

孵化温度对王锦蛇胚胎代谢 和幼体适合度的影响

黄芳 周进 樊天骐 屈彦福*

南京师范大学生命科学学院 南京 210023

摘要: 孵化温度所驱动的爬行动物的表型变异是生理生态学研究的热点。本研究以王锦蛇 (*Elaphe carinata*) 为实验动物, 检验了 24°C 和 28°C 孵化温度对王锦蛇胚胎代谢速率、孵化过程中的卵重量、孵出幼体代谢和行为的影响。研究结果显示: 卵重和胚胎的呼吸代谢均与孵化时间呈正相关; 28°C 下胚胎代谢速率大于 24°C; 幼蛇孵出 15 d 内体重随着生长时间的延长而减小, 24°C 孵出幼体的代谢速率大于 28°C 孵出幼体, 两温度下孵出幼体的呼吸代谢速率和生长时间无显著关系; 28°C 孵出幼体的疾游速和吐信频次均大于 24°C; 两孵化温度孵出幼体的选择体温无显著差异, 但在消耗完体内的剩余卵黄后 28°C 孵出幼体有 60% 的个体摄食, 而 24°C 孵出幼体无摄食个体。总体而言, 王锦蛇 28°C 孵出幼体适合度优于 24°C 孵出幼体。

关键词: 王锦蛇; 孵化; 适合度; 疾游速; 选择体温

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 04-628-10

Effects of Incubation Temperature on Embryonic Metabolism and Hatchling Fitness in the Strink Snake (*Elaphe carinata*)

HUANG Fang ZHOU Jin FAN Tian-Qi QU Yan-Fu*

College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

Abstract: Incubation temperature plays an important role in determining the hatchling and drives phenotypic variations in oviparous reptiles. Numerous studies have reported that incubation temperature affects many processes, including embryonic metabolism, body shape, selected body temperature, locomotor performance, tongue flicking, and predation. The variation of these traits is a potentially important indicator of fitness and most likely affects the hatchling's fitness. In this article, we studied the effects of incubation temperature on the egg and hatchling in Strink Snake (*Elaphe carinata*) to assess the fitness of hatchlings incubated at two different temperatures.

We collected adults from the same population in Hunan to study the effect of incubation temperature on the egg incubation, hatchling metabolism and behavior. The eggs were incubated at two constant temperatures

基金项目 国家自然科学基金青年项目 (No. 31200283);

* 通讯作者, E-mail: imwx-q@163.com;

第一作者介绍 黄芳, 女, 硕士研究生; 研究方向: 爬行动物进化与生理生态学; E-mail: huangfang_elf@163.com。

收稿日期: 2016-12-19, 修回日期: 2017-03-13 DOI: 10.13859/j.cjz.201704010

(24 and 28°C). Eggs were weighted and metabolism was measured at 5-day intervals. All hatchlings were applied to evaluate the response to chemical cues, respiration metabolism, selected body temperature, and so on. We measured tongue flicking, metabolism, locomotor performance, and predation of hatchlings at the body temperature of 28°C because physiological and behavioral performances are dependent on the body temperature in reptiles.

A preliminary analysis revealed no difference between sexes of hatchlings in the examined traits, so we pooled data for sexes. All data were tested for normality (Kolmogorov-Smirnov test) and homogeneity of variances (Bartlett's test). We used repeated-measures ANOVA, one-way ANOVA or one-way ANCOVA to analyze the corresponding data. Descriptive statistics was presented as mean \pm standard error, and the significance level was set at $\alpha = 0.05$.

Eggs incubated under different temperature regimes did not differ significantly in duration of incubation, hatching success and sex ratio (Table 1). All eggs gained mass during incubation because of absorption of water (Fig. 1). Mean values for final egg mass (weighed at the time point closest to hatching) differed between the two incubation temperatures (Fig. 1). The egg metabolism was positively correlated with egg mass and the incubation time in two incubation temperatures (Fig. 2). Eggs incubated at a higher temperature (28°C) produced more amount of carbon dioxide than those incubated at a lower temperature (24°C). The body mass and the carbon dioxide decreased with the increase of age after the snake hatched (Fig. 3). Hatchlings from lower temperature produced more amount of carbon dioxide than hatchlings from higher temperature did within the first five days after hatched. Hatchlings from two different incubation temperatures did not differ in selected body temperature, but hatchlings from higher temperature owned faster maximum swimming speed and more frequencies of tongue flicks than hatchlings from lower temperature (Fig. 4). There were significant effects of incubation temperature on hatchling initial feeding and hatchlings from lower temperature had not eaten within 10 minutes. Our results revealed that hatchlings of Strink Snake incubated at 28°C had higher fitness than hatchlings at 24°C.

Key words: *Elaphe carinata*; Incubation; Fitness; Maximum swimming speed; Selected body temperature

环境温度会影响到外温动物的选择体温，进而影响到动物的生理活动并最终决定物种的栖息地选择和空间分布 (Angilletta et al. 2002, Qu et al. 2011a)。在爬行动物中，胚胎时期所经历的热环境将对动物产生持续的生理和行为的影响，甚至影响到后代的适合度 (Angilletta et al. 2000, Booth et al. 2004, Mickelson et al. 2010, Qu et al. 2014)。目前，相关研究表明，爬行动物胚胎时期所经历的热环境会对孵出后代的性别、呼吸代谢、运动、摄食以及生长速率等造成不同程度的影响 (曹梦洁等 2012, 孙文佳等 2012, Ballen et al. 2015, Dormer et al. 2016)。

在产柔性卵的爬行动物中，卵大小会随着孵化时间的延长而吸水增大，在这一过程中动物胚胎生长和呼吸代谢速率增大 (Qu et al. 2011b, 曹梦洁等 2012, 孙文佳等 2012)。卵大小随孵化时间的增加情况受卵所处热环境的影响，在适宜的温度范围内，孵化温度越高，卵的生长越快，孵化期越短；反之，卵的生长越慢，孵化期越长，但幼体孵出前不同孵化温度下的终末卵重无显著差异，这可能和胚胎的最大吸水量有关 (Qu et al. 2011b)。孵化温度对卵代谢速率的影响在不同物种中结果也不尽相同，如赤练蛇 (*Dinodon rufozonatum*) 中，24°C、27°C 和 30°C 三个孵化温度下胚胎代谢速

率无显著差异 (孙文佳等 2012); 但在东部围栏蜥 (*Sceloporus undulatus*) 中, 32°C 下胚胎代谢速率要高于 28°C 或者 34 ~ 38°C (Angilletta et al. 2000)。温度还会对孵出幼体的形态造成重要影响, 如存在高温下孵出后代的畸形率较高、体型较小, 而低温孵出后代的体型较大、畸形率较低等现象 (Esquerre et al. 2014, Dormer et al. 2016)。

孵化温度除了在孵化过程中对胚胎造成的直接影响外, 对后代选择体温、吐信频次、运动表现和初次摄食等与适合度直接相关的行为也有显著影响。如高温下孵出中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 的运动速度比低温孵出幼鳖更快 (Du et al. 2003); 24°C 孵出双斑锦蛇 (*Elaphe bimaculata*) 的摄食量大于 27°C 和 30°C 孵出幼体 (曹梦洁等 2012)。到目前为止, 有关孵化温度对后代行为的影响并没有发现明显的一致性规律。如孵化温度对后代选择体温的影响, 在有的物种中发现低温孵出幼体具有更低的选择体温, 如北美水蛇 (*Nerodia sipendon*, Blouin-Demers et al. 2000) 和暹罗鳄 (*Crocodylus siamensis*, Lang 1987); 而有的物种中发现低温孵出幼体具有较高的选择体温, 如刺蜥 (*Sceloporus virgatus*, Qualls et al. 1999); 此外, 还有些物种不同温度孵出幼体的选择体温无显著差异, 如双斑锦蛇 (曹梦洁等 2012) 和三线石龙子 (*Bassians duperreyi*, Du et al. 2010)。此外, 吐信行为也是爬行动物最重要的行为之一, 它在雄性领域行为、食物识别和社交行为中起着至关重要的作用 (Yanosky et al. 1993, Runemark et al. 2011)。如黑树栖蜥蜴 (*Tupinambis teguixin*) 能够通过气味分辨出食物与非食物 (Yanosky et al. 1993); 在花纹蛇 (*Thamnophis elegans*) 中, 成体的吐信频次最高的温度为 30°C, 这一温度也是该种卵孵化成功率最高的温度 (Odonnell et al. 2009)。

孵化温度对卵生爬行动物的影响包括了很多方面, 从产卵后胚胎的孵化成功率、孵化期到孵出后代的性别、形态、行为表现和生长等

方面均有重要影响, 而且这些观测指标的变异都可能影响到孵出幼体的适合度 (Booth et al. 2004, Booth 2006)。前人已经做了很多有关孵化温度对胚胎和孵出后代各项指标影响的工作, 但这些指标很少能定量地与后代适合度相关联。因此, 研究爬行动物孵化温度对后代适合度的影响具有重要的生态学意义, 对揭示爬行动物对异质性环境的适应机制具有重要作用, 是亟待解决的重大科学问题。

王锦蛇 (*E. carinata*) 隶属于游蛇科 (Colubridae) 锦蛇属, 国内最北主要分布于河南、陕西、甘肃等地, 向南可到达台湾、广东、广西和云南等地, 国外主要分布于越南 (赵尔宓 1998)。有关王锦蛇的研究目前主要集中在生活史特征 (Ji et al. 2006, Qu et al. 2011c)、孵化温度和湿度对孵出幼体形态的影响 (Ji et al. 2001)、卵内能量与营养物质的动用 (Ji et al. 1997) 和分子标记 (Wu et al. 2014) 等方面。本项目以王锦蛇为研究对象, 探讨 24°C 和 28°C 两个孵化温度对王锦蛇卵孵化、胚胎代谢以及孵出幼体的代谢、选择体温、运动表现、吐信频次和初次摄食的影响, 并试图定量研究上述观测指标与王锦蛇孵出幼体适合度之间的关系。

1 材料与方法

1.1 动物的收集和饲养

本实验共从湖南省芷江 (27°26'N, 109°38'E) 收集到 9 条怀卵王锦蛇母体 (体长 126.7 ~ 149.5 cm, 体重 482 ~ 814 g), 动物被带回南京师范大学生命科学学院两栖爬行动物实验室饲养, 母体每 2 条被养殖在标准饲养箱 (长 × 宽 × 高为 60 cm × 45 cm × 50 cm) 内, 并将饲养箱置于环境温度为 (28 ± 2)°C 的恒温室中, 恒温室照明灯调节光周期为 12 h, 每天 07:00 ~ 19:00 时将灯泡开启, 养殖过程中保持恒温室安静。饲养期间, 箱内放有富含维生素和矿物质的水源, 并定时投放充足的鹌鹑 (*Coturnix coturnix*) 作为食物。

1.2 卵的收集、孵化和胚胎代谢

9 条母体产卵时间从 7 月 14 日到 7 月 20 日，产第一窝卵后，我们安排工作人员每隔 6 h 检查一次饲养箱以便及时收集新生卵。待母体产卵后测量母体体长和尾长（精确到 0.1 cm）、体重（精确到 0.1 g）以及卵长、卵宽（精确到 0.01 cm）和卵重（精确到 0.01 g）。实验过程中，9 窝卵的窝卵数为 7 ~ 20 枚，共产卵 101 枚。因王锦蛇在 24 ~ 32℃ 孵化成功率无显著差异（Ji et al. 2001），因此，本研究设置了（24 ± 0.5）℃ 和（28 ± 0.5）℃ 两组实验，从 9 窝卵中随机选取 34 枚卵进行本项研究，检查温度对王锦蛇孵卵过程中的生长和代谢以及孵出后代行为和呼吸代谢的影响。卵被随机分配到相应温度的培养箱内进行孵化，孵化在 250 ml 的加盖塑料孵化盒中进行，将卵长径的 1/3 埋入孵化基质（水和蛭石质量比 1:1）中。每 5 d 称量孵化盒并向基质中补充因空气蒸发和卵吸收所损耗的水分。新生卵测量后随即进行第一次呼吸代谢的测定，之后每隔 5 d 称 1 次卵的重量并测定其呼吸代谢。测定胚胎的呼吸代谢时使用 Qubit 公司的呼吸仪（RP1LP-FCM Low Range Respiration Package）并在卵所处的孵化温度下进行测定。测定时将卵置于无菌滤纸上，首先测量卵的重量，之后轻轻将卵放入呼吸室，由计算机软件 Logger Pro 3.7 采集并保存数据，在实验结束后进行数据分析，计算卵在呼吸过程中平均产生的二氧化碳量（ml/min）。从新生卵到幼体孵出的时间作为孵化期，记录每枚卵的孵化期。

1.3 幼体的行为和呼吸代谢

测量孵出幼体的形态特征（体长、尾长和体重等）并记录性别。此后，幼蛇所有的行为、呼吸代谢和初次摄食量的测定均在 28℃ 恒温下完成。所有个体在测完形态数据后 12 h 内进行行为表现的测定。幼体行为的测定包括吐信频次和游泳速度。测定吐信频次时用蘸有花露水的棉签置于幼体吻端前 1 cm 处，记录 1 min 内幼体的吐信次数。测定游泳行为时在 1.5 m ×

0.15 m × 0.45 m（长 × 宽 × 高）的跑道内进行，跑道中置入高度 25 cm 的水，一人用毛笔强烈驱赶动物，另一人利用数码相机（松下 NV-DS77）由上而下进行拍摄。拍摄后的视频文件用 MGI ViedoWave 软件（MGI Software, Canada）分析拍摄录像，确定在 25 cm 内不间断的最快游泳速度为疾游速。

行为表现测定完成后的 6 ~ 12 h 内测定新生幼蛇的第一次呼吸代谢（测定方法同胚胎的呼吸代谢测定），此后，将幼蛇饲养在 100 cm × 60 cm × 60 cm（长 × 宽 × 高）的饲养箱内，箱内放置草皮、瓦片等遮蔽物，并提供富含矿物质和维生素的饮用水，将箱子置于 22℃ 恒温室内，箱子的一侧挂一个 200 W 的白炽灯，使箱内形成一个 24 ~ 50℃ 的温度梯度。白炽灯和恒温室照明灯调节光周期为 12 h，每天 07:00 ~ 19:00 时将灯泡开启。幼蛇放入箱内后于翌日 13:00 时用 UT-325 电子温度计测量其泄殖腔温度作为选择体温，选择体温在每一天的同一时间连续重复测量 3 d，计算 3 d 的平均值作为选择体温用于统计分析。此后，将幼蛇饲养在 28℃ 的恒温室（恒温室照明灯调节光周期为 12 h，每天 07:00 ~ 19:00 时开启灯泡）内，养殖过程中只提供富含矿物质和维生素的饮用水，每 5 d 测定一次呼吸代谢，直到第 15 天测定完幼体呼吸代谢后进行初次投食。初次投食前不向幼体提供任何食物，初次投食时，将幼蛇放入 40 cm × 20 cm × 20 cm 塑料盒内，静置 15 min 后投入称量好的乳鼠（大约 15 g），10 min 后将剩余乳鼠取出称重，用实验前投喂给幼蛇的乳鼠重量减去实验结束后未被捕食的乳鼠重量作为该幼蛇的摄食量。并计算不同孵化温度孵出幼体初次摄食个体在各自孵化温度下孵出幼体中的比例和每条幼体的初次摄食量。因实验过程中，有 1 条 28℃ 孵出幼蛇死亡，因此，幼体代谢和摄食实验中只有 22 个样本。

1.4 统计分析

用 R 软件包进行统计分析，所有孵出幼体的行为表现都没有性别差异，因此合并不同性

别的数据进行后续的统计分析。数据作参数统计分析前，分别检验其正态性 (Kolmogorov-Smirnov test) 和方差同质性 (F-max test)。统计分析时为了检验同窝获得的数据是否存在假性重复，我们以母体作为随机因子进行相关检验，结果显示，母体对实验结果无显著影响，因此，统计结果分析时采用单因子方差分析 (one-way ANOVA)、单因子协方差分析 (one-way ANCOVA) 和重复测量方差分析 (repeated measures ANOVA) 检验相关数据；线性回归分析生长时间和体重与呼吸代谢速率的关系。用 Tukey 多重比较检验样本间的差异显著性。文中所有描述性统计值均用平均值 \pm 标准误表示，显著性水平设置为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 孵化温度对孵化成功率和胚胎代谢的影响

王锦蛇母体产卵时间从 7 月 4 日至 7 月 25 日，窝卵数 (11.22 ± 1.29) 枚 (7 ~ 20 枚)，平均窝卵重 (305.11 ± 33.67)g ($197.41 \sim 506.01$ g)。窝卵重 ($r = -0.10$, $t = 0.27$, $df = 7$, $P = 0.80$) 和窝卵数 ($r = 0.14$, $t = 0.39$, $df = 7$, $P = 0.71$) 与母体体长均无显著的线性相关关系。24°C 和 28°C 的卵数和卵重数据见表 1，两组温度下所孵卵的重量无显著差异 (one-way ANOVA: $F_{1,32} = 0.63$, $P = 0.43$)。24°C 和 28°C 分别孵出幼体 12 只和 11 只，平均体重分别为 (25.42 ± 1.44) g ($18.69 \sim 31.37$ g) 和 (25.37 ± 1.89) g ($13.14 \sim 34.28$ g)，平均体长分别为 (37.90 ± 0.75) cm ($34.00 \sim 41.40$ cm) 和 (39.39 ± 0.84) cm (35.20

~ 43.20 cm)。以初始卵重为协变量、孵化温度为因子的 ANCOVA 分析显示：24°C 和 28°C 孵出幼体的体重 ($F_{1,20} = 0.92$, $P = 0.39$) 和体长 ($F_{1,20} = 1.92$, $P = 0.18$) 均无显著差异。两孵化温度下的孵化成功率 ($\chi^2 = 0.05$, $df = 1$, $P = 0.83$) 和性比 ($\chi^2 = 1.17$, $df = 1$, $P = 0.28$) 均无显著差异，但 24°C 下的孵化期更长 (one-way ANOVA: $F_{1,21} = 1080.72$, $P < 0.001$, 表 1)。

回归分析显示，胚胎的代谢速率 (每分钟呼吸产生 CO₂ 的微升数) 与卵重 ($r = 0.48$, $t = 7.79$, $df = 205$, $P < 0.001$) 和孵化时间 ($r = 0.61$, $t = 10.97$, $df = 205$, $P < 0.001$) 均呈正相关。随着孵化时间的延长，卵因吸水而显著增重 (图 1)。但以初始卵重为协变量孵化温度为因子的协方差分析发现，幼体孵出前的终末卵重差异不显著 ($F_{1,20} = 1.54$, $P = 0.23$, 图 1)。汇总孵化 40 d 前的卵重和呼吸代谢数据进行重复方差分析发现，卵重随着孵化时间的延长而增大 ($F_{8,168} = 54.56$, $P < 0.0001$, 图 1)，但不同孵化温度的卵重增重无明显差异 ($F_{1,21} = 310.4$, $P = 0.09$)；呼吸代谢随孵化时间的延长而增大 ($F_{8,168} = 20.82$, $P < 0.001$, 图 2)，28°C 孵化下胚胎的代谢速率显著大于 24°C ($F_{1,21} = 76.60$, $P < 0.001$)，平均值分别为 (7.59 ± 0.43) $\mu\text{l}/\text{min}$ (0.50 ~ 22.55 $\mu\text{l}/\text{min}$) 和 (4.37 ± 0.14) $\mu\text{l}/\text{min}$ (1.28 ~ 8.05 $\mu\text{l}/\text{min}$)。

2.2 孵化温度对孵出幼体呼吸代谢和行为的影响

重复测量方差分析显示，孵化温度对孵出幼体从出生到 15 日龄的体重都没有影响 ($F_{1,20} = 0.06$, $P = 0.81$)，但生长时间对孵出幼体体重

表 1 孵化温度对幼体孵化期和孵化成功率的影响

Table 1 Effects of incubation temperature on incubation length, hatching success and sex ratio of hatchlings

| 孵化温度 (°C) Thermal treatment | 入孵卵数 Number of incubated eggs | 卵重 (g) Egg mass | 孵化期 (d) Duration of incubation | 孵化成功率 (%) Hatching success | 性比 (♀♀/♂♂) Sex ratio |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| 24 | 18 | 27.23 \pm 1.47 (18.56 ~ 36.07) | 74.3 \pm 0.54 (71 ~ 78) | 66.7 (12/18) | 7/5 |
| 28 | 16 | 28.72 \pm 1.11 (23.50 ~ 37.43) | 48.4 \pm 0.58 (46 ~ 53) | 68.8 (11/16) | 3/8 |

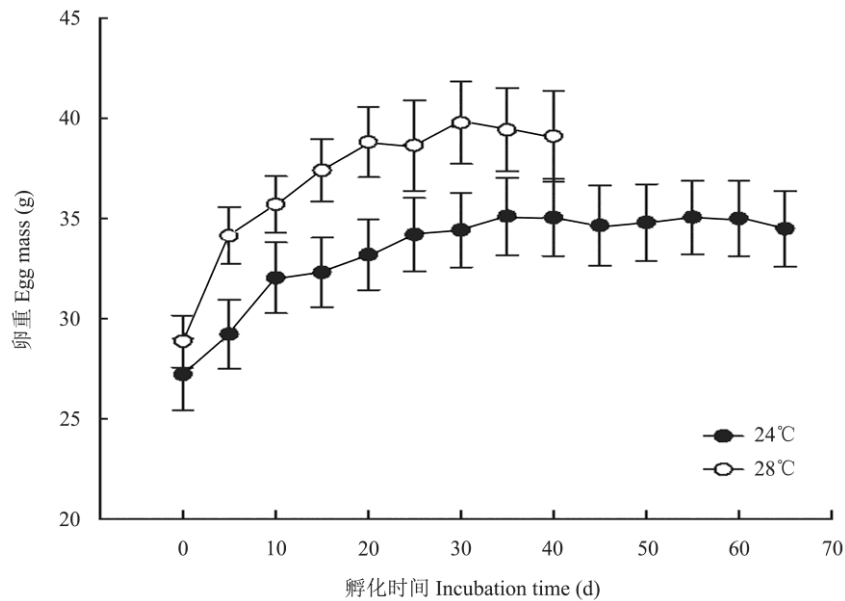


图 1 两孵化温度下卵重随时间变异的趋势图

Fig. 1 Variation trends in egg mass incubated at two temperatures

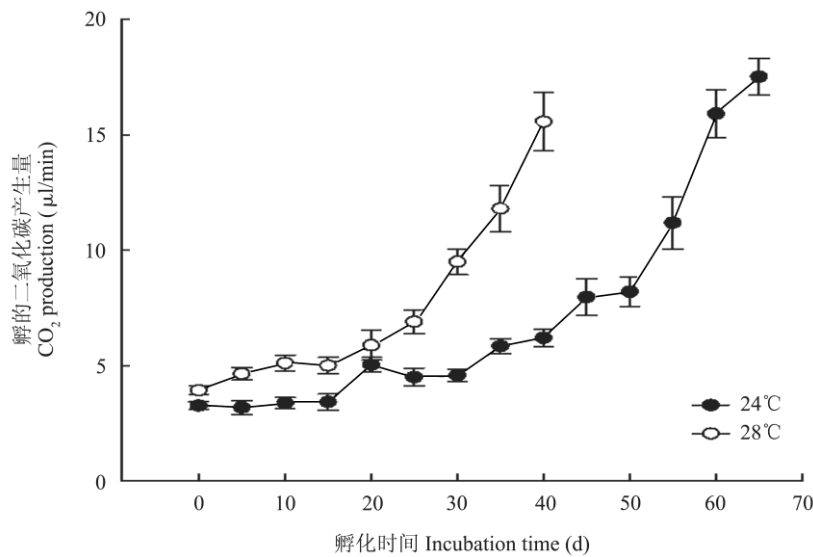


图 2 两孵化温度下卵二氧化碳呼出量随时间变异的趋势图

Fig. 2 Variation trends in CO₂ production of eggs incubated at two temperatures

具有显著影响 ($F_{3,60} = 218.30$, $P < 0.01$), 随着生长时间的延长孵出幼体体重逐渐下降; 孵化温度对孵出幼体从出生到 15 日龄的呼吸代谢存在显著影响 ($F_{1,20} = 7.29$, $P = 0.01$), 但生长时间对孵出幼体的呼吸代谢无显著影响 ($F_{3,60} = 2.10$, $P = 0.11$), 24°C 孵出幼体的呼吸代谢速

率大于 28°C 孵出幼体。24°C 和 28°C 孵化温度下孵出幼体呼出 CO₂ 量分别为 (33.18 ± 3.95) µl/min ($18.70 \sim 13.67$ µl/min) 和 (19.66 ± 2.51) µl/min ($4.66 \sim 31.88$ µl/min), 随着时间的延续两孵化温度下孵出幼体的代谢速率逐渐减少 (图 3)。

孵化温度对孵出幼体的吐信频次 (one-way

ANOVA, $F_{1,21} = 6.28$, $P = 0.02$) 和疾游速 (one-way ANOVA, $F_{1,21} = 4.72$, $P = 0.04$) 影响较显著, 28°C 下孵出幼体的疾游速和吐信频次高于 24°C 下孵出幼体 (图 4)。但孵化温度对选择体温无显著影响 (one-way ANOVA, $F_{1,20} =$

0.05, $P = 0.81$, 图 4)。孵化温度对幼体摄食行为存在显著影响 ($\chi^2 = 6.25$, $df = 1$, $P = 0.01$), 24°C 孵出幼体均未摄食, 28°C 下摄食个体的数目约占该温度下孵出幼体总数的 60.00%, 平均摄食量 (5.24 ± 0.99) g (2.92 ~ 9.55 g)。

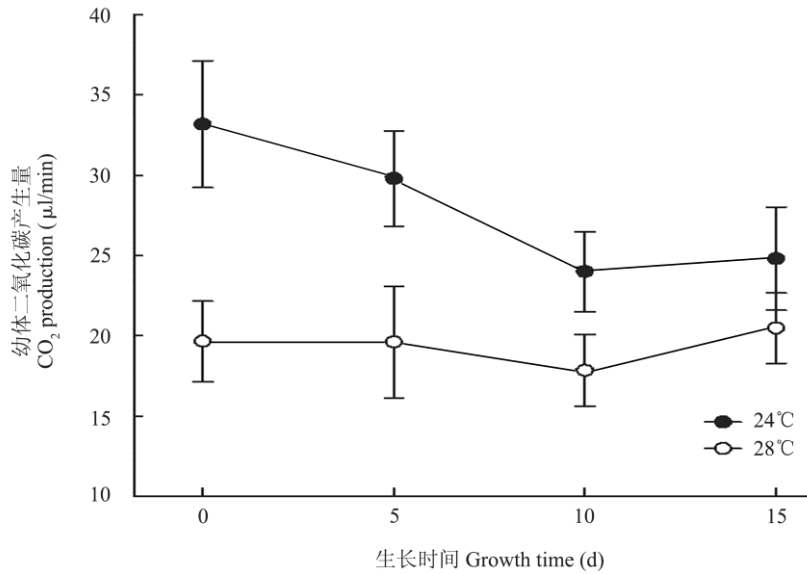


图 3 两孵化温度下孵出幼体二氧化碳呼出量随生长时间变异的趋势图

Fig. 3 Variation trends in CO₂ production of hatchlings incubated at two temperatures

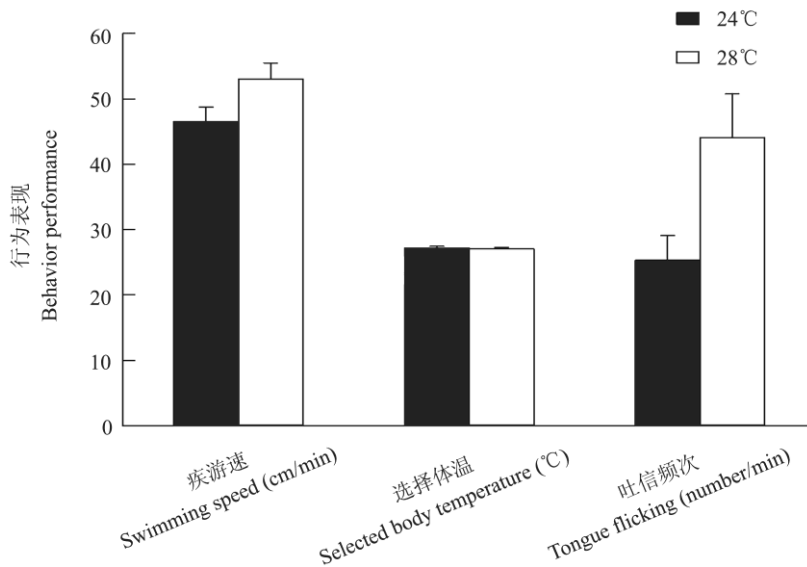


图 4 两孵化温度下孵出幼体的疾游速、选择体温和吐信频次

Fig. 4 Maximum swimming speed, selected body temperature and tongue flicking of hatchlings incubated at two temperatures

3 讨论

温度对卵生爬行动物存在显著影响，孵化期随着温度的升高呈非线性缩短，过高或者过低的孵化温度都会对胚胎产生重要影响，如较高的孵化温度下孵出幼体畸形率要显著高于低温孵出幼体，此外，高温孵出幼体体型较低温孵出幼体小。在温度决定性别物种中，孵化温度还会影响到后代的性别。胚胎时期所经历的热环境也会对孵出幼体的行为产生重要影响，甚至直接影响动物的适合度(Booth et al. 2004, Mickelson et al. 2010, Refsnider 2013, Amiel et al. 2014, Dormer et al. 2016)。Booth 等(2004)在研究孵化温度对海龟(*Chelonia mydas*)和淡水龟(*Emydura signata*)的影响中发现，孵化温度会对孵出后的幼体适合度产生重要影响，在海龟中是通过影响性别决定和游泳能力实现的，26℃孵出后代的适合度低于 28℃和 30℃孵出后代；在淡水龟中，孵化温度对适合度的影响是通过影响后代生长速率体现的，30℃孵出后代的适合度明显高于 27℃和 24℃孵出后代。本研究发现，卵重和呼吸代谢随着孵化时间的延长而增大，28℃下卵的代谢速率大于 24℃。幼体孵出后，24℃孵出幼体的代谢速率大于 28℃孵出个体。28℃孵出幼体的疾游速和吐信频次高于 24℃孵出幼体，但孵化温度对孵出幼体的选择体温无显著影响。此外，28℃孵出幼体有 60%的个体摄食，而 24℃下孵出幼体无摄食个体。根据上述结果看，28℃孵出幼体在疾游速、吐信频次和初次摄食这三个与适合度紧密相关的指标上显著优于 24℃孵出幼体。

生物所处环境的变异可能诱导其表型变异，其中在卵生爬行动物中，研究最多的就是孵化温度所驱动的卵生爬行动物的表型可塑性(Braña et al. 2000, Qu et al. 2011b, Esquerre et al. 2014)。不同孵化温度下，爬行动物孵化期往往随着温度的升高呈非线性缩短，在此期间，因发育时间的不同高孵化温度下的卵增重要显著小于低孵化温度下的卵增重(Ji et al. 2001, Qu

et al. 2011b)。本次实验的孵化温度都较低，因此仅仅检验到了孵化期之间的差异，并未检验出两孵化温度在终末卵重上的差异。但两孵化温度下胚胎的代谢速率存在显著差异，28℃下胚胎的代谢速率显著高于 24℃。爬行动物胚胎代谢受卵的重量、胚胎时期和个体差异的影响，在胚胎发育过程中，胚胎产生的 CO₂量随孵化期的增长而增多，这一现象与胚胎生长过程中能量消耗加剧有密切关系，这一结果在赤练蛇中也得到了验证(孙文佳等 2012)。

孵化温度不仅对胚胎发育造成影响，对后代形态(如大小、形状和体色)和行为(如运动表现和反捕食行为等)都有重要影响。本研究结果显示，在最初的生长过程中，24℃孵出幼体代谢速率较 28℃孵出幼体大，这一结果与双斑锦蛇不同，双斑锦蛇研究结果显示孵化温度对孵出幼体代谢无显著影响(曹梦洁等 2012)。但王锦蛇和双斑锦蛇孵出幼体在没有摄食的情况下，随着生长时间的延长呼吸代谢产生的 CO₂量逐渐减少，这说明这两种蛇在应对不可预见食物资源时都采取了相同的方式，即随着生长时间的延长都是以降低代谢速率的方式来应对未来不可预见食物资源(曹梦洁等 2012)。

在爬行动物中，选择体温是影响爬行动物分布和适合度的重要指标(Angilletta 2009)。和双斑锦蛇(曹梦洁等 2012)及三线石龙子(*Bassiana duperreyi*, Du et al. 2010)一样，不同温度孵出的王锦蛇的选择体温无显著差异。吐信行为是爬行动物最重要的行为之一，它在雄性领域行为、捕食者识别和社交行为中起着至关重要的作用，爬行动物可以通过吐信的方式收集周围环境中的信息并发现猎物，因此吐信、运动表现和摄食等行为都是判定爬行动物适合度的重要标志(Stevenson et al. 1985, Ayers et al. 1997)。28℃孵出王锦蛇幼体的疾游速和吐信频次高于 24℃孵出幼体。温度对孵出幼体运动速度的影响，在爬行动物中有着广泛的研究基础，有的研究结果显示，高温孵出幼体的

最快运动速度高于低温孵出幼体, 如中华鳖 (Du et al. 2003); 有的结果显示, 高温孵出幼体的最快运动速度表现劣于低温孵出幼体, 如北草蜥 (*Takydromus septentrionalis*, Du et al. 2006); 此外, 还有的研究结果显示, 孵化温度对后代运动速度无显著影响, 如捷蜥 (*Lacerta agilis*, Li et al. 2013)。孵化温度对王锦蛇孵出幼体的摄食行为有重要影响, 低温孵出个体没有摄食, 这一结果与双斑锦蛇存在显著差别, 在双斑锦蛇中孵化温度对后代的摄食行为无显著影响 (曹梦洁等 2012)。综合来看, 28°C 孵化温度孵出王锦蛇后代有较高的适合度, 是幼蛇孵化比较适合的温度。

参 考 文 献

- Amiel J J, Lindstroem T, Shine R. 2014. Egg incubation effects generate positive correlations between size, speed and learning ability in young lizards. *Animal Cognition*, 17(2): 337–347.
- Angilletta M J. 2009. *Thermal Adaptation: a Theoretical and Empirical Synthesis*. Oxford: Oxford University Press, 1–302.
- Angilletta M J, Niewiarowski P H, Navas C A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*, 27(4): 249–268.
- Angilletta M J, Winters R S, Dunham A E. 2000. Thermal effects on the energetics of lizard embryos: implications for hatchling phenotypes. *Ecology*, 81(11): 2957–2968.
- Ayers D Y, Shine R. 1997. Thermal influences on foraging ability: body size, posture and cooling rate of an ambush predator, the python *Morelia spilota*. *Functional Ecology*, 11(3): 342–347.
- Ballen C J, Shine R, Olsson M M. 2015. Developmental plasticity in an unusual animal: the effects of incubation temperature on behavior in chameleons. *Behaviour*, 152(10): 1307–1324.
- Blouin-Demers G, Kissner K J, Weatherhead P J. 2000. Plasticity in preferred body temperature of young snakes in response to temperature during development. *Copeia*, 2000(3): 841–845.
- Booth D T. 2006. Influence of incubation temperature on hatchling phenotype in reptiles. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79(2): 274–281.
- Booth D T, Burgess E, Mccosker J, et al. 2004. The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles. *International Congress*, 1275: 226–233.
- Braña F, Ji X. 2000. Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *Journal of Experimental Zoology*, 286(4): 422–433.
- Dormer J, Old J M, van Dyke J U, et al. 2016. Incubation temperature affects development order of morphological features and staging criteria in turtle embryos. *Journal of Zoology*, 299(4): 284–294.
- Du W G, Elphick M, Shine R. 2010. Thermal regimes during incubation do not affect mean selected temperatures of hatchling lizards (*Bassiana duperreyi*, Scincidae). *Journal of Thermal Biology*, 35(1): 47–51.
- Du W G, Ji X. 2003. The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling softshelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. *Journal of Thermal Biology*, 28(4): 279–286.
- Du W G, Ji X. 2006. Effects of constant and fluctuating temperatures on egg survival and hatchling traits in the northern grass lizard (*Takydromus septentrionalis*, Lacertidae). *Journal of Experimental Zoology*, 305(1): 47–54.
- Esquerre D, Keogh J S, Schwanz L E. 2014. Direct effects of incubation temperature on morphology, thermoregulatory behaviour and locomotor performance in Jacky dragons (*Amphibolurus muricatus*). *Journal of Thermal Biology*, 43: 33–39.
- Ji X, Du W G. 2001. The effects of thermal and hydric environments on hatching success, embryonic use of energy and hatchling traits in a colubrid snake, *Elaphe carinata*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 129(2/3): 461–471.
- Ji X, Du W G, Li H, et al. 2006. Experimentally reducing clutch size reveals a fixed upper limit to egg size in snakes, evidence from the king ratsnake, *Elaphe carinata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(4): 474–478.
- Ji X, Sun P Y, Fu S Y, et al. 1997. Utilization of energy and nutrients in incubating eggs and post-hatching yolk in a colubrid snake, *Elaphe carinata*. *Herpetological Journal*, 7(2): 7–12.

- Lang J W. 1987. Crocodylian thermal selection // Webb G J W, Manolis S C, Whitehead P J. Wildlife Management: Crocodiles and Alligators. Sydney: Surrey Beatty and Sons Ltd, 301–306.
- Li H, Zhou Z S, Ding G H, et al. 2013. Fluctuations in incubation temperature affect incubation duration but not morphology, locomotion and growth of hatchlings in the sand lizard *Lacerta agilis* (Lacertidae). *Acta Zoologica*, 94(1): 11–18.
- Mickelson L E, Downie J R. 2010. Influence of incubation temperature on morphology and locomotion performance of Leatherback (*Dermochelys coriacea*) hatchlings. *Canadian Journal of Zoology*, 88(4): 359–368.
- Odonnell R P, Arnold S J. 2009. Evidence for selection on thermoregulation: effects of temperature on embryo mortality in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Copeia*, 2005(4): 930–934.
- Qu Y F, Li H, Gao J F, et al. 2011a. Thermal preference, thermal tolerance and the thermal dependence of digestive performance in two *Phrynocephalus* lizards (Agamidae), with a review of species studied. *Current Zoology*, 57(6): 684–700.
- Qu Y F, Li H, Gao J F, et al. 2011b. Embryonic thermosensitivity and hatchling morphology differ between two coexisting lizards. *Acta Oecologica*, 37(4): 375–380.
- Qu Y F, Li H, Gao J F, et al. 2011c. Geographic variation in reproductive traits and trade-offs between size and number of eggs in the king ratsnake, *Elaphe carinata*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 104(3): 701–709.
- Qu Y F, Lu H L, Li H, et al. 2014. Incubation temperature fluctuation does not affect incubation length and hatchling phenotype in the Chinese skink *Plestiodon chinensis*. *Journal of Thermal Biology*, 46: 10–15.
- Qualls C P, Andrews R M. 1999. Cold climates and the evolution of viviparity in reptiles: cold incubation temperatures produce poor-quality offspring in the lizard, *Sceloporus virgatus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 67(3): 353–376.
- Refsnider J M. 2013. High thermal variance in naturally incubated turtle nests produces faster offspring. *Journal of Ethology*, 31(1): 85–93.
- Runemark A, Gabirot M, Svensson E I. 2011. Population divergence in chemical signals and the potential for premating isolation between islet- and mainland populations of the Skyros wall lizard (*Podarcis gaigeae*). *Journal of Evolutionary Biology*, 24(4): 795–809.
- Stevenson R D, Peterson C R, Tsuji J S. 1985. The thermal dependence of locomotion, tongue flicking, digestion, and oxygen consumption in the Wandering Garter Snake. *Physiological Zoology*, 58(1): 46–57.
- Wu Y Q, Wang R F, Lin L H, et al. 2014. Microsatellite primer development for the king ratsnakes *Elaphe carinata* (Colubridae). *Conservation Genetics Resources*, 6(1): 211–212.
- Yanosky A A, Iriart D E, Mercolli C. 1993. Predatory behavior in *Tupinambis teguixin* (Sauria: Teiidae). I. Tongue-flicking responses to chemical food stimuli. *Journal of Chemical Ecology*, 19(2): 291–299.
- 曹梦洁, 祝思, 蔡若茹, 等. 2012. 孵化温度对双斑锦蛇初生幼体行为和呼吸代谢的影响. *生态学报*, 32(21): 6836–6841.
- 孙文佳, 俞霄, 曹梦洁, 等. 2012. 孵化温度对赤链蛇胚胎代谢和幼体行为的影响. *生态学报*, 32(18): 5924–5929.
- 赵尔宓. 1998. 中国濒危动物红色名录: 两栖和爬行动物. 北京: 科学出版社.