第 19 卷 第 3 期　　水 生 生 物 学 报　　Vol. 19, No. 3
1995 年 9 月　　ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA　　Sep., 1995

棘胸蛙早期胚胎发育的初步观察

虞鹏程　　林光华
（南昌大学生物科学工程系，330047）

提　　要

在 25.15±0.22℃ 恒温条件下观察了棘胸蛙的正常胚胎发育。根据外部形态特征、主要生理特征及胚胎行为的出现，将棘胸蛙的胚胎发育划分为 27 期，从受精卵到孵化出膜约 234 h。胚胎发育期间的总积温（总热量）为 5887℃。卵的受精期 1.5h。卵裂期历时 29h 33min，原肠形成期历时 16h 42min，器官形成期共历时 186h 86min。

关键词　棘胸蛙，早期胚胎发育

两栖类动物的胚胎发育在动物胚胎学和发育生物学中占有重要地位，因而对两栖类动物胚胎发育的研究一贯受到重视，资料较多[4-8]。但在我国江南山区分布较广的棘胸蛙八十年代还缺乏这方面的资料。棘胸蛙（*Rana spinosa* David）是一种体型较大的蛙类，它不仅在大自然界生态平衡中占有重要的地位，而且是一种肉质鲜美的食用动物。为了保护和开发这一山区珍贵资源，同时进行人工繁殖与饲养时，也必须研究其胚胎发育。

1　材料与方法

材料取自婺源县考源蛙场[1-3]，观察用卵主要是通过人工催产（注射 LRH-A_3 等）获得的，一部分取自该蛙场自然产卵的卵子。1988 年 7 月 9 日上午 7 时 20 分始，作者从刚产的受精卵群中取材，置于培养缸中孵化，人工控制水温为 25.15±0.22℃，另取 10 粒发育正常的受精卵在培养皿中置于双筒解剖镜下观察，当有 6 个受精卵到达某一发育阶段时，记为此发育阶段的起始时间，到下一个发育阶段的起始时间则为发育间隔时间，与此同时，从同一批材料中取材固定于 5% 福尔马林液中，固定后的材料换用 3% 福尔马林液保存。观察记录每一发育时期胚体的外部形态结构，测量胚体长度及部分器官的长度与宽度，并在双筒解剖镜下精心绘制每一发育阶段的图形。

2　结果

参照通常的分期方法，根据胚胎的外部形态和内部器官的形成、生理功能和行为将棘胸蛙的胚胎发育从受精卵的形成到卵黄吸收完毕分为 27 期，其发育时程见表 1。

现将棘胸蛙早期胚胎发育的各期主要特征记述如下。

1993 年 12 月 25 日收到。

表 1　棘胸蛙胚胎发育早期时程表（h）

Tab. 1　A schedule of the course of the early embryonic development of *Rana Spinosa*

序号 Ordinal.	发育时期 The period of development	起始时龄 Time Original	间隔时数 Interval time	观察次数 observation times
1.	受精卵 Fertilized egg	0.00	1.50	6
2.	2 细胞期 2-cell stage	1.50	3.00	6
3.	4 细胞期 4-cell stage	4.50	1.33	6
4.	8 细胞期 8-cell stage	5.83	1.32	6
5.	16 细胞期 16-cell stage	7.15	0.85	6
6.	32 细胞期 32-cell stage	8.00	0.91	6
7.	64 细胞期 64-cell stage	8.91	2.34	6
8.	多细胞期 Multicellular stage	11.25	2.41	6
9.	囊胚早期 Early-blastula stage	13.66	8.67	6
10.	囊胚晚期 Late-blastula stage	22.33	8.50	6
11.	原肠早期 Early-gastrula stage	30.83	1.17	6
12.	原肠中期 Mid-gastrula stage	32.00	4.08	6
13.	原肠晚期 Late-gastrula stage	36.08	11.17	6
14.	神经板期 Neural plate stage	47.25	3.08	5
15.	神经褶期 Neural folds stage	50.33	3.00	5
16.	纤毛运动期 Ciliary movement stage	53.33	5.07	5
17.	神经管形成期 Neural tube formation stage	58.40	2.26	5
18.	肌效应期 Nusole functioning stage	60.66	22.67	5
19.	心跳期 Hearrt beat stage	83.33	2.00	5
20.	外鳃形成期 Outer gill formation stage	85.33	21.33	4
21.	尾鳍膜出现期 Tail fin membrane appearance stage	106.66	7.34	4
22.	晶体形成期 Crystalline lenses formation stage	114.00	21.52	4
23.	眼球色素期 Eyeball pigment stage	135.52	46.28	4
24.	体色素出现期 Body pigment appearance stage	181.80	22.21	4
25.	鳃盖完成期 Gill cover fruition stage	204.01	30.10	4
26.	出膜期 Hatching stage	234.11	35.30	4
27.	卵黄吸尽期 Egg yolk complete absorption stage	269.41		4

第 1 时期（受精卵期）　受精卵圆球形，直径 3.2—3.4mm，色素较深，仅分布在动物极周围。卵外包有胶膜，胶膜三层；外层互相粘连，但不牢固，膜厚 5mm。受精后 20—30 min，卵黄围隙形成，受精卵开始转动，动物极向上，植物极向下，灰色新月不明显（图 1）。

第 2 时期（2 细胞期）　第一次为经裂，仅在动物极色素区中部出现一条纵行分裂沟，分割线不进入色素区（图 2）。其外胶膜继续胀大。

第 3 时期（4 细胞期）　第二次仍为经裂，分割线与第一次呈垂直交叉，但仍不进入无色素区。四个分裂球分割不完整，但大小相近（图 3）。卵外胶膜仍在胀大，胶膜厚度增至 0.75mm。

第 4 时期（8细胞期）　第三次仍为经裂，为平行于第一次卵裂，垂直于第二次卵裂的两条分割线，分裂线仍在色素区内，分割为 8 个不完整的分裂球，大小相等（图 4）。胶膜厚度仍在继续增大。

第 5 时期（16 细胞期）　第四次卵裂在动物性半球色素区内进行，为平行于第二次卵

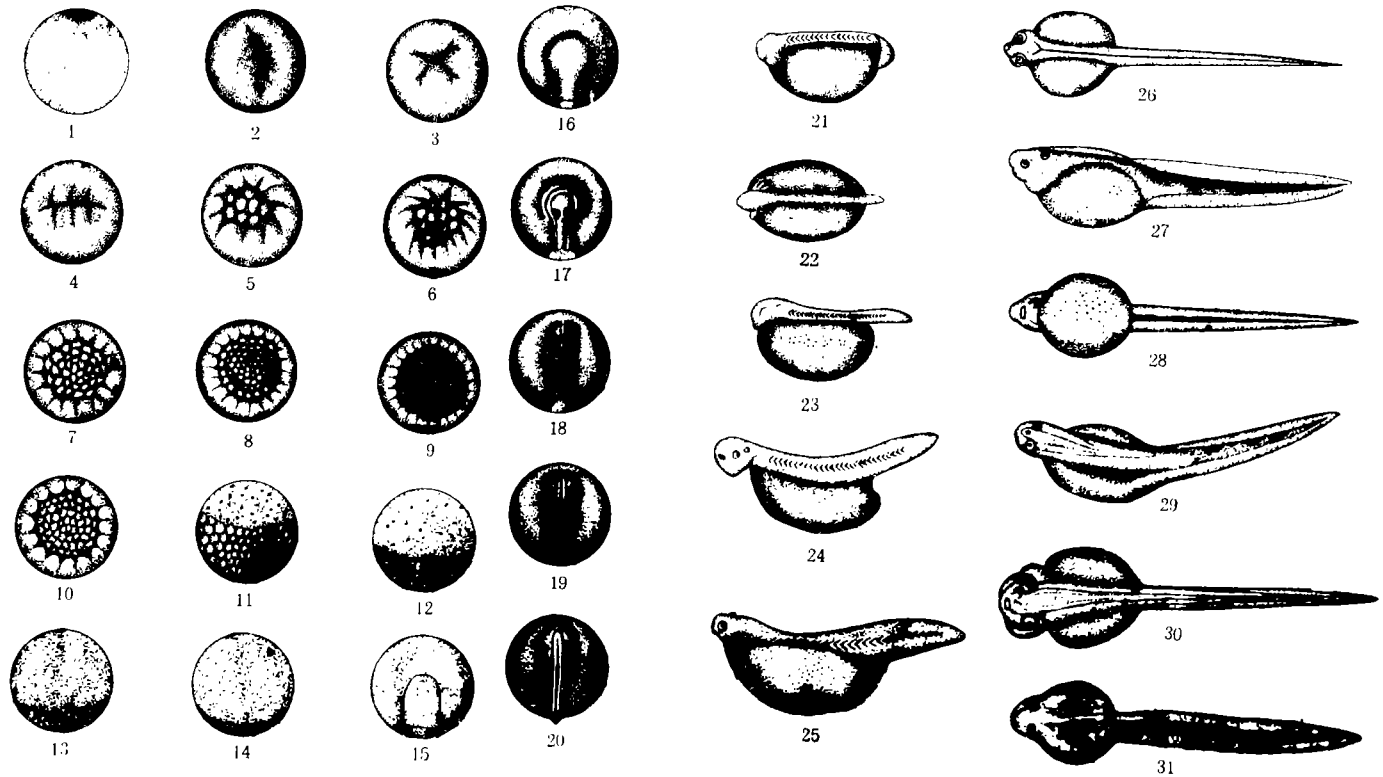


图 1—31 棘胸蛙早期胚胎发育

Fig. 1—31 The early embryonic development of *Rana spinosa*

1.受精卵(侧面观)； 2. 2 细胞期(顶面观)； 3. 4 细胞期(顶面观)； 4. 8 细胞期(顶面观)； 5.16 细胞期(顶面观)； 6.32 细胞期(顶面观)； 7.64 细胞期(顶面观)； 8.128 细胞期(顶面观)； 9.多细胞期(顶面观)； 10.囊胚早期(顶面观)； 11.囊胚晚期(侧面观)； 12.原肠早期(侧面观)； 13.原肠中期(侧面观)； 14.原肠晚期(侧面观)； 15.原肠晚期(顶面观)；示原肠腔和原口； 16.神经板期(顶面观)； 17.神经褶期(顶面观)； 18.纤毛运动期(胚体转动期顶面观)； 19.神经管形成期(顶面观)； 20.肌肉效应期(背面观)； 21.心跳期(侧面观)； 22.外鳃形成期(背面观)或鳃血循环期； 23—24.尾鳍膜出现期(侧面观)； 25.晶体形成期(侧面观)； 26.眼球色素期(背面观)； 27.体色素出现期(侧面观)； 28.体色素出现期(腹面观)； 29.鳃盖完成期(背面观)； 30.出膜期(背面观)； 31.卵黄吸尽期(背面观)。

裂线，垂直于第三次卵裂线的 2 条经裂线，形成 8 个完整的中央细胞，大小相等；还有 8 个外缘的不完整的边周细胞(图 5)。卵径不变，但胶膜仍在增厚。

第 6 时期(32 细胞期)　卵裂仍在动物性半球色素区内进行，有经裂也有纬裂，中央区分出 15—16 个完整的细胞，其外围为分裂不完整的细胞(图 6)。胶膜膨胀仍在进行。

第 7 时期(64 细胞期)　卵裂有经裂也有纬裂，中央分出完整的 36—38 个细胞不等，其外围仍为分裂不完整的细胞，分裂线仍未进入无色素区(图 7)。胶膜仍在增厚。

第 8 时期(多细胞期)　卵裂仍在动物性半球色素区内进行，分裂球从中央至边周，中央的体积小，边缘的体积大，已分裂出 250 多个细胞(图 8、9)。胶膜仍在增厚。

第 9 时期(囊胚早期)　动物性半球色素区在增大，占全卵的 1/3 强，无色素区也出现了分裂沟，色素区内细胞体积小，无色素区内的细胞体积大，此时期在动物性半球内出现囊胚腔(图 10)。胶膜增至 5mm 厚，至此，卵胶膜不再膨胀。

第 10 时期(囊胚晚期)　动物性半球的细胞不断分裂增殖，使此区域面积不断扩大，植物性半球体积较大的细胞也分裂增殖，体积变小，囊胚腔扩大，仍偏位于动物性半球中部(图 11)。

第 11 时期(原肠早期)　动物性半球含色素的小细胞下包植物性半球的无色素的大细胞区，部分小细胞在未来胚胎背中央后端内陷并向内移入，形成背唇。背唇的出现表示原肠形成的开始(图 12)。

第 12 时期(原肠中期)　含色素的小细胞继续下包，背唇加厚加宽，无色素细胞随卵裂个体继续变小，并不断被小细胞包入，细胞下包全卵 1/4 强。此时，原肠腔明显，位于囊胚腔背方(图 13)。

第 13 时期(原肠晚期)　含色素的小细胞继续下包到全卵的 4/5，原口背唇区加厚，侧唇和腹唇形成，原口明显，由于含卵黄无色素的细胞未被完全包入，所以，卵黄栓明显(图 14、15)。

第 14 时期(神经板期)　卵黄栓由于细胞下包进一步缩小，在原口背唇前方，神经物质在未来胚胎背部集中，构成一前宽后狭的板状结构，称为神经板(图 16)。

第 15 时期(神经褶期)　在胚胎背部，神经板细胞两边起褶，使宽度变狭，长度增加而形成神经沟。神经沟前宽后狭，前部和褶的两侧外方，可见增厚的板状结构，这是感觉板的原

1. Fertilized egg (lateral view); 2. 2-cell stage (apical view); 3. 4-cell stage (apical view); 4. 8-cell stage (apical view); 5. 16-cell stage (apical view); 6. 32-cell stage (apical view); 7. 64-cell stage (apical view); 8. 128-cell stage (apical view); 9. Multicellular stage (apical view); 10. Early-blastula stage (apical view); 11. Late-blastula stage (lateral view); 12. Early-gastrula stage (lateral view); 13. Mid-gastrula stage (lateral view); 14. Late-gastrula stage (lateral view); 15. Late-gastrula stage (apical view); Show: primitive gut cavity and primordial blastopore); 16. Neural plate stage (apical view); 17. Neural folds stage (apical view); 18. Ciliary movement stage or rotation stage (apical view); 19. Neural tube formation stage (apical view); 20. Muscle functioning stage (dorsal view); 21. Heart beat stage (lateral view); 22. Outer gill formation; or gill circulation stage (dorsal view); 23—24. Tail fin membrane appearance stage (lateral view); 25. Crystalline lenses formation stage (lateral view); 26. Eyeball pigment stage (dorsal view); 27. Body pigment appearance stage (lateral view); 28. Body pigment appearance stage (ventral view); 29. Gill cover fruition stage (dorsal view); 30. Hatching stage (dorsal view); 31. Egg yolk complate absorption stage (dorsal view).

基。卵黄栓进一步缩小,体节已形成 2 对(图 17)。

第 16 时期(纤毛运动期) 卵黄栓进一步缩小直至消失,原口闭合,神经沟相当于第 1 对体节处开始合并,神经沟前端最宽处可达 0.5mm,体节已形成 5—6 对(图 18)。此时可见到胚胎的纤毛运动,胚胎在膜内微微转动,转动速度开始较慢,后期稍快。(又称胚体转动期)。

第 17 时期(神经管期) 神经管已完全闭合,前留一个较大的前神经孔,后端的闭合止于原口背方,神经管全长 3.5mm,神经管前方突出一对感觉板,其前端两侧出现 2 对上皮板,前一对为感觉板,后一对为鳃板,此时,体节已有 8—10 对,尾芽原基出现(图 19)。

第 18 时期(肌肉效应期) 前神经孔闭合,感觉板和鳃板明显突出,尾芽形成,胚体长 4mm,体节已形成 12—14 对(图 20)。若用探针刺激胚体时,会引起肌肉收缩而左右扭曲,最初反应慢,以后逐渐加强。

第 19 时期(心跳期) 神经管前部已分化成前、中、后三个脑泡,尾芽伸长,尾的雏形形成,在头的腹面形成口凹,体节 16—18 对,胚体长 5mm,视囊原基出现(图 21)。鳃芽形成,在头部腹方出现心脏,心脏跳动,开始较慢,以后加快,平均 75 次/min。

第 20 时期(外鳃形成期或鳃血循环期) 头前部脑已分化,鳃芽伸长形成外鳃,最先出现一对,体节 22—24 对,胚体长至 6mm 长,视囊已经明显(图 22)。外鳃鳃丝末端可见血球缓慢流动,血球在鳃丝血管内作间息歇性脉冲流动,次数逐渐加快到 75 次/min。

第 21 时期(尾鳍膜形成期) 胚体尾部伸长至 2.5mm,在尾部背面和腹面中线上皆形成尾鳍膜,头部嗅窝形成,视囊发育成视杯,口已开通,呈 V 形,肛凹出现,外鳃的鳃丝伸长,听囊形成,中脑视叶分化明显,体节 26—30 对,胚胎全长 7.5mm,腹方卵黄细胞区缩小,长为 5mm,宽 2.8mm,头部向前突出,长为 0.8mm(图 23、24)。

第 22 时期(晶体出现期) 头部视杯中已形成晶体,听囊开始分化,口的上、下颚正在分化,肛窝已形成,外鳃丝已形成 2 对,卵黄细胞区仍在缩小,尾部鳍膜变厚,边缘呈波浪形(图 25)。镜检血球在尾鳍血管中流动。

第 23 时期(眼球色素出现期) 胚胎已长至 9mm 长,尾长 5mm,头部向前伸长为 1mm。卵黄细胞区进一步缩小,眼球出现黑色素,尾鳍膜(背面和腹面)宽度增加至 5mm,外鳃分化完成(图 26)。

第 24 时期(体色素出现期) 胚胎全长已长至 10.2mm,尾长 7mm。先从尾部出现黑色素,外鳃鳃丝已长足长度,鳃丝透明,体部也逐渐出现黑色素,鳃盖开始形成(图 27、28)。

第 25 时期(鳃盖完成期) 胚胎全长已长至 11mm,头长 2mm,鳃盖已完全盖住外鳃鳃丝,眼球及体部黑色素分布浓密,卵黄细胞区已缩小为:长 2.8mm,宽 2mm(图 29)。

第 26 时期(出膜期) 胚胎全长已达 12mm,卵黄进一步被吸收,口唇部长出角质齿,肛门尚未开通,体色素、眼球色素更加浓密,此时,胚胎开始孵化出膜(图 30)。

第 27 时期(卵黄吸尽期) 胚胎全长为 14.4mm,尾长 9.3mm,胚体宽 3mm,卵黄完全被吸入,卵黄细胞区的细胞形成中肠,它在腹部盘绕 1.5 圈,肛门开通(图 31)。

在水温为 25.15±0.22℃ 条件下,从受精卵发育至卵裂结束(即至囊胚期结束),历时为 29 h33min。原肠形成期(从原肠早期至原肠晚期)历时 16h 42min,而器官形成期(从

神经板出现至出膜）历时 186h 86min。经计算，胚胎发育期间的积温（发育时间 × 水温均值）为 5887.87℃。

3 讨论

从以上观察结果可看出：棘胸蛙卵子类型属多黄卵，卵裂为全裂不等割型，植物性半球含卵黄无色素区域分割线出现较迟，直至囊胚形成期才出现，但出现分割线速度又较快，即一旦出现，可在此区域同时发现，这是由于卵黄含量较多的缘故。其卵子类型、卵裂类型与黑斑蛙、林蛙、狭口蛙等[5—7]比较有显著的区别，而同棘腹蛙、雷山髭蟾比较类同[8,9]，其主要特点是：卵裂期与卵黄吸收期均较长；植物极半球细胞分裂速度要比动物极的慢，直至囊胚形成期无色素区域才出现分割线；由于卵黄含量多，消化道发育形成较慢，卵黄吸尽期才见到中肠。

发育全程所需的积温（总热量）达 5887.87℃（其中以器官形成期所需积温最高，卵裂期次之，原肠期居第三位，受精卵期最低。），由于棘胸蛙栖息的山区气温、水温相对较低，日照长度短，加上卵子含卵黄量多，胚胎孵化期比较长，在人工控制水温为 25.15±0.22℃下发育，从受精卵到孵化出膜历时 234.11h，到卵黄吸尽期历时 269.41h。若在山溪天然产卵池，孵化出膜时间更长。孵化期长是棘胸蛙长期适应溪流型生活环境的结果。

棘胸蛙的器官发育时序与大多数蛙类基本相似，但作为流溪型种类，又有不同点：如尾芽随着神经管闭合以后很快就出现，故在发育分期中没有列出；多种蛙胚在神经板期开始头尾轴延长，而棘胸蛙的胚胎要在神经管期末始延长，直至肌肉效期尾部才翘出胚胎表面，与棘腹蛙、雷山髭蟾比较又有类同之处。

根据棘胸蛙栖息地生态调查，孵化出膜后的蝌蚪在天然产卵场停留 20d 左右，便开始沿溪边缓缓向下迁移，迁移速度是以溪边食物丰歉决定的，通常一边迁移，一边觅食，一般水温在 8℃ 以上始摄食，水温 16℃ 时，昼夜摄食。蝌蚪生长期亦长，从孵化出膜的蝌蚪到变态完成的时间为 295—395d。

参　考　文　献

[1] 虞鹏程等。棘胸蛙（*Rana spinosa*）人工试养的研究。江西大学学报，1990，(4)：71—77。

[2] 林光华、虞鹏程。棘胸蛙的繁殖生物学研究。江西大学学报，1990，(4)：64—70。

[3] 虞鹏程等。棘胸蛙性腺发育的研究。见：中国动物学会成立 60 周年纪念论文集。北京：中国科学技术出版社，1994：513—520。

[4] 王应天。*Rana nigromaculata* 早期胚胎发育。北京大学学报，1958，**1**：95—105。

[5] 沈其璋。中国林蛙胚胎发育分期。内蒙古师范大学学报，1983，**4**：76。

[6] 费梁等。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。

[7] 李汝祺等。棘腹蛙早期胚胎发育的适应性。北京大学学报，1955，**1**：111—126。

[8] 费梁等。雷山髭蟾早期胚胎发育及其适应性的探讨。动物世界，1985，**2**：189—197。

[9] 虞鹏程。棘胸蛙繁殖生态的初步研究。见：中国动物学会成立 60 周年纪念论文集。北京：中国科学技术出版社，1994：268—269。

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON THE EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT OF *RANA SPINOSA*

Yu Pengcheng and Lin Guanghua

(Dept. of Biological Engineering, Nanchang University, 330047)

Abstract

This paper deals with the early embryonic development of *Rana spinosa* The whole process of embryonic development took about 234 hours and may be divided into 27 stages (includes: 1.fertilized egg, 2.2-cell stage, 3.4-cell stage, 4.8-cell stage, 5.16-cell stage, 6.32-cell stage, 7.64-cell stage, 8. multicellular stage, 9.early-blastula stage, 10. late-blastula stage, 11.early-gastrula stage, 12. mid-gastrula stage, 13. late-gastrula stage, 14. neural plate stage, 15.neural folds stage, 16.ciliary movement stage or rotation stage, 17.neural tube formation stage, 18. Muscle functioning stage, 19.heart beat stage, 20. outer gill formation stage, 21. tail fin membrane appearance stage, 22. Crystalline lenses formation stage, 23. eyeball pigment stage, 24.body pigment appearance stage, 25. gill cover fruition stage, 26. hatching stage, 27. egg yolk complete absorption stage). In our experiments the water temperature was controlled at 25.15±0.22℃. A time table for the development and descriptions of embryonic feature are also given in this paper.

Key words Frog, *Rana spinosa*, Early embryonic development