蝾螈足垫形貌特征及黏附机制

宫岭, 于海武, 李蓉, 王彩萍, 贾红铎, 王晓杰*

中国科学院合肥物质科学研究院先进制造技术研究所, 常州 213164

* 联系人, E-mail: xjwang@iamt.ac.cn

2015-10-26 收稿, 2015-12-09 修回, 2015-12-11 接受, 2016-03-20 网络版发表

国家自然科学基金(51305425)、国家重点基础研究发展计划(2011CB302101, 2011CB302106)和中国科学院青年创新促进会基金(2016387)资助

摘要 为探讨东方蝾螈足垫的黏附特性, 本文分别进行了蝾螈的黏附实验研究及其足垫的微观形貌分析. 黏附实验结果显示: 东方蝾螈能够黏附在超过 90° 的光滑干或湿的玻璃表面上, 整体显示出较强的剪切抵抗能力, 与蝾螈亚成体相比, 蝾螈幼体表现出更强的垂直黏附效率. 形貌分析结果显示: 蝾螈亚成体的足垫表面存在大量的黏液腺孔, 表皮细胞间存在窄裂缝, 而蝾螈幼体的足垫表面黏液腺孔稀少, 表皮细胞(大小约 $29\ \mu\text{m}$)排列紧密, 细胞被明显的凸起边界(宽度 $337\pm 82\ \text{nm}$, 高度 $180\pm 55\ \text{nm}$)围绕. 蝾螈亚成体和幼体的足垫表皮细胞表面均被一层尖端呈半球形的纳米柱阵列覆盖, 纳米柱被小沟槽围绕. 纳米柱的数量密度约为 $60\ \text{个}/\mu\text{m}^2$, 其高度和宽度相当, 约为 $160\ \text{nm}$, 对应约 1.0 的高宽比. 纳米压痕测试显示: 蝾螈足垫表面较软, 其有效弹性模量约为 $564.8\pm 239.1\ \text{kPa}$. 基于黏附实验及形貌分析结果, 文章重点讨论了足垫形貌特征与其相适应的黏附机制. 本研究可为新一代仿生水下黏附材料的开发提供新颖的启发.

关键词 东方蝾螈, 足垫, 黏附性能, 形貌特征, 功能, 黏附机制

东方蝾螈(*Cynops orientalis*)是一种古老的两栖动物, 栖息于山地池塘、水田或溪流中, 这种动物可能为湿黏附机制特别是水下黏附机制的研究提供一个新的研究对象. 最近的研究显示蝾螈能在几乎垂直的湿玻璃表面爬行^[1], 类似于壁虎爬壁. 扫描电子显微镜(SEM)观察显示东方蝾螈脚趾垫的微观形貌^[1]与树蛙^[2]类似. 然而, 东方蝾螈似乎依赖其整个足垫发挥黏附作用, 而树蛙则利用它们趾尖脚趾垫^[2]. 目前, 与东方蝾螈发挥黏附作用相关的一些形貌特征还不清楚, 例如, 蝾螈足垫表面是否存在黏液腺孔. 而且与形貌特征相适应的黏附机制还不清楚, 因此, 还需要进一步研究. 据此本文提出3个问题: (1) 东方蝾螈足垫的黏附性能如何? (2) 东方蝾螈的足垫表面具有什么样的形貌特征? (3) 东方蝾螈如何依赖这些形貌特征发挥黏附作用? 以上问题的回答

将有助于深入理解东方蝾螈的足垫形貌及黏附机制, 为仿生黏附材料的开发及相关器件的设计提供直接的指导, 还可为新一代仿生水下黏附材料的开发提供新颖的启发.

文中首先利用力学实验方法研究了东方蝾螈足垫的黏附性能, 然后借助扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)以及原子力显微镜(AFM)详细分析了东方蝾螈的足垫形貌特征, 并通过与其他两栖动物或爬行动物足垫形貌及黏附机制的比较, 讨论了蝾螈足垫形貌特征与其相适应的黏附机制.

1 材料和方法

1.1 材料

本文以东方蝾螈亚成体和幼体作为研究对象.

引用格式: 宫岭, 于海武, 李蓉, 等. 蝾螈足垫形貌特征及黏附机制. 科学通报, 2016, 61: 2587–2595

Gong L, Yu H W, Li R, et al. Morphology and adhesion mechanisms of newt *Cynops orientalis*' foot pads (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 2587–2595, doi: 10.1360/N972015-01202

蝾螈从供应商处购买, 饲养在玻璃容器中, 选择健康的个体用来实验. 黏附实验和显微测试分别使用了14只和3只东方蝾螈.

1.2 黏附实验

黏附实验在一自制的旋转平台上进行, 如图1所示, 该平台可360°自由旋转, 旋转角度通过测角器的指针读出. 平台表面的基底材料可更换, 不同的湿黏附条件由控制平台顶端软管内流体的流量实现. 用一个流量泵将平台下方水槽中的水抽送至平台顶端, 通过横向固定钻孔的软管实现分流. 实验使用光滑的有机玻璃板作为基底, 采用3种流速: 0流速(0 mL/min)模拟干、小流速(50 mL/min)模拟湿、大流速(120 mL/min)模拟溪流. 实验前, 设置好基底材料及水流条件, 蝾螈称重后, 将其放于旋转平台上, 此时平台处于小角度(约30°), 留给蝾螈一定的时间(约30 s)调整适应, 然后手动缓慢旋转平台直到蝾螈掉落, 记录掉落角. 单只蝾螈在特定的实验条件下重复10次, 测试结果取10次的平均值.

图1 (网络版彩色) 旋转平台装置图. ① 支架, ② 手把, ③ 测角器, ④ 基底, ⑤ 水槽, ⑥ 流量泵, ⑦ 软管, ⑧ 分流管, ⑨ 蝾螈. 图中白色箭头标明旋转方向

Figure 1 (Color online) Key elements of the tilting platform. ① Support, ② handle, ③ protractor, ④ substrate, ⑤ water tank, ⑥ flow pump, ⑦ hosepipe, ⑧ spray pipe, ⑨ Newt. Arrow indicates rotating direction

1.3 扫描和透射电子显微镜测试

将东方蝾螈用一剂致死苯佐卡因处理后, 快速将其前后肢切下, 冲洗后浸泡在2.5%戊二醛溶液中固定24 h, 用0.1 mol L⁻¹磷酸漂洗液漂洗3次, 每次15 min, 然后浸泡在1%锇酸溶液中固定2~3 h, 再次用0.1 mol L⁻¹磷酸漂洗液漂洗3次, 每次15 min.

(1) 扫描电子显微镜(SEM). 固定后的样品在乙醇系列(浓度分别为70%, 80%, 90%, 95%, 100%)中逐步脱水, 每个环节24 h, 经临界点干燥处理后, 安装、喷金, 在JSM-6360LA型扫描电子显微镜上进行观测.

(2) 透射电子显微镜(TEM). 固定后的样品分别在乙醇系列(浓度分别为50%, 70%, 90%)、90%乙醇和90%丙酮混合液(1:1)、90%丙酮中依次脱水15~20 min, 以上脱水操作在4℃的冰箱内进行, 然后在室温下100%丙酮中分3次分别脱水15~20 min. 脱水后的样品被包埋在环氧树脂中, 在60℃的烘箱中24 h固化. 超薄切片(50~60 nm)在一台Leica UC6冷冻超薄切片机上切取, 将切片安装在铜网上, 使用乙酸双氧铀和柠檬酸铅染色后, 在JEM-2010HT型透射电子显微镜上进行观测.

1.4 原子力显微镜(AFM)测试

AFM测试在一台NanoWizard III型原子力显微镜(JPK Instruments AG, Berlin, Germany)上进行, 使用HQ:XSC11/A1 BS/50型硅探针(背面镀铝反射层), 其弹性系数为0.2 N/m, 共振频率为15 kHz, 针尖曲率半径为8 nm. 新鲜的蝾螈足被切下后, 快速用超强力胶水粘到载玻片上, 然后置于AFM BioCell腔室中. 样品被浸泡在水中进行两种测试: (1) 足垫表面形貌扫描, 记录高度图和偏移图. 在2 nN的冲击力下扫描, 概览图扫描尺寸为10 μm×10 μm, 扫描速率为1.2 Hz. 细节图扫描尺寸为1 μm×1 μm, 扫描速率为2 Hz. (2) 纳米压痕测试, 获得足垫外表皮层的物理性能, 通过驱动z轴1 μm的幅度在足垫表面进行多个压痕测试, 拉开速率为2 Hz. 图像处理使用AFM自带的SPIP软件(Scanning Probe Image Processing Software, v.5.1.2, Image Metrology A/S, Hørsholm, Denmark).

2 结果与讨论

2.1 黏附实验

图2所示为3种实验条件下东方蝾螈掉落角随重

图2 蝶螈掉落角随重量的变化关系图

Figure 2 Angle of fall of newts plotted against body weight under three different conditions

量的变化关系, 由图可知, 在光滑干和光滑湿两种实验条件下, 掉落角整体高于 90° , 说明在这两种实验条件下, 所有用于黏附实验研究的东方蝶螈都能够成功黏附在 90° 的竖直玻璃表面上; 然而, 只有蝶螈幼体在测试中能够成功黏附在 180° 的倒转玻璃表面上. 图3所示为蝶螈在不同倾角的基底表面黏附时的受力情况, 由图可知, 当倾角为 90° 时(图3(b)), 平行黏附力($F_{\parallel}$)达到最大, 当倾角为 180° 时(图3(d)), 垂直黏附力($F_{\perp}$)达到最大. 根据力的三角关系, 可从原始的重量和掉落角数据进一步计算得到相应的黏附力. 图4(a)所示为光滑干和光滑湿两种实验条件下平行黏附力和垂直黏附力随掉落角的变化关系图, 从图中可以看出, 当掉落角 $\theta < 130^\circ$ 时, 垂直黏附力明显低于平行黏附力, 随着掉落角的增大($\theta > 130^\circ$), 垂直黏附力逐渐接近甚至超过平行黏附力. 以上论述表明, 东方蝶螈整体具有强的剪切抵抗能力, 与蝶螈亚成体相比, 蝶螈幼体显示出更强的垂直黏附效率.

由图3可知, 当蝶螈掉落角 θ 大于 90° 而小于 180° 时, 其必需提供相应的平行黏附力($F_{\parallel}$)和垂直黏附力($F_{\perp}$)来抵消自身重力的切向($W_{\parallel}$)和法向($W_{\perp}$)分量, 当掉落角 θ 大于 0° 而小于 90° 时, 则必需提供相应的平行黏附力($F_{\parallel}$)来抵消自身重力的切向分量($W_{\parallel}$). 由此可知, 东方蝶螈必然利用了相应的机制来实现强的剪切抵抗以及强的黏附. 实验观测发现, 在湿的光滑玻璃表面黏附时, 东方蝶螈的足垫与表面之间通过填充的液体连接, 接触区周围存在弯液面, 类似于Barnes等人^[3]在树蛙脚趾垫边缘观察到的液体边. 随后, 显微测试显示蝶螈亚成体的足垫表面存在大量的黏液腺孔(图5(a)), 这说明蝶螈在光滑湿的表

图3 蝶螈(由图中方形盒子表示)在不同倾角基底表面黏附时的受力情况. (a) $0^\circ < \theta < 90^\circ$; (b) $\theta = 90^\circ$; (c) $90^\circ < \theta < 180^\circ$; (d) $\theta = 180^\circ$. N =法向力, W =重量, F =黏附力, $\perp$ =垂直基底, $\parallel$ =平行基底, θ =倾斜角

Figure 3 Diagram of forces involved in attachment to a substrate inclined at different angles. (a) $0^\circ < \theta < 90^\circ$; (b) $\theta = 90^\circ$; (c) $90^\circ < \theta < 180^\circ$; (d) $\theta = 180^\circ$. Box represents a newt. N =normal force, W =weight, F =sticking force, $\perp$ =perpendicular, $\parallel$ =parallel, θ =angle of incline

面可能主要利用了液体薄膜实现黏附, 而在光滑干的表面则可能主要利用了自身分泌的黏液实现黏附. 同时, 在光滑干和光滑湿两种实验条件下掉落角很接近(图2), 从该现象中可以看出足垫和表面之间形成的黏液膜和水膜发挥了类似的作用.

光滑溪流条件导致掉落角明显下降, 这是因为足垫与基底表面之间的弯液面遭到破坏, 从而影响了黏附效率, 从实验的角度进一步说明东方蝶螈利用了液体薄膜的表面张力实现黏附, 同样的结论在树蛙和树栖蝶螈的研究文献^[2,4,5]中被证明. 图4(b)所示为光滑溪流条件下平行黏附力随蝶螈施加给基底表面压力($W_{\perp}$)的变化关系图, 由图可知, 平行黏附力对压力显示出了正线性的依赖关系. 由于大的压力有助于足垫与基底表面之间紧密接触, 另一方面, 蝶螈足垫表面高度结构化的形貌特征也便于足垫与基底表面之间紧密接触, 因此东方蝶螈可能利用与树蛙类似的边界摩擦^[6]来显著增强其黏附力, 还可能通过腿的对拉使足垫产生方向向内的剪切力^[7].

2.2 足垫形貌特征及其功能

(i) 黏液腺孔. 图5为东方蝶螈亚成体足垫

图4 (a) 黏附力随掉落角的变化关系图; (b) 平行黏附力随压力的变化关系图

Figure 4 (a) Parallel and perpendicular sticking forces of newts plotted against angle of fall under smooth and dry/wet conditions; (b) parallel sticking force of newts plotted against body pressure on substrate under smooth and stream conditions, solid line representing linear fit to data

表面的SEM图, 图5(a)显示足垫表面存在大量形状和大小变化的黏液腺孔, 它们在表皮细胞间的交界处开口(图5(b)), 图5(c)所示为一放大的黏液腺孔图, 这与树栖蝾螈^[8]蹼化脚掌表面以及树蛙^[9]脚趾垫表面的黏液腺孔类似. 然而蝾螈幼体足垫表面的黏液腺孔相对稀少(图6(a)), 这可能与蝾螈足垫中黏液腺的发展过程相关, 就像树蛙脚趾垫中的黏液腺存在一个从表皮到真皮的发展过程^[10]. 本文推测蝾螈亚成体足垫表面大量的黏液腺孔为其发挥黏附作用提供了必要条件, 分泌的黏液沿黏液腺管道输送至足垫表面可同时发挥两种作用: (1) 通过黏液的表面张力(毛细作用)提供垂直黏附力($F_{\perp}$)以实现强的黏附; (2) 通过黏液的表面张力和/或黏性(Stefan黏附)提供平行黏附力($F_{\parallel}$)以实现强的剪切抵抗. 类似于昆虫足垫使用具有非牛顿性能的乳液实现湿黏附和抵抗剪切的双重功效^[11,12]. 黏附实验研究(图2)表明蝾螈幼体利用

图5 东方蝾螈亚成体SEM图. (a) 足垫表面存在大量的黏液腺孔; (b) 黏液腺孔在表皮细胞间的交界处开口; (c) 一个放大的黏液腺孔; (d) 足垫表皮细胞间的窄裂缝

Figure 5 Scanning electron micrographs of foot pads of sub-adult newts. (a) Showing lots of mucous pores on the epidermal surface of foot pad; (b) mucous pores open between epidermal cells; (c) higher power image of a mucous pore; (d) epidermal cells separated by narrow clefts

外界液体薄膜作为介质也能实现很好的黏附和剪切抵抗. 文章[13]中指出剪切力也受到液体表面张力的影响, 表面张力提供了对滑动的静态抵抗, 甚至对牛顿液也如此.

(ii) 凸起边界. 图5(d)显示, 东方蝾螈亚成体足垫表面的多边形表皮细胞间存在窄裂缝, 也存在一些不太明显的微凸起边界. 然而, 我们在东方蝾螈幼体的足垫表面发现比较明显的凸起边界(图6). 如图6(a)所示, 蝾螈幼体的足垫表面由紧密排列的多边形表皮细胞构成. 图6(a)中表皮细胞的总面积约为 $11851.0 \mu\text{m}^2$, 假设表皮细胞为面积相等的正六边形, 可计算得到六边形的边长约为 $14.6 \mu\text{m}$, 因此, 蝾螈幼体足垫表面多边形表皮细胞的大小约为 $29 \mu\text{m}$. 蝾螈幼体的足垫表皮细胞被明显的凸起边界环绕, 放大的凸起边界(图6(b))显示边界中央还存在一条窄沟槽. AFM高度图(图6(c))同样显示了一条明显的凸起边界, 使用AFM自带的图像处理软件(SPIP)提取凸起边界的特征参数, 统计结果显示凸起边界的宽度为 $337 \pm 82 \text{ nm}$, 高度为 $180 \pm 55 \text{ nm}$, 中央窄沟槽宽度为 $87 \pm 57 \text{ nm}$ ($N=50$, N 代表不同位置的扫描次数). TEM图(图7)显示了蝾螈幼体足垫表皮细胞间凸起边界的一个截面, 从图中可以清楚地看出, 凸起边界由左边部分、右边部分(如黑色箭头所示)及中间凹槽(深度约为 211 nm)共同构成. 变形期树蛙的脚趾垫表皮细胞间也

图 6 东方蝾螈幼体SEM图和AFM高度图. (a) 足垫表面的多边形表皮细胞被明显的凸起边界围绕; (b), (c) 两相邻表皮细胞间放大的凸起边界

Figure 6 Scanning electron mircographs and “height” image of atomic force microscope of foot pads of young newts. (a) Showing polygonal epidermal cells surrounded by clearly raised boundaries; (b), (c) magnified raised boundaries between adjacent epidermal cells

图 7 TEM图显示蝾螈幼体足垫表皮细胞间凸起边界的一个截面

Figure 7 Transmission electron micrograph showing section view of a raised boundary between epidermal cells of young newt

显示了明显的凸起边界, 随着树蛙发育成熟, 其脚趾垫表面的六边形表皮细胞在顶端被沟槽网络彼此分开^[10]. 东方蝾螈足垫表皮细胞表面的形貌特征可能经历与树蛙类似的发展过程. 东方蝾螈亚成体足垫表皮细胞间的窄裂缝似乎与树蛙或岩石蛙脚趾垫表面的沟槽网络类似, 能够起到分散黏液和排出过多液体的作用^[9,14,15]. 由于东方蝾螈幼体足垫表皮细胞间的凸起边界中央存在窄沟槽, 而且黏液腺孔在表皮细胞间的交界处开口, 因此不排除这样的边界设

计可能同样起到分散黏液的作用. 对于凸起边界将整个表皮细胞围起来的情况(图6(a)), 单个细胞在微观上表现为一个浅边的小杯, 这种结构类似小吸盘, 边界中央窄沟槽中的黏液有助于吸盘边的密封, 这与北部喉盘鱼的吸附盘^[16]以及雄性潜水甲虫的吸附刚毛^[17]类似, 为蝾螈幼体能够黏附在180°的倒转表面上提供了援助. 另外, 凸起边界在微观尺度下还可能有助于适应表面不规则轮廓, 与接触表面形成锁合或卡(lock or snap)的效果.

(iii) 纳米柱阵列. 纳米柱被更精确地描述为半个全桥粒的残余物, 它们不仅在将足垫不同表皮层粘在一起中发挥着重要作用, 而且在黏附和/或摩擦中扮演着特定的角色^[3]. SEM图(图8(a))显示东方蝾螈足垫的表皮细胞表面被一层尖端呈半球形的纳米柱阵列覆盖, 纳米柱被小沟槽围绕. AFM高度图(图8(b))也显示了细胞表面的纳米柱阵列, 放大图(图8(d))显示了纳米柱半球形的尖端和相对更加紧密的排列. 从显微图(图8(a)和(d))中获得纳米柱阵列的数量密度约为60个/ μm^2 (等效于 6×10^7 个/ mm^2), 落在tokay壁虎^[18]刚毛分叉尖端小铲的数量密度范围($1.44 \times 10^6 \sim 1.44 \times 10^8$ 个/ mm^2)之内. 据此, 本文推测, 东方蝾螈足垫表面的纳米柱阵列与壁虎足垫高度分叉的刚毛结构类似, 能够更大程度地增大接触面积.

使用AFM自带的图像处理软件(SPIP), 可获得纳米柱的宽度为 169 ± 37 nm ($N=50$, N 代表选取的纳米柱个数). 由于AFM的探针尖端无法有效地压入到纳米柱间的小沟槽^[3,19], 由AFM获得的高度值(36 ± 16 nm)存在较大偏差. TEM图(图8(c))显示了放大的凸起纳米柱, 统计结果显示纳米柱的宽度为 160 ± 36 nm, 高度为 168 ± 38 nm ($N=35$, N 代表选取的纳米柱个数). AFM和TEM测试结果表明东方蝾螈足垫表皮细胞表面的纳米柱的宽度和高度相当, 约为160 nm, 其高宽比约为1.0, 而岩石蛙^[14]脚趾垫细胞表面的纳米柱高度为400~500 nm, 直径为200~300 nm, 对应高宽比1.4~2.0. 试验研究^[20]表明低高宽比的结构在剪切过程中能够更好地抵抗弯曲和坍塌, 因而能更有效地建立直接接触, 实现更大的摩擦效果.

值得注意的是, 纳米柱的尖端形状(平的, T形的, 凹的)能显著地影响黏附和摩擦^[20]. 树栖蝾螈^[8]蹼化脚掌以及树蛙^[3,19]脚趾垫表面的纳米柱尖端存在小凹坑, 这种尖端形状可能有助于减小液膜厚度和增加纳米柱紧密接触^[19]. 然而, 东方蝾螈足垫表面的

图8 (a) SEM图; (b) AFM高度图, 显示东方蝾螈足垫表皮细胞表面的纳米柱阵列; (c) TEM图显示放大的凸起纳米柱; (d) AFM偏移图显示放大的纳米柱阵列

Figure 8 (a) Scanning electron micrograph; (b) “height” image of atomic force microscope showing dense array of nanopillars on epidermal cell surface of newt foot pads; (c) transmission electron micrograph showing section view of nanopillars; (d) deflection image of atomic force microscope showing magnified array of nanopillars

纳米柱显示出了半球形的尖端, 本文认为这样的尖端形状能够更容易地与基底表面建立直接接触从而形成锁合. 如图9所示, 当蝾螈足垫压向基底表面时, 足垫细胞表面的纳米柱会与基底表面微纳尺度的不规则轮廓在垂直基底方向上形成锁或卡的效果, 而在平行基底方向上产生摩擦效应. 另外, 纳米柱间的小沟槽可能吸收过多的水, 快速优化液膜厚度^[19].

2.3 足垫表面物理性能

本文借助原子力显微镜的纳米压痕模块, 在东方蝾螈亚成体足垫表面进行了多个压痕测试($N=100$), 获得其有效弹性模量为 565 ± 239.1 kPa, 这比树蛙^[19]脚趾垫表面的有效弹性模量(5~15 MPa)要小. Barnes等人^[21]使用微米压痕法测定了树蛙整个脚趾垫的物理性能, 发现脚趾垫非常软(有效弹性模量4~25 kPa), 还显示了弹性梯度, 即一层薄而较硬的皮肤覆盖在软的结构表面. 而昆虫^[22]光滑黏附足垫的层状结构朝着外表面弹性降低(最外表皮层平均有效杨氏模量12 kPa, 下方的前表皮平均有效杨氏模量625 kPa). 功能上, 足垫需要足够软以适应不规则表

图9 蝾螈足垫与基底表面之间锁合及摩擦效应的示意图

Figure 9 Diagram for patterned structure of newt foot pad interacting with substrate surface

面, 提供更好的黏附; 另一方面, 足垫需要足够硬以抵抗磨损和保持微纳结构的基本形状^[6]. 东方蝾螈相对较软的足垫表面很可能同时具备了这两种功能.

2.4 黏附机制

黏附实验研究表明东方蝾螈整体具有强的剪切抵抗能力, 与蝾螈亚成体相比, 蝾螈幼体显示出了更强的垂直黏附效率, 这可能与蝾螈足垫表面高度结构化的形貌特征及其物理性能紧密相关. 东方蝾螈

较软的足垫外表皮层有助于适应基底表面不规则轮廓。蝾螈亚成体足垫中的黏液腺分泌的黏液会在足垫和基底之间形成一层液体薄膜,液膜的表面张力和黏液的黏性是黏附力的主要来源。蝾螈幼体足垫表面黏液孔稀少,它们可能利用栖息环境中的液体作为黏附介质。树栖蝾螈完全蹼化的脚掌通过吸附增强了湿黏附效应^[5,8]。类似地,东方蝾螈幼体足垫表面的凸起边界围绕表皮细胞形成的浅边小杯在黏液和纳米柱阵列的援助下,可能在更小的尺度范围内发挥吸附作用,甚至可能适应水下黏附和摩擦^[14,16,17]。实验研究^[6]表明树蛙脚趾垫与基底表面之间的黏液膜非常薄(厚0~35 nm,平均6 nm),这导致脚趾垫细胞的一些部分与基底直接接触。东方蝾螈足垫表面低高宽比(约1.0)和高数量密度(约 6×10^7 个/ mm^2)的纳米柱阵列具有半球形的尖端,这种结构能够容易地与基底表面建立直接接触,最大程度地增大接触面积,因此可能通过摩擦增强湿黏附,还可能利用与壁虎^[18,23]类似的干黏附机制。

致谢 感谢常州大学生物医学工程与健康科学研究院的潘艳老师、中国科学院动物研究所的贾雷波博士和中国科学技术大学精密机械与精密仪器系的吴晔博士分别在AFM数据后续分析处理、TEM样品制备和SEM样品制备及观测中给予的帮助!

参考文献

- Huang W, Wang X L. Biomimetic design of elastomer surface pattern for friction control under wet conditions. *Bioinspir Biomim*, 2013, 8: 46001–46006
- Emerson S B, Diehl D. Toe pad morphology and mechanisms of sticking in frogs. *Biol J Linn Soc*, 1980, 13: 199–216
- Barnes W J P, Baum M, Peisker H, et al. Comparative Cryo-SEM and AFM studies of hyloid and rhacophorid tree frog toe pads. *J Morphol*, 2013, 274: 1384–1396
- Hanna G, Barnes W J P. Adhesion and detachment of the toe pads of tree frogs. *J Exp Biol*, 1991, 155: 103–125
- Alberch P. Convergence and parallelism in foot morphology in the neotropical salamander genus *bolitoglossa*. i. Function. *Evolution*, 1981, 35: 84–100
- Federle W, Barnes W J P, Baumgartner W, et al. Wet but not slippery: Boundary friction in tree frog adhesive toe pads. *J R Soc Interface*, 2006, 3: 689–697
- Endlein T, Ji A H, Samuel D, et al. Sticking like sticky tape: Tree frogs use friction forces to enhance attachment on overhanging surfaces. *J R Soc Interface*, 2013, doi: 10.1098/rsif.2012.0838
- Green D M, Alberch P. Interdigital webbing and skin morphology in the neotropical salamander genus *Bolitoglossa* (amphibia; plethodontidae). *J Morphol*, 1981, 170: 273–282
- Barnes W J P. *Adhesion in Wet Environments: Frogs*. Glasgow: Springer Netherlands, 2012. 70–83
- Ba-Omar T A, Downie J R, Barnes W J P. Development of adhesive toe pads in the tree frog (*Phyllomedusa trinitatis*). *J Zool Lond*, 2000, 250: 267–282
- Drechsler P, Federle W. Biomechanics of smooth adhesive pads in insects: Influence of tarsal secretion on attachment performance. *J Comp Physiol A*, 2006, 192: 1213–1222
- Dirks J H, Clemente C J, Federle W. Insect tricks: Two-phasic foot pad secretion prevents slipping. *J R Soc Interface*, 2010, 7: 587–593

3 结论

本文通过对东方蝾螈足垫的黏附性能及形貌特征的研究,得出以下结论:

(1) 东方蝾螈能够黏附在超过90°的光滑干或湿的玻璃表面上,整体显示出强的剪切抵抗能力,与蝾螈亚成体相比,蝾螈幼体表现出了更强的垂直黏附效率。

(2) 东方蝾螈亚成体的足垫表皮细胞间存在窄裂缝,足垫表面存在大量的黏液腺孔;蝾螈幼体的足垫表皮细胞被凸起边界围绕,足垫表面黏液孔稀少。蝾螈亚成体和幼体的足垫表皮细胞表面均被一层低高宽比(约1.0)和高数量密度(约 6×10^7 个/ mm^2)的纳米柱阵列覆盖,纳米柱尖端呈半球形。

(3) 东方蝾螈主要利用足垫与基底之间黏液膜或水膜的表面张力实现黏附和剪切抵抗,蝾螈幼体很可能还利用了吸附效应。足垫表皮细胞表面低高宽比和高数量密度的纳米柱阵列可能通过摩擦甚至干黏附来增强湿黏附。

- 13 Labonte D, Federle W. Scaling and biomechanics of surface attachment in climbing animals. *Philos T R Soc B-Biol Sci*, 2015, doi: 10.1098/rstb.2014.0027
- 14 Drotlef D M, Appel E, Peisker H, et al. Morphological studies of the toe pads of the rock frog, *Staurois parvus* (family: Ranidae) and their relevance to the development of new biomimetically inspired reversible adhesives. *Interface Focus*, 2014, doi: 10.1098/rsif.2014.0036
- 15 Chakraborti S, Das D, De S K, et al. Structural organization of the toe pads in the amphibian *Philautus annandalii* (Boulenger, 1906). *Acta Zoolog*, 2014, 95: 63–72
- 16 Wainwright D K, Kleinteich T, Kleinteich A, et al. Stick tight: Suction adhesion on irregular surfaces in the northern clingfish. *Biol Lett*, 2013, doi: 10.1098/rsbl.2013.0234
- 17 Chen Y, Shih M C, Wu M H, et al. Underwater attachment using hairs: the functioning of spatula and sucker setae from male diving beetles. *J R Soc Interface*, 2014, doi: 10.1098/rsif.2014.0273
- 18 Autumn K, Peattie A M. Mechanisms of adhesion in geckos. *Integr Comp Biol*, 2002, 42: 1081–1090
- 19 Scholz I, Barnes W J P, Smith J M, et al. Ultrastructure and physical properties of an adhesive surface, the toe pad epithelium of the tree frog, *Litoria caerulea* White. *J Exp Biol*, 2009, 212: 155–162
- 20 Drotlef D M, Stepien L, Kappl M, et al. Insights into the adhesive mechanisms of tree frogs using artificial mimics. *Adv Funct Mater*, 2013, 23: 1137–1146
- 21 Barnes W J P, Goodwyn P J P, Nokhbatolfoghahai M, et al. Elastic modulus of tree frog adhesive toe pads. *J Comp Physiol A*, 2011, 197: 969–978
- 22 Scholz I, Baumgartner W, Federle W. Micromechanics of smooth adhesive organs in stick insects: Pads are mechanically anisotropic and softer towards the adhesive surface. *J Comp Physiol A*, 2008, 194: 373–384
- 23 Autumn K, Sitti M, Liang Y A, et al. Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 12252–12256

Morphology and adhesion mechanisms of newt *Cynops orientalis*' foot pads

GONG Ling, YU HaiWu, LI Rong, WANG CaiPing, JIA HongDuo & WANG XiaoJie

Institute of Advanced Manufacturing Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Changzhou 213164, China

Amphibian species such as tree frogs, torrent frogs, and arboreal salamanders possessing adhesive organs on their feet show superior wet adhesion abilities. In recent years, many research efforts have been carried out to understand the wet adhesion mechanisms. The surface tension (namely capillary force) from a thin film of liquid that is secreted into the contact zone between the pad and the substrate by organisms is considered to be the primary mechanism involved in wet adhesion. Meanwhile, other mechanisms such as close contact, dry adhesion, boundary friction, and suction effect may have synergic effect on wet adhesion. In this study, the newts *Cynops orientalis* were chosen to investigate their wet adhesion mechanisms, because they are able to adhere to and move over wet environments without falling. A tilting platform with controlled wetting conditions and dismountable substrates was built to test the adhesion ability of newts *Cynops orientalis* under different conditions. The platform can be manually rotated from 0° to 360° and was used to carry out the adhesion experiments by measuring the falling angle of the newts. And then a variety of microscopical techniques including scanning electron microscope (SEM), transmission electron microscope (TEM), and atomic force microscope (AFM) were used to investigate the morphology of newt foot pads. The experimental results show that the newts were able to adhere to the smooth surface of perspex with a tilting angle of more than 90° under dry and wet conditions, indicating strong adhesion and resistance against shear. Moreover, the young newts showed relatively stronger adhesive property of foot pads as compared with that of the sub-adult ones. The microscopic pictures of the foot pads show that the polygonal epidermal cells of foot pads of the sub-adult newts are mainly separated by narrow clefts and lots of mucous pores were observed at the boundaries between epidermal cells, while the epidermal cells of foot pads of the young newts are tightly packed and surrounded by clearly raised boundaries (337±82 nm in width and 180±55 nm in height) with middle narrow channels, and few mucous pores were observed on the foot pad surface. The epidermal cell surface of the sub-adult and young newts is covered by a layer of dense array of columnar nanopillars with density of about 60 μm^{-2} . The nanopillars surrounded by small channels are semi-spherical at the apex and approximately as tall as their width (about 160 nm), which corresponds to an aspect ratio of about 1.0. The adhesive foot pad in the newts is very soft with an effective elastic modulus of 564.8±239.1 kPa, as measured by the atomic force microscope in nanoindentation mode. Based on the adhesive property of newt foot pads, the function of the characteristic morphology of foot pads and the adaptive adhesion mechanisms are discussed. The research indicates that the newts *Cynops orientalis* primarily utilize the capillary force generated by the fluid-filled joint between the pad and the substrate to achieve strong adhesion and resistance against shear. The young newts may also utilize the suction effect on smooth substrate surface as a result of the raised boundaries on their pads surface. The dense nanopillar arrays on the epidermal cells surface are compliant enough to possibly combine close contact, friction and dry adhesion together to enhance the effect of wet adhesion. This study will provide a useful suggestion for the design and development of new bio-inspired underwater adhesives.

newts *cynops orientalis*, foot pads, adhesive property, characteristic morphology, function, adhesion mechanisms

doi: 10.1360/N972015-01202