

孵化温度对中华鳖胚胎物质和能量利用的影响*

杜卫国 计 翔

(杭州师范学院生物学系, 杭州 310036)

摘要 用多重温度组合 [7个恒温 (23、24、27、28、30、33 和 34) 和 1 个波动温度 (22.3~32.8)] 孵化中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 卵, 检测温度对胚胎利用卵内物质和能量的影响。卵在波动温度和温和温度下 (27 和 28) 孵化有较高的干物质、脂肪和能量转化率, 孵出幼体因而含有较多的无机物, 幼体躯干和脂肪体含有较高的能量。卵在极端高温 (34 和 33) 或极端低温 (23) 下孵化物质和能量转化率较低, 使得孵出幼体中无机物较少, 幼体躯干和脂肪体中含能量较低。孵化温度显著影响中华鳖孵出幼体内的能量分配: 27 和 28 孵出幼体含能量较高且相似, 但 27 孵出幼体剩余卵黄能量小于 28 孵出幼体; 34 和 23 孵出幼体含能量较低且相似, 但 23 孵出幼体剩余卵黄能量大于 34 孵出幼体。波动温度拓宽存活孵化温度范围。

关键词 中华鳖 卵 孵化温度 幼体 物质和能量利用

温度、湿度、氧气等环境因子不同程度地影响爬行动物卵孵化成功率、胚胎发育速率和孵出幼体的特征及其适应性。温度是其中最重要的因子, 因而倍受关注 (Packard *et al.*, 1988; Congdon *et al.*, 1990; Deeming *et al.*, 1991)。许多证据表明: 温度显著影响胚胎发育速率 (Booth, 1998), 孵出幼体的形态、大小、行为、运动能力和胚后生长 (Gutzke *et al.*, 1987; Burger, 1990; van Damme *et al.*, 1992; Allstedt *et al.*, 1995; 林植华等, 1998; 计翔等, 1999; 2001a, 2001b) 以及卵孵化过程中的物质和能量收支 (Booth *et al.*, 1991; Ji *et al.*, 1999; Rhen *et al.*, 1999)。在一些温度决定性别的种类中, 孵化温度还能决定孵出幼体的性别 (Bull, 1980; Janzen *et al.*, 1991; Lang *et al.*, 1994; Viets *et al.*, 1994)。上述研究也表明温度对爬行动物卵孵化的影响是相当复杂的, 不同种类卵孵化的热敏感性存在很大差异, 因此, 在更多种类中开展孵化温度对爬行动物胚胎的影响, 具有重要的理论意义。

爬行动物胚胎发育所需的有机物来自卵黄, 发育所需的无机物分别来自卵黄和卵壳 (Packard *et al.*, 1984; 1991; Ji *et al.*, 1997a; 1997b; 2000; 杜卫国等, 2001)。无机物参与组成骨骼等身体组织, 其含量将影响幼体的功能表现和生长。孵出幼体由躯干、剩余卵黄和脂肪体等主要组分组成。躯

干决定个体大小 (Ji *et al.*, 1997a; 1999; 2000), 剩余卵黄和脂肪体用于孵出幼体的早期活动、维持和生长 (Troyer, 1987; Congdon *et al.*, 1990; Ji *et al.*, 1997b; 2000; 计翔等, 1999)。孵化温度诱导的躯干、剩余卵黄和脂肪体变化能影响孵出幼体的功能表现和生长速率, 因此野外亲体选择热环境适宜的巢址产卵或用适宜的温度人工孵卵对提高孵出幼体质量具有重要的作用。

中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 主要分布于华中、华南诸省及东南亚各国 (Zhao *et al.*, 1993), 具有显著的经济价值。研究该种胚胎物质和能量利用, 既能丰富爬行动物卵孵化理论, 也能进一步促进科学养殖, 因而具有重要的理论和实践意义。作者利用恒温和波动温度孵化中华鳖卵, 探讨孵化温度对胚胎利用卵内物质和能量的影响。

1 材料和方法

本研究于 1998 和 1999 年 7~9 月进行, 实验用鳖卵来自浙江湖州种鳖场。所有卵均于产出当日收集并运回杭州师范学院。经可孵性鉴别、称重、测量和编号后, 随机从每窝取 1~2 枚卵, 解剖分离成卵壳和卵内容物 (卵黄 + 卵清 + 胚胎)。龟鳖类在卵生~卵胎生连续谱中为极端卵生者 (Shine, 1983), 新生卵内胚胎极小、不易分离。卵壳和卵内容物在 65 烘箱中干燥至恒重后, 称其重量。

2000-08-14 收稿, 2000-10-23 修回

* 浙江省教育厅和浙江省自然科学基金青年人才专项基金资助项目

第一作者简介 杜卫国, 男, 31岁, 硕士, 讲师。研究方向: 进化生态学和生理生态学。E-mail: duweiguo@mail.hz.zj.cn

干燥样品冰冻保存，待以后分析成分。其余卵移入内含孵化基质的塑料盒中。卵的1/2埋入基质中，胚点始终朝上。孵化基质湿度设置为-220 kPa，由干蛭石(vermiculite)水=1:1配合而成。孵化盒用穿孔的塑料薄膜覆盖，分别放置23、24、27、28、30、33和34(± 0.3)的生化培养箱(广东医疗器械厂)和室外波动温度孵化箱内。室外孵化箱埋入地下30 cm，上覆石棉瓦以防阳光直射。每日用电子点温计测定6:00、12:00、18:00和22:00(北京时间)时刻的室外孵化箱温度，图1显示实验过程中的日最高、最低和平均温度。每日补充孵化基质散失的水分，以保持基质湿度恒定；每日按预先设定的顺序调整孵化盒在培养箱或室外孵化箱中的位置，以减少箱内可能存在的温梯度的影响。

孵化期记录卵入孵时间至幼体破壳时间的间隔，幼体孵出1 h内即被收集、称重，在环形跑道测定运动速度(结果另文报道)，随后冰冻保存。冰冻幼体以后被解冻，解剖分离成躯干、剩余卵黄和脂肪体。幼体三组分在65烘箱中干燥至恒重后，称其干重。卵黄和幼体躯干中的非极性脂肪用索氏脂肪抽提仪在55条件下抽提5.5 h测得，分析纯乙醚作抽提溶剂。上述材料的能量用GR-3500

型弹式热量计(长沙仪器厂)测定，灰分用马福炉在800条件下焚烧8 h测得。

所有数据在作进一步统计分析前，用Kolmogorov-Smirnov和Bartlett(Statistica统计软件包)分别检验正态性和方差的同质性。经检验，原始数据无须转化即能用于参数统计。用线性回归、协方差分析(ANCOVA)、方差分析(ANOVA)和Tukey's检验等处理和比较相应的数据。比较矫正平均值前，检验斜率的均一性。描述性统计值用平均值 \pm 标准误表示，显著性水平设置为 $=0.05$ 。

2 结 果

本实验鳖卵水分含量年间差异显著($P < 0.01$)，如果以传统的初始卵重为ANCOVA的协变量将导致错误的结果，为消除其影响，作者用卵内容物干重作为文中所有ANCOVA的协变量。所用协变量通过新生卵卵内容物干重(dry mass of egg content, DMC)与内容物鲜重(wet mass of egg content, WMC)的回归方程(1998年: $DMC = 0.2811WMC - 0.1851$, $r^2 = 0.912$, $P < 0.0001$; 1999年: $DMC = 0.2658WMC - 0.0601$, $r^2 = 0.815$, $P < 0.001$)计算获得。

表1 不同温度下中华鳖初生卵和孵出卵组成成分的比较

Table 1 A comparison of components among hatched eggs incubated at different temperatures and freshly laid eggs in Chinese soft-shelled turtle

	干重 Dry mass (g)	能量 Energy (kJ)	脂肪重量 Lipid mass (mg)	灰分重量 Ash mass (mg)	卵壳干重 Shell dry mass (g)	卵壳灰分 Ash in egg shell (g)
初生卵 (Freshly laid eggs) ($n = 29$)						
	1.10 $\pm 0.01^a$	29.3 $\pm 0.3^a$	315.2 $\pm 6.1^a$	76.5 $\pm 1.9^c$	0.588 $\pm 0.008^a$	0.318 $\pm 0.004^a$
已孵卵 (Hatched eggs)						
34 ($n = 4$)	0.86 $\pm 0.01^{bc}$	19.1 $\pm 0.1^{cd}$	183.9 $\pm 5.9^c$	91.6 $\pm 3.9^{ab}$	0.572 $\pm 0.021^b$	0.303 $\pm 0.011^b$
33 ($n = 32$)	0.86 $\pm 0.01^c$	20.1 $\pm 0.3^{cd}$	184.7 $\pm 5.3^c$	91.4 $\pm 0.9^{ab}$	0.534 $\pm 0.004^b$	0.289 $\pm 0.002^b$
30 ($n = 29$)	0.89 $\pm 0.01^{bc}$	20.7 $\pm 0.2^{bcd}$	197.3 $\pm 3.7^{bc}$	90.7 $\pm 1.0^{ab}$	0.539 $\pm 0.008^b$	0.291 $\pm 0.005^b$
28 ($n = 26$)	0.91 $\pm 0.01^b$	21.6 $\pm 0.2^b$	211.0 $\pm 4.5^b$	92.5 $\pm 1.0a^b$	0.545 $\pm 0.012^b$	0.290 $\pm 0.006^b$
27 ($n = 28$)	0.90 $\pm 0.01^b$	21.2 $\pm 0.2^{bc}$	201.8 $\pm 4.1^{bc}$	93.7 $\pm 1.2^a$	0.535 $\pm 0.007^b$	0.283 $\pm 0.004^b$
24 ($n = 16$)	0.89 $\pm 0.01^{bc}$	20.5 $\pm 0.2^{bcd}$	202.1 $\pm 5.3^{bc}$	89.9 $\pm 0.9^{ab}$	0.526 $\pm 0.008^b$	0.276 $\pm 0.008^b$
23 ($n = 14$)	0.83 $\pm 0.01^c$	19.4 $\pm 0.4^d$	189.5 $\pm 5.6^{bc}$	85.8 $\pm 1.2^b$	0.564 $\pm 0.010^b$	0.300 $\pm 0.005^b$
波动温度 ($n = 24$) (Fluctuating temperature)						
	0.92 $\pm 0.01^b$	21.7 $\pm 0.2^b$	205.8 $\pm 3.2^b$	93.3 $\pm 1.3^{ab}$	0.534 $\pm 0.011^b$	0.284 $\pm 0.006^b$
$F_{(8,192)}$	57.49 ***	119.53 ***	72.49 ***	16.73 ***	4.49 **	5.07 ***

数据用矫正平均值 \pm 标准误表示，初生卵内容物干重为协变量。不同上标的矫正平均值之间差异显著(Tukey's检验)。 F 值后的符号代表显著性水平 [Data are expressed as adjusted mean \pm SE, with dry mass of freshly laid egg contents as the covariate. Adjusted means with different superscripts on each column are statistically different (Tukey's test). Symbols immediately after F values represent significant level]

** $P < 0.001$

*** $P < 0.0001$

孵化温度显著影响孵出幼体的物质和能量组成。波动和温和温度(27 和 28)孵出幼体的干重、脂肪重量和能量明显高于较高温度(33 和 34)或较低温度(23)孵出的幼体(表 1)。波动和温和温度孵出幼体的灰分含量较高,使得这些条件下孵出卵壳的干重和灰分含量较低(表 1)。

比较新生卵内容物和各温度孵出幼体发现:卵在波动和温和温度下孵化,卵内干物质、脂肪和能量的转化率较高;卵在高温或低温下孵化,相应的物质和能量转化率较低(表 1)。波动温度下干物质和能量转化率最高,分别为 84.1% 和 74.1%;28 下脂肪转化率最高,达 66.9%;23 下干物质转化率最低,为 75.7%;34 下脂肪和能量转化率最低,分别为 65.2% 和 58.3%。孵出幼体的灰分含量高于新生卵内容物,波动温度孵出幼体的灰分含量最高,23 孵出幼体的灰分含量最低,分别为卵内容物的 122.0% 和 112.2%。孵化过程中,胚胎须从卵壳获得部分无机物,导致卵壳减重,灰分含量减少(表 1)。

表 2 不同温度中孵出中华鳖幼体组成成分间的能量(KJ)分配

Table 2 Allocation of energy (KJ) among three major components of the Chinese soft-shelled turtle hatchlings incubated at different temperatures

	躯干	剩余卵黄	脂肪体
	Carcass	Residual yolk	Fat bodies
34 (n=4)	14.3 ±0.3 ^{bc}	0.95 ±0.20 ^{ab}	4.20 ±0.31 ^{cd}
33 (n=32)	14.3 ±0.2 ^b	1.00 ±0.13 ^{ab}	4.81 ±0.14 ^{cd}
30 (n=29)	14.6 ±0.2 ^{ab}	1.18 ±0.22 ^{ab}	4.86 ±0.20 ^{bcd}
28 (n=26)	14.7 ±0.2 ^{ab}	1.47 ±0.20 ^a	5.53 ±0.14 ^a
27 (n=28)	15.2 ±0.1 ^a	0.69 ±0.08 ^b	5.42 ±0.13 ^{abc}
24 (n=16)	14.1 ±0.2 ^{bc}	1.04 ±0.12 ^{ab}	5.53 ±0.17 ^{abc}
23 (n=14)	13.2 ±0.2 ^c	1.48 ±0.33 ^a	4.44 ±0.13 ^d
波动温度(n=24) (Fluctuating temperature)	15.2 ±0.1 ^a	1.12 ±0.08 ^{ab}	5.49 ±0.09 ^{ab}
ANCOVA, ANOVA, ANCOVA, $F_{(7,164)} = 9.37^{***}$ $F_{(7,165)} = 2.18^*$ $F_{(7,164)} = 5.61^{***}$			

数据用矫正平均值 ± 标准误(范围)或平均值 ± 标准误(范围)(剩余卵黄)表示,初生卵内容物干重为协变量。不同上标的矫正平均值之间差异显著(Tukey's 检验)。 F 值后的符号代表显著性水平 [Data are expressed as adjusted mean ± SE (range) or mean ± SE (range) (for residual yolk), with dry mass of freshly laid egg contents as the covariate. Adjusted means with different superscripts on each column are statistically different (Tukey's test). Symbols immediately after F values represent significant level]

* $P < 0.05$ *** $P < 0.0001$

幼体总能量在躯干、剩余卵黄和脂肪体三组分之间的分配受孵化温度的显著影响(表 2)。波动和温和温度(27 和 28)下卵内能量的转化率较高,孵出幼体躯干和脂肪体能量因而较高,但 27 下孵出幼体剩余卵黄能量显著低于 28 下孵出幼体。低温(23)和高温下(34)卵内物质和能量的转化率较低,使得孵出幼体躯干和脂肪体能量较低,但 23 下孵出幼体剩余卵黄能量明显高于 34 下孵出幼体。

3 讨 论

不同温度孵出的中华鳖幼体总能量有显著差异。卵在波动和温和温度(27 和 28)下孵化,卵内物质和能量转化率较高。从物质和能量转化的角度来看,过高(如 34 和 33)或过低(23)的温度不利于中华鳖卵的孵化。这主要是因为:(1) 胚胎在高温下发育能耗较高;(2) 胚胎在低温下发育速率低,孵化期长,导致胚胎孵化过程中总能耗增加。这两点在许多爬行动物和鸟类的卵孵化过程中是相似的(王培潮等,1990; Deeming et al., 1991)。但也有一些报道说明在一定范围内温度对胚胎能量利用影响不明显(Booth et al., 1991; 计翔等,1999; Ji et al., 1999)。不过,由于不同研究所涉及的温度范围不尽一致,再加上不同动物适宜孵化温度范围可能的差异,使种间比较和对结果的解释变得复杂。在今后的研究中,在较大温度范围内获得系统规范的卵孵化数据将对爬行动物卵孵化理论做出积极的贡献。

孵化温度能影响孵出幼体三组分间的能量分配。不同孵化温度下孵出幼体的剩余卵黄能量有显著差异,但温度对中华鳖幼体内剩余卵黄能量的影响比预测的复杂。27 和 28 孵出幼体的总能量高且相近,但 27 孵出幼体的剩余卵黄能量小于 28 孵出幼体。这可能是因为:(1) 27 孵化卵有较多的能量转入躯干,如该温度孵出幼体的躯干能量略大于 28 孵出幼体(表 2);(2) 27 孵化期较长,胚胎发育将消耗更多的能量。34 和 23 孵出幼体能量相近且较低,但两温度中孵出幼体剩余卵黄能量亦明显不同。34 孵出幼体剩余卵黄能量较低、躯干能量较高;23 孵出幼体剩余卵黄能量较高、躯干能量较低。这表明:(1) 中华鳖卵在高温条件下孵化仍有相对较多的卵黄能量转入躯干;(2) 卵在极端低温下有相对较少的卵黄能量转入躯干,使得低温孵出的幼体躯干发育不完善。因

极端高温和低温胚胎发育的能耗均较高, 高温下发育的胚胎将较多的能量用于躯干生长, 导致剩余卵黄能量的减少。极端低温下发育的胚胎用于躯干生长的能量较少, 使得剩余卵黄能量相对较高(表2)。来自其它爬行动物种类的数据也表明温度对剩余卵黄的影响比预想的要复杂的多。31 和 33 中孵出的密河鳄 (*Alligator mississippiensis*) 幼体的剩余卵黄大于 29 和 32 中孵出的幼体 (Allsteadt *et al.*, 1995); 在蛇鳄龟 (*Chelydra serpentina*)、锦龟 (*Chrysemys picta*) 和布氏拟龟 (*Emydoidea blandingii*) 中, 剩余卵黄的大小随温度的升高而下降 (Gutzke *et al.*, 1987; Packard *et al.*, 1988; Rhen *et al.*, 1999)。计翔等 (1999) 则报道孵化温度 (24 ~ 30) 对火赤链游蛇幼体的剩余卵黄没有影响。

实验室恒温孵化爬行动物卵的优点是条件易被控制, 有助于检测孵化温度对胚胎发育和孵出幼体特征的精细影响。由于恒定温度并不代表野外真实的热环境, 因此实验室获得的结论有多大程度的生物学意义待进一步明确。用模拟自然热环境的波动温度孵卵更接近于卵的自然孵化, 其生物学意义可能更为显著, 所得的结果在应用于自然种群时更有说服力 (Cagle *et al.*, 1993)。比较恒温和波动温度卵孵化的实验结果, 有助于全面深入地了解温度对孵化卵和孵出幼体的影响及其生态学意义。本研究从胚胎发育过程中物质和能量收支的角度揭示, 23 、33 和 34 恒温已不利于中华鳖卵的孵化。然而, 波动温度 (22.3 ~ 32.8) 中孵化的中华鳖卵尽管曾经经历极端的低温和高温 (图 1), 但卵内物质和能量转化率仍然较高, 孵出幼体较大、功能表现较好。这表明短暂高温和低温不影响中华鳖胚胎发育, 波动温度能够有效地拓宽该种动物存活孵化温度 (viable incubation temperature) 范围。胚胎能够耐受短暂高温和低温具有重要适应性意义, 十分有利于提高野外中华鳖卵的孵化成功率, 最终强化雌体的繁殖成功率。

中华鳖孵出幼体内的无机物含量大于初生卵内容物, 孵出卵卵壳灰分含量低于初生卵卵壳。这一结果表明: 中华鳖与其它许多卵生羊膜动物一样, 胚胎发育所需的无机物来源于卵黄和卵壳 (Dunn *et al.*, 1977; Packard *et al.*, 1984; 1991;

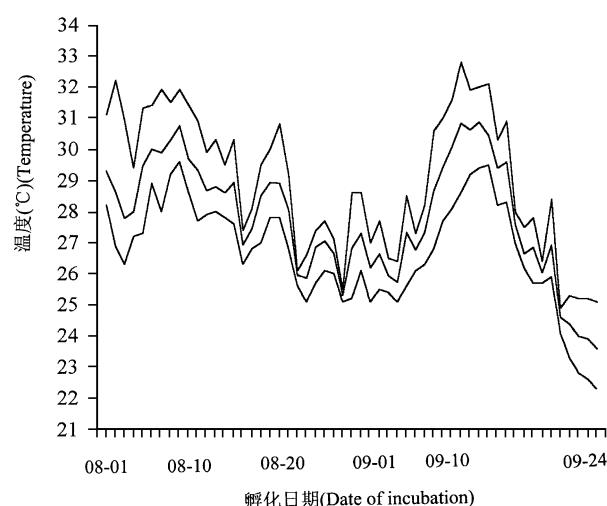


图 1 实验期间室外孵化箱内的日最高、最低和平均温度

Fig. 1 Daily highest, lowest and mean temperatures in outdoor incubator during the experimental period

Shadrix *et al.*, 1994; Ji *et al.*, 2000)。孵化温度显著影响中华鳖胚胎从卵黄和卵壳中动用无机物, 波动和温和温度下发育的胚胎从卵内动用较多的无机物。由于无机物参与形成幼体骨骼等重要身体组织, 因此, 孵化温度导致的孵出幼体无机物的变化将影响其发育状况、功能表现和适应性。

本文结果结合各温度下的孵化期、孵化成功率以及孵出幼体的特征和功能表现进一步证明孵化温度能显著影响胚胎发育速率和成活率以及胚胎发育能耗和物质利用, 导致孵出幼体大小和功能表现的不同。低温 (23 和 24) 下孵化期 (90 天左右) 比波动和温和温度下孵化期 (60 天左右) 长近一个月, 显然, 低温下孵出幼体越冬前活动时间很少, 不利于其越冬存活。极端高、低温 (34 和 23) 下的孵化成功率明显低于其它温度。而且, 波动和温和温度下孵出幼体较大并具有良好的功能表现。因此, 野外中华鳖选择热环境适宜的巢址产卵对提高繁殖成功率具有重要的生态学意义, 在生产实践中选择适宜的温度孵卵有益于提高孵化成功率、孵出高质量幼体。

致谢 浙江湖州种鳖场提供中华鳖卵, 杨彦和沈军卿等参与部分工作, 谨表谢意!

参 考 文 献 (References)

- sissippiensis*). *Physiol. Zool.* **68**: 76~97.
- Booth, D. T. 1998 Incubation of turtle eggs at different temperatures: do embryos compensate for temperature during development? *Physiol. Zool.* **71**: 23~26.
- Booth, D. T. and M. B. Thompson 1991 A comparison of reptilian eggs with those of megapode birds. In: Deeming, D. C. and M. W. J. Ferguson ed. *Egg Incubation, Its Effect on Embryonic Development in Birds and Reptiles*. Cambridge: Cambridge University Press, 325~344.
- Bull, J. J. 1980 Sex determination in reptiles. *Quart. Rev. Biol.* **55**: 3~21.
- Burger, J. 1990 Effects of incubation temperature on behavior of young black racers (*Coluber constrictor*) and kingsnakes (*Lampropeltis getulus*). *J. Herpetol.* **24**: 158~163.
- Cagle, K. D., K. M. Packard and M. J. Packard 1993 Effects of the microclimate in natural nests on development of embryonic painted turtles, *Chrysemys picta*. *Funct. Ecol.* **7**: 653~660.
- Congdon, J. D. and J. W. Gibbons 1990 Turtle eggs: their ecology and evolution. In: Gibbons, J. W. ed. *Life History and Ecology of the Slider Turtle*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 109~123.
- Deeming, D. C. and M. W. J. Ferguson 1991 Physiological effects of incubation temperature on embryonic development in reptiles and birds. In: Deeming, D. C. and M. W. J. Ferguson ed. *Egg Incubation, Its Effect on Embryonic Development in Birds and Reptiles*. Cambridge: Cambridge University Press, 147~171.
- Dunn, B. E. and M. A. Boone 1977 Growth and mineral content of cultured chick embryos. *Poult. Sci.* **56**: 662~672.
- Du, W. G., X. Ji and W. Q. Xu 2001 Dynamics of material and energy during incubation in the Soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Acta Zool. Sin.* **47** (4): 371~375. [杜卫国, 计 翔, 徐梓卿 2001 中华鳖卵孵化过程中物质和能量的动态. *动物学报* **47** (4): 371~375.]
- Gutzke, W. H. N., G. C. Packard, M. J. Packard and T. J. Boardman 1987 Influence of the hydric and thermal environments on eggs and hatchlings of painted turtles (*Chrysemys picta*). *Herpetologica* **43**: 393~404.
- Janzen, F.J. and G. L. Paukstis 1991 Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution, and experimental design. *Q. Rev. Biol.* **66**: 149~179.
- Ji, X., W. G. Du and X. F. Xu 2001a Influences of thermal and hydric environments on incubating eggs and resultant hatchlings in a Colubrid snake (*Xenochrophis piscator*). *Acta Zool. Sin.* **47** (1): 45~52. [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): 45~52.]
- Ji, X. and C. H. Zhang 2001b Effects of thermal and hydric environments on incubating eggs, hatching success, and hatchling traits in the Chinese skink (*Eumecechinensis*). *Acta Zool. Sin.* **47** (3): 256~265. [计 翔, 章朝华 2001 水热环境对中国石龙子孵化卵、孵化成功率及孵出幼体特征的影响. *动物学报* **47** (3): 256~265.]
- Ji, X. and F. Braña 1999 The influence of thermal and hydric environments on embryonic use of energy and nutrients, and hatchling traits, in the wall lizards (*Poecilis muralis*). *Comp. Biochem. Physiol.* **124A**: 205~213.
- Ji, X. and P. Y. Sun 2000 Embryonic use of energy and post-hatching yolk in the gray rat snake, *Ptyas korros* (Colubridae). *Herpetol. J.* **10**: 13~17.
- Ji, X., P. Y. Sun, S. Y. Fu, and H. S. Zhang 1997a Utilization of energy and material during embryonic development in the cobra *Naja naja atra*. *J. Herpetol.* **31**: 302~306.
- Ji, X., P. Y. Sun, S. Y. Fu and H. S. Zhang 1997b Utilization of energy and nutrients in incubating eggs and post-hatching yolk in a colubrid snake, *Elaphe carinata*. *Herpetol. J.* **7**: 7~12.
- Lang, J. W. and H. V. Andrews 1994 Temperature-dependent sex determination in crocodilians. *J. Exp. Zool.* **270**: 28~44.
- Packard, G. C. and M. J. Packard 1988 The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. In: Gans, C. and R. B. Huey ed. *Biology of the Reptilia* Vol. 16. New York: A. Liss, 523~605.
- Packard, M. J. and G. C. Packard 1984 Comparative aspects of calcium metabolism in embryonic reptiles and birds. In: Seymour, R. S. ed. *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*. Dordrecht, Netherlands: Junk, 155~179.
- Packard, M. J. and G. C. Packard 1991 Sources of calcium, magnesium, and phosphorus for embryonic softshell turtles (*Trionyx spiniferus*). *J. Exp. Zool.* **258**: 151~157.
- Rhen, K. and J. W. Lang 1999 Incubation temperature and sex affect mass and energy reserves of hatchling snapping turtles, *Chelydra serpentina*. *Oikos* **86**: 311~319.
- Shadrix, C. A., D. R. Crotzer, L. M. Shauna and J. R. Stewart 1994 Embryonic growth and calcium mobilization in oviposited eggs of the scincid lizard, *Eumece fasciatus*. *Copeia* **1994**: 493~498.
- Shine, R. 1983 Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica* **39**: 1~8.
- Troyer, K. 1987 Posthatching yolk in a lizard: internalization and contribution to growth. *J. Herpetol.* **21**: 102~106.
- Van Damme, R., D. Bauwens, F. Braña and R. F. Verheyen 1992 Incubation temperature differentially affects hatching time, egg survival,

- and hatchling performance in the lizard *Podarcis muralis*. *Herpetologica* **48**: 220~228.
- Viets, B. M., A. Ewert, L. G. Talent and C. E. Nelson 1994 Sex determining mechanisms in squamate reptiles. *J. Exp. Zool.* **270**: 45~56.
- Wang, P. C., W. Ma, B. Lu and W. H. You 1990 Studies on ecology of incubation of eggs of *Chinemys reevesii*. *Herpetol. Series* **1**: 113~119. [王培潮, 马伟, 卢波, 由文辉 1990 乌龟卵孵化生态的研究. 蛇蛙研究丛书 **1**: 113~119.]
- Zhao, E. M. and K. Adler 1993 Herpetology of China. Oxford, Ohio, USA: Published by Society for the Study of Amphibians and Reptiles. 175~176.
- Zhou, X. Q., C. J. Niu, Q. F. Li and H. F. Ma 1998 The effects of light intensity on daily food consumption and specific growth rate of the juvenile Soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*). *Acta Zool. Sin.* **44** (2) 161~168. [周显青, 牛翠娟, 李庆芬, 马海飞 1998 日照强度对中华鳖稚鳖摄食和生长的影响. 动物学报 **44** (2): 161~168.]

外文摘要 (Abstract)

INFLUENCE OF INCUBATION TEMPERATURE ON EMBRYONIC USE OF MATERIAL AND ENERGY IN THE CHINESE SOFT-SHELLED TURTLE (*Pelodiscus sinensis*) *

DU Wei-Guo JI Xiang

(Department of Biology, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

We had eggs of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) incubated at seven constant temperatures ranging from 23 to 34 and one fluctuating temperature regime (22.3 ~ 32.8) to assess influence of incubation temperature on embryonic use of material and energy. Our results revealed that more dry matter, lipids, minerals, and energy were transferred from the egg into the hatchling when eggs were incubated at moderate (27 and 28) and fluctuating temperatures. Hatchlings from these temperature treatments contained more ash and higher energy contents in carcass as well as larger fat bodies than did those from extremely high (33 and 34) and low (23) temperatures. Incubation temperature significantly affected embryonic allocation of energy among carcass, residual yolk, and fat bodies, resulting in hatchlings differing in energy contents of these compartments. Hatchlings incubated at 27 and 28 were similar in total energy contents, but hatchlings incubated at 27 contained less amounts of energy in the residual yolk. Similarly, hatchlings incubated at 23 and 34 did not differ in total energy contents, but hatchlings incubated at 34 contained less amounts of energy in the residual yolk. These observations imply significant influence of incubation temperature on transference of energy during embryogenesis. Constant temperatures rarely occur in nature, so incubating eggs at fluctuating temperatures could provide more ecologically relevant data. Our results showed that hatchlings incubated at fluctuating temperatures did not differ from those incubated at constant temperatures ranging from 24 to 30 , although these eggs were once exposed to temperatures close to 23 and 34 for a brief period on a daily basis. Therefore, we conclude that eggs of *P. sinensis* can be incubated over a wide range of constant temperatures without significant modifications to energy contents of hatchlings and the range of suitable incubation temperatures can be substantially widened when eggs are incubated at fluctuating temperatures.

Key words Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*), Egg, Incubation, Hatchling, Material and energy utilization

* This work was supported by the grants from Zhejiang Bureau of Education and Zhejiang Provincial Natural Science Foundation