

中国大鲵 (*Andrias davidianus*) 的胚胎发育^{*}

骆 剑^{**} 肖亚梅^{**} 罗凯坤 黄小西 彭亮跃 刘 筠^{***}

湖南师范大学生命科学学院, 教育部蛋白质化学和鱼类发育生物学重点实验室, 长沙 410081

摘要 对中国大鲵 (*Andrias davidianus*) 胚胎发育过程的外部形态及器官发育特点进行了详细地描述, 为中国大鲵胚胎发育制定出完整的分期标准. 中国大鲵胚胎发育过程依据形态学和组织学特征可以划分为 6 个阶段: 卵裂阶段、囊胚阶段、原肠胚阶段、神经胚阶段、器官形成阶段、孵化阶段, 共 20 个时期. 从整体上来看, 中国大鲵的胚胎发育特征与东方蝾螈 (*Cynops orientalis*)、黑斑蛙 (*R. nigromaculata*) 大体相似, 主要的差异表现在早期卵裂方式以及消化系统的发育方面. 形态学及组织学观察表明, 中国大鲵卵裂并非盘状卵裂类型. 同时, 中国大鲵胚胎发育过程中前三次卵裂均为经裂, 胚胎消化系统的发育迟缓, 无平衡器或口吸盘等, 这些均为中国大鲵胚胎发育的显著特点.

关键词 中国大鲵 胚胎发育 卵裂 器官发生

两栖类是脊椎动物由水生到陆生的过渡类型, 两栖动物胚胎学研究对探索脊椎动物进化及比较胚胎学具有重要意义. 目前, 两栖类胚胎学的研究主要集中于无尾目及有尾目蝾螈科, 蔡堡^[1]为东方蝾螈胚胎发育建立了分期系统, 绘制了翔实的外形及器官发育图谱. 有尾目隐鳃鲵科系进化过程中残留的古生物类群^[2], 现仅存 3 种: 北美大鲵、日本大鲵和中国大鲵 (*Andrias davidianus*). 北美大鲵和日本大鲵未见有胚胎发育相关的研究报道, 有关中国大鲵胚胎学研究^[3-5]仅局限于对外形的初步观察, 胚胎发育时期的划分不清晰, 同时缺乏组织器官发生发育的研究. 近年来作者所在研究室在成功开展中国大鲵人工繁殖基础上, 对中国大鲵胚胎发育进行了连续、系统的形态以及组织学观察, 在中国大鲵早期卵裂及器官的发生发育方面获得了新的认识, 为研究隐鳃鲵科其他物种及两栖类系统进化奠定了基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

中国大鲵人工催产及孵化是在本研究室大鲵人工繁育基地进行的. 已达性成熟亲本通过人工催产、人工授精获得受精卵. 受精卵在地下室孵化池中流水孵化 (水温 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, 溶解氧 $(5 \pm 1)\text{mg/L}$, pH 值 7.4—7.6), 每日平均光照大约 1h, 照度为 4 kx.

1.2 研究方法

外形观察的方法为: 受精后-多细胞期, 每 2 小时观察记录一次; 囊胚期-尾芽期, 约每 8 小时观察记录一次; 鳃板期-孵化出膜, 约 12 h 观察记录一次. 胚胎发育时期的确定基本上以同批胚胎 1/2 达到该时期为准, 2003—2005 年期间共观察统计了 1100 余枚胚胎.

组织学研究采用所拍照记录的胚胎, 具体方法为: 卵裂阶段每个时期取 2 枚胚胎; 囊胚和原肠胚

2007-03-26 收稿, 2007-04-24 收修稿稿

^{*} 国家自然科学基金 (批准号: 30450006) 和湖南省教育厅 (批准号: 06B055) 资助项目

^{**} 同等贡献作者

^{***} 通信作者, E-mail: Liuyun@hunnu.edu.cn

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

各取 3 枚胚胎；神经胚各时期分别取 2 枚胚胎；器官形成阶段每日取 1—2 枚胚胎。共取得大鲵胚胎 56 枚，早期胚胎采用 Smith's 液固定，常规酒精-叔丁醇脱水，前肢芽期后的胚胎采用 Bouin's 液固定，常规酒精脱水，石蜡包埋，切片（厚度 6—10 μm），常规 HE 染色。

形态观察及照像采用 Nikon SMZ800 体视镜摄像系统，Olympus XTL-II 型照相机体视显微照相系统和 Sony R1 数码相机；显微切片观察及照像采用 Nikon E600 显微图像采集系统。

分期系统的建立依据中国大鲵胚胎发育各阶段获得的外形记录及图片，结合组织学切片结果，分析其外形变化及主要器官发生发育变化特征，并划分具体发育时期。分期标准参考东方蝾螈^[1]和黑斑蛙^[6]的分期方法。

2 实验结果

中国大鲵胚胎发育可分为 6 个阶段，共 20 个发育时期(见表 1)。

2.1 卵裂阶段

中国大鲵卵子大多直径为 5—8 mm，不含色素，卵黄含量非常丰富，卵子呈卵黄色，动物极附近颜色稍浅。卵子外裹有胶膜，入水后胶膜吸水膨胀，卵周隙明显扩大。

受精后 20h 左右，动物极出现一条分裂沟，第一次卵裂开始。第一次卵裂为经裂(图 1(a))，分裂沟在动物极端较深，随着分裂进行，分裂沟缓慢地向下延伸并越来越浅，越过赤道面后消失在植物半球，第一次分裂完成大约需要 4—8 h。第二条分裂沟在第一条分裂沟出现大约 2 h 后出现，第二次分裂亦为经裂，与第一次分裂面垂直(图 1(b))。第三次卵裂仍为经裂，并且有两个相互垂直的经裂面。前三次分裂在动物极端呈现“米”字形(图 1(c))，随后的第四次分裂为纬裂，分裂面靠近动物极顶端，并且分裂在各个卵裂球不是同时进行的，分裂速度出现明显差异，细胞的排列也不规则。在最初的几次分裂中，动物半球每隔 2—4 h 就会产生一条分裂沟，之后胚胎的分裂速度逐渐加快，分裂沟在动物半球越来越多，在植物半球只能依稀看见数条浅分裂沟。

表 1 中国大鲵胚胎发育分期表

发育阶段	胚胎发育时期	发生时间/h (受精开始)	胚胎发育分期标志
卵裂阶段	二细胞期	18—22	受精卵分裂
	四细胞期	22—26	2 条分裂沟出现
	八细胞期	26—30	4 条分裂沟出现
	多细胞期	30—48	卵裂腔出现
囊胚阶段	囊胚早期	48—90	囊胚腔出现
	囊胚晚期	90—128	囊胚腔扩大，囊胚腔顶壁为 2—3 层细胞
原肠胚阶段	原肠早期	128—172	新月沟/背唇出现
	原肠中期	172—216	原肠腔扩大，侧唇出现
	原肠晚期	216—240	囊胚腔消失，卵黄栓形成
神经胚阶段	神经板期	240—256	神经板/原体节腔出现
	神经褶期	256—280	形成神经褶，体节出现
	神经管期	280—300	前、后脑分化，视泡/咽/肾管/肠出现
器官形成阶段	尾芽期	300—356	心脏原基出现，尾芽形成
	鳃板期	356—412	鳃板形成，体色素出现，心房/心室分化
前肢芽早期	前肢芽早期	412—468	听囊/中脑/菱脑/鳃芽/肝脏/前肢芽出现，心脏开始搏动，脊索开始空泡化
	前肢芽晚期	468—516	晶状体/嗅窝/甲状腺出现
鳃血循环早期	鳃血循环早期	516—540	眼色素形成，鳃血循环出现，腹部形成透明血管网
	鳃血循环晚期	540—596	外鳃芽分支增多，下颌/胃出现，体色素丰富
尾血循环期	尾血循环期	596—676	晶状体透明，外鳃呈羽状，尾血循环明显，色素在腹部广泛分布
孵化阶段	后肢芽期	676—768	后肢芽/肛门出现，背部出现皮肤腺

2.2 囊胚阶段

从第三天开始胚胎发育进入囊胚期。囊胚期胚体呈球状(图 1(e), (f))，在近动物极端出现一个大的空腔，此即囊胚腔(图 2(a))，在植物半球可见较多呈龟裂状分裂沟。囊胚腔顶端的细胞界限不清晰，但可见细胞核，卵黄颗粒也较细密，卵黄含量较少；囊胚腔底端植物半球细胞大，可见细胞核(图 2(b))，周围卵黄密布。

2.3 原肠胚阶段

从第六天开始，胚胎赤道面稍下方出现一道浅的横沟，沟的上方为背唇(图 1(g), (h)；图 2(c))，

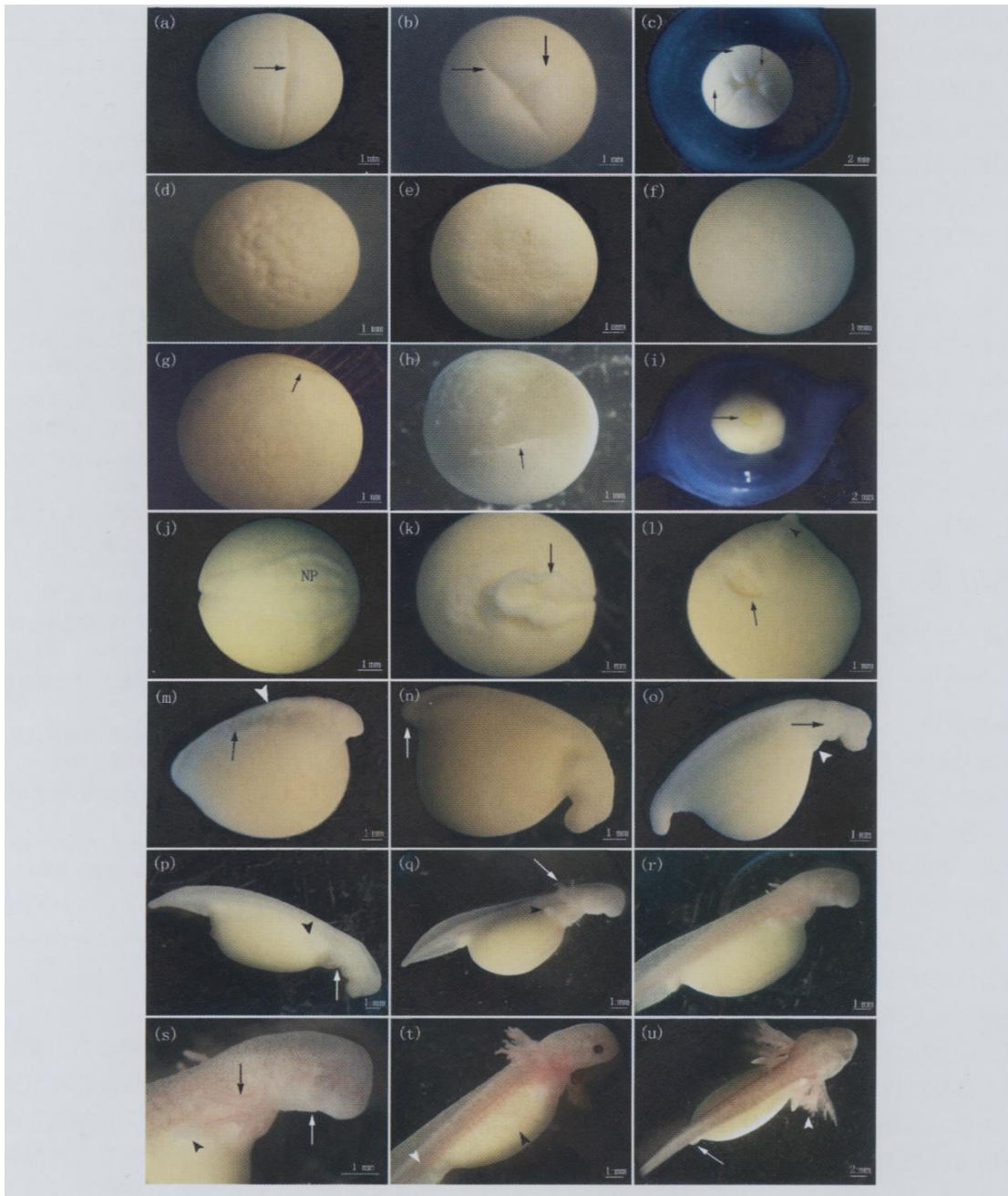


图 1 中国大鲵胚胎发育外形图

(a) 二细胞期; (b) 四细胞期; (c) 八细胞期, 箭头示分裂沟; (d) 多细胞期; (e) 囊胚早期; (f) 囊胚晚期; (g) 原肠早期顶面观; (h) 原肠早期侧面观(固定后的胚胎); (i) 原肠晚期腹面观; (j) 神经板期, NP 示神经板; (k) 神经褶期, 箭头示神经褶; (l) 正在愈合的神经胚尾端, 长箭头示胚孔, 短箭头示神经管; (m) 神经管期, 箭头示体节, 短箭头示神经管; (n) 尾芽期, 箭头示突出的尾芽; (o) 鳃板期, 箭头示隆起的鳃板, 短箭头示心脏位置; (p) 前肢芽早期, 箭头示鳃芽, 短箭头示前肢芽; (q) 前肢芽晚期; (r), (s) 鳃血循环期, 黑箭头示外鳃, 白箭头示下颌; (t) 尾血循环期, 白箭头示尾血管, 黑箭头示腹部色素; (u) 后肢芽期, 箭头示后肢芽, 短箭头示羽状外鳃

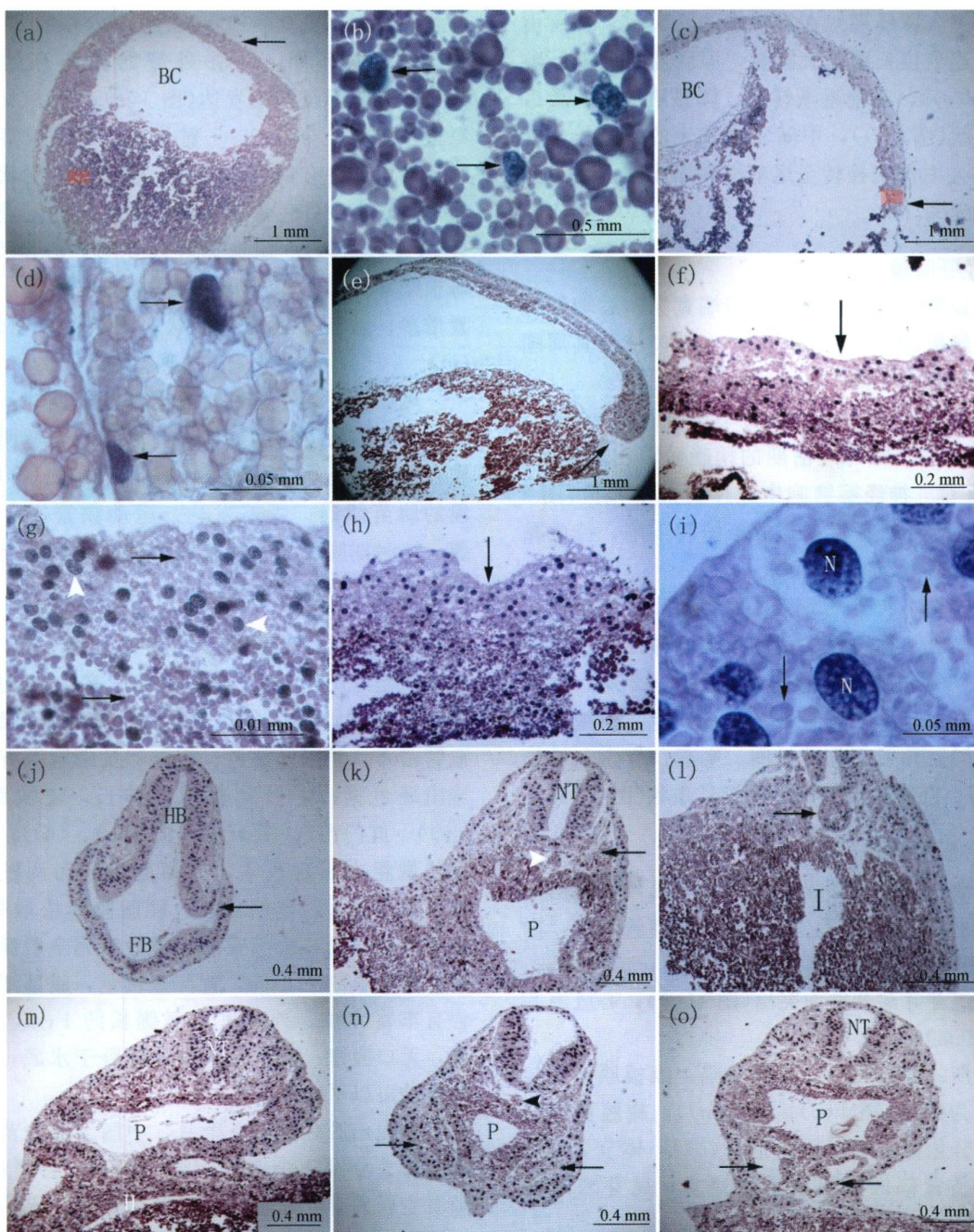


图 2 中国大鲵胚胎发育组织显微图

(a) 囊胚期横切切片, BC 示囊胚腔 箭头示囊胚腔顶壁细胞, 红色区域放大为(b)图; (b) 囊胚植物半球放大 箭头示细胞核; (c) 原肠胚早期切片, BC 示囊胚腔, 箭头示背唇, 背唇左侧的空腔是由于卵黄脱落造成的假象, 并非原肠腔, 红色区域放大为(d)图; (d) 原肠胚背唇, 箭头示细胞核; (e) 原肠胚晚期纵切切片, 箭头示背唇; (f) 神经板期横切, 箭头示神经板 (g) 神经板细胞放大, 短箭头示细胞核, 箭头示卵黄颗粒; (h) 神经褶期横切切片; (i) 神经褶部位放大图, N 示细胞核, 箭头示卵黄颗粒; (j) 神经管期头部纵切切片, 箭头示眼泡, FB 示前脑, HB 示后脑; (k) 神经管期胸部横切切片, 箭头示体节, 短箭头示实心的脊索, NT 示神经管, P 示咽; (l) 神经管期腹部横切切片, 箭头示脊索, I 示肠; (m) 尾芽期胸部横切切片, H 示心脏原基; (n) 鳃板期头部横切切片, 箭头示鳃板, 短箭头示脊索; (o) 鳃板期胸部横切切片, 箭头示心房心室

胚胎发育进入原肠期。在接下来的几天里，背唇由短的浅沟逐渐拉长成为大圆弧，原肠腔扩大囊胚腔消失(图 2(e))，胚轴逐渐转动。圆弧形的胚孔最后合并为环状(图 1(i))，中间充塞着大的卵黄栓，受精后 10 d 左右卵黄栓转至尾部慢慢缩小，并在神经管闭合时消失。

2.4 神经胚阶段

神经板期：胚胎背部出现前端宽大、后端细长的勺状神经板(图 1(j)；图 2(f))，神经板及其周围的组织依然含有丰富的卵黄(图 2(g))。

神经褶期：神经板边缘高举出现神经褶(图 1(k)；图 2(h))。在神经褶期的稍晚阶段出现体节，大约 6—8 对。神经褶细胞中充斥着大量卵黄(图 2(i))。神经褶沿胚胎背中部汇聚中间下陷，彼此黏附、融合形成中空的神经管。

神经管期：神经管闭合(图 1(m))，胚胎在胶膜内开始侧卧。神经管头部膨大离开卵面突出，并出现凸凹不平的隆起；体节大约 10—12 对，体节下方出现肾原基。神经管头部可见视泡、前脑和后脑(图 2(j))；稍后部位可见咽、咽囊、脊索和肾管(图 2(k))；胚胎后端的肠呈现细长条状(图 2(l))。

2.5 器官形成阶段

尾芽期：胚胎头部显著膨大，肉眼可分辨出眼泡，并且由于脑的发育，整个神经管伸长较快，因此产生弯曲，脑部向下弯曲约成 90°角，成为脑曲，尾部形成尾芽并离开卵面突出(图 1(n))；心脏原基出现(图 2(m))。

鳃板期：眼泡突出，周围凹陷；鳃板原基隆起逐渐分化为鳃弓(图 1(o)；图 2(n))；胸腔更加膨大，心脏分化为心房和心室(图 2(o))；体节 24 对；体表尤其是背部区域出现色素斑点；尾芽末端细圆。

前肢芽期：前肢芽出现原基；鳃板部位分化出 3 对短小的外鳃芽(图 1(p)，(q)；图 3(c)，(d)，(f))；胸腔透明化，心脏浅色并开始跳动，每分钟 25 次左右；胚体可以缓慢扭动。视杯、晶状体、嗅窝出现(图 3(a))；听囊、中脑、菱脑、脑神经节出现，甲状腺出现，脊索开始空泡化，肝脏出现(图 3(b)，(c)，(e))。3 对外鳃芽增长并长出分枝；体色素增多，心律 30—40；同时富含卵黄的腹部细胞

分裂加快，可见众多细胞核(图 3(g))。

鳃血循环期：心脏-外鳃的循环开始，心率 40—50；头部及外鳃发达(图 1(s)；图 3(h)，(i))。每根外鳃芽上分出 3—5 对分枝，可以观察到透明的毛细血管中有红细胞流动；腹部出现网状血管分布；眼出现少许色素，头部、背部的色素成片分布(图 1(r)，(s))。鳃血循环晚期时，心率 50—55；每根鳃芽分枝 5—8 对；眼色素连成环状，腹部色素增多；前肢芽呈现尖细状；下颌及胃出现(图 3(j))。

尾血循环期：可见明显尾部血液循环；下颌裂延长，可以活动；脑壁增厚，晶状体变透明，体色素在腹部广泛分布(图 1(t)；图 3(k)，(l))。此阶段的幼苗肌肉、骨骼发达，运动频繁，常提前脱膜。该时期脱膜的幼鲵存活率较高，而在此时期之前出膜的幼苗大部分死亡。

2.6 孵化期(后肢芽期)

受精后历经 31 d，每根外鳃上有 6—8 对鳃丝分枝，呈羽状，心率每分钟约 55 次；头背部色素、血管密布，呈现黑红色；腹部卵黄细胞区有一半区域出现色素；后肢芽出现并伸长，皮肤腺(图 3(m))、肛门出现(图 1(u)；图 3(n)，(o))；前肢芽增长增粗亦出现色素，出膜前后分为两趾；眼黑亮；背鳍宽大，尾鳍狭长。胚胎胶膜松散并膨胀，幼鲵不断扭动，头部突破胶膜最后完全脱膜。刚出膜的幼苗长约 3.5 cm，背部黑褐色，腹部细胞仍然含有丰富卵黄，外鳃发达每侧长约 1 cm，无平衡棒，无口吸盘。静止时平卧或侧卧于水底，依靠尾部摆动可以平游。

孵化出膜后大约一个月，中国大鲵幼苗前后肢的伸长、分趾逐渐完成，腹部卵黄也会消耗殆尽。随着生长发育，肺也逐渐发育，外鳃在出膜后大约 8 个月开始萎缩，最终完全消失而由肺成为唯一的呼吸器官大约需要 1—2 年的时间。

3 讨论

3.1 关于中国大鲵的卵裂方式

之前有报道认为：中国大鲵卵子受精后形成白色帽状胚盘，分裂仅限于胚盘，属于典型的盘状卵裂^[3-5]。作者近三年对中国大鲵早期胚胎的观察发现：

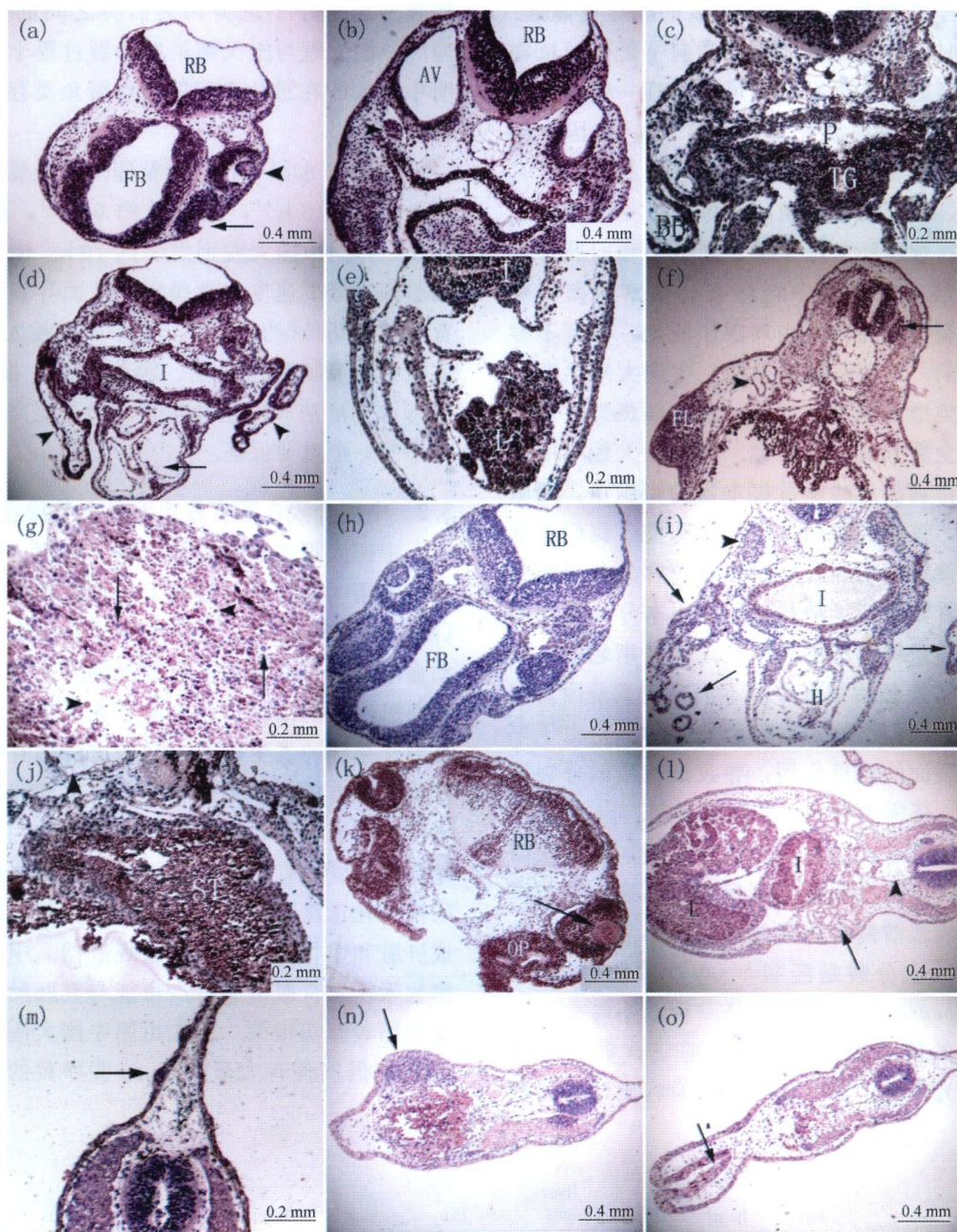


图 3 中国大鲵胚胎发育组织显微图

(a) 前肢芽期头部纵切切片, RB 示菱脑, 箭头示嗅窝, 短箭头示视杯及晶状体; (b) 前肢芽期头部横切切片, AV 示听囊, 短箭头示脑神经, 可见空泡化的脊索; (c) 前肢芽期胸部横切切片, TG 示甲状腺, P 示咽, BB 示鳃芽; (d) 前肢芽期胸部横切切片, 箭头示心脏, 短箭头示鳃芽, I 示肠; (e) 前肢芽期腹部横切切片, L 示肝; (f) 前肢芽期腹部横切切片, 箭头示神经嵴, 短箭头示肾管, FL 示前肢芽; (g) 前肢芽期腹部富含卵黄组织切片, 箭头示细胞核, 短箭头示卵黄颗粒; (h) 鳃血循环期头部纵切切片; (i) 鳃血循环期胸部横切切片, 箭头示鳃芽及鳃丝, 短箭头示脑神经; (j) 鳃血循环期腹部横切切片, ST 示胃; (k) 尾血循环期头部横切切片, 箭头示透明的晶状体, OP 示嗅窝, RB 示发达的菱脑; (l) 尾血循环期腹部横切切片, L 示肝脏; (m) 后肢芽期横切切片, 箭头示背部皮肤腺; (n) 后肢芽期后肢芽处横切切片, 箭头示后肢芽; (o) 后肢芽期肛门处横切切片, 箭头示肛门

中国大鲵卵子受精后，并未见明显的胚盘样隆起。受精卵分裂时，分裂沟自动物极端向下延伸至植物半球。在囊胚期的植物半球上可观察到一些浅龟裂状的分裂沟，这一现象曾有过报道^[4,5]。中国大鲵胚胎没有出现卵黄囊结构，囊胚腔顶壁细胞中含有大量的卵黄，囊胚腔下方植物半球中可见许多细胞核。同时，在神经胚、尾芽期、鳃板期和前肢芽期胚胎的外胚层来源细胞中均存在有丰富的卵黄颗粒。盘状卵裂类型的分裂沟局限于胚盘，卵黄不参与胞质的分割^[7]。观察结果表明，中国大鲵早期胚胎发育卵裂类型不是盘状卵裂，而与黑斑蛙、东方蝾螈的不等全裂方式更为相似。在中国大鲵早期胚胎切片中，特别在那些卵黄很丰富的组织中，细胞界限不清晰，只能观察到大量的细胞核。我们注意到，那些卵黄较少的外胚层组织比较容易分辨细胞界限，而随着卵黄持续消耗，那些原本分界模糊的内胚层来源的组织其细胞界限也逐渐清晰起来。然而中国大鲵早期胚胎细胞界限不清晰究竟是因为细胞质中卵黄对细胞结构观察的影响，抑或是由于丰富卵黄对分裂面的阻遏作用，导致细胞质的分裂滞后于核分裂，还需要进一步的深入研究。

中国大鲵第一、二次卵裂均为经裂，第三次卵裂仍为经裂，第四次卵裂为不规则的纬裂。这与黑斑蛙与东方蝾螈前两次卵裂是经裂，第三次卵裂则为纬裂，第四次分裂是经裂^[1,6]存在着明显差异。施氏鲟(*Acipenser Schrenckii*)是一种以不等全裂方式进行卵裂的硬骨鱼类，施氏鲟前三次卵裂为经裂，第四次为纬裂，刘洪柏等^[8]认为施氏鲟的这种

卵裂方式是介于鱼类和两栖类之间的一种过渡类型。中国大鲵与施氏鲟早期卵裂过程十分相似，表明中国大鲵在进化上可能与硬骨鱼类存在有密切关系。

在 20℃水温下，从受精卵发育至囊胚早期多数硬骨鱼类仅 3 h^[9]，黑斑蛙约 6 h^[10]，东方蝾螈约 24 h^[11]，而中国大鲵则需要约 70 h。中国大鲵早期胚胎细胞分裂速度非常缓慢，从而导致整个胚胎发育持续时间长(约 700 h)。在中国大鲵人工繁育生产实践中，控制孵化温度、孵化密度，提高溶氧量，保持水体清洁和防止微生物侵染是提高中国大鲵孵化率的一个重要保证。

3.2 中国大鲵在器官发生发育上的特点

中国大鲵在脑的分化，眼、嗅窝、听囊、肾管和生殖嵴的发生发育过程上与东方蝾螈^[1]基本相同(图 4)。在鳃板期二者都出现了心房心室，心脏搏动血液循环也都是在前肢芽早期开始的，但中国大鲵心脏原基的出现要稍稍晚于东方蝾螈。中国大鲵在消化系统的发生发育上与东方蝾螈存在有较大的差异：东方蝾螈在神经管期、尾芽期和鳃板期分化出咽、肝脏和甲状腺，并且形成了肛门；而中国大鲵在神经管期有咽和肠的形成，在此之后的较长时间内消化道没有明显发育变化，直到前肢芽期才形成肝脏和甲状腺，孵化期出现肛门。中国大鲵胚胎消化系统发育缓慢的特点可能与其胚胎细胞含有丰富的卵黄密切相关。孵化出膜中国大鲵幼苗的组织细胞中仍然含有大量卵黄，这些卵黄的存在为胚后

	PH			OP			
	OV			AV			
	FB		AT	liver			
<i>A. davidianus</i>	HB	heart	VT	lens	TG	ST	anus
						MD	
	PH		AT				
	OV		VT				
	FB	liver	lens				
<i>C. orientalis</i>	HB	TG	OP		ST		
	heart	AV	anus		MD		

神经管期 | 尾芽期 | 鳃板期 | 前肢芽早期 | 前肢芽晚期 | 鳃循环早期 | 鳃循环晚期 | 尾血循环期 | 后肢芽期

图 4 中国大鲵与东方蝾螈在相对应的发育时期出现的器官的比较图

PH 咽；OV 视泡；FB 前脑；HB 后脑；heart 心脏；AT 心房；VT 心室；OP 嗅窝；AV 听囊；liver 肝脏；lens 晶状体；TG 甲状腺；ST 胃；MD 下颌；anus 肛门

发育提供营养. 大鲵幼苗细胞中的卵黄大约在孵化出膜后 30 d 左右消耗殆尽, 此时消化系统也已基本发育完善, 方可开始投喂饵料. 刚孵化的大鲵幼苗虽然已经开口、具有吞咽食物的能力, 但若立即喂食, 则会导致幼苗死亡.

大多数两栖动物胚胎孵化后在其头部发生一类临时性的器官: 东方蝾螈为平衡器^[1], 无尾类为口吸盘. 平衡器为棒状突起. 一般认为平衡器的存在可以帮助幼苗在水中保持平衡; 口吸盘则通过分泌糖蛋白粘液, 使蝌蚪粘附于水中的物体上^[12]. 在中国大鲵幼苗中并未观察到有平衡器或口吸盘的出现. 东方蝾螈幼苗体长约 1.2 cm^[1], 黑斑蛙幼苗约 1.1 cm^[9], 体型均较小, 在水体中需要依靠平衡器或口吸盘来维持身体平衡和稳定. 中国大鲵孵化时体长约 3.5 cm, 腹部呈勺状, 体型较大, 幼苗可以借助于一对长达 1 cm 的发达外鳃来保持身体平衡. 作者认为平衡棒和口吸盘这类临时性器官的缺失可能与中国大鲵的自身发育特点相适应.

参 考 文 献

1 蔡 堡. 东方蝾螈胚胎发育图谱. 上海: 科学出版社, 1978.

- 27—77
- 2 Gao KQ, Shubin NH. Earliest known crown-group salamanders. *Nature*, 2003, 422: 424—428
 - 3 阳爱生, 卞 伟, 刘运清, 等. 大鲵胚胎发育的初步研究. *动物学报*, 1983, 29(1): 42—47
 - 4 刘鉴毅, 林锡芝, 杨焱清, 等. 大鲵早期胚胎发育观察. *动物学杂志*, 1994, 29(4): 42—46
 - 5 冯小荣, 邓凤姣, 刘 汀, 等. 大鲵胚胎发育的组织学研究. *武汉大学学报*, 1997, 43(4): 500—504
 - 6 朱治平, 施履吉. 黑斑蛙正常发育表. *解剖学报*, 1957, 2: 59
 - 7 张天荫. *动物胚胎学*. 济南: 山东科学技术出版社, 1996, 151—152
 - 8 刘洪伯, 宋苏祥, 孙大江, 等. 施氏鲟的胚胎及胚后发育研究. *中国水产科学*, 2000, 7(3): 5—10
 - 9 张天荫. *动物胚胎学*. 济南: 山东科学技术出版社, 1996, 160—161
 - 10 张天荫. *动物胚胎学*. 济南: 山东科学技术出版社, 1996, 95
 - 11 耿家举, 章菊明, 蔡 堡. 东方蝾螈早期胚胎发育的初步观察. *动物学报*, 1960, 12(2): 175—184
 - 12 Fox H. *Amphibian morph Genesis*. New Jersey: Humana Press, 1984