

人工条件下长蛸(*Octopus minor*)繁殖 习性及其胚胎发育研究*

钱耀森¹ 郑小东¹ 刘畅¹ 王培亮² 李琪¹

(1. 中国海洋大学水产学院 青岛 266003; 2. 马山集团有限公司 威海 264319)

提要 于 2009—2010 年对山东荣成天鹅湖盛产的长蛸进行了人工繁育研究。采用显微观察和数码拍照等方法, 观察其胚胎发育, 详细描述各发育期的特征。结果表明, 在室温 21—25℃、盐度 28—31 等条件下, 长蛸产卵量 9—125 粒, 个体间差异较大。卵长径 13—20mm, 宽径 4—6mm。雌体具护卵行为。胚胎发育期 72—89d, 分别历经卵裂期、囊胚期、原肠期、器官形成等 20 个时期。整个发育过程, 胚胎发生两次翻转, 第一次发生在第一期, 约 21d; 第二次发生在第 XIX 期, 约 65d, 少数个体也存在多次翻转现象。初孵幼体胴背长 8.5—11.5mm, 全长 25—31mm, 直接营底栖生活。

关键词 长蛸, 繁殖习性, 胚胎发育

中图分类号 Q954.43

长蛸 *Octopus minor* (Sasaki, 1920) 隶属头足纲、八腕目、蛸科、蛸属, 俗称马蛸、大蛸等, 是我国沿海经济头足类, 广泛分布于渤海、黄海、东海、南海和日本群岛海域, 在繁殖期间有短距离的洄游移动, 主要营底栖泥底生活, 以长而有力的腕部挖穴栖居, 岩礁间也有采获, 砂砾底质较少发现(董正之, 1988)。长蛸个体较大, 肉质鲜美, 可食率很高, 且营养丰富, 富含蛋白质和多种不饱和脂肪酸(钱耀森等, 2010)。长蛸生鲜及加工食品在海内外市场广阔, 尤其受韩国、日本等国青睐, 是我国北方主要的出口头足类。

目前所见到的国内外有关长蛸的研究较多, 集中在组织学和组织化学(许星鸿等, 2008; 崔龙波等, 2000, 2001)、形态学和生态学(瀧巖, 1944)、生理学(Seol *et al.*, 2007)、遗传多样性(高强等, 2009; 常抗美等, 2010; 孙宝超等, 2010; Zuo *et al.*, 2011)以及人工繁育(李士虎等, 2008)等方面。尽管长蛸胚胎发育有过报道(山本孝治, 1942), 但尚有诸多问题没有得到解决, 如: 胚胎发育阶段的界定、胚胎翻转的发生以及多次翻转现象等。

山东荣成天鹅湖, 地理名称为月湖, 是省级长蛸

原种场。本文作者于 2009—2010 年间, 对该海区盛产的长蛸进行了室内繁育, 较为全面地研究了长蛸的繁殖习性和胚胎发育, 旨在为原种资源的保护、管理和增殖放流工作提供基础性参考资料。

1 材料与方 法

2009 年 5—11 月和 2010 年 7—12 月, 分别从荣成天鹅湖挑选 95 只和 128 只个体饱满且无损伤长蛸亲体, 运到室内水泥池内暂养。水泥池长 5.7m×宽 2.8m×深 0.7m, 水位 0.5m。池底部分别采用 PVC 管、砖块或瓦块等采卵器建造巢穴供长蛸隐蔽、交配和产卵。将产卵的亲体连同巢穴一起转移到孵化池内孵化。孵化水温 21—25℃, 盐度 28—31, 常流水, 日流量为总水体 2 倍。

取同一只亲体或同一时期产出的受精卵为观察对象, 先后观察了约 160 粒受精卵。胚胎发育早期, 每隔 1h 采样观测 1 次; 发育后期, 每天观察胚胎变化, 显微数码拍照(Canon A650), 使用解剖镜(XTB-1B)通过目微尺进行形态学测量。卵黄囊收缩频率按照连续 10 次收缩的平均时间, 鳃心收缩频率按照连续跳动

* 国家海洋公益性行业科研专项项目, 200805069 号, 201305043 号。钱耀森, 硕士, E-mail: qianyaosen@163.com

通讯作者: 郑小东, 博士, 副教授, E-mail: xdzheng@ouc.edu.cn

收稿日期: 2012-03-12, 收修改稿日期: 2012-07-10

50次的平均时间,观察和记录色素斑和吸盘变化。不同发育阶段的样品用3%—5%福尔马林溶液固定保存,以备查用。

2 结果

2.1 繁殖习性

长蛸为雌雄异体,体内受精。雄性通过茎化腕将精英传输到雌体胴体内完成交配。交配后,雄性个体陆续死亡。观察发现,精英在雌体内可以储存15d以上。开始产卵时,长蛸的摄食量会突然减少。在生产上,可以将摄食量的骤然变化作为判断产卵的标志。

卵大部分产在采卵器内(图1a)或侧壁(图1b)。卵较大,呈茄子状,长13—20mm,宽4—6mm,重0.15—0.26g。据统计,长蛸产卵量9—125粒,个体间差别较大。产卵可持续一周左右。长蛸雌体具护卵行为,直到幼体完全孵化为止。它们的摄食量在护卵前期较后期多,但整个护卵期间的摄食量比产卵前明显减少。在护卵情况下,卵的孵化率85%左右。刚产卵的卵柄基部粘性较强(图1b),能牢牢地粘在采卵器内壁或附着物上,2—3h后开始硬化并颜色加深,20h后由乳白色变为墨绿色。卵独立地悬挂在管内壁。

2.2 胚胎发育

长蛸胚胎发育分别经历卵裂期、囊胚期、原肠期、器官形成期和孵化期,伴有红珠、黑珠和胚胎翻转等现象。据Naef(1928)划分标准,胚胎发育详细划分为20期(图2),各期主要特征如下:

第 期(1—8d):刚产的受精卵呈米黄色,随后逐渐变浅。受精后胚细胞经数次分裂后,动物极一端(对卵柄侧)形成盘状胚盘(图2-1)。

第 期(9—10d):内中胚层开始形成,动物极颜色较深,分裂的细胞体积变小,仅比卵黄颗粒稍大(图2-2)。

第 期(11—13d):卵黄上皮在未分裂的卵黄上缓慢向中心扩散,外观颜色逐渐变深,此时卵黄上皮开始外包形成原肠胚。外周中胚层细胞开始形成外卵黄囊组织(图2-3)。

第 期(14—16d):卵黄上皮细胞均匀向植物极扩散,轮廓更加清晰明显,此时胚盘在卵黄顶部呈帽子形状(图2-4)。

第 期(17—18d):胚盘在卵黄囊上继续扩散,约为卵黄囊长径的四分之一,但横向直径仍然小于卵黄囊直径(图2-5)。

第 期(19—20d):卵黄上皮继续向植物极分裂,可以看出外弧面细胞快于内弧面,此时卵黄上皮已经下包到卵黄的一半。第20d开始在动物极五分之一处可以模糊看到腕原基,随后看到眼原基和圆形胴体原基,八个腕原基排成几何圆形,眼原基和胴体原基位于中间被腕原基环绕,眼原基颜色为浅橘黄色(图2-6)。

第 期(21—23d):漏斗原基、口原基出现,卵黄囊从口周围开始节律性收缩。胚胎由对卵柄端逐步翻转到卵柄端,此过程需2—3h。刚翻转到卵柄端,八个腕呈圆球状紧贴在卵黄囊上,眼睛瘪瘦,内部呈橘黄色,胴体扁平,与腕靠在一起突出于卵黄囊外,与卵黄囊垂直。卵黄囊收缩缓慢,频率约10次/min(图2-7)。

第 期(24—25d):眼睛开始变圆,腕伸长,末端钝圆,胴体部开始拉长,内部出现某些组织或器官,如鳃。胴体和腕原基分开。腕不能活动。卵黄囊收缩频率约7次/min(图2-8)。

第 期(26—27d):腕末端仍为钝圆,可在卵黄囊上微微摆动。眼睛颜色仍为橘黄色,平衡囊形成,胴体继续伸长,卵黄剩下五分之四,卵黄囊收缩频率约5次/min(图2-9)。

第 期(28—30d):眼大而圆,颜色变为红色,腕末端变尖,摆动幅度变大,胴体部饱满;卵黄囊有节律的收缩,约9次/min(图2-10)。

第 期(31—32d):眼红褐色,腕末端变得尖细,胴体变大变圆;胴体部中间位置出现颜色较深的肝结构;卵黄囊收缩频率有所增加,约11次/min(图2-11)。

第 期(33—35d):眼变为黑色,出现微弱转动;两眼间有2—3个色素斑;腕变长,第一对腕出现单行吸盘;胴体变大变圆;外

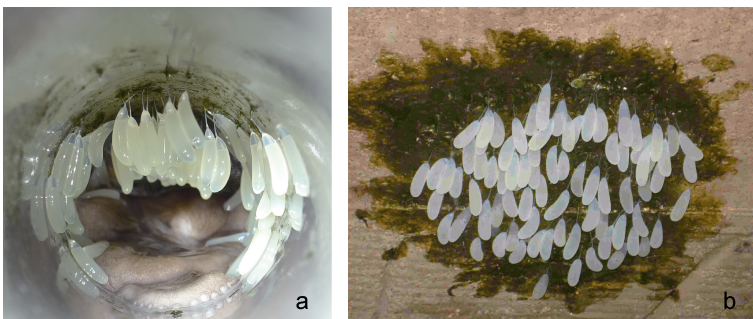


图1 长蛸在人工条件下产的卵

Fig.1 Spawning of *O. minor* under the artificial conditions

a. 采卵器内的卵和护卵长蛸; b. 产在水泥板上的卵



图 2 长蛸胚胎发育

Fig.2 Embryonic development of *O. minor*

卵黄囊有节律的收缩,一部分外卵黄由口进入胴体内,形成内卵黄。内卵黄位于胴体后方,光镜下呈淡黄色;胴背部出现多个黄色的色素细胞;外卵黄囊收缩约 4 次/min,收缩明显变慢,左右鳃心出现有规律地交互收缩,频率约 40 次/min;可以观察到胴体的收缩,鳃清晰可见(图 2-12)。

第 期(36—38d):眼为黑色,第一对腕背面出现 5—8 个色素斑,腕可自由活动;胴体腹部两侧各出现 2—3 个色素细胞;外卵黄囊有规律的收缩,约 4 次/min;左右鳃心有节律的交互跳动,频率 50 次/min(图 2-13)。

第 XIV 期(39—41d):眼仍为黑色;腕可以在卵内自由活动;墨囊位于内卵黄囊腹侧,开始生成墨汁;外卵黄囊有节律的收缩变慢,约 3—4 次/min;两侧的鳃心有规律的交互跳动,约 60 次/min(图 2-14)。

第 XV 期(42—45d):眼呈黑色;腕可以在卵子内自由活动,此时第一对腕的吸盘数约 25 个;胴体进

一步变大,肝上色素细胞数目进一步增大增多,在外部光源的照射下,色素斑出现大小变化;外卵黄囊收缩更慢,几乎观察不到;鳃心有规律的交互跳动,约 62 次/min(图 2-15)。

第 XVI 期(46—48d):眼呈金属光泽,内卵黄体积继续变大,外卵黄囊体积逐渐变小,外卵黄还剩下原来的 3/5;外卵黄囊不再收缩,鳃心有规律的交互跳动,约 59 次/min,胴体部后方出现 5—6 个大小不同的色素斑,每个腕上都分布有色素斑,第一对腕的吸盘数 28—30 个(图 2-16)。

第 XVII 期(49—51d):腕上出现两行皮下色素细胞;内卵黄继续变大,外卵黄进一步消耗,体积约为原来的 1/2;皮下色素细胞因环境变化而变化;胚胎在卵内活跃,左右鳃心同时跳动,频率约 64 次/min(图 2-17)。

第 XVIII 期(52—64d):内卵黄变大,外卵黄囊进一步缩小,体积为原来的 1/3;卵体积变大,体积比

刚产出的卵子约大 2/3, 可为第二次胚胎翻转提供空间; 胚胎活跃; 胴体表面星罗分布着细小的黄色色素斑; 鳃心跳动约 60 次/min, 第一对腕的吸盘数为 35—45 个(图 2-18)。

第 XIX 期(约 65d): 胚胎发生二次翻转, 由卵柄端翻转到对卵柄端, 胴体布满色素斑, 颜色会变化。外卵黄仅剩约 1/6, 卵重量和体积进一步增大, 心跳约 60 次/min(图 2-19)。

第 XX 期(66—89d): 胚胎翻转后, 剩余的外卵黄逐步消耗殆尽。胴体表面色素斑具大小变化, 大部分为细小色素斑。此时, 胴体会出现微弱且有节律地收缩, 8—14 次/min, 心跳约 58 次/min, 第一对腕的吸盘数 62—65 个(图 2-20)。外卵黄消耗完后, 大部分胚胎仍在卵内 6—15d。72d 后开始陆续破膜而出, 其过程 1—2s 内完成(图 2-21)。有少数孵化出的幼体留有外卵黄, 通常经 8—10h 吸收完毕。

伴随着胚胎的发育, 卵黄囊活动和鳃心的跳动都表现出一定的规律性(图 3)。初孵幼体体重 0.17—0.34g, 胴体长 0.85—1.15cm, 胴体宽 0.55—0.80cm。腕上的吸盘从第 4 个开始为两行, 第一对腕的吸盘数达 71—75 个。胴体内具内卵黄。刚孵化的幼体可自由活动, 外界有较强的刺激且没有其它遮掩物时极易喷墨, 随后体色变白, 活力明显降低。

2.3 胚胎翻转现象

长蛸在胚胎发育过程中存在翻转现象, 盘形胚囊出现在受精卵动物极卵孔处, 21—25℃条件下, 胚胎第一次翻转处于胚胎发育的 至 期, 大约在 21d, 从卵的动物极翻转到卵柄一侧, 所用时间为 2—3h。并非所有胚胎都发生翻转。据观察, 约 1/10 胚胎未发生翻转或翻转不完全, 这些卵仍然能够继续发育(图 4), 比如在第 期, 胚胎在卵动物极、中间、靠近植

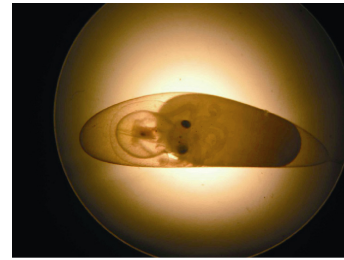


图 4 在第 期末翻转的卵

Fig.4 Unturned egg in stage

物极均可以发育生长。卵在管里面横放或倾斜时, 未发生翻转的比例会升高。翻转的动力可能是由于胚胎比重小于卵黄而向卵柄处翻转, 是被动发生的。

长蛸的第二次胚胎

翻转发生在 XIX 期, 这时胚胎的外形和成体基本没有区别, 第一对腕较长较粗, 胴体部色素斑能够发生颜色变化, 外卵黄还没有吸收完成, 剩余部分如绿豆大小。当外卵黄吸收完成后, 此时卵内空间变得更大, 幼体在卵内并非静止不动, 观察到多次翻转现象。翻转过程 2—3s 内完成。

3 讨论

3.1 胚胎发育

不同于乌贼类的体外受精(郑小东等, 2009; 吴常文等, 2010), 长蛸为体内受精, 卵为端卵黄, 不完全卵裂。环境因子如水温在胚胎发育中起到重要的作用。本文研究结果表明, 在温度 21—25℃时, 长蛸卵孵化天数为 72—89d, 而山本孝治(1942)指出在自然条件下长蛸孵化需要 60d。此外, 由于种类不同, 幼体孵化时间也存在差别。20.4—23.6℃条件下, 真蛸需要 25—35d(郑小东等, 2011); 23℃条件下, 短蛸需要 14—15d(张学舒, 2002); 23—24℃条件下, 蓝环蛸 blue-ringed *Octopus* 则需要 35d 时间(Overath *et al.*, 1974)。

除水温影响长蛸等蛸类的胚胎发育外, 卵径大小和产卵方式不仅影响胚胎发育, 而且影响幼体生活类型。大型卵蛸, 如长蛸、*Paroctopus conispadiceus* (Ito, 1983), 产卵方式是以游离状态固着在附着基壁上, 其幼体多为底栖型; 而小卵型蛸, 如真蛸(郑小东等, 2011), 初孵幼体具较长的浮游期。Boletzky(1977)提出, 幼体生活类型与卵长径、成体胴长有关, 以 10%—12% 为界限, 当卵长径与成体胴长的比例大于 12% 时, 幼体生活型多为底栖型, 小于 10% 时幼体为浮游型。

3.2 胚胎的多次翻转

头足类的胚胎发育研究中都发现有两次翻转现象, 如短蛸(王卫军等, 2010)、真蛸(滨部基次, 1983; 郑小东等, 2011)、

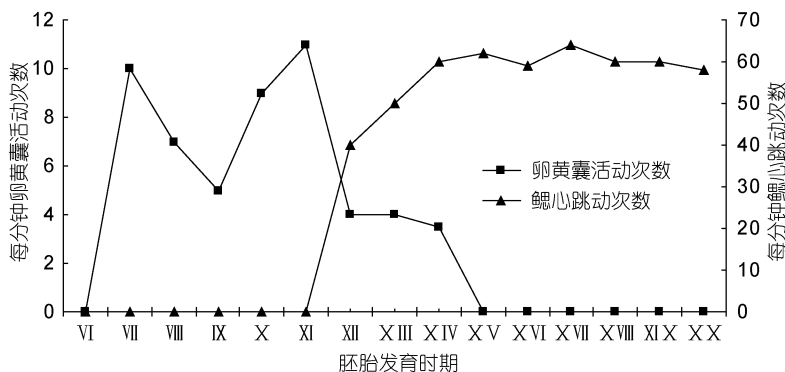


图 3 各发育时期卵黄囊活动和鳃心跳动次数

Fig.3 Number of heart beating and outer yolk sac activity at each development stage of *O. minor*

Octopus mimus (Warnke, 1999)、blue-ringed *Octopus* (Overath *et al*, 1974)、*Octopus aegina* (Ignatius *et al*, 2006)、*Octopus tetricus* (Joll, 1978)、*Eledone cirrosa* (Mangold *et al*, 1971)、*Paroctopus conispadiceus* (Ito, 1983)。器官形成的过程中, 胚胎在卵内发生了第一次翻转(Boletzky, 1971), 翻转后到达卵柄的一端, 减小了卵黄和卵膜对胚胎的挤压。同时, 约 1/10 长蛸卵未发生第一次翻转, 但并没有阻止其发育, *Octopus tetricus* (Joll, 1978)中也有类似报道。Ignatius 等(2006)认为第二次翻转为幼体破膜孵化提供了适宜位置。Boletzky(1971)根据真蛸胚胎发育, 指出并非所有胚胎都进行二次翻转, 有一部分可从卵柄端直接孵化, 而第二次翻转是非必须的。不过, 长蛸从卵柄对侧破膜而出, 胴体部后方的收缩运动起到主要作用, 且未观察到其幼体从卵柄端孵化, 因此第二次翻转为长蛸孵化提供了必要条件。

长蛸孵化前把内卵黄消耗完, 胚胎发育更趋成熟。破膜而出的幼体可主动摄食, 大大提高了长蛸的生存能力。虽然长蛸产卵量远低于其它蛸类, 如短蛸 300—400 粒(董正之, 1988), 真蛸 50 余万粒(Mangold, 1983), 但幼体的适应能力要高于浮游型幼体。长蛸胚胎的多次翻转可能与卵膜的破裂难易程度、寻找孵化时机有关。长蛸卵孵化时间越长(72—89d)以及经过多次翻转, 造成卵膜的通透性增强、韧性下降, 易破裂, 幼体更易破膜而出, 确保了较好的孵化质量和较高的孵化率。此类现象在蛸类中鲜有报道。

参 考 文 献

- 王卫军, 杨建敏, 周全利等, 2010. 短蛸繁殖行为及胚胎发育过程. 中国水产科学, 17(6): 1157—1162
- 许星鸿, 阎斌伦, 郑家声等, 2008. 长蛸生殖系统的形态学与组织学观察. 动物学杂志, 43(4): 77—84
- 孙宝超, 杨建敏, 孙国华等, 2010. 中国沿海长蛸(*Octopus variabilis*)自然群体线粒体 COI 基因遗传多样性研究. 海洋与湖沼, 41(2): 259—265
- 李士虎, 郑伟, 许星鸿等, 2008. 长蛸人工育苗技术. 水产养殖, 5: 15—16
- 吴常文, 董智勇, 迟长凤等, 2010. 曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)繁殖习性及其产卵场修复的研究. 海洋与湖沼, 41(1): 39—46
- 张学舒, 2002. 人工环境中短蛸的繁殖行为和胚胎发生. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 9(3): 220—224
- 郑小东, 刘兆胜, 赵娜等, 2011. 真蛸(*Octopus vulgaris*)胚胎发育及浮游期幼体生长研究. 海洋与湖沼, 42(2): 317—323
- 郑小东, 韩松, 林祥志等, 2009. 头足类繁殖行为学研究现状与展望. 中国水产科学, 16(3): 459—465
- 钱耀森, 郑小东, 王培亮等, 2010. 天鹅湖长蛸营养的分析及评价. 海洋科学, 34(12): 14—18
- 高强, 郑小东, 孔令锋等, 2009. 长蛸 *Octopus variabilis* 自然群体生化遗传学研究. 中国海洋大学学报, 39(6): 1193—1197
- 常抗美, 李焕, 吕振明等, 2010. 中国沿海 7 个长蛸(*Octopus variabilis*)群体 COI 基因的遗传变异研究. 海洋与湖沼, 41(3): 307—314
- 崔龙波, 赵华, 2000. 长蛸消化道的组织学与组织化学研究. 烟台大学学报, 13(4): 277—281
- 崔龙波, 赵华, 2001. 长蛸唾液腺和消化腺的组织学与组织化学研究. 海洋科学, 25(7): 38—41
- 董正之, 1988. 中国动物志 软体动物门 头足纲. 北京: 科学出版社, 174—176, 181—182
- 山本孝治, 1942. On the ecology of *Octopus variabilis typicus* (Sasaki), with special reference to its breeding habits. The Malacological Society of Japan, 9—20
- 滨部基次, 1983. 无脊椎动物の発生(上). 东京: 培风馆, 360—362
- 瀧 巖, 1944. タコに関する研究(2): 雌雄とその生殖器[in Japanese]. 貝類學雜誌, 13(5—8): 267—310
- Boletzky S V, 1971. Rotation and first reversion in *Octopus* embryo. Cellular and Molecular Life Sciences, 27: 558—560
- Boletzky S V, 1977. Post-hatching behavior and mode of life in cephalopods. Symposia of the Zoological Society of London, 38: 557—567
- Ignatius B, Srinivasan M, 2006. Embryonic development in *Octopus aegina* Gray, 1849. Current Science, 91(8): 1089—1092
- Ito H, 1983. Some observations on the embryonic development of *Paroctopus conispadiceus* (Mollusca: Cephalopoda). Bulletin of the Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory, 93—103
- Joll L M, 1978. Observations on the embryonic development of *Octopus tetricus* (Mollusca: Cephalopoda). Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 29: 19—30
- Mangold K, 1983. Food, feeding and growth in cephalopods. Memoirs of the National Museum of Victoria, 44: 81—89
- Mangold K, Boletzky S, Frosch D, 1971. Reproductive biology and embryonic development of *Eledone cirrosa* (Cephalopoda: Octopoda). Marine Biology, 8: 109—117
- Naef A, 1928. Die Cephalopoden (Embryologie). Fauna Flora Golf Neapel, 35: 1—357
- Overath H, Boletzky S V, 1974. Laboratory observations on spawning and embryonic development of a blue-ringed *Octopus*. Marine Biology, 27: 333—337
- Seol D W, Lee J W, Im S Y *et al*, 2007. Clove oil as an anaesthetic for common *Octopus* (*Octopus minor*). Aquaculture

- Research, 38: 45—49
- Warnke K, 1999. Observations on the embryonic development of *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda) from northern Chile. *The Veliger*, 42(3): 211—217
- Zuo Z R, Zheng X D, Yuan Y *et al*, 2011. Development and characterization of 12 polymorphic microsatellite loci in *Octopus minor* (Sasaki, 1920). *Conservation Genetics Resources*, 3(3): 489—491

STUDIES ON THE REPRODUCTIVE HABIT AND EMBRYONIC DEVELOPMENT OF *OCTOPUS MINOR* UNDER THE ARTIFICIAL CONDITIONS

QIAN Yao-Sen¹, ZHENG Xiao-Dong¹, LIU Chang¹, WANG Pei-Liang², LI Qi¹
(1. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao, 266003; 2. Mashan Group Co. Ltd., Weihai, 264319)

Abstract *Octopus minor* (Sasaki, 1920) is one of the most important economic cephalopods in China. Artificial reproduction was studied during the period of 2009—2010 in the Swan Lake of Rongcheng, Shandong Province. The results showed that egg length of *O. minor* was 13—20mm in long diameter and 4—6mm in short diameter. The number of spawned eggs ranged from 9 to 125. The females had the behavior of protecting eggs. The embryonic development lasted for 72—89 days before hatching under the conditions of the seawater temperature of 21—25°C and the salinity of 28—31. The process of embryonic development was divided into 20 stages by characteristic changes, such as cleavage, blastula formation, gastrula formation, organ rudiment formation as well as twice embryo reverses. The first reverse took place on Stage — in the Day 21, and embryos turned from animal pole to vegetal pole. The second one happened on Stage XIX in Day 65. And more than twice reverses were also observed. The mantle length and total length of hatching larvae were 8.5—11.5mm and 25—31mm, respectively. The larvae lived benthic directly.

Key words *Octopus minor*, Reproductive habit, Embryonic development