

## 糙海参胚胎和幼体发育的形态观察

严俊贤, 王世锋, 周永灿, 朱彦博, 冯永勤\*

(海南大学海洋学院, 热带生物资源教育部重点实验室, 海南 海口 570228)

**摘要:** 为提高糙海参育苗技术, 研究描述了糙海参从受精卵发育到稚参的形态变化, 在显微镜下测定了受精卵、胚胎和幼体的大小, 确定了糙海参胚胎发育的过程。结果表明, 通过利用阴干、流水刺激法对成熟亲参进行人工催产, 得到大量的受精卵, 其受精率为90%以上。糙海参胚胎和幼体发育可分为受精卵、卵裂期、囊胚期、旋转囊胚期、原肠期、初耳状幼体、中耳状幼体、大耳状幼体、樽形幼体和稚参等阶段; 在平均水温 29 °C, 平均盐度 34 条件下, 糙海参受精卵经 3 h 发育形成囊胚, 4 h 进入旋转囊胚期, 5 h 进入原肠期, 19 h 完成胚胎发育变态为耳状幼体; 并经过 7 d 的生长与发育进入樽形幼体; 第 15 天变态为稚参。观察发现, 多精入卵现象则会导致胚胎发育不正常, 最终使胚胎发育停止并死亡。在糙海参幼体发育过程中, 大耳状幼体期幼虫臂的大小及其球状体的形成均可作为判断其幼体发育健康状况的重要指标: 幼虫臂越大, 球状体出现率越高, 其幼虫的变态率和成活率也越高。对比发现, 位于糙海参尾部的突出结构——尾突, 为仿刺参和新西兰刺参所没有, 这一结构差异同时导致了其骨片位置也不同; 并且, 糙海参胚胎和幼体与其他种类的海参在发育时间上存在一定差异。

**关键词:** 糙海参; 胚胎; 幼体; 发育

**中图分类号:** Q 346; S 917.4

**文献标志码:** A

海参为我国海产八珍之一, 是一类高蛋白、低脂肪、低胆固醇的健康食品, 其微量元素均衡, 具有抗癌、延缓衰老、提高机体免疫力和降低中老年人血液黏稠度等功效<sup>[1]</sup>。由于海参具有较好的保健功效, 市场供不应求, 海参养殖业方兴未艾。目前, 我国海参养殖主要集中在北方, 养殖品种主要为刺参, 即仿刺参(*Apostichopus japonicus*)。南方海域因水温较高, 不适合刺参养殖, 因此, 有必要开发适合我国南方养殖的热带或亚热带海参品种, 以满足市场需要。

我国南海有丰富的海参资源, 糙海参(*Holothuria scabra*)是其中最常见种类之一。糙海参又名沙参, 属棘皮动物门(Echinodermata), 海参纲(Holothuroidea), 枝手亚纲(Dendrochirotea), 楯手

目(Aspidochirotea), 海参科(Holothuriidae), 海参属(*Holothuria*)的种类<sup>[2]</sup>, 具有很高的经济价值。然而, 由于过度捕捞, 导致其自然资源日益减少, 已无法满足市场需求。目前, 国内外有关糙海参的研究主要集中在其生物学方面, 如: 姚雪梅等<sup>[3-4]</sup>研究了不同水温和水质因子对糙海参摄食和生长的影响以及不同 pH 对糙海参消化酶活性的影响; Justin 等<sup>[5]</sup>研究了糙海参种群的遗传结构; Steven<sup>[6]</sup>和 Annie 等<sup>[7]</sup>分别研究了糙海参的活动行为等。为有效保护和利用糙海参资源, 本实验首次对糙海参胚胎和幼体发育进行了研究, 为其全人工繁育奠定基础。

收稿日期: 2011-08-10

修回日期: 2012-03-19

资助项目: 海南省重点科技计划项目(ZDXM20100015); 海洋公益性行业科研专项(201205025)

通讯作者: 冯永勤, E-mail: fengyqin@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 亲参和受精卵来源

糙海参亲参为 2010 年 6 月下旬从海南省陵水县周边海域采捕的天然个体, 体长 10~18 cm, 体质量 80~250 g。亲参采回后放养于规格为 8 m×3 m×1.2 m(长×宽×高)的水泥池中, 水深为 1.0 m, 养殖池上方架设黑色遮阳网, 池水水温 26~32 °C(平均 29 °C)。每天投喂刺参亲参培育饲料, 经过营养强化培育并检查确认亲参性腺成熟后, 通过阴干加流水刺激法进行人工催产。当亲参排放精子和卵子时, 立即用胶头滴管于其生殖孔处分别吸取部分精子和卵子, 置于 20 L 塑料桶中受精, 受精后用过滤海水连续洗受精卵 3 次, 用于观察其胚胎发育过程。其余精子和卵子直接排放到育苗池(规格与亲参培育池相同)中受精。在亲参开始排放精卵后, 要注意观察并跟踪了解育苗池中精子和卵子的密度, 当精卵排放达到所需密度后, 先将亲参从育苗池中取出, 并在 0.5~1 h 内洗卵, 洗卵时先从表层排出 70%左右富含精子的池水, 再添加过滤海水至正常水位, 静置 50 min 左右以使受精卵充分沉底后, 再重复洗卵 2 次。受精卵在育苗池中进行培育。

### 1.2 胚胎发育观察

卵裂阶段, 每隔 5 分钟取样一次, 每次取样 2 份, 每份样含受精卵 20 个以上, 其中一份样置于凹玻片上用显微镜连续观察, 另一份样用 10%甲醛溶液固定。囊胚期至原肠期阶段每隔 20 分钟取样一次, 幼体阶段每天取样一次, 囊胚期至原肠期以及幼体阶段的取样方法与处理方法与卵裂阶段相同。在光学显微镜下用目微尺分别测量各阶段胚胎的大小, 每个阶段测量 20 个; 用尼康数码显微镜拍照记录各阶段的形态。

### 1.3 幼体培养与生长发育观察

小耳幼体放养密度为 50 个/L, 微充气微流水培育, 以小球藻(*Chlorella* sp.)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)和牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)为饵料, 每天 8:00 和 18:00 各投饵 1 次, 投饵量为 2 000/L。当 30%以上幼体变态成樽形幼体时, 投放已附着底栖硅藻的塑料薄膜作附着基。在幼体培育阶段, 每天 8:00, 16:00 和 20:00 分别从幼体培育池中取样 1 次, 观察幼体发育情况, 特别注意观察其活动情况、病变情况以及水生动物等对海参幼体的影响。在光学显微镜下用目微尺分别测量各阶段幼体的大小, 每个阶段测量 20 个; 用尼康数

码显微镜拍照记录各阶段的形态。

## 2 结果

### 2.1 糙海参人工催产与受精

亲参经过 30 d 的营养强化培育, 经检查其性腺发育成熟, 其中, 成熟的雄性性腺为饱满的乳白色管状结构, 经镜检精子活力好; 成熟的雌性性腺为饱满的黄色管状结构, 经镜检其卵子饱满且色泽均匀, 卵泡互相挤压成不规则形状。确定性腺成熟后, 于 2010 年 7 月 30 日 18:00 开始进行人工催产, 先将亲海参阴干处理 45 min, 再流水刺激 1 h, 至次日凌晨 1:00 亲参开始排精和产卵, 排放在育苗池中的精子和卵子在水中自然受精, 经统计受精率达 90%以上; 镜检还发现, 个别受精卵发生多精入卵现象, 即受精卵经洗卵后表面仍附着大量精子, 出现该现象的受精卵最终将停止发育并死亡。糙海参胚胎和幼体发育过程见表 1。

### 2.2 胚胎发育

**生殖细胞** 糙海参成熟卵细胞的卵径为 150~182 μm(图版 I -A), 其表面有一层卵膜, 紧贴卵细胞。卵细胞内的卵黄含量较少, 均匀分布于细胞质内。糙海参成熟精子的头部呈圆形或椭圆形, 在光学显微镜下难以清晰分辨其尾部。

**受精卵** 糙海参卵细胞受精后约 5 min, 开始出现卵膜举起, 此时在卵细胞和卵膜之间形成空隙, 卵膜形状不规则(图版 I -B)。受精后经过 10~15 min, 受精卵排出第一极体(图版 I -C); 受精后 12~18 min, 受精卵排出第二极体(图版 I -D)。

**卵裂期** 受精卵经过 30~45 min 的发育, 开始进入卵裂期, 第一次卵裂为横裂, 卵细胞中央凹陷, 将受精卵均分为两个等大的细胞(图版 I -E); 第一次卵裂后 15~30 min 再进行第二次卵裂, 此次卵裂为纵裂, 受精卵经第二次卵裂后形成 4 个等大的细胞(图版 I -F)。此后每隔 20 分钟左右, 胚胎发生一次细胞分裂, 细胞数目呈指数增长, 同时, 细胞经分裂后变得越来越小。受精卵约经 3 h 后发育至囊胚期(图版 I -G~M)。

**囊胚期** 在整个囊胚期, 胚胎的大小没有明显变化, 保持在 140~175 μm。对单个胚胎连续观察表明, 囊胚期的体积比受精卵还稍有缩小, 颜色变淡, 透明度增大。显微观察表明, 囊胚为一个中空球状体, 其外周由一层较薄的细胞层构成, 颜

色较深一端为植物极, 与植物极相对的另一端为动物极。随着囊胚期的发育, 其细胞数目不断增多, 分裂速度加快, 细胞随之进一步变小, 到后期几乎

看不到细胞间隔, 囊胚成一整体(图版 I -M)。

**旋转囊胚期** 受精卵经 4 h 发育进入旋转胚

表 1 糙海参胚胎和幼体发育过程(水温: 26~32 °C)

Tab. 1 The process of embryonic and larval development of *H. scabra*

时间 time	发育阶段 developmental stage	体高范围/ $\mu\text{m}$ body depth	体高(mean $\pm$ SD)/ $\mu\text{m}$ body depth
00: 00	受精卵 oosperm	150~182	172 $\pm$ 8
00: 10~00: 15	第一极体排出 the first polar body exclusion	150~182	172 $\pm$ 8
00: 12~00: 18	第二极体排出 the second polar body exclusion	150~182	172 $\pm$ 8
00: 30~00: 45	2 细胞期 2-cell	142~180	173 $\pm$ 10
00: 45~01: 08	4 细胞期 4-cell	140~178	174 $\pm$ 12
01: 08~01: 22	8 细胞期 8-cell	130~178	174 $\pm$ 15
01: 22~01: 40	16 细胞期 16-cell	120~180	175 $\pm$ 9
01: 40~01: 55	32 细胞期 32-cell	150~182	176 $\pm$ 6
01: 55~02: 22	64 细胞期 64-cell	170~190	182 $\pm$ 11
02: 22~02: 40	128 细胞期 128-cell	162~183	175 $\pm$ 13
02: 40~03: 10	256 细胞期 256-cell	155~175	169 $\pm$ 8
03: 10~03: 33	囊胚期 blastula	140~175	158 $\pm$ 7
04: 00~05: 00	旋转囊胚期 rotary blastula	162~200	177 $\pm$ 7
05: 00~08: 30	原肠初期 early gastrula	175~200	186 $\pm$ 31
08: 30~15: 00	原肠期 gastrula	205~235	220 $\pm$ 15
15: 00~19: 00	原肠后期 late gastrula	250~385	320 $\pm$ 25
19: 00~34: 00	初耳状幼体 early auricularia	350~420	382 $\pm$ 32
2~4 d	中耳状幼体 mid auricularia	400~780	588 $\pm$ 30
5~9 d	大耳状幼体 late auricularia	690~1120	957 $\pm$ 69
7~10 d	樽形幼体初期 early doliolaria	550~750	680 $\pm$ 27
8~12 d	樽形幼体 doliolaria	230~550	402 $\pm$ 19
12~15 d	五触手幼体 pentactula	400	400 $\pm$ 12
15 d	稚参 juvenile	> 400	> 400

期, 胚胎在其表面纤毛的摆动下于卵膜内旋转, 转速约为 25 r/min。囊胚经过旋转进行脱膜, 脱膜后囊胚暴露于水中转动(图版 I-N), 运动能力逐渐增强。

**原肠期** 受精卵经 5 h 发育进入原肠初期, 此时胚胎体壁明显加厚, 尤以植物极一端加厚明显, 囊胚呈椭圆形(图版 I-O)。植物极端先变平, 此后再内陷, 形成原肠原基, 随着内陷不断加深, 在胚胎内呈团块状, 并进一步发育成弥散的树状结构, 生成间质细胞(图版 I-P~Q)。原肠生长到约体长的一半后逐渐弯向腹面形成食道, 与中部的腹面胚孔相连通形成口, 而胚孔则形成肛门。原肠细胞继

续增殖, 一部分向反口面的正中中线延长成管状形成孔管, 在背部开口形成水孔<sup>[8]</sup>(图版 I-B)。未弯曲部分则形成胃和肠。进入原肠后期, 消化道尚未完全分化, 其各部分在形态上的区分不明显, 此时从侧面观察幼体的形态, 可见中央下凹, 前部隆起, 发育成耳状, 由于间质细胞的增加使其体色加深(图版 I-Q)。此前遍布其体表的纤毛已大部分消失, 剩下残留的纤毛在体侧隆起的脊上连成纤毛环。随着原肠期发育, 其体高显著增加, 从初期的 175  $\mu\text{m}$  生长至后期的约 350  $\mu\text{m}$ , 增加了一倍。

### 2.3 幼体发育

**初耳状幼体** 受精卵经 19 h 发育形成初耳

状幼体, 此时幼体的消化道已基本形成, 胃部逐渐膨大呈椭圆形, 食道壁较厚, 收缩时有横皱褶纹。前端和后端的纤毛带从腹面向相反方向延伸弯曲, 相互接近, 分别形成口前环和口后环, 且口前环比口后环发达, 幼体腹面观呈 H 形。幼体依靠纤毛摆动, 在水中缓慢旋转游动。此时幼虫开始依靠口前环的纤毛摆动摄食, 因此在人工繁育时需要在此阶段开始投喂合适的开口饵料。纤毛带线条圆滑, 口前环和口后环分别出现了口前臂和口后臂, 而其它幼虫臂尚未形成。幼体中线上的末端向后突出, 渐远离肛门, 其顶部颜色加深, 开始形成骨片(图版 II-A)。

初耳状幼体后期的体高达到 420  $\mu\text{m}$ , 在后端的顶部形成了石灰质骨片的雏形。一部分体腔囊前移至胃部的左侧, 形成水体腔。胃部和口变大, 食量也增大, 通过咽部和食道的收缩运动进食(图版 II-A)。

**中耳状幼体** 受精卵经 35 h 发育进入中耳状幼体期。此期幼体发育较快, 形态和内部器官均有较大变化。

进入中耳状幼体期后, 幼体口前环和口后环的纤毛带不断扩大, 外形也越来越清晰, 并且, 体侧脊上的纤毛带也开始发生弯曲和突起, 后侧臂、间背臂已清晰可见。后端的石灰质骨片也开始成形, 呈圆形或称车轮状<sup>[8]</sup>。随着口的增大, 咽部和口之间的连接处呈分叉状。胃部增大, 摄食能力增加(图版 II-C)。在幼虫培育过程中, 经常发现有些个体在此期出现烂胃病, 患病个体的胃部呈棒状, 胃壁增厚, 摄食下降, 并容易导致死亡, 在人工育苗时需特别注意防范。

中耳状幼体经 2 d 左右发育, 体高增加到 400~780  $\mu\text{m}$ , 比小耳状幼体高近一倍。体侧脊上的纤毛带发生弯曲和突出, 后背臂和前背臂已形成, 此时, 6 对臂已清晰可辨, 其中, 后侧臂和间背臂较为发达, 且比其他各臂尖。水体腔增大, 移至并紧贴于胃和食道连接处的左侧, 此后水体腔位置基本不再移动, 定位在此处发育。在中耳状幼体阶段, 石灰质骨片的突出不断向后端伸长, 可弯曲, 该结构目前尚未命名, 为此, 根据其从幼体尾部的末端突出成一短尾巴状的特征, 称之为“尾突”(图版 II-C)。

**大耳状幼体** 受精卵经 5 d 发育进入大耳状

幼体阶段, 其胃部的左右两侧分别出现长条形的左体腔和右体腔, 与胃的方向平行。间背臂和后背臂之间的纤毛带出现了较明显的弯曲。水体腔开始向外发生弯曲突起, 形成初级口触手原基。后侧臂和间背臂突出的尖端颜色明显加深, 率先出现球状体(图版 II-D)。

6 日龄幼体后背臂变尖, 除口后臂外, 各臂的尖端均出现球状体。口和胃部的大小达到幼体期的峰值, 特别是胃部非常膨大, 呈卵圆形, 将左右体腔挤压得不明显, 胃内的食物不断转动。在水体腔上, 向外长出 5 个小囊, 为辐水管原基。至 7 日龄时, 幼体开始收缩, 胃部缩小, 幼虫臂末端由尖变圆并缩短。大耳状幼体后期的体高可达 1000  $\mu\text{m}$  以上(图版 II-E)。

**樽形幼体** 8 日龄幼体开始进入樽形幼体初期, 口前臂和口后臂不明显, 纤毛大部分剥落; 其他幼虫臂缩小, 轮廓不清晰, 其纤毛带因身体收缩而呈横向生长, 相互靠近, 形成 4 个横环纤毛带。初级口触手显著增大变长, 体高较大耳状幼体后期大幅缩小, 只有约 600  $\mu\text{m}$ , 缩小近 1 倍。其消化道也大幅收缩, 与辐水管和初级口触手团缩于体腔内, 辐水管弯曲于后端(图版 II-F)。

9~10 日龄樽形幼体的球状体明显增大, 口后臂基本消失, 但其他幼虫臂可根据球状体的位置清晰分辨。口前臂位于幼体前端的两侧, 其外形较为圆润, 随着生长而逐渐收缩。此后, 初级口触手进一步发育, 在体内蠕动时使其身体突出变形, 但并不伸出体外, 幼体依靠纤毛摆动浮游于水体中上层(图版 II-G)。

**五触手幼体** 11 日龄幼体称为五触手幼体, 幼体体高进一步缩小, 仅有约 400  $\mu\text{m}$ , 体色加深, 触手可伸出体外, 原口前臂上纤毛带已连成纤毛环, 纤毛环共有 5 个, 每个纤毛环上的纤毛粗且尖, 清晰可见, 球状体消失(图版 II-H)。

12~13 日龄幼体的触手已全部伸出体外, 可自由运动, 同时, 第一管足从后端长出。纤毛脱落, 纤毛环消失, 幼体下沉到水体底部, 依靠第一管足和触手在池底爬行(图版 II-I)。此期糙海参幼体开始摄食底栖硅藻, 生长加快, 身体不断增大。幼体的外表较为平滑, 无疣突; 骨片开始形成, 数量增多, 遍布全身(图版 II-J)。

**稚参** 14 日龄开始进入稚参期, 此时身体变长并布满肉质疣突, 管足增多, 管足与触手的长度增加, 疣足开始生长; 骨片不断增多。由于其运动能力增强和胃容量增大, 摄食量进一步增加, 生长迅速(图版 II-K), 14 日龄稚参培育至 4-6 mm 稚参约需 16 d。

### 3 讨论

在糙海参卵细胞受精过程中, 由于卵细胞可释放某些物质来促进精子顶体反应的发生, 导致覆盖在卵子表面的多个精子很可能会同时穿过卵膜进入卵子, 出现多精入卵现象。已有研究表明, 多精入卵可致使胚胎停止发育, 或导致胚胎出现非整倍体而产生胚胎早期死亡<sup>[9]</sup>。Niwa 等<sup>[10]</sup> 还认为, 由于未成熟的卵细胞的各方面功能发育尚不完善, 因此比成熟卵细胞更容易发生多精入卵现象。多个精子同时进入卵子后会扰乱受精卵的发育, 多出部分的染色体与中心粒被带入卵细胞后, 染色体在第一次卵裂时被随机分配而导致胚胎发育不正常<sup>[11]</sup>。Morgan<sup>[12]</sup>对新西兰刺参(*Australostichopus mollis*)的胚胎发育研究表明, 受精时精子和卵子的比例对其后续的胚胎发育和幼体发育具有直接影响, 精子过少会使部分卵子不能受精, 精子过多则会出现多精入卵现象, 导致胚胎发育不正常甚至停止发育并死亡。本文对糙海参的研究结果与 Morgan<sup>[12]</sup>对新西兰刺参的研究结果相似。因此, 为了提高糙海参的受精率和降低糙海参胚胎和幼体不正常发育的机率, 在糙海参人工催产和受精时, 当雄性亲参排放精子达到一定数量后, 应及时移出部分雄性亲参; 待雌性亲参排放卵子结束后, 应尽快移出全部亲参并及时洗卵, 以避免育苗池中精子密度过高而导致受精卵停止发育和胚胎发育不正常。

在海参的幼体发育中, 大耳状幼体期能否出现球状体可作为判断其是否顺利完成变态和幼体能否健康生长的重要标志之一, 而球状体的出现与饵料的投喂情况等相关。Dautov<sup>[13]</sup>认为, 海参在大耳状幼体期不出现球状体会导致某些结构不能形成, 从而不利于变态和附着; Ramofafia 等<sup>[14]</sup>对白底辐肛参(*Actinopyga mauritiana*)幼体发育研究表明, 良好的饵料投喂和养殖管理有利于球状体

的形成; Morgan<sup>[15]</sup>对新西兰刺参的研究表明, 饵料投料过多不利于球状体的形成, 并直接影响幼虫变态。本实验对糙海参幼体发育研究结果与 Dautov<sup>[13]</sup>和 Ramofafia 等<sup>[14]</sup>的观点一致, 糙海参的球状体从大耳状幼体出现, 直到樽形幼体消失, 在糙海参幼体培育过程中, 投喂适量的鲜活饵料和改善育苗管理有助于提高其大耳状幼体期球状体的出现率, 而该期球状体的出现率越高, 其变态率和幼体成活率也越高。

糙海参大耳状幼体身体末端两侧有向外突起的后侧臂, 在后侧臂前方还有一对突起的后背臂, 在后背臂与间背臂之间还有一个较小的弯曲突起, 该结果与廖玉麟<sup>[8]</sup>对海参大耳状幼体后侧臂和后背臂的位置描述一致, 但与刺参相关结构的位置有明显区别: 刺参的后侧臂位于相对于糙海参后背臂的位置上; 而其后背臂则位于相对于糙海参的后侧臂与间背臂之间的小弯曲突起的位置上<sup>[16]</sup>。本文对糙海参幼体发育的观察结果还表明, 幼虫臂的发育与球状体的形成一样, 也可作评判其耳状幼体发育健康状况的标志: 幼虫臂和小弯曲突起的轮廓清晰则表明幼体发育良好, 其幼体变态率和成活率明显提高, 该结果与 Morgan<sup>[12]</sup>对新西兰刺参幼体发育的研究结果一致, 在新西兰刺参育苗中, 大耳状幼体的幼虫臂越大, 其幼体变态率也越高。

糙海参从小耳状幼体开始在幼体后端中线向后长出一个较大的突起物, 该结构到中耳状幼体已非常清晰, 但目前该结构尚未命名, 本研究根据其形态特点将其称为“尾突”(图版 II-A)。花刺参(*Stichopus variegates*)、新西兰刺参<sup>[12]</sup>和仿刺参<sup>[16]</sup>等刺参科种类, 则在其幼体发育中未见“尾突”或类似“尾突”的结构; 因此, 海参幼体“尾突”的有无可能是海参科与刺参科幼体形态特征差异的表现, 有可能可作为这两科海参幼体阶段的鉴别特征。此外, 不同海参种类产生幼体骨片的位置也存在差异, 其中, 仿刺参幼体的骨片均出现在后侧臂末端上, 呈块状<sup>[16]</sup>; 而糙海参幼体骨片则位于“尾突”的末端, 为圆形。

本研究对糙海参胚胎和幼体发育过程的研究结果还表明, 糙海参的胚胎发育时间要明显短于刺参, 其中, 糙海参在平均水温为 29 °C 时的卵裂

间隔时间约为 20 min, 极体排放只需约 18 min, 胚胎发育时间为 19 h; 而刺参在 20~21 °C 时的卵裂间隔约为 40 min, 极体排放约需 40~50 min, 胚胎发育时间为 32 h<sup>[16]</sup>, 前者各阶段发育所需时间约为后者的一半, 这种发育时间上的差异很可能与胚胎和幼体发育时的温度有关。不过, 挪威红参 (*Stichopus tremulus*) 在 7 °C 时其极体排放时间只有 9~15 min<sup>[17]</sup>, 比糙海参和刺参的极体排放时间均短, 因此, 胚胎发育时间的差异除与发育温度有关外, 还与物种的不同有关。

#### 参考文献:

- [1] 樊绘曾. 海参: 海中人参——关于海参及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(4): 37-44.
- [2] 闫冰. 糙海参生物活性成分研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2005.
- [3] 姚雪梅, 王红勇, 邢少雷, 等. 不同水温 and 水质理化因子对糙海参摄食、生长影响研究[J]. 水产科学, 2007, 26(5): 292-295.
- [4] 姚雪梅, 王珺, 贝荣丙, 等. 不同 pH 对糙海参消化酶活性的影响[J]. 海南大学学报, 2006, 24(4): 389-394.
- [5] Justin J S, Sven U, Jean-Francois H, et al. Genetic population structure in a commercial marine invertebrate with long-lived lecithotrophic larvae: *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea) [J]. Marine Biology, 2011, 158(4): 859-870.
- [6] Purcell S W. Diel burying by the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*: effects of environmental stimuli, handling and ontogeny[J]. Marine Biology, 2010, 157(3): 663-671.
- [7] Annie M, Battaglene S C, Jean-Francois H. Periodic movement, recruitment and size-related distribution of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Solomon Islands[J]. Hydrobiologia, 2000, 440(1-3): 81-100.
- [8] 廖玉麟. 中国动物志·棘皮动物门·海参纲[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [9] 孙新明, 代远玲, 孙弋. 体外受精过程中多精受精发生机制[J]. 井冈山学院学报: 自然科学版, 2007, 28(6): 76-79.
- [10] Niwa K, Park C K, Okuda K. Penetration in vitro of bovine oocytes during maturation by frozen-thawed spermatozoa[J]. Journal of Reproduction and Fertility, 1991, 91(1): 329-336.
- [11] Gibert S. F. The fertilization reaction in *Echinarachinus parma*[J]. Biological Bulletin, 2000, 36(1): 1-10.
- [12] Morgan A D. Assessment of egg and larval quality during hatchery production of the temperate sea cucumber, *Australostichopus mollis*(Levin)[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2009, 40(5): 629-642.
- [13] Dautov S. Structure and properties of hyaline spheres in holothuroid larvae[J]. Invertebrate Reproduction and Development, 1997, 32(2): 155-161.
- [14] Ramofafia C, Byrne M, Battaglene S C. Development of three commercial sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*: larval structure and growth[J]. Marine and Freshwater Research, 2003, 54(5): 657-667.
- [15] Morgan A D. The effect of food availability on phenotypic plasticity in larvae of the temperate sea cucumber *Australostichopus mollis*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2008, 363(1-2): 89-95.
- [16] 朱峰. 仿刺参 *Apostichopus japonicus* 胚胎发育和主要系统的组织学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [17] Holland N D. Electron microscopic study of development in a sea cucumber, *Stichopus tremulus* (Holothuroidea), from unfertilized egg through hatched blastula[J]. The Royal Swedish Academy of Sciences, 1981, 62(2): 89-111.

## Studies on embryonic and larval development of sea cucumber (*Holothuria scabra*)

YAN Jun-xian, WANG Shi-feng, ZHOU Yong-can, ZHU Yan-bo, FENG Yong-qin\*

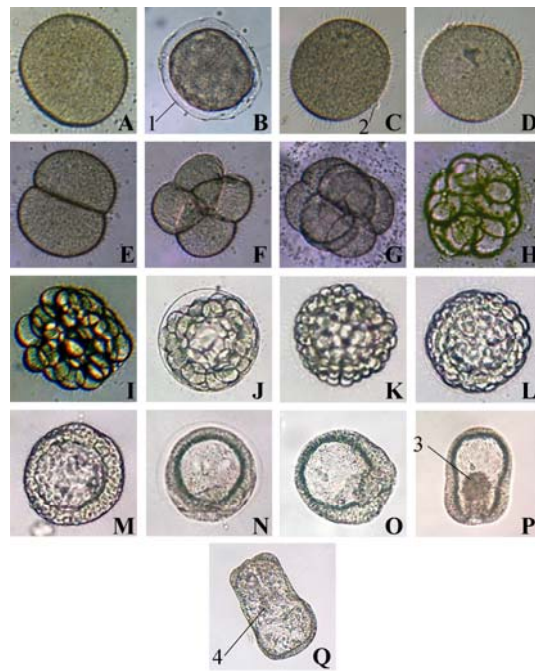
(Key Laboratory of Tropical Biological Resources of Ministry of Education,  
College of Marine Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstract:** At present, the cultivation of sea cucumber in China is mainly concentrated in the north. The main rearing species is *Apostichopus japonicu*. However, in the southern part of China, the high temperature of water is not fit for the cultivation of *A. japonicu*. As a result, to meet market demand, developing the cultivation of tropical sea cucumber is very necessary. *Holothuria scabra* is one of common tropical sea cucumbers with high economic value in Hainan. In this thesis, to enhance the seeding technology of *H. scabra*, the embryonic and larval development of *H. scabra* was observed and recorded. The heights of fertilized eggs, embryos and larvae were measured under the light microscope, and the time series table of embryonic and larval development was confirmed. The results show that the bloodstocks were spawned artificially by using the method of streaming and drying in the shade jointly. A large number of fertilized eggs were gathered and the fertilized rate was over 90%. The embryonic and larval development of *H. scabra* can be divided into the following stages: fertilized egg, cleavage, blastula, rotary blastula, gastrula, early auricularia, mid auricularia, late auricularia, doliolaria, pentactula and juvenile. At the average temperature of 29 °C and salinity of 34, the fertilized eggs needed 3 hours to develop to the blastula, and 4 hours to the rotary blastula, 5 hours to the gastrula, and 19 hours to auricularia. Then it took about 7 days to develop to the doliolaria and 15 days to develop to juvenile sea cucumber. Through the observation, the conclusion can be drawn that the polyspermy can make the embryo become developmental abnormal. In the end, the development ceased and the creature died. The sizes of larval arms and the appearance of globoid at the big auricularia stage can be used as the important indexes for evaluating the healthy status of the larva of *H. scabra*. The bigger the larval arms, the higher the appearance rates of globoid were, the higher the metamorphic rates and survival rates of the larva were. Through the comparison with larvae of other kinds of sea cucumbers, the conclusions are obtained that there is a salient structure at the end of larval body of *H. scabra*, but *A. japonicus* and *Australostichopus mollis* have no such organ; while the difference gives rise to the result that the sites of ossicles of different kinds of sea cucumbers are not the same. And, the schedules of the embryonic and larval development are different from *H. scabra* to other species of sea cucumber. The research could provide dependable data, photos, measures of disease control for the *H. scabra* larva cultured production to contribute to the exploitation and development of aquaculture of southern sea cucumber. So the market demand could be met and the natural resources could be protected.

**Key words:** *Holothuria scabra*; embryo; larva; development

**Corresponding author:** FENG Yong-qin. E-mail: fengyqin@163.com



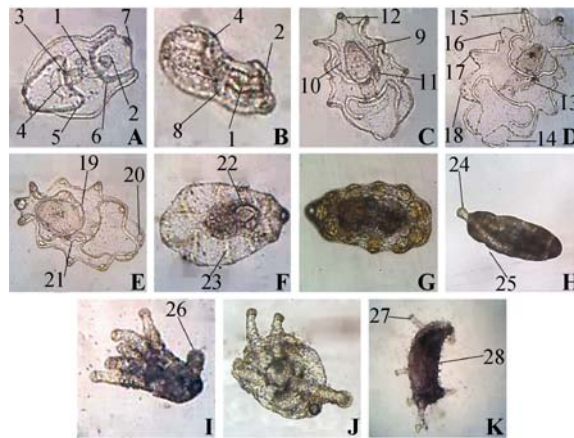


图版 I 糙海参胚胎发育图

A. 受精卵; B. 卵膜举起; C. 第一极体排出; D. 第二极体排出; E. 2细胞期; F. 4细胞期; G. 8细胞期; H. 16细胞期; I. 32细胞期; J. 64细胞期; K. 128细胞期; L. 256细胞期; M. 囊胚期; N. 旋转囊胚期; O. 原肠初期; P. 原肠期; Q. 原肠后期。1. 卵膜; 2. 极体; 3. 原肠; 4. 间质细胞。

Plate I Embryonic development of *H. scabra*

A. oosperm; B. oolemma lifted up; C. the first polar body exclusion; D. the second polar body exclusion; E. 2-cell stage; F. 4-cell stage; G. 8-cell stage; H. 16-cell stage; I. 32-cell stage; J. 64-cell stage; K. 128-cell stage; L. 256-cell stage; M. blastula; N. rotary blastula; O. early gastrula; P. gastrula stage; Q. late gastrula. 1. oolemma; 2. polar body; 3. archenteron; 4. mesenchyme cell.



图版 II 糙海参幼体发育图

A. 小耳状幼体; B. 小耳状幼体(侧面观); C. 中耳状幼体; D. 大耳状幼体; E. 大耳状幼体晚期; F. 樽形幼体初期; G. 樽形幼体; H. 五触手幼体初期; I. 五触手幼体; J. 五触手幼体后期; K. 稚参。1. 胃; 2. 肛门; 3. 咽部; 4. 口; 5. 口前环; 6. 口后环; 7. 骨片; 8. 水管; 9. 左体腔; 10. 右体腔; 11. 水体腔; 12. “尾突”; 13. 初级口触手原基; 14. 口前臂; 15. 后侧臂; 16. 后背臂; 17. 间背臂; 18. 前背臂; 19. 肛前臂; 20. 球状体; 21. 辐水管原基; 22. 辐水管; 23. 纤毛环; 24. 口触手; 25. 纤毛; 26. 第一管足; 27. 疣足; 28. 疣突。

Plate II Larval development of *H. scabra*

A. early auricularia; B. early auricularia(lateral view); C. mid auricularia; D. late auricularia; E. anaphase of late auricularia; F. early doliolaria; G. doliolaria; H. early pentactula; I. pentactula; J. late pentactula; K. juvenile. 1. stomach; 2. anus; 3. pharynx; 4. mouth; 5. preoral loop; 6. postoral loop; 7. ossicle; 8. water-vascular; 9. left somatocoel; 10. right somatocoel; 11. axohydrocoel; 12. “caudate process”; 13. primary tentacles primordia; 14. preoral arm; 15. posterolateral arm; 16. posterodorsal arm; 17. interdorsal arm; 18. anterodorsal arm; 19. preanal arm; 20. hyaline sphere; 21. radial canal primordia; 22. radial canal; 23. ciliated band; 24. buccal tentacle; 25. cilia; 26. the first podia; 27. papillae; 28. verruca.