

7.0~18.5 d 猪胚胎的形态学研究

孙瑞珍^{1,2}, 刘世超², 胡魁², 金连弘¹, 雷蕾¹, 刘忠华^{2*}

(1. 哈尔滨医科大学 组织学与胚胎学教研室, 胚胎与干细胞工程校重点实验室, 哈尔滨 150081;

2. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 本研究旨在观察猪胚胎的外观形态学变化以及器官原基的发生, 为器官发生研究及建立人类疾病模型提供基础。收集 7.0~18.5 d 猪胚胎, 通过体式显微镜观察外观形态学; 石蜡切片、HE 染色观察 14.0~18.5 d 胚胎器官原基发生。结果表明, 7.0~7.5 d 囊胚孵化; 12.0~12.5 d 形成线性胚胎, 进入原条期; 14.0~14.5 d 进入体节期。器官原基跟踪显示, 肾的发生: 15.0~15.5 d 形成前肾, 16.0~16.5 d 转变成中肾, 18.0~18.5 d 仍处于中肾阶段; 脑的发生: 15.0~15.5 d 前、中脑清晰, 18.0~18.5 d 可见 4 个脑泡, 出现端脑; 眼的发生: 15.0~15.5 d 可见视泡, 18.0~18.5 d, 可见视杯; 胃和肝的发生: 16.0~16.5 d 形成胃芽、肝芽, 18.0~18.5 d 形成肝索; 心脏的发生: 18.0~18.5 d 可见心房、心室和瓣膜。18.0~18.5 d 观察到支气管树。上述结果表明, 猪胚胎发育在 15.0~18.5 d 时心、肝、肾、脑、肺、胃及肢芽等原基已发生。

关键词: 形态学; 器官原基; 猪

中图分类号: S828; Q954.48

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)01-0023-08

Morphological Study of Porcine Embryos at 7.0-18.5 Days Postcoitum

SUN Rui-zhen^{1,2}, LIU Shi-chao², HU Kui², JIN Lian-hong¹, LEI Lei¹, LIU Zhong-hua^{2*}

(1. *Department of Histology and Embryology, Embryo and Stem Cell Engineering Laboratory, Harbin Medical University, Harbin 150081, China;*

2. *College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China*)

Abstract: Through investigating morphological changes and organ primordia formation of the porcine embryos, we want to lay the foundation for organogenesis study in pig, and for utilization of pigs as the model of human disease. Porcine embryos from day 7.0 to 18.5 post-insemination were collected to observe appearance of embryos by stereomicroscopy. Organ primordial of 14.0-18.5 d embryos were inquired using paraffin section and HE staining. The results showed that blastocysts had hatched from zona pellicuda at 7.0-7.5 d. The majority of conceptuses were filamentous, and the primitive streak emerged at 12.0-12.5 d. And embryos were in somite stage at 14.0-14.5 d. The data of tracking organ primordial were shown as follows. For renal formation, the pronephros appeared at 15.0-15.5 d, and the mesonephros emerged at 16.0-16.5 d and remained at 18.0-18.5 d. For brain development, the prosencephalon and the mesencephalon were clearly visible at 15.0-15.5 d. Four brain vesicles and telencephalon were observed at 18.0-18.5 d. For eyes formation, optic vesicle appeared at 15.0-15.5 d, and optic cup was showed at 18.0-18.5 d. For stomach and liver, the buds emerged at 16.0-16.5 d, and liver bud transformed into hepatic cord at 18.0-18.5 d. For heart generation, atrium and ventricle as well as valves were formed at 18.0-18.5 d. The results showed that bronchial tree was observed at 18.0-18.5 d. These results indicate that heart, liver, kidney, brain, lung, stom-

收稿日期: 2013-07-06

基金项目: 国家重点基础研究项目 973 课题(2011CB944202; 2009CB941002)

作者简介: 孙瑞珍(1983-), 女, 内蒙古凉城人, 博士生, 主要从事组织胚胎学研究, E-mail: srz_1983@126.com

* 通信作者: 刘忠华, 教授, E-mail: liu086@yahoo.com

ach, limb buds, etc. are beginning to form during 15.0-18.5 d.

Key words: morphology; organ primordial; pig

随着生命科学和生物医药产业的迅猛发展, 选用试验动物的要求越来越高。大型试验动物中, 猪与人在解剖学和生理结构方面相近, 且器官大小适宜, 是理想的疾病模型和器官移植研究材料。因此, 对猪胚胎发育以及器官发生的研究具有重要意义。B. M. Patten^[1]描述了猪的胚胎发育, 为猪胚胎发育研究奠定了基础。M. Vejlsted 等^[2-3]对约克夏长白猪和杜洛克大白猪杂交的 8~17 d 胚胎进行了体视显微镜观察, 将这一阶段的胚胎发育分成 6 个时期, 即在 11~13 d 进入原条期, 14~15 d 进入体节期。H. W. van Straaten 等^[4]对梅山猪 14~18 d 胚胎通过体节变化, 分期观察了期间的神经管闭合过程。N. M. Soede 等^[5]对梅山猪和约克夏长白猪杂交的 17、19、21 d 胚胎的体节、体长、重量指标进行了评估, 并报道 2 个品系的猪胚胎在 3 个发育阶段的状态无差异。顾为望^[6]对西藏小型猪 20~60 d 胚胎发育过程中的主要器官心、肝、脾、肾、肺、生殖腺、神经系统以及消化系统的发生和发育进行了详细描述。但是目前对 14~18 d 猪胚胎还没有详细的形态学研究的报道。长白和大白猪产仔性能好, 瘦肉率高, 增重速度快, 饲料利用率高, 在生产中发挥着极其重要的作用。因此, 本研究选用大白或长白猪为研究对象, 观察 7.0~18.5 d 胚胎的外观形态学变化, 应用石蜡切片观察 14.0~18.5 d 胚胎器官原基发生。

1 材料与方法

1.1 试验动物及材料

本研究所用试验猪均购自哈尔滨市三元畜产实业有限公司, 由东北农业大学家畜胚胎工程实验室实验猪基地饲养和管理。母猪 8 月龄以上, 体重 120~200 kg, 0~2 产大白或长白猪; 公猪 12 月龄, 美系大白猪, 营养水平良好。母猪喂料后半小时表现安静时, 每天上下午各 1 次进行 2 次发情鉴定, 观察母猪的外阴、分泌物、行为及其他方面的表现和变化。确定进入发情期后, 选早晨 8:30-9:00 或下午 16:30-17:00 与公猪交配, 24 h 内配种 2 次, 最后 1 次配种时间记为胚胎 0.0 d, 按天数收集材料, 胎龄记为 0.0~0.5 d。本研究分别取胎龄 7.0~18.5 d 共 24 头妊娠母猪子宫储存于带有 37 °C 预热的 5%

胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS, Gibco)-磷酸缓冲液(Phosphate buffer, PBS)保温瓶, 1 h 内运输到实验室。剔除子宫系膜, 把子宫分成 2 部分, 从子宫颈一侧注入大约 100 mL 预热的 5% FBS-PBS, 轻轻挤压子宫, 收集胚胎于大皿中。用玻璃针去除包裹胚胎的胎盘及羊膜组织, 并对胚胎进行观察、测量及照相。

1.2 方法

1.2.1 石蜡包埋、切片 收集的胚胎用 4% 多聚甲醛-0.01 mol · L⁻¹ PBS (pH 7.2) 4 °C 固定过夜。之后梯度酒精(70%、80%、90%、95%、100% 酒精 I、II)脱水, 时间依次各 30 min; 接着用二甲苯 I、II 透明各 10 min; 浸蜡: 不同熔点蜡 I、II、III 各 30 min, 石蜡包埋。每个胎龄选取 4 个样本进行连续石蜡切片(石蜡切片机, Leica, 德国), 切片厚度为 4 μm。

1.2.2 HE 染色 按切片编号顺序, 进行二甲苯脱蜡, 逆梯度酒精水化, 常规苏木素伊红染色, 之后脱水中性树胶封片, 观察。

2 结果

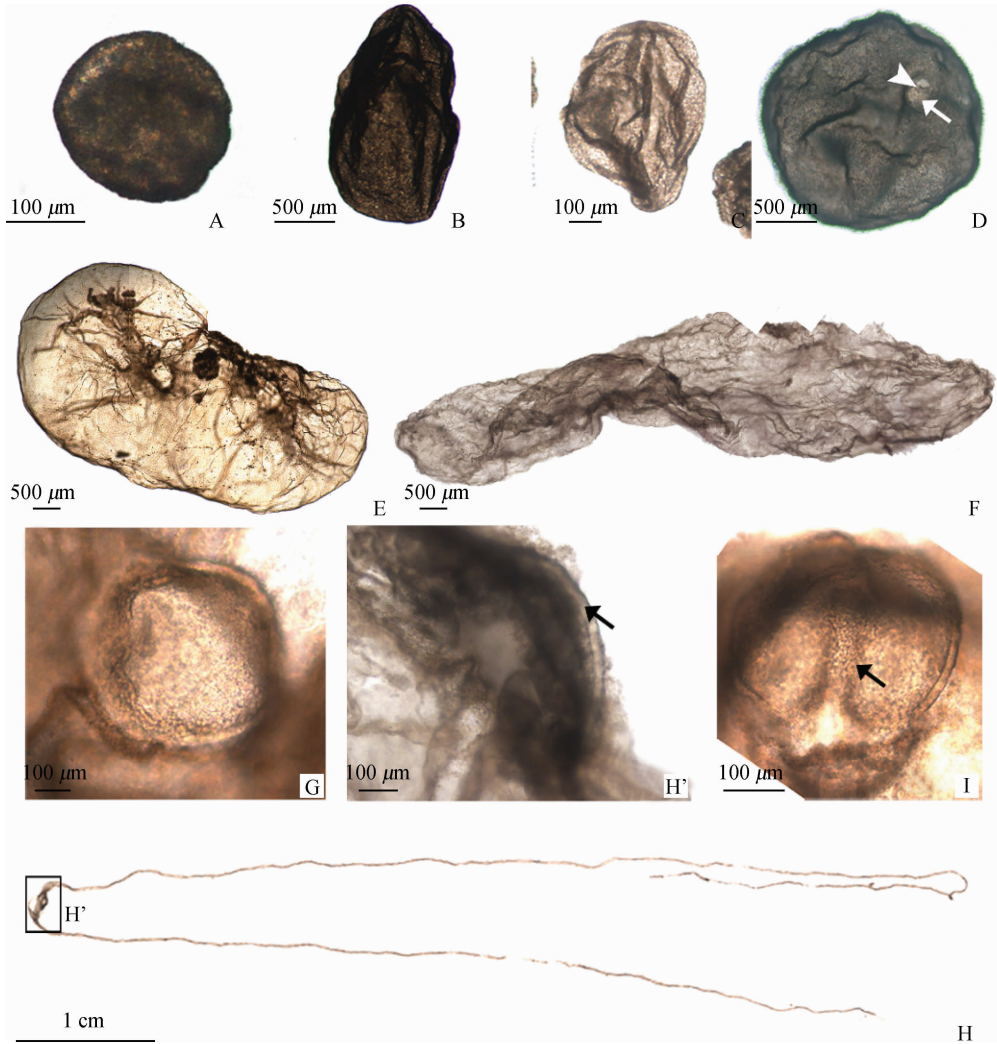
2.1 孵化后胚胎形态学变化

收集猪体内胚胎结果显示 7.0~7.5 d 猪胚胎孵化, 如图 1A 所示, 形态呈球型, 直径 187.5~250.0 μm。8.0~11.5 d, 孕体形态经历扩张的球型、卵圆和管状变化, 如图 1B~F 所示。在这些胚胎中, 当极滋养层(Rauber's layer, Rb)部分(图 1D)或全部丢失时(图 1E), 胚体呈现可见的亮点。11.0~11.5 d, 孕体出现管状(图 1E、F)和线性(图 1G)。线性胚胎背面可见胚体与胚外组织有明显的界限, 胚体出现前后轴向(图 1G)。12.0~12.5 d, 孕体以线性为主, 长度达 17 cm 以上, 沿前后轴方向胚体中央位置出现原条, 如图 1H、H' 所示。13.0~13.5 d 时, 线性的孕体达 74 cm 以上, 原条中央凹陷, 结果见图 1I。

观察 14.0~14.5 d 胚胎, 结果如图 2 所示, 胚体可见前后羊膜褶(图 2A); 且光镜下可见 3~8 对体节(图 2A、B)和清晰的神经沟。在 8 对体节时期, 前端出现膨大, 可见敞开的神经板(图 2B)。15.0~15.5 d, 圆柱体胚体开始扭曲形成 C 型结构(图 2C), 有 14~15 对体节, 尿囊外突, 羊膜包裹胚

体,腹侧可见心脏位置,头侧弯曲,有视泡区域和局部膨大的前脑和中脑,末脑不明显。16.0~16.5 d 胚胎与 15.0~15.5 d 相比,形态变化不明显,呈现更加弯曲的 C 型。17.0~17.5 d,头侧膨大,脑泡清

晰可见(图 2D)。18.0~18.5 d,脑区有 5 个小的膨大,脑泡下方出现额鼻隆起,头区有 4 个膨大(图 2E)。对收集的 15.0~18.5 d 胚胎头尾轴长度统计结果见表 1。



A. 7.0~7.5 d 胚胎;B. 8.0~8.5 d 胚胎;C. 9.0~9.5 d 胚胎;D. 10.0~10.5 d 胚胎,箭头指 Rb,箭指胚体;E、F. 11.0~11.5 d 的管状胚胎;G. 11.0~11.5 d 线性胚胎的胚体;H. 12.0~12.5 d 孕体,H'. 对胚体位置的放大;I. 13.0~13.5 d 胚胎

A. 7.0-7.5 d hatched blastocyst;B. 8.0-8.5 d blastocyst;C. 9.0-9.5 d blastocyst;D. 10.0-10.5 d blastocyst; Arrow-head and arrow indicate Rauber's layer and embryo proper, respectively;E、F. Tubular conceptus at 11.0-11.5 d;G. Embryo proper of filamentous conceptus at 11.0-11.5 d;H. 12-12.5 d conceptus;H'. Embryo proper was enlarged for H;I. 13.0-13.5 d embryo proper

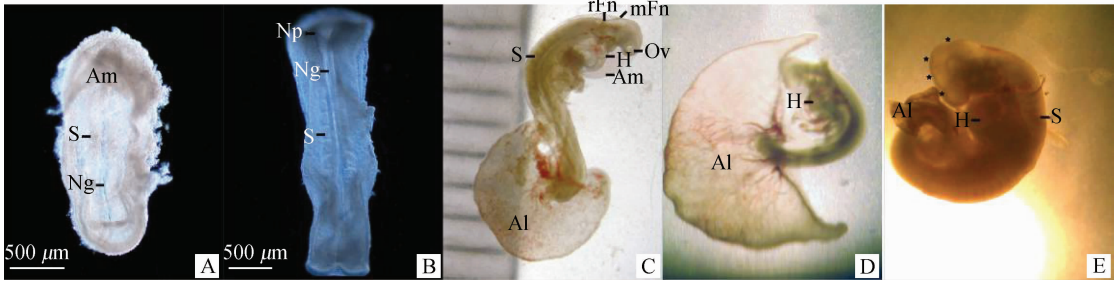
图 1 7.0~13.5 d 胚胎形态变化

Fig. 1 Morphology change on 7.0-13.5 d hatched embryos

表 1 15.0~18.5 d 体节期猪胚胎头尾轴长度统计表

Table 1 Length of cephalocaudal axis in porcine embryos from 15.0-18.5 d at somite stage

项目 Item	胎龄/d Embryo age			
	15.0~15.5	16.0~16.5	17.0~17.5	18.0~18.5
胚胎数(n) Embryos number	10	9	10	11
长度/mm Length	5.13±0.79	3.93±1.21	3.50±1.27	5.73±0.52



A. 3 对体节时期, 14.0~14.5 d 胚胎; B. 8 对体节时期, 14.0~14.5 d 胚胎; C. 15.0~15.5 d 形成“C”型胚胎; D. 17.0~17.5 d 胚胎, E. 18.0~18.5 d 胚胎。星号标记脑分区。S. 体节; Ng. 神经管; Am. 羊膜; Np. 神经板; Ov. 视泡; mEn. 中脑; rEn. 菱脑; Al. 尿囊; H. 心球

A. 3 pairs somites at 14.0-14.5 d embryos; B. 8 pairs somites at 14.0-14.5 d embryos; C. “C” embryo at 15.0-15.5 d; D. Embryo at 17.0-17.5 d; E. Embryo at 18.0-18.5 d; Asterisk indicated region of brain; S. Somite; Ng. Neural groove; Am. Amnion; Np. Neural plate; Ov. Optic vesicle; mEn. Mesencephali; rEn. Rhombencephalon; Al. Allantois; H. Heart

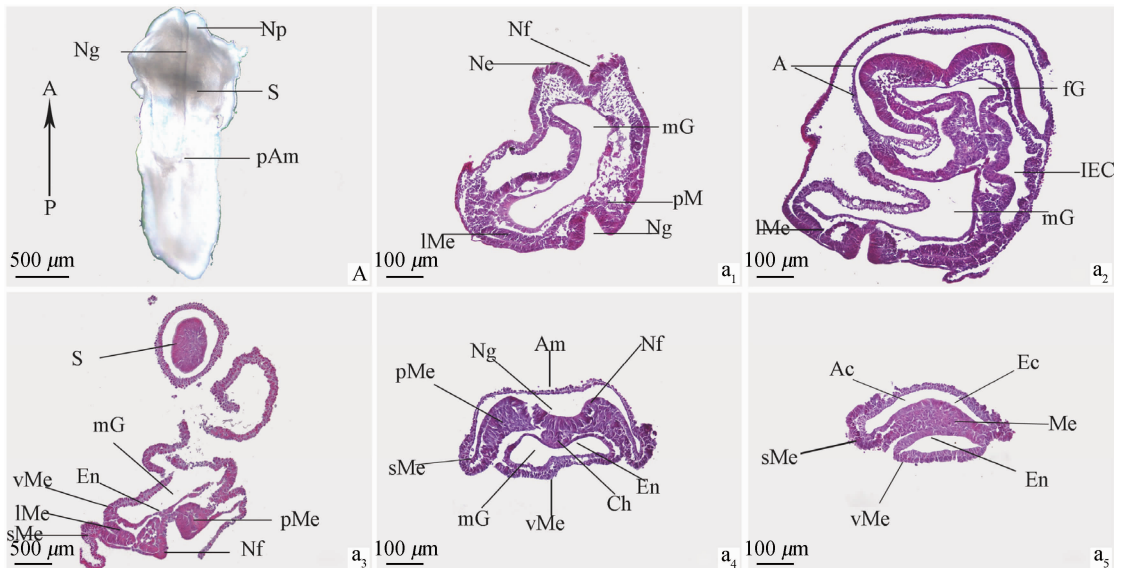
图 2 14.0~18.5 d 体内猪胚胎发育过程中形态学变化

Fig. 2 Morphology change upon development *in vivo* porcine embryos from 14.0-18.5 d

2.2 14.0~18.5 d 猪胚胎器官原基形成及分化

形态观察结果显示 14.0 d 开始, 胚胎发育进入体节时期。为了进一步追踪进入体节期胚胎发生的事件, 本研究对上述 14.0~18.5 d 胚胎进行组织学切片观察。结果显示, 在 14.0~14.5 d 时, 4~5 对体节时期, 原肠形成, 且分为了前肠、中肠(图 3a₁、a₂、a₃)。中胚层由脊索中央向两侧对称分化, 依次

形成轴旁中胚层、间介中胚层和侧中胚层(图 3a₁~a₃)。轴旁中胚层分化形成体节(图 3a₃)。中胚层沿着胚外外胚层和内胚层围绕形成了体壁中胚层和脏壁中胚层(图 3a₁ 和 a₅)。胚外外胚层和体壁中胚层向背侧折叠形成羊膜腔, 围绕胚体, 内胚层与脏中胚层向腹侧卷曲形成后肠(图 3a₄ 和 a₅)。



A. 4~5 对体节光镜图; a₁~a₅. 图 A 胚胎从 P-A 方向连续切片。A-P. 头尾轴向。S. 体节; Ng. 神经管; Np. 神经板; Am. 羊膜; pAm. 后羊膜褶; Nf. 神经褶; Ne. 神经外胚层; fG. 前肠; mG. 中肠; lMe. 侧中胚层; pMe. 轴旁中胚层; vMe. 脏中胚层; sMe. 体壁中胚层; Ch. 脊索; En. 内胚层; Ec. 外胚层; Ac. 羊膜腔

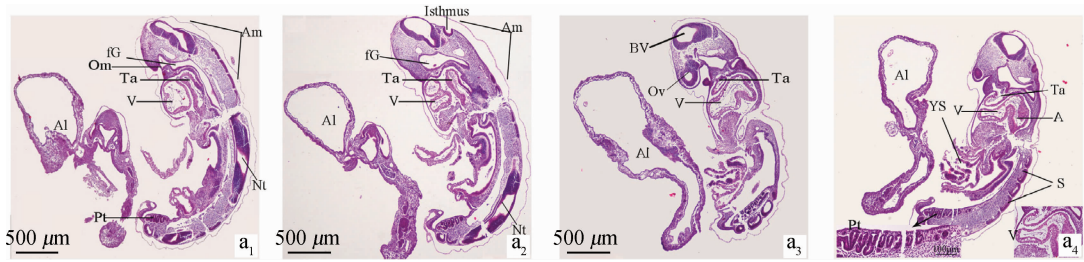
A. Stereomicroscopical result of embryos at 4-5 pairs somites stage. a₁-a₅. Serially sections of embryos in A. A-P. Anterior-posterior axis. S. Somite; Ng. Neural groove; Np. Neural plate; Am. Amnion; pAm. Posterior amnion; Nf. Neural fold; Ne. Neural ectoderm; fG. Fore-gut; mG. Mid-gut; lMe. Lateral mesoderm; pMe. Paraxial mesoderm; vMe. Visceral mesoderm; sMe. Somite mesoderm; Ch. Chord; En. Endoderm; Ec. Ectoderm; Ac. Amnion cavity

图 3 14.0~14.5 d, 4~5 对体节时期胚胎

Fig. 3 14.0-14.5 d embryos at 4-5 pairs somite stage

15.0~15.5 d 时,15 对体节的胚胎组织切片结果如图 4。此时期羊膜包裹胚体;可见心室球和心房球,动脉干(图 4a₁);神经管闭合形成脑泡,可分出前脑、中脑,菱脑不明显(图 2c、4a₂),前脑有视泡

存在(图 4a₃);原肠前端封闭形成口咽膜(图 4a₁);生肾节形成的细胞索中间出现空腔,形成前肾小管,在体腔内侧并排纵向排列(图 4a₃)。



a₁~a₄. 连续切片结果图。S. 体节;Om. 口咽膜;Am. 羊膜;Nt. 神经管;fG. 前肠;Ta. 主动脉干;V. 心室;Al. 尿囊;Pt. 前肾管;Isthmus. 菱脑峡部;A. 心房球;BV. 脑泡;Ov. 视泡;YS. 卵黄囊

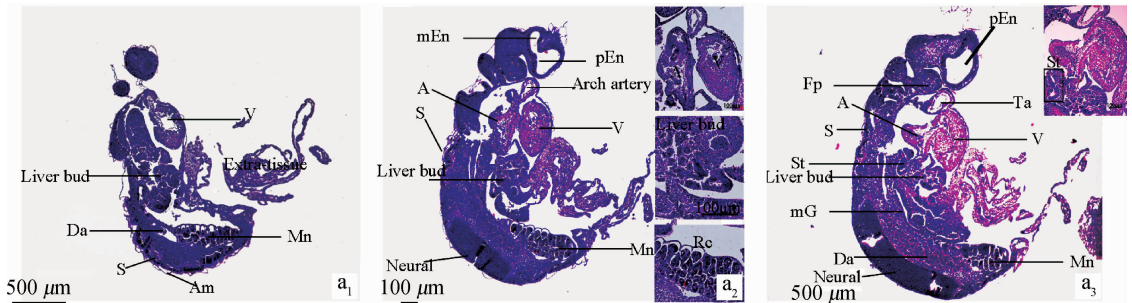
a₁-a₄. Serially sections for D15 embryos. S. Somites; Om. Oropharyngeal membrane; Am. Amnion; Nt. Neural tube; fG. Fore-gut; Ta. truncus arteriosus; V. Ventricle; Al. Allantois; Pt. Pronephros tube; Isthmus. Isthmus; A. Atrium; BV. Brain vesicle; Ov. Optic vesicle; YS. Yolk sac

图 4 15.0~15.5 d,15 对体节期胚胎组织切片形态图

Fig. 4 15.0-15.5 d embryos at 15 pairs somite stage

16.0~16.5 d 时,胚胎组织切片结果见图 5。此时期胚体头端腹侧面出现隆起(图 5a₃);前肠末端分化形成胃、肝芽(图 5a₂ 和 a₃);出现前脑腔,其最后形成两侧大脑半球内的侧脑室,中脑、菱脑明显

(图 2D,5a₂ 和 a₃);心脏壁增厚(图 5a₂);中肾管内侧膨大并凹陷形成杯状的肾小囊,毛细血管球位于其内构成肾小体,形成中肾(图 5a₁, a₂, a₃)。



a₁~a₃. 连续切片结果图。S. 体节;Am. 羊膜;Mn. 中肾;Liver bud. 肝芽;Da. 背侧动脉;Extratissue. 胚外组织;V. 心室;A. 心房球;pEn. 前脑;mEn. 中脑;Arch artery. 动脉弓;Neural. 神经;Rc. 肾小体;Ta. 主动脉干;Fp. 额鼻隆起;mG. 中肠;St. 胃芽

a₁-a₃. The results of serially sections. S. Somite; Am. Amnion; Mn. Mesonephros; Liver bud. Liver bud; Da. Dorsal aorta; Extratissue. Extratissue; V. Ventricle; A. Atrium; pEn. Prosencephalon; mEn. Mesencephalon; Arch artery. Arch artery; Neural. Neural; Rc. Renal corpuscle; Ta. Truncus aortae; Fp. Frontonasal prominence; mG. Mid-gut; St. Stomach

图 5 16.0~16.5 d 胚胎组织切片形态图

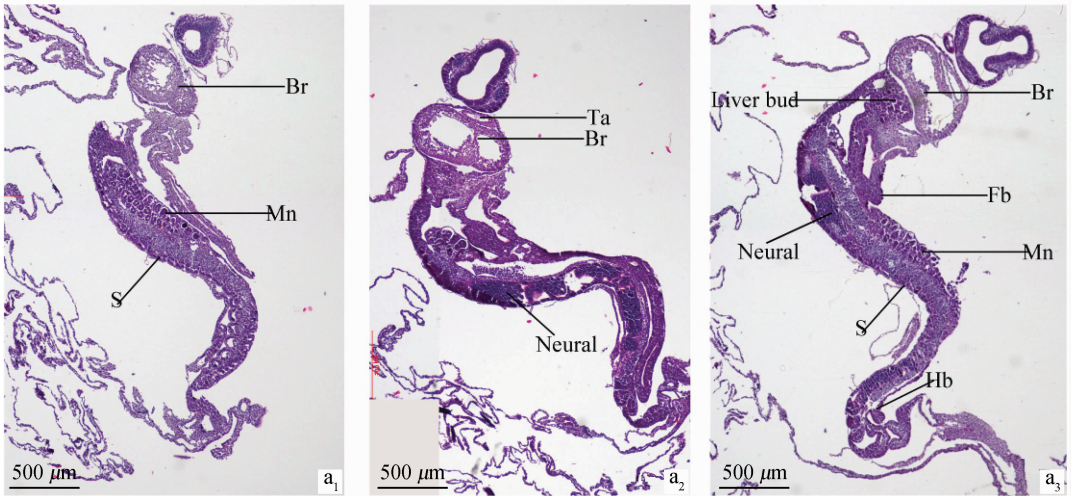
Fig. 5 16.0-16.5 d embryos

17.0~17.5 d 时,组织切片结果如图 6 所示,可见两侧大脑半球内的侧脑室(图 6a₃),前脑分成前中菱脑区(图 6a₂);肝芽明显(图 6a₃);肾发生仍停留在中肾阶段;腹侧有两个凸起,分别为前、后肢芽(图 6a₃)。

可见口咽膜(图 7a₂ 和 a₃);头侧顶端可见端脑;心脏发生内部分隔,心室内可见瓣膜(图 7b₂);位于心脏的后下侧的肝芽开始形成肝索(图 7a₃, b₂);有发达的中肾管,肾小体增加,中肾靠近被系膜以脊柱为轴对称分布于腹腔两侧;支气管树形成(图 7b₂);另外在此时期能清晰地观察到前肢芽(图 7a₂ 和 a₃, 7b₁ 和 b₂)。

18.0~18.5 d,24~25 对体节时期胚胎的组织切片结果如图 7 所示。显示颅面的发生,视泡分化出现视杯(图 7a₁);左右额鼻隆起向内侧聚汇,形成口凹,

根据对 15.0~18.5 d 胚胎结合外形以及组织切片结果,概括出各个胎龄发生的主要事件,如表 2。

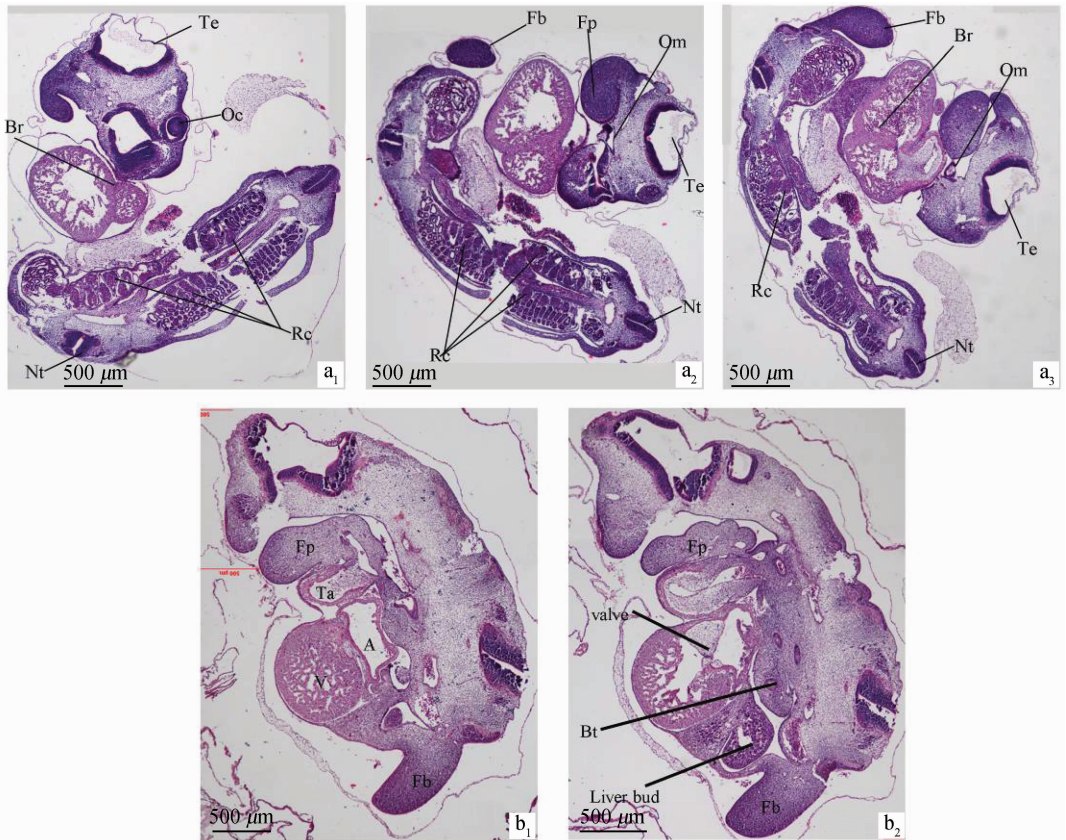


a₁~a₃连续切片结果图。S. 体节; Br. 心球嵴; Mn. 中肾; Ta. 主动脉干; Neural. 神经; Liver bud. 肝芽; Fb. 前肢芽; Hb. 后肢芽

a₁-a₃. Serially sections for 17.0-17.5 d embryos. S. Somite; Br. Bulbar ridge; Mn. Mesonephros; Ta. Truncus aortae; Neural. Neural; Liver bud. Liver bud; Fb. Fore-limb bud; Hb. Hind-limb bud

图6 17.0~17.5 d 胚胎组织切片形态学

Fig. 6 17.0-17.5 d embryos



a₁~a₃, b₁, b₂ 分别是矢状面和冠状面连续切片结果图。Te. 端脑; Oc. 视杯; Om. 口咽膜; Br. 心球嵴; Rc. 肾小体; Nt. 神经管; Fb. 前肢芽; Fp. 额鼻隆起; Ta. 主动脉干; A. 心房球; V. 心室; valve. 瓣膜; Bt. 支气管树; Liver bud. 肝芽

a₁-a₃ and b₁, b₂. They are serially sections for 18.0-18.5 d embryos by sagittal and coronal position, respectively. Te. Telencephalon; Oc. Optic cup; Om. Oropharyngeal membrane; Br. Bulbar ridge; Rc. Renal corpuscle; Nt. Neural tube; Neural. Neural; Fb. Fore-limb bud; Fp. Frontonasal prominence; Ta. Truncus aortae; A. Atrium; V. Ventricle; valve. Valve; Bt. Bronchial tree; Liver bud. Liver bud.

图7 18.0~18.5 d, 24~25 对体节期胚胎组织切片形态图

Fig. 7 Histological results of somite stage embryos at 18.0-18.5 d, 24-25 pairs

表 2 15.0~18.5 d 猪胚胎器官原基的发生特征

Table 2 Feature of organ primordium in pig 15.0-18.5 d embryos

胎龄/d Embryo age	体节数(对)Somite (Pairs)	主要形态学特征 Major morphological features
15.0~15.5	14~15	前中脑清晰,菱脑不清,口咽膜,心室心房球可见,前肾,视泡发生
16.0~16.5	n. a	前、中、菱脑可见,额鼻隆起,心室壁增厚,出现胃芽,肝芽,中肾
17.0~17.5	n. a	心脏发生扭曲呈 U 型,前后肢芽出现
18.0~18.5	24~25	端脑出现,视杯可见,出现支气管树,心室分隔,可见瓣膜,肝索形成

n. a. 本试验中未观察

n. a. Not analysed in this study

3 讨论

本研究对 7.0~18.5 d 的猪胚胎发育进行了形态学跟踪,并对器官原基发生过程做了细致的研究。结果显示猪孵化后胚胎形态发育具有明显的不同步性,从同一母体在同一时间获取的胚胎,其外部形态也有较大区别。在本研究的时间范围内,孵化后的胚胎外部形态经历了一系列变化过程:球形、卵圆、管状和线性;这与其他研究报道的现象一致^[1,7-8]。另外,与 M. Vejlsted 等^[2-3]报道基本一致,猪胚胎在 12.0~12.5 d 形成原条,接着胚胎发育经历神经管期,进入体节期,此时三胚层即内、中、外胚层已形成,且三胚层开始向不同方向分化,形成器官的原基。在此过程中,首先能看见中胚层形成胚体背侧明显可见的体节。小鼠在 8 d 形成体节^[9]。人胚胎第 4 周进入体节期^[10]。牛和绵羊胚胎中,体节形成分别在 20 和 15~16 d^[7]。本研究的结果显示猪胚胎在 14.0~14.5 d 出现 3~8 对体节,此时形成前后羊膜褶,胚体可见清晰的神经沟;体节出现的时间与其他研究者描述的基本一致^[2-3,11],即发生在 14~15 d。根据体节数划分发育时期,14.0~14.5 d 猪胚胎处于 R. Hassoun 等^[12]定义的第 8 阶段,也符合 A. W. Marrable^[13]早期按时间顺序描述的胚胎形态。15.0~15.5 d,本研究结果显示羊膜融合包裹胚体,圆柱体胚体开始扭曲形成 C 型结构,与猪胚胎学描述此时羊膜头褶、尾褶和侧褶在胚体背侧尾区融合结果一致^[7]。

为了进一步观察进入体节期胚胎发生的形态学变化,本研究对收集的 14.0~18.5 d 胚胎进行石蜡切片、HE 染色。在 14.0~14.5 d,4~5 对体节时期胚胎,胚外外胚层和壁中胚层向背侧折叠形成羊膜腔,围绕胚体;内胚层与脏中胚层向腹侧卷曲形成

原肠。出现类似于鸡胚三胚层时期结构^[14],中胚层由脊索中央向两侧对称分化,依次形成轴旁中胚层、间介中胚层和侧中胚层,轴旁中胚层分化形成体节,原肠分为前、中、后肠。关于心脏的发生,猪 15.0~15.5 d 具有 14~15 对体节的胚胎心脏发生结构变化,类似于羊 20 d 心脏发生的结构变化^[15],到 18.0~18.5 d,胚胎具有 24~25 对体节,心脏出现分隔,可见心室、心房、瓣膜。关于肾的发生,本研究结果显示 15.0~15.5 d 具有 14~15 对体节的猪胚胎形成前肾;16.0~16.5 d 形成中肾;18.0~18.5 d 肾小体增多,仍处于中肾阶段。关于脑的发育,在 15.0~15.5 d 具有 14~15 对体节的猪胚胎中,本研究的结果显示前、中脑清晰,菱脑不清;18.0~18.5 d 的胚胎可见 4 个脑泡,出现端脑。关于眼的发生,与 P. A. McAnulty^[11]描述小型猪视泡形成的时间相同,在 15.0~15.5 d 的大白和长白猪胚胎出现了视泡,到 18.0~18.5 d 时,视泡分化出现视杯。关于肝、胃发生,本研究跟踪发现猪胚胎 16.0~16.5 d 出现胃芽和肝芽,18.0~18.5 d 肝芽形成肝索。关于肢芽发生,与 P. A. McAnulty^[11]描述小型猪肢芽出现时间基本相同,在 17.0~17.5 d 胚胎中出现肢芽。除此之外,本研究结果显示在 18.0~18.5 d 可观察到支气管树。

上述结果显示猪胚胎发育在 14.0~14.5 d 时已形成体节,15.0~18.5 d 时心、肝、肾、脑、肺、胃及肢芽等器官都开始发生。本试验对大白猪、长白猪的上述器官发生做了详细的追踪和描述,丰富了猪胚胎学器官原基发生的研究,为进一步利用猪开展器官发生及疾病模型的建立提供了重要参考。

参考文献:

- [1] PATTEN B M. Embryology of the pig [M]. 3th Ed. Philadelphia: The Blakiston Company, 1948: 1-352.

- [2] VEJLSTED M, DU Y, VAJTA G, et al. Post-hatching development of the porcine and bovine embryo-defining criteria for expected development *in vivo* and *in vitro* [J]. *Theriogenology*, 2006, 65(1): 153-165.
- [3] VEJLSTED M, OFFENBERG H, THORUP F, et al. Confinement and clearance of OCT4 in the porcine embryo at stereomicroscopically defined stages around gastrulation [J]. *Mol Reprod Dev*, 2006, 73(6): 709-718.
- [4] VAN STRAATEN H W, PEETERS M C, HEK-KING J W, et al. Neurulation in the pig embryo [J]. *Anat Embryol*, 2000, 202(2): 75-84.
- [5] SOEDE N M, NIEUWENHUIS C C, VAN DER LENDE T. Paired somite counts to assess the within-litter diversity in embryonic development at day 17, 19 and 21 of pregnancy in Meishan and Yorkshire x Landrace Crossbred Gilts [J]. *Reprod Dom Anim*, 1992, 27(2): 112-118.
- [6] 顾为望. 西藏小型猪组织胚胎学图谱 [M]. 1 版. 武汉: 湖北人民出版社, 2010: 117-168.
- [7] 秦鹏春. 哺乳动物胚胎学 [M]. 1 版. 北京: 科学出版社, 2001: 335-336.
- [8] ANDERSON L L. Growth, protein content and distribution of early pig embryos [J]. *Anat Rec*, 1978, 190(1): 143-153.
- [9] THEILER K. The house mouse: Atlas of embryonic development [M]. 3th Ed. New York, Springer-Verlag, 1993: 34.
- [10] 金连弘. 组织学与胚胎学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 307-308.
- [11] MCANULTY P A. Teratology studies in the Minipig [J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 947: 157-167.
- [12] HASSOUN R, SCHWARTZ P, RATH D, et al. Germ layer differentiation during early hindgut and cloaca formation in rabbit and pig embryos [J]. *J Ana*, 2010, 217(6): 665-678.
- [13] MARRABLE A W. The embryonic pig a chronological account [M]. 1th Ed. London, England: Sir Isaac Pitman and Sons, LTD, 1971: 7-24.
- [14] SELLECK M A, STERN C D. Fate mapping and cell lineage analysis of Hensen's node in the chick embryo [J]. *Development*, 1991, 112(2): 615-626.
- [15] 侯玲玲, 张 涌. 山羊胚胎心脏发生发育的形态学研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(1): 11-14.

(编辑 程金华)