

郭捡红,朱新平,赵建,等. 低温处理对黄喉拟水龟胚胎发育的影响[J]. 华南农业大学学报,2014,35(4):114-116.

低温处理对黄喉拟水龟胚胎发育的影响

郭捡红,朱新平,赵建,魏成清,潘德博

(中国水产科学院珠江水产研究所/农业部热带亚热带水产种质资源利用与养殖重点实验室,广东 广州 510380)

摘要:【目的】研究低温对黄喉拟水龟 *Mauremys mutica* 胚胎发育的影响.【方法】将黄喉拟水龟受精卵在 14、18、20℃条件下分别保存 30、60、90 d,然后移至 29℃孵化,测量相关性状.【结果和结论】在 14、18℃条件下,黄喉拟水龟受精卵质量减少,20℃条件下卵质量变化不显著;卵移至 29℃孵化后,质量基本都增加;卵的受精斑随低温保存时间延长而变得模糊,受精斑环带宽度进展受抑制;3个温度处理组均有幼体孵出,孵化成功率低,最高只有 33.33%;在成功孵出幼体的试验组中,卵在 29℃的孵化期随保存温度升高或保存时间延长而缩短,幼体畸形率随保存时间延长而升高.因此,长期暴露在低温条件下,不利于黄喉拟水龟胚胎的发育,甚至会导致其胚胎死亡.

关键词:黄喉拟水龟;低温;胚胎发育

中图分类号:S966.5 文献标志码:A 文章编号:1001-411X(2014)04-0114-03

Effects of low temperature on embryonic development of yellow pond turtle, *Mauremys mutica*

GUO Jianhong, ZHU Xinping, ZHAO Jian, WEI Chengqing, PAN Debo

(Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation of Ministry of Agriculture, Guangzhou 510380, China)

Abstract:【Objective】To study the effects of low temperature on embryonic development of yellow pond turtle *Mauremys mutica*. 【Method】Eggs of *M. mutica* were stored in vermiculite with a water potential of -150 kPa at 14, 18, 20℃ for 30, 60 and 90 days respectively, and then were incubated at 29℃ with the same water potential. The characters correlated to embryonic development were measured. 【Result and conclusion】All eggs lost mass after being stored at 14, 18℃, but there was no difference at 20℃. The eggs which were incubated at 29℃ increased in mass. There were hatchlings at three temperature treatments. The hatching success rates were very low, with the highest hatching success rate being 33.33%. The incubation period at 29℃ of all treatments which hatched out successfully decreased with storage temperature rising and time increasing. Abnormality ratio increased with the storage period extending at low temperatures. The results suggested that embryonic development of yellow pond turtle would be influenced or even die if it was exposed to low temperatures for a long time.

Key words: *Mauremys mutica*; low temperature; embryonic development

收稿日期:2013-02-25 优先出版时间:2014-06-03
优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2014.04.021.html>
作者简介:郭捡红(1978—),女,助理研究员,硕士,E-mail: guojianhon@yahoo.com.cn;通信作者:朱新平(1964—),男,研究员,博士,E-mail: zhuxinping_1964@163.com
基金项目:国家农业科技成果转化资金项目(2011GB23260021);中国水产科学研究院院级基本科研业务费专项(2012A0403);广州市珠江科技新星专项(2012089)

黄喉拟水龟 *Mauremys mutica* 隶属龟鳖目 Testudines地龟科 Geoemydidae 拟水龟属 *Mauremys*, 主要分布于东亚和东南亚,也是我国南方常见的水产养殖品种^[1]. 黄喉拟水龟每年4—8月份产卵,为刚性卵^[2]. 自然状态下,母龟在沙土中产卵将其掩埋后离开,无孵卵和护幼行为^[3]. 在黄喉拟水龟养殖生物学研究中发现,室内自然温度下,前一年在沙堆中产的卵可以在来年春季自然孵出幼体. 这预示着适度的低温可以延缓龟的胚胎发育. 本研究探讨龟卵经过一段时期低温保存是否可以孵出幼体,以及低温对胚胎发育的影响程度.

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

黄喉拟水龟卵取自中国水产科学研究院珠江水产研究所龟类繁育试验场. JJ100 型精密电子天平购自常熟热大杰测试仪器厂;游标卡尺购自上海台海工量具有限公司;LRH-150F 型生化培养箱购自上海一恒科技公司.

1.2 试验方法

试验卵于产卵当日收集,经可孵性鉴别(有无乳白色受精斑),用 JJ100 型精密电子天平称质量、游标卡尺测量相关性状并编号,移入长×宽×高规格为 315 mm×240 mm×125 mm 内含蛭石的塑料孵化盒中. 试验设置 14、18、20 ℃ 共 3 个温度,每个温度处理组 45 枚受精卵.

试验方法参照文献[4]. 14 ℃ 处理组的 45 枚受精卵分为试验组 1、2、3,每组 15 枚卵,在 14 ℃ LRH-150F 型生化培养箱中分别孵化 30、60 和 90 d,然后

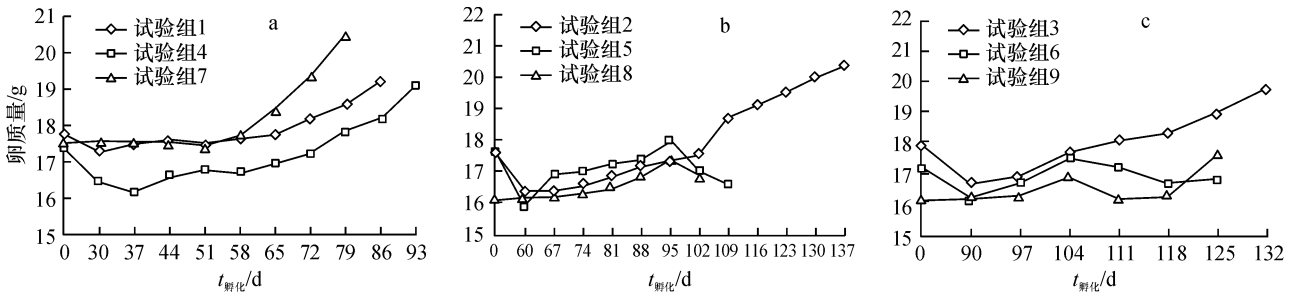
移至 29 ℃ 生化培养箱中孵化直至孵出幼体;18 ℃ 处理组分为试验组 4、5、6,分别孵化 30、60 和 90 d 后在 29 ℃ 孵化直至孵出幼体;20 ℃ 处理组分为试验组 7、8、9,分别孵化 30、60 和 90 d 后在 29 ℃ 孵化直至孵出幼体.

孵化湿度设置为 -150 kPa,由于蛭石与水以质量比 1:0.89 配成,孵化方法按文献^[5]操作. 卵入孵后,每 7 d 称质量,测量卵短径和受精斑宽,直至卵破壳或胚胎死亡. 幼体孵出后收集并记录孵出幼体中畸形的个数. 所有试验数据用 SPSS 20.0 处理,进行双因素方差分析.

2 结果与分析

2.1 低温处理对入孵卵质量的影响

对本试验受精卵 9 个试验组初始质量(图 1)进行双因素方差分析,发现 3 个温度处理组间存在显著差异($P < 0.05$),3 个保存时间组差异不显著($P > 0.05$),所以将初始质量作为协方差变量以去除初始质量的影响. 试验组 1、2、3、4、5、6 的入孵卵在低温处理过程中均表现为质量减少,而试验组 7、8、9 的卵质量变化不显著,经双因素方差分析,去除初始质量影响,14 与 18 ℃ 间无显著差异($P > 0.05$),但两者与 20 ℃ 间均差异极显著($P < 0.01$);保存时间中,30 与 60 d 之间差异显著($P < 0.05$),其他组间差异不显著($P > 0.05$). 温度与保存时间之间协同效应不显著($P > 0.05$). 转移至 29 ℃ 孵化后,试验组 1、2、3、4 均表现为增质量,试验组 5、6、8、9 在前期表现为增质量,中后期表现为减质量,试验组 7 前期表现为减质量,中后期表现为增质量.



a、b、c 分别表示孵化 30、60、90 d 后再移至 29 ℃ 孵化;试验组 1、2、3 为 14 ℃ 处理组,4、5、6 为 18 ℃ 处理组,7、8、9 为 20 ℃ 处理组.

图 1 试验组孵化过程中卵质量变化

Fig.1 Egg mass changes of test groups during incubation

2.2 低温处理对受精斑变化的影响

据观察,卵受精斑随着低温保存时间的延长而变得模糊,受精斑环带宽度的变化在低温条件下明显受到抑制. 在 14 ℃ 保存温度下,卵受精斑环带平均只增长了 8%,且受精斑环带均未绕卵短径合

拢,与低温保存时间的长短没有显著的关系. 在 18 ℃ 条件下,卵受精斑环带平均增长了 45%,部分卵受精斑环带绕卵短径合拢. 20 ℃ 条件下,卵受精斑环带平均增长了 36%,部分卵受精斑环带绕卵短径合拢.

2.3 低温处理对孵化期、孵化成功率和畸形率的影响

低温处理对孵化期、孵化成功率和幼体畸形率影响结果见表 1. 3 个温度试验组中均有幼体孵出, 14、18 ℃ 只有保存 30 d 的试验组 1、4 成功孵出幼体. 20 ℃ 的试验组 7、8、9 都有幼体孵出. 总体孵化成功率低, 最高只有 33.33%.

表 1 不同保存温度下黄喉拟水龟卵的孵化期、孵化成功率及畸形率

Tab. 1 Incubation length, hatching success and abnormality ratio of *Mauremys mutica* eggs incubated with different treatments

$\theta/^\circ\text{C}$	$t_{\text{孵化}}^1/\text{d}$	孵化期 ^{2)/d}	孵化成功率/%	畸形率/%
14	30(1)	100.5	13.33	50
	60(2)	...	0	
	90(3)	...	0	
18	30(4)	100.4	33.33	0
	60(5)	...	0	
	90(6)	...	0	
20	30(7)	88.25	26.67	25
	60(8)	110.5	13.33	50
	90(9)	134	6.67	100

1) 括号内为试验组编号, $n = 15$; 2) 孵化期由 $t_{\text{孵化}}$ 加上 29 ℃ 孵化的时间组成, “...”表示未孵出.

在成功孵出幼体的试验组中, 卵在 29 ℃ 时的孵化时间随着保存温度的升高或保存时间的延长而缩短. 孵出幼体的畸形率也随着低温保存时间的延长而升高.

3 讨论与结论

14、18 ℃ 条件下, 黄喉拟水龟卵胚胎发育停滞, 水分被动蒸发或者其他原因造成卵质量减少. 20 ℃ 时, 胚胎发育停滞, 但仍然维持一定的代谢, 这可从它们转移到 29 ℃ 后孵化期较短的结果中推测出来, 而这种代谢速率保证了卵质量的基本恒定. 而有些低温保存后可以继续发育的龟卵如宽甲长颈龟 *Chelodina expansa* 卵置于 18 ℃ 保存 97 d, 其卵质量也无显著变化^[4]. 在自然温度下, 受精卵出现受精斑后会一直增长, 其增长与胚胎发育、孵化时间呈对应关系, 随着胚胎的发育, 受精斑会绕卵短径 1 周^[6-7]. 本研究中, 卵受精斑在低温保存后变得模糊, 这预示胚胎发育进程受到较大影响, 严重时会造成胚胎的死亡. 黄喉拟水龟卵保存温度越低、保存时间越长, 其孵化成功率越低. 而低温对宽甲长颈龟的孵化成功率并无影响^[4], 锦龟 *Chrysemys picta* 刚产的卵置于接

近 0 ℃ 下保存 30 d 后, 转移至室温仍能正常发育, 不同时期的胚胎其冷耐受力也不同, 已经有 8 个体节的鳄龟 *Chelydra serpentina* 胚胎在 10 ℃ 条件下停留几个星期后, 转移至 30 ℃ 条件下也能正常孵出幼体, 而在 15 ℃ 条件下停留 3 个星期后即变成畸形胚胎^[8]. 这说明不同物种其胚胎对温度的耐受性是不一样的^[9]. 在 14、18 ℃ 保存 30 d 后, 转入 29 ℃ 孵化, 两者的孵化期几乎一样, 分别为 70.5 和 70.4 d, 与恒温 29 ℃ 条件下的孵化期(69.4 d)^[6]接近, 说明黄喉拟水龟卵在 14 和 18 ℃ 低温处理阶段, 其胚胎发育受低温影响而停滞. 20 ℃ 保存的胚胎发育有较缓慢的进程, 因为它们在 29 ℃ 条件下具有较短的孵化期, 而且孵化期随着保存时间的延长而缩短. 本研究结果表明, 低温对黄喉拟水龟胚胎发育影响较大, 而这种影响往往是致死的. 因此在养殖生产上, 要尽量给龟卵提供合适的温度, 以保证胚胎的正常发育.

参考文献:

[1] 朱新平, 陈永乐, 陈昆慈, 等. 淡水龟高效养殖技术一本通[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 15-20.

[2] 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): 449-453.

[3] 赵伟华, 魏成清, 郭捡红, 等. 黄喉拟水龟产卵行为的观察[J]. 动物学杂志, 2008, 43(4): 92-96.

[4] BOOTH D T. The breaking of diapause in embryonic broad-shelled river turtles (*Chelodina expansa*) [J]. J Herpetol, 2002, 36(2): 304-307.

[5] 郭捡红, 朱新平, 赵伟华, 等. 温度、湿度对黄喉拟水龟胚胎发育的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(1): 215-220.

[6] ZHU Xinping, WEI Chenqing, ZHAO Weihua, et al. Effects of incubation temperatures on embryonic development in Asian yellow pond turtle [J]. Aquaculture, 2006, 259(1/2/3/4): 243-248.

[7] WOURMS J P. The developmental biology of annual fishes. III. pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes [J]. J Exp Zool, 1972, 182(3): 389-414.

[8] YNTEMA C L. Effects of various temperatures on the embryonic development of *Chelydra serpentina* [J]. Anat Rec, 1960, 136: 305-306.

[9] DEEMING D C, FERGUSON M W J. Egg incubation: Its effects on embryonic development in birds and reptiles [M]. Great Britain: Cambridge University Press, 1991: 173-191.

【责任编辑 霍 欢】