

# 金线蛙早期胚胎发育的初步观察

韩曜平 卢祥云

(常熟高等专科学校生物化学系 常熟 215500)

**摘要:**报道了金线蛙的早期胚胎发育。自受精卵期至鳃盖完成期共分为 26 个时期,其发育历程及各时期胚胎外形特征与黑斑蛙基本相似,但孵化期比黑斑蛙推迟三个胚期而早于泽蛙,在水温( $20 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 及常温( $21.5 \sim 24$ ) $^{\circ}\text{C}$ 条件下,其胚胎发育的全时程分别为 212.94 小时和 170.95 小时。

**关键词:**金线蛙;胚胎发育

**中图分类号:**Q954 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)01-06-06

## Early Embryonic Development in *Rana plancyi*

HAN Yao-Ping LU Xiang-Yun

(Department of Biology and Chemistry, Changshu College Changshu 215500, China)

**Abstract:**The early embryonic development in *Rana plancyi* was studied in constant water ( $20 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  and natural temperature( $21.5 \sim 24$ ) $^{\circ}\text{C}$ ). The development process, from fertilized egg to spiracular formation can be divided into 26 stages, took 212.94 hours under the water temperature of ( $20 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  and 170.95 hours under the natural temperature( $21.5 \sim 24$ ) $^{\circ}\text{C}$ ). The external morphological characteristics in various stages of the embryonic development were similar to those of *Rana nigromaculata*, but the hatching stage was later than that of *Rana nigromaculata* and earlier than that of *Rana limnocharis*.

**Key words:***Rana plancyi*; Embryonic development

**第一作者简介** 韩曜平,男,35岁,硕士,讲师;研究方向:动物学;

**收稿日期:**1999-12-24,修回日期:2000-08-30

无尾两栖类在胚胎教学、科研中占有重要的位置。对无尾两栖类早期胚胎发育的研究,目前已有一些报道<sup>[1-7]</sup>,这些研究不同程度地丰富了无尾两栖类胚胎发育的材料。在我国金线蛙(*Rana plancyi*)主要分布于华东及华中区的部分省,北至河北、山西一带,且数量较多,其产卵季节较长,是教学、科研中方便的材料。关于该蛙早期胚胎发育的研究,至今未有报道。我们于1999年夏季对分布于江苏南部的金线蛙的胚胎发育进行了初步观察,现报道如下。

## 1 材料与方 法

本研究所用材料采集于江苏省常熟市昆承湖流域,时间选择在金线蛙繁殖季节(5~6月份)。采集正在抱对的金线蛙带回实验室暂养,挤压雌体腹部,有卵粒排出时,即进行人工授精。人工挤压采卵,授精按朱治平<sup>[2]</sup>的方法进

行,受精卵翻转后,分培养缸(直径15 cm)进行孵化(每缸30~50个卵)。

对受精卵做定温( $20 \pm 0.5$ )℃、常温( $21.5 \sim 24$ )℃两个温度条件的孵化观察,其它条件一致。胚胎发育的观察在解剖镜下进行,并对每一时期的胚胎形态特征进行描述,记录时间,用游标卡尺测量活体长度,每项量衡度的测量次数为10次。显微摄影用标本为刚固定的各期胚胎,并用5%的福尔马林液保存。

## 2 结 果

胚胎各期的划分参照朱治平<sup>[2]</sup>对黑斑蛙的分期,以占观察总数1/2以上的胚胎显示某一时期典型特征的时刻,作为该期发育的开始和前一个发育时期的结束。现将各期胚胎主要外形或生理特征,各条件下的发育时间及测量结果描述如下(图1:1~26,表1、2)。

表1 金线蛙发育时程 (单位:小时)

发育时期	水温( $20 \pm 0.5$ )℃		常温( $21.5 \sim 24$ )℃	
	距受精时间	本期时长	距受精时间	本期时长
1 受精卵期	0	1.67	0	1.47
2 2细胞期	$2.59 \pm 0.13$	0.92	$2.25 \pm 0.10$	0.78
3 4细胞期	$3.38 \pm 0.12$	0.77	$2.94 \pm 0.08$	0.69
4 8细胞期	$4.19 \pm 0.12$	0.83	$3.67 \pm 0.12$	0.73
5 16细胞期	$5.39 \pm 0.10$	1.20	$4.50 \pm 0.12$	0.83
6 32细胞期	$10.14 \pm 0.20$	4.75	$5.80 \pm 0.15$	1.30
7 囊胚早期	$12.31 \pm 0.17$	2.17	$7.23 \pm 0.14$	1.43
8 囊胚中期	$14.14 \pm 0.23$	1.83	$8.78 \pm 0.17$	1.55
9 囊胚晚期	$13.64 \pm 0.50$	2.50	$10.95 \pm 0.34$	2.17
10 原肠胚早期	$23.14 \pm 0.25$	6.50	$17.12 \pm 0.34$	6.17
11 原肠胚中期	$30.47 \pm 0.32$	7.33	$24.62 \pm 0.25$	7.50
12 原肠胚晚期	$41.24 \pm 0.75$	10.77	$27.73 \pm 0.45$	3.11
13 神经板期	$44.64 \pm 1.17$	3.40	$30.13 \pm 0.50$	2.40
14 神经褶期	$48.56 \pm 0.83$	3.92	$33.55 \pm 0.60$	3.42
15 胚胎转动期	$52.34 \pm 0.75$	3.78	$35.78 \pm 0.50$	2.23
16 神经管期	$58.59 \pm 0.88$	6.25	$39.26 \pm 0.72$	3.48
17 尾芽期	$69.22 \pm 1.50$	10.63	$46.38 \pm 0.83$	7.12
18 肌肉效应期	$84.47 \pm 0.50$	15.25	$61.48 \pm 0.68$	15.00
19 心脏跳动期	$102.97 \pm 1.12$	18.50	$75.65 \pm 1.17$	14.17
20 鳃血循环期	$124.40 \pm 1.33$	21.43	$94.15 \pm 1.10$	18.50
21 孵化期	$134.78 \pm 2.83$	10.38	$104.45 \pm 2.73$	10.30
22 开口期	$155.95 \pm 2.12$	21.17	$125.78 \pm 1.83$	21.33
23 尾血循环期	$175.48 \pm 2.33$	19.53	$137.46 \pm 2.17$	11.68
24 鳃盖褶期	$185.65 \pm 2.90$	10.17	$143.33 \pm 1.50$	5.87
25 右鳃盖闭合期	$206.32 \pm 2.50$	20.67	$164.33 \pm 3.25$	21.00
26 鳃盖完成期	$212.94 \pm 2.40$	6.62	$170.95 \pm 2.83$	6.62

注:距受精时间为本期结束时的时间,测量次数均为10次

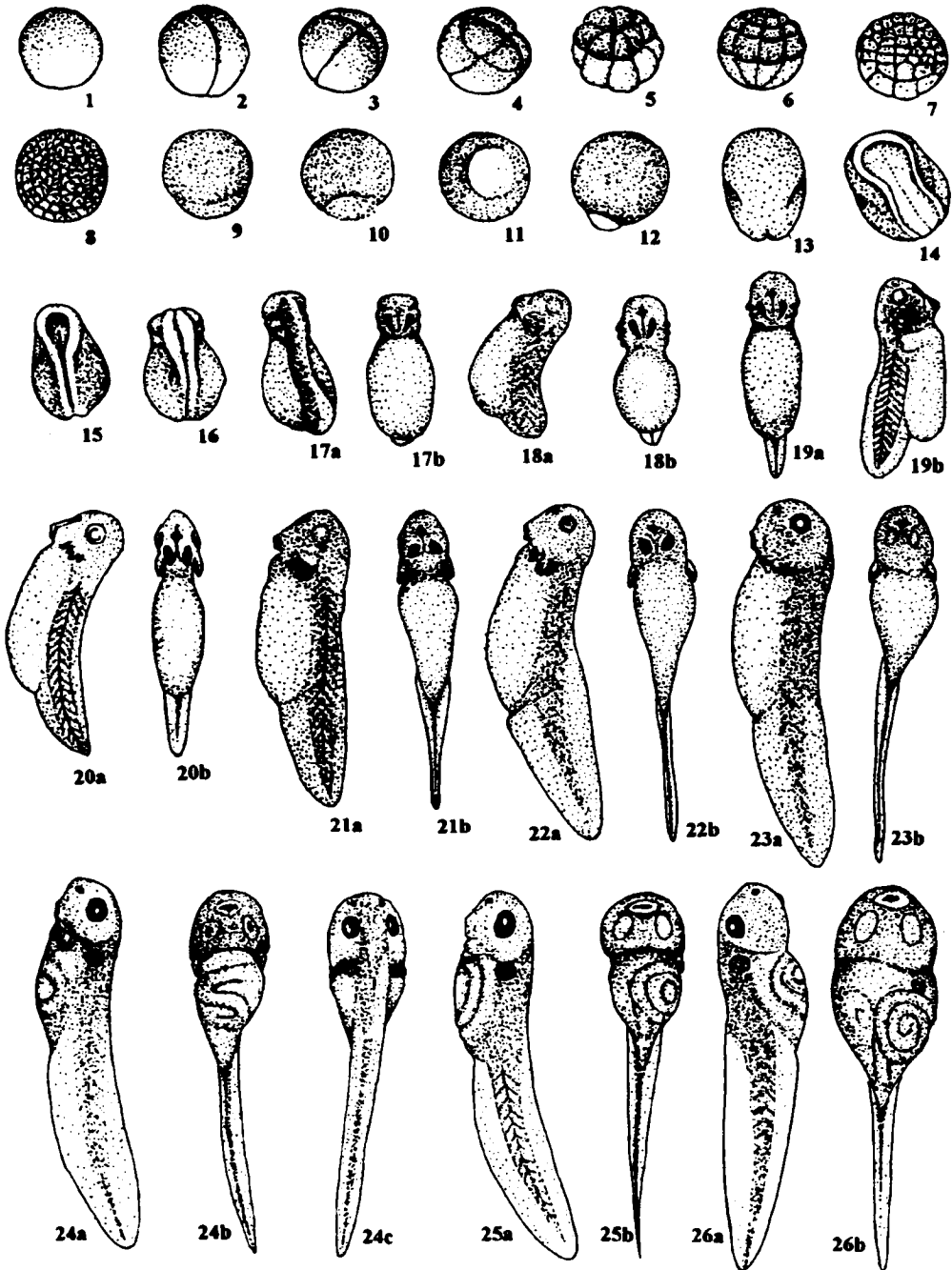


图1 金线蛙早期胚胎发育

1. 受精卵期×13.5; 2. 2细胞期×13.5; 3. 4细胞期×13.5; 4. 8细胞期×13.5; 5. 16细胞期×13.5; 6. 32细胞期×13.5; 7. 囊胚早期×13.5; 8. 囊胚中期×13.5; 9. 囊胚晚期×13.5; 10. 原肠胚早期×13.5; 11. 原肠胚中期×13.5; 12. 原肠胚晚期×12.5; 13. 神经板期×12.5; 14. 神经褶期×12; 15. 胚胎转动期×12; 16. 神经管期×12; 17a. 尾芽期,背面观×13.5; 17b. 尾芽期,腹面观×13.5; 18a. 肌肉效应期,侧面观×13.5; 18b. 肌肉效应期,腹面观×13.5; 19a. 心跳期,腹面观×11; 19b. 心跳期,侧面观×11; 20a. 鳃血循环期,侧面观×14.5; 20b. 鳃血循环期,腹面观×14.5; 21a. 孵化期,侧面观×14.5; 21b. 孵化期,腹面观×14.5; 22a. 开口期,侧面观×13.5; 22b. 开口期,腹面观×13.5; 23a. 尾血循环期,侧面观×14.5; 23b. 尾血循环期,腹面观×14.5; 24a. 鳃盖褶期,侧面观×13.5; 24b. 鳃盖褶期,腹面观×13.5; 24c. 鳃盖褶期,背面观×13.5; 25a. 右鳃盖闭合期,侧面观×13.5; 25b. 右鳃盖闭合期,腹面观×13.5; 26a. 鳃盖完成期,侧面观×13.5; 26b. 鳃盖完成期,腹面观×13.5

表 2 金线蛙各发育时期胚胎直径或胚体长 (单位:mm)

发育时期	卵径或胚体长 ( $\bar{X} \pm SD$ )	发育时期	卵径或胚体长 ( $\bar{X} \pm SD$ )
1 受精卵期	1.44 ± 0.041	14 神经褶期	2.32 ± 0.073
2 2细胞期	1.54 ± 0.025	15 胚胎转动期	2.40 ± 0.055
3 4细胞期	1.60 ± 0.024	16 神经管期	2.52 ± 0.083
4 8细胞期	1.62 ± 0.043	17 尾芽期	2.64 ± 0.065
5 16细胞期	1.64 ± 0.021	18 肌肉效应期	3.36 ± 0.092
6 32细胞期	1.66 ± 0.036	19 心脏跳动期	4.46 ± 0.095
7 囊胚早期	1.70 ± 0.056	20 鳃血循环期	4.64 ± 0.084
8 囊胚中期	1.73 ± 0.036	21 孵化期	5.52 ± 0.110
9 囊胚晚期	1.78 ± 0.027	22 开口期	5.66 ± 0.105
10 原肠胚早期	1.81 ± 0.043	23 尾血循环期	5.88 ± 0.120
11 原肠胚中期	1.83 ± 0.038	24 鳃盖褶期	5.44 ± 0.110
12 原肠胚晚期	1.96 ± 0.047	25 右鳃盖闭合期	6.68 ± 0.120
13 神经板期	2.16 ± 0.076	26 鳃盖完成期	8.18 ± 0.150

注:测量时随机取 10 个胚胎测量

**2.1 受精卵期** 自卵受精至第一次卵裂沟出现为止。刚排出的卵粒聚成不定团块状,卵子由 3 层胶膜包被。卵受精后翻转,动物半球朝上,呈棕褐色,接近占卵表面的 1/2,中央有时有一小黑点,为第一极体,很快消失;植物半球乳白色。金线蛙多数受精卵有灰色新月区,且第一次分裂必通过该区(图 1:1)。

**2.2 2细胞期** 自第一次卵裂沟出现至第二次卵裂沟出现止。第一次卵裂为经裂,卵裂沟从动物极中央区开始,逐渐向植物极延伸,形成一条深纵沟,形成的两个细胞大小基本相等(图 1:2)。

**2.3 4细胞期** 自第二次卵裂沟出现至第三次卵裂沟出现止。第二次分裂亦为经裂,并与第一次分裂垂直,形成四个细胞大小基本相等(图 1:3)。

**2.4 8细胞期** 自第三次卵裂沟出现至第四次卵裂沟出现止,纬裂。卵裂沟沿动、植物极交界面形成,将动植物极分割开。动物极四个细胞较小且大小基本相等,呈棕褐色,植物极四个细胞较大,也基本相等,呈乳白色(图 1:4)。

**2.5 16细胞期** 自第四次卵裂沟出现至第五次卵裂沟出现止,经裂。形成两个卵裂面,分裂完成后形成大小不等、形状不规则的 16 个分裂球(图 1:5)。

**2.6 32细胞期** 自第五次卵裂沟出现至第六

次卵裂出现止,纬裂。虽有两个分裂面,但分裂不规则,分裂细胞的大小不等且排列也不规则(图 1:6)。

**2.7 囊胚早期** 自第六次卵裂后,卵裂不规则,没有明显的分裂面,分裂细胞变小,数量较多,胚体表面不平整,呈桑椹状(图 1:7)。

**2.8 囊胚中期** 胚体表面光滑平整,但细胞界限仍可分辨,即进入囊胚中期(图 1:8)。

**2.9 囊胚晚期** 胚体表面动物极细胞界线不清时即进入囊胚晚期,止于原肠胚背唇出现。胚体表面光滑,色素冠向植物极延伸,约占整个胚体 2/3,植物极底部无色素(图 1:9)。

**2.10 原肠胚早期** 胚体在偏植物极的一处,下凹成一月牙状小缝,胚胎进入原肠胚早期。月牙状小缝为原口沟,其背缘为背唇,此小缝向下延伸成马蹄状时,原肠胚早期结束(图 1:10)。

**2.11 原肠胚中期** 胚体原口沟成马蹄状时即进入原肠胚中期,背唇向两侧扩展加深,形成半圆形的侧唇(图 1:11)。

**2.12 原肠胚晚期** 胚体原口沟延伸汇合成圆形胚孔,即进入原肠胚晚期。此期卵黄栓由大变,胚体背部渐平坦、增厚,胚体延长略成梨形(图 1:12)。

**2.13 神经板期** 卵黄栓陷入原口,胚孔封闭,胚体成梨形,即进入神经板期。此时,胚体背部

平坦、增厚,胚孔成一小白点,形成前宽后窄的神经板(图 1:13)。

**2.14 神经褶期** 胚体神经板前端边缘隆起成褶状即进入神经褶期。胚胎神经板从前端边缘开始向后逐渐隆起形成神经褶,背中央成小沟即为神经沟,胚体略伸长(图 1:14)。

**2.15 胚胎转动期** 也称神经沟期。胚体两侧神经褶从后向前逐渐向中央靠拢,中间成沟状,即为神经沟。胚体表面有纤毛,使胚胎在卵胶膜内微微转动,胚体伸长(图 1:15)。

**2.16 神经管期** 自神经管形成至尾芽明显时止。胚体神经褶自后端起始向前渐次愈合为神经管。此时,前端两侧增厚隆起,形成感觉板,鳃板锥形、口吸盘原基出现。头部与胸部之间变细(图 1:16)。

**2.17 尾芽期** 自尾芽翘起至肌肉效应出现止。胚胎后端明显出现尾芽,并逐渐伸长翘起,口吸盘已形成为倒八字形,感觉板、鳃板已明显,鳃板上原肾基稍隆起,体背部成纵隆起,肌节开始略显(图 1:17a,b)。

**2.18 肌肉效应期** 自胚体受刺激时出现左右扭动至心脏跳动止。主要特征为胚体受到刺激能左右扭动;尾伸长,鳃板隆起为三棱状、眼泡、肾原基及肌节明显(图 1:18a,b)。

**2.19 心跳期** 从心脏跳动开始至鳃血循环时止。除心跳为此期的特点外,口窝及嗅窝明显,鳃部已有两个芽状突起,为第一、二外鳃芽,胚体伸长(图 1:19a,b)。

**2.20 鳃血循环期** 从鳃出现血循环至孵化止。出现鳃循环时,三枝外鳃形成,中鳃发育快,已有两个小分枝,前鳃单枝,后鳃只有一小突起,以后分枝增多。外鳃丝内血液流动呈脉冲状,血液无色;眼眶明显可见,口窝加深,尾部加长,尾鳍增高(图 1:20a,b)。

**2.21 孵化期** 从胚胎开始出胶膜到开口期止。孵化时,胚体左右扭动逐渐将三层胶膜撕破,胚体脱出胶膜,此时蝌蚪以口吸盘粘于胶膜上。刚孵化的蝌蚪,侧卧于培养缸底,惊扰时,只能做短距离游动,身体不能保持平衡。蝌蚪体伸长,鳃发育完全,为前 2 分枝,中 3 分枝,后

1 枝,腹后部变窄(图 1:21a,b)。

**2.22 开口期** 从开口到尾血循环可见时止。口窝内的口板膜穿通,眼的角膜稍显透明,晶体明显可见,但虹膜色素未形成;腹部缩短,腹前部加宽(图 1:22a,b)。

**2.23 尾血循环期** 明显可见尾鳍后部的小血管内有血液川流,血球红色;口部有尚未硬化变黑的角质齿生成;眼球虹膜上缘有黑色素出现;腹部进一步缩短,前部加宽。发育后期,口吸盘退化,蝌蚪能自由游动并保持身体平衡(图 1:23a,b)。

**2.24 鳃盖褶期** 外鳃基部出现褶状突起,并逐渐向鳃丝末端延伸,眼球虹膜黑色素成环形,口角质齿硬化变黑,肠管发生弯曲,内有绿色食物,肛孔打通。肺芽伸长,在鳃后逐渐形成褐色斑(图 1:24a,b,c)。

**2.25 鳃盖右侧闭合期** 右侧鳃丝渐缩短,鳃盖褶伸展盖过鳃丝,最后包围鳃丝,其边缘与腹壁表皮愈合,此时左侧的鳃褶已向腹部伸展盖过鳃丝多半。另外,有少部分个体左鳃褶闭合在先,并在体左侧与腹壁愈合,而右侧鳃褶伸展在后(图 1:25a,b)。

**2.26 鳃盖完成期** 左侧鳃盖褶合拢,将鳃丝包入,在腹侧左前部留下一孔,为出水孔,少部分则在腹右侧前部形成出水孔。肺囊明显,在眼后形成褐色斑,至此,早期发育完成(图 1:26a,b)。

### 3 小结与讨论

**3.1 金线蛙发育历程** 金线蛙早期胚胎发育的形态变化,与已知的无尾两栖类胎胚发育大同小异,并无明显的差异。在水温( $20 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 和  $21.5 \sim 24^{\circ}\text{C}$  条件下,金线蛙的发育历期分别为 212.94 小时和 170.95 小时,同温度条件下比同属的黑斑蛙<sup>[2]</sup>和泽蛙<sup>[3]</sup>的时程慢。

**3.2 温度对胚胎发育的影响** 金线蛙胎胚发育,通过二种不同温度条件的比较发现,在受精卵期至 16 细胞期、囊胚期、原肠胚早至中期、神经褶期、肌肉效应期、孵化期、开口期及右鳃盖闭合期,发育历时变化不大,似乎说明,温度对

这几个时期胚胎发育影响不大,而温度影响比较大的时期为 32 细胞期、原肠胚晚期、神经管期、尾血循环期及鳃盖褶期等时期,有些发育历时相差一倍。这有待于进一步研究。

**3.3 关于孵化期** 金线蛙有一个明显的孵化期,在鳃血循环期后孵出,且比较整齐,比黑斑蛙晚三个胚期,同于泽蛙。

**3.4 卵黄栓消失时期** 金线蛙在原肠胚晚期卵黄栓尚未消失时,即出现胚体纵轴伸长背部趋于平坦,这与泽蛙<sup>[3]</sup>及狭口蛙属<sup>[4,6]</sup>种类一致,而异于已知的其它无尾两栖类。

**3.5 鳃盖闭合的个体差异** 金线蛙虽有一个右鳃盖褶闭合期,但亦有少数个体是以左鳃盖褶先闭合的,并形成右侧出水孔,出水孔为一缝状,与蛙属其它种类不一致。

**3.6 蝌蚪身体平衡的时期** 金线蛙孵化后能自由游泳,保持身体平衡,始于尾血循环期,早于黑斑蛙<sup>[1]</sup>、泽蛙<sup>[3]</sup>及姬蛙科几种<sup>[4-6]</sup>,同于黑眶蟾蜍<sup>[7]</sup>,似乎与发育经历时间有关,与孵化的迟早无关。

**3.7 肺囊出现的时期** 金线蛙从鳃盖褶期(第 24 期)开始,在两侧外鳃后方逐渐形成一褐色斑,解剖后确认为肺囊,位于内鳃室后背方,而其它种类的研究中,没有提及此结构,有待于进一步研究。

**致谢** 本工作得到了居红芳、李星老师的帮助,绘图工作由沈轶君同学完成,特表示感谢。

## 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] 朱治平, 施履吉. 黑斑蛙 *Rana nigromaculata* 正常发育表. 解剖学报, 1957, 2: 59~64.
- [3] 张健, 林丹军. 泽蛙胚胎发育的研究. 两栖爬行动物学报, 1987, 6(3): 26~33.
- [4] 费梁, 叶昌媛. 四川狭口蛙早期胚胎发育的初步观察. 两栖爬行动物学报, 1983, 2(1): 41~48.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 叶瑞琼, 洪小峰, 陈小舟. 黑眶蟾蜍早期胚胎发育的分期. 两栖爬行动物学报, 1986, 5(3): 185~188.