

研究报告

Research Report

温度对中华鳖胚胎发育和初生幼体形态特征及活动能力的影响

朱阿莉^{1,2} 史燕² 朱新平^{1,2,3*} 魏成清² 李伟³ 段爱丽³

1 南京农业大学无锡渔业学院, 无锡, 214081; 2 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业部热带亚热带水产种质资源利用与养殖重点实验室, 广州, 510380; 3 上海海洋大学水产与生命学院, 上海, 2013063

* 通讯作者, zhuxinping_1964@yahoo.com.cn

摘要 本文在5个不同孵育温度下对中华鳖胚胎发育、孵化周期、初生幼体形态特征及活动能力进行了研究。孵化温度设置为(23±0.5)°C、(26±0.5)°C、(29±0.5)°C、(32±0.5)°C、(35±0.5)°C,每一温度指标下设置3个平行组,每组30枚卵。孵化介质为蛭石,湿度为6%。结果显示,胚胎的发育速度随着孵化温度的升高而加快,所用的孵化时间也越来越短。孵化累积温度CTUs在23°C时最高,随着温度的升高,累积温度依次降低,孵化率在29°C时最高,达到83.3%,26°C为80%,32°C为43.3%,23°C为11.1%,35°C为0。温度对稚鳖形态特征的影响比较显著,29°C孵出幼体的体质量最重、背甲最长,与26°C孵出差异不显著,与32°C差异显著,和23°C差异极显著,26°C孵出幼体背甲最宽,与其它三组差异极显著,但其它三组之间差异不显著,23°C孵出幼体体重、背甲长和宽都是最小的。温度对新生幼体运动表现的影响差异显著,23°C孵出的初生幼体活动能力最差,与其它3组差异显著,其它3组之间差异不显著。26~29°C是生产实践中比较适合的孵化温度。

关键词 中华鳖, 温度, 胚胎发育, 形态特征

Effects of Different Temperature on Embryonic Development, Hatchling Traits and Hatchling Moving of *Trionyx sinensis*

Zhu Ali¹ Shi Yan² Zhu Xinping^{1,2,3*} Wei Chengqing² Li Wei³ Duan Aili³

1 Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi, 214081; 2 Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation of Ministry of Agriculture, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, 510380; 3 College of Life Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306

* Corresponding author, zhuxinping_1964@yahoo.com.cn

DOI: 10.3969/gab.032.000303

Abstract The research aimed to study the effects of different temperature on embryonic development, hatchling period, hatchling traits and hatchling moving of *Trionyx sinensis*. Eggs were divided into five groups (30 eggs per group) and incubated under five different temperatures, such as (23±0.5)°C, (26±0.5)°C, (29±0.5)°C, (32±0.5)°C, (35±0.5)°C. The hatchling medium was vermiculite and humidity was 6%. The embryonic development rates increase and incubation time decreases as the temperature rise at the five different temperatures. Cumulative temperature units (CTUs) (degree·hours) decrease as the temperature rise at the five different temperatures. At (29±0.5)°C and (26±0.5)°C, embryonic survival rate was 83.3% and 80%, but only 43.3% at (32±0.5)°C and with 11.1% at (23±0.5)°C as well as 0 at (35±0.5)°C. The result indicated that the effect of different temperatures on hatchling traits was significant. At (29±0.5)°C, body mass and carapace length of hatchling were the largest, and in comparison with (32±0.5)°C and (23±0.5)°C, the difference was significant, but not include (26±0.5)°C. At (23±0.5)°C, the body weight, carapace length and width were the least. The effect of different temperatures on swimming performance of hatchling was significant, at (23±0.5)°C, the swimming performance of hatchling was the worst, while there was no difference between other groups. In conclusion, the optimal temperature of *Trionyx sinensis* incubation is likely to be 26°C and 29°C.

Keywords *Trionyx sinensis*, Temperature, Embryodevelopment, Traits

基金项目:本研究由广东省科技计划项目(2012B020307003)和广东省海洋渔业科技推广专项(A201201E05)共同资助

中华鳖(*Trionyx sinensis*),属于爬行纲、龟鳖目(Testudinata)、鳖科(Trionychidae)、鳖属(*Pelodiscus*),主要分布于我国大部分省份,是我国名贵的食用水产动物(刘凌云, 2005, 普通动物学, pp.50-56),作为滋补品,在国内外市场上十分畅销,目前是我国重要的水产养殖品种之一(巫旗生等, 2011)。20世纪90年代以来,我国中华鳖养殖业得到了长足的发展,养殖技术在生产实践中得到了不断完善和提升,养殖规模和产量不断增长。但是中华鳖养殖业对鳖苗需求量的与日剧增和鳖苗的短缺严重制约着养殖业大力发展。因此许多科学工作者在研究如何提高中华鳖的繁殖力。其中在提高孵化率方面做了许多研究(祝茜等, 1994; 朱道玉等, 1997; 朱道玉和高庆义, 1998)。中华鳖初生幼体质量关系到养殖生产中的成活率,初生幼体质量与遗传、环境等有很大关系,其中孵化过程中的一些生态因子也会影响到初生幼体的质量(杜卫国和计翔, 2001)。本文研究了孵化温度对中华鳖胚胎发育和初生幼体形态特征及活动能力的影响,试图找出适于中华鳖胚胎发育,而初生幼体质量重、活动能力强的最佳温度条件,为生产实践提供基础数据。

1 结果与分析

1.1 温度对胚胎发育和孵化成活率的影响

5个温度组中华鳖卵初始质量分别是(4.92±0.20)g、

(4.90±0.39)g、(4.96±0.20)g、(4.55±0.40)g、(4.73±0.54)g;直径分别为(2.04±0.01)cm、(2.03±0.01)cm、(2.05±0.01)cm、(2.01±0.01)cm、(2.03±0.01)cm,经 Turkey's 多重检验,无显著性差异。

在5个设定孵化温度下,中华鳖胚胎发育的速率及成活率的结果见表1。

可以看出,在试验温度范围内,胚胎的发育速率随着孵化温度的升高而加快,孵化时间也越来越短。孵化的累积温度在23℃时最高,在32℃最低;孵化成活率在29℃最高,在35℃时最低,鳖卵孵出个数为0,32℃时产出畸形鳖,这说明32℃或以上的孵化温度对胚胎的发育有不利的甚至是致死的影响。

1.2 孵化温度对孵出稚鳖形态特征的影响

不同孵化温度下孵出稚鳖的形态可量性状统计结果见表2。结果显示孵化温度显著影响初生幼体的体重、背甲长、背甲宽等形态特征。29℃孵出的幼体质量最重、背甲最长,与26℃的差异不显著,与32℃的差异显著,和23℃的差异极显著;26℃孵出的幼体背甲最宽,与其它3组差异极显著,其它3组之间差异不显著;23℃的体高是四组中最大的,但是与其它3组差异并不显著,其体重、背甲长和宽都是最小的。

1.3 温度对新生幼体运动表现的影响

对中华鳖新生幼体的运动表现进行观察,发现

表1 不同孵育温度下鳖卵的胚胎发育速率和成活率

Table 1 Embryonic development and survival rate at different incubation temperatures

温度(℃)	入孵卵数	出壳数	孵化率(%)	孵化周期(d)	累积温度(℃*h)	发育速率
Temperature (℃)	Sample No.	Shell crack No.	Survival rate (%)	Incubation time (d)	Cumulative temperature units (℃*h)	Development rate
23±0.5	30	10	11.1	64	35.50×10 ³	0.016
	30					
	30					
26±0.5	30	72	80	54.0±0.82	33.70×10 ³	0.018
	30					
	30					
29±0.5	30	77	85.6	47.5±0.96	29.93×10 ³	0.021
	30					
	30					
32±0.5	30	39	43.3	38.5±1.04	25.34×10 ³	0.026
	30					
	30					
35±0.5	30	0	0	0	0	0
	30					
	30					

注:孵化周期:卵产出的时间到稚鳖孵出的时间区间;发育速率与孵化时间成反比;累积温度为孵化时间与温度的乘积

Note: Incubation time: From oviposition to hatching; Developmental rate is inversely proportional to incubation time; Cumulative temperature units (CTUs): Incubation time×temperatures

表 2 不同孵化温度下孵出稚鳖的形态特征
Table 2 Hatchling traits at different incubation temperatures

温度(°C) Temperature (°C)	样本数 Sample No.	体重(g) Body weight (g)	显著性 Significance	背甲长(cm) Carapace length (cm)	显著性 Significance	背甲宽(cm) Carapace width (cm)	显著性 Significance	体高(cm) Body Height (cm)	显著性 Significance
23	10	2.92±0.40 ^a		1.92±0.18 ^a		1.80±0.13 ^a		0.88±0.12 ^a	
26	72	3.31±0.53 ^a	F=11.081 p<0.000 1	2.11±0.15 ^{ab}	F=5.953 p=0.001	2.01±0.16 ^b	F=21.865 p<0.000 1	0.87±0.08 ^a	F=5.953 p=0.001
29	77	3.41±0.37 ^b		2.13±0.10 ^{bc}		1.89±0.10 ^c		0.83±0.08 ^a	
32	39	2.94±0.39 ^b		2.07±0.13 ^c		1.81±0.14 ^c		0.80±0.08 ^a	

注: 数据用平均值±标准差; 不同上标的矫正平均值之间差异显著

Note: Data are expressed as adjusted mean±SE; Adjusted means with different superscripts on each column are statistically different

23℃孵化出来的稚鳖有 50%的个体放入水中后,经手碰触驱赶,动作缓慢或者经多次驱赶后才会游动,而其它温度处理组孵化出来的稚鳖用同样方法检验,发现所有个体放入水中后,经手碰触,均迅速的四处游动。显示 26℃、29℃、32℃孵出的幼体活力较强。

2 讨论

2.1 孵化温度对鳖卵孵化率的影响

本文中温度显著影响中华鳖卵的孵化期、孵化成功率、畸形率还有孵出幼体的表性特征,这与黄喉拟水龟及其它爬行动物的研究结果类似(郭捡红等, 2010)。Valenzuel 等(2001)在 *Podocnemis expansa* 中的研究结果也表明,温度高发育就快,所需累积温度就小,在中华鳖和黄喉拟水龟等爬行动物中,胚胎的发育速率和孵育温度及累积温度的关系就基本符合这种规律。

孵化温度是影响孵化率的首要因素(朱道玉和高庆义, 1998)。本实验中,孵化温度为 23℃时鳖卵的孵化率仅为 11.1%, 32℃时孵出的幼体中出现 1 只畸形鳖,主要表现为个体比较瘦弱, 35℃的处理组孵化率为 0。杜卫国和计翔(2001)从物质和能量转化的角度来看,卵在高温或低温下孵化,相应的物质和能量转化率较低,过高(如 34℃和 33℃)或者过低(23℃)的温度都不利于中华鳖卵的孵化。极端高温(35℃)和低温(23℃)下的孵化成功率明显低于其它温度(朱新平等, 2008)。这主要是因为(1)胚胎在高温下的发育能耗较高,(2)胚胎在低温下的发育速率低,孵化期长,导致胚胎孵化过程中的总能耗增加。和变温条件相比,恒温孵化有利于鳖卵的胚胎发育(杜卫国和计翔, 2001)。

2.2 温度对新生体大小及运动能力的影响

Whitehead 等(1990)的研究表明大多数爬行动物

卵,低孵化温度下孵化出的个体较大,而 Janzen 等(1990)对滑鳖的研究结果则相反,卵孵化的温度越高,孵出动物越大,也有的孵化温度对孵出动物的大小没有显著影响(Thompson et al., 1990),或关系复杂(Whitehead et al., 1990)。本实验孵化出来的新生幼体的大小并不与温度呈正相关或者负相关关系,而是在特定温度下有大小,这与杨振才等(2002)的研究结果是一致的。本实验中,29℃孵出的幼体体质量最重、背甲最长。

本实验中最低温 23℃处理组中孵化出来的稚鳖体质较差,游泳能力较弱,容易死亡,然而其它温度处理组并没有出现这种情况。有研究表明,当孵化温度越接近存活温度的最低温度的时候,幼体的游泳能力越差,这可能由于低温使龟肌肉抗疲劳能力降低所致(杜卫国和计翔, 2001),且卵在极端低温下有相对较少的卵黄能量转入躯干,使低温孵出幼体的躯干发育不完善(计翔等, 2001)。

不同物种,孵化温度与运动能力的关系也不一样,Miller 等(1987)认为,低温下孵化出稚龟个体越大,其运动能力越好,而 Booth 等(2004)实验表明低温下孵出的绿龟和布里斯班水龟的游泳能力并不是最强的,能力最强的幼体是在温和的温度(26℃, 27℃)下孵出的。中华鳖也是在温和温度下孵出的幼体活动能力最强。

综上所述,在生产实践中,人工孵化鳖卵时,可以选择 29℃,因为此时的孵化率最高,所需的累积温度较低,孵化周期较短,发育速率较快,孵出的幼体最大,活动能力最强,通过人工养殖,可以有效提高经济效益。

3 材料与方法

3.1 实验材料

中华鳖卵来源于位于广东东莞的广东绿卡实业有限公司。鳖卵产出后不能马上判断是否受精,等到

12 h 后, 在鳖卵放置面中央位置出现圆形或椭圆的白斑, 此为受精斑。根据白斑的有无来判断受精鳖卵。在同一天产出收集的鳖卵中随机挑选受精卵 450 枚作为实验材料。

3.2 方法

3.2.1 孵化

设置(23±0.5)°C、(26±0.5)°C、(29±0.5)°C、(32±0.5)°C、(35°C±0.5)°C 5 个温度条件, 对中华鳖卵进行孵化。每一温度下设置 3 个平行组, 每组 30 枚卵, 孵化基质为蛭石, 孵化容器为 315 cm×240 cm×125 cm 的塑料箱, 恒温培养箱为 LRH-150F 型生化培养箱(上海一恒科技公司)。孵化前, 蛭石在太阳下曝晒 4~6 h, 孵化时孵化箱底层蛭石厚度为 5 cm, 鳖卵间距为 0.5 cm, 白斑上位, 其上覆盖 3 cm 蛭石, 蛭石含水量控制在 6%。孵化过程由同一个人管理。

3.2.2 指标测定

鳖卵入孵前用 JJ100 型的精密电子天平(常熟双杰测试仪器厂)称量其卵重, 用游标卡尺(上海台海工量具有限公司)测量其直径, 并作记录。孵化期为入孵时间与孵出时间的间隔, 孵化期间, 每日 3 次定时(9:00, 15:00 和 22:00)查看温度变化及稚鳖产出情况, 记录出壳日期和数量。幼体孵出后即被收集, 称量体重, 测量背甲长、背甲宽、体高。测量完后, 放入水中观察幼体的运动表现。该实验在温度为(30±0.5)°C 的恒温室内进行。实验开始前, 预先将动物置于恒温室内适应 2 h。测定运动表现时, 将动物放入盛有 1/3 水的 315 cm×240 cm×125 cm 塑料盒中, 用手驱赶并观察记录其运动表现。

3.2.3 数据处理

所有数据在进一步的统计分析前, 用 Kolmogorov-Smirnov 检验数据的正态性, 用 Levene 检验方差的同质性(SPSS19.0 软件包) 经过检验, 原始数据都无需转化即能用于参数统计。用方差分析(ANVOA)和 Turkey's 检验等共同处理和比较相应的数据, 描述统计值都用平均值±标准差表示, 显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

作者贡献

本论文第一作者朱阿莉对研究进行实施、数据整理以及论文撰写。通讯作者朱新平对研究进行设计、指导和论文审核修改。史燕、李伟、段爱丽、魏成清参与本研究的采样、数据分析等具体工作。

致谢

感谢广东省科技计划项目(2012B020307003)和广东省海洋渔业科技推广专项(A201201E05)对本研究的资助。

参考文献

- Bull J.J., 1985, Sex determining mechanisms: An evolutionary perspective, *Experientia*, 41(10): 1285-1381
- Booth D.T., 1998, Effects of incubation temperature on the energetics of embryonic development and hatchling morphology in the Brisbane River turtle *Emydura signata*, *Journal of Comparative Physiology B*, 168: 399-404
- Booth D.T., Burgesse E., Mccosker J., and Lanyon J.M., 2004, The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles, *International Congress Series*, 1275: 226-223
- Burgess E.A., Booth D.T., and Lanyon J.M., 2006, Swimming performance of hatchling green turtles is affected by incubation temperature, *CoralReefs*, 25(3): 341-349
- Du W.G., and Ji X., 2001, Influence of incubation temperature on embryonic use of material and energy in the Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*), *Dongwu Xuebao (Acta Zoologica Sinica)*, 47(5): 512-517 (杜卫国, 计翔, 2001, 孵化温度对中华鳖胚胎物质和能量利用的影响, *动物学报*, 47(5): 512-517)
- Guo J.H., Zhu X.P., Zhao W.H., Wei C.Q., and Chen Y.L., 2010, Effects of incubation temperature and substrate humidity on embryonic development of *Mauremys mutica*, *Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology)*, 21(1): 215-220 (郭捡红, 朱新平, 赵伟华, 魏成清, 陈永乐, 2010, 温度、湿度对黄喉拟水龟胚胎发育的影响, *应用生态学报*, 21(1): 215-220)
- He B., Shi H.T., and Liao G.Q., 2009, Temperature-dependent sex determination in turtles, *Dongwuxue Zazhi (Chinese Journal of Zoology)*, 5: 147-152 (贺斌, 史海涛, 廖广桥, 2009, 龟鳖类温度依赖型性别决定机制的研究进展, *动物学杂志*, 5:147-152)
- Ji X., Du W.G., and Xu X.F., 2001, Influence of thermal and hydric environments on incubation eggs and resultant hatchlings in a colubrid snake (*Xenochrophis piscator*), *Dongwu Xuebao (Acta Zoologica Sinica)*, 47(1): 42-52 (计翔, 杜卫国, 许雪峰, 2001, 孵化水热环境对渔异色蛇孵化卵和孵出幼体的影响, *动物学报*, 47(1): 42-52)
- Janzen F.J., 1993, The influence of incubation temperature and family on eggs, embryo, and hatchlings of the smooth soft-shell turtle (*Apaiionemutica*), *Physiol. Zool.*, 66(3): 349-373
- Miller K., Packard G.C., and Boardman T.J., 1987, Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of

- hatchling snapping turtles, *J. Exp. Biol.*, 127(1): 401-412
- Packard G.C., Packard M.J., and Miller K., 1987, Influence of moisture, temperature, and substrate on snapping turtle eggs and embryos, *Ecology*, 68: 983-993
- Thompson M.B., 1990, Incubation of eggs of tuatara, *Sphenodon punctatus*, *J. Zool.*, 222A: 303-318
- Valenzuela N., 2001, Constant, shift, and natural temperature effects on sex determination in *Podocne mix expansa* turtles, *Ecology*, 82(11): 3010-3024
- Whitehead P.J., Webb G.J., and Seymour R.S., 1990, Effect of incubation temperature on development of *Crocodylus johnstoni* embryos, *Physiol. Zool.*, 63: 949-964
- Wu Q.S., Wang X.Q., Zeng Y.Y., Ma X., and He H.Z., 2011, Influence on sexual differentiation in *Trionyx sinensis* by temperature, *Siliao Bolan (Feed Review)*, 6(2): 42-44 (巫旗生, 王晓清, 曾亚英, 马晓, 何横忠, 2011, 孵化温度对中华鳖性别分化的影响, *饲料博览*, 6(2): 42-44)
- Yang Z.C., Niu C.J., and Sun R.Y., 2002, Effects of temperature on egg incubation and embryo development of the soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*), *Dongwu Xuebao (Acta Zoologica Sinica)*, 48(6): 716-724 (杨振才, 牛翠娟, 孙儒泳, 2002, 温度对中华鳖卵孵化和胚胎发育的影响, *动物学报*, 48(6): 716-724)
- Zhu Q., Zhou C.W., and Wang J.X., 1994, The research of artificial incubation in *Trionyx sinensis*, *Dongwuxue Zazhi (Chinese Journal of Zoology)*, 29(2): 43-46 (祝茜, 周才武, 王金星, 1994, 中华鳖人工孵化的研究, *动物学杂志*, 29(2): 43-46)
- Zhu D.Y., Sun X.Z., Ren S.T., Wang Y.L., Zhou C.L., and Sang X.B., 1997, The study on the effect of ecological factor upon *Trionyx sinensis*'s incubation rate, *Heze Shizhuan Xuebao (Journal of Heze University)*, 19(2): 21-24 (朱道玉, 孙西寨, 任少亭, 王宜磊, 周长路, 桑希斌, 1997, 生态因子对中华鳖孵化率影响的研究, *菏泽师专学报*, 19(2): 21-24)
- Zhu D.Y., and Gao Q.Y., 1998, Study on raising incubation rate of *Trionyx sinensis* at low temperature, *Hebei Daxue Xuebao (Ziranxue Ban) (Journal of Hebei University (Natural Science Edition))*, 18(3): 293-295 (朱道玉, 高庆义, 1998, 提高中华鳖低温孵化率的研究, *河北大学学报(自然科学版)*, 18(3): 293-295)
- Zhu X.P., Guo J.H., and Zhao W.H., 2008, A review on effects of environmental factors on turtle embryonic development, *Dalian Shuichan Xuebao (Journal of Dalian Fisheries University)*, 23(6): 471-475 (朱新平, 郭捡红, 赵伟华, 2008, 环境因子对龟鳖动物胚胎发育影响的研究进展, *大连水产学院学报*, 23(6): 471-475)