

火赤链游蛇卵孵化的进一步研究 兼评孵化水环境的影响*

张永普

计翔**

(温州师范学院生物与环境科学系, 浙江温州 325003)

(杭州师范学院生命科学学院, 杭州 310036)

摘要 用 2 × 2 四种温、湿度孵化火赤链游蛇 (*Dinodon rufozonatum*) 卵, 重点评估湿度及其与温度的相互作用对孵化成功率、胚胎利用卵内物质和能量及孵出幼体特征的影响。卵在孵化过程中净吸水导致重量增加, 孵化温、湿度及其相互作用显著影响孵化卵的重量变化并导致卵内水环境的相应变化。同一湿度下, 低温孵化卵的终末重量大于高温孵化卵; 同一温度下, 高湿度孵化卵的终末重量大于低湿度孵化卵。温度显著影响孵化期, 湿度及其与温度的相互作用对孵化期无显著的影响。孵化温、湿度对孵化成功率和孵出幼体性别无显著的影响。24 和 30 中均有畸形幼体孵出, 但畸形率与孵化温、湿度无关。孵化基质湿度显著影响孵出幼体的大小 (snout-vent length, SVL)、湿重和躯干干重, 潮湿基质中孵出幼体的 SVL 和体重较大且躯干发育较好。孵化温度显著影响幼体剩余卵黄的干重和灰分含量以及幼体的能量和总灰分含量, 30 孵出幼体的剩余卵黄较大、总灰分含量和剩余卵黄灰分含量较高, 但能量较低。在所有被检测的幼体特征中, 孵化温、湿度相互作用仅影响剩余卵黄干重。各条件下孵出幼体的最大持续运动距离与其 SVL 无显著的相关性, 孵化温、湿度及其相互作用对孵出幼体最大持续运动距离无显著的影响。孵化水环境虽然影响部分幼体特征, 但这些影响可能是次要的。本研究支持孵化水环境较大幅度的变化对爬行动物柔性卵无重要影响的结论。

关键词 火赤链游蛇 游蛇科 卵 孵化 水热环境 幼体特征

胚胎期是卵生爬行动物生活史中最脆弱的时期, 受许多环境因子的影响。在所有可能影响胚胎发育的环境因子中, 温度和湿度显然是最重要的。许多研究显示孵化热环境影响孵化期, 孵化成功率, 胚胎代谢率以及孵出幼体的一些热可塑性特征 (如大小、形态、功能表现和行为等) (计翔等, 1999d, 2001c, 2001d; Packard *et al.*, 1988; Congdon *et al.*, 1990; Burger, 1990; Booth *et al.*, 1991; Packard, 1991; Van Damme *et al.*, 1992; Allstead *et al.*, 1995; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001b; Braña *et al.*, 2000)。在环境决定性别的种类中, 孵化热环境能决定孵出幼体的性别 (Bull, 1980; Deeming *et al.*, 1988, 1991; Janzen *et al.*, 1991)。部分温度诱导产生的幼体特征变异可能具有重要的生物学意义, 会长期影响个体的适应性 (计翔等, 2001d; Van Damme *et al.*, 1992; Allstead *et al.*, 1995; Shine, 1995; Shine *et al.*, 1997a, 1997b; Burger, 1998; Braña *et al.*,

2000)。

爬行动物产刚性卵 (rigid-shelled egg) 或柔性卵 (pliable-shelled egg), 绝大多数有鳞类产柔性卵。柔性卵与环境之间的水分交换比刚性卵活跃, 孵化过程中通常有显著的重量变化, 因而更适合用来检测孵化水环境的影响 (计翔等, 2001c, 2001d; Ji, 1992; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001d)。然而, 有关水环境对爬行动物卵和幼体影响的研究相对较少, 从已有的结果中似乎得出了两个完全不同的结论。部分研究的结果显示孵化水环境显著影响孵化期、孵化成功率和一些孵出幼体特征 (如大小、重量和剩余卵黄大小等) (Packard *et al.*, 1984, 1986, 1988; Packard, 1991), 而另一部分研究的结果则表明孵化水环境对爬行动物卵孵化无重要的影响 (计翔等, 2001c, 2001d; Hotaling *et al.*, 1985; Plummer *et al.*, 1988; Ratterman *et al.*, 1989; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001b)。这种结论的差异可能反映了不同种类的爬

2000-12-05 收稿, 2001-02-20 修回

* 浙江省自然科学基金青年人才专项基金、浙江省 151 人才基金和杭州市跨世纪人才基金资助项目

** 通讯作者 E-mail: xji@mail.hz.zj.cn

第一作者简介 张永普, 男, 33 岁, 高级实验师。研究方向: 脊椎动物生态学。E-mail: zhangyongpu@dns.wztc.edu.cn

行动物卵对孵化水环境变化相对敏感性的差异 (计翔等, 2001c, 2001d; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001b), 亦可能反映了一定范围内水环境的变化对爬行动物卵孵化无显著的影响。由于柔性卵在过于干燥的环境中孵化会严重失水导致胚胎死亡 (计翔等, 2001c, 2001d; Vleck, 1991; Ji, 1992; Ji *et al.*, 1996, 1997a, 1997b, 1999a, 1999c, 2001a, 2001b), 本课题组以往从未在低于 - 220 kPa 的湿度条件下孵化爬行动物卵。计翔等 (1999d) 曾报道 3 个温度 (24、28 和 30) 下火赤链游蛇卵孵化的数据, 但各温度中的卵均在湿度较大 (- 12 kPa) 的蛭石 (孵化基质) 中孵化。本研究中, 作者用 2 × 2 温湿度实验设计 (详见“材料和方法”) 孵化火赤链游蛇卵, 重点评估孵化水环境及其与热环境的相互作用对该种卵孵化的影响。

1 材料和方法

研究用的 11 条怀卵火赤链游蛇于 1999 年 7 月 3 日收购自浙江义乌。动物带回杭州实验室, 关养在专用蛇笼 (600 mm × 600 mm × 500 mm) 内。动物在笼内能自由饮水和取食足量供应的泽蛙 (*Rana limnocharis*), 接受自然光照。动物于 7 月 8 ~ 20 日间各产一窝卵。为避免吸水或失水导致卵初始重量变化, 所有卵均在产后数分钟内被收集和编号, 用 Mitutoyo 数码游标卡测量卵长、短径 (精度 0.01 mm), 用 GB-303 Mettler 电子天平称卵重 (精度 0.1 mg)。卵经可孵性鉴别后移入 190 mm × 220 mm 内含潮湿蛭石 (vermiculite)、加盖、通气的塑料盒内。蛭石湿度恒定为 - 500 kPa (干蛭石重水 = 1 0.5) 和 0 kPa (干蛭石重水 = 1 3), 塑料盒放置在 24 和 30 (±0.3) 的生化培养箱内, 温湿度组合为 2 (温度) × 2 (湿度)。同窝卵尽可能分配在不同的温湿度处理中, 卵的 1/3 被埋在蛭石中, 胚胎位置向上。每日将塑料盒内的水分调整到原有量, 保持湿度恒定; 每日按照预先设定的顺序调整塑料盒在培养箱中的位置, 减少箱内可能存在的温度梯度影响。每隔 5 d 称卵重, 直至幼体孵出。

所有幼体均在出壳 1 h 内被收集、测量 [体长 (snout-vent length, SVL) 和尾长] 和称重, 随后测定不间断运动的最长距离 (后称最大持续运动距离)。测定前, 用生化培养箱将幼体体温控制在 30。用 Panasonic NV-DS77 数码摄像机记录被强烈驱赶的幼体在环形跑道中的运动表现, 跑道的中

心半径为 300 mm、宽度为 150 mm。部分幼体在跑道上表现不佳 (如直接攻击和拒绝运动), 对应数据不被用于进一步的统计处理。测定完毕后所有幼体被冰冻处死。

冰冻幼体以后被解冻, 鉴别性别 (雄性幼体有明显的半阴茎), 解剖分离成躯干、剩余卵黄和脂肪体。分离出的幼体三组分在 65 的烘箱中干燥至恒重, 用 AE-240 Mettler 电子天平分别称其干重 (精度 0.1 mg)。幼体各组分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, 分析纯乙醚作抽提溶剂。各组分的能量用 GR-3500 弹式氧弹仪 (长沙仪器厂造) 测定。卵壳和幼体灰分含量用马福炉在 700 焚烧 12 h 测定。

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, 部分原始数据须经 Ln 转化才能用于参数统计。作者用 *G*-检验、双向方差分析 (two-way ANOVA)、单向和双向协方差分析 (one-way and two-way ANCOVA) 和 Tukey 多重比较等处理相应的数据。全文中的描述性统计值用平均值 ± 标准误表示, 比较矫正平均值前检验斜率的均一性。显著性水平设置为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 孵化过程中卵重量的变化

火赤链游蛇卵在孵化过程中与环境之间进行的水分交换, 净吸水导致重量增加 (图 1)。孵化各时期的卵重量与入孵卵重量呈正相关 (all $P < 0.0001$)。孵化温、湿度和温湿度相互作用显著影响火赤链游蛇孵化卵的终末卵重量 (two way ANCOVA, all $P < 0.0001$): 同一湿度下, 低温孵化卵的终末重量大于高温孵化卵 (Tukey's test, $P < 0.0001$); 同一温度下, 高湿度孵化卵的终末重量大于低湿度孵化卵 (Tukey's test, $P < 0.0001$)。

2.2 孵化期、孵化成功率和孵出幼体性比

表 1 显示 2 × 2 温湿度实验设计中的孵化期、孵化成功率和畸形率。孵化温度显著影响孵化期 (Ln 转化, two-way ANOVA, $F_{1,69} = 1563.2$, $P < 0.0001$)、孵化湿度 (two-way ANOVA, $F_{1,69} = 1.48$, $P = 0.228$) 及温湿度相互作用 (two-way ANOVA, $F_{1,69} = 0.05$, $P = 0.826$) 对孵化期无显著的影响。孵化温湿度对孵化成功率 ($G = 0.17$, $df = 3$, $P > 0.975$) 和孵出幼体性别 ($G = 0.64$,

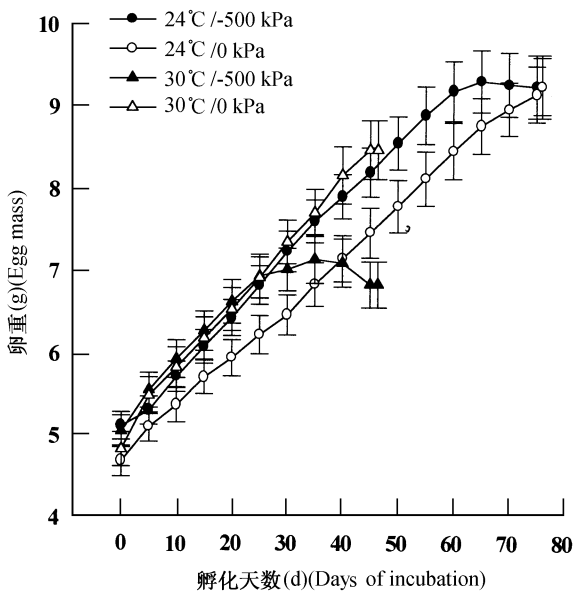


图 1 2 × 2 温湿度实验设计中火赤链游蛇孵化卵的重量变化

Fig. 1 Temporal changes in mass of *Dinodon rufozonatum* eggs incubated in different thermal and hydric environments using a 2 × 2 factorial design
数据用平均值 ± 标准误差表示
(Data are expressed as mean ± SE)

$df = 3$, $P > 0.75$) 无显著的影响。孵出幼体的总性比不偏离 1:1 ($G = 0.44$, $df = 1$, $P > 0.25$)。24 和 30 中均有畸形幼体个体, 主要表现为腹部的粘连, 但畸形率分布与孵化温湿度无关 ($G = 0.92$, $df = 3$, $P > 0.75$)。所有畸形个体不被用于进一步统计分析。

2.3 孵出幼体的大小、重量、能量含量和组成成分
以入孵卵重为协变量的 ANCOVA 显示两性孵出幼体的体重、SVL 和 TL 等无显著差异 (all $P > 0.05$), 对应数据被合并。孵化湿度对孵出幼体

SVL、湿重和躯干干重有显著影响, 潮湿基质中孵出的幼体个体 (SVL) 较大、较重且躯干发育较好 (表 2); 孵化湿度对表 2 中其它被孵出幼体特征无显著影响。孵化温度对幼体的剩余卵黄干重和灰分含量以及幼体的能量和灰分含量有显著的影响, 30 孵出幼体的剩余卵黄较大、总灰分含量和剩余卵黄灰分含量较高, 但能量较低 (表 2); 孵化温度对表 2 中其它被孵出幼体特征无显著影响。在所有检测的幼体特征中, 温湿度的相互作用仅影响剩余卵黄干重 (表 2)。

2.4 孵出幼体的体形

以 SVL 为协变量的 ANCOVA 显示两性孵出幼体的体重和尾长无显著的差异 (all $P > 0.05$), 对应数据被合并。孵化温、湿度及其相互作用对特定 SVL 的幼体尾长无显著的影响 (表 3)。孵化温度及其与湿度的相互作用对特定 SVL 的幼体体重无显著的影响, 但潮湿基质中孵出幼体特定 SVL 的体重小于干燥基质中孵出的幼体 (表 3)。

2.5 孵出幼体的运动表现

各处理孵出幼体的最大持续运动距离与个体大小 (SVL) 之间无显著的相关性 (all $P > 0.05$), 双向 ANOVA 显示孵化温度 ($F_{1,42} = 1.52$, $P = 0.224$)、湿度 ($F_{1,42} = 1.68$, $P = 0.203$)、和温湿度相互作用 ($F_{1,42} = 0.001$, $P = 0.972$) 对所有被检测幼体的最大持续运动距离无显著的影响 (表 4)。

3 讨论

温度 (24 和 30) 对孵化期有显著的影响、对孵化成功率、孵出幼体的性别、畸形率、湿重、干重、躯干干重、脂肪体干重等无显著的影响, 这些结果与单一湿度孵化条件下得出的结果一致 (计翔等, 1999d)。温度对幼体体长、尾长无显著的影

表 1 2 × 2 温湿度实验设计中火赤链游蛇的孵化期、孵化成功率及孵出幼体性比和畸形率
Table 1 The effects of incubation temperatures on incubation length, hatching success, and sex ratio and abnormality of hatchlings in *Dinodon rufozonatum* in a 2 × 2 factorial design

温度 (°C)	湿度 (kPa)	孵化卵数	孵化期 (d)	孵化成功率 (%)	性比 (♂/♀)	畸形率 (%)
Temperature	Moisture	Incubated eggs	Duration of incubation	Hatching success	Sex ratio	Abnormality
24	- 500	25	76.1 ± 0.3 (73.0 ~ 77.8)	92.0 (23/25)	14/9	4.0 (1/25)
24	0	18	75.8 ± 0.4 (72.8 ~ 78.1)	88.9 (16/18)	7/9	11.1 (2/18)
30	- 500	23	46.5 ± 0.2 (44.7 ~ 47.3)	82.7 (19/23)	9/10	4.3 (1/23)
30	0	16	46.2 ± 0.2 (45.2 ~ 47.5)	93.8 (15/16)	8/7	6.3 (1/16)

表 2 2 × 2 温湿度实验设计中火赤链游蛇孵出幼体的大小和重量
 Table 2 Size and mass of *Dinodon rufozonatum* hatchlings from eggs incubated in different thermal and hydric environments using a 2 × 2 factorial design

幼体大小和重量 Hatchling size and mass	温度 Temperature ()		影响 Effects			
	24	30	湿度 (Moisture)	温度 (Temperature)	相互作用 (Interaction)	
			$F_{1,68}$	$F_{1,68}$	$F_{1,68}$	
入孵卵重量 (g) (Initial egg mass)	DS	5.12 ± 0.17	5.05 ± 0.19	2.49 ^{ns}	0.01 ^{ns}	—
	WS	4.73 ± 0.19	4.83 ± 0.20			
体长 (mm) (Snout-vent length)	DS	207.3 ± 2.8	202.9 ± 2.6	7.33 ^{**}	0.18 ^{ns}	1.74 ^{ns}
	WS	204.8 ± 4.8	207.6 ± 3.2	WS > DS		
尾长 (mm) (Tail length)	DS	49.3 ± 1.0	49.6 ± 1.5	1.20 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.002 ^{ns}
	WS	48.9 ± 1.7	49.7 ± 1.3			
幼体湿重 (g) (Wet body mass)	DS	4.63 ± 0.20	4.54 ± 0.22	4.94 [*]	0.52 ^{ns}	0.13 ^{ns}
	WS	4.31 ± 0.23	4.38 ± 0.23	WS > DS		
幼体干重 (g) (Dry body mass)	DS	1.30 ± 0.06	1.31 ± 0.07	0.56 ^{ns}	0.27 ^{ns}	2.05 ^{ns}
	WS	1.20 ± 0.07	1.22 ± 0.08			
躯干干重 (g) (Carcass dry mass)	DS	0.84 ± 0.03	0.80 ± 0.04	5.22 [*]	1.64 ^{ns}	0.33 ^{ns}
	WS	0.79 ± 0.05	0.80 ± 0.04	WS > DS		
剩余卵黄干重 (g) (Residual yolk dry mass)	DS	0.21 ± 0.02	0.28 ± 0.02	2.28 ^{ns}	7.66 ^{**}	5.60 [*]
	WS	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.02		30 > 24	
脂肪体干重 (g) (Fat body dry mass)	DS	0.25 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.46 ^{ns}	3.26 ^{ns}	0.28 ^{ns}
	WS	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.02			
幼体能量 (KJ) (Hatchling energy)	DS	32.3 ± 1.2	30.2 ± 1.1	0.005 ^{ns}	6.19 [*]	1.41 ^{ns}
	WS	30.5 ± 1.1	28.7 ± 1.1		24 > 30	
幼体非极性脂肪 (mg) (Hatchling NP lipids)	DS	32.3 ± 1.2	30.2 ± 1.1	0.03 ^{ns}	0.84 ^{ns}	0.90 ^{ns}
	WS	30.5 ± 1.1	28.7 ± 1.1			
幼体灰分 (mg) (Hatchling ash)	DS	150.8 ± 5.8	156.0 ± 7.8	1.79 ^{ns}	11.08 ^{**}	0.18
	WS	138.5 ± 7.3	160.9 ± 6.3		30 > 24	
躯干灰分 (mg) (Carcass ash)	DS	129.1 ± 4.8	126.8 ± 5.7	3.15 ^{ns}	0.99 ^{ns}	0.50 ^{ns}
	WS	119.4 ± 6.9	126.2 ± 6.3			
剩余卵黄灰分 (mg) (Residual yolk ash)	DS	21.8 ± 1.6	29.5 ± 2.3	0.75 ^{ns}	5.89 [*]	0.30 ^{ns}
	WS	19.2 ± 1.7	34.7 ± 1.9		30 > 24	
孵出卵壳灰分 (mg) (Hatched eggshell ash)	DS	39.8 ± 2.3	41.0 ± 2.5	1.35 ^{ns}	0.03 ^{ns}	1.06 ^{ns}
	WS	35.4 ± 2.9	34.9 ± 2.6			

双向 ANOVA (入孵卵质量) 或双向 ANCOVA (入孵卵质量为协变量) 的 F 值 [F values correspond to single effects and factor interactions in two-way ANOVA (for the initial egg mass) or ANCOVAs (with initial egg mass as the covariate)]

DS: 干燥基质 (Drier substrate) WS: 潮湿基质 (Wetter substrate)

ns: P > 0.05 * P < 0.05 ** P < 0.01

响, 对剩余卵黄大小和胚胎发育能耗有显著的影响 (表 2)。这些结果与单一湿度孵化条件下得出的结果不同 (计翔等, 1999d), 并主要与温湿度相互作用对剩余卵黄干重有显著的影响有关 (表 2)。以入孵卵重为协变量的 ANCOVA 分别检测 - 500 kPa

和 0 kPa 湿度条件下温度对孵出幼体剩余卵黄的影响发现: 卵在 - 500 kPa 基质中孵化, 30 孵出幼体的剩余卵黄显著大于 24 孵出幼体 ($F_{1,39} = 18.22, P < 0.0001$); 卵在 0 kPa 基质中孵化, 24 和 30 孵出幼体的剩余卵黄无显著的差异

表 3 2 × 2 温湿度实验设计中火赤链游蛇孵出幼体的体形
Table 3 Body shape of *Dinodon rufozonatum* hatchlings from eggs incubated in different thermal and hydric environments using a 2 × 2 factorial design

温度 (°C)	湿度 (kPa)	样本含量 (n)	幼体尾长 (mm)	幼体湿重 (g)
Temperature	Moisture	Sample size	Hatchling tail length	Wet body mass
24	- 500	23	48.8 ± 0.7	4.54 ± 0.10
24	0	16	48.6 ± 0.8	4.36 ± 0.09
30	- 500	19	50.2 ± 1.0	4.69 ± 0.14
30	0	15	48.2 ± 1.2	4.28 ± 0.13
湿度 (Moisture)		$F_{(1,68)}$	0.77 ^{ns}	5.97 * WS < DS
影响 (Effects)	温度 (Temperature)	$F_{(1,68)}$	0.84 ^{ns}	0.08 ^{ns}
相互作用 (Interaction)		$F_{(1,68)}$	0.39 ^{ns}	0.95 ^{ns}

数据用矫正平均值 ± 标准误差表示, 初始幼体体长 (设置为 205.7 mm) 为协变量 [Data are expressed as adjusted mean ± SE, with hatchling SVL (set at 205.7 mm) as the covariate]

DS: 干燥基质 (Drier substrate) WS: 潮湿基质 (Wetter substrate)

ns: $P > 0.05$ * $P < 0.05$

($F_{1,28} = 0.42$, $P = 0.522$)。这些结果说明卵在干燥 (如 - 500 kPa 基质湿度) 环境中孵化, 胚胎对卵黄的利用情况较差。有鳞类幼体孵出时刻的个体大小 (SVL 或 SVL + 尾长) 与卵黄利用情况和胚胎发育能耗有密切的关系, 卵黄利用充分则孵出幼体较大, 胚胎发育能耗较高使得较多的卵黄用于维持而导致较小幼体孵出 (计翔等, 1999d, 2001c, 2001d; Ji *et al.*, 1997b, 1999a, 1999b, 1999c, 2000, 2001a, 2001b)。计翔等 (1999d) 报道 24 和 30 °C 火赤链游蛇孵出幼体的剩余卵黄和胚胎发育能耗无显著差异显然与用潮湿 (- 12 kPa) 的孵化基质孵卵有关, 类似的结果也见于本研究中在 0 kPa 条件下孵化的火赤链游蛇卵。

爬行动物柔性卵须在具有一定湿度的环境中才能孵化成功。环境湿度过高易导致卵发霉和胚胎窒息; 环境湿度过低则易导致柔性卵失水而对胚胎产生致死影响 (计翔等, 2001c, 2001d; Vleck, 1991; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001b)。爬行动物卵与环境之间的水分交换和卵重量的时间变化显然与卵类型 (柔性卵、刚性卵)、卵壳通透性、卵内溶质含量和孵化水热环境等因素有关 (Packard, 1991; Vleck, 1991)。与本课题组曾研究的其它柔性卵一样 (林植华等, 2000; 计翔等, 2001c, 2001d; Ji, 1992; Ji *et al.*, 1996, 1997a, 1997b, 1999a, 1999b, 1999c, 2000, 2001a, 2001b), 火赤链游蛇卵在潮湿环境中净吸收水分导致重量增加。孵化各时期的火赤链游蛇卵重量与入孵卵重量呈正相关, 证实了卵内溶质含量对卵被动吸水有直

接贡献。火赤链游蛇卵重量的时间变化显然受孵化水热环境影响: 潮湿基质中孵化的卵重量持续增加, 干燥条件下孵化卵在孵化后期 (24 °C 约在孵出前 10 d 之后; 30 °C 约在孵化 1/2 时期之后, 并显得尤其显著) 减重; 低温 (24 °C) 孵化卵的终末重量大于高温 (30 °C) 孵化卵, 潮湿基质中孵化卵的终末重量大于干燥基质中的孵化卵 (图 1)。低温孵化卵终末重量大于高温孵化卵, 与低温下卵内水分挥发率较低、孵化期较长使卵从基质中吸水时间较长等因素有关。同样的结果也见于已报道的牛蛇 (*Pituophis melanoleucus*, Gutzke *et al.*, 1987)、眼镜蛇 (*Naja atra*, Ji *et al.*, 2001a)、王锦蛇 (*Elaphe carinata*, Ji *et al.*, 2001b)、渔异色蛇 (*Xenochrophis piscator*, 计翔等, 2001c)、地中海

表 4 2 × 2 温湿度实验设计中火赤链游蛇孵出幼体的最大持续运动距离

Table 4 The maximum distance of continuous locomotion of *Dinodon rufozonatum* hatchlings from eggs incubated in different thermal and hydric environments using a 2 × 2 factorial design

温度 (°C)	湿度 (kPa)	样本数 (n)	最大持续运动距离 (m)
Temperature	Moisture	Sample size	The maximum distance of continuous locomotion
24	- 500	16	1.35 ± 0.24 (0.24 ~ 3.84)
24	0	14	1.05 ± 0.16 (0.24 ~ 2.16)
30	- 500	8	1.62 ± 0.15 (0.77 ~ 2.07)
30	0	8	1.34 ± 0.17 (0.38 ~ 1.90)

岩蜥 (*Podarcis muralis*, Ji *et al.*, 1999a)、中国石龙子 (*Eumeces chinensis*, 计翔等, 2001d) 和本文第二作者另文报道的变色树蜥 (*Calotes versicolor*) 等有鳞类爬行动物。

显然, 爬行动物柔性卵在不同的水热环境中孵化, 卵内水环境是有很程度变化的, 并自然会使得人们关注这样的问题: 卵内水环境的变化究竟能在多大程度上影响卵孵化和幼体特征? 本研究结果表明卵内水环境的差异对火赤链游蛇卵孵化期、孵化成功率和孵出幼体畸形率等重要指标无显著的影响, 这些结果也见于地中海岩蜥 (Ji *et al.*, 1999a)、中国石龙子 (计翔等, 2001d)、变色树蜥、山地麻蜥 (*Eremias brenchleyi*)、眼镜蛇 (Ji *et al.*, 2001a)、王锦蛇 (Ji *et al.*, 2001b) 和渔异色蛇 (计翔等, 2001c) 等 10 多种已被研究的有鳞类。从这些研究中得出的规律性结论是: 小型柔性卵孵化早期对水环境尤其敏感, 少量失水亦能导致胚胎死亡; 卵在变化幅度较大的水环境中孵化, 孵化期和孵出幼体特征基本不变 (计翔等, 2001c, 2001d; Vleck, 1991; Ji *et al.*, 1999a, 2001a, 2001b; Braña *et al.*, 2000)。由于孵化成功率决定种群内新增个体数并直接与母体的繁殖成功率有关, 孵化期决定孵出幼体当年越冬前的生长期, 畸形个体必然具有较低的适应性, 这些指标显然是重要的。孵化水环境对这些指标无显著的影响, 表明这一环境因子的作用是较为次要的。

本研究中, 孵化水环境确实影响躯干的干重, 并因此影响孵出幼体的 SVL。潮湿基质中孵出躯干较大 (发育较好) 的幼体可能与温湿度相互作用影响孵出幼体剩余卵黄的大小有关 (表 2)。由于

剩余卵黄内的物质和能量在幼体孵出后能部分地用于躯干的生长 (计翔等, 1999d; Ji *et al.*, 1997a, 1999a, 1999b, 1999c, 2000, 2001a, 2001b), 躯干较小而剩余卵黄较多的幼体可以通过孵后动用剩余卵黄内的物质和能量而呈现补偿性生长。干燥基质中孵出的幼体体形较为粗壮, 与这些幼体 SVL 比湿重更显著地小于潮湿基质中孵出幼体、特定 SVL 的湿重较大有关。总体而言, 孵化水环境对孵出幼体重量和体形的影响亦是次要的。

与鸟类和鳄类不同, 有鳞类胚胎在发育过程不在卵黄内累积无机物, 表现为孵出幼体中剩余卵黄的灰分含量不高于新生卵内容物灰分含量 (Packard *et al.*, 1989; Ji *et al.*, 1997a, 1999b, 1999c, 2000)。因此, 30 孵出幼体剩余卵黄灰分含量较高主要与剩余卵黄重量较大有关。由于孵化温湿度对孵出幼体躯干灰分含量无显著的影响, 30 孵出幼体总灰分含量较高与这些幼体剩余卵黄灰分含量较高有关 (表 2)。

火赤链游蛇卵在 24 和 30 孵化成功率均较高、孵出幼体运动表现无显著差异, 表明这一范围内的温度总体上适合用来孵化火赤链游蛇卵。用多重温湿度组合条件孵卵实验发现, 孵化温湿度不同程度地影响该种蛇卵的孵化。孵化温度影响卵孵化的一些重要指标, 如孵化期 (24 > 30) 和胚胎发育能耗 (24 < 30) 等 (表 2), 而孵化湿度对这些指标无显著的影响。同其它爬行动物卵一样, 火赤链游蛇卵在极端干燥的环境中不能孵化, 但在很大变化幅度范围内, 孵化湿度对卵孵化无重要的影响。与孵化温度的影响相比较, 孵化湿度的影响是次要的。

参 考 文 献 (References)

- Allstead, J. and J. W. Lang 1995 Incubation temperature affects body size and energy reserves of hatchling American alligators (*Alligator mississippiensis*). *Physiol. Zool.* **68**: 76~97.
- 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.
- Braña, F. and X. Ji 2000 Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *J. Exp. Zool.* **286**: 422~433.
- 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.
- Burger, J. 1998 Antipredator behaviour of hatchling snake: effects of incubation temperature and stimulated predators. *Anim. Behav.* **56**: 547~553.
- 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: Smithsonian Institution Press, 109~123.
- Deeming, D. C. and M. W. J. Ferguson 1988 Environmental regulation of sex determination in reptiles. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* **322B**:

- 19 ~ 39.
- 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.
- Du, W. G. and X. Ji 2001 Influence of incubation temperature on embryonic use of material and energy in the soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Acta Zool. Sin.* **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.]
- Gutzke, W. H. N. and G. C. Packard 1987 Influence of the hydric and thermal environments on eggs and hatchlings of bull snakes *Pituophis melanoleucus*. *Physiol. Zool.* **60**: 9 ~ 17.
- Hotaling, E., D. C. Wilhoft and S. B. McDowell 1985 Egg position and weight of hatchling snapping turtles, *Chelydra serpentina*, in natural nests. *J. Herpetol.* **19**: 534 ~ 536.
- Janzen, F. J. and G. L. Paukstis 1991 Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution, and experimental design. *Quart. Rev. Biol.* **66**: 149 ~ 179.
- Ji, X. 1992 Storage and utilization of energy and material in eggs of two lizard species, *Gekko japonicus* and *Takydromus septentrionalis*. *Comp. Biochem. Physiol.* **102A**: 781 ~ 784.
- Ji, X. and F. Braña 1999a The influence of thermal and hydric environments on embryonic use of energy and nutrients, and hatchling traits, in the wall lizards (*Podarcis muralis*). *Comp. Biochem. Physiol.* **124A**: 205 ~ 213.
- Ji, X. and W. G. Du 2001a The effects of thermal and hydric environments on incubating eggs and hatchling traits in the cobra, *Naja naja atra*. *J. Herpetol.* **35**: 186 ~ 194.
- Ji, X. and W. G. Du 2001b The effects of thermal and hydric environments on hatching success, embryonic use of energy and hatchling traits in a colubrid snake, *Elaphe carinata*. *Comp. Biochem. Physiol.* **129A**: 461 ~ 471.
- Ji, X., W. G. Du and W. Q. Xu 1999b Experimental manipulation of egg size and hatchling size in the cobra, *Naja naja atra* (Elapidae). *Neth. J. Zool.* **49**: 167 ~ 175.
- Ji, X., W. G. Du and X. F. Xu 2001c 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 2001c 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., S. Y. Fu, H. S. Zhang and P. Y. Sun 1996 Material and energy budget during incubation in a Chinese skink, *Eumeces chinensis*. *Amphibia Reptilia* **17**: 209 ~ 216.
- 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 some nutrients in incubating eggs and post-hatching yolk in a colubrid snake, *Elaphe carinata*. *Herpetol. J.* **7**: 7 ~ 12.
- Ji, X., P. Y. Sun, S. Y. Fu and H. S. Zhang 1999c Utilization of egg energy and material during incubation and post-hatching yolk in a colubrid snake, *Elaphe taeniura*. *Asiat. Herpetol. Res.* **8**: 53 ~ 59.
- Ji, X., P. Y. Sun, H. S. Zhang and S. Y. Fu 1997b Incubation and utilization of energy and material during embryonic development in the cobra *Naja naja atra*. *J. Herpetol.* **31**: 302 ~ 306.
- Ji, X., X. F. Xu and Z. H. Lin 1999d Influence of incubation temperature on characteristics of *Dinodon rufozonatum* (Reptilia: Colubridae) hatchlings, with comments on the function of residual yolk. *Zool. Res.* **20**: 342 ~ 346. [计翔, 许雪峰, 林植华 1999d 孵化温度对火赤链游蛇幼体特征的影响兼评剩余卵黄的功能. *动物学研究* **20**: 342 ~ 346.]
- Ji, X. and C. H. Zhang 2001d Effects of thermal and hydric environments on incubating eggs, hatching success, and hatchling traits in the Chinese skink (*Eumeces chinensis*). *Acta Zool. Sin.* **47** (3): 45 ~ 52. [计翔, 章朝华 2001d 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.]
- Lin, Z. H. and X. Ji 2000 Food habits, sexual dimorphism and female reproduction of the skink (*Eumeces chinensis*) from a Lishui population in Zhejiang. *Acta Ecol. Sin.* **20**: 304 ~ 310. [林植华, 计翔 2000 浙江丽水中国石龙子的食性、两性异形和雌性繁殖. *生态学报* **20**: 304 ~ 310.]
- Packard, G. C. 1991 Physiological and ecological importance of water to embryos of oviparous reptiles. *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, 213 ~ 228.
- Packard, G. C. and M. J. Packard 1984 Coupling of physiology of embryonic turtles to the hydric environment. *In*: Seymour, R. S. ed. *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*. Dordrecht: Dr W. Junk Publishers. 99 ~ 119.
- Packard, G. C. and M. J. Packard 1986 Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of hatchling snapping turtle. *J. Exp. Zool.* **127**: 401 ~ 412.
- 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 1989 Mobilization of calcium, phosphorus, and magnesium by embryonic alligators (*Alligator mississippiensis*). *Amer. J. Physiol.* **257R**: 1 541 ~ 1 547.
- Plummer, M. V. and H. L. Snell 1988 Nest site selection and water relations of eggs in the snake, *Ophendrys aestivus*. *Copeia* **1988**: 58 ~ 64.
- Ratterman, R. J. and R. A. Ackerman 1989 The water exchange and hydric microclimate of painted turtle (*Chrysemys picta*) eggs incubating in field nests. *Physiol. Zool.* **62**: 1 059 ~ 1 079.
- Shine, R. 1995 A new hypothesis for the evolution of viviparity in reptiles. *Amer. Nat.* **145**: 809 ~ 823.
- Shine, R., M. J. Elphick and P. S. Harlow 1997a The influence of natural incubation environments on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Ecology* **78**: 2 559 ~ 2 568.
- Shine, R., T. R. L. Madsen, M. J. Elphick and P. S. Harlow 1997b The influence of nest temperatures and maternal brooding on hatchling phenotypes in water pythons. *Ecology* **78**: 1 713 ~ 1 721.
- 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.
- Vleck, D. 1991 Water economy and solute regulation of reptilian and avian embryos. 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, 245 ~ 260.

外 文 摘 要 (Abstract)

FURTHER STUDIES ON EGG INCUBATION OF AN OVIPAROUS SNAKE, DINODON RUFOZONATUM (COLUBRIDAE), WITH COMMENTS ON THE INFLUENCE OF HYDRIC ENVIRONMENTS*

ZHANG Yong-Pu JI Xiang**

(Department of Biological and Environmental Sciences, Wenzhou Normal College, Wenzhou 325003, Zhejiang, China)

(School of Life Sciences, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

We incubated eggs of red-banded wolf snakes (*Dinodon rufozonatum*) at 24 and 30 °C on substrates with water potentials of 0 and - 500 kPa using a 2 × 2 factorial design, paying particular attention to the influence of substrate moisture and its interaction with incubation temperature on hatching success, embryonic use of energy and material and hatchling traits. All viable eggs gained mass during incubation due to absorption of water, and both thermal and hydric environments affected water exchanges between eggs and their surroundings, thereby affecting the hydric conditions inside the egg. Eggs incubated at 24 °C gained more mass than did eggs at 30 °C but at the same substrate water potential; eggs incubated in wetter substrates (0 kPa) gained more mass than did eggs in drier substrates (- 500 kPa) but at the same temperature. Incubation temperature significantly affected duration of incubation, but substrate moisture and its interaction with temperature did not. In our study, both incubation temperature and substrate moisture did not affect hatching success and sex ratio of hatchlings. Deformed hatchlings were found in each treatment, the frequency being independent of treatments. Substrate moisture significantly affected size (SVL), wet mass and carcass dry mass of hatchlings, with those incubated in wetter substrates being larger in SVL, wet body mass and carcass dry mass than those in drier substrates. Variation in hatchling wet body mass among treatments stemmed mainly from variation in water contents, because there were no significant differences in total dry mass among hatchlings from different incubation conditions designed in this study. More yolk remained unutilized at hatching when eggs were incubated at 30 °C. Hatchlings incubated at 30 °C contained more ash than did those incubated at 24 °C, largely

* This work was supported by the grants from the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation and local governments of Zhejiang Province and Hangzhou City

** Corresponding author

because they contained more ash in the residual yolk. Hatchlings incubated at 24 °C contained more energy than did those incubated at 30 °C, suggesting greater energy expenditure for embryonic development at 30 °C than at 24 °C. Of all hatchling traits examined, only residual yolk dry mass was affected by interaction between temperature and moisture. In all treatment locomotor performance (the maximum distance of continuous locomotion) was not correlated with hatchling SVL. A two-way ANOVA indicated that there were no significant effects of incubation temperature, of substrate moisture and of their interaction on locomotor performance of hatchlings. Taken together, our results reveal that the effects of substrate moisture on incubation of *D. rufozonatum* egg are of minor importance, and therefore support the conclusion that variation in hydric environments over a wide range does not have important effects on incubation of pliable-shelled reptilian eggs.

Key words Red-banded wolf snake (*Dinodon rufozonatum*), Colubridae, Egg, Incubation, Thermal and hydric environment, Hatchling trait

会议消息

全国发育与生殖生物学研讨会拟于 2002 年 7 月底在北京召开。

主办单位: 中国科学院遗传与发育生物学研究所

协办单位: 中国科学院动物所生殖生物学国家重点实验室

承办单位: 中国科学院遗传与发育所《发育与生殖生物学学报》编辑部

大会主席: 国家自然科学基金委员会副主任、中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员 朱作言院士
中国科学院遗传与发育生物学研究所所长 李家洋院士

副主席: 中国科学院遗传与发育生物学研究所副所长、《发育与生殖生物学学报》编委 薛勇彪研究员

征文内容: 植物、动物、人体的基因表达、调控、克隆, 生殖生物学及相关问题的研究论文或综述。英文稿请附详细中文摘要, 或中文稿附详细的英文摘要。请寄书面来稿一式两份, 注明“征文”。投稿与报名地址: 100080 北京中关村南一条 3 号 中国科学院遗传与发育所《发育与生殖生物学学报》编辑部。联系人: 王为先 陈惠萍, 联系电话: 010 - 62545869, 010 - 64889348, 传真: 010 - 62551951, E-mail: Wangwx@263.net

会议征文评审后在《发育与生殖生物学学报》上全文发表。欢迎国内外发育生物学、生殖生物学及相关领域的专家学者参加会议, 交流成果。

《发育与生殖生物学学报》编辑部供稿

23rd International Ornithological Congress will be held in Beijing, China, August 11 - 17, 2002, under the auspices of International Ornithological Committee. The Congress features ten plenary lectures, 40 symposia, oral and poster presentations, and round-table discussions. There is a Chinese evening on the ornithological development in China and an evening on the origin of birds. In addition, there are several birding tours to the various places of China.

Registration with the Congress has started. Those who are interested may visit the web site at <http://www.ioc.org.cn> or send a request email to infocenter@ioc.org.cn.

第 23 届国际鸟类学大会组委会供稿