



# 浙江龙王山安吉小鲵的产卵场 微生境选择与卵孵化的影响因素

汪贤挺<sup>1#</sup>, 黄镇杨<sup>2,3#</sup>, 郎泽东<sup>1</sup>, 周亚楠<sup>4</sup>,  
刘宝权<sup>5</sup>, 魏平凡<sup>2</sup>, 陈进民<sup>4</sup>, 袁智勇<sup>3\*</sup>

- (1. 安吉小鲵国家级自然保护区管理中心, 湖州, 313000;  
2. 西南林业大学云南省高校极小种群野生动物保育重点实验室, 昆明, 650233;  
3. 西南大学生命科学学院, 重庆, 400715;  
4. 安徽师范大学生命科学学院, 芜湖, 241000;  
5. 浙江省森林资源监测中心, 杭州, 310020)

## 稿件运行过程

收稿日期: 2024-07-11

修回日期: 2024-10-09



关键词: 小鲵属;

微生境选择;

产卵位点;

有尾目

Keywords: *Hynobius*;

Microhabitat selection;

Oviposition sites;

Caudata

中图分类号: Q958.1

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0819-11

DOI: 10.12375/ysdwx.20240415

## 摘要

全球两栖动物种群的急剧衰退已成为保护生物学领域的一个核心问题。产卵场选择是两栖动物生活史中至关重要的过程,受到多种环境因素的影响,直接关系到后代的存活率和亲本的适合度。安吉小鲵(*Hynobius amjiensis*)为国家一级重点保护野生动物,分布范围狭窄、种群数量极少,目前缺乏对该物种产卵场微生境选择的相关研究。2023年11月—2024年3月,本研究团队在浙江安吉小鲵国家级自然保护区内的14个潜在繁殖池监测了安吉小鲵的产卵和孵化过程,并采用主成分分析和广义相加混合模型分析了该物种产卵场选择偏好、卵孵化成功率以及孵化时长等主要影响因素。结果表明:安吉小鲵依据多种环境因子选择筑巢地点,其中,在繁殖池内的相对位置(水体深度、距水面距离、距岸边距离)和繁殖池水质(水体pH、水体溶解性总固体、水体氧含量)是影响安吉小鲵产卵场微生境选择的关键因素;水体温度、水体氧含量和水深等对卵孵化率具有显著影响;卵孵化时长显著受到水体温度和pH的影响。研究结果揭示了安吉小鲵对繁殖场的选择偏好,可为安吉小鲵种群的复壮提供数据支持。

基金项目: 安吉小鲵国家级自然保护区管理中心项目(TCGK2023-007)

第一作者简介: 汪贤挺(1981—),男,林业工程师;主要从事自然保护区管理和野生动植物的保护与利用研究。E-mail: 7588480@qq.com

\*共同第一作者: 汪贤挺; 黄镇杨

\*通信作者: 袁智勇, E-mail: yuanchiyongkiz@126.com

## The Microhabitat Selection of Oviposition Sites and Factors in Egg Hatching of *Hynobius amjiensis* in Longwang Mountain, Zhejiang Province

WANG Xianting<sup>1#</sup>, HUANG Zhenyang<sup>2,3#</sup>, LANG Zedong<sup>1</sup>, ZHOU Yanan<sup>4</sup>,  
LIU Baoquan<sup>5</sup>, WEI Pingfan<sup>2</sup>, CHEN Jinmin<sup>4</sup>, YUAN Zhiyong<sup>3\*</sup>

(1. Anji Salamander National Nature Reserve Management Center, Huzhou, 313000, China;

2. Key Laboratory of Conservation of Extremely Small Populations of Wildlife in Yunnan Universities, Southwest Forestry University, Kunming, 650233, China;

3. College of Life Sciences, Southwest University, Chongqing, 400715, China;

4. College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu, 241000, China;

5. Zhejiang Forest Resource Monitoring Center, Hangzhou, 310020, China)

**Abstract:** The dramatic decline of the global amphibian population has become a key issue in conservation biology. Oviposition site selection is a crucial process in the life history of amphibians, which is strongly affected by a range of environmental factors. The process directly affects the survival of offspring and the fitness of parents, which in turn impacts the conservation of endangered amphibians. *Hynobius amjiensis*, a national level I protected wild animal, has a narrow distribution range and a very small population size. Currently, there has been a lack of research on the microhabitat selection of oviposition sites. From November 2023 to March 2024, we monitored the oviposition and hatching conditions of *H. amjiensis* in the only 14 potential breeding pools within the Anji Salamander National Nature Reserve, Zhejiang Province. Using principal component analysis and generalized additive mixed models, we investigated the main factors of the oviposition site preference, egg hatching success rate, and hatching duration of *H. amjiensis*. The results indicate that *H. amjiensis* selects nesting sites based on various environmental factors. Among these, the relative position within the breeding pond (water depth, distance from the water surface, and distance from the shore) and the water quality of the breeding pond (water pH, total dissolved solids, and oxygen content) are key factors affecting the microhabitat selection for *H. amjiensis* spawning sites. The water temperature, oxygen content, and depth of the water have significant impacts on the hatching success rate of egg; the hatching duration of egg is significantly influenced by water temperature, pH levels, and surface humidity. The study reveals the reproductive site selection preferences of *H. amjiensis* for the first time and provides fundamental data for the conservation measures for the species.

目前,全球正经历生物多样性丧失和第六次物种大灭绝,物种的灭绝率比历史已知的物种背景灭绝率高8~100倍,全球生物多样性的持续下降是21世纪人类面临的最为严峻的挑战之一<sup>[1-2]</sup>。尽管这个问题已经引起了各国科学家们的广泛关注,但在过去的几十年里,物种濒危的趋势仍没有得到有效缓解<sup>[3]</sup>。特别是两栖类,其48%的物种被评估为受威胁物种,已然成为受威胁程度最高的脊椎动物类群之一<sup>[4-5]</sup>。两栖类具有复杂的生活史,其生命周期中

的不同阶段对环境的需求有所不同,掌握两栖类,特别是濒危两栖类物种基本的生活史信息可为其保护管理提供重要的科学依据<sup>[6-7]</sup>。

繁殖是两栖类生活史中最为重要的一个环节,产卵场微生境不仅影响亲本的适合度,也决定胚胎的孵化成功率和后代存活率<sup>[8-9]</sup>。大多数两栖动物都是卵生,常缺少亲本的照顾,整个胚胎发育过程暴露在外部环境中,极易受到环境条件变化带来的不利影响<sup>[10]</sup>。因此,为了提高繁

殖成功率,成体在产卵前会评估并选择最佳的产卵场微生境<sup>[11-14]</sup>。两栖动物通常根据繁殖微环境中的非生物因素来选择产卵场地,包括物理特征(如池塘表面积<sup>[15]</sup>、水深<sup>[16-17]</sup>、水体温度<sup>[18]</sup>)、化学特性(如pH<sup>[19]</sup>、溶解氧)等。掌握两栖类产卵场微生境选择偏好对于濒危两栖类物种的保护至关重要。

安吉小鲵(*Hynobius amjiensis*)隶属于两栖纲(Amphibia)有尾目(Caudata)小鲵科(Hynobiidae)小鲵属(*Hynobius*),在中国仅在十分狭窄的3个区域有所分布,即浙江安吉小鲵国家级自然保护区、浙江清凉峰国家级自然保护区和安徽清凉峰国家级自然保护区<sup>[20-21]</sup>。由于安吉小鲵种群稀少,成活率低,加上其栖息地面积和质量的持续衰退,该物种被IUCN濒危物种红色名录评估为濒危(EN)等级<sup>[22]</sup>,并在2021年3月发布的《国家重点保护野生动物名录》中被列为国家一级重点保护野生动物<sup>[23]</sup>。安吉小鲵一般生活在富含泥炭藓腐殖质的沼泽地中<sup>[24]</sup>。前期研究初步表明,安吉小鲵的繁殖期大致为每年11月下旬一次年4月<sup>[24-25]</sup>,每只雌鲵产1条卵袋并将其粘在水坑边的枯枝和水草上。然而,安吉小鲵如何选择产卵场微生境,具体涉及到哪些环境因素,目前仍不清楚。浙江安吉小鲵国家级自然保护区为安吉小鲵的模式产地<sup>[26]</sup>,对于安吉小鲵的繁殖生态学研究及其保护工作具有重要意义。

由于安吉小鲵种群数量少、规模小和生存压力大等原因,迫切需要对已发现的种群进行更为详细的产卵场选择研究,明确影响安吉小鲵繁殖成功率的关键因素,提出相应的保护建议,以提升该物种保护的有效性。本研究旨在调查安吉小鲵产卵场微生境的环境变量,进一步量化评估该物种对繁殖场的选择偏好,为保护、改造和重建安吉小鲵自然繁殖生境提供科学依据。同时,通过建立模型确定影响安吉小鲵孵化成功率以及孵化时长的主要因素,从而为安吉小鲵种群的复壮提供数据支持。

## 1 研究方法

### 1.1 调查地点

浙江安吉小鲵国家级自然保护区(图1A)地处浙江省西北部安吉县境内(30°22'32"—30°25'12" N, 119°23'48"—119°26'38" E),总面积1 242.5 hm<sup>2</sup>,属于森林和野生动物类型的自然保护区,生物多样性

十分丰富<sup>[21]</sup>。保护区坐落在天目山脉北麓的龙王山区域,是西苕溪和太湖的重要水源地,其主峰为浙北地区的第一高峰,海拔1 587.4 m。区内共有维管植物1 478种、脊椎动物278种和昆虫1 740种,其中国家重点保护野生动植物一级12种、二级72种<sup>[27]</sup>,是浙江省乃至我国东部亚热带北缘及长三角地区生物多样性最为丰富的区域之一。

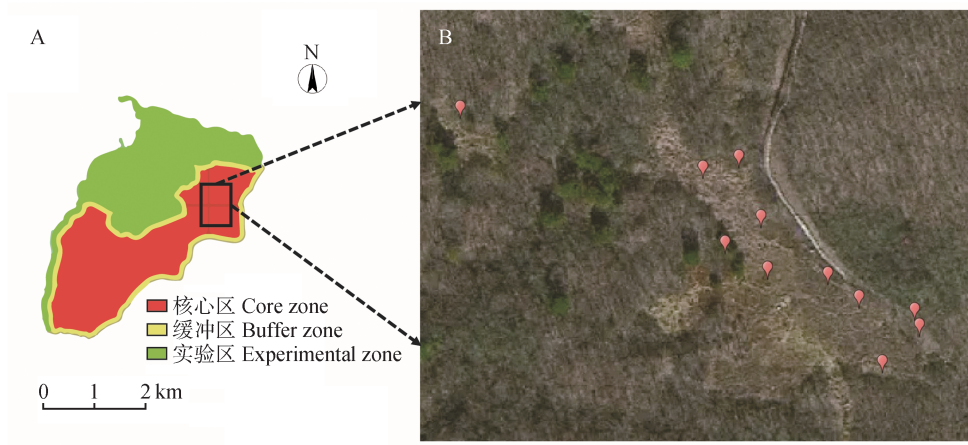
### 1.2 野外调查

本研究调查的安吉小鲵繁殖生境区域为海拔约1 300 m的山顶沟谷处沼泽地(图1B),植被繁茂,水坑散布,每个水坑水深50~100 cm。该区域为保护区的核心区,可排除人为活动干扰。在2023年11月,研究人员首先对湿地中安吉小鲵的繁殖场生境进行了全面调查,记录了潜在繁殖池的位置信息,并每隔2~3 d对其进行复查,将发现有卵袋的水池标记为繁殖样方。随后,实时记录新发现卵袋的发育状态(包括存活、死亡、发霉、干瘪)以及窝卵数,并于每天12:00—16:00完成微生境因子的测量和描述工作,包括每个繁殖池的情况(面积、水体基质类型、水位特征)和每条卵袋的微生境信息<sup>[15,17-18]</sup>(水体情况、位置信息、卵袋信息),测量指标及方法见表1。此外,为了确定卵袋的最终孵化率,研究团队跟踪记录每条卵袋内卵的发育情况。正常发育的胚胎呈透明状,可清晰观察到其内部结构;坏死的胚胎则形态不完整,并呈现白色浑浊的外观。每天记录1次坏死卵粒的数量,具体测量指标以及方法见表2。

### 1.3 数据分析

#### 1.3.1 环境因素选择偏好

由于安吉小鲵的卵袋通常产在水体中,因此后续研究主要集中于水体及其相关位置的实测微生境因子,同时关注地表上的温度和湿度条件。其他描述性的微环境因子仅用于频率统计分析,并未进行相关性分析。为了探究主导安吉小鲵产卵场选择的影响因素,采用主成分分析法(principal components analysis, PCA)对繁殖场各环境因子分别进行分析。计算喜好系数( $P^*$ )<sup>[28]</sup>,以判断安吉小鲵对不同生境因子的选择性,其计算公式为 $P^* = (o - e) / (o + e)$ ,式中: $o$ 为观察值, $e$ 为期望值。 $P^*$ 的取值为 $[-1, 1]$ ,其中, $-1 < P^* < 0$ 表示不选择(NS), $P^*$ 接近0表示随机选择(RS), $0 < P^* < 1$ 表示选择(S)。



A. 浙江安吉小鲵国家级自然保护区; B. 安吉小鲵核心保护区繁殖坑位点。  
 A. Anji Salamander National Nature Reserve, Zhejiang Province; B. Breeding pit site of *Hynobius amjiensis* in the core zone.

图1 安吉小鲵研究位点

Fig. 1 Research sites for *Hynobius amjiensis*

表1 安吉小鲵产卵场微生境因子测量方法

Tab. 1 Measurement methods for microhabitat of *Hynobius amjiensis* oviposition sites

类别 Categories	变量 Variables	测量方法 Measurement methods
繁殖池 Breeding pool	面积	实测估计值,取近似长方形的面积,用钢尺随机测量繁殖池的最大长度和最大宽度,两者相乘得到面积
	基质类型	描述性,根据样方所在地水体基质分类,划分为:①淤泥(粒径非常小,质地细腻,容易被水流带动),②细沙(粒径较小,沉积在水底时呈现均匀的沙层),③碎石(粒径较大,通常是由较小的岩石碎片组成),④石块(粒径较大,形状不规则,通常较重,难以移动),⑤枯枝落叶(由植物残骸组成,通常较轻,呈现出显著的有机质特征)
	最低水位	实测值,繁殖池最浅位置的水体深度,用钢尺随机测量3次取平均值
	最高水位	实测值,繁殖池最深位置的水体深度,用钢尺随机测量3次取平均值
	地表温度	实测值,用便携式温度计测定繁殖池地面的温度
	地表湿度	实测值,用便携式湿度计测定繁殖池地面的湿度
水体 Water	水体pH	实测值,用便携式pH仪测定离卵袋中心最近水体的酸碱度
	水体导电率	实测值,用便携式导电仪测定卵袋中心最近水体的导电率
	水体溶解性总固体(水体TDS)	实测值,用便携式TDS仪测定卵袋中心最近水体的TDS
	水体温度	实测值,用便携式水温仪测定离卵袋中心最近水体的温度
	水体氧含量	实测值,用便携式氧含量仪测定离卵袋中心最近水体的氧气含量
位置 Location	水体深度	实测值,距离卵袋中心最近水体深度,用钢尺随机测量3次取平均值
	卵袋位置	描述性,卵袋在繁殖池的位置,划分为:①水底,②水中,③近水面,④水面
	距水底距离	实测值,卵袋中心距水体底部的距离,用钢尺随机测量3次取平均值
	距水面距离	实测值,卵袋中心距水体表面的距离,用钢尺随机测量3次取平均值(安吉小鲵均在水面以及水面以下产卵)
	距岸边距离	实测值,卵袋中心距繁殖池边缘的最近水平距离,用钢尺随机测量3次取平均值

表2 安吉小鲵卵袋测量方法

Tab. 2 Measurement methods for egg of *Hynobius amjiensis*

变量 Variables	测量方法 Measurement methods
卵袋附着物 Egg sac attachment	描述性,卵袋附着的物体,划分为:①植物根茎,②植物叶片,③塑料袋等其他
卵袋长度 Egg sac length	实测值,人为将卵带拉直,用钢尺随机测量卵袋两端的直线距离,测量3次取平均值
卵袋宽度 Egg sac width	实测值,卵袋最宽位置的长度,用钢尺随机测量3次取平均值
窝卵数 Clutch size	实测值,人为计数卵袋内的卵粒数目

### 1.3.2 卵孵化影响因素

为了量化不同预测变量与卵孵化成功率之间的关系,使用广义相加混合模型(generalized additive mixed model, GAMM)检验水体pH、水体导电率、水体TDS、水体温度、水体氧含量、水体深度、卵袋距水面距离和卵袋距岸边距离等因子对于孵化率的影响,并将繁殖池编号作为随机截距(以控制不同繁殖池之间的随机效应)。从一个完整模型开始,该模型以卵孵化成功率作为应变变量,并包括1个平滑的固定效应,即繁殖池编号。根据皮尔逊等级相关分析,所有预测变量不存在高度共线性,相关系数均 $< 0.8$ 。为了提升后续建模的准确性,本研究在建模之前对所有因子都进行了标准化处理。使用限制最大似然法拟合所有模型,并根据Akaike信息准则(AIC)理论方法对所有候选模型进行排序。包含13个预测变量的所有可能组合的模型(总计2 048个模型)被排序,与最佳模型相比 $\Delta AIC \leq 2$ 的模型被认为是高度支持的<sup>[29]</sup>。然后,根据 $\Delta AIC$ 最小的模型方程建立唯一的最优模型。最后,根据最优模型的结果分析主要影响因子。为了减少过拟合的风险,使用十折交叉验证<sup>[30]</sup>对模型的泛化能力进行评估。另外,使用相同方法探究不同环境变量与孵化时长之间的关系。

所有连续变量数据均采用“平均值 $\pm$ 标准误”表示。所有分析均在R 4.3.2<sup>[31]</sup>中的gam4、mgcv、vis-reg、dplyr和MuMIn软件包中进行。

## 2 结果

### 2.1 产卵场微生物因子偏好

2023年11月—2024年3月,共在调查区域发现14个潜在繁殖水池,繁殖水池之间的距离为6.9~107.7 m。繁殖池均为淤泥基底,面积为(6 690.90 $\pm$ 2 082.06) $\text{cm}^2$ ,最低水位为(75.90 $\pm$ 10.31)cm,最高

水位为(97.10 $\pm$ 13.16)cm。但是,只在11个繁殖池内监测到了71个安吉小鲵的卵袋,18.31%(13个)的卵袋产在水面处,5.63%(4个)的卵袋产在近水层表面位置,40.85%(29个)的卵袋产在水层中部,35.21%(25个)卵袋产在水层底部位置,而且74.65%(53个)的卵袋附着在植物根茎上,18.31%(13个)的卵袋未附着任何物体,剩余7.04%(5个)的卵袋附着在塑料袋等人工制品上。每条卵袋的长度为(430.37 $\pm$ 14.36)mm,宽度为(32.98 $\pm$ 0.49)mm。

主成分分析结果显示,水体深度、距水面距离、距岸边距离和水体pH等是影响安吉小鲵繁殖场选择的主要环境因子。安吉小鲵产卵场微生物选择的各主成分的特征值及相应贡献率见表3。前3个主成分特征值均大于1,提取前5个主成分时,累计贡献率达85.90%,说明前5个主成分包含了8个变量指标的主要信息(表3)。对第一主成分影响较大的是水体深度、水体pH和距水底距离,其贡献率为19.43%、18.64%和13.91%,主要反映了安吉小鲵在繁殖池内的产卵位置和卵对水体水质的要求。在第二主成分中,影响较大的是地表温度、水体温度,其贡献率为25.61%、24.48%,主要反映的是安吉小鲵卵发育对温度的依赖性。第三主成分中水体TDS影响较大,其贡献率为44.67%,反映安吉小鲵卵对水体溶解物含量的需求。第四主成分中距水底距离影响较大,其贡献率为28.93%,反映安吉小鲵在繁殖池内的产卵位置。对第五主成分影响较大的是水体氧含量,其贡献率为42.30%,主要反映安吉小鲵卵发育对氧气含量的敏感性(图2)。

安吉小鲵喜好的产卵场生态因子类型见表4:水体pH为6~<7( $P^* = 0.33$ ),水体导电率为9~<28  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ( $P^* = 0.42$ ),水体温度为0~<8  $^{\circ}\text{C}$ ( $P^* = 0.21$ ),地表温度为4~<15  $^{\circ}\text{C}$ ( $P^* = 0.15$ ),地表湿度为75%~<97%( $P^* = 0.23$ ),水体氧含量为7~<



表4 安吉小鲵产卵场微生境偏好

Tab. 4 Microhabitat preferences of the oviposition sites of *Hynobius amjiensis*

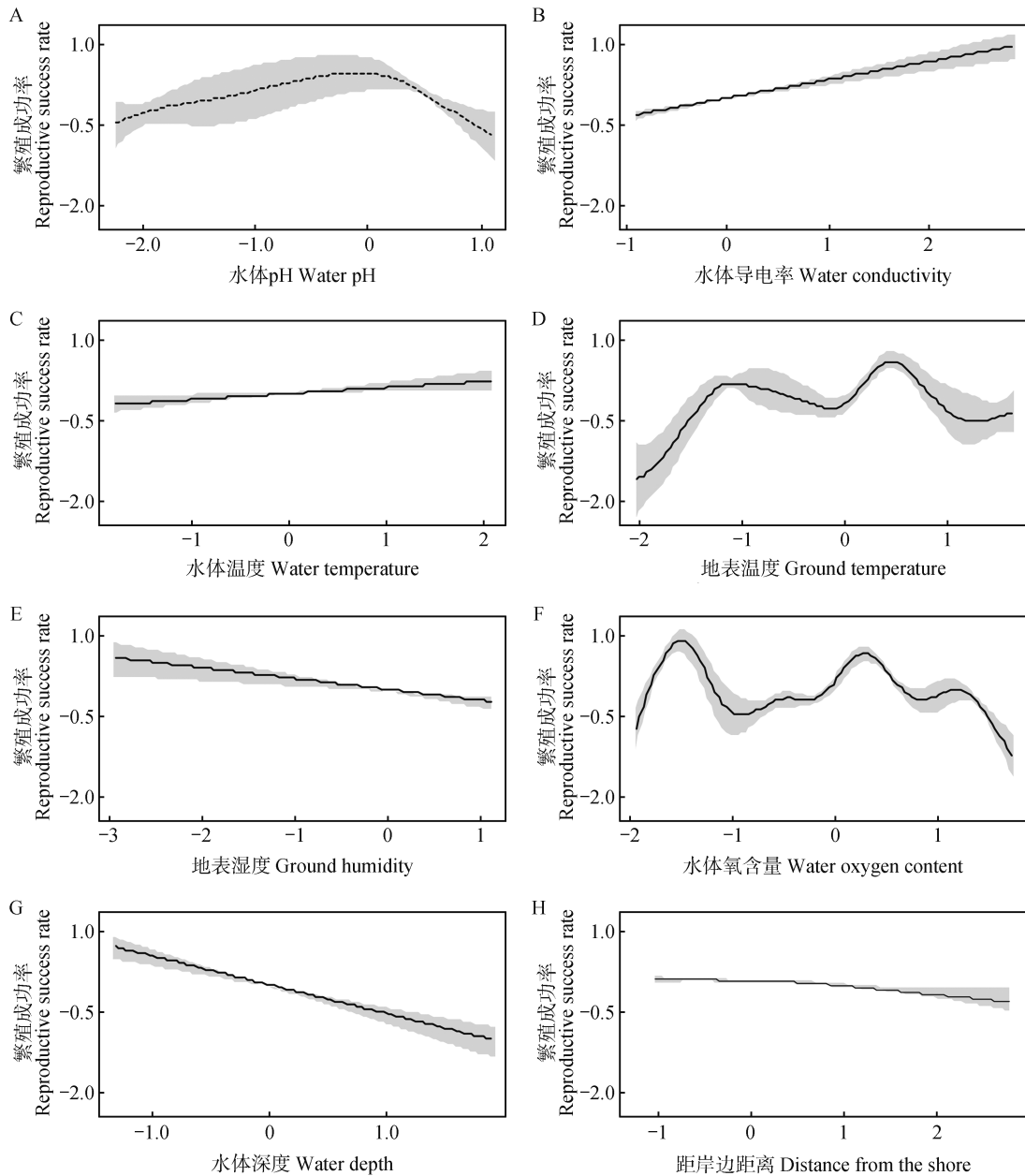
生境因子 Habitat factor	类型 Type	出现频次 Frequency	占比 Percent	喜好系数 $P^*$	选择性 Selection
水体 pH Water pH	4 ~ <6	13	0.18	-0.29	NS
	6 ~ <7	47	0.66	0.33	S
	7 ~ <8	11	0.16	-0.37	NS
水体导电率 Water conductivity	9 ~ <28 $\mu\text{S}/\text{cm}$	58	0.82	0.42	S
	28 ~ <48 $\mu\text{S}/\text{cm}$	8	0.11	-0.49	NS
	48 ~ <68 $\mu\text{S}/\text{cm}$	5	0.07	-0.65	NS
水体 TDS Water TDS	3 ~ <6	24	0.34	0.01	RS
	6 ~ <8	22	0.31	-0.04	RS
	8 ~ <11	25	0.35	0.03	RS
水体温度 Water temperature	0 ~ <8 $^{\circ}\text{C}$	36	0.51	0.21	S
	8 ~ <15 $^{\circ}\text{C}$	27	0.38	0.07	RS
	15 ~ <23 $^{\circ}\text{C}$	8	0.11	-0.49	NS
地表温度 Ground temperature	-6 ~ <4 $^{\circ}\text{C}$	22	0.31	-0.04	RS
	4 ~ <15 $^{\circ}\text{C}$	32	0.45	0.15	S
	15 ~ 26 $^{\circ}\text{C}$	17	0.24	-0.16	NS
地表湿度 Ground humidity	32% ~ <53%	11	0.15	-0.37	NS
	53% ~ <75%	22	0.31	-0.04	RS
	75% ~ <97%	38	0.54	0.23	S
水体氧含量 Water oxygen content	2 ~ <7 mg/L	17	0.24	-0.16	NS
	7 ~ <12 mg/L	38	0.54	0.23	S
	12 ~ <17 mg/L	16	0.22	-0.19	NS
水体深度 Water depth	14 ~ <71 cm	17	0.24	-0.16	NS
	71 ~ <128 cm	32	0.45	0.15	S
	128 ~ <184 cm	22	0.31	-0.04	RS
距水底距离 Distance from the bottom	6 ~ <64 cm	26	0.37	0.05	RS
	64 ~ <122 cm	36	0.50	0.21	S
	122 ~ <180 cm	9	0.13	-0.45	NS
距水面距离 Distance from the surface	0 ~ <44 cm	56	0.79	0.41	S
	44 ~ <87 cm	13	0.18	-0.29	NS
	87 ~ <130 cm	2	0.03	-0.84	NS
距岸边距离 Distance from the shore	4 ~ <26 cm	41	0.58	0.27	S
	26 ~ <48 cm	22	0.31	-0.04	RS
	48 ~ <70 cm	8	0.11	-0.49	NS

注: NS. 不选择; S. 选择; RS. 随机选择。

Note: NS. No selection; S. Selection; RS. Random selection.

模型能够在不同数据子集上保持较好的预测精度。结果表明,繁殖成功率与大多数预测因子显著相关,但水体 pH ( $P = 0.099$ ,图 3)除外。水体导电率、地表温度、水体氧含量、水深、地表湿度和距岸距离对卵孵化率具有极显著影响,水体温度对卵孵化率具有显著影响。导电率 ( $P < 0.001$ ,图 3B)和

水体温度 ( $P < 0.001$ ,图 3C)对卵孵化率表现出正相关。相反,地表湿度 ( $P < 0.001$ ,图 3E)和水深 ( $P < 0.001$ ,图 3G)和距岸边距离 ( $P < 0.001$ ,图 3H)与卵孵化率呈负相关。地表温度 ( $P < 0.001$ ,图 3D)、水体氧气含量 ( $P < 0.001$ ,图 3F)与卵孵化率呈非线性关系。



实线表示具有统计学意义的显著性 ( $P \leq 0.05$ ), 虚线表示无显著性 ( $P > 0.05$ )。灰色区域表示模型拟合的95%置信区间。下同。

Solid lines indicate statistically significant interpretations ( $P \leq 0.05$ ), while dashed lines represent non-significant model fits ( $P > 0.05$ ). The gray area represents the 95% confidence interval of the model fit. The same below.

图3 环境变量对安吉小鲵繁殖成功率的影响

Fig. 3 The impact of environmental variables on the reproductive success rate of *Hynobius amjiensis*

### 2.3 繁殖微生物因子与孵化时长的相关性

在42个卵袋中,有一条卵袋最后沉在水底,其所有的卵均因霉菌感染而死亡。根据剩余41个卵袋孵化时长的监测结果,采用AIC值选择最受支持的模型( $\Delta AIC \leq 2$ )中,有4个变量出现:水体pH、水体温度、地表湿度和 水体深度。在控制了繁殖池的影响

后,以此建立最优模型,模型的调整 $R^2$ 为0.770,解释度为84.0%。结果表明,卵孵化时长与大多数预测因子显著相关,但水体深度( $P = 0.071$ ,图4D)除外。水体温度( $P < 0.001$ ,图4B)与卵孵化时长呈负相关,水体pH( $P < 0.001$ ,图4A)、地表湿度( $P < 0.001$ ,图4C)与卵孵化时长呈非线性关系。

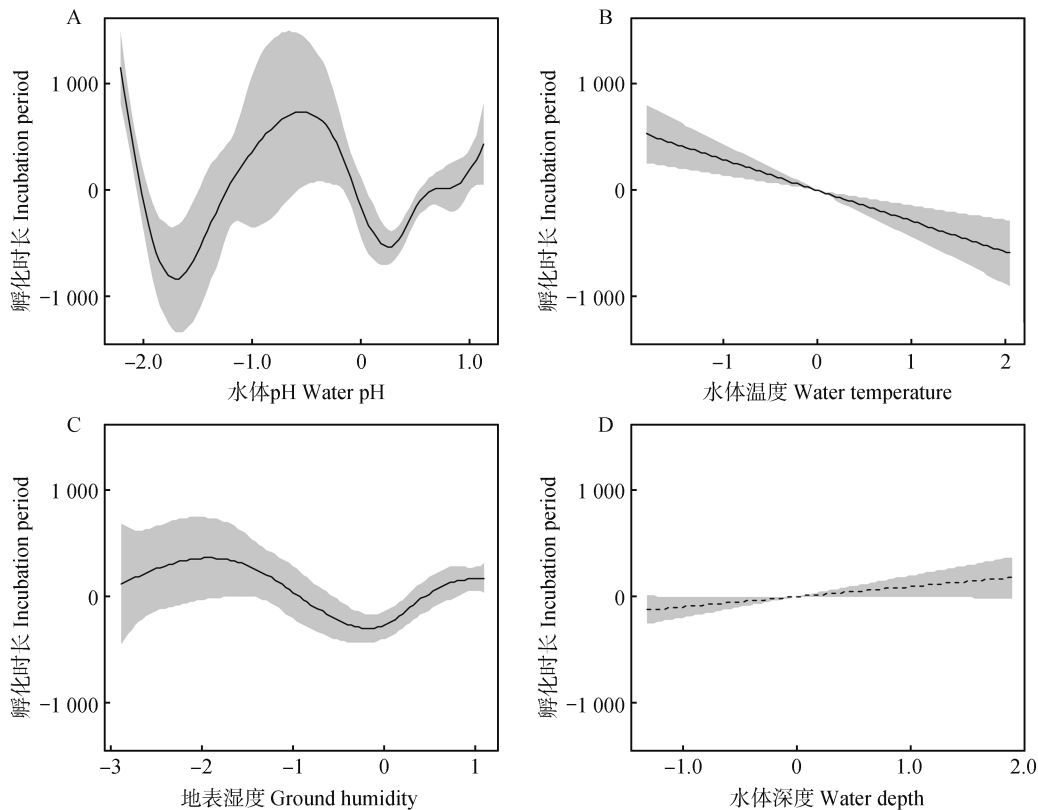


图4 环境变量对安吉小鲵卵孵化时长的影响

Fig. 4 The impact of environmental variables on the incubation period of *Hynobius amjiensis* egg

### 3 讨论

两栖动物生活史具有水生胚胎发育的阶段,只有在受精卵完成孵化长成幼体后才能自由活动,再逐步发育为成体,因此,产卵位置的选择对其亲本以及后代的生存率都影响极大。安吉小鲵在浙江安吉小鲵国家级自然保护区内的栖息地仅限于一块 0.02 km<sup>2</sup> 的高山湿地,本研究共发现 14 个潜在的繁殖池,它们的地形、坡度等环境因子均十分相似。其中 3 个繁殖池内未观察到安吉小鲵的卵袋,这可能是它们距离溪流非常近,仅约 2 m。与之相比,其他 11 个繁殖池与溪流的平均距离则大得多,约为 23 m。繁殖池越靠近溪流,就越容易受到溪水的侵蚀,从而不利于卵的安全孵化。研究团队全程记录了 11 个有卵袋的繁殖池的微生境因子,整理并分析相关数据,最终揭示了安吉小鲵在选择产卵地点时对微生境的偏好性。

安吉小鲵产卵场微生境选择的决定因素,首先是卵袋在繁殖池内的相对位置,其次是水质。主成分分析显示,第一主成分的主要影响因素是水体深度、距水底距离,这些因素反映了卵袋在繁殖池内的

相对位置。在水平方向上,安吉小鲵偏好在繁殖池近岸处产卵,具体而言,产卵区域主要分布在距岸边 4 ~ <26 cm 的范围内 ( $P^* = 0.27$ )。这种分布可能与岸边丰富的植物根茎有关,这些根茎可为卵袋提供大量的附着点。在垂直方向上,安吉小鲵更倾向于选择接近水面的位置产卵,产卵高度通常位于水面下 0 ~ <44 cm ( $P^* = 0.41$ )。这种倾向性可能是近水面区域的含氧量较高,且具有适宜的光照强度,更有利于胚胎的正常发育<sup>[32]</sup>。产卵位置通常位于繁殖池的中部,水体深度为 71 ~ <128 cm ( $P^* = 0.15$ )。此深度属于中等水位,既能确保充足的水量,又有利于氧气的供给。在半永久性或永久性池塘中,两栖类适合的产卵位置可以较好地保证卵始终处于水体环境中而不受干旱的影响,长期的较高水位还可以确保后续幼体的生长和发育<sup>[33]</sup>。同时,安吉小鲵的繁殖池基底均为淤泥,这在旱季也有利于减缓池塘干涸的速度。在调查期间,研究区域的气温骤降至 -17 °C,导致繁殖池面临结冰的风险。安吉小鲵选择在繁殖池水体中央集中产卵的策略,显著降低了卵遭受冰冻的可能性。另一方面,安吉小鲵的产卵场微生境选择还受水质的影响。在第一成分中,水

体pH也是主要影响因素之一。这些因素反映了卵对水体水质的需求,这可能是水质会影响卵孵化率以及后期的幼体发育。例如,安吉小鲵偏好在pH为6~7的水体中集中产卵( $P^* = 0.33$ ),表明这一pH范围是最适宜的。另外,研究团队检测到11个具有卵袋的繁殖池水体pH为4.58~7.30,而已有研究揭示了碱性水体(pH > 7)会增加两栖类早期胚胎的死亡率<sup>[34]</sup>,因此,这些呈现酸性或中性的水体更适合安吉小鲵产卵。

安吉小鲵卵的孵化成功率与孵化时长受到多种环境因素的影响。其中,水体温度可能通过加速卵的孵化速率来提高孵化成功率。水体温度在加速和最大化两栖动物胚胎发育及其存活率中起到关键作用,尤其对于偏好在深且温暖池塘中产卵并孵化后代的蛙类物种来说更是如此<sup>[32]</sup>,如冬季水生繁殖的南方双带河溪螈(*Eurycea cirrigera*)等物种的繁殖地点选择受水体温度影响<sup>[18]</sup>。在本研究中,安吉小鲵卵的孵化成功率与孵化时长均受到水体温度的影响,但呈现完全相反的关系,即水体温度( $P < 0.001$ ,图3C)与卵孵化成功率表现出正相关关系,而与卵孵化时长呈负相关关系( $P < 0.001$ ,图4B)。安吉小鲵在一年中最冷的季节(11月一次年3月)繁殖,而较高的水体温度可以加快胚胎的发育速度,缩短孵化时间,并能影响后代个体的新陈代谢和存活率<sup>[35-36]</sup>。尽管水体pH对卵孵化率没有明显影响,但它与卵的孵化时长显著相关( $P < 0.001$ ,图4A),表现为非线性关系。研究发现,布莱斯河蛙(*Limnonectes blythii*)等物种繁殖地的水体pH显著高于非繁殖地,且随着pH的升高,发现卵块的概率也随之增加<sup>[19]</sup>。这种现象的发生可能是在水体pH为5及以下的酸性环境中,两栖动物的死亡率会有所增加<sup>[37-38]</sup>,因此这类环境不适宜产卵。

本研究表明,水体中的相对位置和水质是影响安吉小鲵产卵场微生境选择的最关键因素,水体导电率、水体温度、水体氧含量、水体深度、地表温度、地表湿度和距岸边距离对卵孵化率具有显著影响,而卵孵化时长受到水体温度、pH以及地表湿度的显著影响。这些发现为提高安吉小鲵繁殖成功率以及制定有效的就地和迁地保护措施提供了重要的数据支持。未来研究将深入探讨安吉小鲵繁殖生态学的其他方面,如影响幼体上岸成功率的因素和生物因素(如捕食者)对产卵场微生境选择的影响等,为安

吉小鲵及其他类似濒危物种的保护工作提供进一步的理论指导。

#### 参考文献:

- [1] CEBALLOS G, EHRLICH P R, BARNOSKY A D, *et al.* Accelerated modern human-induced species losses: entering the sixth mass extinction [J]. *Science Advances*, 2015, 1(5): e1400253.
- [2] CEBALLOS G, EHRLICH P R, DIRZO R. Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(30): E6089-E6096.
- [3] RADA S, SCHWEIGER O, HARPKE A, *et al.* Protected areas do not mitigate biodiversity declines: a case study on butterflies [J]. *Diversity and Distributions*, 2019, 25(2): 217-224.
- [4] PIMM S L, JENKINS C N, ABELL R, *et al.* The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection [J]. *Science*, 2014, 344(6187): 1246752.
- [5] BISHOP P J, ANGULO A, LEWIS J P, *et al.* The amphibian extinction crisis: What will it take to put the action into the Amphibian Conservation Action Plan? [J]. *Sapiens*, 2012, 5(n° 2): 97-111.
- [6] MIMS M C, MOORE C E, SHADLE E J. Threats to aquatic taxa in an arid landscape: knowledge gaps and areas of understanding for amphibians of the American southwest [J]. *WIREs Water*, 2020, 7(4): e1449.
- [7] GUERRA V, JARDIM L, LLUSIA D, *et al.* Knowledge status and trends in description of amphibian species in Brazil [J]. *Ecological Indicators*, 2020, 118: 106754.
- [8] DENOËL M, DALLEUR S, LANGRAND E, *et al.* Dispersal and alternative breeding site fidelity strategies in an amphibian [J]. *Ecography*, 2018, 41(9): 1543-1555.
- [9] CAYUELA H, VALENZUELA-SÁNCHEZ A, TEULIER L, *et al.* Determinants and consequences of dispersal in vertebrates with complex life cycles: a review of pond-breeding amphibians [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 2020, 95(1): 1-36.
- [10] VÁGI B, SZÉKELY T. Diversity of reproductive strategies in the amphibia [M]//MORENO-RUEDA G, COMAS M. *Evolutionary ecology of amphibians*. Boca Raton: CRC Press, 2023: 158-174.
- [11] RUDOLF V H W, RÖDEL M O. Oviposition site selection in a complex and variable environment: the role of habitat quality and conspecific cues [J]. *Oecologia*, 2005, 142(2): 316-325.
- [12] GOULD J, CLULOW J, RIPPON P, *et al.* Complex trade-offs in oviposition site selection in a cannibalistic frog [J]. *Animal Behaviour*, 2021, 175: 75-86.
- [13] KŁOSKOWSKI J. Better desiccated than eaten by fish: distribution of anurans among habitats with different risks to offspring [J]. *Freshwater Biology*, 2020, 65(12): 2124-2134.
- [14] SÁNCHEZ-OCHOA D J, PÉREZ-MENDOZA H A, CHARRUAU P. Oviposition site selection and conservation insights of two tree frogs (*Agalychnis moreletii* and *A. callidryas*) [J]. *South*

- American Journal of Herpetology, 2020, 17(1): 17–28.
- [15] MILLIKIN A R, COSTER S S, WELSH A B, *et al.* Pool age and local habitat are associated with effective number of breeders in spotted salamander populations colonizing created vernal pools [J]. *Diversity*, 2023, 15(2): 124.
- [16] LIND A J, WELSH H H, WHEELER C A, Jr. Foothill yellow-legged frog (*Rana boylei*) oviposition site choice at multiple spatial scales [J]. *Journal of Herpetology*, 2016, 50(2): 263–270.
- [17] KERN M M, NASSAR A A, GUZY J C, *et al.* Oviposition site selection by spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*) in an isolated wetland [J]. *Journal of Herpetology*, 2013, 47(3): 445–449.
- [18] OSWALD H R, WALDRON J L, WELCH S M, *et al.* Environmental effects on southern two-lined salamander (*Eurycea cirrigera*) nest-site selection [J]. *Copeia*, 2015, 103(1): 7–13.
- [19] SRIDHAR V V, BICKFORD D. Oviposition site selection in the Malayan giant frog (*Limnectes blythii*) in Singapore: conservation implications [J]. *Asian Herpetological Research*, 2015, 6(3): 184–188.
- [20] 李永民, 吴孝友, 方国富, 等. 安徽发现安吉小鲵 [J]. *动物学杂志*, 2013, 48(4): 526–528.
- LI Y M, WU X Y, FANG G F, *et al.* *Hynobius amjiensis* found in Anhui Province, China [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2013, 48(4): 526–528.
- [21] 俞立鹏, 汪贤挺, 郎泽东, 等. 1979年以来5个时期安吉小鲵生境变化分析及预测 [J]. *湿地科学*, 2022, 20(3): 303–310.
- YU L P, WANG X T, LANG Z D, *et al.* Analysis and prediction on changes of *Hynobius amjiensis* habitat for 5 periods since 1979 [J]. *Wetland Science*, 2022, 20(3): 303–310.
- [22] IUCN SSC Amphibian Specialist Group. *Hynobius amjiensis* [J/OL]. The IUCN Red List of Threatened Species, 2021: e.T59089A63876823 [2024-07-11]. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-3.RLTS.T59089A63876823.en>.
- [23] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订)[J]. *野生动物学报*, 2021, 42(2): 605–640.
- National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of national key protected wild animals (revised on February 1, 2021) [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605–640.
- [24] 顾辉清, 马小梅, 王珏, 等. 安吉小鲵种群数量和数量动态的研究 [J]. *四川动物*, 1999, 18(3): 104–106.
- GU H Q, MA X M, WANG J, *et al.* Research on population number and dynamics of *Hynobius amjiensis* [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 1999, 18(3): 104–106.
- [25] 叶林骏. 安吉小鲵生存现状及其繁殖期生境特征研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2012.
- YE L J. Research of the survival status and habitat characteristic of Anji hynobiid [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2012.
- [26] 顾辉清. 小鲵属一新种: 安吉小鲵 [M]//钱燕文, 赵尔宓, 赵肯堂. 动物科学研究: 祝贺张孟闻教授九秩华诞纪念文集. 北京: 中国林业出版社, 1992: 39–43.
- GU H Q. A new species of the genus *Hynobius*: *Hynobius amjiensis* [M]//QIAN Y W, ZHAO E M, ZHAO K T. Animal science research: issued to celebrate the ninetieth birthday of the professor ZHANG Mengwen. Beijing: China Forestry Publishing House, 1992: 39–43.
- [27] 浙江省林业局. 安吉小鲵国家级自然保护区入选中国首批全球生物多样性关键区 [EB/OL]. (2024-08-20) [2024-09-21]. [http://lyj.zj.gov.cn/art/2024/8/20/art\\_1285508\\_59076677.html](http://lyj.zj.gov.cn/art/2024/8/20/art_1285508_59076677.html).
- Zhejiang Forestry Bureau: Anji Salamander National Nature Reserve selected as one of China's first key global biodiversity areas [EB/OL]. (2024-08-20) [2024-09-21]. [http://lyj.zj.gov.cn/art/2024/8/20/art\\_1285508\\_59076677.html](http://lyj.zj.gov.cn/art/2024/8/20/art_1285508_59076677.html).
- [28] 夏昕, 李媛, 杨道德, 等. 寒露林蛙繁殖期生境特征及影响其生境选择的主要因子 [J]. *生态学杂志*, 2022, 41(9): 1740–1745.
- XIA X, LI Y, YANG D D, *et al.* Habitat characteristics and main factors influencing habitat selection of *Rana hanluica* during breeding period [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2022, 41(9): 1740–1745.
- [29] ZHANG L, ROHR J, CUI R N, *et al.* Biological invasions facilitate zoonotic disease emergences [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1762.
- [30] BATES S, HASTIE T, TIBSHIRANI R. Cross-validation: What does it estimate and how well does it do it? [J]. *Journal of the American Statistical Association*, 2024, 119(546): 1434–1445.
- [31] R Core Team. R: a language and environment for statistical computing [CP/OL]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing (2023-10-31) [2024-05-20]. <https://www.R-project.org/>.
- [32] RUCHIN A B. Effect of illumination on fish and amphibian: development, growth, physiological and biochemical processes [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 13(1): 567–600.
- [33] SHI D L, BOUCAUT J C. The chronological development of the urodele amphibian *Pleurodeles waltl* (Michah) [J]. *The International Journal of Developmental Biology*, 1995, 39(3): 427–441.
- [34] LUNDGAARD N U, CRAMP R L, FRANKLIN C E, *et al.* Effects on the embryonic and larval development of cane toads (*Rhinella marina*) reared in alkaline artesian spring water [J]. *Austral Ecology*, 2021, 46(8): 1186–1191.
- [35] BACHMANN K. Temperature adaptations of amphibian embryos [J]. *The American Naturalist*, 1969, 103(930): 115–130.
- [36] BRADFORD D F. Incubation time and rate of embryonic development in amphibians: the influence of ovum size, temperature, and reproductive mode [J]. *Physiological Zoology*, 1990, 63(6): 1157–1180.
- [37] FREDA J, DUNSON W A. Effects of low pH and other chemical variables on the local distribution of amphibians [J]. *Copeia*, 1986, 1986(2): 454–466.
- [38] PIERCE B A. Acid tolerance in amphibians [J]. *BioScience*, 1985, 35(4): 239–243.