

研究简报

扬子鳄胚胎发育后期端脑背侧区的超微结构观察

杨传秀 陈壁辉

(安徽师范大学生物系, 芜湖 241000)

THE LATER EMBRYONIC DEVELOPMENT OF
DORSAL-LATERAL AREA IN *ALLIGATOR SINENSIS*
TELENCEPHALON: AN ULTRASTRUCTURAL STUDY

YANG Chuangxiu and CHEN Bihui

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

关键词: 扬子鳄; 端脑; 背侧区; 胚胎发育; 超微结构

Key words: *Alligator sinensis*; Telencephalon; Dorsolateral area; Embryonic development; Ultrastructure

中图分类号: S966.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2001)01-005

背侧区位于大脑半球的外侧沟和终沟之间, 向脑腔突入, 几乎占满整个脑腔, 有视觉、听觉和躯体感觉等重要功能, 一些作者称它为脑室背嵴(Dorsal ventricular ridge)。爬行类成体端脑背侧区的形态学和超微结构研究在国外有所报道^[1-3], 而其胚胎发育详细资料只见于 1987 年 Yanes 对蜥蜴背侧区的研究^[4]。扬子鳄(*Alligator sinensis* Fauvel)为国家重点保护动物之一, 研究其组织胚胎结构在系统进化和饲养方面有着重要意义, 同时也可填补国内在爬行类脑研究上的空白。

1 材料和方法

孵化 40d、50d 的扬子鳄胚胎各 2 个, 刚孵出小鳄两条, 采自安徽省扬子鳄繁殖研究中心。戊巴比妥钠麻醉, 打开颅腔, 揭开大脑皮层, 取出各自的背侧区, 立即置 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液(pH7.2), 于 4℃ 冰箱内固定 24h, 2% 四氧化钨后固定 2h, Epon812 环氧树脂包埋。半薄切片用甲苯胺蓝、焦油紫、硫堇、次甲基蓝混合染液染色; 超薄切片用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色。日立 H-600 型电镜观察拍照。

2 结果和讨论

2.1 孵化 40d 胚胎的端脑背侧区

2.1.1 脑的体积相对较小。光镜下, 背侧区细胞较稠密, 室管细胞 3—4 层, 所有细胞均较小, 但较均匀。与鸟类相似, 扬子鳄背侧区细胞是由室管膜细胞分裂、分化迁移而来的。电镜下, 室管膜及下层不见分裂细胞存在, 说明此时的胚胎发育过程是细胞生长、分化、成熟的过程。室管下层细胞最为幼稚, 核

收稿日期: 1999-06-20; 修订日期: 2000-03-20
基金项目: 国家自然科学基金资助课题 编号: 39470092; 安徽省教委基金资助 编号: 99JL0084
作者简介: 杨传秀(1975—), 女, 安徽省怀远县人; 硕士; 从事两栖爬行动物学研究。现在工作单位: 皖南医学院生理学教研室, 芜湖 241001

较大,有些略呈钝角三角形,异染色质凝聚成团,部分附着于核内膜;胞质清亮或稍暗,含有大量的核糖体,胞器少,主要为线粒体和泡状的内质网小池,线粒体形状多样且较膨胀(图版 I : 1)。这些细胞已向外出发出一些突起,特点是含有大量的,密布的微丝,微管,有的突起顶端含有许多直径很小的小泡(图版 I : 2),此结构 Cajal 称之为生长锥。突起内也含有一些细胞器,主要是线粒体和内质网小池。位于背侧区中心的神经细胞密度较大,比室管下层细胞大一些,稀一些。所有的神经细胞都比较幼稚,并处于不同的发育阶段。较幼嫩的细胞特征同嗅球以及蜥蜴的背侧区^[4]、纹状体^[5]、大脑皮层^[6]等处的幼嫩细胞特征相似。根据这些细胞的不同特征可将其分为三型。

I 型:数量多,约占总数的 50% 左右。胞体小,核大,核质较暗,类似室管下层细胞。胞质较少,清亮,几乎不含细胞器,偶见线粒体和泡状的内质网终池。突起少,含有大量的微丝(图版 I : 3)。

II 型:约占总数的 10%。细胞稍大,核质仍较暗,异染色质凝聚成稍小的团块,部分呈点状贴附于核内膜上。核周隙膨胀,外核膜不规则,呈波状起伏,这可能是由于旺盛的细胞代谢引起的。胞质内含少量线粒体和泡状的内质网小池(图版 I : 3、4)。细胞近端突起的内容物与细胞相似,稍远端的突起内除含少量细胞器外,还有少量微丝,随突起的向外延伸,微丝,微管的含量增高,细胞器主要为线粒体。突起末端几乎全由平行排列的微管组成。

III 型:约占总数的 40% 左右。特征与 II 型细胞相似,但核质比 II 型细胞清亮(图版 I : 4);这可能是由于随着细胞发育,部分异染色质活化,解聚成常染色质,进行转录,翻译,合成细胞生长所必需的蛋白质,促使核质变得清亮。III 型细胞在 50d 及孵出期均能见到,而且一些较成熟细胞的核也与其核相似,可能是因为细胞核的发育先于细胞质。胞质含有板层小体。突起可分出轴突和树突,轴突内含有大量的微丝、微管,胞器较少。树突内微管与其长轴平行排列。

2.1.2 靠近室管下层,个别细胞的胞核高度凝集,胞质正常,此为神经细胞的核固缩型死亡(图版 I : 5)。

2.1.3 突触结构已发生,数量不多,大多突触面较窄,突触小泡少,体积大,或不含突触小泡(图版 I : 6),有的小泡内有致密核心(图版 I : 7)。个别突触发育较好,大量很小的突触小泡紧密堆叠在一起(图版 I : 8),与孵出期大脑半球其他各部位的突触结构相似。突触连结大多为不对称型。

2.2 孵化 50d 胚胎端脑背侧区

2.2.1 光镜下,室管膜已由单层细胞组成。位于背侧区中心的细胞与 40d 相比明显稀疏。电镜下显示,细胞埋在神经毡中,体积稍大,大多单个游离排列,少数 2—3 个聚集在一起,细胞仍较幼稚,几乎见不到成熟的神经细胞,但也同样处于不同的发育时期,有些类似 40d 胚胎中的 III 型细胞,外核膜呈波状。多数细胞的胞核较清亮,内、外核膜平行,异染色质的含量较少。细胞质内含有大量的圆形线粒体及圆形的粗面内质网小池(图版 II : 9),并有板层小体出现,少数细胞的板层小体结构相当发达。胶质细胞已发生,胞质、核质的电子致密度均较高,细胞器结构不清晰。

2.2.2 突触较丰富,部分与 40d 的相似,突触小泡较少或不含突触小泡,有的有核心,类似图 6、7。大多数突触发育较好,突触小泡小而紧密堆积,类似图 8。

2.3 孵出期端脑背侧区

2.3.1 光镜下室管膜由单层立方细胞组成,室管膜下层细胞较稀疏,胞体小,深层细胞分布较均匀,胞体较大。电镜下显示,神经毡较丰富,部分细胞单个游离排列,部分 4—5 个聚集成团,紧密堆集在一起,细胞之间无间隙,也不见任何连接结构。单 4 游离排列细胞和聚集成团的相间排列。这种细胞聚集成团现象在蜥蜴背侧区的后期胚胎发育中也存在^[4],不同的是,蜥蜴的成团细胞排列在脑室的表面,出生后,每团聚集的细胞数量增至 5—8 个。Diaz 等报道,蜥蜴背侧区表层聚集成团的神经细胞与中心单个游离的神经细胞所接受的传入冲动是不同的^[7],Yanes 等报道,另一种蜥蜴(*Gallotia gallotia*)和蛇,成团细胞中细胞的形态和大小不同,并且胞体之间出现了缝隙连接结构^[8],Berry 等认为它们之间很可能通过电突触传递信息^[9]。这说明细胞的聚集具有一定的功能意义。扬子鳄与蜥蜴背侧区细胞聚集都发生

在胚胎后期,但细胞的排布不同,这从一个方面说明它们在进化上是由一个主干发出的不同分枝。

2.3.2 细胞仍然处于不同的发育阶段,即使同一团细胞,其发育程度也各不相同。靠近脑腔的神经细胞比较幼嫩,与40d的较相似,胞体小,核膜呈波状;位于背侧区中心的神经细胞较成熟(图版II:10),核圆且大,核孔较少,常染色质均匀,清亮,异染色质凝聚成团,分布均匀,不再与内核膜相贴。核糖体大多聚集成玫瑰花环状。线粒体丰富,高尔基体数量较多,发育程度不一。内质网小池短杆状,板层小体也较丰富。背侧区中心较幼稚的细胞发育相似于50d时的细胞状态(图版II:11)。这说明扬子鳄的背侧区在胚后仍要进行一段时间的发育才能完善。蜥蜴背侧区的神经细胞分化、成熟在出生前的较短期内完成^[4];而哺乳类^[10],胚后很长时间仍能见到不同发育阶段的神经细胞。就神经细胞产生发展成最终形式,并具备功能所持续的时间而言,扬子鳄介于蜥蜴和哺乳类之间,这与它们端脑背侧区的结构复杂程度相一致,扬子鳄介于蜥蜴和哺乳类之间。胶质细胞的数量仍然不多。

2.3.3 少数细胞,胞质较暗,线粒体、内质网及高尔基体的囊腔均较膨胀,尤其是内质网,胞质被这些膨胀的囊腔分割的好象是由一些胞质条构成。核也不甚规则,此为胞质降解型死亡的神经细胞(图版II:12)。因此,扬子鳄背侧区有两种细胞死亡类型,即核固缩型死亡和胞质降解型死亡。这与Trujillo在蜥蜴及其他脊椎动物胎脑中所观察到的死亡细胞特征及出现时期相似^[11],说明神经细胞死亡现象在脊椎动物中具普遍性。

2.3.4 突触较丰富,发育较好,突触小泡圆形,清亮,紧密堆积,绝大多数突触仍为不对称型。通过40d、50d及和孵出期突触的特征,扬子鳄突触发育的顺序可概括为:突触前、后膜增厚,开始,突触面很窄,随着发育进程,突触面逐渐变宽。最初,突触小泡很少,且大,有多种形态,有的具致密核心,与Lüth^[12]研究结果一致。后期,突触小泡大量出现并变小,呈单一的清亮型,堆积紧密,这是扬子鳄的特点,和已报道的其他脊椎动物明显不同。从孵化40d胚胎到孵出,扬子鳄端脑背侧区几乎只含不对称型突触,早期的突触形态同蜥蜴背侧区,大脑皮层及鸡胚上纹状体内的突触均相似^[6],但蜥蜴胚胎发育40d以后便出现的轴-体型及对称型突触,在扬子鳄却很少见。哺乳类的大鼠,其突触形成的高峰期一般在出生后的6—7d和13—14d,6—7d形成的主要是不对称型突触,13—14d形成的主要是对称型突触。鳄类背侧区也可能有两次突触形成期,一次在胚前,一次在胚后。就突触发育完善出现时间而言,刚好介于有鳞类和哺乳类之间。

参考文献:

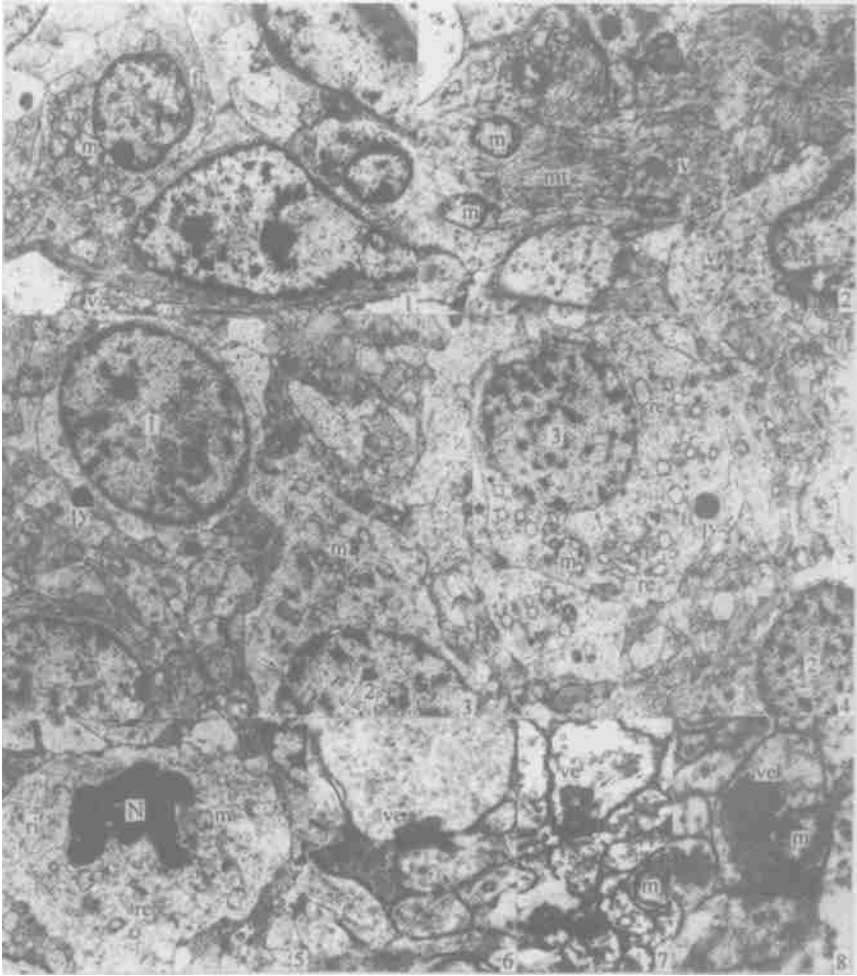
- [1] Ulinki P S. Dorsal Ventricular Ridge. A Treatise on Forebrain Organization in Reptiles and Birds [M]. New York: John Wiley & Sons. 1983
- [2] Balaban C D. Structure of anterior dorsal ventricular ridge in the turtle (*Pseudemys scripta elegans*) [J]. *J. Morph.* 1978, 158: 291—322.
- [3] Northcutt R G. Forebrain and midbrain organization in lizards and its evolutionary significance. N. Greeberg and F. D. M. A. clean (eds): The Behavior and Neurology of Lizard [M]. Rockville, MD: NIMH, 1978, 11—64
- [4] Yanes C, Perez Batista, M A., Martin Trujillo J M. Anterior Dorsal ventricular Ridge in the Lizard: Embryonic Development [J]. *J. Morph.* 1987, 194: 55—64
- [5] C. Yanes M A, Perez Batista, Martin Trujillo J M. Development of the ventral striatum in the lizard *Gallotia gallotia* [J]. *J. Anat.* 1989, 164: 93—100
- [6] Goffinet A M. The embryonic development of cortical plate in reptiles: a comparative study in *Emys orbicularis* and *Laerta agilis* [J]. *J. Comp. Neurol.* 1983, 215: 437—452.
- [7] C. Díaz, C. Yanes Medina L, Monzón M. et al. Golgi study of the Anterior Dorsal Ventricular Ridge in a Lizard. 1. Neuronal Typology in the Adult [J]. *J. Morph.* 1990, 203: 293—300.
- [8] Yanes C. Ontogénesis de las Areas Telencefálicas de *Gallotia gallotia* (Reptile Lacertidae) [Z]. Doctoral Thesis Univ La Laguna Spain. 1985

[9] Berry M S. and V W. Pentreath. The integrative properties of eletrotonic synapses. Comp [J]. *Biochem. Physiol.* : 1977, **57** A: 289—295

[10] Sturrock R R. A developmental study of the mouse neostriatum [J]. *J. Anat* : 1980, **130**: 243—261.

[11] Trujillo C M. Yanes C M, Marrero A. Cell death in the embryonic brain of *Gallotiagalloti*(Reptilia:Lacertidea) . a structural and ultrastructural study. *J. Anat* :1987, **150**: 11—21.

[12] Lüth H J Zur Morphologie reticularer Endigungen in Strukturen des visuellen systems adulter and juveniler Ratter versuch einer funktionellen Interpretation. Diss B. Karl Marx U niversitat Leipzig. 1983



图版 I

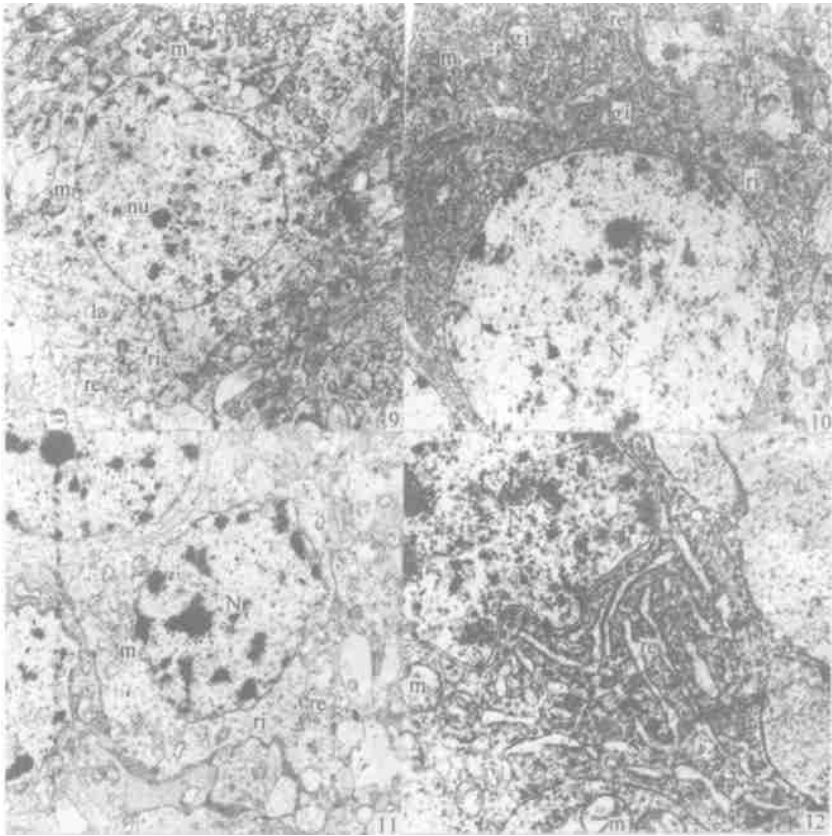
1. 孵化 40d 胚胎室管下层细胞× 6000; 2. 孵化 40d 胚胎室管下层细胞突起× 12000; 3. 孵化 40d 胚胎背侧区 I 型和 II 型细胞. 1. I 型细胞, 2. II 型细胞, ↑ : 膨胀的核周隙× 5000; 4. 孵化 40d 胚胎背侧区 III型细胞. ↑ : 膨胀的核周隙, 2. II 型细胞, 3. III型细胞× 4000; 5. 孵化 40d 胚胎背侧区胞核死亡型细胞, 细胞核高度凝聚× 4000; 6. 孵化 40d 胚胎背侧区较幼嫩的突触, 突触小泡较少. × 25000; 7. 孵化 40d 胚胎背侧区较幼嫩突触, 突触小泡内含致密核心(↑) × 25000; 8. 孵化 40d 胚胎背侧区发育较好的突触, 小泡紧密堆积. × 25000.

m. 线粒体, f. 微丝, v. 生长锥内小泡, mt. 微管, ly. 溶酶体, re. 内质网, N. 细胞核, ri. 核糖体, ve. 突触小泡.

1. The cells of subependymal layer on the 40th day of incubation. × 6000; 2. The processes of subependymal cells on the 40th day of incubation mt. microtubules, × 12000; 3. The first and second type cells of dorsaf lateral area on the 40th day of

incubation. 1. the first type cell, 2. the second type cell, m. mitochondrion, † : the dilator perinuclear space. × 5000; 4. The third type cell of dorsaf lateral area on the 40th day of incubation. † : The dilator perinuclear space, 2. the second type cell, 3. the third type cell. × 4000; 5. A dead neuron with a strongly pycnotic nucleus on the 40th day of incubation. re. endoplasmic reticulum, gi golgiosome, × 4000; 6. The juvenile synapse with few synapse vesicles on the 40th day of incubation. × 25000; 7. The juvenile synapse on the 40th day of incubation, the synapse vesicles have dark cores(†). × 25000; 8. The well developed synapse on the 40th day of incubation, the synapse vesicle compact closely. × 25000.

m. mitochondrion, f. microfilament, v. vesicle of growth pyramid, ly. lysosime, re. endoplasmic, N. nuclear, ve. synapse vesicle.



图版 II

9. 孵化 50d 胚胎背侧区中占优势的神经细胞. × 4000; 10. 孵出期背侧区发育较好的神经细胞. × 6000; 11. 孵出期背侧区成团细胞中较幼稚的神经细胞. × 4000; 12. 孵出期胞质死亡型神经细胞, 内质网较膨胀. × 15000.

nu. 核仁, ri. 核糖体, la. 板层小体, gi. 高尔基体, N. 细胞核, m. 线粒体, re. 内质网

9. The predominant neurons of dorsaf lateral area on the 50th day of incubation. mitochondrion, re. endoplasmic reticulum, la. layer body. × 4000; 10. The well developed neurons of dorsaf lateral area on the incubation period. × 6000; 11. The juvenile neurons in cell group of dorsaf lateral area on the incubation period. × 4000; 12. A neuron shows cytoplasmic degeneration affecting especilly cistern dilatation on the incubation period× 15000.

nu. nucleolus, gi. golgiosome, ri. ribosome, N. nuclear, m. mitochondrion, re. endoplasmic