

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.19313

福氏刺尻鱼性逆转的配对诱导及组织学观察

敖露露¹, 赵丽萍², 王淑红¹, 钟照威¹, 洪文霆¹, 龙文彬¹, 姜永华¹

1. 集美大学水产学院, 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;

2. 福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002

摘要: 本研究通过人工配对方式对福氏刺尻鱼的性逆转进行了诱导, 并从形态学和组织学层面对其性逆转过程和性腺发育进行了研究。结果表明, 福氏刺尻鱼的性腺分为纯雌鱼卵巢、纯雄鱼精巢和雌雄(♀/♂)兼性期性腺 3 种类型。性腺均先分化为卵巢; 性逆转发生于第 II 期卵巢阶段, 通过 1 大 1 小配对诱导 1~2 周时, 大个体雌鱼第 II 期卵巢停止发育并逐渐萎缩, 在卵巢壁和产卵板上逐渐分化出雄性生殖细胞, 性腺内雌雄生殖细胞共存, 形成兼性期性腺, 即为雌雄同体阶段; 配对诱导 3 周后, 兼性期性腺完全分化为早期精巢, 完成性逆转, 个体成为功能性雄鱼; 配对诱导 4 周后, 性逆转的雄鱼精巢和小个体雌鱼的卵巢发育成熟, 开始排精产卵。本文还分析了福氏刺尻鱼长、体重与性逆转的关系, 并对性逆转过程、特点及可能的诱导机制进行了探讨。研究结果可为开展福氏刺尻鱼人工繁育和性别控制技术研究提供理论指导, 也为揭示其性腺发育及性逆转机制奠定了基础。

关键词: 福氏刺尻鱼; 配对诱导; 组织学; 性逆转

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)06-0649-11

福氏刺尻鱼(*Centropyge vrolikii*)隶属鲈形目(Perciformes)、刺盖鱼科(Pomacanthidae)、刺尻鱼属, 俗称黑尾神仙, 主要分布于印度洋-太平洋区, 栖息于珊瑚礁附近, 是重要的海水观赏鱼种之一, 市场潜力巨大。但目前福氏刺尻鱼均源自野生捕捞, 酷渔滥捕对自然资源造成了极大的破坏, 使得市场上福氏刺尻鱼的供需矛盾更加突出。因此, 开展福氏刺尻鱼的人工繁育和养殖迫在眉睫。

鱼类性别决定和分化受遗传、生理及环境等因素的多重影响^[1], 性别转变在热带和亚热带地区的海水鱼类中是普遍存在的现象, 迄今发现的性逆转鱼类已超过 350 种, 包括鲷科(Sparidae)、鲈科(Serranidae)、雀鲷科(Pomacentridae)、隆头鱼科(Labridae)及珊瑚礁鱼类等^[2]。鱼类性逆转不是瞬间发生的, 而是一个连续的复杂过程, 涉及一

系列细胞、组织和生理变化^[3]。目前关于鱼类性逆转的研究主要集中于 3 个方面: (1)性逆转的形态学、组织学观察^[4-7]; (2)性逆转的诱导, 主要通过外源性激素^[3, 8-12]及环境因子^[13-14]诱导性别分化和转变; (3)性逆转的分子机制^[14-15]。福氏刺尻鱼为天然性逆转鱼类, 通常雌性先熟, 然后群体中个体最大的雌鱼会转变为功能性雄鱼。研究性腺发育及其性逆转是开展福氏刺尻鱼人工繁育的重要内容之一。因此, 本研究从形态学和组织学层面对福氏刺尻鱼性逆转的诱导和性腺发育进行研究, 探究诱导过程、性逆转变化特征及性腺发育特点, 不仅有助于快速准确地判断性逆转的发生及性腺发育阶段, 为其人工繁育和性别控制技术研究的开展提供重要依据, 也为其性腺发育及性逆转机制的研究奠定必要基础, 以及丰富了具

收稿日期: 2019-11-21; 修订日期: 2019-12-27.

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2018J01451); 福建省教育厅项目(JAT170304); “十三五”厦门市海洋经济创新发展示范项目(16PZY002S18); 福建省大学生创新创业训练计划项目(201810390064, 201910390047); 集美大学大学生创新创业训练计划项目(201710390333).

作者简介: 敖露露(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产动物生物学. E-mail: 707151869@qq.com

通信作者: 姜永华, 教授. E-mail: yhjia1974@jmu.edu.cn

有性逆转特性的珊瑚礁鱼类的性别研究资料。

1 材料与方法

1.1 亲鱼配对诱导

1.1.1 亲鱼养殖条件 采用海水观赏鱼专用的循环水养殖系统, 养殖用水由人工海水素配制, 盐度为 30~33, 水流循环速度为 5000 L/h, 光照为 12L:12D, 水温为 24~25 °C。

1.1.2 亲鱼引入及消毒 大规格(3.5 cm 以上)的福氏刺尻鱼亲鱼捕自菲律宾海域, 空运到达后, 先进行消毒暂养。以 2 L/5 min 的速度用循环系统的海水不断过水, 待新水与原水比例达 1:1 时, 去掉一半水体, 加入等温等体积的自来水浸泡 20 min, 去除鱼体上的寄生虫; 然后将亲鱼放入一个养殖缸中, 关闭照明 1 d; 第 2 天开始投喂人工活体卤虫无节幼体及虾贝肉糜等引诱亲鱼摄食, 并随时观察鱼体是否出现寄生虫和细菌感染等症状; 3 日后将亲鱼取出, 再次用盐度 15 的海水浸泡 20 min, 然后转移进入新的养殖缸中; 反复转移 3~4 次后, 即完成对亲鱼的消毒和暂养。

1.1.3 亲鱼配对 选取摄食及活力良好的健康亲鱼 40 尾, 按照个体大小划分档次, 然后取 1 大 1 小放入一个养殖缸中进行配对, 以诱导性腺发育和性别转变, 共配 20 对。每个养殖缸中放置 2 个直径 40 mm 的 PVC 水管供其躲避。定时投喂卤虫无节幼体及虾贝肉糜等, 投饵半小时后虹吸去除残饵粪便。

1.2 组织学方法

1.2.1 样本采集 将配对后亲鱼分别在第 0 周、第 1 周、第 2 周、第 3 周、第 4 周进行取样, 每次随机取 4 对, 共取样 5 次。每次取样时测量亲鱼的全长、体重, 然后解剖, 观察性腺的外部形态并拍照, 同时测量性腺重, 然后将性腺切成 0.5 cm³ 的小块, 迅速放入 4%多聚甲醛中 4 °C 固定 24 h 备用。

1.2.2 数据处理 采用 Excel 统计分析亲鱼的全长、体重、性腺重等生物学指标, 所有数据均采用平均值±标准差($\bar{x}$ ±SD)表示, 并计算性腺成熟系数(GSI, %): $GSI = (\text{性腺重} / \text{体重}) \times 100$ 。采用 SPSS20.0 软件进行单因素方差分析(one-way

ANOVA)和 Duncan 氏多重比较, P 代表显著性水平, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

1.2.3 组织切片制备及观察 将固定好的性腺进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋与连续切片, 切片厚度为 6 μm, 苏木精-伊红(HE)染色, 中性树胶封片。Nikon DS-Fi2 显微镜观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 配对诱导

2.1.1 配对观察 配对亲鱼初入单独养殖缸, 会先钻入 PVC 水管躲避, 随后游出熟悉新环境。配对的两尾刺尻鱼相遇后立刻开始追逐撕咬, 一般个体较大者占上风, 将弱势一方逼入角落, 在其侧上方展开各鳍悬停展示, 弱势一方则不断颤动以示服从, 至此, 配对初步成功。如新入养殖缸的两鱼不断追逐, 没有出现臣服迹象, 则应及时捞出二者, 为其各自重新配对。

2.1.2 配对结果 随机配对的亲鱼通常只会出现 1 雄 1 雌或 2 雌的配对结果, 后者饲养条件良好时优势雌鱼会自发性转变为雄鱼。通常配对成功后 1~2 周, 优势雌鱼即开始向雄鱼转变, 卵巢中开始出现雄性生殖细胞, 性腺转变为♀/♂兼性期(图 1D)。

2.1.3 求偶 配对成功 1 个月左右, 兼性期性腺已完全转变为纯精巢并发育成熟(图 1C), 性逆转的成功率可达 100%, 同时雌鱼性腺也发育成熟(图 1B), 开始出现求偶迹象: 雄鱼快速从后下方身体倾斜成 45°游向雌鱼, 二者旋转上升至高处, 再快速平行绕养殖缸 1/4 或 1/2 圈向下游至缸底后分开。之后雄鱼会再次靠近雌鱼反复求偶, 直至二者同步开始排放精卵。

2.2 性别及性腺发育的鉴别

2.2.1 形态学鉴别 福氏刺尻鱼的性腺位于肾脏的腹面, 靠近泄殖孔, 呈单一的管状, 前端游离在腹腔内, 后端与泄殖孔相连(图 1)。结合性腺外观形态观察及组织切片结果, 发现福氏刺尻鱼的性别包括纯雌鱼、♀/♂兼性期和纯雄鱼 3 种类型。其中纯雌鱼的性腺全部为卵巢, 早期卵巢体积小, 色浅黄, 成熟期卵巢体积增大明显, 呈饱满的粗



图 1 不同性别福氏刺尻鱼的性腺形态
A. 纯雌鱼第 II 期卵巢(II); B. 纯雌鱼第 IV 期卵巢(IV); C. 纯雄鱼成熟期精巢(MT); D. ♀/♂兼性期性腺(BG).
Fig. 1 Gonadal morphology of different sexes in *Centropyge vrolikii*
A. Stage II ovary of female (II); B. Stage IV ovary of female (IV); C. Mature testis of male (MT); D. Bisexual gonad of ♀/♂ (BG).

棒状, 色深黄(图 1A~B); 纯雄鱼的性腺全部为精巢, 成熟精巢体积较大, 但不饱满, 呈淡黄至乳黄色(图 1C); ♀/♂兼性期的性腺中雌雄生殖细胞并存, 形态与早期卵巢相似(图 1D)。

2.2.2 生物学指标 通过对福氏刺尻鱼不同性别及性腺发育阶段相关生物学指标进行测量(表 1), 发现成熟期纯雄鱼的全长和体重显著高于其他性别($P<0.01$), 第 IV 期纯雌鱼的性腺重和 GSI 均显著高于其他性别及发育期($P<0.01$), 体重与成熟期纯雄鱼相当, 无显著性差异($P>0.05$)。

2.2.3 组织学鉴别

(1)纯雌鱼各期卵巢 组织切片观察发现, 刚配对的小个体福氏刺尻鱼通常为纯雌鱼, 且卵巢发育均处于第 II 期中期(图 2A~B)。卵巢壁薄, 生殖上皮由卵巢壁向卵巢腔内不断迁移、延伸, 形成许多形状不一的产卵板(图 3A), 板上的卵母细胞绝大多数处于第 II 时相中期, 呈不规则的多角圆形或椭圆形等, 排列较稀疏, 体积较小, 卵径 $3.5\sim45\text{ }\mu\text{m}$ 。细胞质呈强嗜碱性, 染成深蓝色。此外, 局部也分布有一些卵原细胞, 卵圆形, 体

表 1 性腺不同发育阶段的福氏刺尻鱼的生物学指标
Tab. 1 Biological indicators of *Centropyge vrolikii* at different developmental stages of gonad

n=4; $\bar{x} \pm \text{SD}$

性腺发育期(配对后时间) gonadal development stage (time after pairing)	全长/cm total length	体重/g body mass	性腺重/g gonad mass	性腺成熟系数/% gonado-somatic index
第 II 期卵巢(0 周) stage II ovary (0 week)	3.55±0.13 ^c	15.68±0.51 ^c	0.42±0.04 ^c	2.68 ^d
第 IV 期卵巢(4 周) stage IV ovary (4 weeks)	5.50±0.22 ^b	30.60±0.50 ^a	1.54±0.06 ^a	5.03 ^a
兼性期(2 周) bisexual stage (2 weeks)	4.10±0.27 ^c	20.20±0.44 ^c	0.61±0.04 ^d	3.02 ^c
成熟期精巢(4 周) mature testis (4 weeks)	6.20±0.29 ^a	31.55±0.47 ^a	0.82±0.03 ^c	2.60 ^d

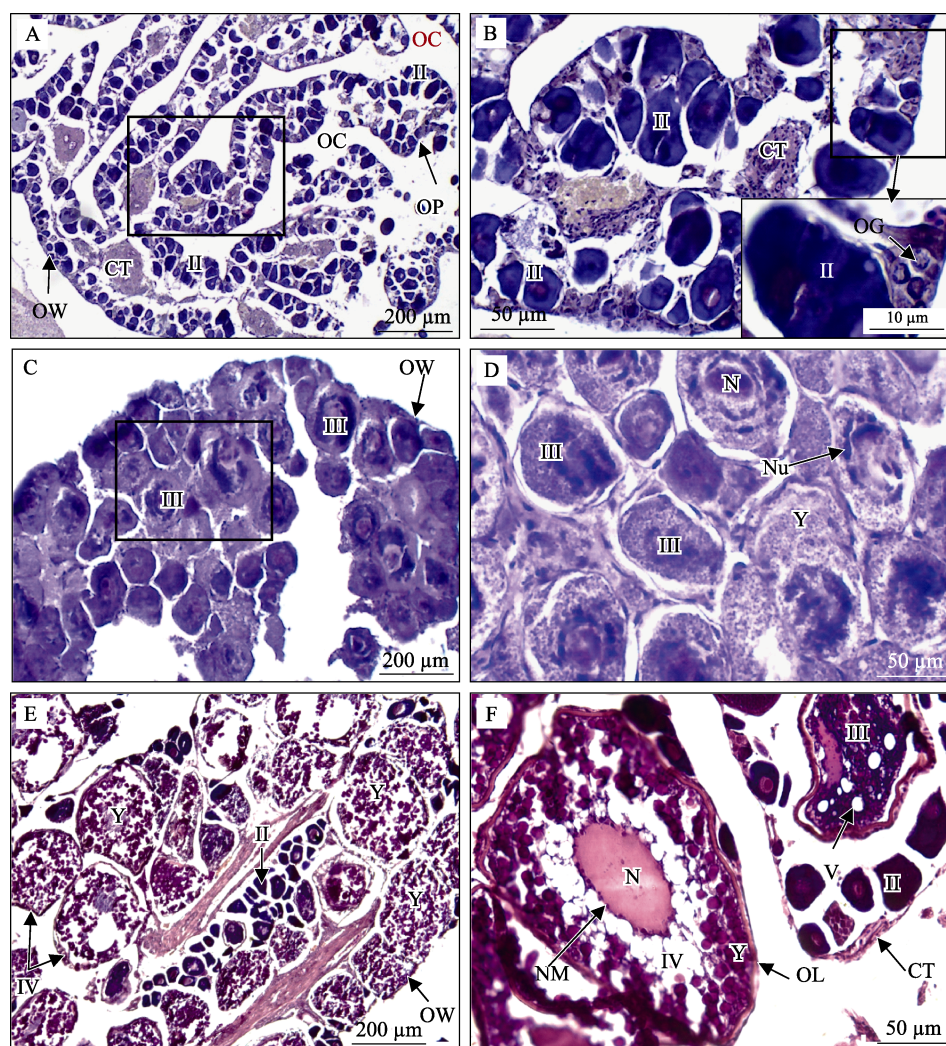


图 2 福氏刺尻鱼纯雌鱼各期卵巢的组织结构

A-B. 福氏刺尻鱼刚配对时的卵巢组织结构图, 处于卵巢第 II 期中期, 示产卵板(OP)、第 II 时相卵母细胞(II)和卵原细胞(OG), 其中 B 是 A 图中方框区域放大图; C-D. 福氏刺尻鱼配对 2 周后的卵巢组织结构图, 处于卵巢第 III 期早期, 示第 III 时相卵母细胞(III), 其中 D 是 C 图中方框区域放大图; E-F. 福氏刺尻鱼第 IV 期卵巢组织结构图, 示第 IV 时相卵母细胞(IV)及其卵核(N)、核膜(NM)、卵膜(OL)和卵黄颗粒(Y). CT: 结缔组织; N: 细胞核; NM: 核膜; Nu: 核仁; OC: 卵巢腔; OG: 卵原细胞; OL: 卵膜; OP: 产卵板; OW: 卵巢壁; V: 液泡; Y: 卵黄颗粒.

Fig. 2 Histological structure of ovaries at different stages in female *Centropyge vrolikii*

A-B. Histological structure of ovary in newly paired *C. vrolikii*, which is in middle stage II, showing oviposition plate (OP), stage II oocyte (II) and oogonia (OG), and B is the magnified region located in square frame of figure A; C-D. Histological structure of ovary in *C. vrolikii* after pair for 2 weeks, which is in early stage III, showing stage III oocyte (III), and D is the magnified region located in square frame of figure C; E-F. Histological structure of ovary in *C. vrolikii* after pair for 4 weeks, which is in stage IV, showing stage IV oocyte (IV) and its nucleus (N), nuclear membrane (NM), oolemma (OL) and yolks (Y). CT: connective tissue; N: nucleus; NM: nuclear membrane; Nu: nucleolus; OC: ovarian cavity; OG: oogonia; OL: oolemma; OP: oviposition plate; OW: ovarian wall; V: vacuole; Y: yolks.

积小, 卵径 3~5 μm, 胞质少, 核质比大, 胞质嗜碱性, 被染成浅蓝色(图 2A~B)。

配对养殖 2 周后, 纯雌鱼卵巢发育至第 III 期早期, 以第 III 时相早期卵母细胞为主。卵巢壁薄, 卵母细胞近圆球形, 排列较紧密, 细胞体积明显增大, 卵径 50~105 μm。核仁明显, 沿核膜边缘分布, 数量不等。卵质中开始出现液泡和少量细小

的卵黄颗粒, 胞质呈弱嗜碱性(图 2C~D, F)。

配对养殖 4 周后, 纯雌鱼卵巢发育至第 IV 期, 卵巢壁极薄, 卵巢内以第 IV 时相的卵母细胞为主。细胞体积增长迅速, 卵径 185~280 μm。卵内可见粗大的卵黄颗粒大量沉积, 几乎充满整个核外空间。核膜凹凸不平, 开始由中央逐步移向动物极, 并最终破裂, 标志着卵母细胞的成熟。此外,

卵巢内还有部分停滞于第 II 时相的卵母细胞及个别第 III 时相卵母细胞(图 2E~F)。

(2)♀/♂兼性期性腺 刚配对的大个体福氏刺尻鱼的性腺通常也是纯卵巢,处于第 II 期中期(图 2A~B)。配对养殖 1 周后,大个体福氏刺尻鱼的卵巢未继续发育,仍维持在第 II 期,且第 II 时相卵母细胞的数量减少,卵巢壁显著增厚,结缔组织发达。同时,卵巢内开始出现雄性生殖细胞,标志着性腺开始发生逆转,形成雌雄生殖细胞共存的兼性期(图 3)。此时雄性生殖细胞的产生方式是:

由卵巢壁生殖上皮分化出精子团,沿着卵巢壁上出现的结缔组织纵隔,逐渐向卵巢腔内迁移,类似早期精小叶的形成过程(图 3A~B)。此外,兼性期性腺中还开始出现淡黄色的营养体(图 3B)。配对养殖 2 周后,兼性期性腺内第 II 时相卵母细胞数量大减,仅在局部存在,此时雄性生殖细胞的产生方式为:在产卵板上直接由生殖上皮分化出精子团,类似后期精小叶的形成过程,同时伴随着产卵板上的卵母细胞大量败育退化及细胞间质增多(图 3C~D)。

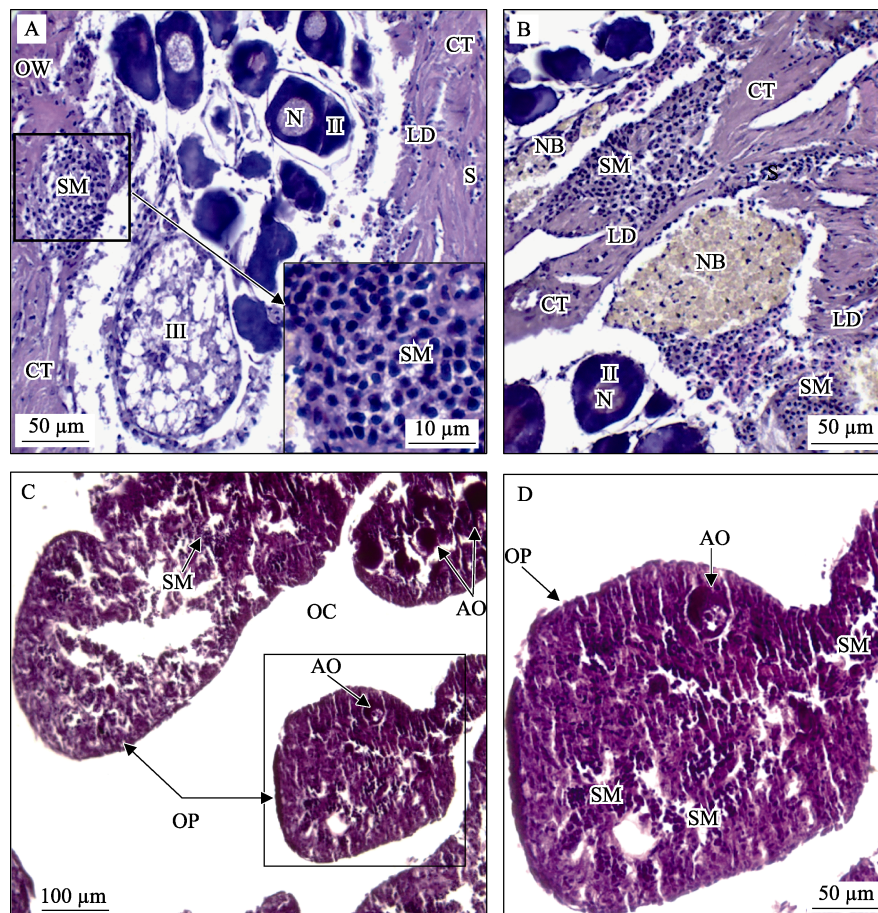


图 3 福氏刺尻鱼♀/♂兼性期性腺的组织结构

A~B. 福氏刺尻鱼配对 1 周后兼性期性腺结构图, 示同时并存第 II 时相卵母细胞(II)和卵巢壁中分化出的精子团(SM)以及结缔组织纵隔(LD)、营养体(NB); C~D. 福氏刺尻鱼配对 2 周后兼性期性腺结构图, 示产卵板上分化出的精子团(SM)和残留的败育卵母细胞(AO), 其中 D 为 C 图中方框区域放大图。AO: 败育卵母细胞; CT: 结缔组织; N: 细胞核; LD: 结缔组织纵隔; NB: 营养体; OC: 卵巢腔; OP: 产卵板; OW: 卵巢壁; SM: 精子团; S: 精子。

Fig. 3 Histological structure of bisexual gonad of ♀/♂ in *Centropyge vrolikii*

A~B. Histological structure of bisexual gonad in *C. vrolikii* after pair for 1 week, showing the coexisting stage II oocytes (II) and sperm mass (SM) differentiated from ovarian wall, longitudinal connective tissue diaphragm (LD) and nutrient body (NB); C~D. Histological structure of bisexual gonad in *C. vrolikii* after pair for 2 weeks, showing the sperm mass (SM) differentiated from oviposition plate and residual abortive oocytes (AO), and D is the magnified region located in square frame of figure C. AO: abortive oocytes; CT: connective tissue; N: nucleus; LD: longitudinal connective tissue diaphragm; NB: nutrient body; OC: ovarian cavity; OP: oviposition plate; OW: ovarian wall; SM: sperm mass; S: sperm.

(3)纯雄鱼精巢 配对养殖 3 周后,大个体福氏刺尻鱼兼性期性腺中的卵母细胞彻底萎缩消失,取而代之的是分化出的各期雄性生殖细胞,此时性腺已转变为纯精巢,标志着雌鱼成功转变为功能性的雄鱼。福氏刺尻鱼成功分化的功能性精巢分为两部分:精巢主体及后球。

精巢主体是雄性生殖细胞产生的场所,位于精巢前端,占据精巢的绝大部分体积。配对养殖 3 周时,精巢发育处于早期阶段,精巢壁较厚,结缔组织发达,伸入精巢内将其分隔成形状不规则的精小叶,精小叶体积较大但数量较少。精小叶内壁分布着较多的精小囊,精小囊内的雄性生殖细胞多处于精原细胞或初级精母细胞阶段,嗜碱性较弱;精小叶腔内少见成熟精子(图 4A~B)。配对养殖 4 周后,精巢发育处于成熟期,精巢壁变薄,精巢内的结缔组织极少,精巢主要由大量体积较小的精小叶构成,且富含营养体。精小囊内的雄性生殖细胞多处于次级精母细胞阶段,嗜碱性较强,染色较深;精小叶腔内充满成熟的精子,呈圆形颗粒样,体积小,强嗜碱性,被染成深蓝色。此外,靠近精巢壁的精小叶内还含有未分化的精原细胞,体积较大,弱嗜碱性,核大而清晰(图 4C~F)。

精巢后球位于精巢的最后端,与泄殖孔相连,是成熟精子储存的地方,壁显著增厚,结缔组织发达(图 4G~H)。精子成熟后流入精巢后球,位于肌肉纤维分支形成的腔隙内。此外,精巢后球中也分布着较多的营养体(图 4G~H)。

3 讨论

3.1 性逆转鱼类的性腺分化顺序

大多数硬骨鱼类为雌雄异体,性腺各自独立分化发育,但有些鱼类的生活史中存在性别转变的现象,即为“性转换”或“性逆转”^[16]。性逆转反映了鱼类生殖对策的特殊性与多样性。具有天然性逆转习性的鱼类,其性腺分化的先后顺序存在差异。根据生活史中卵巢和精巢的分化发育情况,主要分为两种类型:一类是雌性性腺(卵巢)先分化,然后再性逆转为雄性性腺(精巢),称为雌性

先熟型,如黄鳍(*Monopterus albus*)^[5]、黄鲷(*Dentex tumifrons*)^[17]及多种石斑鱼(*Epinephalus*)^[18]等;另一类是雄性性腺(精巢)先分化,然后再性逆转为雌性性腺(卵巢),称为雄性先熟型,如克氏双锯鱼(*Amphiprion clarkii*)^[8]、黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)^[4, 19]、黄鳍鲷(*Sparus latus*)^[20]及各种小丑鱼(*Amphiprion*)^[21]等。福氏刺尻鱼属于雌性先熟型,在性腺发育过程中,均先分化为卵巢(图 1A, 2A~B),然后个体最大的雌鱼卵巢内开始逐步分化出雄性生殖细胞,形成♀/♂兼性期性腺(图 1C),最后彻底分化为纯精巢(图 1D)。性腺分化顺序的差异体现了物种特异性,可能与鱼类自身的繁殖策略有关^[3, 22]。

3.2 鱼类性逆转发生的时间

不同鱼类性逆转开始发生的时间存在差异。作为雌性先熟的福氏刺尻鱼,其性逆转发生在卵巢发育第 II 期中期(图 3),且性逆转过程不可逆^[23]。黄鳍也属雌性先熟型,其性腺从胚胎到成体都为卵巢,性逆转开始于第一次产卵过后,卵巢逐渐变为雌雄兼性并最终转化为功能性精巢,产生精子^[5]。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[24]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[25]、白斑狗鱼^[6]等虽然也有雌性先熟现象,但幼体阶段雌雄性腺并存,然后卵巢先发育,其中一部分雌鱼在卵巢第 II 期时发生萎缩退化和雄性化,进而转变为功能性雄鱼。黑鲷、黄鳍鲷等鲷科鱼类属雄性先熟型,第一次性成熟全部为雄性,非繁殖季时开始性逆转,第二次性成熟时大部分雄鱼转变为功能性雌鱼^[4, 20]。

此外,鱼类开始发生性逆转的时间还与体长和年龄有关。如黑鲷性逆转通常发生在 3 龄+, 3 龄前均为雄鱼, 3 龄后开始性逆转,多为雄性转变为雌性,但后期也有从雌向雄的转变^[4],表明黑鲷的性逆转是可逆的。雌性先熟型的黄鲷在 4~5 龄时开始性逆转^[17]。自然海区发生性转变的石斑鱼一般都是年龄和个体足够大的个体,如赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)发生在 6 龄^[18]。本研究发现,福氏刺尻鱼性逆转与体长明显相关,通常一个族群中个体最大的雌鱼发生性逆转(表 1),变为功能性雄鱼。

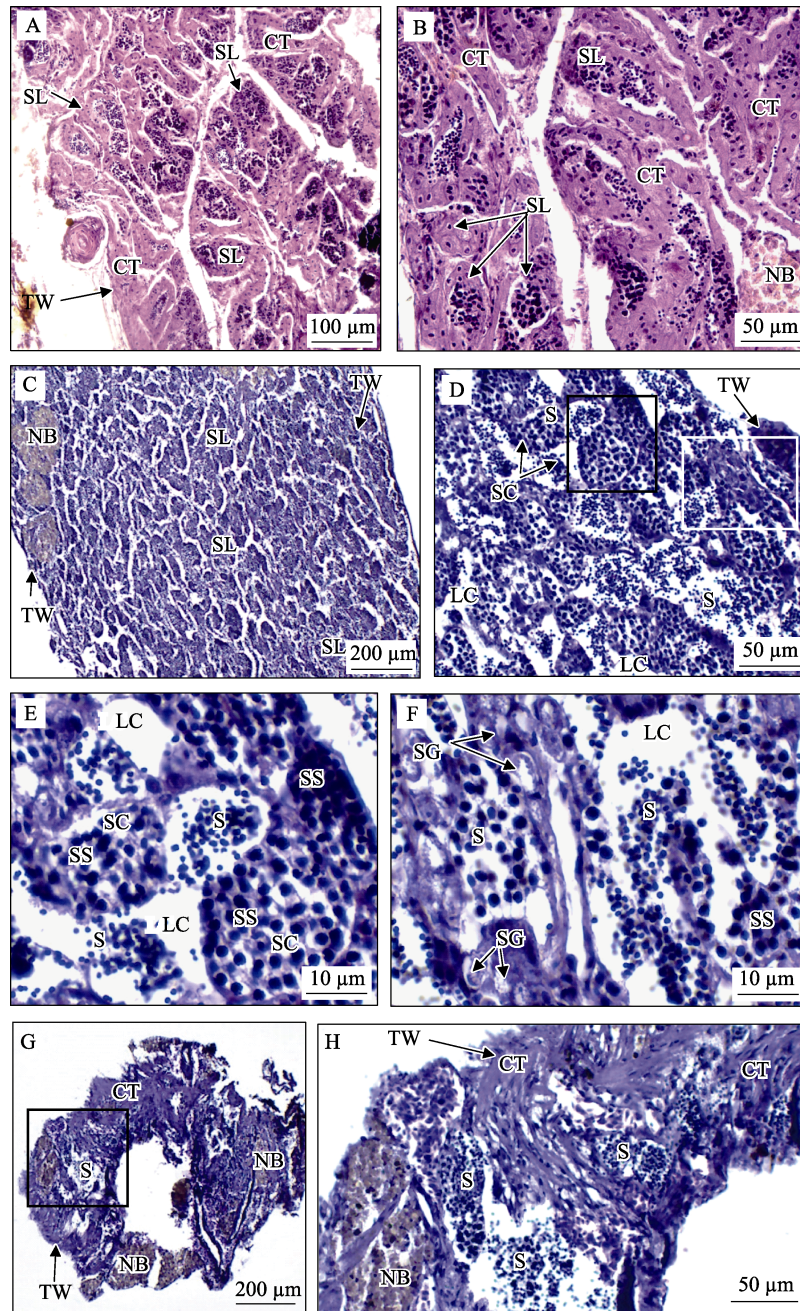


图 4 福氏刺尻鱼纯雄鱼精巢的组织结构

A-B. 福氏刺尻鱼配对 3 周后精巢组织结构图, 示精小叶(SL)和精小囊(SC), 其中 B 为 A 图中方框区域放大图; C-F. 福氏刺尻鱼配对 4 周后成熟期精巢组织结构图, 示大量精小叶(SL)、成熟精子(S)、精小囊(SC)、精原细胞(SG)和次级精母细胞(SS), 其中 E 为 D 图中黑色方框区域放大图, F 为 D 图中白色方框区域放大图; G-H. 福氏刺尻鱼精巢后球组织结构图, 示增厚的精巢壁(TW)、成熟精子(S)及营养体(NB), 其中 H 为 G 图中方框区域放大图。CT: 结缔组织; LC: 精小叶腔; NB: 营养体; S: 成熟精子; SC: 精小囊; SG: 精原细胞; SL: 精小叶; SS: 次级精母细胞; TW: 精巢壁。

Fig. 4 Histological structure of testis in male *Centropyge vrolikii*

A-B. Histological structure of early testis in *C. vrolikii* after pair for 3 weeks, showing seminiferous lobules (SL) and spermatogenic cysts (SC), and B is the magnified region located in square frame of figure A; C-F. Histological structure of mature testis in *C. vrolikii* after pair for 4 weeks, showing a large number of seminiferous lobules (SL), mature spermatozoa (S), spermatogenic cysts (SC), spermatogonia (SG) and secondary spermatocyte (SS), and E is the magnified region located in black square frame of figure D; F is the magnified region located in white square frame of figure D; G-H. Histological structure of back ball of testis in *C. vrolikii*, showing the thickened testicular wall (TW), mature sperm (S) and nutrient body (NB), and H is the magnified region located in square frame of figure G. CT: connective tissue; LC: lobular cavity; NB: nutrient body; S: mature sperm; SC: spermatogenic cysts; SG: spermatogonia; SL: seminiferous lobules; SS: secondary spermatocyte; TW: testicular wall.

鱼类性逆转是一个复杂的生理变化过程,持续的时间也因种而异,可能几天,也可能持续几个月。例如虾虎鱼(*Priolepis cinct*)由雌变雄的性逆转只需 10 d^[26],而双色光鳃鱼(*Labroides dimidiatus*)由雄变雌的性逆转需要近 2 个月^[27]。性逆转持续时间还与逆转方向有关,例如虾虎鱼无论是由雌变雄还是由雄变雌,所需的时间基本一致^[26];而隆头鱼科和刺盖鱼科等鱼类由雄变雌需要的时间要远多于由雌变雄,如双色光鳃鱼由雌变雄仅需 14~18 d,而由雄变雌则需 53~77 d^[28]。福氏刺尻鱼属于刺盖鱼科,其性逆转所需时间与双色光鳃鱼^[27]相近,但只发现一个逆转方向,即由雌变雄,所需的时间约 2 周(图 1)。大量研究表明,这种性逆转时间的差异与性激素(睾酮和雌二醇)密切相关^[26, 28-30]。福氏刺尻鱼性逆转过程中性激素的变化有待进一步深入研究,以解析其性逆转调控机制。

3.3 性逆转鱼类的性腺发育特点

与众多性逆转鱼类一样^[4-8],福氏刺尻鱼性腺分为 3 种类型,即卵巢、兼性期性腺和精巢(图 2)。其中雌鱼性腺为卵巢,所含生殖细胞全部为雌性(图 2);性逆转过程中兼性期性腺内则含有雌雄两类生殖细胞(图 3);性逆转后的功能性雄鱼性腺为精巢,所含生殖细胞全部为雄性(图 4)。性逆转后的雄性化青鳉(*Oryzias latipes*)精巢内也未发现卵母细胞的存在^[31],雄性先熟的双锯鱼属鱼类性逆转后的雌鱼中也只有卵巢组织^[32-33],黑鲷、黄鳍鲷性逆转后的成熟雌鱼性腺中也没明显的精巢组织^[4, 20]。然而有些性逆转鱼类的性腺中经常两种生殖细胞共存。例如石斑鱼雌鱼成熟卵巢中存在着造精组织,性逆转后的雄鱼成熟精巢内也存在萎缩、退化的卵母细胞^[7, 18];黑鲷成熟雄鱼性腺中也有卵巢组织的存在^[4, 19];中华乌塘鳢(*Bostrychus sinensis*)精巢始终存在两性嵌合体^[34];双锯鱼属鱼类性逆转前的雄鱼中始终有精巢和卵巢组织并存^[32-33],而克氏双锯鱼性逆转为雌鱼后,其性腺中仍有精原细胞存在,保持了双向转变的潜能^[8]。

此外,还有很多研究表明,性逆转鱼类的性腺内的生殖细胞和体细胞长期保持双性分化的潜

能^[35-37]。如尼罗罗非鱼、斑马鱼由雌变雄的过程中,卵巢内的生殖细胞和体细胞始终保持双向分化能力^[24-25]。虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)精巢的生殖细胞甚至在成熟期都保持双性潜能^[38]。性腺中生殖细胞和体细胞具有的这种双性分化能力是其双向性逆转的重要基础和保障。福氏刺尻鱼纯精巢和卵巢中均未发现双性细胞共存(图 2, 图 4),这可能是其由雌向雄单向逆转的原因。

3.4 鱼类性逆转的诱导

鱼类性逆转受遗传、激素和环境因子等的共同影响^[8-14]。目前研究最多的影响性逆转的环境因子是温度,激素是雌激素(雌二醇)和雄激素(睾酮)。研究表明,许多鱼类属于温度依赖型性性别决定(temperature-dependent sex determination, TSD),不同温度能够诱导鱼类向雄性或雌性分化,还能促进性逆转的发生^[13-14, 39]。雌性先熟型的石斑鱼,属于类固醇激素依赖型性别决定,外源雄性类固醇激素能诱导多种石斑鱼发生性逆转^[7, 9]。雌激素在雌雄同体鱼类卵巢分化和性别转变中具有更加重要的作用,高水平的雌激素能够维持卵巢组织的存在或诱导精巢向卵巢转变^[10, 40-41],极低水平的雌激素则会促进精巢的分化^[8]。在诱导雌鱼雄性化的过程中,降低雌激素水平比升高雄激素水平更加有效^[8, 42]。此外,芳香化酶抑制剂(aromatase inhibitors, AIs)具有抑制芳香化酶活性、阻止 17 β -雌激素生成的作用,也被广泛用于诱导雌鱼的雄性化,如斑马鱼^[10]、点篮子鱼(*Siganus guttatus*)^[11]、克氏双锯鱼^[8]等。

环境和族群地位对珊瑚礁鱼类性别转变的时间和方向有着极大的影响^[43],雌雄性激素的平衡水平也是鱼类性腺分化和转变的重要因素^[3, 13]。福氏刺尻鱼为雌性先熟型珊瑚礁鱼类,性腺全部优先雌性化发育,在雄性化性逆转诱导过程中,未采用特殊诱导条件,仅按照 1 大 1 小进行成功配对后,大个体雌鱼即自发进行雄性化,最终转变为功能性雄鱼。据此推测,福氏刺尻鱼作为天然性逆转的鱼类,其性腺发育及性逆转除遗传因素外,可能主要受性激素的调控,激素平衡首先趋向于雌性化发育,然后通过族群内同种间的相互作用,诱发优势雌鱼体内雌激素水平降低,雄

激素水平上升, 从而导致雄性化的性逆转。福氏刺尻鱼性逆转诱导条件、环境因子影响效应及诱导机制有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Devlin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influences[J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3-4): 191-364.
- [2] Kobayashi Y, Nagahama Y, Nakamura M. Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes[J]. *Sexual Development*, 2013, 7(1-3): 115-125.
- [3] Frisch A. Sex-change and gonadal steroids in sequentially-hermaphroditic teleost fish[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2004, 14(4): 481-499.
- [4] Chen S Y, Zhang Z Y, Liu H L, et al. Histological observation of sex change in the cultivated black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Marine Sciences*, 2017, 41(7): 51-58. [陈淑吟, 张志勇, 刘海林, 等. 池养黑鲷性逆转组织学观察[J]. *海洋科学*, 2017, 41(7): 51-58.]
- [5] Chen L L, Xiao Y M, Liu Y. A report about the new development of gonad in *Monopterus albus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(5): 621-624. [陈丽莉, 肖亚梅, 刘筠. 黄鳝一种新的生殖腺发育状况报道[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(5): 621-624.]
- [6] Zhang J J, Hu Q, Guan X M, et al. Feminization induction and hermaphroditism of northern pike (*Esox lucius*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(4): 557-564. [张俊杰, 胡琼, 管潇萌, 等. 白斑狗鱼雌性化诱导和雌雄同体现象[J]. *水产学报*, 2018, 42(4): 557-564.]
- [7] Zou J X, Tao Y B, Xiang W Z, et al. Histological evidence and mechanism in artificial inducement of sex reversal of the grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *High Technology Letters*, 2003, 13(6): 81-86. [邹记兴, 陶友宝, 向文洲, 等. 人工诱导点带石斑鱼性逆转的组织学证据及其机制探讨[J]. *高技术通讯*, 2003, 13(6): 81-86.]
- [8] Nakamura M, Miura S, Nozu R, et al. Opposite-directional sex change in functional female protandrous anemonefish, *Amphiprion clarkii*: Effect of aromatase inhibitor on the ovarian tissue[J]. *Zoological Letters*, 2015, 1: 30.
- [9] Lee S T L, Kime D E, Chao T M, et al. In vitro metabolism of testosterone by gonads of the grouper (*Epinephelus tauvina*) before and after sex inversion with 17 α -methyltestosterone[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1995, 99(1): 41-49.
- [10] Fenske M, Maack G, Schäfers C, et al. An environmentally relevant concentration of estrogen induces arrest of male gonad development in zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(5): 1088-1098.
- [11] Komatsu T, Nakamura S, Nakamura M. Masculinization of female golden rabbitfish *Siganus guttatus* using an aromatase inhibitor treatment during sex differentiation[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2006, 143(4): 402-409.
- [12] Senior A M, Nakagawa S. A comparative analysis of chemically induced sex reversal in teleosts: Challenging conventional suppositions[J]. *Fish and Fisheries*, 2013, 14(1): 60-76.
- [13] Sato T, Endo T, Yamahira K, et al. Induction of female-to-male sex reversal by high temperature treatment in medaka, *Oryzias latipes*[J]. *Zoological Science*, 2005, 22(9): 985-988.
- [14] Hattori R S, Gould R J, Fujioka T, et al. Temperature-dependent sex determination in Hd-rR medaka *Oryzias latipes*: Gender sensitivity, thermal threshold, critical period, and *DMRT1* expression profile[J]. *Sexual Development*, 2007, 1(2): 138-146.
- [15] Li S W, Wen J J, Liu S G, et al. Cloning and characterization of a sex-reversal-related gene ECaM in *Epinephelus akaara* gonads[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2005, 32(2): 147-153. [李尚伟, 文建军, 刘世贵, 等. 石斑鱼性反转相关基因 ECaM 的克隆及表达特征分析[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(2): 147-153.]
- [16] Munday P L, Kuwamura T, Kroon F J. Bidirectional sex change in marine fishes[M]//*Reproduction and Sexuality in Marine Fishes Patterns and Processes*. California: University of California Press, 2010: 240-271.
- [17] [Shi Z H, Wang J G, Gao L J, et al. Preliminary study on gonad development of Yellow Sea bream, *Dentex tumifrons*, in South China Sea[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2006, 25(3): 353-359. [施兆鸿, 王建国, 高露姣, 等. 南海黄鲷性腺发育的初步研究[J]. *台湾海峡*, 2006, 25(3): 353-359.]
- [18] Xing C G, Jin S, Yuan S P. Sex reversal of grouper (*Epinephelus* sp.)[J]. *Fisheries Science*, 2006, 25(4): 214-216. [邢晨光, 金珊, 袁思平. 石斑鱼性逆转研究现状[J]. *水产科学*, 2006, 25(4): 214-216.]
- [19] Chang C F, Lee M F, Chen G R. Estradiol-17 β associated with the sex reversal in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1994, 268(1): 53-58.
- [20] Hong W S, Zhang Q Y, Zheng J F, et al. Studies on gonadal development and sex inversion of yellowfin seabream (*Sparus latus*)[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*,

- 1991, 10(3): 221-228. [洪万树, 张其永, 郑建峰, 等. 港养黄鳍鲷性腺发育和性转变研究[J]. 台湾海峡, 1991, 10(3): 221-228.]
- [21] Bell J. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish[J]. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1998, 2(1): 43-44.
- [22] Le Page Y, Diotel N, Vaillant C, et al. Aromatase, brain sexualization and plasticity: The fish paradigm[J]. *European Journal of Neuroscience*, 2010, 32(12): 2105-2115.
- [23] Iwata E, Mikami K, Jun M B, et al. Social interaction influences blood cortisol values and brain aromatase genes in the protandrous false clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*[J]. *Zoological Science*, 2012, 29(12): 849-855.
- [24] Paul-Prasanth B, Bhandari R K, Kobayashi T, et al. Estrogen oversees the maintenance of the female genetic program in terminally differentiated gonochorists[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 2862.
- [25] Takatsu K, Miyaoku K, Roy S R, et al. Induction of female-to-male sex change in adult zebrafish by aromatase inhibitor treatment[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 3400.
- [26] Yamaguchi S. Time required for sex change in teleost fishes: Hormonal dynamics shaped by selection[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2016, 407: 339-348.
- [27] Kuwamura T, Tanaka N, Nakashima Y, et al. Reversed sex-change in the protogynous reef fish *Labroides dimidiatus*[J]. *Ethology*, 2002, 108(5): 443-450.
- [28] Li G L, Liu X C, Lin H R. Effects of 17 α -methyltestosterone on sex reversal in red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006(2): 145-150. [李广丽, 刘晓春, 林浩然. 17 α -甲基睾酮对赤点石斑鱼性逆转的影响[J]. 水产学报, 2006(2): 145-150.]
- [29] Kroon F J, Munday P L, Westcott D A, et al. Aromatase pathway mediates sex change in each direction[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005, 272(1570): 1399-1405.
- [30] Nakamura M, Bhandari R K, Higa M. The role estrogens play in sex differentiation and sex changes of fish[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, 28(1-4): 113-117.
- [31] Song L L, Wang X J, Song J K. Effects of ocean acidification on the sexual differentiation of marine medaka *Oryzias melastigma*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(1): 29-36. [宋露露, 王晓杰, 宋佳坤. 海洋酸化对海水青鳉性别分化的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(1): 29-36.]
- [32] Godwin J. Historical aspects of protandrous sex change in the anemonefish *Amphiprion melanopus* (Pomacentridae, Teleostei)[J]. *Journal of Zoology*, 1994, 232(2): 199-213.
- [33] Nakamura M, Mariko T, Nagahama Y. Ultrastructure and *in vitro* steroidogenesis of the gonads in the protandrous anemonefish *Amphiprion frenatus*[J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1994, 41(1): 47-56.
- [34] Jiang H X, You Y L, Lin D J, et al. Observation on the testicular morpha and structure of Chinese ocellated gudgeon, *Bostrichthys sinensis*[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2004, 33(1): 89-93. [江寰新, 尤永隆, 林丹军, 等. 中华乌塘鳢鱼精巢的形态结构观察[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2004, 33(1): 89-93.]
- [35] Kuwamura T, Suzuki S, Kadota T. Reversed sex change by widowed males in polygynous and protogynous fishes: Female removal experiments in the field[J]. *Naturwissenschaften*, 2011, 98(12): 1041-1048.
- [36] Manabe H, Toyoda K, Nagamoto K, et al. Bidirectional sex change in seven species of *Priolepis* (Actinopterygii: Gobiidae)[J]. *Bulletin of Marine Science*, 2013, 89(2): 635-642.
- [37] Munday P L, Caley M J, Jones G P. Bi-directional sex change in a coral-dwelling goby[J]. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1998, 43(6): 371-377.
- [38] Okutsu T, Suzuki K, Takeuchi Y, et al. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(8): 2725-2729.
- [39] Grossen C, Neuenschwander S, Perrin N. Temperature-dependent turnovers in sex-determination mechanisms: A quantitative model[J]. *Evolution*, 2011, 65(1): 64-78.
- [40] Higa M, Ogasawara K, Sakaguchi A, et al. Role of steroid hormones in sex change of protogynous wrasse[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, 28(1-4): 149-150.
- [41] Miura S, Kobayashi Y, Bhandari R K, et al. Estrogen favors the differentiation of ovarian tissues in the ambisexual gonads of anemonefish *Amphiprion clarkii*[J]. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 2013, 319(10): 560-568.
- [42] Alam M A, Bhandari R K, Kobayashi Y, et al. Changes in androgen-producing cell size and circulating 11-ketotestosterone level during female-male sex change of honeycomb grouper *Epinephelus merra*[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2006, 73(2): 206-214.
- [43] Ross R M. The evolution of sex-change mechanisms in fishes[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1990, 29(2): 81-93.

Pairing induction and histological observation of sexual reversion in *Centropyge vrolikii*

AO Lulu¹, ZHAO Liping², WANG Shuhong¹, ZHONG Zhaowei¹, HONG Wenting¹, LONG Wenbin¹, JIANG Yonghua¹

1. Fisheries College, Jimei University; Key Laboratory of Healthy Mariculture for East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Xiamen 361021, China;
2. Animal Scientific College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Abstract: As one of the most important marine ornamental fish, *Centropyge vrolikii* is a protogynous hermaphrodite with a natural sexual reversion. Under appropriate social conditions, a female fish can transform into a male fish spontaneously. It is an important prerequisite for artificial breeding to understand the process of its gonadal development and sexual reversion. In this paper, sexual reversion was induced by artificial pairing, and the process of sexual reversion and gonadal development were studied using morphological and histological methods. The results showed that the gonads of *C. vrolikii* could be divided into three types: pure female with ovaries, pure male with testes, and ♀/♂ bisexual. The gonads differentiate into those of females with pure ovaries at first; then sexual reversion occurs in stage II ovaries. The ovaries of a large female fish stop developing and atrophy gradually occurs in stage II after pairing induction for 1–2 weeks by one big and one small pair. At the same time, male germ cells are gradually differentiated from the ovarian wall and the oviposition plate; and female and male germ cells coexist in the gonad, forming a bisexual gonad of the hermaphrodite stage. After three weeks of pairing induction, the bisexual gonad differentiates into early testes entirely, indicating that the female has completed sexual reversion and has become a functional male. After four weeks of pairing induction, the testes of sexually-reverted males and the ovaries of small females mature and start spawning and spermiation. The relationship between total length, body mass, and sexual reversion was also analyzed, and the process, characteristics, and possible induction mechanisms of sexual reversion have been discussed. The results will provide theoretical guidance for artificial breeding and sex control technologies in *C. vrolikii*, and lay the necessary groundwork for further research on the mechanisms of gonadal development and sexual reversion in *C. vrolikii*, and enrich our understanding of hermaphroditic coral fishes.

Key words: *Centropyge vrolikii*; pairing induction; histology; sexual reversion

Corresponding author: JIANG Yonghua. E-mail: yhjiang1974@jmu.edu.cn