

四眼斑水龟低温胁迫条件下体重与形态特征的初步研究

贺斌, 刘宇翔, 史海涛*, 汪继超, 杨勇, 王宇, 辛媛媛

(海南师范大学生物系, 海口 571158)

摘要: 在海南的正常温度下, 四眼斑水龟 (*Sacalia quadriocellata*) 在人工饲养环境中无冬眠现象, 也未观察到繁殖行为。为研究冬眠对四眼斑水龟繁殖的影响, 于 2004 年 12 月~2005 年 2 月对其进行低温胁迫实验。选取 29 只成体四眼斑水龟分成 2 组, 实验组 9♀5♂ 共 14 只进行低温处理, 在 $8.46 \pm 1.61^{\circ}\text{C}$ 干燥环境中保持 32 天; 对照组 10♀5♂ 共 15 只在正常条件下饲养。结果表明: 低温胁迫后, 实验组平均体重减小 $8.68 \pm 2.45\%$, 雌雄差异不显著; 雄性个体背甲宽从 $8.55 \pm 0.26\text{cm}$ 减小到 $8.46 \pm 0.22\text{cm}$, 差异显著 ($P < 0.05$); 雌性个体背甲长从 $12.97 \pm 0.80\text{cm}$ 减小到 $12.94 \pm 0.81\text{cm}$, 差异显著 ($P < 0.05$); 雌雄四眼斑水龟甲壳表面积相对低温胁迫前均减小; 对照组龟养殖于常温下, 甲壳无显著变化, 两组龟体重变化量差异极显著 ($P < 0.01$)。影响失重率主要因素是胁迫时间, 环境温度对失重呈显著线性正相关 ($r = 0.811$, $P < 0.05$); 形态特征的变化可能与繁殖机制、代谢有关。

关键词: 四眼斑水龟; 低温胁迫; 形态特征; 肥满度

中图分类号: Q 959.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083 (2006) 02-0357-04

Preli nary Study on Weight and Morphological Characteristics under Low Temperature Stress in *Sacalia quadriocellata*

HE Bin, LIU Yu xiang, SHI Hai tao*, WANG Ji chao, YANG Yong, WANG Yu, XI N Yuan yuan

(Department of Biology, Hainan Normal University, Haikou 571158)

Abstract : 29 *Sacalia quadriocellata* were randomly divided into 2 groups for studying the relationship between reproduction and hibernation from December 2004 to February 2005. The test group (9♀5♂) brought in the temperature of $8.46 \pm 1.61^{\circ}\text{C}$ for 32 days, and control group (10♀5♂) under normal environment. The results were found as follows: After low temperature stress, the weight of the turtles in experiment group decreased by $8.68 \pm 2.45\%$ but there were no significance differences between male and female. The width of carapace of male decreased from $8.55 \pm 0.26\text{cm}$ to $8.46 \pm 0.22\text{cm}$ ($P < 0.05$), and the length of carapace of female decreased from $12.97 \pm 0.80\text{cm}$ to $12.94 \pm 0.81\text{cm}$ ($P < 0.05$). The surface of carapace decreased significantly. Turtles in control group have no significantly changes of carapace but the weight loss revealed significant differences from turtles in experiment group ($P < 0.01$). The weight loss had a positive correlation with the temperature ($r = 0.811$, $P < 0.05$). The morphological changes might be associated with the reproduction and the metabolism.

Key words : *Sacalia quadriocellata*; low temperature stress; morphology; relative fatness

四眼斑水龟 (*Sacalia quadriocellata*) 为濒危物种^[1], 在环境温度下降到一定程度时进入冬眠状态^[10], 目前国内有关龟类冬眠主要是生理特性的研究^[11,12]。四眼斑水龟属于外温动物, 傅丽容等发现其白细胞数量对外界温度变化不敏感^[13], 其体重、形态特征对温度变化是否敏感? 笔者在海南饲养四眼斑水龟 4 年, 期间未观察到该物种的任

何繁殖行为, 部分研究表明四眼斑水龟的繁殖行为一般开始于气温回升阶段^{5,9}, 有报道冬眠对扬子鳄等爬行动物的繁殖有重要的作用^[14]。在海南正常温度下, 四眼斑水龟在人工饲养环境中无冬眠现象, 是否缺少冬眠而影响到其正常的繁殖? 本实验使用人工控制温、湿度的方法, 首次提供了一些四眼斑水龟在低温胁迫条件下的形态特征、体重等变

收稿日期: 2006-02-23 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30260019)

作者简介: 贺斌 (1984~), 男, 2003 级本科生, 生物科学专业, 从事室内龟类养殖工作。 * 通讯作者, E-mail: haitao.shi@263.net

致谢: 在本文完成过程中, 海南师范大学生物系傅丽容老师、洪美玲老师、王力军老师提出了许多宝贵意见, 工作中得到马永刚等同学的帮助, 在此一并致谢。

化的基础数据，以期了解该物种对低温环境所产生的反应。

1 材料与方法

1.1 试验动物

捕获于海南岛琼中地区并在室内饲养超过两年的29只健康成体四眼斑水龟，随机分成实验组和对照组。实验组9雌5雄；对照组10雌5雄，量度见表3。

1.2 试验方法和分析方法

实验组：参考李鹄鸣等对棘腹蛙的处理方法^[13]，于2004年12月26日将龟养殖在放置于生化培养箱内的水槽中，用若干烧杯盛H₂O₂溶液以保持培养箱内氧气含量，采用每次将水温降低2℃，保持3天不变，再次降低2℃的方式到2005年1月9日将水温降至海南岛四眼斑水龟野外生境的最低温8.5℃^[19]后，将龟置于放置在冰箱中的干燥纸箱内，同时放入若干吸足水分的棉球以保持空气湿度，持续8.5℃左右32天，2月11日将龟再次置于上述水槽中，按每次升高水温2℃后，保持稳定3天，再次升高2℃的方式将水温升高到自然温度，2月27日结束实验。实验期间保持充足的食物和清洁的水质。

对照组：参考王志伟等的饲养方法^[7]，不作任何处理。

实验期间每天7:00~7:30、14:00~14:30、23:00~23:30三个时段中分别记录气温、水温和空气湿度。为方便探索温度变化过程中四眼斑水龟的体重、形态特征的变化量，将实验全过程划分为3个阶段，低温阶段又按相同间隔时间划分为3期，见表1。每个阶段最后一天使用托盘天平（精确度1g）和游标卡尺（精确度0.002cm）测量所有龟的体重、背甲长、背甲宽、体高等指标。全部

统计分析由SPSS 10.0软件包执行，数据符合正态分布，进行t-检验。

1.3 肥满度的计算

肥满度是判定动物的生理状态和营养状况的综合指标。其计算方法参考Fulton在鱼类学中所采用的公式^[17]：

Q=W×100/L³

（Q：肥满度；W：动物的体重，单位：g；L：动物的体长，单位：cm）

2 实验结果

2.1 休眠行为

随着水温的降低，龟的活动量逐渐减少，水温低于15℃后，极少活动，不进食，达11℃时进入深度休眠；四肢、头颈和尾均缩入壳内，趴于水槽底部，无排遗现象；对触摸、振动容器等刺激反应迟钝。水温升至15℃时开始苏醒，逐渐恢复正常活动。

2.2 体重的变化

实验组经历32天低温处理后平均失重18.64±5.26g/只（n=11），失重率8.68±2.45%，雌雄差异不显著（P>0.05）。对照组体重稍有减小（3.31±5.44g/只）（n=15），与冬季气温较低基本停止进食有关。实验组和对照组体重变化差异极显著（P<0.01）。

在低温胁迫的不同阶段，龟的失重率是有差异的，如表1所示。低温阶段的体重变化：前期四眼斑水龟刚从水中放入干燥环境下，体内水分大量丧失，龟体重平均减少0.70±0.35g/天·只，后期体重减小0.73±0.37g/天·只，将其与中期减轻量0.30±0.45g/天·只作差异性检验，差异显著（P<0.05）。降温阶段和升温阶段由于食物丰富且温度适宜，体重均增长明显。

表1 相关因子与体重变化的比较
Table 1 The change of body weight under different factors

对照组								实验组					备注
年度	月份	天数	样本数	平均气温(℃)	平均湿度(%)	体重变化(g)	体重变化率(%)	样本数	平均气温(℃)	平均湿度(%)	体重变化(g)	体重变化率(%)	
2004	12~1	14	15	18.06±2.99	86.58±6.34	-7.50±9.44	-2.41	11	14.71±3.54	72.57±15.64	+5.91±4.55	+2.34	降温阶段
	1	12	15	17.34±2.80	87.44±3.14	-0.81±4.96	-0.40	11	7.28±1.65	55.10±6.05	-8.36±4.18	-3.29	低温前期
	1	10	15	22.69±1.42	88.35±1.71	+1.25±7.69	+0.57	11	9.05±1.46	50.06±11.76	-3.00±4.47	-1.22	低温中期
	2	10	15	22.29±2.18	88.83±2.87	-3.75±4.93	-1.44	11	8.96±0.70	52.11±11.07	-7.27±3.72	-2.99	低温后期
	2	17	15	20.78±3.04	86.49±5.69	+1.25±13.73	+0.68	11	16.34±3.27	70.62±18.57	+7.18±12.81	+3.04	升温阶段

注：实验过程中实验组有3只雌性个体死亡

2.3 低温胁迫前后肥满度的比较

表2 四眼斑水龟低温胁迫期间肥满度的变化
Table 2 Changes of the relative fatness of Four Eye spotted Turtles in low temperature stress

	雌性		雄性	
	样本数	肥满度平均值±标准差	样本数	肥满度平均值±标准差
胁迫前	6	12.13±0.50	5	12.14±1.45
胁迫后	6	13.08±0.46	5	13.32±1.11
t-检验		t = -7.26<sub>0.01		t = -6.82<sub>0.01

对照组雌、雄龟肥满度在相同时间内的变化量使用t-检验, 结果为 (t = 0.10, df = 9, P > 0.05)、(t = 0.07, df = 4, P > 0.05), 均无显著

差异。
2.4 低温胁迫下四眼斑水龟甲壳的变化

表3 低温胁迫前后雌雄四眼斑水龟甲壳的变化
Table 3 Changes of carapace of Four Eye spotted Turtles in low temperature stress

	雌性				雄性			
	样本数	背甲长 (cm)	背甲宽 (cm)	体高 (cm)	样本数	背甲长 (cm)	背甲宽 (cm)	体高 (cm)
胁迫前	6	12.97±0.80	9.25±0.55	4.28±0.25	5	11.78±0.59	8.55±0.26	4.10±0.22
胁迫后	6	12.94±0.81	9.34±0.73	4.33±0.28	5	11.76±0.57	8.46±0.22	4.14±0.16
t-检验		t = 2.99<sub>0.05	t = -0.56>sub>0.05	t = -1.61>sub>0.05		t = 1.27>sub>0.05	t = 4.28<sub>0.05	t = -0.99>sub>0.05

对四眼斑水龟的甲壳作了定量分析。分别比较: 雄性个体背甲宽减小显著, 雌性个体背甲长减小显著, 其它指标无显著变化 (如表3所示)。即雄性四眼斑水龟经历低温胁迫后背甲变得尖些, 而雌性变得圆一些。使用相同方法对对照组的甲壳数据进行检验, 均无显著差异。

3 讨论

环境温度低于11℃时, 四眼斑水龟不摄取食物, 为了维持标准代谢, 必然消耗体内储存物质, 低温胁迫时间越长, 物质的消耗越多, 失重就越大, 即低温胁迫时间的长短是影响失重的重要因素。环境温度与日平均失重显著性正相关 (r = 0.811, P < 0.05), 空气相对湿度与日平均失重相关性不显著 (P > 0.05)。龟鳖类属于外温动物, 在不能正常活动的低温范围内, 代谢率会随温度升高而升高^[19], 导致物质消耗较大。因此, 观测低温时四眼斑水龟的体重损耗与环境温度的关系, 可间接地了解其代谢状况。这个结果与蛇岛蝮蛇^[18]、丽斑麻蜥^[19]、草原沙蜥^[19]相一致, 显示了外温动物的代谢特征。

海南地区四眼斑水龟的产卵行为在每年的2月, 即当地气温开始回升的时候^[9], 南京地区饲养的四眼斑水龟求偶、交配行为发生在冬眠结束不久^[9]。繁殖期间雌性四眼斑水龟需要消耗大量物质用于性腺发育、卵的发育、产卵行为及其它繁殖活动; 雄性因觅偶、交配行为的发生, 同样需要消

耗大量物质。这些物质除来自食物外, 还需要动用身体贮存的能量, 即要求较大的肥满度。哺乳动物肥满度在一定范围才符合繁殖体况^[21,22]。Frisch也认为一定的肥满度对于雌性动物的受精是必须的^[23]。Jensen等曾指出, 动物在不同生活史阶段用于生长、繁殖及生存 (包括越冬) 的能量资源分配存在差异, 这种差异导致个体和其他形态、生理特征的差异^[21]。低温胁迫期间四眼斑水龟的肥满度增大, 可能是为成功繁殖提供物质储备, 缺乏冬眠有可能导致肥满度达不到一定范围, 出现繁殖障碍。

雌雄龟甲壳的两种变化方式, 均使得表面积减小, 有利于对低温环境的适应, 因为体表面积越大, 散热就越容易, 相应基础代谢率就会提高^[24]。对甲壳形状的变化, 笔者认为存在有两种可能: 一是甲壳参与代谢, 冬眠期间缺乏足够物质时消耗部分甲壳以维持代谢, 或者转化为繁殖所需物质; 二是甲壳不参与代谢, 低温时四眼斑水龟为了抵御低温, 甲壳物质流动, 使其表面积减小、厚度增加以减少热量散失。关于龟类甲壳是否参与代谢, 向来存在争议^[23], 有待进一步研究。

4 参考文献

[1] 赵尔宓. 中国濒危动物红皮书 (两栖爬行类) [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 120~121.
[2] Debruin RWF, Artnr HG. On the turtles of Hainan Island, Southern China[J]. Chelonian Conservation and Biology, 1999, 3 (3): 479~486.

四眼斑水龟雌性生殖器官组织结构的季节变化

傅丽容, 洪美玲, 史海涛*, 张扬波, 钟昌茂

(海南师范大学生物系, 海口 571158)

摘要:应用石蜡常规切片, HE 染色, 分别在 3 月(春季)、8 月(夏季)、10 月(秋季)、1 月(冬季), 对 24 只四眼斑水龟雌性生殖器官组织结构变化进行研究, 结果表明: 四眼斑水龟雌性生殖器官的形态和结构存在季节性的变化, 8 月卵泡开始发育, 卵巢增重, 子宫腺增多; 10 月卵巢增重达最大, 卵泡发育成熟开始排卵, 随后形成黄体, 进入排卵期。翌年的 1~3 月卵巢重量减轻, 输卵管管腔增大, 腺体增多, 子宫肌层不断增厚, 进入产卵期。

关键词: 四眼斑水龟; 卵巢; 子宫

中图分类号: Q 959.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083 (2006) 02-0360-04

Seasonal Changes of Female Reproductive Organs of *Sacalia quadriocellata*

FU Li rong, HONG Mei ling, SHI Hai tao, ZHANG Yang bo, ZHONG Chang mao

(Department of Biology, Hainan Normal University, Haikou 571158)

Abstract: In this paper, the histological structure of 24 *Sacalia quadriocellata* female reproductive organs was observed on paraffin sections stained with HE in March (spring), August (summer), October (autumn) and January (winter). The results showed: seasonal changes happened in female reproductive system for form and structure. In August, follicle began to develop and the weight of ovary and uterine gland increased. In October, the weight of ovary reached maximum, follicle was mature and began to ovulate, then yellow body of ovary formed, entering the ovulatory period.

收稿日期: 2005-12-20 **基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (NO: 30260019)

第一作者简介: 傅丽容 (1965~), 女, 高级实验师, 从事动物解剖生理学研究, E-mail: flr@hainnu.edu.cn * 通讯作者

致谢: 海南医科大学附属医院病理室吴医生、蔡医生, 海南师范大学生物系高金岗副教授, 王力军、何滨老师协助本研究的实验工作和图片校对, 在此一并致以诚挚的谢意!

- [3] Lau M, Shi HT. Conservation and trade of terrestrial and freshwater turtles and tortoises in the People's Republic of China[J]. *Asian Turtle Trade*, 2000, 2: 30~38.
- [4] 龚世平, 徐汝梅, 史海涛. 海南岛淡水龟类区系特点及保护优先性分析[J]. *动物学杂志*, 2003, 38 (6): 68~71.
- [5] 史海涛, 符有利, 汪继超. 四眼斑水龟之谜[J]. *人与生物圈*, 2002, (6): 33~39.
- [6] 周婷. 四眼斑水龟及其人工饲养条件下的生态[J]. *四川动物*, 1997, 15 (增刊): 147~150.
- [7] 王志伟, 洪美玲, 史海涛, 等. 人工饲养条件下四眼斑水龟的食性研究[J]. *四川动物*, 2005, 24 (2): 218~221.
- [8] 洪美玲, 傅丽容, 史海涛, 等. 四眼斑水龟消化、呼吸系统的解剖[J]. *动物学杂志*, 2004, 39 (1): 68~71.
- [9] 傅丽容, 洪美玲, 史海涛, 等. 四眼斑水龟的泄殖系统解剖[J]. *动物学杂志*, 2004, 39 (3): 68~71.
- [10] 谭洪新, 施正瑶, 朱学宝. 水生龟鳖类能量生态学研究进展[J]. *上海水产大学学报*, 1998, 7 (3): 238~244.
- [11] 崔亚东. 乌龟冬眠后期和活动期肝糖、肝含水量研究[J]. *淮北煤师院学报*, 1999, 20 (1): 55~57.
- [12] 朱泽瑞, 向丹, 廖艳阳, 等. 冬眠状态乌龟尿液的生物学特性及生化分析[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2005, 28 (3): 62~67.
- [13] 傅丽容, 洪美玲, 史海涛, 等. 四眼斑水龟的血细胞形态及血液检验分析[J]. *动物学杂志*, 2004, 39 (6): 73~76.
- [14] 汪仁平, 周应健, 王朝林, 等. 扬子鳄生活习性与环境温度的关系[J]. *动物学杂志*, 1998, 33 (2): 32~35.
- [15] 李鸽鸣, 贺佩兰, 舒田东. 棘腹蛙温度生态学的初步研究[A]. *中国动物学会成立 60 周年纪念论文集 C*. 1994: 270~274.
- [16] 罗开富, 钟功甫, 等. 海南岛热带农业自然资源与区划(论文集)[C]. 北京: 科学出版社. 1985.
- [17] Fulton T. Rate of growth of seashes[J]. *Fish Scotl Invest Rept*, 1902, 20: 1035~1039.
- [18] 李建立, 刁杨. 蛇岛蝮蛇冬眠温度和湿度的初步影响[J]. *两栖爬行动物学研究* (第 1、2 辑): 110~113.
- [19] Jonsen TA, Chongdon JD, Fischer RU, et al. Morphological characteristics of the lizard *Anolis carolinensis* from south Carolina[J]. *Herpetologica*, 1995, 51 (4): 401~411.
- [20] 陈强. 丽斑麻蜥和草原沙蜥静止代谢率的研究[J]. *兰州大学学报*, 1995, 31 (1): 68~71.
- [21] 康梦松, 李文平, 屈孝初. 影响果子狸人工繁殖因素的探讨[J]. *特产研究*, 1998, 3: 28~30.
- [22] 鲍毅新, 杜卫国. 社鼠肥满度与气候环境的关系[J]. *浙江师大学报*, 2000, 23 (3): 287~290.
- [23] Frisch RE. Malnutrition and fertility[J]. *Science*, 1982, 215: 1272~1273.
- [24] 陈才法, 邹寿昌, 朱卫中. 几种龟类能量的比较研究[J]. *两栖爬行动物学研究* (第 4、5 辑): 225~229.
- [25] 王培潮, 徐宏发, 马伟, 等. 环境温度对乌龟体温与能量代谢的影响[J]. *两栖爬行动物学报*, 1988: 122~127.