

温度对黄喉拟水龟性别决定的影响

朱新平^{1,2,3}, 陈永乐³, 魏成清³, 刘毅辉³, 桂建芳^{1,2*}(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100038;
3. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广州 510380)

摘要:研究了不同孵育温度对黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica* Cantor) 性别决定的影响, 同时分析了孵育温度对胚胎发育及成活率的影响。实验设置的 3 个孵化温度为 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 和 $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。每一温度指标下设置 40 枚受精卵。在实验温度内, 胚胎的发育速度随着孵化温度的升高而加快, 所用的孵育时间也越来越短。孵化累积温度 CTUs 在 25°C 时最高, 在 29°C 时最低, 而 33°C 时则居中, 在 25°C 和 29°C 时, 孵化成活率较高, 均达到 97.5%。在 33°C 时孵化成活率只有 67.5%, 而在孵出的稚龟中亦有一定数量的畸形龟, 累积孵化温度也高于 29°C 时的 CTUs, 说明 33°C 的孵育温度对胚胎发育有不利影响, 预示 33°C 已临近其胚胎发育的存活阈 (Survival threshold)。在 25°C 时, 雄性子代占优势, 雌性率为 23.7%; 在 33°C 时, 雌性子代占绝对优势, 雌性率为 94.7%; 在 29°C 时, 性比达到平衡, 雌性率为 50%。经 X^2 检验, 在 25°C 及 33°C 时的性比与依赖概率估计的性比 (1:1) 有极显著的差异 ($p < 0.005$), 这种显著的偏离说明黄喉拟水龟的性别决定属于 TSD 机制, 而且可能属于其中的 TSD I 型, 即高温产生雌性子代, 低温产生雄性子代。而 29°C 可能是黄喉拟水龟性别决定的临界温度。

关键词: 温度; 黄喉拟水龟; 性别决定

文章编号: 1000-0933(2006)02-0620-06 中图分类号: Q143, Q178.1, Q968 文献标识码: A

Temperature effects on sex determination in yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor)ZHU Xin-Ping^{1,2,3}, CHEN Yong-Le³, WEI Cheng-Qing³, LIU Yi-Hui³, GUI Jian-Fang^{1,2*} (1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100038, China; 3. Pearl River Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(2): 620 ~ 625.

Abstract: Genotypic sex determination (GSD) and temperature-dependent sex determination (TSD) coexist in reptiles. TSD means that sex is determined after fertilization by the incubation temperature that the embryo experiences during a limited window of time, called the thermosensitive period (TSP). Most of turtles exhibit TSD and have two patterns: TSD I and TSD II. In TSD I, females are produced at high temperatures and males at low ones. In TSD II, females are produced at high and low temperatures and males at intermediate ones. In some species of turtles, such as *Clemys insculpta*, *Emydura singnata*, however, their sexes are not affected by incubation temperatures, and are determined by genotypes.

The Asian yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor) is a member of the family *Emydidae*, native to the southeastern Asia. In China, it is distributed in Guangxi, Guangdong, Hainan, Fujian, Anhui, Zhejiang, Jiangsu, and Taiwan. Owing to

基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助项目 (2004CB117401); 广东省海洋与渔业局重点科技资助项目 (2001A09); 中国科学院淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题基金资助项目

收稿日期: 2004-06-02; **修订日期:** 2005-06-09**作者简介:** 朱新平 (1964 ~), 男, 湖南邵阳人, 博士, 副研究员, 主要从事种质资源与遗传育种研究. E-mail: xinpingshu@tom.com

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: jfgui@ihb.ac.cn

Foundation item: The project was supported by the National Major Basic Research Program (No. 2004CB117401), The Key Research Program (No. 2001A09) of Ocean and Fishery Bureau of Guangdong Province and the Opening Foundation of the State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology of Chinese Academy of Sciences

Received date: 2004-06-02; **Accepted date:** 2005-06-09**Biography:** ZHU Xin-Ping, Ph. D., Associate professor, mainly engaged in genetic resource and genetic breeding. E-mail: xinpingshu@tom.com

the higher values for food and remedy than other species of turtles, greater attention has been paid to aquaculture of the turtle. But there are not any reports of the research on sex determination in yellow pond turtle. In order to understand the sex determination pattern in yellow pond turtle, the sex phenotypes on different incubation temperature were observed and the mechanism of sex determination was analyzed firstly by using rearing propagate population in this paper. Eggs were divided into three groups (40 eggs per group) and incubated under three different temperatures, such as $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, and $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The embryonic developmental rates increase as the incubation temperatures rise at the three different temperatures. Cumulative temperature units (CTUs) (degree·hours) was highest at $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, lowest at $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, and middle at $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. At $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ and $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, embryonic survival rate was 97.5%, but only 67.5% at $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ and with 11.1% abnormality. The data indicated that higher temperature at $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ could affect embryonic development, because the CTUs at $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ was higher than that at $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, and the survival rate was lower than that at $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ and at $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The resulted females increase as the incubation temperatures rise. The percentage of females was 23.7% and 50% at $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ and at $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, whereas the ratio moved up to 94.7% at $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The data indicated that the sex ratios produced at $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ and $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ was significantly different from the sex ratios (1:1) ($p < 0.005$) by X^2 test, and suggested that yellow pond turtle should be temperature-dependent sex determination (TSD) mechanism, and belong to the TSD I pattern in which females are produced at high temperatures and males at low ones. The pivotal temperature of yellow pond turtle is likely to be 29°C .

Key words: temperature; yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor); sex determination

黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica* Cantor) 俗称石龟、石金钱及香乌龟。分类上隶属龟鳖目、龟科、拟水龟属。在国内主要分布在广西、广东、海南、福建、浙江、江苏、安徽、台湾^[1]等地,国外分布在越南。但其自然资源有限,已成为濒危物种^[2],进入了“濒危野生动植物种国际贸易公约 (CITES)”附录 II 的名单,也是广东省保护的水产动物之一,近年来已逐渐受到人们的关注^[3-6]。

Zhu 等^[3, 7]曾对黄喉拟水龟在自然界中性别比率进行过探讨。在 1998 年繁殖季节,对 800 多只繁殖种龟群体周年繁殖并在自然温度孵育的全部稚龟进行养殖,3 年后共存活 521 只,检查性别,发现 ♀:♂ = 1.13:1,和预计的 1:1 的性比以及与自然中许多动物的性比相符。在爬行动物中,基因型决定性别 (genotypic sex determination, GSD) 和温度依赖决定性别 (temperature-dependent sex determination, TSD) 两种类型是同时存在的^[8-14]。在 TSD 中,受精卵在孵化期间,胚胎要经过一个特定的温度敏感期 (thermosensitive period, TSP)^[15, 16],其性别由温度的高低而决定。大部分龟类存在 TSD 机制^[17]。它们有两种 TSD 类型:一种是高温产生雌性,低温产生雄性,称为 TSD I 型。另一种是高温和低温产生雌性,中温产生雄性^[9, 11],称为 TSD II 型。有少数种类如 *Clemys insculpta*、*Emydura singnata* 等其性别不受温度决定,而是由其他遗传机制决定^[8]。

在国内,有关龟鳖动物性别决定的研究较少,仅在乌龟^[18],中华鳖^[19, 20]方面有所报道。有关黄喉拟水龟性别决定机制的研究工作还未见相关报道。为了探讨黄喉拟水龟的性别决定类型,本文利用人工饲养条件下的繁殖群体,观察研究了不同孵化温度下黄喉拟水龟的性别表型,分析了黄喉拟水龟的性别决定机制。

1 材料与方法

1.1 实验时间、地点与材料

实验于 2002 年繁殖季节 4~10 月,在广州珠江水产研究所龟类繁育场进行,实验黄喉拟水龟亲龟为购自广西钦州的越南、广西种群,收集的实验龟卵为产出 2~3d 的受精卵,胚盘明显、正常。

1.2 人工孵化

本实验设置 3 个孵化温度:为 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, $(29 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。每一温度指标下设置 40 枚受精卵,用透气的塑料箱装载直径为 0.3~0.6mm 的沙粒作为孵化基质。砂粒在孵化前经过日光曝晒。

孵化箱底铺 5cm 厚砂粒,放入受精卵,覆盖 2cm 砂层,孵化管理参照 Zhu 等^[3]方法,孵化箱放入恒温培养箱 (SANYO, JAPAN),由恒温培养箱控制温度。在孵化箱砂层 2cm 处插入水银温度计,以此水银温度计为准控

制孵化温度。

1.3 数据统计及子代性别鉴定

记录每一个稚龟的孵化时间,统计不同温度下胚胎发育时间以及孵化成活率,稚龟出生后,按不同温度分开养育。先用塑料盘暂养,稍大用小水池饲养,直至 2004 年 5 月进行性别鉴定,性别判断按 Zhu 等^[7]的方法进行,同时解剖数只黄喉拟水龟,以进行验证。性比用生物统计学中的卡平方(X^2)进行测验。

2 结果

2.1 温度对胚胎发育及孵化成活率的影响

在设定孵化温度条件下统计胚胎发育的速率,也即孵化时间的倒数,累积温度以及成活率,也即孵化率,结果见表 1。

表 1 不同孵育温度下的胚胎发育速率及成活率

Table 1 The survival rate and development rate of embryos at different incubation temperatures						
孵育温度(℃) Incubation temperatures	孵卵数 Total of eggs	孵化时间 ^① Incubation time (d)	发育速率 ^② Development rate	孵出稚龟 Hatchlings (No.)	孵化成活率 Incubation survival rate(%)	累积温度 ^③ Cumulative temperature units (CTUs)
25 ± 0.5	40	108.10 ± 1.82	0.009	39	97.5	64.86 × 10 ³
29 ± 0.5	40	69.44 ± 1.34	0.014	39	97.5	48.33 × 10 ³
33 ± 0.5	40	64.93 ± 2.36	0.015	27	67.5	51.42 × 10 ³

①孵化时间为卵产出的时间到仔龟孵出的时间区间 Incubation time: From oviposition to hatching; ②发育速率:孵化时间⁻¹ Developmental rate: Incubation time⁻¹; ③累积温度:孵化时间与温度的乘积(℃·h) Cumulative temperature units (CTUs): Incubation time × temperatures

从表 1 可以看出,在实验温度内,胚胎的发育速度随着孵化温度的升高而加快,所用的孵育时间也越来越短。孵化累积温度在 25℃时最高,在 29℃时最低,而 33℃时则居中,在 25℃和 29℃时,孵化成活率较高,均达到 97.5%。在 33℃时孵化成活率只有 67.5%,在孵出的稚龟中有 3 只畸形龟,畸形率达到 11.1%,而其他温度组没有这种情况。说明 33℃的孵育温度对胚胎的发育有不利的影响。同时累积孵化温度也高于 29℃时的温度,这可能预示着 33℃已临近其胚胎发育的存活阈(Survival threshold)。

2.2 温度对性比的影响

2002 年孵出的稚龟经过将近两年的人工养育,已可分辨第二性征,有些不确定的则通过解剖确定性别。不同孵育温度下,孵出仔龟的性比结果见表 2。

表 2 不同孵育温度产生子代的性比

Table 2 The sex ratio of hatchlings at different incubation temperatures						
孵育温度(℃) Incubation temperatures	孵卵数 No. of eggs	孵出稚龟数 No. of Hatchlings	存活幼龟数 No. of juvenile turtles	雌性数 No. of females	雄性数 No. of males	性比*(%) Sex ratio
25 ± 0.5	40	39	38	9	29	23.7
29 ± 0.5	40	39	36	18	18	50
33 ± 0.5	40	27	19	18	1	94.7

* 性比;雌性率(%) Sex ratio: % females

从表 2 的结果可以看出,在 25℃时,雄性子代占优势,在 33℃时,即雌性子代占绝对优势,在 29℃时,性比达到平衡。经 X^2 检验,在 25℃及 33℃时的性比与依赖概率估计的性比(1:1)有极显著的差异($p < 0.005$), X^2 分别值为 9.5,13.5。这种显著的偏离说明黄喉拟水龟的性别决定属于 TSD 机制,而且可能属于其中的 TSD I 型,即高温产生雌性子代,低温产生雄性子代。鉴于 29℃产生 1:1 的雌雄比例,这预示 29℃可能是黄喉拟水龟性别决定的临界温度。在 33℃,孵出的稚龟的成活率也较 25℃和 29℃条件的低,说明 33℃不但对胚胎发育不利,也不利于稚龟以后的生存。

3 讨论

性比进化的理论模型所关注的是性别的比例和雄性与雌性资源分配的机制^[21, 22], 尽管 1:1 的性比是由依赖概率的选择所预期的^[23], 而大多数的实验数据也支持这种预想, 但还是有一些值得注意的例外情况, 如温度依赖决定性别的类型就会产生偏离的性比。性比, 如其他一些生命历史元素一样, 是直接影响群体的重要参数, 因此, 了解 TSD 的机制是非常重要的。

温度依赖的性别决定机制(TSD)是一个令人感兴趣但又难以理解的性别决定方式, 这种机制普遍存在于爬行动物中^[8-13, 17, 24]。TSD 是一种环境决定性别机制, 其潜在地产生偏离的性比, 相异于预期的 1:1 性比^[23], 拥有影响种群数量的显著潜力。

在研究 TSD 时, 胚胎发育速率、温度以及性别可以认为是同时发生作用的^[25, 26]。Valenzuela^[27] 在 *Podocnemis expansa* 龟中的研究表明, 胚胎的发育速率与孵育温度及 CTUs 成相关关系, 温度高发育就快, 所需的 CTUs 就小。在黄喉拟水龟的实验中, 胚胎的发育速率与孵育温度及 CTUs 的关系基本符合这种规律, 但在 33℃ 孵育时, CTUs 却高于 29℃ 时的 CTUs。这说明胚胎的发育速率是有一定限度的, 达到发育极限后, 温度的升高, 不但不能提高胚胎发育速率, 还会对胚胎的发育造成不利影响, 结果是胚胎成活率降低, 畸形率升高。这可能预示 33℃ 已临近黄喉拟水龟胚胎发育的存活阈。这些发育速率和性别的差异可能与不同温度下基因的表达差异相关, 因为胚胎发育是基因差异表达的结果^[28, 29]。

本实验的结果表明, 黄喉拟水龟象许多其他龟种一样, 性别决定属于 TSD 机制, 在其核型研究中^[30], 未发现性染色体的存在, 基本可以排除性别由异形染色体决定的可能。不同的龟类, 其雌雄转换的临界温度(♀:♂ = 1:1)不同, 一般在 25 ~ 32.6℃^[9, 11, 27, 31] 之间变化, 黄喉拟水龟的临界温度可能在 (29 ± 0.5)℃。

由于性别决定属于环境决定类型, 有可能产生较大的性比偏离, 而性比过于偏离, 对种群的生存是不利的。虽然黄喉拟水龟的性别决定为环境决定类型, 但为何在自然温度下其群体的性比却没有发生大的偏差呢? 在 1998 年繁殖季节, 在人工饲养条件下, 利用 872 只繁殖种龟群体, 其中雌龟 452 只, 雄龟 420 只, 从 1998 年 4 ~ 8 月份, 共产下 1176 枚卵, 自然温度孵育共孵出 708 只稚龟, 经养育至 2002 年 3 月, 共存活 521 只, 统计性比, ♀:♂ = 1.13:1, 即雌性占 53%, 雄性占 47%^[3, 7]。现在, 根据研究结果, 可以较好地解释为何在自然温度下, 黄喉拟水龟的性别比例在 1:1 左右:

(1) 黄喉拟水龟每年的产卵期为 4 ~ 8 月份。1998 年 4 月的产卵量占总量的 1.8%, 5 月为 29.8%, 6 月为 46.5%, 7 月为 17.5%, 8 月为 4.1%。高峰期在 6 月^[3]。

(2) 根据 1999 年和 2000 年两年的统计, 1999 年 4 ~ 8 月份每月产卵的受精率为: 59%、85.8%、80.6%、60.9%、50.6%, 2000 年为 63.6%、81.9%、86.9%、63.2%、40%。5、6 月份的受精率最高, 7 月份次之, 8 月份的受精率则最低^[4]。

(3) 1998 年 5 月上旬产的龟卵平均需要 86.2d 才孵出稚龟, 5 月中旬的则要 80.3d, 6 月中旬的为 73.5d, 6 月下旬的仅 63.5d^[3]。

(4) 由广东省气候应用研究所提供的温度资料表明, 1988 年广州市 4 ~ 10 月平均气温是: 4 月为 24.4℃, 5 月为 25.9℃, 6 月为 27.5℃, 7 月为 28.8℃, 8 月为 29.4℃, 9 月为 27.2℃, 10 月为 25.4℃。

(5) 根据本文的表 1 和表 2, 在实验室, 29℃ 恒温孵育需要 69.4d 孵出稚龟, 此时产生约 1:1 的性比。

黄喉拟水龟的繁殖群体在一年中产的大部分卵是在 6、7、8 三个月孵化的。此时的孵育温度及稚龟孵出时间与在实验室 29℃ 恒温孵育条件下的结果相似。这些数据可能说明了这样一个事实, 即在自然选择下, 黄喉拟水龟虽然属于 TSD 机制, 但其适应了其生活环境的温度, 其雌雄分化的临界温度刚好选择在繁殖季节的平均温度范围内, 而黄喉拟水龟的产卵高峰期在 6 月份正是体现了对环境的适应。因此, 其群体的性比基本保持均衡, 这无疑有利于种群的繁衍。只要自然气候不急剧变化, 这个物种的性比就不会产生太大的偏离, 因性别偏离导致种群灭亡的因素就可以排除。

由于条件限制, 未能多设几组温度指标。但就本实验的结果分析, 可以初步推断黄喉拟水龟属于 TDS I

型,即高温产生雌性,低温产生雄性。对黄喉拟水龟性别决定机制的了解,可以加深对这一濒危物种的认识,在其保护管理中可以采用人工孵育的方式,有选择地扩大雌性群体,从而扩大整个物种种群,达到物种保护的目。而在生产实践中,可以选择 29℃ 进行孵育,这时孵化率高,而所需的 CTUs 最小。或者在 25℃ 孵育,产生高比例的雄性,由于雄性生长快而个体大^[7],通过人工养殖,可以有效地提高经济效益。

References:

- [1] Zhao E M. Studies on taxonomy and distribution of Chinese Chelonians. Sichan Journal of Zoology, 1997, 15(Suppl): 1 ~ 26.
- [2] Zhao E N. The red book about highly danger animals in China. Amphibians and Reptiles. Beijing, Science Presss, 1998. 120 ~ 121.
- [3] Zhu X P, Chen Y L, Wei C Q, et al. Reproduction of yellow pond turtle, *Mauremys mutica*. Acta Hydrobiol Sinica, 2001, 25(5): 454 ~ 460.
- [4] Zhu X P, Chen Y L, Wei C Q, et al. Effects of artificial rearing on fecundity of *Mauremys mutica* Cantor. Journal of Fishery Sciences of China, 2001, 8(2): 52 ~ 54.
- [5] Zhu X P, Chen Y L, Wei C Q, et al. Growth of one-year-old Asian yellow pond turtle (*Mauremys mutica* Cantor). Journal of Dalian Fisheries University, 2001, 16(1): 18 ~ 22.
- [6] Zhu X P, Chen Y L, Liu Y H, et al. Comparative study of the growth of *Mauremys mutica*, *Cuora trifasciata* and *Chlyre serpentina*. Journal of Fisheries of China, 2001, 25 (6): 507 ~ 511.
- [7] Zhu X P, Chen Y L, Wei C Q, et al. Discrepancies of Male and Female *Mauremys mutica* in Growth and Shape. Chinese Aquiculture Science, 2003, 10 (4): 434 ~ 436.
- [8] Bull J J. Sex determination in reptiles. The Quarterly Review of Biology, 1980, 55: 3 ~ 21.
- [9] Ewert M A, and Nelson C E. Sex determination in turtles; diverse patterns and possible adaptive values. Copeia, 1991, 1991: 50 ~ 69.
- [10] Janzen F J, and Paukstis G L. Environmental sex determination in reptiles; ecology, evolution and experimental design. The Quarterly Review of Biology, 1991, 66: 149 ~ 179.
- [11] Ewert M A, Jackson D R and Nelson C E. Patterns of temperature sex determination in turtles. The Journal of Experimental Zoology, 1994, 270: 3 ~ 15.
- [12] Viets B E, Ewen M A, Talent L G, et al. Sex-determining mechanisms in squamate reptiles. Journal of Experimental Zoology, 1994, 270: 45 ~ 56.
- [13] Lang J W and Andrews H V. Temperature-dependent sex determination in Crocodilians. Journal of Experimental Zoology, 1994, 270: 28 ~ 44.
- [14] Wibbels T, Bull J J and Crews D. Temperature-dependent sex determination; a mechanistic approach. The Journal of Experimental Zoology, 1994, 270: 71 ~ 78.
- [15] Bull J J. Evolution of sex determining mechanisms. Menlo Park: Benjamin Cummings, California. USA, 1983.
- [16] Mrosovsky N and Pieau C. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. Amphibia-Reptitia, 1991, 12: 169 ~ 179.
- [17] Gui J F. Sex determination in reptiles. Trend in Biological Science, 1984, (2): 8 ~ 14.
- [18] Hou L. Incubation temperatures and sex of *Chinemys reevesii*. Journal of Amphibians and Reptiles, 1985, 4(2): 130.
- [19] Nie L W, Guo C W, Wang M, et al. Sex determination mechanism of *Trionyx sinensis*. Chin J Appl Environ Biol., 2001, 7(3): 258 ~ 261.
- [20] Zhu D Y, Sun X Z. Sex determination in *Trionyx sinensis*. Chinese Journal of Zoology, 2000, 35(6): 37 ~ 38.
- [21] Karlin S and S Lessard. Theoretical studies on sex ratio evolution. Princeton: Princeton University Press, New Jersey. USA, 1986.
- [22] Bulmer M. Theoretical evolutionary ecology. Sunderland: Sinauer Associates, Massachusetts, USA, 1994.
- [23] Fisher R A. The genetical theory of natural selection. Oxford: Oxford University Press, UK, 1930.
- [24] Shine R. Why is sex determined by nest temperature in many reptiles? Trends in Ecology and Evolution, 1999, 14: 186 ~ 189.
- [25] Pieau C. Modalities of the action of temperature on sexual differentiation in field-developing embryos of the European pond turtle *Emys orbicularis* (Emydidae). Journal of Experimental Zoology, 1982, 220: 353 ~ 360.
- [26] Webb G J W and Cooper-Preston H. Effects of incubation temperature on crocodiles and evolution of reptilian oviparity. American Zoologists, 1989, 29: 953 ~ 971.
- [27] Valenzuela N. Constant, shift, and natural temperature effects on sex determination in *Podocnemis expansa* turtles. Ecology, 2001, 82(11): 3010 ~ 3024.
- [28] Shi Y, Liu H, Xia J, et al. Sreen for stage-specific expression genes between tail bud stage and heartbeat beginning stage in embryogenesis of gynogenetic silver crucian carp. Cell Research, 2002, 12(2): 133 ~ 142.
- [29] Liu J, Shi Y H, Ying J, et al. The cloning and characterization of two gene related to protein synthesize in gebil carp. Acta Hydrobiologica Sinica 2003, 27(5): 512 ~ 520.
- [30] Zhu X P, Chen Y L, Zhang J, et al. An Analysis of DNA Content of *Mauremys mutica*' cell nucleus. Zoology Research, 2004, 25(2): 177 ~ 180.
- [31] Valenzuela N, R Botreo, and E Martinez. Field study of sex determination in *Podocnemis expansa* from Colombian Amazonia. Herpetologica, 1997, 53:

390 ~ 398.

参考文献:

- [1] 赵尔宓. 中国龟鳖动物的分类与分布研究. 四川动物, 1997, 15(增刊): 1 ~ 26.
- [2] 赵尔宓. 中国濒危动物红皮书. 两栖类和爬行类. 北京: 科学出版社, 1998. 120 ~ 121.
- [3] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟的繁殖生物学研究. 水生生物学报, 2001, 25(4): 454 ~ 460.
- [4] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 人工饲养对黄喉拟水龟繁殖力的影响. 中国水产科学, 2001, 8(2): 52 ~ 54.
- [5] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟一龄龟生长的研究. 大连水产学院学报, 2001, 16(1): 18 ~ 22.
- [6] 朱新平, 陈永乐, 刘毅辉, 等. 黄喉拟水龟、三线闭壳龟、鳄龟的生长比较. 水产学报, 2001, 25(6): 507 ~ 511.
- [7] 朱新平, 陈永乐, 魏成清, 等. 黄喉拟水龟雌雄生长及形态差异. 中国水产科学, 2003, 10(4): 434 ~ 436.
- [17] 桂建芳. 爬行动物的性别决定. 生物科学动态, 1984, (2): 8 ~ 14.
- [18] 侯陵. 孵化温度与乌龟的性别. 两栖爬行动物学报, 1985, 4(2): 130.
- [19] 聂刘旺, 郭超文, 汪鸣, 等. 中华鳖的性别决定机制. 应用与环境生物学报, 2001, 7(3): 258 ~ 261.
- [20] 朱道玉, 孙西寨. 中华鳖的性别决定. 动物学杂志, 2000, 35(6): 37 ~ 38.
- [29] 刘军, 石耀华, 尹隽, 等. 银鲫两个蛋白合成相关基因全长 cDNA 的克隆及其特征分析. 水生生物学报, 2003, 27(5): 512 ~ 520.
- [30] 朱新平, 陈永乐, 张菁, 等. 黄喉拟水龟细胞核 DNA 含量的分析. 动物学研究, 2004, 25(2): 177 ~ 180.

加入台湾华艺 CEPS 中文电子期刊服务声明

《生态学报》自 2004 年 1 月起, 加入台湾中文电子期刊服务——思博网(CEPS)。中文电子期刊服务——思博网是目前台湾地区最大的期刊全文数据库, 其访问地址为: www.ceps.com.tw。自此, 读者可以通过这一网址检索《生态学报》于 2004 年起各期的全文。

由于《生态学报》被 CEPS 收录, 故凡向本刊投稿者, 均视为其文稿刊登后可供思博网(CEPS)收录、转载并上网发行; 其作者文章著作权使用费与稿酬一次付清, 本刊不再另付其它报酬。

请各位继续支持本刊, 谢谢!