

文章编号:1000-0615(2009)02-0253-06

三种孵化介质对黄喉拟水龟卵孵化期、孵化成功率和孵出幼体特征的影响

郭捡红^{1,2}, 赵伟华^{1,2}, 魏成清¹, 朱新平¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 自然温度下, 分别以泥土、沙子和蛭石为孵化介质, 研究了三种孵化介质对黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica* Cantor) 卵的孵化期、孵化成功率和孵出幼体特征的影响。用泥土、沙子和蛭石作为孵化介质时, 孵化期依次缩短, 平均孵化期分别为 61.2 d、60.9 d、59.4 d, 差异显著 ($P < 0.05$); 孵化期间, 卵壳外层出现龟裂现象的卵所占比率分别为 0、12.5%、40%; 孵化成功率分别为 40%、75%、90%。三种孵化介质条件下孵出的幼体的平均体重、体高、尾长和运动能力均无显著差异, 而平均背甲长、背甲宽和平均腹甲长、腹甲宽差异显著, 其中以蛭石作为孵化介质时孵出的幼体的腹甲宽和背甲宽最大, 且运动能力较好。试验结果表明, 三种孵化介质中蛭石的孵化效果最好, 蛭石作为孵化介质时黄喉拟水龟卵的平均孵化期最短、孵化率最高, 且孵出幼体的个体相对较大, 并具有较强的运动能力。

关键词: 黄喉拟水龟; 孵化; 介质; 孵出幼体

中图分类号: S 966.5

文献标识码: A

黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica* Cantor), 隶属龟鳖目 (Testudinate)、龟科 (Bataguridae)、拟水龟属 (*Mauremys*)^[1]。由于具有较高的食用和药用价值^[2], 黄喉拟水龟已成为中国水产养殖业中极具发展前景的品种之一。然而黄喉拟水龟繁殖力低, 雌龟成熟需要 5 年, 一只成熟雌龟年产 1~3 窝卵, 每窝仅 1~7 枚, 加上受精率和孵化成功率的影响, 所得龟苗的数量较少^[3], 因此提高孵化成功率及新生幼体重对发展黄喉拟水龟的养殖业具有重要的作用。目前, 黄喉拟水龟的研究主要集中于繁殖、生长^[3-5]和温度对性别决定、胚胎发育的影响^[6-7]等方面, 而关于孵化介质对孵化期、孵化成功率和孵出幼体的影响的系统研究尚未有报道。黄喉拟水龟与其他龟鳖动物一样, 亲体没有孵卵行为, 卵的孵化除受到卵自身质量的影响外, 还受孵化温度、湿度和介质等环境因子的影响^[8-11]。许多研究表明温度和湿度会影响龟鳖动物胚胎的发育速率^[12]、孵出幼体的形态和功能

表现等^[8-11], 有些研究也表明孵化介质会影响龟鳖动物卵与环境间的水分交换^[13]和孵出幼体个体的大小^[14]。孵化介质可以保护龟卵使其免受震荡和撞压, 同时维持龟卵孵化微环境的相对稳定^[15]。而有些学者则认为孵化介质对龟卵的孵化没有影响^[8]。野外的黄喉拟水龟在泥穴中产卵, 卵靠地表温度自然孵化。不同孵化介质对黄喉拟水龟卵孵化有何影响, 以及在人工孵化时, 选择何种孵化介质对龟卵孵化有更好的作用。本文通过研究自然温度下泥土、沙子和蛭石三种孵化介质对黄喉拟水龟卵孵化期、孵化成功率及孵出幼体特征的影响, 以期对黄喉拟水龟的养殖业有所帮助。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用黄喉拟水龟卵采自于中国水产科学研究院珠江水产研究所龟类繁育场, 繁殖亲龟源自

收稿日期: 2008-03-31 修回日期: 2008-07-16

资助项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2004CB117401); 广东省科技兴渔项目 (B200701A06)

通讯作者: 朱新平, Tel: 020-81616509, E-mail: zhuxinping_1964@yahoo.com.cn

广西,共800多只,已有9年繁殖史。

试验采用的三种孵化介质分别是泥土(clay)、沙子(sand)和蛭石(vermiculite)。泥土取自中国水产科学研究院珠江水产研究所的池塘塘基,在80℃的烘箱中经12h烘干,然后粉碎和过筛,颗粒直径为0.01~0.05mm。沙子取自中国水产科学研究院珠江水产研究所龟类繁育场,颗粒直径为0.05~1mm。蛭石购自河北省灵寿县恒隆矿业加工厂,颗粒直径大约为0.35mm。试验前,三种介质均在100℃的烘箱中烘至恒重。

1.2 试验方法

试验于2007年6月21日至8月26日在广州进行。所有的试验卵均于当日收集,经可孵性鉴别,也就是如果卵壳中部有乳白色的斑带即表示受精,可以孵化^[3],然后称重和编号,移入长×宽×高规格为315mm×240mm×125mm内含孵化介质的孵化盒中进行孵化。每种孵化介质设一平行组,每组放20枚卵,埋入深度为2~3cm。全部孵化盒置于同一房间内,孵化温度为自然温度。

根据黄喉拟水龟实际孵化生产所采用的孵化湿度^[3],本试验将三种孵化介质的湿度设置为体积含水量20%,并用土壤水分传感器(AQUATEL-TDR,美国)检测确定。对照Kam等^[13]的湿度设置方法,在体积含水量为20%时,泥土、沙子和蛭石的孵化湿度分别约为-3kPa、-3kPa和-55kPa。孵化盒覆盖穿孔塑料薄膜,以减少水分挥发。每天定时测定每个孵化盒的含水量,依据原始含水量喷洒加水,尽量保持孵化介质湿度

恒定。孵化过程由专人负责管理,以减少因管理差异所致的试验误差。

幼体孵出后即被收集,然后用JJ100型精密电子天平(常熟双杰测试仪器厂)称重,用游标卡尺(上海台海工量具有限公司)测量背甲长、背甲宽、腹甲长、腹甲宽、体高、尾长,隔日测定幼体的运动表现。参照Brana等^[16]的方法测定孵出幼体的游泳能力。预先将幼体置于室温下的水体中适应0.5h,在总长为1500mm的直泳道内进行测定,泳道内摆放刻度为1000mm的塑料直尺(华杰文具),水深为50mm左右。测定时由专人用手指轻触幼体的尾尖驱赶幼体,另一人用数码摄像机(SONY DSCT-100)追踪拍摄幼体的运动表现,记录每一幼体游完整个泳道的时间。用静止不动个体数和游完1000mm的时间两项指标显示幼体的运动表现。

所有试验数据用SPSS 11.0处理,并用Tukey方差分析。描述性统计值用平均值±标准误差表示。

2 结果

2.1 孵化期、孵化成功率和卵壳出现龟裂的比率

对全部入孵卵和其中孵化成功的卵的平均原始重量进行统计,卵在入孵前的原始重量无显著差异($F_{2,117} = 0.03, P = 0.97$);对照入孵卵的编号,在三种孵化介质条件下孵化成功的卵的原始重亦无显著差异($F_{2,79} = 0.61, P = 0.54$),这排除了因入孵卵重量不同而造成的差异。

表1 不同孵化介质对黄喉拟水龟孵化期、卵壳龟裂率和孵化成功率的影响
Tab.1 The effects of incubation media on duration of incubation, eggs crack ratio and hatching success in yellow pond turtle

孵化介质 incubation media	入孵卵 incubated eggs	孵化期(d) duration of incubation	龟裂率(%) eggs crack ratio	孵化成功率(%) hatching success
泥土 clay	40	61.2 ± 0.8 ^a (n=16) 55~67	0	40 (16/40)
沙子 sand	40	60.9 ± 0.3 ^a (n=30) 59~65	12.5 (5/40)	75 (30/40)
蛭石 vermiculite	40	59.4 ± 0.3 ^b (n=36) 55~63	40 (16/40)	90 (36/40)

注:数据用平均值±标准误差和范围表示,每行中不同上标的平均值之间差异显著(Tukey检验)

Notes: Mean ± SE means with different superscripts on each line are statistically different, Tukey's test

黄喉拟水龟卵在三种孵化介质条件下的孵化期、孵化成功率和卵壳出现龟裂的比率的结果见表 1。经方差分析,三种孵化介质的孵化期差异显著($F_{2,79} = 5.82, P < 0.05$)。用泥土、沙子和蛭石作为孵化介质的孵化期分别为(61.2 ± 0.8)、(60.9 ± 0.3)和(59.4 ± 0.3) d。

黄喉拟水龟卵在孵化过程中,卵壳外层会产生裂纹现象,称为龟裂^[17]。用泥土作为孵化介质时,卵壳出现龟裂的卵所占比率为 0;而沙子和蛭石处理组分别为 12.5% 和 40%。

三种孵化介质条件下,用蛭石作为孵化介质

时孵化成功率最高;沙子组次之;泥土组最低。

2.2 孵出幼体的特征

三种孵化介质对黄喉拟水龟幼体形态特征影响的结果见表 2。结果显示,孵化介质显著影响孵出幼体的背甲长($F_{2,79} = 4.88, P < 0.05$)、背甲宽($F_{2,79} = 6.96, P < 0.005$)、腹甲长($F_{2,79} = 3.96, P < 0.05$)和腹甲宽($F_{2,79} = 2.61, P < 0.05$);而对孵出幼体的体重($P = 0.67$)、体高($P = 0.75$)和尾长($P = 0.23$)的影响则不显著。

表 2 三种孵化介质对黄喉拟水龟幼体形态特征的影响

Tab. 2 The effects of incubation media on mass and size of hatchling yellow pond turtle

孵化介质 incubation media	泥土 clay	沙子 sand	蛭石 vermiculite	ANCOVA
样本 sample size	16	30	36	
体重 body mass (g)	11.28 ± 0.23 ^a 9.14 ~ 13.06	11.58 ± 0.24 ^a 8.84 ~ 13.68	11.42 ± 0.16 ^a 9.26 ~ 13.58	$F_{2,79} = 0.40$ $P = 0.67$
体高 body height (mm)	18.26 ± 0.20 ^a 16.85 ~ 19.38	18.11 ± 0.17 ^a 16.16 ~ 20.30	18.08 ± 0.13 ^a 16.86 ~ 20.64	$F_{2,79} = 0.29$ $P = 0.75$
背甲长 carapace length (mm)	38.02 ± 0.51 ^{ab} 33.04 ~ 39.79	37.96 ± 0.32 ^a 34.09 ~ 40.86	39.15 ± 0.24 ^b 35.52 ~ 41.79	$F_{2,79} = 4.88$ $P < 0.05$
背甲宽 carapace width (mm)	30.25 ± 0.79 ^b 22.75 ~ 33.40	31.25 ± 0.33 ^{ab} 27.49 ~ 34.33	32.43 ± 0.25 ^a 28.71 ~ 34.98	$F_{2,79} = 6.96$ $P < 0.005$
腹甲长 plastron length (mm)	31.45 ± 0.41 ^{ab} 26.92 ~ 34.37	31.16 ± 0.32 ^a 27.76 ~ 34.47	32.24 ± 0.24 ^b 28.49 ~ 34.99	$F_{2,79} = 3.96$ $P < 0.05$
腹甲宽 plastron width (mm)	21.23 ± 0.33 ^a 18.87 ~ 24.11	21.78 ± 0.23 ^{ab} 19.61 ~ 24.74	22.06 ± 0.19 ^b 19.49 ~ 24.80	$F_{2,79} = 2.61$ $P < 0.05$
尾长 tail length (mm)	23.31 ± 0.57 ^a 17.41 ~ 27.66	22.28 ± 0.37 ^a 17.85 ~ 25.22	22.65 ± 0.27 ^a 18.48 ~ 25.43	$F_{2,79} = 1.52$ $P = 0.23$

注:数据用平均值 ± 标准误和范围表示,每行中不同上标的平均值之间差异显著(Tukey 检验)

Notes: Mean ± SE means with different superscripts on each line are statistically different, Tukey's test

2.3 孵出幼体的运动表现

对三种介质条件下孵出幼体的运动表现进行测定时发现,蛭石组的活动个体最多。泥土、沙子和蛭石组的孵出幼体在泳道上静止不动的个体所占比率分别为 37.50% (6/16)、30.00% (9/30) 和 27.78% (10/36);这些静止不动的个体的数据不被用于下一步的统计分析。以泥土、沙子和蛭石作为孵化介质孵出的幼体游完 1 000 mm 所需时间分别为(26.70 ± 6.63) s、(25.10 ± 6.38) s 和 (22.04 ± 5.29) s,方差分析表明无显著差异($F_{2,54} = 2.80, P = 0.07$)。然而,从幼体游完全长所需时间可以看出,泥土处理组幼体所需时间最长,沙子处理组次之,蛭石处理组最短。以上结果

表明,蛭石作为孵化介质时孵出的幼体的运动表现最好,即幼体重最好。

3 讨论

黄喉拟水龟产卵后没有护卵行为^[8],孵化介质在卵孵化过程中可以保护卵,维持孵化温度与湿度的相对稳定^[15],适宜的孵化介质对卵孵化有着极其重要的作用。本试验在选择孵化介质时,主要考虑了以下因素:(1)黄喉拟水龟在野外主要将卵产于质地疏松的泥穴中,产卵后亲体扒土将卵掩埋^[18],采用泥土作为孵化介质可以尽量模拟黄喉拟水龟卵野外孵化的状态;(2)沙子是黄喉拟水龟卵人工孵化中采用频率较高的一种孵化

介质^[3]; (3) 蛭石作为孵化介质已应用于其他爬行动物卵孵化研究的试验。因此, 实验选用了这三种物质作为孵化介质。根据国际制土壤质地分类标准和 Kam 等^[13]的研究, 在采用的三种介质中, 蛭石的保温性、保湿性和通透性都要优于泥土和沙子; 而泥土在保温性和保湿性方面优于沙子, 但通透性比沙子差。试验结果显示, 孵化介质显著影响了黄喉拟水龟卵的孵化期、孵化成功率、卵壳出现龟裂的比率和孵出幼体的部分形态特征。

孵化温度不仅影响龟鳖动物的胚胎发育速率^[12], 还会影响幼体的性别^[7]、形态特征和游泳表现^[11]等。在适宜的孵化温度范围内, 孵化温度越高, 代谢速率快, 胚胎发育就越快, 从而可以缩短孵化期^[12]。保温性好的孵化介质可以使入孵卵的孵化温度维持在较为稳定的温度范围, 使卵的胚胎发育速率在整个孵化期内维持在较高的水平, 因此可以缩短孵化期。蛭石处理组的黄喉拟水龟卵的孵化期最短(59.4 ± 0.3) d, 与蛭石具有较好的保温性能相符。有学者认为孵化介质对孵化期没有影响^[9,14], 这可能与他们的试验都是在某一恒定温度下进行有关, 从而导致孵化温度与孵化介质的保温性能没有关系。泥土的保温性比沙子好, 但本实验显示其孵化期长于沙子处理组, 这可能是黄喉拟水龟卵的孵化期不仅受孵化介质保温性的影响, 还受到孵化介质其他性能的影响, 其中孵化介质的通透性可能也是一个重要的影响因素。通透性好的孵化介质, 龟卵与外界交换氧气与二氧化碳的速率较快, 胚胎发育也会维持在较好的状态, 从而缩短了龟卵的孵化期。

孵化介质显著影响了黄喉拟水龟卵的孵化成功率。蛭石组的孵化成功率最高, 为 90%; 沙子组居中, 为 75%; 泥土最低, 只有 40%。孵化成功率的高低可能与介质的通透性有关。在胚胎发育过程中, 卵需要吸取氧气并呼出二氧化碳, 如果孵化介质通透性好, 将有利于入孵卵吸取外界的氧气, 保证胚胎的正常发育。当卵在通透性较差的孵化介质下孵化时, 胚胎发育所需氧气不足, 二氧化碳排出不畅, 这很可能会导致胚胎窒息而死。蛭石的通透性较沙子和泥土都要好, 沙子又比泥土好, 其孵化成功率与此是相一致的。至于沙子组比朱新平等^[3]报道的 84.2% 低的原因, 则是实验设计不同所致。本实验在整个孵化过程中未翻动覆盖卵的沙子, 而朱新平等^[3]报道的却有此操

作。经常翻动覆盖卵的沙子可以改善孵化介质通透性, 这也进一步说明孵化介质通透性的重要性。

在试验中, 我们发现一个有趣的现象, 在三种孵化介质中入孵卵卵壳出现龟裂的比率与孵化时间成负相关, 与孵化成功率成正相关。蛭石组出现龟裂的卵最多, 孵出的幼体较大, 可能与其保湿性较好有关。Miller 等^[20]报道, 在一定湿度范围, 去除卵原始大小的差异后, 孵化介质的保湿性越好, 孵出幼体的个体越大。通常认为幼体个体较大, 其存活下来的机会就越大^[21]。泥土作为孵化介质时孵出的个体最小, 静止不动的个体数最多, 运动能力最差; 蛭石作为孵化介质时孵出个体最大, 运动能力最好; 而沙子作为孵化介质时孵出个体的大小介于两者之间, 其运动能力也介于两者之间。新生幼体运动能力的好坏关系到黄喉拟水龟在自然界的存活几率, 运动能力越好, 则可以更好地躲避外界捕食者的侵袭和捕获食物, 有利于其生存下来。在试验采用的三种孵化介质中, 蛭石最适合黄喉拟水龟的孵化。

综上所述, 不同孵化介质对黄喉拟水龟胚胎发育、孵出幼体形态和运动能力均有一定影响, 因此选择适宜的孵化介质将有助于提高黄喉拟水龟卵的孵化成功率和稚龟的成活率, 有助于黄喉拟水龟养殖业的发展。作为黄喉拟水龟卵的孵化介质, 蛭石是较好的选择。

参考文献:

- [1] 赵尔宓. 中国龟鳖动物的分类与分布研究[J]. 四川动物, 1997, 15(增刊): 1-26.
- [2] 朱新平, 陈永乐, 刘毅辉, 等. 黄喉拟水龟含肉率及肌肉营养成分分析[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(3): 4-7.
- [3] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟的繁殖生物学研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(5): 449-454.
- [4] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 人工饲养对黄喉拟水龟繁殖力的影响[J]. 中国水产科学, 2001, 8(2): 52-54.
- [5] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟雌雄生长及形态差异[J]. 中国水产科学, 2003, 10(5): 434-436.
- [6] 朱新平, 陈永乐, 魏成清. 温度对黄喉拟水龟性别决定的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(2): 620-625.
- [7] 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.
- [8] Packard G C, Packard M J, Miller K, *et al.* Influence of moisture, temperature, and substrate on snapping turtle eggs and embryos [J]. *Ecology*, 1987, 68(4): 983 – 993.
- [9] Packard G C. Water relations of chelonian eggs and embryos, is wetter better [J]. *Am Zool*, 1999, 39: 289 – 303.
- [10] Booth D T. Incubation of rigid-shelled eggs: do hydric conditions matter [J]. *Comp Physiol*, 2002, 172B: 627 – 633.
- [11] Burgess E A, Booth D T, Lanyon J M. Swimming performance of hatching green turtles is affected by incubation temperature [J]. *Coral Reefs*, 2006, 25: 341 – 349.
- [12] 杨振才, 牛翠娟, 孙儒泳. 温度对中华鳖卵孵化和胚胎发育的影响 [J]. *动物学报*, 2002, 48(6): 716 – 724.
- [13] Kam Y C, Ackerman R A. The effect of incubation media on the water exchange of snapping turtle (*Chelydra serpentina*) eggs and hatchlings [J]. *J Comp Physiol B*, 1990, 160: 317 – 324.
- [14] Rauschenberger R H, Trauth S E, Farris J L. Incubation of alligator snapping turtle (*Macrochelys temminckii*) eggs in natural and agricultural soils [J]. *Applied Herpetology*, 2004, 1: 299 – 309.
- [15] Ferguson M W J. The application of embryological studies of alligator farming [J]. *Proc Alligator Production Conf (Gainesville, Florida)*, 1981, 1: 129 – 145.
- [16] Brana F, Ji X. Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcismurslis*) [J]. *J Exp Zool*, 2000, 286: 422 – 433.
- [17] 由文辉, 王培潮, 华 燕. 乌龟卵壳结构的研究 [J]. *华东师范大学学报(自然科学版)*, 1993, (2): 99 – 105.
- [18] 史海涛. 中国的龟类 [J]. *生物学通报*, 2004, 39(5): 13 – 16.
- [19] 杜卫国, 郑荣泉. 不同孵化湿度下的乌龟卵孵化成功率及新生幼体特征 [J]. *动物学报*, 2004, 50(1): 133 – 136.
- [20] Miller K, Packard G C. The influence of substrate water potential during incubation on the metabolism of embryonic snapping turtles (*Chelydra serpentina*) [J]. *Physiological Zoology*, 1992, 65: 172 – 187.
- [21] Tucker J K. Body size and migration of hatchling turtles: inter- and intraspecific comparisons [J]. *Journal of Herpetology*, 2000, 34(4): 541 – 546.

**Effects of three different incubation media on incubation length,
hatching success and hatchling's traits in yellow
pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor)**

GUO Jian-hong^{1,2}, ZHAO Wei-hua², WEI Cheng-qing¹, ZHU Xin-ping¹

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor) is a potential aquaculture target in China. Due to its poor reproduction ability, the hatching success and hatchlings quality are very important in aquaculture. In order to get some data about incubation media benefited with hatching, the effects of three different incubation media (clay, sand and vermiculite) on incubation length, hatching success and hatchling traits in yellow pond turtle have been studied in this paper. The eggs from each nest were divided into three groups and each one received one of three incubation treatments (clay, sand or vermiculite as incubation media). At room temperature, all the viable eggs were buried in media in plastic containers (315 mm × 240 mm × 125 mm) that were covered with a perforated plastic membrane. During the incubation period, water would be added to the media to compensate for small evaporative losses and water absorbed by eggs. The results showed that incubation length, eggs crack ratio, hatching success and hatchling's size (carapace length and width and plastron length and width) were affected significantly by incubation media, and some other traits of hatchlings (body height and mass and tail length) were not. The average duration of incubation in clay, sand and vermiculite was 61.2, 60.9 and 59.4 d, respectively, and the difference is significant ($P < 0.05$). Hatching success were 40%, 75% and 90% for clay, sand and vermiculite treatment respectively. Hatching success and eggs crack ratio were the lowest in clay, and the highest in vermiculite. Carapace width and plastron width of hatchlings from vermiculite were larger than those of hatchlings from sand and clay, and those of hatchlings from clay were the least. The locomotors performance of hatchlings from vermiculite was the best among all treatments. So, vermiculite would be the best incubation medium for yellow pond turtle. The data would be helpful to the turtle aquaculture.

Key words: *Mauremys mutica* Cantor; incubation; medium; hatchlings