

DOI: 10.3724/SP.J/1118.2011.00350

金乌贼和曼氏无针乌贼胚胎发育及其盐度耐受能力的比较研究

雷舒涵¹, 吴常文², 高天翔¹, 郝振林^{1,3}, 张秀梅¹

1. 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 浙江海洋学院, 浙江 舟山 316004

3. 大连海洋大学, 辽宁 大连 116023

摘要: 采集金乌贼(*Sepia esculenta*)及曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)受精卵, 观察了金乌贼胚胎发育过程, 比较分析了 2 种乌贼受精卵和仔乌的形态特征; 分别研究了金乌贼受精卵在盐度 20、25、30(对照)、33、36 及曼氏无针乌贼受精卵在盐度 15、20、25、30(对照)、36 条件下的孵化率, 分析了 2 种乌贼受精卵在 192 h 盐度突变过程中卵液渗透压和受精卵 Na^+/K^+ -ATPase 活力的变化, 比较了其在相同盐度 20、25、30、36 条件下的孵化率及耐受盐度突变的生理适应过程。结果表明, 金乌贼胚胎发育第 7 天器官开始分化, 第 14 天器官开始形成, 盐度 30、水温 22~24℃时, 其孵化时间为 20~21 d; 盐度 30 处理组, 2 种乌贼受精卵的孵化率均显著高于其他盐度处理组 ($P<0.01$); 在 192 h 盐度突变过程中, 2 种乌贼受精卵卵液渗透压随环境盐度的变化而变化, 金乌贼受精卵卵液渗透压与环境渗透压相等, 而曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压比环境渗透压平均高出 60 mOsm/kg, 2 种乌贼受精卵均未检测到 Na^+/K^+ -ATPase 活性。比较发现, 虽然 2 种乌贼受精卵调节渗透压能力均较弱, 但曼氏无针乌贼受精卵比金乌贼能更好地适应盐度变化。本研究旨在探明两种乌贼受精卵对盐度的适应性, 为开展规模化人工繁育与资源增殖提供基础依据。[中国水产科学, 2011, 18(2): 350–359]

关键词: 金乌贼; 曼氏无针乌贼; 盐度; 胚胎发育; 孵化率; 卵液渗透压; Na^+/K^+ -ATPase

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)02-0350-10

金乌贼(*Sepia esculenta*)和曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)均俗称墨鱼, 其生长速度较快, 生命周期短, 为一年生软体动物。20 世纪 80 年代以来, 由于过度捕捞及不合理的资源利用, 致使乌贼资源急剧衰退。渔业资源的补充和恢复主要取决于受精卵的数量和幼体成活率^[1], 并受产卵场和索饵场理化环境的直接影响^[2]。盐度是影响头足类分布、生殖集群和胚胎发育的重要环境因子^[3-5]。研究发现, 在有江河注入的沿海海域, 由于海水盐度较低, 极少有乌贼分布^[6]。金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵在低潮带至 20 mm 深的海域孵化^[3,7], 雨水、干旱及河水的注入经常使孵化水域

的盐度发生变化, 从而会导致受精卵孵化率较低。目前, 尽管对金乌贼和曼氏无针乌贼的生物学特征、洄游分布、遗传多样性等方面进行了较深入的研究^[8-12], 但关于金乌贼胚胎发育过程及盐度对金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵孵化率的影响报道较少。本研究观察了金乌贼胚胎发育过程, 比较了金乌贼与曼氏无针乌贼受精卵及早期仔乌的形态学差异, 研究了不同盐度条件下金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵的孵化率及其在盐度突变过程中渗透压的调节能力, 旨在探明 2 种乌贼受精卵对盐度的适应性, 开展规模化人工繁育与资源增殖提供科学依据。

收稿日期: 2010-04-12; 修订日期: 2010-07-01.

基金项目: 国家 863 计划项目(2010AA10A404); 国家海洋局海洋公益项目(200905019).

作者简介: 雷舒涵(1987-), 女, 硕士研究生, 从事金乌贼胚胎发育生物学研究. E-mail: shuhanlei@163.com

通讯作者: 张秀梅, 教授. Tel: 0532-82032076, E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料

金乌贼胚胎发育观察所需受精卵的来源为:2009年5月从日照岚山头近海采捕金乌贼亲体158只,选取健康亲体按雌雄比1:1分别暂养于5个3 m×2 m×0.7 m的水泥池内,每池20尾,充气、遮光,并将金乌贼产卵基放入池内收集受精卵。实验用海水温度为 $(17 \pm 1)^\circ\text{C}$,盐度 30 ± 0.3 ,pH 7.5 ± 0.6 ,光照度4.1~13.1 lx。连续观察,并记录产卵时间,产卵开始至产卵后1 h时间内将受精卵取出,置于35 cm×25 cm×30 cm玻璃水槽(养殖水体15 L)中孵化,孵化水温22~24 $^\circ\text{C}$,盐度 30 ± 0.5 ,pH 7.8~8.6,连续充氧。

盐度对2种乌贼受精卵孵化率影响实验所需受精卵的来源为:2009年6月,从日照近海收集金乌贼受精卵885粒,受精卵为受精后4~5 d,海区水温20 $^\circ\text{C}$ 、盐度30;从舟山近海收集曼氏无针乌贼受精卵1 050粒,受精卵为受精后3~5 d,海区水温22 $^\circ\text{C}$ 、盐度28。受精卵潮湿状态下运至中国海洋大学鱼类行为生态学实验室。实验前暂养2 d。暂养水温22~24 $^\circ\text{C}$,盐度 30 ± 0.5 ,pH 7.8~8.6,实验用水为砂滤海水。

1.2 实验方法

1.2.1 金乌贼胚胎发育的观察 由于金乌贼受精卵卵膜较厚,无法直接观察,因此用解剖针将卵膜剥离,在解剖镜下观察。孵化后第1~4天,每2 h观察受精卵,第5天后,每天15:00观察胚胎发育情况,记录胚胎形态变化,并拍照。同时测量不同时期受精卵的卵径、卵黄囊径及初孵仔乌的全长、胴长、胴宽、质量等。

1.2.2 盐度对2种乌贼受精卵孵化率的影响 因金乌贼适盐范围为24~35、曼氏无针乌贼适盐范围为17~35,后者的适盐范围更广^[13],所以将金乌贼受精卵的孵化盐度设定为20、25、30(对照)、33、36共5个处理,曼氏无针乌贼的孵化盐度设定为15、20、25、30(对照)、36共5个处理。每个处理设3个重复,使用30个35 cm×25 cm×30 cm玻璃水槽(养殖水体15 L)作为孵化槽。随机选

取受精后5~8 d的受精卵,放入不同处理的孵化槽,金乌贼受精卵59枚/槽,曼氏无针乌贼受精卵70枚/槽。

各盐度处理组由自然砂滤海水与海水素(高盐组)或曝气淡水(低盐组)配置而成。受精卵放入不同盐度梯度水体后,于0 h、1 h、6 h、12 h、24 h、48 h、96 h、192 h在每个孵化槽随机选取3枚卵,利用VAPRO5520型露点渗透压仪测其卵液渗透压,利用南京建成生物工程研究所生产的 Na^+/K^+ -ATPase测试盒测定全卵 Na^+/K^+ -ATPase活性。剩余受精卵进行各盐度处理组孵化率实验。

受精卵孵化期间,水温22~24 $^\circ\text{C}$,pH 7.8~8.6,连续充氧,每两天更换2/3孵化水体,并及时吸底。每日08:00、17:00观察受精卵孵化情况,对孵出幼体进行计数,并将孵出幼体捞出,按照种类分别放入2个35 cm×25 cm×30 cm玻璃水槽(养殖水体15 L)中暂养,暂养期间水温22~24 $^\circ\text{C}$,盐度 30 ± 0.5 ,pH 7.8~8.6,连续充氧,随机投喂活体卤虫及糠虾。暂养3 d后观察2种仔乌的行为特征,并于孵化后第10天测定2种仔乌的全长、胴长、胴宽、质量等形态特征,比较2种仔乌的胴体形状、胴体颜色、色素分布、肉鳍、漏斗和骨针等。受精卵孵化率实验共持续40 d,2种初孵仔乌的形态和行为特性观察共进行了10 d。

1.3 统计分析

利用Excel 2003分析实验数据,并用SPSS 13.0软件进行方差分析,差异显著时使用Duncan多重比较分析组间差异,使用独立样本 T 检验分析2个样本间的差异显著性,以 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著, $P > 0.05$ 为差异不显著。

2 结果与分析

2.1 金乌贼胚胎发育特征

卵的形态与结构:初产金乌贼受精卵较柔软,呈乳白色,椭球状,长径为 (14.55 ± 2.14) mm,短径为 (10.46 ± 1.69) mm。随发育时间增加,受精卵逐渐紧缩,临近孵出时刻,又开始吸水膨大,呈透明状。幼体即将孵出时,卵粒变得最大,长径为 (16.27 ± 1.99) mm,短径为 (15.07 ± 1.77) mm。卵膜

2 层, 韧性强(表 1、表 2)。

观察发现, 金乌贼受精卵发育经历卵裂期—囊胚期—原肠期—器官分化期—器官形成期—初孵仔乌期等 6 个时期。

胚胎发育过程如图版 I 和图版 II 所示。在孵化水温 22~24 时, 金乌贼受精卵在排出体外后 5~6 h 开始卵裂, 卵裂仅在卵黄的动物极进行, 且为不完全分裂, 卵裂沟清晰可见。从 2 细胞期到多细胞期分裂需 38~46 h, 进入囊胚期后, 可见囊胚中间较小的细胞和外缘较大的胚盘。受精后 50~56 h, 进入原肠期, 胚盘向植物极延伸并下包。金乌贼受精卵产后第 5 天, 卵黄开始逐渐膨大; 第 6 天, 卵黄约占胚胎体积的 1/2; 第 7 天, 器官开始分化, 胚体原基开始出现, 可以观察到新月型的眼原基; 第 8 天, 外套缘开始显露, 后期逐渐增长而构成外套膜, 外套腔同时加深, 两眼之间产生口, 左右漏斗褶相互缝合; 第 9 天, 胚体卵黄开始隆起, 头部出现红褐色的眼, 腕的数目开始增多, 肉鳍为两个小芽状结构; 第 10 天, 眼上有小点状色素出现, 腕逐渐增长, 鳍芽分别转至胴后两侧; 第 13 天, 骨板出现; 第 14 天, 初具乌贼幼体形态, 两眼呈浓红褐色, 外套膜色素呈现金黄色小点状, 肉鳍形态开始完善, 触腕缩入腕基部的囊袋内; 第 20 天, 眼呈黑褐色, 外套膜背面有大量黑色素颗粒出现; 第 21 天, 幼体孵出。孵化前 5~6 d, 胚胎除有时在涨大的卵膜内稍做活动外, 平时皆以背后端向上而呈静息状态。此时胚胎如果受到外界刺激, 便会不断收缩外套, 在膜内冲撞, 当刺激过于强烈时, 则立刻喷墨。

2.2 盐度对金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵孵化率的影响

盐度对金乌贼受精卵孵化率的影响如图 1 所示。盐度 30 处理组孵化率最高, 平均为 92.8%, 显著高于其他处理组($P<0.01$)。而盐度 20、25、33、36 处理组金乌贼受精卵的孵化率均低于 30%, 其中又以盐度 20 处理组孵化率最低, 平均仅为 0.9%, 且与盐度 25、30、33 处理组间存在显著差异($P<0.01$)。

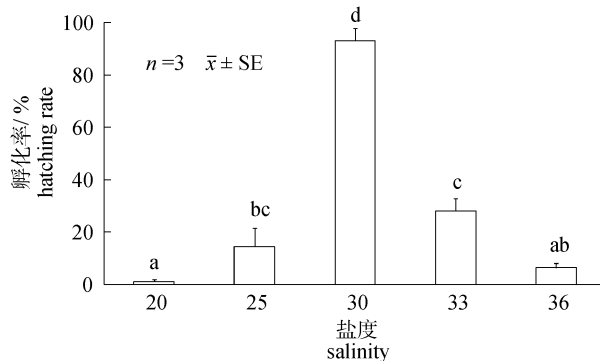


图 1 不同盐度条件下金乌贼受精卵的孵化率
不同盐度组误差线上的不同字母表示差异极显著($P<0.01$).
Fig.1 Hatching rate of fertilized egg of *S. esculenta* under different salinity conditions
Different letters above error bars indicate significant differences ($P<0.01$).

盐度对曼氏无针乌贼受精卵孵化率的影响如图 2 所示。盐度 30 处理组孵化率最高, 平均为 77.8%, 显著高于盐度 15、20、36 处理组($P<0.05$), 而与盐度 25 处理组无显著差异($P>0.05$)。盐度 20、25、36 处理组的孵化率在 32%~47%, 且处理组间无显著差异($P>0.05$)。而盐度 15 处理组孵化率最低, 平均仅为 0.7%, 且与其他处理组存在显著差异($P<0.01$)。

相同海水盐度条件下, 金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵孵化率的比较如图 3 所示。经独立样本

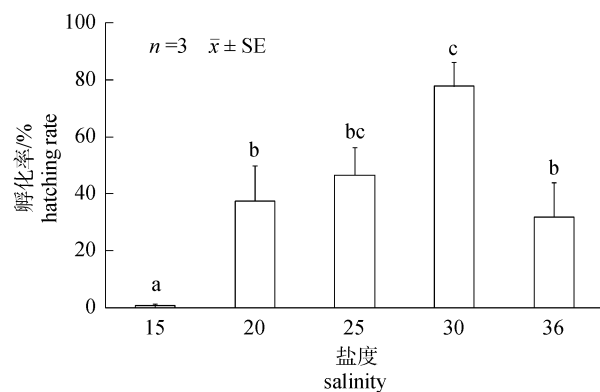


图 2 不同盐度条件下曼氏无针乌贼受精卵的孵化率
不同盐度组误差线上的不同字母表示差异极显著($P<0.01$).
Fig.2 Hatching rate of fertilized egg of *S. maindroni* under different salinity conditions
Different letters above error bars indicate significant differences ($P<0.01$).

表 1 金乌贼和曼氏无针乌贼受精卵形态特征的比较
Tab. 1 Comparison of morphological characteristics between *S. esculenta* and *S. maindroni* fertilized eggs

$n=30; \bar{x} \pm SE,$

种类 species	初产受精卵 newly laid eggs		即将孵化受精卵 immediately hatching eggs		初产受精卵卵黄囊 yolk sac of newly laid eggs		孵化时间/d incubation period	孵化水温/ incubation water temperature
	长径/mm long diameter	短径/mm short diameter	长径/mm long diameter	短径/mm short diameter	长径/mm long diameter	短径/mm short diameter		
金乌贼 <i>S. esculenta</i>	14.55±2.14	10.46±1.69	16.27±1.99	15.07±1.77	5.91±0.10	4.08±0.14	21–22	22–24
曼氏无针乌贼* <i>S. maindroni</i>	9.2	6.3	9.5	9.1	3.3	2.3	18–21	23.8–26.2

注: *曼氏无针乌贼胚胎发育特征见刘振勇等^[14].

Note: * means the emryonic development of *S. maindroni* from Liu et al^[14].

表 2 金乌贼和曼氏无针乌贼初孵仔乌形态特征的比较
Tab. 2 Comparison of morphological characters for newly hatched larvae between *S. esculenta* and *S. maindroni*

$n=30; \bar{x} \pm SE,$

种类 species	全长/mm total length	胴长/mm mantle length	胴宽/mm mantle width	质量/mg body mass	胴体形状 mantle appearance	胴体颜色 mantle colour	色素分布 siment distribution	肉鳍 fin	漏斗 funnel	骨针 spicule
金乌贼 <i>S. esculenta</i>	10.75±0.19	6.06±0.19	5.16±0.21	63.20±8.39	盾形	黄褐色	胴背棕色与白色细斑相间, 中间斑点多为金黄色, 两侧斑点多为褐色	位于胴部左右两侧全缘, 内侧绕体一周处分布有细小斑点	无色素分布, 边缘凹形	有
曼氏无针乌贼 <i>S. maindroni</i>	6.25±0.46	3.72±0.34	2.99±0.30	19.08±1.94	卵圆形	黑褐色	通体附黑褐色色素颗粒, 背部斑点较腹部集中, 且中间斑点较两侧集中	前段狭窄, 向后部渐宽, 位于胸部两侧全缘, 无斑点分布	有黄褐色色素分布, 边缘较平	无

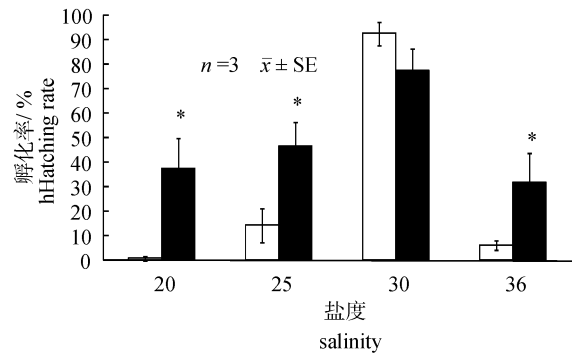


图 3 相同盐度条件下金乌贼(□)、曼氏无针乌贼(■)受精卵孵化率的比较

* 表示同一盐度组内两种乌贼间差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 3 Comparison of hatching rate between *S. esculenta* (□) and *S. maindroni* (■) under the same salinity conditions

* In the same cluster above error bars indicate significant differences ($P<0.05$).

T 检验, 在盐度 20、25、36 条件下, 曼氏无针乌贼受精卵孵化率均显著高于金乌贼受精卵($P<0.05$); 而在盐度 30 条件下, 2 种乌贼受精卵的孵化率无显著差异($P>0.05$).

2.3 盐度突变对金乌贼、曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压的影响

盐度突变对金乌贼、曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压的影响如表 3、表 4 所示: 盐度突变对两种乌贼受精卵卵液渗透压的影响均极显著($P<0.01$)。盐度由 30 向低盐处理突变时, 2 种乌贼受精卵卵液渗透压均显著降低, 而向高盐处理组突变时, 卵液渗透压则显著升高($P<0.01$)。但 2 种乌贼受精卵卵液渗透压的变化均发生在盐度突变

表 3 盐度突变对金乌贼受精卵卵液渗透压的影响

Tab.3 Effects of abrupt salinity changes on egg fluid osmotic pressure of *S. esculenta*

时 间/h time	盐度 salinity				
	20	25	30	33	36
0	901.3 ± 6.3 ^{a/A}	901.3 ± 6.3 ^{a/A}	901.3 ± 6.3 ^{a/A}	901.3 ± 6.3 ^{a/A}	901.3 ± 6.3 ^{a/A}
1	668.0 ± 5.2 ^{c/A}	772.0 ± 6.4 ^{b/B}	907.0 ± 6.2 ^{ab/C}	1032.0 ± 3.5 ^{bc/D}	1120.0 ± 4.6 ^{b/E}
6	660.2 ± 4.4 ^{cd/A}	743.2 ± 3.8 ^{c/B}	917.0 ± 4.8 ^{abc/C}	1036.3 ± 5.3 ^{bc/D}	1120.3 ± 8.0 ^{b/E}
12	712.0 ± 16.8 ^{b/A}	787.0 ± 8.4 ^{b/B}	944.7 ± 5.0 ^{d/C}	1044.9 ± 5.5 ^{bc/D}	1117.1 ± 15.0 ^{b/E}
24	677.6 ± 2.9 ^{c/A}	781.6 ± 4.5 ^{b/B}	936.0 ± 6.8 ^{cd/C}	1047.1 ± 6.1 ^{c/D}	1106.0 ± 4.6 ^{b/E}
48	703.3 ± 7.6 ^{b/A}	778.1 ± 7.8 ^{b/B}	930.2 ± 5.9 ^{cd/C}	1044.6 ± 8.0 ^{bc/D}	1096.3 ± 5.7 ^{b/E}
96	626.1 ± 6.2 ^{d/A}	720.6 ± 2.4 ^{d/B}	921.1 ± 7.6 ^{bc/C}	1024.6 ± 3.3 ^{b/D}	1092.9 ± 9.6 ^{b/E}
192	649.8 ± 7.1 ^{cd/A}	733.6 ± 5.0 ^{cd/B}	924.1 ± 6.0 ^{bc/C}	1028.4 ± 6.7 ^{bc/D}	1151.7 ± 9.7 ^{c/E}

注: 同一列(或行)中标有不同小写字母(或大写字母)的数值表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values with different lowercase letters (or capital letters) in the same row (or line) indicate significant difference among groups ($P<0.05$).

表 4 盐度突变对曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压的影响

Tab. 4 Effects of abrupt salinity changes on egg fluid osmotic pressure of *S. maindroni*

时 间/h time	盐度 salinity				
	15	20	25	30	36
0	894.0 ± 7.8 ^{a/A}	894.0 ± 7.8 ^{a/A}	894.0 ± 7.8 ^{a/A}	894.0 ± 7.8 ^{ab/A}	894.0 ± 7.8 ^{a/A}
1	518.0 ± 8.1 ^{c/A}	627.0 ± 13.9 ^{c/B}	780.0 ± 5.9 ^{bcd/C}	899.0 ± 9.8 ^{ab/D}	1065.0 ± 9.6 ^{b/E}
6	508.4 ± 9.3 ^{c/A}	644.1 ± 9.3 ^{c/B}	755.1 ± 11.4 ^{de/C}	918.8 ± 10.6 ^{bc/D}	1102.7 ± 169.0 ^{c/E}
12	544.7 ± 11.0 ^{b/A}	674.7 ± 12.3 ^{b/B}	805.0 ± 18.5 ^{b/C}	932.4 ± 16.1 ^{c/D}	1096.6 ± 11.9 ^{bc/E}
24	521.3 ± 8.4 ^{c/A}	641.6 ± 7.3 ^{c/B}	764.3 ± 7.7 ^{cde/C}	895.3 ± 9.1 ^{ab/D}	1064.6 ± 5.3 ^{b/E}
48	504.9 ± 4.0 ^{c/A}	631.3 ± 6.3 ^{c/B}	737.7 ± 10.9 ^{c/C}	877.0 ± 7.0 ^{d/D}	1092.1 ± 7.1 ^{bc/E}
96	503.2 ± 4.2 ^{c/A}	643.2 ± 3.5 ^{c/B}	795.2 ± 9.8 ^{bc/C}	944.1 ± 8.2 ^{c/D}	1150.0 ± 7.1 ^{d/E}
192	498.3 ± 3.4 ^{c/A}	630.4 ± 4.8 ^{c/B}	747.4 ± 3.8 ^{de/C}	884.7 ± 4.4 ^{a/D}	1064.7 ± 3.5 ^{b/E}

注: 同一列(或行)中标有不同小写字母(或大写字母)的数值表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values with different lowercase letters (or capital letters) in the same row (or line) indicate significant difference among groups ($P<0.05$).

后 1 h 内, 盐度突变时间超过 1 h 后, 2 种乌贼受精卵卵液渗透压趋于稳定。

金乌贼、曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压与环境渗透压的关系如图 4 所示。2 种乌贼受精卵卵液渗透压均随环境盐度的变化而变化, 金乌贼受精卵卵液渗透压与环境渗透压相等, 而曼氏无针乌贼受精卵卵液渗透压比环境渗透压平均高出 60 mOsm/kg。

经分析测定, 金乌贼、曼氏无针乌贼受精卵均未检出 Na^+/K^+ -ATPase 活性。

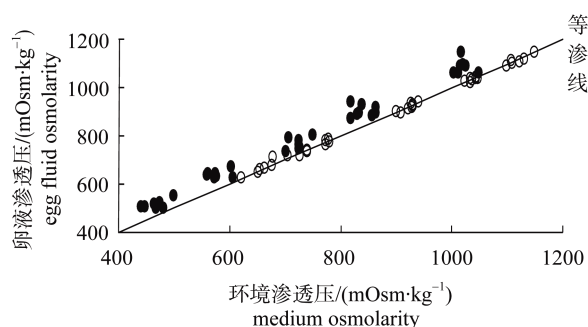


图 4 金乌贼(○)、曼氏无针乌贼(●)卵液渗透压与等渗线的关系

Fig. 4 Relationship between egg fluid osmolarity and isosmotic line of *S. esculenta* (○) and *S. maindroni* (●)

3 讨论

3.1 金乌贼与曼氏无针乌贼受精卵及初孵仔乌形态特征比较

本研究未收集到曼氏无针乌贼初产受精卵, 因此参照刘振勇等^[14]曼氏无针乌贼受精卵形态测量数据进行了比较分析。

2 种乌贼受精卵的形状、卵色及个体大小均有差异。观察发现, 金乌贼受精卵呈椭球状, 卵白色, 个体较大, 约是曼氏无针乌贼受精卵体积的 4 倍(表 1); 而曼氏无针乌贼受精卵呈尖梨状, 个体较小, 卵有黑、白 2 种颜色, 但黑色个体居多。

2 种乌贼受精卵的卵黄囊大小差异较为明显。初产金乌贼受精卵卵黄囊体积较大, 约为曼氏无针乌贼受精卵卵黄囊体积的 5 倍(表 1)。

2 种乌贼受精卵卵膜形成机制不同, 从而导致其受精卵颜色也不同。金乌贼受精卵具 2 层卵膜, 内层为滤泡细胞分泌的次级卵膜(数据未发

表), 卵母细胞成熟后排于卵巢腔中, 经过输卵管排出体外再包被有三级卵膜^[3]; 曼氏无针乌贼亦具 2 层卵膜, 分别为次级卵膜和三级卵膜, 次级卵膜由滤泡细胞分泌, 三级卵膜由输卵管腺、缠卵腺以及墨囊分泌物共同构成^[15], 因此导致曼氏无针乌贼受精卵黑色居多。

2 种乌贼初孵仔乌形态也有明显不同。金乌贼初孵仔乌个体较大, 而曼氏无针乌贼初孵仔乌个体较金乌贼小。2 种乌贼初孵仔乌的全长、胴长、胴宽、质量差异显著($P < 0.05$)。2 种乌贼初孵仔乌形态特征的比较见表 2。

两种乌贼初孵仔乌除形态有明显不同外, 行为亦有差异。金乌贼初孵仔乌通常安静地栖于水底, 这可能与金乌贼具潜沙习性有关^[16], 而曼氏无针乌贼仔乌喜浮于水面并沿养殖水槽壁成行排列, 早晚均活泼游泳, 这与董正之报道的野生稚仔^[13]的行为习性相一致。

3.2 盐度对 2 种乌贼受精卵孵化率影响的比较

盐度是直接影响头足类胚胎发育的主要因子之一, 头足类的早期发育要求的适盐范围因种类的不同而存在差异。研究发现, 太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*)在盐度 33.45 和 31.47 条件下, 受精卵孵化率均为 87.5%, 且孵出幼体可以正常游动, 而盐度 29.53 和 27.58 条件下, 孵化率显著降低, 孵出幼体虽然可以收缩外套膜但却不能游泳^[5]。Cinti 等^[17]认为, 在盐度 20 条件下, 巴塔哥尼亚枪乌贼(*Loligo gahi*)受精卵孵化率为 0, 胚胎有色素形成, 心脏跳动, 但外套膜和腕却没有形成; 而在盐度 26.4 和 32.8 条件下, 孵化率均达到 90%以上, 且孵出幼体游动活跃; 在盐度 34.3 条件下, 受精卵发育正常却不能孵化, 胚胎没有出膜能力, 一直持续此状态近 50 d, 直至卵黄中的营养吸收殆尽后死亡。本研究发现, 盐度 20 条件下, 金乌贼受精卵内部模糊, 发育受阻, 卵膜毛糙; 盐度 15 条件下, 绝大多数曼氏无针乌贼受精卵发育停止; 2 种乌贼受精卵在盐度 30 条件下的孵化率最高, 而其他盐度处理组孵化率均较低, 因此认为盐度 30 是 2 种乌贼胚胎发育的适宜盐度。但曼氏无针乌贼受精卵比金乌贼对盐度变化

的适应性更强。

3.3 金乌贼和曼氏无针乌贼渗透压的调节机能

关于鱼类渗透压调节能力与调节机制的研究已有大量报道^[18-21], 硬骨鱼类胚胎发育初期, 由于鳃和成体用于调节渗透压的器官没有发育完全, 但又要保证卵内适合发育的条件, 因此胚胎对水和离子的渗透作用极低, 这与它们在胚胎发育初期渗透调节机制有关^[22]。而本研究发现, 2 种乌贼受精卵卵液渗透压均随环境渗透压的变化而变化, 而受精卵均未检测到 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性, 说明 2 种乌贼受精卵的渗透压调节能力较弱, 卵膜具有高通透性。分析认为头足类和硬骨鱼类渗透压调节机制的差异可能为生物进化所致, 同时其差异也表明头足类在生物进化过程中尚处于较低水平。

研究发现, 许多鱼类如太平洋鲱(*Clypea pallasi*)^[23]、太平洋虫鲈(*Eopsetta jordari*)^[24]等胚胎发育所要求的盐度比其成鱼存活的条件范围要窄, 金乌贼和曼氏无针乌贼也存在类似的现象。金乌贼和曼氏无针乌贼幼体的发育和成熟总是在比较稳定的盐度环境中进行, 其胚胎发育自然也要求同样高而且稳定的海水盐度。而 2 种乌贼受精卵在低盐或高盐处理组的孵化率均较低, 这可能是因为卵膜难以调节细胞与周围介质之间的物质平衡而导致受精卵损伤或代谢失调所致。这种现象在军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[25]和暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)^[26]等鱼类的研究中也得到了证实。然而, 关于头足类渗透压调节机制的研究仍需进一步深入。

参考文献:

- [1] 郑元甲, 陈雪忠, 程家骅, 等. 东海大陆架生物资源与环境 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 722-727.
- [2] Sakurai Y, Kiyofuji H, Saitoh S, et al. Changes in inferred spawning areas of *Todarodes pacificus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) due to changing environmental conditions [J]. ICES Journal of Marine Science, 2000, 57: 24-30.
- [3] 李嘉泳. 金乌贼(*Sepia esculenta* Hoyle)在黄渤海的结群生殖和洄游 [J]. 山东海洋学院学报, 1963, 5 (2): 69-108.
- [4] Paulij W P, Bogaards R H, Denucé J M. Influence of salinity on embryonic development and distribution of *Sepia officinalis* in the Delta Area (South Western part of The Netherlands) [J]. Marine Biology, 1990, 107: 17-23.
- [5] Furukawa H, Sakurai Y. Effect of low salinity on the survival and development of Japanese common squid *Todarodes pacificus* hatchling [J]. Fisheries Science, 2008, 74(2): 458-460.
- [6] 张玺, 齐钟彦, 李洁民. 中国经济动物志 - 海产软体动物 [M]. 北京: 科学出版社: 1962: 213-217.
- [7] 张炯, 卢伟成. 曼氏无针乌贼 *Sepiella maindroni* 繁殖习性的初步观察 [J]. 水产学报, 1965, 2: 35-41.
- [8] 韦柳枝, 高天翔, 韩志强, 等. 日照近海金乌贼生物学的初步研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(6): 923-928.
- [9] 郝振林, 张秀梅, 张沛东. 金乌贼的生物学特性及增殖技术 [J]. 生态学杂志, 2007, 26(4): 601-606.
- [10] 李成林, 张艳萍, 赵斌, 等. 胶州湾曼氏无针乌贼资源量与季节变化的调查研究 [J]. 渔业科学进展, 2009, 30 (3): 62-67.
- [11] Wei L Z, Gao T X, Zhang X M. Isozyme analysis of *Sepia esculenta* (Cephalopoda: Sepiidae) [J]. 中国水产科学, 2005, 12(5): 549-556.
- [12] Zheng X D, Minoru I, Kong L F, et al. Genetic diversity and population structure of the golden cuttlefish, *Sepia esculenta* (Cephalopoda: Sepiidae) indicated by microsatellite DNA variations [J]. Mar Ecol, 2009, 30 (4): 448-454.
- [13] 董正之. 世界大洋经济头足类生物学 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1991: 197-207.
- [14] 刘振勇, 苏跃中, 谢友伦, 等. 曼氏无针乌贼胚胎发育的初步观察 [J]. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 13-19.
- [15] 蒋霞敏, 符方尧, 李正, 等. 曼氏无针乌贼的卵子发生及卵巢发育 [J]. 水产学报, 2007, 31 (5): 607-617.
- [16] Arima S, Hiramatsu T, Tako N. Mass production of seedling and maintenance of Sepiidae [R]. Annual Research, 1962, 71-100.
- [17] Cinti A, Barón P J, Rivas A L. The effects of environmental factors on the embryonic survival of the Patagonian squid *Loligo gahi* [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 313(2): 225-240.
- [18] 谢志浩. 鱼类的渗透压调节 [J]. 生物学通报, 2002, 37(5): 222.
- [19] 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 海水鱼类繁殖生物学和人工繁育 [M]. 北京: 海洋出版社, 2005: 345.
- [20] 潘鲁青, 唐贤明, 刘泓宇, 等. 盐度对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(1): 1-6.
- [21] 徐力文, 刘广锋, 王瑞旋, 等. 急性盐度胁迫对军曹鱼稚鱼渗透压调节的影响 [J]. 应用生态学报, 2007, 18 (7): 1596-1600.

- [22] Alderdice D F. Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In: The Physiology of Developing Fish: Eggs and Larvae. Fish Physiology, Vol.11A. Hoar W S. and Randall D J, editors. London: Academic Press, 1988: 163–251.
- [23] Alderdice D F, Velsen F P J. Some effects of salinity and temperature on early development of Pacific herring *Clypea pallasii* [J]. J Fish Res Board Can, 1971, 29: 1545–1562.
- [24] Alderdice D F, Forrester C R. Effects of salinity and temperature on embryonic development of the Petrale sole (*Eopsetta jordani*) [J]. J Fish Res Board Can, 1971, 28: 727–744.
- [25] 孙丽华, 陈浩如, 王肇鼎. 盐度对军曹鱼胚胎和仔鱼发育的影响 [J]. 生态科学, 2006, 25 (1): 48–51.
- [26] 李佳佳. 暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)早期发育阶段渗透压调节能力的研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2008: 1–68.

A comparative study of *Sepia esculenta* and *Sepiella maindroni* on embryonic development and ability of salinity tolerance

LEI Shuhan¹, WU Changwen², GAO Tianxiang¹, HAO Zhenlin^{1,3}, ZHANG Xiumei¹

1. Key Laboratory of Mariculture, Ocean University of China, Ministry of Education, Qingdao 266003, China;

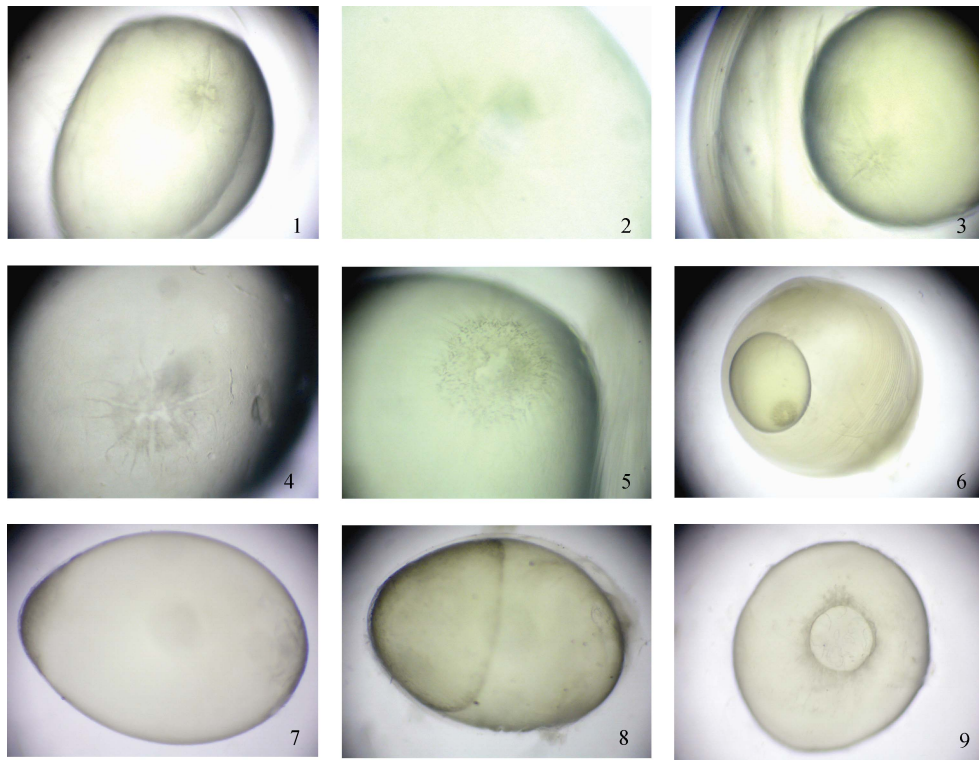
2. Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China

3. Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

Abstract: Fertilized eggs of *Sepia esculenta* and *Sepiella maindroni* were collected from the wild and the embryonic development of *S. esculenta* was observed in laboratory. The morphological characters of fertilized eggs and newly hatched larvae between the two species were also compared. The effects of different seawater salinities of 20, 25, 30 (control), 33, 36 for *S. esculenta* and 15, 20, 25, 30 (control), 36 for *S. maindroni* on hatching rate were studied, respectively. Changes in egg fluid osmolality and egg Na^+/K^+ -ATPase activity of *S. esculenta* and *S. maindroni* were also measured during the abrupt salinity changes of 192 h, respectively. Hatching rates of fertilized eggs at the same salinity and physiological adaptation to the abrupt salinity changes during 192 h were compared between *S. esculenta* and *S. maindroni*. The results showed that organ differentiation happened when embryo was 7-day-old, while organ formation occurred when embryo was 14-day-old for *S. esculenta*. The incubation period of *S. esculenta* fertilized egg ranged from 21 d to 22 d at 22–24°C and salinity of 30. Hatching rates of *S. esculenta* and *S. maindroni* under control treatment were significantly higher than those under other salinity treatments ($P < 0.01$), indicating that salinity of 30 was the suitable hatching salinity for fertilized eggs of the two species. Fluid osmotic pressure of *S. esculenta* and *S. maindroni* fertilized egg changed as seawater salinity altered during the abrupt salinity change. The egg fluid osmotic pressure of *S. esculenta* was equal to the medium osmotic pressure, while the egg fluid osmotic pressure of *S. maindroni* was 60 mOsm/kg higher than those in the medium. Activities of Na^+/K^+ -ATPase were not found in fertilized eggs of two species. These results indicate that fertilized eggs of two species have little ability in regulating osmotic pressure. However, fertilized egg of *S. maindroni* can accommodate salinity alteration better than *S. esculenta*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 350–359]

Key words: *Sepia esculenta*; *Sepiella maindroni*; salinity; embryonic development; hatching rate; egg fluid osmotic pressure; Na^+/K^+ -ATPase

Corresponding author: ZHANG Xiumei. E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

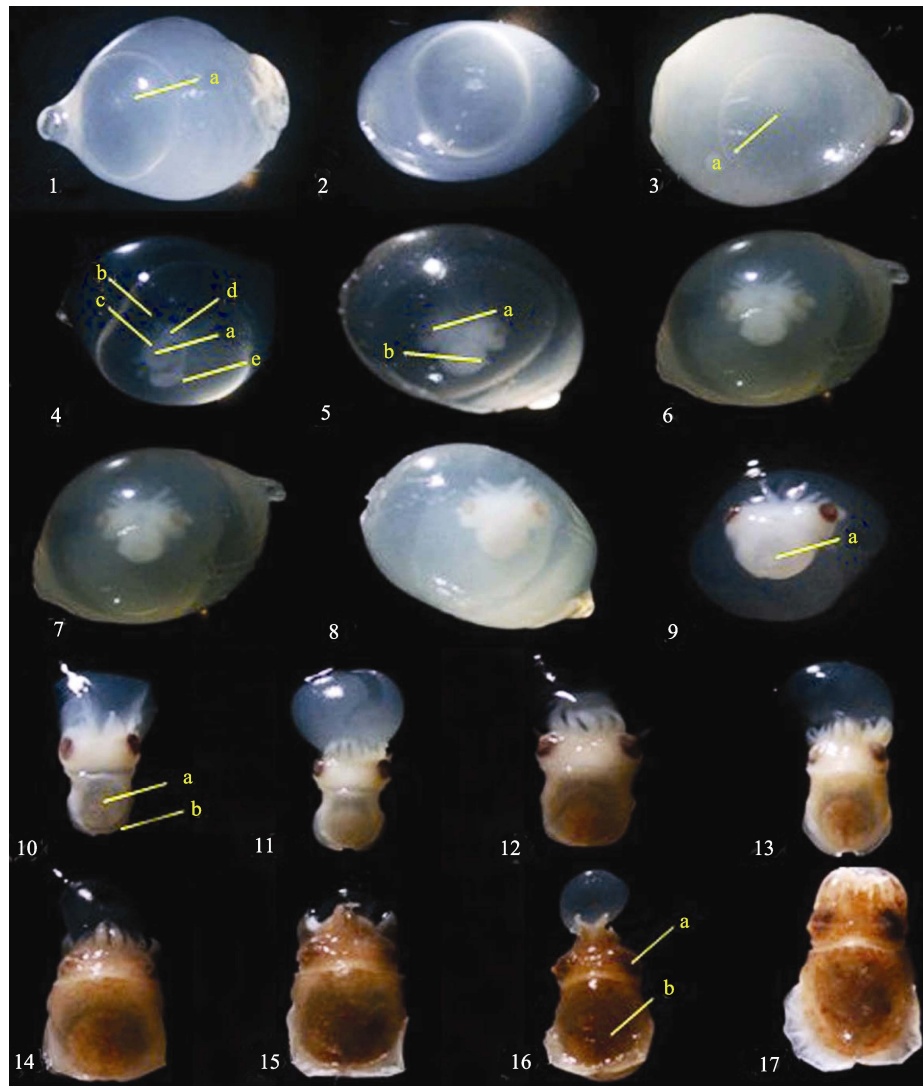


图版 I 金乌贼胚胎早期发育过程

1: 2 细胞期, $\times 10$; 2: 4 细胞期, $\times 20$; 3: 8 细胞期, $\times 10$; 4: 16 细胞期, $\times 15$; 5: 多细胞期, $\times 15$; 6: 囊胚期, $\times 5$; 7: 原肠早期, $\times 10$; 8: 原肠中期, $\times 10$; 9: 原肠晚期, $\times 10$.

Plate Early embryonic development of *Sepia esculenta*

1: 2-cell stage, $\times 10$; 2: 4-cell stage, $\times 20$; 3: 8-cell stage, $\times 10$; 4: 16-cell stage, $\times 15$; 5: Multicellular stage, $\times 15$; 6: Blastocyst stage, $\times 5$; 7: Early gastrula stage, $\times 10$; 8: Middle gastrula stage, $\times 10$; 9: Late gastrula stage, $\times 10$.



图版 II 金乌贼胚胎 5 日后发育过程 (×3)

1: 5 日胚, a-卵黄; 2: 6 日胚; 3: 7 日胚, a-眼原基; 4: 8 日胚, a-外套腔, b-腕突起, c-外套缘, d-漏斗褶, e-眼原基; 5: 9 日胚, a-眼红色, b-肉鳍芽; 6: 10 日胚; 7: 11 日胚; 8: 12 日胚; 9: 13 日胚, a-骨板; 10: 14 日胚, a-金黄色色素颗粒, b-肉鳍; 11: 15 日胚; 12: 16 日胚; 13: 17 日胚; 14: 18 日胚; 15: 19 日胚; 16: 20 日胚, a-眼黑褐色, b-黑褐色色素颗粒; 17: 初孵仔金乌贼。

Plate Embryonic development of *Sepia esculenta* (after 5 days ×3)

1: The 5th-day embryo, a-Yolk; 2: The 6th-day embryo; 3: The 7th-day embryo, a-Eye spot; 4: The 8th-day embryo, a-Mantle cavity, b-Brachial process, c-Mantle edge, d-Funnel fold, e-Eye spot; 5: The 9th-day embryo, a-Red eyes, b-Fin bud; 6: The 10th-day embryo; 7: The 11th-day embryo; 8: The 12th-day embryo; 9: The 13th-day embryo, a-Cuttlebone; 10: The 14th-day embryo, a-Golden pigments, b-Fin; 11: The 15th-day embryo; 12: The 16th-day embryo; 13: The 17th-day embryo; 14: The 18th-day embryo; 15: The 19th-day embryo; 16: The 20th-day embryo, a-Black brown eyes, b-Black brown pigments; 17: Newly hatched larvae.