

奶山羊妊娠黄体的组织形态观察

张灵枝,王磊磊,梁超,李阳,高辰,卿素珠

(西北农林科技大学 动物医学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】观察奶山羊妊娠期间黄体组织形态的变化。【方法】运用组织学常规石蜡包埋-HE 染色方法及透射电镜技术,对不同妊娠时期山羊卵巢黄体的组织结构变化进行详细观察。【结果】妊娠黄体外包结缔组织被膜,被膜内伸形成小梁;黄体实质主要由粒性黄体细胞(大黄体细胞)和膜性黄体细胞(小黄体细胞)组成,前者数量多,主要位于黄体的中央,后者数量较少,位于黄体的周边及少量散布于大黄体细胞之间。退化黄体细胞数量随妊娠周龄增加而逐渐增加;黄体细胞的结构退化性变化表现为:细胞形态多变,胞质呈强嗜酸性,胞核固缩或碎裂;电镜下可见细胞器发生变性,核内异染色质数量逐渐增多,后期核膜出现皱缩,线粒体嵴断裂、脱落,分泌颗粒数量减少,脂滴发生退化聚集,滑面内质网减少或消失,细胞质内空泡数量增多、细胞间隙加大。【结论】黄体组织的形态结构随所处妊娠的不同阶段而变化,退化黄体细胞数量随周期推进逐渐增加。

【关键词】 组织学;黄体;妊娠期;奶山羊

【中图分类号】 S852.16⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)06-0031-06

Morphological observation of pregnant corpus luteum of dairy goat

ZHANG Ling-zhi, WANG Lei-lei, LIANG Chao, LI Yang, GAO Chen, QING Su-zhu

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study was to observe the morphological characteristics of pregnant corpus luteum of dairy goat. 【Method】 The morphological structures and changes of goat ovaries during different pregnant stages were studied by using paraffin embedding, Hematoxylin-Eosin staining method and transmission electron microscope techniques. 【Result】 The corpus luteum was surrounded by capsule of connective tissue which formed trabeculum by extending into parenchyma. The parenchyma was mainly composed of granulosa lutein cells (large lutein cells) and theca lutein cells (small lutein cells). The granulosa lutein cells were the majority, and mainly located in the central area of corpus luteum. And the theca lutein cells were mainly located in the surrounding corpus luteum, and diffusely distributed among granulosa lutein cells. With the progress of pregnancy, regressed luteal cells increased. The structural changes of luteal cells during regression were as follows: the cellular shape was changeable with strongly eosinophilic cytoplasm, condensed and fragmented nucleus. Under the electron microscope, the organelles of regressive luteal cells denatured, the amount of intranuclear heterochromatin gradually increased, and nuclear membrane shrank at later pregnant stage. Mitochondrial cristae were broken and fell, the number of secretory granules decreased. Degradation and aggregation of lipid droplet occurred, the amount of Smooth Endoplasmic Reticulum decreased or even disappeared. The number of cytoplasmic vacuoles increased, intercellular space in-

* [收稿日期] 2009-11-10

[基金项目] 陕西省自然科学基金项目(2009JM3013);西北农林科技大学 2008 年人才基金项目

[作者简介] 张灵枝(1984—),女,河南开封人,在读硕士,主要从事动物组织胚胎学研究。E-mail: lingzhizhang@163.com

[通信作者] 卿素珠(1969—),女,湖南永州人,教授,博士,主要从事动物组织胚胎学和发育生物学研究。

E-mail: suzhuqing@163.com

creased.【Conclusion】 The morphological structure of corpus luteum varied at different pregnant stages, and the number of degenerative luteal cells gradually increased.

Key words: histology; corpus luteum; pregnancy; dairy goat

黄体是哺乳动物排卵后由卵泡的颗粒细胞和内膜细胞所形成的一个暂时性的内分泌器官,其在一个较短的存在期限内经历了一系列的结构变化,同时分泌孕酮和雌激素等。黄体细胞分泌的孕酮和雌激素对调节发情周期和维持妊娠具有重要作用。长期以来,对黄体的生殖生理学研究倍受重视,较多研究表明,黄体能产生几种肽类和类固醇激素,如催产素、松弛素、 17β -雌二醇、睾酮及前列腺素等。有关不同时期黄体显微和超微结构的研究,在绵羊^[1]、猪^[2]、灵长类猴^[3]和牛^[4]等物种上已有报道,而有关奶山羊黄体组织形态学方面的研究则报道较少。越来越多的围绕黄体生殖神经内分泌学的研究工作表明,明确不同时期黄体组织细胞的具体构成、分型及各型结构特征,对于开展相应研究具有十分重要的意义。本研究运用常规组织学石蜡包埋-HE 染色方法及透射电镜技术,对不同妊娠时期山羊卵巢的组织结构进行了详细观察,旨在揭示不同妊娠阶段奶山羊卵巢黄体组织结构的周期变化规律,为家畜组织胚胎学和繁殖生理学的研究与应用提供形态学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物及取材 按照曹贵方^[5]的方法,自陕西杨凌周边屠宰场取妊娠 5~21 周龄的山羊卵巢,每周龄各取 3 例备用。取各周龄完整卵巢用于制备组织学石蜡切片;取妊娠 5 和 21 周卵巢黄体组织(1 mm×1 mm×1 mm),用于透射电镜制样。

1.1.2 主要试剂及仪器 (1)试剂。APES 粘片剂、石蜡、甲醛、戊二醛、伊红、苏木精、乙醇、二甲苯、中性树胶、甘油、冰醋酸、Epon 812 包埋剂、锇酸和醋酸铀等。

(2)仪器。Leica RM2235 型石蜡切片机(徕卡仪器设备公司),JEM-1230 型透射电镜(日本电子株式会社),XSZ-G 型生物显微镜(重庆光电仪器有限公司),Motic 数码显微镜(厦门 Motic 实业有限公司),Sartorius AA-160 型电子读数分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)等。

1.2 方法

1.2.1 奶山羊卵巢黄体组织石蜡切片的制备 将

收集的山羊卵巢,先用生理盐水冲洗,而后投入体积分数 4% 多聚甲醛液中浸渍固定 24~72 h。固定好的卵巢组织用流动自来水冲洗 12~24 h 后,用梯度乙醇脱水,常规石蜡包埋,连续切片,片厚 6~8 μm ,切片隔四取一,裱片于 APES 处理的载玻片上,45 $^{\circ}\text{C}$ 温箱烤片,备染。

HE 染色程序:用体积分数 100% 二甲苯 I 和二甲苯 II 各脱蜡 5 min;依次入梯度乙醇复水,蒸馏水浸泡 2 min;入苏木精染液 10~15 min;体积分数 1% 盐酸酒精分色,流动自来水蓝化 15 min;伊红染色 3~5 min,水冲 1 次;梯度乙醇脱水,二甲苯 I、二甲苯 II 各透明 5 min,中性树胶封片。

1.2.2 奶山羊卵巢黄体透射电镜切片的制备与观察 对所取的妊娠 5 和 21 周龄的山羊卵巢黄体,经戊二醛-多聚甲醛固定后,分别用体积分数 10% 锇酸和 0.5% 醋酸铀固定和组织浸染,Epon 812 包埋和修块定位,作超薄切片和柠檬酸铅复染,透射电镜下观察,并记录、照相。

1.3 显微照相、图像分析及数据处理

将制得的各时期卵巢组织切片在光镜下观察、记录,Motic 数码显微镜拍照,用“JEDA801 系列形态分析系统”软件对各时期卵巢内生长与闭锁卵泡数量及黄体细胞退化情况进行统计分析,结果用“均值±标准差”表示,运用 SPSS 软件进行统计学处理和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 妊娠期奶山羊卵巢黄体组织的显微结构特点

奶山羊妊娠黄体呈肉色,体积较小,部分突出于卵巢表面,大部分埋于皮质内,呈圆球形、椭圆形、豆形,质地不一。纵向剖开,个别黄体中央有一大小不一的空腔,腔内充满凝血,质地柔软;多数黄体中央无空腔,质地较硬。一般一个卵巢上有 1~3 个黄体。妊娠黄体外包结缔组织被膜,实质主要由粒性黄体细胞(大黄体细胞)和膜性黄体细胞(小黄体细胞)组成,前者数量多,主要位于黄体的中央,后者数量较少,位于黄体的周边,少量散布于大黄体细胞之间。不同妊娠时期奶牛山羊卵巢的显微结构见图 1。

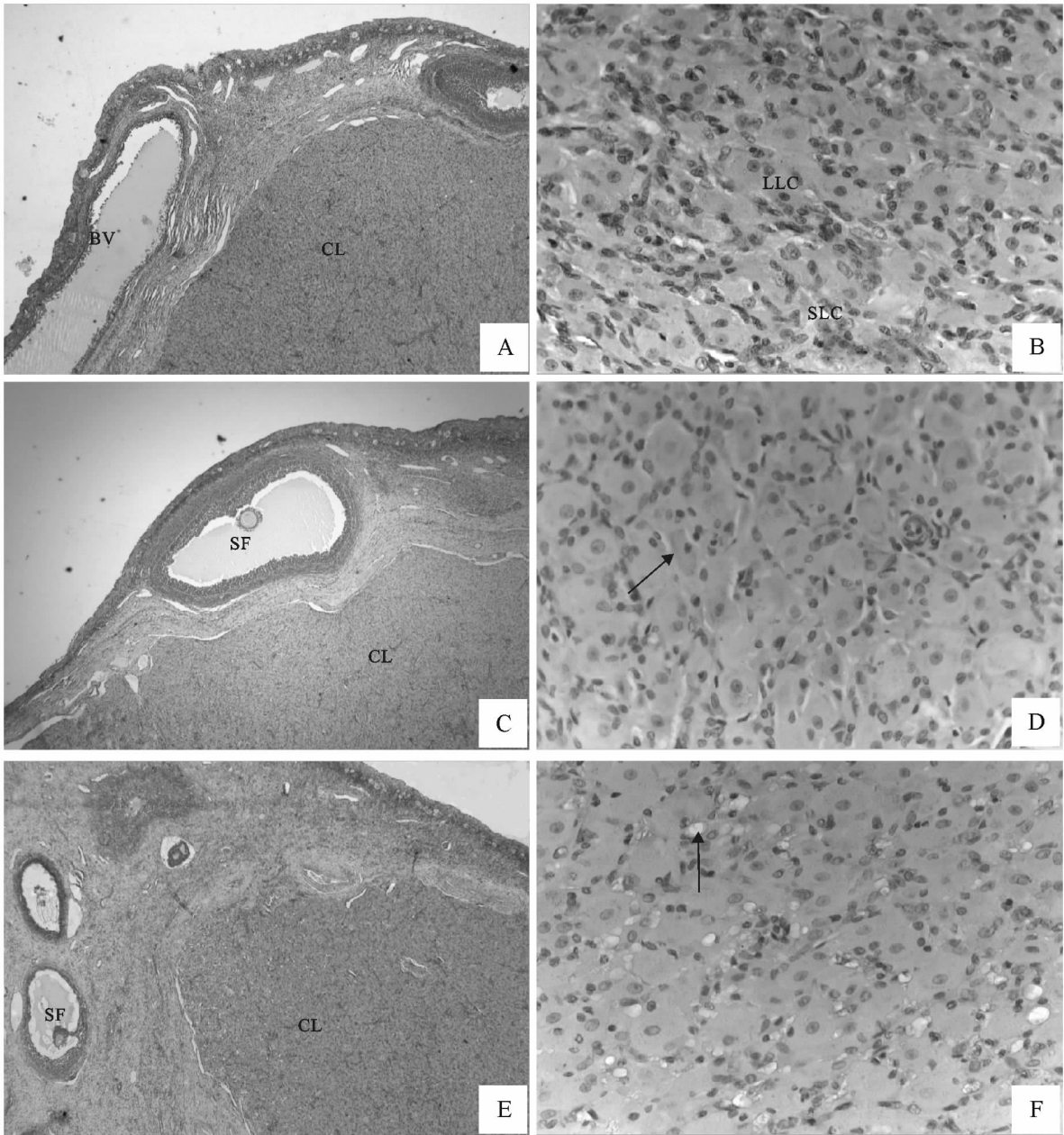


图 1 不同妊娠时期奶山羊卵巢组织的结构特点
A、C、E 分别为低倍镜下妊娠前期、中期和后期的卵巢组织结构(×40);B、D、F 分别为高倍镜下妊娠前期、中期和后期黄体的组织结构(×400)
BV. 血管;CL. 黄体;SF. 次级卵泡;LLC. 大黄体细胞;SLC. 小黄体细胞
D 图中箭头示一退化黄体细胞,F 图中箭头示以胞质空泡化为特征的退化黄体细胞

Fig. 1 Histological structure of ovary during different pregnant stages in dairy goat
The histological structure of ovary during early,middle and late pregnant stage were showed in fig. A,C,and E respectively at low magnification (×40);The histological structure of corpus luteum during early,middle and late pregnant stage were showed in fig. B,D,and F respectively at high magnification (×400)

BV. Blood vessel;CL. Corpora luteum;SF. Secondary follicle;LLC. Large luteal cells;SLC. Small luteal cells. The arrow in fig. D indicated a regressed luteal cell,the arrow in fig. E indicated a regressed luteal cell characterized by vacuolization in cytoplasm

不同妊娠时期奶山羊的黄体结构特点如下:
1)前期(妊娠 5~7 周龄)。低倍镜下观察可见,卵巢外覆结缔组织被膜,被膜内伸形成小梁,被膜上可见丰富的血管。紧贴被膜下方的卵巢皮质外周有

较多的原始卵泡均匀分布,内侧可见数个生长卵泡及闭锁卵泡,卵泡腔内充满淡红色卵泡液,边缘呈空泡状,卵泡壁明显。卵巢门处有较多的血管和淋巴管穿行进入髓质。黄体中央区域结缔组织较多,黄

体结构明显(图 1-A)。高倍镜下观察可见,黄体实质主要由粒性黄体细胞(大黄体细胞)和膜性黄体细胞(小黄体细胞)组成:大黄体细胞个体大,呈卵圆形、圆形、多角形,胞质嗜酸性,深染或浅染,核位于细胞中央,多数处于功能旺盛状态;小黄体细胞数量少,个体小,呈长梭形,核染色较深,主要夹于大细胞之间;另外还可见成纤维细胞和巨噬细胞等间质细胞。此期的黄体组织中可见到个别退化的黄体细胞,表现为细胞形态不规则,胞质红色,核浓缩深染(图 1-B)。

2)中期(妊娠 8~14 周龄)。被膜下可见数个原始卵泡,近被膜边缘仍可见多个较大的闭锁卵泡;卵巢皮质外周可见明显突出于卵巢表面的次级卵泡,其腔内卵泡液呈淡红色,卵丘明显,黄体结构典型(图 1-C)。在高倍镜下观察可知,大黄体细胞仍以胞质淡染为主。此期,在黄体中央区域可见到较多的凋亡黄体细胞(即发生退行性变化的黄体细胞),其特征性变化为:膜发生皱缩,形态变成梭形和不规

则形,胞质嗜酸性增强,细胞核高度浓缩,染色较深;成纤维细胞、巨噬细胞等间质细胞的数量与妊娠前期相比明显减少,细胞之间的间隙增宽(图 1-D)。

3)后期(妊娠 15~21 周龄)。于低倍镜下观察,卵巢被膜下方仍可见到多个原始卵泡、闭锁卵泡和数个大小不一的次级卵泡,原始卵泡数量明显减少,黄体结构明显,被膜上血管丰富、清晰可见(图 1-E)。在高倍镜下观察可知,大黄体细胞的退化现象更严重:胞质内空泡化明显,细胞间隙加大,胞核固缩、碎裂。黄体细胞之间出现较多的毛细血管,呈空泡样(图 1-F)。有些部位可见到巨噬细胞胞质内吞噬的凋亡小体,尤以边缘出现的较多。与前期相比,闭锁卵泡及黄体细胞的退行性变化更为明显。

分别对妊娠前期、中期、后期卵巢组织中生长卵泡及闭锁卵泡的数量进行计数和统计分析,结果(表 1)显示,妊娠前期卵巢上的生长卵泡最多,中期减少,后期又开始增多,闭锁卵泡的数量则随妊娠进程逐渐减少。

表 1 山羊卵巢各妊娠阶段卵泡数量的变化

妊娠时期 Stage	观察切片数 Number of slides	生长卵泡的数量 Number of growing follicles	闭锁卵泡的数量 Number of atretic follicles
前期 Early stage	56	36.34±4.74 a	21.17±3.27 a
中期 Middle stage	58	25.29±5.25 b	13.56±2.86 b
后期 Late stage	56	29.46±4.97 a	11.24±1.98 c

注:同列数据后标相同字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同字母者表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:In the same line, the same letters represent significant difference($P<0.05$), the different letters represent extremely significant difference($P<0.01$).

2.2 妊娠期奶山羊黄体的超微结构特点

妊娠第 5 周,小黄体细胞(膜性黄体细胞)个体小,呈长梭形,核圆形、较规则,核内常染色质数量多、异染色质数量少,多集中于核的边缘、紧贴细胞膜分布;胞质内可见较多泡状线粒体,也有部分管状嵴线粒体(但管不发达),其间有较多的核蛋白体和多聚核蛋白体,呈颗粒状或手链状;另可见少量分泌颗粒及脂滴(图 2-A)。大黄体细胞(粒性黄体细胞)个体明显大,核不规则,核仁 1~2 个、位于中央;异染色少,呈块状分布于核边缘和中央;胞质内可见数量较多的管状嵴线粒体,高尔基复合体发达,分泌颗粒较多、大小不一、呈球形,相比小黄体细胞有数量较多的脂滴(图 2-B)。

妊娠第 21 周,小黄体细胞核内异染色质数量增多,脂滴少,可见个别脂滴的边缘皱缩,空泡增多;仍可见少量膜包的分泌颗粒,个别出现变形,边缘发生皱缩(图 2-C)。大黄体细胞(粒性黄体细胞)核浓缩呈卵圆形,异染色质数量多、明显,分布于膜边缘和

中央;可见较多的膜包分泌颗粒,周边色深,中央色浅,电子致密度下降;线粒体数量多,有杆状嵴和泡状嵴 2 种,有些线粒体内部结构发生退化,嵴脱落成空泡状;有些脂滴边缘发生皱缩(图 2-D)。大黄体细胞与小黄体细胞的典型区别在于胞质中分泌颗粒和脂滴的分布,大黄体细胞胞质内 2 种物质的含量较小黄体细胞多,但发育后期明显退化。

3 讨 论

3.1 山羊妊娠期卵巢黄体组织的结构特点

妊娠期山羊黄体实质主要由大黄体细胞和小黄体细胞组成,2 种细胞均具有类固醇分泌细胞的典型特征。大黄体细胞形态多样、体积较大,胞质丰富呈嗜酸性,胞核大且明朗,核仁明显,染色质均匀,细胞核/质比较低;电镜下胞质中有大量的滑面内质网和圆形、卵圆形或杆状的线粒体,线粒体的嵴多为管状,有较丰富、大小不等的脂滴,细胞间可见缝隙连接。小黄体细胞多位于黄体的周边及结缔组织小梁

等处,细胞呈纺锤形、个体小,胞质较少,核较小,形状不规则,着色深,核/质比大,核膜有较多的皱折;

电镜下胞质中内质网较少,细胞间的连接不清晰。这与牛黄体细胞的结构特征相似^[6]。

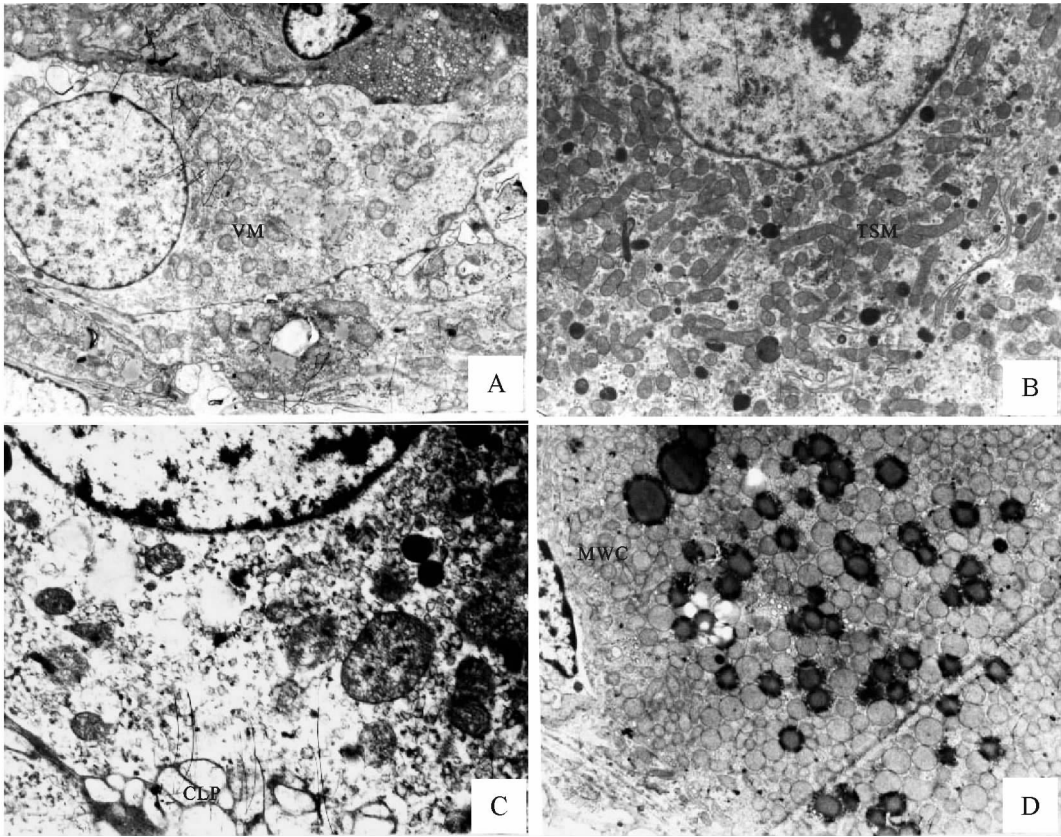


图 2 妊娠期奶山羊黄体的超微结构特点

A. 妊娠 5 周龄的小黄体细胞 (×3 000); B. 妊娠 5 周龄的大黄体细胞 (×5 000); C. 妊娠 21 周龄的小黄体细胞 (×5 000); D. 妊娠 21 周龄的大黄体细胞 (×3 000)。VM. 泡状线粒体; TSM. 管状嵴线粒体; CLP. 边缘皱缩的脂滴; MWC. 嵴脱落的线粒体

Fig. 2 Ultrastructural characteristics of corpus luteum during pregnancy

A. Small luteal cells at 5th week of pregnancy (×3 000); B. Large luteal cells during 5th week of pregnancy (×5 000); C. Small luteal cells at 21th week of pregnancy (×5 000); D. Large luteal cells at 21th week of pregnancy (×3 000). VM, Vesicle mitochondria; TSM, Mitochondria with tubiforme cristae; CLP, Lipid droplet with crimped border; MWC, Mitochondria without cristae

随着妊娠的进行,黄体的组织结构发生了相应变化。在整个妊娠期都存在退行性变化的黄体细胞,主要表现为:细胞形态多变,胞质呈强嗜酸性,胞核固缩或碎裂。电镜下可见细胞器发生变性,核内异染色质数量逐渐增多,后期核膜出现皱缩,线粒体嵴断裂、脱落,分泌颗粒数量减少,脂滴发生退化聚集,滑面内质网减少或消失,细胞质内空泡数量增加,细胞间隙加大。这些变化与细胞凋亡的特征相符,而且细胞凋亡往往伴随着黄体细胞的空泡化和固缩^[7-8],发生退化的黄体细胞超微结构中细胞器均发生变性,脂滴聚集,滑面内质网减少或消失^[9]。从变化规律看,妊娠前期,黄体组织中仅有少量大黄体细胞存在退化现象;妊娠中期,退化的大黄体细胞所占比例逐渐增加;妊娠后期,大黄体细胞中退行性变化的细胞继续增加,空泡数量增多,细胞间隙加大。

退化细胞的分布区域也由黄体外周部逐渐向黄体中央区域扩大。

3.2 不同妊娠阶段黄体结构与卵泡生长发育的关系

观察显示,山羊卵巢在妊娠期仍有许多处在不同发育阶段的卵泡,其中多数为体积较小的原始卵泡,也有一定数量的初级卵泡和次级卵泡;从变化趋势看,妊娠前期卵巢上的生长卵泡最多,中期减少,后期又开始增多,闭锁卵泡数量则在妊娠阶段逐渐减少。卵泡的闭锁与周期卵巢一样,可发生于各发育阶段的卵泡,山羊妊娠期卵泡的闭锁过程不是同步发生的,而是在不同部位逐步进行,这与崔燕等^[10]对牦牛黄体形态的研究结果一致。

有关卵泡闭锁的原因,一般认为,妊娠阻止卵泡的发育并促进其闭锁,卵泡生长的停止导致雌激素分泌减少,促进黄体功能维持^[11]。卵泡闭锁可发生

在卵泡发育的各个阶段,它是通过一种特殊的细胞死亡方式,即细胞凋亡实现的^[12-13]。细胞凋亡是生理条件下发生的细胞自杀现象,从形态上划分,卵泡闭锁有 2 种类型:一种起始于卵泡颗粒细胞 DNA 的裂解,另一种起始于卵细胞的瓦解^[14]。促性腺激素和卵巢自分泌/旁分泌因子所构成的微环境,对卵泡的正常生长和分化起决定作用^[14-15],失去这种微环境平衡,卵泡发育的条件被打破,即有可能导致卵泡闭锁。卵泡闭锁也可能与垂体 FSH 分泌不足,或卵泡对 FSH 的反应性降低有关,这 2 种原因均会导致卵泡颗粒细胞中芳香化酶活性下降,雌激素减少、雄激素蓄积,而引起卵泡闭锁。另外,卵泡颗粒细胞分泌的孕酮对其他发育较慢的生长卵泡具有局部抑制作用,使之发生退化和闭锁。黄体处于妊娠后期时,黄体细胞分泌的孕酮水平较其他各类型黄体均低,对抑制促性腺释放激素的作用降低,FSH 的分泌明显增加,从而可促进卵泡的生长发育^[16-17]。

[参考文献]

[1] 孙树春,周志军,李俊杰,等. 绵羊卵巢上卵泡及黄体的 B 超影像差异性比较研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2008(11):67-68.
Sun S C,Zhou Z J,Li J J,et al. A comparative study of variability on B-ultrasonic images of ovarian follicle and corpus luteum in sheep [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2008(11):67-68. (in Chinese)

[2] 成志军,陶 勇,章孝荣. 胎猪卵巢发生过程中的组织学变化 [J]. 细胞生物学杂志,2008(3):352-356.
Cheng Z J,Tao Y,Zhang X R. Histological change during fetal pig ovarigenesis [J]. Journal of Cell Biology,2008(3):352-356. (in Chinese)

[3] 俞诗源,杨晓军,杨晓辉. 川金丝猴卵巢的组织学研究 [J]. 兰州大学学报,2006,36(3):154-157.
Yu S Y,Yang X J,Yang X H. A histological study on the ovary of *Rhinopithecus Roxellanae* [J]. Journal of Lanzhou University,2006,36(3):154-157. (in Chinese)

[4] 谭景和,杨增明. 体外培养前黄牛卵母细胞的分类、形态结构及成熟能力的研究 [J]. 中国农业科学,1989,22(1):83-88.
Tan J H,Yang Z M. Studies on the fine structure and maturation potential of follicular oocytes of different types from the Chinese yellow cows prior to *in vitro* culture [J]. Agricultural Sciences in China,1989,22(1):83-88. (in Chinese)

[5] 曹贵方. 山羊体形和卵巢发生及卵泡组织化学的研究 [D]. 陕西杨凌:西北农业大学,1998.
Cao G F. Body-form ovary genesis and follicular histochemistry in goat [D]. Yangling, Shaanxi:Northwestern Agricultural University,1998. (in Chinese)

[6] 蒯国珍,樊江峰,余四九. 牦牛妊娠期卵巢、卵泡及黄体的形态学观察 [J]. 甘肃农业大学学报,2006,41(2):1-4.

Lin G Z,Fan J F,Yu S J. Morphological observation of ovary and ovarian follicle of pregnant yak [J]. Journal of Gansu Agricultural University,2006,41(2):1-4. (in Chinese)

[7] Tilly J L. The relationship between apoptosis and ovarian [J]. Journal of Fertility Sterility,1997,67(2):226-228.

[8] William J M. Programmed cell death in preovulatory ovine follicles [J]. Journal of Biology of Reproduction,1995,53:8-12.

[9] 李云龙. 猪卵巢内卵母细胞发育的超微结构研究 [J]. 东北农业大学学报,1983(1):69-88.
Li Y L. Ultrastructure studies on the development of oocytes in the ovaries of sows [J]. Journal of Northeast Agricultural University,1983(1):69-88. (in Chinese)

[10] 崔 燕,余四九,宇文方,等. 不同年龄牦牛内生殖器官的形态学观测 [J]. 中国牦牛,1995(1):18-21.
Cui Y,Yu S J,Ning W F,et al. Morphological observation on inner-genital organs of aemale yak in different age [J]. Yak in China,1995(1):18-21. (in Chinese)

[11] Jolly P D. Apoptosis in bovine granulosa cell in relation to sterid synthesis, Cyclic adenosine 3',5'-Monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinzhin hormone, and follicular atresia [J]. Biology of Reproduction,1994,51:934-949.

[12] 秦应和. 反当家畜卵泡发育机理的研究进展 [J]. 国外畜牧科技,1999,26(5):30-32.
Qin Y H. Progress in the ovary follicle development of ruminants [J]. Animal Science Abroad,1999,26(5):30-32. (in Chinese)

[13] 于元松. 山羊卵泡发育、闭锁及其调控机理的研究 [D]. 哈尔滨:东北农业大学,2002.
Yu Y S. Studies on follicular development and atresia and their control mechanism in the goat [D]. Haerbin:Northeast Agricultural University,2002. (in Chinese)

[14] Bage R,Bosu W T K,Rodariguez-Mattinez H. Ovary follicle apoptosis at the onset of standing estrus in virgin and repeat-breeder dairy heifers [J]. Theriogenology,2001,56:699-712.

[15] Miki S. Ultrastructural changes in granulose cells in porcine antral follicles undergoing stresia indicate apoptotic cell death [J]. The Journal of Reproduction and Development,1998,44:7-14.

[16] 高建明,吴学清,胡明信,等. 牛卵巢黄体类型与闭锁卵泡之间关系的探讨 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2002(5):1-2.
Gao J M,Wu X Q,Hu M X,et al. Relationship between types of the bovine ovarial corpus luteum and the atretic follicles from them [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2002(5):1-2. (in Chinese)

[17] 高建明,吴学清,高立运,等. 牛卵巢黄体类型与卵泡生长发育关系的组织学研究 [J]. 北京农学院学报,2001,16(2):45-48.
Gao J M,Wu X Q,Gao L Y,et al. The histology research of the relationship between different corpus luteum types and the follicular development from cattle ovary [J]. Journal of Beijing Agricultural College,2001,16(2):45-48. (in Chinese)