

黄喉拟水龟胚胎发育的观察

赵伟华^{1,2} 朱新平¹ 魏成清¹ 杜合军¹ 陈永乐¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广州 510380 2 上海海洋大学, 上海 200090)

摘要: 在恒温(29 ± 0.5)℃, 相对湿度为80%—93%, 沙盘含水量5%—10%的孵化条件下, 观察研究了黄喉拟水龟胚胎的发育过程。黄喉拟水龟胚胎孵化周期为67 d, 根据胚胎日龄、大小及形态特征变化将整个胚胎发育过程划分为22期, 其中1—7期以卵黄囊血管区、体节数目、心脏形态变化为主要分期依据; 8—22期主要以四肢、背甲、腹甲变化为分期依据。同时在胚胎生长发育过程中对头宽、眼径、背甲长和背甲宽等器官生长数据进行了测量统计, 发现头宽、眼径、背甲长、背甲宽与日龄呈显著正相关关系。在胚胎发育过程中观察卵壳外观变化, 通过对照各期的胚胎发育状况与卵壳外观变化发现, 第1期胚胎时, 卵壳中部开始出现白色受精斑; 第5—7期时, 受精斑绕卵短径一周成环状; 第20—21期时受精斑在卵长径的增长停止。

关键词: 黄喉拟水龟; 胚胎发育; 形态特征; 分期

中图分类号: Q132.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2008)05-0649-08

关于龟鳖类胚胎发育的研究, 国外研究历史较长且报道较多。19世纪中期 Agassiz^[1] 等学者率先开展了这项工作。到了20世纪中后期这一研究领域又空前活跃, Yntema^[2]、Malmoud^[3]、Tokita和Kuratan^[4]、Greenbaum^[5]等分别对 *Chelydra serpentina*、*Chrysemys picta*、*Pseudemys sinensis*、*Trachemys scripta* 进行了研究, 并取得了显著成果。国内在这方面的研究起步较晚, 仅见侯陵^[6]、孙西寨^[7]对中华鳖(*Trionyx sinensis*)、刘国安^[8]、谭立军^[9]对乌龟(*Chinemys reevesii*)的胚胎研究和报道。黄喉拟水龟(*Mauremys mutica* Cantor)为中国南方常见的淡水龟种之一, 隶属龟鳖目(Testudinata), 淡水龟科(Emydidae), 拟水龟属(*Mauremys*)。其具有较高的食用、药用和观赏价值, 深受群众喜爱。因为人类活动及生态环境的破坏, 黄喉拟水龟的自然资源急剧减少, 目前已被列为濒危动物^[10]。开展黄喉拟水龟人工繁育和养殖是确保该物种繁衍下去的措施之一。在繁育研究中, 关于胚胎生长发育的研究较少, 至今尚未见这方面的任何报道。为了详细了解和保护该物种, 本文对黄喉拟水龟的胚胎发育进行了观察与研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料 试验龟卵均取自珠江水产研究所龟类繁育场, 时间是2005年和2006年的7月至8月。

1.2 孵化管理条件 将刚产下的龟卵从产卵沙池中取出, 记录产卵日期, 然后放入孵化箱在恒温培养箱(SANYO JAPAN)中孵化, 在孵化箱砂层2 cm处插入经过计量的水银温度计, 以此水银温度计为准控制孵化温度。整个孵化期的温度控制在(29 ± 0.5)℃, 相对湿度为80%—93%, 孵化介质为直径0.3—0.6 mm的沙粒, 沙盘含水量5%—10%, 孵化期的管理参照文献[11]的方法。

1.3 受精卵外观观察及胚体固定与拍照 在孵化过程中观察记录卵外观的变化。孵化1—13 d的受精卵, 每天取数枚固定。具体是先在受精斑两端各开一个小口, 将整个卵用 Bouin 固定液固定24 h, 然后剥去壳与壳膜取出胚胎, 最后用50%的酒精保存过夜。1—13 d的胚胎进行了石蜡包埋、切片, 厚度5 μm H&E染色, 显微镜下观察胚胎的器官组织发生。另外, 从第6天开始定期取受精卵, 直接使用弯头镊子沿白斑剥壳露出胚胎, 用10%的福尔马林

收稿日期: 2006-10-17 修订日期: 2007-11-19

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117401); 广东省海洋与渔业局重点项目(2001A09)资助

作者简介: 赵伟华(1981—), 男, 浙江金华人; 硕士研究生; 研究方向为水产种质资源与遗传育种。E-mail: zwjh56@163.com

通讯作者: 朱新平, Tel: 020-81616509 E-mail: xinp@scu.edu.cn

溶液固定、观察及用 450 万像数的数码相机 (NIKON) 进行拍照。

1.4 胚胎器官的测量及统计 在胚胎发育过程中, 对取样标本的头宽、眼径、背甲长和背甲宽进行测量。数据利用 Microsoft Excel 软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 黄喉拟水龟胚胎发育的分期及依据

在恒温 (29 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 黄喉拟水龟受精卵从母体中产出到孵出稚龟最短用时 65 d 最长 70 d 平均 67 d。根据胚胎发育的形态特征、胚胎日龄和胚胎大小, 将整个胚胎发育过程分为 22 期。1—7 期以卵黄囊血管区、体节数目、心脏形态变化为主要分期依据; 8—22 期主要以四肢、背甲、腹甲变化为分期依据。在黄喉拟水龟的胚胎发育过程中, 使用了“孵化进程”描述胚胎发育的程度。孵化进程是指在胚胎发育过程中, 某器官出现的时间占整个孵化期所需时间的百分比。

2.2 黄喉拟水龟胚胎发育过程与分期

第一期 (孵化 1 d) 孵化进程 1.49%, 图版 I - 1): 卵壳中部出现一个圆形白色受精斑。胚盘附着在受精斑所在壳膜的下方。胚盘近椭圆形, 左右对称, 长轴长 2 mm, 最宽处 1.38 mm。显微镜下胚孔清晰可见, 呈向后弯曲的新月形, 胚孔占此处胚盘宽度的 1/4。胚孔到胚盘前端的距离为 1.38 mm, 与其最宽处相等。原板 (Primitive plate) 靠近卵黄暗区, 胚盘后缘即原板处细胞堆积丰富, 较前缘厚。

第二期 (孵化 2 d) 孵化进程 2.99%, 图版 I - 2): 胚体发生明显变化, 呈扁平状, 长 2.43 mm。胚体前羊膜区 (Proamnion) 发达, 头褶凸起, 羊膜上包到胚体前 1/4 处。胚体前部神经管膨大, 中部神经管两侧隐约可见 6 对体节, 后部神经沟尚未愈合成神经管。中胚层已分化成轴旁中胚层、间介中胚层和侧中胚层。左右体腔可辨, 前肠出现, 心脏原基发生, 胚孔缩小, 卵黄暗区 U型血岛细胞索结构清晰可见。

第三期 (孵化 3 d) 孵化进程 4.48%, 图版 I - 3): 胚体体节 8 对, 第一、第二对体节开始分化为生皮节、生肌节和生骨节。胚体原始头部变尖, 头曲出现, 脑分化为前脑、中脑和菱脑。前羊膜区相对缩小, 羊膜半月形头褶包到胚体中部。可见前神经孔、前肠门明显, 左右体腔融合, 原始 S 形管状心脏形成。卵黄囊血管丛发生, U型血岛结构由于细胞迁移而变得模糊不清。

第四期 (孵化 4 d) 孵化进程 5.97%, 图版 I - 4): 胚体体节 14 对。胚体增长显著, 头部进一步弯曲且膨胀, 显示出头突增高的结节状, 视泡突出于前脑腔, 听基板发生, 头下囊膨大, 管状心脏包裹于其内, 背腹心系膜可见。羊膜头褶上包到胚体后部。胚体神经管完全闭合, 可见后神经孔。卵黄囊血管丛明显。

第五期 (孵化 5 d) 孵化进程 7.46%, 图版 I - 5): 胚体体节 18 对。头曲增加, 头褶与头部之间的空隙增加, 口凹、口板发生, 听窝出现, 咽部膨胀, 头下囊相对缩小, 心脏开始膨胀。羊膜全包胚体, 后羊膜管 (Posterior amniotic tube) 形成, 细长达胚外卵黄暗区, 没有羊膜尾褶形成。桃形辐射状卵黄囊血管区出现, 直径 8.75 mm, 背主动脉、腹主动脉、卵黄动脉、卵黄静脉建成。

第六期 (孵化 6 d) 孵化进程 8.96%, 图版 I - 6 a b): 孵化进程 8.96%, 图版 I - 6 a b): 受精斑绕卵壳短径一周成环状。体节 25 对。胚体扁平细长, 颈曲出现, 鳃裂一对。视泡内陷, 晶状体形成, 嗅窝、甲状腺窝出现。心脏分化成心房和心室呈囊状, 大小与头相当。前肾原基发生, 后肠出现。后羊膜管缩短, 尾芽出现, 原板区消失, 前后神经孔消失。卵黄囊血管分支增多, 可见少量血迹, 胚内血管与胚外血管联系密切。

第七期 (孵化 7 d) 孵化进程 10.45%, 图版 I - 7): 胚体体节 29 对。胚体听泡闭合, 甲状腺窝加深, 颈曲增加。前肾小管形成, 尾肠出现。肝脏原基发生, 后肠突出形成尿囊原基, 尾芽伸长, 肢芽基发生。羊膜腔膨大清晰可见, 卵黄囊血管区扩大, 血液循环加剧。

第八期 (孵化 8 d) 孵化进程 11.94%, 图版 II - 8): 胚体部分体节退化。胚体外观鳃裂三对, 眼点突出, 脉络裂发生, 头、躯干开始膨胀, 背曲出现, 背面观胚体前部开始向右侧扭转。肢芽微突, 尾芽增加。前肾发育达到顶峰, 中肾起始形成。肠系膜上可见原始生殖细胞分布。

第九期 (孵化 9 d) 孵化进程 13.43%, 图版 II - 9): 尾部体节形成。胚体前部膨大明显, 上颌突发生, 嗅囊形成。肝脏内分化为小的肝索。背曲增加, 尾曲出现。前后肢芽凸出, 前肢芽大于后肢芽, 肢芽宽度大于长度。卵黄囊血管区扩大显著, 分枝越来越多, 越来越细, 直径 16.98 mm。尿囊肉眼可见, 位于后肢芽前基, 微凸于胚外体腔。

第十期 (孵化 10 d) 孵化进程 14.93%, 图版 II - 10): 胚体膨胀, 向右侧扭转明显, 鳃裂四对。胚体透明, 胚外血管和胚内血管充满血液, 可见心脏搏动, 心房、心室肉眼可辨。肢芽略伸长, 前肢芽宽度

与长度相当, 后肢芽宽仍然大于长。尾曲增加, 尿囊增大, 内有血管分布, 可见血迹。

第十一期 (孵化 11 d 孵化进程 16. 42%): 尾部体节退化。胚体屈曲增加, 眼有少量色素沉集。嗅囊周围鼻中突和鼻侧突出现, 脉络裂清晰。四肢增厚、伸长, 前后肢长开始大于宽, 呈浆状, 尾增长。前肾开始退化, 中肾旁管发生。

第十二期 (孵化 12 d 孵化进程 17. 91%, 图版 II -11): 出现头膨胀, 中脑突出, 颈部相对变细, 眼点色素增加, 心脏突出于腹外。尿囊增大, 内充满血液, 似蚕豆状, 横跨于后肢芽前基。后肾发达, 可见肾小球, 有肾小管与尿囊相连。

第十三期 (孵化 13 d 孵化进程 19. 40%, 图版 II -12): 胚体膨胀显著, 整个胚体已向右扭转 90°, 呈“C”状侧卧于卵黄之上。眼区扩大, 色素沉集加重。口道开放, 鳃裂开始与脉络裂愈合。前后肢芽增大明显。尿囊膨胀极显著, 呈气囊状, 上有血管分布。尾细长, 弯曲后能接触到尾基部。

第十四期 (孵化 14 d 孵化进程 20. 90%, 图版 II -13): 胚体外观仍可见两对鳃裂, 下颌突发生, 羊膜腔扩大, 可见胚体在羊水中浮动。胚体卵黄囊血管区直径 24. 28 mm, 毛细血管丰富, 血液循环加剧, 胚体透明, 体内血管清晰可见, 心脏两侧两堆红色细胞为肺的原基。四肢增大明显, 前肢开始向腹面弯曲。尾基部泄殖腔开启。

第十五期 (孵化 18 d 孵化进程 26. 87%, 图版 II -14): 胚外血管开始下包卵黄。胚体增大显著, 上颌形成, 下颌明显。眼球膨胀, 吻突形成, 后脑突出明显, 鳃裂消失, 体宽与头宽相当。四肢伸长变粗, 前肢弯曲明显, 膝曲形成, 指板可辨, 后肢尚未弯曲。尾巴细长卷曲, 基部可见泄殖突突出泄殖腔。

第十六期 (孵化 21 d 孵化进程 31. 34%, 图版 II -15): 胚体透明, 可见内脏器官。后脑腔膨大突出, 端脑泡明显, 吻突伸长。背甲雏形, 背甲长占胚体纵轴的 1/3 宽与脖部相当。“裙边”初现, 肋骨痕迹模糊。前肢指板伸长, 边缘呈锯齿状, 后肢膝曲形成, 趾板明显。泄殖突突出增加。

第十七期 (孵化 24 d 孵化进程 35. 82%, 图版 II -16): 受精卵外观微红。胚体变宽、变厚、更加弯曲。体宽开始大于头宽, 胚体偶尔会动。眼球突出明显, 上下眼睑出现。卵齿起始形成, 上颌长于下颌, 心脏相对缩入体内。背甲柔软透明, 前部比后部宽, 透过背甲肋骨清晰可见, “裙边”明显, 覆盖到四肢的基部。前肢指板出现模糊的指沟, 后肢趾板前

端扁而薄, 基部比前肢粗, 尾增长显著。

第十八期 (孵化 31 d 孵化进程 46. 27%, 图版 II -17): 胚外血管的红色透过卵壳, 将整个卵映射呈红色。胚体脖子成型, 心脏完全缩入体内。吻突明显, 下颌略短于上颌。胚体颜色尚为半透明, 内脏器官隐约可见。背甲变宽加厚, 椎盾分界清晰, 肋盾、缘盾界线模糊。“裙边”锯齿形成, 背甲正中可见肋骨, 侧面消失。甲桥可见, 腹甲形成, 腹甲盾片分界模糊。前肢五指分开, 后肢四趾以三沟分界, 指(趾)间以蹼相连。尾前端卷曲, 基部泄殖突突出达最大值。稚龟体形初成。

第十九期 (孵化 38 d 孵化进程 56. 72%, 图版 II -18): 卵外观呈暗红色。胚体增大显著, 头部仍可见脑体, 碰到外物刺激反应敏捷。上颌与下颌齐平, 嘴能开闭。吻发达, 鼻中隔出现色素, 卵齿尖硬。晶状体周围出现乳白色巩膜环, 眼后方鼓膜清晰。头部有轻微着色, 头颈分界明显, 颈部表皮出现皱褶。背甲骨化, 中轴骨突出, 盾片分界清晰可数。背甲正中色素沉集明显, 三条“棱”清晰可见, 缘盾与缘盾交接处有少量色素沉集。腹甲盾片分界清晰。四肢会动, 基部有轻微着色。尾前端伸直, 两侧有轻微着色, 泄殖突缩回泄殖腔。

第二十期 (孵化 45 d 孵化进程 67. 16%, 图版 II -19): 受精斑在卵壳长径上的增长停止。胚体几乎占据卵的 1/2, 头颈分界处色素沉集明显。胚体骨化程度更高, 椎盾、肋盾上有小的疣状突起。整个胚体色素沉着加深, 颈盾椎盾呈灰黑色, 肋盾灰白色, 缘盾着色较浅。腹甲肱盾、胸盾、腹盾、股盾色素大量沉集, 呈黑色。甲桥有轻微着色。前肢背侧出现角质鳞片, 后肢未见。四肢爪形成, 以白色鞘包在指(趾)前端。龟体稚形形状完全呈现。

第二十一期 (孵化 52 d 孵化进程 77. 61%, 图版 II -20): 卵壳侧上部呈灰黑色, 为稚龟所在部位, 占据了整个卵的 3/4 而下部红黄色, 为胚外血管与卵黄部位。底侧部钙质层裂纹清晰可见。稚龟宽度几乎与卵宽度一致, 长度与卵长度一致。眼睑可以闭合, 胚体的表观色彩和纹路清晰, 头伸缩自如。前后肢显著增粗, 鳞片增多, 爪变硬、伸长。尾巴有细小的鳞片覆盖。外部形态已具种的特征。

第二十二期 (孵化第 65—67 天 孵化进程 100%): 破壳与出壳。受精卵卵壳普遍龟裂变软、变脆, 个别甚至有部分钙质层脱落。透过卵壳, 可见受精卵底部略呈黄色, 为未被稚龟吸收的卵黄囊。稚龟用卵齿或前肢抵破卵壳, 从此稚龟在大气中的呼吸循环正式建立。

大多数稚龟 2—3 d 后才会从卵壳中自行爬出, 营独立生活。只有少数卵黄囊吸收完的个体才会马上挣扎着离开卵壳。刚出壳的稚龟体表湿露, 体色暗黑, “裙边”卷曲, 过 3—4 h 后“裙边”自行展开。

2.3 黄喉拟水龟胚胎的生长

在胚胎发育不同时期测量了器官的生长数据。从 8—22 期测量了胚体头宽, 14—22 期测量胚体眼径, 16—22 期测量了背甲长与背甲宽。结果表明头宽、眼径、背甲长、背甲宽与日龄呈正相关(图 1、图 2)。其中背甲长、背甲宽与日龄呈线性关系, 线性回归方程分别为: $L = 0.6416T - 0.8059$ ($R^2 = 0.9936$ $P < 0.01$); $W = 0.555T - 2.7763$ ($R^2 = 0.9978$ $P < 0.01$)。头宽与日龄的回归方程为: $W = 3.8706 \ln(T) - 8.2168$ ($R^2 = 0.9744$ $P < 0.01$); 眼径与日龄的回归方程为: $W = 1.8655 \ln(T) - 4.1386$ ($R^2 = 0.9612$ $P < 0.01$)。

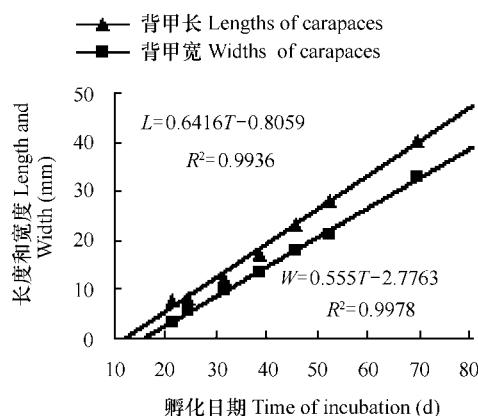


图 1 黄喉拟水龟背甲长、背甲宽与日龄的关系

Fig. 1 The relationship between the lengths widths of carapaces and daily age

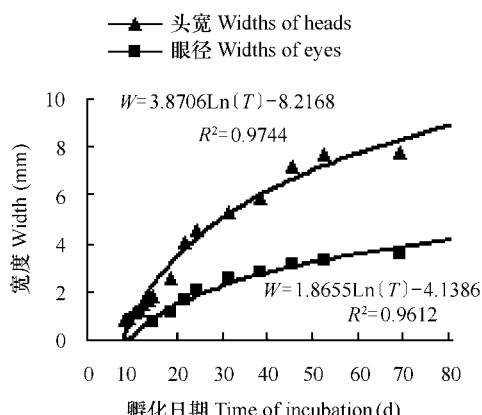


图 2 黄喉拟水龟头宽、眼径与日龄的关系

Fig. 2 The relationship between the widths of heads and eyes and daily age

3 讨 论

3.1 龟鳖类胚胎发育的分期

胚胎发育是动物生活史中一个重要的环节, 是新生命的起点, 也是生物学家最感兴趣的研究领域之一。迄今为止, 关于龟鳖类胚胎发育分期的研究报道较多, 但胚胎发育分期的依据因不同学者研究的侧重点不同而异, 分期期数也不尽相同。在 Yntemā^[2] 的研究中, 侧重于孵化温度和胚胎日龄, 将 *Chelydra serpentina* 胚胎发育过程分为 27 期; 而 Malmoud^[3] 的研究则侧重于形态特征变化, 将 *Chrysemys picta bellii* 胚胎发育过程分为 23 期; Crast^[2] 的研究更侧重于胚胎日龄和形态特征, 将 *Lepidochelys olivacea* 胚胎发育过程分为 31 期; 谭立军^[9] 对乌龟 (*Chinemys reevesii*) 胚胎发育的分期侧重于孵化温度和形态特征, 将其分为 28 期。作者参考前人的分期标准, 结合自身工作经验, 以孵化温度、胚胎日龄、胚胎大小及形态特征为分期标准, 并且在定时取材时观察卵壳外观的变化以判断受精卵胚胎发育是否异常, 减少实验误差, 从而提高黄喉拟水龟胚胎发育分期的准确性和科学性。值得注意的是龟鳖类受精卵在产下以前已在母体输卵管内经历了卵裂、囊胚、直至原肠等发育阶段, 因此刚产下的受精卵胚胎已进入原肠期, 并且目前有关龟鳖类胚胎发育分期的研究最早都是从原肠期开始的^[1-3, 6, 9, 12-14]。要想获得龟鳖类卵受精后早期材料, 有待进一步探索。

3.2 龟鳖类胚胎发育比较

在动物的进化历程中, 胚胎发育过程是比较保守的, 胚胎发育尤其是在早期阶段, 其相似性较高。关于龟鳖类胚胎发育的比较, 由于不同的学者对龟鳖类胚胎发育研究侧重点不同, 分期并不能一一对应, 因此用分期对龟鳖类胚胎发育进行比较难度较大。为了避免这种人为因素, 作者以“孵化进程”对 *Chelydra serpentina* (American Snapping turtle)^[2]、*Chrysemys picta bellii* (Western Painted Turtle)^[3]、乌龟^[9] 和黄喉拟水龟这四种龟的部分典型器官(心脏、尾、四肢、背甲、腹甲)出现时序进行了比较(图 3)。孵化进程是指在胚胎发育过程中, 某器官出现的时间占整个孵化期所需时间的百分比。图 3 的结果显示了:(1)在龟鳖类胚胎发育的过程中, 心脏最先出现, 其次是尾, 接着分别是四肢、背甲和腹甲出现;(2)在胚胎发育的早期, 不同龟鳖类的相同器官出现时序差异不大, 而在胚胎发育的中后期, 差异则

越来越大。这说明龟鳖类早期胚胎发育的相似性较高, 中后期胚胎发育则体现出物种之间的差别。因此一些科学家如 Eli Greenbaum^[5-15], 对龟鳖类胚胎发育如 *Trachemys scripta* 和 *Apalone spinifera* 的中后期进行了更为详细的研究, 以观察不同物种之间的差异。

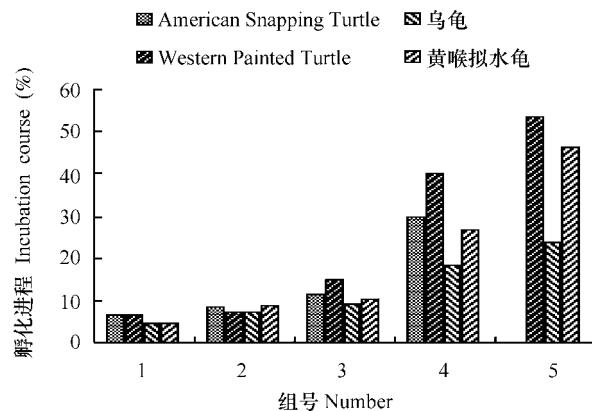


图3 四种龟胚胎发育孵化进程比较

Fig. 3 Comparison of incubation course for four kinds of turtles
 1. 心脏; 2. 尾; 3. 四肢; 4. 背甲; 5. 腹甲, Yntema 对 American Snapping turtle 腹甲出现时间没有描述
 1. heart 2. tail 3. limb 4. carapace 5. plastron, Yntema did not describe the time of the plastron appearance

3.3 黄喉拟水龟胚胎发育与卵外观变化的相关关系

黄喉拟水龟卵为长椭圆形, 刚产下时卵壳外观呈淡黄色, 没有白色受精斑。产后 20 h 左右 [(29 ± 0.5) °C], 朝上一极的卵壳中部会出现一个圆形的受精斑, 未受精的卵则没有这一特征^[11]。这与其他龟鳖类受精卵在胚胎发育早期观察到的现象一致^[14-18]。受精斑的出现可能是由于胚盘上行到壳下膜的原故^[6]。作者在实验中观察到, 胚盘是紧附在受精斑所在壳膜的下方, 这一现象在一定程度上支持了上述的观点。在胚胎发育过程中观察卵壳外观变化, 通过对各期的胚胎发育状况与卵壳外观变化发现, 随着胚胎发育, 受精斑的变化有一定规律性^[19]: 第 1 期胚胎时, 卵壳中部开始出现一个白色受精斑; 第 5—7 期时, 受精斑绕卵短径一周成环状; 第 20—21 期时受精斑在卵长径的增长停止。因此, 根据白斑变化的规律与胚胎生长发育的相关性, 可以确定胚胎发育的进程。虽然受精斑变化与胚胎发育之间的具体作用有待进一步的研究, 但是两者的相互对应关系对科学及生产实践具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Agassiz L. Embryology of the turtle. Contributions to the natural history of the United States of America [M]. Little Brown and Co., Boston 1857 2 part3
- [2] Yntema C. A series of stages in the embryonic development of Chelydra serpentine [J]. Journal of Morphology 1968 125: 219—251
- [3] Mahmoud J, Hess G, Klicka J. Normal embryonic stages of the western painted turtle *Chrysemys picta bellii* [J]. Journal of Morphology 1973 141: 269—280
- [4] Tokita M, Kuratani S. Normal embryonic stages of the Chinese softshelled turtle *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae) [J]. Zool Sci (Tokyo), 2001 18: 705—715
- [5] Greenbaum E. A standardized series of embryonic stages for the emydid turtle *Trachemys scripta* [J]. Canadian Journal of Zoology 2002 80: 1350—1370
- [6] Hou L. Studies on the embryonic development of the turtle *Trionyx sinensis* [J]. Journal of Hunan Teachers College (Nature Science), 1984 4: 59—70 [侯陵. 中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 胚胎发育的研究. 湖南师院学报(自然科学版), 1984 4: 59—70]
- [7] Sun XZ, Zhu DY, Zhang GS, et al. Preliminary study on the embryonic developments of *Trionyx sinensis* [J]. Journal of Heze Teachers College, 1998 20: 53—54 [孙西寨, 朱道玉, 张贵生, 等. 中华鳖胚胎发育初步研究. 菏泽师专学报, 1998 20: 53—54]
- [8] Liu G, Liu YQ, Hu DG, et al. A preliminary observation on the development of the embryo of tortoise *Chinemys reevesii* [J]. Zootoca Research 1984 5: 51—56 [刘国安, 刘运清, 胡迪光, 等. 乌龟 (*Chinemys reevesii*) 胚胎发育的初步观察. 动物学研究, 1984 5: 51—56]
- [9] Tan LJ, Liu Y, Chen SQ. A series of stages in the embryonic development of the turtle *Chinemys reevesii* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2001 25: 605—612 [谭立军, 刘筠, 陈淑群. 乌龟胚胎发育的研究. 水生生物学报, 2001 25: 605—612]
- [10] Zhao EM. The Red Book about Severe Danger Animals in China Amphibians and Reptiles [M]. Beijing: Science Press, 1998: 120—121 [赵尔宓. 中国濒危动物红皮书. 两栖类和爬行类. 北京: 科学出版社, 1998: 120—121]
- [11] Zhu XP, Chen YL, Wei CQ, et al. Reproduction of yellow pond turtle *Mauremys mutica* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2001 25: 454—460 [朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟的繁殖生物学研究. 水生生物学报, 2001 25: 454—460]
- [12] Crasped F. Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz) [J]. Rev Biol Trop 1982 30: 113—120
- [13] Webb G, Choquenot D, Whitehead P. Nest eggs and embryonic development of *Carettochelys insculpta* (Chehon). Carettochelyidae from northern Australia [J]. J. Zool Lond Ser, 1986 1B: 521—550
- [14] Ewer M. Embryology of turtles. In Biology of the Reptilia [M]. London and New York: Academic Press, 1985: 75—267
- [15] Greenbaum E, John I. Staging criteria for embryos of the spiny softshell turtle *Apalone spinifera* (Testudines: Trionychidae)

- [16] [J. Journal of Morphology 2002 254: 272—291
Grant M Ashmore F Janzen J Phenotypic variation in smooth softshell turtles (*Apalone mutica*) from eggs incubated in constant versus fluctuating temperatures [J. Oecologia 2003 134: 182—188]
- [17] Chan E White spot development, incubation and hatching success of leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) eggs from Ranau Abang Malaysia [J. Copeia 1989 1989: 42—47]
- [18] Liu Y Chen S Q Hou L et al Effects of the ecosystem factor of temperature on embryonic development in the turtles [J. Journal of Hunan Teachers College(Nature Science), 1982 1: 67—73
[刘筠, 陈淑群, 侯陵, 等. 温度等生态因素对鳖胚胎发育的影响. 湖南师院学报(自然科学版), 1982 1: 67—73]
- [19] Zhu X P Wei C Q Zhao W H et al Effects of incubation temperatures on embryonic development in the Asian yellow pond turtle [J. Aquaculture 2006 259: 243—248

OBSERVATION ON THE EMBRYONIC DEVELOPMENT OF YELLOW POND TURTLE MAUREMYS MUTICA CANTOR 1842

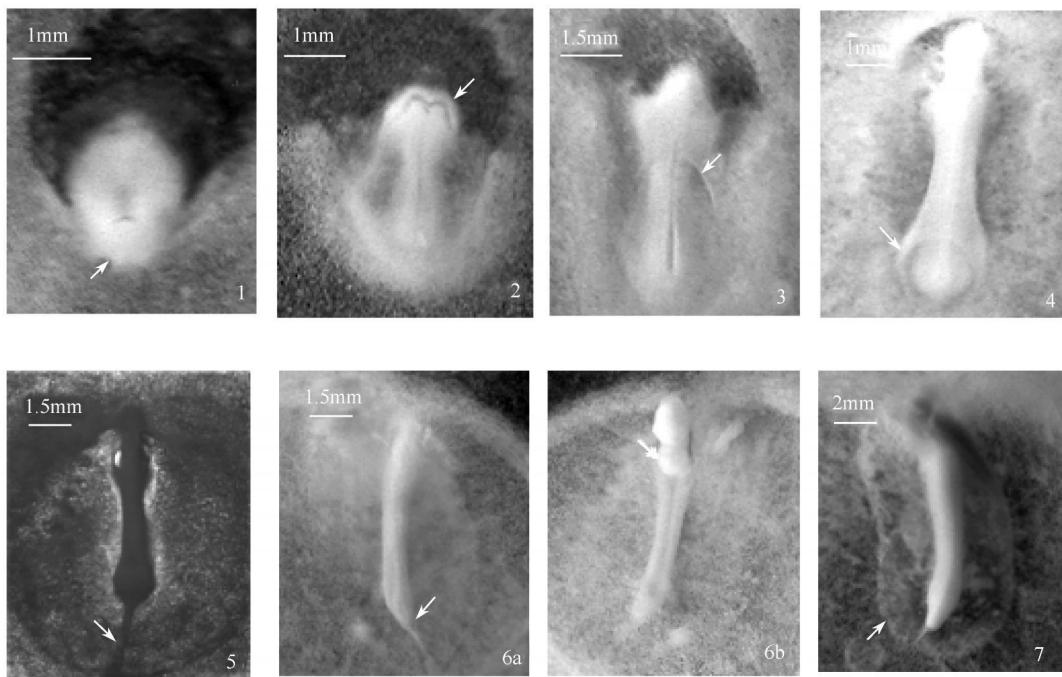
ZHAO WeiHua¹, ZHU XinPing, WEIChengQing, DU HeJuri and CHEN YongLe

(1 Pearl River Fisheries Research Institute Chinese Academy Fishery Sciences Guangzhou 510380; 2 Shanghai Ocean University Shanghai 200090)

Abstract Yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor) is a common fresh water turtle in the south of China and it belongs to Testudinata, Emydidae and *Mauremys*. Owing to the high value of the turtle in food remedy and view people like it very much. In recent years, the resource of yellow pond turtle has been affected and the quantity is sharply reduced because of human's activity and the change of environment. Now it is listed as an animal in danger. Artificial propagation and culture are the methods to protect the yellow pond turtle. There were some reports about the reproduction of the turtle, but no reports about the embryonic development of yellow pond turtle. In order to understand the turtle well and to protect this species, the turtle embryonic development was being observed and studied.

Under the condition of $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ temperature, 80%—93% relative humidity and 5%—10% moisture content of sand, the yellow pond turtle hatchlings were hatched after 67 days incubation. The period of embryonic development was divided into twenty-two stages according to the embryo daily age, size and morphological characters. The major morphological characters of every stage are described respectively. Stages 1 to 7 were affirmed mainly by size of vitelline vessel area, numbers of somites and shape of heart. Stages 8 to 22 were affirmed mainly by the shape changes of limb, carapace and plastron. While embryonic developed, some data such as width of head and eyes, length and width of carapace were measured and statisticized. The results indicated that the relationship among head width, eye width, carapace length, carapace width and daily age were quite significant. With comparison the embryonic development and the changes on shell surface of the fertilized eggs in incubation, some relationship between the stage of embryonic development and white spot of shell were found. At stage 1, a white spot appears on the middle surface of the egg. At stages 5 to 7, the white spot forms a white ring around the egg perimeter and at stages 20 to 21, the width of white ring stops increasing. So the stages of embryonic development would be detected by observation the white spot of the egg and the method would benefit with science research and practice of turtles.

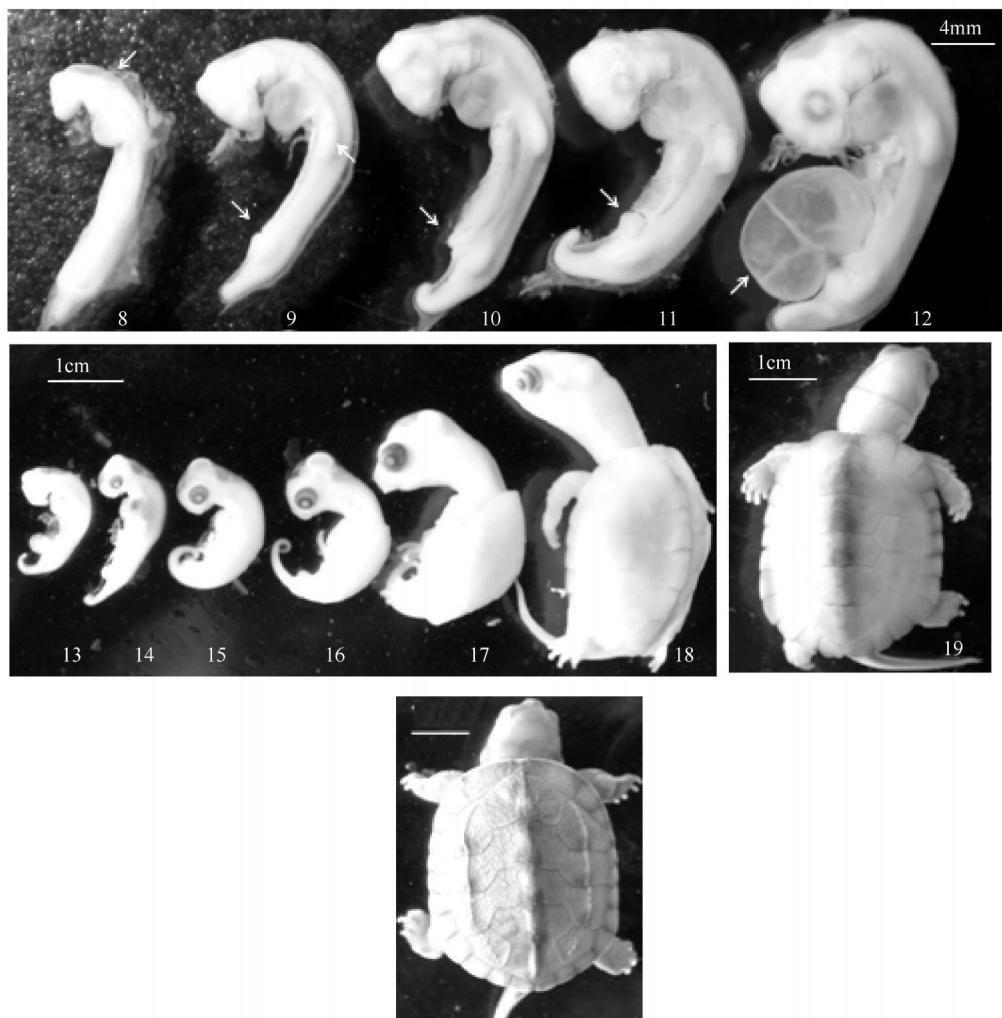
Key words: *Mauremys mutica* Cantor, Embryonic development, Morphological characters, Stages



图版I P latq

1. 孵化 1d 示原板区(↑); 2. 孵化 2d 示头褶(↑); 3. 孵化 3d 示羊膜头褶包到体中部(↑); 4. 孵化 4d 示羊膜头褶包到体后部(↑); 5. 孵化 5d 示后羊膜管(↑); 6. 孵化 6d (a)背面观, 示尾芽(↑), (b)腹面观, 示心脏(↑); 7. 孵化 7d 示羊膜腔(↑)

1. One day embryo showing primitive plate area(↑); 2. Two days embryo showing chorionamniotic fold(↑); 3. Three days embryo showing chorionamniotic fold(↑); 4. Four days embryo showing chorionamniotic fold(↑); 5. Five days embryo showing posterior amniotic tube(↑); 6. Six days embryo (a) dorsal view showing tail bud(↑), (b) ventral view showing heart(↑); 7. Seven days embryo showing amniotic cavity(↑)



图版II Plat II

8 孵化 8d 左侧面观, 示背曲(↑); 9 孵化 9d 左侧面观, 示肢芽和尿囊(↑); 10 孵化 10d 左侧面观, 示尿囊(↑); 11 孵化 12d 左侧面观, 示尿囊(↑); 图 12 孵化 13d 左侧面观, 示尿囊(↑); 13 孵化 14d; 14 孵化 18d; 15 孵化 21天; 16 孵化 24d; 17 孵化 31d; 18 孵化 38d; 19 孵化 45d; 20 孵化 52d

8 Left lateral view of eight days embryo showing back flexure(↑); 9 Left lateral view of nine days embryo showing limb bud and allantois(↑); 10 Left lateral view of ten days embryo showing allantois(↑); 11 Left lateral view of twelve days embryo showing allantois(↑); 12 Left lateral view of thirteen days embryo showing allantois(↑); 13 Fourteen days embryo; 14 Eighteen days embryo; 15 Twenty one days embryo; 16 Twenty four days embryo; 17 Thirtynine days embryo; 18 Thirtyeight days embryo; 19 Thirtyeight days embryo; 20 Forty five days embryo; 21 Fifty two days embryo