,开始下一个生殖周期。黄鳍雄性性成熟发育属于多周期类型。黄鳍雄性生殖细胞生长发育程序可表示为:



(3)同一精小囊内的生精细胞间有细胞质桥相连,发育基本上是同步的;但整个精巢内的生精细胞的发育并不很一致。Ⅴ期精巢中,部分精细管腔内集聚了大量精子,但一些精小囊中仍为精子细胞(图版Ⅱ-11,12)。在精巢系数曲线上出现两个峰值(图1)。

3 讨论

鱼类属于低等的脊椎动物,有相当数量的鱼是雌雄同体类型。有的同一个体同时具有雌性和雄性两种生殖功能,为同时性雌雄同体类型(simultaneous hermaphrodite),如一些鲑属鱼;有的则是同一个体在不同的时期表现出不同性别的生殖功能,称为相随性雌雄同体(sequential hermaphrodite)。相随性雌雄同体鱼类根据雌、雄生殖功能出现的先后,又分为雌性先熟的雌雄同体(protogynous hermaphrodite)和雄性先熟的雌雄同体(protandric hermaphrodite) [Sapiro,

1992]。据报道,赤点石斑鱼为雌性先熟的雌雄同体类型[蔡友义等,1988],黄鳍鲷则属于雄性先熟的雌雄同体鱼类[洪万树等,1991]。刘建康和顾国彦[1951]、Liem[1963]、Chan 和 Phillips[1967]、Chan 等[1972]、刘修业[1990] 等国内外学者研究表明,黄鳍也是一种雌性先熟的雌雄同体鱼类。作者通过实验,证实了黄鳍个体在生长发育过程中,广泛地存在着自然性变化现象:第一次性周期内黄鳍个体全部表现为雌性发育,性成熟产卵后,卵细胞败育,卵巢逐渐退化,同时雄性生殖细胞生长、发育,通过雌雄间性发育过渡到雄性个体。黄鳍生殖腺发育程序可以描述为:雌性发育阶段→间性发育阶段→雄性发育阶段,并且生殖腺的这一发育过程是单方向进行的,即发生性变化后,不可能再由雄性个体逆返为雌性个体。

对于相随性雌雄同体类型来说,不管是雌性先熟还是雄性先熟,都存在着一个不同性别生殖细胞的变化过程。关于性别变化过程中生殖细胞的来源,Shapiro[1987]认为有两种可能:一是在初始性腺发育时,就存在着一个静止的、具有双潜能性的细胞库,性变化发生时,这些细胞分化为适宜的生殖细胞;二是在发育早期,产生两套分化了的细胞,并共存于第一成体性别中,当第二套已分化的细胞增殖并扩散到整个性腺时,就发生了性的变化。作者曾有实验证实,在黄鳍第一成体性别(雌性发育阶段)的生殖褶上同时存在着两类性原细胞:卵原细胞和原始的精原细胞。在雌性发育阶段,卵原细胞生长发育为各时期卵母细胞,性成熟产卵后,卵母细胞退化,潜伏于生殖褶内侧缘的原始精原细胞增殖、发育,形成精细管,并逐渐占住整个生殖褶(图版 I-11; II-7),这样雄性的精巢取代了雌性卵巢,黄鳍个体也由产卵的雌性个体变为排精的雄性个体。这一结果支持了 Shapiro 关于性别变化时生殖细胞来源的第二种可能性假设。Shapiro[1992]又提出,在雌雄异体和同时性雌雄同体鱼中,雌雄两种性腺是同时分化的,因而一生中分化只发生一次;而在相随性雌雄同体鱼类,性别变化可以看出是性腺分化的主要过程推迟到了成熟期,这样,实际上它们的性腺进行了两次分化。

描述黄鳍这种特殊现象时,人们一般都称之为“性逆转”或“性反转”(sex reversal)现象。如前面所述,黄鳍性别变化的发生,是由于雌雄两种生殖细胞的发育过程存在时序上的差异,这种时序的差异使雌雄两种性别在同一黄鳍个体中得以先后表达。作者认为,黄鳍生活史中这

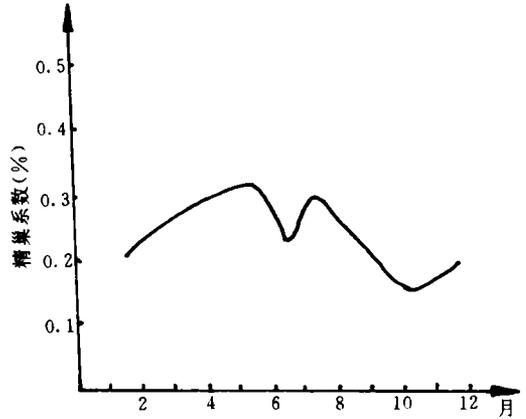


图1 精巢系数曲线
Fig.1 The curve of testicular coefficient

种特殊的生殖现象换用“性变化”(sex change)来描述似乎更准确些。

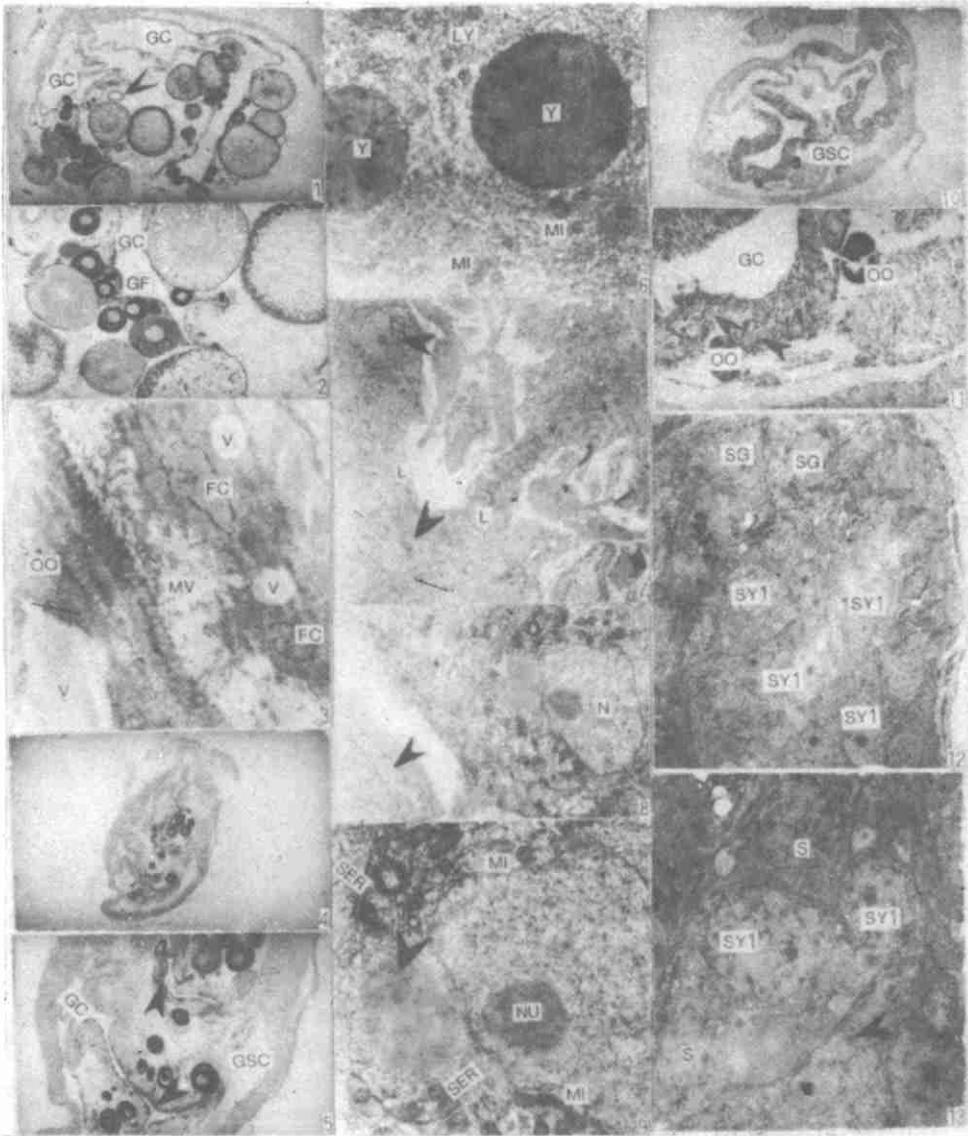
对于诱发性变化的机制,人们也进行了一些探讨。Tang 和 Chan[1974]有实验证明,不同剂量的各种雄性激素并不能引起黄鳍性变化的提前,雄性生殖细胞在雌性发育阶段的休克状态,不能归因于内源激素的任何抑制作用,对于雌性先熟的黄鳍来说,性激素似乎在触发自然性变化中不起原始作用。关于黄鳍性变化发生的诱导因素,尚待进一步研究。

雄性发育的黄鳍,在第Ⅲ期精巢发生时,围成生殖腺内腔壁的生殖腺囊壁上,出现一些小裂隙腔(图版Ⅰ-7)。达到Ⅴ期精巢时,这些空腔体积增大,腔内有成熟的精子(图版Ⅰ-13)。排精后,这些空腔多数消失,保留下的空腔体积缩小(图版Ⅰ-14)。在雌性、间性发育阶段,并未观察到这类空腔。生殖腺囊壁上这些腔隙的出现,可以认为是雄性发育达到性成熟的一个标志,可能在排精时起类似于输精管的作用,或者仅仅是暂时贮存精子的场所。

本文在完成过程中得到了刘楚吾教授,周工健、张轩杰、刘少军、罗 琛、姚占洲等老师的热忱帮助,作者深表谢意!

参 考 文 献

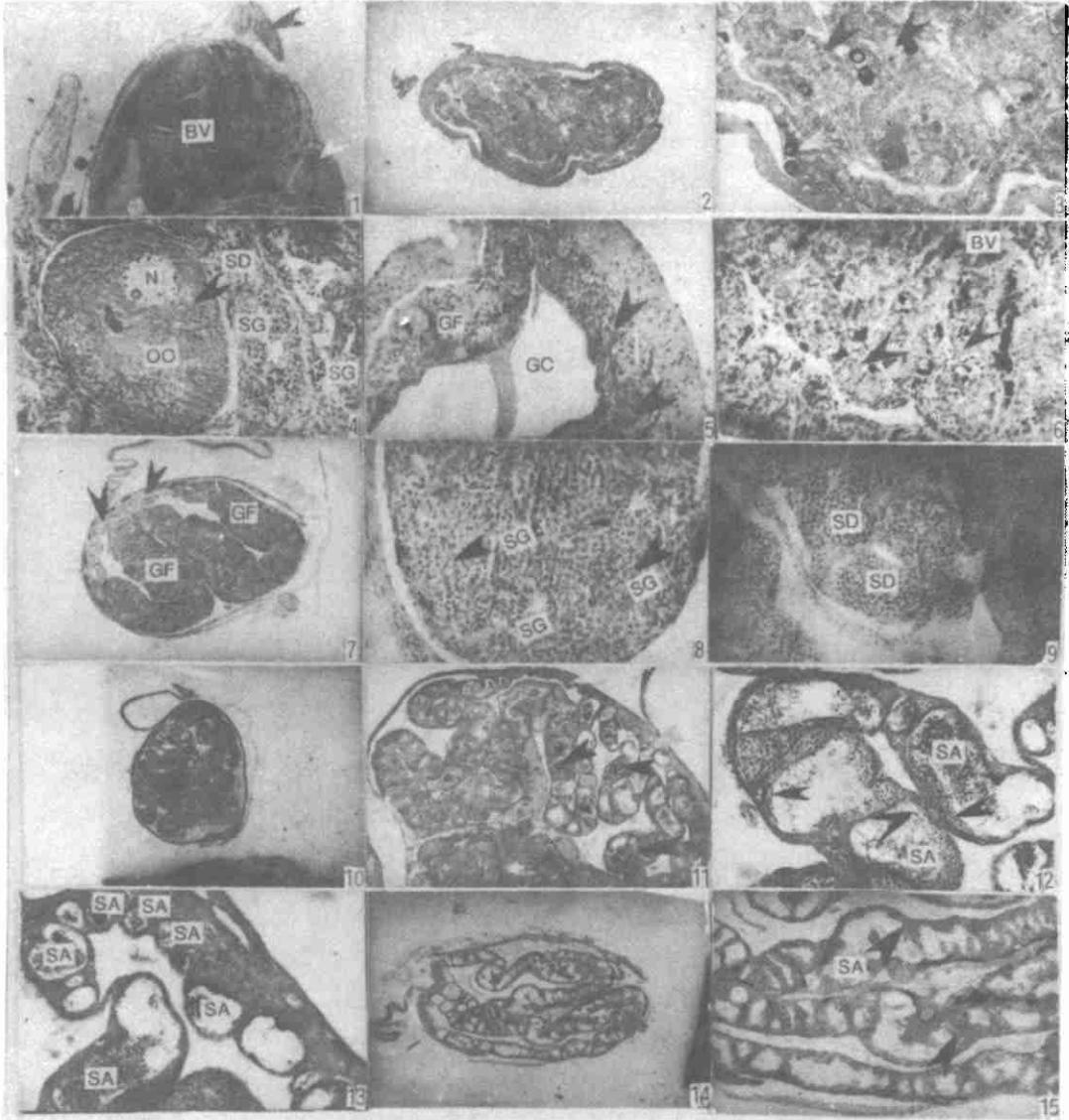
- [1] 刘建康、顾国彦,1951。鳍鱼性逆转时生殖腺组织的改变。水生生物学报 2(1-2): 85-109。
- [2] 刘修业等,1990。黄鳍性逆转时生殖腺的组织学与超微结构变化。水生生物学报, 14(2): 166-169。
- [3] 洪万树等,1991。西浦湾黄鳍鲷精子发生和形成。水产学报,15(4): 302-307。
- [4] 蔡友义等,1988。赤点石斑鱼雄性性腺及逆转变的研究。福建水产,(3): 24-30。
- [5] Chan, S. T. H. and J. G. Phillips, 1967. The structure of the gonad during natural sex reversal in *Monopterus albus* (Pisces; teleostei). *J. Zool.*, **151**: 129-141.
- [6] Chan, S. T. H. *et al.*, 1972. Biopsy studies on the natural sex reversal in *Monopterus albus* (Pisces; teleostei). *J. Zool.*, **167**: 415-421.
- [7] Liem, K. F., 1963. Sex reversal as a natural process in the symbranchiform fish *Monopterus albus*. *Copeia*, **2**: 303-312.
- [8] Shapiro, D. Y., 1987. Differentiation and evolution of sex change in fishes. *Bioscience*, **37**(7): 490-497.
- [9] ——, 1992. Plasticity of gonadal developmental and protandry in fishes. *J. Exp. Biol.*, **261**: 194-203.
- [10] Tang, F. and S. T. H. Chan, 1974. Effect of steroid hormones on the process of natural sex reversal in the rice-field eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 227-241.



图版 I Plate I

1. 示间性发育早期的生殖腺囊, 箭头示产后空滤泡, $\times 13.2$; 2. 图版 I-1 局部放大, $\times 33$; 3. 示间性发育早期 VI 时相卵母细胞及滤泡细胞的超微结构, $\times 1000$; 4. 示间性中期的生殖腺囊, $\times 13.2$; 5. 图版 I-4 局部放大, 箭头示生殖褶上增殖的精原细胞, $\times 33$; 6. 示间性发育中期退化卵母细胞质中开始液化的卵黄颗粒, $\times 8000$; 7. 示间性发育中期生殖褶上的精原细胞(箭头), $\times 1500$; 8. 图版 I-7 局部放大, 白箭头示精原细胞中的电子致密物, 黑箭头示游走的单核细胞, $\times 5000$; 9. 图版 I-8 进一步放大, 示电子致密物(箭头), $\times 12000$; 10. 示间性发育晚期生殖褶, $\times 33$; 11. 图版 I-10 局部放大, 示生殖褶上发育的精细胞, 黑箭头示精原细胞, 白箭头示初级精母细胞, $\times 132$; 12. 示间性发育晚期的生殖褶超微结构, $\times 1500$; 13. 图版 I-12 局部放大, 黑箭头示初级精母细胞中的电子致密物, 白箭头示细胞质间桥, $\times 3500$ 。

GC(生殖内腔)、GF(生殖褶)、FC(滤泡细胞)、OO(卵母细胞)、MV(微绒毛)、V(空泡)、LY(溶酶体)、GSC(生殖腺囊)、MI(线粒体)、L(间质细胞)、N(细胞核)、NU(核仁)、SER(光滑内质网)、SG(精原细胞)、SY1(初级精母细胞)、S(支持细胞)。



图版 I Plate I

1. 示间质发育阶段生殖腺囊腔内的血管,黑箭头示单核细胞,白箭头示吞噬细胞,×1200; 2. 示已达雄性性成熟的间性生殖腺囊,×13.2; 3. 图版 I-2 局部放大,黑箭头示排空的精细管,白箭头示卵母细胞,×33; 4. 图版 I-3 进一步放大,示退化的Ⅱ时相卵母细胞,×132; 5. 示雄性发育阶段Ⅰ期的生殖褶结构,箭头示发育的精原细胞,×132; 6. 示Ⅰ期精巢发育的精细管,黑箭头示精原细胞,白箭头示初级精母细胞,×13.2; 7. 雄性发育阶段Ⅱ期的生殖腺囊结构,箭头示生殖腺囊背壁出现的空隙,×33; 8. 图版 I-7 局部放大,示各级精细胞,黑箭头示初级精母细胞,白箭头示次级精母细胞,×132; 9. 示Ⅳ时相雄性发育精细管中的精子细胞,×100; 10. 示雄性发育Ⅴ期的生殖腺囊,×12.5; 11. 图版 I-10 局部放大,黑箭头示充满精子的精细管,白箭头示生殖腺囊壁上的腔,×33; 12. 图版 I-11 进一步放大,示精细管中的精子及发育的各级精细胞,黑箭头示精原细胞,白箭头示精子细胞,×132; 13. 图版 I-12 放大,示生殖腺囊背壁的空隙,×132; 14. 雄性发育Ⅵ期的生殖腺囊,×13.2; 15. 图版 I-14 局部放大,黑箭头示精细管壁上发育的精小囊,×33.

BV(血管)、SD(精子细胞)、SA(精子)。

STUDY ON THE HISTOLOGY IN SEX CHANGING FROM INTERSEX TO MALE OF *MONOPTERUS ALBUS* (ZUIEW)

Xiao Yamei and Liu Yun

(Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha 410006)

ABSTRACT After females sex-maturity and ovulation, the ova and ovaria degenerate gradually. At the same time, the spermatogonia on the germinal fold begin to multiply, and to form spermatocyst. Thus, the degenerated female germ cells and developed male germ cells settle in the same gonadal sac. This is the stage of intersex development. The intersex development can be divided into three periods, early, middle and late period. The male individual develops from sex-changing female. This sex transformation is unipotent. Male development of *M. albus* can also be divided into six periods (I → VI). The development of males sexual maturity is multiple-cycle.

KEYWORDS *Monopterus albus*, intersex, sexual maturity, germ cell, sex change

评《Culture and Capture of Fish Chinese Reservoirs》

中国是世界上淡水养殖产量最高的国家,但目前向国外介绍的有关鱼类养殖技术的文献基本上限于池塘养殖。根据预测,亚洲及世界各地将大力兴建水库,水库渔业将具有很大的发展潜力。《Culture and Capture of Fish Chinese Reservoirs》第一次将中国的水库养鱼与捕鱼技术介绍给了世界。

《Culture and Capture of Fish Chinese Reservoirs》是由上海水产大学李思发、徐森林两位教授合作撰著的第一本用英语介绍中国水库养鱼与捕鱼的专著。书中详细论述了水库的水文理化特点、天然饵料资源、水库鱼类资源的发展、水库鱼产力评估、大规格鱼种的培育、水库鱼类的合理放养、自然鱼类资源的管理、拦鱼设施及捕捞技术。本书为16开本,128页。由加拿大国际发展研究中心(IDRC)和马来西亚 Southbound 出版社合作出版。

李思发和徐森林教授长期从事该领域的研究,所著专著内容丰富、实用性强。此书系在1988年由上海科学技术出版社出版的《中国水库养鱼与捕鱼》一书基础上,根据国际出版规范、读者需要及我国水库渔业和近年来新进展改编而成,英、中版本可对照。英文版经加拿大英语专职编辑审核,语言规范,可供水产院校师生、大专院校生物学师生及水产部门工作人员英语学习及写作的参考。

(卢 怡)