

# 爪鲵呼吸器官的胚后发育

郭丽杰 赵艳艳 周莹莹 梁传成 王丽文 \*

( 沈阳师范大学化学与生命科学学院 沈阳 110034; 辽宁省高校生物系统进化与农业生态实验室 沈阳 110034)

**摘要:** 应用石蜡切片和扫描电镜技术,对爪鲵 (*Onychodactylus fischeri*) 幼体、亚成体和成体 3 个不同发育阶段的皮肤、外鳃、咽等呼吸器官进行了显微观察与比较分析,旨在揭示爪鲵不同发育阶段各呼吸器官的演化规律。结果表明,爪鲵的皮肤随年龄的增长而逐渐增厚,幼体阶段其背腹皮肤厚度相差不大,亚成体及成体背部皮肤明显厚于腹部;外鳃是幼体和亚成体爪鲵呼吸器官的重要组成部分,随着发育外鳃逐渐完善,到亚成体阶段达到顶峰,随后逐步退化;咽部是爪鲵的重要呼吸器官,幼体期口腔和咽发育不完善,亚成体咽部逐渐发育,至成体时发育完善。

**关键词:** 爪鲵;呼吸器官;胚后发育

**中图分类号:** Q954.57 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)06-103-06

## Postembryonic Development of Respiratory Organs in *Onychodactylus fischeri*

GUO Li-Jie ZHAO Yan-Yan ZHOU Ying-Ying LIANG Chuan-Cheng WANG Li-Wen \*

( College of Chemical and Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034;

Key Laboratory of Biological Evolution and Agricultural Ecology, Department of Education, Shenyang 110034, China)

**Abstract:** The conventional histological method and scanning electron microscopy were used to observe the development of skin, external gills, and pharynx in larval, sub-adult and adult individuals of *Onychodactylus fischeri*. The results showed that skin was thickened with the increase of age. The dorsal skin and ventral skin were not different in thickness at larval stage, while the skin on the back was thicker at sub-adult and adult stages. The external gills was an important respiratory organ at larval and sub-adult stages, while it was gradually degraded after sub-adult stage. Pharynx and oral cavity were not developed well at larval stage, while pharynx was gradually developed at sub-adult stage, and developed well to become an important respiratory organ at adult stage.

**Key words:** *Onychodactylus fischeri*; Respiratory organ; Postembryonic development

从水生到陆生是脊椎动物生活的一个巨大的飞跃,也是脊椎动物进化中的一个重大事件。脊椎动物在由水生到陆生的演变过程中,呼吸介质由水变为空气,呼吸器官发生了巨大的变化,其呼吸方式也发生了相应的变化<sup>[1]</sup>。两栖动物是处于由水生到陆生脊椎动物过渡的动物,具有多种多样的呼吸方式。不同种的两栖动物或同一种的不同发育阶段,或者在不同的生活状态下,分别进行鳃呼吸、肺呼吸、皮肤呼吸和口咽腔呼吸等<sup>[2]</sup>。

爪鲵 (*Onychodactylus fischeri*) 隶属两栖纲有尾目小鲵科爪鲵属。爪鲵属在世界上已知仅有 2 种,我国仅此 1 种,数量稀少且分布范围狭窄<sup>[3]</sup>。爪鲵在国外分布于日本、朝鲜、俄罗斯远

基金项目 辽宁省教育厅资助项目 (No. 20068040);

\* 通讯作者, E-mail: wangliwen1956@163.com;

第一作者介绍 郭丽杰,女,硕士研究生;研究方向:比较生理学; E-mail: guolijie1982@163.com。

收稿日期: 2009-05-07, 修回日期: 2009-06-30

东部分地区,在国内仅分布于黑龙江、东北吉林通化和辽宁岫岩地区,数量有限。被中国濒危动物红皮书列为重点保护的濒危物种<sup>[4]</sup>。爪鲰是一种罕见的有尾两栖动物,成体虽然以陆栖为主,但却没有主要的呼吸器官——肺,且变态时间长,具外鳃的幼体可以越冬。成体仅生活在距泉眼(源头)50 m 以内、水温 6~10 的水域中或附近,为典型的森林冷水溪流型物种<sup>[5]</sup>。有关爪鲰呼吸器官的研究资料仅见于陆宇燕等人<sup>[6]</sup>对其皮肤显微结构的报道。爪鲰呼吸器官的发育变化,各呼吸器官在不同发育阶段的作用和地位如何,尚未见报道。为此,我们应用石蜡切片技术和扫描电镜,对爪鲰胚后不同发育阶段的皮肤、咽、外鳃进行显微观察,探讨爪鲰

胚后不同发育阶段呼吸器官的结构特点,以揭示无肺有尾两栖动物胚后发育各阶段呼吸器官结构的演化规律,为比较生物学提供有价值的资料。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 观察用爪鲰采自辽宁省岫岩县三家子华山地区(东经 123.3°,北纬 40.7°,海拔 400~500 m),总计 30 尾。根据其体长、体重、外鳃和生殖腺的发育分为 6 个年龄组,3 个发育阶段(幼体、亚成体和成体)(表 1),各阶段 10 尾。将采集的爪鲰于实验室内饲养在 6~10 的恒低温双层养殖箱中。

表 1 爪鲰发育阶段划分( $n=10$ )

Table 1 Developing phases of *Onychodactylus fischeri*

年龄组 Age groups	性腺 Gonad	外鳃 External branchia	体长 Body length (mm)		体重 Weight (g)	
			范围 Range	Mean $\pm$ SD	范围 Range	Mean $\pm$ SD
幼体 Larvae	-	+	30.0~50.0	42.00 $\pm$ 0.45	0.31~0.81	0.52 $\pm$ 0.14
亚成体 Subadult	-	+	50.0~65.0	5.58 $\pm$ 0.39	0.62~1.56	1.05 $\pm$ 0.29
成体 Adult	-	+	65.0~90.0	7.56 $\pm$ 0.66	1.23~4.12	2.15 $\pm$ 0.67
Subadult	- +	- +	85.0~120.0	101.20 $\pm$ 1.01	2.58~5.79	3.99 $\pm$ 0.52
成体 Adult	+	-	120.0~160.0	147.70 $\pm$ 0.82	5.59~7.14	6.26 $\pm$ 0.78
Adult	+	-	>160.0	178.70 $\pm$ 0.97	10.68~10.79	10.74 $\pm$ 0.07

“-”表示“不显或无”,“+”表示“显或有”。

“-” indicates “not significant with or without”, “+” indicates “significant or”.

**1.2 方法** 皮肤:分别取各发育阶段爪鲰躯干中部、体背中线两侧和体腹中线两侧的皮肤进行石蜡切片。切片厚 8  $\mu$ m, H. E 染色, Olympus CX21 光学显微镜观察, Moticam 1300 数码显微图像系统拍照并使用其图像分析系统测量。每隔 5 张切片选择一张裱片,从 15~20 张裱片中每隔 3 张抽取一张,每张切片取 10 个视野,随机抽取 50 个视野用来测量分析。黏液腺的测量为剖面数量,参考蔡文琴等<sup>[7]</sup>所用的细胞密度计数法,并加以改良,测量单位面积( $\text{cm}^2$ )内爪鲰皮肤黏液腺的数量。

外鳃形态与结构:在解剖镜(Motic ST-39)下观察,并用 Moticam 1300 数码显微图像系统拍照。每只爪鲰左右两鳃各拍摄不同部位 5~10 次,在这 10~20 张照片中分别取出 6 张,即

每个年龄组取 30 个视野,利用 Moticam 1300 图片分析软件计数爪鲰的外鳃分支数量。分别测量外鳃及鳃丝的长度、宽度和主动脉直径,从而计算出其外鳃总体面积及外鳃面积同爪鲰体长的比例。

口咽腔黏膜形态与结构:将爪鲰口角剪开或剥离咽部,用任氏液冲洗掉黏液,解剖镜下进行观察。Moticam 1300 数码显微图像系统拍照。剪下咽部,用戊二醛、锇酸双固定,制作扫描电镜标本。拍照并观察分析。

**1.3 数据处理** 实验结果用 Excel 和 SPSS 11.0 统计软件包进行处理。各组之间的差异性采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Tukey's 多重比较。数据以平均值  $\pm$  标准误(Mean  $\pm$  SE)表示,  $P < 0.05$  即认为差异显著。

文中所有差异显著性都是后一发育阶段同前一发育阶段的比较。

2 结 果

2.1 皮肤的胚后发育 爪鲵皮肤由表皮、真皮疏松层和真皮致密层组成。其不同部位皮肤的表皮细胞层数及厚度随着发育阶段的生长而逐渐增厚。幼体爪鲵表皮层外没有亚成体和成体

那样明显的角化膜覆盖。各发育阶段表皮生发层细胞排列相似,不甚规则,细胞形态多样,矮柱状、圆形、椭圆形均有出现。生发层以上的表皮细胞形态多为椭圆型或梭型。亚成体和成体生发层内侧边缘呈锯齿状突起,突起处有毛细血管镶入。表皮生发层细胞基膜虽不完整,但仍清晰可辨,随着毛细血管的突入基膜逐渐消失(表 2,图版 :1~7)。

表 2 爪鲵不同发育阶段皮肤结构厚度的比较 ( n = 10)

Table 2 The comparasion on skin thickness in different developmental stages of <i>Onychodactylus fischeri</i>						
发育阶段 Developmental stages	部位 Position	表皮细胞层 Epidermal cell layer	表皮层 Epidermis (μm)	真皮疏松层(μm) Dermal loose stratum	真皮致密层(μm) Dermal dense stratum	皮肤厚度(μm) Skin thickness
幼体 Larvae	背部 Back	1	13. 27 ±3. 76	52. 35 ±10. 03	11. 25 ±3. 15	76. 87 ±13. 15
	腹部 Venter	2~3	15. 42 ±3. 71	47. 39 ±7. 09	14. 70 ±2. 98	77. 51 ±9. 93
亚成体 Subadult	背部 Back	2~3	42. 64 ±9. 78 *	89. 59 ±22. 83 *	39. 74 ±10. 83 *	171. 96 ±21. 12 *
	腹部 Venter	3~5	50. 64 ±9. 86 *	74. 07 ±14. 35 *	32. 54 ±7. 24 *	157. 24 ±24. 40 *
成体 Adult	背部 Back	3~4	69. 8 ±11. 48 *	159. 97 ±52. 19 *	32. 95 ±7. 64	262. 76 ±57. 37 *
	腹部 Venter	6~7	79. 22 ±14. 89 *	91. 04 ±24. 08 *	33. 44 ±9. 22	203. 70 ±39. 2 *

\* P 0. 01

真皮疏松层由疏松结缔组织构成,其间分布着黏液腺、颗粒腺和脂腺,其中与呼吸作用关系最为密切的是黏液腺。在爪鲵发育的不同阶段,腺体的分布存在差异(表 3)。由于腺体大小的不同,导致了其厚度的明显差异(表 2)。幼体爪鲵主要是大量未发育成熟的腺泡。腺泡在背部排列紧密,直径明显大于腹部腺泡,腹部腺泡排列有互相叠加现象。多数腺泡胞质呈弱嗜碱性,胞质内呈清晰的网络状结构,应为黏液腺细胞(图版 :1,2)。亚成体的黏液腺小于成

体,大多分布于真皮疏松层的浅表。在有大型颗粒腺分布的躯体背部,黏液腺体积明显小于颗粒腺,存在于颗粒腺之间。腺细胞矮柱状,胞质弱碱性,胞质内呈清晰的网络状结构;胞核椭圆形,位于腺细胞的底部。躯体腹部是黏液腺集中分布的区域,没有颗粒腺的出现,可以称此部位为爪鲵的黏液腺区。亚成体有的黏液腺发育还不完善(图版 :3,4)。爪鲵腹部的黏液腺稍大于背部,而且分布较密。黏液腺随爪鲵体长的增加而逐渐增大,而密度则有所减小。

表 3 爪鲵不同发育阶段皮肤黏液腺的比较 ( n = 10)

Table 3 The comparasion on mucous gland in different developmental stages of <i>Onychodactylus fischeri</i>						
发育阶段 Developmental stages	部位 Position	黏液腺直径 Mucousgland diameter (μm)	黏液腺数量 The number of mucous glands (个/cm <sup>2</sup> )	黏液腺密度 Mucousgland density (个/cm <sup>2</sup> )	体长 The length of the body (cm)	密度/体长 Density/ Body length (个/cm)
幼体 Larvae	背部 Back	46. 92 ±8. 45	19. 48 ±2. 98	37 743. 16 ±5 773. 85	4. 47 ±0. 45	8 443. 66
	腹部 Venter	66. 92 ±10. 36	13. 54 ±3. 38	18 393. 74 ±4 591. 64		3 913. 56
亚成体 Subadult	背部 Back	66. 92 ±10. 36 **	2. 06 ±0. 87 **	2 798. 46 ±1 181. 87 *	7. 39 ±0. 89 *	378. 68 *
	腹部 Venter	77. 30 ±11. 82 *	3. 86 ±1. 16 *	4 539. 57 ±1 364. 22 *		614. 29 *
成体 Adult	背部 Back	109. 63 ±21. 94 *	2. 92 ±1. 05	2 421. 37 ±867. 93	15. 55 ±1. 23 *	156. 22
	腹部 Venter	124. 35 ±16. 77 *	5. 64 ±1. 32	4 123. 26 ±965. 02		266. 02 *

\* P 0. 01, \*\*P 0. 05

**2.2 外鳃的胚后发育** 外鳃是幼体和亚成体爪鲵呼吸器官的重要组成部分,由3对鳃小叶组成(图版 :8~10)。幼体爪鲵外鳃形如羽毛,鳃裂直接开口于咽部。鳃小叶上有鳃丝,色素细胞较少。鳃表面积大约是体长的1.73倍,鳃主动脉直径平均91  $\mu\text{m}$ (表4)。亚成体爪鲵的外鳃发达(图版 :9),鳃丝之外又增加2~3个细小分支,其大小约为主要鳃丝的1/3~1/2。外鳃表面积增大到体长的5.83倍,鳃丝由上皮组织和丰富的毛细血管构成,是血液与外界环

境交换气体的场所;其基部方形,端部呈柳叶状,鳃丝极薄,解剖镜下可见形如叶脉的毛细血管网和血液循环,鳃丝中分布着大量的色素细胞。鳃主动脉直径平均180  $\mu\text{m}$ (表4)。随着爪鲵的发育,亚成体后期其外鳃逐渐退化(图版 :10)。色素细胞增多,鳃丝变短、变厚,游离的端部逐渐变圆,直至最后外鳃愈合,完全消失,只有在两眼后略向下各有一较大的卵圆形凸起,为外鳃消失后形成的耳腺,其后缘向腹面延伸形成明显的颈褶。

表4 爪鲵不同发育阶段外鳃的比较 ( $n=10$ )

Table 4 The comparasion on external gill in different developmental stages of *Onychodactylus fischeri*

发育阶段 Developmental stages	鳃丝数 The number of gill	鳃长 Long gill (mm)	鳃宽 Wide gill (mm)	鳃总面积( $\text{mm}^2$ ) The total area of the gill	体长 Body length (mm)	面积/体长 Area/Body length	鳃主动脉直径( $\mu\text{m}$ ) Branchial aortic diameter
幼体 Larvae	11.94 $\pm$ 0.85	2.49 $\pm$ 0.39	0.41 $\pm$ 0.10	72.69 $\pm$ 20.31	42.0 $\pm$ 0.45	1.73	91
亚成体 Subadult	13.75 $\pm$ 1.91	5.24 $\pm$ 1.03 *	0.99 $\pm$ 0.24 *	430.95 $\pm$ 143.34 *	73.9 $\pm$ 0.89 *	5.83	180

\*  $P=0.01$

**2.3 口咽腔黏膜的胚后发育** 幼体和亚成体爪鲵的咽部分化不明显,口腔及咽内布满黏膜,黏膜下分布毛细血管。幼体的毛细血管极细且数量稀少,亚成体黏膜下的毛细血管数量增多,在30倍解剖镜下可见数十条较为粗大者构成血管网。成体爪鲵内外鼻孔发育完全,咽部增长变宽。咽黏膜下方丰富的毛细血管网清晰可见(图版 :11,12)。成体爪鲵解剖观察发现,在体长85~160 mm年龄组中,其咽部有多个排列均匀的“8”字形状的白色突起物(图版 :13)。对爪鲵咽部血管及白色突起物进行扫描电镜观察,在咽黏膜下毛细血管网非常清晰,突起物的存在使咽部形成火山形状。并可见咽部表面形成较深的沟壑,突起物的存在在一定程度上增大了咽部呼吸膜的表面积(图版 :14,15)。组织学观察可见咽部自内向外由黏膜层、黏膜下层和浆膜层三层构成(图版 :16,17)。黏膜层由上皮层和固有膜构成。上皮层为1~2层扁平上皮细胞,成体高度毛细血管瘤化,构成了一层特化的营呼吸作用的黏膜上皮。固有膜为疏松结缔组织,有次级动静脉血管、淋巴细胞等分布其中。黏膜下层由疏松结缔组织构成,固有膜

和黏膜下层无明显分界。突起物即出现在黏膜下层,嗜酸性。有圆形、三角形、梭形及多边形等多种形状。在黏膜下层有各级动、静脉血管,还有较大的腺体分布其中。最外层为由一层薄的疏松结缔组织构成的浆膜层。

### 3 讨论

爪鲵幼体主要用鳃呼吸。但同鱼类相比<sup>[18]</sup>爪鲵外鳃的结构要简单得多。没有鳃弓、鳃耙、鳃小片等构造,鳃丝即起鳃小片的空气交换作用。整个鳃丝的结构类似于两栖动物囊状肺的膜结构,爪鲵在水中活动时,外鳃展开并呈花朵状,鳃丝内血液循环清晰可见;离水时,外鳃收起,外部面积变为展开时的1/3。而鱼类离开水时鳃将全部折叠起来,大大减少与氧气的接触面积,鱼因得不到充足的氧气而死亡。从这一点看爪鲵的外鳃同鱼类相比,应属进化的类群。爪鲵成体无肺,主要以皮肤呼吸和口咽式呼吸为主,呼吸频率远低于具有肺的山溪鲵(*Batrachuperus pinchonii*)和商城肥鲵(*Pachyhynobius shangchengensis*)<sup>[19]</sup>。这可能与它的环境因素及生活习性有关。爪鲵为典型的森

林冷水溪流型物种,能量代谢缓慢,其生活在源头附近水域,此处的高含氧量及低温环境也是无肺结构的一种适应<sup>[10]</sup>。爪鲉的皮肤比较薄,为保持体表的湿润,爪鲉全身遍布黏液腺,其分泌的黏液在身体表面形成一层黏液膜<sup>[11]</sup>,对体表起到足够的保湿作用,并提供充足的溶解态氧,从而为皮肤呼吸提供丰富的氧源。爪鲉皮肤中分布大量的毛细血管对呼吸起辅助作用,但其呼吸作用是被动的,受到毛细血管数量、密度、血流量及皮肤表面黏液等因素的影响。在爪鲉成体的咽部还发现白色“8”字形突起物,这同爬行动物中华鳖(*Trionyx sinensis*)咽部绒毛突起有相似之处,推测其作用是增加口咽部呼吸膜表面积,从而有利于气体交换的进行,提高呼吸效率。但其结构和具体功能还有待进一步研究。

## 参 考 文 献

[1] 杨国华,程红. 脊椎动物的呼吸系统. 生物学通报,

2002,37(5):29~30.

- [2] 冯静. 浅谈动物呼吸器官及方式. 山西科技,2007,(2):124~128.
- [3] 李建立. 爪鲉生存环境调查. 大自然,2004,(5):27~29.
- [4] 赵尔宓. 中国濒危动物红皮书:两栖类和爬行类. 北京:科学出版社,1998.
- [5] 李建立. 岫岩县爪鲉生物学及栖息地的保护. 四川动物,2004,23(3):169~171.
- [6] 陆宇燕,王健,刘新海等. 爪鲉皮肤的显微结构和呼吸作用. 四川动物,2004,23(3):178~182.
- [7] 蔡文琴,王伯泳. 实用免疫细胞与核酸分子杂交技术. 北京:科学出版社,2004.
- [8] 潘基桂,房慧伶. 鱼鳃及鳃上器形态学的研究概况. 广西农业生物科学,2002,21(4):289~291.
- [9] 陆宇燕. 有尾两栖动物皮肤的比较研究. 经济动物学报,1999,3(3):34~37.
- [10] 王丽文,梁传成,黄薇等. 环境温度对爪鲉体温及能量代谢的影响. 动物学报,2008,54(4):640~644.
- [11] 刘炯宇,江建平,谢锋等. 两栖动物皮肤结构及皮肤抗菌肽. 动物学杂志,2004,39(1):112~116.

## 图 版 说 明

1. 爪鲉幼体背部皮肤 ×400; 2. 爪鲉幼体腹部皮肤横切 ×400; 3. 爪鲉亚成体背部皮肤 ×100; 4. 爪鲉亚成体背部皮肤 ×400; 5. 爪鲉成体腹部皮肤 ×100; 6. 爪鲉成体背部皮肤 ×100; 7. 爪鲉成体背部皮肤 ×400; 8. 爪鲉幼体的外鳃 ×30; 9. 爪鲉亚成体外鳃 ×30; 10. 爪鲉亚成体末期外鳃 ×30; 11. 爪鲉亚成体咽部解剖 ×30; 12. 爪鲉成体咽部血管 ×30; 13. 爪鲉成体咽部示突起 ×10; 14. 爪鲉咽部血管网 ×240; 15. 爪鲉咽部突起 ×120; 16. 爪鲉成体咽部黏膜下层 ×400; 17. 爪鲉成体咽部突起物横切 ×100。1~7、16、17. H. E 染色; 8~13. 显微照片; 14、15. 扫描电镜图片。

## Explanation of Plate

1. Dorsal skin of larval *Onychodactylus fischeri* ×400; 2. Ventral skin of larval *O. fischeri* ×400; 3. Dorsal skin of sub-adult *O. fischeri* ×100; 4. Dorsal skin of sub-adult *O. fischeri* ×400; 5. Ventral skin of adult *O. fischeri* ×100; 6. Dorsal skin of adult *O. fischeri* ×100; 7. Dorsal skin of adult *O. fischeri* ×400; 8. External gill of larval *O. fischeri* ×30; 9. External gill of sub-adult *O. fischeri* ×30; 10. External gill of sub-adult *O. fischeri* ×30; 11. Pharynx of sub-adult *O. fischeri* ×30; 12. Pharynx of adult *O. fischeri* ×30; 13. Pharyngeal protuberance of adult *O. fischeri* ×10; 14. Blood capillary net in pharynx of adult *O. fischeri* ×240; 15. Pharyngeal protuberance of adult *O. fischeri* ×120; 16. Crosscut of adult pharynx *O. fischeri* ×400; 17. Crosscut of adult pharyngeal protuberance *O. fischeri* ×100. 1-7, 16, 17. H. E staining; 8-13. Micrographs; 14, 15. Scanning electron microscope figure.

A. 表皮层; B. 真皮疏松层; C. 真皮致密层; D. 色素细胞; E. 黏液腺; F. 颗粒腺; G. 毛细血管。

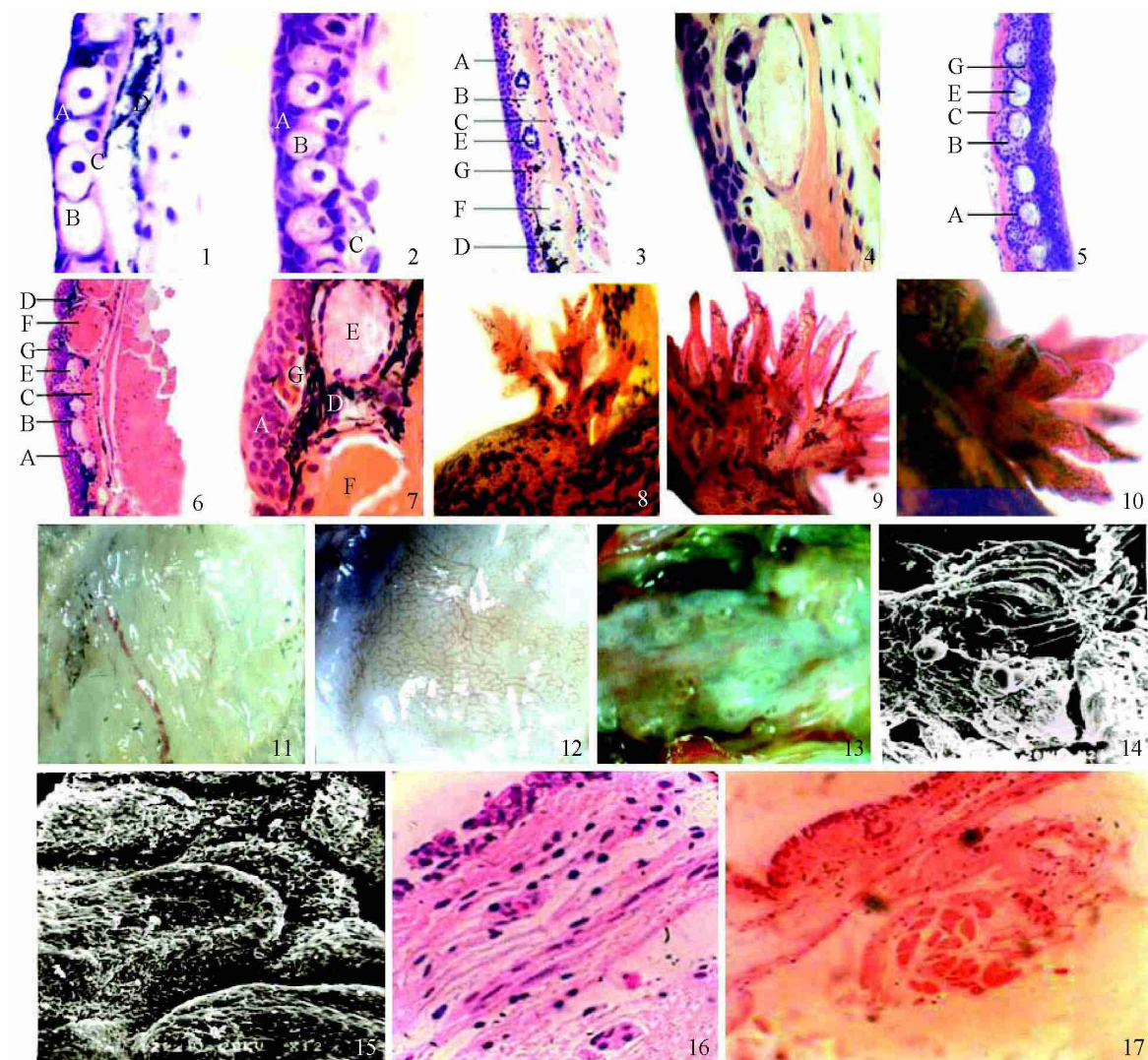
A. Epidermis; B. Dermal loose stratum; C. Dermal dense stratum; D. Pigment cells; E. Mucous gland; F. Adenovirus particles; G. Capillary.

郭丽杰等:爪鲵呼吸器官的胚后发育

图版

GUO Li-Jie *et al.*: Postembryonic Development of Respiratory Organs in*Onychodactylus fischeri*

Plate



图版说明见文后