

17 β -雌二醇对雄性剑尾鱼精巢和肝发育的影响

温茹淑^① 钟燕婷^② 方展强^② 张再旺^②

① 嘉应学院生命科学学院 广东 梅州 514015; ② 华南师范大学生命科学学院 广州 510631

摘要: 用组织学的方法研究了 50 $\mu\text{g/L}$ 17 β -雌二醇(E_2) 持续 50 d 暴露对剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*) 精巢和肝组织结构变化的影响。结果显示, 剑尾鱼受 E_2 暴露后, 精巢内的精小囊数量减少, 精原细胞发育停滞, 精子数量稀少甚至没有; 肝细胞胞质内出现脂肪空泡和脂肪沉积等脂肪肝症状。结果表明, E_2 具强雌激素效应, 对剑尾鱼精巢和肝组织的损伤具有时间效应, 随着暴露时间延长其损伤更严重, 但都在其耐受范围之内, 未造成鱼体的死亡。精巢组织结构损伤可作为检测水环境雌激素污染生物标记。

关键词: 17 β -雌二醇; 精巢; 肝; 剑尾鱼

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)02-174-08

Effects of 17 β -estradiol on the Development of the Testis and Liver in Male Swordtail Fish (*Xiphophorus helleri*)

WEN Ru-Shu^① ZHONG Yan-Ting^② FANF Zhan-Qiang^② ZHANG Zai-Wang^②

① College of Life Science, Jiaying University, Meizhou, Guangdong 514015

② College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

Abstract: The histological structural changes in the testis and liver tissues of the swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) exposed to 50 $\mu\text{g/L}$ 17 β -estradiol (E_2) for 50 days were investigated. The results showed that, after exposure to E_2 , the number of spermatogonia was reduced, the growth and development of spermatogonia were stagnated, and the number of sperm was decreased. The liver cells exhibited fat vacuoles and fat deposition, indicative of fatty liver symptoms. The results indicated that E_2 had strong estrogenic effects. The extent of testis and liver tissue damage changed with E_2 exposure time. The longer the exposure, the more serious the damage was. But the damage was still within the tolerance of the fish, without causing its death. Therefore, E_2 exposure damage to the testis structure can be used as a histological biomarker for detection of environmental estrogens.

Key words: 17 β -estradiol; Testis; Liver; *Xiphophorus helleri*

剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*) 隶属于鲈形目花鲈科(Poeciliidae) 胎鲈属。是一种热带观赏鱼类, 其体型小, 繁殖周期短, 易饲养, 可在实验室条件下进行纯化培养。珠江水产研究所把剑尾鱼作为实验动物, 对其繁殖(黄先洲 2002)、饲养(石存斌等 1994)、遗传(李霞等 2003) 及相关的生物学特性(黄志斌等 2000) 等方面开展了研究。近年来利用剑尾鱼开展水生毒理学方面的研究也有报道(Han et al. 2010, 韩建等 2010)。由于对某些农药、重金属敏感, 近年来

剑尾鱼已作为水环境污染“活检测器”的理想实验鱼。

近年来, 环境雌激素已成为生态毒理研究领域的热门话题, 17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E_2) 是诸多环境雌激素中对环境影响最大的一

基金项目 广东省科技计划项目(No. 2012B030800006);

第一作者介绍 温茹淑, 女, 副教授; 研究方向: 水生生态毒理;

E-mail: wrs@jyu.edu.cn。

收稿日期: 2012-08-12, 修回日期: 2013-01-09

种,普遍存在于各类环境,特别是水环境中。 E_2 对生物的危害,以水生生物的报道居多,在鱼类主要影响雄鱼的性腺发育和诱导产生卵黄蛋白原(vitellogenin, Vtg),因此雄鱼性腺发育观察和雄鱼卵黄蛋白原检测是环境雌激素生物标记物检测中较为常用的指标(邴欣等 2004,温茹淑等 2007,2008)。同时,实验室暴露试验结果还表明,一定量的雌激素类物质会引起雄鱼肾的严重病变(马陶武等 2004),因此环境雌激素对雄鱼各个器官的发育可能都有影响。本文研究了 E_2 对雄性剑尾鱼的精巢、肝组织结构变化的影响,以期对环境雌激素污染的检测及环境风险评估提供有参考价值的数据和资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料 17 β -雌二醇购自 sigma 公司。实验用的剑尾鱼由珠江水产研究所李凯彬工程师惠赠,是珠江水产研究所同批孵化的性成熟雄性个体,实验鱼健壮,体长为(4.35 \pm 0.50) cm,体重为(1.6 \pm 0.6) g。实验鱼驯养 2 d 后再进行实验。实验在长 \times 宽 \times 高为 45 cm \times 30 cm \times 25 cm 的水族箱中进行,每一水族箱中加入 20 L 的药液。实验用水为连续曝气 24 h 的自来水,水温(25 \pm 2) $^{\circ}$ C, pH 为 6.8,硬度为 2.4 度(德国度)。每天投喂 2 次,每组均用同样管径的气头连续充气。

1.2 暴露实验 E_2 对剑尾鱼暴露实验采用水体暴露的方法进行,实验设 1 个空白对照组、1 个溶剂对照组和 1 个 50 μ g/L E_2 的实验组,并设平行组,每组投入雄性剑尾鱼 10 尾,暴露实验持续 50 d。 E_2 先用丙酮溶解配成 1 g/L 的母液,每次换水时按比例将母液加入水中;溶剂对照组加入同等体积的丙酮。每 2 d 更换一半实验液。在处理第 20 d、50 d 分别从各水族箱中取出实验鱼,测量体长、体重,然后用镊子尖端刺入剑尾鱼的大脑并轻轻地搅动将鱼处死,取出其精巢、肝组织,放入冰冷的生理盐水中洗净血迹。然后迅速放入作好标记的 Bouin's 液中,用于石蜡切片的制作。

1.3 组织切片制作 将雄性剑尾鱼的精巢和

肝组织用 Bouin's 液固定 24 h 后用体积分数 70% 乙醇冲洗,各级乙醇脱水,石蜡包埋,切片厚度 7 μ m,精巢的切片方向是横切,肝的切片方向是随机的,均进行连续切片。经苏木精-伊红(H. E)染色,中性树胶封藏后置 Olympus BX45-32P02 光学显微镜观察并用尼康数码相机拍照。

2 结果

暴露实验期间,实验组及空白对照组、溶剂对照组的雄性剑尾鱼均未发死亡现象,游动活泼,食欲正常,说明 50 μ g/L E_2 对剑尾鱼无急性毒性效应。体长、体重测量结果显示,实验鱼较暴露前无显著性差异。

2.1 E_2 对剑尾鱼精巢组织结构的影响 对照组性成熟剑尾鱼的精巢呈两条索状,属于小管型精巢,精巢内分布许多不同发育时期的精小囊(cyst)(图版 I:1,2),精小囊壁由小囊基膜和支持细胞构成(图版 I:3)。从精子发生到精子形成,精小囊逐渐向中央腔方向移动,按照初级精原细胞(primary spermatogonium, SG1) \rightarrow 次级精原细胞(secondary spermatogonium, SG2) \rightarrow 初级精母细胞(primary spermatocyte, SC1) \rightarrow 次级精母细胞(second spermatocyte, SC2) \rightarrow 精子细胞(spermatid, ST) \rightarrow 成熟精子(mature sperm, SP)的发育规律排列在外层固有膜和中央腔之间(图版 I:1)。精子发育全过程在精小囊中完成,含精原细胞的精小囊仅局限于固有膜内侧,成熟的精子形成精子束(sperm bundle, SZ)(图版 I:3),最后被释放到与输精管相连接的输精小管中央腔内(图版 I:4)。溶剂对照组与空白对照组相比,雄性剑尾鱼精巢结构未见变化。

与对照组相比, E_2 暴露 20 d 的精巢内精小囊的数量减少且不按照精子的发育规律排布,可观察到大部分为 ST、SP 和 SZ 期的精小囊,SC1 和 SC2 期的精小囊数量少(图版 I:5)。在固有膜周围有大量的 SG1 精小囊聚集(图版 I:6)。精小囊基膜增生变厚,部分精小囊中的细胞出现消退的现象,出现了坏死细胞和非细胞成分,精子在精子束内的排列比较不规则,精

子细胞数量与对照组相比密度较小(图版 I:7)。在中央腔仅有少量的精子,精子束较少甚至没有(图版 I:8)。

与对照组相比, E_2 暴露 50 d 的精巢内精小囊数量很少(图版 I:9),甚至不存在精小囊(图版 I:10),仅有的少数精小囊发育也不正常。精小囊内几乎不存在精原细胞、精母细胞或者精子细胞,囊内出现空泡,精小囊基膜增生,精小囊中的细胞聚集在一起凝结成块状(图版 I:11),中央腔的精子束较少,大部分精子无规律地游离在中央腔,不形成精子束(图版 I:12),中央腔中的精子很多都已坏死,甚至存在中央腔几乎不存在精子的现象(图版 I:10)。

2.2 E_2 对剑尾鱼肝组织结构的影响 剑尾鱼肝是一个实心腺体,外包的结缔组织膜伸入到肝实质内,将其分割为众多的肝小叶。肝小叶是由许多排列紧密的肝细胞构成,高倍镜下观察,肝细胞呈近圆形,形状较规则,细胞界线清晰,紧密排列,细胞之间间隙小;具单个细胞核,位于细胞中央,细胞核大,多为圆形或椭圆形,核仁明显(图版 II:1)。肝小叶间以中央静脉为中心,形成放射状排列的肝板结构。中央静脉壁薄,管腔大,呈不规则形状,腔内充满红细胞(图版 II:2)。剑尾鱼的胰散在分布于肝里面。肝组织中可见分布的胰腺组织(图版 II:3)和血管(图版 II:2)。溶剂对照组与空白对照组相比,雄性剑尾鱼肝结构未见变化。

与对照组相比, E_2 暴露 20 d 可观察到剑尾鱼肝组织中肝细胞肿大,且排列不规则。肝细胞胞质内充满圆形或卵圆形的空泡,大小不一,致使细胞呈网格状,大部分细胞核因被挤压而偏离中心,被挤至细胞边缘,小部分细胞核悬浮其中,严重的细胞核溶解消失(图版 II:4)。在细胞溶解和核溶解的部位出现坏死,细胞质中可见少量脂沉积,细胞间质明显增加,细胞之间间隙明显变大。可观察到肝组织中的有些血管里的血细胞数量减少,部分血管周边的肝细胞变化较为明显(图版 II:5)。胰细胞萎缩变形,细胞间隙加大(图版 II:6)。 E_2 暴露 50 d 可观察到剑尾鱼肝细胞明显肿大,细胞明显大小

不一,排列很不规则。肝细胞空泡仍然存在,但较暴露 20 d 的小,细胞内可见大量脂肪沉积,细胞呈网格状,细胞之间界限不清晰,大部分核溶解或萎缩变形,并偏离中心,细胞间质明显增加(图版 II:7)。部分肝细胞在细胞溶解和核溶解的部位出现坏死(图版 II:8)。肝组织的部分血管内的血细胞数量减少(图版 II:8)。胰也存在脂肪沉积,甚至出现脂肪团(图版 II:9)。

3 讨论

17 β -雌二醇(E_2)是一种常见的天然雌激素,在动物和人体内合成。 E_2 与雌激素受体结合,作用于 DNA 中的雌激素反应元件而激活基因的转录,产生雌激素效应,在水中低浓度(低至 1.0 ng/L 的 E_2)长期暴露能引起活体生物的雌激素效应(Purdom et al. 1994, Routledge et al. 1998)。 E_2 对水生生物的毒害作用的研究主要集中在对其生殖系统的毒害作用,如 E_2 对鱼类性腺发育的影响(李洁斐等 2006, 温茹淑等 2008),诱导鱼类卵黄原蛋白的产生(邴欣等 2004, 温茹淑等 2007),对鱼类的生长发育的影响(赵宝全等 2005, 温茹淑等 2008, 张晓彦等 2009)等已有不少报道。同时雌激素类物质对组织结构也有一定的影响,马陶武等(2004)研究了 17- α -乙炔基雌二醇(17- α -ethinylestradio, EE_2)对稀有鲫(*Grobicypris rarus*)肾的慢性毒性效应,结果表明 EE_2 引起肾组织明显损伤,且有明显的剂量效应。 E_2 可通过食物链在生态系统内进行生物富集,并最终在机体脂肪组织蓄积,从而形成长期毒害(谢国建等 2008)。本实验结果表明,在 E_2 的暴露下,剑尾鱼精巢、肝的组织结构表现明显的病理特征;同时具有时间效应,暴露时间越长,组织结构的损伤越严重。

对照组剑尾鱼精巢内很许多不同发育时期的精小囊按照发育规律排列在外层固有膜和中央腔之间,50 μ g/L E_2 暴露 20 d 精巢内精小囊的数量减少,SG2、SC1 和 SC2 期的精小囊稀少。是因为精原细胞停止发育,停滞在初级精

原细胞阶段,而暴露前处于 SC1 和 SC2 期的精小囊继续发育为 ST 和 SP 期的精小囊, E_2 暴露 50 d 的剑尾鱼精巢内精小囊数量很少,甚至不存在精小囊,中央腔的精子束较少,大部精子无规律的游离在中央腔,甚至中央腔几乎不存在精子的现象。Kinnberg et al. (2003)报道了 E_2 的暴露阻止了孔雀鱼 (*Poecilia reticulata*) 精巢内的精原细胞发育,仅见精子束未见发育早期的精小囊。温茹淑等 (2008) 报道了 E_2 对唐鱼 (*Tanichthys albonubes*) 精巢结构的影响,1 $\mu\text{g/L}$ E_2 暴露组成熟精子数量明显少于对照组,10 $\mu\text{g/L}$ E_2 暴露组精巢囊内未见有发育成熟的精子。Olsson et al. (1999) 还发现在 E_2 处理的鱼性腺受到一些影响,精巢在一定程度上不产生精子。这与本文研究相一致。 E_2 暴露使雄性剑尾鱼产生卵黄蛋白原 (温茹淑等 2007, 李建寅等 2009) 可作为环境雌激素对鱼类生殖毒性的大分子物质生物标志物, E_2 暴露造成雄性剑尾鱼精巢发育不正常,成熟精子数量减少则可认为是检测环境雌激素的组织学上的生物学标记。

正常剑尾鱼肝细胞排列规则,细胞质匀,无空泡现象;50 $\mu\text{g/L}$ E_2 暴露 20 d 和 50 d 均对剑尾鱼的肝产生了一定的损伤。对照病理特征,暴露组雄鱼所出现的症状属于肝脂肪变性,即脂肪肝。而且随着暴露时间的延长,肝脂肪变性的程度加深。但整个暴露实验过程未出现死鱼的现象,因此虽然本实验中剑尾鱼肝受到了严重的破坏,但未超出肝的承受范围。由于外源雌激素的影响下,鱼类内分泌系统受到干扰,研究表明经 E_2 暴露后,雌、雄成年剑尾鱼及幼鱼的肝有大量的卵黄蛋白原表达 (李建寅等 2009)。由于 Vitg 在肝中大量存在,或者异常存在,影响了脂肪代谢,造成脂蛋白的形成和输出障碍,从而在细胞内积聚了大量的甘油三酯,形成脂沉积。硫酸铜 (常藕琴等 2005)、林丹 (明玺等 2006)、溴氰菊酯 (庞世勋等 2004)、多氯联苯 (porychlrorinated biphenyls, PCBs) (张凤君等 2001)、双酚 A (bisphenol A, BPA) (曹娜等 2010) 等对鱼类的毒性作用研究表明,鱼类的

肝组织结构均出现细胞肿大,核萎缩,产生空泡变性及脂肪沉积的现象,这与本研究所观察的肝组织变化一致,但机理不尽相同。

整个暴露实验过程未出现死鱼的现象,因此虽然本实验中剑尾鱼精巢、肝组织受到了严重的破坏,但未超出机体的承受范围。根据作者前期研究及相关的报道表明 EE_2 、 E_2 及其他的雌激素只需在低剂量下就会对鱼类有生殖毒性效应,同时没有明显的毒性迹象发生,从而可能被轻易忽略。与其他的有毒化合物相比,这更令人担忧。

参 考 文 献

- Han J, Fang Z Q. 2010. Estrogenic effects, reproductive impairment and developmental toxicity in ovoviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) exposed to Perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Aquatic Toxicology*, 99 (2): 281 - 290.
- Kinnberg K, Toft G. 2003. Effects of estrogenic and antiandrogenic compounds on the testis structure of the adult guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(1): 16 - 24.
- Olsson P E, Westerlund L, Teh S J, et al. 1999. Effects of maternal exposure to estrogen and PCB on different life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ambio*, 28(1): 100 - 106.
- Purdum C E, Hardiman P A, Bye V V J, et al. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology*, 8(4): 275 - 285.
- Routledge E J, Sheahan D, Desbrow C, et al. 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. *In vivo* responses in trout and roach. *Environmental Science & Technology*, 32(11): 1559 - 1565.
- 邴欣, 汝少国, Isoda H, 等. 2004. 17 β -雌二醇对雄性金鱼卵黄蛋白原的诱导作用. *水产学报*, 28(3): 236 - 240.
- 曹娜, 魏华, 吴陵广, 等. 2010. 双酚 A 对斑马鱼肝脏和性腺的作用. *生态学杂志*, 29(11): 2192 - 2198.
- 常藕琴, 石存斌, 潘厚军, 等. 2005. 剑尾鱼硫酸铜急性中毒的病理学研究. *动物医学进展*, 26(7): 82 - 85.
- 韩建, 许言, 余逸敏, 薛丽娜, 等. 2010. 17 α -甲基睾酮对剑尾鱼的影响. *中国实验动物学报*, 18(6): 484 - 488.
- 黄先洲. 2002. 剑尾鱼的生活习性及其人工繁育. *水产科技情报*, 29(5): 237.
- 黄志斌, 吴淑勤, 石存斌, 等. 2000. 剑尾鱼的若干生物学特性研究. *中国水产科学*, 7(3): 107 - 109.
- 李建寅, 李凯彬, 刘春, 等. 2009. 卵黄蛋白原在剑尾鱼体内

- 不同组织的分布及雌激素作用对其表达的影响. 中国水产科学, 16(5): 705-709.
- 李洁斐, 李卫华, 杨健, 等. 2006. 17- α 炔雌醇对斑马鱼的卵黄蛋白原及性腺发育的影响. 毒理学杂志, 20(1): 9-13.
- 李霞, 吴淑勤, 白俊杰. 2003. 剑尾鱼近交系遗传纯度的 RAPD 分析. 中国实验动物学报, 11(1): 1-4.
- 马陶武, 王子健, 陈剑锋, 等. 2004. 乙炔基雌二醇对稀有鲫肾脏的毒性效应. 环境科学学报, 24(3): 487-491.
- 明玺, 吴玲玲, 陈玲, 等. 2006. 林丹短期暴露下的斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 组织学变化. 生态毒理学报, 1(3): 243-248.
- 庞世勋, 魏泰莉, 赖子尼, 等. 2004. 三种菊酯类农药对剑尾鱼、罗非鱼的毒性研究. 淡水渔业, 34(4): 15-16.
- 石存斌, 吴淑勤, 黄志斌. 1994. 人工配合饵料饲养剑尾鱼的初步研究. 北京实验动物科学与管理, 11(1): 5-8.
- 温茹淑, 方展强, 陈伟庭. 2008. 17 β -雌二醇对雄性唐鱼卵黄蛋白原的诱导及性腺发育的影响. 动物学研究, 29(1): 43-48.
- 温茹淑, 方展强, 江世贵, 等. 2007. 17 β -雌二醇对剑尾鱼卵黄蛋白原的诱导研究. 中国实验动物学报, 15(4): 280-284.
- 谢国建, 姜理英, 陈建孟. 2008. 17 β -雌二醇的危害及其环境行为研究. 土壤通报, 39(1): 182-185.
- 张凤君, 郑文彪, 方展强, 等. 2001. PCBs 对斑马鱼鳃及肝脏细胞超微结构的影响的初步研究. 华南师范大学学报: 自然科学版, (4): 112-114.
- 张晓彦, 刘海金. 2009. 17- β 雌二醇对半滑舌鳎性分化和生长的影响. 东北农学院学报, 40(6): 67-72.
- 赵宝全, 董武, 王思珍, 等. 2005. 17 β -雌二醇对斑马鱼初期胚体节形成影响的研究. 中国比较医学杂志, 15(1): 17-20.

图版 I 说明

E₂ 对雄性剑尾鱼精巢组织结构的影响

1. 对照组精巢, 示不同发育时期的精小囊有规律排列 ($\times 200$);
2. 对照组精巢, 示不同发育时期的精小囊内充满了各时期精细胞 ($\times 400$);
3. 对照组精巢, 示精小囊基膜及精子束 (\rightarrow : 精小囊基膜) ($\times 400$);
4. 对照组精巢, 示中央腔中的精子束 ($\times 200$);
5. E₂ 暴露 20 d 精巢, 精巢内的精小囊大部分为 ST、SP、SZ 期的精小囊 ($\times 200$);
6. E₂ 暴露 20 d 精巢, 示固有膜内侧 SG1 期精小囊 ($\times 400$);
7. E₂ 暴露 20 d 精巢 (\rightarrow : 示精小囊基膜增生变厚) ($\times 400$);
8. E₂ 暴露 20 d 精巢, 示中央腔内仅有少量的精子, 无精子束 ($\times 200$);
9. E₂ 暴露 50 d 精巢, 示精巢内发育不正常的精小囊 ($\times 200$);
10. E₂ 暴露 50 d 精巢, 示精巢内无精小囊 ($\times 200$);
11. E₂ 暴露 50 d 精巢, 精小囊内物质凝结在一起 (\rightarrow : 精小囊基膜增生变厚) ($\times 400$);
12. E₂ 暴露 50 d 精巢, 示精巢内无各时期的精小囊, 中央腔精子无序排列 ($\times 100$)。

Explanation of Plate I

Effects of 17 β -estradiol on the histological structure of testis in male *Xiphophorus helleri*

1. The testis of the control group, showing the spermatocyst which arranged regularly ($\times 200$);
2. The testis of the control group, showing the spermatocyst which is full of sperm cells at different developmental stages ($\times 400$);
3. The testis of the control group, showing the basilemma of the spermatocyst and the sperm bundles of the testis (\rightarrow : basilemma of the spermatocyst) ($\times 400$);
4. The testis of the control group, showing the sperm bundles in the central chamber ($\times 200$);
5. The testis of the group exposed by E₂ for 20 days, showing the spermatocyst which is mainly at the stage of ST, SP and SZ ($\times 200$);
6. The testis of the group exposed by E₂ for 20 days, showing the spermatocyst at stage SG1 which is in the proper tunic inner side ($\times 400$);
7. The testis of the group exposed by E₂ for 20 days, (\rightarrow : hyperplasia of the basilemma of the spermatocyst) ($\times 400$);
8. The testis of the group exposed by E₂ for 20 days, showing few sperm and none sperm bundle in the central chamber ($\times 200$);
9. The testis of the group exposed by E₂ for 50 days, showing the abnormal spermatocyst ($\times 200$);
10. The testis of the group exposed by E₂ for 50 days, showing absence of spermatocyst in the testis ($\times 200$);
11. The testis of the group exposed by E₂ for 50 days, showing the compositions of spermatocyst gathered in the testis (\rightarrow : hyperplasia of the basilemma of the spermatocyst) ($\times 400$);
12. The testis of the group exposed by E₂ for 50 days, showing the disordered sperm in the central chamber and absence of spermatocyst in the testis ($\times 100$)。

SG1. 初级精原细胞; SG2. 次级精原细胞; SC1. 初级精母细胞; SC2. 次级精母细胞; ST. 精子细胞; SP. 成熟精子; SZ. 精子束。

SG1. Primary spermatogonium; SG2. Secondary spermatogonium; SC1. Primary spermatocyte; SC2. Second spermatocyte; ST. Spermatid; SP. Mature sperm; SZ. Sperm bundle.

图版 II 说明

E₂对雄性剑尾鱼肝组织结构的影响

1. 对照组肝组织结构图,示正常的肝细胞(×1 000); 2. 对照组肝组织结构图,示中央静脉(×1 000); 3. 对照组肝组织结构图,↑示胰组织(×1 000); 4. E₂暴露 20 d 肝组织结构图(×1 000); 5. E₂暴露 20 d 肝组织结构图(↑示细胞坏死)(×1 000); 6. E₂暴露 20 d 肝组织结构图(↑示胰细胞萎缩)(×400); 7. E₂暴露 50 d 后肝组织结构图(×1 000); 8. E₂暴露 50 d 后肝组织结构图(×1 000); 9. E₂暴露 50 d 后肝组织结构图(↑示胰组织产生黄色脂肪团;↑示细胞坏死后留下的空腔)(×400)。

Explanation of Plate II

Effects of 17 β -estradiol on the histological structure of liver in male *Xiphophorus helleri*

1. The histological structure of liver in the control group, showing the normal liver cells(×1 000); 2. The histological structure of liver in the control group, showing the central vein(×1 000); 3. The histological structure of liver in the control group, showing the pancreatic tissue(↑:pancreatic tissue)(×1 000); 4. The histological structure of liver exposed to E₂ for 20 days(×1 000); 5. The histological structure of liver exposed to E₂ for 20 days(↑:necrocytosis)(×1 000); 6. The histological structure of liver exposed to E₂ for 20 days(↑:atrophy of the pancreatic cells)(×400); 7. The histological structure of liver exposed to E₂ for 50 days(×1 000); 8. The histological structure of liver exposed to E₂ for 50 days(×1 000); 9. The histological structure of liver exposed to E₂ for 50 days(↑:cellulite in the pancreatic tissue;↑:cavity formed after the necrocytosis)(×400).

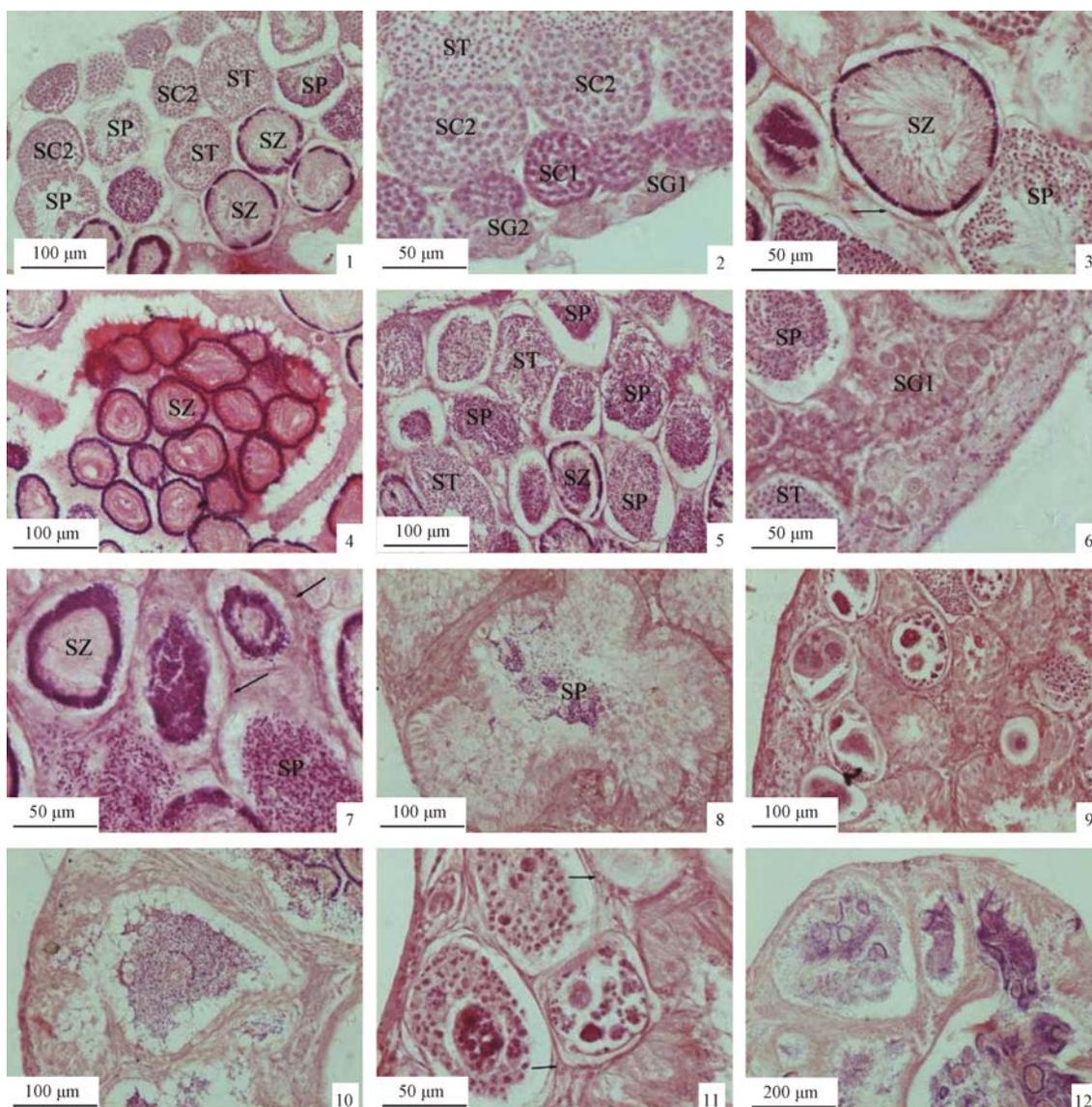
N. 细胞核; X. 中央静脉; Bc. 细胞空泡; H. 脂沉积。N. Nucleus; X. Central vein; Bc. Vacuolar cells; H. Lipid deposition.

温茹淑等:17β-雌二醇对雄性剑尾鱼精巢和肝发育的影响

图版 I

WEN Ru-Shu *et al.*: Effects of 17β-estradiol on the Development of the Testis and Liver in Male Swordtail Fish (*Xiphophorus helleri*)

Plate I



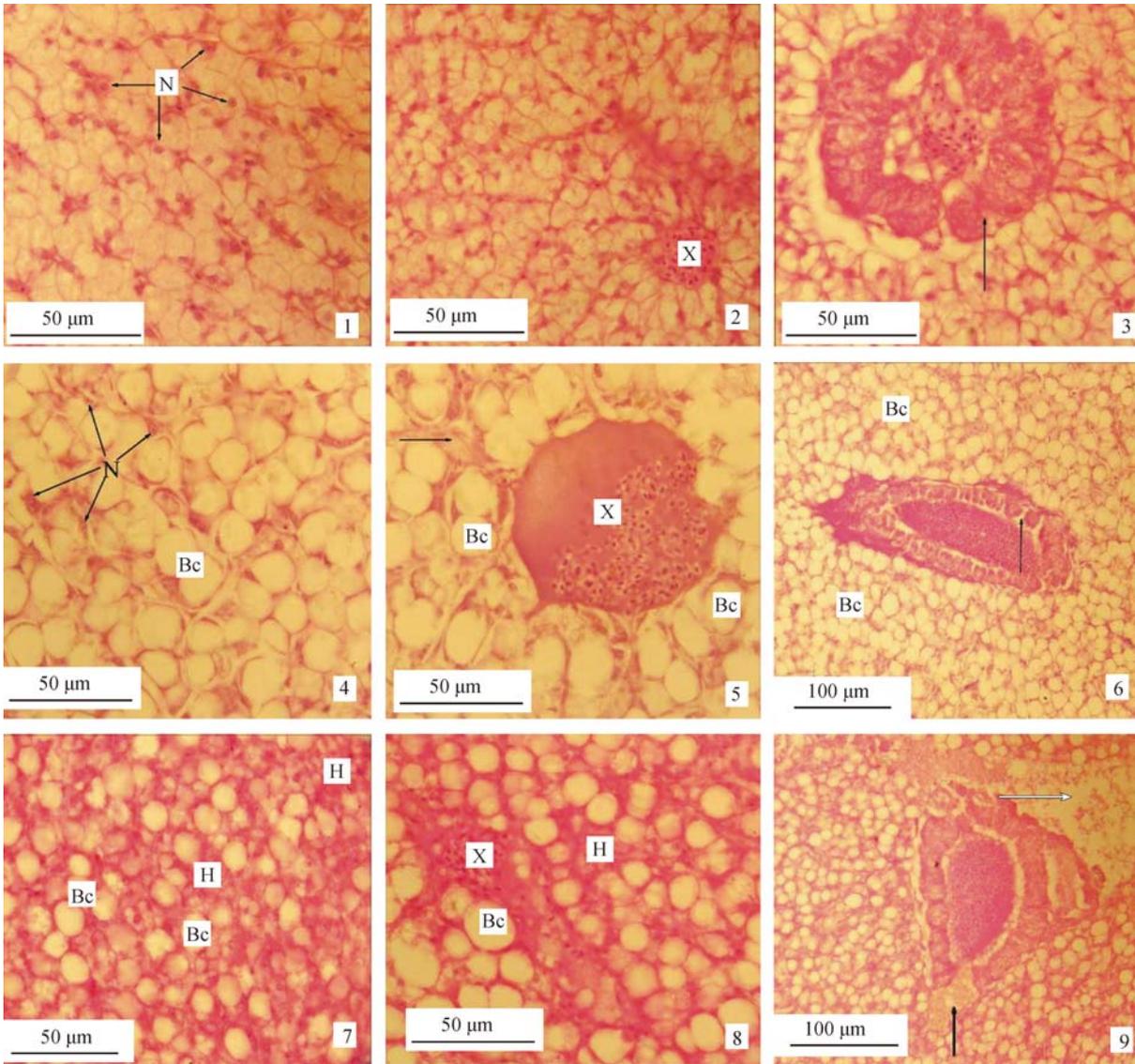
图版说明见文后

温茹淑等:17β-雌二醇对雄性剑尾鱼精巢和肝发育的影响

图版 II

WEN Ru-Shu *et al.*: Effects of 17β-estradiol on the Development of the Testis and Liver in Male Swordtail Fish (*Xiphophorus helleri*)

Plate II



图版说明见文后