

乌龟性腺发育的研究*

刘国安 刘运清 胡迪光 熊文华

(湖南省水产研究所) (湖南省湘乡县渔场)

提 要 作者按季节解剖了人工养龟场养殖的不同年龄组的乌龟 89 只, 对其生殖腺进行了组织学研究, 同时分析了成熟系数与体重、年龄和季节变化的关系, 为进行乌龟人工繁育等工作提供了理论根据。

主题词 乌龟, 性腺发育, 性成熟, 成熟系数

乌龟(*Chinemys reevesii*)是我国龟类中最常见的一种, 素以滋补营养闻名。但近十年来由于人工滥捕和生态平衡遭破坏, 其自然资源呈明显的减少趋势。究其原因, 大致有以下几点。首先, 龟肉是传统的滋补佳肴, 每年入冬时节许多地方有食龟肉滋补身体的习惯, 食用量大。其次, 乌龟的腹甲, 中药上称为“龟板”, 有补益心肾、滋阴降火和潜阳退热等功效, 可以入药。第三, 乌龟也是人们的观赏之物。人们在空暇时常在鱼缸中或假山盆景中养几只小乌龟, 以赏心悦目。此外, 许多学校也多用乌龟作实验材料, 如胚胎发育观察、用温差控制雌雄性别、以及利用它作条件反射实验等。由于这些原因, 乌龟的社会需求量急剧增加, 以致市场上乌龟供求矛盾十分突出。为了弥补其自然资源不足和满足市场的需求, 多年来许多地方开展了乌龟的人工饲养和繁育, 并且获得了成功^[1, 6-7]。但是, 对乌龟生殖生理等基本问题迄今国内外未见详细报导。本文在乌龟人工繁育和饲养基础上报导乌龟性腺发育的研究结果, 对其人工饲养生产具有一定的指导价值。

材 料 与 方 法

在实验材料中, 三龄以上的是人工饲养的成龟, 二龄以下的为人工孵育的幼龟。共解剖乌龟 89 只, 年龄最大的 11 龄, 最小的刚孵出 4 天。分春、夏、秋、冬四季取材, 对本龟逐个进行生物学测定, 即称重、量长、宽、高, 并对照饲养档案和背甲上的环纹数逐个记录年龄。解剖后对生殖腺的位置、形状、颜色和大小作详细记载, 同时把分离出的生殖腺称重, 计算成熟系数 (成熟系数% = $\frac{\text{性腺重}}{\text{体重(连壳)}} \times 100$), 然后用波恩氏液固定, 常规脱水, 石腊切片(厚 8—10 微米), H.E 染色, 部分切片显微照相。对成熟系数与体重、年龄和季节更替的关系用统计学方法进行分析研究。

* 本文曾得到湖南师范大学副校长刘筠教授指导, 特此致谢。

实验结果

(一) 乌龟的性别和年龄

性别: 性成熟乌龟的副性征比较明显。雌性个体较大,躯干短而厚,甲壳呈黄褐色,尾粗而短,尾的基部较细小,底板的尾端较平直,其内凹圆而浅,无臭味。雄性个体较小,躯干长而薄,甲壳黑色,尾细而长,尾的基部较粗大,交接器即藏于此,底板尾端较尖而略向上翘,其内凹长而深(以适应交尾动作),有臭味。

年龄: 以背甲各盾片上的同心环纹作为鉴定年龄的依据。背甲上疏密相间的环纹与人工养殖的乌龟年龄档案是吻合的。不过实验发现,乌龟幼体第一个冬天并不形成环纹,而要第二个冬天才形成第一个紧密的环纹圈,以后逐年加一圈。所以乌龟的实足年龄应该是盾片的环纹数再加1。

(二) 生殖腺的解剖观察

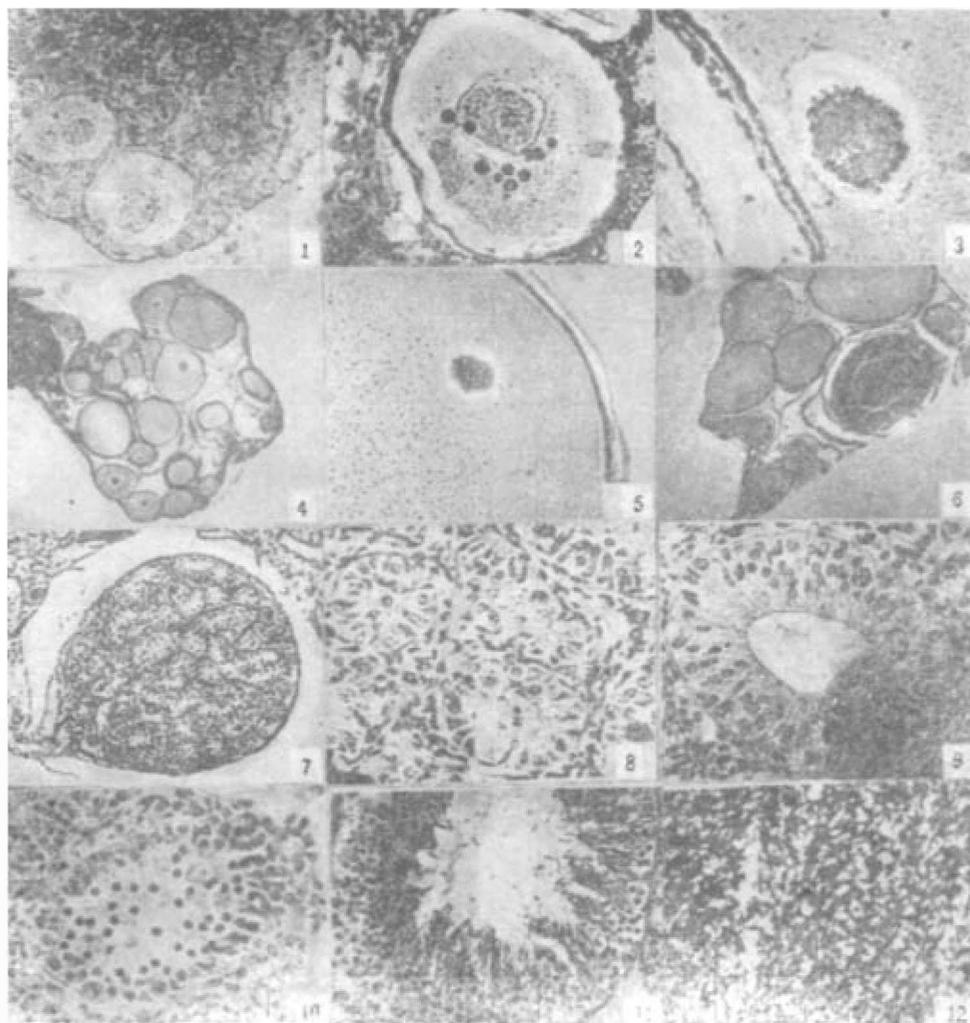
卵巢 按卵巢的发育顺序,可划分为四个时期。(1)卵原细胞期 为卵巢的原始期,卵巢紧贴在黄色副肾的前端外侧,不能分离,呈薄膜状,黄白色,半透明,左右对称,不易称重。1龄内的卵巢属此期。(2)初阶卵母细胞期 卵巢为白色或黄色的薄块,不透明,仍不易称重。与副肾连结的网膜可见,但肉眼不见卵粒和血管。2龄乌龟卵巢属此期。(3)生长卵母细胞期 卵母细胞进入生长期,变化很大,可细分为小生长期和大生长期。在小生长期,卵巢为致密的粒状块,左右对称,与副肾连结的网膜可见,其上血管清楚,卵巢成熟系数平均值为0.2%,3龄龟卵巢属此期。卵巢进入大生长期,打开腹腔即可见鲜黄色的卵巢块,卵粒界限分明,但肉眼看大小并不悬殊,卵巢成熟系数均值为0.4%,4龄龟卵巢属此期。(4)成熟卵母细胞期 此期卵巢已生长成熟。显著标志是,腹腔中可见桔黄色的大中小几种类型的卵连成一串,成葡萄状。成熟系数均值为6.3%,最高值达8.9%。5冬龄卵巢即达到此水平,并于第6个夏天可产卵。临产前的卵巢,因为进入输卵管的卵已完成受精,故为蛋白、卵壳所包被。此时成熟系数可达10—21%。

精巢 按精母细胞的成熟等级和精巢的外形,精巢也可划分为四个时期。(1)精原细胞期 在腹腔腰带稍前方有一对略成椭圆形的白色小块,粟米大小,此即为精巢,又称睾丸。不透明,不易称重。1—2龄幼龟属此期。(2)初级精母细胞期 睾丸米黄色,绿豆大小,平均成熟系数0.49%。切片可见精细小管已有管腔,3龄龟精巢属此期。(3)次级精母细胞期 睾丸黄色,蚕豆大小,精巢膜上血管可见,平均成熟系数为0.65%。(4)精子细胞成熟期 精子细胞停留时间不长,便完成变态而成为精子。此期睾丸杏黄色,外形圆润饱满,呈长椭圆形,长短径最大值达7—9毫米,平均成熟系数为0.8%。

(三) 生殖细胞发育的特征

1. 卵细胞发育的特征

(1) 卵原细胞 卵巢边缘的大型细胞即为卵原细胞,圆形,直径6.6—20微米。最大的特点是具有有丝分裂能力。密集在卵巢中间的细胞为滤泡细胞(图版,1)。



图版 乌龟的卵巢和精巢的生长发育 (1—12)

1. ♀, 5月龄, 卵巢和卵原细胞, $\times 264$; 2. ♀, 2龄, 初级卵胞与旁核体, $\times 165$; 3. ♀, 3龄, 生长卵胞, 核偏位, $\times 165$; 4. ♀, 4龄, 生长细胞, $\times 625$; 5. ♀, 5龄, 成熟卵胞, $\times 20$; 6. ♀, 6龄, 有黄体, $\times 20$; 7. ♂, 5月龄, 精原细胞, $\times 132$; 8. ♂, 2龄, 曲细精管形成(实心), $\times 528$; 9. ♂, 3龄, 曲细精管(有腔), 初级精母细胞, $\times 528$; 10. ♂, 4龄, 次级精母细胞, $\times 528$; 11. ♂, 5龄, 早期精子, $\times 528$; 12. ♂, 5龄, 成熟精子, $\times 528$

Plate Growth and development of ovary and testes of tortoise (1—12)

1. ♀, five months, ovary and oogonia, $\times 264$; 2. ♀, two years, primary oocyte and yolk nucleus, $\times 165$; 3. ♀, three years, a growing oocyte, the nucleus of oocyte on the way to animal pole, $\times 165$; 4. ♀, four years, growing oocyte, the nucleus of oocyte is on the way to the center of cell, $\times 625$; 5. ♀, five years, the mature oocyte, $\times 20$; 6. ♀, six years, luteinization in the ovary, $\times 20$; 7. ♂, five months, spermatogonia, $\times 132$; 8. ♂, two years, the formation of seminiferous tubule (solid), $\times 528$; 9. ♂, three years, a cavity appeared in the seminiferous tubule, the primary spermatocyte, $\times 528$; 10. ♂, four years, the secondary spermatocyte, $\times 528$; 11. ♂, five years, the early stage of spermatozoa, $\times 528$; 12. ♂, five years, the mature spermatozoa, $\times 528$.

(2) 初级卵胞 圆形, 直径 20—170 微米。细胞的边周已有一层滤泡膜, 核径为 7—20 微米, 核仁 4—30 个, 细胞质致密, 嗜碱性, 其中常可见到圆形颗粒状物质, 染色极

深,此为旁核体。与前人^[3]在鲢鱼 II 时相卵母细胞中看到的旁核散开的杆状片段有相似之处。此现象多见于 2 龄乌龟的卵巢中(图版,2)。

(3) 生长卵胞 早期的生长卵细胞(小长生期),胞径 170—10000 微米,细胞质中有大量液泡,以致细胞核常被挤向细胞的边沿,此与前人在鳖性腺发育研究中的结果相同^[4](图版,3),核仁有 8—30 个,细胞的边周有二层滤泡膜,里层为长椭圆形细胞(3×7 微米),呈立方体;外层为扁平细胞。进入大生长期的生长细胞,因为液泡多破灭呈网状,压力消除,所以胞核又回到细胞的中央(图版,4),细胞急剧增大。胞径 10000—15000 微米,卵黄

表 1 乌龟年龄与性成熟的关系

Table 1 The relationship between sexual maturity and age of tortoise

年 龄 Age	雌 性 Female				雄 性 Male			
	标 本 号 No.	体 重 Body Weight (g)	成熟系数 Gonadoso- matic index(%)	成 熟 期 Mature Stage	标 本 号 No.	体 重 Body Weight (g)	成熟系数 Gonadoso- matic index(%)	成 熟 期 Mature Stage
1	25	7.0	/	卵原细胞 Oogonia	7	9.5	/	精原细胞 Spermatogonia
	27	11.2	/	卵原细胞 Oogonia	26	6.5	/	精原细胞 Spermatogonia
	51	4.3	/	卵原细胞 Oogonia				
2	8	29.5	0.05	初级卵母细胞 Primary oocyte	22	57	0.3	精原细胞 Spermatogonia
	60	40.0	0.10	初级卵母细胞 Primary oocyte	24	27	0.3	精原细胞 Spermatogonia
	86	22.2	0.10	初级卵母细胞 Primary oocyte				
3	17	87.0	0.20	生长卵母细胞 growing oocyte	19	76	0.5	初级精母细胞 Primary spermatocyte
	18	85.2	0.20	生长卵母细胞 growing oocyte	23	44.5	0.67	初级精母细胞 Primary spermatocyte
	20	81.0	0.25	生长卵母细胞 growing oocyte				
	31	100.0	0.20	生长卵母细胞 growing oocyte				
4	2	171.0	0.4	生长卵母细胞 growing oocyte	1	103	0.3	次级精母细胞 Secondary Spermatocyte
	14	166.5	0.4	生长卵母细胞 growing oocyte	21	70	0.7	次级精母细胞 Secondary Spermatocyte
	45	275.0	0.3	生长卵母细胞 growing oocyte				
	50	297.0	0.3	生长卵母细胞 growing oocyte				
	88	136.9	0.7	生长卵母细胞 growing oocyte				
5	12	247.5	4.4	成熟卵胞 Mature eggs	16	100	0.5	成熟精子 mature Spermatozoon
	13	188.0	8.0	成熟卵胞 Mature eggs	33	143.5	1.0	成熟精子 mature Spermatozoon
	28	244.0	5.5	成熟卵胞 Mature eggs	43	135	0.9	成熟精子 mature Spermatozoon
6	11	281.5	6.5	成熟卵胞 Mature eggs	6	221.0	0.8	成熟精子 mature Spermatozoon
	39	302.0	5.6	有黄体存在 Luteinization	15	193.5	0.7	成熟精子 mature Spermatozoon
	46	259.0	8.0	成熟卵胞 Mature eggs				
	79	258.0	16.8	成熟卵胞 Mature eggs				

颗粒开始在边周沉积,但其颗粒小(3—5微米),细胞开始偏离中心,核仁数多达57个,在滤泡膜与细胞膜的中间形成一层透明膜,嗜酸性。

(4) 成熟卵母细胞 达到生长成熟的卵母细胞(图版,5)具有下列的特点:①卵径达到最大值,幅值为15000—22000微米,大型卵已从卵巢中游离出来,每个卵形成一个卵巢柄与卵巢相连,这种卵即将进入输卵管的上端,完成受精作用并下行产卵;②透明膜增厚并形成放射纹;③卵黄颗粒增多、颗粒增大,直径最大达28微米;④细胞核偏向动物极,核仁20—35个;⑤由于泄殖腔的挤压,产出的卵呈长卵形,长径:短径=28941:17743微米(标本数101个)。产过卵的卵巢(6夏龄以上)可见黄体存在(图版,6)。

2. 精细胞发育的特征

(1) 精原细胞 精原细胞呈圆形或椭圆形,分散排列,正进行频繁的有丝分裂。细胞直径5—7微米,核位于中央,嗜碱性(图版,7)。

(2) 初级精母细胞 于曲细精管中,分散在精原细胞之间,初级精母细胞比精原细胞约大,在管腔的边缘可常看到更大一些的营养细胞,即足细胞(图版,8)。

(3) 次级精母细胞 曲细精管之间有结缔组织分隔,每个小管中可见三种不同等级的精母细胞和足细胞。足细胞和精原细胞并排相间,排列在基膜上。再向中心是初级精母细胞和次级精母细胞。次级精母细胞中可见灯刷状的染色体,染色极深(图4,9—10)。

(4) 精子细胞 精子细胞的体积最小,染色很深,但它逗留时间不长,很快便完成变态而成为头尾可分的精子。这种刚完成变态的精子排列很有规则,头靠头地向着精细管中心,成束附着在足细胞上(图版,11)。这种精子尚无受精能力。其排列方式和功能与阳爱生^[2]在大鲵V期早期精巢中所见精子的特征颇为相似。

(5) 成熟精子 成熟精子如鞭毛状,全长7.5—8微米,头很小(约1.7微米),染成深兰色,无定向地簇集在管腔内中央(图版,12)。

(四) 第一个性周期性腺发育的相关分析

1. 卵巢发育与年龄的关系(见表1)

在第一个性周期,乌龟的年龄与卵巢成熟系数呈强正相关关系,相关系数为 $r=0.8619(0.05>P>0.01)$,并可分为两个明显的发育阶段。1—4龄为生长阶段,5龄始进入成熟阶段。相应地,卵巢成熟系数与年龄的关系也可分为两个阶段,并表现出两条近似直线的线性关系。用回归方程表示为 $A-C_1=0.132T_1-0.16$, $B-C_2=4T_2-14.6667$ (图1)。

2. 精巢发育与年龄的关系

将精巢成熟系数按年龄作图(图2),可见精巢成熟系数与年龄呈近似抛物线的相关曲线。相关系数 $r=0.9558(P<0.01)$ 。用抛物线回归方程式表示为 $C=0.4621+0.4624T-0.0486T^2$ 。

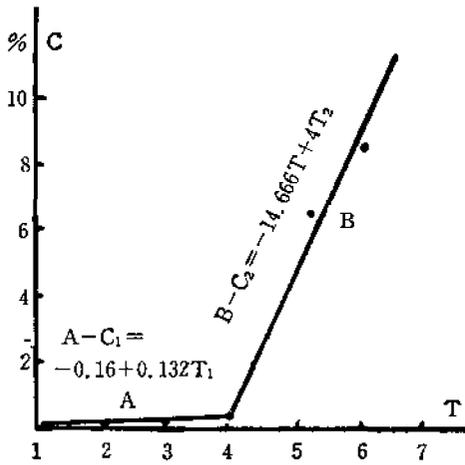


图1 乌龟卵巢成熟系数与年龄的关系

Fig. 1 The relationship between age and gonadosomatic index of tortoise

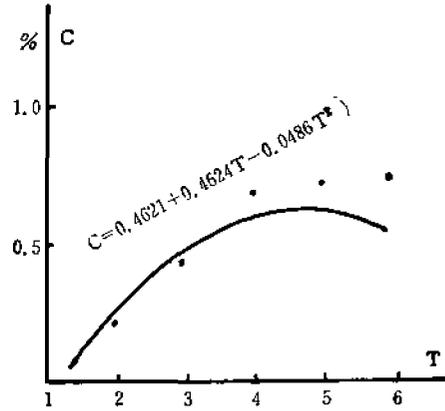


图2 乌龟精巢成熟系数与年龄的关系

Fig. 2 The relationship between age and gonadosomatic index of tortoise

C—成熟系数; T—年龄。 C—Gonadosomatic index; T—Age

3. 个体生长与性成熟的关系

用相应年龄的平均体重作图(见图3),可见龟的体重与年龄呈近似直线关系,相关系数 $r = 0.9935 (P < 0.01)$, 相关程度非常密切。直线回归方程式表达为 $W = -80.6286 + 62.0964T$ 。根据4龄以前卵巢中没有成熟卵母细胞,5龄卵巢中才有成熟卵母细胞,6夏龄以上卵巢中存在黄体的事实,可以推断,雌龟第一次性成熟年龄是5龄。同样根据5龄精巢中才有成熟精子的事实可知,雄龟第一次性成熟年龄也是5龄。性成熟主要受年龄制约,而与体重无相关关系。

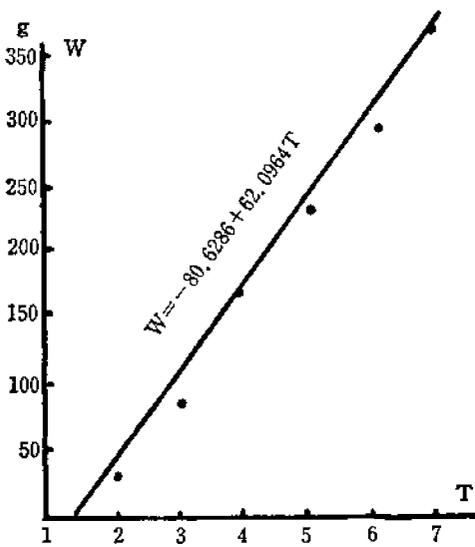


图3 乌龟(古)的体重与年龄的关系

Fig. 3 The relationship between age and body weight of tortoise

W—体重; T—年龄。 W—Weight; T—age

4. 性腺发育与季节变化的关系

卵巢成熟系数与季节无近似直线相关的关系,而表现为一曲线增长的关系,成熟系数波动在4—21%。如果排除卵巢中的硬壳卵,我们将看到卵巢成熟系数将终年维持在一个较窄的范围内波动(4—8.9%)。精卵成熟系数的季节变化更小,终年稳定在0.3—0.9%的范围内。

结语和讨论

1. 在第一个性周期里,乌龟卵细胞发育的各个时期均能看到卵原细胞在进行有丝分裂,并且在性成熟卵巢中不同等级的成熟卵母细胞与不同发育阶段的初级卵母细胞同时存在,这是多次产卵类型的细胞学证据。但是,已达生长成熟的卵子能否产出体外,乃受营养和生态等外界条件的明显制约。若外界条件满足其要求,成熟卵便能进入输卵管的上端,完成受精后向输卵管的下端蠕动,为蛋白和蛋壳所包被,然后产出体外。如果未能获得必要的条件,则不能产出。它的前途或为母体所吸收,或待来年再产出。这在生产实践中具有重要意义。它向生产者提出了一个如何充分满足其营养和生态等条件的问题,以促使达到成熟指标的龟卵能在当年全部产出来。实验表明,生长成熟的卵未能产出而被滤泡细胞侵入、退化吸收的是极少数,多数可在来年产出。这说明龟类同鱼类和两栖类有联系而又有区别。

2. 在第一个性周期里龟的体重(W)与年龄(T)表现为近似直线相关关系,卵巢成熟系数(C)与年龄(T)也表现为近似直线的相关关系,但卵巢成熟系数(C)与体重(W)则表现出无规律性的曲线变化。作者认为,这可能是因为乌龟的生长和发育同时受营养和生态等条件的影响较大的缘故。此外,成熟乌龟个体的成熟系数与季节变化的关系表现为曲线关系是肯定的,但是临产前夕卵巢中的硬壳卵是否作为卵巢成熟系数的依据,值得进一步研究,因为硬壳卵实质上已不是一个卵细胞,而是一个早期胚胎^[5]。本实验在生殖季节共解剖了成熟雌龟34只。凡输卵管中无硬壳卵者,卵巢成熟系数均在8.9%以下(幅值4—8.9%)。按此计算可看出,个体成熟系数与季节变化的关系表现为变化不大的曲线关系。这同卵巢的切片观察结果相符合,也即终身可见到不同等级的生殖细胞同时存在。成熟个体的精子形成与存活则不受季节变化的约束。

3. 我们在实验中看到,一批龟卵(标本数101个)重量幅度为3.7—8.65克,大小相差2.3倍,而同批卵孵出的稚龟体重幅度却达2.9—11.8克,重量竟要相差4倍。这说明卵大孵出的稚龟大,而卵小则稚龟也小。同时还发现,大稚龟生长速度快,小稚龟生长速度则慢,其差距越往后越大。这些发现可作为乌龟人工选择的依据。我们认为,在生产中应挑选个大体壮的父母本作种龟;同时加强饲养,充分保证营养并满足其生态条件的要求,从而促进乌龟生殖细胞的充分生长和发育,以期达到产大卵、孵大龟、育大种。建议选用6龄以上、体重300克(雄性150克)以上的乌龟作为亲本,并挑选4克以上的龟卵进行孵育生产。

参 考 文 献

- [1] 上海市南汇县水产养殖科组,1971。饲养乌龟的初步经验。动物学杂志,(3):16。
- [2] 朱洗等,1960。家鱼人工生殖的研究,9—11。科学出版社。
- [3] 阳爱生等,1980。大鲵性腺发育的组织学研究。湖南水产科技,(8):81。
- [4] 刘筠等,1984。鳖性腺发育的研究。水生生物学集刊,8(2):145—151。
- [5] 刘国安等,1984。乌龟(*Chinemys reevesii*)胚胎发育的初步观察。动物学研究,(5):1,51—56。
- [6] 吴建中,1981。乌龟的生殖习性。动物学杂志,(1):98。

[7] 姚闻卿,1980。乌龟与鳖的生物学及其人工养殖。动物学杂志,(2):83。

**STUDIES ON GONADAL DEVELOPMENT OF TORTOISE
*CHINEMYS REEVESII***

Liu Guoan and Liu Yunqing

(Fisheries Research Institute of Hunan Province)

Hu Diguang and Xion Wenhua

(The Fish Farm of Xingsiang County, Hunan Province)

ABSTRACT Totally 87 individuals of cultured tortoise (*Chinemys reevesii*) with different ages were dissected to characterize the histological change of their gonadal development. The relationships between gonadosomatic index (GSI) and body weight, age as well as seasonal change were also established, which could provide some theoretical bases for the artificial breeding of tortoise.

KEYWORDS tortoise, gonadal development, sex maturity, gonadosomatic index