

运输密度和时间对拟目乌贼受精卵孵化的影响

唐 锋, 蒋霞敏*, 乐可鑫, 汪 元, 罗 江, 彭瑞冰

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为探究拟目乌贼受精卵长途运输的最佳条件, 通过单因子试验研究了受精卵运输密度及运输时间对拟目乌贼受精卵孵化的影响。结果表明: 运输密度对孵化率、幼体成活率、初孵幼体体重及卵黄完全吸收率均有显著影响($P < 0.05$), 各项指标均随着密度的增加而降低; 运输时间对受精卵孵化也有显著影响($P < 0.05$), 各项指标也随着时间的增加而降低。因此建议运输密度为 $100 \sim 300 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$, 运输时间为 36 h 以内。

关键词: 拟目乌贼; 受精卵; 密度; 运输时间; 孵化

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2015) 02-0001-04

拟目乌贼(*Sepia lycidas*)是我国沿海重要大型底栖经济头足类, 主要分布于我国东海、南海, 菲律宾海, 越南和婆罗洲海域^[1]。其肉质鲜美, 营养丰富^[2], 且生长迅速, 养殖 4~5 个月就可上市, 具有很大的养殖发展潜力。浙江沿海的养殖品种主要为曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*), 但其性早熟, 个体小, 养殖经济效益不高, 严重阻碍了乌贼养殖业的发展。近年来各地养殖面积不断扩大, 促进了乌贼苗种的培育规模, 为适应乌贼市场的各种需求, 将拟目乌贼引进到浙江沿海养殖已成为当前重要课题。目前关于受精卵运输的研究主要集中在遮目鱼(*Chanos chanos*)^[3]、史氏鲟(*Acipenser Schrencki* Brandt)^[4]、细鳞鱼(*Brachymystax lenok*)^[5]、真鲷(*Pagrosomus major*)^[6]等鱼类方面。关于拟目乌贼研究主要集中在行为学^[7-9]、环境因子^[10-11]、胚胎学^[12]、营养成分分析^[2]等方面, 尚未见乌贼受精卵运输的相关研究报道。

鱼类胚胎耗氧率高峰期较多出现在原肠期和出膜期, 如中华鲟(*Acipenser sinensis*)^[13]、纹缟虾虎鱼(*Tridentiger frigiticeps*)^[14]、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[15]、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[16]、鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)^[17]等的胚胎。耗氧高峰期时胚胎对水体溶解氧最为敏感, 如

果水体溶氧过低, 则易造成胚胎发育延缓, 使死亡率和畸形率增高^[15-16]。笔者选取胚胎发育处于红珠期的受精卵作为研究对象, 研究了运输时间及密度对拟目乌贼受精卵的影响, 旨在为乌贼受精卵长途运输提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

2013 年 3 月在湛江硇洲海域收集野生拟目乌贼亲体, 在室内进行人工催产附卵。试验均采自同一天乌贼所产的受精卵。挑选发育正常、大小均匀且胚胎处于胚胎发育第 15 天(红珠期)的受精卵进行运输试验, 受精卵质量($2.52 \pm 0.02 \text{ g}$)。

1.2 方法

采用双层薄膜袋($90 \text{ cm} \times 90 \text{ cm} \times 70 \text{ cm}$)充氧运输, 每个薄膜袋中装过滤自然海水 4 L, 水温 22°C , 盐度 30, 氧气充足, 海水与氧气的体积比约为 3:1, 后装入泡沫箱($50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$)。

1.2.1 运输时间试验

在密度为 $200 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, 设运输时间为 24, 30, 36, 42 h, 各 3 平行。运输后分别将受精卵置于孵化框($1.78 \text{ m} \times 0.65 \text{ m} \times 0.5 \text{ m}$)中孵化, 各 3 平行, 所有试验孵化框均置于水泥池($4.85 \text{ m} \times 3.85 \text{ m} \times$

收稿日期: 2013-12-09.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 浙江省水产种苗专项(浙海渔计 2013[82]号); 宁波市科技重大专项(2014C11001)。

第一作者: 唐锋(1988—), 男, 浙江杭州人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 水产养殖。E-mail: tangfeng1988@126.com

*通信作者: 蒋霞敏(1957—), 女, 浙江舟山人, 博导/教授, 主要研究方向: 水产养殖与饵料生物培养。Email: jiangxiamin@nbu.edu.cn

1.4 m)中. 孵化条件: 水温 22 °C、盐度 30, pH 8.03, 孵化密度 10 ind·L⁻¹, 连续充气. 统计孵化率、卵黄完全吸收率、初孵幼体体重和 24 h 内的成活率.

1.2.2 运输密度试验

在运输时间为 36 h 条件下, 设受精卵密度为 100, 200, 300, 400 ind·L⁻¹ 4 个梯度, 各 3 平行, 其他条件同 1.2.1 节.

1.2.3 数据统计与分析

利用 Excle 2003 分析实验数据, 结果采用平均值±标准差(X±SD)表示, 并用 SPSS 17.0 软件进行方差分析、回归分析.

2 结果

2.1 运输密度对受精卵的影响

2.1.1 对孵化率及幼体成活率的影响

受精卵运输密度对孵化率的影响显著($P < 0.05$), 密度 100~400 ind·L⁻¹ 时, 孵化率为 64.21%~86.15%, 孵化率随着密度的增加而降低; 密度为 100 ind·L⁻¹ 时, 孵化率最大(86.15%), 与其余密度之间差异显著($P < 0.05$); 密度为 200~300 ind·L⁻¹ 之间的孵化率差异不显著($P > 0.05$)(图 1).

密度 100~400 ind·L⁻¹ 时, 孵出幼体在 24 h 内的存活率为 67.10%~90.62%, 成活率随着密度增加而降低; 密度为 100 ind·L⁻¹ 时, 成活率最大(90.62%), 与其余密度间差异显著($P < 0.05$); 密度为 200~300 ind·L⁻¹ 之间的成活率差异不显著($P > 0.05$)(图 1).

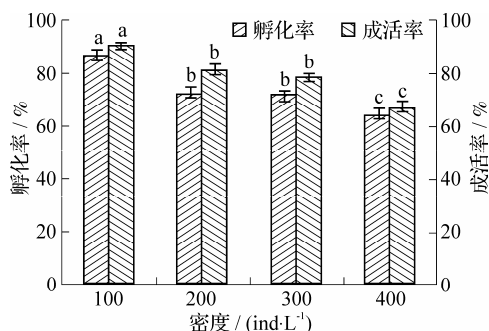


图 1 密度对受精卵孵化率及幼体成活率的影响

2.1.2 卵黄囊完全吸收率及初孵幼体体重的影响

运输密度为 100~400 ind·L⁻¹ 时, 卵黄完全吸收率为 68.72%~90.85%, 卵黄完全吸收率随着运输密度的增加而降低; 100 ind·L⁻¹ 时的卵黄完全吸收率最高(90.85%), 显著高于其他组($P < 0.05$); 密度为 200~300 ind·L⁻¹ 之间的卵黄完全吸收率差异不显著

($P > 0.05$). 初孵幼体体重为 0.241~0.263 g, 密度为 400 ind·L⁻¹ 时的初孵幼体体重最轻(0.241 g), 与 300 ind·L⁻¹ 体重(0.246 g)接近, 但显著低于 100 ind·L⁻¹ 和 200 ind·L⁻¹ 组($P < 0.05$) (图 2). 经回归分析, 初孵幼体体重与卵黄完全吸收率的回归方程为 $y = 0.0986x + 0.1719$, $R^2 = 0.9613$.

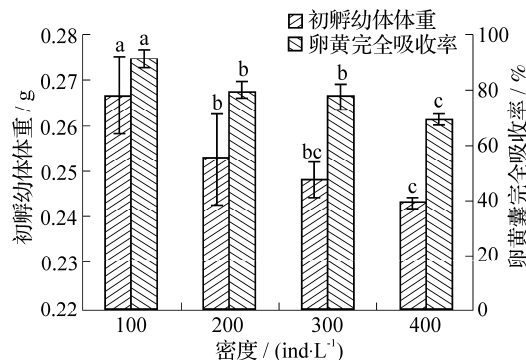


图 2 密度对初孵幼体体重及卵黄囊完全吸收率的影响

2.2 运输时间对受精卵的影响

2.2.1 对孵化率及幼体成活率的影响

运输时间对受精卵孵化率的影响显著($P < 0.05$), 时间 24~42 h 时, 孵化率为 61.55%~85.85%, 孵化率随着时间的增加而降低; 运输时间为 24 h 时, 孵化率最大(85.85%), 与其余运输时间组之间差异显著($P < 0.05$) (图 3).

运输时间为 24~42 h 时, 乌贼幼体在 24 h 内的存活率为 66.77%~89.62%, 成活率随着时间的增加而降低; 运输时间为 24 h 时, 成活率最大(89.62%), 与 30 h 组的成活率(87.75%)接近, 但显著高于 36 h 和 42 h 组($P < 0.05$) (图 3).

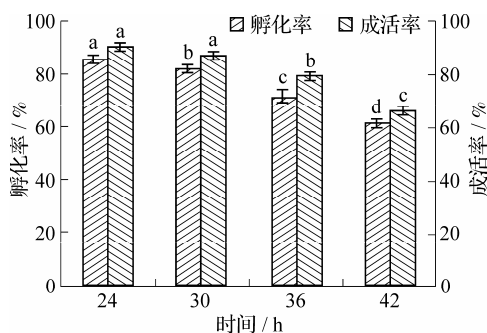


图 3 运输时间对孵化率及幼体成活率的影响

2.2.2 卵黄囊完全吸收率及初孵幼体体重的影响

运输时间为 24~44 h 时, 卵黄完全吸收率为 64.29%~90.95%, 卵黄完全吸收率随运输时间增加而降低; 时间为 24 h 卵黄完全吸收率最高(90.95%),

与 30 h 组吸收率(87.36%)接近($P>0.05$), 但显著高于其他组($P<0.05$)。初孵幼体体重为 0.241~0.269 g, 初孵幼体体重随运输时间增加而降低; 运输时间为 42 h 时的初孵幼体体重最轻(0.241 g), 显著低于 30 h、36 h 和 42 h 组($P<0.05$) (图 4)。经回归分析, 初孵幼体体重与卵黄完全吸收率回归方程为 $y = 0.1008x + 0.1741$, $R^2 = 0.9183$ 。

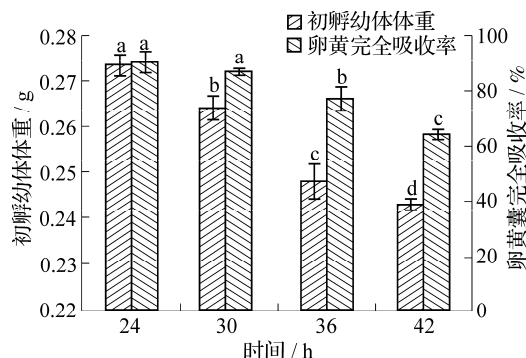


图4 运输时间对初孵幼体体重及卵黄囊完全吸收率影响

3 讨论

3.1 运输时间对受精卵孵化的影响

运输过程中, 机械性碰撞都易影响鱼类受精卵的孵化^[5-6]。相对鱼类受精卵而言, 乌贼受精卵有较厚的卵膜保护, 但唐逸民等^[18]发现机械性损伤对曼氏无针乌贼受精卵孵化还是有严重影响; 拟目乌贼受精卵最外层有富有弹性、坚韧的三级卵膜, 直到胚胎发育后期卵膜才开始变薄^[12]。另外, 在运输过程中极有可能因死卵破裂或霉变而污染水质而波及好卵, 导致成活率降低^[19]。本研究中受精卵胚胎发育处于红珠期, 卵膜还较坚韧, 但是在长途运输过程中, 加剧了卵间的机械碰撞与刺激, 同时也增加了胚胎对溶氧的需求, 进而出现死亡的受精卵破裂, 败坏水质, 影响其他受精卵后期的孵化。在运输时间为 24~30 h 时, 尼龙袋中水质清澈, 尚未发现胚胎坏死, 置于孵化池中孵化, 孵化率达到 82.68%~85.85%, 卵黄完全吸收率 87.36%~90.95%, 初孵体重 0.261~0.269 g, 成活率 87.73%~89.62%。而当时间增加至 36~42 h, 发现部分受精卵破裂, 卵内有机营养物质溶于水中, 使水质恶化, 影响其他受精卵的胚胎发育甚至胚后发育, 各项指标均显著下降。因此为保证较高孵化率、初孵幼体体重及幼体成活率, 运输时间最好控制在 36 h 以内。

3.2 运输密度对受精卵孵化的影响

随着运输密度的增加, 卵与卵之间的碰撞几率也会增加, 多次碰撞挤压使某些胚胎细胞变形受伤, 易产生胚体代谢的紊乱, 极易引起发育的停滞、异常、畸形或死亡, 进而导致孵化率降低及幼体畸形率增加, 成活率降低。陈仙标等^[3]研究表明运输密度过高对遮目鱼卵的成活率和孵化率有严重影响; Laird 等^[20]为使硬头鲑(*Salmo gairdneri*)受精卵在运输过程中减少机械性损伤, 以提高存活率, 将鱼卵浸泡在高粘度溶液中(1%甲基纤维素或多糖溶液)。本研究表明运输密度对受精卵孵化率、幼体成活率、初孵幼体体重及卵黄完全吸收率均有显著影响($P<0.05$), 各项指标都随密度的增加而降低。当密度为 100 ind·L⁻¹ 时, 各项指标均为最高值; 当密度增到 200~300 ind·L⁻¹ 时, 孵化率下降到 71.51%~72.02%, 卵黄完全吸收率 77.51%~79.58%, 初孵体重为 0.246~0.250 g, 成活率 78.58%~81.75%。而当密度增加到 400 ind·L⁻¹ 时, 部分胚体与卵黄囊分离, 胚胎停止发育, 各项指标也急剧下降。运输密度的增加, 虽然减少了运输袋数而降低了运输成本, 但运输后的孵化率及成活率明显降低。综合以上指标与经济成本, 可将运输密度控制在 100~300 ind·L⁻¹ 的范围。

3.3 卵黄完全吸收率对乌贼幼体的影响

蒋霞敏等^[21]研究表明, 卵黄囊是乌贼胚胎发育必需且唯一的营养和能量来源。卵黄主要由蛋白质、糖类和脂类构成, 营养丰富^[12]。王宏田等^[22]将卵黄囊的体积及吸收效率来评价海产鱼类胚胎及早期仔鱼发育。一般海水鱼类初孵仔鱼都有卵黄囊, 能在较长时期内为鱼体供能^[23], 而曼氏无针乌贼初孵幼体几乎全部挂有卵黄囊, 残余的卵黄囊在孵化后不久便自动脱落^[24]。本次研究结果表明, 拟目乌贼自然孵化出膜时只有少部分个体挂有卵黄囊, 大部分小乌贼在膜内均能完全吸收卵黄囊, 这有别于曼氏无针乌贼, 且初孵幼体体重随着卵黄完全吸收率的增加而增加; 当卵黄吸收完全时, 初孵幼体较大, 活力较强, 出膜后很快便能摄食。但是由于运输时间和运输密度的增加, 会导致卵黄吸收不完全, 影响胚胎发育, 出膜时挂有卵黄囊的个体明显增加。同时由于先天不足, 个体明显变小, 胚后发育较差, 成活率较低。这可能是由

于运输期间,卵之间的机械碰撞加剧了刺激,影响了胚胎发育,造成胚体吸收卵黄能力的下降。

参考文献:

- [1] 陈新军,刘必林,王尧耕. 世界头足纲[M]. 北京: 海洋出版社, 2009:440-441.
- [2] 蒋霞敏,彭瑞冰,罗江,等. 野生拟目乌贼不同组织营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2012, 24(12):1-9.
- [3] 陈仙标. 模拟运输期间影响遮目鱼卵成活率和孵化率的主要因素[J]. 渔业现代信息, 1989, 4(11):24-26.
- [4] 于信勇,田希文,王云山,等. 史氏鲟受精卵、仔鱼和幼鱼的运输试验[J]. 淡水渔业, 1995, 25(2):21-22.
- [5] 孙锴. 细鳞鱼受精卵的长途运输试验[J]. 河北渔业, 2013(3):41-42.
- [6] 村井卫,青木雄二,西村和久. 真鲷受精卵运输 46 小时的试验结果[J]. 水产增殖, 1982, 30:43-47.
- [7] 文菁,江星,王雁,等. 拟目乌贼繁殖行为学的初步研究[J]. 水产科学, 2012, 31(1):22-27.
- [8] Wada T, Takegaki T, Mori T, et al. Sperm removal, ejaculation and their behavioural interaction in male cuttlefish in response to female mating history[J]. Animal Behaviour, 2010, 79:613-619.
- [9] Lucky N S, Ihara R, Yamaoka K, et al. Behavioral laterality and morphological asymmetry in the cuttlefish, *sepia lycidas*[J]. Zoological Science, 2012, 29(5):286-292.
- [10] 蔡文飞,徐海洪,陈道海. 温度对拟目乌贼幼体日生长率和存活率的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(4):63-66.
- [11] 徐海洪,蔡文飞,周淑进,等. 拟目乌贼幼体日摄食量对体重影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(4):67-70.
- [12] 蒋霞敏,唐锋,罗江,等. 拟目乌贼的胚胎发育[J]. 水产学报, 2013, 37(5):74-82.
- [13] 唐国盘,刘鉴毅,危起伟,等. 中华鲟胚胎的耗氧率[J]. 动物学杂志, 2004, 39(5):30-34.
- [14] 庄平,赵优,章龙珍,等. 纹缟虾虎鱼胚胎耗氧率及 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 对其影响的研究[J]. 海洋渔业, 2008, 30(1):43-48.
- [15] 方耀林,余来宁. 团头鲂及其胚胎耗氧率的研究[J]. 淡水渔业, 1991(3):21-23.
- [16] 谢刚,祁宝崙,余德光,等. 鳊鲢胚胎和早期仔鱼的耗氧量[J]. 大连水产学院学报, 2000, 15(4):250-253.
- [17] 曹杰超,刘卫,张伟衡,等. 泥鳅和白鲢胚胎不同发育期耗氧量研究[J]. 水生生物学报, 1986, 10(2):162-170.
- [18] 唐逸民,吴常文,周江华. 影响曼氏无针乌贼卵孵化因子及保护[J]. 浙江水产学院学报, 1986, 5(2):147-153.
- [19] 强晓刚. 史氏鲟受精卵运输及孵化技术[J]. 科学养鱼, 2012(10):12-13.
- [20] Laird L M, Wilson A R. A method for improving the survival of fish eggs during transportation[J]. Aquaculture Research, 1979, 10(3):129-132.
- [21] 蒋霞敏,葛晨泓,童奇烈,等. 曼氏无针乌贼胚胎发育形态及发育时序的研究[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2011, 24(2):1-7.
- [22] 王宏田,郑培军. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响[J]. 海洋科学, 1998(4):50-52.
- [23] Shi Z, Huang X, Fu R, et al. Salinity stress on embryos and early larval stages of the pomfret *Pampus punctatissimus*[J]. Aquaculture, 2008, 275:306-310.
- [24] 常抗美,吴常文,吕振明,等. 曼氏无针乌贼胚胎发育与人工育苗技术的研究[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2009, 28(3):257-263.

Effects of Transport Density and Time on Egg Hatching of *Sepia lycidas*

TANG Feng, JIANG Xia-min*, LE Ke-xin, WANG Yuan, LUO Jiang, PENG Rui-bing

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In order to explore the optimal condition of long-distance transport for the oosperms of *Sepia lycidas*, in this paper the effects of transport density and transport time on the egg hatching of *Sepia lycidas* is studied through single factor experiment. The results suggest that the effects of transport density on the hatching rate, survival rate of larvae, the weight of newly hatched larvae and the complete absorption rate of yolk sac are significantly varying ($P < 0.05$), and all indicators decrease as the density increases. The effects of transport time on the egg hatching are also in a notable variation ($P < 0.05$). The suggestion made on the findings is that transport density should be controlled within $100 \sim 300 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$, transport time could be checked in less than 36 h.

Key words: *Sepia lycidas*; oosperm; density; transport time; hatch

(责任编辑 章践立)