

两栖爬行动物学研究

CULTUM HERPETOLOGICA SINICA

(第6、7辑)

中国动物学会两栖爬行动物学分会
遵 义 医 学 院
中国科学院成都生物研究所

编

贵州科技出版社
1997年6月

两栖爬行动物学研究

CULTUM HERPETOLOGICA SINICA

(总第 11 期)

中国科学院昆明动物研究所
昆明动物博物馆
昆明动物研究所昆明动物志编辑部

昆明动物研究所编
2007 年 11 月

两栖爬行动物学研究

CULTUM HERPETOLOGICA SINICA

(第6、7辑)

中国动物学会两栖爬行动物学分会
遵义医学院
中国科学院成都生物研究所 编

贵州科技出版社
1997年6月

《两栖爬行动物学研究》编辑委员会

学术顾问 丁汉波

主 编 李德俊

副主编 周开亚 费 梁 黄美华

编委(按姓氏笔画为序)

王大忠 王跃昭 王培潮 刘广芬 李建立 李树深
李德俊 吴翠衡 陈壁辉 邹寿昌 季达明 周开亚
杨大同 郑建州 宗 愉 莫鑫泉 费 梁 黄永昭
黄美华 黄祝坚 赵肯堂

特约编辑 杨明富 谭秀荣

两栖爬行动物学研究
(第6、7辑)

中国动物学会两栖爬行动物学分会
遵 义 医 学 院 编
中国科学院成都生物研究所

贵州科技出版社出版发行

贵州地质彩印厂

787×1092毫米 16开本 18.25印张 450千字

1997年6月第1版 1997年6月第1次印刷

印数:1—1000册

ISBN 7—80584—732—0
Q·012 定价:28.00元

目 录

形态学

- 云南西部高黎贡山两种蟾蜍的核型、C-带及 Ag-NORs 的研究(无尾目 Anura:蟾蜍科 Bufoninae) 刘万光 杨大同(1)
- 蛤蚧肾上腺光镜和电镜观察 唐振杰 陈 旻(5)
- 扬子鳄食管 Som. CGRP 阳性神经及细胞的分布 吴国流 储俊杰 李光武等(10)
- 非洲爪蟾和中华大蟾蜍胸腺 APUD 细胞的存在和性质 李丕鹏 王 平(14)
- 贵州疣螈肝脏的超微结构研究 罗素元 李德俊 王大忠等(17)
- 蛇胸腺上皮细胞的超微结构 李丕鹏(21)
- 渔游蛇附睾与输精管的组织结构 郭果为 张彦定 高建民(25)
- 雄巨蜥的泌尿生殖系统 赛道建 徐淑娟 田 丽等(30)
- 蛤蚧卵巢生殖基组织学研究 陈 旻 唐振杰(34)
- 中国大鲵排卵前输卵管的形态学变化 张育辉(39)
- 陕西两种蝮蛇血液研究 张富兴 方荣盛(44)
- 扬子鳄食道的研究 吴孝兵 张盛周 吴海龙等(49)
- 黑眉锦蛇喉部形态研究 徐淑娟 何海晏(55)

区系分类

- 中国产十种(居群)林蛙的杂交实验 江建平 叶昌媛 费 梁等(59)
- 趾沟蛙属 *Pseudorana* 的种间分类研究及与相近属的关系兼记四川省一新纪录
..... 江建平 费 梁 叶昌媛等(67)
- 舌突蛙属 *Liurana* 的分类研究及一新种的记述(两栖纲:蛙科)
..... 费 梁 叶昌媛 黄永昭(75)
- 脊蛇属 *Achalinus* 半阴茎形态特征及其分类研究 张服基(81)
- 中国沙蜥属概述及种类检索 赵肯堂(86)
- 鳄类的种类 陈璧辉 孙燕芬(92)
- 林奈命名的两栖爬行动物物种及其考证 杨道德 张阳春(96)
- 我国舌突蛙属(*Liurana*)一新种(两栖纲:蛙科) 黄永昭 叶昌媛(112)
- 甘肃两栖爬行动物十种新纪录 姚崇勇 李晓鸿(116)

行为与生态学

- 黄喉拟水龟 *Mauremys mutical* (Cantor) 雄性生殖周期的研究 郑翠芳 高建民 张彦定等(118)
- 内蒙古西部荒漠三种蜥蜴的食性研究 毕俊怀 李建军 苏光龙(123)
- 棘胸蛙食性的初步研究 虞鹏程 涂序根(128)
- 四爪陆龟的种群动态及种群结构的初步研究 史海涛 许设科(133)

发育生物学

- 氯化锂对泽蛙胚胎形态发生影响的研究 张梅芬 赵翔(139)
- 虎斑颈槽蛇孵化期胚胎发育和分期 李丕鹏 陆宇燕 王平(144)
- 东方铃蟾早期胚胎发育的研究 赵文阁 李新宏(148)
- 越南趾沟蛙 (*Pseudorana johnsi*) 生长发育的初步研究 江建平 郑明全 陈跃英等(155)
- 扬子鳄及湾鳄舌腺的组织发生 陈发扬 华田苗 陈壁辉等(160)
- 义乌小鲵眼球发育过程观察 张鸾笙 唐国起(165)
- 虎纹蛙人工繁殖研究 梁淡茹(168)

生理生化

- 眼镜蛇、滑鼠蛇不同组织中乳酸脱氢酶同工酶的研究及其在系统分类学上应用的意义 李永通 李德俊(174)
- 中国林蛙(♀)与黑龙江林蛙(♂)杂种二倍体的同工酶研究 赵文阁 马洪星 许海田等(178)
- 14种蛇晶状体蛋白薄层等电聚焦电泳研究 王义权 周开亚(183)
- 贵州疣螈、细痣疣螈几种组织乳酸脱氢酶同工酶电泳的比较研究 谷晓明 田应洲(189)
- 新疆北鲵血清 PAGE 谱的研究 惠寿年 王秀玲 李进等(193)
- 眼镜蛇毒及蝮蛇毒的稳定性研究 陈清澄 刘广芬 王晴川(196)
- 中国林蛙氨基酸组分分析及营养评价 吴千红 蒋朝光 经佐琴等(201)
- 花背蟾蜍 (*Bufo raddei*) 冬眠前后几项生理常数的关系研究 朱卫中 邹寿昌 王爱梅等(209)

保护与开发

- 浙江滑鼠蛇、灰鼠蛇、乌梢蛇三种蛇类资源初步调查····· 蔡春抹 黄美华 杨友金(214)
- 四川宜宾地区两栖动物调查报告····· 黄永昭 陈晓暖(218)
- 广东内伶仃岛两栖爬行动物调查····· 王勇军 张贻安(227)
- 浙江五步蛇资源调查初报····· 黄美华 杨友金 蔡春抹(232)
- 瓦屋山国家森林公园两栖动物资源状况与其生态环境关系的研究初报·····
····· 郑明全 费 梁 江建平(236)
- 石家庄市爬行动物研究····· 吴跃峰 刘书广 张惠恋等(245)
- 陕西牛背梁国家级自然保护区两栖爬行动物调查····· 梁 刚 张富兴 麻应太(249)
- 五步蛇幼蛇人工饲养生长的探讨····· 黄美华 曹毓敏 董福明等(254)
- 人工饲养条件下鳄蜥繁殖力与复壮管理的研究····· 张玉霞(260)

简 报

- 五步蛇幼蛇咬伤一例报道····· 黄美华 李 莹 瞿国伟(263)
- 山地麻蜥再生尾的形态及其断尾再生的研究····· 陈绍军(266)
- 两种蛇的核型与 Ag-NORs····· 郭超文 聂刘旺 吴小兵(268)
- 山东省石龙子科的纪录····· 贾震绪 卢浩泉(270)
- 山东省蛇类一新纪录——王锦蛇····· 贾震绪 王兴春 王占龙等(272)
- 山东省蛙类一新纪录——日本林蛙指名亚种····· 王兴春 贾震绪 王占龙等(273)
- 测定蛇毒的核磁共振氢谱以探讨蛇的分类····· 宁永成 冯亚萍 诸 建等(275)
- 蛇毒的核磁共振氢谱研究(续)····· 宁永成 王月英(276)

书 讯

- 《鳄蜥超微结构及染色体的研究》简介····· 《两栖爬行动物学研究》编辑部(279)

●形态学

云南西部高黎贡山两种蟾蜍的核型、 C-带及 Ag-NORs 的研究(无尾目 Anura: 蟾蜍科 Bufoninae)

刘万兆 杨大同

(中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650223)

内容提要

研究了云南西部高黎贡山 2 种蟾蜍, 即喜山蟾蜍(*Bufo himalayanus*) 和黑眶蟾蜍(*B. melanostictus*) 的核型、C-带及 Ag-NORs。2 种蟾蜍的核型均由 11 对染色体组成($2n=22$, $NF=44$), 根据染色体大小可分为 2 组, 大型染色体组(A 组)6 对, 小型染色体组(B 组)5 对。2 种间染色体形态差异较小, 主要表现在 2 种间少数染色体对的臂比值和次缢痕位置有差异, 因而认为喜山蟾蜍和黑眶蟾蜍亲缘关系较近。2 种蟾蜍的 c-带和 Ag-NORs 也有一定差异。未发现与性别相关的异型染色体对。

关键词: 无尾目(Anura), 蟾蜍科(Bufonidae), 蟾蜍属(*Bufo*), 核型, C-带, Ag-NORs

喜山蟾蜍(*Bufo himalayanus*) 和黑眶蟾蜍(*B. melanostictus*) 是近缘种, 同属于蟾蜍属(*Bufo*) 黑眶蟾蜍种组(Inger, 1972)。其中, 喜山蟾蜍只分布于喜马拉雅山脉南侧的部分地区, 黑眶蟾蜍则广泛分布于南亚、东南亚、日本和我国南部的大部分地区。在云南省西部的高黎贡山地区, 2 种蟾蜍在分布上呈南北向地理替代(胡其雄等, 1984)。本文比较了产于云南省西部高黎贡山地区的 2 种蟾蜍的核型、C-带和 Ag-NORs; 以期探讨二者之间的核型进化关系, 并为探讨我国蟾蜍类的起源和演化提供基础资料。

材料与方 法

1. 活体动物标本

黑眶蟾蜍: 2♂, 3♀, 采于云南省腾冲县大蒿坪, 海拔 2100m。

喜山蟾蜍: 1♀, 2 幼体, 采于云南省贡山县独龙江, 海拔 1300m。

2. 染色体标本制作及 C-带和 A-NORs 的显示和观察

染色体标本片均由骨髓细胞低渗处理的方法制得。活体动物先以 $10\mu\text{g/g}$ 体重的量腹腔注射秋水仙素, 15~24h 后, 处死动物取出股骨和腓骨。制片方法有两种: (1) 改进的蒸汽固定

法(吴政安, 1984): 用低渗液(0.4% KCl)直接将骨骼细胞冲到玻璃片上, 低渗处理 30~45min, 乙醇: 冰乙酸: 水 = 1:2:3 蒸汽固定 90min, 以无水乙醇再蒸汽固定 10min, 最后取出玻璃片滴几滴甲醇: 冰醋酸(=3:1)固定液, 晾干。一般在野外采用这种方法。(2)常规空气干燥法: 低渗 40min, 冰醋酸: 甲醇(1:3)固定 2 次, 每次不少于 15min, 滴片, 晾干。一般在实验室采用这种方法。

10% Giemsa (pH6.8) 染色 10min, 镜检。每种观察 100 个以上中期相以确定染色体数目; 选择 10 个较好的拍照、放大、测量, 以确定染色体形态。

C-带方法参照 Sumner (1972) 的 BSG 法, 半个月以内片龄的染色体标本片, 在 38℃ 保温条件下, 在 5% Ba(OH)₂ 溶液中处理 7~10min, 2 × SSC 溶液 65℃ 温育过夜, 10% Giemsa (pH6.8) 染色 5~7min。观察 10 个以上中期相, 确定 C-带带型。

Ag-NORs 染色法参照 Howell 等(1980)的一步染色法。观察 10 个以上中期分裂相, 确定 Ag-NORs 的位置。

染色体分类按 Green et al. (1980) 的方法进行。

结 果

1. 核型 喜山蟾蜍的核型由 $2n=22$ 条染色体组成, 根据相对长度可分为 2 组, 即大型染色体组(A组)和小型染色体组(B组)。A组由 6 染色体组成, 即 Nos. 1—6, No. 4 介于中着丝粒染色体(m)和亚中着丝粒染色体(sm)之间($AR=1.56 \pm 0.14$), 其余均为 m; B组由 5 染色体组成, 即 Nos. 7—11, 均为 m。次缢痕位于 No. 7 的长臂末端, 比较微弱。未发现与性别相关的异型性染色体。

黑眶蟾蜍的核型也由 $2n=22$ 条染色体组成, 依相对长度可分为 2 组, A组由 5 对大型染色体组成, 即 Nos. 1—6, 其中 No. 5 介于 m 和 sm 之间($AR=1.65 \pm 0.07$), 其余均为 m; B组由 5 对小型染色体组成, 即 Nos. 7—11, 其中 No. 8 为 sm, 其余均为 m。次缢痕位于 No. 11 的长臂末端。未发现与性别相关的异型性染色体。与高建民(1983)报道的福建产黑眶蟾蜍的核型相似。2 种蟾蜍的染色体测量数据见附表。

附表 2 种蟾蜍中期染色体测量统计表(N=10)

黑眶蟾蜍 <i>B. melanostictus</i>		喜山蟾蜍 <i>b. himalaynus</i>		
No.	相对长度(RL)	臂比值(AR)	相对长度(RL)	臂比值(AR)
1	17.31 ± 0.42	1.19 ± 0.01m	18.53 ± 0.51	1.37 ± 0.05m
2	16.18 ± 0.53	1.25 ± 0.04m	16.13 ± 0.65	1.24 ± 0.08m
3	13.73 ± 0.29	1.49 ± 0.06m	13.05 ± 0.28	1.45 ± 0.03m
4	12.37 ± 0.27	1.81 ± 0.09sm	12.45 ± 0.29	1.56 ± 0.14m/sm
5	11.10 ± 0.24	1.65 ± 0.07m/sm	10.68 ± 0.44	1.09 ± 0.05m
6	8.43 ± 0.29	1.33 ± 0.03m	8.05 ± 0.25	1.34 ± 0.07m
7	4.92 ± 0.11	1.29 ± 0.03m	5.24 ± 0.12	1.36 ± 0.02m
8	5.84 ± 0.15	1.82 ± 0.05m	4.90 ± 0.07	1.33 ± 0.05m
9	4.49 ± 0.16	1.24 ± 0.08m	4.68 ± 0.08	1.19 ± 0.07m
10	3.72 ± 0.23	1.29 ± 0.17m	3.62 ± 0.13	1.17 ± 0.04m
11	2.91 ± 0.12	1.38 ± 0.06m	2.92 ± 0.07	1.21 ± 0.04m

2. C-带 2 种蟾蜍的 C-带带型差异比较大, 分述如下: 黑眶蟾蜍的 Nos. 1, 5 的短臂和

No.6 的长臂上有比较明显的插入 C-带, No.1 和 No.2 的长臂上有比较明显的端带。喜山蟾除着丝粒 C-带外, 未观察到明显的端带和插入带, 只在 No.6 的长臂和短臂上观察到弱的异染色质区。

3. Ag-NORs 黑眶蟾蜍的 Ag-NORs 于次缢痕位置相对应, 位于 No.11 的长臂末端, 喜山蟾蜍的 Ag-NORs 比较特殊, 在次缢痕对应位置上, 只有 1 条染色体的 Ag-NORs 特别强, 而另 1 条染色体的 Ag-NORs 无活性。除此之外, 在 No.11 的长臂上有 1 对 Ag-NORs, 在 No.5 的长臂末端也观察到了 Ag-NORs。

讨 论

蟾蜍属(*Bufo*)是无尾两栖类中一个包含物种极多, 分布极广的大属。目前已知共有 300 种以上, 该属已有核型报道的愈 100 种, 除少数种类外, 绝大多数为 $2n=22$ (欧洲、亚洲和南北美洲) 或 $2n=20$ (主要是非洲产种类) 2 种类型 (Kuramoto, 1990)。分布于欧亚大陆的蟾蜍其核型基本上都为 $2n=22$, 由 6 对大型染色体和 5 型染色体组成, 蟾蜍属的核型在染色体数目上是十分保守的。尽管如此, 种间还是存在着一定的差异, 这种差异主要体现在相对长度、臂比值和次缢痕的位置等特征上, 而且, 一般亲缘关系较近的种之间差异小, 而亲缘关系较远的种之间差异较大 (Morescalchi, 1973)。本文报道的 2 种蟾蜍同属于黑眶蟾蜍种组, 在核型上, 我们发现二者的各对染色体之间相对长度差异不明显, 主要的差异有两个, 一是臂比值的差异, 黑眶蟾蜍的 No.4 为 sm, No.5 介于 m 和 sm 之间, 而喜山蟾蜍除 No.4 介于 m 和 sm 之间外, 其余均为 m; 二是次缢痕的位置不同, 黑眶蟾蜍的次缢痕位于 No.11 的长臂末端, 而喜山蟾蜍的次缢痕位于 No.6 的长臂末端。由此可见, 黑眶蟾蜍和喜山蟾蜍是亲缘关系较相近的。

2 种蟾蜍的 C-带和 Ag-NORs 的差异比较明显。黑眶蟾蜍的 Nos.1, 5 的短臂和 No.6 的长臂上有比较明显的插入 C-带, No.1 和 No.2 的长臂上有比较明显的端带。喜山蟾蜍除着丝粒 C-带外, 未观察到明显的端带和插入带, 只在 No.6 的长臂和短臂上观察到弱的异染色质区。C-带是核型进化过程中染色体易位的“痕迹” (Schmidt, 1978), C-带的多少在一定程度上反映了发生易位的次数, C-带较丰富的核型可能是较进化的。由此看来, 黑眶蟾蜍的核型相对较进化, 而喜山蟾蜍的相对较原始。

2 种蟾蜍的 Ag-NORs 也有差异, 黑眶蟾蜍的 Ag-NORs 于次缢痕位置相对应, 位于 No.11 的长臂末端, 喜山蟾蜍的 Ag-NORs 比较特殊, 在次缢痕对应位置上, 只有 1 条染色体的 Ag-NORs 特别强, 而另 1 条染色体的 Ag-NORs 无活性, 除此之外, 在 No.11 的长臂上有 1 对 Ag-NORs, 在 No.5 的长臂末端也观察到了 Ag-NORs。这种在几对染色体上都有 Ag-NORs 的现象在两栖动物中是比较少见的。这个问题还有待于进一步深入研究。

参考文献

- 方自力、赵尔宓, 1992, 中国蟾蜍属 *Bufo* (Anura: Bufonidae) 的系统分类研究, 两栖爬行动物学论文集, 四川科技出版社, 77—100。
吴政安, 两栖类骨髓细胞的染色体标本制作法, 遗传, 4(1): 38—39。

胡其雄、江耀明、田婉淑, 1984. 我国蟾蜍属的分类研究, 两栖爬行动物学报, 3(1): 79—85。

高建民, 1983. 黑眶蟾蜍和大蟾蜍中华亚种染色体组型的比较研究, 武夷科学, 1983(3): 69—78。

Green, D. M., J. P. Bogart, E. H. Anthony, and D. L. Genner, 1980. An interactive, microcomputer - based karyotype analysis system for phylogenetic cytotaxonomy. *Coput. Biol. Med.*, 10: 219—227.

Inger, R. F. 1972. *Bufo* of Eurasia. In: Blair W. F. (ed.) *Evolution in the Genus Bufo*, University of Texas Press, Austin and London, 102—118.

Morescalchi, A., 1973. Amphibia, In: Ciarelli, A. B. and E. Capanna (eds.) *Cytotaxonomy & Vertebrate Evolution*. New York: Academic Press, 233—248.

Schmid, M., 1978. Chromosome banding in Amphibia: 1. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizers regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma*(Berl.), 66: 361—388.

A STUDY ON KARYOTYPE, C - BANDING AND AG - NORs OF TWO SPECIES OF *Bufo* IN GAOLIGONGSHAN, YUNNAN

Abstract

In this paper, karyotypes, C - banding pattern and Ag - NORs of 2 species of *Bufo*, *B. himalayanus* and *B. melanostictus* were examined and presented. Karyotypes of the two species examined have $2n=22$ chromosomes consisting of 6 large and 5 small pairs. They differ from each other both in chromosome shapes and positions of secondary constriction. C - banding pattern revealed that *B. melanostictus* has more positive heterochromatic areas than *B. himalayanus*. Silver stained karyotypes indicated that Ag - NORs of *B. melanostictus* were located in the long arms of pair No. 11 adhering to positions of secondary constriction. But Ag - NORs of *B. himalayanus* were located in one chromosome of pair No. 7, one pair in long arms of No. 11 and one pair in long arms of No. 5. The implications of systematics and evolution of the findings are also discussed.

Key words: Anura, Bufonidae, *Bufo*, Karyotype, C - banding, Ag - NORs

图版说明

图版 1:

A—C: 黑眶蟾蜍:

A: 核型(箭头示次缢痕); B: 银染核型(箭头示 Ag - NORs); C: C - 带核型

D—F: 喜山蟾蜍:

D: 核型(箭头示次缢痕); E: 银染核型(箭头示 Ag - NORs); F: C - 带核型

蛤蚧肾上腺光镜和电镜观察*

唐振杰 陈 旻

(广西师范大学生物系, 桂林 541004)

内容提要

利用光学显微镜和电子显微镜对蛤蚧(*Gekko gekko*)的肾上腺进行观察。肾上腺由嗜铬组织和皮质组织组成,嗜铬组织主要分布于腺体的背面边缘,皮质组织成束状占据腺体的绝大部分区域。嗜铬组织有嗜铬细胞和小颗粒嗜铬细胞两种细胞。嗜铬细胞含有去甲肾上腺素颗粒和肾上腺素颗粒;小颗粒嗜铬细胞具有大而规则的细胞核。皮质细胞除细胞大小和细胞核形状不同外,胞质中都含有丰富的脂滴。对蛤蚧肾上腺的结构特点进行讨论。

关键词: 蛤蚧, 肾上腺, 光镜, 电镜

爬行动物的肾上腺结构与哺乳动物相比存在着明显的差异,这一点国外已有过不少报道(Del Conte, 1972, 1975; Wright and Jones, 1957),国内尚无专题的研究。蛤蚧(*Gekko gekko*)是我国的二级保护动物,名贵中药材,对它的资源分布、习性、保护和卵巢的结构等方面,我们已经作过一些研究(唐振杰等, 1995; 黄秉明等, 1995; 李汉华等, 1996; 陈旻等, 1996)。为了了解蛤蚧肾上腺的结构特点,为今后研究其繁殖规律打下基础,作者再对繁殖时期的成年蛤蚧肾上腺进行显微和超微结构的研究。

材料与方 法

实验动物于1995年5~6月购自农贸市场,选择体长140mm以上,体重60g以上的性成熟雌、雄个体各5只。动物处死后迅速解剖,测量左、右侧肾上腺的大小及肾上腺距肾脏之间的距离,然后将肾上腺整个剥下。用于光镜的材料固定于波恩氏液中,常规石蜡切片, H. E. 对染,用Olympus AH-2型万能显微镜观察和摄影,用目测微尺计量。电镜材料用2.5%戊二醛和1%四氧化锇双固定, Epon 812树脂包埋, Reichert超薄切片机切片,日立H-600型透射电镜观察和拍照。

结 果

1. 肾上腺的形态和组织结构

蛤蚧肾上腺的形态、大小和组织结构在雌、雄动物上是一致的。肾上腺为1对独立的金黄色长条形腺体,位于生殖腺的背面,紧贴在体壁上,腹膜使它与腹腔完全隔开,即它处在腹膜后

* 国家自然科学基金和广西区科委资助项目

间隙之中。覆盖肾上腺的腹膜在肾上腺腹正中处与部分生殖腺系膜相连。在繁殖季节,肾上腺长为0.45~0.85cm,宽为0.08~0.2cm,中间粗,厚度为0.01~0.02cm,两端细尖。肾上腺的末端与肾脏的前端之间的距离为0.5~2cm。

从肾上腺的正中横切面上看,肾上腺呈椭圆形,外包结缔组织和上皮组织组成的被膜。被膜的腹面和侧面与腹膜紧贴,背面则与含大量血管的结缔组织相贴。肾上腺与被膜之间有明显的界限(图1.2)。肾上腺由嗜铬组织和皮质组织组成。嗜铬组织主要分布在肾上腺的背面边缘,被H.E.染成深蓝色,细胞排列不规则,与皮质组织没有明确的界线,成群嗜铬细胞常常成指状伸入皮质组织中(图1.2)。另有一小部分嗜铬细胞成小岛状分散在皮质组织中,特别以在血管附近为多(图3)。皮质组织占据腺体的绝大部分区域,被H.E.染成淡粉红色,与嗜铬组织形成鲜明的对照,细胞成束状排列,每一束由1~2层细胞组成,束间有网状结缔组织和血管(图2、3)。

2. 肾上腺的细胞组成和微细结构

嗜铬组织由嗜铬细胞和小颗粒嗜铬细胞组成。嗜铬细胞呈不规则形,直径为12~20 μm ;细胞核为圆形,直径为8~10 μm ,常常有一明显的核仁;胞质中含有大量深蓝色颗粒(图2)。电镜下,这些深蓝色颗粒可以分为两种类型:①去甲肾上腺素颗粒,圆形,直径为200~350nm,颗粒内含物电子密度较低,常常偏位于颗粒的一侧,使颗粒一侧的界膜与内含物之间出现空隙;②肾上腺素颗粒,圆形,直径为150~400nm,颗粒内含物电子密度比去甲肾上腺素颗粒为高,内含物与颗粒界膜之间有明显的孔环,即内含物与颗粒界膜之间的空隙为环状,使内含物成为颗粒的核心(图4、5)。嗜铬细胞胞质内除颗粒外,还有高尔基复合体、线粒体、溶酶体和丰富的核糖体等细胞器。小颗粒嗜铬细胞分散在嗜铬细胞之间,深入皮质组织之中的小岛状嗜铬组织中很少有这种细胞。细胞细长而不规则,直径为4.5~7.5 μm ;细胞核大,占据细胞绝大部分区域,为不规则形,常有缺刻;核/质比例大,细胞质中含有少量的小型颗粒,这种颗粒为圆形,直径在100nm以下,颗粒内含物的电子密度低于嗜铬细胞中的颗粒,颗粒内含物与颗粒界膜之间不存在任何空隙(图5)。小颗粒嗜铬细胞还含有一些小的球形、嵴为板状的线粒体,核糖体也比较丰富。

根据细胞的大小和细胞核的形状,可将束状排列的皮质细胞分成3种类型:Ⅰ型,细胞呈立方形,直径为10~12 μm ,核为圆形或椭圆形,直径为5~6 μm ;Ⅱ型,细胞为柱形,长为36~40 μm ,宽为6~8 μm ,细胞核同Ⅰ型。Ⅰ、Ⅱ型细胞称为正常皮质细胞或简称为皮质细胞(图3)。Ⅲ型,细胞为柱形,大小同Ⅱ型,细胞核缩小并变为不规则形,直径为2~4 μm ,这种细胞称为固缩核皮质细胞(图3)。这3种细胞有一些共同点:①细胞质中含有大量的网状空泡,这些空泡就是电镜下所显示的脂滴(图4.6)。脂滴为圆形或椭圆形,直径为1~2 μm ,脂滴之间可以相互融合。②细胞质中的线粒体嵴为管状,也有丰富的高尔基复合体(图4.6)。③细胞核都被H.E.染成深蓝色,常常位于束的边缘,很少出现在束的中央位置(图2、3)。④这3种细胞可以同时出现在同一束皮质组织内(图3)。

讨 论

和其它蜥蜴类一样,蛤蚧肾上腺是一对独立的、离肾脏有一定距离的腺体;腺体中的嗜铬组织不在皮质组织的中央而集中位于腺体的背面边缘(朱铭清等,1994;特纳等,1983;Del

Conte, 1972, 1975; Wright and Jones, 1957)。在哺乳动物,嗜铬细胞可分为去甲肾上腺素细胞和肾上腺素细胞,每种细胞只含一种颗粒,即去甲肾上腺素颗粒或肾上腺素颗粒(朱铭清等, 1994)。本研究揭示,蛤蚧只有一种嗜铬细胞,同时含有两种颗粒,说明蛤蚧的嗜铬细胞尚处在未分化阶段,是动物低等的表现。因为这种混合颗粒嗜铬细胞在大鼠的胚胎时期也曾出现过,随着动物的发育而分化出典型的去甲肾上腺素细胞和肾上腺素细胞(谷华运等, 1989)。小颗粒嗜铬细胞广泛存在于两栖类、爬行类、鸟类和哺乳类肾上腺嗜铬组织中,其功能目前还不明确(朱铭清等, 1994; 谷华运等, 1989)。蛤蚧的小颗粒嗜铬细胞中,分泌颗粒小而少,且电子密度低,高尔基复合体稀少,是细胞合成活动不活跃的表现;细胞的核/质比例大,反映细胞还处在幼稚阶段。上述特征表明小颗粒嗜铬细胞可能是幼稚阶段的嗜铬细胞。

哺乳动物的肾上腺皮质明显地分为球状带、束状带和网状带,各带中的细胞的排列和结构都不相同(朱铭清等, 1994)。爬行动物的皮质组织没有分带现象,而且在构成和排列上不同动物存在很大的差异。在扬子鳄,球状带和束状带细胞夹杂排列,没有网状带细胞(陈壁辉等, 1985);在鞭尾蜥,球状带细胞与束状带细胞明显分开,构成位于嗜铬组织下方,对促肾上腺皮质激素刺激敏感的“反应区”;也没有网状带细胞(Del Conte, 1975);在飞蜥,皮质的中部为束状带细胞,外部靠近嗜铬组织处为一些萎缩了的皮质细胞,相当于网状带细胞;但没有球状带细胞(Wright and Jones, 1957)。无论在光镜下还是在电镜下,都显示蛤蚧肾上腺皮质中只有束状带细胞一种,它们以束状排列和含有大量脂滴为主要特征,这一点是球状带细胞和网状带细胞所不具备的(朱铭清等, 1994)。这种束状带细胞存在3种不同形态,则可能是细胞不同生理活动阶段的反映。如I型细胞体积小,核质比例大,是细胞激素合成的初级阶段;II型细胞体积增大,脂滴也随之增多,为细胞激素合成和分泌的旺盛期;III型细胞核萎缩、变形,是细胞行将衰退的表现。以上推论还须进一步的生理实验加以证实。尽管爬行动物的肾上腺皮质在构成和排列上有明显的差异性,但有一点是可以肯定的,就是它们都含有束状带细胞,这说明束状带细胞是爬行动物肾上腺皮质的基本成分。

参考文献

- 朱铭清, 1994, 肾上腺, 自《组织学》(成令忠主编), 北京: 人民卫生出版社(第二版), 780—792。
李汉华, 1996, 广西大壁虎资源及保护, 广西师范大学学报(自然科学版), 14(2): 62—66。
陈旻, 1996, 蛤蚧卵巢结构和卵泡发育的研究, 广西师范大学学报(自然科学版), 14(1): 71—76。
陈壁辉, 1985, 扬子鳄, 合肥: 安徽科学技术出版社, 182。
谷华运, 1989, 肾上腺嗜铬细胞, 解剖学报, 20(3): 332—336。
唐振杰, 1995, 广西蛤蚧资源及地理分布, 西栖爬行动物学研究(第4、5辑), 贵阳: 贵州科技出版社, 139—145。
特纳(刘以训等译), 1983, 普通内分泌学, 北京: 科学出版社, 212—219。
黄乘明, 1995, 蛤蚧的数量统计及生态习性的初步研究, 广西师范大学学报(自然科学版), 13(1): 88—92。
Del Conte, E. 1972. Effects of Metopirone on the Structure of Endocrine Glands in the Male Lizard, *Cnemidophorus l. lemniscatus* (L.). Z. Zellforsch, 135: 27—43。
Del Conte, E. 1975. Correlated Changes in the Structure of the Anterior Pituitary Gland, Testes and Interrenal tissue during Sexual Maturation of Male Lizards. Cell Tissue Res, 157: 493—502。
Wright, A and Jones, I.C. 1957. The Adrenal Gland in Lizards and Snakes. J. Endocrin, 5: 83—99。

图版说明

Description of plate

图1. 肾上腺横切面。(♀) ×85

Fig. 1. Transection of adrenal gland. (♀) ×85

CH: 嗜铬组织 Chromaffin Tissue; CN: 结缔组织 Connective Tissue;
CT: 皮质组织 Cortical Tissue; M: 卵巢系膜 Mesovarium; P: 腹膜 Peritoneum

图2-3. 肾上腺局部放大, 示嗜铬组织和皮质组织的分布及其细胞的形态。

图2. ×425. 图3. ×850

Fig. 2-3. The part of the adrenal gland at higher magnification, showing the distribution of the chromaffin tissue and cortical tissue as well as the shape of the cells in these tissues. Fig. 2. ×425. Fig. 3. ×850.

CA: 被膜 Capsule; BV: 血管 Blood Vessel; IC: 小岛状嗜铬组织 Islet of chromaffin tissue; C: 皮质细胞 Cortical Cell; PC: 固缩核皮质细胞 Cortical cell with pyknotic nuclei

图4-6. 肾上腺电镜图。示嗜铬细胞(cc), 小颗粒嗜铬细胞(s)和皮质细胞的超微结构。

×10000

Fig. 4-6. The pictures of adrenal gland under election microscope, showing the ultrastructure of chromaffin cell(cc), small granular chromaffin cell(s) and cortical cell.

×10000

A: 肾上腺素颗粒 Adrenalin Granule; LI: 脂滴 Lipid; LY: 溶酶体 Lysosome; MI: 线粒体 Mitochondrium; NA: 去甲肾上腺素颗粒 Noradrenalin granule; N: 核仁 Nucleolus; SG: 小颗粒 Small Granule

THE LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPE OBSERVATION OF THE ADRENAL GLAND OF *Gekko gekko*

Tang Zhenjie Chen Min

(Department of Biology, Guangxi Normal University, Guilin 541004)

Abstract

The adrenal gland of *Gekko gekko* is studied by light and electron microscope. The adrenal gland is composed of chromaffin tissue and cortical tissue. The major chromaffin tissue is distributed in the dorsal surface of the gland. The cortical tissue is composed of cords which occupy the main body. The chromaffin tissue is composed of chromaffin cells and small granular chromaffin cells. The chromaffin cell contain noradrenalin granules and adrenalin granules. The small granular chromaffin cell with a large and irregular nucleus. The cortical cells, which difference in size and shape of nucleus, contain abundant lipid. The structure characteristics of adrenal gland are discussed.

Key Words: *Gekko gekko*, Adrenal Gland, Light Microscope, Electron Microscope

扬子鳄食管 Som.CGRP 阳性神经及细胞的分布*

吴国流 储俊杰

(皖南医学院, 上饶 241001)

李光武 徐胜春 江家元

(安徽医科大学, 合肥 230032)

内容提要

用免疫组织化学 ABC 法,研究了生长抑素(Som)、降钙素基因相关肽(CGRP)免疫反应阳性神经和细胞在扬子鳄食管壁内的分布。扬子鳄食管壁各层内有较为丰富的 Som.CGRP-IR 阳性神经丛和串珠影体纤维。肌束间的神经纤维交织成网络状,血管周围有纵、环行神经纤维环绕,粘膜下层和上皮基都可见弯曲或直行的 Som.CGRP-IR 阳性纤维。肌内丛和粘膜下层内见有散在的 Som.CGRP-IR 阳性细胞。本文还结合神经免疫调节机制进行了讨论。

关键词:扬子鳄,食管,神经分布,生长抑素,降钙素基因相关肽

肽能神经的免疫调节机制的研究,近年来进展迅速,大多数资料是报道高等脊椎动物中枢神经系统内,有关肽能神经的形态和分布,而对脏器内肽能神经研究相对较少,尤其对扬子鳄这一珍稀的爬行动物体内的神经递质和肽能神经的研究,尚未见报道。本文采用 ABC 方法,观察了扬子鳄食管胸段内 Som.CGRP-IR 阳性神经和细胞的形态和分布,为神经比较解剖学和神经免疫调节机制的研究提供依据。

材料与方 法

1. 取材 取雄性扬子鳄 3 条,体长 25~35cm。用 2% 戊巴比妥钠溶液行腹腔内麻醉后,剖开胸腹腔,从左心室用生理盐水冲洗,后用 4% 多聚甲醛灌流固定,取食管材料置于固定液内再固定 6h,继入 20% 蔗糖缓冲液中 4℃ 过夜,制备 30nm 厚的冰冻切片,用 ABC 法免疫组化漂洗染色。

2. 染色步骤 经 0.1mol/LPB 液漂洗吸干后加 1:50 正常马血清置 37℃ 温箱孵育 30min,随后分别加入免抗 Som.CGRP1:2000 抗体(华美公司购用)于两组切片标本内,4℃ 孵育 70h,再从 ABC Kits 中取 II 抗(1:1000)分组加入,置 37℃ 下孵育 60min。再于 ABC Kits 中取出 A 液,B 液用 PBS 稀释(1:400)37℃ 下孵育 6min,每个步骤中间均用 PBS 漂洗 3 次,每次 5min。

* 本论文选为 1995 年 8 月 6~9 日华东六省市第五届解剖教学科研研讨会论文报告代表。福建厦门召开。