

文章编号: 1000-0615(2017)03-0366-08

DOI: 10.11964/jfc.20160510421

## 虎斑乌贼喷墨卵与正常卵的比较

王双健, 丁玉惠, 周爽男, 蒋霞敏\*, 李瑞利, 韩庆喜

(宁波大学海洋学院, 浙江宁波 315211)

**摘要:** 为了探明虎斑乌贼喷墨卵对孵化及胚胎发育的影响, 采用单因子实验研究了喷墨卵与正常卵的孵化率、培育周期、孵化周期、初孵幼体体质量, 并比较了剥膜喷墨卵、剥膜正常卵、喷墨卵、正常卵4种类型卵的幼体生长和存活率。结果显示, 虎斑乌贼喷墨卵和正常卵的孵化率无显著差异, 喷墨卵的孵化率为 $90.1\% \pm 1.5\%$ , 正常卵的孵化率为 $87.9\% \pm 0.7\%$ ; 两种卵的初孵幼体体质量也无显著差异, 喷墨卵的初孵幼体体质量为 $(0.18 \pm 0.01)$  g, 正常卵的初孵幼体体质量为 $(0.17 \pm 0.01)$  g; 两种卵的培育周期、孵化周期均无显著差异, 喷墨卵的培育周期为 $(34.67 \pm 0.89)$  d, 孵化周期为 $(14.33 \pm 0.44)$  d, 而正常卵的培育周期为 $(35.33 \pm 0.44)$  d, 孵化周期为 $(14.67 \pm 0.67)$  d。而剥膜喷墨卵、剥膜正常卵、喷墨卵、正常卵4种类型卵的幼体存活率差异显著, 剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的存活率明显小于喷墨卵和正常卵, 而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间的存活率无显著差异; 4种类型的幼体日均增长量和增重量差异显著, 剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的幼体日均增长量和增重量明显小于喷墨卵和正常卵, 而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间的幼体日均增长量和增重量无显著差异。

**关键词:** 虎斑乌贼; 喷墨卵; 剥膜卵; 孵化; 幼体生长

**中图分类号:** Q 132.1; S 968.9

**文献标志码:** A

虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)俗称花枝, 隶属于软体动物门(Mollusca), 头足纲(Cephalopoda), 乌贼目(Sepioidea), 乌贼科(Sepiidae), 乌贼属(*Sepia*), 主要分布在西北太平洋和北印度洋沿海<sup>[1]</sup>, 个体大(体质量达5 kg以上), 口味鲜美, 具有饵料转换率高、抗病力强、生长快等优点, 是一种极具养殖前景的经济头足类<sup>[2]</sup>。近年来引起国内外学者的高度关注, 国外报道有腕的再生<sup>[3]</sup>、唾液腺中的抗菌肽分离<sup>[4]</sup>、表皮明胶膜的制作与功能特性<sup>[5-9]</sup>等, 国内研究集中在繁殖行为<sup>[10]</sup>、胚胎发育<sup>[11]</sup>、生态因子<sup>[12-15]</sup>、毒理<sup>[16-17]</sup>、卵黄和组织营养成分分析<sup>[18-19]</sup>、人工育苗<sup>[20]</sup>和养殖技术<sup>[21-22]</sup>等。迄今, 未见有关膜内幼体喷墨现象的报道。

虎斑乌贼正常卵呈乳头状, 白色(图1-a),

但在孵化后期, 由于运输或水质条件突变等原因会引起膜内幼体在卵膜内喷墨, 使卵呈黑色(喷墨卵)(图1-b), 且发生率较高。在实际生产过程中, 虎斑乌贼不论是成体还是幼体, 如果出现喷墨, 该个体就会死亡, 如果在小水体范围内个别乌贼喷墨, 污染水体, 不彻底换水, 时间一长(超过数小时)就会引起乌贼大量死亡。而膜内幼体在卵膜内喷墨形成的喷墨卵却未见报道, 探究其胚胎和幼体能否正常孵化和发育, 对规模化育苗具有重要意义。为此, 在室内控制条件下, 通过单因子实验比较了喷墨卵与正常卵的孵化率、培育周期、孵化周期、初孵幼体大小等, 并对剥膜喷墨卵、剥膜正常卵、喷墨卵、正常卵的幼体生长状况和存活率进行比较, 以期规模化人工育苗提供理论依据。

收稿日期: 2016-05-31 修回日期: 2016-09-12

资助项目: 宁波市农业重大专项(2014C11001); 浙江省海洋与渔业项目(浙海渔计2013[82]号)

通信作者: 蒋霞敏, E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

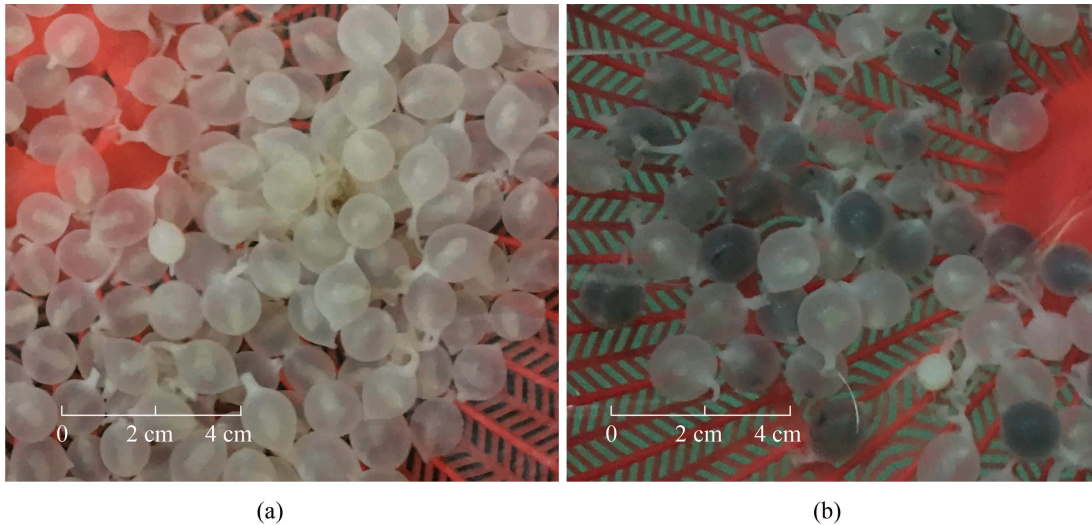


图1 虎斑乌贼正常卵(a)和喷墨卵(b)的形态

Fig. 1 Comparison of morphology between normal eggs (a) and inkjetting eggs (b) of *S. pharaonis*

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验所用的虎斑乌贼亲体于2015年3月捕自我国湛江海域(19°~20°N, 111°~112°E), 雌体胴长17.80~28.80 cm, 体质量0.52~2.17 kg; 雄体胴长27.90~36.10 cm, 体质量2.05~4.01 kg。在当地育苗场催熟并产卵, 卵长径(32.2±0.6) mm, 短径(15.3±0.6) mm, 卵重(3.82±0.02) g。产出的同一批次卵在当地育苗厂水泥池孵化, 孵化条件: 水温20~22 °C, 盐度30, pH 8.0, 溶解氧4 mg/L以上。每日换水1次, 换水量30%, 孵化10 d, 采用双层尼龙薄膜袋(90 cm×90 cm×70 cm)充氧运输, 每个袋中装过滤自然海水4 L, 装卵3 kg, 充氧打包, 海水与氧气的体积比约为3:1, 再装入泡沫箱(50 cm×50 cm×25 cm), 每个泡沫箱中放入一个冰瓶(500 mL), 封口, 经36 h汽车运输, 至浙江舟山水产研究所朱家尖基地, 运输过程中部分包装袋中会出现喷墨卵(黑色), 随机选取2袋作为实验材料。

### 1.2 实验方法

**喷墨卵与正常卵孵化比较实验** 将两种卵(喷墨卵与正常卵)分别放在蓝色的塑料筐(Φ42 cm, 高12 cm)中, 每筐放卵30枚, 各3平行。所有塑料筐均放在同一水泥池(5 m×5 m×1.5 m)中, 水泥池经漂白粉消毒, 冲洗干净。孵化用水为自然海水, 经沙滤、筛绢过滤, 水深90~

110 cm。孵化条件: 盐度24~26, 水温21~22 °C, 溶解氧4.05~8.80 mg/L, pH值8.0~8.2, 24 h不间断充氧, 充气头1个/m<sup>2</sup>。日换水1次, 换水量50%, 每天记录乌贼幼体孵化数量、水温、盐度, 测量初孵幼体胴长(cm)、体质量(g)。

**喷墨卵与正常卵胚胎培育实验** 通过人工操作将乌贼喷墨卵和正常卵最外层的三级卵膜剥离(剥膜喷墨卵、剥膜正常卵), 与喷墨卵、正常卵进行幼体生长和存活率比较实验。

分别将同一批剥膜卵(剥膜喷墨卵、剥膜正常卵)和未剥膜卵(喷墨卵、正常卵)孵化出的乌贼幼体放在蓝色塑料筐(Φ21 cm, 高12 cm)中, 各3平行, 塑料筐均放在同一水泥池(5 m×5 m×1.5 m)中, 水泥池经漂白粉消毒, 冲洗干净。培育用水为自然海水, 经沙滤、筛绢过滤, 水深65~70 cm, 培育条件: 盐度24~26, 温度23~25 °C, 溶解氧4.05~8.80 mg/L, pH值8.0~8.2, 每日投喂短额刺糠虾(*Acanthomysis brevirostis*)2次, 日投喂量为池内乌贼总体质量的5%~10%; 每天吸污、换水1次, 换水量50%, 24 h不间断充氧, 培养25 d。每天记录水温、盐度, 乌贼幼体死亡数及残饵量, 隔5天测量乌贼体质量和胴体长。

### 1.3 测量与计算

测定的指标主要包括孵化率、幼体成活率、培育周期、孵化周期、初孵幼体体质量、幼体的日均增长量、幼体的日均增重量。

$$\text{孵化率}(\%): H = \frac{A_2}{A_1} \times 100$$

$$\text{幼体成活率(\%): } SR = \frac{A_3}{A_2} \times 100$$

培育周期指实验组中有50%受精卵孵化出膜时所用的时间(d)。

孵化周期指实验组中受精卵从第1个卵孵化出膜至最后1个卵孵化出膜的时间间隔(d)。幼体

$$\text{日均增重量(g): } W_t = \frac{W_2 - W_1}{t}$$

$$\text{幼体日均增长量(cm): } ML_t = \frac{ML_2 - ML_1}{t}$$

式中： $A_1$ 为乌贼卵数， $A_2$ 为孵化出膜的乌贼幼体数， $A_3$ 为实验进行到 $t$ 时间或结束时乌贼幼体成活数， $W_1$ 为初孵乌贼的体质量， $W_2$ 为实验进行到 $t$ 时间或结束时乌贼的体质量， $ML_1$ 为初孵乌贼的胴体长， $ML_2$ 为实验进行到 $t$ 时间或结束时乌贼的胴体长， $t$ 为培养时间。

运用SPSS13.0对孵化率、幼体成活率、培育周期、孵化周期、初孵幼体体质量、幼体的日均增长量、幼体的日均增重量等进行独立样本的 $t$ 检验，可信度为95%，图表采用Excel 2003处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 喷墨卵与正常卵的孵化率、培养周期、孵化周期、初孵幼体的比较

虎斑乌贼喷墨卵与正常卵的孵化率无显著差异( $P>0.05$ )，喷墨卵的孵化率为 $90.1\% \pm 1.5\%$ ，正常卵的孵化率为 $87.9\% \pm 0.7\%$ (图2)。

在水温 $21 \sim 22^\circ\text{C}$ ，盐度 $24 \sim 26$ 的条件下，虎斑乌贼的喷墨卵与正常卵的培育周期和孵化周期均无显著差异( $P>0.05$ )，喷墨卵的培育周期为

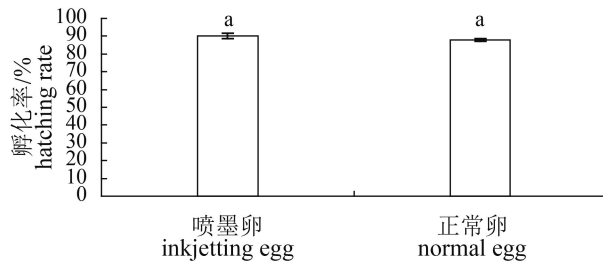


图2 虎斑乌贼喷墨卵和正常卵的孵化率

不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )，相同字母表示无显著差异( $P>0.05$ )，下同

Fig. 2 Comparison of hatching rate between inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis*

Different letters represent significant difference ( $P<0.05$ ), same letters represent no significant difference ( $P>0.05$ ), the same below

( $34.67 \pm 0.89$ ) d，孵化周期为( $14.33 \pm 0.44$ ) d，而正常卵的培育周期为( $35.33 \pm 0.44$ ) d，孵化周期为( $14.67 \pm 0.67$ ) d(图3)。

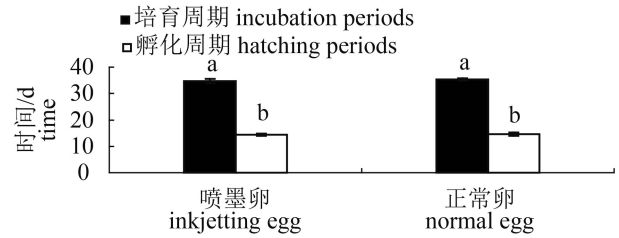


图3 虎斑乌贼喷墨卵和正常卵的培育周期和孵化周期

Fig. 3 Comparison of incubation periods and hatching periods of inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis*

虎斑乌贼喷墨卵与正常卵的初孵幼体体质量无显著差异( $P>0.05$ )，喷墨卵的初孵幼体体质量为( $0.18 \pm 0.01$ ) g，正常卵的初孵幼体体质量为( $0.17 \pm 0.01$ ) g(图4)。

### 2.2 喷墨卵与正常卵的胚胎存活率与生长比较

在整个实验期(0~25日龄)，4种类型卵的幼体存活率差异显著( $P<0.05$ )，剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的存活率明显小于喷墨卵和正常卵，而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间的存活率无显著差异( $P>0.05$ )。在10日龄时，4种类型卵所发育成的幼体淘汰较多，存活率明显降低。随后剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的存活率较正常卵和喷墨卵的存活率显著降低，但正常卵和喷墨卵随着日龄增加而基本不出现死亡，15日龄后保持稳定，25日龄时幼体成活率：正常卵( $94.2\% \pm 0.9\%$ ) $\geq$ 喷墨卵( $94\% \pm 1.2\%$ ) $>$ 剥膜正常卵( $71.3\% \pm 1.3\%$ ) $\geq$ 剥膜喷墨卵( $69.5\% \pm 0.6\%$ )

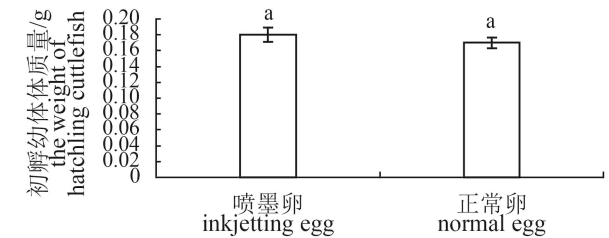


图4 虎斑乌贼喷墨卵和正常卵的初孵幼体体质量

Fig. 4 Comparison of the weight of hatchlings between inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis*

(图5)。

在整个实验期(0~25日龄), 4种类型的幼体日均增长量差异显著( $P < 0.05$ ), 剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的幼体日均增长量明显小于喷墨卵和正常卵, 而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间的幼体日均增长量无显著差异( $P > 0.05$ ), 各组在10日龄时幼体日均增长量最少, 以后随着日龄增加而逐渐加快, 25日龄时幼体日均增长量: 正常卵( $0.149 \pm 0.005$ ) cm > 喷墨卵( $0.144 \pm 0.007$ ) cm > 剥膜正常卵( $0.077 \pm 0.004$ ) cm > 剥膜喷墨卵( $0.076 \pm 0.003$ ) cm(图6)。

在整个实验期(0~25日龄), 4种类型的幼体日均增长量差异显著( $P < 0.05$ ), 剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的幼体日均增重量明显小于喷墨卵和正常卵, 而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间幼体日均增重量无显著差异( $P >$

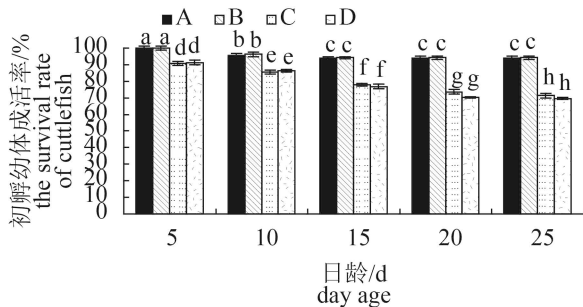


图5 4种类型卵的幼体成活率

A. 喷墨卵; B. 正常卵; C. 剥膜喷墨卵; D. 剥膜正常卵, 下同。不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ), 相同字母表示无显著差异( $P > 0.05$ )

Fig. 5 Comparison of survival rate of four kinds of *S. pharaonis*

A. inkjetting and unpeeled eggs; B. normal and unpeeled eggs; C. inkjetting and peeled eggs; D. normal and peeled eggs, the same below. Different letters represent significant difference ( $P < 0.05$ ), same letters represent no significant difference ( $P > 0.05$ )

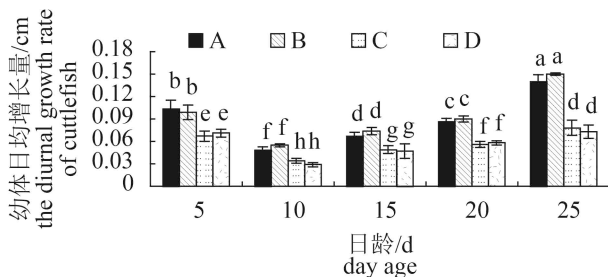


图6 4种类型卵的幼体日均增长量

Fig. 6 Comparison of the diurnal growth rate of four kinds of eggs

0.05), 各组在10日龄时幼体日均增重量最少, 以后随着日龄增加而逐渐加快, 25日龄时幼体日均增重量: 正常卵( $0.557 \pm 0.017$ ) g > 喷墨卵( $0.556 \pm 0.019$ ) g > 剥膜喷墨卵( $0.325 \pm 0.006$ ) g > 剥膜正常卵( $0.324 \pm 0.003$ ) g(图7)。

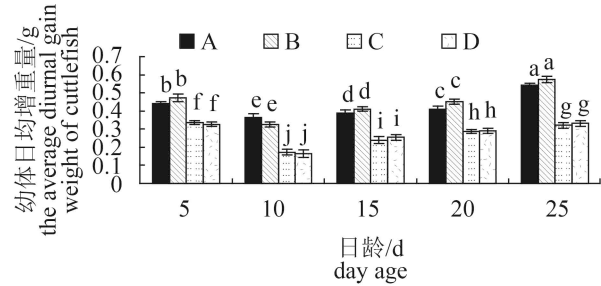


图7 4种类型卵的幼体日均增重量

Fig. 7 Comparison of the average diurnal gain weight of four kinds of eggs

### 3 讨论

#### 3.1 虎斑乌贼膜内喷墨对胚胎和幼体生长的影响

乌贼的墨囊内储存大量墨汁, 墨汁颗粒的主要成分是乌贼黑色素, 其主要有5, 6-二羟基吲哚和5, 6-二羟基吲哚-2-羧酸所组成的结构<sup>[23]</sup>。乌贼在自然条件下可以通过漏斗喷水, 利用喷出水的反作用力使身体向后推进, 遇到紧急情况就出现喷墨, 这样有助于它们捕食和快速逃脱猎食者。喷墨对乌贼来说具有麻痹对方、保护自身安全的功能。虎斑乌贼幼体一出膜就会喷墨, 特别是遇到不良的环境因子(温度或盐度剧变)或遇到惊吓会大量喷墨, 导致其成活率明显降低<sup>[12]</sup>。在实际生产中, 尤其是出苗(尼龙薄膜袋充气打包)或长途运输时, 常常会因操作不当, 出现部分乌贼喷墨, 如果打包袋内个别乌贼喷墨, 水体受到墨汁污染, 超过数小时不换水, 就会引起乌贼幼体大量死亡。但本研究表明, 胚胎期的膜内乌贼喷墨, 喷墨卵和正常卵在培育周期、孵化周期、孵化率方面均无显著差异( $P > 0.05$ ), 喷墨卵的培育周期为( $34.67 \pm 0.89$ ) d, 孵化周期为( $14.33 \pm 0.44$ ) d, 而正常卵的培育周期为( $35.33 \pm 0.44$ ) d, 孵化周期为( $14.67 \pm 0.67$ ) d, 喷墨卵的孵化率为 $90.1\% \pm 1.5\%$ , 正常卵孵化率为 $87.9\% \pm 0.7\%$ 。同样, 两种类型卵的幼体生长和发育也无显著差异, 喷墨卵的初孵幼体体质量为

(0.18±0.01) g, 正常卵的初孵幼体体质量为(0.17±0.01) g, 这表明膜内喷墨对乌贼胚胎和胚后发育都无影响。究其原因可能是乌贼的胚胎发育分为11个阶段: 受精卵期、卵裂期、囊胚期、原肠胚期、胚体形成期、器官形成期、红珠期、心跳出现期、色素出现期、内骨骼形成期、孵化期<sup>[24]</sup>, 本研究发现胚胎发育至内骨骼形成期的后期, 膜内乌贼幼体才会喷墨, 乌贼黑色素化学性质非常稳定, 在许多液体介质中不溶, 但可溶于碱性溶液, 而在酸性环境下又会产生黑色沉淀<sup>[23]</sup>, 乌贼膜内幼体在卵膜内喷墨, 产生的乌贼墨汁可能被胚胎的膜内液体所分解或吸收, 降低了墨汁对胚胎本身的伤害。在剥膜喷墨卵与正常卵中也发现, 喷墨卵中的虎斑乌贼幼体较正常卵更为成熟, 且个别胚胎已与卵黄脱离, 具有喷墨的能力, 而膜内墨汁中的黑色素均成不规则束条状附在胚胎膜内壁上或者混合在膜内液体中, 这也表明了乌贼黑色素可能与虎斑乌贼的膜内液体发生了反应, 但其反应机制还有待进一步研究。

### 3.2 卵膜剥离对幼体生长的影响

乌贼的卵由胚胎、卵黄、卵周液和卵膜构成, 而卵膜被胶质外膜所包围, 随胚胎发育, 胶质外膜逐渐变薄, 在即将孵化的时候几乎透明<sup>[25]</sup>。对于乌贼来说, 卵子从发育到排出体外共有三层膜覆盖: 第一层膜为卵子在卵巢中孵化时, 卵黄被滤泡细胞包围所形成的膜状结构, 即为卵膜; 第二层膜为亲体产卵时, 被卵管腺分泌的粘多糖包围所形成的膜; 第三层膜为当卵子释放到外套腔时, 被缠卵腺分泌物包围所形成的膜<sup>[1]</sup>, 第二层与第三层合称为胶质外膜。为了验证虎斑乌贼膜内喷墨是否会对胚胎和幼体生长产生影响, 实验采取剥离胚胎胶质外膜作为对照, 比较了剥膜喷墨卵、剥膜正常卵、喷墨卵和正常卵的幼体成活率和生长情况, 结果发现在整个实验期(0~25日龄), 4种类型卵的幼体成活率和生长均存在显著差异( $P<0.05$ ), 剥膜喷墨卵和剥膜正常卵无论是成活率, 还是生长都明显低于喷墨卵和正常卵, 而剥膜喷墨卵和剥膜正常卵之间、喷墨卵和正常卵之间无显著差异( $P>0.05$ )。这表明胶质外膜在胚胎的发育中起到了十分重要的作用。雷舒涵<sup>[25]</sup>发现金乌贼(*S. esculenta*)的胶质外膜会阻碍受精卵氧气的扩散、

氮氮的排放, 并延长胚胎的孵化时间。从本实验可以看出剥膜卵的幼体成活率、幼体日均增长量和日均增重量都比未剥膜卵组低很多, 这可能是因为胶质外膜在一定程度上可以保护胚胎免受外界环境的影响。胶质外膜富含丰富的氢硫基蛋白和羧基黏多糖<sup>[26]</sup>, 对于重金属Hg和Pb具有强烈的亲和力<sup>[27]</sup>, 可在胶质外膜中聚集Hg和Pb, 防止胚胎受到重金属毒性的伤害<sup>[28]</sup>。去除胶质外膜的两组会更容易受到重金属离子等的毒害, 从而导致成活率较低; 另一种可能是因为乌贼属直接发育, 膜内幼体主要靠吸收卵黄维持代谢和发育。如果胚胎还未发育完全, 人为地去除胶质外膜, 乌贼胚胎发育中的卵黄囊会由于没有保护而脱落, 而卵黄中含有幼体生长发育所需的营养物质, 特别是钙和PUFA<sup>[19]</sup>, 卵黄的脱落无法保证剥膜乌贼幼体的营养, 尽管水体中可以投喂桡足类、糠虾等开口饵料, 但对于剥膜幼体来说摄食外界食物还具挑战性, 所以导致剥膜喷墨卵和剥膜正常卵的幼体成活率和生长明显降低。

### 参考文献:

- [1] Nabhitabhata J, Nilaphat P. Life cycle of cultured pharaoh cuttlefish, *Sepia pharaonis* Ehrenberg[J]. Phuket Marine Biological Center Special Publication, 1999, 19: 25-40.
- [2] Minton J W, Walsh L S, Lee P G, et al. First multi-generation culture of the tropical cuttlefish *Sepia pharaonis* Ehrenberg, 1831[J]. Aquaculture International, 2001, 9(5): 379-392.
- [3] Tressler J, Maddox F, Goodwin E, et al. Arm regeneration in two species of cuttlefish *Sepia officinalis* and *Sepia pharaonis*[J]. Invertebrate Neuroscience, 2014, 14(1): 37-49.
- [4] Karthik R, Saravanan R, Ebeneza K K, et al. Isolation, purification, and characterization of avian antimicrobial glycopeptide from the posterior salivary gland of *Sepia pharaonis*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, 175(3): 1507-1518.
- [5] Hoque S, Benjakul S, Prodpran T. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(1): 66-73.
- [6] Aewsiri T, Benjakul S, Visessanguan W. Functional

- properties of gelatin from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide[J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 243-249.
- [ 7 ] Hoque S, Benjakul S, Prodpran T. Effects of hydrogen peroxide and Fenton's reagent on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin[J]. Food Chemistry, 2011, 128(4): 878-888.
- [ 8 ] Hoque S, Benjakul S, Prodpran T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(1): 82-90.
- [ 9 ] Hoque S, Benjakul S, Prodpran T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1085-1097.
- [10] 陈道海, 郑亚龙. 虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)繁殖行为谱分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(4): 931-936.
- Chen D H, Zheng Y L. The reproduction ethogram of cuttlefish *Sepia pharaonis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(4): 931-936(in Chinese).
- [11] 陈道海, 王雁, 梁汉青, 等. 虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)胚胎发育及孵化历期观察[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 394-400.
- Chen D H, Wang Y, Liang H Q, et al. Studies on the embryonic development and the hatching periods of *Sepia pharaonis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(2): 394-400(in Chinese).
- [12] 刘建勇, 许光林, 简润超, 等. 温度对虎斑乌贼受精卵孵化及幼体存活的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2010, 30(6): 87-90.
- Liu J Y, Xu G L, Jian R C, et al. Effects of water temperature on fertilized egg hatch and larvae survival of *Sepia pharaonis*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2010, 30(6): 87-90(in Chinese).
- [13] 黄建圣, 陈刚, 张健东, 等. 盐度对虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)受精卵孵化及幼体活力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2012, 32(1): 35-38.
- Huang J S, Chen G, Zhang J D, et al. Effects of salinity on fertilized egg hatch and survival activity index of the larvae of *Sepia pharaonis*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2012, 32(1): 35-38(in Chinese).
- [14] 乐可鑫, 蒋霞敏, 汪元, 等. 盐度对虎斑乌贼幼体生长与酶活的影响[J]. 热带海洋学报, 2015, 34(6): 64-72.
- Le K X, Jiang X M, Wang Y, et al. Salinity effects on growth and enzyme activity of juvenile *Sepia pharaonis*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2015, 34(6): 64-72(in Chinese).
- [15] 文菁, 曹观蓉, 李施颖, 等. 环境因子对虎斑乌贼幼体存活率及行为的影响[J]. 水产科学, 2011, 30(6): 321-324.
- Wen J, Cao G R, Li S Y, et al. Effects of environmental factors on survival and behavior in juvenile cuttlefish *Sepia pharaonis*[J]. Fisheries Science, 2011, 30(6): 321-324(in Chinese).
- [16] 谭永胜, 刘建勇, 徐彬晓. 高锰酸钾对虎斑乌贼胚胎和幼体的毒性研究[J]. 水产养殖, 2011, 32(1): 12-15.
- Tan Y S, Liu J Y, Xu B X. Acute toxicity tests of potassium permanganate on activity of embryos and larval of *Sepia pharaonis*[J]. Journal of Aquaculture, 2011, 32(1): 12-15(in Chinese).
- [17] 徐彬晓, 刘建勇, 谭永胜. 甲醛对虎斑乌贼受精卵和幼体的毒性试验[J]. 海洋湖沼通报, 2011(2): 86-90.
- Xu B X, Liu J Y, Tan Y S. Acute toxicity tests of formaldehyde on activity of embryos and larval of *Sepia pharaonis*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2011(2): 86-90(in Chinese).
- [18] 彭瑞冰, 乐可鑫, 蒋霞敏, 等. 虎斑乌贼受精卵卵黄营养成分分析[J]. 水产学报, 2015, 39(7): 1034-1042.
- Peng R B, Le K X, Jiang X M, et al. Analysis of nutritive composition of yolk of fertilized egg of *Sepia pharaonis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(7): 1034-1042(in Chinese).
- [19] 高晓兰, 蒋霞敏, 乐可鑫, 等. 野生虎斑乌贼不同组织营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3858-3867.
- Gao X L, Jiang X M, Le K X, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in different tissues of wild *Sepia pharaonis*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3858-3867(in Chinese).
- [20] 莫新. 虎斑乌贼苗孵化技术[J]. 科学养鱼, 2014(12): 42-43.
- Mo X. The hatching technology of *Sepia pharaonis*[J]. Scientific Fish Farming, 2014(12): 42-43(in Chinese).
- [21] 莫新. 虎斑乌贼养殖技术[J]. 科学养鱼, 2015(6): 42-43.
- Mo X. The Aquaculture technology of *Sepia pharaonis*[J]. Scientific Fish Farming, 2015(6): 42-43(in Chinese).

- [22] 蒋霞敏, 罗江, 彭瑞冰, 等. 水泥池养殖条件下虎斑乌贼的生长特性[J]. 宁波大学学报(理工版), 2014, 27(2): 1-6.  
Jiang X M, Luo J, Peng R B, *et al.* Growth characteristics of *Sepia pharaonis* under pond-culture[J]. Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition), 2014, 27(2): 1-6(in Chinese).
- [23] 杜铁平, 周培根. 乌贼墨研究概况[J]. 食品研究与开发, 2002, 23(6): 16-18.  
Du T P, Zhou P G. Overview of cuttlefish ink[J]. Food Research and Development, 2002, 23(6): 16-18(in Chinese).
- [24] 蒋霞敏, 唐峰, 罗江, 等. 拟目乌贼的胚胎发育[J]. 水产学报, 2013, 37(5): 711-718.  
Jiang X M, Tang F, Luo J, *et al.* The embryonic development of *Sepia lycidas*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(5): 711-718(in Chinese).
- [25] 雷舒涵. 金乌贼胚胎与幼体发育生物学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.  
Lei S H. Studies on embryonic and larval development of golden cuttlefish (*Sepia esculenta*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [26] Kimura S, Higuchi Y, Aminaka M, *et al.* Chemical properties of egg-mass mucin complexes of the ommastrephid squid *Todarodes pacificus*[J]. Journal of Molluscan Studies, 2004, 70(2): 117-121.
- [27] Lacoue-Labarthe T, Warnau M, Oberhansli F, *et al.* Differential bioaccumulation behaviour of Ag and Cd during the early development of the cuttlefish *Sepia officinalis*[J]. Aquatic Toxicology, 2008, 86(3): 437-446.
- [28] Viarengo A, Nott J A. Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Comparative Pharmacology, 1993, 104(3): 355-372.

## Comparison among inkjetting eggs and normal eggs of *Sepia pharaonis*

WANG Shuangjian, DING Yuhui, ZHOU Shuangnan, JIANG Xiamin\*,  
LI Ruili, HAN Qingxi

(Ocean Institute of Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** In order to explore the effects of inkjetting and stripping on hatching and larval growth of fertilized eggs of *Sepia pharaonis*, inkjetting and normal eggs hatching rate, incubation periods, hatching periods, and the weight of hatchling cuttlefish were compared by single factor experiment, and comparisons of survival rate and larval growth of four kinds of eggs (inkjetting and peeled eggs, normal and unpeeled eggs, inkjetting and unpeeled eggs, normal and peeled eggs) were also performed. The results showed: the hatching rates of inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis* showed no significant differences, and the hatching rates of inkjetting eggs and normal eggs was  $90.1\% \pm 1.5\%$  and  $87.9\% \pm 0.7\%$ , respectively. The statistical analyses of weights of hatchling cuttlefish between inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis* also showed no significant difference, and the mean weight of hatchling cuttlefish of inkjetting eggs and normal eggs were  $(0.18 \pm 0.01)$  g and  $(0.17 \pm 0.01)$  g, respectively. Both the incubation periods (d) and the hatching periods(d) between inkjetting eggs and normal eggs of *S. pharaonis* showed no significant difference, and the incubation periods (d) of inkjetting eggs and normal eggs were  $(34.67 \pm 0.89)$  d and  $(35.33 \pm 0.44)$  d, respectively, meanwhile the hatching periods(d) of inkjetting eggs and normal eggs were  $(14.33 \pm 0.44)$  d and  $(14.67 \pm 0.67)$  d, respectively. The survival rates of four kinds of eggs showed significant difference, and the survival rates of peeled inkjetting eggs and peeled normal eggs were obviously lower than those of the unpeeled inkjetting eggs and unpeeled normal eggs. However, the survival rates of cuttlefish between peeled inkjetting eggs and peeled normal eggs, unpeeled inkjetting eggs and unpeeled normal eggs all showed no significant difference. The diurnal growth rates of cuttlefish and the average diurnal gain weight of cuttlefish among four kinds of eggs showed significant difference. The diurnal growth rates of cuttlefish and the average diurnal gain weight of cuttlefish of peeled inkjetting eggs and peeled normal eggs were obviously lower than those of unpeeled inkjetting eggs and unpeeled normal eggs. But the diurnal growth rates of cuttlefish and the average diurnal gain weight of cuttlefish between peeled inkjetting eggs and peeled normal eggs, and between unpeeled inkjetting eggs and unpeeled normal eggs showed no significant difference.

**Key words:** *Sepia pharaonis*; inkjetting eggs; peeled eggs; hatching; larval growth

**Corresponding author:** JIANG Xiamin. E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

**Funding projects:** Major Agricultural Projects in Ningbo (2014C11001); Marine and Fishery Projects in Zhejiang Province (Zhejiang Ocean Fishery 2013 Number [82])