

doi: 10.7541/2014.162

拟目乌贼卵子发生与卵巢发育

罗江¹ 蒋霞敏¹ 柳敏海² 唐锋¹ 彭瑞冰¹

(1. 宁波大学海洋学院, 宁波 315211; 2. 浙江省舟山市水产研究所, 舟山 316000)

摘要: 为了丰富拟目乌贼(*Sepia lycidas*)生物学资料, 为人工育苗与养殖提供理论依据, 采用解剖学和组织学的方法, 对水泥池养殖条件下拟目乌贼卵子发生和卵巢发育进行了研究。结果表明: 经过6个月水泥池养殖, 平均体重为256.34 g, 最大体重达到457.08 g, 个别发育成熟, 绝大部分未达性成熟。卵子发生不同步, 根据细胞形态、细胞大小、滤泡细胞形态和卵黄形成情况可分为卵原细胞阶段(卵原细胞期)、原生质生长阶段(无滤泡期、单层滤泡期和双层滤泡期)、间质生长阶段(滤泡内折早期、滤泡内折中期和滤泡内折晚期)和营养质生长阶段(卵黄发生早期、卵黄发生晚期和成熟期), 共4个阶段10个时期。卵巢发育根据外观形态、性腺指数变化和切面上各期细胞所占的比例, 可分为形成前期、形成期、小生长期、大生长期、成熟前期和成熟期6个时期。拟目乌贼繁殖周期为一年。

关键词: 拟目乌贼; 卵子发生; 卵巢发育; 组织学

中图分类号: Q959.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2014)06-1107-10

卵子发生是个体发育的重要环节之一, 卵子的质量好坏直接影响到受精过程以及受精卵的发育, 而卵巢发育程度的好坏直接决定卵子的质量^[1]。关于头足类卵子发生和卵巢发育的研究, 国外较多, 主要集中在皮氏枪乌贼(*Loligo pealei*)^[2]、巴塔哥尼亚枪乌贼(*Loligo gahi*)^[3]、福氏枪乌贼(*Loligo forbesi*)^[4]、狼乌贼(*Lycoteuthis lorigera*)^[5]、尖盘艾斗蛸(*Eledone cirrhosa*)^[6]和真蛸(*Loligo vulgaris*)^[7]等, 国内鲜有报道, 仅见曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)^[8]、金乌贼(*Sepia esculenta*)^[9]和长蛸(*Octopus variabilis*)^[10], 迄今为止, 未见拟目乌贼(*Sepia lycidas*)相关报道。

拟目乌贼隶属于软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、鞘亚纲(Coleoidea)、乌贼目(Sepiida)、乌贼科(Sepiidae)、乌贼属(*Sepia*), 为浅海暖水性较强的底栖种, 20世纪80年代前我国东海有分布, 目前主要分布在南海^[11]。因其个体大, 生长快, 具有较高的营养价值和人工养殖前景, 已引起国内外学者的关注^[12-23]。2013年5月, 本课题组率先突破了

拟目乌贼规模化人工育苗技术, 为其人工养殖的研究奠定了基础。本文采用解剖学和组织学的方法, 对水泥池养殖条件下拟目乌贼卵子发生和卵巢发育进行了研究, 阐明了拟目乌贼卵子发生和卵巢发育规律, 可丰富头足类发育生物学理论知识, 对拟目乌贼人工育苗和养殖具有十分重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于2013年2—11月进行, 拟目乌贼亲体捕自广东省湛江市硃洲岛海域(21.11°N, 110.24°E), 经自然交配产卵, 在浙江省舟山市水产研究所朱家尖基地进行孵化, 孵化水温为(19—21)℃, 盐度为24—26, 乌贼幼体孵出后在4.0 m×5.0 m×1.2 m的水泥池内进行培育, 培育水温为(20—32)℃, 盐度22—30, 连续充气, 充气头1个/m²。日投饵2次, 投饵种类和投喂量随乌贼个体的增长而改变: 0—45日龄(胴长0.72—3.83 cm)投喂活糠虾(0.5—1.0 cm), 投喂量(10—20) ind./L; 45—90日龄(胴长3.83—6.52 cm)

收稿日期: 2014-02-28; 修订日期: 2014-04-26

基金项目: 国家自然科学基金(41206114); 浙江省种质种苗项目(浙海渔计2013-82); 宁波市重点科技项目(2011C11002)资助

作者简介: 罗江(1988—), 男, 江西吉安人; 硕士研究生; 主要从事水产动物增殖养殖研究。E-mail: luojiang1988@126.com

通信作者: 蒋霞敏(1957—)女, 浙江舟山人; 教授; 主要从事饵料生物培养研究。E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

投喂冰鲜小杂鱼,切成长条状(1.5 cm×1.0 cm),日投喂量为体重的 18%;90 日龄以后(胴长 6.52 cm 以上)投喂冰鲜小杂鱼,切成长条状(3.0 cm×1.0 cm),日投喂量为体重的 12%。每天换水 1—2 次,换水量 80%—100%。

1.2 方法

取样 从刚孵化出膜的小乌贼开始,1d 取样一次,10d 后每隔 3 天取样一次,45d 后每隔 15d 取样一次,每次随机取样 10 只,对于肉眼不能分辨性腺的个体,用波恩氏液整体固定 4h 后,切取胴部后段,换新的波恩氏液保存于 4℃ 冰箱中;对于肉眼可分辨性腺的个体,直接取性腺固定,24h 后换新的波恩氏液保存于 4℃ 冰箱中。

组织学切片 酒精梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋, KD-2508 型轮转式切片机连续切片,切片厚度(5—8) μm, HE 染色,中性树胶封片, Olympus BX-50 型荧光显微镜观察并拍照。

数据测量与处理 记录乌贼日龄(Age)、体重(W)、胴长(ML)和卵巢重(W_o),细胞直径和细胞核直径直接在显微照片上测量,按以下公式分别计算核质比(NP)和性腺指数(GSI):

$$NP = V_n / (V_c - V_n)$$

$$GSI = 100 \times W_o / W$$

其中, V_n 为细胞核的体积, V_c 为细胞体积,由公式 $V = 4/3\pi R^3$ 求得。

2 结果

2.1 卵子发生分期

拟目乌贼卵子发生不同步,根据细胞形态、细胞大小、滤泡细胞形态和卵黄形成情况可以分为卵原细胞阶段(卵原细胞期)、原生质生长阶段(无滤泡期、单层滤泡期和双层滤泡期)、间质生长阶段(滤泡内折早期、滤泡内折中期和滤泡内折晚期)和营养质生长阶段(卵黄发生早期、卵黄发生晚期和成熟期),共 4 个阶段,10 个时期。

卵原细胞阶段 第 1 期 前期卵原细胞期。前期卵原细胞形状不规则或略呈圆形,直径为(12—15) μm,细胞核呈圆形,直径为(10—12) μm,细胞核占据整个细胞的绝大部分(图版 I-1), NP 为 1.049—1.373。

原生质生长阶段 一部分卵原细胞经过有丝分裂继续保持增殖能力,另一部分卵原细胞经过减

数分裂发育为卵母细胞。此时,细胞直径和细胞核直径均不断增加,细胞质继续增多,根据滤泡细胞的形态和分布的变化将此阶段分为无滤泡期、单层滤泡期和双层滤泡期 3 个时期。

第 2 期 无滤泡期。细胞呈圆形或椭圆形,直径为(40—170) μm,细胞核呈椭圆形,直径为(25—90) μm (图版 I-2),细胞外围没有滤泡细胞, NP 为 0.174—0.492。

第 3 期 单层滤泡期。细胞呈圆形或椭圆形,直径为(220—310) μm,细胞核呈椭圆形,直径为(100—120) μm (图版 I-3), NP 为 0.062—0.103。随着卵母细胞体积的增大,扁平的滤泡细胞(长 9—12 μm)开始从卵母细胞的一侧,逐渐附于细胞膜上,包围整个卵母细胞,形成单层滤泡细胞层(图版 II-1)。

第 4 期 双层滤泡期。细胞呈圆形或椭圆形,直径为(290—380) μm,细胞核呈椭圆形,直径为(110—130) μm (图版 I-4), NP 为 0.042—0.073。卵母细胞体积继续增大,滤泡细胞继续附于细胞膜上,形成双层滤泡细胞层,内层滤泡细胞变为椭圆形,直径为(7—10) μm,外层滤泡细胞呈扁平状,长为(10—15) μm (图版 II-2)。

间质生长阶段(滤泡内折阶段) 间质生长阶段也可以称为滤泡内折阶段,主要特征是滤泡细胞开始向卵母细胞内部折叠,并逐渐占据整个卵母细胞。根据滤泡细胞的分布情况,可以将此阶段分为早期、中期和晚期 3 个时期。

第 5 期 滤泡内折早期。细胞呈圆形或椭圆形,直径为(340—400) μm,细胞核呈圆形或椭圆形,直径为(150—170) μm (图版 I-5), NP 为 0.083—0.094。位于内层的椭圆形滤泡细胞先向卵母细胞内部延伸,形成 8—10 个指状突起,这些指状突起的长度大体一致,长为(30—40) μm (图版 I-5、图版 II-3)。

第 6 期 滤泡内折中期。细胞呈圆形或椭圆形,直径为(390—470) μm,细胞核呈圆形或椭圆形,直径为(160—180) μm (图版 I-6), NP 为 0.060—0.074。滤泡细胞继续向卵母细胞内部延伸,占据了整个细胞的一半左右,指状突起的数量增加到 10—12 个,长(80—170) μm 不等,且有些指状突起出现分支(图版 I-6),位于外层扁平的滤泡细胞直径缩短至(8—10) μm,随着指状突起的深入,也延伸至卵母细胞内部(图版 II-4)。

第 7 期 滤泡内折晚期。细胞呈椭圆形,体积

急剧增大, 直径为(1000—1200) μm , 细胞核呈椭圆形, 直径为(150—180) μm , 偏向细胞一侧(图版 I-7), NP 为 0.003—0.005。指状突起不断延伸和分支, 相互连接呈网状, 占据整个卵母细胞, 扁平的滤泡细胞消失(图版 II-5)。

营养质生长阶段 滤泡细胞占据整个卵母细胞后逐渐解体, 细胞核也消失不见, 与此同时, 卵黄物质开始积累, 根据滤泡细胞的分布和卵黄的积累情况, 将此阶段分为卵黄发生早期、卵黄发生晚期和成熟期 3 个时期。

第 8 期 卵黄发生早期。细胞呈椭圆形, 直径为(1500—1800) μm , 网状的滤泡细胞从卵母细胞的中间开始解体(图版 I-8), 解体的滤泡细胞边界不明显, 直径为(7—10) μm , 相互堆积(图版 II-6), 细小的颗粒状卵黄物质相互聚集, 呈小块状, 被 HE 染成淡蓝色(图版 I-8)。

第 9 期 卵黄发生晚期。细胞体积急剧增大, 呈椭圆形, 直径为(2300—2900) μm , 大部分滤泡细胞已经解体, 整个卵母细胞充满了卵黄物质, 呈块状, 被染 HE 成橘红色(图版 I-9)。

第 10 期 成熟期。成熟卵子呈黄色透明的椭圆形, 直径为(6000—7000) μm , 内充满了大量卵黄, 切片时容易破碎, 因而未获得组织学结构。

2.2 卵巢发育分期

根据卵巢外观形态、性腺指数变化和切面上各期细胞所占的比例, 将拟目乌贼卵巢发育分为形成前期、形成期、小生长期、大生长期、成熟前期和成熟期 6 个时期。

I 期 形成前期 乌贼日龄 23—31d, 体重(3.03—4.82) g, 胴长(2.43—3.22) cm, 性腺肉眼不可见, 组织切片观察到卵巢位于胴体基部, 切面上生殖细胞均为卵子发生第 1 期的细胞, 少量被 HE 染成深蓝色的扁平滤泡细胞散布于卵巢中(图版 III-1、表 1)。

II 期 形成期 乌贼日龄 31—45d, 体重(4.82—8.56) g, 胴长(3.22—3.83) cm, 性腺位于体腔后部, 包被于体腔膜中, 肉眼不容易观察到, 呈乳白色, 细条状, 长约 4 mm, 重(0.01—0.02) g, 性腺指数为 0.16—0.28, 组织切片观察, 卵巢内生殖细胞以卵子发生第 2 期细胞为主, 占整个切面的 83.66%, 还分布着少量第 3 期(13.96%)和第 1 期(2.38%)的细胞(图版 III-2、表 1)。

III 期 小生长期 乌贼日龄 45—150d, 体重(8.56—133.81) g, 胴长(3.83—11.20) cm, 肉眼明显可见卵巢呈乳白色, 扁平状, 紧贴体腔膜, 大小(6—8) mm, 重(0.02—0.23) g, 性腺指数为 0.12—0.26, 组织切片观察, 卵巢内生殖细胞以卵子发生第 4 期细胞为主, 占整个切面的 50.01%, 其次为第 3 期细胞(36.33%), 仍然可见少量第 2 期(11.34%)和第 1 期(1.09%)细胞, 且切面上出现了部分退化吸收的卵母细胞, 占整个切面的 1.23% (图版 III-3、表 1)。

IV 期 大生长期 乌贼日龄 150—180d, 体重(133.81—256.34) g, 胴长(11.20—13.55) cm, 卵巢呈乳白色, 扁平状, 肉眼可观察到卵巢表面具有凹凸不平的卵粒, 此期卵巢开始快速增长, 大小(12—18) mm, 重(0.23—1.56) g, 性腺指数为 0.17—0.72, 组织切片观察, 卵巢内生殖细胞以卵子发生第 6 期细胞为主, 占整个切面的 50.27%, 其次为第 5 期细胞(18.83%), 第 1 期细胞不再出现(图版 III-4、表 1)。

V 期 成熟前期 乌贼日龄 180d 后, 体重达 256.34 g 以上, 胴长达 13.55 cm 以上, 卵巢继续增长, 乳白色, 葡萄状, 大小(20—25) mm, 重 1.56 g 以上, 性腺指数 0.65 以上, 肉眼可见椭球形的卵母细胞呈串排列。组织切片观察, 卵巢内生殖细胞以卵子发生第 8 期细胞为主, 占整个切面的 61.85%, 退化吸收的卵母细胞增多, 占整个切面的 2.05% (图版 III-5、表 1)。

VI 期 成熟期 成熟卵巢从亲体中获得, 此时乌贼已经性成熟, 体重(950.33—2010.28) g, 胴长(20.80—27.75) cm, 卵巢呈淡黄色, 葡萄状, 充满整个胴体后部, 重(31.35—75.23) g, 性腺指数为 2.82—4.05, 淡黄色的成熟卵子游离到生殖腔中, 偶见的未成熟卵子呈乳白色(图版 III-6、表 1)。

3 讨论

3.1 关于性成熟和繁殖周期

头足类繁殖周期不同种类之间存在较大差异, 韦柳枝等认为金乌贼为一年性成熟, 繁殖周期为一年^[24], Goff 和 Daguzan 研究发现乌贼(*Sepia officinalis*)有两种繁殖群体, 第一种群体的数量和个体均较小, 繁殖周期为一年, 第二种群体的数量和个体均较大, 繁殖周期为 2 年^[25], 曼氏无针乌贼在自然条件下一年只繁殖一次, 而在人工养殖条件下, 春

表 1 拟目乌贼卵巢发育不同时期切面上各期细胞所占的比例
Tab. 1 Percentage of each oocyte at the sections during ovaries development in *Sepia lycidas*

指标 Item	卵巢发育分期 Stage of Ovaries development					
	I	II	III	IV	V	VI
日龄 Age (d)	23—31	31-45	45—150	150—180	180—	—
体重 W (g)	3.03—4.82	4.82—8.56	8.56—133.81	133.81—256.34	256.34—	950.33—2010.28
胴长 ML (cm)	2.43—3.22	3.22—3.83	3.83—11.20	11.20—13.55	13.55—	20.80—27.75
卵巢重 W _o (g)	—	0.01—0.02	0.02—0.23	0.23—1.56	1.56—	31.35—75.23
性腺指数 GSI (%)	—	0.16—0.28	0.12—0.26	0.17—0.72	0.65—	2.82—4.05
卵子发生分期 Stage of Oogenesis (%)	1	100.00	2.38	1.09	0.00	0.00
	2	0.00	83.66	11.34	4.60	4.47
	3	0.00	13.96	36.33	7.09	3.08
	4	0.00	0.00	50.01	10.98	3.25
	5	0.00	0.00	0.00	18.83	3.57
	6	0.00	0.00	0.00	50.27	9.02
	7	0.00	0.00	0.00	6.68	4.34
	8	0.00	0.00	0.00	0.00	61.85
	9	0.00	0.00	0.00	0.00	8.37
	10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
退化吸收 Resorption	0.00	0.00	1.23	1.55	2.05	—

注: “—”: 未获得数据
Note: “—”: did not obtain data

季产出的幼体在秋季即可达到性成熟, 一年有两次繁殖期^[26]。本实验表明, 拟目乌贼孵化出膜后, 经过 4—6 个月的水泥池养殖, 平均体重为 256.34 g, 最大体重可达到 457.08 g, 大部分个体的卵巢发育至第Ⅳ期, 个别已发育至第Ⅵ期, 达到性成熟, 因此我们推测人工养殖条件下拟目乌贼一年可达到性成熟, 繁殖周期为一年。一般来说头足类达到性成熟后, 即交配、产卵, 随后大量死亡, 特别是曼氏无针乌贼性早熟现象普遍, 养殖 3—4 个月, 长至 50 g 左右就性早熟, 交配产卵, 伴随大量死亡, 这严重挫伤了养殖户的积极性, 阻碍了乌贼养殖业的发展, 而拟目乌贼生长快, 养殖 4—6 个月就可长至 250—500 g, 达到商品规格, 而且只出现个别性成熟, 这为养殖户带来了福音。

3.2 关于卵子发生和卵巢发育的分期

关于头足类卵子发生的分期, 不同学者的分类依据不尽相同。Bottke^[27]根据滤泡细胞形态变化, 将锥尾异枪乌贼(*Alloteuthis subulata*)的卵子发生分为了Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ 3 个阶段, 而 Selman 和 Arnold^[2]根据滤泡细胞形态变化将皮氏枪乌贼卵子发生分为了Ⅰ—Ⅴ 5 个阶段, Boyle 和 Chevis^[6]根据卵黄发生情

况将尖盘艾尔斗蛸卵子发生也分为了Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ3 个阶段, 蒋霞敏等^[8]和李来国^[10]根据细胞大小、细胞核形态和滤泡细胞形态变化分别将曼氏无针乌贼和长蛸卵子发生分为卵原细胞期、卵母细胞期、成熟期和退化期 4 个阶段。本文综合根据细胞形态、细胞大小、滤泡细胞形态和卵黄发生情况, 将拟目乌贼卵子发生分为卵原细胞、原生质生长、间质生长和营养质生长 4 个阶段, 这与 Laptikhovsky 和 Arkhipkin^[3]对巴塔哥尼亚枪乌贼及 Hoving 和 Laptikhovsky^[5]对狼乌贼卵子发生的分期类似。

关于头足类卵巢发育的分期, 尚未有统一的标准。Perez 和 Haimovici^[28]根据卵巢的厚度、颜色和卵细胞直径将大爱尔斗蛸(*Eledone Massyae*)卵巢发育分为了Ⅰ—Ⅳ4 个时期, Estefanell 等^[7]根据性腺指数变化将真蛸卵巢发育也分为了Ⅰ—Ⅳ4 个时期, Boyle 和 Chevis^[6]根据卵黄发生情况, 将尖盘艾尔斗蛸卵巢发育分为了卵黄发生前期、卵黄发生早期、卵黄发生晚期和成熟期 4 个时期, Gabr 等^[29]根据卵巢的组织学结构将虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)和多氏乌贼(*Sepia dollfusi*)卵巢发育分为未成熟期、成熟期、产卵前期和产卵期 4 个时期, 本文根据卵巢的

外观形态、性腺指数变化和切面上各期细胞所占的比例, 将拟目乌贼卵巢发育分为形成前期、形成期、小生长期、大生长期、成熟前期和成熟期 6 个时期, 这种分期方式综合了形态学、组织学和数据三方面依据, 比较全面, 可作为日后研究头足类卵巢发育分期的一个参考标准。

3.3 关于滤泡细胞的变化与卵黄的形成

滤泡细胞伴随着卵母细胞发育的整个过程, 其形态和分布的变化是卵子发生分期的重要依据。关于滤泡细胞的起源, Nakamura^[30]、张耀光等^[31]和牟振波等^[32]均认为滤泡细胞起源于非生殖细胞, 由卵巢基质分化而来, 而 Broow^[33]和 Bolognari 等^[34]认为滤泡细胞起源于生殖细胞, 由早期卵原细胞分化而来, 在本研究中, 拟目乌贼滤泡细胞和卵原细胞同时出现于卵巢发育的第 I 期, 滤泡细胞形态和大小均不同于卵原细胞, 因而我们认为拟目乌贼滤泡细胞起源于非生殖细胞, 由卵巢基质分化而来。在拟目乌贼卵子发生过程中, 滤泡细胞经历了一个由包围卵母细胞的扁平单层, 转变为外层扁平内层椭圆形的双层, 内折形成指状突起, 直至占据整个卵母细胞的网状结构, 最后解体消失的过程, 这与曼氏无针乌贼^[8]和长蛸^[10]卵子发生过程中滤泡细胞的变化相类似, 在巴塔哥尼亚枪乌贼^[3]卵子发生过程中滤泡细胞经历了鱼鳞状和圆柱形, 这与本文描述的滤泡细胞经历了扁平状和椭圆形是相似的, Selman 和 Arnold^[2]研究发现皮氏枪乌贼滤泡细胞在卵子发生过程中是逐渐拉长的, Laptikhovsky 和 Arkhipkin^[3]、Hoving 和 Laptikhovsky^[5]也得到了

类似的结果, 但本研究发现, 拟目乌贼外层扁平滤泡细胞先拉长后缩短, 而内层椭圆形的滤泡细胞直径变化不大。

关于滤泡细胞的功能, 众说纷纭, 龚启祥和杜立勤^[35]、张耀光和谢小军^[31]认为滤泡细胞参与卵膜的形成, Grier^[36]认为滤泡细胞具有合成和运输外源性卵黄前体物质的作用, 而 Selman 和 Arnold^[2]认为滤泡细胞同时具有合成和分泌卵膜物质和卵黄前体物质的作用, Thiaw 和 Mattei^[37]认为滤泡细胞对退化吸收的卵母细胞还具有二次包裹和吞噬的功能。在本文中, 卵黄的形成与滤泡细胞解体同时发生, 推测滤泡细胞解体前合成了大量卵黄前体物质, 在解体时分泌到卵母细胞中, 从而在短时间内合成了大量卵黄颗粒, 因而我们认为滤泡细胞参与了卵黄的合成, 这与 Bottke^[27]认为卵黄由滤泡细胞产生的观点一致。

3.4 关于细胞大小的变化

卵细胞的体积在卵子发生过程中发生了较大的变化, 不同物种之间这种变化也不同, 表 2 比较了不同物种卵子发生过程中卵细胞直径的变化, 可看出各个时期卵细胞直径在不同物种之间具有较大差异, 且在卵子发生过程中, 卵细胞的直径会出现跳跃性的增长, 曼氏无针乌贼^[8]卵细胞跳跃性增长出现在第 6—7 期, 此期是滤泡细胞大量内折占据整个卵母细胞的时期, 巴塔哥尼亚枪乌贼^[3]和狼乌贼^[5]卵细胞跳跃性增长出现在第 10 期, 此期是卵黄大量合成的时期, 拟目乌贼卵细胞出现了两次跳跃性增长, 第一次出现在第 7 期, 即滤泡细胞大量内折期, 第二次出现在第 9—10 期, 即卵黄大量合成期, 可

表 2 几种乌贼卵子发生过程中卵细胞直径变化的比较(单位: μm)
Tab. 2 Comparison of oocyte diameter of several cuttlefish during Oogenesis (Unit: μm)

		拟目乌贼 <i>Sepia lycidas</i>	曼氏无针乌贼 ^[8] <i>Sepiella maindroni</i>	巴塔哥尼亚枪乌贼 ^[3] <i>Loligo gahi</i>	狼乌贼 ^[5] <i>Lycoteuthis lorigera</i>
卵原细胞 Oogonia	1	12—15	8.5—12.8	20—30	<40
原生质生长 Protoplasmic growth	2	40—170	22.3—31.9	50—120	40—80
	3	220—310	39.6—65.8	180—300	120—240
	4	270—380	87.5—99.4		
间质生长 Interstitial growth	5	340—400	132.5—274.8	250—400	250—300
	6	390—470	469.3—2584.7	500—800	400—450
	7	1000—1200			
营养质生长 Trophoplasmic growth	8	1500—1800	2912.7—3986.5	1000—1300	500—700
	9	2300—2900		1600	900
	10	$(6.0—7.0) \times 10^3$	$(4.0—4.4) \times 10^3$	$(2.2—2.7) \times 10^3$	$(1.2—1.5) \times 10^3$

见滤泡细胞的生长和卵黄的合成是卵细胞体积增长的主要动力。卵子的大小可能会影响精卵的结合以及受精卵的发育, 据悉尼目乌贼受精卵产出时大小为 17.1 mm×39.7 mm, 孵化出的乌贼幼体胴长为 8.0 mm, 而曼氏无针乌贼^[38]受精卵产出时大小仅有 5.5 mm×10.0 mm, 孵化出的乌贼幼体胴长仅有 4.0 mm, 这与拟目乌贼卵子较曼氏无针乌贼大是密切相关的。

细胞核的变化主要体现在体积和位置上, 在拟目乌贼卵子发生过程中, 细胞核体积不断增长至第 5 期, 之后保持在(150—180) μm 左右, 位置由细胞中央偏移到一侧, 随着滤泡细胞的解体而逐渐消失, 这与皮氏枪乌贼^[2]、巴塔哥尼亚枪乌贼^[3]和狼乌贼^[5]卵子发生过程中细胞核的变化相类似, 而曼氏无针乌贼^[8]卵子发生过程中细胞核消失之前体积有一个减小的过程。在整个卵子发生过程中, 核质比是不断减小的, 这与倪海和杜立勤^[39]认为卵母细胞趋向成熟, 核质比越小的观点一致。

参考文献:

- [1] Hei N N, Liu H L, Bao H J, *et al.* Histomorphological characteristics of oogenesis and vitellogenesis in *Pelodiscus sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(3): 656—662 [黑乃楠, 刘海丽, 包慧君, 等. 中华鳖卵子发生与卵黄形成特征. 水生生物学报, 2010, **34**(3): 656—662]
- [2] Selman K, Arnold J M. An ultrastructural and cytochemical analysis of oogenesis in the squid, *Loligo pealei* [J]. *Journal of Morphology*, 1977, **152**(3): 381—400
- [3] Laptikhovsky V V, Arkhipkin A I. Oogenesis and gonad development in the cold water loliginid squid *Loligo gahi* (Cephalopoda: Myopsida) on the Falkland shelf [J]. *Journal of Molluscan Studies*, 2001, **67**(4): 475—482
- [4] Pierce G J, Boyle P R, Hastie L C, *et al.* The life history of *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Scottish waters [J]. *Fisheries Research*, 1994, **21**(1—2): 17—41
- [5] Hoving H J T, Laptikhovsky V V. Fecundity, oogenesis, and ovulation pattern of southern African *Lycoteuthis lorigera* (Steenstrup, 1875) [J]. *Hydrobiologia*, 2014, **725**(1): 23—32
- [6] Boyle P R, Chevis D. Egg development in the octopus *Eledone cirrhosa* [J]. *Journal of Zoology*, 1992, **227**(4): 623—638
- [7] Estefanell J, Socorro J, Roo F J, *et al.* Gonad maturation in *Octopus vulgaris* during on-growing, under different conditions of sex ratio [J]. *Journal of Marine Science*, 2010, **67**(7): 1487—1493
- [8] Jiang X M, Fu F Y, Li Z, *et al.* Study on the oogenesis and ovarian development of *Sepiella maindroni* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, **31**(5): 607—617 [蒋霞敏, 符方尧, 李正, 等. 曼氏无针乌贼的卵子发生和卵巢发育. 水产学报, 2007, **31**(5): 607—617]
- [9] Hao Z L. Studies on reproductive development and fluorescent marking technology of cuttlefish *Sepia esculenta* (Cephalopoda: Sepiidae) [D]. Thesis for Dissertation of Science. Ocean University of China, Qindao, 2010 [郝振林. 金乌贼繁殖、发育及荧光标志技术的研究. 博士学位论文. 中国海洋大学, 青岛, 2010]
- [10] Li L G. Studies on histology of reproductive system and cell biology on spermatogenesis and oogenesis of *Octopus variabilis* [D]. Thesis for Master of Science. Ningbo University, Ningbo, 2010 [李来国. 长蛸生殖系统组织学和精卵发生的细胞学研究. 硕士学位论文. 宁波大学, 宁波, 2010]
- [11] Chen X J, Liu B L, Wang Y G. World Cephalopods [M]. Beijing: Ocean Press. 2009, 440 [陈新军, 刘必林, 王尧耕. 世界头足类. 北京: 海洋出版社. 2009, 440]
- [12] Kikkawa T, Watanabe Y, Katayama Y, *et al.* Acute CO₂ tolerance limits of juveniles of three marine invertebrates, *Sepia lycidas*, *Sepioteuthis lessoniana*, and *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Plankton and Benthos Research*, 2008, **3**(3): 184—187
- [13] 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**(3): 613—619
- [14] 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
- [15] Kawashima Y, Nishihara H, Akasaki T, *et al.* The complete mitochondrial genomes of deep sea squid (*Bathyteuthis abyssicola*), bob-tail squid (*Semiosquilla patagonica*) and four giant cuttlefish (*Sepia apama*, *S. latimanus*, *S. lycidas* and *S. pharaonis*), and their application to the phylogenetic analysis of Decapodiformes [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, **69**(3): 980—993
- [16] Yoshida M A, Tsuneki K, Furuya H. Phylogeny of selected sepiidae (Mollusca, Cephalopoda) based on 12S, 16S, and COI sequences, with comments on the taxonomic reliability of several morphological characters [J]. *Zoological Science*, 2006, **23**(4): 341—351
- [17] Nagai T, Yamashita E, Taniguchi K, *et al.* Isolation and characterization of collagen from the outer skin waste material of cuttlefish (*Sepia lycidas*) [J]. *Food Chemistry*, 2001, **72**(4): 425—429
- [18] Jiang X M, Peng R B, Luo J, *et al.* Analysis and evolution of nutrient composition in different tissues of wild *Sepia lycidas* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, **24**(12): 2393—2401 [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与评价. 动物营养学报, 2012, **24**(12): 2393—2401]
- [19] Luo J, Jiang X M, Tang F, *et al.* Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoa in *Sepia lycidas* [J]. *Chinese*

- Journal of Zoology*, 2014, **49**(1): 71—82 [罗江, 蒋霞敏, 唐锋, 等. 拟目乌贼精子发生和精子的超微结构. 动物学杂志, 2014, **49**(1): 71—82]
- [20] Chen D H, Yan R, Wen J, *et al.* Effect on diameter, weight and hatchability of fertilized egg of cuttlefish (*Sepia lycidas*) by different salinity water environment [J]. *Amino Acids and Biotic Resources*, 2013, **35**(3): 8—12 [陈道海, 颜蓉, 文菁, 等. 盐度对拟目乌贼受精卵卵径、重量和孵化率的影响. 氨基酸和生物资源, 2013, **35**(3): 8—12]
- [21] Xu H H, Cai W F, Zhou S J, *et al.* Daily food consumption and its effect on the larvae body weight of *Sepia lycidas* [J]. *Amino Acids and Biotic Resources*, 2012, **34**(4): 67—70 [徐海洪, 蔡文飞, 周淑进, 等. 拟目乌贼幼体日摄食量及其对体重影响. 氨基酸和生物资源, 2012, **34**(4): 67—70]
- [22] Cai W F, Xu H H, Chen D H. Effect of temperature on growth rate and survival rate in cuttlefish (*Sepia lycidas*) larvae [J]. *Amino Acids and Biotic Resources*, 2012, **34**(4): 63—66 [蔡文飞, 徐海洪, 陈道海. 温度对拟目乌贼幼体生长率和存活率的影响. 氨基酸和生物资源, 2012, **34**(4): 63—66]
- [23] Wen J, Jiang X, Wang Y, *et al.* The reproductive behavior of cuttlefish *Sepia lycidas* [J]. *Fisheries Science*, 2012, **31**(1): 22—27 [文菁, 江星, 王雁, 等. 拟目乌贼繁殖行为学的初步研究. 水产科学, 2012, **31**(1): 22—27]
- [24] Wei L Z, Gao T X, Han Z Q, *et al.* Biology of *Sepia esculenta* from the coastal Waters of Rizhao [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2005, **35**(6): 923—928 [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. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2005, **35**(6): 923—928]
- [25] Goff R L, Daguzan J. Growth and life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda) in South Brittany (France) [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1991, **49**(1—2): 341—348
- [26] Zhang J S, Xia L M, Chi C F, *et al.* Study on reproductive biology characteristics of cuttlefish *Sepia officinalis* (Rochebrune) [J]. *Ocnologia et Limnologia Sinica*, 2011, **42**(1): 55—59 [张建设, 夏灵敏, 迟长凤, 等. 人工养殖曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)繁殖生物学特性研究. 海洋与湖沼, 2011, **42**(1): 55—59]
- [27] Bottke W. The fine structure of the ovarian follicle of *Alloteuthis subulata* Lam. (Mollusca, Cephalopoda) [J]. *Cell and Tissue Research*, 1974, **150**(4): 463—479
- [28] Perez J A A, Haimovici M. Sexual maturation and reproductive cycle of *Eledone Massyae*, Voss 1964 (Cephalopoda: Octopodidae) in Southern Brazil [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1991, **49**(1—2): 270—279
- [29] Gabr H R, Hanlon R T, Hanafy M H, *et al.* Maturation, fecundity and seasonality of reproduction of two commercially valuable cuttlefish, *Sepia pharaonis* and *S. dollfusii*, in the Suez Canal [J]. *Fisheries Research*, 1988, **36**(2—3): 99—115
- [30] Nakamura M. Gonadal sex differentiation in white spotted charr *Salvelinus leucomaenis* [J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1982, **28**(4): 431—436
- [31] Zhang Y G, Xie X J. Studies on the histology of development of follicle cells of ovary and egg envelopes in *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Zoological Research*, 1995, **16**(2): 166—172 [张耀光, 谢小军. 南方鲇卵巢滤泡细胞和卵膜生成的组织学研究. 动物学研究, 1995, **16**(2): 166—172]
- [32] Mou Z B, Xu G F, Yang S Y. Development and function of ovarian follicular cells in *Brachymystax lenok* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, **15**(1): 167—171 [牟振波, 徐革锋, 杨双英. 细鳞鱼卵巢滤泡细胞的发育及功能. 中国水产科学, 2008, **15**(1): 167—171]
- [33] Broow M J. Gonad development and spawning in *Anadara granosa* (Bivalve: Arcidae) [J]. *Aquaculture*, 1983, **30**(4): 211—219
- [34] Bolognari A, Licata A, Ricca M B. Primary nucleolus and amphinucleolus in the oocytes *Patella coerulea* [J]. *Experientia*, 1976, **32**(8): 1008—1010
- [35] Gon Q X, Du L Q. The annual change of the ovary of cuttlefish (*Sepiella maindroni* De Rochebrune) in the water of Zhejiang Province [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1988, **12**(1): 57—62 [龚启祥, 杜立勤. 浙江近海曼氏无针乌贼卵巢周年变化的研究. 水产学报, 1988, **12**(1): 57—62]
- [36] Grier H J. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae) [J]. *Journal of Morphology*, 2000, **243**(3): 265—281
- [37] Thiaw O T, Mattei X. Natural degenerating mitochondria in ovarian follicles of a cyprinodontidae fish, *Epiplatys spilargyreus* (teleost) [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 1992, **32**(1): 67—72
- [38] Jiang X M, Ge C H, Tong Q L, *et al.* The embryonic development of *Sepiella maindroni* [J]. *Journal of Ningbo University (NSEE)*, 2011, **24**(2): 1—7 [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. 宁波大学学报(理工版), 2011, **24**(2): 1—7]
- [39] Ni H E, Du L Q. Observation on the ovary development of *Ilisha elongate* in the East China Sea [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, **25**(4): 317—322 [倪海尔, 杜立勤. 东海鳎卵巢发育的组织学观察. 水产学报, 2001, **25**(4): 317—322]

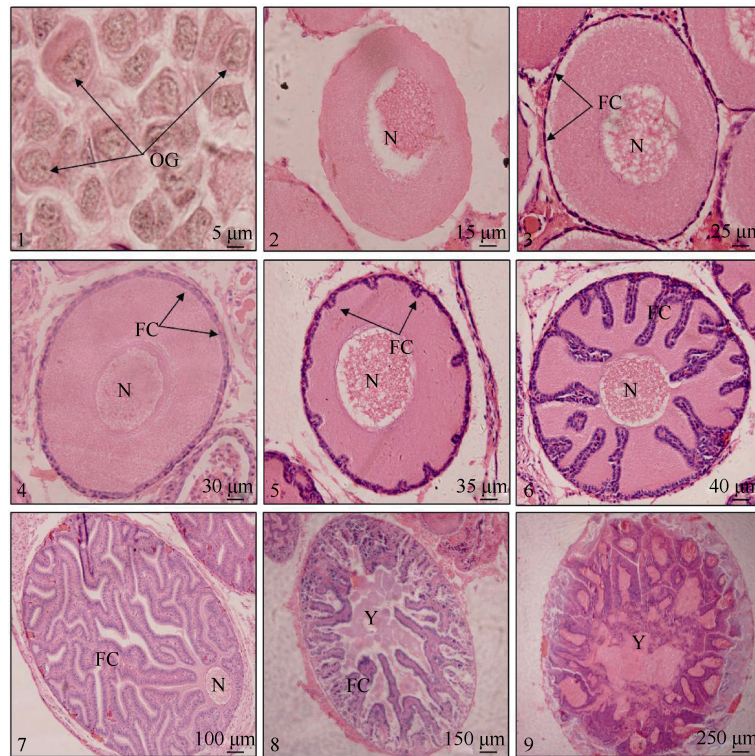
OÖGENESIS AND OVARIAN DEVELOPMENT IN *SEPIA LYCIDAS*

LUO Jiang¹, JIANG Xia-Min¹, LIU Min-Hai², TANG Feng¹ and PENG Rui-Bing¹

(1. Faculty of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Zhoushan Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316000, China)

Abstract: In order to enrich the content of reproductive biology and provide theoretical guidance for the artificial breeding of *Sepia lycidas*, the oögenesis and ovarian development of *S. lycidas* were observed by anatomical and histological methods. Six months after cultivated in the concrete ponds, the average weight was 256.34 g, and the maximum weight was 457.08 g, only single individuals reached to mature, while the vast majority of individuals were immature. The asynchronous oögenesis of *S. lycidas* could be divided into four periods, and subdivided into ten stages according to the morphology and size of oocyte, the morphology of follicular cell, and the situation of vitellogenesis. The four periods and ten stages were: oogonia period (oogonia), protoplasmic growth period (no follicular cell, single follicular epithelium s, and double follicular epithelium), interstitial growth period (early stage of follicle penetration, middle stage of follicle penetration, and late stage of follicle penetration), and trophoplasmic growth period (early vitellogenesis, late vitellogenesis, and mature oocyte). According to the morphology of ovary, gonad somatic index (*GSI*), and percentage of oocyte at different stage, the ovarian development could be divided into six stages, i.e.: pre-formation, formation, small growth, large growth, pre-maturation, and maturation. The duration of reproduction cycle of *S. lycidas* was 1 year.

Key words: *Sepia lycidas*; Oögenesis; Ovarian development; Histology



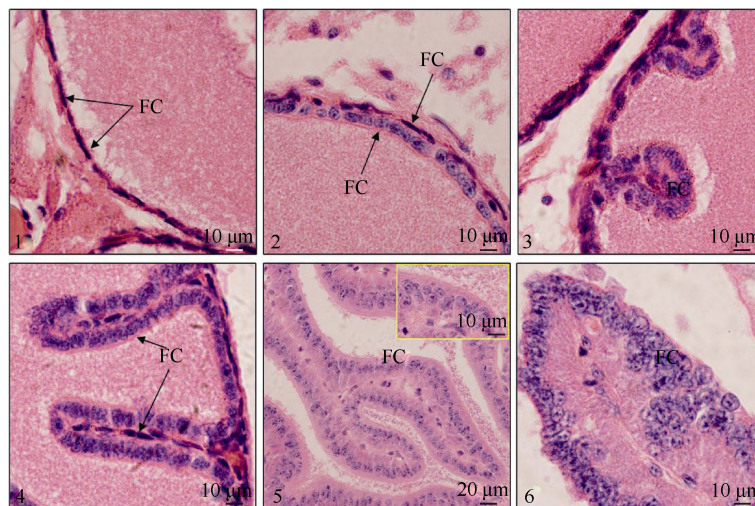
图版 I 拟目乌贼卵子发生

Plate I Oogenesis in *S. lycidas*

1. 第 1 期, 卵原细胞; 2. 第 2 期, 无滤泡期; 3. 第 3 期, 单层滤泡期; 4. 第 4 期, 双层滤泡期; 5. 第 5 期, 滤泡内折早期; 6. 第 6 期, 滤泡内折中期; 7. 第 7 期, 滤泡内折晚期; 8. 第 8 期, 卵黄发生早期; 9. 第 9 期, 卵黄发生晚期

1. Stage 1, Oogonia; 2. Stage 2, no follicular cell; 3. Stage 3, single follicular epithelium; 4. Stage 4, Double follicular epithelium; 5. Stage 5, early stage of follicle penetration; 6. Stage 6, middle stage of follicle penetration; 7. Stage 7, late stage of follicle penetration; 8. Stage 8, early vitellogenesis; 9. Stage 9, late vitellogenesis

FC: 滤泡细胞; N: 细胞核; Nu: 核仁; OG: 卵原细胞; Y: 卵黄. FC: Follicular cell; N: Nucleus; Nu: Nucleolus; OG: Oogonia; Y: Yolk

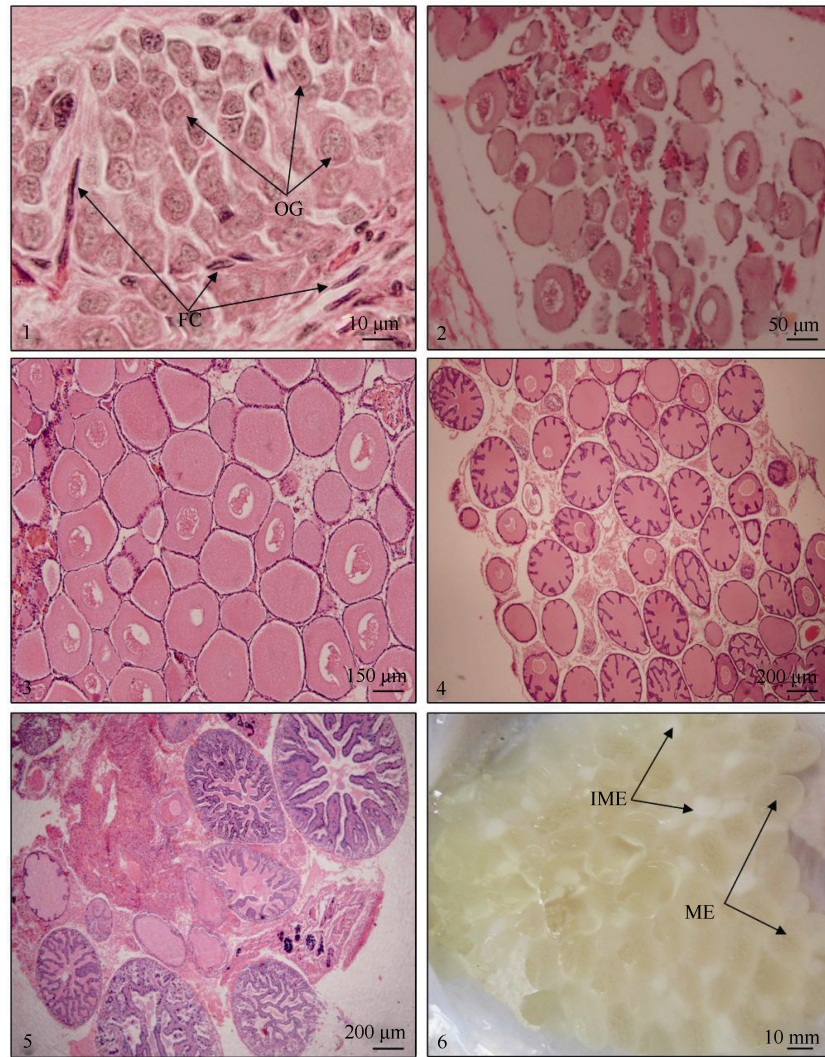


图版 II 拟目乌贼卵子发生过程中滤泡细胞的变化

Plate II The change of follicular cells during oogenesis in *S. lycidas*

1. 单层滤泡期; 2. 双层滤泡期; 3. 滤泡内折早期; 4. 滤泡内折中期; 5. 滤泡内折晚期; 6. 滤泡解体期

1. Single follicular epithelium; 2. Double follicular epithelium; 3. Early stage of follicle penetration; 4. Middle stage of follicle penetration; 5. Late stage of follicle penetration; 6. Distegration of follicular cells



图版 III 拟目乌贼卵巢发育

Plate III Ovarian development in *S. lycidas*

1. 第 I 期, 形成前期; 2. 第 II 期, 形成期; 3. 第 III 期, 小生长期; 4. 第 IV 期, 大生长期; 5. 第 V 期, 成熟前期; 6. 第 VI 期, 成熟期;
ME: 成熟卵子; IME: 为成熟卵子

1. Stage I, pre-formation; 2. Stage II, formstion; 3. Stage III, small growth; 4. Stage IV, large growth; 5. Stage V, pre-maturation; 6. Stage VI, maturation; ME: Mature egg; IME: Immature egg