

周碧妍, 罗锦堂, 莫子璠, 等. 鸡胚性腺分化过程中左右侧性腺原始生殖细胞数量的动态变化分析 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (5): 10-15.
ZHOU B Y, LUO J T, MO Z J, et al. Dynamic analysis of primordial germ cell numbers in the left and right gonads during chicken embryonic gonadal differentiation [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (5): 10-15.

鸡胚性腺分化过程中左右侧性腺原始生殖细胞数量的动态变化分析

周碧妍¹, 罗锦堂¹, 莫子璠¹, 杨秀荣^{1,2*}

(1. 广西大学动物科学技术学院, 广西 南宁 530004;
2. 广西畜禽繁育与疾病防控重点实验室, 广西 南宁 530004)

摘要: 旨在探究鸡胚性腺形态分化关键阶段, 汉堡-汉密尔顿时期 29~34 (HH29~HH34) 雌雄鸡胚左右性腺体细胞和原始生殖细胞 (primordial germ cells, PGCs) 的数量差异, 了解性腺分化和不对称发育在细胞水平的动态变化特征。分离胚胎性腺形态分化中 E6 (HH29)、E7 (HH31) 和 E8 (HH34) 三个关键时期的广西麻鸡鸡胚左右侧性腺, 通过实时荧光定量 PCR 对性腺 PGCs 进行标记基因表达水平鉴定, 高碘酸希夫 (PAS) 糖原染色进行鉴定并统计左右侧性腺体细胞和 PGCs 数量以分析其差异。结果: 从性腺中分离的 PGCs 显著高表达生殖细胞标记基因类无精症缺失基因 (DAZL) 和死盒解旋酶 4 (DDX4) ($P < 0.05$), 且 PAS 糖原染色显示 PGCs 呈现紫红色, 表明成功分离得到 PGCs; 细胞差异分析结果显示, 雄性鸡胚左右侧性腺体细胞和 PGCs 在三个时期均无显著差异, 与雄性性腺形态发育特征相符; 雌性鸡胚中, 右侧性腺体细胞和 PGCs 数量在 HH29 时呈现低于左侧的趋势, 但差异不显著, 与此时性腺形态开始分化特征一致; 在 HH31 时期, 雌性左右侧性腺体细胞和 PGCs 数量差异显著 ($P < 0.05$), 早于组织形态出现明显差异的 HH34 时, 而胚胎发育至 HH34 时差异进一步扩大 ($P < 0.01$)。综上, 本研究揭示了性腺中 PGCs 数量的动态变化, 为解析不对称发育启动机制提供了新的时间框架与研究视角。

关键词: 鸡胚性腺; 原始生殖细胞; 不对称发育; 数量差异

中图分类号: S831.2 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2026)05-0010-06

Dynamic analysis of primordial germ cell numbers in the left and right gonads during chicken embryonic gonadal differentiation

ZHOU Biyan¹, LUO Jintang¹, MO Zijun¹, YANG Xiurong^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China;
2. Guangxi Key Laboratory of Animal Breeding, Disease Control and Prevention, Nanning 530004, China)

Abstract: This study aimed to examine the left-right differences in gonadal cell populations and primordial germ cells (PGCs) numbers during gonadal morphogenesis (Hamburger-Hamilton stages 29-34, HH29-HH34), thereby elucidating the cellular dynamics underlying gonadal differentiation and asymmetric development. Gonads from Guangxi Ma chickens at three critical stages: E6 (HH29), E7 (HH31), and E8 (HH34) of the Guangxi Ma chicken embryo were isolated. Then, real-time quantitative PCR was employed to assess the expression levels of the marker genes (DAZL, DDX4) in PGCs within the gonads, while PAS glycogen staining was used for histological identification. Finally, the numbers of gonadal cells and PGCs in the left and right sides were counted to analyze their differences. The results demonstrated that PGCs isolated from the gonads exhibited significantly higher expression of the germ cell marker genes. The PAS glycogen staining revealed PGCs as being purple-red, confirming successful isolation. The differential cell analysis showed no significant differences in total gonadal cell numbers or PGC counts between right and left sides in male embryos across all three stages, consistent with male gonadal morphogenesis. In the female chicken embryos, the total number of cells and PGCs in the right gonad showed a decreasing trend compared with the left side at HH29, although the difference was not significant, aligning with the onset of morphological differentiation in the gonads at this stage. By HH31, the number of somatic cells and PGCs in the bilateral gonads of the female embryos showed a significant difference ($P <$

收稿日期: 2025-07-04; 修回日期: 2026-03-05

基金项目: 广西科技“尖峰”专项(重大)项目(桂科 AA23062049); 国家自然科学基金地区基金项目(32460828); 国家现代农业产业技术体系广西家禽产业创新团队项目(nycytxgxtid-2024-19)

第一作者: 周碧妍, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 杨秀荣, 博士, 教授, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: yangxiurong09@163.com。

0.05), which occurred earlier than the distinct morphological differences observed at HH34. Furthermore, the difference expanded further as embryonic development progressed to HH34 ($P < 0.01$). This study revealed the dynamic changes in the number of primordial germ cells in the gonads, providing a new temporal framework and perspective for investigating the initiation mechanism of asymmetric gonadal development.

Keywords: chicken embryonic gonad; PGCs; asymmetric development; quantitative differences

鸡原始生殖细胞 (chicken primordial germ cells, PGCs) 是生殖细胞的前体, 外观呈直径为 $10 \sim 20 \mu\text{m}$ 的圆形或椭圆形, 比体细胞大^[1]。PGCs 在透明区出现后通过血液循环定植于性腺中, 最终性腺发育为睾丸或卵巢。PGCs 为种质保存、转基因鸡的生产和生殖细胞系统的研究提供了重要的细胞材料。鸡的雄性性腺正常发育为两侧睾丸, 雌性性腺只有左侧能发育为卵巢, 右侧逐渐萎缩退化, 呈现出不对称发育的特征, 性腺中的 PGCs 则随着胚胎发育进程分化为精原细胞或卵原细胞^[2]。

在胚胎发育至 E3.5~E4.5 时无法从性腺形态上区分雌雄^[3]。胚胎孵化到 E6~E6.5 (汉堡-汉密尔顿时期 29~30, HH29~HH30) 时性腺分化开始^[4-5], 并伴随着一些基因和信号通路的差异表达, 如雌激素受体 α (ER α)、骨形态发生蛋白 7 (BMP7) 等^[6-7]。雄性两侧性腺对称发育, 而雌性则不对称发育, 雌性左右性腺之间的不对称形态在 E8 (HH34) 时变得明显^[8]。然而, 关于雌性左右性腺具体何时在细胞水平上开始出现差异仍不清楚。本研究旨在比较鸡胚左右侧性腺中总细胞和 PGCs 的数量差异, 探究性腺形态分化阶段性腺体细胞及 PGCs 的数量动态变化情况, 以期为理解性腺分化及性腺不对称发育提供新视角。

1 材料与方 法

1.1 种 蛋

受精种蛋 (广西麻鸡) 来源于广西金陵农牧集团有限公司, 在温度为 $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度为 55% 的条件下孵化。

1.2 主要试剂

DMEM 培养基购自大连美仑生物公司; MEM 维生素溶液、B-27TM 添加剂、L-谷氨酰胺购自美国 Gibco 公司; 无动物源胰蛋白酶、卵转铁蛋白、白蛋白购自美国 Sigma 公司; 碱性成纤维细胞生长因子、肝素钠、人激活素 A 购自美国 MCE 公司; 高碘酸希夫 (PAS) 糖原染色液 (细胞) 购自索莱宝科技有限公司; 血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; PCR 扩增酶、反转录试剂盒、荧光定量试剂盒、DL2000 Plus DNA Marker 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.3 鸡胚左右性腺形态观察

将 E6 (HH29)、E7 (HH31) 和 E8 (HH34)

时期的孵化种蛋用酒精消毒后打开气室端, 取出胚胎, 在体式显微镜下打开腹腔, 用镊子掀开内脏, 暴露中肾和性腺, 观察左右性腺并拍照记录。

1.4 鸡胚性腺 PGCs 的分离和纯化

将孵化种蛋 (E6~E8) 酒精消毒后打开气室端, 取出胚胎, 在体式显微镜下分离位于中肾两侧的性腺组织, PBS 洗涤后存于 1.5 mL 无菌管。加入无动物源胰蛋白酶, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 5 min , 吹打研磨, 再孵育 5 min 。PBS 中和后离心弃上清液, 用 PGCs 完全培养基重悬至 24 孔板。差速贴壁 4 h 后转移上层培养液 (悬浮的 PGCs) 至新孔, 底层贴壁的性腺基质细胞 (GSCs) 补充 $500 \mu\text{L}$ 培养基继续培养。每 $2 \sim 3 \text{ d}$ 半量换液。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测

分别收集培养的性腺 PGCs 和 GSCs, 提取总 RNA, 反转录。实时荧光定量 PCR 检测生殖细胞标记基因类无精症缺失基因 (DAZL) 和死盒解旋酶 4 (DDX4) 的表达量。引物序列信息见表 1。反应体系 $10 \mu\text{L}$: $2 \times \text{ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix}$ $5 \mu\text{L}$, 上下游引物 ($10 \mu\text{mol/L}$) 各 $0.4 \mu\text{L}$, 模板 $1 \mu\text{L}$, ddH₂O $3.2 \mu\text{L}$ 。反应条件: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 30 s ; $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 5 s , $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 30 s , 40 个循环。定量结果采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列信息

名称	序列 (5'→3')	GenBank 登录号
DAZL-F	TCACTGACAGGACTGGTGTTTC	204218
DAZL-R	ATTGCTGGTCCCAGTTTCAG	
DDX4-F	TCCCAGAGCCACACAGATG	204708
DDX4-R	AAGTGATGCGCCCTCCTCTC	
β -actin-F	ATTGTCCACCGCAAATGCTTC	396526
β -actin-R	AAATAAAGCCATGCCAATCTCGTC	

1.6 鸡 PGCs 的 PAS 糖原染色

将新鲜分离的性腺消化成细胞悬液, 滴加于多聚赖氨酸载玻片上, 涂抹分散, 静置 10 min 使细胞黏附。滴加 $20 \sim 40 \mu\text{L}$ 固定液覆盖细胞, 暗盒静置 15 min 固定。蒸馏水轻洗 2 次, 暗盒晾干 5 min 。加 $20 \mu\text{L}$ 氧化剂覆盖细胞, 暗盒氧化 20 min , 蒸馏水冲洗晾干。滴加 $20 \mu\text{L}$ 希夫 (Schiff) 染液避光浸染 $15 \sim 30 \text{ min}$, 亚硫酸溶液洗 3 次后晾干。加苏木素染色 $1 \sim 2 \text{ min}$, 自来水冲洗晾干, 镜检细胞数量。

1.7 鸡胚性别鉴定

采集少量鸡胚躯干组织提取基因组 DNA，根据鸡染色体结构域解旋酶 DNA 结合蛋白 1 (CHD1) 基因在 Z 和 W 染色体的片段大小不一致对鸡的遗传性别进行 PCR 鉴定，琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。利用 CHD1 基因 PCR 扩增条带判断雌雄^[9]。

1.8 鸡胚左右侧性腺的细胞计数

受精种蛋分别孵化至 HH29、HH31、HH34，将单侧性腺消化成 100 μL 细胞悬液，吸取 10 μL 细胞悬液涂抹在多聚赖氨酸防脱载玻片上，等待 5 min 使细胞完全沉淀，用体视显微镜观察，PGCs 呈圆形或椭圆形，体积比性腺中其他细胞大；每侧性腺取 3 个视野拍照后用 ImageJ 进行细胞计数。

1.9 数据统计与分析

采用 SPSS 26.0 软件的双尾 *t* 检验对数据进行分析。数据表示为“平均值±标准误”。*P*<0.05 表示有统计差异。

2 结果与分析

2.1 鸡 PGCs 的 PAS 糖原染色法鉴定

采用 PAS 糖原染色法对鸡胚性腺中分离的 PGCs 进行鉴定。PAS 糖原染色如图 1 所示，深紫色为 PGCs，体积比性腺中其他细胞大，而其他细胞呈淡紫红色，形成明显的着色差异。

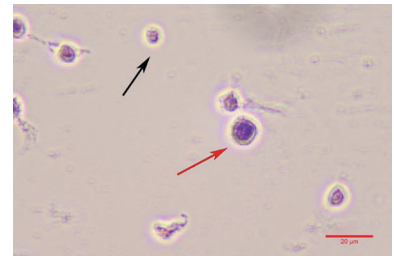
2.2 鸡 PGCs 标志基因的实时荧光定量 PCR 检测

实时荧光定量 PCR 检测鸡 PGCs 和 GSCs 的 DAZL 和 DDX4 mRNA 表达情况见图 2。与 GSCs 相比，分离培养的细胞中生殖细胞标记基因 (DAZL 和 DDX4) 表达水平极显著上调，而 GSCs 几乎不表达，证实所得的细胞为鸡 PGCs。

2.3 鸡胚左右侧性腺的细胞数量统计

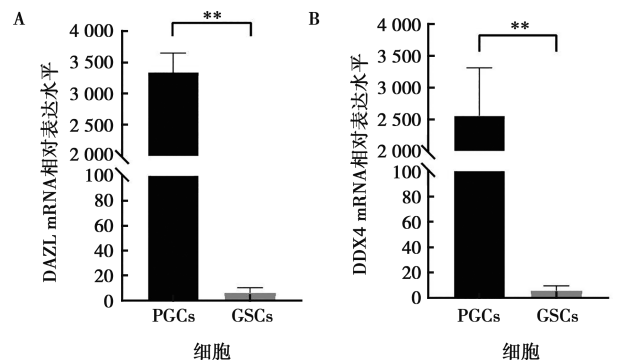
经性别鉴定后的 HH 29 (E6)、HH 31 (E7)、HH 34 (E8) 鸡胚共 270 枚，每个时期雌雄各 45 枚，分离左右性腺，统计性腺体细胞数和 PGCs 数。结果

如图 3 所示，HH29 时雌性右侧性腺体细胞数较左侧出现减少的趋势，但差异不显著 (*P*>0.05)；HH31 时期雌性右侧性腺体细胞和 PGCs 数显著低于左侧 (*P*<0.05)；发育至 HH34 时，雌性左右侧性腺体细胞数和 PGCs 数差异极显著 (*P*<0.01)，而雄性鸡胚左右侧性腺体细胞和 PGCs 数在三个时期均无显著差异。雌性左右侧性腺体细胞和 PGCs 数量在 HH31 开始出现显著差异，雄性两侧性腺体细胞和 PGCs 数量变化则与形态分化特征 (图 4) 一致。



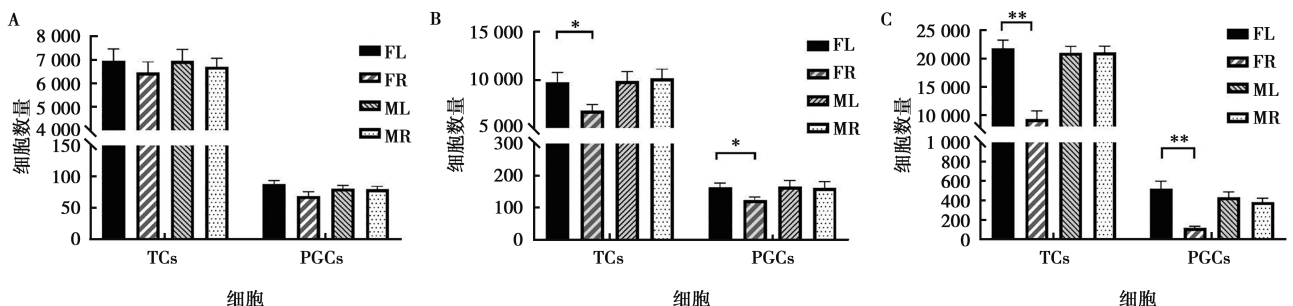
红色箭头指示 PGCs，黑色箭头指示性腺中其他细胞。标尺 = 20 μm。

图 1 鸡胚性腺 PGCs 的 PAS 糖原染色



** 表示差异极显著 (*P*<0.01)。下同。

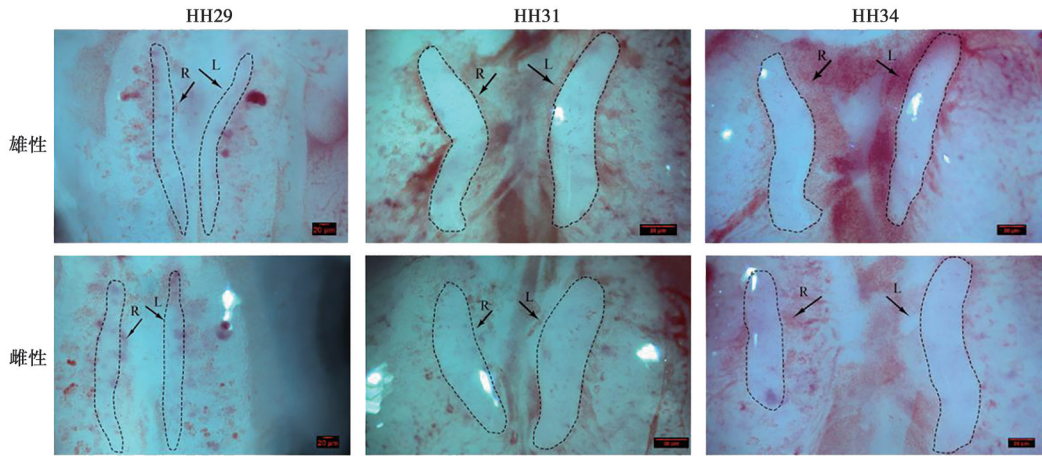
图 2 生殖细胞标记基因 DAZL (A) 和 DDX4 (B) mRNA 的表达情况 (*n*=3)



TCs 为性腺体细胞；FL、FR 分别为雌性左右侧，ML、MR 分别为雄性左右侧；* 表示 *P*<0.05，下同。

A. HH29; B. HH31; C. HH34。

图 3 不同时期鸡胚左右性腺体细胞和 PGCs 数 (*n*=45)



L. 鸡胚左侧性腺；R. 鸡胚右侧性腺。标尺 = 20 μm 。

图4 不同时期鸡胚性腺形态

3 讨论

PGCs 的分离、体外培养以及性腺分化是禽类遗传育种研究的热门课题。作为精原细胞和卵原细胞的前体, PGCs 在珍稀品种的保种、嵌合体生产方面发挥非常重要的作用。研究表明, PGCs 特异表达生殖细胞特异性标记基因 *DDX4* 和 *DAZL*^[10-12]。PGCs 表面富含糖原颗粒, 其表面糖原被氧化剂氧化后与希夫试剂结合产生紫红色, 故常用 PAS 染色来鉴定鸡 PGCs^[13]。本试验通过实时荧光定量 PCR 检测发现生殖细胞特异性标记基因 (*DAZL* 和 *DDX4*) 均在 PGCs 中显著高表达; PAS 糖原染色进一步显示 PGCs 呈现紫红色。以上结果表明从鸡胚性腺中成功分离得到 PGCs。

性腺性别分化是研究细胞命运决定机制的优良模型^[14]。研究表明, PGCs 的定植与生殖腺形成密切相关, 在 HH15~HH18 阶段, PGCs 通过血管循环迁移至体腔上皮增厚区, 与此同时性腺开始形成^[15-16]。当胚胎发育至 HH29 时, 性腺开始向卵巢或睾丸分化发育^[17]; 此时性腺形态开始分化, 但仍未能通过肉眼观察分辨性别。直至性腺分化至 HH34 时, 雌性左右性腺形态大小具有明显差异^[18]。本研究从 HH29、HH31 和 HH34 三个性腺形态分化关键时期的雌雄鸡胚中分离左右侧性腺, 比较左右侧性腺的细胞数量差异。结果表明, 雄性左右侧性腺体细胞数及 PGCs 数在三个时期均无显著差异, 与雄性性腺形态发育特征一致; 雌性鸡胚右侧性腺体细胞数和 PGCs 数在 HH29 出现比左侧减少的趋势, 但差异不显著, 与此时性腺形态开始分化特征一致。Luo 等^[19]对 HH25、HH28 和 HH30 鸡胚胎中左右性腺的表达谱分析结果

显示, 在 HH30 时与血氧转运有关的基因如血红蛋白亚基 $\alpha 1$ (*HBA1*)、血红蛋白 α 亚基 D (*HBAD*)、血红蛋白 ζ 亚基 (*HBZ*) 和血红蛋白 β 亚基 ρ (*HBBR*), 在雄性胚胎右侧性腺中表现出显著更高的表达水平。这一现象提示, 雄性鸡胚胎可能通过激活右侧性腺中的血氧运输相关通路, 以抑制该侧性腺的发育退化; 相比之下, 雌性胚胎右侧性腺中未见此类基因的显著上调, 因而未能启动相应的保护机制。此外, 类固醇生成因子 1 (*SF1*) 在左侧性腺中的表达高于右侧, 这表明 *SF1* 直接激活细胞周期蛋白 *D1* 以促进左侧性腺的细胞增殖^[20]。据此推测, 在性腺形态开始出现分化的 HH29~HH30 阶段, 雄性右侧性腺可能通过上调特定基因表达等途径维持其正常发育, 而雌性右侧性腺则缺乏此类调控机制, 从而促使性腺发育趋向不对称, 此时右侧性腺体细胞数量已呈现较左侧减少的趋势。至 HH31 时雌性左右侧性腺体细胞数及 PGCs 均差异显著, 而此时在组织学水平上形态差异尚不明显。此前研究表明, 胚胎性腺的不对称形态发育受到多个侧偏性基因的调控^[21]。例如, 在性腺上皮中表达上调的配对样同源结构域 2 基因 (*PITX2*), 通过影响视黄酸 (RA) 通路调控靶基因的表达, 刺激细胞增殖从而控制性腺形态发生^[20-22]。此外, *PITX2* 可以通过诱导神经递质受体 5-羟色胺受体 1B (*Htr1b*) 或多巴胺受体 D4 (*Drd4*) 增强 5-羟色胺或多巴胺能信号传导来驱动左侧性腺发育。相比之下, 右侧退化性腺缺乏 *PITX2* 表达, 因此缺乏 *Htr1b* 或 *Drd4* 受体来激活 5-羟色胺或多巴胺能信号通路以维持性腺发育^[23], 推测 HH31 时雌性左右性腺 PGCs 数量出现显著差异是由于 *PITX2* 在左侧性腺中表达而增强细胞增殖, 而右侧性腺中缺乏 *PITX2* 的表达。

HH34 时差异进一步扩大, 与邹娴^[24]的研究发现此时期雌性性腺不对称形态差异明显这个结论一致。对胚胎发育后期 (HH34 和 HH35) 的转录组测序分析发现, 与左侧性腺相比, 右侧性腺中多数细胞周期相关基因如周期蛋白依赖性激酶 1 (CDK1) 和环盒蛋白 1 (RBX1) 表达下调, 提示该侧细胞增殖活性较低^[25], 表明 HH34 后左右性腺因特定的基因表达水平差异造成细胞状态差异, 右侧性腺体细胞增殖能力减弱, 两侧性腺体细胞数量出现极显著差异。综合以上研究可知, 在雌性鸡胚胎中, 左右侧性腺的细胞数量差异是由性腺形态分化过程中特定基因的表达差异所介导的细胞发育过程不同 (如细胞增殖能力的差异) 所致。

性腺形态分化的过程包括雄性性腺皮质变薄和睾丸索发育; 在雌性左侧性腺中, 体细胞和生殖细胞在皮质中大量增殖, 髓质空泡化^[26]。在 Wang 等^[27]的研究中进一步证明了皮质细胞在雌性左侧卵巢和卵泡发育中具有关键作用, 右侧性腺中的细胞则会逐渐走向程序性死亡^[28-29]。这与本研究中雌性右侧性腺体细胞和 PGCs 在 HH31 显著低于左侧结果吻合, 推测雌性性腺在不对称发育过程中性腺中细胞通过细胞间相互作用从而影响自身和邻近细胞的命运。此外, 对于性腺不对称发育的研究中, 转录组测序分析鉴定到 POU 结构域第 5 类转录因子 3 (POU5F3)、丝氨酸/苏氨酸激酶 31 (STK31)、DMRT 样家族 B1 (DMRTB1) 等基因可能参与调控不对称发育过程^[30]。研究结果表明微小 RNA (miRNAs) 和长链非编码 RNA (lncRNAs) 调控是新的基因特异性剂量补偿机制, 它们可能导致鸡性腺的左右不对称^[31]。定量蛋白组学的研究发现蛋白双性和 mab-3 相关转录因子 1 (DMRT1)、FOG 家族锌指蛋白成员 2 (ZFPM2)、锌指蛋白同源盒 3 (TSHZ3) 可能与雌性胚胎右侧性腺的退化有关^[32]。王静嫻^[33]通过雌性左右性腺蛋白组学差异研究发现左右性腺的差异蛋白主要集中于细胞凋亡, 性腺发育调控以及细胞黏附分子通路等代谢过程, 说明雌性退化的右侧性腺中有部分蛋白参与了程序性死亡过程。这表明雌性性腺的不对称发育是由多种因素调控, 未来可通过对这些基因和蛋白进行功能分析来解析调节右侧性腺变性的机制。

综上所述, 本试验揭示了鸡胚性腺形态分化过程中左右性腺体细胞数量的动态变化特征, 并系统分析了左右性腺中体细胞与 PGCs 的数量差异, 为阐明雌性左右性腺不对称发育机制提供了数据支撑。

参考文献:

[1] 耿立英, 赵书雨, 张传生, 等. 坝上长尾鸡原始生殖细胞的分

离、培养与鉴定 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016 (1): 101-104.

- [2] MÉNDEZ C, CARRASCO E, PEDERNERA E. Adenohypophysis regulates cell proliferation in the gonads of the developing chick embryo [J]. J Exp Zool Part A Comp Exp Biol, 2005, 303 (3): 179-185.
- [3] SMITH C A, SINCLAIR A H. Sex determination: insights from the chicken [J]. BioEssays, 2004, 26 (2): 120-132.
- [4] HAMBURGER V, HAMILTON H L. A series of normal stages in the development of the chick embryo [J]. Dev Dyn, 1992, 195 (4): 231-272.
- [5] CARLON N, STAHL A. Origin of the somatic components in chick embryonic gonads [J]. Arch Anat Microsc Morphol Exp, 1985, 74 (1): 52-59.
- [6] NAKABAYASHI O, KIKUCHI H, KIKUCHI T, et al. Differential expression of genes for aromatase and estrogen receptor during the gonadal development in chicken embryos [J]. J Mol Endocrinol, 1998, 20 (2): 193-202.
- [7] HOSHINO A, KOIDE M, ONO T, et al. Sex-specific and left-right asymmetric expression pattern of Bmp7 in the gonad of normal and sex-reversed chicken embryos [J]. Dev Growth Differ, 2005, 47 (2): 65-74.
- [8] 李碧春, 陈国宏, 王克华, 等. 鸡胚胎性腺发生发育的研究 [J]. 中国家禽, 2001, 23 (8): 58-61.
- [9] JUNG K M, SEO M, HAN J Y. Comparative single-cell transcriptomic analysis reveals differences in signaling pathways in gonadal primordial germ cells between chicken (*Gallus gallus*) and zebra finch (*Taeniopygia guttata*) [J]. FASEB J, 2023, 37 (1): e22706.
- [10] TSUNEKAWA N, NAITO M, SAKAI Y, et al. Isolation of chicken Vasa homolog gene and tracing the origin of primordial germ cells [J]. Development, 2000, 127 (12): 2741-2750.
- [11] KITO G, ARAMAKI S, TANAKA K, et al. Temporal and spatial differential expression of chicken germline-specific proteins cDAZL, CDH and CVH during gametogenesis [J]. J Reprod Dev, 2010, 56 (3): 341-346.
- [12] ADUMA N, IZUMI H, MIZUSHIMA S, et al. Knockdown of DEAD-box helicase 4 (DDX4) decreases the number of germ cells in male and female chicken embryonic gonads [J]. Reprod Fertil Dev, 2019, 31 (5): 847-854.
- [13] 张喆. 差速贴壁法分离纯化鸡原始生殖细胞的研究与应用 [D]. 南宁: 广西大学, 2023.
- [14] LI J, ZHANG X, WANG X, et al. Single-nucleus transcriptional and chromatin accessible profiles reveal critical cell types and molecular architecture underlying chicken sex determination [J]. J Adv Res, 2025, 70: 29-43.
- [15] ANDO Y, FUJIMOTO T. Ultrastructural evidence that chick primordial germ cells leave the blood-vascular system prior to migrating to the gonadal anlagen [J]. Dev Growth Differ, 1983, 25 (4): 345-352.
- [16] HIRST C E, MAJOR A T, SMITH C A. Sex determination and gonadal sex differentiation in the chicken model [J]. Int J Dev Biol, 2018, 62 (1/2/3): 153-166.
- [17] UKESHIMA A, FUJIMOTO T. A fine morphological study of germ cells in asymmetrically developing right and left ovaries of the chick

- [J]. *Anat Rec*, 1991, 230 (3): 378-386.
- [18] 高磊. 孵化温度对鸡胚性腺发育和性别分化的影响 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2022.
- [19] LUO H, ZHOU H, JIANG S, et al. Gene expression profiling reveals potential players of sex determination and asymmetrical development in chicken embryo gonads [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (19): 14597.
- [20] ISHIMARU Y, KOMATSU T, KASAHARA M, et al. Mechanism of asymmetric ovarian development in chick embryos [J]. *Development*, 2008, 135 (4): 677-685.
- [21] MONSORO-BURQ A H, LEVIN M. Avian models and the study of invariant asymmetry: how the chicken and the egg taught us to tell right from left [J]. *Int J Dev Biol*, 2018, 62 (1/2/3): 63-77.
- [22] GUIOLI S, LOVELL - BADGE R. PITX2 controls asymmetric gonadal development in both sexes of the chick and can rescue the degeneration of the right ovary [J]. *Development*, 2007, 134 (23): 4199-4208.
- [23] PENG Z, MAN Q, MENG L, et al. A PITX2-HTR1B pathway regulates the asymmetric development of female gonads in chickens [J]. *PNAS Nexus*, 2023, 2 (6): pgad202.
- [24] 邹娴. 鸡性别分化过程中关键基因、lncRNAs 和 miRNAs 的鉴定 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
- [25] LEE H J, HAN J H, CHAPMAN B, et al. A comprehensive transcriptional profiling of developing gonads reveals the role of TGF β signaling in female gonadal asymmetry in chickens [J]. *Poult Sci*, 2025, 104 (4): 104932.
- [26] CARRÉ G A, COUTY I, HENNEQUET-ANTIER C, et al. Gene expression profiling reveals new potential players of gonad differentiation in the chicken embryo [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (9): e23959.
- [27] WANG T, LENG D, CAI Z, et al. Insights into left-right asymmetric development of chicken ovary at the single-cell level [J]. *J Genet Genomics*, 2024, 51 (11): 1265-1277.
- [28] YU J, YAN L, CHEN Z, et al. Investigating right ovary degeneration in chick embryos by transcriptome sequencing [J]. *J Reprod Dev*, 2017, 63 (3): 295-303.
- [29] GUIOLI S, ZHAO D, NANDI S, et al. Oestrogen in the chick embryo can induce chromosomally male ZZ left gonad epithelial cells to form an ovarian cortex that can support oogenesis [J]. *Development*, 2020, 147 (4): dev181693.
- [30] 韩紫燕, 吴申军, 鲍海港. 基于转录组测序鉴定雌性鸡胚性腺不对称发育相关候选基因 [J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60 (3): 149-155.
- [31] ZOU X, WANG J, QU H, et al. Comprehensive analysis of miRNAs, lncRNAs, and mRNAs reveals potential players of sexually dimorphic and left-right asymmetry in chicken gonad during gonadal differentiation [J]. *Poult Sci*, 2020, 99 (5): 2696-2707.
- [32] QIN H, WANG J, JIA X, et al. Quantitative proteomics analysis of chicken embryos reveals key proteins that affect right gonadal degeneration in females [J]. *Proteomics*, 2025, 25 (13): 2200428.
- [33] 王静嫻. 鸡胚性腺差异蛋白质组学的初步研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2021.