

黑斑蛙卵在水外发育的观察

赵尔 宽

(四川省生物研究所)

黑斑蛙 *Rana nigromaculata* (Hallowell) 卵是研究正常个体发育和实验发生学以及教学上常用的实验材料。但黑斑蛙卵的发育系在水内进行,需经常补充及更换培养液,在操作上不方便。

基于自然界中产卵在水外发育的两栖动物之普遍存在,正常产卵于水内发育的黑斑蛙卵是否也可以进行水外培养呢?遵照毛主席关于“**你要有知识,你就得参加变革现实的实践**”,“**一切真知都是从直接经验发源的**”教导,曾将产在天然水池中、发育到八细胞期的黑斑蛙卵若干平铺于培养皿内,不加水,倒覆于桌上,发现不但可正常发育到孵出,而且较水内发育的对照组快,孵出率也较高。因而又重试了两次,都获得同

样结果,其中一部分蝌蚪饲养到变态。

方法是采集刚产出不久的黑斑蛙卵,培养于直径9厘米的玻璃皿内,分三组:第I组平铺一层于皿底,不加水,亦不加盖;第II组处理同前,但加盖避免水分蒸发过快;第III组系正常的水内培养,做对照。全部操作结束时,尚未开始第一次卵裂。观察到第一次卵裂后,每天上午八点、十二点,下午两点半及六点半各观察一次,按照过去的分期标准*记录发育情况,同时记下室温和水温。所得结果如下:

(一) 发育进程 两次实验结果分别如图1及图2。发育期间室温和水温的变动都在4℃以内(参考最高最低温度计指示的室温变化)。由于未掌握排卵

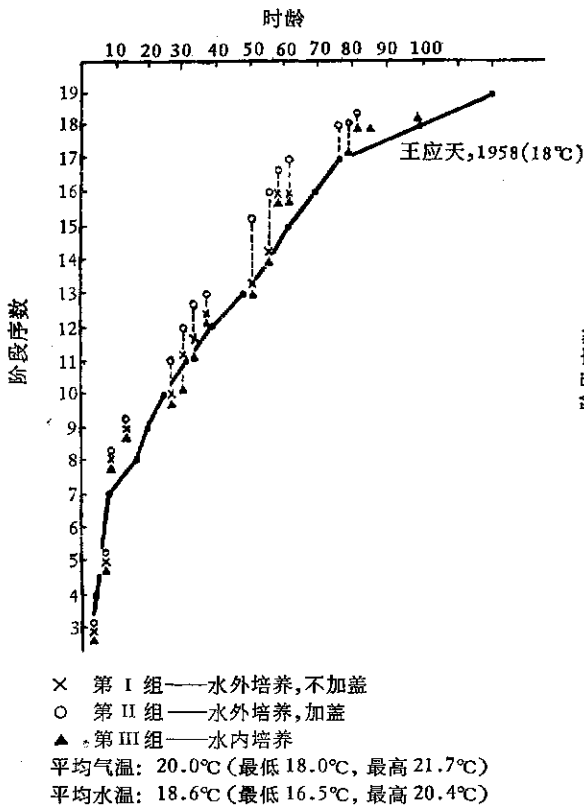


图1 实验一结果

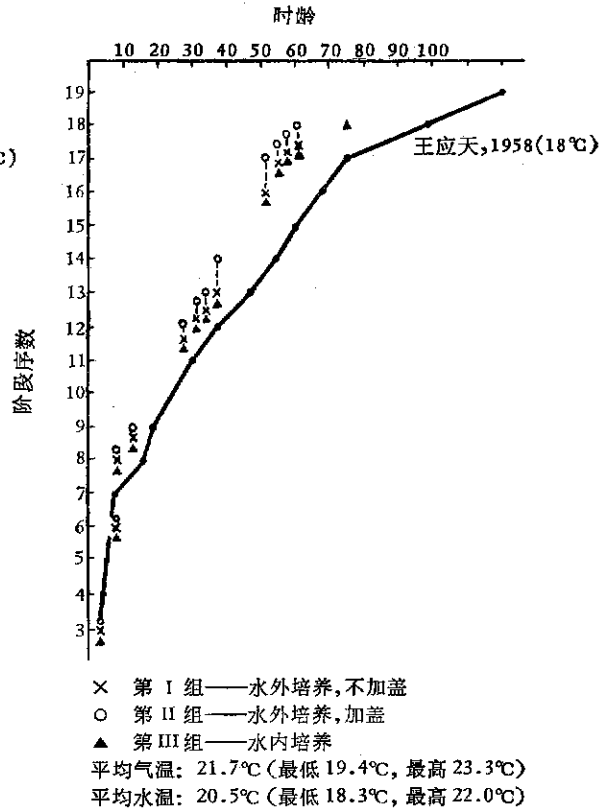


图2 实验二结果

* 王应天: 1958, 青蛙早期胚胎发育, 北京大学学报(自然科学版)(1): 95—105。

和受精时间,因两次实验卵裂开始前的室温和水温都在 18℃ 左右,估计与王应天在 18℃ 恒温下的结果出入不大,故发育时龄以开始第一次卵裂时作为 3 小时计算,以便于比较。

三组(第 I 组与第 II 组)分别有 2—4 碟,各碟发育速度分别一致)蛙卵最初的发育速度基本相似,原肠胚期(阶段 10——王应天关于黑斑蛙发育的阶段序数,下同)以后,第 III 组显较第 II 组落后 1/2—1 个阶段,可能与水温略低于气温有关。第 I 组在原肠胚期以后的发育也稍快于第 III 组,但随即互相接近。是否第 I 组在后期因水分蒸发较多,胶膜表面干燥,妨碍气体交换,发生缺氧;或因胶膜干燥变形,影响其中胚胎的发育,需进一步研究证实。

两次实验,第 I 组分别发育了 60.5 及 61 小时,达神经管期(阶段 16)或尾芽期(阶段 17),全部干死(位于周围的胚胎,干死犹早);第 II 组分别在时龄 80 及 61 小时达到肌肉效应期后(阶段 18⁺),全部孵出;第 III 组分别在时龄 97.5 及 74.5 小时达到肌肉效应期后孵出。

图中曲线系根据王应天关于黑斑蛙胚胎在 18℃ 恒温下的发育速度所绘,供比较。

(二) 孵出过程 初次观察时,因将玻皿倒覆于桌上,胶膜外附着的水分流失,发育后期颇为干燥,到肌肉效应期后,经加入大量水分,5 分钟后开始孵出,45 分钟后大量孵出,至 1 小时孵出结束。曾将玻皿置双筒解剖镜下观察幼体出膜过程,如图 3。从形态学角度看,幼体自胶膜内释出决定于三个因素:(1)孵出酶在适宜条件下将靠近额部的胶膜溶穿一孔;(2)幼体本身的纤毛运动;(3)当幼体一部分移出胶膜后,观察到幼体留于膜内部分有瞬时滑出胶膜的现象,可能是由于膜内形成暂时的负压时,胶膜收缩所致。量 10 个刚

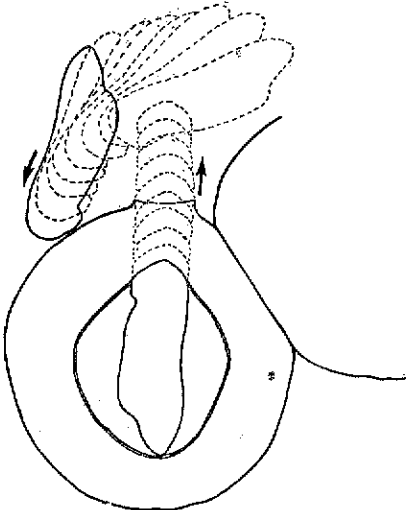
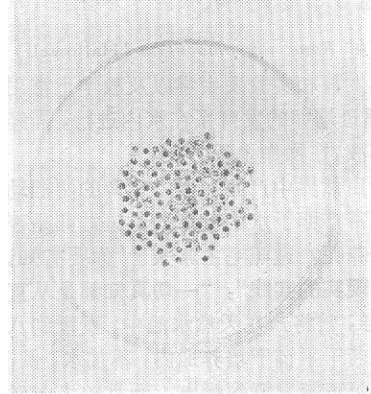


图 3 幼体从胶膜内释出吸附于胶膜表面的过程

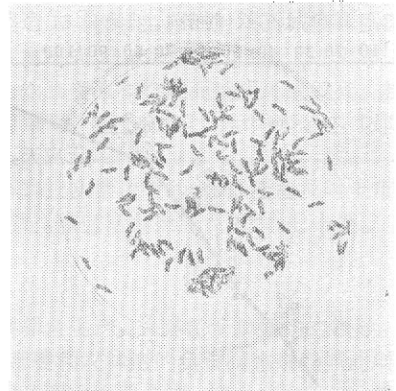
孵出的幼体,全长 4.1—4.3 毫米,平均 4.2 毫米,未见心跳。以后的两次实验因第 II 组蛙卵的胶膜一直保持较多水分,临近孵出时,全部胶膜发生稀溶现象。

(三) 孵出率 第 I 组未达到孵出期即干死。第 II 组及第 III 组孵出情况如下页表。

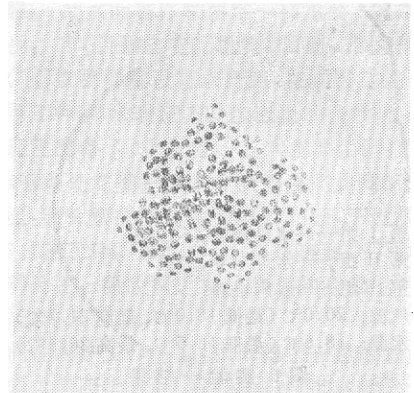
实验二第 III 组系培养于 30×19×5 厘米解剖盘内,水深 4 厘米左右,卵分布于水的上下层。下层的



4-1 黑斑蛙卵水外发育,时龄 9.5(实验一,II 组之 2)



4-2 黑斑蛙卵水外发育孵出情况(实验二,II 组之 1)



4-3 黑斑蛙卵水外发育干死情况(实验二,I 组之 2)

图 4 黑斑蛙卵在水外发育的观察

黑斑蛙卵水外培养孵出情况

实验	组别	碟号	卵数	孵出数	孵出率(%)
一	II	1	100	98	98.00
		2	97	92	94.85
	III		40	36	90.00
二	II	1	172	172	100.00
		2	260	260	100.00
		3	178	178	100.00
		4	155	155	100.00
	III		176	56	31.82

发育差,故孵出率特别低。这种情况在天然水域中发育时经常遇到。未孵出的蛙胚停滞于尾芽期(56个)、神经管期(33个)、纤毛动作期(21个)及其以前(10个)。

由此可见,正常情况下产卵于水内发育的黑斑蛙卵,在胶膜充分吸水后,避免过度蒸发的条件下,可以在水外发育到孵出。说明两栖动物胚胎发育过程中,外环境中大量水份的存在,对膜内胚胎的正常发育不是必需的。

建议以两栖动物卵作为材料研究胚胎发育时,可让卵胶膜充分吸水后,将卵单层平铺于有盖的血底,在恒温或室温下进行培养,可以收到手续简便、节约空间、发育整齐及孵出率高等效果。