

镇海棘螈早期个体发育研究^{*}

谢 锋 费 梁 李 成 叶昌媛

(中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

摘要:根据野外观察和室内实验,对镇海棘螈的早期个体发育过程进行了研究。结果显示,镇海棘螈早期发育过程与琉球棘螈的个体发育过程非常相似,它们的平衡枝均不发达且在前肢芽晚期迅速消失。温度和湿度对胚胎发育具有显著影响。室温下,从受精卵到孵化需 29 d 左右。孵化幼体体长呈配合对数曲线增长,其体全长(S)与日龄(T)的关系可表示为 $S = 12.9749 + 6.2398 \ln T$ (Sig. $F < 0.01$)。水生生活阶段为 58 ~ 88 d。室内幼体的水生发育时间和变态个体大小与野外的情况有较大的差异,可能与营养条件和自然条件下的持续干旱有关。变态前的外鳃萎缩期是镇海棘螈早期个体发育过程中的死亡高峰期。

关键词:镇海棘螈;胚胎发育

中图分类号:Q132 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)04-21-05

The Preliminary Studies on the Early Development of the Chinhai Salamander, *Echinotriton chinhaiensis*

XIE Feng FEI Liang LI Cheng YE Chang-Yuan

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences Chengdu 610041, China)

Abstract: According to the observation and experiments in the laboratory and in the field, the early developmental pattern of the Chinhai salamander is gotten. The results showed that: the early development stage of Chinhai salamander, *E. chinhaiensis*, is very similar with its relative species, *E. andersoni* (Utsunomiya and Utsunomiya, 1977). Their balanceres are poorly developed and disappear very early. Temperature and moisture significantly influence the embryonic development of the Chinhai salamander. Although the eggs only were deposited on land in nature, the embryos can developed both in water and on land. No significantly different was found between the hatching ratios in water and on land. The range of embryonic period is positive related to the water level covering the embryos. For the embryos hatching on land, the embryonic stage is approx. 29 days under room temperature. The growth curve can be expressed with a logarithmic curve, $S = 12.9749 + 6.2398 \ln T$, S and T express the total length and age of larvae, respectively. The larvae stage in water is approx. 58 ~ 88 days. Many internal and external factors influence the early normal development of Chinhai salamander.

Key words: *Echinotriton chinhaiensis*; Development

* 中国科学院“九五”重大项目(KZ951-A1-105),知识创新工程项目(KSCX2-01-03),西南知识创新基地和中国科学院地奥科学基金联合资助;

第一作者简介 谢锋,32岁,博士;研究方向:两栖爬行动物系统进化和保护;E-mail: xhrl@163.net

收稿日期:2000-12-27,修回日期:2001-02-15

镇海棘螈 (*Echinotriton chinhaiensis*) 隶蝾螈科、有尾目, 为我国特有种, 属国家 II 级重点保护野生动物。目前仅发现于中国浙江宁波地区, 其数量甚少, 分布区极其狭窄, 已极度濒危, 亟待保护^[1]。目前, 仅蔡春抹等^[2]对该物种的生态习性有初步的报道。由于对该螈的个体发育和生活史缺乏了解, 且对各过程的影响和致危因素缺乏研究, 使得保护工作的开展受到极大地限制。

有尾两栖类中除少数类群 (如真螈属 *Salamandra* 和小默螈属 *Mertensiella*) 行卵胎生或胎生, 直接产出变态幼体外, 其它属种均行卵生, 多有一个水栖的早期个体发育过程, 早期个体发育在此主要是指胚胎发育 (孵化前)、胚后发育 (孵化后的水生幼体期) 和变态过程 3 个阶段, 对产卵于水中的物种而言这些阶段是在水中完成的。棘螈属物种雌性产卵于陆上, 胚胎发育在陆地上进行, 而孵化后幼体在水中生活进行胚后发育直至变态, 因此其早期个体发育包括孵化前的陆上阶段和孵化后水中的生长及变态阶段。由于这一时期个体发育的成活率直接与繁殖成功率紧密相关, 因此本文对该螈这一时期的发育过程进行了观察和研究, 希望对该螈的保护有所帮助。

1 材料与方 法

1.1 胚胎发育的观察和记录 用于镇海棘螈胚胎发育观察的卵群采自浙江宁波市北仑区, 北纬 29.8°, 东经 121.8° 的自然生境中, 将其置于潮湿的纱布上, 在室温 14 ~ 27℃ 的条件下进行连续观察, 共观察胚胎 200 枚, 并描述和测量各时期胚胎的发育过程。根据蔡堡^[3]的分期标准, 在每个典型发育时期用福尔马林固定胚胎 5 枚, 以备绘图使用。初始时期为每小时记录胚胎的发育和变化, 囊胚期以后由于胚胎发育速度减慢, 相应的对胚胎的观察次数有所减少。

1.2 孵化后幼体的饲养、观察和记录 孵化幼体下水后, 将幼体饲养在长 40 cm, 宽 25 cm 的水族箱内, 箱内水深为 10 cm, 食物以水蚯蚓 (*Tubifex* sp.) 和颤颤虫 (*Daphnia* sp.) 为主。室

温为 20 ~ 28℃ 左右, 每天换自来水 1 ~ 2 次。每 24 h 观察一次。用游标卡尺精确到 0.1 mm, 对典型时期幼体的体全长进行测量。用计算机软件进行生长曲线拟合。

2 结果与分析

2.1 受精率 在自然状态下, 对 5 个刚产出的卵群进行跟踪调查, 为避免未受精个体的假发育的影响, 当卵发育至尾芽期时才进行受精率统计, 其结果为 96.8% ($n = 361$), 此结果表明镇海棘螈的受精率非常高, 这与该螈的体内受精和多次交配的繁殖方式有关, 关于交配方式的研究将另文发表。

2.2 胚胎发育过程 镇海棘螈的胚胎发育过程见图 2, 各过程的形态特征变化见表 1。

胚胎孵化时间随孵化条件的变化而变化, 室内、室外均有所不同, 特别是温度对该物种的胚胎发育影响较大, 产于不同位点的卵群其孵化时间和发育速度也有所差异。1998 年在室外模拟生境中, 有两个雌性个体同时产卵, 共产 3 团, 其中 2 团产在树叶下, 能受阳光照射, 1 团产在石块下, 不受阳光照射, 由于两处微环境温度差异较大, 当前者胚胎已发育达前肢芽晚期时, 后者仅达前肢芽早期, 其孵化时间也明显晚于前者。

从胚胎发育到孵化期间, 真菌感染、天敌捕食 (蚂蚁和鸟等) 以及持续干旱导致的失水^[2]等均会引起胚胎的死亡, 其中持续干旱的影响尤为突出, 在该物种的保护中应重点注意。

正常的陆上孵化率为 94%。野外和室内幼体的孵化均需水的刺激, 干旱时, 幼体的孵化期可能推迟。究其原因可能为胶质囊在雨水的浸泡下, 囊壁变薄, 幼体易于穿破囊壁。

2.3 胚后发育过程 正常情况下, 镇海棘螈的胚胎在陆上孵化后, 幼体借助自身的弹跳能力和雨水的冲刷进入水塘中生活, 通常它们主要是借助尾的摆动而做弹跳运动, 但运动缺乏方向性, 在无障碍物时, 每次弹跳距离或高度为 3 ~ 5 cm, 最多可达 10 cm 左右。幼体孵化后肠内仍有大量卵黄未被吸收, 但幼体下水后不久即

开口进食。

表 1 镇海棘螈早期个体发育的时相表

发育分期	特征变化	时间累积
受精卵期	卵外有 3 层胶膜,呈球形,直径 6.5 mm 左右,除去胶膜,卵呈圆形,直径约 3 mm。动物极荧光绿色,卵在胶囊中能任意滚动,位卵胶囊下方。	
2 细胞期	第一次分裂为径裂、等裂,但卵裂沟未到植物极底部,约止于植物极 45° 左右。	5 h
4 细胞期	第二次分裂为径裂、等裂,与第一次垂直,多数为等裂,卵裂沟多不达底部。	9.5 h
8 细胞期	第三次分裂为纬裂,几乎等裂,位置约在动物极 45° 处。	13.5 h
16 细胞期	径裂,不等分裂,部分胚胎动物极出现空隙。	17.5 h
32 细胞期	纬裂,不规则卵裂,动物极分裂为 16 个细胞,清晰。	21 h
囊胚早期	胚胎表面细胞小,但可分辨细胞界限,部分胚胎动物极正中有明显空隙。	29 h
囊胚晚期	胚胎表面光滑,细胞界线难分。	37 h
原肠胚早期	出现背唇。胚胎不再呈球形。	66 h
原肠胚中期	背唇进一步扩大,成圆弧型,即出现侧唇。	73 h
原肠胚晚期	卵黄栓形成。	76 h
神经板期	卵黄栓变小内陷,胚孔逐渐形成裂缝状,胚胎由近球形转变为梭型。	101 h
神经褶期	神经板边缘高起成厚褶,中央沿胚胎的横轴形成凹陷。	125.5 h
神经沟期	神经褶高起,边缘变薄,左右二褶靠近。	147 h
神经管期	神经褶愈合,神经沟封闭,神经管形成,感觉板和鳃板出现。	154 h
尾芽早期	尾芽出现,胚胎头部向腹面弯曲,肌节出现,并逐渐增多。	186 h
尾芽晚期	尾芽伸长,胚胎向一侧弯曲,色素堆积,肌节达 18 对,尾渐扁平,尾鳍出现。机械刺激下出现胎动。	227 h
外鳃早期	外鳃芽 3 对,出现平衡枝 1 对,背部肌节处色素沉着明显,头上翘,背鳍出现。体全长 10.5 mm。	253 h
外鳃晚期	外鳃 3 对,鳃丝分叉,前肢芽出现,平衡枝长成,背两侧色斑加深,左侧出现心脏搏动。体全长 11.6 mm。	366 h
前肢芽早期	外鳃增长,进一步分枝,逐渐透明,血管网状。前肢芽长而显,但不分枝,眼圈出现。体全长 11.8 mm。	396 h
前肢芽晚期	前肢芽已具 3 指,指间有蹼,蹼上有色斑,已具后肢芽突起,口出现,心脏搏动,平衡枝消失,外鳃出现色斑,血循环加剧,眼圈周围出现色斑。体全长 13.8 mm。	540.5 h
后肢芽期	前肢芽具 3 指,后肢芽长,尚不分叉。体全长 15.8 mm。	660.5 h
后肢 2 趾期	后肢末端分 2 叉,具蹼,体形由左右侧扁变为背腹侧扁,具卵黄。体全长 20 mm(孵化期)。	708.5 h
后肢 3 趾期	后肢具 3 趾,趾间具蹼,卵黄消失。体全长 20.3 mm。	828.5 h
后肢 4 趾期	后肢具 4 趾,具蹼,后肢上出现色斑。体全长 26.2 mm。	1 020.5 h
后肢 5 趾期	5 趾完全形成,蹼退化,腹侧出现两行浅色稀疏大颗粒,似侧线器官。体全长 31.1 mm。	1 236.5 h
外鳃萎缩期	外鳃开始萎缩,体色变深,尾鳍退化,皮肤疣粒出现,肋间沟出现,保护色出现,已开始登陆。体全长 41.7 mm。	74.5 d
变态完成期	外鳃消失,鳃孔封闭,皮肤出现大疣,保护色更显,幼体已完全离水,具有较强的攀援能力。体全长 41.6 mm。	81.5 d

幼体发育过程和速度见图 1 和图 2,由图 1 可知,镇海棘螈的发育速度呈对数形式增长。

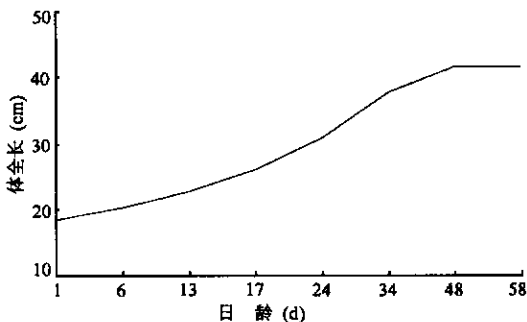


图 1 镇海棘螈胚后生长发育曲线

其与时间的拟合经检验呈显著的配合对数曲线 (Logarithmic curve) (Sig. $F < 0.01$), 其回归方程为: $S = 12.9749 + 6.2398 \ln T$, S = 体全长, T = 发育时间(或日龄)。从拟合方程可见,镇海棘螈的幼体水生阶段的发育时间在 58 d 左右,变态期体长的增长几乎为零。这可能与幼体在变态期内停止摄食和呼吸器官的改组有关。室内饲养发现,此期幼体的死亡率较高,1997 年在常温下(30~40℃)高达 41%,1998 年室内安装空调后,在室内温度控制在 25℃左右的情况下,死亡率有所降低,为 20%左右。如何降低

这一时期幼体的死亡率,将是该物种保护中的一个关键。

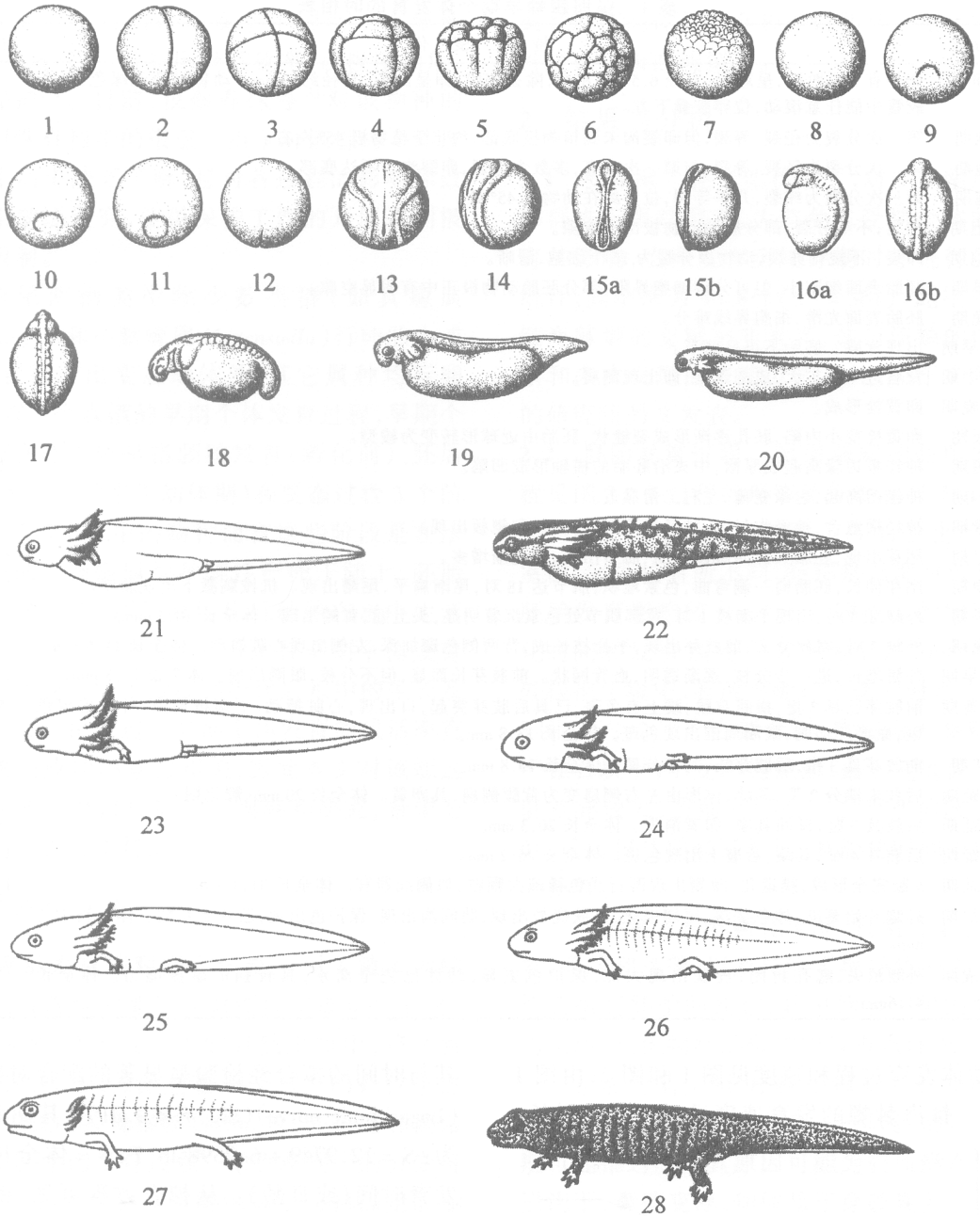


图2 镇海棘蝮胚胎发育图

1. 受精卵期; 2. 2细胞期; 3. 4细胞期; 4. 8细胞期; 5. 16细胞期; 6. 32细胞期; 7. 囊胚早期; 8. 囊胚晚期; 9. 原肠胚早期; 10. 原肠胚中期; 11. 原肠胚晚期; 12. 神经板期; 13. 神经褶期; 14. 神经沟期; 15a, b. 神经管期; 16a, b. 尾芽早期; 17. 尾芽晚期; 18. 外鳃早期; 19. 外鳃晚期; 20. 前肢芽早期; 21. 前肢芽晚期; 22. 后肢芽期(野外孵化期); 23. 后肢芽2趾期(室内孵化期); 24. 后肢芽3趾期; 25. 后肢芽4趾期; 26. 后肢芽5趾期; 27. 外鳃萎缩期; 28. 变态完成期

该螈在自然环境中的发育速度和变态时间与室内个体相比有所差异,据2000年8月3日野外采集的6尾刚变态的幼体统计,其体长为 (31.0 ± 5.1) mm(25~38),体重 (0.24 ± 0.06) g(0.18~0.30),其变态期体长和肥满度显著小于室内饲养个体。这可能与野外食物较少,营养状况较差有关,同时也与该年度繁殖水塘逐渐缺水,幼体被迫提前变态有关。

3 讨论

镇海棘螈早期个体发育与蝾螈科其它属进行比较,蝾螈属^[3,4]、肥螈属^[5]、疣螈属^[6]和棘螈属^[7]等类群的胚胎发育都有所报道。包括镇海棘螈在内的具静水生境特征的物种,在早期发育中都出现平衡枝,但与琉球棘螈相类似的是镇海棘螈平衡枝较弱,且脱落较早^[7],这是该属

物种所共有的重要的发育特征,也可能是陆生性较强物种的共同特点。

各属物种的发育时间和孵化时幼体的长度见表2,由表2可知,常温下各物种的胚胎发育时间:蝾螈属历时15~25d左右,肥螈属物种较长,大约需24~37d,疣螈属中的贵州疣螈约21.6d,棘螈属物种需22~30d。Nussbaum^[8]指出卵径的大小与孵化期长短和孵化幼体大小成正比,并且卵径大小与动物具有的护卵行为和进化有关。在蝾螈科中黑斑肥螈^[9]以及红瘰疣螈^[10]等物种的卵径较大,胚胎发育时间长且均有护卵行为,这些证据支持前者的观点。但镇海棘螈与琉球棘螈的卵粒也较大,其胚胎发育过程较长,却未见护卵行为,这可能说明该类群正处于护卵行为进化的中间过程。

表2 我国蝾螈科各属物种的胚胎发育比较

特征	蓝尾蝾螈 ^[4] <i>Cynops cyanurus</i>	东方蝾螈 ^[3,11] <i>Cynops orientalis</i>	黑斑肥螈 ^[5] <i>Pachytriton brevipes</i>	贵州疣螈 ^[6] <i>Tylotriton kweichowensis</i>	琉球棘螈 ^[7] <i>Echinotriton andersonii</i>	镇海棘螈 <i>Echinotriton chinhaiensis</i>
卵径大小(mm)	2.1	2.0	4.5	2.3~3.4	3.0~3.2	3.4
胚胎发育时间(d)	16.5	15~25	24~37	21.6	22~27	29.5
孵化幼体体全长(mm)	9.99 ± 0.27	10~12	17~20	11.85 ± 2.24	16.6	20.3
孵化幼体发育到变态的时间(d)	147	50~80	69~92	105	79~100	58~88
变态时体全长(mm)	54.54 ± 4.78	31.8	37~42	61.94 ± 0.66	41	41.6

致谢 浙江自然博物馆蔡春抹研究员协助野外胚胎收集,本所李健先生为本文绘制了墨线图,在此特别致谢!

参 考 文 献

- [1] 费梁. 镇海棘螈及其濒危现状. 动物学杂志, 1992, 27(4): 39~41.
- [2] 蔡春抹, 费梁. 镇海棘螈 *Echinotriton chinhaiensis* (Chang) 新模式描述及其生态习性. 两栖爬行动物学报, 1984, 3(1): 71~78.
- [3] 蔡堡. 东方蝾螈胚胎发育图谱. 北京: 科学出版社, 1978. 1~77.
- [4] 王朝芳, 费梁, 叶昌媛. 蓝尾蝾螈早期胚胎发育的初步观察. 动物学杂志, 1984(6): 4~8.
- [5] 章菊明. 肥螈的一般情况. 见: 蔡堡编. 东方蝾螈胚胎发育图谱. 北京: 科学出版社, 1978. 77.
- [6] 田应洲, 孙爱群, 李松. 贵州疣螈繁殖生态的研究. 两栖爬行动物学研究, 1995, 4~5: 167~173.
- [7] Utsunomiya, Y., T. Utsunomiya. On the development of *Tylotriton andersoni*. J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ., 1977, 16: 65~76.
- [8] Nussbaum. The evolution of parental care in salamanders. Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan., 1985, 169: 1~50.
- [9] Thiesmeier, B., C. Hornberg. Paarung, fortpflanzung und lavalentwicklung von *Pachytriton* sp. (*Pachytriton* A) nebst bemerkungen zur taxonomic der gattung. *Salamandra*, 1997, 33(2): 97~110.
- [10] Dasgupta, R. Parental care in the Himalayan newt. J. Bengal Nat. His. Soc., 1984, 3(2): 106~109.
- [11] 杨道德, 沈猷慧. 东方蝾螈繁殖生态的研究. 动物学研究, 1993, 14(3): 215~220.