

研究论文 ORIGINAL PAPERS

安吉小鲵胚胎与幼体发育形态解析

黄镇杨^{1,2}, 汪贤挺³, 刘宝权⁴, 郎泽东³,
黄俊恺¹, 周亚楠⁵, 邱 娇³, 龚伟民³, 袁智勇^{1*}

- (1. 西南大学生命科学学院, 重庆 400715;
2. 西南林业大学云南省高校极小种群野生动物保育重点实验室, 昆明 650224;
3. 安吉小鲵国家级自然保护区管理中心, 湖州 313000;
4. 浙江省森林资源监测中心, 杭州 310020;
5. 安徽师范大学生命科学学院, 芜湖 241000)

稿件运行过程

收稿日期: 2024-11-10

修回日期: 2024-12-12



关键词: 两栖动物;
变态发育;
形态变异;
发育分期

Keywords: Amphibians;
Metamorphosis;
Morphological variation;
Developmental stages

中图分类号: Q958.1

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2025)-03-0626-10

DOI: 10.12375/ysdwxb.20250316

摘要

胚胎和幼体生活史的基础信息对于受威胁两栖类物种的保护至关重要。本研究在野外环境下对安吉小鲵(*Hynobius amjiensis*)的胚胎与幼体发育进行了详细观察,记录了其胚胎和幼体发育的各个时期以及幼体间的形态变异。结果显示:安吉小鲵的胚胎发育共分为21期,平均发育时长为34.4 d;幼体发育分为10期,平均发育时长为125.9 d。研究发现,安吉小鲵的胚胎与幼体发育模式与其他小鲵属(*Hynobius*)物种基本一致,但在具体形态和发育时间上存在差异。本研究不仅为安吉小鲵的繁育和保护提供了基础数据,也为未来进一步探索其发育生物学及种群复壮奠定了科学基础。

Morphological Analysis of Embryonic and Larval Development of *Hynobius amjiensis*HUANG Zhenyang^{1,2}, WANG Xianting³, LIU Baoquan⁴,
LANG Zedong³, HUANG Junkai¹, ZHOU Yanan⁵,
QIU Jiao³, GONG Weimin³, YUAN Zhiyong^{1*}

基金项目: 安吉小鲵生活史及种群监测研究项目(TCGK2023-007)

第一作者简介: 黄镇杨(1999—),男,硕士研究生;主要从事动物多样性保护与利用研究。E-mail:hzy345169072@163.com

*通信作者: 袁智勇, E-mail: yuanzhiyongkiz@126.com

- (1. College of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Key Laboratory of Conservation of Extremely Small Populations of Wildlife in Yunnan Universities, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;
3. Anji Salamander National Nature Reserve Management Center, Huzhou 313000, China;
4. Zhejiang Forest Resource Monitoring Center, Hangzhou 310020, China;
5. College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: Basic information on the embryonic and larval life history is crucial for the conservation of threatened amphibian species. This study provided detailed observation of the embryonic and larval development of *Hynobius amjiensis* in its natural habitat. The stages of both embryonic and larval development, as well as morphological variations among larvae, were recorded. The results showed that the embryonic development of *H. amjiensis* was divided into 21 stages, with an average development duration of 34.4 days. The larval development was divided into 10 stages, with an average duration of 125.9 days. The study found that the developmental patterns of *H. amjiensis* are generally consistent with other species of the genus *Hynobius*, though there are differences in specific morphology and developmental timelines. This research not only provides essential data for the breeding and conservation of *H. amjiensis* but also lays a scientific foundation for further exploration of its developmental biology and population recovery.

对于受威胁物种而言,种群复壮是推动有效保护的核心。通过对胚胎和幼体发育过程的系统观测,记录其发育的关键时期及各时期的生存状况,对于理解物种的生命周期、适应能力及其与环境的相互关系,推动种群复壮具有重要意义,可以为受威胁两栖类保护策略的制定提供更加全面的科学依据^[1]。

安吉小鲵(*Hynobius amjiensis*)隶属于两栖纲(Amphibia)有尾目(Caudata)小鲵科(Hynobiidae)小鲵属(*Hynobius*),该物种目前已知仅分布于安吉龙王山^[2-3]、安徽清凉峰国家级自然保护区^[4]以及临安百丈岭^[5]三地的高山沼泽区域,是我国特有物种,因其分布范围极为狭窄、种群数量稀少,加之栖息地持续受到威胁,安吉小鲵已被中国生物多样性红色名录^[6]评估为极危(CR)物种,为我国一级重点保护野生动物^[7]。

由于安吉小鲵分布范围有限、种群数量稀少,具有在非繁殖期难以被观测到的特性^[2],自该物种被发现以来,只有少数学者对其开展了有限的研究。这些研究主要集中在种群动态^[8]、繁殖生态^[9-10]和分子生物学^[11-13]等。目前,关于安吉小鲵胚胎与幼体发育的研究尚不充分,仅Cao *et al.*^[14]建立过该物种

的胚胎发育过程表,但他们所使用的胚胎由实验室条件下的卵袋孵化而来,观察过程均于实验室可控条件下进行,受人为因素影响较大,无法真实反映野外环境条件下的胚胎发育过程。本研究在野外环境下完整观察了安吉小鲵的胚胎与幼体发育过程,旨在探讨野外环境下安吉小鲵胚胎与幼体各时期的生长发育特征,以及与其他小鲵属物种在胚胎与幼体生长发育方面的异同。

1 材料与方法

1.1 胚胎与幼体生境

研究人员于2023年11月28日在对安吉小鲵繁殖场选择的研究过程中,于浙江省龙王山安吉小鲵国家级自然保护区核心区千亩田(30°29'58" N, 119°26'27" E;海拔1335 m),观察到1条初产的安吉小鲵卵袋,卵袋成对,共含卵113枚。胚胎发育期间(2023-11-28—2024-01-01)的气温为(1.5 ± 7.3) °C,水温为(10.0 ± 1.1) °C,繁殖地水体的pH为(5.9 ± 0.8),溶解氧质量浓度为(6.4 ± 1.3) mg/L;幼体发育期间(2024-04-10—2024-08-13)的气温为(27.0 ± 2.9) °C,水温为(22.1 ± 3.5) °C,繁殖地水体的pH为(5.3 ± 0.5),溶解氧质量浓度为(17.2 ± 4.0) mg/L。

共记录了8个幼体(A~H)的发育过程,其中3个个体完成了从受精卵到变态期的全程记录,所有的胚胎和幼体发育过程均记录于同一繁殖场。

1.2 胚胎与幼体发育的观察、记录及分期

为详细记录胚胎与幼体发育过程,将卵袋置于带有标签的隔离罐内,将其置于繁殖坑原位,并定期取出,在原地使用奥林巴斯数码相机(E-M1 Mark II)拍摄。由于胚胎不同时期的发育时间存在明显差异,在胚胎发育的受精卵至三十二细胞期,每间隔1 h拍照记录一次;自囊胚期开始,每间隔8 h拍照记录一次;幼体出膜后,使用9 cm × 9 cm的隔离罐将孵化的幼体隔离,每间隔24 h记录一次发育情况。确保完整记录每一时期的形态结构特征及发育时间。

安吉小鲵幼体的形态描述主要参考费梁等^[15]对有尾目幼体的相关描述。胚胎与幼体分期参考蔡堡^[16]、谢锋等^[17]和杨焱清等^[18]的相关研究。幼体形态测量使用ImageJ软件,精度为0.01 mm。发育时间使用PAST^[19]软件进行处理分析,最后得出胚胎与幼体发育的时间曲线。

2 结果

2.1 胚胎发育

安吉小鲵胚胎发育共分为21期,平均时长(824.7 ± 0.2)h (n = 3),即约34.4 d(图1A)。具体分期见图2和表1。

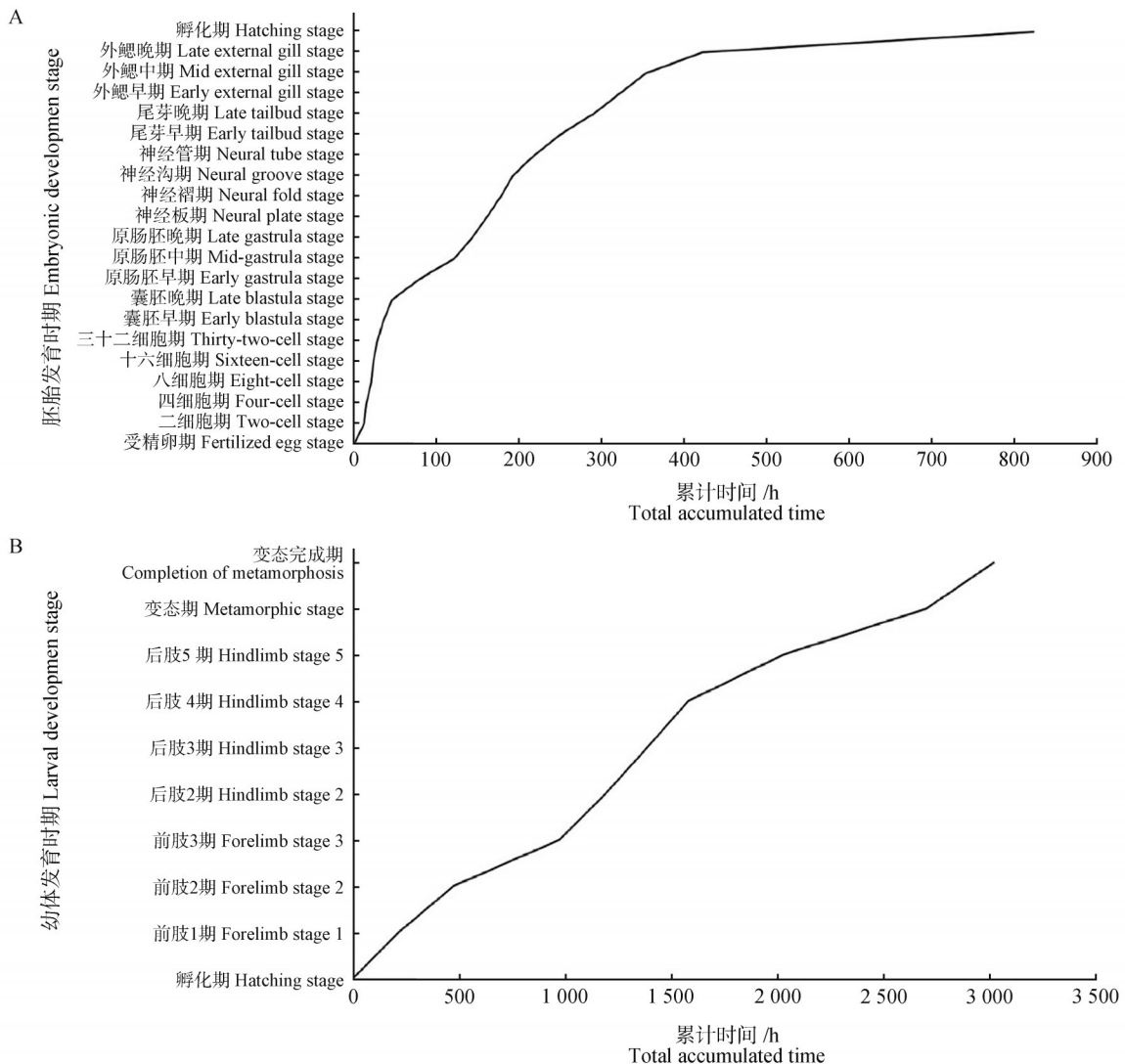
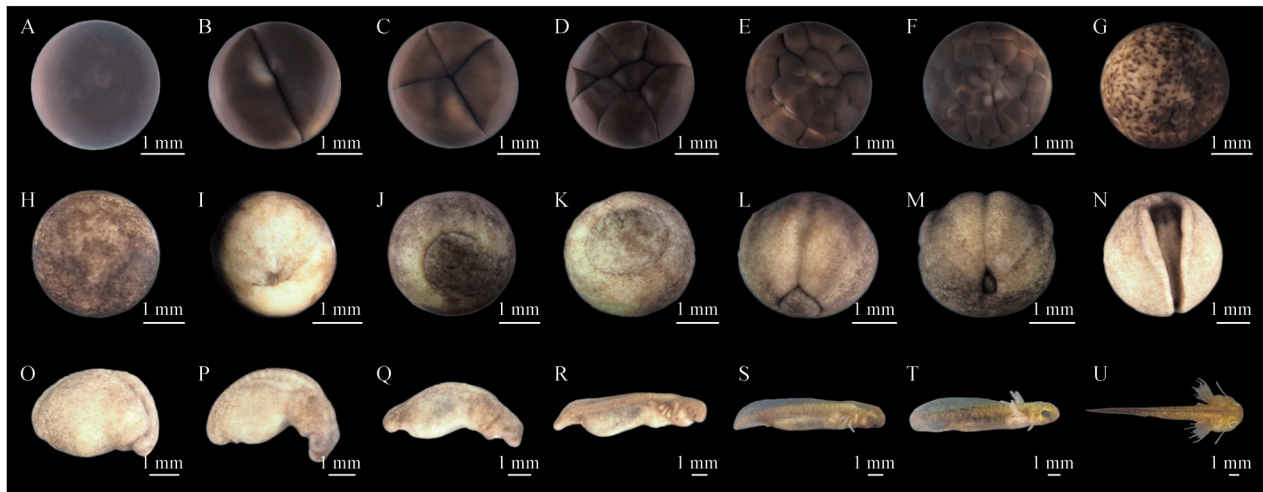


图1 安吉小鲵胚胎与幼体发育时间

Figure 1 Embryonic and larval development time of *Hynobius amjiensis*



A. 受精卵期;B. 二细胞期;C. 四细胞期;D. 八细胞期;E. 十六细胞期;F. 三十二细胞期;G. 囊胚早期;H. 囊胚晚期;I. 原肠胚早期;J. 原肠胚中期;K. 原肠胚晚期;L. 神经板期;M. 神经褶期;N. 神经沟期;O. 神经管期;P. 尾芽早期;Q. 尾芽晚期;R. 外鳃早期;S. 外鳃中期;T. 外鳃晚期;U. 孵化期。

A. Fertilized egg stage; B. Two-cell stage; C. Four-cell stage; D. Eight-cell stage; E. Sixteen-cell stage; F. Thirty-two-cell stage; G. Early blastula stage; H. Late blastula stage; I. Early gastrula stage; J. Mid-gastrula stage; K. Late gastrula stage; L. Neural plate stage; M. Neural fold stage; N. Neural groove stage; O. Neural tube stage; P. Early tailbud stage; Q. Late tailbud stage; R. Early external gill stage; S. Mid external gill stage; T. Late external gill stage; U. Hatching stage.

图2 安吉小鲵个体胚胎发育时期图谱

Figure 2 Atlas of individual embryonic development stages of *Hynobius amjiensis*

表1 安吉小鲵胚胎发育时期

Table 1 Embryonic development stages of *Hynobius amjiensis*

h

发育时期 Developmental stage	发育历时 Developmental duration	发育累计时间 Cumulative developmental time
受精卵期 Fertilized egg stage	0	12.5 ± 0.2
二细胞期 Two-cell stage	2.9 ± 0.2	15.4 ± 0.1
四细胞期 Four-cell stage	5.9 ± 0.1	21.3 ± 0.1
八细胞期 Eight-cell stage	2.6 ± 0.2	23.9 ± 0.1
十六细胞期 Sixteen-cell stage	4.7 ± 1.5	28.6 ± 1.6
三十二细胞期 Thirty-two-cell stage	7.3 ± 1.7	35.9 ± 0.1
囊胚早期 Early blastula stage	10.4 ± 4.0	46.3 ± 3.9
囊胚晚期 Late blastula stage	32.5 ± 6.8	78.8 ± 3.9
原肠胚早期 Early gastrula stage	42.8 ± 4.3	121.6 ± 8.3
原肠胚中期 Mid-gastrula stage	21.5 ± 8.1	143.0 ± 0.2
原肠胚晚期 Late gastrula stage	18.0 ± 5.9	161.0 ± 5.9
神经板期 Neural plate stage	17.0 ± 5.8	178.0 ± 0.1
神经褶期 Neural fold stage	14.2 ± 3.6	192.2 ± 3.7
神经沟期 Neural groove stage	26.2 ± 3.6	218.4 ± 3.9
神经管期 Neural tube stage	31.3 ± 3.9	249.6 ± 0.1
尾芽早期 Early tailbud stage	40.0 ± 13.1	289.6 ± 13.2
尾芽晚期 Late tailbud stage	32.6 ± 13.1	322.2 ± 0.1
外鳃早期 Early external gill stage	32.2 ± 6.3	354.4 ± 6.4
外鳃中期 Mid external gill stage	68.4 ± 6.3	422.8 ± 6.4
外鳃晚期 Late external gill stage	401.8 ± 6.4	824.7 ± 0.2
孵化期 Hatching stage		

注：表中数据为平均值 ± 标准差。

Note: Data in the table are presented as mean ± SD.

受精卵期(图2A):刚产出的安吉小鲵成熟卵粒呈圆形,动物极和植物极颜色较一致,均为浅黄褐色;卵径约为2.3 mm;卵群在卵袋内呈2行或多行参错排列,附着于香蕉形卵袋内,卵在胶膜内能任意滚动。

二细胞期(图2B):第1次卵裂为均等经裂,卵裂沟从动物极开始逐渐向植物极扩展形成左右相等的2个细胞。

四细胞期(图2C):第2次卵裂为均等经裂,与第1次卵裂沟相垂直的方向向两侧过植物极将卵经裂为4个均等的细胞。

八细胞期(图2D):第3次卵裂为不均等纬裂,分裂沟偏于动物半球,分裂为8个细胞,动物极4个细胞较小,植物极4个细胞较大。

十六细胞期(图2E):第4次卵裂为不均等经裂,动物极8个细胞分裂较快但体积小,植物极8个细胞分裂较慢但体积大。

三十二细胞期(图2F):第5次卵裂为不均等纬裂,分裂为大小不一、形状不同的32个细胞。

囊胚早期(图2G):此期胚胎细胞开始不规则分裂,细胞表面凹凸不平,排列不规则,但细胞细小,边界清晰。

囊胚晚期(图2H):胚胎经多次分裂,细胞细小,已不可数,胚胎表面较光滑。

原肠胚早期(图2I):胚胎表面光滑,在赤道以下约45°处形成背唇;胚孔沿两侧伸展呈月牙形;胚胎呈不规则圆形,边缘有凸起或凹陷。

原肠胚中期(图2J):背唇继续向两侧延伸形成半圆形的侧唇;胚体中央深色部位颜色加深,范围较原肠胚早期扩大。

原肠胚晚期(图2K):侧唇继续延伸并汇合成360°圆形胚孔,即原口,同时形成卵黄栓,原口和卵黄栓初形成时均较大。

神经板期(图2L):原口缩小,卵黄栓逐渐内凹陷变小,直至完全消失;胚胎中出现一条浅神经沟与原口相连,神经沟两侧略平坦,边缘开始略隆起神经褶。

神经褶期(图2M):神经褶于胚胎表面并向前、后两个方向延伸,中央形成浅凹沟;原口继续缩小,变成裂缝状。

神经沟期(图2N):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。

神经管期(图2O):神经沟闭合形成神经管,神

经管前端明显膨大,在腹面向前弯曲;胚体前端逐渐形成头部,感觉板和鳃板显现,可见5~7个脊节;胚胎形状从不规则球形变为香蕉形。

尾芽早期(图2P):尾芽出现,胚体沿神经管向两端延伸,神经管前端明显膨大为头部,胚胎头部向腹侧弯曲,鳃板和眼泡开始出现。

尾芽晚期(图2Q):尾芽在胚体后端显著突出延伸,末端圆钝;胚体开始逐渐伸直,背部的分节现象更为明显。

外鳃早期(图2R):器官开始发育,鳃板基部加厚,胚体笔直,外鳃芽分化为3对,平衡棒原基出现;尾芽出现半透明的背、腹鳍褶;胚体受刺激时可做扭曲运动。

外鳃中期(图2S):外鳃芽及平衡棒明显变长,但外鳃芽尚未分枝;尾鳍褶变宽,眼泡突出;胚体腹部咽喉部可见缓慢的心脏跳动。

外鳃晚期(图2T):3对外鳃逐渐出现羽状分枝,体视镜下可见鳃内血液脉冲性流动。

孵化期(图2U):平衡棒及外鳃发育完全,卵膜极度膨大、变薄,胚体破膜孵出;孵出的幼体背部呈淡黄绿色,上有黑色斑点,腹面黄褐色,尾端黑斑较密集,主要为黑色。至此胚胎发育结束。

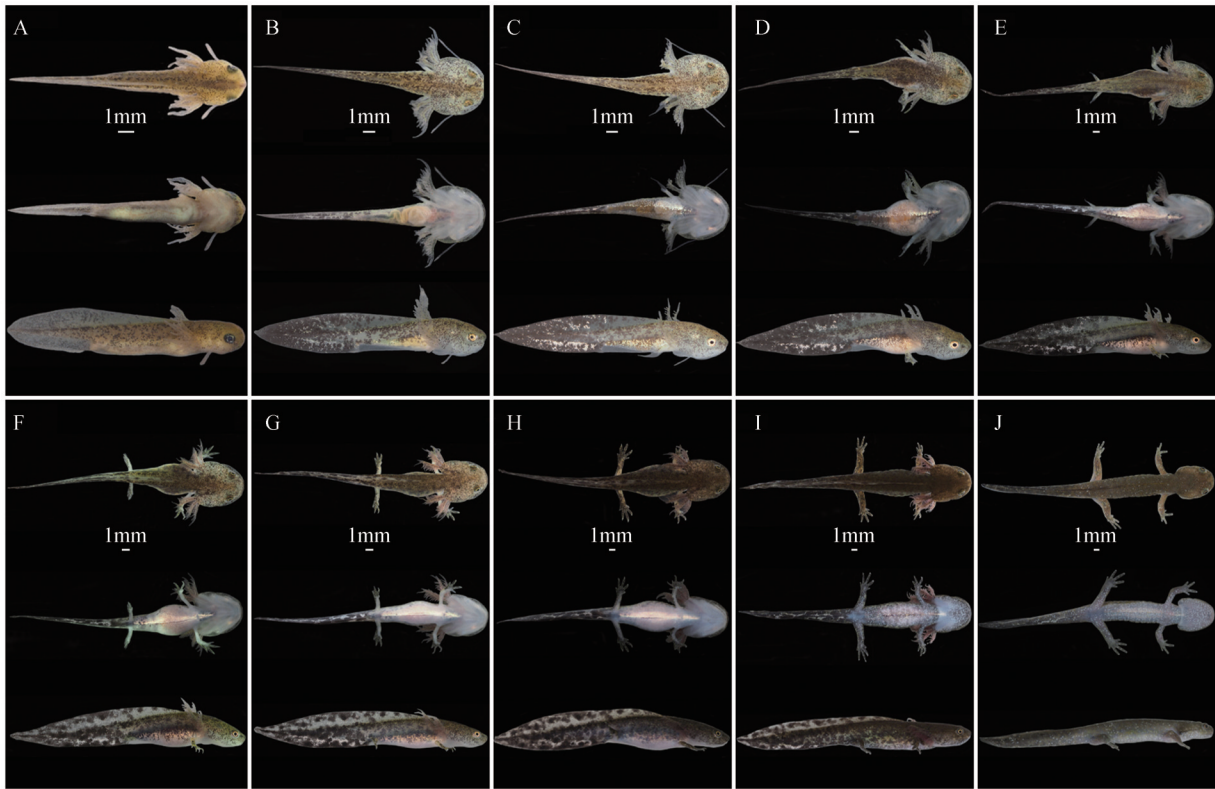
2.2 幼体发育

安吉小鲵幼体发育共分为10期,平均时长(3 021.2 ± 0.4) h ($n = 3$),即约125.9 d(图1B)。具体分期见图3、图4和表2。

孵化期(图3A,图4A):经过30.1 d的孵化,平衡棒及外鳃发育完全,卵膜极度膨大、变薄,胚体破膜孵出。幼体背部呈淡棕黄色,上有黑色斑点;腹部黄褐色,有长椭圆状卵黄囊;头部钝圆,有3对淡黄色的外鳃和1对平衡棒;吻端有1对鼻孔;前肢芽出现,为锥状,突起于体表;早期运动依靠尾部在水中摆动,不活动时多侧卧于水底。

前肢1期(图3B,图4B):幼体体色与出膜期无明显差异,背部和尾部黑色斑点密集变大;腹部仍可见淡黄色的卵黄囊;头部3对外鳃以及平衡棒变长,3对外鳃着生稀疏细杆状鳃丝,鳃丝较长;圆形眼,眼部上下为亮黄色,中间为黑色;前肢初步发育为一指形。

前肢2期(图3C,图4C):与前肢1期相比,前肢变长且呈一叉二指形;腹面卵黄明显消失,呈现密集淡黄色斑点;部分个体平衡棒消失;后肢出现扁铲状突起,不分叉;其余整体形态与前肢1期无明显差异。

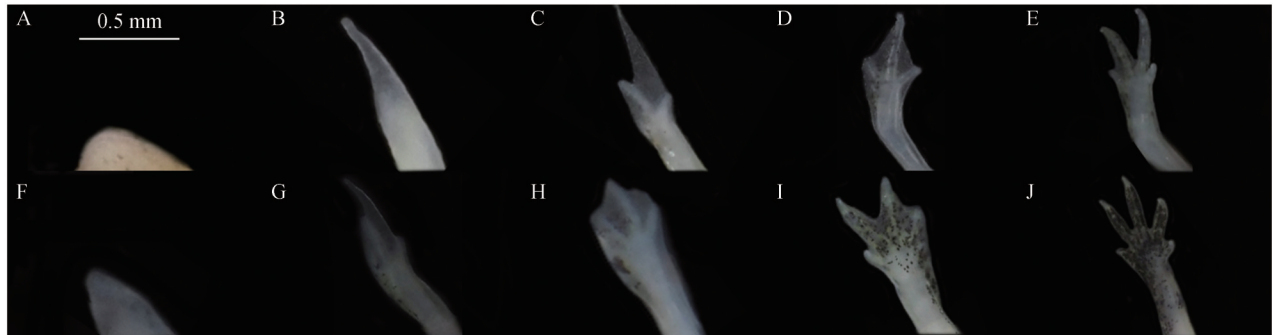


A. 孵化期;B. 前肢1期;C. 前肢2期;D. 前肢3期;E. 后肢2期;F. 后肢3期;G. 后肢4期;H. 后肢5期;I. 变态期;J. 变态完成期。

A. Hatching stage; B. Forelimb stage 1; C. Forelimb stage 2; D. Forelimb stage 3; E. Hindlimb stage 2; F. Hindlimb stage 3; G. Hindlimb stage 4; H. Hindlimb stage 5; I. Metamorphic stage; J. Completion of metamorphosis.

图3 安吉小鲵个体幼体发育时期图谱

Figure 3 Atlas of individual larval development stages of *Hynobius amjiensis*



A. 前肢芽;B. 一指形前肢;C. 二指形前肢;D. 三指形前肢;E. 四指形前肢;F. 后肢芽;G. 二趾形后肢;H. 三趾形后肢;I. 四趾形后肢;J. 五趾形后肢。

A. Forelimb bud; B. One-digit forelimb; C. Two-digit forelimb; D. Three-digit forelimb; E. Four-digit forelimb; F. Hindlimb bud; G. Two-digit hindlimb; H. Three-digit hindlimb; I. Four-digit hindlimb; J. Five-digit hindlimb.

图4 安吉小鲵个体前肢与后肢发育时期图谱

Figure 4 Developmental atlas of forelimb and hindlimb stages in *Hynobius amjiensis* individuals

前肢3期(图3D,图4D、F):与前肢2期相比,前肢变长且呈二叉三指形;后肢芽突起变长,向后翘起并贴于身体;平衡棒消失。此时具避光习性,受惊时四处窜动。

后肢2期(图3E,图4E、G):与前肢3期相比,前肢

变长且呈三叉四指形;后肢芽变长至一叉二趾形,触地可缓慢爬行和保持身体平衡;3对外鳃基部粗壮,末端边缘透明,3对外鳃主干均着生细杆状鳃丝,鳃丝稀疏呈浅灰色半透明状,外鳃在受外部机械刺激时,可向身体后方收缩;尾部剑状,上下鳍布满密集黑斑。

表2 安吉小鲵幼体发育期及形态量度

Table 2 Developmental stages and morphometric measurements of *Hynobius amjiensis* larvae

幼体发育期 Larval developmental stage	发育历时/h Developmental duration	发育累计时间/h Cumulative developmental time	头长/mm Head length	头宽/mm Head width	平衡棒长/mm Balancer length	全长/mm Total length	尾长/mm Tail length	前肢长/mm Forelimb length	后肢长/mm Hindlimb length	外鳃长/mm External gill length
孵化期 Hatching stage	3.0±0.2		3.0±0.2	2.6±0.2	1.3±0.1	14.3±0.5	5.2±0.2			1.9±0.2
前肢1期 Forelimb stage 1	258.5±0.2	216.1±0.2	4.6±0.3	4.8±0.4	2.4±0.2	20.3±1.2	8.6±0.5	1.3±0.2		2.5±0.4
前肢2期 Forelimb stage 2	498.9±0.2	474.6±0.5	4.7±0.2	5.0±0.3	2.6±0.2	21.1±1.2	9.9±0.1	1.7±0.1		2.3±0.1
前肢3期 Forelimb stage 3	217.9±0.2	973.5±0.6	5.3±0.4	5.5±0.4		24.0±1.6	12.4±0.3	3.8±0.2	0.9±0.3	0.4±0.1
后肢2期 Hindlimb stage 2	196.3±0.4	1191.4±0.7	5.9±0.4	6.2±0.3		29.1±0.9	13.7±0.6	4.0±0.2	2.3±0.5	3.0±0.4
后肢3期 Hindlimb stage 3	192.4±0.2	1387.7±0.3	6.6±0.2	7.0±0.1		33.4±1.3	15.9±1.8	4.6±0.1	3.5±0.4	3.5±0.2
后肢4期 Hindlimb stage 4	446.8±0.2	1580.2±0.3	7.5±0.1	7.4±0.1		36.8±1.8	18.0±2.9	5.5±0.5	4.5±0.2	4.1±0.3
后肢5期 Hindlimb stage 5	675.3±0.3	2026.9±0.2	8.4±0.4	8.3±0.6		43.6±0.2	20.5±0.4	5.9±0.2	6.7±0.9	5.5±0.3
变态期 Metamorphic stage	318.9±0.3	2702.2±0.4	9.7±0.4	9.1±0.3		55.0±0.8	26.3±1.4	6.8±0.2	9.7±0.7	3.3±0.5
变态完成期 Completion of metamorphosis		3021.1±0.6	9.6±0.3	8.0±0.6		54.1±3.0	25.5±0.7	8.3±0.4	10.2±0.5	

注：表中数据为平均值±标准差。

Note: Data in the table are presented as mean ± SD.

后肢3期(图3F,图4E、H):与后肢2期相比,前肢长过腹面,四指分离清晰,发育完全,爬行能力显著增强,指序为 $2 > 3 > 4 > 1$;后肢变长至二叉三趾形,伴有黑色斑点,末端扁平状,可辨3趾,中间一趾显著长于其他二趾;3对外鳃更加粗壮舒展,主干为橘黄色,偶有黑色斑点,顶端鳃丝为亮黄色,末梢透明;体色变深,尾部黑色斑点由颗粒状变成斑块状,头部斑点更加密集。

后肢4期(图3G,图4E、I):与后肢3期相比,后肢变长至三叉四趾形,四趾分离清晰;体色呈现棕黄色,腹部浅白色;3对外鳃整体为橘红色,更加舒展。

后肢5期(图3H,图4E、J):与后肢4期相比,后肢变长至四叉五趾形,五趾分离清晰;体色再次加深,整体为棕褐色,四指和五趾上面布满黑色斑点;头部更加扁平,外鳃鳃干基部棕褐色,其余部分为橘红色,末端透明,鳃丝数量明显增多。

变态期(图3I,图4E、J):与后肢5期相比,后肢变长有关节,五趾发育完全,趾序明显为 $3 > 2 > 4 > 5 > 1$,后肢背部带有蓝色花纹;整体呈棕褐色,头部

扁平,棱角清晰,吻部突出,眼部轮廓清晰,上下眼部虹膜为淡黄色,中间部分为黑色;体侧有肋沟,尾部略高于躯干,尾鳍明显开始退化;腹部呈现淡蓝色,并带有白色斑点;3对外鳃呈橘红色,外鳃鳃丝短而密集,自后向前,逐渐开始萎缩。

变态完成期(图3J,图4E、J):与变态期相比,皮肤光滑,整体棕褐色;头部扁平呈椭圆状,轮廓棱角清晰;眼部轮廓清晰,眼部上下虹膜为淡黄色;外鳃完全退化,使用肺呼吸;躯干背部有一条棕色脊线,体侧有肋沟8~10条;腹部淡蓝色伴有星状白色斑点;前肢四指,后肢五趾,皮肤光滑,淡黄色,指和趾末端均不透明;尾部细长,尾鳍完全退化。

2.3 幼体发育过程中的形态变异

对比野外其他繁殖坑的幼体,发现孵化期的幼体在形态和色斑上没有明显差异,不同繁殖坑的个体间难以区分。不同个体的平衡棒在前肢2期至前肢3期自然脱落。另外,随着发育至前肢3期,个体间的色斑开始出现明显差异:尾鳍上的白色斑纹呈现不同形态,包括点状(图5B-E、G)、片状(图5A、H)

或网状(图5F),部分个体的腹部几乎被白色金属状碎点覆盖(图5B、C、E~G);发育至后肢3期时,腹部色斑基本一致,均为白色,但尾鳍色斑差异仍较为明显,部分个体的尾鳍白色占比较小,黑色呈片状分布(图6A~C、H),另一些个体的尾鳍白色占比较

大,黑色呈点状(图6D~G);发育至变态期后,个体的色斑差异变得更加显著,体背颜色从浅棕色至棕黑色不等,尾鳍上的黑色斑纹呈点状或片状分布,部分个体背部布满白色碎点,肋沟数量不等,通常为8~10条。

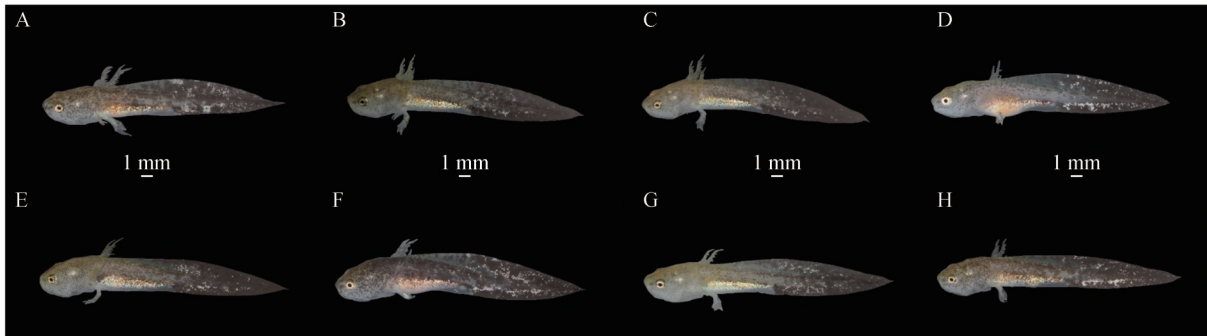


图5 安吉小鲵前肢3期幼体不同个体间(A~H)的色斑变异

Figure 5 Variation in color spots among different individuals (A-H) of stage 3 larvae of *Hynobius amjiensis* in the forelimb

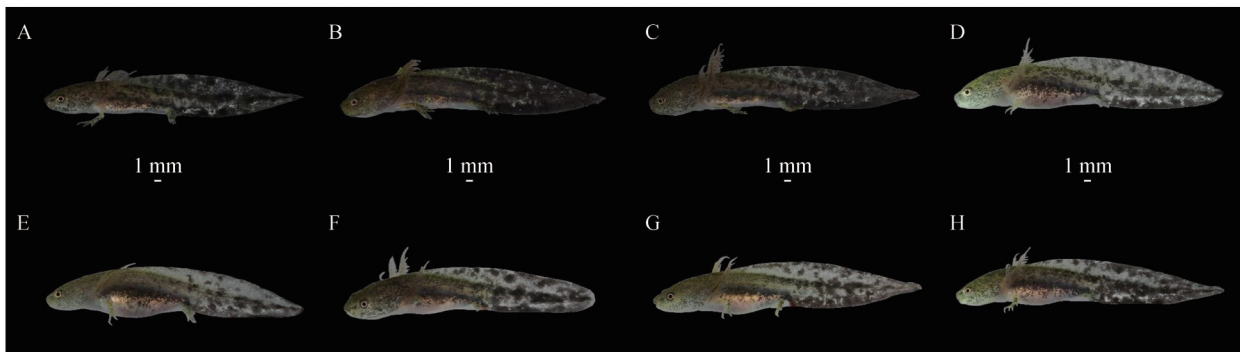


图6 安吉小鲵后肢3期幼体不同个体间(A~H)的色斑变异

Figure 6 Variation in color spots among different individuals (A-H) of stage 3 larvae of *Hynobius amjiensis* in the hindlimb

3 讨论

本研究观察到的安吉小鲵胚胎发育模式与Cao *et al.* [14]的结果基本一致,但所有发育时期的持续时间均有所延长,这可能与野外环境下温度更低有关。此外,本研究过程中所有胚胎均正常发育,未见胚胎滞育或畸形等异常胚胎发育现象。在本次记录胚胎发育的过程中观察到,安吉小鲵胚胎发育期间卵袋受水温波动影响较大。雌性个体通常在即将降雪前的晴天下水产卵,此时水温较高,为10.0℃左右,在产下卵袋后,气温下降导致水面冰封,使得早期胚胎在较低的水温下发育,最低可达3.9℃,但并未观察到异常胚胎发育现象。Cao *et al.* [14]在人工控制条件下将水温保持在相对稳定的(9±1)℃,却观察到早期胚胎的异常发育情况。汪贤挺等[20]对浙江龙王山

安吉小鲵产卵场微生境的研究表明,导电率、水温、水中溶氧量、水深、地表温度、地表湿度及距岸距离等环境因子对卵袋的孵化率有显著影响,而水温、pH和地表湿度显著影响孵化时长。据此推测,人工环境中环境因子的偏差(早期胚胎发育时期温度过高)可能导致胚胎异常发育,从而影响安吉小鲵胚胎的孵化率[21-23]。这提示在未来开展人工种群复壮时,须密切关注和调控与孵化成功率相关的环境因子,使其接近野外条件,以确保胚胎的孵化率。

安吉小鲵在早期卵裂过程中,植物极可见明显的分裂沟,这与义乌小鲵(*H. yiwuensis*) [24]、挂榜山小鲵(*H. guabangshanensis*) [25]、东北小鲵(*H. leechii*) [26]、蔡氏疣螈(*Tylototriton zieglerei*) [27]、东方蝾螈(*Hypselotriton orientalis*) [16]13-23和西藏山溪鲵(*Batrachuperus tibetanus*) [28]等物种一致,均表现出典型的全裂卵裂

模式,与大鲵(*Andrias davidianus*)^[18,29]在早期卵裂过程中植物极未见明显分裂沟,呈现盘状卵裂方式有明显不同。安吉小鲵与上述物种具有相似的胚胎发育期,都包括卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期、尾芽期和外鳃期等。平衡棒的发育是小鲵属物种的重要鉴别特征之一,在胚胎发育过程中,包括安吉小鲵在内的小鲵属物种在外鳃早期至孵化期结束的发育过程中都会形成平衡棒^[24-26]。

目前针对中国境内小鲵属物种幼体发育的形态学研究较少,仅义乌小鲵^[24]、挂榜山小鲵^[25]、东北小鲵^[26]、猫儿山小鲵(*Hynobius maoershanensis*)^[30-31]以及虚竹小鲵(*H. bambusicolus*)^[32]可以进行比较。安吉小鲵幼体可以通过以下特征与中国境内其他小鲵属物种幼体区分:(1)孵化期前肢芽出现,为较小的锥状,略突起于体表(义乌小鲵幼体孵化期前肢芽呈二叉形,猫儿山小鲵幼体孵化期前肢芽呈较长的三角形,东北小鲵幼体孵化期前肢芽较粗长明显突出于体表);(2)早期幼体腹部皮肤呈无色透明状,内部器官清晰可见(虚竹小鲵早期幼体腹部皮肤呈灰白色半透明状);(3)外鳃颜色自后肢2期起开始变色,由浅灰色半透明状转变为亮黄色,至最后的橘红色(猫儿山小鲵前肢芽期幼体外鳃由蛋黄色转变为棕红色,虚竹小鲵幼体外鳃变色主要集中在后肢5期至变态期,由土黄色转变为棕红色);(4)后肢5期幼体从外至内第3条外鳃无明显分岔(虚竹小鲵后肢5期幼体从外至内第3条外鳃存在明显分岔);(5)肋沟出现于变态期(猫儿山小鲵幼体肋沟出现于后肢芽期);(6)变态期幼体腹部呈现淡蓝色(猫儿山小鲵变态期幼体腹部呈浅泥黄色,虚竹小鲵幼体腹部呈灰色)。

本研究进一步探讨了安吉小鲵的繁殖生态学和保护生物学,得出的结论有利于人工繁殖技术的发展,为安吉小鲵及其他中国小鲵属物种的种群复壮与保护策略的制定提供理论依据和数据支持。

参考文献:

- [1] 费潇鸣. 义乌小鲵种群资源调查、胚胎发育及遗传多样性研究[D]. 金华:浙江师范大学, 2020.
FEI X M. *Hynobius yiwuensis* population resources investigation, embryonic development and genetic diversity research [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2020.
- [2] 中国两栖类. “中国两栖类”信息系统[DB/OL]. 昆明:中国科学院昆明动物研究所[2024-09-28]. <http://www.amphibiachina.org/>.
- AmphibiaChina. The database of Chinese amphibian [DB/OL]. Kunming: Kunming Institute of Zoology (CAS) [2024-09-28]. <http://www.amphibiachina.org/>.
- [3] 顾辉清. 小鲵属一新种: 安吉小鲵[M]. 钱燕文, 赵尔宓, 赵肯堂. 动物科学研究: 祝贺张孟闻教授九秩华诞纪念文集. 北京: 中国林业出版社, 1991: 39-43.
GU H Q. A new species of *Hynobius*: *Hynobius amjiensis* [M]. QIAN Y W, ZHAO E M, ZHAO K T. Zoological science research: collected essays in honor of professor ZHANG mengwen's 90th birthday. Beijing: China Forestry Publishing House, 1991: 39-43.
- [4] 李永民, 吴孝友, 方国富, 等. 安徽发现安吉小鲵[J]. 动物学杂志, 2013, 48(4): 526-528.
LI Y M, WU X Y, FANG G F, et al. *Hynobius amjiensis* found in Anhui Province, China [J]. Chinese Journal of Zoology, 2013, 48(4): 526-528.
- [5] 徐斌姬, 王炜丽. 湖州: 安吉小鲵有个原生态的“家”[EB/OL]. (2023-08-17)[2024-09-28]. http://lyj.zj.gov.cn/art/2023/8/17/art_1285508_59056762.html.
XU B J, WANG W L. Huzhou: *Hynobius amjiensis* has an original ecological “home” [EB/OL]. (2023-08-17)[2024-09-28]. http://lyj.zj.gov.cn/art/2023/8/17/art_1285508_59056762.html.
- [6] 中华人民共和国生态环境部, 中国科学院. 中国生物多样性红色名录: 脊椎动物卷: 2020[EB/OL]. (2023-05-18)[2024-09-28]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html.
Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Chinese Academy of Sciences. Red list of China's biodiversity: vertebrate: 2020 [EB/OL]. (2023-05-18) [2024-09-28]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html.
- [7] 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订)[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2): 605-640.
List of national key protected wildlife in China (revised on February 1, 2021) [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2021, 42(2): 605-640.
- [8] 顾辉清, 马小梅, 王珏, 等. 安吉小鲵种群数量和数量动态的研究[J]. 四川动物, 1999, 18(3): 104-106.
GU H Q, MA X M, WANG J, et al. Research on population number and dynamics of *Hynobius amjiensis* [J]. Sichuan Journal of Zoology, 1999, 18(3): 104-106.
- [9] CHEN C S, YANG J, WU Y K, et al. The breeding ecology of a critically endangered salamander, *Hynobius amjiensis* (Caudata: Hynobiidae), endemic to eastern China [J]. Asian Herpetological Research, 2016, 7(1): 53-58.
- [10] 叶林骏. 安吉小鲵生存现状及其繁殖期生境特征研究[D]. 金华: 浙江师范大学, 2012.
YE L J. Research of the survival status and habitat characteristic of Anji hynobiid [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2012.
- [11] 阙震. 极危动物安吉小鲵的保护基因组学研究[D]. 金华: 浙

- 江师范大学, 2021.
- KAN X. The conservation genomics analysis of the critically endangered *Hynobius amjiensis*[D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2021.
- [12] FU J Z, HAYES M, LIU Z J, *et al.* Genetic divergence of the southeastern Chinese salamanders of the genus *Hynobius* [J]. 动物学报, 2003, 49(5): 585-591.
- FU J Z, HAYES M, LIU Z J, *et al.* Genetic divergence of the southeastern Chinese salamanders of the genus *Hynobius* [J]. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49(5): 585-591.
- [13] 代亚如. 安吉小鲵MHC II类基因及系统地理学研究[D]. 金华: 浙江师范大学, 2016.
- DAI Y R. Major histocompatibility complex class II B gene and phylogeography analysis of Amji salamander (*Hynobius amjiensis*)[D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2016.
- [14] CAO Z H, GUO R Y, FANG Z Y, *et al.* Normal table of embryonic development in the Anji salamander *Hynobius amjiensis* (Hynobiidae)[J]. Developmental Biology, 2024, 511: 84-91.
- [15] 费梁, 叶昌媛, 黄永昭, 等. 中国动物志: 两栖纲: 上卷: 总论: 蚓螈目; 有尾目[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 133-134.
- FEI L, YE C Y, HANG Y Z, *et al.* Fauna Sinica Amphibia: Vol. 1: general introduction: Gymnophiona: Caudata[M]. Beijing: Science Press, 2006: 133-134.
- [16] 蔡堡. 东方蝾螈胚胎发育图谱[M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- CAI B. Atlas of embryonic development in the Oriental fire-bellied newt (*Hypselotriton orientalis*) [M]. Beijing: Science Press, 1978.
- [17] 谢锋, 费梁, 李成, 等. 镇海棘螈早期个体发育研究[J]. 动物学杂志, 2001, 36(4): 21-25.
- XIE F, FEI L, LI C, *et al.* The preliminary studies on the early development of the Chinhai salamander, *Echinotriton chinhaiensis*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2001, 36(4): 21-25.
- [18] 杨焱清, 肖汉兵, 刘鉴毅. 大鲵胚后发育的初步观察[J]. 中国水产科学, 1994, 1(2): 26-31.
- YANG Y Q, XIAO H B, LIU J Y. A preliminary observation on post embryonic development of *Andrias davidianus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1994, 1(2): 26-31.
- [19] HAMMER Ø, HARPER D A T, RYAN P D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis [J]. Palaeontologia Electronica, 2001, 4(1): 4.
- [20] 汪贤挺, 黄镇杨, 郎泽东, 等. 浙江龙王山安吉小鲵的产卵场微生境选择与卵孵化的影响因素[J]. 野生动物学报, 2024, 45(4): 819-829.
- WANG X T, HUANG Z Y, LANG Z D, *et al.* The microhabitat selection of oviposition sites and factors in egg hatching of *Hynobius amjiensis* in Longwang Mountain, Zhejiang Province [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2024, 45(4): 819-829.
- [21] MOORE J A. Temperature tolerance and rates of development in the eggs of Amphibia[J]. Ecology, 1939, 20(4): 459-478.
- [22] FREDA J, DUNSON W A. Effects of low pH and other chemical variables on the local distribution of amphibians [J]. Copeia, 1986, 1986(2): 454-466.
- [23] SEYMOUR R S, ROBERTS J D, MITCHELL N J, *et al.* Influence of environmental oxygen on development and hatching of aquatic eggs of the Australian frog, *Crinia georgiana*[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2000, 73(4): 501-507.
- [24] 张鸾笙, 唐国起. 中国小鲵的一些生物学资料[J]. 动物学杂志, 1987, 22(1): 23-25.
- ZHANG L S, TANG G Q. Some biological information about the *Hynobius chinensis* [J]. Chinese Journal of Zoology, 1987, 22(1): 23-25.
- [25] 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[J]. 四川动物, 2007, 26(2): 377-378; 239.
- MI X Q, DENG X J, GUO K J, *et al.* Early embryonic development of *Hynobius guabangshanensis*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2007, 26(2): 377-378; 239.
- [26] 江润. 东北小鲵*Hynobius leechii*胚胎发育的初步观察[J]. 大连医学院学报, 1985, 7(3): 1-7.
- JIANG J. Preliminary studies on the embryonic development of *Hynobius leechii* Boulenger [J]. Journal of Dalian Medical University, 1985, 7(3): 1-7.
- [27] 孟建平, 康泽沼, 魏平凡, 等. 中国蔡氏疣螈的成体和胚胎形态特征研究[J]. 四川动物, 2024, 43(1): 58-64.
- MENG J P, KANG Z Z, WEI P F, *et al.* Morphological characteristics of the adult and embryonic *Tylototriton zieglerei* in China [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2024, 43(1): 58-64.
- [28] 徐剑, 崔建华. 西藏山溪鲵早期胚胎发育的初步观察[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 1993, 29(2): 131-134.
- XU J, CUI J H. The preliminary observations on the embryonic development of *Batrachuperus tibetanus* [J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 1993, 29(2): 131-134.
- [29] 范文博, 朱文博, 张美华, 等. 中国大鲵的早期个体发育观测研究[J]. 四川动物, 2022, 41(5): 517-525.
- FAN W B, ZHU W B, ZHANG M H, *et al.* Preliminary studies on the early development of *Andrias davidianus* [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2022, 41(5): 517-525.
- [30] 卜荣平. 猫儿山小鲵(*Hynobius maoershanensis*)繁殖行为和繁殖期生境选择研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2017.
- BU R P. Research of reproductive behavior and the habitat selection of breeding period *Hynobius maoershanensis* [D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2017.
- [31] 宁梅红, 迟鸿, 陈毓, 等. 人工饲养猫儿山小鲵个体发育特征初探[J]. 四川动物, 2021, 40(2): 196-202.
- NING M H, CHI H, CHEN Y, *et al.* A preliminary study on the ontogenetic characteristics of captive-bred *Hynobius maoershanensis*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2021, 40(2): 196-202.
- [32] WANG Z Q, OTHMAN S N, QIU Z X, *et al.* An isolated and deeply divergent *Hynobius* species from Fujian, China[J]. Animals, 2023, 13(10): 1661.