

DOI:10.3969/j.issn.1000-7083.2013.05.012

## 外来物种红耳龟的卵泡发育研究

李闯<sup>1</sup>, 傅丽容<sup>1</sup>, 马凯<sup>1</sup>, 李敏<sup>2</sup>, 史海涛<sup>1,3\*</sup>

(1. 海南师范大学生命科学学院, 海口 571158; 2. 琼海市人民医院, 海南琼海 571431;

3. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

**摘要:** 2011 年 10 月至 2012 年 9 月期间, 于海南岛万泉河琼海段的沙洲岛开展外来物种红耳龟野外繁殖生态研究。通过笼捕等方法获得 54 个红耳龟样本, 所有样本采用超声波技术检测其卵泡数量和大小。结果显示红耳龟的卵泡在 9 月开始生长发育, 次年 6 月达到最大 (16.6 mm ± 3.9 mm, n = 39), 随后逐渐减小, 各月卵泡直径平均值大于 9.0 mm (6.0 ~ 33.7 mm, n = 426); 卵泡数量于 1 月开始增加, 3 月份达到最多 (45 ± 4, n = 4), 随后逐渐减少。推测研究区域内的红耳龟年繁殖频次为 2.48 窝/年。

**关键词:** 红耳龟; 繁殖周期; 卵泡发育; 超声波技术

中图分类号: Q959.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2013)05-0713-04

## Research on Follicular Development of *Trachmys scripta elegans*

LI Chuang<sup>1</sup>, FU Lirong<sup>1</sup>, MA Kai<sup>1</sup>, LI Min<sup>2</sup>, SHI Haitao<sup>1,3\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou 571158, China;

2. People's Hospital of Qionghai, Qionghai, Hainan Province 571431, China;

3. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** We carried out a field breeding ecological research of alien species, *Trachmys scripta elegans*, from October 2011 to September 2012 at Shazhou Island of Wanquan River (Hainan). A total of 54 samples were obtained by trap. The number and size of follicles of the samples were detected by ultrasonic technique. The results showed that the average size of follicles was bigger than 9.0 mm (6.0 ~ 33.7 mm, n = 426) in each month. Follicles began to growth in September and reached a maximum size in June (16.6 mm ± 3.9 mm, n = 39) and maximum number in March (45 ± 4, n = 4). Thus, we speculated that the breeding rate of *T. scripta elegans* is 2.48 clutches per year.

**Key words:** *Trachmys scripta elegans*; reproductive cycle; follicular development; ultrasound technique

红耳龟 *Trachmys scripta elegans* 又名巴西龟, 原产于美国密西西比河至墨西哥湾周围地区 (Ernst, 1990), 已被列为世界最危险的 100 个外来入侵物种之一 (Lowe *et al.*, 2000)。该种已在欧洲、非洲、大洋洲、亚洲和美国原产地以外的美洲等世界范围内成功入侵 (史海涛等, 2009)。入侵物种的繁殖生物学特性对于入侵种成功的定殖和扩散起关键作用。原产地对红耳龟繁殖的研究主要集中在产卵行为描述、窝卵数、繁殖频次、巢址选择、孵化 (Ernst & Lovich, 1994) 和卵巢活动周期变化的研究 (Cagle, 1944; Thornhill, 1982)。有关该物种卵巢活动周期变化的研究国外主要采用解剖法 (Tucker, 2001)。解剖学的研究需要处死实验动物, 每次观察到的结

果不是连续变化的, 这样就必须假设所有个体间没有差异, 都随着环境变化而同步变化, 而这实际上是不可能的, 因此这种方法间断性的反映了红耳龟卵巢活动的周期性变化。国内尚无有关该物种卵巢活动周期变化的报道, 有关繁殖的研究仅限零星人工驯养繁殖 (徐靖等, 2006) 以及 Chen 和 Lue (1998) 在台湾野外发现 3 只怀卵的雌龟、3 窝被破坏的卵和 2 只幼体, 之后没有开展进一步野外繁殖的研究。

超声波检测技术是一种无伤害的检测方法, 对观察龟类卵泡的动态发育具有较高的准确性 (Kuchling, 1989)。该技术在饲养或野外条件下都被广泛应用于研究龟类的繁殖周期, 包括四眼斑水龟 *Sacalia quadriocellata* (史海涛等, 2002; 胡茂炬等, 2010)、黑

收稿日期: 2013-02-22 接受日期: 2013-04-04 基金项目: 国家自然科学基金重大国际合作项目 (No. 30910103916)

作者简介: 李闯 (1987 ~ ) 男, 硕士研究生, 主要从事龟类养殖与生态研究工作, E-mail: 376160688@qq.com

\* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: Haitao-shi@263.net

致谢: 琼海市人民医院超声波室陈玉婷、谢盛妹医生帮助 B 超检测 杨江波、杜爽、羊健鼎等同学在实验中给予大力帮助, 在此一并感谢。

拟澳龟 *Pseudemys umbrina* (Kuchling & Bradshaw, 1993)、加拉帕戈斯陆龟 *Geochelone elephantopus* (Ro-beck & Rostal, 1990)、沙漠陆龟 *Gopherus agassizii* (Rostal *et al.*, 1994)、肯氏龟 *Lepidochelys kempii* (Rostal *et al.*, 1990)、棱皮龟 *Dermochelys coriacea* (Rostal *et al.*, 1996)。目前为止,国内外未见有利用超声波技术对红耳龟野生种群的卵泡动态发育的报道。作者借助超声波技术,对海南万泉河红耳龟野生种群的卵泡发育周期进行了为期 1 年的连续观察研究,评估其卵巢发育周期,为深入研究该物种的繁殖周期及科学有效的防治等问题提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物来源

研究地点主要集中在海南岛万泉河琼海段沙洲岛(19°15'N, 110°27'E, 海拔 6 m)为中心的 2.5 km 范围的水域。2011 年 10 月至 2012 年 9 月,通过笼捕或收购当地渔民在研究区域内捕获的红耳龟个体作为实验样本。若实验个体第一次被捕捉到,在其缘盾上刻上永久标记,记录个体编号、性别、年龄以及捕捉时间,同时参照史海涛等(2011)的方法测量背甲长、背甲宽、腹甲长、体高和体重(精确为 0.02 mm; 1 g);实验个体若被重捕,时间间隔在 15 d 以上才算作一个样本。所有样本于次日进行超声波检测(后文对此检测简称 B 超检测),检测后将实验个体释放于捕捉点。

### 1.2 超声波检测

B 超检测方法参考 Rostal 等(1990)对肯氏龟所采用的方法,于琼海市人民医院采用美国 GE 公司生产的 Vivid 7 型彩色多普勒超声检测仪的阴道探头(频率 6.5 MHz)对红耳龟进行 B 超检测。记录检测

到的卵泡数量,检测到卵泡数(个)为左右鼠蹊部检测卵泡之和(包括闭锁卵泡)。红耳龟卵泡数量多,不便准确测量每个卵泡的大小。若雌龟卵泡总数少于 12 个,则测量全部;若总数多于 12 个,每侧各测 6 个。调整到最大卵泡在声像图上显示的画面,同时使用安装的电子测径尺测得卵泡的大小(精确为 0.1 mm)。以卵泡数量和大小评估雌龟卵泡发育状况。

### 1.3 研究点水温记录

采用美国 Spectrum Technologies 公司生产的 WatchDog B100 型温度自动记录仪记录研究期间的水温,温度记录仪放置研究点内中心位置,距离水面 1 m 处,每 2 h 记录一次。

## 2 实验结果

研究点水深 1 m 处水温的年平均温度变化趋势如图 1、图 2 所示,平均温度在 19.3 ~ 31.9°C,其中 1 月份平均水温最低(19.3°C),随后水温逐渐增加,7 月份平均水温最高(31.9°C)。

不同阶段红耳龟卵泡发育的 B 超图片如图 3 所示。实验期间共检测 54 个样本,其中 31 个个体仅检测到 1 次,7 个个体重捕 2 次,3 个个体重捕 3 次。1 样本的腹甲长为 148 mm, B 超检测已怀有硬壳卵,其余样本的腹甲长均大于 160 mm。通过 B 超检测,2012 年 1 月 4 日至 2012 年 6 月 27 日期间检测到怀硬壳卵的雌龟,其他时间内未检测到。卵泡的数量和长径表现明显的周期性变化。10 月份水温开始下降,1 月份达到最低值,同时卵泡数量开始增多,3 月份达到最多(45 ± 4, n = 4),随后逐渐减少(图 1)。全年中卵泡大小的平均值均大于 9.0 mm (6.0 ~ 33.7 mm, n = 426),卵泡在 9 月份开始生长发育,翌年 6 月份检测 4 个个体,卵泡大小平均值达到最大

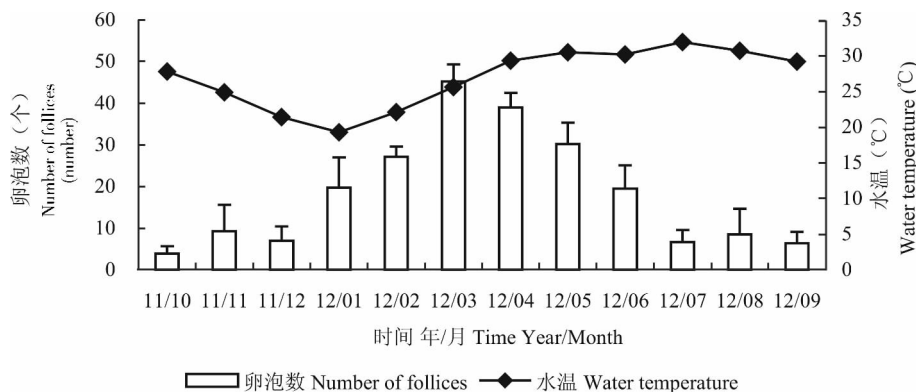


图 1 红耳龟卵泡数与月平均水温的关系图

Fig. 1 Relationship between the numbers of follicles and mean water temperature per month of *Trachemys scripta elegans*

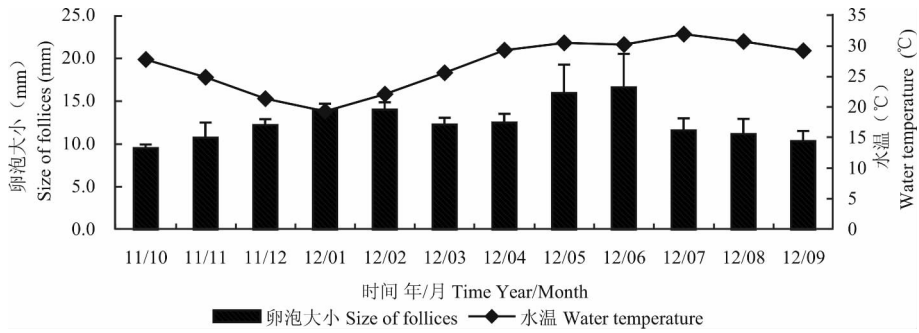


图 2 红耳龟卵泡大小与月平均水温的关系图

Fig. 2 Relationship between the size of follicles and mean water temperature per month of *Trachmys scripta elegans*

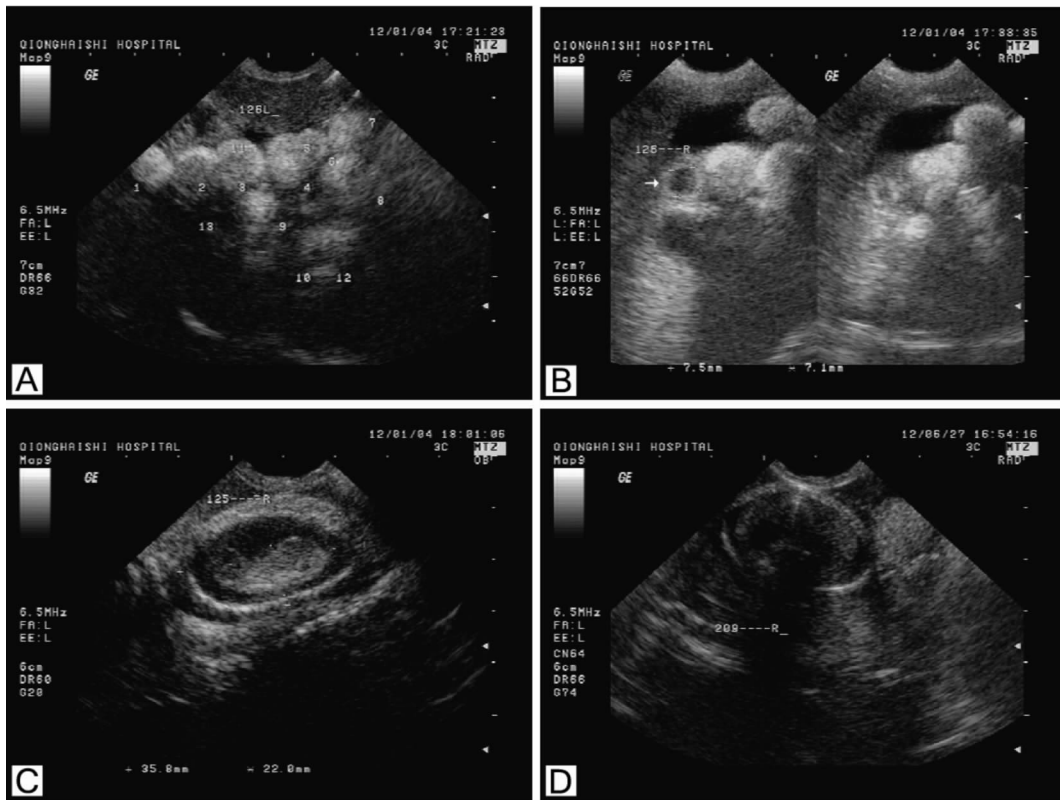


图 3 成体雌性红耳龟超声波检测图像

A. 排卵前期卵泡的超声图像, B. 闭锁卵泡的超声图像, C. 排卵后刚发育的输卵管卵, D. 充分发育输卵管卵(硬壳卵)的超声图像

Fig. 3 Ultrasound images from adult female *Trachmys scripta elegans*

A. Ultrasound image of preovulatory follicle, B. Ultrasound image of atretic follicle, C. Ultrasound image of a recently ovulated oviduct egg, D. Ultrasound image of a full developed oviduct egg (shell eggs)

(16.6 mm ± 3.9 mm n = 39) 随后逐渐减小, 卵泡大小的周期性变化中存在 2 个高峰, 即 1、2 月份和 5、6 月份(图 2)。

### 3 讨论

2012 年 1 月 4 日检测到第一只怀硬壳卵个体, 3 月 15 日再次检测该个体, 发现其体内已无硬壳卵, 此期间筑巢行为已经发生, 但未找到巢穴。原产地红耳龟的筑巢时间在 4 月中旬至 7 月中旬之间, 其中高峰期集中在 5、6 月份 (Cagle, 1950; Webb,

1961; Gibbons & Greene, 1990)。与原产地相比, 该种群的红耳龟筑巢起始时间较早, 截止时间相同, 筑巢时间跨度大。其原因可能是较高的水温可以增加龟的代谢速率, 从而使龟的活动时间延长 (Hutton *et al.*, 1960), 长时间的活动允许其有更多的时间摄取更多的营养物质, 从而促使卵泡生长和发育。此外, 在原产地红耳龟自然分布于 25° ~ 39° N (Carr, 1952), 本研究区域位于 19° ~ 20° N, 说明红耳龟适应于热带环境。在相对热的环境条件下, 筑巢行为发生较早, 本研究中 3 ~ 7 月份的平均水温均大于

Thornhill (1982) 的研究区域。

研究证明温度对龟鳖类繁殖周期的调节起着重要的作用,与龟鳖类的繁殖周期密切相关 (Rostal *et al.*, 1994; Sarkar *et al.*, 1996)。Ganzhorn 和 Licht (1983) 研究锦龟 *Chrysemys picta* 卵巢发育周期时,发现在秋季和冬季较低温有利于更多卵泡生长发育和卵巢的成熟。本次实验结果表明,在水温最低的 1 月份红耳龟卵泡数开始增多,3 月份达到最多,此后随着水温的增加卵泡数量逐渐减少。由于卵泡并未全部测量,只是在含有最大卵泡的声像图片上测量 12 个卵泡,所以每个月份中卵泡大小的平均值均大于 9.0 mm,不能充分反映卵泡大小与水温的关系。卵泡大小的周期性变化中存在 2 个高峰,其原因可能是卵泡大小已经达到排卵前卵泡 (preovulatory follicle),即进入排卵期,排卵期的卵泡是不同阶段中最大的卵泡 (Moll & Leger, 1971)。卵泡大小的第一高峰 (1、2 月份) 过后卵泡逐渐减小,数量逐渐增多,产卵过后卵巢选择募集 (recruitment) 更多的卵泡数而不选择增大卵泡尺寸。其原因在于经过优势化获得排卵前卵泡的命运有两个,即排卵或闭锁,剩余的生殖激素不足以促使其再次快速进入排卵期,若再次进入排卵期必须重新募集卵泡,经过优势化后得到排卵前卵泡 (朱士恩, 2006),由此可推测红耳龟一个繁殖周期内能产多次卵。

评估龟类繁殖频次是非常困难的,有关研究甚少,如果雌性个体的每次产卵被观察记录到,那么其年繁殖频次一定是精确的,此种方法在野外条件下不易实现 (Tucker, 2001)。Tucker (2001) 通过解剖卵巢方法,把卵泡大小分 3 个等级,认为在繁殖季节里雌性红耳龟怀有输卵管卵时,卵巢内有直径大于 17 mm 的卵泡,即有可能产第二窝卵,有直径在 14 mm ~ 16 mm 之间的卵泡,意味着将产第三窝卵,利用这种方法推测的红耳龟年繁殖频次为 2.68 窝/年,与 Thornhill (1982) 解剖卵巢按卵泡类型分类的结果一致。本次试验通过 B 超检测方法,参考 Tucker (2001) 的卵泡等级划分预测研究点红耳龟年繁殖频次为 2.48 窝/年。通过解剖卵巢的方法评估年繁殖频次也许不可信,因为并不是所有增大的卵泡都能排卵,也有可能闭锁 (Licht, 1984),该方法评估年繁殖频次有可能偏大。再者,龟体骨骼或角质化的外壳限制了一定的检测范围,以及内部结构的遮挡,不能完整的反映卵巢发育 (Kuchling, 1989),B 超检测的结果有可能偏低。

野生种群中,雌性红耳龟达到性成熟的一般判别方法是腹甲长度大于 160 mm (Gibbons & Greene, 1990),但我们实验期间发现有一已怀有硬壳卵的个体腹甲长度仅为 148 mm,产 2 枚未受精卵。Gibbons 和 Greene (1990) 认为达到性成熟的时间受到温度和食物资源的影响,即温度高和食物资源丰富度大的区域性成熟时间早,所以我们应该注意入侵地的温度和食物资源状况,以便更好的了解种群性成熟的时间,进一步开展入侵物种对入侵环境的生态适应研究。

#### 4 参考文献

- 胡茂钜,贺斌,马永刚,等. 2010. 四眼斑水龟卵和卵的超声波扫描研究[J]. 四川动物, 29(1): 75-77.
- 史海涛,符有利,汪继超. 2002. 四眼斑水龟之谜[J]. 人与生物圈, 6: 33-39.
- 史海涛,龚世平,梁伟,等. 2009. 控制外来物种红耳龟在中国野生环境蔓延的态势[J]. 生物学通报, 44(4): 1-3.
- 史海涛,侯勉, Pritchard P, 等. 2011. 中国贸易龟类检索图鉴(修订版) [M]. 北京: 中国大百科全书出版社: 24.
- 徐靖,周婷,叶存奇,等. 2006. 龟类外来种的生物入侵隐患及其防治措施[J]. 四川动物, 25(2): 420-422.
- 朱士恩. 2006. 动物生殖生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社: 52-67.
- Cagle FR. 1944. Sexual Maturity in the Female of the Turtle *Pseudemys scripta elegans* [J]. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, (3): 149-152.
- Cagle FR. 1950. The life history of the slider turtle, *Pseudemys scripta troostii* (Holbrook) [J]. Ecological Monographs, (20): 31-54.
- Carr AF. 1952. Handbook of turtles-The turtles of the United States, Canada, and Baja California [M]. Ithaca (New York): Comstock Publishers Association, Cornell University Press: 241.
- Chen TH, Lue KY. 1998. Ecological notes on feral population of *Trachemys scripta elegans* in northern Taiwan [J]. Chelonian Conservation and Biology, 3(1): 87-90.
- Ernst CH, Lovich JE. 1994. Turtles of the United States and Canada [M]. Washington, D. C.: Smithsonian Institution Press: 297-316.
- Ernst CH. 1990. Systematics, Taxonomy, Variation, and Geographic Distribution of the Slider Turtle [M]// Gibbons JW, ed. Life history and ecology of the slider turtle. Washington, D. C.: Smithsonian Institution Press: 57-67.
- Ganzhorn D, Licht F. 1983. Regulation of seasonal gonadal cycles by temperature in the painted turtle, *Chrysemys picta* [J]. Copeia, (2): 347-358.
- Gibbons JW, Greene JL. 1990. Reproduction in the Slider and Others Species of Turtles [M]// Gibbons JW, ed. Life history and ecology of the slider turtle. Washington, D. C.: Smithsonian Institution Press: 124-134.

(下转第 721 页)

- 作用的研究[J]. 四川动物, 31(1): 125-128.
- 迟家敏. 2010. 实用血脂学[M]. 北京: 人民卫生出版社: 11-18.
- 方肇勤. 2009. 大鼠/小鼠辩证论治实验方法学[M]. 北京: 科学出版社: 182-196.
- 傅予, 白央, 达娃卓玛, 等. 2010. 藏波罗花的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 35(1): 58-62.
- 高鹏, 蒋思萍, 王敬文, 等. 2006. 藏波罗花补血效果的实验研究[J]. 四川动物, 25(1): 182-184.
- 郭晓琳, 王允山, 宋淑亮, 等. 2010. 降血脂类生物活性物质的研究进展[J]. 中药材, 33(6): 1015-1019.
- 李清明, 沈岚, 陈凌云, 等. 2012. 藏波罗花中一个新的单萜环烯醚[J]. 天然产物研究与开发, 24: 715-717.
- 刘畅, 柴逸峰, 刘峰群. 2010. 中药有效成分降血脂作用和机制研究进展[J]. 药学实践杂志, 28(3): 167-169.
- 潘为高. 2007. 补益药藏波罗花抗氧化抗衰老活性物质的分离纯化、结构鉴定和药理研究[D]. 四川大学博士论文.
- 苏东海, 蒋思萍, 刘浩. 2011. 藏波罗花补血机理的初步研究[J]. 四川动物, 30(1): 103-106.
- 王俊儒. 2006. 天然产物提取分离与鉴定技术[M]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学出版社: 47-52.
- 晏永明, 董小萍, 程永现, 等. 2010. 角蒿属药用植物化学与活性研究进展[J]. 亚太传统医药, 4(6): 120-125.
- 伊娟娟, 王振宇. 2012. 天然降血脂产物的研究进展[J]. 中国林副特产, 120(5): 46-48.
- 张华锋, 高征, 罗亚飞, 等. 2010. 海蒿子活性多糖降血脂作用的研究[J]. 中成药, 35(12): 1925-1927.
- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 1990. 中国植物志第 69 卷[M]. 北京: 科学出版社: 46-49.
- PAN Wei-Gao, JIANG Si-Ping, LUO Peng, et al. 2011. Isolation, purification and structure identification of two phenolic glycosides from the roots of *Incarvillea younghusbandii* Sprague and their antioxidant activities[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 46(4): 422-427.
- PAN Wei-Gao, JIANG Si-Ping, LUO Peng, et al. 2012. Extracts from the roots of *Incarvillea younghusbandii* on antioxidant effects and life span prolonging in *Drosophila melanogaster* [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 10(1): 48-52.

(上接第 716 页)

- Hutton DE, Boyer DR, Williams JC, et al. 1960. Effects of temperatures and body size upon heart rate and oxygen consumption in turtles [J]. Journal of Cellular and Comparative Physiology, 55(1): 87-93.
- Kuchling G, Bradshaw SD. 1993. Ovarian cycle and egg production of the western swamp tortoise *Pseudemys umbrina* (Testudines: Chelidae) in the wild and in captivity [J]. Journal of Zoology, 229(3): 405-419.
- Kuchling G. 1989. Assessment of Ovarian Follicles and Oviductal Eggs by Ultra-Sound Scanning in Live Freshwater Turtles, *Chelodina oblonga* [J]. Herpetologica, 45(1): 89-94.
- Licht P. 1984. Reptiles [M] // Lamming GE, et al. Marshall's Physiology of Reproduction. 4<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, Scotland: Springer Publisher, 1: 206-282.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, et al. 2000. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A Selection from the Global Invasive Species Database [DB/OL]. Auckland, New Zealand: IUCN/SSC Invasive Species Specialist Group (ISSG), 1-12. [2012-08-10]. <http://www.issg.org/publications.htm#worst100>.
- Moll EO, Legler JM. 1971. The life history of a Neotropical slider turtle, *Pseudemys scripta* (Schoeff), in Panama [J]. Bulletin of the Los Angeles County Museum of Natural History, (11): 1-102.
- Robeck TR, Rostal DC. 1990. Ultrasound imaging of reproductive organs and eggs in Galapagos tortoises, *Geochelone elephantopus* [J]. Zoo Biology, 9(5): 349-359.
- Rostal DC, Lance VA, Grumbles JS, et al. 1994. Seasonal Reproductive Cycle of the Desert Tortoise (*Gopherus agassizii*) in the Eastern Mojave Desert [J]. Herpetological Monographs, 8(1994): 72-82.
- Rostal DC, Paladino FV, Patterson RM, et al. 1996. Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas National Park, Costa Rica [J]. Chelonian Conservation and Biology, 2(2): 230-236.
- Rostal DC, Robeck TR, Owens DW, et al. 1990. Ultrasound Imaging of Ovaries and Eggs in Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempii*) [J]. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 21(1): 27-35.
- Sarkar S, Sarkar NK, Das P, et al. 1996. Photothermal effects on ovarian growth and function in the soft-shelled turtle (*Lissemys punctata punctata*) [J]. Journal of Experimental Zoology, 274(1): 41-55.
- Thornhill GM. 1982. Comparative reproduction of the turtle, *Chrysemys scripta elegans*, in heated and natural lakes [J]. Journal of Herpetology, 16(4): 347-353.
- Tucker JK. 2001. Clutch Frequency in the Red-Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*) [J]. Journal of Herpetology, 35(4): 664-668.
- Webb RG. 1961. Observations on the life histories of turtles (genus *Pseudemys* and *Graptemys*) in Lake Texoma, Oklahoma [J]. American Midland Naturalist, 65(1): 193-214.