

花背蟾蜍蝌蚪胃的发育形态学观察

王晓旭^① 李丕鹏^① 高凤娟^① 白树崇^② 陆宇燕^{①*}

① 沈阳师范大学两栖爬行动物研究所, 辽宁省生物进化与生物多样性重点实验室 沈阳 110034;

② 沈阳师范大学古生物研究所 沈阳 110034

摘要: 应用大体解剖、组织切片和扫描电镜 3 种形态学方法对花背蟾蜍 (*Bufo raddei*) 蝌蚪在生长发育和变态过程中胃的形态结构变化进行了观察。结果显示, 在蝌蚪发育 24 期 (即 G24) 消化道呈简单的管状结构, 胃与小肠等区分不明显, 胃壁由内层矮柱状黏膜上皮细胞和其外的扁平上皮细胞层构成; 直到 26 期胃略膨大, 呈短粗管状, 与小肠和食道可明显区分, 胃壁内层的黏膜上皮细胞呈高柱状, 上皮细胞间出现少量杯状细胞; 36 期的胃管明显膨大, 其壁已具有胃的 4 层基本组织结构, 杯状细胞数量增加, 黏膜上皮细胞游离面有细长的微绒毛交织成网状覆盖; 42 期胃发育呈“C”字形, 胃壁具备了消化道典型的 4 层结构, 有胃腺芽出现, 黏膜细胞的微绒毛短而直立, 仅极少数细胞有长的微绒毛; 蝌蚪发育到 46 期, 肠道缩短, 胃呈“J”字状, 占消化道大部分, 胃体中胃腺发达。在临近肝一侧, 黏膜上皮细胞的微绒毛较短, 胃腺少而小; 而在相反一侧, 微绒毛较长, 胃腺多而大。基于上述结果说明, 花背蟾蜍蝌蚪胃在 36 期已经基本完成了组织结构的分化, 在变态发育期间结构和功能得到进一步完善, 以适应变态后陆地生活的食性变化。

关键词: 花背蟾蜍; 蝌蚪; 胃; 结构; 发育

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 06-875-11

Developmental Morphology of the Stomach in Siberian Toad (*Bufo raddei*) Tadpoles

WANG Xiao-Xu^① LI Pi-Peng^① GAO Feng-Juan^① BAI Shu-Chong^② LU Yu-Yan^{①*}

① *Center for Chinese Endemic Herp-breeding and Conservation Research and Liaoning Key Lab of Evolution and Biodiversity,*

Shenyang Normal University, Shenyang 110034; ② *Institute of Paleontological, Shenyang Normal University,*

Shenyang 110034, China

Abstract: The morphological changes of stomach during siberain toad (*Bufo raddeis*) tadpole development were investigated with gross anatomic, general histological and scanning electron microscopic methods. We measured the lengths of tadpole body, digestive tract and stomach, thicknesses of stomach wall, mucosa, submucosa, muscle and serosa, and height of epithelial cells, and analyzed their relationship during

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30870276);

* 通讯作者, E-mail: luyuyan2001@yahoo.com;

第一作者介绍 王晓旭, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两栖爬行动物环境毒理学; E-mail: 15940034903@163.com.

收稿日期: 2015-02-25, 修回日期: 2015-05-27 DOI: 10.13859/j.cjz.201506007

development by one-way ANOVA. The developmental stages of siberain toad tadpole were identified according to Gonser's method. During the tadpole development, the digestive tract elongated from an average length of 15.98 mm at stage 26 to 64.68 mm at stage 36, and then shortened from an average length of 64.68 mm at stage 36, 38.45 mm at stage 42 to 16.12 mm at stage 46 (Table 1). The stomach increased from an average length of 1.83 mm at stage 26, 2.35 mm at stage 36, 3.00 mm at stage 42 to 3.47 mm at stage 46 (Table 1). At stage 24 (Plate I : 5), the digestive tract differentiated into simple tubular structure without a distinguished stomach, the wall of stomach was composed of an inner layer of mucosal epithelial cells and an outer layer of squamous epithelium cells. The thickness of stomach was 6.53 μm in average, of which epithelial cell was 5.38 μm in height and serosa was 1.08 μm in thickness (Table 2). While at stages 26 to 30 (Plate I : 1, 2), the stomach appeared as a fatter and shorter tube compared to other parts of the digestive tract. The stomach wall kept the two-layer structure and the mucosal epithelial cells became highly columnar in shape and few goblet-like cells appeared among the epithelial cells (Plate I : 6, 7). The thickness of stomach at stage 26 was 7.61 μm in average, of which epithelial cell was 7.05 μm in height and serosa was 0.75 μm in thickness (Table 2). The thickness of stomach at stage 30 was 12.01 μm in average, of which epithelial cell was 9.29 μm in height and serosa was 2.72 μm in thickness (Table 2). At stage 36 (Plate I : 2, 9), the stomach was obviously swollen and its wall developed into the general structures with four-layers of tissue compounds. Goblet cells appeared in a large number. The free surface of mucosal epithelial cells covered with slender microvilli interwoven into a mesh as revealed by SEM observation. The thickness of stomach was 30.95 μm in average, of which epithelial cell was 9.94 μm in height, mucosa was 20.06 μm in thickness (Table 2); submucosa layer was 5.17 μm in thickness, muscle layer was 3.16 and serosa layer was 2.55 μm in thickness (Table 2). At stage 42 (Plate I : 3, 10), the stomach became to a C-like shape, typical four-layer structure of the stomach wall formed well and the gastric bud appeared; the microvilli of most mucosal epithelial cells were short and erect, and only few cells covered with long microvilli were found by SEM observation. The thickness of stomach was 20.72 μm in average, of which epithelial cell was 7.62 μm in height, mucosa was 10.47 μm in thickness (Table 2); submucosa layer was 4.8 μm in thickness, muscle layer was 2.29 and serosa layer was 2.72 μm in thickness (Table 2). With the development of tadpoles from stage 42 to stage 46 (Plate I : 4, 12), the intestinal tract became shorter and the stomach became larger in a J-like shape and became a major part of the digestive tract. A large number of gastric glands were observed in stomach. At the side adjacent to liver, microvilli of mucosal epithelial cells in the stomach wall adjacent to liver were long, and gastric glands were less and smaller; while at the opposite side, microvilli were short, and gastric glands were more and larger. The thickness of stomach was 70.21 μm in average, of which epithelial cell was 7.73 μm in height, mucosa was 35.17 μm in thickness (Table 2); submucosa layer was 6.92 μm in thickness, muscle layer was 23.04 and serosa layer was 5.07 μm in thickness (Table 2). This study indicate that siberain toad tadpole stomach is differentiated fundamentally with four layers in structure at stage 36, and the structure and function were improved to adaptive the land living environment after metamorphosis.

Key words: Siberain toad (*Bufo raddei*); Tadpoles; Stomach; Structure; Development

动物消化系统功能健全是其生长发育的基础 (林志春等 1959), 而两栖动物在其特殊的

变态发育期前后其食性有着明显的变化, 虽然对于两栖类成体消化道结构的研究已有诸多报

道(陈学棋等 2003, 徐敬明 2008, 曾麟等 2011, 吴雨涵等 2012), 研究结果指出两栖类消化道与其他高等脊椎动物具有明显的区别, 其大型消化腺主要分布于胃壁内, 而消化道其他部位很少见成型的消化腺。王昱等(2010)对花背蟾蜍(*Bufo raddeis*)消化道各部位 3 种消化酶含量的研究指出, 胃壁中蛋白酶的活性在消化道各段中是最高的, 因此, 两栖类胃不仅仅是食物暂时储存的场所, 更是食物进行化学消化的部位。

对两栖类幼体发育过程中消化道结构演变的研究报道较少, 目前国内已经报道的有日本林蛙(*Rana japonica*)(张耀光 1993)、牛蛙(*R. catusbeiana*)(唐晓玲等 2001)、花背蟾蜍(*Bufo raddeis*)(贾宗平等 2007, 王昱 2011)、中国林蛙(*R. chensinensis*)(李倩等 2008)、昆崙林蛙(*R. kunyuensis*)(孙铭娟等 2003)和大鲵(*Andrias davidianus*)(李宁等 2011)。但由于采用的蝌蚪分期标准不统一, 观察的蝌蚪主要集中在接近变态期(39 期)蝌蚪, 因此, 对蝌蚪消化道分化和演变的全过程还需要进一步的补充和完善。

花背蟾蜍在我国有着很广的分布范围, 不仅具有一定的经济利用价值, 也是生物学研究常用的实验动物。对其发育过程中胃的显微和亚显微结构的观察, 不仅可以丰富两栖动物基础研究资料, 而且可以为两栖动物变态发育过程中, 胃结构与对食物变更的适应性提供较为详尽的资料, 并为后续相关研究提供帮助。

1 材料与方 法

于 2013 年 4 月末至 5 月初在沈阳北陵公园采集抱对的花背蟾蜍, 带回实验室置于塑料整理箱内(长 35 cm, 宽 26 cm, 水深 1 cm)。待其产卵且出现第一次卵裂后, 选取一定数量受精卵置于整理箱中进行孵化, 水深 10 cm, 水温为 $(22 \pm 1) ^\circ\text{C}$, 隔天换水。在蝌蚪孵化后, 以鱼食、鸡蛋黄、碎鸡肉和青菜等饲喂, 直至完成变态发育。

蝌蚪发育分期按 Gomers (1960) 的分期标准划分。从 G20 开始隔期取材, 以完整的蝌蚪固定于 13% 中性福尔马林液固定中待用。一部分解剖后照相和测量消化道长度, 并制作扫描电镜样品; 另一部分常规石蜡切片, 厚 7 μm , H.E 和 AB-PAS 染色。利用 OLYMPUS 显微镜 (BX51-DP71) 进行显微观察和照相, Image-Pro Express 6.0 进行相关参数的测量, 利用 SPSS 17.0 进行数据单因素方差分析 (one-way ANOVA)。描述性统计值用 Mean \pm SD 表示。

2 结 果

2.1 大体形态

花背蟾蜍 G26 的蝌蚪消化道(图版 I: 1)已经成型, 整体呈透明状, 可见少量因管壁加厚产生的线条状斑块, 胃位于蝌蚪体腔左侧, 其上覆盖有小肠的盘曲部分, 此期肠盘曲约在 2 圈左右。G36 花背蟾蜍蝌蚪肠(图版 I: 2)盘曲是所观察 4 个发育期中最发达的, 盘曲圈数达 4 圈左右, 透过半透明的管壁可见有大量管壁增厚形成连成片的乳白色斑块。胃在肠盘曲的右侧底部, 其上覆盖有肝, 除近幽门处仍为半透明状外, 大部分均呈乳白色, 并可见弯曲盘行的皱褶。G42 蝌蚪的消化道(图版 I: 3)已经发生了重大的改变, 胃的外形近似于成体, 位于躯干的中轴线上, 呈肥大的“C”字形, 可分辨出贲门、胃体和幽门。胃整体呈乳白色, 隐约可见有增厚的皱褶。小肠管径明显缩小, 盘曲圈数也降至 3 圈左右。G46 的消化道(图版 I: 4)进一步缩短, 胃占据消化道的大部分, 胃体增长, 呈“J”形, 胃幽门部有“C”形回勾, 乳白色, 内部隐约可见局部增厚形成的纵行皱褶。贲门部仅略有收缩, 而幽门明显缩小, 且与后面的小肠清晰区分。肠道的管径也更加收缩, 盘曲数也降至一圈左右。测量了 G26、G36、G42、G46 这 4 个发育期消化道相关数据(表 1), 花背蟾蜍蝌蚪的消化道长从 G26 至 G36 期间是一个快速增长阶段, 而从 G36 至 G46 期间则呈相反的趋势, 且 G26、G36、G42、

表 1 花背蟾蜍蝌蚪消化道长度测量 (单位: mm)

Table 1 The length measurement of the overall digestive tract of siberain toad tadpoles (Unit: mm)

发育期 Stage	体长 Body length	消化道长 Digestive tract length	盘曲圈数 Spiral coil number	消化道/体长 Digestive tract length/Body length	胃长 Stomach length	胃长/消化道长 Stomach length/Digestive tract length
26	4.58 ± 0.17	15.98 ± 2.67	3	3.49 ± 0.49	1.83 ± 0.45	0.115 4 ± 0.026 3
36	11.00 ± 0.78 ^A	64.68 ± 3.05 ^A	4	5.88 ± 0.53 ^A	2.35 ± 0.30 ^A	0.036 4 ± 0.004 8 ^A
42	11.50 ± 0.50 ^A	38.45 ± 0.85 ^{AB}	3	3.35 ± 0.10 ^{AB}	3.00 ± 0.21 ^{AB}	0.078 1 ± 0.005 9 ^{AB}
46	11.26 ± 0.58 ^A	16.12 ± 1.29 ^{ABC}	1	1.43 ± 0.11 ^{ABC}	3.47 ± 0.28 ^{ABC}	0.215 8 ± 0.013 5 ^{ABC}

上标字母 A 表示 G26 与其他发育期比较, B 表示 G36 与其他发育期比较, C 表示 G42 与其他发育期比较。标注大写字母分别表示具有极显著性差异。

Superscript letters: A indicates G26 compared with the other development periods, B indicates G36 compared with the other development periods, C indicates G42 compared with the other development periods, the capital letters represent significant difference.

G46 这 4 个发育期之间消化道长均呈极显著性差异; 从消化道长和体长的比值看, G36 是 4 个发育期中最大的, G42 略小于 G26, G46 最小, 仅为 G36 的 24%, 且 4 个发育期之间均呈极显著性差异。胃的长度在 4 个发育期中呈现逐渐增长的趋势, 且相互间均呈极显著性差异; 胃长与消化道总长的比值呈“V”字形变化趋势, G36 最低, G26 和 G42 略高, 而 G46 达到最高, G46 分别是 G26、G36、G42 的 1.9、5.9 和 2.8 倍。

2.2 组织结构

花背蟾蜍 G20 蝌蚪体腔中充斥着大量的卵黄颗粒, 未见实质性器官; G24 蝌蚪体腔中 (图版 I: 5) 已可见消化道、肝等器官的初步分化。在脊柱的下方有两个分化程度较好的管腔, 依据解剖观察可确定脊柱下方的椭圆形管腔为食道, 而位于肝一侧腹部皮肤下方的管腔为胃腔。胃壁薄, 大部分区域由 2 层细胞构成, 即内层的黏膜上皮细胞和外层浆膜的扁平上皮细胞。内层细胞立方或矮柱状, 细胞核大, 位于细胞中下部, 在内层细胞之间常有椭圆形的卵黄颗粒夹杂其中。外层细胞排列较松散, 细胞呈梭形, 与内层细胞之间常有大小不一的空隙。靠近肝区域的管壁较厚, 细胞分化不如其他区域规则, 卵黄颗粒数量较多。消化道的其他部

分均处于分化中, 管壁厚, 细胞结构不清晰, 含有大量的卵黄颗粒。

G26 胃腔 (图版 I: 6) 有明显增大, 大部分胃壁仍由 2 层细胞构成, 且出现了由于细胞高低的差异或者细胞拥挤向管腔凸起而形成的丘状皱褶。胃壁的内层细胞, 即黏膜上皮细胞呈高柱状, 胞核大、多位于细胞中央位置, 深染; 胞质在核周呈淡染; 并依据胞质着色深浅的不同, 可将细胞区分出淡染与深染 2 种状态。偶见呈水滴状的浅染细胞夹杂在柱状细胞间, 即杯状细胞的雏形。在黏膜上皮细胞的游离面有明显的纹状缘, H.E 染色中呈较强的嗜伊红性, 而在 AB-PAS 染色中呈玫红色。在黏膜上皮细胞的基底部与构成浆膜的间皮细胞之间局部区域出现小的空隙, 其内有结构极其疏松的结缔组织充斥, H.E 染色呈淡红色, AB-PAS 染色呈极淡的蓝色。在两层细胞之间还可见血细胞的存在, 即此期在胃壁的局部区域在已有黏膜下层的分化。

G30 花背蟾蜍蝌蚪的胃壁结构中 (图版 I: 7), 在黏膜上皮细胞和浆膜之间有裂隙的区域已占整个胃壁周长的 40% 左右。此期胃壁黏膜上皮细胞的胞核上方含有大量的空泡状结构, 细胞游离面有发育良好的纹状缘, 在 H.E 染色中纹状缘呈鲜艳的伊红色, 在 AB-PAS 染色 (图

版 I: 8) 中纹状缘呈淡紫红色。在 AB-PAS 染色中, 还可见分散在黏膜上皮细胞之间的黏液细胞, 大多数呈蓝色, 也有玫红色、蓝紫和紫红色的细胞。在黏膜上皮细胞的基底部可见呈天蓝色的基膜, 此期胃壁的浆膜层完整, 间皮细胞清晰可见。在黏膜上皮细胞和浆膜(间皮细胞)有裂隙处可见有细胞核呈多层排列, 形状有梭形、椭圆形和圆形, 提示此期胃壁进入了各层结构发生和分化的旺盛期。

G36 花背蟾蜍胃壁由黏膜层, 黏膜下层和浆膜层构成, 仅小部分区域缺少黏膜下层。黏膜层的上皮细胞排列密集, 其间可见大量淡染的杯状细胞。H.E 染色中可见黏膜上皮细胞的纹状缘, 呈较强的嗜伊红性, 而在 AB-PAS 染色中(图版 I: 9) 虽然黏膜上皮细胞的核上区有密集分布的玫红色颗粒, 但在细胞游离面的外表面却呈天蓝色, 并有向四周扩散的趋势, 进而导致了纹状缘整体上呈现蓝色。在黏膜上皮细胞基膜的外侧可见不连续的梭形核细胞分布, 即为构成黏膜肌层的平滑肌细胞。此期胃壁结构中丘状突的数量增加, 凸起也明显增大, 其内除有丰富的基质外, 可见成纤维细胞和毛细血管的分布。在黏膜下层外侧局部区域可见交错排列的圆形及梭形细胞核, 即为构成肌层的纵行平滑肌细胞和环行平滑肌细胞的胞核。到此, 花背蟾蜍已经初步具备了典型的胃壁 4 层结构。

G42 胃壁已经可见比较典型的消化管壁 4 层结构(图版 I: 10), 黏膜层的黏膜上皮细胞出现了大量的凹陷, 呈空心圆形或管状或半圆形凹陷, 即出现了胃腺芽。凹陷的细胞呈立方形、矮柱状或椭圆形, 其游离面的纹状缘不明显, AB-PAS 染色(图版 I: 11) 呈淡蓝色, 与黏膜上皮细胞可明显区分。在黏膜上皮细胞和胃腺芽细胞基底部均可见 1 ~ 2 层基本连续的平滑肌细胞构成的黏膜肌层。此期胃壁肌层明显, 内侧环行肌有 2 ~ 3 层细胞, 外侧的纵行平滑肌也有 1 ~ 3 层细胞。在黏膜肌层和肌层之间的黏膜下层中, 可见丰富的毛细血管、成纤维

细胞和大量结缔组织基质; 浆膜层明显。

G46 即刚完成变态发育的个体, 称其为幼蟾。胃壁皱褶发育呈不均衡态(图版 I: 12), 即胃壁近肝一侧黏膜皱褶较小, 而对侧却出现了 3 ~ 4 个大型皱襞, 其上还有次级皱襞出现, 而皱褶之间可见胃小凹, 即胃腺开口处。胃腺为管状腺, 盘曲分布。胃壁近肝侧主要分布较小的腺体, 相对一侧腺体数量多, 且体积大, 导致了胃壁大小皱襞的区别。腺泡由 2 种腺细胞构成, 一种细胞呈淡染, 胞核扁椭圆形, 位于细胞底部, 胞核上方具有大量的黏原颗粒, H.E 染色呈淡蓝色的空泡状。另一种细胞呈较鲜艳的伊红色, 胞核呈卵圆形, 位于细胞中下部, 即可初步分辨出壁细胞和主细胞。腺体周围可见丰富的毛细血管和类肌细胞。在 AB-PAS 染色中, 黏膜上皮细胞核上区和纹状缘均呈鲜艳的玫红色(图版 I: 13)。

对花背蟾蜍蝌蚪 G24 ~ G46 共 6 个发育期和成体的胃壁进行了显微测量(表 2)。各测量数值大多随着发育期的增大厚度也逐渐增加, 但 G42 的各项测量指标却表现出极特殊的现象, 除浆膜层厚度外, 其他 5 个数值均小于 G36 和 G46 的相应数值, 且与 G36 和 G46 之间均呈显著性差异。其中, G42 胃壁总厚度分别是 G36、G46 的 67% 和 29.51%, 黏膜层厚分别是 G36、G46 的 52.27% 和 29.77%, 肌层厚分别是 G36、G46 的 72.47% 和 9.96%。胃壁黏膜上皮细胞在 G36 时达到最高, 进入变态期(G42 至 G46) 上皮细胞高度明显减低, 与 G36 之间均呈极显著性差异; 不同的是黏膜层和肌层的厚度从 G36 至 G46 期间, 虽然有 G42 的回落, 仍表现出了快速增加的趋势, G46 黏膜层厚度是 G36 的 1.75 倍, 肌层厚度是 G36 的 7.29 倍, 进而导致了胃壁总厚度 G46 是 G36 的 2.27 倍。虽然 G46 胃壁结构已经具备了与成体一样的 4 层结构, 但从各测量数据看, G46 胃壁结构与成体还是存在着显著的差别。

2.3 胃表面形态结构

G36 胃壁(图版 II: 1) 内表面平滑, 可分

表 2 花背蟾蜍蝌蚪不同发育期及成体胃体各层厚度比较 (单位: mm)

Table 2 The thickness of each layer of the gastric body at different developmental stages of siberain toad tadpoles and at adult (Unit: mm)

发育期 Stage	胃壁总厚度 Stomach total thickness	上皮细胞高 Epithelial cell height	黏膜层厚 Mucosal thickness	黏膜下层厚 Submucosal thickness	肌层厚 Muscle thickness	浆膜层厚 Film thickness
24	6.53 ± 0.31	5.38 ± 0.23	\	\	\	1.08 ± 0.24
26	7.61 ± 0.93 ^a	7.05 ± 0.94 ^A	\	\	\	0.75 ± 0.25 ^a
30	12.01 ± 0.57 ^{AB}	9.29 ± 0.54 ^{AB}	\	\	\	2.72 ± 0.75 ^{AB}
36	30.95 ± 1.44 ^{ABC}	9.94 ± 0.74 ^{AB}	20.06 ± 1.01	5.17 ± 0.84	3.16 ± 0.55	2.55 ± 0.60 ^{AB}
42	20.72 ± 1.11 ^{ABCD}	7.62 ± 0.78 ^{ACD}	10.47 ± 1.67 ^D	4.8 ± 0.85	2.29 ± 0.61 ^d	2.72 ± 0.73 ^{AB}
46	70.21 ± 4.65 ^{ABCDE}	7.73 ± 1.10 ^{AcD}	35.17 ± 3.05 ^{DE}	6.92 ± 1.67 ^e	23.04 ± 3.30 ^{DE}	5.07 ± 0.94 ^{ABCDE}
成体 Adult	289.12 ± 10.04 ^{ABCDEF}	8.46 ± 1.11 ^A	170.92 ± 11.15 ^{DEF}	21.79 ± 5.60 ^{DF}	79.86 ± 4.40 ^{DEF}	15.97 ± 3.04 ^{ABCDEF}

上标字母 A 和 a 表示 G24 与其他发育期的比较, B 和 b 表示 G26 与其他发育期的比较, C 和 c 表示 G30 与其他发育期的比较, D 和 d 表示 G36 与其他发育期的比较, E 和 e 表示 G42 与其他发育期的比较, F 和 f 表示 G46 与其他发育期的比较。其中大写字母表示具有极显著性差异, 小写字母表示具有显著性差异。“\”表示此结构尚未完全出现, 无法获得准确数据。

Superscript letters: A and a indicate G24 compared with the other development periods, B and b indicate G26 compared with the other development periods, C and c indicate G30 compared with the other development periods, D and d indicate G36 compared with the other development periods, E and e indicate G42 compared with the other development periods, F and f indicate G46 compared with the other development periods. The capital letters represent significant difference, lowercase letters indicate significant difference. “\” indicates that this structure did not fully appear, thus without accurate data.

辩出呈六边形的细胞, 排列比较整齐, 单细胞界限不是十分清晰。黏膜上皮细胞游离面由密集的网络状物质覆盖, 即细长的微绒毛交织所致。在细胞之间常见有圆形球体出现, 球体表面有规则的平行排列的微梁。还有一些呈片状的结构嵌在黏膜上皮细胞之间。

G42 胃壁 (图版 II: 2) 内表面仍然比较平滑, 仅在一些区域有不规则的隆起。黏膜上皮细胞呈六边形, 大小不均, 排列紧密; 细胞连接处明显下陷, 其间有众多的细指状突起交叉排列, 进而导致黏膜上皮细胞游离面呈明显的凸起状; 上皮细胞游离面具有较密集的微绒毛, 呈直立状; 只有少数具有较长的微绒毛, 呈菊花瓣状随意散在, 这些细胞呈散在分布, 也有少数 2~3 个聚集在一起。还可见由 6 个左右细胞围成的明显下陷的区域, 即胃腺的开口处。

G46 胃壁 (图版 II: 3~5) 内表面清晰可见

不规则排列的皱襞, 其间可见大量的深陷小凹, 即胃腺的开口。黏膜上皮细胞排列紧密, 边缘整齐。依据黏膜上皮细胞游离面微绒毛长短可将其划分成具有长微绒毛 (长度 2~3 μm) 和具有短微绒毛 (长度 0.1~0.2 μm) 的 2 类。2 种黏膜上皮细胞的分布表现出一定的规律, 一般情况下, 具有长微绒毛的黏膜上皮细胞多分布在与肝相邻一侧 (图版 II: 4), 而具有短微绒毛的黏膜上皮细胞主要分布在相对一侧 (图版 II: 5), 在两者之间的过渡区域则可见较少具有长微绒毛的黏膜上皮细胞被具短微绒毛的上皮细胞包绕着, 可见长微绒毛成簇竖立的状态。

成体胃壁 (图版 II: 6) 内表面皱襞更加宽大、平展, 细胞界限明显, 黏膜上皮细胞游离面的微绒毛均呈整齐的短绒毛状, 稀疏适中。细胞间可见明显的胃腺开口处。

3 讨论

3.1 蝌蚪消化道及胃的长度的变化

Little (1937) 认为肠道的形态、长度与食性相关较大。蝌蚪在变态前主要以微小的水生生物为食, 并利用角质齿刮食藻类为生, 属于半植食性。随着变态的完成, 幼蛙食性将转变为动物食性, 这从中国林蛙(李倩等 2008) 胚后发育肠管长与体长的比值(G28 为 7.327, G43 为 1.720) 可以印证。无尾两栖类成体主要以捕食昆虫为生, 其消化道各段的长度和结构与其食性有着很好的适应性。花背蟾蜍(王昱 2010)、双团棘胸蛙(*Paa yunnanensis*) (姚艳红等 2007)、高山倭蛙(*Nanorana parkeri*) (李斌等 2009) 和泽陆蛙(*Fejervarya multistriata*) (陈麟等 2012) 等成体的消化道长度均仅为体长的 3 倍, 胃长是消化道总长的 10% 左右。本实验观察的花背蟾蜍在胚后发育过程中, 消化道长度与体长的比值在 G36 之后即呈现逐渐缩小的趋势, 至完成变态发育的 G46 时, 消化道总长度是体长的 1.43 倍, 胃长是消化道总长的 21.58%, 与上述几种成体蛙相应数据相比前者略小、后者略大。即与成体两栖类这两个比值之间还存在着明显的差距, 结合胃壁结构各期的分化情况, 说明虽然幼蟾已经开始了陆地生活, 但仅初步构建了与登陆后食性相适应的消化道形态结构, 真正适应登陆后的动物性食物还需要进一步完善消化道的结构和功能。

3.2 花背蟾蜍胃壁结构发育的时空顺序

对于胃壁各层结构在胚胎发育过程中分化的时空顺序研究, 可见对扬子鳄消化道(李焯等 2002)、大鲵胃壁(李宁等 2011)、牛蛙胃壁(唐晓玲等 2001)、中国林蛙胃壁(李倩等 2008) 和陇南的花背蟾蜍胃壁(王昱 2011) 的报道, 比较一致的顺序是: 黏膜上皮, 固有层(胃腺芽出现), 肌层, 浆膜和黏膜下层。但本实验观察的花背蟾蜍蝌蚪胃壁发育的时空顺序是: 黏膜上皮和浆膜, 肌层、黏膜肌层和黏膜下层, 固有层和胃腺芽。在胃壁各层结构中, 浆膜和固有层的分化在几种两栖类中差别较大, 本实验观察的花背蟾蜍蝌蚪的胃壁黏膜上

皮和浆膜均在 G24 期已经完成分化, 与中国林蛙蝌蚪(李倩等 2008) 胃壁中这两种结构的分化时间(G29) 较为接近, 不同于上述其他几种两栖类; 本实验观察的花背蟾蜍蝌蚪发育到 G42 时胃壁已具有 4 层结构, 黏膜层中也可分辨出黏膜上皮细胞、固有层和黏膜肌层, 并在固有层中有胃腺芽的存在, 这与陇南的花背蟾蜍(G43)(王昱 2011) 和中国林蛙(G42)(李倩等 2008) 胃壁固有层分化时间基本相同, 中国林蛙胃壁固有层在发育时空顺序上仅次于黏膜上皮, 但两分布区花背蟾蜍胃壁的固有层均在胃壁肌层分化完成后才出现, 而牛蛙(唐晓玲等 2001) 胃壁的固有层和胃腺芽早在 G26 就已出现, 是上述 4 种无尾两栖类胃壁结构中固有层分化最早的。胃壁结构发育时空上的差别是否与不同物种本身遗传特性以及不同取材时期的选择有关, 还需要深入探讨。

3.3 胃壁的黏液细胞

尹苗等(2000) 利用 AB-PAS 染色, 依据着色不同将黏液细胞区分为 4 类, I 型呈玫红色, 细胞中含中性黏多糖; II 型呈蓝色, 细胞中含酸性黏多糖; III 型呈紫红色, 细胞中主要含中性黏多糖, 同时含有少量酸性黏多糖; IV 型呈蓝紫色, 细胞中主要含有酸性黏多糖, 同时含有少量中性黏多糖。楚德昌等(2006) 对 7 种脊椎动物成体消化道黏液细胞研究指出, 胃黏膜上皮、部分胃腺细胞均属于黏液细胞, 且黏液颗粒集中于核上区, 细胞主要归属于 I 型, 也有少量的 III 型细胞存在。本研究对花背蟾蜍幼蟾(G46) 胃壁黏膜细胞 AB-PAS 染色(分型及分布) 的结果与上述一致, 但花背蟾蜍蝌蚪胃壁黏膜细胞的特征在整个发育过程中并非一致, G26 之前蝌蚪胃壁黏膜上皮细胞在 AB-PAS 染色中均为阴性, 到 G30 仅个别阳性细胞, 依据着色情况可区分出 I 型、II 型和 III 型细胞, 再到 G36 和 G42 大部分呈阳性, 以 I 型细胞为主, 兼有 III 型和 IV 型细胞, 且在 I 型细胞的游离面呈现浓重的 AB 阳性, 最后在 G46 几乎全部呈 PAS 阳性细胞, 即胃黏膜上皮细胞

均演变为黏液细胞, 显示出花背蟾蜍胃黏膜上皮细胞在整个发育过程是一个渐变的过程, 最终都分化成黏液细胞。由于黏液细胞具有合成 2 种黏多糖的能力, 在胃功能逐渐健全的情况下, 随着胃腔内环境的变化调整着合成成分的种类 (安利国等 2001, 楚德昌等 2006)。黏液细胞分泌的黏液与黏膜上皮细胞纹状缘表面的致密糖萼、碱性磷酸酶和分泌型 IgA (SIgA) 一起构成了一道天然屏障 (刘文倩等 2009), 可以抵抗由于进食而携带进入的微生物和抗原等物质。

参 考 文 献

- Gosner K L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(3): 183-190.
- Little M E. 1937. *Structure of the Vertebrates*. New York: Farrar & Rinhart Inc., 222-231.
- 安利国, 孟广勋, 杨桂文, 等. 2001. 鲤稚幼体早期发育过程中粘液细胞的发生和变化. *水生生物学报*, 25(2): 191-194.
- 陈嶙, 熊洪林, 唐滔滔, 等. 2012. 泽陆蛙消化系统解剖观察. *黔南民族师范学院学报*, (6): 102-105.
- 陈学棋, 江剑平, 林玮. 2003. 虎纹蛙消化腺组织学观察. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 19(2): 117-120.
- 楚德昌, 邓振旭, 杨恩昌. 2006. 几种脊椎动物消化道黏液细胞的类型与分布. *动物学杂志*, 41(6): 109-114.
- 贾宗平, 夏冰芝, 魏仲梅, 等. 2007. 花背蟾蜍胃、十二指肠的组织学观察. *西北师范大学学报: 自然科学版*, 43(1): 87-90.
- 李斌, 陶聪, 黄强, 等. 2009. 高山倭蛙消化道结构初步观察. *四川动物*, 28(2): 241-243.
- 李堃, 华田苗, 陈壁辉, 等. 2002. 扬子鳄消化系统发育的形态学研究. *安徽师范大学学报: 自然科学版*, 25(3): 266-269.
- 李宁, 梁刚, 刘婷婷. 2011. 中国大鲵胃肠道胚后发育的解剖学与组织学观察. *动物学杂志*, 46(3): 117-122.
- 李倩, 张育辉. 2008. 中国林蛙消化管胚后发育的组织学观察. *四川动物*, 27(3): 417-419.
- 林志春, 李汝棋. 1959. 北方狭口蛙个体发育的研究 II. 食物对消化系统发育的影响. *北京大学学报*, (1): 75-92.
- 刘文倩, 张杰, 刘永生. 2009. 动物消化道黏膜免疫的研究现状. *江西农业学报*, 21(7): 155-157.
- 孙铭娟, 陆宇燕, 李丕鹏, 等. 2003. 昆嵛林蛙胚后发育的初步观察. *动物学研究*, 24(1): 61-66.
- 唐晓玲, 刘振湘. 2001. 不同发育期的牛蛙蝌蚪消化道组织学观察. *湖北农学院学报*, 21(4): 332-334.
- 王昱, 何九军. 2010. 花背蟾蜍消化道胚后发育的消化酶活性研究. *甘肃高师学报*, 15(5): 19-21.
- 王昱. 2010. 陇南花背蟾蜍消化道解剖学及组织学观察. *天水师范学院学报*, 30(5): 26-28.
- 王昱. 2011. 花背蟾蜍消化道胚后发育的组织学观察. *东北农业大学学报*, 42(9): 88-91.
- 吴雨涵, 熊荣川, 雷飞宙, 等. 2012. 凹耳臭蛙消化系统解剖学及组织学观察. *四川动物*, 31(4): 583-588.
- 徐敬明. 2008. 斑腿树蛙消化道组织学的初步研究. *安徽农业科学*, 36(30): 13187-13189.
- 姚艳红, 蒲德永, 王志坚, 等. 2007. 双团棘胸蛙消化道解剖学及组织学观察. *西南大学学报: 自然科学版*, 29(4): 144-149.
- 尹苗, 安利国, 杨桂文, 等. 2000. 鲤鱼粘液细胞类型的研究. *动物学杂志*, 35(1): 8-10.
- 曾麟, 刘绍龙, 王宁宁. 2011. 西藏蟾蜍消化系统组织学观察. *四川动物*, 30(2): 224-230.
- 张耀光. 1993. 日本林蛙消化系统的发育. *四川动物*, 12(2): 16-18.

图 版 I 说 明

花背蟾蜍蝌蚪不同发育期胃的解剖结构及组织学结构

1. G26 解剖; 2. G36 解剖; 3. G42 解剖; 4. G46 解剖; 5. G24 H.E 染色结果; 6. G26 H.E 染色结果; 7. G30 H.E 染色结果; 8. G30 AB-PAS 染色结果; 9. G36 AB-PAS 染色结果; 10. G42 H.E 染色结果; 11. G42 AB-PAS 染色结果; 12. G46 AB-PAS 染色结果; 13. G46 AB-PAS 染色结果。

Explanation of Plate I

The anatomical structure and organization of the stomach at different developmental stages of siberain toad tadpoles

1. Stage 26 anatomic result; 2. Stage 36 anatomic result; 3. Stage 42 anatomic result; 4. Stage 46 anatomic result; 5. Stage 24 H.E staining result; 6. Stage 26 H.E staining result; 7. Stage 30 H.E staining result; 8. Stage 30 AB-PAS staining result; 9. Stage 36 AB-PAS staining result; 10. Stage 42 H.E staining result; 11. Stage 42 AB-PAS staining result; 12. Stage 46 AB-PAS staining result; 13. Stage 46 AB-PAS staining result.

FG. 胃腺; GC. 杯状细胞; GP. 胃小凹; LI. 大肠; LMM. 黏膜肌层; MC. 黏液细胞; McL. 黏膜层; ML. 肌层; S. 浆膜; SB. 纹状缘; SI. 小肠; SL. 黏膜下层; ST. 胃体。

FG. Fundic gland; GC. Goblet cell; GP. Gastric pit; LI. Large intestine; LMM. Lamina muscularis; MC. Mucous cell; McL. Mucosal layer; ML. Muscular layer; S. Serosa; SB. Striated border; SI. Small intestine; SL. Submucous layer; ST. Stomach.

图 版 II 说 明

花背蟾蜍蝌蚪不同发育期胃的亚显微结构

1. G36; 2. G42; 3. G46; 4. G46; 5. G46; 6. 成体。

Explanation of Plate II

The ultrastructure of stomach at different developmental stages of siberain toad tadpoles

1. Stage 36; 2. Stage 42; 3. Stage 46; 4. Stage 46; 5. Stage 46; 6. Adult.

BA. 杆菌; CB. 细胞界限; GP. 胃小凹; MF. 皱襞; Mv. 微绒毛。

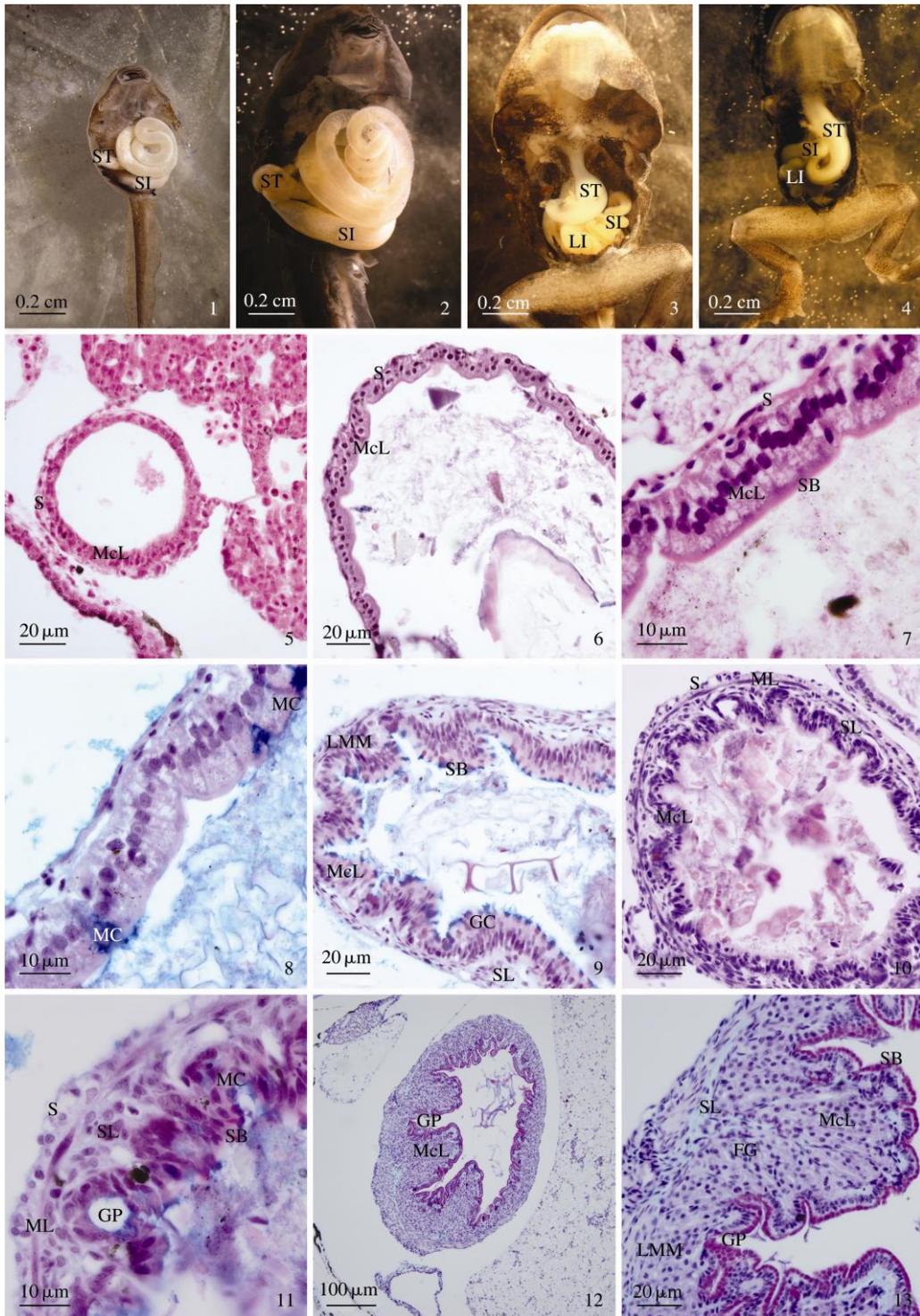
BA. Bacillus; CB. Cell boundaries; GP. Gastric pit; MF. Mucosal fold; Mv. Microvillus.

王晓旭等：花背蟾蝌蚪胃的发育形态学观察

图版 I

WANG Xiao-Xu *et al.*: Developmental Morphology of the Stomach in Siberian Toad (*Bufo raddei*) Tadpoles

Plate I



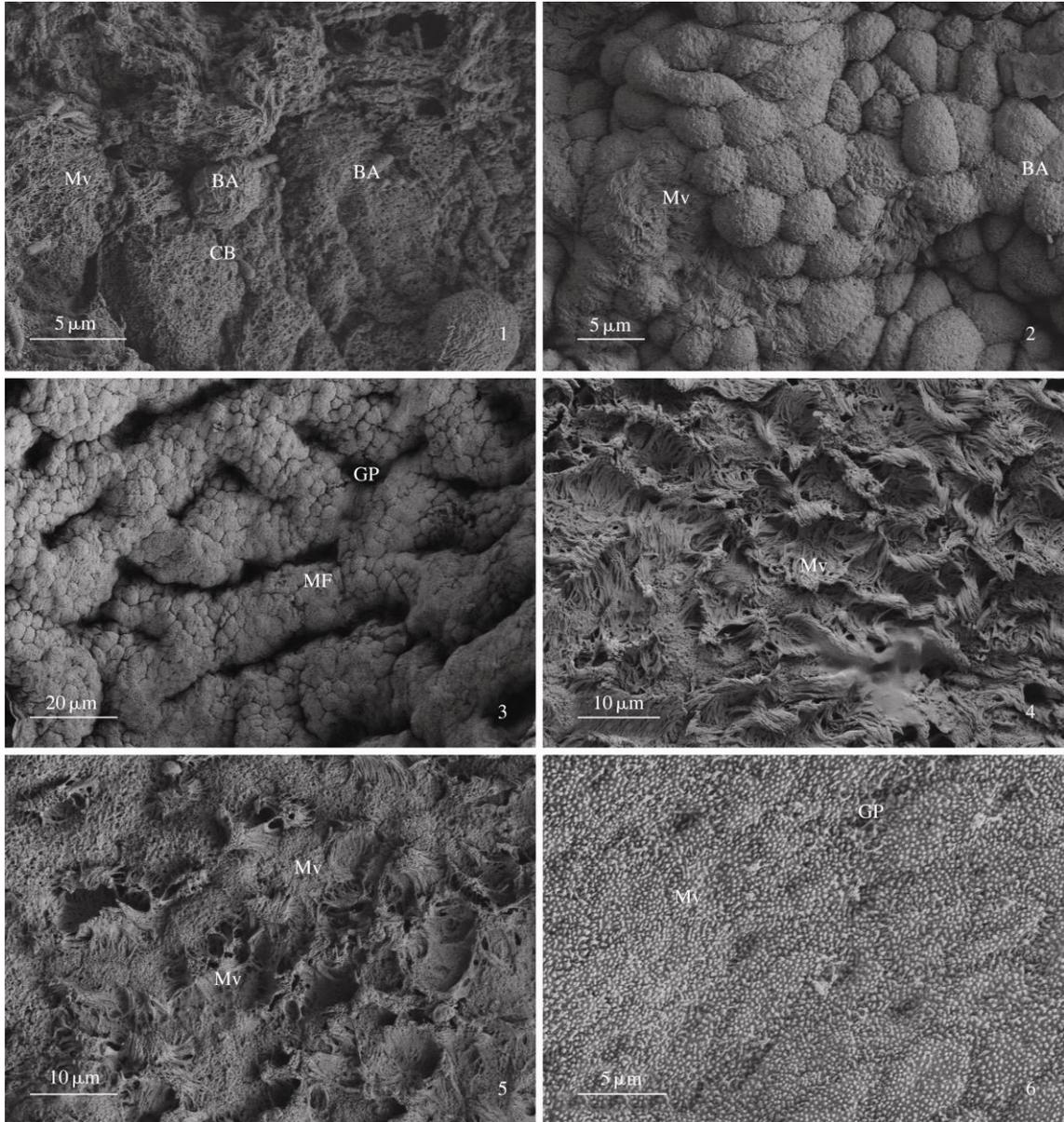
图版说明见文后

王晓旭等：花背蟾蜍蝌蚪胃的发育形态学观察

图版 II

WANG Xiao-Xu *et al.*: Developmental Morphology of the Stomach in Siberian Toad (*Bufo raddei*) Tadpoles

Plate II



图版说明见文后