

三倍体雌性虹鳟卵巢发育的类雄性化趋势

韩英¹, 刘蔓¹, 张澜澜², 李海龙¹

(1. 东北农业大学 动物科学技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省渔业经济研究所, 黑龙江 哈尔滨 150018)

摘要: 以4~35月龄三倍体雌性虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)为实验材料,以同源二倍体为对照,采用组织学和放射免疫方法,从性腺发育和生殖激素变化2个方面对其类雄性化现象进行了研究,并分析了类雄性化的原因。结果表明,三倍体虹鳟的卵原细胞可正常发育至卵黄发育前期卵母细胞(8月龄左右),此后卵母细胞败育,基质细胞包围卵原细胞形成卵原细胞簇,17月龄后卵巢中卵原细胞簇减少,出现与雄性精小囊结构相似的一类生精细胞囊结构;26~35月龄类生精细胞囊逐渐成为性腺的主要成分,在类生精细胞囊内出现大量坏死的细胞;13月龄后三倍体雌性虹鳟血清中GtH-I、GtH-II、 17β -E₂含量显著低于同期二倍体虹鳟,睾酮(T)在21月龄后持续上升,并显著高于同期二倍体($P<0.05$)。17月龄后三倍体雌性虹鳟卵巢发育呈现类雄性化趋势,但不能完成精子发生全部过程。由于性腺中生殖细胞与体细胞之间正常的相互作用缺失,合成类固醇的滤泡细胞发育分化受阻, T芳化为 17β -E₂途径中断,导致血液中T浓度升高,进而使性原细胞的分化受到了诱导,因而卵巢发育呈现类雄性化趋势。[中国水产科学, 2010, 17(4): 739-744]

关键词: 三倍体雌性虹鳟; 类雄性化; 卵巢发育; 生殖激素

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0739-06

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)是重要的冷水性养殖鱼类,在中国已有50年的养殖历史。由于长期的近亲繁殖以及缺乏系统的选育,虹鳟养殖中出现了性早熟、个体小型化、病害滋生等问题。三倍体虹鳟雌性不育,可将用于生殖的能量用于体细胞生长,因此个体较二倍体虹鳟大、群体产量高,含肉率高,并可避免生殖过程中生长衰退、肉质降低和死亡加剧等不良影响,因而得到广泛利用^[1-2],在法国、英国和日本,三倍体虹鳟养殖已成功进入商业化生产,在中国也进入了实用化生产阶段。

中国三倍体虹鳟制种技术较为成熟,但有关三倍体虹鳟的生殖发育研究较为滞后。据Krisfalusi等^[3]报道,三倍体虹鳟卵巢发育异常,其卵母细胞缺失、滞育或畸形;Lincoln等^[4]、Carrasco等^[5]研究报道,三倍体雌性虹鳟在10~15月龄卵巢中出现

生精样细胞。上述研究多取材于某一发育阶段,仅研究了性腺组织学或生殖激素某一方面,缺乏对整个发育过程及生殖调控的系统了解,也未就其发育趋势和机理进行深入探讨。本实验以二倍体虹鳟为对照,对4~35月龄三倍体雌性虹鳟的性腺和配子发育进行组织学研究,并同步测定促卵黄生成激素(GtH-I)、促性腺成熟激素(GtH-II)、 17β -雌二醇(17β -E₂)和睾酮(T)的变化,旨在系统了解三倍体雌性虹鳟性腺发育全过程及其生殖调控特点,并对三倍体雌性虹鳟类雄性化趋势及其原因进行分析,旨在为该品种的育种和养殖生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源

实验用鱼来源于黑龙江水产研究所渤海实验

收稿日期: 2009-09-11; 修订日期: 2010-01-11.

基金项目: 黑龙江省科技攻关项目(GA06B203).

作者简介: 韩英(1963-),女,教授,博士生导师,主要从事水生动物遗传育种与繁殖的研究. E-mail: hanying_606@163.com

站。采卵后,进行人工授精,一半卵正常孵化,用于培育对照所用二倍体;另一半卵采用热休克法诱导三倍体,受精后 10 min, 26 ℃ 处理 20 min。冷泉水流水养殖,水温 10 ~ 18 ℃。经红细胞体积法和流式细胞法确定其倍性^[6]。随机抽取受精后发育正常的 4 ~ 35 月龄(用于显微和超微切片)、11 ~ 35 月龄(用于生殖激素测定)三倍体和二倍体虹鳟各 30 尾,用 0.5 mL/L 苯氧乙醇麻醉 2 ~ 3 min 后,将样本编号标记,先采集血样,后采集性腺样本。

1.2 光镜和电镜切片制作

三倍体虹鳟从外观上难以分辨性别,必须通过解剖观察。4 月龄性腺性别肉眼无法确定,只能标记后切片观察。8 月龄后卵巢表面有微血管,用肉眼即可与精巢区分开来。剖腹采集性腺并用 PBS 冲洗血渍,经 Bouin's 液固定,石蜡包埋,HE 染色,切片厚度 5 μm,样本在 Olympus-CH20 显微镜下观察, Moticam480 系统采集图像;同时采集电镜样本,用 2.5% 戊二醛固定,环氧树脂-812 包埋,醋酸双氧铀、柠檬酸铅染色,切片厚度 5 000 ~ 7 000 nm,样本在 TecnaiG2 型透射电子显微镜下观察、拍照。

1.3 性激素测定

尾静脉采血,制备血清, -80 ℃ 保存待测。根据解剖和切片结果,对照标记,选取雌性血样,采用放射免疫法测定 GtH-I、GtH-II、 17β -E₂ 和 T 含量,放免试剂盒为北京华英生物技术研究生产(¹²⁵I-Na 为英国 Amersham 公司生产, GtH-I、GtH-II、 17β -E₂ 和 T 抗原及抗体为美国 SIGMA 公司生产)。

1.4 数据处理

数据分析采用 SPSS 软件进行, Excel 制图。

2 结果与分析

2.1 性腺发育

4 ~ 8 月龄三倍体虹鳟卵巢发育与二倍体无异。4 月龄卵巢呈透明线状,被腹膜形成的白膜所包被,白膜下为柱状上皮,卵巢中仅有靠近卵巢基膜的椭圆形卵原细胞,胞径 $(21.34 \pm 2.91) \mu\text{m}$, 大于二倍体 $[(16.45 \pm 3.55) \mu\text{m}]$; 卵原细胞核占据细胞的大部分,

核中央有 1 个较大核仁,核旁有类核周体;基质中分布少量基质细胞,无滤泡细胞。8 月龄卵巢透明扁带状,表面有少量微血管,内部出现产卵板,卵母细胞发育至卵黄发生前期,直径为 $(34.20 \pm 8.10) \mu\text{m}$, 核仁多个分布于核膜内侧并有外排现象;胞质中出现外周环;卵母细胞外有单层扁平的鞘膜细胞(图版 I-a);电镜下卵母细胞核内可见联会复合体。

10 ~ 13 月龄三倍体卵巢呈粉红色三棱状,发育出现异常。卵母细胞染色质聚集于核中央或一侧,出现破裂、坏死等败育现象(图版 I-b);多个卵原细胞被基质细胞包围,形成卵原细胞簇(oogonial cluster, 图版 I-c),簇内常可见坏死的卵原细胞(图版 I-d),其旁可见核膜清晰、核仁较大的吞噬细胞,细胞内可见吞噬囊泡(图版 I-e)。卵原细胞簇壁较厚,基质细胞异常发达,形状不规则,胞质富含线粒体和核糖体,无滑面内质网。基质细胞与卵原细胞间紧密连接,无微绒毛结构(图版 I-f)。卵巢基膜附近有少量卵原细胞游离于卵原细胞簇之外。

17 月龄后性腺前部仍为三棱状,后部线状。卵巢中除了卵原细胞簇之外,还出现了与雄性精小囊结构相似的类生精细胞囊(spermatogenic-like cytocyst)结构(图版 I-g)。类生精细胞囊壁比卵原细胞簇壁薄,囊内类生精细胞深染,胞径 $(12.36 \pm 2.42) \mu\text{m}$, 比卵原细胞小而数量多,染色质呈颗粒状,胞膜不清。26 ~ 35 月龄依然有少量的卵原细胞簇,而类生精细胞囊成为性腺主要成分,卵巢类雄性化更为明显。囊壁基质细胞分化出柱状的类支持细胞和长梭形类边界细胞(图版 I-h)。结缔组织发达,部分区域成纤维细胞深入生殖细胞之间将其分隔、包围(图版 I-i)。26 月龄后类生精细胞囊内出现大量坏死的细胞(图版 I-j)。基膜附近有少量残存的卵母细胞,其外有正常发育的滤泡膜。解剖样本中未观察到精液。

17 月龄和 26 月龄样本中,分别有 4 尾和 5 尾出现了小管样结构(图版 I-k)。管腔中有泡状、胶状物质,管壁中可见具椭圆形深染核的细胞。35 月龄有 1 尾样本电镜下可见管内壁有密集的纤毛,管腔中有形状不规则的细胞,核内染色质浓聚,核外有极薄

且多空泡的胞质,似败育的精子细胞,管腔内有数根轴丝,其横切面显示由微丝组成,似精子尾部(图版I-I)。

2.2 生殖激素含量的变化

三倍体雌性虹鳟血液GtH-I水平在11~13月龄与二倍体无显著差异,13月龄后呈现不规则波动,与二倍体差异显著($P<0.05$);血液GtH-II水平在

11~17月龄与二倍体无显著差异,但在21月龄出现峰值,显著高于同期二倍体($P<0.05$); 17β -E₂在整个检测期间呈低水平波动,11~13月龄与二倍体无显著差异,21~35月龄有增加的趋势,但显著低于同期二倍体($P<0.05$);血液T水平呈逐渐上升趋势,26月龄后显著增加($P<0.05$),并显著高于同期二倍体($P<0.05$),详见表1。

表1 不同倍性雌性虹鳟血清中生殖激素的含量变化
Tab. 1 Content of reproductive hormone in serum of different ploidy female *Oncorhynchus mykiss*
n=30; $\bar{x}\pm SD$

激素 Hormone	月龄 Age of months	二倍体 2n	三倍体 3n	激素 Hormone	月龄 Age of months	二倍体 2n	三倍体 3n
GtH-I/ (IU · mL ⁻¹)	11	19.76±2.63 ^A _b	20.88±3.02 ^A _a	GtH-II/ (IU · mL ⁻¹)	11	15.13±2.30 ^A _c	15.26±2.65 ^A _c
	13	18.17±3.57 ^A _b	21.31±3.36 ^A _a		13	15.03±2.54 ^A _c	18.46±5.35 ^A _c
	17	20.26±3.95 ^A _b	7.93±1.45 ^B _c		17	22.47±3.78 ^A _b	18.98±4.15 ^A _c
	21	21.89±6.29 ^A _b	14.65±4.14 ^B _b		21	21.98±3.52 ^A _b	65.01±14.56 ^B _a
	26	24.99±3.96 ^A _a	14.97±2.59 ^B _b		26	23.33±4.54 ^A _{ab}	13.34±1.98 ^B _c
	31	27.02±3.54 ^A _c	5.74±1.52 ^A _c		31	35.76±3.16 ^A _a	15.04±4.16 ^B _c
	35	4.90±1.24 ^A _d	7.01±1.03 ^A _c		35	39.25±5.12 ^A _a	23.54±9.24 ^B _c
17β -E ₂ / (pg · mL ⁻¹)	11	52.17±14.03 ^A _d	36.42±12.14 ^A _c	T/ (ng · mL ⁻¹)	11	8.67±4.29 ^A _d	7.19±1.54 ^A _d
	13	60.46±19.45 ^A _d	49.32±19.23 ^A _c		13	28.49±12.52 ^A _c	34.79±10.86 ^A _c
	17	70.13±26.53 ^A _d	38.82±20.89 ^B _c		17	50.06±12.65 ^A _c	62.65±14.53 ^A _b
	21	103.16±24.29 ^A _d	45.93±20.87 ^B _c		21	44.67±12.58 ^A _c	79.77±19.41 ^B _b
	26	278.65±55.26 ^A _c	51.09±19.53 ^B _c		26	136.70±24.19 ^A _b	191.74±28.29 ^B _a
	31	591.43±76.53 ^A _a	105.43±32.87 ^B _b		31	176.54±20.46 ^A _b	265.74±26.87 ^B _a
	35	169.14±29.87 ^A _e	193.44±41.59 ^B _a		35	231.78±89.26 ^A _a	396.12±98.43 ^B _b

注:同行上标表示倍性差异,同列下标表示月龄差异;相同字母表示差异不显著($P>0.05$),相邻字母表示差异显著($P<0.05$),相同字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: Superscripts represent contrast of different ploidy in the same series; subscripts represent contrast of different months in the same line. Same letters represent no significant difference ($P>0.05$); close together letters represent significant difference ($P<0.05$); parting letters represent exceedingly significant difference ($P<0.01$).

3 讨论

3.1 类雄性化的组织学分析

三倍体虹鳟卵巢经历了异常的发育过程,其主要特点是卵原细胞的持续存在、类精子发生区域的逐渐出现和非卵泡成分的极度发达。卵原细胞可正常发育至卵黄发育前期卵母细胞,此后卵母细胞败育出现卵原细胞簇,再发育到出现类生精细胞囊,与卵原细胞簇并存,最后类生精细胞囊成为性腺的主要成分,卵巢呈现类雄性化。

多倍体动物卵巢发育过程中出现精巢样结构

并非偶然。三倍体鸡卵巢能够逐渐转变为卵精巢^[7];三倍体两栖类减数分裂前卵母细胞退化,性腺最终向雄性逆转^[8];Carrasco等^[5]报道了三倍体虹鳟卵母细胞可发育至皮质泡出现,15月龄后卵巢中出现生精样细胞,呈现雌雄嵌合现象,随后许多雄性分化区进入精子发生晚期,在胞囊中心可见形态异常的精子;Krisfalusi等^[3]在10月龄三倍体虹鳟卵巢中也发现了生精样细胞;桂建芳等^[9]在三倍体水晶彩鲫卵巢中发现有类似于精巢的组织;成嘉^[10]在四倍体鲫鲤杂种雌性F₁的卵巢中,发现许多分化程度较低的

小细胞,其排列似精巢中呈囊状排列、进行同步分裂的精原细胞,并将其称之为精原样细胞;刘少军等^[11]发现三倍体湘云鲫卵巢主要由体积较小、分化程度较低、呈囊状排列的细胞组成。

性腺的分化与发育涉及复杂的生殖细胞-体细胞的相互作用。Hashimoto等^[12]研究发现,小鼠卵巢体细胞分化需要特定的体细胞与生殖细胞的相互作用,而精巢体细胞则不需这种互作,可自动分化为支持细胞和间质细胞。关于三倍体卵巢发育中体细胞的变化未见报道。本实验在观察三倍体虹鳟卵巢中生殖细胞变化的同时,还观察了性腺体细胞的相应变化,即最初由基质细胞分化为滤泡细胞,然后随着卵泡的败育和卵原细胞簇出现,基质细胞包围卵原细胞,直至分化出类边界细胞、类支持细胞。三倍体虹鳟卵巢中卵原细胞簇壁有异常发达的基质细胞,其胞质中没有能够分泌类固醇的滑面内质网,与卵母细胞间没有微绒毛通道,从而阻止了生殖细胞和体细胞的相互作用,抑制了恰当的滤泡细胞分化。在这种情况下,卵巢体细胞有可能自动分化为雄性支持细胞,分泌雄性类固醇,导致卵巢重组成为生精组织。这一推测尚需进一步的细胞学和分子生物学实验所证明。

35月龄样本电镜下观察到败育的类精子细胞和精子尾部的鞭毛。Carrasco等^[5]也发现44月龄三倍体虹鳟卵巢雄性分化区虽已进入精子发生晚期,但精子形态异常。实验结果表明,尽管三倍体卵巢类雄性化,但不能完成正常的精子发生,这是染色体三倍化所致。三倍性对雄性虹鳟的影响主要在于精子发生的最终阶段,导致出现大量败育的精子细胞和少量形态异常的精子^[5]。

3.2 类雄性化的生理学分析

与二倍体相比,三倍体雌性虹鳟生殖激素分泌水平在13月龄(GtH-I、 17β -E₂)后和17月龄(GtH-II、T)后出现了异常,说明随着性腺结构的改变,其生殖内分泌机制也发生了相应的变化。

Kobayashi等^[13]、中村将等^[14]和Lincolntffu^[15]对虹鳟,以及Basant等^[16]和Schafhauser等^[17]对三倍体

美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)的研究结果表明,雌性三倍体鱼类血液T含量低于二倍体。本实验结果显示,三倍体雌性虹鳟血液T含量在21月龄后持续上升,高于同期二倍体,其原因与卵巢组织结构的变异有关。卵巢中滤泡细胞分为外层的鞘膜细胞和内层的颗粒细胞层,鞘膜细胞先出现,然后再分化出颗粒细胞。鞘膜细胞层在GtH作用下由胆固醇合成T,然后转移到颗粒细胞层,芳化为 17β -E₂。三倍体雌性虹鳟8月龄卵巢中已出现单层的鞘膜细胞但始终未见颗粒细胞,导致T不能芳化为 17β -E₂而积累,呈现较高水平。体细胞诱导信号或性腺类固醇激素环境对生殖细胞的分化直至配子形成有重要的作用。较高含量的睾酮使三倍体雌性虹鳟性原细胞的分化受到了诱导,此研究结果从生殖内分泌角度为三倍体雌性虹鳟发育后期的类雄性化趋势提供了新的证据。三倍体雌性虹鳟各发育期肝脏、血液和性腺组织中卵黄蛋白原均呈阴性^[18],说明低水平的 17β -E₂不足以诱导肝脏合成卵黄蛋白原,卵泡中的卵母细胞也就不能完成卵黄发生和成熟,导致败育。

根据上述组织切片、超微切片以及生殖激素分泌水平分析可以确定,三倍体雌性虹鳟在性腺发育过程中逐渐呈现类雄性化。而其卵巢中的类生精细胞形态结构与精巢的生精细胞很相似,能否确认类生精细胞就是生精细胞,尚有待于进一步的实验证明。

参考文献:

- [1] 王炳谦,徐连伟,贾钟贺,等. 热休克诱导全雌虹鳟三倍体[J]. 水产学杂志,2005,18(2): 22-27.
- [2] Krisfalusi M, Cloud J.G. Gonadal sex reversal in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. J Exp Zool Part A: Comparative Experimental Biology, 1999,284(4): 466-472.
- [3] Krisfalusi M, Wheeler P A, Thorgaard G H, et al. Gonadal Morphology of Female Diploid Gynogenetic and Triploid Rainbow Trout [J]. J Exp Zool, 2000,286: 505-512.
- [4] Lincoln R F, Scott A P. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. J Fish Biol, 2006,25(4): 385-392.
- [5] Carrasco L A P, Oroshov S D, Penman D J, et al. Long-term quantitative analysis of gametogenesis in autotriploid rainbow trout,

- Oncorhynchus mykiss* [J]. J Reprod Fert, 1998, 113: 197–210.
- [6] 韩英, 张澜澜, 王琨, 等. 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 多倍体的倍性鉴定 [J]. 东北农业大学学报, 2008, 39 (2): 222–227.
- [7] Lin M, Thorne M H, Martin I C, et al. Development of the gonads in the triploid (ZZW and ZZZ) fowl, *Gallus domesticus*, and comparison with normal diploid males (ZW) [J]. Reprod Fert Dev, 1995, 7: 1185–1197.
- [8] Humphrey R R, Briggs R, Fankhauser G. Sex differentiation in triploid *Rana pipiens* larvae and the subsequent reversal of females to males [J]. J Exp Zool, 1950, 115: 399–428.
- [9] 桂建芳, 肖武汉, 陈丽, 等. 人工三倍体水晶彩鲫的性腺发育 [J]. 动物学报, 1991, 37 (3): 297–304.
- [10] 成嘉. 鲫鲤杂种 F1 性腺发育及雄性配子染色体加倍机制的研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2005.
- [11] 刘少军, 胡芳, 周工建, 等. 三倍体湘云鲫繁殖季节的性腺结构观察 [J]. 水生生物学报, 2000, 24 (4): 301–306.
- [12] Hashimoto N, Kubokawa R, Yamazaki K, et al. Germ cell deficiency causes testis cord differentiation in reconstituted mouse fetal ovaries [J]. J Exp Zool, 1990, 253: 61–70.
- [13] Kobayashi T, Fushiki S, Sakai N, et al. Oogenesis and changes in the levels of reproductive hormones in triploid female rainbow trout [J]. Fish Sci, 1998, 64: 206–215.
- [14] 中村将, 长浜嘉孝, 岩桥正雄, 等. ニジマス三倍体雌の生殖腺と血中マテロイドホルモン [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1987, 53 (6): 1105.
- [15] Lincoln R F, Scott A P. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. J Fish Biol, 1984, 25: 385–392.
- [16] Basant K T, Kirubakaran R, Ray A K. The biology of triploid fish. Reviews in Fish [J]. Biol Fish, 2004, 14: 391–402.
- [17] Schafhauser S D, Benfey T J. The reproductive physiology of three age classes of adult female diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*) [J]. Fish Physiol Biochem, 2001, 25: 319–333.
- [18] 韩英, 王琨, 张颖, 等. 不同倍性虹鳟卵黄蛋白原的组织定位 [J]. 水产学报, 2008, 32 (4): 566–571.

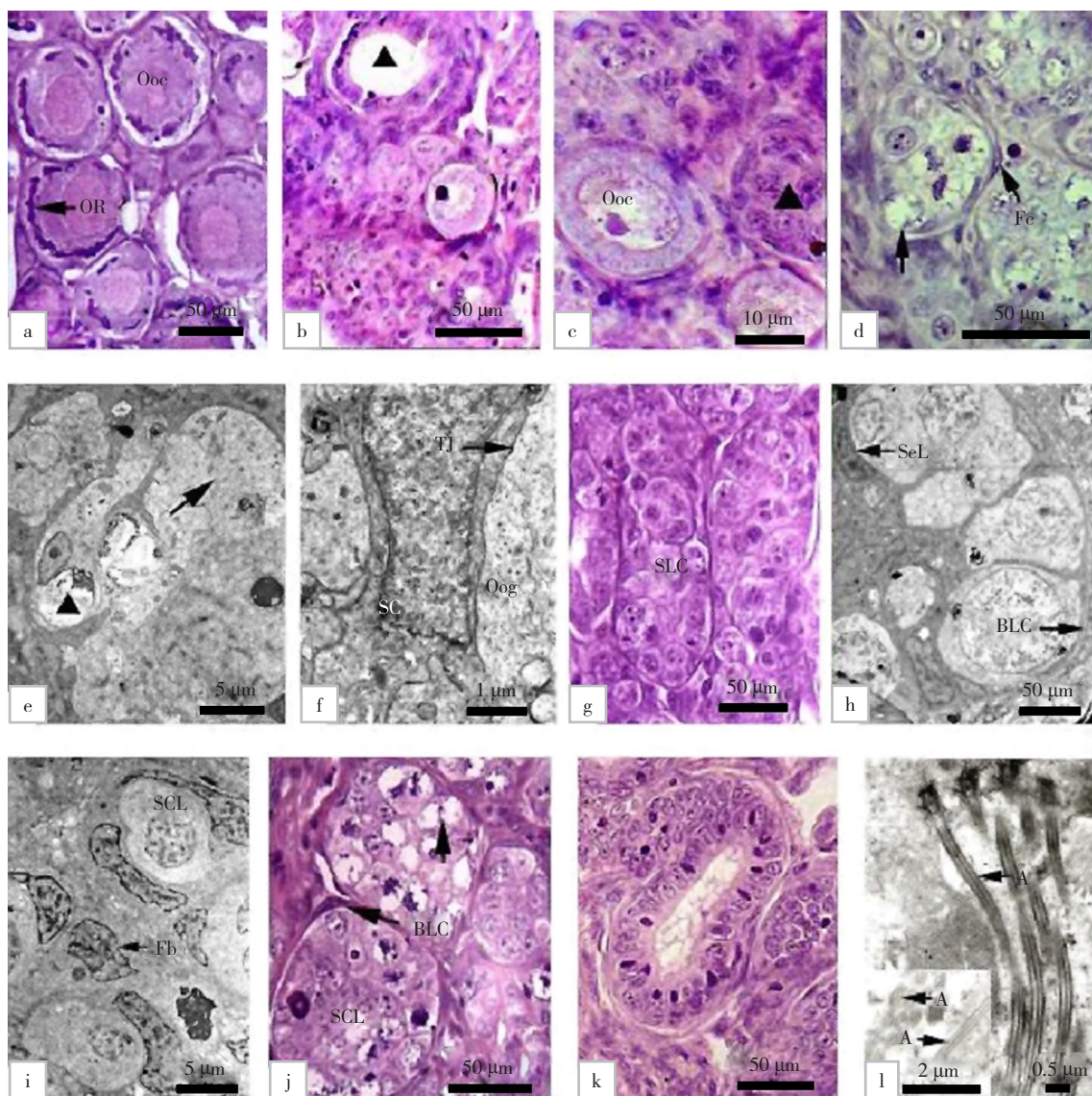
Virilescent-like tendency of triploid female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the process of ovarian development

HAN Ying¹, LIU Man¹, ZHANG Lanlan², LI Hailong¹

(1. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Heilongjiang Fisheries Economy Research Institute, Harbin 150018, China)

Abstract: Triploid female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of 4–35 months old were sampled (diploids at the same stage as controls) and analyzed using histological and radioimmunoassay. From two aspects of both gonadal development and changes of reproductive hormone, we tried to explore the virilescent-like phenomenon and find out the mechanism of it. The results displayed that oogonium of triploid could normally develop into prophase oocytes of vitelline development at about 8 months old after these necrosis occurred. Oogonium were surrounded by stroma cells to form oogonial cluster, after 17 months old when the number of oogonial cluster decreased, forming a structure which resembled spermatogonial cysts in male and were named spermatogenic-like cytocysts. Spermatogenic-like cytocysts became the major components of gonad in the samples from 26 to 35 months old, and many necrotic cells were in it. Blood hormone levels of GtH-I, GtH-II and 17β -E₂ were significantly lower than those in diploid after 13 months old, respectively. Blood T level experienced a constantly rising process after 21 months old and was higher than that in diploid ($P < 0.05$). The results indicated that 17-month-old triploid female presented a tendency of virilescent, but did not experience the whole process of spermatogenesis. Because of lack of normal interactions of somatic cells and germinal cells, development and differentiation of follicle cells in which steroid synthesized were blocked, the path of T arylated as 17β -E₂ was interrupted, resulting in a rising level of blood T and then inducing the differentiation of gonocytes, making the gonad present the trend of virilescent. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (4): 739–744]

Key words: triploid female rainbow trout; virilescent-like phenomenon; ovarian development; reproductive hormone



a) 8月龄卵巢, Ooc: 卵母细胞, OR: 外周环; b) 11月龄卵巢, ▲: 坏死的卵母细胞; c) 10月龄卵巢中的卵原细胞簇(▲); d) 13月龄卵巢, Fc: 滤泡细胞, ↑: 坏死的卵原细胞; e) 13月龄卵巢, ▲: 吞噬泡, ↑: 坏死的卵原细胞; f) 13月龄卵巢, Oog: 卵原细胞, SC: 基质细胞, TJ: 紧密连接; g) 17月龄卵巢, 示类生精细胞囊SLC; h) 26月龄卵巢, BLC: 类边界细胞, SeL: 类支持细胞; i) 35月龄卵巢, Fb: 成纤维细胞, SCL: 类生精细胞; j) 35月龄卵巢, ↑: 坏死的类生精细胞; k) 26月龄卵巢中管状结构; l) 26月龄卵巢小管腔内结构, A: 轴丝

a) 8-month old ovary, Ooc: oocyte, OR: outer ring; b) 11-month old ovary, ▲: oocyte of necrosis; c) Oogonium clusters in 10-month old samples (▲); d) 13-month old ovary, Fc: follicle cell, ↑: oogonium of necrosis; e) 13-month old ovary, ▲: phagocytotic vesicle, ↑: oogonium of necrosis; f) 13-month old ovary, Oog: oogonium, SC: stroma cell, TJ: tight junction; g) 17-month old ovary, SLC: spermatogenic-like cytotest; h) 26-month old ovary, SeL: sertoli-like cell, BLC: boundary-like cell; i) 35-month old ovary, Fb: fibroblast, SCL: spermatogenic cell-like; j) 35-month old ovary, ↑: spermatogenic cell-like of necrosis; k) Tubule-like structure in 26-month old ovary; l) The lumen in 26-month old ovary, A: axial filament