

中华鳖眼睛发育的形态及组织学观察

朱道玉

(菏泽学院生命科学系 菏泽 274015)

摘要: 在孵化基质沙粒径为 0.3~0.6 mm、孵化温度为 (33.0 ±0.5)、孵化基质的湿度为 7%~10%、相对湿度为 70%~85% 的条件下孵化中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 卵, 孵化周期 35~36 d。破壳取不同发育时期的胚胎并制作切片, 观察眼睛发育的形态学和组织学特征。孵化第 4 d 头部两侧出现眼泡的突起; 第 6 d 眼睛开始出现色素, 第 14 d 色素由褐色变为黑色; 第 7 d 瞳孔出现, 透过瞳孔可见晶状体; 虹膜于第 14 d 出现, 第 18、19 d 瞳孔周围呈放射状; 巩膜突自第 19 d 出现, 第 21 d 增至最多, 第 23 d 消失; 上、下眼睑分别于第 19 d 和 22 d 出现, 第 32 d 眼睑可覆盖瞳孔, 眼睛形态与成体眼睛相似。表皮外胚层于第 3 d 形成角膜原基和晶状体泡, 第 32 d 角膜发育完成; 第 34 d 晶状体发育完成; 神经外胚层于 44~48 h 由前脑的两侧分化形成视泡, 第 3 d 由视泡分化形成视杯, 并逐步分化形成视网膜; 第 23 d 视网膜的八层结构基本形成; 第 34 d 视网膜发育完成。

关键词: 中华鳖; 眼睛; 发育

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2008)04-97-05

Morphological and Histological Observation on the Eye Development of *Trionyx sinensis*

ZHU Dao-Yu

(Department of Life Science of Heze University, Heze 274015, China)

Abstract: Eggs of *Trionyx sinensis* were incubated in arenaceous substrate with the diameter of sand granule 0.3 - 0.6 mm and the humidity 7% - 10%. The temperature incubated was 33.0 ±0.5 and the relative humidity was 70% - 85%. The incubated period was 35 - 36 d. Embryos of different developmental stage were taken out through breaking up eggshells. Slices were made in order to observe morphological and histological characteristics of the eye development of *T. sinensis*. Protuberances of eye vesicle appeared on tow sides of the head on 4th day after incubated. The pigment began to appear in eyes on the 6th day. On the 14th day, brown pigment became black. On the 7th day, the pupil appeared. The crystalline lens was visible through the pupil. The iris appeared on the 14th day. It became actinomorphich around the pupil in the 18th and 19th day. The scleral stalk was appeared on the 19th day, increased to the maximum on the 21st day and disappeared on the 23rd day. The upper eyelid and the lower eyelid appeared on the 19th day and the 22nd day respectively. The eyelid was able to cover the pupil on 32nd day, and the eye was similar to mature eye in the form. The cutis ectoderm formed the cornea primordial and the lens vesicle after the 3rd day. After the 32nd day, the cornea developed completely. The crystalline lens developed completely after the 34th day. The nerve ectoderm differentiated and formed the optic vesicle on tow sides of the forebrain from the 44th to 48th hour. The optic cup, which was differentiated from the optic vesicle, gradually differentiated and formed the retina. 8-stratum structure of the retina was basically formed after the 23rd day. The

基金项目 菏泽学院科研基金项目 (No. XY05SW03);

作者简介 朱道玉,男,副教授;研究方向:发育生物学;E-mail:daoyuzh@sina.com。

收稿日期:2007-12-20,修回日期:2008-04-23

retina developed completely after the 34th day.

Key words: *Trionyx sinensis*; Eye; Development

中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 隶属脊椎动物亚门 (Vertebrata) 爬行纲 (Reptilia) 龟鳖目 (Chelonia) 鳖科 (Trionychidae)。关于爬行动物胚胎发育研究见 Kaska^[1]、Ackerman^[2] 对海龟 (*Chelonia mydas*)、侯陵^[3]、刘筠^[4] 对中华鳖, 刘国安^[5]、谭立军^[6] 对乌龟 (*Chinemys reevesii*) 有过报道。有关中华鳖性腺发育研究, 国内仅见章龙珍^[7]、刘筠^[8] 的报道。关于中华鳖及其他爬行动物眼睛的发育尚未见报道。本实验目的在于研究中华鳖的眼睛发生。通过观察中华鳖眼睛的发育过程及其不同发育时期的特征, 以期为爬行动物的基础理论研究工作积累资料, 为生产实践提供科学依据。

1 材料与方法

自菏泽市综合养殖场取回中华鳖卵 400 枚, 在孵化基质沙粒径为 0.3 ~ 0.6 mm、孵化温度为 (33.0 ± 0.5) °C、孵化基质的湿度为 7% ~ 10%、相对湿度为 70% ~ 85% 的条件下孵化, 孵化周期 35 ~ 36 d。孵化的前 72 h 内, 每 12 h 取胚一次, 以后每 24 h 取胚一次, 每次取 8 个胚胎, 用 Bouins 液固定, 10% 甲醛溶液保存。在 MoticSMZ-168 生物体视数码显微成像系统下观察眼睛发育各时期的形态特征并进行测量和拍照。取前 4 d 胚胎、5 ~ 18 d 胚胎头部、19 ~ 36 d 胚胎和稚鳖、幼鳖及成鳖的眼睛, 石蜡包埋, 制作连续组织切片, 切片厚度 8 μm, H. E 染色, 经 MoticDMB5-2231 数码显微成像系统拍照和图像分析。

2 眼睛发育的形态学变化和组织学特征

第 2 d: 前脑后部两侧壁神经外胚层外突形成视泡 (图版 : 1)。

第 3 d: 视泡外层逐渐向内凹陷, 至孵化的 72 ~ 76 h 形成双层结构的视杯, 视杯的外层发育为薄层的色素上皮原基, 内层发育为多层的视网

膜原基, 视杯外层通过视柄与前脑壁相连 (图版 : 2); 表皮外胚层于视杯相联处形成角膜晶体原基。

第 4 d: 眼泡自头部两侧突起 (图版 : 3), 眼径 (半径, 下同) 0.18 mm; 角膜原基细胞 2 ~ 3 层, 核圆形, 晶体泡形成并与角膜相连 (图版 : 4, 5); 玻璃体呈网状。

第 6 d: 眼径 0.26 mm, 出现色素, 褐色, 瞳孔出现; 视网膜的色素上皮细胞已分化形成, 单层细胞, 核圆形, 色素浅褐色, 其他细胞分化不明显, 细胞 8 ~ 10 层, 核椭圆形, 核仁清晰 (图版 : 6); 晶体泡圆球形, 内腔新月形, 周缘细胞小而密集, 晶状体纤维少, 内部细胞大而少, 核圆形, 晶状体纤维多。

第 7 d: 眼径 0.37 mm, 瞳孔 0.16 mm (半径, 下同)。

第 10 d: 眼径 0.63 mm, 瞳孔 0.28 mm, 晶状体透过瞳孔呈乳白色圆球状 (图版 : 7); 晶体泡内空腔消失, 晶状体明显分为两层, 外层细胞小而密集, 4 ~ 5 层, 核圆形, 晶状体纤维少; 内层细胞大而稀疏, 核圆形, 晶状体纤维多 (图版 : 8); 玻璃体与视网膜相连。

第 11 d: 眼径 0.66 mm, 瞳孔 0.29 mm; 色素颜色变深, 内层细胞不断长大, 核长椭圆形。

第 12 d: 眼径 0.70 mm, 瞳孔 0.30 mm; 脉络膜开始出现, 由单层细胞构成, 核椭圆形; 巩膜层细胞 3 ~ 4 层, 核长梭形。

第 13 d: 眼径 0.75 mm, 瞳孔 0.31 mm; 角膜细胞 3 ~ 4 层, 核椭圆形。

第 14 d: 眼径 0.79 mm, 瞳孔 0.32 mm, 色素由褐色变为黑色 (图版 : 9), 虹膜出现, 晶状体透明; 视网膜色素上皮细胞突起呈绒毛状, 黑色颗粒明显, 色素上皮细胞核近圆形, 视网膜其他细胞增至 14 ~ 15 层, 但分化不明显。

第 15 ~ 18 d: 眼径 0.80 ~ 0.92 mm, 瞳孔 0.33 mm, 虹膜环黑色, 放射状, 晶状体透过瞳孔呈乳白色; 视网膜色素上皮细胞核圆形, 色素颜色

加深,颗粒增多,视网膜其他细胞 23~24 层,节细胞分化成 4~5 层细胞,核圆形;脉络膜细胞 4~5 层,核圆形或椭圆形。

第 19 d: 眼径 1.14 mm,瞳孔 0.36 mm,透明;巩膜突出;上眼睑出现(图版 :10);视网膜细胞分化明显,节细胞 5~6 层,核圆形,双极细胞 16~17 层,核椭圆形,感觉细胞单层,核长椭圆形,色素上皮细胞单层,视神经纤维层和内网层已形成;晶状体周缘扁平细胞 2~3 层,排列紧密,晶状体纤维少,向内部细胞逐渐减少,核圆形或椭圆形,晶状体纤维逐渐增多(图版 :11);角膜细胞 4~5 层,核圆形;脉络膜细胞 2~3 层,褐色素出现,巩膜细胞多层(图版 :12)。

第 21 d: 眼径 1.37 mm,瞳孔 0.43 mm;巩膜突 10 个(图版 :13);角膜细胞 6~7 层。

第 22 d: 眼径 1.49 mm,瞳孔 0.45 mm;巩膜突 6 个,不明显;晶状体透明;下眼睑出现(图版 :14);角膜分化为外、中、内 3 层,外层为角膜上皮,细胞 2~3 层,中层为角膜基质,细胞 5~6 层,细胞少,排列疏松,核长梭形,内层为角膜内皮,细胞 1 层,核长梭形。

第 23 d: 眼径 1.50 mm,瞳孔 0.47 mm;巩膜突消失,白色巩膜环出现;视网膜分化为 8 层结构,即节细胞层细胞 4~5 层,核呈圆形;内核层明显分为两层,内层 4~5 层,核椭圆形,排列疏松,外层 5~6 层,核圆形,排列紧密;外核层单层,核圆形,排列紧密;视杆视锥层细胞单层,长柱状,核长椭圆形;色素上皮层细胞单层,核圆形,排列疏松,突起绒毛状,有许多黑色素颗粒(图版 :15)。

第 24~27 d: 眼径 1.51~1.52 mm;节细胞层细胞变为 2 层,内核层的内层变为 4 层,外层变为 2~3 层,其他无变化。

第 30 d: 眼径 1.53 mm;角膜外层细胞 4~5 层,核椭圆形,中层为大量的纤维;脉络膜发育完成。

第 32 d: 眼径 1.54 mm;眼睑覆盖达瞳孔,眼睑上褐色色素斑明显,与稚鳖的接近(图版 :16);角膜发育完成,与幼鳖和成鳖相同,角膜

上皮为 6~7 层扁平上皮细胞,角膜基质为大量纤维,角膜内皮为单层扁平上皮(图版 :17)。

第 34 d: 稚鳖出壳,眼径 1.64 mm;视网膜节细胞层变为单层,内核层 9~10 层,外核层变为 1~2 层,视杆视锥层细胞明显变长,色素上皮细胞核圆形,其突起与视杆视锥突起结合不牢固容易脱落(图版 :18~20);晶状体上皮细胞单层,内层为结缔组织纤维;眼睛的形态结构与幼体和成体的相似,但大小有别,稚鳖、1 龄、2 龄、3 龄幼鳖和成鳖的眼径分别为 1.64 mm、2.46 mm、3.18 mm、3.44 mm、3.50 mm。

3 讨论

实验结果表明,中华鳖的眼睛由神经外胚层和表皮外胚层共同形成。神经外胚层形成眼睛的主要结构——视网膜,表皮外胚层形成角膜和晶状体,其眼睛结构的胚层来源与已研究过的其他脊椎动物的相似,视杯外面的间充质聚集成脉络膜和巩膜^[9-11]。

在上述孵化条件下,孵化 48 h,胚体的前后侧壁外胚层突起形成视泡,孵化 72~76 h 形成双层结构的视杯,然后视网膜开始分化,第 23 d 视网膜的结构分化已基本完成,至第 34 d 视网膜发育完好,分化形成色素上皮层、视杆视锥层、外核层、外网膜、内核层、内网膜、节细胞层、视神经纤维层 8 层结构,这不仅与其幼体、成体视网膜的结构相同,也与张育辉^[12]观察蜥蜴亚目 5 种动物视网膜的结构一致。在视网膜的分化过程中,单层色素上皮于第 14 d 最先分化形成,其他结构于第 18~23 d 分化最为明显;节细胞层细胞数目由多层逐步变为单层,这与张育辉^[12]所观察 5 种蜥蜴亚目动物中 2 种夜行性动物的视网膜结构一致,与另外 3 种昼行性动物的 3 层结构相差较大,内核层细胞数目逐步分化为 9~10 层与其昼行性的 12 层和夜行性的 8 层有也有差别,外核层细胞数目逐步减少变为 1~2 层与之一致。这种差别是不同种间的差别,还是与中华鳖在非冬眠期昼夜活动习性相适应,有待进一步研究证实。

由于受产卵季节、产卵时间、孵化因子、孵

化前期取胚方法等条件的制约,有关爬行动物器官发育的研究前人涉足较少。本实验仅是从视泡形成开始的,视泡形成前的神经外胚层和表皮外胚层是如何变化的,发育过程中眼睛特征变化能否作为胚胎发育分期特征等有待进一步研究探讨。

参 考 文 献

- [1] Kaska Y, Downie R. Embryological development of sea turtles (*Chelonia mydas*, *Caretta cartta*) in the Medierranean. *Zoology in the Nuiddle East*, 1999, **19**: 55 ~ 69.
- [2] Ackerman R A. The nest environment and the embryonic development of sea turtle. In: Lutz P L, Musick J A eds. *The Biology of Sea Turtle*. Boca Raton, Florida: CRC Marine Science Series Inc., 1996, 83 ~ 106.
- [3] 侯陵. 中华鳖 (*Trionyx sinesis*) 胚胎发育的研究. 湖南师院学报(自然科学版), 1984, (4): 59 ~ 70.
- [4] 刘筠. 温度等生态因子对鳖胚胎发育的影响. 湖南师院学报(自然科学版), 1982, (1): 67 ~ 73.
- [5] 刘国安, 刘运清, 胡迪光等. 乌龟 (*Chinemys reevesii*) 胚胎发育的初步观察. 动物学研究, 1984, 5(1): 51 ~ 56.
- [6] 谭立军, 刘筠, 陈淑群. 乌龟胚胎发育的研究. 水生生物学报, 2001, 25(6): 605 ~ 612.
- [7] 章龙珍, 刘宪亭, 喻清明等. 温室内中华鳖性腺发育的研究. 上海水产大学学报, 1998, 7(4): 294 ~ 299.
- [8] 刘筠, 刘楚吾, 陈淑群等. 鳖性腺发育的研究. 水生生物学集刊, 1984, 8(2): 145 ~ 151.
- [9] 曲漱惠, 李嘉泳, 黄浙等. 动物胚胎学. 北京: 高等教育出版社, 1980, 234 ~ 238.
- [10] 王平, 曹焯, 樊启超等. 简明脊椎动物组织与胚胎学. 北京: 北京大学出版社, 2004, 62 ~ 66.
- [11] 丁汉波, 仝允棚, 黄浙等. 发育生物学. 北京: 高等教育出版社, 1987, 388 ~ 399.
- [12] 张育辉, 贾林芝. 蜥蜴亚目 5 种动物视网膜结构的比较观察. 西北大学学报, 2003, 33(4): 475 ~ 478.

图 版 说 明

1. 48 h 视泡 $\times 1\ 000$; 2. 3 d 头部纵切面 $\times 100$; 3. 4 d 眼睛 $\times 15$; 4. 4 d 眼睛横切面 $\times 100$; 5. 4 d 眼睛横切面 $\times 1\ 000$; 6. 6 d 视网膜部分 $\times 400$; 7. 10 d 眼睛 $\times 15$; 8. 10 d 晶状体 $\times 400$; 9. 14 d 眼睛 $\times 15$; 10. 19 d 眼睛 $\times 15$; 11. 19 d 晶状体部分 $\times 1\ 000$; 12. 19 d 脉络膜巩膜结构 $\times 1\ 000$; 13. 21 d 眼睛 $\times 15$; 14. 22 d 眼睛 $\times 7.5$; 15. 23 d 接近分化完全的视网膜 $\times 400$; 16. 32 d 眼睛 $\times 7.5$; 17. 32 d 角膜部分 $\times 400$; 18. 34 d 分化完全视网膜部分 $\times 1\ 000$; 19. 34 d 分化完全视网膜部分 $\times 1\ 000$; 20. 34 d 分化完全视网膜部分 $\times 1\ 000$.

OV. 视泡; OC. 视杯; OS. 视柄; PP. 前脑; E. 突起的眼; LV. 晶体泡; O. 角膜; PE. 色素上皮; UC. 未分化细胞; P. 瞳孔; LEL. 晶状体上层; LF. 晶状体纤维; PM. 色素; I. 虹膜; SE. 上眼睑; CC. 脉络膜; S. 巩膜; SS. 巩膜突; IE. 下眼睑; PEL. 色素上皮层; CR. 视锥与视杆细胞; ONL. 外核层; OPL. 外网层; INL. 内核层; IPL. 内网层; GCL. 节细胞层; NFL. 神经纤维层; CEL. 角膜上皮层; CS. 角膜基质; CE. 角膜内层; PEL. 色素上皮层。

Explanation of Plate

1. 48 h optic vesicle $\times 1\ 000$; 2. 3 days foreheads longitudinal section $\times 100$; 3. Shows 4 days eyes $\times 15$; 4. 4 days eyes cross sections $\times 100$; 5. 4 days eyes cross sections $\times 1\ 000$; 6. 6 days part of retinas $\times 400$; 7. 10 days eyes $\times 15$; 8. 10 days crystalline lens $\times 400$; 9. 14 days eyes $\times 15$; 10. 19 days eyes $\times 15$; 11. 19 days part of lens $\times 1\ 000$; 12. 19 days choroids and sclera structures $\times 1\ 000$; 13. 21 days eyes $\times 15$; 14. 22 days eyes $\times 7.5$; 15. 23 days under differentiating retina $\times 400$; 16. 32 days eyes $\times 7.5$; 17. 32 days corneas $\times 400$; 18. 34 days differentiated retinas $\times 1\ 000$; 19. 34 days differentiated retinas $\times 1\ 000$; 20. 34 days differentiated retinas $\times 1\ 000$.

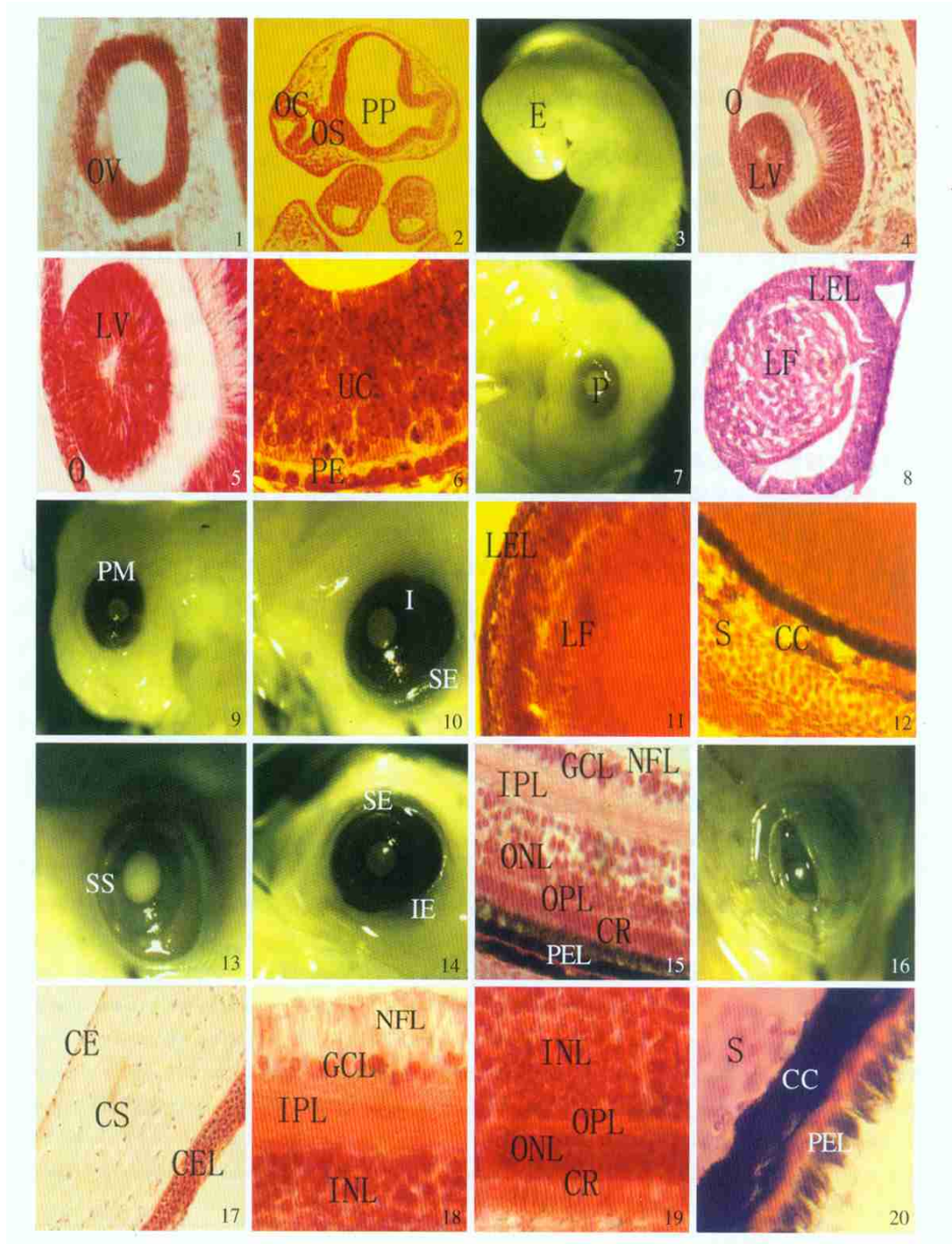
OV. Optic vesicle; OC. Optic cup; OS. Optic stalk; PP. Forebrain; E. Eye; LV. Lens vesicle; O. Cornea; PE. Pigment epidermis; UC. Undifferentiated cell; P. Pupil; LEL. Lens epithelial layer; LF. Lens fiber; PM. Pigment; I. Iris; SE. Upper eyelid; IE. Lower eyelid; CC. Choroid; S. Sclera; SS. Scleral stalk; PEL. Pigment epidermis layer; CR. Cone cell and rod cell; ONL. Outer nuclear layer; OPL. Outer plexiform layer; INL. Inner nuclear layer; IPL. Inner plexiform layer; GCL. Ganglion cell layer; NFL. Nerve fibers layer; CEL. Cornea epithelial layer; CS. Cornea stroma; CE. Cornea endolayer; PEL. Pigment epidermis layer.

朱道玉:中华鳖眼睛发育的形态及组织学观察

图版

ZHU Dao-Yu: Morphological and Histological Observation on the Eye Development
of *Trionyx sinensis*

Plate



图版说明见文后