中国林蛙早期胚胎发育及其 与近缘种的比较

张澍卉 高书轩 侯银梦 杨欣玥 朱艳军 陈晓虹*

河南师范大学生命科学学院,河南省太行山森林生态系统野外科学观测研究站 新乡 453007

摘要: 为探究中国林蛙($Rana\ chensinensis$)早期胚胎发育特征,2022 年 3 月收集其在河南省济源市太行山区野外自然抱对产出的受精卵,在室内水温(22.63 ± 2.09) $^{\circ}$ C的条件下进行连续观察。结果显示,中国林蛙卵径(1.57 ± 0.01)mm(n=5); 早期胚胎发育分为 25 个时期,从受精卵到鳃盖完成期历时 158.83 h; 卵裂方式为不均等全裂; 大约 70%的胚胎在鳃血循环期出膜。中国林蛙早期胚胎发育的卵裂特征、出膜方式及出膜时期与近缘种相似,速度较慢; 与其他无尾两栖类相比,卵裂特征、出膜方式和发育速度均呈现种属特异性。中国林蛙较小的卵径、较快的早期胚胎发育速度反映了其对静水产卵环境的适应。

关键词:中国林蛙;早期胚胎发育;近缘种

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2024) 04-570-09

Early Embryonic Development of *Rana chensinensis* and Comparison with Its Related Species

ZHANG Shu-Hui GAO Shu-Xuan HOU Yin-Meng YANG Xin-Yue ZHU Yan-Jun CHEN Xiao-Hong*

College of Life Sciences, Henan Normal University, Field Scientific Observation and Research Station of Forest Ecosystem in

Taihang Mountains, Henan Province, Xinxiang 453007, China

Abstract: [Objectives] The embryonic development of amphibians is an important research field of developmental biology and ecology. *Rana chensinensis* is an important economic amphibian in China, and its early embryonic development needs to be supplemented. This study explored the characteristics of early embryonic development of *R. chensinensis*. [Methods] The fertilized eggs produced by natural clutches in the Taihang Mountains of Jiyuan City, Henan Province were continuously observed under the condition of water temperature 22.63 ± 2.09 °C indoor with stereomicroscope. The embryonic development was observed, and the duration of each stage, the starting time of each stage of development, water temperature, observation

基金项目 国家自然科学基金联合基金重点支持项目(No. U21A20192),中央财政国家重点野生动植物保护资助项目;

第一作者介绍 张澍卉, 女,硕士研究生;研究方向:动物资源与系统进化; E-mail: zshui2455@163.com。

^{*} 通讯作者, E-mail: xhchen-xx@sohu.com;

times, embryonic morphology and physiological characteristics were recorded and photographed. [Results] The results showed that the egg diameter of R. chensinensis was 1.57 ± 0.01 mm (n = 5), and the early embryonic development was divided into 25 stages. It took 158.83 h from fertilized egg to gill operculum completion period. The cleavage mode was unequal complete cleavage, and about 70% of the embryos outed of the membrane in the gill blood circulation stage. The completion process of early embryonic development was recorded and described (Table 1, Fig. 1). [Conclusion] The cleavage characteristics, hatching mode and hatching period of early embryonic development of R. chensinensis are similar to those of related species, but the development speed is slower. Compared with other anuran amphibians, its cleavage characteristics, the way of out membrane and development speed reflect species specificity. The smaller egg diameter and faster early embryonic development speed reflect the adaptation to shallow and still water spawning habitats in R. chensinensis (Table 2, Fig. 2).

Key words: Chinese Brown Frog, Rana chensinensis; Embryonic development; Relative species

两栖动物的胚胎发育是发育生物学及生态学的重要研究领域(Liu et al. 2016),由卵发育为水栖幼体是水生生活的基础发育阶段,是其生活史的重要组成部分。研究两栖动物的早期胚胎发育,对探讨其发育过程和生态适应具有重要意义(陶娟等 2010)。两栖类早期胚胎发育的形态结构具有种属特异性并能反映出独特的栖息方式和行为模式(谢永广等 2023)。

无尾两栖类早期胚胎发育研究多集中于有 重要经济价值和科研价值的类群(李宗芸等 1998, 耿宝荣等 1999, 邹佩贞等 2001, 徐大 德等 2007, 陶娟等 2010, 于业辉等 2013)。 中国林蛙(Rana chensinensis)隶属两栖纲 (Amphibia) 无尾目 (Anura) 蛙科 (Ranidae) 蛙属,是我国重要的经济两栖类,曾被认为广 泛分布于我国东北、西北、西南、华北、华中 和华南的 15 个省、市及自治区(叶昌媛等 1993, 李丕鹏等 2014)。比较形态学和分子系 统学的研究显示,"中国林蛙"东北居群为东北 林蛙(R. dybowskii)、"中国林蛙"西北居群为 高原林蛙(R. kukunoris)(谢锋等 1999, 2000, Che et al. 2007, 费梁等 2009, 金莉莉等 2012), 内蒙古地区阴山山脉黄土高原居群与中国林蛙 秦岭山脉居群 (模式产地及近模式产地) 遗传 分化较大、亲缘关系较远(Zhou et al. 2012)。 整合生物学研究显示,中国林蛙分布于秦岭、

河南小秦岭和伏牛山区、太行山南段河南西部(Shen et al. 2022)。因此,前期对内蒙古阴山山脉(沈其璋 1983,韩雅莉 1991)、东北地区(刘玉文等 1989,王寿兵等 1996,陈伟庭等2005)"中国林蛙"早期胚胎发育的研究均非中国林蛙。本研究通过观察河南省济源市中国林蛙早期胚胎发育,探究其早期胚胎发育及生活史特征,并与近缘种进行比较,为发育生物学及生态学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 研究材料

2022年3月,于河南省济源市太行山区收集2只雌性中国林蛙(头体长分别为50.73 mm和43.44 mm)各1团自然抱对产卵的受精卵,置于室内盛有曝气自来水的容器中连续观察。

1.2 研究方法

在体视显微镜下观察胚胎发育,记录各期时长、各期发育起始时间、水温、观察次数、胚胎形态和生理特征,并拍照记录。各期时长即每一时期的发育时长,以占观察总数 60%左右的胚胎出现某时期的特征为准。起始时长指从受精卵形成发育至各时期所用时长。胚体长即胚胎体长,用明美显微数码测量软件测量,精度为 0.01 mm。参照 Shumway(1940)和Gosner(1960)的无尾两栖类早期胚胎发育分

期方法,早期胚胎发育为受精卵形成至鳃盖完成。在每个时期选择 5 个具有本时期典型特征的胚胎进行测量,取平均值。

通过一元线性回归模型比较中国林蛙与不同栖息地类型(溪流型、静水型)无尾两栖类受精卵平均直径与早期胚胎发育时长的关系。自变量为受精卵平均直径,因变量为早期胚胎发育时长,统计分析使用 SPSS 22.0 软件,作图使用 Excel 软件。

2 结果

2.1 胚胎发育分期

中国林蛙卵径 (1.57 ± 0.01) mm (n = 5),早期胚胎发育从受精卵形成至鳃盖完成共分为 25 个时期。水温 (22.63 ± 2.09) °C时,早期胚胎发育历时 158.83 h (表 1, 图 1)。

受精卵期。受精卵呈团状球形,植物极朝下、呈乳白色,动物极朝上、呈棕黑色(图 1a)。

表 1 中国林蛙早期胚胎发育分期

Table 1 Stages of early embryonic development of Rana chensinensis

发育时期 Development stage	水温 Water temperature (22.63 ± 2.09) ℃				
	各期时长 Time of each stage (h)	起始时长 Start time (h)	胚体长 Embryo length (mm) 平均值 ± 标准差 Mean ± SD (n = 5)	观察次数 Observation times	
受精卵期 Fertilized egg stage	2.22	0.00	1.57 ± 0.01	连续观察	
2 细胞期 2-cell stage	1.02	2.22	1.64 ± 0.05	Consecutive observation	
4 细胞期 4-cell stage	0.73	3.24	1.78 ± 0.01		
8 细胞期 8-cell stage	0.82	3.97	1.67 ± 0.04		
16 细胞期 16-cell stage	0.80	4.79	1.67 ± 0.05		
32 细胞期 32-cell stage	0.87	5.59	1.77 ± 0.05		
囊胚早期 Early blastula stage	2.15	6.46	1.77 ± 0.07	8	
囊胚中期 Mid-blastula stage	4.40	8.61	1.78 ± 0.05	7	
囊胚晚期 Late blastula stage	7.78	13.01	1.91 ± 0.05	6	
原肠早期 Early gastrula stage	2.90	20.79	1.99 ± 0.06	3	
原肠中期 Mid-gastrula stage	2.60	23.69	1.99 ± 0.06	4	
原肠晚期 Late gastrula stage	7.48	26.29	2.02 ± 0.07	6	
神经板期 Neural plate stage	2.47	33.77	2.11 ± 0.07	9	
神经褶期 Neural folds stage	2.87	36.24	2.21 ± 0.05	6	
胚胎转动期 Rotation stage	2.13	39.11	2.33 ± 0.03	8	
神经管期 Neural tube stage	4.52	41.24	2.59 ± 0.06	4	
尾芽期 Tail bud stage	10.57	45.76	2.86 ± 0.05	3	
肌肉效应期 Muscular response stage	13.37	56.33	3.30 ± 0.11	10	
心跳期 Heart beat stage	12.30	69.70	5.24 ± 0.46	3	
鳃血循环期 Gill blood circulation stage	8.18	82.00	5.72 ± 0.22	8	
开口期 Mouth open stage	4.47	90.18	6.88 ± 0.29	3	
尾血循环期 Tail fin circulation stage	9.97	94.65	7.24 ± 0.23	4	
鳃盖褶期 Operculum fold stage	31.03	104.62	7.64 ± 0.43	6	
右侧鳃盖闭合期 Right operculum close stage	23.18	135.65	10.10 ± 0.20	10	
鳃盖完成期 Operculum completion stage	67.50	158.83	11.41 ± 0.29	5	



图 1 中国林蛙早期胚胎发育

Fig. 1 Early embryonic development of Rana chensinensis

a. 受精卵期; b. 2 细胞期; c. 4 细胞期; d. 8 细胞期; e. 16 细胞期; f. 32 细胞期; g. 囊胚早期; h. 囊胚中期; i. 囊胚晚期; j. 原肠早期; k. 原肠中期; l-1. 原肠晚期前期; l-2. 原肠晚期后期; m. 神经板期; n. 神经褶期; o. 胚胎转动期; p. 神经管期; q. 尾芽期; r. 肌肉效应期; s. 心跳期; t-1. 鳃血循环期,侧面观; t-2. 鳃血循环期,背面观; u-1. 开口期,侧面观; u-2. 开口期,腹面观; v-1. 尾血循环期,侧面观; v-2. 尾血循环期,背面观; w-1. 鳃盖褶期,背面观; w-2. 鳃盖褶期,头与躯干部侧面观; x-1. 右侧鳃盖闭合期,头部腹面观; x-2. 右侧鳃盖闭合期,背面观; y-1. 鳃盖完成期,背面观; y-2. 鳃盖完成期,头部腹面观。

a. Fertilized egg stage; b. 2-cell stage; c. 4-cell stage; d. 8-cell stage; e. 16-cell stage; f. 32-cell stage; g. Early blastula stage; h. Mid-blastula stage; i. Late blastula stage; j. Early gastrula stage; k. Mid-gastrula stage; l-1. Early stage of late gastrula; l-2. Late stage of late gastrula; m. Neural plate stage; n. Neural folds stage; o. Rotation stage; p. Neural tube stage; q. Tail bud stage; r. Muscular response stage; s. Heart beat stage; t-1. Gill blood circulation stage, side view; t-2. Gill blood circulation stage, dorsal view; u-1. Mouth open stage, side view; u-2. Mouth open stage, abdominal view; v-1. Tail fin circulation stage, side view; v-2. Tail fin circulation stage, dorsal view; w-1. Operculum fold stage, dorsal view; w-2. Operculum fold stage, side view of head and abdomen; x-1. Right operculum close stage, abdominal view of head; x-2. Right operculum close stage, dorsal view; y-1. Operculum completion stage, dorsal view; y-2. Operculum completion stage, abdominal view of head.

2 细胞期。第 1 次卵裂为经裂,卵裂沟从动物极开始延伸至植物极,将卵分为大小几乎相等的 2 部分(图 1b)。

4 细胞期。第 2 次卵裂也为经裂,其卵裂沟与第 1 次卵裂沟垂直,从动物极向植物极分裂,将受精卵分为大小几乎相等的 4 部分(图 lc)。

8 细胞期。第 3 次卵裂为纬裂,卵裂面与前 2 次卵裂面垂直。卵裂沟位于赤道线上方靠近动物极,将胚体分为上、下 2 部分,动物极卵裂球略小于植物极,卵裂球排列对称、形状较规则(图 1d)。

16细胞期。第4次卵裂为经裂,出现2个卵裂面,卵裂沟由动物极逐渐向植物极延伸、直至到达植物极底部。卵裂形成16个卵裂球,卵裂球形状各异、大小不等(图1e)。

32 细胞期。第 5 次卵裂为纬裂, 2 个分裂面与第 3 次卵裂面平行、分别位于赤道线上下两侧, 胚体形成大小不规则的 32 个卵裂球(图 1f)。

囊胚早期。胚胎表面凹凸不平,细胞之间界限明显、裸眼可观察到,整个囊胚呈桑葚状。分裂球数目逐渐增多,分裂面不规则,细胞大小不一。植物极细胞体积较大,动物极黑色素区域面积增大(图 1g)。

囊胚中期。胚体细胞数目进一步增多、体积变小,细胞间界限在体视镜下清晰、裸眼无法观察到界限。胚体表面逐渐光滑,动物极黑色素区域面积继续增大,整体呈球状(图 1h)。

囊胚晚期。胚体细胞继续分裂,数目增多,体积变小,之间的界限在体视显微镜下尚有但模糊。胚体表面光滑,动物极黑色素区域面积约占整个胚体的 2/3(图 1i)。

原肠早期。在赤道下方 30 ~ 35°, 动物极细胞将植物极细胞内陷卷入, 出现月牙状裂隙浅沟, 为原口沟。原口沟的背侧形成背唇, 宽度且深度不一,长度约为胚胎直径的 1/2(图 1j)。

原肠中期。原口沟逐渐向两侧呈弧状延伸, 先形成半圆形侧唇,继续延伸,形成腹唇,汇 合直至形成圆形胚孔。胚孔直径约为整个胚胎 直径的 1/2(图 1k)。

原肠晚期。背唇、侧唇、腹唇包围卵黄细胞形成乳白色卵黄栓位于圆形胚孔中,卵黄栓由植物极细胞组成,略突起于外周动物极细胞(图 11-1)。发育后期胚孔直径缩小、原口沟呈点状(图 11-2)。

神经板期。胚体平均直径 2.11 mm, 仍为球状,整体颜色为棕黑色。胚体背部逐渐平坦,细胞增多变厚,形成颜色较深的神经板。神经板呈前宽后窄的勺状,向上隆起。原口沟缩小成窄小细缝(图 1m)。

神经褶期。胚体略伸长,平均长度 2.21 mm。神经板前端两侧继续向上隆起形成 神经褶。神经板中间凹陷,为神经沟。神经沟 长度约为胚体长度的 5/6 (图 1n)。

胚胎转动期。胚体明显纵向伸长,平均长度 2.33 mm,左右对称,呈椭圆状,在卵胶膜内转动。神经褶向中间靠拢,神经沟加深变窄,头部与尾部的沟壑较宽、中间较窄(图 1o)。

神经管期。胚体明显伸长,平均长度 2.59 mm,两侧神经褶向中间靠拢至神经沟完 全消失,形成神经管。胚体头部两侧视囊突出, 出现口吸盘。胚体中间有明显凹陷。胚体在卵 胶膜内平均转速 34.4 min/圈(图 1p)。

尾芽期。胚体平均长度 2.86 mm, 尾芽生出、呈弯曲状向上微翘、占全长的 1/6~1/5。胚体头部鳃板明显,腹部膨大。口吸盘明显、口窝出现。胚体平均转速加快, 17.42 min/圈(图 1q)。

肌肉效应期。胚体受强光或机械刺激,身体扭曲收缩。胚体平均长度 3.30 mm,头部和尾部上翘明显,呈弯曲状。胚体外鳃呈泡状突起,眼泡、嗅窝开始出现。头部腹面具有一对明显的口吸盘,每个吸盘均呈"V"形。卵胶膜开始溶解,个别胚胎开始出膜,出膜后发达的口吸盘吸附于胶膜上,游动能力较弱。未出膜的平均胚胎转速继续加快,35 s/圈(图 1r)。

心跳期。咽部出现微弱心跳,平均长度胚

体 5.24 mm,约为肌肉效应期胚体的 1.6 倍。初期平均心跳 10~15次/min,后期平均 27~40次/min。口窝、嗅窝继续加深,眼泡凸起明显,口吸盘发达,同时尾部变薄,出现透明尾鳍和背鳍。胚体头部两侧出现 1 对外鳃、包含 2 或 3 个短支芽(图 1s)。

鳃血循环期。胚体平均长度 5.72 mm,尾 长约占全长的 1/3~1/2。头部视囊明显,口窝、 嗅窝深陷。外鳃支芽明显增多,前期短小,后 期较长呈鹿角状,体视镜下可见脉冲式血流。 大约 70%的胚胎在此时期出膜,出膜后发达的 口吸盘吸附于胶膜上,能做间歇性游动。心跳 速度明显加快,平均 70~75 次/min (图 1t-1, 2)。

开口期。胚体尾部和腹部皮肤半透明,尾部明显加长加宽,平均长度 6.88 mm,占全长 1/2 左右。口窝呈三角形,口咽膜穿通,可见液体喷出。两侧外鳃分化为簇状细丝,眼部可见黑色眼球,吸盘开始萎缩。平均心跳速度 80~95 次/min(图 1u-1,2)。

尾血循环期。尾鳍和背鳍薄而透明,尾长超过全长 1/2。头部渐圆,腹部明显缩小,眼泡周围黑色素加深,鳃丝分化增多,吸盘进一步萎缩退化变薄。尾部与腹部交界处可见微弱血液流动(图 1v-1, 2)。

鳃盖褶期。外鳃基部掩盖于皮肤褶中,褶 皱逐渐向腹面延伸。尾长超过全长 3/5, 角膜 趋于透明。胚体能保持平衡,做长时间自由游 动(图 1w-1, 2)。

右侧鳃盖闭合期。鳃盖褶向后延伸,逐渐将右侧鳃丝包裹在内。尾长约占全长 2/3,透过半透明腹部可见肠盘旋 1 ~ 2 圈,头部边缘轮廓清晰圆滑。角膜透明、眼球更加清晰,口部可见唇齿、有微弱的颤动,口吸盘退化、缩小变薄(图 1x-1, 2)。

鳃盖完成期。左侧鳃丝被鳃盖褶完全包裹,身体左侧留有1个出水孔与外界相通。头与腹部边缘轮廓融合、轮廓圆滑,口吸盘萎缩退化、逐渐透明。唇齿式可见,眼部瞳孔明显,肠管清晰可见、弯曲盘绕2~3圈,肛部开通(图

1y-1, 2).

2.2 无尾两栖类早期胚胎发育与栖息地类型的关系

本研究通过一元线性回归模型研究了中国林蛙与其他栖息地类型无尾两栖类受精卵平均直径与早期胚胎发育时长的关系(表 2),结果表明,受精卵平均直径与早期胚胎发育时长有显著正相关性(相关系数 $R^2=0.69$, P<0.01,图 2)。

3 讨论

3.1 无尾两栖类早期胚胎发育的种属特异性

在卵裂方面,叉舌蛙科(Dicroglossidae) 倭蛙属(Nanorana)的太行隆肛蛙(N. taihangnica)(雌性头体长 80.76 mm 左右、卵 径 4.23 mm, 陈晓虹等 2004, 陶娟等 2010)、 棘胸蛙属(Quasipaa)的棘胸蛙(Q. spinosa) (雌性头体长 131 mm 左右、卵径 4.31 mm, 费梁等 2009, 谢永广等 2023) 与棘腹蛙 (Q. boulengeri) (雌性头体长 98 mm 左右、卵径 3.98 mm, 李文健 1998, 费梁等 2009) 受精 卵体积大、卵黄多且主要分布在植物极、卵裂 开始时集中在动物极顶端, 植物极分裂滞后, 直到囊胚早期才出现分割线。本文研究的中国 林蛙与近缘种东北林蛙(雌性头体长 67.10 mm 左右、卵径 1.50~2.00 mm, 王寿兵等 1996, 费梁等 2009)、内蒙古"中国林蛙"居群(卵 径 1.70 mm, 韩雅莉 1991) 及叉舌蛙科虎纹蛙 属(Hoplobatrachus)的虎纹蛙(H. chinensis) (雌性头体长 107 mm 左右、卵径 1.60 ~ 1.80 mm, 耿宝荣等 1999, 费梁等 2009) 卵粒小、 卵黄含量少, 卵裂方式相似, 第一次卵裂沟直 达植物极、形成大小几乎相等的卵裂球。比较 卵裂的方向发现,中国林蛙、东北林蛙(王寿 兵等 1996)、内蒙古"中国林蛙"居群(沈其 璋 1983) 第三次卵裂为纬裂, 棘胸蛙(谢永广 等 2023)、虎纹蛙 (耿宝荣等 1999)、蛙科臭蛙 属 (Odorrana) 的竹叶臭蛙 (R. versabilis = O. versabilis) (耿宝荣等 1997) 第三次卵裂为经

表 2 不同栖息地类型的两栖类物种受精卵平均直径与早期胚胎发育时长

Table 2 The average diameter of fertilized eggs and duration of early embryonic development of amphibian species in different habitat type

栖息地类型 Habitat type	两栖类物种 Amphibian species	受精卵平均直径 Average diameter of fertilized eggs (mm)	早期胚胎发育时长 Duration of early embryonic development (h)	参考文献 Reference
溪流型 Stream type	凹耳臭蛙 Odorrana tormota	3.17	324.35	Xiong et al. 2010
	棘腹蛙 Quasipaa boulengeri	3.98	221.81	李文健 1998
	棘胸蛙 Q. spinosa	4.31	288.44	谢永广等 2023
	太行隆肛蛙 Nanorana taihangnica	4.23	390.68	陶娟等 2010
	花臭蛙 O. schmackeri	2.35	284.46	郭琳 2012
	竹叶臭蛙 O. versabilis	2.50	226.42	耿宝荣等 1997
静水型 Still water type	中国林蛙 Rana chensinensis	1.57	158.83	本研究 This study
	北方狭口蛙 Kaloula borealis	1.45	50.37	李宗芸等 1998
	饰纹姬蛙 Microhyla fissipes	0.99	73.47	耿宝荣等 1996
	无斑雨蛙 Hyla immaculata	1.20	90.00	吴云龙 1987
	泽陆蛙 Fejervarya multistriata	1.00	72.00	吴云龙等 1981
	沼水蛙 Hylarana guentheri	1.45	187.90	邹佩贞等 2001
	东北林蛙 R. dybowskii	1.75	122.56	王寿兵等 1996, 费梁等 2009
	虎纹蛙 Hoplobatrachus chinensis	1.70	126.00	耿宝荣等 1999
	札达蟾蜍 Bufotes pseudoraddei	1.55	186.12	王爱民等 1990
	花背蟾蜍 Strauchbufo raddei	1.43	185.10	葛瑞昌等 1982

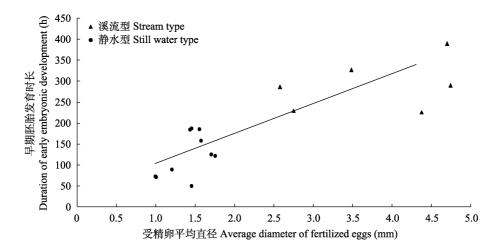


图 2 两栖类早期胚胎发育时长与受精卵平均直径的回归关系

Fig. 2 The regression relationship between duration of early embryonic development and average diameter of fertilized eggs of amphibian species

裂,凹耳臭蛙(O. tormota)第三次卵裂多数为 纬裂,少数为经裂(Xiong et al. 2010)。

在出膜方面,陶娟等(2010)在研究太行

隆肛蛙早期胚胎发育时发现,太行隆肛蛙、棘 胸蛙和棘腹蛙的出膜时期相近,在右侧鳃盖闭 合期、开口期后出膜,胚胎出膜后即能在水中 保持平衡并短距离游动,具备主动取食的能力,属晚出膜类型。中国林蛙最早在口吸盘形成的肌肉效应期出膜,大部分在鳃血循环期出膜、出膜后的胚体尚未开口,无平衡、运动和主动摄食能力,与东北林蛙(王寿兵等 1996)、内蒙古"中国林蛙"居群(韩雅莉 1991)和虎纹蛙(耿宝荣等 1999)出膜时期相近,均在开口期前出膜,属于早出膜类型。

在胚胎发育速度方面,相近温度水平下,东北林蛙早期胚胎发育历时 122.56 h(王寿兵等 1996)、虎纹蛙早期胚胎发育历时 126 h(耿宝荣等 1999)、棘腹蛙早期胚胎发育历时 221.81 h(李文健 1998)、棘胸蛙早期胚胎发育历时 288.44 h(谢永广等 2023)、竹叶臭蛙早期胚胎发育历时 226.42 h(耿宝荣等 1997)、凹耳臭蛙早期胚胎发育历时 324.35 h(Xiong et al. 2010)。本研究中中国林蛙早期胚胎发育 总历时 158.83 h,发育速度较东北林蛙、虎纹蛙慢,较棘腹蛙、棘胸蛙、竹叶臭蛙及凹耳臭蛙快。

3.2 无尾两栖类早期胚胎发育的生态适应性

对于产卵于静水水域的蛙类,较小的卵径和较快的早期胚胎发育速度,可有效减少被天敌发现的危险和水分干涸的胁迫。营溪流生活、产卵于隐蔽石块下的蛙类,往往产少量、大型卵,早期胚胎发育历时长,出膜晚,胚胎发育较成熟(陶娟等 2010)。静水域繁殖的无尾两栖类通常具有较小的卵径和较短的早期胚胎发育时长,溪流型繁殖的类群通常具有较大的卵径和较长的早期胚胎发育时长。中国林蛙较小的卵径、较快的早期胚胎发育速度反映了其对静水产卵环境的适应。

参考文献

Che J, Pang J F, Zhao E M, et al. 2007. Phylogenetic relationships of the Chinese brown frogs (genus *Rana*) inferred from partial mitochondrial 12S and 16S rRNA gene sequences. Zoological Science, 24(1): 71–80.

Gosner K L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos

- larvae with notes on identification. Herpetologica, 16(3): 183–190
- Liu L S, Zhao L Y, Wang S H, et al. 2016. Research proceedings on amphibian model organisms. Zoological Research, 37(4): 237–245.
- Shen H J, Xu M Y, Yang X Y, et al. 2022. A new brown frog of the genus *Rana* (Anura, Ranidae) from North China, with a taxonomic revision of the *R. chensinensis* species group. Asian Herpetological Research, 13(3): 145–158.
- Shumway W. 1940. Stages in the normal development of *Rana pipiens*. Anatomical Record-Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 78: 139–147.
- Xiong R C, Jiang J P, Fei L, et al. 2010. Embryonic development of the concave-eared torrent frog with its significance on taxonomy. Zoological Research, 31(5): 490–498.
- Zhou W W, Wen Y, Fu J Z, et al. 2012. Speciation in the *Rana chensinensis* species complex and its relationship to the uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau. Molecular Ecology, 21(4): 960–973.
- 陈伟庭, 李东风. 2005. 中国林蛙早期胚胎发育观察. 华南师范大学学报: 自然科学版, 37(3): 36-41.
- 陈晓虹, 江建平. 2004. 太行隆肛蛙补充描述(无尾目, 蛙科). 动物分类学报, 29(3): 595-599.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2009. 中国动物志 两栖纲 下卷. 北京: 科学出版社, 1004-1442.
- 葛瑞昌, 冯伯森, 仝允栩. 1982. 花背蟾蜍 (*Bufo naddei* Strauch) 的早期胚胎发育及分期. 兰州大学学报: 自然科学版, 18(4): 125-136.
- 耿宝荣, 蔡明章, 温青. 1997. 竹叶蛙 (*Rana versabilis*) 的早期胚 胎发育. 福建师范大学学报: 自然科学版, 13(1): 81-85.
- 耿宝荣, 陈友铃, 张秋金, 等. 1999. 虎纹蛙的早期胚胎发育. 福建师范大学学报: 自然科学版, 15(4): 85-90, 105.
- 耿宝荣, 温青, 张秋金. 1996. 饰纹姬蛙的早期胚胎发育. 动物学 杂志, 31(5): 17-21.
- 郭琳. 2012. 河南南召花臭蛙的繁殖生态和早期胚胎发育研究. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 29-36.
- 韩雅莉. 1991. 中国林蛙 (*Rana chensinesis*) 早期胚胎发育分期和观察. 内蒙古农牧学院学报, 12(2): 74-81.
- 金莉莉, 王磊, 杨传熙, 等. 2012. 基于 16S rRNA 和 POMC 基因

- 序列的中国北方林蛙属动物系统发生关系. 辽宁大学学报:自然科学版, 39(3): 193-198.
- 李丕鹏, 陆宇燕, 李昂. 2014. 中国林蛙的分类及分布. 蛇志, 26(2): 156-158, 182, 274.
- 李文健. 1998. 棘腹蛙 (*Rana boulengeri* Günther) 早期胚胎发育与分期的研究. 生命科学研究, 2(2): 132–139.
- 李宗芸, 孙建梅, 胡斌, 等. 1998. 北方狭口蛙早期胚胎发育的初步观察. 动物学杂志, 33(5): 4-8.
- 刘玉文, 刘治国, 艾静远, 等. 1989. 中国林蛙早期胚胎发育的形态学研究. 沈阳农业大学学报, 20(1): 49-54.
- 沈其璋. 1983. 中国林蛙 *Rana temporaria chensinensis* David 胚胎 发育时期. 内蒙古师范大学学报: 自然科学版, 12(2): 42–48.
- 陶娟, 杨杰, 陈晓虹. 2010. 太行隆肛蛙的早期胚胎发育及生态适应性. 动物学杂志, 45(5): 39-46.
- 王爱民, 朱晓荣. 1990. 绿蟾蜍 (*Bufo viridis* Laurenti) 的早期胚胎 发育和分期. 新疆大学学报: 自然科学版, 7(4): 64-70.
- 王寿兵, 张思路, 屈云芳, 等. 1996. 辽宁产中国林蛙早期胚胎发育研究. 复旦学报: 自然科学版, 35(2): 163-169.

- 吴云龙. 1987. 无斑雨蛙早期胚胎发育的初步观察. 生物学通报, 22(2): 41-43.
- 吴云龙, 孙源澂. 1981. 泽蛙早期胚胎发育的初步观察. 动物学杂志, 16(3): 28-30, 81.
- 谢锋,叶昌媛,费梁,等. 1999. 中国东北地区林蛙属物种的分类学研究(两栖纲:蛙科). 动物分类学报,24(2):224-231.
- 谢锋,叶昌媛,费梁,等. 2000. 中国西北地区中国林蛙各居群的分类学研究(两栖纲: 蛙科). 动物分类学报,25(2): 228-235.
- 谢永广, 汪小冬, 吴亚峰, 等. 2023. 棘胸蛙胚胎发育观察与相关 抗氧化酶活性变化研究. 水产科学, 42(6): 1054–1062.
- 徐大德, 李军, 李方满. 2007. 斑腿泛树蛙早期胚胎发育的研究. 四川动物, 26(3): 647-651.
- 叶昌媛, 费梁, 胡淑琴. 1993. 中国珍稀及经济两栖动物. 成都: 四川科学技术出版社. 212-218.
- 于业辉, 张守纯, 刘超. 2013. 沈阳地区黑斑蛙早期胚胎发育研究. 四川动物, 32(4): 535-539.
- 邹佩贞,温彩燕,徐剑,等. 2001. 沼水蛙早期胚胎发育的初步研究. 动物学杂志,36(6): 15-19.