

文县疣螈早期胚胎发育

向孙军^{①②} 邓学建^{①*} 徐杰^② 肖智力^②

(^① 湖南师范大学生命科学学院 长沙 410081; ^② 怀化学院生命科学系 怀化 418008)

摘要:对湖南省怀化市黄岩地区的文县疣螈(*Tylototriton wenxianensis*)早期胚胎发育进行了观察。整个胚胎发育分为21个时期,在实验室19~21℃下,受精卵完成胚胎发育历时(513.30±7.93)h($n=8$);本文描述了各时期的形态特征,并讨论了与其他有尾类胚胎发育的异同,以及怀化产文县疣螈与甘肃产文县疣螈的主要区别。

关键词:文县疣螈;胚胎发育;形态特征

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)06-127-06

Early Embryonic Development of *Tylototriton wenxianensis*

XIANG Sun-Jun^{①②} DENG Xue-Jian^{①*} XU Jie^② XIAO Zhi-Li^②

(^① Life Sciences College, Hunan Normal University, Changsha 410081;

^② Department of Life Sciences Huaihua College, Huaihua 418008, China)

Abstract: This paper reported the early embryonic development of *Tylototriton wenxianensis* from the Huangyan Area, Huaihua City, Hunan Province. The embryonic development was divided into 21 periods. Under the condition of temperature 19–21°C in the laboratory, the fertilized eggs completed embryonic development in 513.30±7.93 h ($n=8$). The morphological characteristics of each period was described, and the similarities and differences compared with other caudates as well as the major differences between *Tylototriton* from Huaihua of Hunan Province and *Tylototriton* from Wenxian of Gansu Province were discussed.

Key words: *Tylototriton wenxianensis*; Embryonic development; Morphological characteristics

文县疣螈(*Tylototriton wenxianensis*)隶属有尾目蝾螈科疣螈属。一般生活在海拔940 m左右的山区,以陆栖为主;成螈喜阴畏光,白天隐匿于阴湿的枯枝落叶、杂草或石块下面,夜间出来觅食,主要以昆虫、蚯蚓等小动物为食;4~5月进入山区水塘、水沟、水凼及农田水体进行繁殖;分布于甘肃(文县)、四川(青川、剑阁、平武)、重庆(云阳、奉节、南川)、贵州(雷山)、安徽(岳西)、湖南(桑植、浏阳)^[1-2],属我国特产的珍稀物种^[3]。2003年在怀化市黄岩旅游开发区采到疑似细痣疣螈(*T. asperrimus*)标本,最后经中国科学院成都生物研究所费梁研究员鉴定确定为文县疣螈。

有关文县疣螈的报道很少。2008年龚大

洁等报道了文县疣螈繁殖习性的初步观察,主要内容涉及繁殖生态和幼体发育^[4];2009年江建平等报道了文县疣螈在重庆分布的补充调查,结果在原有分布地云阳、奉节两县的基础上增加了南川市^[5]。截至目前,有关文县疣螈胚胎发育的研究未见报道。为弄清其胚胎发育过程、掌握其发育规律,2008~2009年,对分布于怀化市的文县疣螈胚胎发育进行了系统观察,现将结果报道如下。

* 通讯作者, dxj8871922@163.com;

第一作者介绍 向孙军,男,硕士研究生;研究方向:脊椎动物保护与利用;E-mail: xiangsunjun@163.com。

收稿日期:2010-04-15,修回日期:2010-09-22

1 材料与方法

2008 及 2009 年 4 月中下旬夜间,分多次到文县疣螈野外繁殖场捕捉性成熟个体作亲本,雄性选择体长在 120 mm 以上、体壮、兴奋性强的个体,雌性选择体长在 126 mm 以上、腹部宽大已怀卵的个体(最好是正在寻找产卵场所的个体),雌雄比按 1:(5~10)配置。亲本采到后带回实验室置于玻璃缸中模拟自然生态进行饲养,前 1~2 d 每隔半小时观察一次,密切注意其抱对产卵情况,一旦发现产卵随即予以收集。将卵置于垫有湿润脱脂棉的培养皿(直径 12.5 cm)内,每皿放 10 枚卵并标明序号,同批 5~8 个培养皿;室温控制在 19~21℃。用麦克奥迪 SMZ-163 三目体视显微镜观察胚胎发育,从受精卵到尾芽晚期,采用 24 h 不间断连续观察;外鳃早期至全部孵化完成,每隔 6 h

观察一次。记录每一时期的形态结构特征及发育时间,用目镜测微尺和游标卡尺测量活体胚胎的大小,并对每一时期具有典型特征的胚胎用佳能 EOS5D 数码单反相机进行显微拍照。各发育期的开始和结束以同一皿中 60% 个体显示某一阶段的特征为标准,作为下一阶段的开始和前一阶段的结束。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育的分期 参照谢锋等^[6]、米小其等^[7]、马连第等^[8]的分期方法,将文县疣螈早期胚胎发育过程划分为 21 个时期。2008~2009 年先后对 4 批共 182 粒受精卵的胚胎发育进行观察,对其中 8 个培养皿的胚胎发育历时进行了统计,结果表明:在室温 19~21℃ 条件下,文县疣螈早期胚胎发育平均历时(513.30 ± 7.93) h (n = 8),即 21.4 d,其发育时程见表 1。

表 1 文县疣螈胚胎发育历程(h)

Table 1 The embryonic development process of *Tylototriton wenxianensis*

发育时期 Developmental time	本期发育时间 (n = 8) Stage developmental time	时间累积 Total developmental time
1 受精卵期 Fertilized egg	8.06 ± 0.22	8.06
2 2 细胞期 2-cell stage	2.11 ± 0.19	10.17
3 4 细胞期 4-cell stage	2.07 ± 0.29	12.24
4 8 细胞期 8-cell stage	1.58 ± 0.14	13.83
5 16 细胞期 16-cell stage	1.18 ± 0.14	15.01
6 多细胞期 Multi-cell stage	3.80 ± 0.33	18.81
7 囊胚早期 Early blastula stage	3.74 ± 0.37	22.55
8 囊胚晚期 Late blastula stage	10.07 ± 0.65	32.62
9 原肠胚早期 Early gastrula stage	3.55 ± 0.58	36.17
10 原肠胚中期 Middle gastrula stage	2.01 ± 0.06	38.18
11 原肠胚晚期 Late gastrula stage	11.33 ± 0.70	49.50
12 神经板期 Neural plate stage	2.33 ± 0.59	51.83
13 神经褶期 Neural fold stage	3.48 ± 0.32	55.31
14 神经沟期 Neural groove stage	3.79 ± 0.37	59.10
15 神经管期 Neural tube stage	6.32 ± 0.93	65.42
16 尾芽早期 Early tail bud stage	39.08 ± 2.44	104.50
17 尾芽晚期 Late tail bud stage	54.68 ± 1.78	159.18
18 外鳃早期 Early external gill stage	38.82 ± 3.08	198.00
19 外鳃晚期 Late external gill stage	36.68 ± 2.07	234.68
20 前肢芽早期 Early fore-limb bud stage	148.56 ± 2.72	383.24
21 孵化期 Incubation stage	130.06 ± 12.49	513.30 ± 7.93

2.2 各期胚胎主要形态特征

受精卵期:自卵产出至第一个卵裂沟出现。

文县疣螈的卵呈圆球形(图版 I:1),卵径 3.0~3.7 mm,平均为(3.4 ± 0.32) mm (n = 20)。

卵膜吸水膨胀后,形成较大的卵周隙,此时连胶膜在内,其直径约为 6.0 ~ 7.1 mm,平均为 (6.64 ± 0.33) mm ($n = 20$)。卵细胞的动物极具棕色色素冠,整个色素冠约占卵总面积的 1/4;植物极呈黄白色。

2 细胞期:从第一个卵裂沟出现至第二个卵裂沟出现。受精后约 7.7 ~ 8.5 h,受精卵进行第一次分裂,动物极顶面出现卵裂沟,继而逐渐向植物极扩展,至分裂完成时,卵细胞被分成左右两个大小相等的分裂球(图版 I:2)。

4 细胞期:从第二次卵裂开始至第三次卵裂沟出现。第二次分裂仍为经裂,其卵裂沟与第一次卵裂沟近乎垂直,分裂后形成 4 个大小相似的分裂球(图版 I:3)。

8 细胞期:从第三次卵裂开始至第四次卵裂沟出现。第三次分裂为纬裂,分裂结果形成 8 个分裂球,呈两层排列,位于动物极的 4 个分裂球较小,植物极的 4 个较大,上下两层细胞分界清晰(图版 I:4)。

16 细胞期:从第四次卵裂开始至第五次卵裂沟出现。第四次卵裂为经裂,出现两个相互垂直的分裂面,分裂往往不是同时进行,细胞的排列较规则(图版 I:5)。

多细胞期:从第五次卵裂开始至囊胚早期。第五次卵裂开始,一个分裂面在动物极,另一个分裂面在植物极,分裂的顺序和分裂球的排列不规则(图版 I:6)。动物极上的分裂细胞较小,植物极细胞较大。

囊胚早期:此期胚胎表面凹凸不平,细胞排列不规则,但细胞边界清晰(图版 I:7)。

囊胚晚期:自胚体表面变得光滑至背唇凹沟刚出现止。分裂球细小,细胞界线不清,呈点状排列,胚胎表面较光滑(图版 I:8)。

原肠早期:自背唇出现至侧唇形成止。在赤道线下,色素冠边缘处形成新月形凹陷,此即为早期的胚孔,胚孔背侧隆起成背唇(图版 I:9)。

原肠中期:自侧唇形成至圆形胚孔出现。背唇向两侧延伸,形成半圆形侧唇。动物极色素边缘细胞继续内卷的同时也进行下包,植物

极进一步被卷入胚层内(图版 I:10)。

原肠晚期:自圆形胚孔形成至神经板出现。此期胚体向一端大一端小的梨形变化,并转动 90°角,由垂直方向变为水平方向侧卧(图版 I:11);侧唇继续弧形延伸直至形成圆形胚孔;卵黄栓出现,随着胚胎发育卵黄栓逐渐减小。

神经板期:自神经板开始形成至神经褶出现。胚体背侧外胚层加厚形成勺状区域,即神经板(图版 I:12);胚体前后轴开始伸长;卵黄栓消失,胚孔渐成裂缝状。

神经褶期:自神经褶出现至神经沟出现。神经板前端和两侧边缘隆起成神经褶,并向后延伸;中央形成浅凹沟(图版 I:13)。

神经沟期:自中后部神经褶靠拢至神经管出现。神经褶不断隆起并由后向前逐渐向中央靠拢,中间神经沟不断加深变窄,向后与胚孔连接;后期神经褶愈合形成神经管(图版 I:14)。

神经管期:自神经管出现至尾芽分化。神经沟全部封闭,神经管完全形成,胚孔消失,仅在腹侧留下肛窝,胚体继续伸长(图版 I:15)。

尾芽早期:自尾芽出现至显著突出。胚体沿神经管向两端延伸,前端膨大为头部,并向腹面弯曲,鳃板和感觉板原基出现;后端延伸为尾芽(图版 I:16);胚体背侧出现分节,可见 6 ~ 8 个肌节。

尾芽晚期:自尾芽突出至外鳃芽分化。尾芽在胚体后端显著突出延伸,末端圆钝,胚体向一侧弯曲;鳃板更加明显,前肢芽原基、平衡枝原基开始显露,眼泡略突起;背侧体节逐渐增多,至后期可见 16 ~ 18 对体节(图版 I:17)。

外鳃早期:自外鳃芽形成至鳃丝开始分叉。出现平衡枝芽 1 对,外鳃芽 3 对(图版 I:18),外鳃芽逐渐伸长形成 3 对鳃丝;背侧出现色素沉积;尾的背、腹鳍开始出现,尾部逐渐侧扁;胚体受刺激时可作扭曲运动。

外鳃晚期:自外鳃分叉开始至前肢芽显著伸长。外鳃 3 对,鳃丝分叉;前肢芽突起;眼圈逐渐明显,背侧色斑逐渐加深并向两侧扩展;尾鳍褶增宽呈半透明状(图版 I:19);腹部大血管向后延伸并逐渐分支;至后期,心开始搏动,心

率为 45 ~ 50 次/min; 逐渐出现鳃血循环。

前肢芽早期: 自前肢芽显著伸长至端部出现二叉。外鳃进一步增长, 鳃丝分支增多, 平衡枝芽逐渐退化消失; 眼突出, 色素加深, 角膜逐渐透明; 心搏动明显, 心率约 50 ~ 60 次/min; 前肢显著伸长, 端部呈现二叉状; 后肢芽出现 (图版 I: 20、21)。

孵化期: 自前肢出现二叉至孵化出膜止。眼虹膜逐渐出现黄色色素, 瞳孔明显; 前肢末端形成三叉, 后肢芽开始分叉; 尾部血管明显, 出现尾血循环; 此时卵膜变得薄而脆, 胚体在卵膜内转动频率增加, 并平游顶冲卵膜致其一端出现裂口, 胚体孵出。刚孵出的幼体, 胚体头、背、两侧及前肢布满黑色斑, 腹侧胸、腹部黄白色 (图版 I: 22、23); 背鳍褶前达头部后缘, 腹鳍褶前达尾基部; 幼体全长 (20.62 ± 0.98) mm、尾长 (10.21 ± 0.77) mm (n = 30)。

4 讨论

4.1 与其他有尾类胚胎发育的比较 本研究结果表明, 怀化产文县疣螈的早期胚胎发育过程与镇海棘螈 (*Echinotriton chinhaiensis*)^[6]、挂榜山小鲵 (*Hynobius guabangshanensis*)^[7]、东北小鲵 (*H. leechii*)^[8]、东方蝾螈 (*Cynops orientalis*)^[9]、蓝尾蝾螈 (*C. cyanurus*)^[10] 等的基本相似: 第一次与第二次卵裂均为经裂、第三次卵裂为纬裂, 胚胎发育中均有平衡枝出现; 但与大鲵 (*Andrias davidianus*)^[11] 的胚胎发育有显著的区别, 大鲵的第一至第三次卵裂均为经裂, 胚胎发育中无平衡枝出现。怀化产文县疣螈刚孵出的幼体无平衡枝, 与镇海棘螈、细痣疣螈、海南疣螈 (*Tylotriton hainanensis*)^[1] 的幼体相似, 但与贵州疣螈 (*T. kweichouensis*)^[12]、东方蝾螈^[9]、蓝尾蝾螈^[10]、东北小鲵^[8]、挂榜山小鲵^[7] 等刚孵出的幼体具有平衡枝不同。在 19 ~ 21℃ 的室温条件下, 怀化产文县疣螈孵化期平均为 21.4 d, 与贵州疣螈的孵化期 21.6 d (水温 16.5 ~ 22.5℃)^[12] 接近。

4.2 怀化产文县疣螈与甘肃产文县疣螈的主要区别 本研究结果表明, 怀化产文县疣螈与

龚大洁等^[4]报道的甘肃产 (甘肃文县及比邻的四川青川县) 文县疣螈在形态、繁殖行为 (文章另行发表)、刚孵出幼体方面有以下主要区别: 怀化产雄螈全长 (124.55 ± 4.70) mm (n = 14)、雌螈全长 (132.42 ± 6.44) mm (n = 10), 甘肃产雄螈全长 (111.67 ± 3.444) mm (n = 35)、雌螈全长 (139.42 ± 5.14) mm (n = 11)^[4], 显然, 怀化产雄螈较甘肃产雄螈为长, 两者差异达极显著水平 ($P = 0.01$, $t = 10.3139$); 而怀化产雌螈较甘肃产雌螈为短, 两者差异达显著水平 ($P = 0.05$, $t = 2.7660$)。怀化产文县疣螈的繁殖行为属典型的助突螈属 *Pleurodeles* 模式^[13], 与贵州疣螈^[12] 的繁殖行为相似, 求偶、抱对均在水中进行, 雄螈以前肢从雌体腹面紧抱雌螈前肢基部或后肢股部, 雌上雄下; 甘肃产疣螈的求偶与交配均在陆地进行, 经过求偶后, 雄螈即产出精子囊, 而后雌螈尾部作水平摆动, 并纳入精子囊, 雌、雄间仅发生相互移动和吻触, 而无抱对现象^[4]。怀化产疣螈刚孵出的幼体全长 (20.62 ± 0.98) mm (n = 30), 无平衡枝; 甘肃产疣螈刚孵出的幼体全长 (10.68 ± 2.04) mm (n = 119), 有平衡枝^[4]。综上所述, 怀化产文县疣螈与甘肃产文县疣螈存在明显差异, 其原因有待进一步研究。

致谢 在本研究中, 费梁老师对标本照片进行了鉴定, 怀化学院生命科学系的张鹏、栗斌、张婷给予了诸多帮助, 在此一并致以诚挚的谢意。

参 考 文 献

- [1] 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 中国动物志: 两栖纲: 上卷. 北京: 科学出版社, 2006: 265 - 268.
- [2] 费梁. 中国两栖动物图鉴. 郑州: 河南科学技术出版社, 1999: 42 - 43.
- [3] 陈晓虹, 瞿文元. 我国现存有尾类及研究现状分析. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2000, 28(1): 66 - 71.
- [4] 龚大洁, 牟迈, 李晓鸿, 等. 文县疣螈繁殖初探. 动物学杂志, 2008, 43(4): 48 - 55.
- [5] 江建平, 李瑛, 谢锋, 等. 文县疣螈在重庆境内分布的补充调查. 四川动物, 2009, 28(4): 569 - 571.
- [6] 谢锋, 费梁, 李成, 等. 镇海棘螈早期个体发育研究. 动物学杂志, 2001, 36(4): 21 - 25.

- [7] 米小其,邓学建,郭克疾,等.挂榜山小鲵早期胚胎发育初步观察.四川动物,2007,26(2):377-378.
- [8] 马连第,马德坤,高慧,等.千山产东北小鲵的早期发育.动物学杂志,1994,29(2):46-51.
- [9] 耿家举,章菊明,蔡堡,等.东方蝾螈 *Cynops orientalis* (David) 早期胚胎发育的初步观察.动物学报,1960,12(2):175-181.
- [10] 王朝芳,费梁,叶昌媛.蓝尾蝾螈早期发育的观察.动物学杂志,1984,(6):4-7.
- [11] 骆剑,肖亚梅,罗凯坤,等.中国大鲵 (*Andrias davidianus*) 的胚胎发育.自然科学进展,2007,17(11):1492-1499.
- [12] 田应洲,孙爱群,李松.贵州疣螈繁殖生态的研究.六盘水师专学报:自然科学版,1994,(4):4-8.
- [13] 谢锋,费梁,叶昌媛,等.有尾类繁殖行为生态学研究现状与未来//中国动物学会.中国动物科学研究——中国动物学会第十四届会员代表大会及中国动物学会65周年年会论文集.北京:中国林业出版社,1999,1084-1094.

图 版 说 明

1. 受精卵(4×); 2. 2细胞期(8×); 3. 4细胞期(6×); 4. 8细胞期(4×); 5. 16细胞期(6×); 6. 多细胞期(4×); 7. 囊胚早期(6×); 8. 囊胚晚期(12×); 9. 原肠早期(4×); 10. 原肠中期(4×); 11. 原肠晚期(6×); 12. 神经板期(4×); 13. 神经褶期(6×); 14. 神经沟期(6×); 15. 神经管期(6×); 16. 尾芽早期(4×); 17. 尾芽晚期(4×); 18. 外鳃早期(6×); 19. 外鳃晚期(8×); 20、21. 前肢芽早期(8×); 22、23. 孵化期(2×)。标尺=1 mm。图1~9中的数据系卵径平均值(不包括胶膜); 图10~23中的数据系胚体各时期的平均全长。

Explanation of Plate

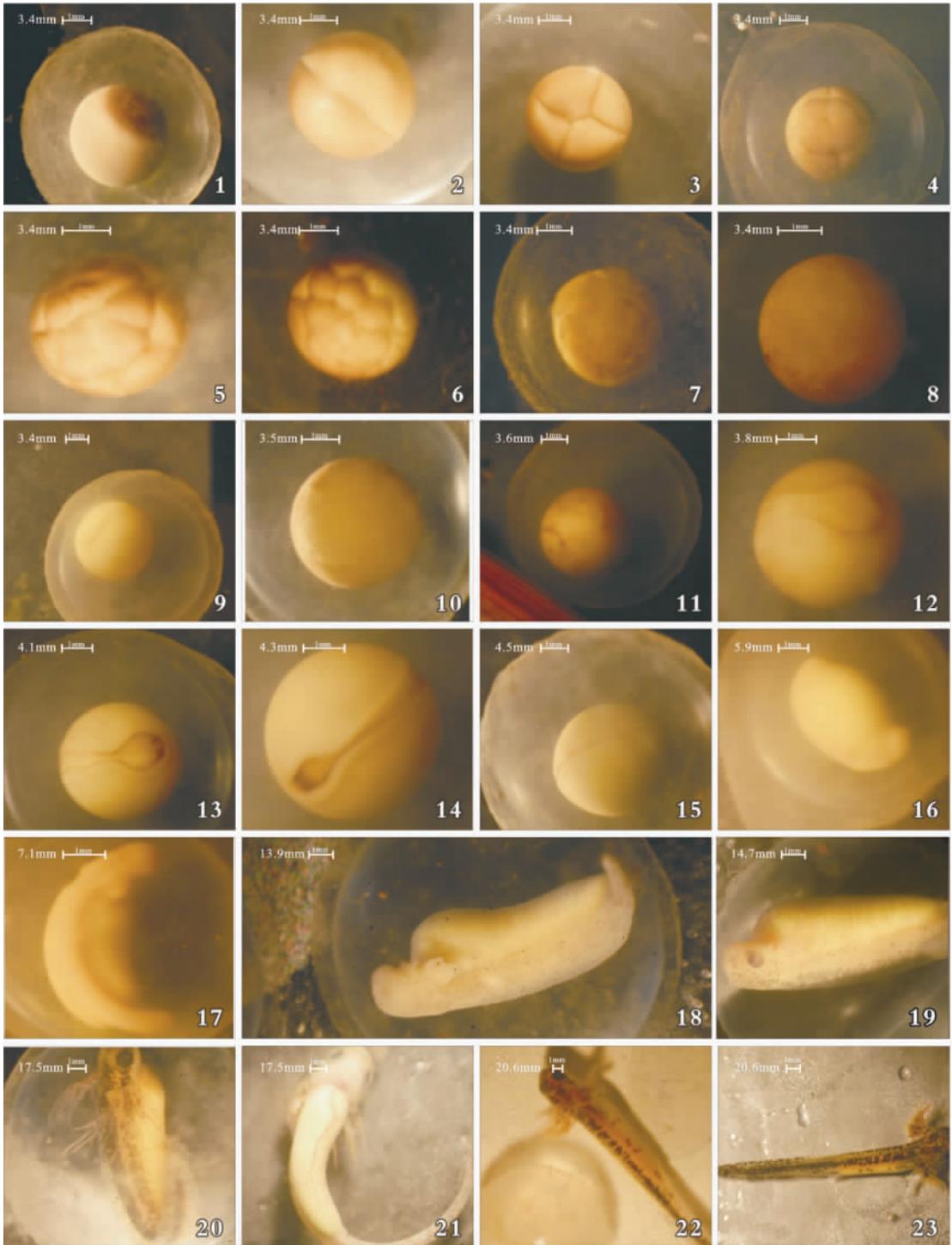
1. Fertilized egg (4×); 2. 2-cell stage (8×); 3. 4-cell stage (6×); 4. 8-cell stage (4×); 5. 16-cell stage (6×); 6. Multi-cell stage (4×); 7. Early blastula stage (6×); 8. Late blastula stage (12×); 9. Early gastrula stage (4×); 10. Middle gastrula stage (4×); 11. Late gastrula stage (6×); 12. Neural plate stage (4×); 13. Neural fold stage (6×); 14. Neural groove stage (6×); 15. Neural tube stage (6×); 16. Early tail bud stage (4×); 17. Late tail bud stage (4×); 18. Early external gill stage (6×); 19. Late external gill stage (8×); 20、21. Early fore-limb bud stage (8×); 22、23. Incubation stage (4×). Bar = 1 mm. The data is average diameter (excluding egg jelly) of the egg in figure 1-9; The data is average total length of the embryo in each period in figure 10-23.

向孙军等:文县疣螈早期胚胎发育

图版 I

XIANG Sun-Jun *et al.*: Early Embryonic Development of *Tylototriton wenshanensis*

Plate I



图版说明见文后