

沼水蛙早期胚胎发育的初步研究

邹佩贞 温彩燕 徐 剑 陈建荣

(韶关大学生物学系 广东韶关 512005)

摘要: 报道了沼水蛙的早期胚胎发育过程。根据胚胎发育过程中的形态变化规律将胚胎发育过程分为 25 个时期, 在室温(24 ± 1)℃的条件下, 胚胎发育历时 187 h 54 min; 在室外不控制温度, 气温为 18~25℃的条件下, 历时 215 h 30 min。本文还描述了各时期的形态特征, 并讨论了发育中的一些现象。

关键词: 沼水蛙; 早期胚胎发育

中图分类号: Q132 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2001)06-15-05

The Primary Research for the Early Embryonic Development of *Hylarana guentheri*

ZOU Pei-Zhen WEN Cai-Yan XU Jian CHEN Jian-Rong

(Biology Department, Shaoguan University Guangdong 512005, China)

Abstract: The early embryonic development in *Hylarana guentheri* was investigated. The course of embryonic development, from its fertilized egg to the completion of operculum, is divided into 25 stages, which took 187 hours 54 minutes under the indoor temperature of (24 ± 1)℃ and 215 hours 30 minutes under the natural condition of 18~25℃ temperature outside. The external morphological characteristics in every stages of the embryonic development in *Hylarana guentheri* were similar to *Rana heckscheri*. The hatching time was intensively occurred before heart beating stage.

Key words: *Hylarana guentheri*; Early embryonic development

沼水蛙(*Hylarana guentheri*)隶属于蛙科、水蛙属, 分布于四川、云南、贵州、河南、安徽、江苏、浙江、江西、湖南、湖北、福建、台湾、广西、广东等地区, 是南方地区的优势种。近年来由于人们的大量捕食, 数量大大减少, 需要加强保护。迄今, 国内外学者在蛙胚胎发育方面做了不少工作, 报道了青蛙(*Rana nigromaculata*)^[1]、北方狭口蛙(*Kaloula borealis*)^[2]、中国林蛙(*Rana chensinensis*)^[3]、饰纹姬蛙(*Microhyla ornata*)^[4]、无斑雨蛙(*Hyla arborea immaculata*)^[5]、河蛙(*Rana heckscheri*)^[6]等的胚胎发育, 但水蛙类的胚胎发育未见详细报道。为比较水蛙类与其它无尾两栖类的胚胎发育, 本文对沼水蛙进行

了早期胚胎发育的初步观察, 以期为今后的教学、科研提供参考资料。

1 材料与方法

1999 年和 2000 年的 4~5 月, 在沼水蛙的繁殖期, 从水塘抓回数对雌雄沼水蛙, 放在室内盛水玻璃缸中, 对雌蛙注射人绒毛膜促性腺激素催产, 并采用人工授精方法获得受精卵, 一部分受精卵放在盛有净化自来水的培养皿中, 在

第一作者介绍 邹佩贞, 女, 32岁, 讲师, 学士; 主要从事脊椎动物生态研究;

收稿日期: 2000-10-26, 修回日期: 2001-04-17

(24 ± 1)℃的室内用双筒解剖镜进行日夜观察。培养皿直径12 cm,水深2 cm,每皿放40~50只受精卵;另一部分受精卵置于学校内的小池塘里进行对照,不控制胚胎发育的温度,这时测得夜晚的最低温度为18℃,白天最高温度为25℃,定时取5~10个胚胎用双筒解剖镜进行观察。一共观察了6批受精卵的发育,记录每一发育时期的时间(以60%的胚胎出现某时期特征为准),测量各期的胚体长,各期胚体长直接用游标卡尺测量。测量胚胎形态以活体为

主,每一发育阶段取5~10个胚胎,在5%的福尔马林溶液中固定作照相材料。本文以活体观察描述和绘图。

2 结 果

胚胎各期的划分采用Shumway所拟定的分期方法,从受精卵发育到鳃盖褶闭合共分为25个时期,现将各期胚胎主要外部形态特征、记录时间和各期胚胎的直径或胚体长描述如下(表1;图1:1~25)。

表1 沼水蛙早期胚胎发育时间和胚体长

发育时期	室内(温度 24 ± 1 ℃)			室外(温度 18~25℃)		
	发育持续时间 (h:min)	本期内时数 (h:min)	卵径或胚体长 (mm)	发育持续时间 (h:min)	本期内时数 (h:min)	卵径或胚体长 (mm)
受精卵期	0	1:43	1.43 ± 0.07	0	2:07	1.43 ± 0.029
2细胞期	1:43	0:45	1.467 ± 0.052	2:07	0:31	
4细胞期	2:28	0:29	1.472 ± 0.043	2:38		
8细胞期	2:57	0:13	1.48 ± 0.03			
16细胞期	3:10	0:19	1.49 ± 0.04	3:53		
32细胞期	3:29	0:31	1.49 ± 0.022			
64细胞期	4:00	0:50	1.52 ± 0.031	7:23	3:24	
囊胚早期	4:50	2:52	1.55 ± 0.07	10:47	8:40	
囊胚晚期	7:42	3:38	1.58 ± 0.02	19:27	4:33	1.54 ± 0.023
原肠早期	11:20	5:12	1.67 ± 0.05	23:50	5:40	1.55 ± 0.04
原肠中期	16:32	1:48	1.74 ± 0.03	29:30	2:15	1.57 ± 0.10
原肠晚期	18:20	4:39	1.82 ± 0.05	31:45	9:35	1.59 ± 0.08
神经板期	22:59	4:15	1.84 ± 0.14	41:20	6:30	1.64 ± 0.11
神经褶期	27:14	3:51	1.85 ± 0.11	47:50	3:21	1.74 ± 0.13
神经沟期	31:05	2:37	1.91 ± 0.023	51:11	3:40	1.87 ± 0.25
神经管期	33:42	5:25	2.21 ± 0.046	54:51	6:32	2.16 ± 0.27
尾芽期	39:07	5:24	2.71 ± 0.05	61:23	6:54	2.66 ± 0.07
肌肉效应期	44:31	15:31	3.04 ± 0.07	68:17	16:06	2.92 ± 0.2
孵化期	60:02	6:53	3.41 ± 0.40	84:23	7:19	3.22 ± 0.23
心跳期	66:55	8:28	4.55 ± 0.30	91:42	10:30	4.52 ± 0.15
鳃血循环期	75:23	24:37	5.06 ± 0.22	102:12	31:31	4.72 ± 0.13
开口期	100:00	30:38	5.68 ± 0.24	133:43	27:40	5.54 ± 0.22
鳃盖褶期	130:38	34:47	6.65 ± 0.12	161:23	34:14	6.10 ± 0.312
右鳃盖闭合期	165:25	22:29	7.43 ± 0.17	195:37	19:53	7.05 ± 0.21
鳃盖完成期	187:54		8.08 ± 0.16	215:30		7.85 ± 0.17

2.1 受精卵期 自卵产出后受精至第一次卵裂沟出现为止。卵粒直径1.42~1.48 mm,刚产下的卵不分上下,受精后约19 min受精卵翻正,动物极向上,为黑色,约占卵表的一半稍多,植物极向下,呈乳白色。卵膜吸水膨胀,最外卵膜直径约为3.56 mm,受精后33 min左右,色素冠

扩大,并在一侧的下缘隐约可见灰色新月区域(图1:1)。

2.2 2细胞期 从第一次卵裂沟出现到第二次卵裂沟出现为止。第一次卵裂为经裂,卵裂沟从动物极开始,逐渐向植物极分裂,形成一条深纵沟,卵裂后两细胞大小几乎相等(图1:2)。

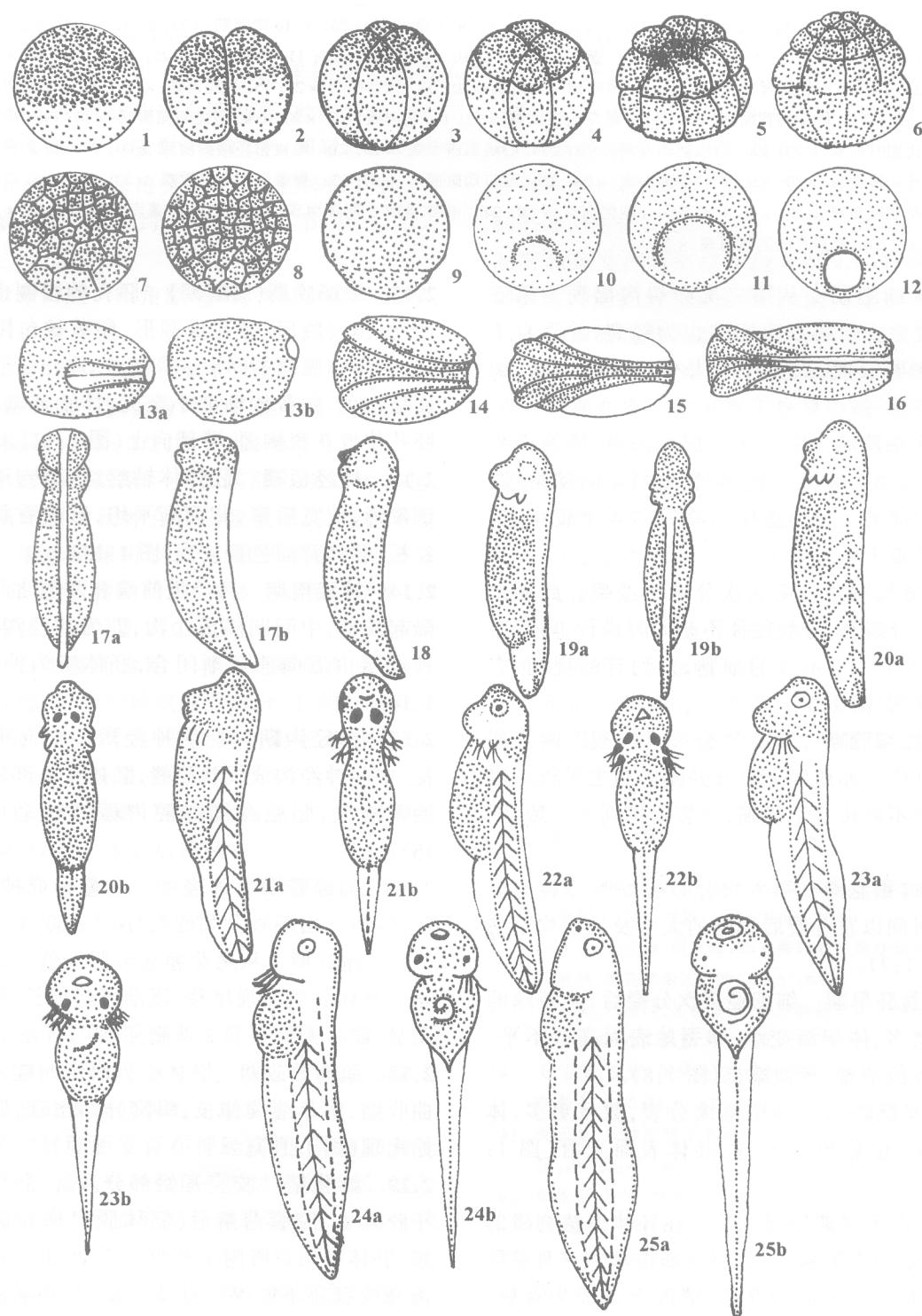


图1 沼水蛙早期胚胎发育图

1. 受精卵期 $\times 25$; 2. 2 细胞期 $\times 25$; 3. 4 细胞期 $\times 25$; 4. 8 细胞期 $\times 25$; 5. 16 细胞期 $\times 25$; 6. 32 细胞期 $\times 25$; 7. 64 细胞期 $\times 25$; 8. 囊胚期 $\times 25$; 9. 囊胚晚期 $\times 25$; 10. 原肠早期 $\times 25$; 11. 原肠中期 $\times 25$; 12. 原肠晚期 $\times 25$; 13a. 神经板期背面观 $\times 25$; 13b. 神经板期侧面观 $\times 25$; 14. 神经褶期 $\times 25$; 15. 神经沟期 $\times 25$; 16. 神经管期 $\times 25$; 17a. 尾芽期背面观 $\times 20$; 17b. 尾芽期侧面观 $\times 20$; 18. 肌肉效应期 $\times 20$; 19a. 孵化期侧面观 $\times 20$; 19b. 鳃环期背面观 $\times 20$; 20a. 心跳期侧面观 $\times 20$; 20b. 心跳期腹面观 $\times 20$; 21a. 鳃血循环期侧面观 $\times 20$; 21b. 鳃血循环期腹面观 $\times 20$; 22a. 开口期侧面观 $\times 20$; 22b. 开口期腹面观 $\times 20$; 23a. 鳃盖褶初期侧面观 $\times 20$; 23b. 鳃盖褶初期腹面观 $\times 20$; 24a. 右鳃盖闭合期侧面观 $\times 20$; 24b. 右鳃盖闭合期腹面观 $\times 20$; 25a. 鳃盖完成期侧面观 $\times 20$; 25b. 鳃盖完成期腹面观 $\times 20$

2.3 4 细胞期 从第二次卵裂沟出现至第三次卵裂为止。第二次卵裂也为经裂，并垂直于第一次卵裂面，成为 4 个大小相似的细胞(图 1:3)。

2.4 8 细胞期 第三次分裂为纬裂，卵裂面与第一、二次卵裂面垂直，卵裂面稍偏向动物极，结果形成的 8 个细胞中动物极的 4 个较小，植物极的较大(图 1:4)。

2.5 16 细胞期 第四次分裂为经裂。此期出现 2 个分裂面，分裂往往不是同时进行，卵裂后形成 16 个大小不等的细胞，排列有的规则，有的不规则(图 1:5)。

2.6 32 细胞期 第五次分裂是纬裂。两分裂面分别位于赤道线上下方并基本与之平行。但分裂常不同步且不规则，分裂球排列不一致(图 1:6)。

2.7 64 细胞期 第六次分裂各细胞分裂沟出现的时间以及分裂后细胞的大小及排列均不整齐(图 1:7)。

2.8 囊胚早期 细胞经多次分裂后，分裂球的数目增多，体积渐变小，卵裂球表面高低不平，细胞界线清楚，形似桑椹(图 1:8)。

2.9 囊胚晚期 细胞继续分裂，数目更多，体积更小，细胞界线不清，胚体表面光滑(图 1:9)。

2.10 原肠早期(背唇期) 在胚体偏植物极的一处，细胞内陷移入，在移入部位形成一月芽形缝隙，是胚孔形成的开始，缝隙上方即为背唇，原来胚轴位置成逆时针偏移(图 1:10)。

2.11 原肠中期(侧唇期) 植物极卵黄已开始内卷，动物极细胞向下外包，背唇向两侧扩展加深，形成半圆形的侧唇(图 1:11)。

2.12 原肠晚期(腹唇期) 胚孔的腹侧也开始内卷，出现腹唇，胚孔成圆形，卵黄被包围于背唇、侧唇和腹唇中间形成卵黄栓，露出于胚孔外面呈白色，卵黄栓渐变小至无，体轴逐渐偏转，胚孔位置在稍侧面，背部向上(图 1:12)。

2.13 神经板期 胚体体轴继续偏转，逐渐呈倒梨形，前宽后窄，背面渐平坦，形成盾状的神经板，胚体背面色素较浅(图 1:13a,b)。

2.14 神经沟期 神经板前端和两侧之间边缘隆起成褶，中间凹陷成小沟，即为神经沟，两侧神经褶由后向前逐渐闭合，胚体略为伸长(图 1:14)。

2.15 神经管期 两侧神经褶逐渐向中央靠拢，中间神经沟成线状裂缝，胚体在头部后面的两侧较窄，胚胎在围卵腔内微微转动(图 1:15)。

2.16 神经管期 神经褶完全愈合成神经管，胚体延长，出现吸盘和鳃板(图 1:16)。

2.17 尾芽期 从尾芽翘起至肌肉效应出现为止。身体后端出现尾芽，逐渐翘起伸长，吸盘较明显，鳃板两侧突起 2 外鳃芽(图 1:17a,b)。

2.18 肌肉效应期 胚体受到刺激时能左右扭曲收缩，尾芽继续伸长，嗅窝开始出现，眼泡开始出现(图 1:18)。

2.19 孵化期 胶膜开始部分溶解，胚体多附于胶膜上，胶膜溶解后，胚体脱出卵黄膜和胶膜，胚体孵出后吸附于胶膜上不动，此时的胚体离开胶膜还不能保持身体平衡，受到刺激时会扭曲身体(图 1:19a,b)。

2.20 心跳期 从心脏跳动至鳃血循环为止。在卵黄囊与口窝交界处可见到心脏轻微博动，开始时 20~25 次/min，结束时 50 次/min，2 外鳃

芽进一步突起,接近中期能见到2外鳃分为2~3短支(图1:20a、b)。

2.21 鳃血循环期 外鳃鳃丝逐渐伸长和分支,鳃丝内出现脉冲式血液循环,此时胚胎分散侧卧于盘底,口仍吸附于胶膜上,刺激能作短暂的游动,但不能保持身体平衡,胚体眼突出,角膜逐渐透明,能见到<<<形的肌节(图1:21a、b)。

2.22 开口期 眼角膜透明,能见到黑色眼球,口窝内口板穿通,口呈三角形,外鳃发育完全,鳃丝很长,胚体侧卧盘底,不吸附在胶膜上,能较长时间的游动,但身体仍不能保持平衡;尾长约为体长的1/3~1/2(图1:22a、b)。

2.23 鳃盖褶初期 外鳃基部出现褶状突起,并逐渐向腹面延伸会合成鳃盖褶,并盖住外鳃基部。黑色眼球明显,此时胚体能逐渐直立水中,腹部变圆,游动活泼,身体逐渐保持平衡,尾长≥体长的1/2(图1:23a、b)。

2.24 右鳃盖闭合期 右侧的鳃褶向后延伸,盖住外鳃,逐步与体壁皮肤愈合;右侧外鳃丝消失,左侧外鳃仍外露,吸盘退化萎缩,腹部平坦,可见肠管有1.5圈(图1:24a、b)。

2.25 鳃盖完成期 身体两侧鳃丝完全被鳃盖褶包盖,仅在左鳃腔后侧留有一圆形出水孔;口部上下唇、角质领已发育完整,唇乳突明显,可见腹部有肠管2~3圈(图1:25a、b)。

3 讨 论

沼水蛙早期胚胎发育分期情况与青蛙^[1]、河蛙^[6]、泽蛙^[7]等基本相同,可按一般胚胎学关于蛙类胚胎发育分期的方法划分。

沼水蛙胚胎发育在神经褶期,有的卵黄栓还未完全消失,这时胚体纵轴才开始伸长,这与北方狭口蛙^[2]原肠晚期胚体纵轴伸长是不一致的。

沼水蛙的胚胎发育中孵化期明显而集中,在心跳期之前,这与青蛙^[1]、北方狭口蛙^[2]、中国林蛙^[3]不一致,属于孵化较早的。

沼水蛙在鳃盖褶期之前未见尾血循环,故

未将其作为一个时期列出。

沼水蛙胚胎发育受缓慢的温度变化影响不大,南方地区在每年4~5月的温差较大(18~25℃)。从表1可看出,在室外不控制温度的情况下,胚胎能正常发育,只是时间稍长,从受精卵到鳃盖完成期需要215 h 30 min,比(24±1)℃的恒温条件下的胚胎发育长27 h 36 min。同时发现胚胎发育的前期受温度变化的影响较大,如在室外的胚胎发育过程中,囊胚早期需要8 h 40 min,原肠晚期需要9 h 35 min,明显比室内所需时间长,因受精卵是下午13时18分获得,这两个时期在室外的发育正好是夜晚凌晨时间,是一天中温度最低的时候(18℃),可见低温是使胚胎发育速度变慢的主要原因。而胚胎发育后期的尾芽期和孵化期也处于夜晚凌晨,但所需时间与室内相差不大,可见胚胎发育后期受温度变化的影响不大。另外室内和室外的胚体长则相差不大,但室外的胚体相对短些,可能是胚胎时而受低温影响所致。

沼水蛙的早期胚胎发育与水质、水的含氧量的关系有待进一步的观察,但其胚胎在无净化的自来水中能良好发育。

参 考 文 献

- [1] 王应天.青蛙(*Rana nigromaculata*)早期胚胎发育.北京大学学报(自然科学版),1958,1:95~105.
- [2] 李宗芸,孙建梅,胡斌等.北方狭口蛙早期胚胎发育的初步观察.动物学杂志,1998,33(5):4~8.
- [3] 刘玉文,刘治国,艾静远等.中国林蛙早期胚胎发育的形态学研究.沈阳农业大学学报,1989,20(1):49~54.
- [4] 耿宝荣,温青,张秋金.饰纹姬蛙的早期胚胎发育.动物学杂志,1996,31(5):17~21.
- [5] 吴云龙.无斑雨蛙早期胚胎发育的初步观察.生物学通报,1987,2:41~43.
- [6] 梁淡茹,潘澄.河蛙早期胚胎发育研究.华南师范大学学报(自然科学版),1997,1:55~61.
- [7] 张键.泽蛙胚胎发育的研究(I)早期发育及分期.两栖爬行动物学报,1987,6(3):26~33.
- [8] 王寿兵,张思路,屈云芳等.辽宁产中国林蛙早期胚胎发育研究.复旦学报(自然科学版),1996,35(2):163~168.