

文章编号: 1007-7847(1999) 01-0058-06

无蹼壁虎(*Gekko swinhonis*) 卵泡发育的研究^{*}

蔡亚非, 李 君, 陈壁辉

(安徽师范大学 生物系, 中国安徽 芜湖 241000)

摘 要:用光镜观察了无蹼壁虎卵泡发育过程. 结果显示, 其卵泡有显著的季节性变化, 可分两期, 即卵黄形成前期及卵黄形成期. 卵泡来源于胚床内的卵母细胞及其周围的卵泡细胞, 其发育过程有4个主要特点: 1) 卵泡鞘为复层扁平上皮, 内层细胞碱性磷酸酶(ALP)阳性率为100%; 2) 卵黄形成前期卵泡核出现染色体及波状核膜; 3) 颗粒层早期由3种细胞构成: 梨状细胞、中间型细胞及小细胞; 4) 后期颗粒层解体, 卵母细胞内出现大量的卵黄小板. 最后讨论卵泡鞘ALP高含量及卵黄小板形态差异的原因及意义.

关键词:无蹼壁虎; 卵泡发育; 颗粒层; 卵黄小板; 碱性磷酸酶

中图分类号: Q954. 4; Q959. 6 文献标识码: A

Folliculogenesis in *Gekko swinhonis*

CAI Ya-fei, LI Jun, CHEN Bi-hui

(Department of Biology, Anhui Normal University, Wuhu 241000, Anhui, China)

Abstract: The folliculogenesis in *Gekko swinhonis* was observed by light microscope. There were clear seasonal changes in the folliculogenesis. It could be divided into two stages: the previtellogenesis and vitellogenesis. The follicle stemmed from the oocyte and follicular cells surrounding the oocyte. It had four characteristics: 1) The thecal layer was stratified squamous epithelium. The positive rate of ALP (alkaline phosphatase) of the cells in the inner layer of the thecal layer was 100%; 2) The chromosome and undulating membrane came into being in the nucleus of the follicle in previtellogenesis; 3) There were three distinct cell types in the granulosa: pyriform cells, intermediate cells and small cells; 4) The granulosa increasingly disintegrated and the yolk platelet came into being in the oocyte in vitellogenesis. The reason and meaning of high component of ALP in thecal layer and difference of yolk platelets were discussed.

* 收稿日期: 1998-10-25; 修回日期: 1998-11-19

基金项目: 安徽省教委自然科学基金资助

作者简介: 蔡亚非(1971-), 男, 讲师, 硕士, 发表论文12篇; 李君(略); 陈壁辉(1931-), 男, 教授, 硕士生导师, 著作4本, 发表论文60余篇.

Key words: *Gekko swinhonis*; folliculogenesis; granulosa; yolk platelet; alkaline phosphatase

爬行类卵泡发育较为复杂, 而且不同种之间差异较大, 其卵泡一般由卵泡鞘(the cal layer)、颗粒层(granulosa)、透明带(zona pellucida)及卵母细胞构成。国内外除游蛇科及蜥蜴科的动物有少量资料报道外^[1-5], 大多数种类尚缺少研究, 本文报道了无蹼壁虎卵泡发育特点, 为比较胚胎学提供资料。

1 材料和方法

雄性无蹼壁虎42条于5、6、7、8、9月中旬分5次采集于安徽师范大学校园内, 实验室饲养, 观察其繁殖习性。每次采集后, 将其中2条断头处死, 解剖取出卵巢。2条壁虎卵巢用 Bouin's 液固定, 常规石蜡切片, H E 染色; 2条壁虎卵巢用 Carnoy's 液固定, 常规石蜡切片, 示 PAS 反应及对照实验; 最后2条用冷丙酮4 下固定, 依 Gomori's 法示 ALP 反应及对照实验, 用半定量积分法统计 ALP 的平均阳性率。以上切片厚度均为6 μm , 光镜观察并拍照。

2 结果

无蹼壁虎4月底5月初出眠, 卵泡开始发育, 5月底交配, 至6月中旬每卵巢各有一卵泡发育成熟, 6月底有两枚成熟受精卵排出, 卵径约为2.5 \times 1.5 cm, 并粘附于实验饲养缸上, 自然孵化, 一个月左右幼壁虎孵出。一只壁虎一个繁殖季节只产2枚卵, 产后卵泡逐渐退化。

据 Maria^[5]对墨西哥栉尾蜥(*Ctenosaura pectinata*) 卵泡发育时期的划分, 可将无蹼壁虎卵泡发育过程分为两期:

2.1 卵黄形成前期(previtellogenesis)

2.1.1 原始卵泡期

无蹼壁虎每侧卵巢腹面各有一长条形的胚床(germinal bed), 长约58~60 μm , 胚床中间膨大, 内有初级卵母细胞(图1)。初级卵母细胞大小约为3.0 μm , 呈圆形, 核仁1枚, 核内染色质浓缩为不规则的纤维状, 细胞外周为排列紧密的胚床细胞, 细胞较小(图2), 进一步分化, 核染色质浓缩为粗线状, 使核与胞质之间出现一圈透明的空腔, 卵泡细胞首尾相连成环状构造围绕卵母细胞外周, 并发育成后期的卵泡鞘及颗粒层(图3)。

2.1.2 颗粒层时期

1) 时期 卵母细胞外周卵泡细胞发育为单层立方上皮, 卵母细胞质呈点状, 核内染色质浓缩致密, 透明空腔扩大。此时, 在卵母细胞和卵泡细胞之间出现一层薄的透明带(图4)。

2) 时期 卵泡进一步增大, 由单层立方上皮分化出卵泡鞘及颗粒层, 鞘为复层上皮。早期颗粒层为单层上皮, 出现梨状细胞(pyriiform cell)及内侧面的一些小细胞(small cell), 卵母细胞质同时期 相比变化不大, 核内染色质变为点状或细小的纤维状。此核又称为巴尔尼氏卵黄体(Balbani's vitelline body), 核外透明空腔进一步增大(图5~6)。

3) 时期 卵母细胞质由点状变为短丝状的卵黄纤维, 靠近边缘部分排列紧密, 中间排列疏松。核内染色质全变为点状, 外包一透明空腔, 进而变为条状染色体, 此时核膜为波状, 并有一些卵母细胞质与核膜相连。核所在位置偏心(图7~9)。此期变化最大为颗粒层细胞,

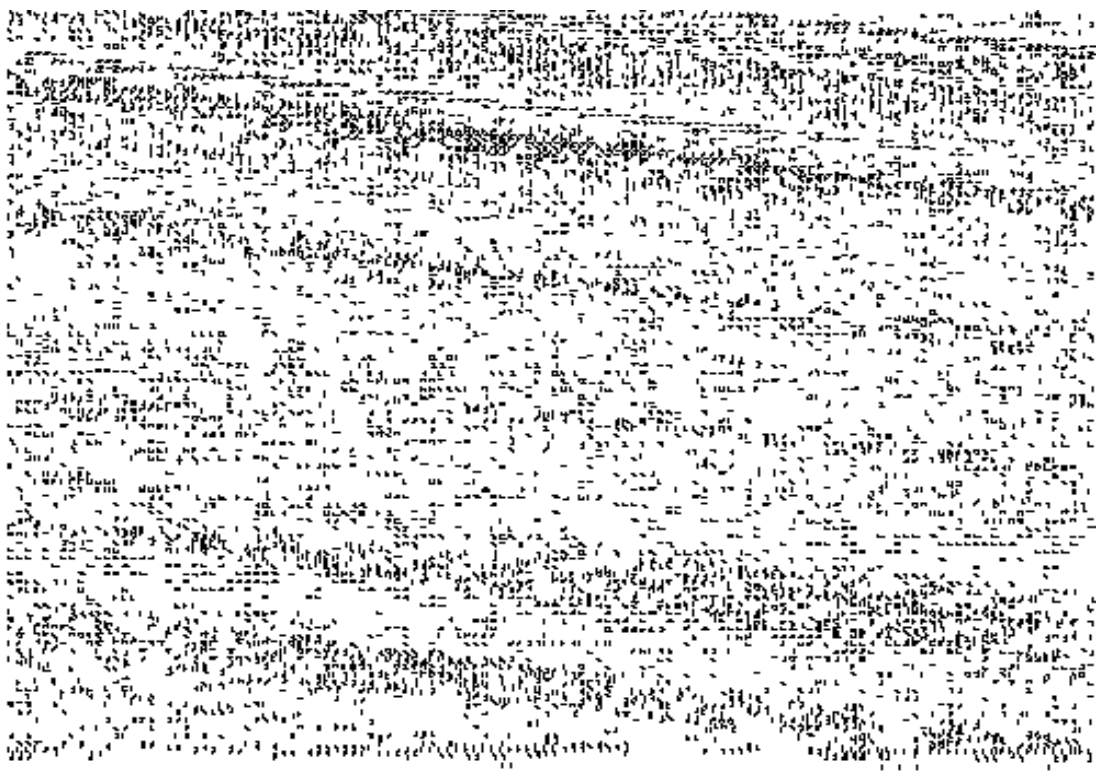


图1 胚床(GB)及卵母细胞(O) ×1 200

Fig. 1 Germinal bed (GB), oocyte(O) ×1 200

图2 卵母细胞(O)及胚床细胞(G) ×4800

Fig. 2 Oocyte(O), cells in germinal bed(G) ×4800

图3 环形排列的卵泡细胞(GC),核外透明空腔(L) ×2 400

Fig. 3 Follicular cells surrounding the oocyte(GC), Lumen surrounding nucleus(L) ×2 400

图4 颗粒层时期I的卵泡,示单层立方上皮(C),核(N) ×1 200

Fig. 4 Follicle at stage I in granulosa stage, showing simple cuboidal epithelium(C), nucleus(N) ×1 200

图5 时期II卵泡,示梨状细胞(P),小细胞(S),颗粒层(GN),透明带(Z) ×1 200

Fig. 5 Follicle at stage II, showing pyriform cell(P), small cell (S), granulosa(GN), zona pellucida(Z) ×1 200

图6 时期II卵泡,示核(N),核外透明空腔(L),卵泡鞘(TH),颗粒层(GN) ×1 200

Fig. 6 Follicle at stage II, showing nucleus(N), Lumen surrounding the nucleus(L), thecal Layer(TH), granulosa(GN) ×1 200

图7 时期III卵泡,示核(N),外有透明空腔的点状染色质(T),卵母细胞质(OP) ×1 200

Fig. 7 Follicle at stage III, showing nucleus(N), the spot-like chromatin surrounded by transparent material(T), ooplasm(OP) ×1 200

图8 时期III卵泡,示梨状细胞(P),中间型细胞(I),小细胞(S),核(N),卵泡鞘(TH),透明带(Z) ×1 200

Fig. 8 Follicle at stage III, showing pyriform cell(P), intermediate cell(I), small cell(S), nucleus(N), thecal layer(TH), zona pellucida(Z) ×1 200

梨状细胞增大,形状更为规则,由原来的两种细胞类型构成的单层上皮变为由梨状细胞、中间型细胞(intermediate cell)及小细胞构成的复层上皮,胞间排列紧密。梨状细胞朝向中央

的一端略尖,核圆形;中间型细胞位于梨状细胞与小细胞之间,圆形;小细胞位于最内层,紧贴于透明带外方(图8)。PAS 反应显示,卵泡鞘为弱阳性;透明带强阳性;颗粒层也呈弱阳性,梨状细胞内含较多 PAS 反应阳性颗粒,中间型细胞内阳性颗粒少;此外,卵母细胞质呈弱阳性,对照实验结果不变(图10~11)。ALP 反应显示,卵泡鞘紧靠颗粒层的内层细胞内 ALP 含量极高,为强阳性,整个细胞均为深棕黑色,看不清细胞的外部形态,外层细胞呈灰色,整个卵泡鞘 ALP 平均阳性率为65%;邻近卵泡鞘颗粒层 ALP 含量较高,梨状细胞朝向中央一端有少量 ALP 分布,中间型及小细胞内均有一定数量的 ALP 分布,颗粒层 ALP 平均阳性率为30%;透明带,卵母细胞质及核 ALP 反应为阴性(图12),对照实验结果消失。

4) 时期 卵泡鞘细胞变化不大,颗粒层细胞萎缩,核变小,细胞界限模糊、分类不清。靠近内层细胞之间有少量的染色较深的嗜碱性物质为 Call-Exner 小体。进一步发育细胞解体,界限消失,Call-Exner 小体增多,卵母细胞质此时已变为粗的纤维状,核消失(图13~14)。

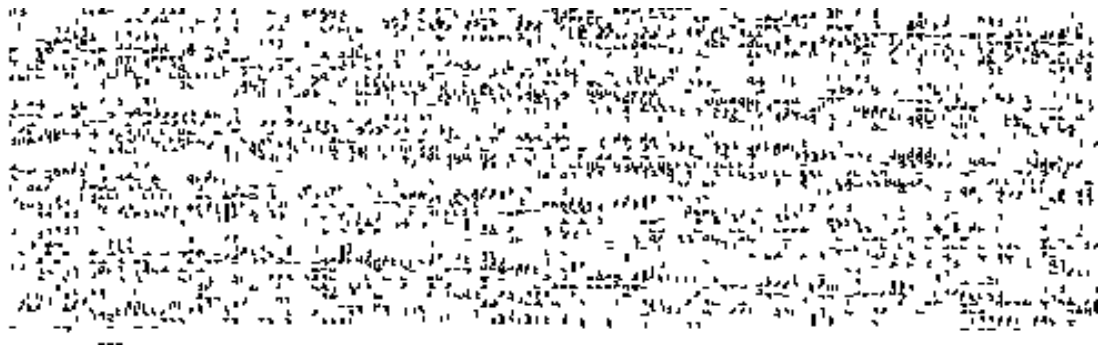


图9 时期III卵泡,示染色体(CH),波状核膜(M),卵泡鞘(TH),颗粒层(GN)×1 200

Fig. 9 Follicle at stage III, showing chromosome(CH), undulating membrane(M), thecal layer (TH), granulosa(GN) ×1 200

图10 示 PAS 反应 ×480

Fig. 10 Showing PAS reaction ×480

图11 时期III卵泡,示梨状细胞内 PAS 反应阳性颗粒(GR),中间型细胞(I),小细胞(S),透明带(Z)×2 400

Fig. 11 Follicle at stage III, showing small PAS-positive granules in pyriform cell(GR), intermediate cell(I), small cell(S), zona pellucida(Z) ×2 400

2.2 卵黄形成期(Vitellogenesis)

此期卵泡发育迅速,大小约为0.4~0.7 cm,卵黄之间有一环形的卵黄腔,卵泡鞘内毛细血管增生,颗粒层细胞解体。卵母细胞质内出现大量形态各异的卵黄小板(yolk platelet),大致分为3型: 型,位于最外层,体积小,中间为透明物质,外有一层膜包被,此小板层厚约66 μm; 型,靠近 型小板层,体积大于 型,内有一些纤维状物质及一些纤维间透明物质组成,有膜包被,此小板层厚约150 μm; 型,近中央部分均为此型,此种卵黄小板为规则的四边形、五边形或六边形等晶状,内为均质的致密物质(图15~18)。

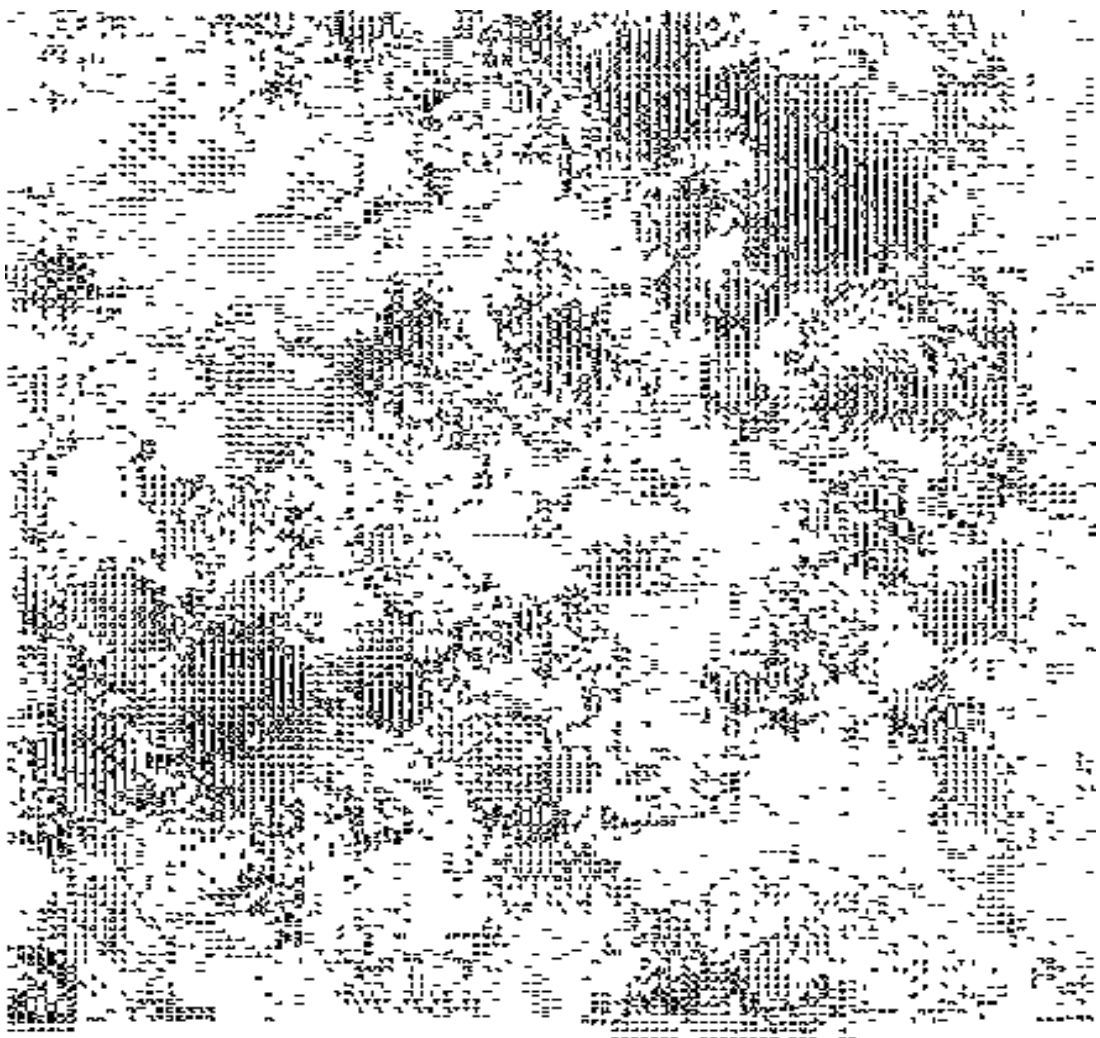


图12 示 ALP 反应, 卵泡鞘内层细胞(THC), 颗粒层(GN), 梨状细胞(P), 核(N), 卵母细胞质(OP) ×1 200

Fig. 12 Showing ALP reaction, cells in inner layer of thecal layer(THC), granulosa(GN), pyriform cell(P), nucleus (N), ooplasm(OP) ×1 200

图13 时期IV处于解体阶段的颗粒层(GN), Call-Exner 小体(CE), 卵母细胞质(OP), 透明带(Z) ×2 400

Fig. 13 Showing the disintegrating granulosa at stage IV, Call-Exner body(CE), ooplasm(OP), zona pellucida(Z) ×2 400

图14 时期IV已解体的颗粒层(GN), Call-Exner 小体(CE), 透明带(Z) ×4 800

Fig. 14 Showing the disintegrated granulosa at stage IV, Call-Exner body(CE), zona pellucida(Z) ×4 800

图15 处于卵黄形成期的卵泡, 卵黄腔(L) ×360

Fig. 15 Follide in vitellogenesis(M A), lumen in ooplasm(L) ×360

图16 卵黄形成期的卵泡, 示增生的毛细血管(V), 颗粒层(GN) ×2 400

Fig. 16 Follide in vitellogenesis, showing rising blood vessel(V), granulosa(GN) ×2 400

图17 卵黄形成期卵泡, 示I型卵黄小板(I), II型卵黄小板(II) ×4 800

Fig. 17 Follide in vitellogenesis, showing yolk platelet I(I), yolk platelet II(II) ×4 800

图18 示III型卵黄小板(III) ×12 000

Fig. 18 Showing yolk platelet III(III) ×12 000

3 讨 论

3.1 关于卵泡鞘内层 ALP 高含量问题

卵泡鞘为复层扁平上皮, PAS 反应为弱阳性, 但 ALP 含量很高, 特别是其内层细胞充满 ALP, 这种现象在其他爬行类中尚未见有报道^[1-5]. 从发生上看, 其相当于哺乳类卵泡膜的内膜层, 而哺乳类该层细胞能分泌雄激素在颗粒层内转变为雌激素且雌激素可使 ALP 增高, 无蹼壁虎的卵泡鞘内层细胞是否与哺乳类卵泡膜内膜层有相似的功能, 尚需进一步研究. 但 ALP 高含量可能与这种功能有关. 此外, 卵泡鞘紧贴在颗粒层外方, ALP 为水解酶, 高含量可能有助于颗粒层细胞解体.

3.2 卵黄小板

卵黄小板有3种类型, 其中 型与 型为不均质, 型为均质构造. 已有报道的蛇类及蜥蜴等卵黄小板为圆形的均质构造, 只是大小上的差异^[1-5]. 我们观察到的卵黄小板存在3种类型是由于卵黄沉积不同时相还是构成物质差异形成, 有待于进一步研究. 据报道, 鱼类卵黄可分为碳水化合物卵黄、蛋白卵黄和脂肪卵黄, 最先形成的是碳水化合物卵黄, 之后出现的是脂肪卵黄, 蛋白卵黄最后形成^[6]. Guraya^[3]报道一些爬行类卵黄小板内含糖苷、脂类、脂蛋白、卵黄脂蛋白等有机物, 但没有和卵黄小板的形态结合起来研究. 鸟类卵黄有白卵黄与黄卵黄之分, 前者含有的脂肪比蛋白质多一倍, 因此, 无蹼壁虎卵黄 型有可能是构成物质差异造成的.

致谢: 刘再群、张方先生协助进行了部分工作, 特此致谢!

参考文献:

- [1] BETZ T W. The ovarian histology of diamond backed warter snake[J]. Morphol, 1963(113): 245-255.
- [2] GOLDBERG S R. Seasonal ovarian histology of ovoviviparous iguanid lizard *Sceloporus jarrovi* [J]. Morphol, 1970(132): 265-276.
- [3] GURAYA S S. Histochemical study of associated lipid changes in follicular epithelium and oocyte of growing previtellogenesis follide in ovaries of snakes[J]. Zool J Anat, 1976(96): 183-192.
- [4] KLOSTERMAN L L. Ultrastructural and quantitative dynamics of granulosa of follicle of lizard *Gerrhonotus coeruleus* [J]. Morphol, 1987(192): 125-144.
- [5] MARIA DCA V. Ovarian folliculogenesis in oviparous Mexican lizard *Ctenosaura pectinata* [J]. Morphol, 1996(230): 90-112.
- [6] 张扬宗, 谭玉钧, 欧阳海. 中国池塘养鱼学[M]. 北京: 科学出版社. 1989. 269.