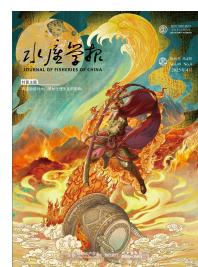


换水量对玉足海参育苗水质以及浮游幼体生长、发育和存活的影响



岑轶锟, 吴 鸿, 洪泽森, 王 东, 黄肇雷, 于宗赫^{*}
华南农业大学海洋学院, 广东广州 510642

第一作者: 岑轶锟, 从事海水养殖生态学研究, E-mail: cenyk@stu.scau.edu.cn

摘要:

【目的】探索玉足海参育苗过程中适宜的换水量。

【方法】实验分别设置日换水量 0、1/4、1/2 以及 3/4 共 4 个水平, 研究换水量对育苗系统水质变化以及海参浮游幼体生长、发育和存活的影响; 同时在水温为 27.99 °C, pH 为 8.05 的条件下, 采用静水实验法检验了氨氮对玉足海参中耳和大耳幼体的影响。

【结果】育苗前期, 大量换水会对海参幼体的生长和存活造成不利影响; 育苗后期, 换水量越少, 系统中氨氮和亚硝态氮的浓度越高, 海参幼体生长和发育情况越差。氨氮对中耳幼体和大耳幼体的 48 h 半致死浓度 (48 h-LC₅₀) 分别为 2.66 和 6.22 mg/L, 而非离子氨对中耳幼体和大耳幼体的 48 h-LC₅₀ 分别为 0.19 和 0.45 mg/L; 水体中氨氮浓度越高, 海参幼体的死亡率越高, 无发育潜力的幼体所占比例越大。

【结论】玉足海参育苗过程水质调控至关重要, 在育苗后期, 必须采取有效手段控制水体中的氨氮含量。建议在小耳幼体阶段不进行换水, 中耳幼体阶段适量换水, 而大耳幼体阶段大量换水。本研究结果可以为热带海参的人工繁育提供科学依据。

关键词: 玉足海参; 人工繁育; 水质; 氨氮; 非离子氨; 急性毒性

玉足海参 (*Holothuria leucospilota*) 属于棘皮动物门 (Echinodermata) 海参纲 (Holothuroidea) 楯手目 (Aspidochirotida) 海参科 (Holothuriidae) 海参属 (*Holothuria*), 广泛分布于中西太平洋、亚洲、印度洋的热带和亚热带海域, 在我国主要分布于东海南部以及南海等地的近岸海域, 该海参具有较高的生态、经济和药用价值^[1-6]。然而, 在过度捕捞、环境污染以及气候变化等诸多压力下, 国内外自然海域的玉足海参资源已经遭到严重破坏^[7-10]。因此, 对其进行人工繁育和增殖放流迫在眉睫^[11-12]。

目前, 热带海参中的糙海参 (*H. scabra*) 人工繁育技术已较为成熟^[13-14], 而玉足海参的人工繁育尚处于起步阶段, 存在浮游幼体发育缓慢, 附着变态阶段死亡率较高等问题^[15-17]。研究表明, 水质是关系到海参育苗成功与否的关键因素, 而海参育苗后期水体中会积累的大量残饵、粪便以及死亡幼体等含氮有机物, 这些有机物的分解会造成水体氨氮浓度升高^[18-19]。



通信作者: 于宗赫, 博士, 教授, 从事海水增养殖生态学、棘皮动物人工繁育与增养殖技术研究, E-mail: yuzh@scau.edu.cn



资助项目: 国家重点研发计划(2022YFD2401303); 广东省现代化海洋牧场适养品种核心技术攻关项目(2024-MRB-00013)

收稿日期: 2023-03-26
修回日期: 2023-05-17

文章编号:
1000-0615(2025)04-049612-12
中图分类号: S 968.9
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



水体中的氨氮以非离子氨(或称游离氨, NH_3)和离子铵(NH_4^+)存在, 二者能相互转化, 其比例主要取决于温度和pH。其中, 非离子氨能穿透生物膜, 具有更强的毒性, 而温度和pH越高非离子氨在氨氮中所占的比越大, 对水生动物的危害越大^[19-21]。研究表明, 长期的高浓度氨氮暴露会造成仿刺参(*Apostichopus japonicus*)的免疫、消化和抗氧化能力下降, 生长和发育也会受到抑制, 感染病原菌的几率增加, 甚至会出现大规模死亡的现象^[22-25]。成体海参受到氨氮胁迫后, 可以通过谷氨酰胺生成途径和尿素循环, 在呼吸树和体壁中将高毒性的氨氮转化为低毒性的谷氨酰胺和尿素, 而浮游幼体尚未发育完全, 因此对氨氮极为敏感^[20, 26]。

确定各发育阶段海参浮游幼体对氨氮的耐受能力, 对育苗过程中的水质调控等具有指导意义, 然而, 目前鲜有关于氨氮对热带海参浮游幼体影响的报道。在海参育苗过程中, 一般通过换水来调控水质, 换水量过小达不到水质调控效果, 而换水量过大则会增加生产成本, 同时也会对幼体造成冲击。本研究探讨了换水量对玉足海参育苗水质和浮游幼体生长、发育和存活的影响, 并对不同发育阶段的幼体进行了氨氮急性毒性实验。相关研究结果可以为热带海参的人工繁育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 玉足海参浮游幼体

玉足海参亲本于2022年9月20日采捕自深圳大亚湾海域($22^\circ33'N$, $114^\circ33'E$), 采捕后立即运送至中国科学院大亚湾海洋生物综合实验站, 置于500 L玻璃钢桶中暂养。暂养期间保持持续充气, 每日下午彻底换水, 并清除吐脏个体以及粪便, 暂养期间海水水温为27~29 °C, 盐度为30~31, pH为8.0~8.1。于9月25日通过阴干和流水刺激的方法进行人工催产, 收集精卵后混合受精^[15], 将受精卵转移至数个500 L的玻璃桶中进行孵化, 孵化期间保持持续充气, 使受精卵均匀悬浮在水体中。本实验所用海水均为砂滤海水, 并经孔径为5 μm的微孔过滤袋过滤。孵化期间不换水, 初始水位为200 L, 每日增加干净海水200 L, 最终密度为1.0个/mL。待受精卵发育至小耳幼体后, 利用

牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)液($2.00\times10^6\sim2.50\times10^6$ 个/mL)与面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)悬浊液(0.10 g/L, 约 1.50×10^6 个/mL)按照体积比1:1的比例进行投喂^[15]。在幼体发育至晚期中耳幼体阶段之前, 日换水量为1/3, 清晨和下午各投喂1次, 每次投喂2 L饵料(1 L牟氏角毛藻液和1 L面包酵母悬浊液)。大耳幼体至樽形幼体阶段, 日换水量为1/2, 投喂量翻倍, 期间水温为26~29 °C, 盐度为28~31, pH为8.0~8.1。

本研究所涉及的动物实验均获得了华南农业大学实验动物伦理委员会批准(编号: 2022G030)。在实验过程中, 操作人员严格遵守《广东省实验动物管理条例》的伦理规范, 并按照华南农业大学实验动物伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 实验方法

换水实验 9月27日开始进行换水实验, 此时海参幼体处于小耳幼体阶段, 平均体长为(424.14 ± 50.48) μm。将孵化桶水体混匀后, 将幼体连同培养水体一起转移至白色塑料桶中(上部 $\varnothing=40$ cm, 底部 $\varnothing=30$ cm, $H=50$ cm)至32 L刻度线, 幼体平均密度为1.0个/mL。每个实验桶底部布设1个气头, 适度充气使幼体均匀地悬浮在水体中。每日中午换水1次, 使用一端包裹300目筛绢网的水管通过虹吸法进行换水, 换水过程中经常抖动水管末端使吸附的幼体脱落。本实验共设置4个换水量水平, 日换水量分别为0、1/4、1/2和3/4水体, 依次标记为A~D组, 每组3个重复。每日上午和下午各投喂150 mL饵料(同上), 当幼体发育至中耳幼体后投喂量翻倍, 每日镜检观察幼体的胃饱满度。实验期间水温为(26.62 ± 1.37) °C, 盐度为(29.14 ± 0.57), pH为(8.05 ± 0.03)。

实验开始后, 各组每3天取10~20只幼体观察其发育情况并测量体长, 在换水前测定系统的水温、盐度和pH, 并取100 mL水样, 按照《海洋监测规范》的方法^[27]测定各组氨氮和亚硝态氮的含量(本研究的浓度统一以氮计)。每日对各组幼体进行计数以确定存活率, 计数前先将实验桶水体混匀, 随机取15 mL水样, 观察并记录幼体个数, 每组重复3次, 将计数结果与初始值比较计算存活率。本实验一共持

续 15 d, 至 10 月 12 日结束。

氨氮对中耳幼体急性毒性实验 10月5日开始进行中耳幼体急性毒性实验, 此时幼体平均体长为 $(734.19 \pm 84.27) \mu\text{m}$ 。将孵化桶的幼体适当浓缩后, 添加干净海水至密度为 1.0 个/ mL , 混匀并取部分水体至数个 1 L 烧杯中进行毒性实验, 实验期间水位保持在 1 L 刻度线处。采用静水实验法进行实验^[28], 将 NH_4Cl (优级纯) 配制成浓度为 2 617.31 mg/L 的母液, 实验时使用干净海水稀释至目标浓度。根据预实验, 设置 1 个对照组和 5 个处理组, 依次标记为 A1、B1、C1、D1、E1 和 F1, 处理组按等对数间距设置氨氮浓度梯度, 实测值分别为 2.25、3.38、5.63、10.09 和 17.76 mg/L, 对照组为 0.01 mg/L, 每组 3 个平行。实验期间不充气不换水, 上午和下午各投 1 mL 饵料(同上)。实验期间水温为 $(28.48 \pm 0.19) ^\circ\text{C}$, 盐度为 (29.60 ± 0.43) , pH 为 (8.06 ± 0.02) 。

实验开始后, 前 4 h 连续观察幼体的活动情况, 此后每日上、下午各观察 1 次。每日对幼体进行计数, 计数前先将烧杯水体混匀, 随机取 15 mL 水体观察幼体并计数, 每组重复 3 次, 将计数结果与初始值进行比较计算存活率, 分别记录 24 和 48 h 时各组幼体的存活率。本实验持续 2 d, 至 10 月 7 日结束。

氨氮对大耳幼体急性毒性实验 10月9日开始进行大耳幼体急性毒性实验, 此时幼体平均体长为 $(976.81 \pm 78.99) \mu\text{m}$ 。实验设置同上。根据预实验设置一个对照组和 5 个处理组, 依次标记为 A2、B2、C2、D2、E2 和 F2, 处理组按等对数间距设置氨氮浓度, 实测值分别为 2.71、3.52、4.92、6.75 和 9.57 mg/L, 对照组为 0.01 mg/L, 每组 3 个平行。实验期间水温为 $(27.50 \pm 1.30) ^\circ\text{C}$, 盐度为 (29.73 ± 0.61) , pH 为 (8.03 ± 0.02) 。

实验开始后, 前 4 小时连续观察幼体的活动情况, 此后每日上、下午各观察 1 次。分别记录 24 和 48 h 时幼体的存活率, 计数方式同上。继续培养至 144 h, 每组随机取 30~40 只幼体镜检观察并记录发育情况。本实验持续 6 d, 至 10 月 15 日结束。

1.3 环境因子测定

利用 YSI 556 MPS 多参数水质分析仪测定水温、盐度和 pH。利用次溴酸盐氧化法和盐

酸萘乙二胺分光光度法测定水样氨氮和亚硝态氮浓度^[27]。水体中非离子氨所占的比例与温度和 pH 有关, 按照以下公式计算:

$$[\text{NH}_3] = [\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3]/[1 + 10^{(\text{pKa}-\text{pH})}]$$

式中, $\text{pKa} = 0.09018 + 2729.92/T$; pKa 为离解常数, T 为热力学温度 ($T=t+273.15$), t 为摄氏温度^[28]。

1.4 数据分析

利用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。利用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验同一取样时间各组海参幼体体长以及存活率之间差异的显著性, 利用 Duncan 氏法对数据进行多重比较。成活率数据经过平方根反正弦转换后再进行统计分析, 而结果展示的数据为未转换值。实验结果用平均值±标准差 (mean±SD) 表示。 $P < 0.05$ 表示差异显著。采用概率单位回归法计算氨氮和非离子氮对海参中耳幼体和大耳幼体 48 h 的半致死浓度 (48 h-LC₅₀)^[24]。利用 Origin 2022 软件作图。

2 结果

2.1 换水实验

水温、盐度和 pH 实验过程中各处理组水温, 盐度和 pH 随时间的变化如图 1 所示。其中, 前 9 天各处理组水温稳定在 $27\sim28^\circ\text{C}$, 第 12 天遭遇寒潮, 水温一度降至 24°C , 之后水温逐渐回升(图 1-a)。各组盐度维持在 $28\sim30$, 其中实验开始阶段降雨频繁盐度较低, 随后逐渐升高, 不换水的 D 组盐度略低于其余 3 组(图 1-b)。各组 pH 维持在 $7.9\sim8.1$, 其中第 12 天各组 pH 均出现下降(图 1-c)。

氨氮和亚硝态氮 各处理组水体中氨氮和亚硝态氮浓度随时间的变化结果显示, 对于同一取样时间, 水体中氨氮浓度均随着换水量增加而降低。其中, 实验前 6 天各组水体氨氮浓度均低于 0.02 mg/L , 第 6~15 天, B~D 组氨氮浓度随时间缓慢上升, 而 A 组氨氮浓度则迅速提高, 至第 15 天, A~D 组的氨氮浓度分别达到了 0.91、0.40、0.26 和 0.16 mg/L (图 2-a)。

对于同一取样时间, 海参育苗水体中亚硝态氮浓度均随着换水量增加而降低。其中, 实验前 6 天各组水体亚硝态氮浓度均低于 0.05

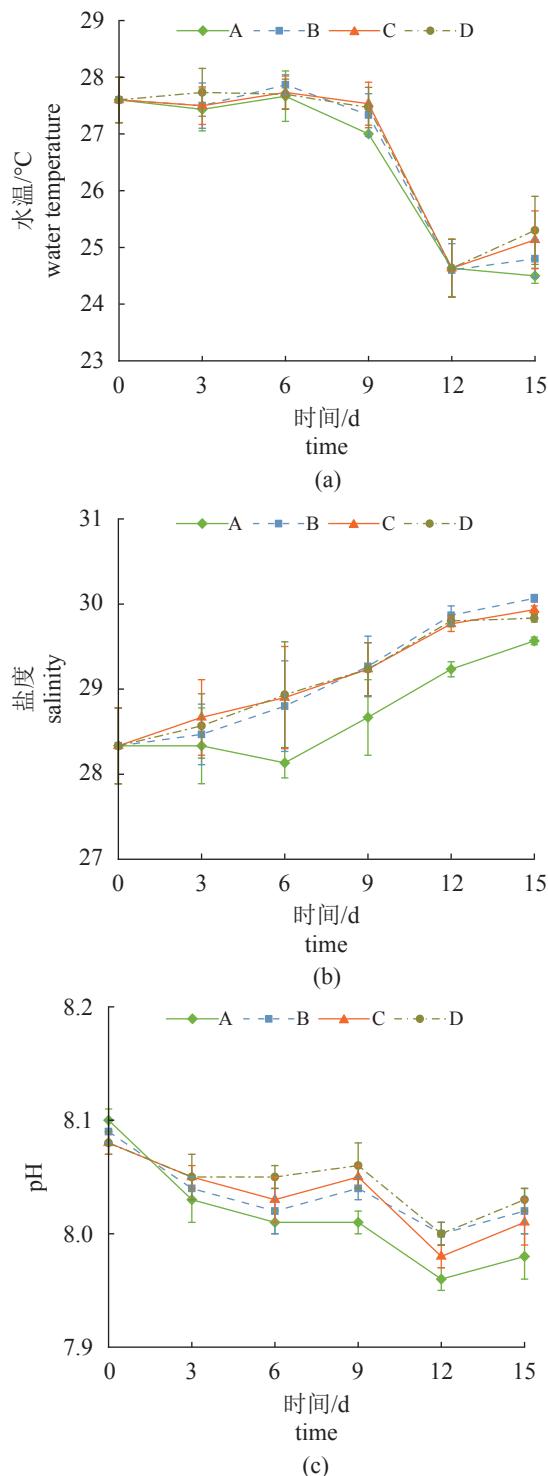


图 1 不同换水量各组水温, 盐度和 pH 随时间的变化
(a) 温度, (b) 盐度, (c) pH; A、B、C、D 组的日换水量分别为 0、
1/4、1/2 和 3/4; 下同。

Fig. 1 Temporal variations in water temperature,
salinity and pH at different water exchange

(a) water temperature, (b) salinity, (c) pH; the water exchange in treatments A, B, C, and D are 0, 1/4, 1/2, and 3/4 per day, respectively; the same below.

mg/L, 第 6~15 天各组亚硝态氮浓度快速上升, 至第 15 天时, A~D 组的亚硝态氮浓度分别达到了 3.77、2.16、1.43 和 1.19 mg/L (图 2-b)。

幼体存活率 实验期间各组海参幼体存活率均随时间延长而下降(表 1)。至第 6 天后各组存活率开始出现显著差异($P<0.05$), 其中, 实验第 6 天时不换水的 A 组幼体存活率最高($93.33\%\pm9.43\%$), 而日换水量为 3/4 的 D 组存活率最低($70.86\%\pm8.36\%$)。第 9 天以后, 日换水量 1/4 的 B 组存活率最高, 且该组存活率在第 12 和 15 天均显著高于其余 3 组($P<0.05$), 而同期日换水量 1/2 的 C 组幼体存活率一直比较稳定。在整个实验过程中, 日换水量 3/4 的 D 组幼体存活率下降最快, 至第 15 天该组幼体存活率仅为($20.01\%\pm6.51\%$)。

幼体体长 实验期间各组海参幼体的体长变化结果显示, 第 6 天日换水量为 3/4 的 D 组体长显著低于其余 3 组($P<0.05$)(图 3)。第 9 天, 换水量较大的 C 组和 D 组幼体体长分别为(672.79 ± 35.08) 和 (610.0 ± 21.43) μm , 显著低于其余 2 组($P<0.05$), 为整个实验期间观测到的最低值。第 9~15 天, C 组和 D 组幼体体长开始迅速增长, 至第 12 天后各组幼体体长无显著差异($P>0.05$)。

2.2 氨氮对玉足海参幼体的影响

预实验发现, 玉足海参浮游幼体对亚硝态氮具有极高的耐受性, 而对氨氮耐受性较差。海参育苗过程中前期水质良好, 氨氮浓度很低, 中后期氨氮浓度才开始迅速增加, 因此, 本研究仅考察氨氮对海参中耳和大耳幼体的影响。

氨氮对中耳幼体存活率的影响 实验各组幼体存活率结果显示, 不同实验条件下中耳幼体存活率均随着时间延长而下降(表 2)。其中, 第 24 小时氨氮浓度较高的 D1、E1 和 F1 组幼体均出现沉底现象, 并且氨氮浓度越高沉底现象越严重; 第 48 小时, E1 组和 F1 组幼体已全部死亡分解, 烧杯中已无幼体残留。

氨氮对大耳幼体存活率的影响 幼体存活率结果显示, 第 24 小时, 除氨氮浓度最高的 F2 组存活率较低($60.95\%\pm16.00\%$), 且部分幼体出现了沉底现象外, 其余各组幼体均有较高的存活率(表 3)。第 48 小时, 氨氮浓度较高的 D2, E2 和 F2 组幼体死亡率较高, 并且均有

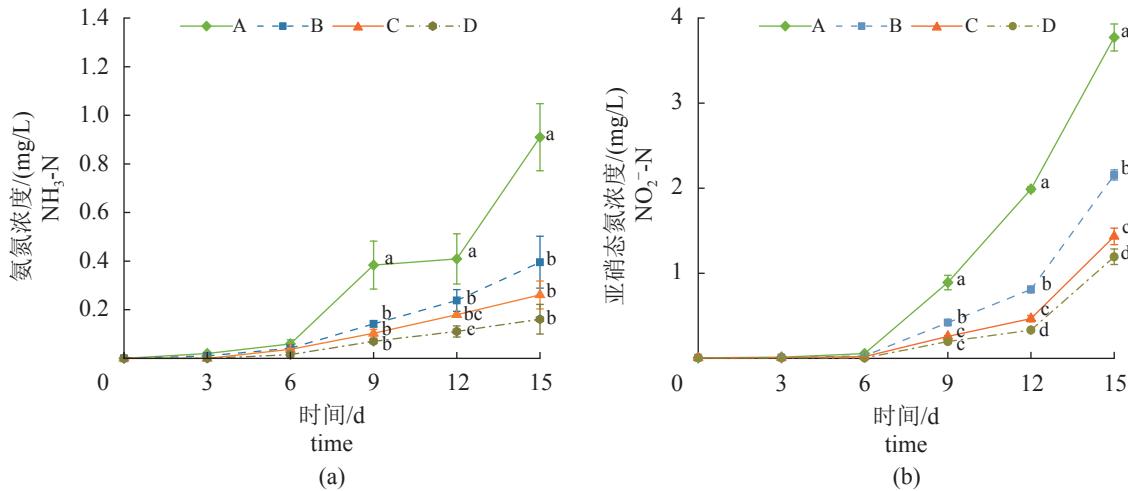


图 2 换水实验各组氨氮和亚硝态氮浓度随时间的变化

(a) 氨氮, (b) 亚硝态氮; 对于同一取样时间, 上标不同字母表示各组数据间存在显著差异 ($P<0.05$); 下同。Fig. 2 Temporal variation in $\text{NH}_3\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ concentrations at different water exchange(a) $\text{NH}_3\text{-N}$, (b) $\text{NO}_2^-\text{-N}$; different letters indicate significant difference among treatments at the same sampling time ($P<0.05$); the same below.

表 1 换水量对玉足海参幼体存活率的影响

Tab. 1 Effect of water exchange on survival of the *H. leucospilota* larvae

组别 group	存活率/% survival rate				
	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
A	100.00±0 ^a	93.33±9.43 ^a	68.59±16.13 ^{ab}	58.69±3.00 ^b	57.28±7.89 ^b
B	97.78±3.85 ^a	80.64±5.96 ^{ab}	88.82±8.64 ^a	87.06±10.75 ^a	73.41±7.32 ^a
C	94.95±8.75 ^a	78.44±7.53 ^{ab}	55.06±11.85 ^{ab}	56.68±3.65 ^b	58.09±4.46 ^b
D	96.08±6.79 ^a	70.86±8.36 ^b	40.33±15.95 ^c	21.45±2.31 ^c	20.01±6.51 ^c

沉底现象。对沉底幼体镜检发现, 部分个体已无吞咽等生命特征。本研究计数时未将沉底幼体与正常个体进行区分, 因此高浓度组幼体存活率可能存在一定程度的高估。

统计分析表明, 中耳幼体和大耳幼体的死亡率对应的概率单位 (y) 与氨氮的浓度对数 (x) 呈直线正相关 (图 4)。其中, 在相近氨氮浓度条件下, 大耳幼体的成活率要高于中耳幼体。根据线性拟合得到氨氮对玉足海参中耳和大耳幼体的 48 h 半致死浓度依次为 2.66 和 6.22 mg/L, 非离子氨对中耳和大耳幼体的 48 h 半致死浓度分别为 0.19 和 0.45 mg/L。

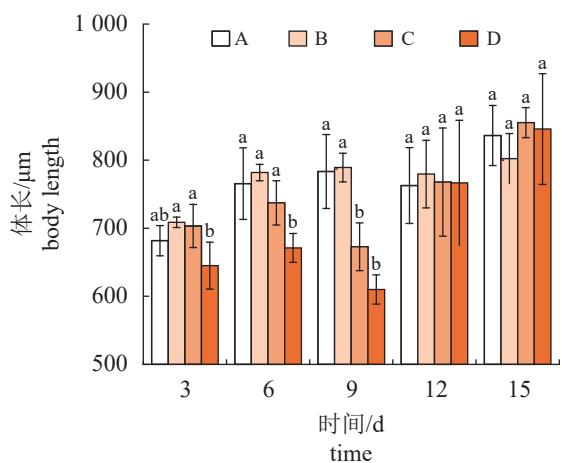


图 3 换水量对玉足海参幼体体长的影响

Fig. 3 Effect of water exchange on body length of the *H. leucospilota* larvae

氯氮对大耳幼体发育的影响 实验第 6 天 (受精后 20 d) 时, 各组幼体发育结果显示, A2~F2 组大耳幼体比例分别为 55.88%、69.23%、53.06%、54.55%、40.98% 和 7.41% ($n=30\sim40$); 椎形幼体比例最高的为对照组 A2 (11.76%), 之后是 D2 组 (3.03%) 和 B2 组 (2.56%), 而 C2、E2 和 F2 组均未观察到椎形幼体。五触手幼体比例最高的是对照组 A2 (17.65%), 之后是 B2 组 (7.69%), C2 组 (2.04%), 而 D2、E2 和 F2 组均未观察到五触手幼体 (图 5)。本研究将畸形以及胃部糜烂的幼体定义为无发育潜力幼体 (图版-

表 2 氨氮浓度对玉足海参中耳幼体的影响

Tab. 2 Effect of NH₃-N concentrations on survival of the *H. leucospilota* larvae at mid-auricularia stage

组别 group	氨氮/(mg/L) NH ₃ -N	非离子氨/(mg/L) NH ₃	存活率/% survival rate	
			24 h	48 h
A1	0.01±0	0	74.8±10.98	70.42±8.13
B1	2.25±0.35	0.16±0.03	93.06±4.63	51.94±9.63
C1	3.38±0.53	0.25±0.04	73.61±26.85	38.06±14.6↓
D1	5.63±0.75	0.41±0.05	66.07±13.10↓	12.26±1.51↓
E1	10.09±1.01	0.73±0.07	72.22±18.50↓	0
F1	17.76±1.25	1.29±0.09	73.81±17.40↓	0

注: ↓表示幼体出现下沉, 下同。

Notes: ↓ indicates sinking of the larvae, the same below.

表 3 氨氮浓度对玉足海参大耳幼体存活率的影响

Tab. 3 Effect of NH₃-N concentrations on survival of the *H. leucospilota* larvae at late-auricularia stage

组别 group	氨氮/(mg/L) NH ₃ -N	非离子氨/(mg/L) NH ₃	存活率/% survival rate	
			24 h	48 h
A2	0.01±0	0	95.83±5.56	85.03±3.82
B2	2.71±0.06	0.20±0	93.33±8.89	73.89±4.81
C2	3.52±0.13	0.26±0.01	83.33±22.22	80.45±15.26
D2	4.92±0.10	0.36±0.01	94.44±7.41	55.56±18.52↓
E2	6.75±0.16	0.49±0.01	90.48±12.70	63.10±15.54↓
F2	9.57±0.83	0.70±0.06	60.95±16.00↓	38.1±15.87↓

8~9), 据此, A2~F2 组无发育潜力幼体比例分别为 14.71%、20.51%、44.90%、42.42%、59.02% 和 92.59%。综上所述, 随着水体中氨氮浓度的升高, 幼体的变态率下降, 无发育潜力幼体比

例有明显增加的趋势。

实验开始时, 幼体(受精后 14 d)具有明显的球状体结构(图版-1)。实验第 6 天时, 各组幼体均进入变态阶段, 其体型出现收缩, 体臂末端由尖变圆并缩短(图版-2~5); 部分幼体已经进入樽形幼体或者五触手幼体阶段, 其纤毛带因身体收缩而呈横向生长, 逐渐形成横环纤毛带, 幼体颜色变深, 不易观察其体内结构, 但球状体清晰可见(图版-3~5)。其中, A2 组幼体变态率最高, 其未变态的幼体大部分吞咽活力正常, 体臂边缘规则(图版-2); 相对于 A2 组, 氨氮浓度较低的 B2 组的变态率下降, 但幼体的形态无明显畸形, 大部分幼体具备发育潜力(图版-5); 中等氨氮浓度的 C2 和 D2 组幼体体型收缩程度较小, 体臂边缘平齐, 但是其胃部饱满并仍有吞咽行为(图版-6~7), 表明这两组幼体仍然存活但是其变态进程受到抑制。氨氮浓度较高的 E2 和 F2 组出现大量畸形幼体(图版-8~9), 大部分已无吞咽行为。

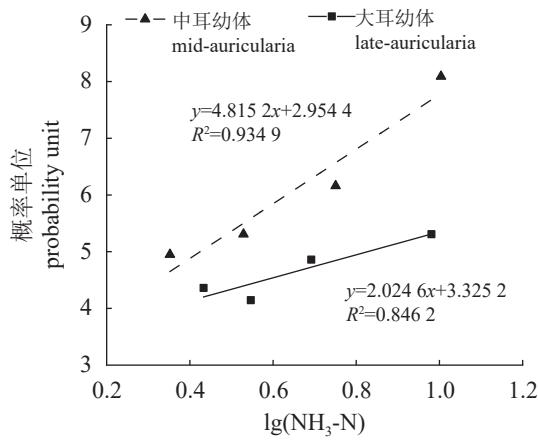


图 4 氨氮浓度对数与玉足海参中耳和大耳幼体 48 h 的死亡概率单位的关系

Fig. 4 Relationship between the logarithm of NH₃-N concentration and the probability unit of 48 h mortality in mid- and late-auricularia larvae of *H. leucospilota*

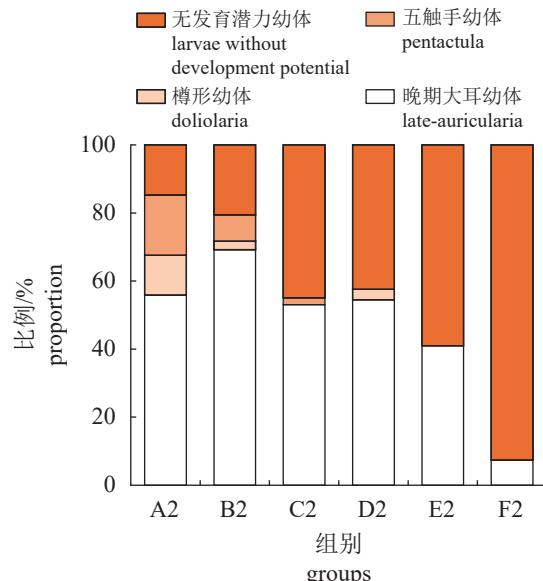


图 5 不同氨氮浓度条件下玉足海参各发育阶段幼体比例

Fig. 5 Proportional composition of *H. leucospilota* larvae at different developmental stages at different NH₃-N concentrations

3 讨论

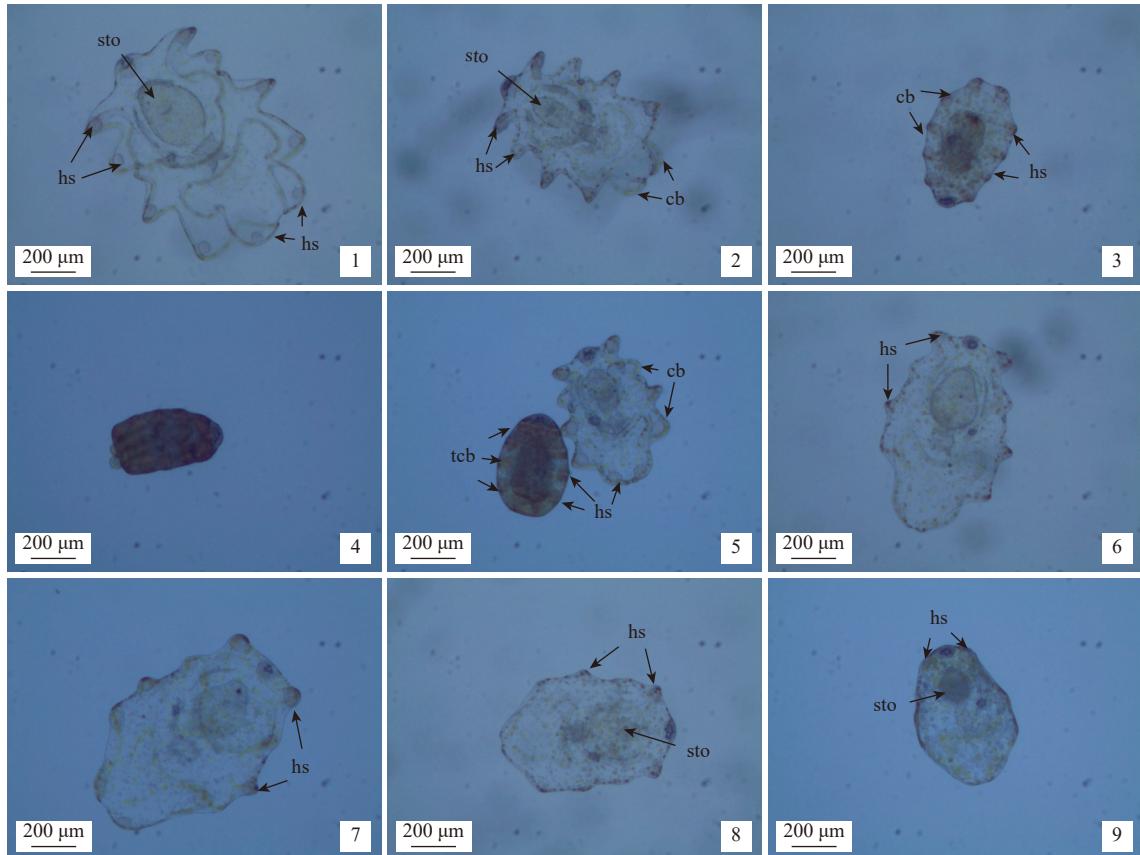
海参育苗后期水体中积累的大量含氮有机质的分解会造成水体氨氮和亚硝态氮浓度迅速升高, 而换水是水质调控的主要手段。在实际生产中, 育苗水体日换水量通常为 30%~50%^[15-16, 29]。本研究表明, 换水量越大育苗系统的水质越容易受外界环境的影响, 因此, 为降低换水对苗种造成的冲击, 降雨和降温天气应减少换水量; 第 6 天前各组氨氮和亚硝态氮浓度均较低, 因此该阶段无需换水; 第 9~15 天换水能有效控制水体中氨氮和亚硝态氮浓度。其中, 以非离子氨为例, 第 0~15 天换水量较大的 C 组和 D 组的非离子氨浓度均低于 0.02 mg/L, 符合渔业水质标准 (非离子氨<0.02 mg/L)^[30], 反观未换水或换水量较小的 A 组和 B 组, 其非离子氨浓度分别在第 9 和第 15 天超标。

氨氮具有较强的神经毒性, 可引起水生动物抽搐、活动力下降甚至死亡, 主要是由于过高浓度的 NH₄⁺部分取代 Na⁺和 K⁺并使神经元去极化, 诱导大量 Ca²⁺内流, N-甲基-D-天门冬氨酸型谷氨酸 (N-methyl-D-aspartate-type glutamate, NMDA) 受体和钙依赖型蛋白酶被过量的激活, 最终导致神经细胞死亡^[31-32]。研究发现水生动物对氨氮的耐受性随着生长发育而不断提高, 其中幼体阶段对氨氮更为敏感^[33-34]。海参幼体

对氨氮耐受性较差, 如非离子氨浓度达到 0.07 mg/L 即可对仿刺参耳状幼体产生影响, 当非离子氨浓度达到 1.25 mg/L 时, 幼体在第 10 天全部死亡^[20]。相对于幼体, 成体海参对氨氮具有较强的耐受性, 如研究发现, 仿刺参在有机质和氨氮含量较高的地区其营养状态和生理活性甚至要优于自然海区^[35-36], 这一方面是因为成体海参营底栖生活, 其自身存在相应的生理机制以适应较高的氨氮环境^[26], 另外它们具有较强的运动能力, 当遇到不利环境时可以通过迁徙予以规避^[3]。本研究发现, 大耳幼体对非离子氨的耐受能力 (48 h-LC₅₀ 为 0.45 mg/L) 要远高于中耳幼体 (48 h-LC₅₀ 为 0.19 mg/L), 这表明随着玉足海参幼体的发育, 其对氨氮的耐受能力也有所增强。另外, 高浓度的氨氮会使玉足海参幼体在短时间内出现沉底现象, 随后大量死亡, 这是因为海参耳状幼体的运动和进食主要依靠体臂和口周围纤毛的摆动, 纤毛的摆动受神经系统调节^[37-38], 而高浓度的氨氮会影响纤毛神经的传导, 从而引起海参幼体的沉底和死亡。

海参幼体在变态期间无法摄食, 球状体储存的中性脂肪为其重要的营养来源, 因此, 球状体的发育情况是评估海参幼体能否完成变态的关键指标^[16, 39-40]。中性脂肪能参与能量供应和机体组织构建, 对水生生物的生长发育具有重要的作用^[41-42]。另外, 中性脂肪也能提高生物的抗逆性, 作为储能物质以应对各种环境胁迫^[43]。本研究发现, 大耳幼体对氨氮的耐受能力要高于中耳幼体, 高氨氮浓度条件下大耳幼体的球状体明显缩小, 且随着氨氮浓度的升高, 无发育潜力和死亡的海参幼体增多, 表明球状体中储存的中性脂肪提高了海参幼体对氨氮的耐受能力, 但是氨氮胁迫同时导致更多的营养储备被消耗, 从而对其顺利变态造成了负面影响。

水质、养殖密度、管理方式以及饵料等均会影响海参幼体的生长和发育。一般情况下, 氨氮对水生生物的 96 h-LC₅₀ 较 48 h-LC₅₀ 低^[33-34], 因此氨氮对玉足海参中耳和大耳幼体的安全浓度 ($0.1 \times 96 \text{ h-LC}_{50}$)^[28] 应分别低于 0.27 和 0.62 mg/L ($0.1 \times 48 \text{ h-LC}_{50}$)。本研究中, 不换水的 A 组水体氨氮浓度较高, 第 9 和第 15 天分别为 0.38 和 0.91 mg/L, 均超过了其所处发育阶段的安全浓度, 这直接对养殖后期幼体的生长发育和存活造成



图版 氨氮对玉足海参幼体发育的影响

1. 第 0 天的大耳幼体, 2~4. A2 组中的大耳幼体、樽形幼体和五触手幼体, 5. B2 组中的大耳幼体和樽形幼体, 6~7. C2 和 D2 组中的大耳幼体, 8~9. E2 和 F2 组中的无发育潜力幼体; sto. 胃, hs. 球状体, cb. 纤毛带, tcb. 横向纤毛环。

Plate Effect of NH₃-N on development of the *H. leucospilota* larvae

1. the larvae at 0 day; 2-4. the late-auricularia, dolioilaria and pentactula larvae in group A2; 5. the late-auricularia, dolioilaria larvae in group B2; 6-7. the late-auricularia larvae in group C2 and D2; 8-9. the larvae without development potential in group E2 and F2; sto. stomach, hs. hyaline sphere, cb. ciliary band, tcb. transverse ciliary band.

负面影响。少量换水的 B 组后期氨氮浓度虽然较高, 但一直未超过幼体的安全浓度, 同时, 较少的换水量对幼体造成的冲击较小, 因此该组幼体的存活率相对较高 [第 15 天存活率为 ($73.41\% \pm 7.32\%$), 密度约为 0.75 个/mL]。研究发现, 玉足海参浮游幼体在密度为 0.6 个/mL 条件下生长良好^[15-16], 随着幼体体型的增大, 过高的密度会加大幼体之间对食物和空间的竞争, 从而对其运动和生长发育造成负面影响^[44-45], 因此, B 组幼体在第 12~15 天生长变缓可能源于其过高的养殖密度。C 组和 D 组幼体在小耳和中耳幼体阶段死亡率较高, 并且其体长一度出现负增长, 这主要是由于在换水过程中, 幼体被吸附到筛网上引起的损伤造成的。养殖后期 C 组和 D 组的氨氮浓度均低于 0.27 mg/L, 并且幼体密度低于 0.6 个/mL, 相对较好的水质

和较低的密度使得 C 组和 D 组幼体在第 9~15 天生长速率远超 A 组和 B 组。

总体来说, 玉足海参育苗前期, 水体中的氨氮浓度较低, 幼体相对脆弱, 此时大量换水对幼体极为不利; 育苗中后期, 水体中的氨氮浓度上升, 这不仅会抑制幼体的生长发育, 还会导致幼体变态率下降甚至大量死亡, 而此时幼体抵抗能力较强, 因此及时换水可以有效地控制水体中的氨氮含量, 有利于幼体的生长发育。在玉足海参育苗过程中, 综合考虑幼体生长发育、存活率以及经济因素, 建议在小耳幼体阶段不进行换水, 中耳幼体阶段少量换水, 大耳幼体时期增加换水量以保持水质稳定。另外, 还可以通过使用微生物制剂等方式来调控水质。

参考文献 (References):

- [1] 中国科学院中国动物志编辑委员会. 中国动物志: 棘皮动物门, 海参纲 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- Editorial Board of Zoology of China, Chinese Academy of Sciences. Fauna Sinica, Phylum Echinodermata, Class Holothuroidea[M]. Beijing: Science Press, 1997 (in Chinese)
- [2] Sloan N A, Von Bodungen B. Distribution and feeding of the sea cucumber *Isostichopus badionotus* in relation to shelter and sediment criteria of the Bermuda platform[J]. Marine Ecology Progress Series, 1980, 2(3): 257-264.
- [3] 于宗赫, 胡超群, 齐占会, 等. 玉足海参与凡纳滨对虾的混养效果 [J]. 水产学报, 2012, 36(7): 1081-1087.
- Yu Z H, Hu C Q, Qi Z H, et al. Co-culture of sea cucumber *Holothuria leucospilota* with the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(7): 1081-1087 (in Chinese).
- [4] 彭鹏飞, 胡超群, 于宗赫, 等. 玉足海参和半叶马尾藻净化网箱养殖沉积物的初步研究 [J]. 海洋环境科学, 2012, 31(3): 316-322.
- Peng P F, Hu C Q, Yu Z H, et al. Preliminary study on purification of sediments in cage culture by *Holothuria leucospilota* and *Sargassum hemiphyllum*[J]. Marine Environmental Science, 2012, 31(3): 316-322 (in Chinese).
- [5] Han H, Yi Y H, Li L, et al. A new triterpene glycoside from sea cucumber *Holothuria leucospilota*[J]. Chinese Chemical Letters, 2007, 18(2): 161-164.
- Xiao T J, Chen G H, Zhang C X, et al. Analysis and evaluation of nutritional component in *Holothuria leucospilota* of south China sea[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2022, 50(17): 102-104 (in Chinese).
- [7] Wolfe K, Byrne M. Overview of the Great Barrier Reef sea cucumber fishery with focus on vulnerable and endangered species[J]. Biological Conservation, 2022, 266: 109451.
- Purcell S W, Mercier A, Conand C, et al. Sea cucumber fisheries: global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing[J]. Fish and Fisheries, 2013, 14(1): 34-59.
- [9] Yu Z H, Zhang Y Q, Zhou L, et al. The effects of hypoxia and anthropogenic disturbance on the distribution, abundance and recruitment of the sea cucumber *Holothuria leucospilota* at the mouth of a subtropical bay, China[J]. Frontiers in Marine Science, 2021, 8: 739657.
- [10] Harith M N, Md Desa M H I, Ilias Z. *Holothuria leucospilota* population in satang besar island, Sarawak, Malaysia[J]. International Journal of Zoology, 2018, 2018: 8047029.
- [11] Ru, X S, Zhang, L B, Li, X N, et al. Development strategies for the sea cucumber industry in China[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2019, 37(1): 300-312.
- [12] Han Q X , Keesing J K, Liu D Y. A review of sea cucumber aquaculture, ranching, and stock enhancement in China[J]. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, 2016, 24(4), 326-341.
- [13] 冯永勤, 翁文明, 方再光, 等. 鳜海参苗种规模化繁育技术研究 [J]. 水产科学, 2021, 40(5): 750-756.
- Feng Y Q, Weng W M, Fang Z G, et al. Large-scale breeding techniques of rough sea cucumber *Holothuria scabra*[J]. Fisheries Science, 2021, 40(5): 750-756 (in Chinese).
- [14] Purcell S W, Hair C A, Mills D J. Sea cucumber culture, farming and sea ranching in the tropics: progress, problems and opportunities[J]. Aquaculture, 2012, 368-369: 68-81.
- [15] Yu Z H, Wu H, Tu Y K, et al. Effects of diet on larval survival, growth, and development of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*[J]. Aquaculture Nutrition, 2022, 2022: 8947997.
- [16] Huang W, Huo D, Yu Z H, et al. Spawning, larval development and juvenile growth of the tropical sea cucumber *Holothuria leucospilota*[J]. Aquaculture, 2018, 488: 22-29.
- [17] 于宗赫, 黄文, 马文刚, 等. 牟氏角毛藻和海洋红酵母对玉足海参浮游幼体发育、生长及成活率的影响 [J]. 水产学报, 2021, 45(12): 2003-2010.
- Yu Z H, Hang W, Ma W G, et al. Effects of *Chaetoceros muelleri* and *Rhodotorula* sp. on the development, growth and survival of the planktonic larvae of sea cucumber (*Holothuria leucospilota*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(12): 2003-2010 (in Chinese).
- [18] 姚雪梅, 王红勇, 邢少雷, 等. 不同水温和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.
- Yao X M, Wang H Y, Xing S L, et al. The effects of temperature and water quality on feeding and growth of *Holothuria scabra*[J]. Fisheries Science, 2007, 26(5): 292-295 (in Chinese).
- [19] Eddy F B. Ammonia in estuaries and effects on fish[J]. Journal of Fish Biology, 2005, 67(6): 1495-1513.
- [20] 庞军辉, 韩家波, 高象贤, 等. 氨对刺参的毒性影响 [J]. 水产科学, 1993, 12(9): 8-11.
- Pang J H, Han J B, Gao X X, et al. Toxic effect of ammonia on

- Apostichopus japonicus*[J]. *Fisheries Science*, 1993, 12(9): 8-11 (in Chinese).
- [21] 朱日同. 集约化养殖水体氨氮危害及调控措施 [J]. *河南水产*, 2018(3): 5-7.
- Zhu R T. The harm and controlling measures of ammonia nitrogen in intensive aquaculture water[J]. *Henan Fisheries*, 2018(3): 5-7 (in Chinese).
- [22] 胡炜, 赵斌, 李成林, 等. 慢性氨氮胁迫对刺参摄食与消化酶活性的影响 [J]. *中国水产科学*, 2018, 25(1): 137-146.
- Hu W, Zhao B, Li C L, et al. Effects of chronic ammonia nitrogen stress on the feeding and digestive enzyme activities of sea cucumber (*Apostichopus japonicas* Selenka)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(1): 137-146 (in Chinese).
- [23] 臧元奇. 刺参 (*Apostichopus japonicus* Selenka) 对典型环境胁迫的生理生态学响应及其机制研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Zang Y Q. Ecological and physiological mechanisms on typical environmental factors in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012 (in Chinese).
- [24] 程龙, 宋坚, 何舟, 等. 氨氮对刺参幼参的急性毒性研究 [J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(33): 12933-12934,12949.
- Cheng L, Song J, He Z, et al. Acute toxicity of ammonia nitrogen on juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicas*)[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2013, 41(33): 12933-12934,12949 (in Chinese).
- [25] 邢殿楼, 李强, 曲健凤, 等. 刺参苗种越冬期水环境因子变化及对刺参急性效应的研究 [J]. *渔业现代化*, 2011, 38(2): 6-9,16.
- Xing D L, Li Q, Qu J F, et al. Characterization of water environment parameters in *Apostichopus japonicus* juveniles culture ponds during winter and acute effect of those to *A. japonicus* juveniles[J]. *Fishery Modernization*, 2011, 38(2): 6-9,16 (in Chinese).
- [26] Wang G H, Pan L Q, Ding Y G. Defensive strategies in response to environmental ammonia exposure of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*: glutamine and urea formation[J]. *Aquaculture*, 2014, 432: 278-285.
- [27] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国标准化管理委员会. 海洋监测规范 第4部分, 海水分析: GB 17378.4—2007 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. The specification for marine monitoring Part 4, seawater analysis: GB 17378.4-2007 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008 (in Chinese).
- [28] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1989.
- Zhou Y X, Zhang Z S. Toxicity test method for aquatic organisms[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989 (in Chinese).
- [29] 刘锡胤, 胡丽萍, 张秀梅, 等. 刺参幼体培育阶段换水方法研究 [J]. *科学养鱼*, 2021(6): 64-65.
- Liu X Y, Hu L P, Zhang X M, et al. Study on the water replacement strategy during the larval cultivation of sea cucumber *Apostichopus japonicas*[J]. *Scientific Fish Farming*, 2021(6): 64-65 (in Chinese).
- [30] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 渔业水质标准: GB 11607—1989 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1990.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Water quality standard for fisheries: GB 11607-1989 [S]. Beijing: Standards Press of China, 1990 (in Chinese).
- [31] Binstock L, Lecar H. Ammonium ion currents in the squid giant axon[J]. *Journal of General Physiology*, 1969, 53(3): 342-361.
- [32] Cai Z B, Zhu X N, Zhang G W, et al. Ammonia induces calpain-dependent cleavage of CRMP-2 during neurite degeneration in primary cultured neurons[J]. *Aging*, 2019, 11(13): 4354-4366.
- [33] 韩天坤, 杨凤, 贾甲, 等. 总氨态氮对菲律宾蛤仔早期生长发育的影响 [J]. *大连海洋大学学报*, 2018, 33(2): 210-216.
- Han T K, Yang F, Jia J, et al. Effects of total ammonia nitrogen content on early growth and development of Manila clam *Ruditapes philippinarum*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, 33(2): 210-216 (in Chinese).
- [34] 李建, 姜令绪, 王文琪, 等. 氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性影响 [J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16(1): 22-27.
- Li J, Jiang L X, Wang W Q, et al. The toxic effect of ammonia nitrogen and sulfured hydrogen on the larvae of *Penaeus japonicus*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2007, 16(1): 22-27 (in Chinese).
- [35] 程远, 罗耀明, 李多慧, 等. 刺参养殖池塘水质周年变化规律 [J]. *热带农业工程*, 2020, 44(1): 111-114.
- Cheng Y, Luo Y M, Li D H, et al. Law of the annual change of water quality in culture ponds for *Apostichopus japonicas*[J].

- Tropical Agricultural Engineering, 2020, 44(1): 111-114 (in Chinese).
- [36] 于宗赫, 许强, 罗鹏, 等. 亚热带网箱区底播仿刺参养殖周期内生理生态学特征 [J]. 水产学报, 2018, 42(6): 863-869.
- Yu Z H, Xu Q, Luo P, et al. Temporal variations in physiological characteristics of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) bottom-cultured in a subtropical fish farm[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(6): 863-869 (in Chinese).
- [37] Verasztó C, Ueda N, Bezares-Calderón L A, et al. Ciliomotor circuitry underlying whole-body coordination of ciliary activity in the *Platynereis* larva[J]. eLife, 2017, 6: e26000.
- [38] Zheng Y Q, Cong X, Liu H C, et al. Nervous system development and neuropeptides characterization in embryo and larva: insights from a non-chordate deuterostome, the sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Biology, 2022, 11(10): 1538.
- [39] Peters-Didier J, Sewell M A. The role of the hyaline spheres in sea cucumber metamorphosis: lipid storage via transport cells in the blastocoel[J]. EvoDevo, 2019, 10: 8.
- [40] Ren Y, Liu W, Dong S, et al. Effects of mono - species and bi - species microalgal diets on the growth, survival and metamorphosis of auricularia larvae of the California sea cucumber, *Parastichopus californicus* (Stimpson, 1857)[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(2): 304-314.
- [41] 冯隆峰. 日本鬼鲉早期发育及其脂类与脂肪酸特性变化: 与含油球浮性卵仔鱼的比较 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.
- Feng L F. The early development of *Inimicus japonicas* and variations on lipid and fatty acid characteristics during development: compared with other pelagic oil-globule larvae[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012 (in Chinese).
- [42] 何先达, 钟文杰, 余金达, 等. 拟穴青蟹不同卵巢发育时期各组织的脂肪酸组成 [J]. 汕头大学学报 (自然科学版), 2022, 37(4): 41-50.
- He X D, Zhong W J, Yu J D, et al. Fatty acid composition of different tissues in different ovarian maturation stages of *Scylla paramamosain*[J]. Journal of Shantou University (Natural Science Edition), 2022, 37(4): 41-50 (in Chinese).
- [43] 曲晓莹. 胁迫条件对 *Dunaliella tertiolecta* 油脂合成的调控及关键酶基因表达的影响 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- Qu X Y. Variations of lipid accumulation and key gene expressions of *Dunaliella tertiolecta* under stress conditions[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015 (in Chinese).
- [44] 梁其旭, 张丽莉, 王国栋, 等. 紫海胆人工育苗技术的改进 [J]. 集美大学学报 (自然科学版), 2021, 26(6): 481-488.
- Liang Q X, Zhang L L, Wang G D, et al. Improvement on the artificial seed rearing technology of *Helicidaris crassispina*[J]. Journal of Jimei University (Natural Science Edition), 2021, 26(6): 481-488 (in Chinese).
- [45] Roy A, Metaxas A, Daigle R M. Changes in vertical distribution and aggregative behaviour in response to population density for larval sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) and sea stars (*Asterias rubens*)[J]. Marine Ecology, 2012, 33(2): 194-204.

Effects of water renewal rate on water quality of the hatchery system and larval survival, growth, and development of the sea cucumber (*Holothuria leucospilota*)

CEN Yikun, WU Hong, HONG Zesen, WANG Dong, HUANG Zhaolei, YU Zonghe *

College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: In this study, four water exchange (0, 1/4, 1/2 and 3/4 per day, respectively) were used in sea cucumber *Holothuria leucospilota* hatchery. The water quality of the hatchery system and the larval survival, growth, and development of the *H. leucospilota* was tested to evaluate the optimum water renewal strategy. The results showed that the high water renewal rate could pose adverse impacts on larval survival and growth in the early stage. In contrast, the low water renewal rate correlated with high level of ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) and nitrite ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) in the hatchery system in the later stage, which could also pose adverse impacts on larval survival and growth. The biological toxicity experiments were carried out to test the effects of ($\text{NH}_3\text{-N}$) on mid- and late-auricularia larvae at water temperature of 27.99 °C and pH of 8.05. The results showed that both of the survival and development potential larvae were negatively correlated with the high $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration level. The 48 h-LC₅₀ of $\text{NH}_3\text{-N}$ on mid- and late-auricularia were 2.66 and 6.22 mg/L, respectively. While the 48 h-LC₅₀ of un-ionized ammonia (NH_3) on mid- and late-auricularia were 0.19 and 0.45 mg/L, respectively. In summary, water quality was important for *H. leucospilota* hatchery and effective measure must be taken to control the concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ in the culturing water. It is recommended that no water change should be carried out at the early-auricularia stage, moderate water renewal at the mid-auricularia stage and high water renewal at the late-auricularia stage.

Key words: *Holothuria leucospilota*; breeding; water quality; ammonia nitrogen; un-ionized ammonia; acute toxicity

Corresponding author: YU Zonghe. E-mail: yuzh@scau.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2022YFD2401303); the Research on Breeding Technology of Candidate Species for Guangdong Modern Marine Ranching (2024-MRB-00-0013)