

金乌贼胚胎发育的研究

陈四清¹ 刘长琳¹ 庄志猛¹ 贾文平² 孙建明¹ 于广成³ 刘克奉² 王晓华¹

(¹农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²天津市水产研究所, 300221)

(³青岛黄岛区水产技术推广站, 266500)

摘要 对人工孵化条件下金乌贼的胚胎发育进行了观察。刚产出的卵子, 均重 0.99g/粒 ($n=100$), 长轴为 11~24mm, 短轴为 8~15 mm, 卵黄如鸡蛋状, 梨形, 长径 5~6mm, 短径 3~4mm, 外包三级卵膜。三级卵膜在胚胎发育过程中经历一个柔软-定形-缩小-膨大的变化过程。受精卵在 20~25℃ 水温下孵化, 经过 26 d 幼体陆续脱膜孵出。根据胚胎发育的外部形态及典型特征将金乌贼胚胎发育过程划分为细胞分裂期、囊胚期、原肠期、器官发育期、出膜期 5 个典型时期。在胚胎发育过程中, 眼的形态变化比较大, 且经历一个无色、红色再到黑色的变化过程。

关键词 金乌贼 胚胎发育

中图分类号 Q954.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)05-0001-07

Observations on the embryonic development of *Sepia esculenta* Hoyle

CHEN Si-qing¹ LIU Chang-lin¹ ZHUANG Zhi-meng¹ JIA Wen-ping²
SUN Jian-ming¹ YU Guang-cheng³ LIU Ke-feng² WANG Xiao-hua¹

(¹Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fishery Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Tianjin Fisheries Research Institute, 300221)

(³Huangdao Fishery Technique Promotion Station, Qingdao 266500)

ABSTRACT The embryonic development of golden cuttlefish under artificial hatching conditions was observed. The average weight of newly spawned eggs is 0.99 g/particle ($n=100$), and the major axis is 11~24 mm, the minor axis is 8~15 mm. Egg yolk is egg-shaped, pear-shaped, with long diameter of 5~6 mm and short diameter of 3~4 mm, and is wrapped by three-egg-membrane outside. Three-egg-membrane in the embryonic development processed a soft-figuration-narrow-enlargement change. The fertilized eggs hatched at water temperature of 20~25℃, and the larvae hatched out about after 26d hatching. In terms of the exterior appearance and the typical characteristics, process of embryonic development includes 5 stages: cleavage stage, blastula stage, gastrulae stage, organ development stage and hatching stage. In the embryonic development process, the morphological changes of the eye were relatively large, and

it turned from colorless, red into black.

KEY WORDS Golden cuttlefish(*Sepia esculenta* Hoyle) Embryonic development

金乌贼 *Sepia esculenta* (Hoyle 1885) 属软体动物门 Mollusca、头足纲 Cephalopoda、鞘亚纲 Coleoidea、乌贼目 Sepioidea、乌贼科 Sepiidae、乌贼属 *Sepia*，分布于渤海、黄海、东海、南海、日本列岛以及菲律宾群岛海域(董正之 1991)。金乌贼是世界乌贼科中重要的经济种类之一，年产量在世界乌贼科种类中居第2位，是日本列岛海域中产量最大的乌贼，也是我国北方海域中经济价值最大的乌贼(董正之 1991)，曾是我国传统四大渔业之一，是重要的增殖对象。但自20世纪80年代以来，由于过度捕捞和海洋环境的破坏等多种原因，其资源量明显衰退，产量急剧下降，目前金乌贼在许多海域已经绝迹。

由于金乌贼生命周期短，生长速度快，肉洁白如玉，具有鲜、嫩、脆等特点，营养丰富，全身都是宝，可利用率高，具有极高的经济价值，消费市场需求旺盛，是一种具有较高经济价值的优良品种。最近几年，对金乌贼资源增殖的研究已经引起了科研工作者的高度重视(刘长琳等 2009)。国内外学者对金乌贼形态学、渔业生物学、行为生态学、增殖学及遗传学等方面开展了多方面的研究(郝振林 2007)。在金乌贼胚胎发育方面李嘉泳等(1965)对我国黄、渤海金乌贼的生殖洄游和发育进行了研究，山本孝治(1942)对金乌贼卵子发育进行了研究。

本研究在参照同行的研究基础上，经过3年的观察和研究，通过显微照相详细准确记录分析了金乌贼胚胎发育时序和形态特征，以期完善金乌贼基础生物学研究，为金乌贼发育研究及苗种生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验地点在青岛胶南龙湾生物有限公司，试验时间为2007~2009年的5~7月。

1.1.1 受精卵来源

项目组在青岛、日照沿海捕获的野生群体经过人工驯化养殖、调控产卵繁殖获得的受精卵。

1.1.2 受精卵孵化条件

培育池为池深1m、面积25m²的水泥池，池中均匀设置12个充气气石，孵化过程中保持不间断的微量充气，光照维持在400~600 lx。孵化用水为经过二级砂滤的自然海水，培育水温20~25℃，盐度29~30，DO≥6 mg/L，pH 7.8~8.0，定期更换海水。

1.1.3 观察器械

体视镜、解剖针、胚胎皿、显微数码照相设备。

1.2 观测方法

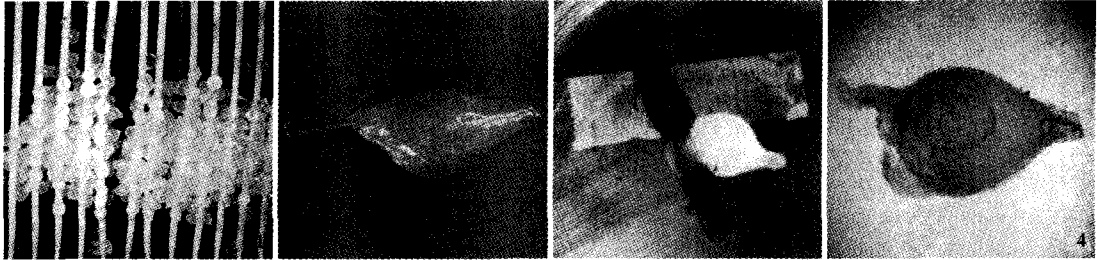
取样方法参照刘振勇等(2009)，孵化第1天每1h取样1次，第2天每3h取样1次，第3天每6h取样1次，第4天以后每天取样2~3次。每次观察样品至少10个，在体视镜下观察受精卵发育的各个时期及形态特征，通过目微尺测量长度数据，对各阶段形态进行拍照记录。当外层卵膜浑浊，观察不清晰时，通过剥离外层卵膜的方法进行清晰观察。

2 结果

2.1 受精卵形态变化

金乌贼卵子产出后黏附在海参筐等附着基上，附卵量大，且相对集中(图版 I-1)。刚产出的卵子大小不一，均重0.99g/个(n=100)，长轴为11~24 mm，短轴为8~15 mm(图版 I-2)，卵黄如鸡蛋状，梨形，长径5~6 mm，短径3~4 mm，外包三级卵膜。三级卵膜前端具有卵柄，刚产出时为奶油色，绵软、透明，呈果冻状，具黏

性,卵膜为一整体,未见分层,可随意拉伸长度(图版 I-2)。在受精卵产出 4h 后三级卵膜开始慢慢变硬(图版 I-3),6h 后卵形固定(图版 I-4、II-1),卵黄在卵膜内靠近一侧壁,不居中,大小头方向随机,有时与卵膜前端和附着处一致,有时与其方向垂直(图版 II-2),三级卵膜具弹性,不能拉伸长度,变为包被于受精卵外面的 50~60 个同心层(图版 II-3)。



1. 附着在海参管上的受精卵; 2. 刚产出的柔软的受精卵; 3. 受精卵的卵膜逐渐变硬; 4. 定形后的受精卵
 1. Fertilized eggs attached to the basket of sea cucumber; 2. Newly spawned soft fertilized eggs;
 3. Gradual hardening of the membrane of fertilized egg; 4. Fertilized egg after setting

图版 I 金乌贼受精卵
 Plate I Fertilized eggs of *Sepia esculenta* Hoyle

胚胎发育过程中三级卵膜经历一个柔软-定形-缩小-膨大的变化过程,日龄与卵膜长度的变化过程见图 1。由图 1 可知,在卵子产出后第 3 天卵膜开始收缩,到 8 日龄收缩到最小,长径为 9.5 mm,短径为 8 mm,体积为产出时的 2/5 左右,以后卵膜开始膨大直至仔乌贼出膜。出膜前卵膜很薄,晶莹透亮,长径为 15.5 mm,短径为 14.5 mm,体积为刚产出时的两倍以上。

2.2 胚胎发育

受精卵在 20~25℃ 水温下孵化,经过 26d 幼体陆续脱膜孵出,根据胚胎发育的外部形态及典型特征将金乌贼胚胎发育过程划分为卵裂期、囊胚期、原肠期、器官发育期、出膜期 5 个典型时期。

2.2.1 卵裂期

受精后 10h 卵子原生质向动物极集中,形成胚盘(图版 II-4)。14 h 30 min 受精卵长椭球的小尖端开始卵裂形成 2 细胞,呈圆盘状(图版 II-5、图版 II-6)。卵子由梨形逐渐趋于圆形,卵膜内物质从胶状体转为液体。15 h 30 min 分裂为 4 细胞期(图版 II-7),卵膜变得白浊,不透明,卵膜表面形成 6~8 条纵向的凸起,受精卵已转移到卵膜的中央。17 h 30 min 分裂为 16 细胞期,19 h 20 min 分裂为 32 细胞期,20 h 20 min 分裂为 64 细胞期(图版 II-9),由于具有环形分裂和辐射分裂两种分裂方式,导致各细胞的大小不尽一致。21 h 20 min 分裂为 128 细胞(图版 II-10、II-11),24 h 20 min 达到多细胞期(图版 II-12)。

2.2.2 囊胚期

3 d 发育到囊胚期,细胞数量明显增多,细胞体积变小,开始向植物极延伸(图版 II-13)。

2.2.3 原肠期

5 d 从长椭球的小尖端即动物极胚盘开始下包,5 d 10 h 胚盘下包 1/4 为原肠早期(图版 II-14)。6 d 胚盘下包 1/2 为原肠中期(图版 II-15),受精卵侧躺。7 d 8 h 胚盘下包 3/4 为原肠晚期。

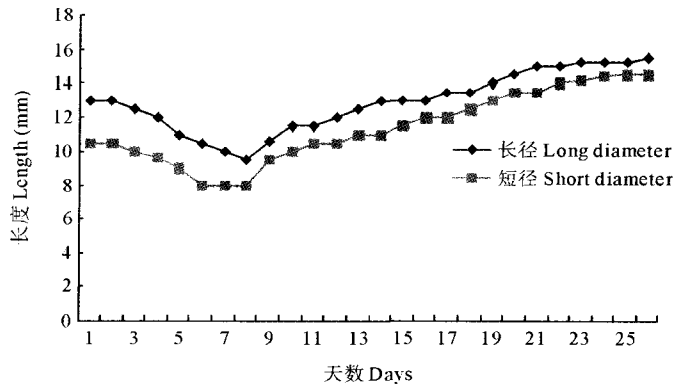
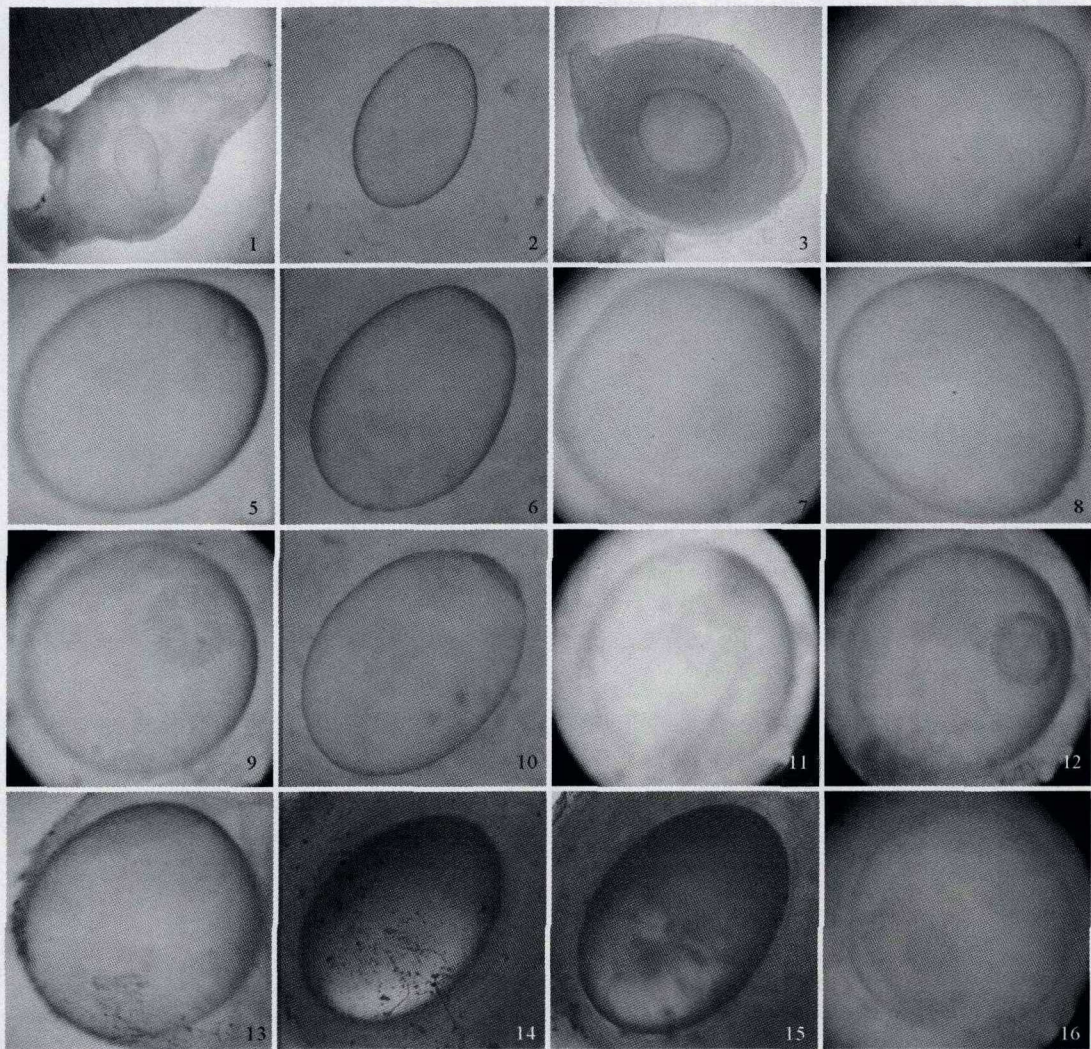


图 1 金乌贼卵径与孵化天数的关系(n=20)
 Fig. 1 The relationship between the egg diameter and the age of *Sepia esculenta* Hoyle



1. 受精卵; 2. 卵黄, $\times 2$; 3. 凝固后的三级卵膜, $\times 2$; 4. 胚盘形成期, $\times 2$; 5. 2细胞, $\times 2$; 6. 2细胞(侧面观), $\times 2$; 7. 4细胞, $\times 2$; 8. 8细胞, $\times 2$; 9. 64细胞, $\times 2$; 10. 128细胞(侧面观), $\times 2$; 11. 128细胞(正面观), $\times 2$; 12. 多细胞(侧面观), $\times 2$; 13. 囊胚期, $\times 2$; 14. 5日龄胚, $\times 2$; 15. 6日龄胚, $\times 2$; 16. 7日龄胚, $\times 2$

1. Fertilized egg; 2. Yolk, $\times 2$; 3. Three egg membrane after solidification, $\times 2$; 4. Embryonic disc stage, $\times 2$; 5. 2-cell, $\times 2$; 6. 2-cell (lateral view), $\times 2$; 7. 4-cell, $\times 2$; 8. 8-cell, $\times 2$; 9. 64-cell, $\times 2$; 10. 128-cell (lateral view), $\times 2$; 11. 128-cell (front view), $\times 2$; 12. Many cells (lateral view), $\times 2$; 13. Blastula stage, $\times 2$; 14. 5-day-old embryo, $\times 2$; 15. 6-day-old embryo, $\times 2$; 16. 7-day-old embryo, $\times 2$

图版 II 金乌贼的胚胎发育

Plate II Embryonic development of *Sepia esculenta* Hoyle

2.2.4 器官发育期

2.2.4.1 原基出现期

7 d 15 h 外部器官开始发育,壳囊、视杯和腕原基出现(图版 II-16)。

2.2.4.2 外部器官形成期

8 d 卵子体积收缩到最小,漏斗褶呈耳状变得明显,胚体逐渐开始从卵黄囊上向外突出,外卵黄囊开始逐渐形成(图版 III-1)。

9 d 卵囊膜逐渐变黄,卵子体积略有膨大,胚体中部两侧向外隆起形成眼泡,眼泡呈圆形,眼间距约为胴体

宽度的两倍,眼柄不明显,眼后鳍变大,可见第1对腕明显增长(图版Ⅲ-2)。

2.2.4.3 肌肉效应期

11d 7 h 30 min 眼泡内侧边缘色素细胞增加,呈淡黄色,偶尔能够看到胴体收缩,收缩停止时能够看到胚体在卵囊内小幅度荡动,前面有两对腕增长,眼后鳍有向后下包胴体的趋势,胴体呈圆形(图版Ⅲ-3、图版Ⅲ-4)。11 d 9 h 40 min 可看到左侧第3个腕的雏形,胴体收缩振动次数没有规律,一般刺激后跳动3~4次后有一个大的间歇,眼睛的桔红色素细胞增多。

12 d 第3对腕已很明显,但比前两对腕短小,胴体与身体前方区别开来,且由圆形转为方形,胴体尾部凹槽状,鳃可见,可见第4对腕的雏形(图版Ⅲ-5、图版Ⅲ-6)。

2.2.4.4 红珠期

13 d 胴体下端已逐渐脱离卵黄囊,只有头部与卵黄囊相连,外卵黄囊开始收缩,由鸡蛋状变为梨形(图版Ⅲ-7、图版Ⅲ-8)。三级卵膜膨大明显,漏斗和尾部侧鳍已很明显。眼睛变为红色,这时的胚胎称为“红珠”,眼间距与胴部宽度相等。胴体收缩已很规律,且胚体能够自动调整方向。

14 d 幼体已接近于成体状态,侧鳍已完全,胴体受刺激后收缩剧烈。眼睛的黑色素和胴体淡黄色素增多(图版Ⅲ-9、图版Ⅲ-10)。

2.2.4.5 黑珠期

15 d 外卵黄囊继续收缩变小,梨形,腕之后上翘,只有腕前与外卵黄囊接触,胚体变得肥大,漏斗粗大(图版Ⅲ-11、图版Ⅲ-12)。眼睛色素加深,变为黑色,称为“黑珠”。胴体部淡黄色素增多,使得胚体呈淡黄色,尾部内壳明显可见,甚至能够看清表面轮纹。身体布满红色小斑点。

2.2.4.6 心跳期

16 d 心脏开始跳动,胴体不断的调整方向,胴体收缩剧烈且连同漏斗一同收缩(图版Ⅲ-13),可清楚的看到卵黄囊挤一点点卵黄到口球中去。触腕细长,并不时伸缩,有时可见鳍摆动。但三者伸缩不同步,即胴体伸缩时,腕鳍不动。尾部内壳清晰可见,圆形,白色明显,与胚体颜色有差异。

17 d 体形已接近成体,卵子变得透明,水状,胚体在卵中尾端向上,且不能调整方向(图版Ⅲ-14)。受到刺激后能够在卵膜内发生喷墨行为,受到剧烈刺激时甚至能够导致卵黄囊脱落。

18 d 胴体体色发红,受刺激后反应强烈,胚体连同卵黄囊能够在卵膜内跳动。内壳轮纹尾1轮,终室长为轮纹长的1/2,眼间距略小于胴体宽。内壳全长约为胴体长的1/2(图版Ⅲ-15)。

19 d 胚体的平均呼吸次数为55次/min,剥去几层卵膜后,能够导致幼体出膜,幼体出膜后卵内排出大量液体,残留卵黄囊长径3mm,短径2mm(图版Ⅲ-16)。

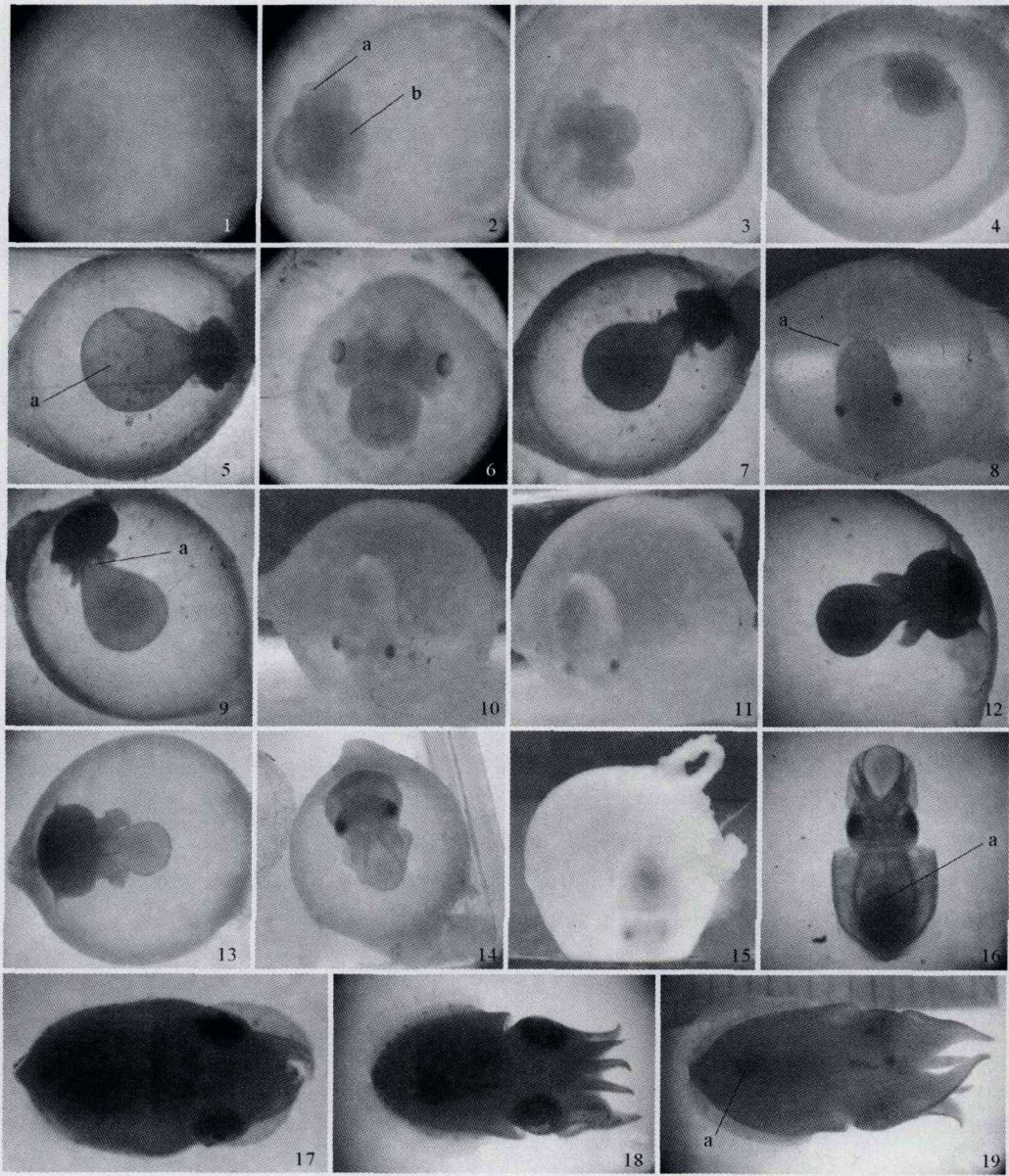
21 d 墨囊已形成,卵囊膨大变薄。

2.2.5 出膜期

26 d 自然孵化的仔乌贼幼体陆续孵出(图版Ⅲ-17)。孵出前胚体在卵膜内频繁移动,孵出时尾部先出膜,幼体孵出后在三级卵膜正中留下一个圆形的小孔。孵出前背部褐色,孵出后即与环境颜色相近,变成淡白色,身体分布有点状色素,具有黄、灰两种大色素点,另外具有淡黄、暗红两种密集的小色素点,受到刺激后,色素点会变小,并调整方向,使身体颜色迅速发生变化,内壳有5层或6层生长层,眼睛转动灵活,具有一定的伏底功能。卵黄囊略有剩余,梨形,长度为1mm左右。

2.3 1日龄幼体

1日龄(图版Ⅲ-18、图版Ⅲ-19)乌贼体色略变暗,明显看到呼吸,有时看到胴体中下部左右扭动,身体白色,但在呼吸过程中会突然由前到后变为灰色,然后又迅速变为白色,这个过程持续时间很短,主要是乌贼改变色素角度所致。鳃呼吸时,鳃中部接触胚体中轴,然后迅速弹开。内壳部位明显,内壳间距相等。在眼的外侧各有一个明显小刺。腕大部分时间并拢,1~4对腕逐渐变长。全身分布有约70个大的黄灰色相间的大色素点,色素分布较均匀,此外全身还布满密集的小黑色素点。腹面可见黑色墨囊。金乌贼白天聚集在容器的底部,几乎不活动,而夜晚非常活跃,在水中上下游动。



1. 8日龄胚, $\times 2$; 2. 9日龄胚, $\times 2$, a. 眼泡, b. 胴部; 3. 11日龄胚(背面观), $\times 2$; 4. 11日龄胚(侧面观), $\times 2$; 5. 12日龄胚(侧面观), $\times 2$, a. 外卵黄囊; 6. 12日龄胚(背面观), $\times 2$; 7. 13日龄胚(侧面观); 8. 13日龄胚(背面观), a. 侧鳍; 9. 14日龄胚(侧面观), a. 漏斗; 10. 14日龄胚(背面观); 11. 15日龄胚(背面观); 12. 15日龄胚(侧面观); 13. 16日龄胚; 14. 17日龄胚; 15. 18日龄胚; 16. 早产幼体, a. 内壳; 17. 初孵幼体; 18. 1日龄幼体(背面观); 19. 1日龄幼体(腹面观), a. 墨囊

1. 8-day-old embryo, $\times 2$; 2. 9-day-old embryo, $\times 2$, a. Eyelid, b. Body; 3. 11-day-old embryo(dorsal view), $\times 2$; 4. 11-day-old embryo (lateral view), $\times 2$; 5. 12-day-old embryo (lateral view), $\times 2$, a. External yolk; 6. 12-day-old embryo (dorsal view), $\times 2$; 7. 13-day-old embryo (lateral view); 8. 13-day-old embryo (dorsal view), a. Side fin; 9. 14-day-old embryo (lateral view), a. Tundish; 10. 14-day-old embryo (dorsal view); 11. 15-day-old embryo (dorsal view); 12. 15-day-old embryo (lateral view); 13. 16-day-old embryo; 14. 17-day-old embryo; 15. 18-day-old embryo; 16. Premature larvae, a. Cuttlebone; 17. Newly hatched larvae; 18. 1-day-old larvae (dorsal view); 19. 1-day-old larvae (ventral view), a. Ink theca

图版 III 金乌贼的胚胎发育

Plate III Embryonic development of *Sepia esculenta* Hoyle

3 讨论

3.1 乌贼目卵子特征的比较

在已报道的乌贼目卵子特征中,除曼氏无针乌贼卵膜黑色或黑褐色外,金乌贼卵子为奶油色,与其余种类一致(董正之 1991;张 炯等 1965)。金乌贼卵径在乌贼科中偏小,仅大于乌贼属的乌贼和无针乌贼属的曼氏无针乌贼,但远大于耳乌贼科的柏氏四盘耳乌贼和微鳍乌贼科的玄妙微鳍乌贼(董正之 1991;张 炯等 1965)。因此卵子颜色及卵径可作为乌贼目的分类特征。

3.2 金乌贼的胚胎发育

由于金乌贼受精卵具有厚厚的三级卵膜,且在细胞分裂阶段三级卵膜呈收缩状态,使得细胞分裂阶段胚胎发育进程很难观测。本试验采用剥离部分卵膜观测的方法,发育特征可以清晰地观测到。金乌贼受精卵细胞分裂较有规律,细胞期特征明显。但在32细胞和64细胞阶段细胞的大小不尽一致,主要是由于金乌贼细胞分裂具有环形分割和辐射分割两种分割方式造成的,这与李嘉泳(1965)和山本孝治(1942)的观察结果一致。李嘉泳(1965)还在胚胎发育过程中发现具有10、18和28三种细胞期,并推测是由于分割不一致造成的。

曼氏无针乌贼初产卵子卵膜长径15 mm,短径9 mm,以后迅速缩小,8 d后仅为7 mm×5 mm,至孵化前又膨大至9 mm×6.5 mm(张 炯等 1965)。短蛸初产卵子长径为(6.30~7.48)mm,短径为(2.61~2.97)mm,卵柄为(5.7~7.6)mm,随着胚体的发育,卵膜相应地增大变薄,至孵化前卵子长径为(10.0~11.5)mm,短径为(3.5~4.3)mm(董正之 1991)。太平洋褶柔鱼卵长径为0.8 mm,短径为0.7 mm,以后卵膜径逐渐变大,卵子从椭圆形变成球形,孵化前最大卵径达(1~1.3)mm(董正之 1991)。中国枪乌贼卵子初产时直径(1.7~1.8)mm,随着卵子发育不断吸水增大至直径(6~8)mm(欧端木 1981)。在金乌贼胚胎发育过程中卵膜经历一个绵软-凝固-缩小-膨大的变化过程。在卵子产出后第3天卵子开始收缩,到8日龄收缩到最小,体积为产出时的2/5,以后受精卵开始膨大直至仔乌贼出膜,出膜前体积为刚产出时的1.95倍。由此可见,在头足类胚胎发育过程中,金乌贼、曼氏无针乌贼卵膜先缩小再膨大,而太平洋褶柔鱼和中国枪乌贼卵膜只有膨大的过程,其原因可能与太平洋褶柔鱼和中国枪乌贼很多卵子包在卵鞘中有关。李嘉泳(1965)认为卵膜缩到最低限度时,同时也正是外部器官全部完成的时候,因此三级卵膜的再次涨大,与以后胚胎器官的继续发育有着一定联系。

中国枪乌贼采用人工授精获得的受精卵,由于没有输卵管分泌形成的三级卵膜,在自然海水中发育到2细胞或4细胞后便被原生动物寄生,即使将孵化用水煮沸再冷却,也仅有少数能发育到分割后期,大部分在10 h后死亡(欧端木 1981)。本试验中发现金乌贼受精卵初产出时若没有三级卵膜,发育到11d左右就溶解了,而早期去掉少数几层三级卵膜的卵子可以正常发育,且胚体发育得略快,但若剥离的三级卵膜层数过多,胚体能够正常发育,但三级卵膜没有膨大的过程,从而造成幼体不能正常出膜。因此金乌贼胚胎发育过程中三级卵膜的功能和作用,以及胚胎发育的代谢机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- 刘长琳,庄志猛,陈四清,邓永生. 2009. 金乌贼 *Sepia esculenta* Hoyle 亲体驯养与繁殖特性研究. 渔业现代化, 36(2): 34~37,42
- 刘振勇,苏跃中,谢友伦,周瑞发. 2009. 曼氏无针乌贼胚胎发育的初步观察. 渔业科学进展, 30(5): 13~19
- 李嘉泳. 1965. 金乌贼 *Sepia esculenta* Hoyle 在我国黄渤海的结群生殖洄游和发育. 见:太平洋西部渔业研究委员会第六次全体会议论文集. 北京: 科学出版社, 61~92
- 张 炯,卢伟成. 1965. 曼氏无针乌贼 *Sepiella maindroni* de Rochebrune 繁殖习性的初步观察. 水产学报, 2(2): 35~43
- 欧端木. 1981. 中国枪乌贼胚胎发育和稚仔的初步观察. 海洋湖沼通报, 3: 51~59
- 郝振林. 2007. 金乌贼的行为习性及其标志技术的研究. 见:中国海洋大学硕士学位论文
- 董正之. 1991. 世界大洋经济头足类生物学. 济南: 山东科学技术出版社
- 董正之. 1992. 头足类早期生长阶段的比较研究. 动物学研究, 13(3): 209~216
- 山本孝治. 1942. 金乌贼受精卵分裂. 植物及动物, 10: 25~130