



普通高等教育“十二五”规划教材

© 林丹军 尤永隆 张彦定 编 著

发育生物学实验

Experiments in
Developmental Biology



科学出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

发育生物学实验

林丹军 尤永隆 张彦定 编著



科学出版社

北京

内 容 简 介

本书为发育生物学课程的实验教材,全书共设置20个实验。其中一部分属于动物发育模式的形态学观察,用活的胚胎来观察发育过程并进行实验,同时以切片观察作为补充。另一部分为探讨发育机制的实验,包括器官发生、胚胎诱导、细胞核移植、免疫组织化学、核酸原位杂交和胚胎干细胞培养等现代生物学技术在发育生物学中的应用。

本书可供综合性大学、师范院校、农林院校、医学院校本科生和研究生的发育生物学实验教学使用,也可作为从事相关研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

发育生物学实验/林丹军,尤永隆,张彦定编著. —北京:科学出版社,2011.6

(普通高等教育“十二五”规划教材)

ISBN 978-7-03-031572-4

I. ①发… II. ①林…②尤…③张… III. ①发育生物学-实验
IV. ①Q111-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第113489号

责任编辑:丛楠 贺密青/责任校对:朱光兰

责任印制:张克忠/封面设计:谜底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

骏杰印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年6月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2011年6月第一次印刷 印张:11

印数:1—3 000 字数:220 000

定价:24.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

发育生物学是在动物胚胎学的基础上发展起来的一门学科，它与细胞生物学、遗传学、生物化学和分子生物学等学科有着密切的关系，又是医、农、畜牧、水产等应用学科的重要基础。20 世纪 90 年代以来，在生命科学领域取得的许多重大成就与发育生物学有关。随着发育生物学学科的发展，越来越多的高等院校开设了发育生物学课程。

发育生物学的教学不能脱离实验教学。通过实验教学，学生可以加深对复杂的生物个体发生和发育机制的理解，同时也能加强对学生实验技能的训练，提高学生的科学素质。在国外，正式出版的发育生物学实验教材不多，使用较普遍的有 Johnson 和 Volpe 编著的“*Patterns and Experiments in Developmental Biology*”（1973）（1981 年这本书由于豪建先生翻译成中文出版），1995 年和 2001 年该教材出版了第二版和第三版。此外，相关书籍还有 Rugh 编著的“*A Guide to Vertebrate Development*”（1977）、Tyler 编著的“*Developmental Biology: A Guide for Experimental Study*”（2000）及 Mari-Beffa 和 Knight 编著的“*Key Experiments in Practical Developmental Biology*”（2005）。我国迄今尚未出版过发育生物学实验教材。因此，编写一本适合我国高等学校生物科学专业学生使用的发育生物学实验教材就显得尤为迫切。

实验教材编写人员所在的福建师范大学生命科学学院发育生物学研究室由我国发育生物学前辈丁汉波教授创立。编写人员在长期动物胚胎学和发育生物学的教学和科研工作中积累了丰富的经验，具有坚实的理论基础。在 20 世纪 90 年代以前，我院主要开设“动物胚胎学”和“动物胚胎学实验”课程。90 年代以后开始开设“发育生物学”和“发育生物学实验”课程。学校所有使用的实验教材均为自编教材，这些实验教材的特点是在让学生观察主要动物类群发育的基础上，对动物的一些发育机理进行探索，同时，注重对学生实验技能的训练，提高学生分析问题、解决问题的能力。这些自编教材在使用中结合该学科的研究进展和实验教学改革的要求进行过多次修订，取得了良好的教学效果。

本实验教材是编者在以往自编教材的基础上，参考近年来国内外发育生物学的进展重新编写而成。在编写过程中，考虑到目前大多数高等院校生物科学专业学生未学习过动物胚胎学，因此在探讨动物个体发育机制前，有必要先了解动物胚胎的发育过程。教材中一部分实验属于动物发育过程的形态观察，并以切片标本观察作为补充；另一部分实验为实验胚胎学或发育生物学的实验内容，主要探

讨动物发育机制。其中，部分实验可能受到课时和实验条件的限制暂时无法开展，但是可以通过多媒体、电视教学等多种手段让学生了解发育生物学实验技术的发展和应用。

我们提倡在实验中尽可能使用活的实验材料，如用海胆、鱼、蛙、鸡和小鼠等活的胚胎进行实验，让学生能观察到复杂的生命个体是如何诞生的。使学生在实验中获得知识与提高实验技能的同时，唤起他们对探索发育机制的兴趣和激情。

林丹军 尤永隆 张彦定

2011年2月

目 录

前言

卷首语：实验的教与学	1
实验一 精子的发生	4
实验二 卵子的发生	10
实验三 受精的细胞学观察	17
实验四 动物早期发育：卵裂及囊胚类型	24
实验五 动物早期发育：原肠形成和原肠胚类型	31
实验六 蛙的器官发生	39
实验七 鸡的原生殖细胞	49
实验八 蛙的人工催产及早期发育观察	55
实验九 无尾两栖类单性生殖	65
实验十 鸡卵的人工孵育和胚胎发育观察	73
实验十一 鸡胚肢芽的尿囊绒毛膜移植	82
实验十二 鸡胚的壳外培养	87
实验十三 蛙胚胎细胞的分离和再聚集	92
实验十四 胚胎诱导	96
实验十五 小鼠早期胚胎发育和胚胎移植	102
实验十六 细胞核移植	114
实验十七 胚胎的连续切片制作技术	122
实验十八 用免疫组织化学方法分析胚胎发育中的基因表达	129
实验十九 用核酸原位杂交技术分析胚胎发育中的基因表达	135
实验二十 小鼠胚胎干细胞的体外培养	144
附录一 常用试剂的配制	152
附录二 实验中常用的自制工具	157
附录三 常用器皿和玻片的处理	159
附录四 小鼠 <i>sonic hedgehog</i> (<i>shh</i>) 基因 RNA 探针的制备与标记	160

卷首语：实验的教与学

今天，我们能够对一般动物的发育过程和发育机制有所认识，是基于上百年来一代又一代的胚胎学家和发育生物学家对动物发育进行无数次观察和实验所获得的研究成果。早期，研究者只是简单地观察单细胞的受精卵如何通过奇妙的转变而成为复杂的个体，并且具有成千上万不同类型的细胞。后来，通过研究者精细的观察，我们懂得了在动物发育过程中出现了细胞分裂、细胞运动、细胞特化等变化。随之，问题也就提出来了，我们想知道在发育中这些事件是如何发生的。这是一个极具挑战性的问题。为了揭开发育之谜，研究者开始深入探索动物的发育机制：探究胚胎发育过程中胚胎对营养、离子代谢等的诸多需求，发育中的各种事件是如何发生的；发育这些事件是否在胚胎的一个地方或多个地方发生；胚胎附近细胞或组织对这些事件的发生是否有重要影响；这些发育中所发生的变化是否可逆，基因是如何控制这些变化的；在发育过程中，基因组有否变化……近年来，由于各学科的相互渗透，研究生物化学、分子生物学等新技术、新仪器的应用，使人们对过去观察过的发育事件，又重新用遗传学、分子生物学的观点进行解析。例如，在发育过程中相同的基因组如何通过差异的表达，产生不同的细胞类型；RNA 的加工、蛋白质的合成如何对发育进行调节，等等。

在这门实验课程中，有关发育的很多观点都体现在各个实验内容中，包括实验原理、实验过程和结果。通过实验你可以学习如何做每个实验，分析每次实验结果，并理解每个结论的意义。然而，实验不仅仅只有结果，更重要的是可以经历结果产生的过程。这个过程不是仅仅通过阅读教科书或科学杂志就能够获得的。在实验中使用活的实验材料，这使得每次实验都更具有挑战性。使用活的实验材料能使你有机会置身于真正的研究中。实验中可能会出现教材中未提及的现象和结果，因为活的胚胎对环境因素的改变是十分敏感的。当你开始发育生物学的探索时，最重要的是带有一颗好奇的心，问问题、提假想，然后在实验中仔细观察、认真操作，才能获得令人满意的结果。如果没有付出辛勤的劳动，实验就有可能失败。因此，一开始就要告诉学生，搞研究并不像我们看到的已发表文章中所呈现的结果那么圆满。在发表的文章中不会把错误、失败或获得成果的辛劳告诉大家。研究工作中错误和失败随时都可能发生，学生应准备面对挫折。实验前要认真阅读教材和相关资料，对实验内容、目的要求、操作顺序及要领做到心中有数。应该非常认真地去实验。如果你的实验结果不完善，或实验的具体过程出现的错误等，也要如实记录。科研工作者和学生通常都有压力，科研人员总

想迅速得到理想的结果,学生总想在有限的时间里取得好的成绩,这样都有可能产生去造假的念头。所以,对于科学研究者来讲,实验态度严肃认真,实事求是,写出可靠的结果和真实的实验报告是很重要的。

每个学生都要有自己的实验记录本,所有的实验过程和观察都要完整地当场记录下来,切不可过后补写,即使非常小的细节,有时对你也是重要的。在将来分析实验结果时,这些记录是你完成实验报告的原始记录和依据。此外,还应准备绘图纸张和铅笔等,随时在显微镜下记录和绘出动物发育的形态特点和变化。

撰写实验报告是完成每个实验后必须做的功课或作业。实验报告的格式多样,可以根据实验内容的复杂性进行设计。有些探索性实验最好以正式发表论文的格式进行写作,这对初次进行科学探索的学生而言也是一个很好的科学训练。实验报告应包括这几方面的内容。

(1) 前言 (introduction): 简单描述实验的目的与目标,前人在该领域的研究成果和进展,所要进行实验的实验原理、理论根据,提出的假设或设想等。若需要引用他人文献,请注明出处。

(2) 材料与方法 (material and method): 写出你自己的实验步骤,完整记录实验操作流程与实验条件。虽然在实验教材中对每个实验都有详细的描述、具体的实验步骤,而且实验室为每个实验提供了仪器和试剂,但在具体操作时一些实验条件的变化,如实验材料状况、实验时的温度、pH 及其他因素都有可能对实验结果造成影响。

(3) 结果 (result): 条理清晰地写出你的实验结果,真实地陈述观察所得结果。实验数据要经过整理后做成图、表以利于解读。发育观察可通过绘图或拍摄图像加以注释。若重复尝试过多次的实验,可去芜存菁,只写出有意义的实验结果。

(4) 讨论 (discussion): 对实验结果作进一步的整合与分析,说明由结果中所获得的信息。若有与事实或已知不符的现象,请仔细讨论或解释。此部分内容最需要发挥你的专业实力。

(5) 参考文献 (reference): 报告中若引用他人结果,一定要列入参考文献。编辑参考文献要多下苦功,参考文献的写法相当复杂,不同期刊有不同格式,请选定一种格式。

各个实验项目可以根据实验室的实际条件灵活安排,但在课程开始前要仔细计划和安排日程。实验中所使用的活材料,如海胆、蛙、鱼在一年中只有生殖季节(4~6月)才可获得胚胎。虽然鸡胚生殖不受季节限制,但是秋、冬季的活力不如春季。因此,建议实验课程最好安排在春季。有的实验室有条件人工饲养爪蟾 (*Xenopus laevis*) 和斑马鱼 (*Danio rerio*),可在人工控制下随时获得活胚胎。

一般实验尽可能安排在每周 3 个学时内完成，指导老师应在实验前做好实验材料、仪器和试剂等的准备工作。有些实验难以在 3 个学时内完成，如胚胎标本制作（实验十七）、免疫组织化学（实验十八）、原位杂交技术（实验十九）和胚胎干细胞培养（实验二十）等实验都必须用几天的时间才能完成，这就需要合理安排实验时间。观察动物胚胎发育过程，如蛙的早期发育（实验八）、鸡的孵化（实验十）、鸡胚的壳外培养（实验十二）等，通常需要在晚上或第二天以后继续观察，将发生的变化详细记录下来，所以实验室有时必须向学生全天开放。实验室应建立必要的规章制度，学生应爱护实验室内的一切设备仪器，避免损坏和浪费；保持实验室整洁、安静、安全、文明。每次实验完毕，要将实验用具等放置到指定地点或指定状态，由值日生做好实验室清洁卫生及水电等的安全检查工作。

希望学生学习了本实验课程后懂得在科学探索中怎样去做实验，怎样去分析实验结果。在实验过程中体会科学探索的辛劳，并从中获得初次探索的喜悦。

实验一 精子的发生

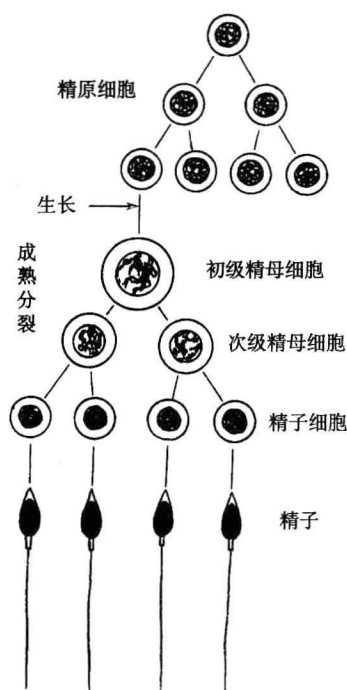


图 1.1 精子发生过程图解

(Balinsky, 1975)

精子发生的全过程是在精巢 (testis) 内进行的。各种动物的精巢结构不同, 精子的形态也各种各样, 但精子发生的规律基本相似。精子发生都必须经历增殖期、生长期、成熟期和精子形成期这几个阶段。生精细胞包括精原细胞 (spermatogonium)、初级精母细胞 (primary spermatocyte)、次级精母细胞 (secondary spermatocyte) 和精子细胞 (spermatid)。精母细胞经过一次复制和两次成熟分裂, 形成单倍体的精子细胞, 再经过变态形成精子 (sperm) (图 1.1)。

此外, 在生精细胞之间还分布着一种称之为支持细胞 (sertoli cell) 的体细胞, 它对生精细胞具有支持、营养和分解残余物质的作用, 也具有调节精子发生和诱导精子形成的作用。

精子的发生是一个连续过程。在哺乳动物精巢中有许多的生精小管, 在生精小管上有规律地分布着各期生精细胞 (图 1.2、图 1.3)。

两栖动物或鱼类精子的发生有着明显的季节性变化。在精巢中有许多形态不规则的精小叶 (seminiferous lobulus), 各期生精细胞以精小囊 (spermatogenic cyst) 为单位, 分布在精小叶中 (图 1.4)。在同一个精小囊中的生精细胞往往为同一发育期的生精细胞, 不同精小囊的生精细胞发育不同步。

一、实验目的

(1) 通过观察哺乳动物、蛙类或鱼类的精巢切片, 了解精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞的形态特征, 了解精子的形成过程, 比较不同动物精巢的结构特点。

(2) 通过观察动物的活体精子和精子涂片, 了解各种精子的形态和活动状况。

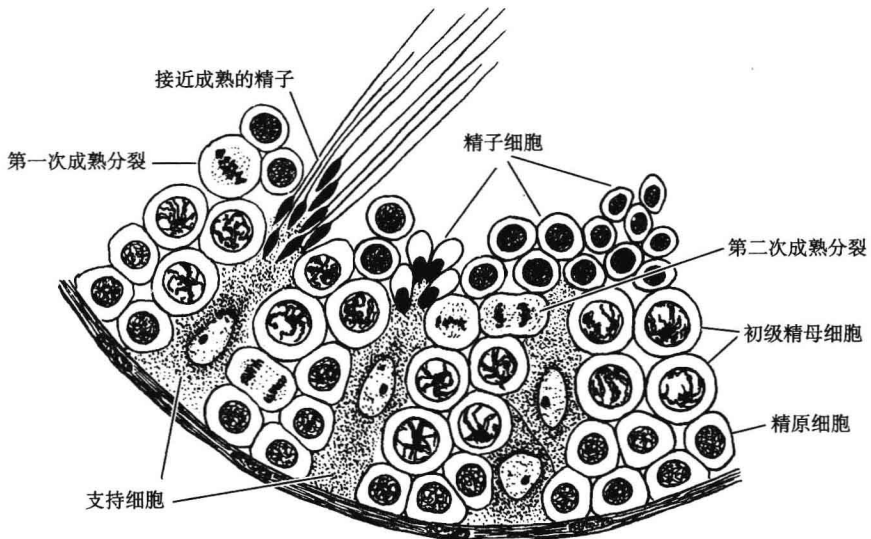


图 1.2 哺乳动物精巢生精小管局部图示 (Balinsky, 1975)

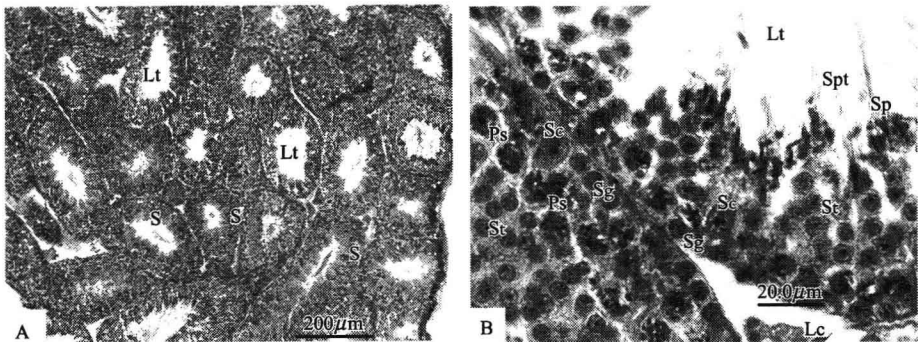


图 1.3 小鼠精巢切片，显示生精小管和各级生精细胞及精子

A. 生精小管横切面；B. 生精小管局部。S. 生精小管；Lt. 生精小管的管腔；Sg. 精原细胞；Ps. 初级精母细胞；St. 精子细胞；Sp. 精子；Spt. 精子鞭毛；Sc. 支持细胞核；Lc. 间质细胞

二、材料、仪器、试剂

(一) 材 料

(1) 小鼠的精巢切片 (H. E. 染色)、鱼或蛙的精巢切片 (H. E. 染色)、人的精子涂片 (铁钒苏木精染色)。

(2) 性成熟的雄性小鼠、蛙或鱼。

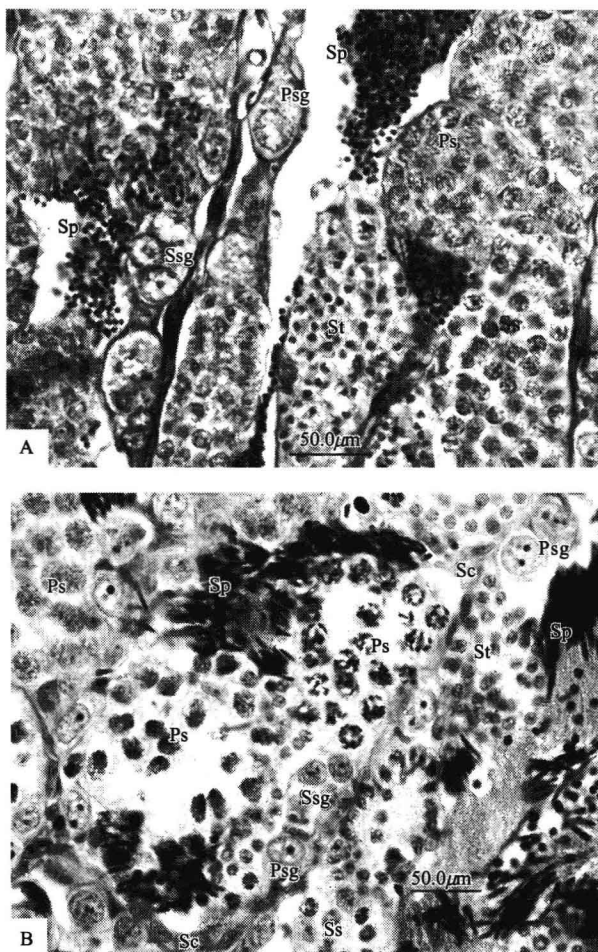


图 1.4 鱼类和蛙精巢切面，显示精小叶中的精小囊和各级生精细胞

A. 尼罗罗非鱼精巢；B. 泽蛙精巢。Psg. 初级精原细胞；Ssg. 次级精原细胞；Ps. 初级精母细胞；Ss. 次级精母细胞；St. 精子细胞；Sp. 精子；Sc. 支持细胞核

(二) 仪器用具

普通显微镜、手术剪、镊子、培养皿、吸管、洁净的载玻片和盖玻片。

(三) 药品试剂

哺乳动物的生理盐水 (0.9%NaCl)，鱼或蛙的生理盐水 (0.65%NaCl)。

三、实验观察

(一) 精子的发生

(1) 取哺乳动物精巢切片, 置显微镜下先用低倍镜观察, 可见在整个精巢外表有一层较厚的结缔组织膜, 称白膜 (tunica albuginea), 白膜的结缔组织伸到精巢内形成一些结缔组织的纵隔, 称精巢纵隔 (mediastinum testis), 把精巢分隔成许多锥形小叶, 每个小叶有 1~4 条生精小管 (seminiferous tubule)。在切片中可见生精小管多呈横切面, 每个生精小管外有一薄层的结缔组织。相邻的生精小管间有间质和间质细胞 (leydig cell) 分布 (图 1.3)。

选一生精小管置高倍镜 ($\times 40$) 及油镜 ($\times 100$) 下仔细观察, 注意生精小管的管壁由数层发育不同时期的生精细胞所构成 (图 1.3B), 自管壁向管腔依次排列如下所述。

精原细胞: 为生精小管管壁上最外层的生精细胞, 紧附于结缔组织内, 通常为 1 层细胞, 呈圆形或椭圆形。精原细胞可分为 A 型和 B 型精原细胞。A 型精原细胞被称为“储存的干细胞” (reserve stem cell) 或“更新的干细胞” (renewing stem cell), 其细胞核可被苏木精染成深蓝色, 靠近核膜内表面有 1 或 2 个核仁, 可被伊红染成红色。A 型精原细胞经过若干次有丝分裂后, 最后一代的细胞为 B 型精原细胞, 参与精子发生周期, 其细胞核较大, 呈圆形, 核内的染色质颗粒着色较浅, 而一些呈片状的染色质着色较深。B 型精原细胞进入生长期, 形成精母细胞。

初级精母细胞: 初级精母细胞位于精原细胞的内方, 为生精小管上各期生精细胞中体积最大的细胞, 有 2 或 3 层。细胞核非常明显, 可见到处于第一次成熟分裂前期不同时期染色体形态的一系列变化, 有时还可见到正在进行的第一次成熟分裂。

次级精母细胞: 初级精母细胞经第一次成熟分裂后形成次级精母细胞, 大小为初级精母细胞的一半, 位于初级精母细胞的内方。细胞染色较浅, 细胞核呈圆形, 内有着色很深的染色质颗粒。次级精母细胞的染色体数目已减少一半, 为单倍体。由于次级精母细胞的分裂间期很短, 很快就进行第二次成熟分裂, 所以在精巢中存在的时间短, 在切片中能观察到的数目有时也少, 通常为 1 或 2 层。

精子细胞: 次级精母细胞经过第二次成熟分裂, 形成精子细胞。精子细胞位于次级精母细胞的内方, 接近生精小管的管腔或深埋在支持细胞的细胞质陷窝中。精子细胞较次级精母细胞小, 细胞呈卵圆形, 细胞核染色深, 呈颗粒状或纤维状的染色质分散在核内。有的可见到精子细胞在精子形成中的不同形态变化, 如细胞变小变长, 细胞核染色质浓缩变致密, 在核的后端出现鞭毛等。

精子: 精子细胞完成分化过程形成精子。精子位于生精小管的管腔中, 精子

常聚集成束，一般头部朝向管壁。精子具有染色很深的头部和鞭毛状的尾部。

(2) 取蛙或鱼的精巢切片，置显微镜下观察，可见在精巢的外表面有一层结缔组织组成的白膜。精巢内分布着许多或呈辐射状或呈不规则状的精小叶，生精细胞位于精小叶内，并由支持细胞包裹形成精小囊。由于精小囊内的生精细胞数量增多，精小囊也逐渐扩大。在一个精小叶中可能有许多精小囊，不同精小囊内的生精细胞可能处于不同的发育期，但在同一个精小囊内的生精细胞一定是处于相同的发育期（图 1.4）。

精原细胞：精原细胞从分布和形态上可分为两种类型：靠近精小叶边缘单个分布的是初级精原细胞（primary spermatogonium），其周围被数个支持细胞所包围。初级精原细胞也是储存的干细胞，在各级生精细胞中，初级精原细胞体积最大。细胞圆形或椭圆形，细胞核大、着色浅，其中常见 1 或 2 个核仁。初级精原细胞进入增殖期形成次级精原细胞（secondary spermatogonium）。次级精原细胞体积较初级精原细胞小，细胞核着色较深。次级精原细胞往往数个聚集在一起，周围由支持细胞包裹形成精小囊，突向小叶腔。

精母细胞：次级精原细胞分裂增殖后，进入生长期，形成初级精母细胞。初级精母细胞体积比初级精原细胞小，但比次级精原细胞大。细胞核圆形或椭圆形，可见染色质处于第一次成熟分裂前期的形态。初级精母细胞完成第一次成熟分裂，形成次级精母细胞。次级精母细胞的体积只有初级精母细胞的一半，其细胞核的染色体减半，为单倍体。同样，次级精母细胞存在的时期很短，由于其很快进入并完成第二次成熟分裂，因此在精巢切片中数量很少。

精子细胞：次级精母细胞完成第二次成熟分裂，形成精子细胞。在各期生精细胞中，精子细胞体积最小。刚形成的精子细胞为圆形，细胞核中可见染色质颗粒、着色浅。精子细胞经过精子形成期形成精子，但由于体积太小在光学显微镜下难以观察其形态变化。

精子：当精子形成后，精子从精小囊中释放出来，位于精小叶腔中。在生殖季节，由于精小囊扩大，构成精小囊壁的支持细胞逐渐变薄，相邻的精小囊相互贯通，精小叶腔也随之扩大，腔中充满精子。

(3) 观察支持细胞：哺乳动物精巢中的支持细胞位于生精小管的管壁边缘，其细胞的一侧附于基膜（basement membrane）上，另一侧伸向管腔，相邻的细胞间分布着生精细胞（图 1.3）。支持细胞的特点：细胞高柱状，较大，细胞界限不整齐；细胞核着色浅，其体积比各期生精细胞的细胞核都大，位于细胞的基部或移向管腔，核表面有许多凹陷和突起，核内有一大核仁，并有 2 或 3 个随体染色质核仁（setellite karyosome）。根据这些特点，在切片中容易将支持细胞的核与生精细胞加以区分。在鱼类和两栖类，支持细胞往往位于生精细胞外或构成精小囊的囊壁，其细胞常成细长梭形，因此不易辨认（图 1.4）。

(二) 精子形态观察

(1) 精子活体观察：取活体小鼠、鱼或蛙，处死后立即解剖，取出精巢，置于盛有少量哺乳动物生理盐水或鱼类生理盐水的培养皿中，用镊子稍捣碎，精子即释放出来。吸取一滴精子悬浮液于载玻片上，盖上盖玻片，依次在低倍镜、高倍镜下观察精子的形态和活动情况。精子的活动可分为快速运动、慢速运动、原地摆动。呈快速直线运动表明精子活力好，慢速运动和原地摆动表明精子活力减弱，精子不动表明已死亡。小鼠、鱼和蛙的精子头部差别很大，小鼠的呈镰刀形；鱼呈圆球形；而蛙的呈棒状。

(2) 取小鼠的精子涂片，在油镜下仔细观察精子的典型结构（图 1.5）。

精子头部（head）略呈镰刀形，几乎全部为致密的核所占据，前端稍尖，称为顶体（acrosome）。

精子尾部（tail）分尾部颈段（neck region）、中段（middle piece）、主段（principal piece）和末段（end piece）。尾部颈段为球形的小结节，位于头部核的后方，极短。中段位于颈部之后，中央有一轴丝（axoneme），轴丝周围绕以由线粒体形成的螺旋状的线粒体鞘（mitochondrial sheath），在轴丝外周有致密纤维。主段上接中段，外周亦有致密纤维。末段接主段之后，中贯有由中段延伸来的轴丝，无致密纤维，外周为极薄的质膜包裹。

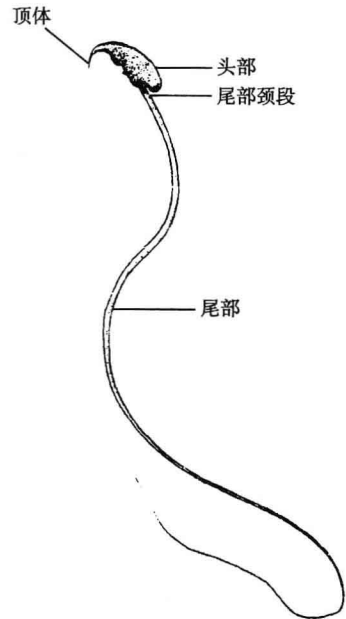


图 1.5 在光学显微镜下观察的小鼠精子结构

参考文献

- 陈大元. 2000. 受精生物学——受精机制与生殖工程. 北京：科学出版社.
- 丁汉波，仝允栩，黄浙. 1987. 发育生物学. 北京：高等教育出版社.
- 楼允东. 1999. 组织胚胎学. 2 版. 北京：中国农业出版社.
- 张天荫. 1996. 动物胚胎学. 济南：山东科学技术出版社.
- Balinsky B I. 1975. An Introduction to Embryology. 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Rugh R. 1977. A Guide to Vertebrate Development. 7th ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company.
- Rugh R. 1990. The Mouse: Its Reproduction and Development. New York: Oxford University Press.
- Tyler M S. 2000. Developmental Biology: A Guide for Experimental Study. 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

实验二 卵子的发生

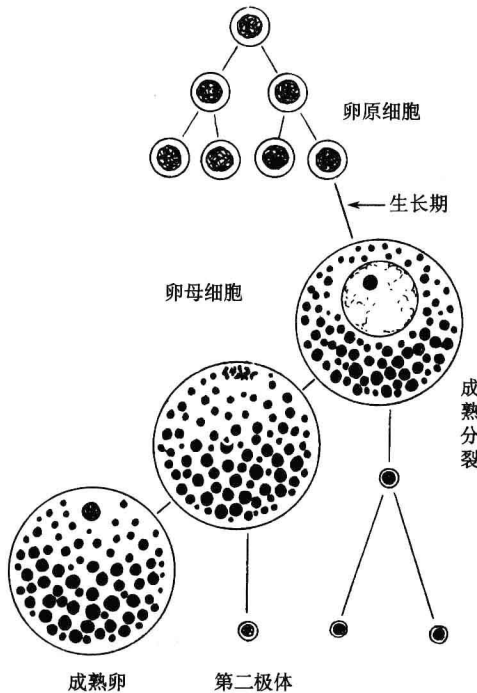


图 2.1 卵子发生过程图解
(Balinsky, 1975)

卵子的发生在卵巢 (ovary) 内进行。生殖细胞有卵原细胞 (oogonium)、初级卵母细胞 (primary oocyte)、次级卵母细胞 (secondary oocyte) 和卵细胞 (ootid)。卵子的发生过程与精子的发生有很多相似之处, 如都要经历增殖期、生长期和成熟期这几个发育阶段, 形成卵子也要完成二次的成熟分裂。但在初级卵母细胞完成第一次成熟分裂后, 只形成一个大的次级卵母细胞并排出一个体积极小的第一个极体 (first polar body)。大多数脊椎动物的卵子发育至此时期即排卵, 因此人们习惯上把次级卵母细胞称为卵子。此时, 次级卵母细胞的细胞核是处于第二次成熟分裂的中期, 必须在精子入卵后次级卵母细胞 (卵子) 迅速完成第二次成熟分裂, 并排出第二个极体 (secondary polar

body), 极体在随后的发育中丢弃掉 (图 2.1)。

在卵母细胞的生长过程中有一个很重要的发育阶段, 即营养物质的累积阶段。在一些动物中表现为卵黄的生成, 如鱼类、两栖类、爬行类和鸟类; 在一些动物则较少卵黄生成, 如哺乳动物。因此由于卵子的类型不同, 卵子的发生在形态上也有较大的差别。此外, 由于各类动物生殖规律的差异, 有些动物的卵巢在幼体出生后就无卵原细胞, 只有发育不同时期的初级卵母细胞, 如鸟类和哺乳动物。

在卵母细胞外还分布着与精巢支持细胞功能相似的细胞, 称为滤泡细胞 (follicle cell)。滤泡细胞将卵母细胞包裹, 因此合并称其为滤泡或卵泡 (follicle)。

一、实验目的

(1) 通过观察各种动物卵子的标本，区别均黄卵、中黄卵、端黄卵和中央黄卵。

(2) 通过观察哺乳动物和鱼类的卵巢切片标本，了解卵巢结构和不同动物卵子发生过程及特点。

二、材料、仪器、试剂

(一) 材料

各类动物卵子的浸置标本或整体装片、哺乳动物的卵巢切片 (H. E. 染色)、鱼类的卵巢切片 (H. E. 染色)。

(二) 仪器用具

普通显微镜、体视显微镜、培养皿、吸管、洁净的玻片。

三、实验观察

(一) 卵子的类型

取各类动物卵子的标本或整体装片，用显微镜或体视显微镜观察，并比较其异同。

卵子通常呈圆形或椭圆形。卵子内的细胞核常位于动物极 (animal pole)。胞质中含有卵黄 (yolk)，作为胚胎发育的营养物质。不同动物，卵内所含的卵黄量不同。根据卵内所含卵黄的多寡，及其在卵中分布的情形不同，可将卵分为 4 种类型 (图 2.2)。

(1) 均黄卵 (isolecithal egg)：卵黄极少且均匀分布于卵质中，如文昌鱼卵、哺乳动物卵及海胆等多数无脊椎动物的卵。

(2) 中黄卵 (mesolecithal egg)：这类卵子含卵黄量中等，卵黄在卵子中的分布也不均匀，胞质中含卵黄较多的一端称为植物半球 (vegetal hemisphere)，如两栖类的卵。

(3) 端黄卵 (telolecithal egg)：卵黄丰富且分布于卵子的大部分区域，细胞质集中在靠近动物极的较小区域，内含细胞核，如鱼类、爬行类和鸟类的卵子。

(4) 中央黄卵 (centrolecithal egg)：卵黄丰富，集中于卵子的中央，细胞质位于卵黄外方卵子的周围，细胞核位于卵子的中央，如昆虫的卵子。