

高原麝鼠阴道涂片 HE、瑞氏和快速革兰氏染色法比较

王艳莉^{1,2}, 姚宝辉^{1,2}, 谭宇尘^{1,2}, 康宇坤^{1,2}, 张德罡^{1,2}, 苏军虎^{1,2}

(1. 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学-新西兰梅西大学草地生物多样性研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:采用 HE、瑞氏和快速革兰氏 3 种染色方法, 比较了高原麝鼠(*Eospalax baileyi*)阴道涂片的染色背景、过程和效果, 以筛选最佳染色方法。结果显示: HE 染色后涂片背景及细胞分型清晰, 核质着色差异明显且检出率高, 与其他两种方法的检出率差异显著($P < 0.01$); 瑞氏染色核质呈不同程度的蓝紫色, 背景杂乱, 核质染色差别不明显; 快速革兰氏染色将细胞核、细胞质分别染成紫红色和玫红色, 背景相对暗淡, 白细胞则染成深红色, 核质着色不易区分, 影响观察效果。综合分析, HE 染色能准确、高效地鉴别高原麝鼠的发情周期, 是高原麝鼠较理想的一种阴道涂片染色方法。

关键词:瑞氏染色; HE 染色; 快速革兰氏染色; 阴道涂片; 高原麝鼠

中图分类号: S812.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2021)05-0119-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2021.05.017

阴道涂片法是指对阴道脱落物进行显微镜涂片检查的一种方法, 广泛应用于动物发情周期鉴定及其病理组织学检测, 阴道涂片通常有刮取法和吸取法。刮取法即用玻璃棒或棉签在阴道内壁轻轻刮一下, 把玻璃棒或棉签在载玻片上涂匀干燥后进行染色, 然后在显微镜下观察。吸取法即用细长的吸管或移液枪深入阴道后宫隆处吸取排液, 制片染色^[1]。因阴道上皮细胞受激素的影响发生周期性的变化, 利用阴道细胞涂片检查能比较确切地反映体内性激素水平及其对阴道上皮的影响, 进而反映动物发情状态^[2]。阴道涂片法具有简单、高效、基本无痛苦且经济等优点, 它是鉴别动物发情常用的一种检查方法。目前阴道涂片的染色方法主要有 HE 染色^[3]、快速革兰氏染色^[4]、吉姆萨染色^[5]、瑞氏染色^[6]、巴氏染色法^[6]及其改良染色法等。

巴氏染色法步骤较繁杂, 快速革兰氏染色虽然步骤简单, 易操作, 但辨认细胞需要一定的经验。吉姆萨染色时间较长, 杂质易被染色, 导致背景杂乱暗淡, 细胞形态不鲜明, 清晰度差^[5]。HE 染色法操作简易便捷, 可快速观察鉴定动物的阴道上皮细胞, 是目前动物发情周期常用的染色方法, 在不同的动物上, 该方法也有一定的适用性^[3]。肖小芹等研究表明实验样本量大, 判断小鼠动情周期时, 瑞氏染色法更适用; 但样本量小, 只检测小鼠阴道脱落细胞形态等时, 巴氏染色法效果更好^[7]。也有研究报道, 大鼠阴道涂片大规模检查时, 吕氏碱性美蓝染色法应用效果显著^[8]。检验这些方法在不同物种上的适用性, 对物种进一步的研究能提供基础参考。

高原麝鼠(*Eospalax baileyi*)隶属于啮齿目(Rodentia), 鼯形鼠科(Spalacidae), 麝鼠亚科(Myospalacinae), 凸颅麝鼠属(*Eospalax*)^[9], 是青藏高原高寒草甸生态系统的关键种^[10]。在人为和自然因素的影响下, 鼠害增加, 高寒草甸退化加剧^[14]。因此, 许多研究集中于寻找降低高原麝鼠种群密度的防治措施^[12], 但其在高寒草甸生态系统物质循环和能量流动中所具有

收稿日期: 2020-12-18; 修回日期: 2021-02-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760706); 甘肃省陇原青年创新创业人才项目(LYRC2018-02)

作者简介: 王艳莉(1996-), 女, 甘肃秦安人, 硕士研究生。

E-mail: 1658098304@qq.com

苏军虎为通讯作者。E-mail: sujh@gsau.edu.cn

的独特功能和地位不容忽视,有关其数量的管理是关键^[14]。而掌握高原鼯鼠的繁殖规律是控制其种群数量的有效途径^[15]。孙儒泳等研究表明,高原鼯鼠雌性一般以怀孕率、胎仔数、妊娠率等为繁殖指标,而雄性的繁殖指标一般有平均精巢长(或重量)和储精囊及其睾丸、附睾的形态变化等^[16]。其繁殖周期是从3月底到6月,繁殖周期因气候条件不同而有所不同^[17]。高原鼯鼠常年营地下生活^[21],其繁殖和储粮行为皆在地下通道完成^[18],难以直接观察且抓捕困难。鉴于此,阴道细胞涂片法结合外阴观察更适用于高原鼯鼠发情周期的鉴定,且在其他哺乳动物和小型啮齿动物上已有应用。国内外已通过阴道细胞涂片法确定了豚鼠(*Cavia porcellus*)^[20]、小鼠(*Mus musculus*)^[21]和子午沙鼠(*Meriones meridianus*)^[22]等的发情周期。高质量的阴道涂片检查是准确确定发情周期的前提条件,而适宜的染色方法是高质量阴道涂片的重要保障^[5]。高原鼯鼠阴道涂片应用尚不成熟,阴道涂片法判断发情周期也处于探索阶段,为此尝试多种涂片染色方法。本研究通过野外非损伤活捕,室内饲养的方法,进行了发情周期阴道涂片染色方法的筛选。选用瑞氏、HE和快速革兰氏3种染色方法,通过比较3种染色方法的阴道细胞涂片效果,旨在为阴道涂片法判断高原鼯鼠发情周期提供一个简单、高效的染色方法,以期为高原鼯鼠发情周期的鉴定及其繁殖生物学研究提供基础资料,同时也为野外防治时机和方法的选择提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验动物

于2020年5月,在甘肃省武威市天祝藏族自治县抓喜秀龙镇用笼捕法随机抓捕生长发育正常的高原鼯鼠,称重后按体重来鉴别年龄^[23],根据相关文献,初步判断怀孕等状况^[24],选取性成熟且健康未孕的雌性高原鼯鼠45只,体重147.54~217.75 g/只,平均(164.13±3.02)g/只,利用本实验室的方法单独饲养于(20×33×25)cm³的收纳箱中,取其生活洞道土为垫料,以其喜食食物红薯(*Ipomoea batatas*)等喂养^[25]。

1.2 实验方法

实验动物随机分为3组,每组15只,每天8:00,18:00对3组高原鼯鼠分别使用自制棉签制作阴道涂片。固定高原鼯鼠时一只手固定其头部,另一只手抓住尾巴固定后脚使其露出阴道口,先用生理盐水湿润

过的无菌棉签擦拭阴道口,将蘸湿的棉签插入高原鼯鼠阴道内0.5~1 cm,轻柔旋转1~2圈,将棉签均匀涂在事先滴有生理盐水的干净载玻片上,连续20 d。涂片自然风干后滴加甲醇固定10 min。涂片固定好后,分别进行染色。

1.2.1 HE染色 苏木精染色液中染色5 min,流水冲洗,盐酸酒精分化数秒,流水冲洗返蓝,伊红染色1 min,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜检,观察细胞的形态及着色^[2]。

1.2.2 瑞氏染色 滴加数滴瑞氏染液(染液多少根据涂片面积调整),瑞化1~3 min(为防止染液干涸,可缩短瑞化时间或及时添加染液);按比例配制的KH₂PO₄、Na₂HPO₄缓冲液(pH=7.0)加染液量的1.5倍,二者混匀等10 min;流水冲洗(玻片平放,水流应缓),二甲苯透明,自然风干,中性树胶封片,显微镜镜检,观察细胞的形态及着色。

1.2.3 快速革兰氏染色 快速革兰氏染色初染,滴加50 μL龙胆紫液(龙胆紫和乙醇)在涂片上,静置10 s,蒸馏水冲洗;媒染,滴加50 μL碘溶液(碘和碘化钾)在涂片上,静置10 s,蒸馏水冲洗;脱色,滴加50 μL脱色液(乙醇)在涂片上进行脱色,静置10 s,蒸馏水冲洗;复染,滴加50 μL沙黄溶液(沙黄和乙醇)在涂片上,静置10 s,蒸馏水冲洗,自然风干,中性树胶封片,显微镜镜检,观察细胞的形态及着色^[4]。

1.3 阴道细胞涂片镜检及数据分析

对阴道细胞涂片用普通光学显微镜进行镜检。白细胞,一般呈圆形或卵圆形,胞核、胞质分界不明显,胞体边界清晰,且小于上皮细胞;上皮细胞,直径20~70 μm,大多呈圆形、四边形或菱形,轮廓清晰,核浓缩,核质分形明显;角化上皮细胞,一般呈多边形且边缘不规则,未完全角化上皮细胞核变小,核膜界限模糊,核质着色深浅因细胞角化程度不同而有明显差别,完全角化上皮细胞是视野中最大的细胞,细胞核角化,随着角化程度的不同细胞形态略有差别。根据阴道细胞特点区分不同染色方法下不同细胞类型的着色情况,同时记录结果、照相。各染色方法间的检出率采用SPSS 20.0统计学软件并进行 χ^2 检验数据分析,以 $P < 0.01$ 为检验标准。

2 结果与分析

高原鼯鼠的发情周期包括4个阶段:发情前期、发

情期、发情后期和发情间期。在发情前期上皮细胞和白细胞占主导地位,在发情期和发情后期 3 类细胞并存,即上皮细胞、白细胞和角质化上皮细胞;角质化上皮细胞则主要分布在发情期;发情后期角质化上皮细胞逐渐减少,以上皮细胞为主;发情间期阴道涂片上为大量白细胞和少量上皮细胞。现将用 3 种不同染色方法的阴道涂片镜检结果简要叙述如下:

2.1 HE 染色

HE 染色过程中阴道细胞核经苏木精染色呈现不同程度的蓝紫色,角质化上皮细胞、细胞质、嗜伊红颗粒等经伊红染色呈现不同程度的红色,白细胞核为深蓝紫色,胞浆着色淡,分界不明显,分叶核较明显。发情前期,阴道涂片上以有核上皮细胞为主,细胞核呈蓝紫色,细胞质染色较淡,呈淡粉色,透明度高(图 1-A);发情期,几乎都是无核角化上皮细胞,胞质染成粉色、胞核呈深蓝紫色或粉色,细胞质由核至边缘区着色逐渐变浅,呈簇状、块状和串状(图 1-B);发情后期,阴道涂片可见大量白细胞和少量完全和未完全角化上皮细胞(图 1-C);发情间期阴道涂片上为大量白细胞和少量上皮细胞。(图 1-D);各时期图片背景清晰无杂质。

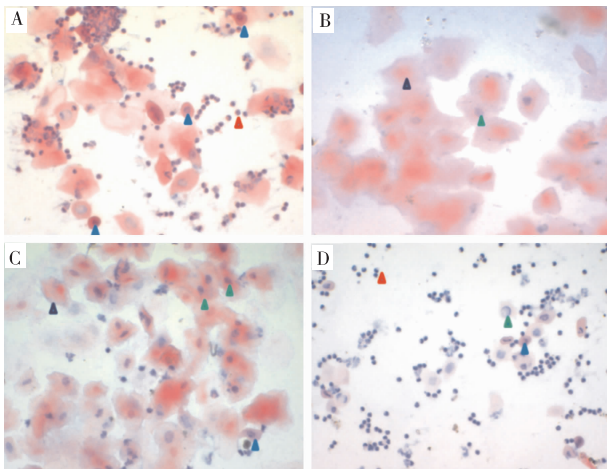


图 1 高原鼢鼠发情周期阴道涂片 HE 染色结果(400×)

Fig. 1 HE staining results of vaginal smears of plateau zokor during estrus cycle (400×)

注:A,发情前期;B,发情期;C,发情后期;D,发情间期;蓝色三角表示上皮细胞;黑色三角表示完全角化细胞;绿色表示未完全角化细胞;红色三角表示白细胞,下同

2.2 瑞氏染色

瑞氏染色过程中,阴道涂片细胞核经瑞氏染液被

染成深蓝紫色,角化上皮细胞、细胞质等被染成不同程度的浅蓝紫色,白细胞分叶核不易观察到。发情前期,白细胞核呈深蓝紫色,细胞轮廓清晰可见,核质分型不明显(图 2-A);发情期,角化的上皮细胞被染成浅蓝紫色(图 2-B);发情后期,未完全角化的上皮细胞可见核被染成深蓝紫色,细胞质及完全角化细胞被染成浅蓝紫色(图 2-C);发情间期,可见白细胞、核上皮细胞蓝色淡染,核质分型不明显(图 2-D)。

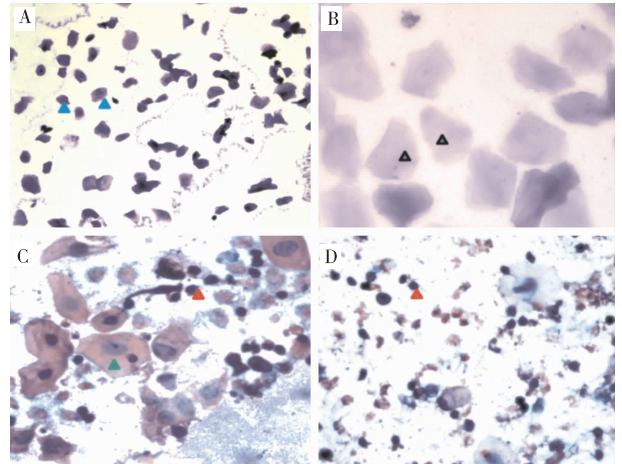


图 2 高原鼢鼠发情周期阴道涂片瑞氏染色结果(400×)

Fig. 2 Wright staining of vaginal smears of plateau zokor during estrus cycle (400×)

2.3 快速革兰氏染色

快速革兰氏染色过程中细胞核、细胞质经初染、媒染、脱色、复染 4 步分别呈紫红色、玫红色,白细胞则被染成深红色。发情前期,阴道涂片以上皮细胞为主,一般呈圆形或椭圆形分布,其细胞核、细胞质分别被染成紫红色和玫红色,细胞轮廓较清晰,同时存在玫红色的无核角化上皮细胞(图 3-A);发情期,阴道涂片中满视野为形态不规则多边形的无核角化上皮细胞,其被染成玫红色分布在涂片上(图 3-B);发情后期,少量无核角化上皮细胞,细胞核轮廓较清晰,细胞膜完整,整体层次感明显且易于区分,白细胞以卵圆形分布,呈深红色,细胞形态清晰(图 3-C);发情间期,以白细胞为主,有核细胞和无核角化上皮细胞极少量存在(图 3-D)。

2.4 高原鼢鼠 3 种染色方法检出率的比较

阴道涂片的检出率是指阴道涂片镜检时背景清晰,各类细胞可见且易区分的涂片与总涂片数的比率。采用 HE 染色的阴道涂片检出率为 90.67%,对阴道涂片细胞的检出率显著高于瑞氏染色和快速革兰氏染

色方法($P<0.01$);采用瑞氏染色的阴道涂片检出率为 58.00%,采用快速革兰氏染色的阴道涂片检出率

为 67.30%,瑞氏和快速革兰氏两种染色方法对于阴道涂片的检出判断无明显差别($P<0.01$)(表 1)。

表 1 高原鼯鼠阴道涂片 3 种染色方法检出率的比较

Table 1 Comparison of the detection rate of three staining methods in plateau zokor vagina smear

	样本数/只	涂片总数/个	有效涂片数/个	无效涂片数/个	检出率/%
HE 染色	15	150	135	15	90.67
瑞氏染色	15	150	87	63	58.00*
快速革兰氏染色	15	150	101	49	67.30*

注:与 HE 染色的检出率比较: * $P<0.01$

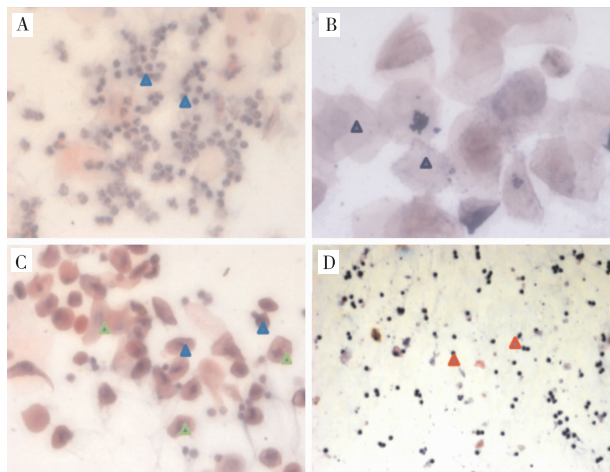


图 3 高原鼯鼠发情周期阴道涂片快速革兰氏染色结果(400×)

Fig. 3 Rapid Gram staining of vaginal smears of plateau zokor during estrus cycle (400×)

3 讨论

通过染色、镜检分析,就染色过程而言,HE 染色法步骤简单易操作,且省料省能,但耗时较长,单片染色需 20~23 min,所以提倡批量染色;瑞氏染色法瑞化时间较难控制,易染色过度,耗费人力物力,对操作要求较高,但单片耗时少,15 min 左右;快速革兰氏染色法初染、媒染、复染过程中染液量不易控制,易造成染色过度,整个过程单片耗时 13~15 min,对操作人员要求高。从染色效果比较,HE 染色根据细胞核与细胞质对苏木精染液和伊红染液的亲嗜性不同,染成易于区分的蓝紫色和粉红色,细胞分型明显,细胞核、细胞质着色分明,易操作,出现误差较小,成功率高,着色均匀且涂片检出率与其他两种方法具有显著差异($P<0.01$);瑞氏染色法中根据细胞核和细胞质对瑞氏染液的亲嗜性的不同,核质被染成深浅不一的蓝紫色,快速革兰氏染色法包括初染、媒染、脱色和复染 4

个步骤使得细胞核和细胞质呈现不同程度的红色;但 3 种染色方法鉴别结果基本一致。从染色背景而言,HE 染色下的阴道涂片背景清晰、干净,透明度高,利于观察判断,可进行批量染色;瑞氏背景杂乱,个别杂质相对较多,易造成细胞叠加,染色加深不易观察判断;快速革兰氏染色背景相对暗淡、杂乱,核质区分不分明,不易观察。

目前,用于检查阴道涂片的方法有很多,大多数研究都采用 HE 染色法^[21],HE 染色法染液配置方法简单易操作,染色过程要求低,染色效果好、易观察;部分研究中使用瑞氏染色^[26],但是瑞氏染液条件要求苛刻,按比例配制的 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 缓冲液的 pH 不稳定,会造成一定的误差,核质着色颜色相近不易区分,而且有时难以着色;快速革兰氏在检查阴道涂片中的应用不多^[24],其操作条件不好控制,初染、复染过程中易出现冲洗不够或冲洗过度的情况;所以,大规模检查高原鼯鼠阴道涂片时,采用 HE 染色法效率更高。通过对 3 种染色的比较,发现使用 HE 染色能够准确、高效的筛选出处于发情周期的高原鼯鼠阴道涂片,因此建议在检查大批量阴道涂片确定高原鼯鼠发情周期时使用 HE 染色。另外,在试验过程中也发现了一些值得注意的问题,在取阴道分泌物时动作要轻缓,使用牙签制作的小棉签是为了比较容易进入高原鼯鼠的阴道,虽然削去了尖端但还是会有残留且易刮伤试验鼠阴道上皮。在进行染色前,一定要保证甲醇固定好且已自然风干;HE 染色时酒精梯度时间可根据实际情况适当减少。瑞氏染色时缓冲液的 pH 不能偏酸或偏碱,否则会影响染色效果;快速革兰氏染色时倾倒玻片上染液时要快,否则会造成染色不均,要用蒸馏水进行冲洗,用自来水冲洗会使涂片背景杂质增多。

4 结论

高原鼯鼠繁殖期用阴道涂片法判断其发情周期

时,HE染色后涂片背景及细胞分型清晰,核质着色差异明显且检出率高;瑞氏染色核质呈不同程度的蓝紫色,背景杂乱,核质染色差别不明显;快速革兰氏染色将细胞核、细胞质分别染成紫红色和玫红色,背景相对暗淡,白细胞则染成深红色,核质着色不易区分,影响观察效果。综合分析,HE阴道涂片染色更能准确、高效地鉴别出高原鼯鼠的发情周期。

参考文献:

- [1] 荆宝琴,张金晓,王磊,等.成年SD大鼠不同阴道涂片方法探索[C]//中国毒理学会.中国毒理学会第七次全国毒理学大会暨第八届湖北科技论坛论文集.北京:中国毒理学会,2015:1.
- [2] 英永,李莉,王韶艳.几种常规染色方法在大鼠阴道涂片中的应用[J].上海畜牧兽医通讯,2010(4):28-29.
- [3] 覃海章,肖胜军,华英杰,等.不同方法确定动情周期及动情期生殖器官结构[J].安徽医科大学学报,2017,52(11):1650-1653.
- [4] 张婷,王颖,王莉.大鼠阴道涂片两种染色方法比较[J].中国比较医学杂志,2018,28(12):98-101.
- [5] 闫丽,温和,唐桂毅,等.大鼠阴道细胞涂片不同染色方法在动情周期判定中的价值[J].药物评价研究,2020,43(1):72-76.
- [6] 陈立青,戴方伟,郭红刚,等.长爪沙鼠发情周期规律与判定方法[J].中国实验动物学报,2014,22(1):67-70+13.
- [7] 肖小芹,汤婉婷,成绍武,等.小鼠阴道涂片技术及其染色方法的研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(4):376-378.
- [8] 白春霞,孙国娟,谢萍,等.两种常用染色方法在性成熟SD大鼠阴道涂片中的比较研究[J].中药与临床,2015,6(5):36-38.
- [9] 花立民,蔡新成.高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)的生态学研究进展[J].甘肃农业大学学报,2021,56(2):1-10.
- [10] 康宇坤,张德罡,谭宇尘,等.高原鼯鼠微卫星多态位点筛选及其通用性检测[J].草原与草坪,2018,38(2):56-60.
- [11] Norris R W, Zhou K, Zhou C, *et al.* The phylogenetic position of the zokors (Myospalacinae) and comments on the families of muroids (Rodentia)[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31(3): 972-978.
- [12] 杨彦东,苏军虎,花立民.碌曲县草原鼠害区划研究[J].草原与草坪,2014,34(6):51-55.
- [13] 唐忠民,刘承毅.高原鼯鼠的最适生境及其活动规律研究与防治策略[J].草业与畜牧,2014(1):16-17.
- [14] 张堰铭,刘季科.地下鼠生物学特征及其在生态系统中的作用[J].兽类学报,2002,22(2):144-154.
- [15] 张堰铭.捕杀对高原鼯鼠种群年龄结构及繁殖的影响[J].兽类学报,1999,19(3):44-51.
- [16] 孙儒泳,张玉书,方喜叶.啮齿类繁殖生态研究中雄性繁殖强度的意义[J].动物学报,1977,23(2):187-200.
- [17] Hegab M Ibrahim, Zhang Q, Pu Q S, *et al.* Gender difference in unconditioned and conditioned predator fear responses in smith's zokors (*Eospalax smithii*)[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2018, 16: e00503.
- [18] 王海芳,苏军虎,刘荣堂,等.基于线粒体ND4基因的鼯鼠系统进化关系[J].草原与草坪,2008,28(4):20-23.
- [19] Jitka Z, Radim Š, Jan O, *et al.* A seasonal difference of daily energy expenditure in a free-living subterranean rodent, the silvery mole-rat (*Heliophobius argenteocine-reus*; Bathyergidae)[J]. *Comparative Biochem and Physiology A-molecular & Integrative Physiology*, 2010, 158(1):17-21.
- [20] 刘艳,邢进,王珑.豚鼠性周期阴道细胞变化的研究[J].实验动物科学,2010,27(6):26-28.
- [21] Gonzalez, Gabriel. Determining the stage of the estrous cycle in female mice by vaginal smear[J]. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2016, 2016(8):732-734.
- [22] 沙塔娜提,史深,廖力夫,等.新疆吐鲁番雌性子午沙鼠发情周期的实验观察[J].实验动物科学,2020,37(2):1-4.
- [23] 苏军虎, Weihong Ji, 南志标, 等. 鼯鼠亚科 Mysopalacinae 动物系统学研究现状与展望[J]. 动物学杂志, 2015, 50(4): 649-658.
- [24] Berris K K, Breed W G, Moseby K E, *et al.* Female reproductive suppression in an australian arid zone rodent, the spinifex hopping mouse [J]. *Journal of Zoology*, 2020, 312(3):163-173.
- [25] Zhang Y. The biology and Ecology of Plateau Zokors (*Eospalax fontanierii*)[M]. Begall S, Burda H, Schleich C E. *Subterranean rodents*, Berlin: Springer, 2007: 121-123.
- [26] 靳光,薛艳蓉.小鼠发情周期阴道上皮细胞形态变化的研究[J].黑龙江动物繁殖,2016,24(6):6-8.
- [27] 丁玉龙,孙莉,李丽亚.小鼠阴道涂片三种染色方法比较[J].实验动物科学,2010,27(1):67-69.

Comparison of hematoxylin-eosin, Wright and rapid Gram staining methods of plateau zokor vagina smear(*Eospalax baileyi*)

WANG Yan-li^{1,2}, YAO Bao-hui^{1,2}, TAN Yu-chen^{1,2}, KANG Yu-kun^{1,2},
ZHANG De-gang^{1,2}, SU Jun-hu^{1,2}

(1. College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education/Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province/Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China; 2. Gansu Agricultural University-Massey University Research Centre for Grassland Biodiversity, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: This study used three staining methods including Hematoxylin-eosin (HE), Wright, and Rapid Gram to compare the staining background, process and effect of plateau zokor (*Eospalax baileyi*) vaginal smears to screen the best staining method. The results showed that HE staining produced clear smear background and cell types with the nuclear and cytoplasmic staining being significantly different, and high detection rate which was statistically different from the other two methods ($P < 0.01$). Nucleocytoplasmic staining by Wright was blue-purple in varying degrees with messy background, and the difference between nuclear and cytoplasmic staining was not obvious. Rapid Gram staining stained the nucleus and cytoplasm in purple and rose red, respectively, with a relatively dark background, while leukocytes were stained in deep red, with nucleus and cytoplasm not easily distinguished. In conclusion, HE staining could accurately and efficiently identify the estrus cycle of plateau zokor; therefore it is an ideal method for staining vaginal smears.

Key words: wright staining; hematoxylin-eosin staining; rapid gram staining; vaginal smear; plateau zokor

《草原与草坪》编辑部网络采编办公系统正式运行

各位作者及审稿专家:

您好! 为提高稿件处理和办公效率,《草原与草坪》编辑部已从2021年7月开始启用网络采编办公系统。

作者投稿采用新的网络平台(<http://cyycp.ijournals.cn>),请尽量不要使用原电子邮件投稿,特此公告,望作者和审稿专家予以支持与合作。

在使用网络采编办公系统中您有任何疑问、意见和建议,请您电话 0931-7631885 或者发邮件到 cyycp@gsau.edu.cn。