

太行隆肛蛙精巢组织结构的年周期变化

杨杰 陶娟 桂旌博 苏楷轩 刘博

豫北医学院 新乡 453003

摘要: 使用组织学技术 (H.E 染色法和显微测量技术) 对太行隆肛蛙 (*Feirana taihangnicus*) 模式产地河南济源不同月份雄性个体精巢的显微结构进行观察, 测量并记录生精小管管径和精巢间质区面积, 通过方差分析和多重比较对相关数据进行统计分析, 探讨其生殖周期的变化规律。结果表明: 太行隆肛蛙生精小管管径及管壁结构、精巢间质区面积存在明显的年周期变化。生精小管管径在太行隆肛蛙 3 月出蛰时达到最大, 4 月繁殖期生精小管管径与出蛰时相比变化不明显, 5 月繁殖期结束, 生精小管管径处于年周期的最小值, 7 至 8 月为精子发生的高峰期, 该阶段生精小管管径增加明显, 10 月太行隆肛蛙即将进入冬眠, 生精小管管径已接近最大值。太行隆肛蛙精子发生为不连续型, 每年只存在 1 个生精周期。根据太行隆肛蛙精巢组织结构的年周期变化, 将其生精周期分为 5 个阶段。6 月至 7 月为第一阶段精原细胞增殖期, 精原细胞大量增殖, 在生精小管中形成许多生精小囊, 新一轮的精子发生开始启动。7 月至 8 月为第二阶段精母细胞减数分裂期, 生精小囊内的初级精母细胞完成两次减数分裂, 形成大量精子细胞。8 月至 9 月为第三阶段精子形成期, 生精小囊内的精子细胞经过变态发育形成成束的精子。10 月至翌年 3 月为第四阶段精子贮存期, 精子成束分布在生精小管中, 经过冬眠孵育成熟。随着精子的成熟程度越来越高, 其运动能力逐渐加强, 在生精小管中排列也更加紊乱。翌年 4 月底至 5 月为第五阶段精子排出期, 生精小管内多数精子排出体外, 生精小管管径缩小明显, 管腔内残留少量精子和脱落的支持细胞, 管壁仅留有单层精原细胞及少量支持细胞。太行隆肛蛙精巢在繁殖期间质区明显可见, 生精小管周围的间质细胞数量多, 体积大, 在繁殖期结束不久后, 间质区面积达到峰值, 随后间质区面积逐渐减小, 在冬眠前降至最低, 冬眠期间, 间质区面积变化不明显, 出蛰后间质区面积与冬眠前相比几无变化。间质细胞在繁殖前后的形态变化明显, 推测其在性激素合成与分泌的调控中起重要作用, 该变化可能是引起雄性太行隆肛蛙第二性征出现及消退的重要原因。

关键词: 太行隆肛蛙; 精巢组织结构; 生精小管; 精子发生; 年周期

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2025) 06-848-11

Annual Variations of the Testicular Microstructure of *Feirana taihangnicus*

YANG Jie TAO Juan GUI Jing-Bo SU Kai-Xuan LIU Bo

North Henan Medical University, Xinxiang 453003, China

基金项目 河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目 (No. 2017GGJS220), 河南省科技攻关项目 (No. 202102310386);

第一作者简介 杨杰, 男, 副教授; 研究方向: 生殖调控; E-mail: yangjie305_2000@163.com。

收稿日期: 2025-02-12, 修回日期: 2025-05-11 DOI: 10.13859/j.cjz.202525023 CSTR: 32109.14.cjz.25023

Abstract: [Objectives] We observed the testicular microstructure of *Feirana taihangnicus* throughout the annual reproductive cycle to investigate its reproductive pattern. **[Methods]** We used histological techniques (including hematoxylin-eosin method and micro-measurement technique) to observe the testicular microstructures of *F. taihangnicus* in different months. The diameter of seminiferous tubules and the area of testicular interstitial regions were measured and recorded. The relevant data were analyzed by ANOVA and multiple comparisons. All statistics were performed in SPSS 22.0. **[Results]** The diameter of seminiferous tubules, the structure of seminiferous tubules, and the area of testicular interstitial regions in *F. taihangnicus* exhibited distinct annual cyclical changes. The diameter of seminiferous tubules was at its maximum when *F. taihangnicus* emerged from hibernation in March. During the breeding season in April, the diameter of seminiferous tubules showed no significant change compared with that at the time of emergence from hibernation (Tables 2, 3). In May, when the breeding season ended, the diameter of seminiferous tubules reached the minimum value in the annual cycle. From July to August, the peak period of spermatogenesis, the diameter of seminiferous tubules increased significantly (Tables 2, 3). In October, as *F. taihangnicus* was about to enter hibernation, the diameter of seminiferous tubules was already close to the maximum value (Tables 2, 3). The spermatogenetic cycle of *F. taihangnicus* showed a discontinuous type. It took one year from spermatogonial proliferation to spermiation. The spermatogenetic cycle of *F. taihangnicus* comprised five stages with significant features. Spermatogonial proliferation lasted from June to July, when spermatogonia proliferated extensively and formed numerous spermatogenic cysts within the seminiferous tubules, and a new round of spermatogenesis started. The meiotic division period of spermatocytes was from July to August. The primary spermatogonia within spermatogenic cysts underwent two successive meiotic divisions to form a large number of spermatids. Sperm formation was from August to September, when the spermatids within spermatogenic cysts underwent a process of maturation known as spermiogenesis to form bundles of spermatozoa. Sperm storage was from October to March of the following year. The spermatozoa were distributed in bundles within seminiferous tubules and matured after hibernation. As the maturity of spermatozoa increased, the motility gradually strengthened, and thus the arrangement in seminiferous tubules became more disordered. Sperm expulsion was from the end of April to May of the following year, when most of the spermatozoa in the seminiferous tubules were expelled from the body. Meanwhile, the diameter of seminiferous tubules was significantly reduced, and a small amount of spermatozoa and shed sertoli cells remained in the lumen. While only a single layer of spermatogonia and a few sertoli cells remained on the tubule wall (Fig. 3). During the breeding period, the interstitial regions of the testis were clearly visible. There were many interstitial cells around the seminiferous tubules, which were large in volume. Shortly after the end of the breeding period, the area of testicular interstitial regions reached its peak, and then gradually decreased, reaching its minimum before hibernation. During hibernation, there was no significant change in the interstitial area. After emerging from hibernation, the interstitial area showed almost unchanged compared with that before hibernation (Tables 5, 6). Interstitial cells showed marked morphological changes before and after breeding, playing a key role in regulating sex hormone synthesis and secretion. This might explain the appearance and disappearance of secondary sexual characteristics in male *F. taihangnicus*. **[Conclusion]** Significant seasonal variations were observed in the testicular microstructure of *F. taihangnicus*. The spermatogenesis in *F. taihangnicus* started in June and ended in May next year. The spermatogenetic cycle of

F. taihangnicus is similar to that of other reported anuran amphibians, both consists of five stages: spermatogonial proliferation, meiosis of spermatocytes, sperm formation, sperm storage, and sperm release. However, there are some differences in the start and end time of each stage between different species (Table 7). The results enrich the basic information of amphibian reproductive biology and lay a foundation for the breeding and conservation of *F. taihangnicus*.

Key words: *Feirana taihangnicus*; Testicular microstructure; Seminiferous tubule; Spermatogenesis; Annual cycle

太行隆肛蛙 (*Feirana taihangnicus*) 隶属于两栖纲无尾目叉舌蛙科隆肛蛙属 (费梁等 2009), 是我国特有的无尾两栖动物。其主要分布于河南、山西境内的太行山区, 以及河南与陕西交界的伏牛山区, 属于溪流型生活的蛙类。太行隆肛蛙生态价值较高, 通过食性分析发现其食谱中以鞘翅目、鳞翅目等林业害虫为主, 对维持生态平衡起着重要作用 (杨杰 2007)。太行隆肛蛙对生境要求较高, 尤其是水质, 加之其产卵量少、生长周期长 (陶娟等 2010)、对环境变化敏感, 易受栖息地开发、水源污染等人为因素干扰, 上述原因限制了其种群数量的增长。为了有效保护该物种, 除了持续改进生境监管措施、禁止贩卖捕杀外, 还要加强对其生殖规律的基础研究。本研究通过对雄性太行隆肛蛙精巢组织结构的年周期变化进行观察, 分析其精子发生规律, 以期丰富两栖动物生殖生物学的研究资料, 并为太行隆肛蛙的繁育和保护工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

所用标本均采自太行隆肛蛙模式产地河南省济源市黄楸树林场的溪流中, 采集时间为 2005 年 7 月至 2006 年 5 月, 采集月份包括 3~5 月和 7、8、10 月, 每个月各 3 只, 共采集雄性太行隆肛蛙成体 18 只, 体重 65~80 g, 体长 172~255 mm。

1.2 实验方法及统计分析

动物经乙醚麻醉后解剖, 取精巢, 切成 1 cm³ 小块放入 7% 福尔马林中固定备用。采用

常规石蜡切片, 切片厚度 7 μm, 苏木精-伊红 (H.E) 染色。使用显微镜 (BA410E, 麦克奥迪实业集团有限公司) 观察、拍照并记录其组织学结构, 通过 Motic images plus 2.0 显微镜成像软件 (麦克奥迪实业集团有限公司) 对各月份生精小管横断面的长径和短径、间质区面积进行测量, 每个月份测量生精小管样本量均为 50, 间质区面积样本量均为 36, 使用 SPSS 22.0 软件计算各月份生精小管长径和短径、间质区面积的平均值和标准差, 并分别进行方差分析, 确定它们之间是否存在显著性差异, 再通过多重比较 (LSD 法) 进行两两比较, 确定哪些月份之间的差异达到显著或极显著水平, 所有统计差异显著度为 0.05。

2 结果

2.1 精巢的一般组织结构

太行隆肛蛙精巢组织结构与其他无尾两栖类相似, 均属于小管型。精巢内可见多条生精小管分布, 构成精巢的实质。生精小管管壁主要由生精细胞构成, 不同月份可见处于不同发育阶段的生精细胞。在生精小管内还可观察到支持细胞存在, 对生精细胞有支持、营养和诱导分化的功能。生精小管周围存在少量的结缔组织, 构成精巢的间质, 其内可见间质细胞、纤维细胞和毛细血管等结构 (图 1)。

2.2 生精小管管径的年周期变化

对各月份取材太行隆肛蛙生精小管横断面的长径和短径进行观察记录 (图 2)。方差分析显示, 不同月份生精小管的长径 ($F_{5, 294} = 108.682$, $P < 0.01$) 和短径 ($F_{5, 294} = 86.657$,

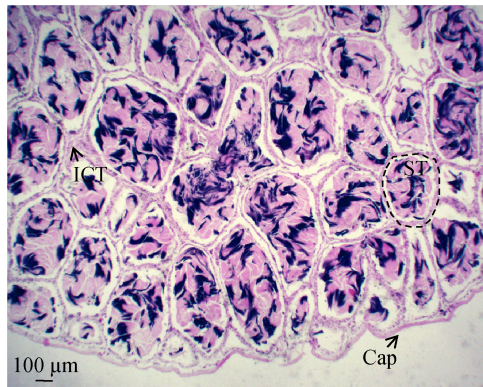


图 1 太行隆肛蛙精巢的组织结构

Fig. 1 Testicular microstructure of *Feirana taihangnicus*

Cap. 被膜; ICT. 间质; ST. 生精小管 Cap. Capsule; ICT. Interstitial connective tissue; ST. Seminiferous tubule

$P < 0.01$) 存在极显著差异 (表 1)。多重比较结果表明 (表 2, 3), 3 月、4 月和 10 月生精小管的管径变化不明显, 长径和短径均无显著性差异 ($P > 0.05$), 但 5 月、7 月和 8 月生精小管的管径变化明显, 其中 5 月、7 月生精小管长径和短径与其他各月均存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 8 月生精小管管径的短径与其他各月存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 长径与 10 月存在显著性差异 ($P < 0.05$), 与其他各月均存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。

太行隆肛蛙生精小管管径存在明显的年周

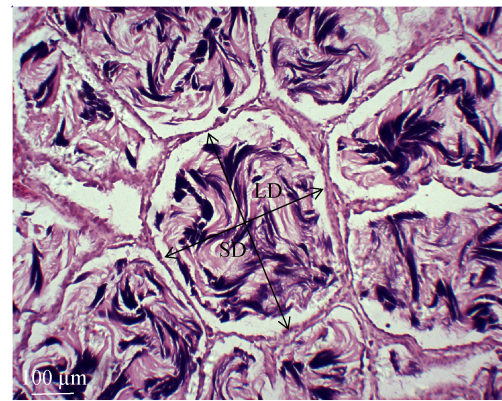


图 2 太行隆肛蛙精巢生精小管长径(LD)和短径(SD)

Fig. 2 Long diameter (LD) and short diameter (SD) of seminiferous tubules in the testes of *Feirana taihangnicus*

期变化 (表 2, 3)。3 月, 太行隆肛蛙出蛰时, 精巢生精小管管径达到最大。4 月, 太行隆肛蛙进入繁殖期, 生精小管管径与出蛰时相比无明显变化 ($P > 0.05$)。5 月, 繁殖期结束, 由于生精小管内精子多数已排出, 生精小管管径处于年周期的最小值。7 和 8 月为精子发生的高峰期, 该阶段生精小管管径增加明显 ($P < 0.01$)。10 月, 太行隆肛蛙即将进入冬眠, 生精小管管径已接近最大值。

2.3 精巢间质面积的年周期变化

比较各月份太行隆肛蛙精巢间质区的面积

表 1 不同月份太行隆肛蛙生精小管管径方差分析

Table 1 ANOVA of seminiferous tubule diameter in *Feirana taihangnicus* across different months

径值分组 Grouping by diameter	变异来源 Source of variation	SS	df	s^2	F	P
短径 Short diameter	组间 Between groups	988 038.217	5	197 607.643	86.657	< 0.001
	组内 Within groups	670 420.220	294	2 280.341		
	总计 Total	1 658 458.437	299			
长径 Long diameter	组间 Between groups	1 647 473.067	5	329 494.613	108.682	< 0.001
	组内 Within groups	891 326.600	294	3 031.723		
	总计 Total	2 538 799.667	299			

df 表示自由度; s^2 表示均方; SS 表示平方和。

df indicates degrees of freedom; s^2 indicates mean square; SS indicates the sum of squares.

表 2 不同月份太行隆肛蛙生精小管管径的差异
(平均值 ± 标准差, LSD 法)

Table 2 Differences in the diameter of seminiferous tubules of *Feirana taihangnicus* in different months (Mean ± SD, LSD)

月份 Month	短径 Short diameter (μm)	长径 Long diameter (μm)
3 月 March	297.22 ± 52.20 ^{aA}	370.22 ± 45.51 ^{aA}
4 月 April	284.02 ± 45.19 ^{aA}	365.64 ± 59.26 ^{aA}
5 月 May	137.92 ± 29.16 ^{bB}	172.82 ± 34.18 ^{bB}
7 月 July	185.8 ± 20.62 ^{cC}	232.72 ± 33.67 ^{cC}
8 月 August	239.3 ± 46.56 ^{dD}	318.56 ± 61.60 ^{dA}
10 月 October	275.48 ± 72.09 ^{aA}	351.84 ± 78.40 ^{aA}

同列标有不同大写字母者表示组间差异极显著 ($P < 0.01$); 同列标有不同小写字母者表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 同列标有相同小写字母者表示组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

Means with different capital letters in the same column indicate extremely significant differences between groups ($P < 0.01$); Means with different lowercase letters in the same column indicate significant differences between groups ($P < 0.05$); Means with the same lowercase letters in the same column indicate that the differences between groups are not significant ($P > 0.05$).

发现, 不同月份精巢间质区的面积 ($F_{5, 210}$

=13.05, $P < 0.01$) 存在极显著差异性 (表 4)。多重比较结果表明 (表 5, 6), 5 月太行隆肛蛙精巢间质区面积最大, 与其他各月之间均存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 4 月和 7 月精巢间质面积次之, 与 3 月、5 月和 10 月之间存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 8 月精巢间质面积进一步减小, 仅与 5 月之间存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 3 月和 10 月间质区面积最小, 与 4 月、5 月和 7 月之间存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。

太行隆肛蛙精巢间质区面积也存在明显的年周期变化。3 月, 太行隆肛蛙出蛰时, 精巢间质区面积较小。4 月, 太行隆肛蛙进入繁殖期, 精巢间质区面积与出蛰时相比明显增加 ($P < 0.01$)。5 月, 太行隆肛蛙繁殖期刚结束, 精巢间质区面积与 4 月相比仍有明显增加 ($P < 0.01$)。7 月精巢间质区面积与 5 月相比明显减少 ($P < 0.01$), 与 4 月繁殖期面积接近。8 月精巢间质区面积继续减少。10 月, 太行隆肛蛙在进入冬眼前, 精巢间质区面积为测量月份最低, 与出蛰后精巢间质面积接近。

表 3 不同月份太行隆肛蛙生精小管管径的多重比较 (LSD 法)

Table 3 Multiple comparisons of the diameter of seminiferous tubules of *Feirana taihangnicus* in different months (LSD)

径值分组 Grouping by diameter	(I) 月份 Month	(J) 月份 Month	平均值差值 (I - J) Difference in means (I - J)	P
短径 Short diameter	3 月 March	4 月 April	13.20	1.000
		5 月 May	159.30	< 0.001
		7 月 July	111.42	< 0.001
		8 月 August	57.92	< 0.001
		10 月 October	21.74	0.353
	4 月 April	5 月 May	146.10	< 0.001
		7 月 July	98.22	< 0.001
		8 月 August	44.72	< 0.001
		10 月 October	8.54	1.000
		7 月 July	- 47.88	0.000
	5 月 May	8 月 August	- 101.38	< 0.001
		10 月 October	- 137.56	< 0.001
		8 月 August	- 53.50	< 0.001
	7 月 July	10 月 October	- 89.68	< 0.001
		10 月 October	- 36.18	0.003

续表 3

径值分组 Grouping by diameter	(I) 月份 Month	(J) 月份 Month	平均值差值 (I - J) Difference in means (I - J)	P
长径 Long diameter	3 月 March	4 月 April	4.580	1.000
		5 月 May	197.40	< 0.001
		7 月 July	51.66	< 0.001
		8 月 August	18.38	1.000
		10 月 October	137.50	< 0.001
		5 月 May	192.82	< 0.001
	4 月 April	7 月 July	47.08	< 0.001
		8 月 August	13.80	1.000
		10 月 October	132.92	< 0.001
		7 月 July	- 145.74	< 0.001
	5 月 May	8 月 August	- 179.02	< 0.001
		10 月 October	- 59.90	< 0.001
		8 月 August	- 33.28	0.041
	7 月 July	10 月 October	85.84	< 0.001
		8 月 August	119.12	< 0.001

表 4 不同月份太行隆肛蛙精巢间质面积方差分析

Table 4 ANOVA of interstitial area of testes in *Feirana taihangnicus* across different months

变异来源 Source of variation	SS	df	s^2	F	P
组间 Between groups	18 522 129.41	5	3 704 425.89	13.05	< 0.001
组内 Within groups	59 627 865.37	210	283 942.22		
总计 Total	78 149 994.78	215			

df 表示自由度; s^2 表示均方; SS 表示平方和。

df indicates degrees of freedom; s^2 indicates mean square; SS indicates the sum of squares.

2.4 精巢组织结构的年周期变化

生精小管管壁内生精细胞也呈现明显的年周期性变化。3 月, 太行隆肛蛙结束冬眠, 陆续出蛰, 解剖观察见其精巢充盈, 体积大。镜下观察生精小管, 管腔内大量精子成簇聚集, 排列散乱, 游离在生精小管管腔中。精子外形细长, 头部呈长杆状, 染色质致密, 深染, 尾部呈细丝状, 着色浅, 波动弯曲 (图 3a)。

4 月, 太行隆肛蛙进入繁殖期, 精巢大小与 3 月相近, 生精小管内精子分散程度进一步加强, 生精小管管壁内精原细胞较为明显, 呈立方状, 核深染, 单层排列。间质区明显, 间质细胞数量增多, 体积增大 (图 3b)。

5 月, 太行隆肛蛙繁殖期结束, 由于精子

大量排出, 精巢体积急剧变小, 多数生精小管内精子已排空, 仅少量管腔内残留有精子, 有的生精小管内还可见脱落的支持细胞聚集一起, 脱落后的支持细胞逐渐凋亡, 胞核与胞质发生浓缩, 核深染, 胞质嗜酸性增强。管壁上精原细胞明显可见, 核深染。间质区发达, 间质细胞易辨认 (图 3c)。

7 月, 太行隆肛蛙以捕食为主要活动, 解剖可见精巢体积开始增大, 光镜下生精小管中形成很多生精小囊, 其内含有较多初级精母细胞, 发育快的生精细胞已完成第一次减数分裂, 形成次级精母细胞。生精小囊之间可见少量体积较大的支持细胞。生精小管之间仍可见间质细胞 (图 3d)。

表 5 不同月份太行隆肛蛙精巢间质面积的差异
(LSD 法)

Table 5 Differences in the interstitial area of testes of *Feirana taihangnicus* in different months (LSD)

月份 Month	平均值 (μm ²) Mean (μm ²)
3 月 March	1 442.77 ± 402.66 ^{cC}
4 月 April	1 845.24 ± 582.12 ^{bB}
5 月 May	2 289.59 ± 644.40 ^{aA}
7 月 July	1 818.24 ± 612.74 ^{bB}
8 月 August	1 644.89 ± 428.60 ^{bcBC}
10 月 October	1 426.96 ± 477.77 ^{cC}

同列标有不同大写字母者表示组间差异极显著 ($P < 0.01$); 同列标有不同小写字母者表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 同列标有相同小写字母者表示组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

Means with different capital letters in the same column indicate extremely significant differences between groups ($P < 0.01$); Means with different lowercase letters in the same column indicate significant differences between groups ($P < 0.05$); Means with the same lowercase letters in the same column indicate that the differences between groups are not significant ($P > 0.05$).

表 6 不同月份太行隆肛蛙精巢间质面积的多重比较
(LSD 法)

Table 6 Multiple comparisons of the interstitial area of testes of *Feirana taihangnicus* in different months (LSD)

(I) 月份 Month	(J) 月份 Month	平均值差值 (I - J) Difference in means (I - J)	P
	4 月 April	- 402.47	0.002
	5 月 May	- 846.82	< 0.001
3 月 March	7 月 July	- 375.47	0.003
	8 月 August	- 202.12	0.109
	10 月 October	15.81	0.900
	5 月 May	- 444.35	< 0.001
4 月 April	7 月 July	27.01	0.830
	8 月 August	200.35	0.112
	10 月 October	418.29	0.001
	7 月 July	471.35	< 0.001
5 月 May	8 月 August	644.69	< 0.001
	10 月 October	862.63	< 0.001
7 月 July	8 月 August	173.34	0.169
	10 月 October	391.28	0.002
8 月 August	10 月 October	217.94	0.084

8 月, 太行隆肛蛙精巢的体积增大明显, 生精小管内大部分精原细胞已完成减数分裂, 形成体积更小的精子细胞。发育快的精子细胞正在进行变态发育, 胞核浓缩变长, 分布于生精小囊的周边, 胞质则移向精子后方, 延长成细丝状, 逐渐形成精子尾部, 分布于生精小囊的中央。此时, 生精小囊轮廓依然清晰可见 (图 3e)。

10 月, 由于气温降低, 太行隆肛蛙主要在水下活动, 捕食活动也明显减弱。其精巢体积仍继续增大。生精小管内精子已基本发育成熟, 具备活动能力, 生精小囊囊壁逐渐破裂, 囊内的精子聚集成束, 头部朝向生精小管管壁, 尾部朝向生精小管管腔。管壁上可见少量的精原细胞及支持细胞 (图 3f), 镜下可见极少数生精小管内仍然有生精小囊, 小囊中为未分化的精母细胞。

太行隆肛蛙繁殖周期为每年 1 次, 根据对不同月份精巢组织结构的观察分析, 太行隆肛蛙生精周期大致可分为 5 个阶段。第一阶段 6 月至 7 月, 为精原细胞增殖期, 精原细胞开始增殖, 在生精小管中形成许多生精小囊, 新一轮的精子发生开始启动。第二阶段 7 月至 8 月, 为精母细胞减数分裂期, 生精小囊内的精母细胞快速完成两次减数分裂, 形成大量精子细胞。第三阶段 8 月至 9 月, 为精子形成期, 生精小囊内的精子细胞经过变态发育形成成束的精子。第四阶段 10 月至翌年 3 月, 为精子贮存期, 精子成束的分布在生精小管中, 经过冬眠孵育成熟。随着精子的成熟程度越来越高, 其运动能力逐渐加强, 在生精小管中排列也更加紊乱。第五阶段翌年 4 月底至 5 月, 为精子排出期, 生精小管内多数精子排出体外, 管腔内可见残留的精子以及脱落的支持细胞, 生精小管管径缩小明显, 仅留有单层精原细胞及少量支持细胞。

3 讨论

3.1 精子发生类型

无尾两栖类的精子发生有多种类型, 可分

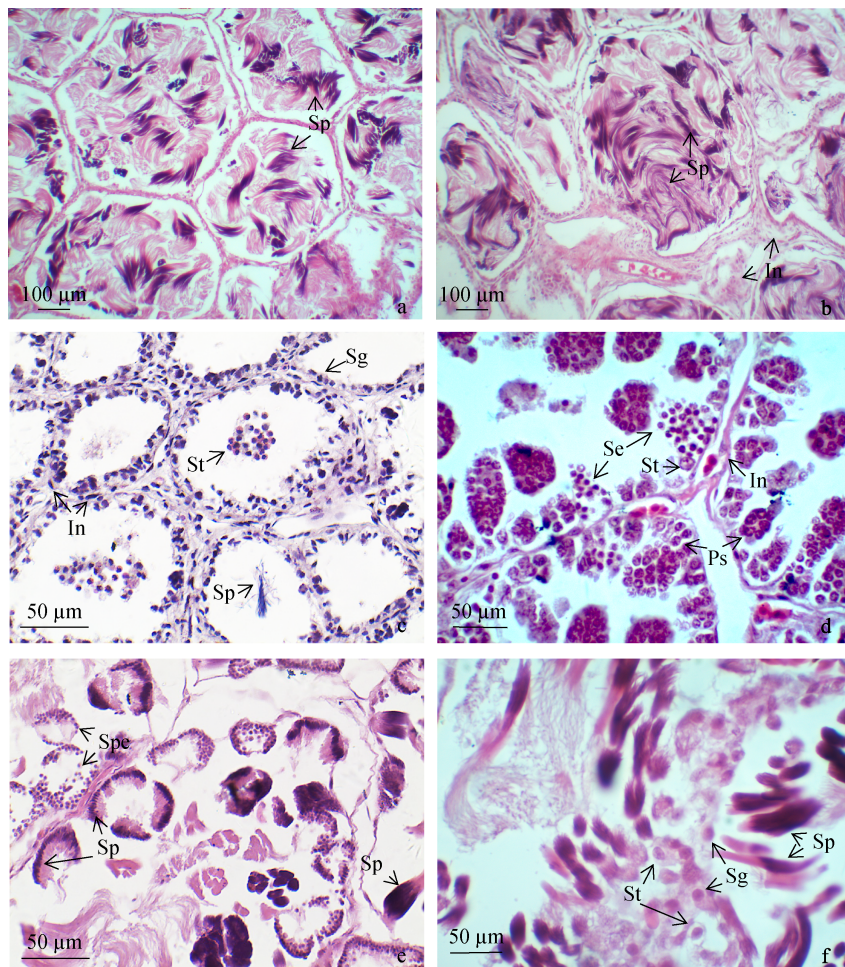


图 3 太行隆肛蛙精巢组织结构的年周期变化

Fig. 3 Annual variations of the testicular microstructure of *Feirana taihangnicus*

a. 3 月; b. 4 月; c. 5 月; d. 7 月; e. 8 月; f. 10 月。In. 间质细胞; Ps. 初级精母细胞; Se. 次级精母细胞; Sg. 精原细胞; Sp. 精子; Spe. 精子细胞; St. 支持细胞

a. March; b. April; c. May; d. July; e. August; f. October. In. Interstitial cell; Ps. Primary spermatocyte; Se. Secondary spermatocyte; Sg. Spermatogonia; Sp. Spermatozoa; Spe. Spermatid; St. Sertoli cell

为连续型、不连续型和潜在连续型 3 种 (Tsiora et al. 2001)。连续型精子发生指在全年任何时间都可见精巢内生精小管管壁中的精原细胞有增殖、分化产生精子现象, 常见于热带和亚热带地区没有显著季节性变化区域分布的无尾两栖类 (Ferreira et al. 2008, Olea et al. 2021), 我国分布的棘胸蛙 (*Paa spinosa*) (耿宝荣等 2004) 可归属于该种类型。不连续型精子发生指精巢内精原细胞只有在特定季节才启动增

殖、分化, 往往在一个生精周期结束后才开始新一轮, 该类型往往分布在生境温度有明显季节变化的温带地区, 且精巢重量的周期性变化和精子发生周期相一致, 如秦岭北坡中国林蛙 (*Rana chensinensis*) (杨纯等 2005)、倭蛙 (*Nanorana pleskei*) (覃丽梅 2007) 和隆肛蛙 (*F. quadranus*) (李亚琳 2003, 覃丽梅 2007) 等。潜在连续型也是温带地区无尾两栖类的一种常见精子发生类型, 在冬季气温较低时, 精

子在生精小管中聚集的同时可见生精小管内有一部分精原细胞开始增殖并形成生精小囊，在一个生精周期还未结束时，新一轮精子发生已经启动，如崂山产中国林蛙（贾迪 2011）。本文观察结果显示，太行隆肛蛙在精子发生过程中，生精小管内各级生精细胞的发育较为同步，在一个生精周期结束后才开始下一轮的发生，生精类型属于不连续型。太行隆肛蛙生精类型与隆肛蛙相近（李亚琳 2003，覃丽梅 2007）。

3.2 精子发生周期与繁殖策略

太行隆肛蛙与已经报道的倭蛙（覃丽梅 2007）、隆肛蛙（李亚琳 2003，覃丽梅 2007）、中国林蛙（杨纯等 2005，贾迪 2011）等精子发生过程基本相似，一年只出现 1 个生精周期，均经过精原细胞增殖期、精母细胞减数分裂期、精子形成期、精子贮存期和精子排出期 5 个阶段。对上述物种精子发生过程中 5 个阶段的起止时间进行统计比较，可见他们各阶段的起止时间存在一定差异（表 7）。从精原细胞增殖期开始到精子形成期完成所需时间，太行隆肛蛙、隆肛蛙、倭蛙要少于中国林蛙，而精子贮存时间方面，太行隆肛蛙、隆肛蛙、倭蛙要多于中

国林蛙。

太行隆肛蛙与棘胸蛙精子发生过程差异较大。棘胸蛙一年出现两次繁殖高峰期，生精周期开始于 9 月后期，冬眠期间（10 月至翌年 3 月）生精活动比较平缓，但并未停滞，4 月生精活动活跃，5 月达到高峰；第二次生精活动开始于 6 月，8 月达到高峰期（耿宝荣等 2004）。

无尾两栖类精子的发生过程与其生境联系紧密（Ko et al. 1998），通过比较已报道的无尾两栖类生精过程，可见不同物种的繁殖策略存在差异。太行隆肛蛙、隆肛蛙（李亚琳 2003，覃丽梅 2007）和倭蛙（覃丽梅 2007）主要采取晚启动、快形成、长贮存策略。精子发生启动时间较晚，从 6 ~ 7 月才开始，至 9 ~ 10 月为止，历时约 4 个月就已基本完成精原细胞增殖、精母细胞减数分裂、精子形成等精子生成阶段。它们充分利用食物资源最丰富的夏秋时期，高效完成精子生成，利于繁殖成功。另外，它们精子贮存时间普遍较长，历时约为 6 ~ 7 个月，利于其选择在翌年环境条件最适宜的春季或夏季完成繁殖，进而提高繁殖成功率。而中国林蛙（杨纯等 2005，贾迪 2011）则采

表 7 不同无尾两栖类生精周期各阶段起止时间

Table 7 Start and end time of stages in the spermatogenic cycle for different anuran amphibians

生精周期 Stage of spermatogenic cycle	太行隆肛蛙 <i>Feirana taihangnicus</i> 本研究 This study	倭蛙 <i>Nanorana pleskei</i> 覃丽梅 2007	隆肛蛙 <i>F. quadrana</i> 李亚琳 2003, 覃丽梅 2007	中国林蛙 (秦岭) <i>Rana chensinensis</i> (Qinling Mountains) 杨纯等 2005	中国林蛙 (崂山) <i>R. chensinensis</i> (Laoshan Mountains) 贾迪 2011
精原细胞增殖期 Spermatogonial proliferation	6 和 7 月 June and July	7 和 8 月 July and August	6 和 7 月 June and July	5 ~ 7 月 May to July	4 和 5 月 April and May
精母细胞减数分裂期 Meiotic division of spermatocytes	7 和 8 月 July and August	8 月底至 9 月初 Late August to early September	7 和 8 月 July and August	8 和 9 月 August and September	6 ~ 8 月 June to August
精子形成期 Sperm formation	8 和 9 月 August and September	9 月中旬至 10 月 Mid-September to October	8 和 9 月 August and September	9 和 10 月 September and October	9 ~ 11 月 September to November
精子贮存期 Sperm storage	10 月至翌年 3 月 From October to March of the following year	11 月至翌年 5 月 From November to May of the following year	10 月至翌年 4 月 From October to April of the following year	11 月至翌年 2 月 From November to February of the following year	12 月至翌年 2 月 From December to February of the following year
精子排出期 Sperm expulsion	翌年 4 和 5 月 April and May of the following year	翌年 5 和 6 月 May and June of the following year	翌年 5 和 6 月 May and June of the following year	翌年 3 ~ 5 月 March to May of the following year	翌年 3 月 March of the following year

取早启动，慢形成，短贮存策略，精子发生从 4~5 月就已开始，至 10~11 月才完成精子的形成，可见其精子发生启动较早，但精子生成速度较慢，历时约 6~8 个月才完成精子生成阶段，在生境变化较大，资源有限的环境中，通过更早、更长时间积累资源，确保有足够的能量支持精子的生成。其精子贮存时间较短，历时约 3~4 个月就进入繁殖期，则有助于其在资源竞争激烈的环境中抢占繁殖先机，提高繁殖成功率。

与无尾两栖类相比，有尾两栖类精巢多为小叶型，分为未成熟区、增殖区和成熟区，其生精方式可分为生精波（spermatogenic wave）和小叶波（lobular wave）两种方式（曲宣成等 2024）。分布于温带的有尾两栖类生精周期一般也为一年，精子发生有的从夏季启动，在 9 月就发育出成熟精子，贮存在生精小管内过冬，来年春季完成繁殖，如极北鲵（*Salamandrella keyserlingii*）（Yartsev et al. 2017）。有的从秋季启动，冬季精原细胞增殖停滞，待来年春季重新启动，如北方山溪鲵（*Batrachuperus tibetanus*）（王宏元等 2004）。还有的精子发生从秋季启动，冬季仍未停止，一直持续到来年春季，如新疆北鲵（*Ranodon sibiricus*）（Yartsev et al. 2021，曲宣成等 2024）。有尾两栖类精子发生类型、发生时间也展现出多样性，可能与栖息地年均气温、年均水温、降水量和食物资源供给等环境因素的影响密切相关，还需开展广泛研究揭示相关物种对所在生境的生殖适应进化。

3.3 类固醇激素分泌细胞

精巢间质组织结构呈现周期性变化主要表现在繁殖期间质区明显可见，生精小管周围的间质细胞数量多，体积大，在繁殖期结束后不久，间质区面积达到峰值，随后间质区面积逐渐减小，在冬眠前降至最低，冬眠期间，间质区面积变化不明显，出蛰后间质区面积与冬眠前相比几无变化。间质细胞属于典型的类固醇激素分泌细胞，与繁殖关系密切，其主要功能

为分泌雄激素（王宏元等 2003）。该细胞形态及数量的变化，对雄性个体第二性征的出现及繁殖行为的调节有重要作用。繁殖期间，间质细胞数量增多，体积增大，提示该细胞处于功能活跃期，分泌雄激素的数量达到高峰。血液中高浓度的雄激素对促进雄性第二性征的出现，抱对、鸣叫等繁殖行为发生，生精细胞的最终分化和成熟起到关键作用。繁殖期结束后不久，随着生精小管内精子排出，生精小管管径缩小，间质区受挤压减弱，这可能是导致间质区面积在该时期达到峰值的主要原因。随着时间的推移，间质区面积逐渐减小，间质细胞数量减少，体积缩小，则提示该细胞功能下降，分泌的雄激素降低，对繁殖性征的消退和繁殖行为的消失起重要作用。太行隆肛蛙繁殖前后精巢间质细胞的组织学变化与已报道的中国林蛙（汉丽梅等 2002）、黑斑蛙（*Pelophylax nigromaculatus*）（鲍方印等 2000）、倭蛙（覃丽梅 2007）、隆肛蛙（李亚琳 2003，覃丽梅 2007）、棘胸蛙（耿宝荣等 2004）、北方山溪鲵（王宏元等 2005，2006）、新疆北鲵（曲宣成等 2024）及大鲵（*Andrias davidianus*）（刘进辉等 2004）基本相似，提示间质细胞可能在两栖类的生殖调控中发挥重要作用，但其参与生殖调控的内在机制还需进一步加强研究。

致谢 感谢河南师范大学陈晓虹教授提供的部分动物标本以及河南省太行山猕猴国家级自然保护区黄楸树林场在野外工作中给予的帮助和支持。

参 考 文 献

- Ferreira A, Mehanna M, Prado C P A. 2008. Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, Brazil. *Biocell*, 32(2): 185–194.
- Ko S K, Kang H M, Im W B, et al. 1998. Testicular cycles in three species of Korean frogs: *Rana nigromaculata*, *Rana rugosa*, and *Rana dybowskii*. *General and Comparative Endocrinology*, 111(3): 347–358.

- Olea G, Cheij E, Boccioni A P C, et al. 2021. Gametogenesis and reproductive dynamics of *Scinax acuminatus* (Anura: Hylidae): morphological, histological and immunohistochemical analysis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93(2): e20190841.
- Tsiora A, Kyriakopoulou-Sklavounou P. 2001. Male reproductive cycle of the water frog *Rana epeirotica* in northwestern Greece. *Amphibia-Reptilia*, 22(3): 291–302.
- Yartsev V V, Evseeva S S. 2021. The male urogenital system of a salamander *Ranodon sibiricus* (Amphibia, Caudata). *Current Herpetology*, 40(1): 10–21.
- Yartsev V V, Exbrayat J M, Kuranova V N. 2017. Spermatogenesis in the Siberian salamander, *Salamandrella keyserlingii* (Caudata: Hynobiidae). *Salamandra*, 53 (1): 66–76.
- 鲍方印, 王峻. 2000. 黑斑蛙繁殖期血液中性激素的变化与性腺发育关系. *安徽农业技术师范学院学报*, 14(2): 43–45.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志 两栖纲(下卷). 北京: 科学出版社, 1429–1442.
- 耿宝荣, 张秋金, 邓媛霞, 等. 2004. 饲养雄性棘胸蛙生理常数及精巢的年周期变化. *应用与环境生物学报*, 10(4): 451–455.
- 汉丽梅, 汉丽萍, 刘明春. 2002. 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*, 24(2): 5–7.
- 贾迪. 2011. 中国林蛙肾脏与精巢功能形态的年周变化. 沈阳: 沈阳师范大学硕士学位论文, 31–35.
- 李亚琳. 2003. 北方山溪鲵和隆肛蛙精巢的组织学和免疫组织化学研究. 西安: 陕西师范大学硕士学位论文, 17–20.
- 刘进辉, 江辉, 谭理琦, 等. 2004. 大鲵精巢的解剖及组织形态结构研究. *经济动物学报*, 8(3): 163–166.
- 覃丽梅. 2007. 棘蛙族 (Tribe Paini) 精子形态结构及精巢年周期研究. 成都: 中国科学院研究生院 (成都生物研究所) 硕士学位论文, 30–40.
- 曲宣成, 张晓清, 刘华湘, 等. 2024. 新疆北鲵雄性生殖系统季节发育规律特征. *应用与环境生物学报*, 30(2): 394–401.
- 陶娟, 杨杰, 陈晓虹. 2010. 太行隆肛蛙的早期胚胎发育及生态适应性. *动物学杂志*, 45(5): 39–46.
- 王宏元, 王小平, 张育辉, 等. 2005. 北方山溪鲵精巢生精小叶与间质区在繁殖周期中显微结构的变化. *动物学杂志*, 40(3): 72–76.
- 王宏元, 张育辉. 2003. 精巢间质细胞雄激素合成及其调节的研究进展. *山西师范大学学报: 自然科学版*, 17(3): 64–71.
- 王宏元, 张育辉. 2004. 北方山溪鲵精巢显微结构的年周期变化. *动物学研究*, 25(6): 484–490.
- 王宏元, 张育辉. 2006. 北方山溪鲵精巢间质细胞的超微结构研究. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 34(7): 5–8.
- 杨纯, 张育辉. 2005. 秦岭北坡中国林蛙精巢显微结构的年周期变化. *动物学杂志*, 40(3): 81–85.
- 杨杰. 2007. 太行隆肛蛙生态学及胚胎发育研究. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 30–31.