

中国动物学会两栖爬行动物学分会

HERPETOLOGICA  
SINICA

两栖爬行动物学研究

本辑主编/周开亚

第 9 辑

青海人民出版社

# 两栖爬行动物学研究

HERPETOLOGICA SINICA

(第9辑)

中国动物学会两栖爬行动物学分会

本辑主编 周开亚

青海人民出版社

图书在版编目(CIP)数据

两栖爬行动物学研究.第9辑/周开亚主编. — 西宁:  
青海人民出版社,2002.10  
ISBN 7-225-02194-X

I.两... II.周... III.①两栖纲-动物学-学术  
会议-文集②爬行纲-动物学-学术会议-文集  
IV.①Q959.5-53②Q959.6-53

中国版本图书馆CIP数据核字(2002)第077239号

## 《两栖爬行动物学研究》编辑委员会 (第9辑)

主 编 周开亚  
副主编 王义权 李德俊 费 梁 杨大同 常 青  
编 委 (以姓氏笔画为序)  
王义权 王跃招 计 翔 史海涛 刘广芬  
江建平 李丕鹏 李贵生 李德俊 吴玉群  
沈猷慧 杨大同 周开亚 费 梁 赵文阁  
聂刘旺 龚大杰 黄永昭 常 青 梁 刚  
程 红

# 目 录

## 形 态 学

- 东北小鲵血细胞形态观察及血液检验分析 ..... 王丽文 彭霞 王泳 (1)
- 龙洞山溪鲵精子形态研究 ..... 郑中华 江建平 谢锋 费梁 叶昌媛 (4)
- 红瘰疣螈胚胎及胚后发育的观察 ..... 胡健生 周桐 陈明勇 傅士华 (10)
- 中国林蛙蝌蚪的解剖学研究 ..... 曹玉萍 张昭 任珊珊 王大伟 何凯宇 谢松 (18)
- 昆嵛林蛙与中国林蛙蝌蚪的比较研究 ..... 陆宇燕 孙明宽 麻常昕 周华英 李丕鹏 (23)
- 中国林蛙胃肠道嗜银细胞的分布及形态学观察 ..... 李淑兰 赵文阁 王云秋 (28)
- 中华蟾蜍呼吸系统的组织学研究 ..... 甘光明 张耀光 王志坚 万海龙 张贤芳 (33)
- 中华蟾蜍视觉器官组织学结构的研究 ..... 车静 张耀光 王志坚 岳兴建 (43)
- 三种两栖爬行动物白化个体的观察报告 ..... 潘鸿春 周开亚 宋大祥 顾长明 吴月龙 (54)
- 脆蛇蜥头部鳞片的变异 ..... 吴光举 肖立 朱洁 吴同和 (57)

## 区系和分类学

- 内蒙古阿拉善地区爬行动物调查 ..... 毕俊怀 (60)
- 黄山市爬行动物多样性和区系特点 ..... 唐鑫生 周俊鑫 纪亚 (64)
- 海南岛两栖爬行动物现状 ..... 宋晓军 江海声 邹发生 史海涛 (69)
- Description of *Megophrys wawuensis* (Anura, Pelobatidae) from Sichuan, China, with discussion  
on the relationships of its related species .....  
Jian-Ping JIANG, Liang FEI, Ming-Quan ZHENG, Chang-Yuan YE, Feng XIE, Yue-Ying CHEN (80)
- 泽蛙种组的分类地位和中国产泽蛙的种名订正 ..... 费梁 叶昌媛 江建平 谢锋 (88)
- 海南省蛇亚目新记录二种 ..... 宋晓军 张剑锋 (97)

## 生 态 学

- 无斑肥螈的生态生物学研究 ..... 徐剑 邹佩贞 温彩燕 陈建荣 (99)
- 生态因子对大鲵胚胎发育的影响 ..... 刘鉴毅 肖汉兵 杨焱清 (108)
- 温度变化对中国林蛙蝌蚪发育的影响 ..... 崔勇华 王日昕 朱玉芳 石戈 (116)
- 甘肃定西中国林蛙咸水泉池种群报道 ..... 龚大洁 程建国 (120)
- 凹耳蛙的生境选择及其食性分析 ..... 吴海龙 吴孝兵 (123)
- 鳄蜥个体形态变异及冬眠的探讨 ..... 曾志锋 张玉霞 (127)
- 山地麻蜥选择体温的实验观察 ..... 许雪峰 吴义莲 (131)
- 蛇岛蝮的无线电跟踪研究 .....  
..... 孙立新 Richard Shine Mark A. Fitzgerald Michael R. Kearney (136)



## 生理学、生物化学和分子生物学

- 云南三个异域分布的双团棘胸蛙种群的核型比较研究 ..... 胡健生 傅士华 周桐 (141)
- 河南产中国林蛙染色体组型的分析 ..... 陈晓虹 张军 钱纪春 祁喜涛 (146)
- 刺激蟾蜍迷走交感神经干对心率及胃酸、胃粘液分泌的影响 .....  
..... 张玉玉 赛道建 胡堃 王英红 (151)
- 基于 16S rRNA 基因序列的黑斑蛙分子系统地理学初步分析 .....  
..... 刘忠权 王义权 周开亚 (157)
- 乌梢蛇 Sox 基因的克隆及测序 ..... 杨超 聂刘旺 (162)
- 扬子鳄 2 个 Sox 基因 HMG-box 的克隆及序列分析 .....  
..... 陈冬生 聂刘旺 阙显照 程双怀 (167)

## 保护生物学

- 马鬃山东方铃蟾的生物学特征及保护 ..... 徐敬明 (172)
- 治勒自然保护区的两栖爬行动物及保护 ..... 李操 (175)
- 安徽省生物多样性的关键区 ..... 张方 吴孝兵 晏鹏 史燕 (180)
- 瑶山鳄蜥濒危现状及保育 ..... 张玉霞 曾志锋 (186)
- 广西十万大山自然保护区两栖类多样性及其保护 ..... 莫运明 罗宇 (190)

## 蛇毒和蛇伤防治

- 新型抗蝮蛇毒血清对不同蝮蛇毒作用的实验研究 .....  
..... 王丽 余清声 张曼 张梅 侯力强 朱柳 钟满森 (195)
- 墨旱莲对竹叶青蛇毒引起的炎症、出血及毒性的影响 .....  
..... 何经亮 张明红 刘广芬 王秀敏 王晴川 (200)
- 精制蝮蛇抗栓酶对红细胞变形能力的影响 ..... 姜长豪 (205)
- 蝮蛇咬伤的诊治及护理 ..... 王海燕 杜灵菊 (208)

## 综述

- 壁虎类系统学研究概况 ..... 韩德民 周开亚 (211)
- 两栖爬行动物野外调查方法 ..... 谢锋 江建平 郑中华 (218)
- 蛇毒制剂治疗脑血管疾病的简况 ..... 杨丽霞 林然 吴玉群 王旭 (224)

## 简报、摘要

- 广西蛇类一新纪录——八线游蛇 ..... 莫运明 周石保 谢志明 周天福 (228)
- Paa* (*Feirana*) 一新种 ..... 陈晓虹 瞿文元 江建平 (230)
- 棘蛙属一新种 ..... 陈晓虹 江建平 (231)
- 梭德氏蛙的种群遗传结构及演化单元研究 ..... 周文豪 (232)
- 三种经济蛙的 RAPD 分析 ..... 高建民 林玮 张彦定 郑基焕 (233)
- 墨旱莲对短尾蝮、蛇岛蝮、白眉蝮及尖吻蝮蛇毒引起的炎症和出血的影响 .....  
..... 陈建济 施东捷 刘广芬 王晴川 李克华 (234)

# 东北小鲦血细胞形态观察及血液检验分析

王丽文 彭霞 王永泳

(沈阳师范大学化学与生命科学学院, 沈阳 110034)

**摘要** 本文研究了东北小鲦的细胞形态学特征,进行了血液检验分析,并将其与大蟾蜍、短尾蝮进行了比较,东北小鲦的血细胞形态、数量均与大蟾蜍及短尾蝮蛇有较大差异,而血红蛋白含量和凝血时间则无显著差异。

**关键词** 东北小鲦;血细胞;形态特征;检验分析

东北小鲦(*Hynobius leechii*)隶属于两栖纲有尾目小鲦科小鲦属,在我国仅分布于东北地区的长白山脉,有关东北小鲦血液方面的研究国内尚未见报道。东北小鲦与大蟾蜍(*Bufo gargarizans*)、短尾蝮(*Gloydius brevicaudus*)一样,为一种外热源动物,其血细胞的产生与其代谢功能的强弱、年龄、性别及季节密切相关。本文初次对东北小鲦的血细胞形态进行了观察描述,并对其血液进行了检验分析,为东北小鲦的人工饲养,开发利用提供理论依据,并为比较生理学积累资料。

## 1 材料与方方法

东北小鲦采自辽宁省本溪市本溪县洋湖沟。观测时间为1990年5月至6月,1992年5月,1996年5月,2001年5月,总计30只,雌雄不限。采用刺破心脏的方法采血。血细胞计数用试管稀释法;血红蛋白测定用沙力氏比色法;凝血时间测定用毛细管法;血涂片用瑞氏染色法;光镜下观察并进行显微照相;血糖含量测定用酶学方法。

## 2 结果

### 2.1 血细胞的形态观察

#### 2.1.1 红细胞

光镜下呈椭圆形,长径 $26.67 \sim 36.67 \mu\text{m}$ ,平均为 $33.34 \mu\text{m}$ ;短径 $16.67 \sim 21.67 \mu\text{m}$ ,平均为 $20 \mu\text{m}$ ,胞核一个,大多数为椭圆形,少数为不规则形,偶见分裂期的红细胞。

#### 2.1.2 白细胞

数量较红细胞少,个体较红细胞小,多为球形。根据细胞质有无染色颗粒分为有粒白细胞和无粒白细胞。在有粒白细胞中,根据染色反应不同及大小不等的各种颗粒,可分为嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。无颗粒细胞为单核细胞和淋巴细胞。

嗜中性粒细胞:数量较多,细胞为圆形,直径为 $23.33 \mu\text{m}$ ,颗粒较细且分布均匀,具分叶的核。

嗜碱性粒细胞:直径 $28.33 \mu\text{m}$ ,核分叶,细胞质中颗粒大小不等,稀疏,分布不均匀,被染成

深蓝紫色,数量最少。

嗜酸性粒细胞:直径  $26.67 \mu\text{m}$ ,核分叶,细胞质内分布红色粗大嗜酸性颗粒,数量少。

单核细胞:数量较嗜中性粒细胞多,体积大,直径  $29.12 \mu\text{m}$ ,核不分叶,细胞质染色很浅。

淋巴细胞:数量最多,大小不一,直径  $8.10 \sim 24.33 \mu\text{m}$ ,细胞质极少,核大圆形,染色深。

血小板:呈纺锤形、肾形,长径为  $8 \mu\text{m}$ ,短径为  $5 \mu\text{m}$ ,常数个聚集成堆分布在血液中。

## 2.2 血液的检验分析

根据 30 只东北小鲵血液常规检验和血糖测定,其红细胞、白细胞、血红蛋白、凝血时,血糖值及与大蟾蜍、短尾蝮的比较见表 1,白细胞分类与大蟾蜍、蝮蛇(曲韵芳等,1985)的比较见表 2。

表 1 东北小鲵、大蟾蜍、短尾蝮的血液检验

检验项目	东北小鲵		大蟾蜍		短尾蝮	
	正常值范围	平均值	正常值范围	平均值	正常值范围	平均值
RBC(万个/ $\text{mm}^3$ )	12 ~ 36	27		38	45 ~ 138	83
WBC(千个/ $\text{mm}^3$ )	28 ~ 87	42.2	36 ~ 106	60	20.5 ~ 120	63.1
HB(g/100 mL)	7.5 ~ 9.0	8.2		8	6.7 ~ 8.0	7.3
凝血时间(分)	1.42 ~ 19	4.4	1.97 ~ 12	5.4	5 ~ 20	1.8
血糖(mg/dL)	64.8 ~ 76.0	70.38				

表 2 东北小鲵、大蟾蜍、短尾蝮的白细胞分类

WBC 种类	东北小鲵	大蟾蜍	短尾蝮
嗜中性粒细胞	15%	40%	43%
嗜碱性粒细胞	1%	1%	1%
嗜酸性粒细胞	2%	2%	14%
单核细胞	20%	15%	1%
淋巴细胞	62%	42%	49%

## 3 讨论

### 3.1 红细胞和血红蛋白

表 1 中,东北小鲵红细胞总数为  $27 \text{万个}/\text{mm}^3$ ,而大蟾蜍和短尾蝮分别为  $38 \text{万个}/\text{mm}^3$  和  $83 \text{万个}/\text{mm}^3$ ,东北小鲵的红细胞总数明显少于大蟾蜍和短尾蝮。但东北小鲵的血红蛋白含量却略高于大蟾蜍和短尾蝮。东北小鲵的血红蛋白为  $8.2 \text{g}/100 \text{mL}$ ,而大蟾蜍和短尾蝮则分别为  $8.0 \text{g}/100 \text{mL}$  和  $7.3 \text{g}/100 \text{mL}$ 。这可能与东北小鲵红细胞个体较大有关。东北小鲵红细胞长径为  $33.34 \mu\text{m}$ ,短径为  $20.10 \mu\text{m}$ ,而大蟾蜍和短尾蝮的红细胞长短径分别为  $20.00 \mu\text{m}$ 、 $13.30 \mu\text{m}$  和  $17.28 \mu\text{m}$ 、 $10.00 \mu\text{m}$ 。东北小鲵红细胞长短径与大蟾蜍和短尾蝮的红细胞长短径之间经差异显著性测定,差异极显著( $p < 0.01$ )。因此,虽然东北小鲵红细胞数量较少,但由于其个体较大,因而血红蛋白含量并不低,反而略高于大蟾蜍,明显高于短尾蝮。

另外,血细胞的产生与其代谢功能的强弱密切相关,血细胞数量及血红蛋白水平受动物年龄、季节、环境等因素的影响。东北小鲵为两栖类动物,但多生活于水中或潮湿的泥土中、石块下(姜雅风等,1987)。由于水中氧分压较低,且东北小鲵的肺不发达,使东北小鲵的皮肤呼吸

在呼吸过程中占有很大比例。因此,使东北小鲵以增加血红蛋白含量来促进对氧的吸收与转运,这也是自然选择的结果。另外,东北小鲵红细胞数量少可能和我们检测的季节有关,5~6月间东北小鲵生殖期刚刚结束,否则,其血红蛋白含量可能会更高些。

### 3.2 白细胞

表2表明,东北小鲵的白细胞总数较大蟾蜍和短尾蝮少,其中,嗜中性粒细胞明显少于大蟾蜍和短尾蝮,为15%,而大蟾蜍和短尾蝮分别为40%和43%。经差异显著性测定,差异极显著( $p < 0.01$ )。嗜中性粒细胞的主要功能是吞噬进入机体的异物,包括各种有害菌类。东北小鲵喜生活在洁净的山间小溪中,其环境没有污染,故嗜中性粒细胞较少。但东北小鲵的单核细胞占20%,明显高于大蟾蜍和短尾蝮(分别为15%和1%)。而单核细胞具有和嗜中性粒细胞相似的功能,单核细胞较多,可弥补嗜中性粒细胞较少所形成的不足。

从表2可以看出,东北小鲵的淋巴细胞含量较多达62%,而大蟾蜍和短尾蝮则为42%和49%,经差异显著性测定,差异极显著( $p < 0.01$ )。淋巴细胞具有免疫功能,是免疫系统的重要组成部分。这提示,东北小鲵可能具有较强的免疫机能,这与东北小鲵血中的嗜中性粒细胞较少有关。

综上所述,东北小鲵的血细胞形态和血液检验分析,均与大蟾蜍和短尾蝮存在着差异。特别是血中淋巴细胞的差异更为显著,产生这种差异的原因,有待生理生化的进一步研究。

### 参 考 文 献

- 曲韵芳,黄美华,曹毓敏,朱丰雪,董福明.1985.蛇类血液的研究I.血液的组成成分和形态学的观察.两栖爬行动物学报,4(4):353~354  
姜雅凤,王丽文,阎学林,卜宁.1987.千山地区东北小鲵的生态资料.四川动物,6(3):32~33

## Observation on the Morphology and Test of Blood Cell in *Hynobius leechii*

WANG Li-Wen, PENG Xia, WANG Yong  
(Shangyang Normal University, Shangyang 110034, China)

**Abstract:** This paper deals with the morphological feature of blood cell and test of blood of *Hynobius leechii*, to contrast with *Bufo gargarizans* and *Gloydius brevicaudus*. The results show that the shape and quantity of the blood cell of *Hynobius leechii* differ from those of *Bufo gargarizans* and *Gloydius brevicaudus*. The amount of hemoglobins and time of blood coagulation are similar to those of *Bufo gargarizans* and *Gloydius brevicaudus*.

**Keywords:** *Hynobius leechii*; Blood cell; Morphological feature; Test



# 龙洞山溪鲵精子形态研究\*

郑中华 江建平 谢 锋 费 梁 叶昌媛

(中国科学院成都生物研究所,成都 610041)

**摘 要** 通过光镜对龙洞山溪鲵精子的形态结构进行观察,并与小鲵科其他属物种精子的形态结构进行了比较。结果表明,龙洞山溪鲵精子的形态结构具有小鲵科物种精子的共同特征,但精子各部位的量度和各部位长度与精子总长的比例具有种的特异性。本研究结果进一步说明,小鲵科物种精子的结构特征和量度可为该科物种的分类和系统进化研究提供依据,也可为研究两栖动物精子与生存环境的关系,以及两栖动物精子的进化趋势积累基础资料。

**关键词** 小鲵科;龙洞山溪鲵;精子;形态学

龙洞山溪鲵(*Batrachuperus longdongensis*)又名羌活鱼、白龙,属两栖纲有尾目(Urodela)小鲵科(Hynobiidae)山溪鲵属(*Batrachuperus*)。山溪鲵属动物是我国西部特有、经济价值很高的一类两栖动物(叶昌媛等,1993)。但目前国外对其研究较少,我国学者对其形态特征、生态类型、地理分布开展了较广泛的研究(费梁等,1983;赵尔宓,1983;赵尔宓等,1985;徐剑,1993)。但对其繁殖生物学方面的研究较少,仅见对西藏山溪鲵繁殖生态、生殖腺的研究(徐剑等,1993;徐剑,1995),山溪鲵卵巢滤泡细胞结构的研究(贾林芝等,2000)。但对山溪鲵属精子形态结构的研究,国内外迄今未见报道。本文对龙洞山溪鲵的精子形态结构进行研究,目的是为系统研究山溪鲵属的精子形态特征,并为有尾两栖动物精子的研究积累资料,同时为龙洞山溪鲵的繁殖,人工饲养,资源保护与利用等奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本及采集地

龙洞山溪鲵于2001年3月至4月采自四川峨眉山海拔1200 m左右的龙洞河。

### 1.2 样品的制备

样品制备参照郑中华等(2000)、Kuramoto(1995)的方法,剖取繁殖季节性成熟龙洞山溪鲵的睾丸,清洗干净后,剪破,加入10%甲醛固定液,用玻棒轻轻挤压和搅拌,静置片刻,吸取精子悬浮液涂片,待自然干燥后,用苯胺蓝染色,于Olympus BHs-2光学显微镜观察、拍照。

### 1.3 精子的测量和统计

精子各部位的长度和总长系用放大的光学显微镜照片人工进行测量。为方便与已报道的小鲵科物种精子量度进行比较,本文采用Kuramoto(1995)的方法,精子头部的长度不包括顶体长度,顶体长度单独计算。精子的尾长和总长不包括轴丝的长度,精子的尾长包括颈部和尾部中段和主段的长度,尾部末段(轴丝)单独计算。所测数据用SPSS软件进行统计分析。

\* 国家自然科学基金项目(30000018)、中国科学院生命科学特别基金(STZ-01-19)、四川省科技厅应用基础课题、中国科学院分类区系特别支持项目资助。

## 2 结果

采用光学显微镜对龙洞山溪鲵精子形态结构进行观察,结果表明:龙洞山溪鲵的精子主要由头和尾两部分构成(图 1)。头部呈锥状,多数精子头部较直,少数微弯或呈弧形,头部的前段渐细,顶端细尖。精子的尾部长于头部,呈弯曲状,少数卷曲呈环状(图 1b),尾部主要由轴棒、波动膜、轴丝(尾丝)构成,尾部中段和主段的形态结构无明显区别,末段(end piece)无轴棒,仅见轴丝(图 1c)。

龙洞山溪鲵精子顶体与头部连接处略向内收缩,顶体和头部易于区别,顶体由顶体鞘(acrosomal sheath)或称顶体帽(acrosomal cap)和顶体下锥或穿孔器(perforatorium)组成。一些精子头部的顶体鞘已脱落,仅见尖细的顶体下锥(图 1b,c)。在头部的中段或后段,靠近颈部处可见胞质小团,在胞质小团上可见球状体(图 1a)。龙洞山溪鲵精子的颈部较短,比头部略细,与尾部无明显区别,但无波动膜和轴丝结构。

龙洞山溪鲵精子量度的统计结果(表 1)表明该物种的精子较长,其总长度为  $253.08 \sim 273.46(259.44 \pm 4.82) \mu\text{m}$ ;精子头部的长度为  $95.88 \sim 115.62(101.76 \pm 5.10) \mu\text{m}$ ,占精子总长的 39.21%;精子的尾部比头部长,占精子总长的 55.55%,其长度为  $137.52 \sim 151.94(144.10 \pm 3.53) \mu\text{m}$ ;顶体占精子总长的 5.24%,长度为  $10.48 \sim 15.77(13.59 \pm 1.52) \mu\text{m}$ ;精子的颈部较短,长度为  $4.65 \sim 6.27(5.42 \pm 0.48) \mu\text{m}$ ,占精子总长的 2.42%;末段轴丝的长度为  $15.00 \sim 23.88(19.65 \pm 2.75) \mu\text{m}$ ;精子头部宽度为  $1.38 \sim 1.81(1.73 \pm 0.10) \mu\text{m}$ 。

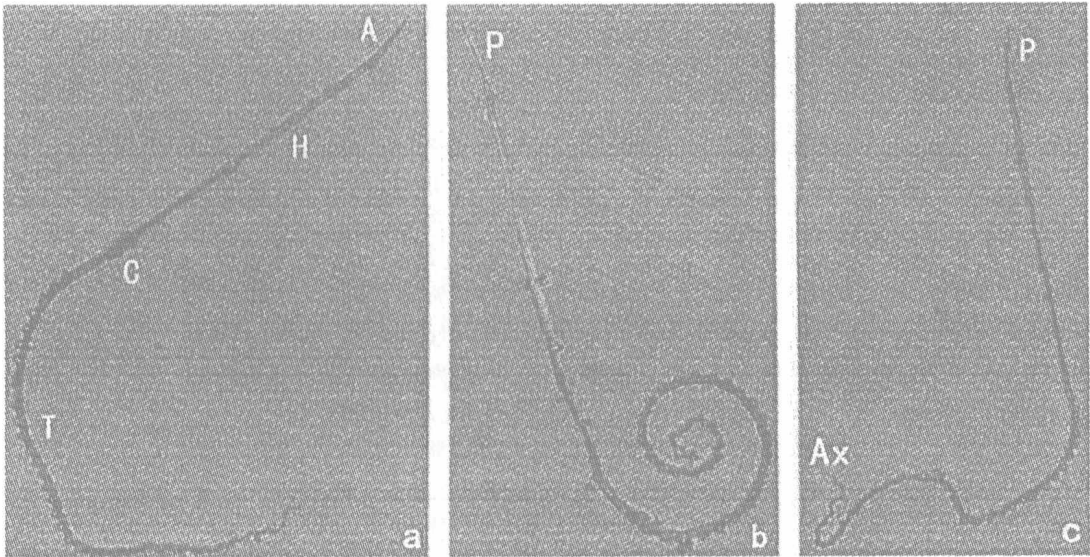


图 1 龙洞山溪鲵精子的光镜照片

A: 顶体(acrosome); Ax: 轴丝(axoneme); C: 胞质小团(cytoplasmic droplet);  
H: 头部(head); P: 顶体下锥(perforatorium); T: 尾部(tail)

## 3 讨论

### 3.1 龙洞山溪鲵与小鲵科其他属物种精子形态比较

目前,有尾两栖动物精子形态结构的研究国内外已有一些报道,如 Barker 等(1970)、Kear (1977)、Kuramoto(1995, 1997)、Mori(1936)、Picheral(1979)、Wortham 等(1977, 1982)、郑中华等

(2000)等对蝾螈科(Salamandridae)的蝾螈属(*Cynops*)、欧蝾螈属(*Triturus*)、肋突蝾螈属(*Pleurodeles*)、棘蝾螈属(*Echinotriton*)、疣蝾螈属(*Tylototriton*)、小鲵科(Hynobiidae)的小鲵属(*Hynobius*)、厚掌鲵属(*Pachypalaminus*)、极北鲵属(*Salamandrella*)、爪鲵属(*Onychodactylus*)、隐鳃鲵科(Cryptobranchidae)的大鲵属(*Andrias*)等属的部分物种精子的形态结构进行了相关研究。小鲵科中研究较多的是小鲵属,有10个种的精子形态已有报道(Kuramoto, 1995, 1997; Mori, 1936),厚掌鲵属、极北鲵属、爪鲵属仅见单一物种精子形态的报道(Kuramoto, 1995, 1997),但迄今未见到山溪鲵属精子形态研究的报道。本文通过光学显微镜,对龙洞山溪鲵精子的形态结构进行了观察研究,结果表明龙洞山溪鲵精子的形态结构与已报道的小鲵科中的小鲵属、厚掌鲵属、极北鲵属、爪鲵属等物种精子形态结构基本相同,其精子细长,尾部长于头部,头部呈锥状,尾部呈弯曲状,尾部由轴棒、波动膜、轴丝(尾丝)构成;精子的顶体呈锥形,前端尖细,有顶体鞘;靠近精子颈部可见胞质小团和球状体;颈部与尾部的区别不明显;尾部轴丝长于轴棒。这表明龙洞山溪鲵精子具有小鲵科物种精子形态结构的典型特征。

表1 龙洞山溪鲵精子和小鲵科其他属物种精子的量度比较(百分比为各部位与总长之比)

物种 species	精子数 number of sperm	精子量度( $\mu\text{m}$ ) (sperm size) ( $\mu\text{m}$ )					备注 reference
		顶体长 acrosome length	头长 head length	尾长 tail length	总长 total length	头宽 head width	
龙洞山溪鲵 <i>B. longdongensis</i>	15	13.59 ± 1.52 5.24%	101.7 ± 5.10 39.21%	144.1 ± 3.53 55.55%	259.39 ± 4.82	1.73 ± 0.10	Kuramoto, 1995
布氏厚掌鲵 <i>P. boulengeri</i>	20	16.6 ± 1.4 8.4%	62.7 ± 2.0 31.9%	117.3 ± 4.6 59.7%	196.6 ± 5.4	1.12 ± 0.06	
极北鲵 <i>S. keyserlingii</i>	20	171.1 ± 0.8 8.1%	66.5 ± 2.0 31.3%	128.8 ± 4.4 60.6%	212.4 ± 5.2	1.27 ± 0.08	
日本爪鲵 <i>O. japonicus</i>	20	14.4 ± 0.8 2.6%	203.7 ± 4.9 37.0%	337.2 ± 16.6 61.3%	549.8 ± 19.7	0.97 ± 0.06	
云斑小鲵 <i>H. nebulosus</i>	20	18.1 ± 2.1 10.2%	45.6 ± 2.3 25.6%	114.3 ± 4.7 64.2%	177.9 ± 5.5	1.02 ± 0.05	
黑小鲵 <i>H. nigrescens</i>	20	20.2 ± 2.8 12.4%	46.5 ± 2.3 28.5%	96.6 ± 3.7 59.1%	163.4 ± 3.9	1.11 ± 0.47	
黑疣小鲵 <i>H. naevius</i>	20	20.9 ± 1.2 7.7%	89.5 ± 2.4 32.8%	162.3 ± 4.6 59.5%	272.7 ± 5.5	0.89 ± 0.07	
邓氏小鲵 <i>H. dunni</i>	20	21.7 ± 1.5 8.7%	79.0 ± 2.9 31.6%	149.1 ± 10.3 59.7%	249.8 ± 8.7	0.86 ± 0.03	
对马小鲵 <i>H. tsuensis</i>	20	20.8 ± 0.6 8.7%	74.5 ± 1.9 31.1%	144.4 ± 3.9 60.2%	239.7 ± 4.1	0.91 ± 0.05	
费氏小鲵 <i>H. lichenatus</i>	120	17.6 ± 1.2 9.82%	54.6 ± 2.2 30.45%	107.1 ± 3.3 59.73%	179.3 ± 4.0		
滞育小鲵 <i>H. retardatus</i>	90	22.4 ± 1.4 11.53%	60.3 ± 2.4 31.03%	111.6 ± 3.1 57.44%	194.3 ± 3.9		

龙洞山溪鲵尽管精子形态结构与小鲵科其他属物种精子形态相似,但在精子各部位的量度,以及各部位的长度与总长的比例(表1)与小鲵科其他属物种的精子存在明显的差别。在已报道的小鲵科物种的精子中(Kuramoto, 1995, 1997),小鲵属物种精子的总长为163.4~272.7  $\mu\text{m}$ ,平均长度为205.97  $\mu\text{m}$ ;顶体的长度为17.6~22.4  $\mu\text{m}$ ,平均长度为19.75  $\mu\text{m}$ ,

占总长的 9.8% ; 头部长度的 45.6 ~ 89.5  $\mu\text{m}$ , 平均长度为 67.02  $\mu\text{m}$ , 占总长的 30.36% ; 尾部长度为 96.6 ~ 162.3  $\mu\text{m}$ , 平均长度为 123.1  $\mu\text{m}$ , 占总长的 59.83% ; 头部宽 0.86 ~ 1.11  $\mu\text{m}$ , 平均宽度为 0.96  $\mu\text{m}$  ; 精子轴棒的平均宽度为 10  $\mu\text{m}$ , 轴丝的平均宽度为 0.25  $\mu\text{m}$ , 轴丝的平均长度为 15  $\mu\text{m}$ , 波动膜宽度为 1 ~ 3  $\mu\text{m}$ 。厚掌鲵属的布氏厚掌鲵 (*P. boulengeri*) 和极北鲵属的极北鲵 (*S. keyserlingii*) 两物种精子的量度较相似, 精子头部、尾部的长度和精子的总长, 以及头长和尾长占总长的比例都在小鲵属物种精子的量度范围内, 但顶体较小鲵属物种的短, 占总长的比例也比小鲵属物种的小, 而头部比小鲵属物种精子的宽, 头部宽度分别为 1.12  $\mu\text{m}$  和 1.27  $\mu\text{m}$ 。小鲵科中爪鲵属的日本爪鲵 (*O. japonicus*) 精子较特别, 精子特别长, 总长为 549.8  $\mu\text{m}$ , 顶体较短, 仅占总长的 2.6% , 头部较长, 占总长的 37% , 比小鲵属物种的大, 头部比多数小鲵属物种的细, 宽度为 0.97  $\mu\text{m}$ 。本文研究的龙洞山溪鲵精子的总长和尾部的长度在小鲵科多数物种精子的长度范围内, 精子的总长和尾长与小鲵属的黑疣小鲵 (*H. naevius*) 精子的相近, 但龙洞山溪鲵精子的顶体和头部占总长的比例与爪鲵属的日本爪鲵相似, 顶体较短, 占总长的比例较小, 头部较长, 占总长的比例是已有报道的小鲵科物种中最大的, 为 39.21% , 尾部占总长的比例也比其他小鲵科物种的小, 而且头部最宽, 宽度为 1.73  $\mu\text{m}$ , 说明龙洞山溪鲵精子各部位的量度具有种的特异性。本文和已有研究表明, 小鲵科各属物种(已报道的)精子的形态结构基本相同, 但精子各部位的量度, 以及各部位长度与总长的比例存在明显的差别, 说明小鲵科物种的精子具有属和种的特异性, 这一特征可以作为鉴别小鲵科物种的一个依据。

### 3.2 精子长度与生态环境的关系

Kuramoto(1995)认为小鲵属物种精子量度的差异与其生存的环境有关, 生活在山区流溪生境物种的精子比生活在静水生境物种的精子长, 如黑疣小鲵、邓氏小鲵 (*H. dunni*) 的精子比云斑小鲵 (*H. nebulosus*)、黑小鲵 (*H. nigrescens*)、费氏小鲵 (*H. lichenayus*) 等物种的精子长。Mori(1936)报道的另一生活在山区流溪环境的小鲵属物种 *H. kimurae* 的精子也较长, 其长度为 373.8  $\mu\text{m}$ 。本文研究的龙洞山溪鲵属于山区流溪型物种, 其精子也较长, 其精子的量度与小鲵属中的流溪型物种如黑疣小鲵、邓氏小鲵相似。本文研究结果支持 Kuramoto(1995)的观点。同时, 小鲵属中流溪型与静水型两种类型物种精子量度的差异, 与 Lizuka 等(1989), Kuro 等(1987)和 Seto 等(1986)根据核学(染色体)研究结果证明的小鲵属物种有两类系统进化途径是相一致的。这进一步说明精子的形态结构和量度特征可以为两栖动物的系统发育关系研究提供新的依据。

### 3.3 关于顶体和胞质小团

本文结果表明龙洞山溪鲵精子的顶体由顶体鞘和穿孔器构成。已报道小鲵科(Kuramoto, 1995, 1997; Picheral, 1979; Mori, 1936)物种的精子都具有顶体鞘, 说明顶体具有顶体鞘是小鲵科物种的共同特征。顶体鞘是位于精子头部最前端的帽状结构, 它相当于普通细胞内的溶酶体, 穿孔器位于顶体鞘的后方, 能够向前移动穿破卵细胞膜并进入卵内。Mori(1936)曾报道过云斑小鲵精子穿孔器发生的过程, Kuramoto(1995)在对其他小鲵属物种精子的研究中也观察到同样的过程。Kuramoto 认为具有顶体鞘的精子是成熟精子, 顶体鞘脱离穿孔器可能是由于精子接触到体外的液体, 或者由于固定液的影响。Picheral(1979)观察云斑小鲵顶体鞘的横切片是三叶状, Kuramoto(1995)的观察也表明顶体鞘最后也分成了三片。本文龙洞山溪鲵精子的头部前段(顶体部位)呈两种形态, 一种较粗, 另一种较细, 前者具有顶体鞘, 后者因顶体鞘已脱离, 只有穿孔器, 所以较细。

Picheral(1979)在观察云斑小鲵的精子时发现该物种精子无线粒体, 胞质小团在精子的尾

部。因此,他对小鲵科物种精子运动的能量是由细胞核周围的胞质小团提供的提出异议。在他的研究中小鲵科物种精子的头部无胞质小团,而 Kuramoto(1995,1997)的观察表明小鲵科物种精子尾部无胞质小团,头部也很少观察到胞质小团(少于1%)。Kuramoto 在观察对马小鲵(*H. tsuensis*)精子时发现,该物种精子头部上的球状体从形状和大小上看可能是线粒体,但这种球状体最后消失了。Kuramoto 认为无胞质小团和球状体是小鲵科物种精子的特征。本文研究的龙洞山溪鲵精子头部中段或后段靠近颈部处可见胞质小团,在胞质小团上可见球状体。关于龙洞山溪鲵精子上的胞质小团和球状体是否是线粒体,以及小鲵科物种精子运动能量的来源有待进一步的研究。

## 参 考 文 献

- 叶昌媛,费梁,胡淑琴.1993.中国珍稀及经济两栖动物.成都:四川科学技术出版社.55~64
- 费梁,叶昌媛,田婉淑.1983.山溪鲵属的分类探讨及一新种的描述.动物分类学报,8(2):209~219
- 赵尔宓.1983.山溪鲵属的分类与分布——横断山区两栖爬行动物研究.见:孙鸿烈主编.青藏高原研究:横断山考察专集(一).昆明:云南人民出版社.293~298
- 赵尔宓,张服基.1985.北鲵属 *Ranodon*、山溪鲵属 *Batrachuperus*、巴鲵属 *Liua* 和异鲵属 *Xenobius* 骨骼的比较研究及其系统发育探讨.两栖爬行动物学报,4(3):209~218
- 郑中华,谢锋,费梁,叶昌媛.2000.镇海棘螈和大凉疣螈精子形态研究.两栖爬行动物学研究,8:228~232
- 贾林芝,张育辉.2000.山溪鲵卵巢滤泡细胞的显微与超微结构.动物学研究,21(5):419~421
- 徐剑.1993.西藏山溪鲵生态的初步观察.西北师范大学学报,29(3):70~72
- 徐剑.1995.西藏山溪鲵生殖腺的季节性变化.动物学杂志,30(3):47~49
- Aker C L.1966.Spermatozoa and spermateleosis in the salamandridae with electron microscopy of *Diemictylus*. *J Tenn Acad Sci*,41(1):2~25
- Barker K R, Baker C L.1970.Urodele spermateleosis: a comparative electron microscope study. In: Baccetti B (ed), *Comparative spermatology*. New York, Academic Press.81~84
- Kear Y.1977.Spermatozoa of *Onychodactylus japonicus*. *Ryoseihachurui Kenkyukaiishi* (Nippon Herpetol.J.),9:5~6(in Japanese)
- Kuro O, Ikebe C, Kohno S.1987.Cytogenetic studies of *Hynobiidae* (Urodele) VI. R-banding patterns in five pond-type *Hynobius* from Korea and Japan. *Cytogenet Cell Genet*,44(1):69~75
- Kuramoto M.1995.Scanning electron microscopic studies on the spermatozoa of some Japanese salamanders (*Hynobiidae*, *Cryptobranchidae*, *Salamandridae*). *Japanese Journal of Herpetology*,16(2):49~58
- Kuramoto M.1997.Further studies on sperm morphology of Japanese salamanders, with special reference to geographic and individual variation in sperm size. *Japanese Journal of Herpetology*,17(1):1~10
- Lizuka K M, Kakegawa M.1989.Comparative karyology in five rare species of hynobiid salamanders from Taiwan and Japan. In: Matsui M, Hikida T and Goris R C (eds). *Current herpetology in East Asia*. Herpetological Society of Japan, Kyoto.95~105



- Mori K. 1936. Ueber die Struktur der Samen? den bei einigen Urodelen. *J Med Soc Nafasaki*, 14(2): 125 ~ 132 (in Japanese, with German abstract)
- Picheral B. 1979. Structural, comparative, and functional aspects of spermatozoa in urodeles. In: Fawcett D W and Bedford J M (eds). *The spermatozoon*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore. 267 ~ 287
- Seto T, Matsui M, Kakegawa M. 1986. The Giemsa stained and C-banded karyotypes of *Hynobius tsuensis* and *H. leechii* (Amphibia, Urodela). *Japanese Journal of Herpetology*, 11(3): 137 ~ 144
- Wortham J W, Brandon Jr A, Martan J. 1977. Comparative morphology of some plethodontid salamander spermatozoa, *Copeia*, 977(4): 666 ~ 680
- Wortham J W, Murphy J A, Martgan J, Brandon R A. 1982. Scanning electron microscopy of some salamander spermatozoa. *Copeia*, 1982 (1): 52 ~ 60

## Study on the Morphology of Spermatozoa of *Batrachuperus longdongensis*

ZHENG Zhong-Hua, JIANG Jian-Ping, XIE Feng, FIE Liang, YE Chang-Yuan  
(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Shape and size of spermatozoa of *Batrachuperus longdongensis* was examined with light microscopy. The result shows that the sperm head of *Batrachuperus longdongensis* is cone-shaped, the tail is composed of an axial rod, an undulating membrane and an axoneme, and acrosome is consist of acrosomal sheath and perforatorium. Sperm shape of *Batrachuperus longdongensis* is very similar to some species of Hynobiidae, but the size of sperm, the proportions of head and tail length, and width of head are remarkably different from that of the species of Hynobiidae. This study also shows the morphological features of the spermatozoa can provide some useful cues for phylogenetic relationships of Hynobiidae at genera, or species level.

**Key words:** Hynobiidae; *Batrachuperus longdongensis*; Sperm; Morphology

# 红瘰疣螈胚胎及胚后发育的观察<sup>\*</sup>

胡健生 周桐<sup>\*\*</sup> 陈明勇 傅士华<sup>\*\*</sup>

(云南大学生物系,昆明 650091)

**摘要** 在常温(19℃~26.5℃)条件下,红瘰疣螈的胚胎发育从受精卵产出至胚胎出壳共分为 16 个时期,发育的全时程为  $538 \pm 2.5$  h,比中国小鲵(*Hynobius chinensis*)的常温孵化期(2 160 h)短得多,比金线蛙的常温孵化期(170.95 h)长约 3.15 倍。其发育历程中胚胎外形特征与中国小鲵基本相似,发育初期(1~13 期)与金线蛙的胚胎相似,但发育后期(14~16 期)两者的胚胎外形有明显的差异。

**关键词** 红瘰疣螈;胚胎发育;胚后发育;景东;无量山

有尾两栖类在现代发育生物学研究及教学中占有重要的位置。当前对有尾两栖类的研究主要集中于行为学、核型研究和生殖细胞的减数分裂等方面(杨玉华等,1986;Yang,1992;赵尔宓,1990;张鸾笙等,1987;Nussbaum *et al*,1990)。红瘰疣螈(*Tylostotriton verrucosus*)属于两栖纲有尾目蝾螈科疣螈属,主要分布于云南西部,数量稀少,是国家Ⅱ级重点保护野生动物(赵尔宓,1998)。由于红瘰疣螈体色鲜艳,有相当的观赏价值。目前仅对红瘰疣螈的产卵过程进行过研究(李成等,2000),而对其胚胎发育的研究,至今未有报道。2001 年作者对云南省景东县的红瘰疣螈的胚胎发育、胚后发育及成体行为进行了观察。

## 1 材料与方法

材料采自云南省景东县无量山区,采集时间为 5~6 月份,是红瘰疣螈的繁殖季节。采集雌雄红瘰疣螈各数条于实验室饲养,以水丝蚓(*Limnodrilus* sp.)和颤蚓(*Tubifex* sp.)喂养。因红瘰疣螈为体内受精,用人工受精的方法难度较大,故让其自然受精、自然排卵,然后收集受精卵于放置数目的自来水中孵化,用直径为 6 cm 的培养皿盛置水和卵(每皿 5~7 枚卵)。共观察受精卵 34 枚。

在室内常温下(19℃~26.5℃)观察受精卵的孵化,解剖镜下观察胚胎发育,详细记录每一时期的胚胎特征,记录发育各期的时间、温度(水温和气温,每日 8:00、14:30 和 21:30 三次,见表 1)和 pH 值。对发育过程各时期的活标本进行显微摄影,采用 CCD 数字摄像头拍摄,由计算机采集卡采集图像信号存储于计算机中。保存各发育时期的部分标本于 75% 的酒精溶液中。

\* 云南省科学技术委员会项目(2000C010M)资助。

\*\* 云南大学生物系 2002 届毕业生。

表 1 红瘰疣螈胚胎发育时程表

日期	温 度						发育时间 (天)	发育时间 (h)	备 注
	水 中			空气(室内)					
	上午 (8:00)	下午 (2:30)	晚上 (9:30)	上午 (8:00)	下午 (2:30)	晚上 (9:30)			
2001.5.28							产卵	0	晚 8 点产卵
2001.5.29							1	24	从 1 细胞期 进入 32 细胞期
2001.5.30							2	48	进入囊胚期
2001.5.31							3	72	进入原肠胚期
2001.6.1							4	96	神经板期
2001.6.2							5	120	神经褶期
2001.6.3							6	144	神经沟期
2001.6.4							7	168	神经管期
2001.6.5							8	192	尾芽期
2001.6.6							9	216	尾芽期
2001.6.7							10	240	肌肉效应期
2001.6.8	21.5	22.5	22.0	22.0	23.5	23.6	11	264	肌肉效应期
2001.6.9	21.5	23.0	21.7	23.0	24.0	24.0	12	288	肌肉效应期
2001.6.10	22.5	23.8	22.2	23.0	24.5	23.0	13	312	鳃血循环期
2001.6.11	22.5	22.4	22.0	22.5	22.5	23.0	14	336	鳃血循环期
2001.6.12	22.3	22.6	21.2	22.5	22.4	21.0	15	360	鳃血循环期
2001.6.13	20.1	22.0	22.0	19.0	23.0	22.5	16	384	进入成熟期
2001.6.14	21.2	22.4	21.5	21.5	24.5	24.0	17	408	进入成熟期
2001.6.15	22.0	23.5	23.9	22.5	25.0	24.9	18	432	进入成熟期
2001.6.16	23.1	24.4	23.1	23.8	25.9	23.8	19	456	进入成熟期
2001.6.17	24.0	24.5	24.2	24.0	26.0	25.2	20	480	进入成熟期
2001.6.18	23.2	24.9	24.5	23.7	25.9	25.0	21	504	进入成熟期
2001.6.19	23.2	25.4	24.5	24.3	26.5	25.0	22	528	进入成熟期
2001.6.20	24.0	23.5	23.5	22.2	23.5		23	552	第一条幼体出壳

参照朱治平等(1957)对黑斑蛙的分期并结合红瘰疣螈发育的特点对胚胎各时期进行划分。以每批卵中发育最早的一个胚胎外部形态或生理现象为标准,作为该期发育的开始和前一个发育时期的结束。

## 2 结果

### 2.1 受精卵期

从受精卵产出至第一次出现卵裂沟。排出的卵粒多分散成单粒,少数 2~3 粒聚合成团。此时只有一层胶壳,卵黑色,直径 1.5 mm,包括胶壳直径可达 3.4 mm。动物半球朝上,黑褐色,占卵表面的 1/3,中央有一凹陷,为第一极体,逐渐消失;植物半球朝下灰白色。部分受精卵被

明显的分为两部分(图 1)。

### 2.2 2 细胞期

自第一次卵裂沟出现至第二次卵裂沟出现为止。经裂,一个卵裂面。卵裂沟从动物极中央区开始,逐渐向植物极延伸,形成一条深纵沟,出现 2 个大小基本相同的细胞(图 2)。

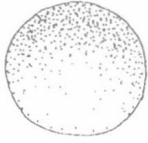


图 1 受精卵期

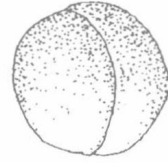


图 2 2 细胞期

### 2.3 4 细胞期

自第二次卵裂沟出现至第三次卵裂沟出现为止。经裂,一个卵裂面。与第一次分裂面垂直,形成的 4 个细胞大小基本相等(图 3)。

### 2.4 8 细胞期

自第三次卵裂沟出现至第四次卵裂沟出现为止。纬裂,一个卵裂面。卵裂沟沿动、植物极交界面形成,将动植物极分割开。动物极的 4 个细胞基本等大而略小,黑褐色;植物极的 4 个细胞也基本等大且略大于动物极的 4 个细胞,灰白色(图 4)。

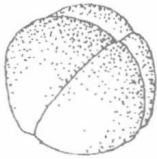


图 3 4 细胞期

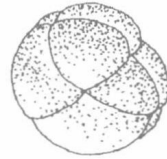


图 4 8 细胞期

### 2.5 16 细胞期

第四次卵裂沟出现至第五次卵裂沟出现为止。经裂,两个卵裂面。形成了大小不等、形状不规则的 16 个分裂球(图 5)。

### 2.6 32 细胞期

第五次卵裂沟出现至第六次卵裂出现为止。纬裂,两个卵裂面。分裂不规则,分裂的细胞大小不等且排列也不规则(图 6)。

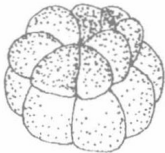


图 5 16 细胞期

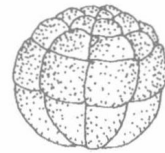


图 6 32 细胞期

### 2.7 囊胚期

由第六次卵裂出现到原肠胚背唇出现为止。此期细胞数目逐渐增加体积逐渐减小,除此之外没有其他明显的外部形态特征为标准。把它划分为以下三个时期完全是人为的(图 7、图 8、图 9)。