

秦岭北坡中国林蛙精巢显微结构的年周期变化

杨 纯^{①②} 张育辉^{①*}

(^①陕西师范大学生命科学院 西安 710062; ^②山西师范大学生命科学院 临汾 041004)

摘要:用光镜观察了秦岭北坡中国林蛙 (*Rana chensinensis*) 精巢显微结构的年周期变化,结合精巢系数的变化探讨其生殖规律。结果显示,秦岭北坡中国林蛙的生精周期属于非连续型。精巢系数的变化与精子发生的活动周期相一致。精子发生从每年5月开始,翌年4月结束,历时1年。生精周期可划分为5个时期。Ⅰ期,精原细胞增殖期,5~7月,精巢系数最小,精原细胞进行有丝分裂;Ⅱ期,精母细胞成熟分裂期,8~9月,精巢系数最大,精原细胞、精母细胞和精子细胞在生精小管内共存;Ⅲ期,精子形成期,9~10月,精子细胞变态形成精子;Ⅳ期,成熟精子贮存越冬期,11月至翌年2月,成熟精子贮存在生精小管中;Ⅴ期,精子排放期,翌年3~5月,精巢系数显著下降,成熟精子从生精小管脱离,通过输精管道排出体外。

关键词:中国林蛙 精巢 显微结构 年生殖周期

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)03-81-05

Annual Variation of the Testicular Microstructure of *Rana chensinensis* in the North Slope of Qinling Mountains

YANG Chun^{①②} ZHANG Yu-Hui^①

(^① College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062;

^② College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China)

Abstract: Combined with the variations of testis somatic index, the testicular microstructure of *Rana chensinensis* in the north slope of Qinling Mountains was observed using light microscopy and during the annual reproductive cycle, to investigate its reproductive pattern. The spermatogenetic cycle of the frog showed a discontinuous type. The seasonal variation of testis somatic index was well consistent with the spermatogenetic cycle. The spermatogenesis in *R. chensinensis* started in May and ended in April next year. It took one year from spermatogonial proliferation to spermiation. The spermatogenetic cycle of the frog comprised five stages with significant features. In stage I from May to July, testis somatic index was in minimum and spermatogonia actively divided, while other spermatogenic cells did not form. In stage II from August to September, testis somatic index was in maximum, and many spermatogonia, spermatocytes and spermatids were observed in seminiferous tubules. In stage III from September to October, spermatids were transformed to spermatozoa. In stage IV from November to next February, mature spermatozoa were observed to store in seminiferous tubules. In stage V from next March to May, the testis somatic index appeared significantly declined, mature spermatozoa were released from Sertoli cells into the tubule lumen, and thereafter were evacuated from the testis.

Key words: *Rana chensinensis*; Testis; Microstructure; Annual reproductive cycle

基金项目 陕西省自然科学基金(No.2001SM26);

* 通讯作者, E-mail: yu-huizhang@163.com;

第一作者介绍 杨纯,男,硕士,研究方向:两栖动物生殖内分泌。

收稿日期:2004-07-12,修回日期:2005-03-18

中国林蛙 (*Rana chensinensis*) 是我国重要的经济两栖动物。国内分布于黑龙江、吉林、辽宁、河北、山西、内蒙古、河南、安徽、江苏、湖北、陕西、宁夏、甘肃、青海、新疆、四川和西藏。国外分布于前苏联、蒙古、日本和朝鲜。秦岭山区是中国林蛙模式标本的发现地^[1]。汉丽梅等^[2]仅对东北地区中国林蛙繁殖季节雄蛙生殖腺的组织学变化进行了研究,但该种精巢的年周期变化规律仍不明确。本文对分布于秦岭北坡的中国林蛙精巢的显微结构和精巢系数的年周期变化进行了研究,为进一步研究中国林蛙的生殖生物学和人工繁养提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 所用标本中国林蛙雄性成体共 72 只,采于秦岭北坡,西安市长安区大峪水库附近的沟地带,从 2002 年 5 月~2003 年 5 月,每月 6 只。24 h 内测量体长(精度 1 mm)和体重(精度 1 mg),然后毁髓处死,剖腹取精巢称重(精度 1 mg)。

1.2 方法 精巢用改良 Bouin's 液固定 24 h,常规石蜡切片,切片厚度 5~8 μm 。H.E 染色,光镜下观察、测量、记录并摄片。

2 结果

2.1 精巢系数的年周期变化 共统计中国林蛙雄性成体 72 只,体长为(45.5 \pm 4.9) mm。精巢系数(精巢重/体重 \times 100)呈现明显的季节性变化(图 1)。

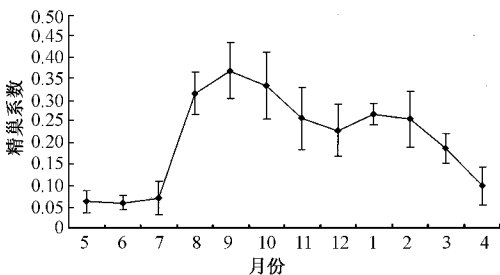


图 1 中国林蛙精巢系数的年周期变化
(平均值 \pm 标准偏差)

2.2 精巢显微结构的年周期变化 中国林蛙

的精巢属小管型。生精小管的管壁上有永久性的精原细胞和不同发育时期的生精细胞,生精细胞镶嵌在支持细胞周围。间质区内有间质细胞、成纤维细胞、色素细胞和微血管分布。生精小管的管径和间质区大小随季节呈现周期性变化。不同个体之间差异较小。

5~7 月 精巢体积较小。大部分生精小管中的成熟精子已排出,管径较小,管壁周缘有支持细胞分布,胞核直径约 5 μm 。精原细胞几乎占据整个管腔,胞核直径约 5 μm 。间质区不明显,间质细胞数量较少(图版 I:1)。

8 月 精巢体积显著增加。生精小管的管径变大。管壁上有大量的精母细胞和精子细胞。精母细胞胞核直径为 5~10 μm ,精子细胞胞核直径为 2.5~3 μm 。间质区增生,间质细胞数量增多(图版 I:2,3)。

9 月 精巢体积未继续增大。生精小管内精子细胞较多。在少数生精小管内,精子头部内陷于支持细胞中,尾部朝向管腔,成簇状间隔排列在生精小管管壁(图版 I:4)。

10 月 精巢体积无明显变化。大多数生精小管内的精子细胞已完成变态,移向生精小管管壁。部分精子细胞未变态或未完成变态,散乱分布于管腔中(图版 I:5)。间质区显著可见,间质细胞较丰富。

11 月至翌年 2 月 精巢体积略有减小。生精小管的管径变小,成熟精子成簇状沿管壁规则排列。部分生精小管内仍有未变态和变态中的精子细胞。个别生精小管内有散乱排列的成熟精子。间质区明显,间质细胞较多(图版 I:6,7)。

3 月 精巢体积较前期有所减小。部分生精小管内精子脱离支持细胞,散乱分布。部分生精小管内精子与支持细胞同时脱离生精上皮。个别生精小管内精子已排出,精原细胞明显可见,支持细胞镶嵌其中。间质区明显,间质细胞数量较多,核直径为 5~7.5 μm (图版 I:8)。

4 月 精巢体积明显减小。大多数生精小管内的精子已排空,一些生精小管管腔内残留

有支持细胞或有残留精子,精原细胞明显可见。精巢中央区域的生精小管有塌陷现象,管腔窄,不规则。间质区变小,不如3月份明显(图版 I 9)。

3 讨 论

无尾两栖动物的生精周期有连续型、非连续型和潜在连续型3种类型^[3,4]。赤道附近的环境温度没有显著的季节性变化,无尾两栖类呈现出连续型精子发生。其他两种精子发生的类型主要存在于温带物种中。食用蛙(*R. esculenta*)的精子发生为潜在连续型,寒冷的冬季精子产生中断,但初级精原细胞仍以较低的频率分裂,产生生精小囊,精巢重量并非总与生精活动保持一致^[5,6]。也有个别无尾两栖类精子发生模式是内在的,不受气候条件影响,如田野蛙(*R. arvalis*)和捷蛙(*R. dalmatina*)^[7]。

欧洲林蛙(*R. temporaria*)的生精周期为非连续型,精子产生限定在一年内特定的阶段,精巢重量是精巢功能的适当指数,精巢重量的季节性变化与精子发生进程一致^[8]。因此,可将精巢重量和显微结构的季节性变化相结合作为判定非连续型生精周期的依据。在中国林蛙,本文为减少个体间的体重差异,用精巢系数表示精巢的相对重量。结果显示5~7月中国林蛙精巢系数较小,且略呈上升趋势(图1),这与该阶段精原细胞外其他生精细胞的缺失、精原细胞缓慢的有丝分裂增殖有关。8~9月精巢系数突增,这与该阶段大量精母细胞的出现紧密相关。10月精巢系数有所下降,精母细胞缺失,大量精子细胞变态过程中丢弃部分细胞质可以解释这一现象。11月至翌年2月精巢系数没有显著的变化,这与冬眠期基础代谢率低,没有精子排出有关。贮存精子的排出可能是导致3~4月精巢系数明显下降的主要原因。在食用蛙、水蛙(*R. epeirotica*)和其他无尾两栖类中也有类似的解释^[8,9]。精巢系数的季节性变化反映中国林蛙雄性成体的生殖年周期规律,并且与组织学观察结果一致。说明中国林蛙的生精周期为非连续型。汉丽梅等^[2]对东北地区

雄性中国林蛙冬眠前、繁殖期生殖前后的组织学和生殖内分泌方面的研究表明,血清中睾酮水平的变化与精巢周期的结构变化以及生殖活动是一致的。同样,秦岭北坡的中国林蛙精巢结构呈现明显的季节性变化,也可能与睾酮的周期性变化相一致。

本文观察表明,中国林蛙生精周期属于非连续型,精巢系数的变化与精子发生的活动周期相一致。依据 Tsiora 等^[7]对水蛙精巢年周期活动的分期,并结合精巢系数和精巢显微结构的季节性变化规律,将中国林蛙的整个生精周期分为5个时期:Ⅰ期,精原细胞增殖期,5~7月,精巢系数最小,精原细胞进行有丝分裂,其他生精细胞尚未形成;Ⅱ期,精母细胞成熟分裂期,8~9月,精巢系数最大,生精细胞大多处于精母细胞阶段,并有少量精子细胞在生精小管内出现;Ⅲ期,精子形成期,9~10月,精子细胞变态形成成熟精子;Ⅳ期,成熟精子贮存越冬期,11月至翌年2月,成熟精子贮存在生精小管中;Ⅴ期,精子排放期,翌年3~5月,精巢系数显著下降,成熟精子从生精小管上脱离,逐渐排出。由于不同个体之间精子发生不完全同步,同一个体的不同生精小管内生精细胞发育也不完全同步,所以,生精周期的不同阶段之间略有重叠。虽然同一发育阶段在时间上略有差异,但他们在发育程序上的基本特征是一致的。

对秦岭山区中国林蛙生态习性的研究显示,5月初中国林蛙离开繁殖场所进入生殖休眠,直至5月中旬结束。此后选择阴坡、潮湿而凉爽的阔叶林或灌丛草地活动。9~10月陆续从山坡向低地迁移,准备冬眠,来年春季配对繁殖^[1]。本文的组织学和野外观察与上述报道基本一致。中国林蛙生精周期的5个不同阶段,与其在不同季节、不同环境中的活动规律同样具有一致性。对黑斑蛙(*R. nigromaculata*)、粗皮蛙(*R. rugosa*)和佩氏蛙(*R. perezi*)的研究表明,无尾类不同种的生精周期随生活环境的不同存在很大的差异,即使同种个体之间也略有差异^[3,10]。屠氏蛙(*R. dybowskii*)为非连续型精子发生,新一轮精子发生的启动和精子形成受

日照、温度、食物和降雨等环境因子影响^[3]。在中国林蛙,有关精子发生与环境因子之间的关系仍有待研究。

参 考 文 献

[1] 叶昌媛 费梁 胡淑琴. 中国珍稀及经济两栖动物. 成都: 四川科学技术出版社, 1993 212 ~ 215.

[2] 汉丽梅 汉丽萍 刘明春. 繁殖季节中国林蛙雄蛙血清睾酮水平和性腺变化的研究. 特产研究, 2002 (2): 5 ~ 7.

[3] Ko S K ,Kang H M ,Im W B ,et al. Testicular cycles in three species of Korean frogs :*Rana nigromaculata* ,*Rana rugosa* , and *Rana dybowskii* . *Gen Comp Endocrinol* ,1998 ,**111**(3): 347 ~ 358 .

[4] Rastogi R K. Seasonal cycle in anuran (amphibia) testis :the endocrine and environmental controls. *Boll Zool* ,1976 **43** :151 ~ 172 .

[5] Iela L ,Milone M ,Caliendo M F ,et al. Role of lipids in the

physiology of the testis of *Rana esculenta* :annual changes in the lipids and protein content of the liver ,fat body ,testis and plasma. *Boll Zool* ,1979 **46** :11 ~ 16 .

[6] Rastogi R K ,Iela L ,Delrio G ,et al. Environmental influence on testicular activity in the green frog. *J Exp Zool* ,1978 **206** : 49 ~ 64 .

[7] Tsiora A , Kyriakopoulou-Sklavounou P. Male reproductive cycle of the water frog *Rana epeirotica* in northwestern Greece. *Amphibia-Reptilia* 2001 **22** 291 ~ 302 .

[8] Lofts B ,Wellen J J ,Benraad T J. Seasonal changes in endocrine organs of the male common frog ,*Rana temporaria* . 3. The gonads and cholesterol cycles. *Gen Comp Endocrinol* , 1972 ,**18**(2) 344 ~ 363 .

[9] Long D R. A comparison of energy substrates and reproductive patterns of two anurans. *Acris crepitans* and *Bufo woodhousei* . *Comp Biochem Physiol A* ,1987 **87**(1) 81 ~ 91 .

[10] Delgado M J ,Gutierrez P ,Alonso-Bedate M. Seasonal cycles in testicular activity in the frog , *Rana perezi* . *Gen Comp Endocrinol* ,1989 **73**(1): 1 ~ 11 .

图 版 说 明

1. 5 月 生精小管内的精原细胞开始增生(→)× 160 ;
2. 8 月 精母细胞(→)和精子细胞(△)× 76 ;
3. 8 月 精母细胞(→)和精子(△)× 310 ;
4. 9 月 精母细胞(△)和精子细胞(→)× 160 ;
5. 10 月 变态中的精子细胞(→)× 310 ;
6. 11 月 簇状排列的精子(→)和未变态的精子细胞(△)× 160 ;
7. 1 月 生精小管内呈簇状规则排列的精子(→)× 160 ;
8. 3 月 支持细胞(→)和精子(△)脱离生精小管壁 × 160 ;
9. 4 月 精巢中央的生精小管塌陷(△)× 76。

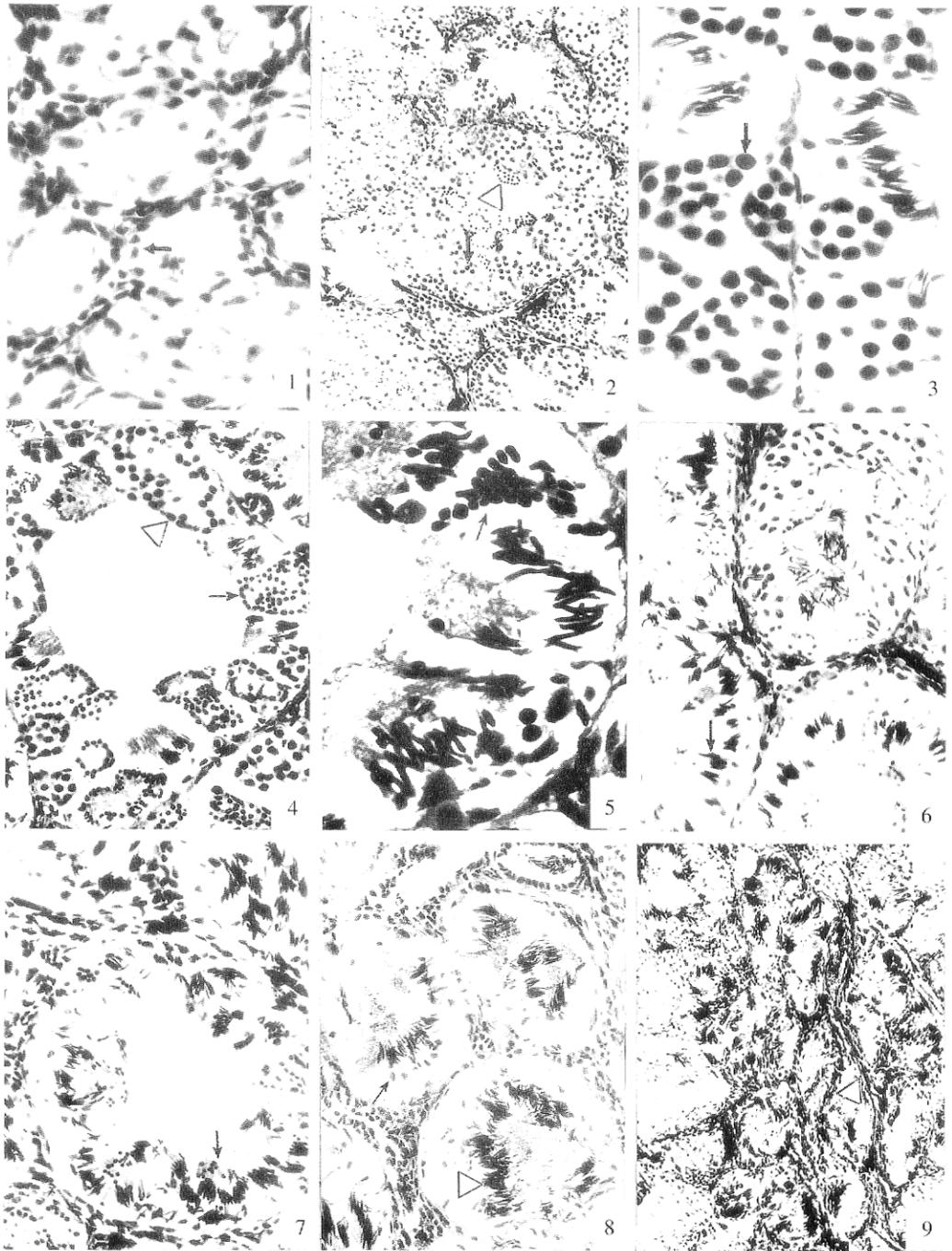
杨纯等:秦岭北坡中国林蛙精巢显微结构的年周期变化

图版 I

YANG Chun *et al.*: Annual Variation of the Testicular Microstructure of *Rana chensinensis*

in the North Slope of Qinling Mountains

Plate I



图版说明见文后