



## 紫海胆不同家系早期发育、变态、生长和肠道微生物的比较

钟幼平<sup>1,2</sup>, 鄞伟<sup>1,2</sup>, 张丽莉<sup>1,2</sup>, 黄世玉<sup>1,2</sup>, 王国栋<sup>1,2\*</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;

2. 集美大学, 农村农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 为比较紫海胆不同家系间幼体生长发育的差异, 实验构建了 9 个紫海胆全同胞家系, 比较了其受精率、孵化率、幼体存活率、变态率、开口率、幼胆生长、性腺发育和消化道微生物组成。方差分析表明, 各个家系的受精率均在 95% 以上, 无显著性差异, 而其他指标在不同家系间均存在显著性差异。孵化率、早期幼体存活率、晚期幼体存活率、变态率和开口率最高的家系分别为 3 号 (58%)、1 号 (83%)、4 号 (90%)、2 号 (75%) 和 9 号 (100%), 最低的家系分别为 6 号 (0%)、3 号 (42%)、2 号 (76%)、9 号 (6%) 和 5 号 (24.5%)。幼胆生长速率最快是 3 号家系为 146%; 最慢的是 5 号家系为 76%。3 号家系在实验结束时性腺发育明显; 而其他家系性腺未见发育。3 号家系的消化道微生物中拟杆菌门丰度较高, 变形菌门丰度低; 生长速率较慢的 5 号家系则与之相反。研究结果表明, 紫海胆不同家系间的生产性状存在差异, 具有选育改良的潜力, 实验为紫海胆良种培育积累了相关数据。

**关键词:** 紫海胆; 家系; 早期发育; 生长; 变态

**中图分类号:** S 968.9

**文献标志码:** A

紫海胆 (*Heliocidaris crassispina*) 隶属棘皮动物门 (Echinodermata) 海胆纲 (Echinoidea) 拱齿目 (Camarodonta) 长海胆科 (Echinometridae), 其性腺味道鲜美, 具有较高的营养价值与药用价值, 是我国南方海域最重要的经济海胆之一<sup>[1]</sup>。我国海胆养殖种类主要为中间球海胆 (*Strongylocentrotus intermedius*), 与之相比, 紫海胆具有耐高温、育苗周期短等优势<sup>[2]</sup>。

近年来, 紫海胆人工育苗技术日臻完善; 但依旧采用野生紫海胆作为亲本, 培育的幼体、稚胆和幼胆等生产性状参差不齐。紫海胆的育苗和养殖处于野生种驯养阶段, 提供了考察人工育苗环境对野生种遗传影响的绝好机会<sup>[3-4]</sup>。家系选择是水产动物选育新品种的重要手段之一<sup>[5]</sup>。我国

的海胆优良品种——中间球海胆“大金”即采用群体选育辅以家系选育技术, 经连续 4 代选育而成<sup>[6]</sup>。因此, 本实验探究了不同家系在人工育苗环境中早期发育和变态情况。海胆缺少长距离运动的能力, 只能在几平米范围内索饵<sup>[7]</sup>。自然环境中的海胆其主要饵料大型藻在时间和空间上分布极不均衡, 人工养殖则能稳定供应饵料。海胆本身消化大型藻能力有限, 肠道微生物在海胆消化和吸收中具有重要作用<sup>[8]</sup>。动物由野生驯养为人工养殖的过程中其肠道微生物会发生显著变化, 在哺乳类和爬行类中已有大量例证<sup>[9]</sup>。因此, 本实验同时考察了各家系紫海胆在人工养殖条件下生长、肠道微生物和性腺发育情况。总之, 考察不同家系紫海胆在育苗和养殖环境中早期发育、变态、

收稿日期: 2022-07-28 修回日期: 2022-10-16

资助项目: 国家重点研发项目 (2018YD0901605); 福建省科技厅引导性项目 (2020N0014)

第一作者: 钟幼平 (照片), 从事水产动物苗种繁育, E-mail: ypzhang@jmu.edu.cn

通信作者: 王国栋, 从事水产动物发育及育种, E-mail: gdwang@jmu.edu.cn, gdongwang@163.com



生长和肠道微生物组成等性状差异, 能够为紫海胆良种选育提供基础资料, 避免非必要的试错。

## 1 材料与方法

### 1.1 紫海胆亲本获取

实验所用的紫海胆亲本采捕于福建省福州市连江海域, 在近海网箱内暂养, 每日饱食性投喂江蓠 (*Gracilaria verrucosa*)、海带 (*Laminaria japonica*) 等大型藻类。

### 1.2 构建家系

在亲本围口膜处注射 1~2 mL 浓度为 0.5 mol/L 的 KCl 进行催产。根据精子呈烟雾状、卵子呈颗粒状的特点, 结合镜检区分精子与卵子。选取 9 对海胆作为亲本, 做雌雄一对一受精组合, 建立 9 个全同胞家系, 编号 1~9。每个家系亲本的海胆壳径约为 7 cm, 雌性产卵量 200~300 万枚。将受精卵放入 500 L 孵化桶中, 每个家系单独一个孵化桶。在授精前, 取每个家系雌性个体的 20~30 万枚卵子混合后, 与雄性的混合精子授精, 构建一个常规的混合群体作为对照, 编号 0。孵化后各家系及混合群体分别在 4 m×1 m×1 m 育苗池中单独培育。

### 1.3 幼体培养

受精卵在孵化过程中微充气且每隔 1 h 用耙搅动 1 次水体。每个育苗池预先加入 1 t 的超滤海水 (0.01 μm 过滤膜过滤), 在育苗池的前、中、后端各放 2 个气石。将孵化桶中的棱状幼体通过虹吸的方式移入育苗池。此后育苗池继续注入超滤海水至水深 50 cm 处。棱柱幼体阶段微充气, 随幼体的发育逐渐增加充气量。浮游幼体培养过程中前 3 天, 育苗池每天加 400 L 的超滤海水。第 4 天开始, 每天换水 400 L。二腕幼体阶段开始投喂角毛藻 (*Chaetoceros*), 日常投饵分为 3~4 次投喂, 分别是早上 6 点, 中午 12 点, 下午 6 点, 晚上根据幼体胃内含物情况进行适当补喂。四腕、六腕和八腕幼体期投饵量分别为  $2 \times 10^4$ 、 $3 \times 10^4$  和  $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$  个/mL 细胞。待幼体发育至六腕幼体, 每 2 天用吸污泵对育苗池底部吸污。每个器具使用前使用淡水浸泡清洗, 避免家系间污染。

### 1.4 指标测量、计算及数据处理

受精率与孵化率 卵子受精 15 min 后, 充分

搅动水体从孵化桶中随机取 100 mL 受精卵。再从 100 mL 受精卵中取 50 μL 统计发生卵裂的受精卵个数。重复取样 3 次, 计算受精率: 受精率 (%)=(受精卵数/总卵数)×100%。受精后 24 h, 受精卵全部发育至四腕幼体, 视为孵化成功。同计算受精率的取样方法取样, 按照公式:

孵化率 (%)=(四腕幼体/受精卵数)×100%, 计算孵化率。

浮游幼体生长发育通过显微镜观察, 确定各家系幼体发育阶段, 记录各家系浮游幼体发育所需时间。在育苗池前、中、后 3 个位置, 使用 100 mL 烧杯在水体的上层、中层、底层各取 100 mL, 倒入 1 L 烧杯中。将烧杯中的水体充分搅动后, 随机取出 50 mL 统计幼体的数量。重复取样 3 次统计幼体数量, 取平均值计算各发育阶段育苗池内幼体的数量。不同段幼体的存活率计算公式:

早期幼体的存活率 (%)=(六腕幼体时期的数量/四腕幼体时期的数量)×100%, 晚期幼体的存活率 (%)=(八腕幼体时期的数量/六腕幼体时期的数量)×100%。

变态率与稚胆开口率 随机选取 30 个八腕幼体, 移入 2 L 烧杯中。烧杯底部放有 10 cm<sup>2</sup> 附有底栖硅藻 (*Bacillariophyceae*) 的 PVC 波纹板进行变态率测算, 每个家系设置 4 个重复。在全部幼体完成变态前, 每日投喂角毛藻。每个烧杯的角毛藻密度保持在  $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$  个/mL 范围内, 每日换水 300 mL。当幼体的腕全部脱落, 长出幼棘, 体呈半球形, 视为完成变态。根据公式: 变态率 (%)=(稚胆数/八腕幼体数)×100%, 计算变态率。变态 7 d 后, 以塑料薄膜上的底栖硅藻被啃食, 幼胆壳径变大, 作为幼胆开口的标志。通过下面计算公式计算幼胆开口率:

幼胆开口率 (%)=(开口幼胆数/变态幼胆数)×100%

幼胆生长率 从 1、2、3、5、7 号家系中分别随机选出 30 个壳径在 0.55~0.60 cm 范围内的幼胆, 移入对应编号的 80 目小网箱中饲养。每天投喂足量的海带, 7 d 清理一次粪便。每个家系设置 4 个重复, 记录每个网箱内幼胆的壳径, 作为初始壳径; 在分别饲养 20、40 d 再次测量壳径, 比较各家系间的差异, 计算各家系的生长率:

生长率 (%)=(壳径增长值/初始壳径)×100%

上述各指标数据经方差齐性检验后进行单因素方差分析, 若存在显著性差异再经 Duncan 多重

比较大小。以  $P < 0.05$  为显著性差异, 所有数据均用平均值呈现。

### 1.5 家系微生物多样性分析

**幼胆样品取样** 每个家系随机挑选出 120 只壳径为 1.0~1.2 cm 的幼胆。每个家系设置 1 个实验组, 1 个对照组, 每组 3 个生物学重复, 每个重复放置 20 只幼胆, 放置在 3 L 容器中饲养。实验组进行 72 h 饥饿处理, 对照组正常投喂江蓠, 饲养 72 h。随后每组取 15 只大小相近的幼胆的肠道, 分别装入 3 个冻存管, 每个冻存管放 5 只幼胆的肠道, 放入液氮速冻。

**建库测序和数据预处理** 根据 Magen DNA 试剂盒的操作手册, 提取样品总 DNA, 根据样品总 DNA 的保守区设计引物。在引物末端加上测序接头, 进行 PCR 扩增, 对 PCR 扩增产物进行纯化、定量和均一化建立测序文库。符合测序要求的文库用 Illumina Novaseq 6000 进行测序, 得到的原生图像数据文件。经碱基识别 (base calling) 分析将原生图像数据转化为原始测序序列 (sequenced reads)。通过 Trimmomaticv0.33 软件, 对原生测序序列进行筛选, 得到的 clean reads 即为待分析的数据。使用 Usearchv10 软件进行拼接, 拼接后数据进行长度过滤。通过 UCHIMEv4.2 软件, 得到最终有效数据 (effective reads)。上述实验过程由百迈客生物科技有限公司完成。

**数据分析** 通过统计原始测序序列 (raw reads)、effective reads、Q30 对测序数据质量进行评估, 利用稀释性曲线 (Rarefaction Curve) 判断测序量是否覆盖所有类群, 样本量是否充分。使用 Usearch 软件对 Reads 在 97.0% 的相似度水平下进行聚类、获得 OUT, 分析样品间差异。使用 QIIME2 软件, 对样品 Alpha 多样性指数进行评估, 再通过  $t$  检验对不同处理间的 Alpha 多样性指数进行差异评估。以 SILVA 为参考数据库使用朴素贝叶斯分类器对特征序列进行分类学注释, 通过物种分布柱状图展示样品间差异, 用 QIIME 软件绘制 UPGMA 聚类树与柱状图结合绘图。

## 2 结果

### 2.1 受精率与孵化率

家系 1~9 在受精卵率上无显著性差异, 受精率均在 95% 以上。如图 1-a 所示, 各家系的孵化率存在差异 ( $P < 0.05$ )。混合群体的孵化率达 97%,

显著高于 9 个家系 ( $P < 0.05$ )。但在 9 个家系中, 3 号家系的孵化率最高为 58%, 显著高于其他家系 ( $P < 0.05$ ); 8 号与 9 号家系的孵化率次之, 均为 52%, 与其他家系间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 4 号家系的孵化率约为 47%, 与其他家系间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 2、5、7 号家系的孵化率分别为 42%、42%、43%, 三者间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 与其他家系间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 1 号家系的孵化率约为 34%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 6 号家系受精卵停留在卵裂阶段, 未能孵化, 孵化率为 0%。

### 2.2 浮游幼体生长发育

6 号家系受精 24 h 后无法孵化全部死亡。除 6 号家系外, 各家系在浮游幼体生长发育同步性较好。孵化 24 h 后发育至四腕幼体, 四腕幼体投喂 2 d 后发育至六腕幼体; 六腕幼体投喂 2 d 后发育至八腕幼体; 八腕幼体投喂 6 d 后移入采苗池, 投喂 4 d 后部分幼体开始变态, 7 d 后大部分幼体完成变态; 变态后 2 d 部分稚胆开口摄食, 变态后 3 d 大部分稚胆开始摄食。

早期幼体存活率如图 1-b 所示, 混合群体存活率为 93%, 显著高于 9 个家系 ( $P < 0.05$ )。在 9 个家系中, 1 号家系的存活率最高为 83%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 5 号家系的存活率次之, 约为 63%, 与 2 号家系无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 2 号家系的存活率为 61%, 与除 4、5 号外的其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 4 号家系的存活率为 59%, 与 2 号家系无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 7 号与 9 号家系的存活率分别为 53%、54%, 两者间无显著性差异, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 8 号家系的存活率为 47%, 除与 7 号家系无显著性差异 ( $P > 0.05$ ) 外, 与其他家系都存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 3 号家系存活率为最低为 42%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

晚期幼体存活率如图 1-c 所示, 4 号家系的存活率最高为 90%, 与 7、8 号家系无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 1、3、5、9 号家系次之, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 2 号家系的存活率最低为 76%, 与混合群体 (80%) 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

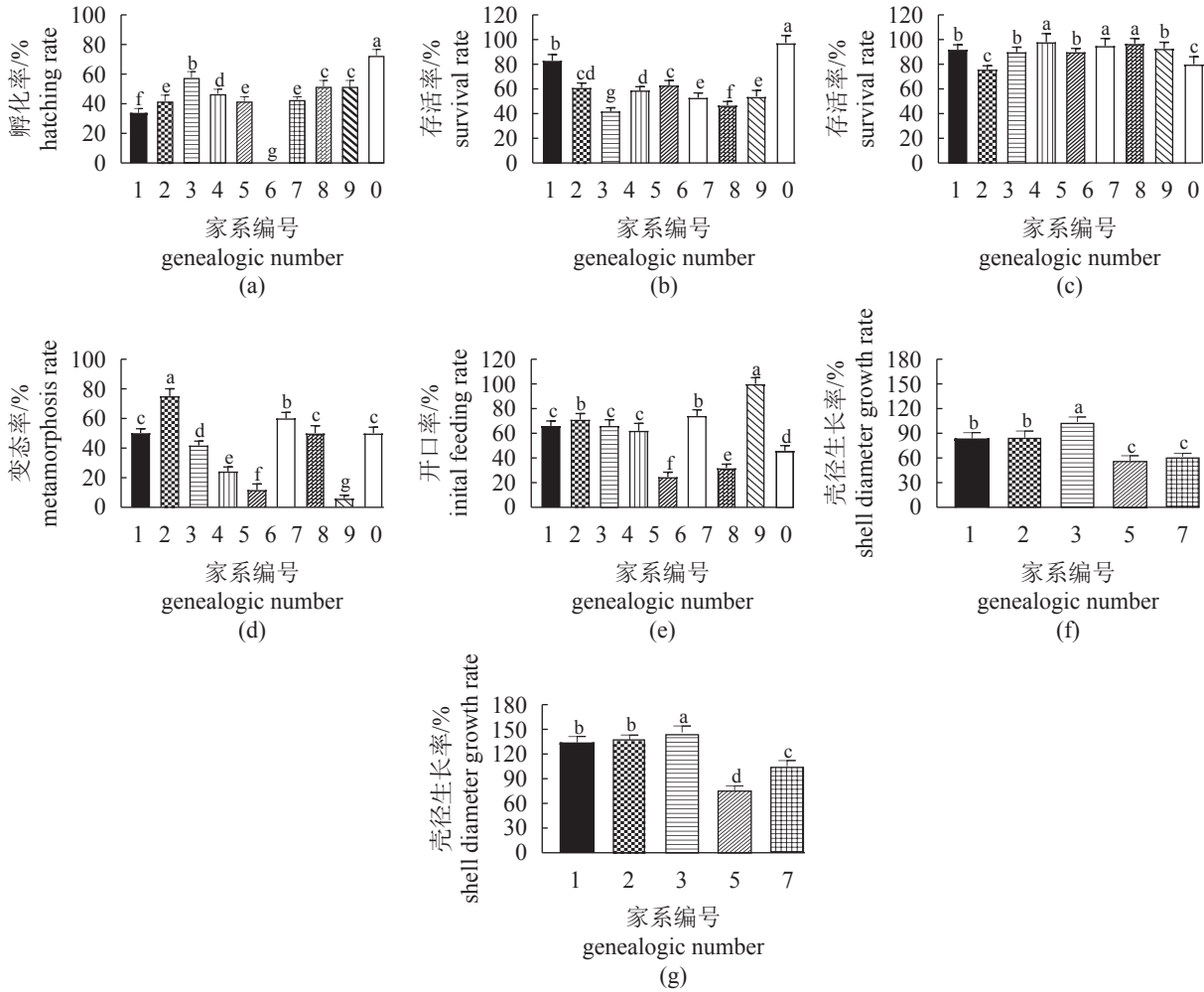


图 1 各家系生长发育指标

(a)~(g) 分别是各家系受精卵孵化率, 早期浮游幼体存活率, 晚期浮游幼体存活率, 各家系的变态率, 各家系稚胆的开口率, 0.55~0.60 cm 的幼胆饲养 20 天的壳径生长率, 0.55~0.60 cm 的幼胆饲养 40 d 的壳径生长率; 数字 1~9 代表 1~9 号家系, 0 代表混合群体; 不同字母代表存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 相同字母代表不存在显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

Fig. 1 Growth and development indexes of each genealogy

(a)~(g) are hatching rate of fertilized eggs of each genealogy, survival rate of early planktonic larva, survival rate of late planktonic larva, metamorphosis rate of each genealogy, initial feeding rate of juvenile sea urchin in each genealogy, shell diameter growth rate of 0.55-0.60 cm juvenile sea urchin for 20 days, shell diameter growth rate of 0.55-0.60 cm juvenile sea urchin for 40 days; 1-9 represents 1-9 genealogy, 0 represents mixed population; different superscript means significant difference ( $P < 0.05$ ), while the same superscript means no significant difference ( $P > 0.05$ ).

### 2.3 浮游幼体的变态率

浮游幼体变态率如图 1-d 所示, 2 号家系的变态率最高为 75%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 7 号家系次之为 60%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 1 号、8 号家系和混合群体无显著性差异, 但与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 3 号家系略低于混合群体为 42%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 4、5、9 号家系显著性低于混合群体 ( $P < 0.05$ ), 三者间存在显著性差异, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4 稚胆的开口率

如图 1-e 所示, 9 号家系的开口率最高为 100%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 7 号与 2 号家系次之, 分别为 74%、72%, 两者间无显著性差异, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 1、3、4 号家系再次之, 分别为 67%、66%、59%, 三者间无显著性差异, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 8 号家系的稚胆开口率为 32%, 低于混合群体的 46%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 5 号家系为 25%, 与其他家系有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.5 幼胆的生长

各家系之间幼胆的初始壳径无显著性差异 ( $P>0.05$ )。0.55~0.60 cm 的幼胆饲养 20 d 后, 如图 1-f 所示, 3 号家系的平均壳径最大为 1.12 cm, 生长率最高为 104%, 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 1 号与 2 号家系次之, 1 号家系平均壳径为 0.99 cm, 生长率为 84%, 2 号家系平均壳径约为 1.00 cm, 生长率为 85%, 两者间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 但与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 5 号与 7 号家系再次之, 5 号家系平均壳径约为 0.86 cm, 生长率为 57%, 7 号家系平均壳径约为 0.87 cm, 生长率为 62%, 两者间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

0.55~0.60 cm 的幼胆饲养 40 d 后, 如图 1-g 所示, 2 号与 3 号家系的平均壳径相近, 2 号家系约为 1.31 cm, 与初始壳径相比较生长率为 137%, 3 号家系约为 1.35 cm, 与初始壳径相比较生长率为 146%, 两者间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 1 号家系次之, 约为 1.27 cm, 与初始壳径相比较生长率为 134%, 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 7 号家系再次之, 约为 0.87 cm, 与初始壳径相比较生长率为

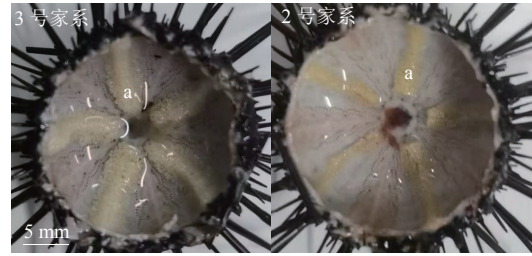


图 2 3 号家系与 2 号家系的幼胆解剖图

a 代表性腺。

Fig. 2 Anatomy of juvenile sea urchin in genealogy No. 3 and genealogy No. 2

a represent sea urchin gonads.

105%, 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 5 号家系平均壳径最小, 约为 0.96 cm, 与初始壳径相比较生长率为 76%, 与其他家系有显著性差异 ( $P<0.05$ )。对平均壳径相近的 2 号家系与 3 号家系的幼胆进行解剖, 每个家系解剖 10 个幼胆观察性腺, 如图 2 所示, 3 号家系的幼胆性腺发育快于 2 号家系。

### 2.6 微生物多样性分析

各家系的微生物主要分布在变形杆菌门

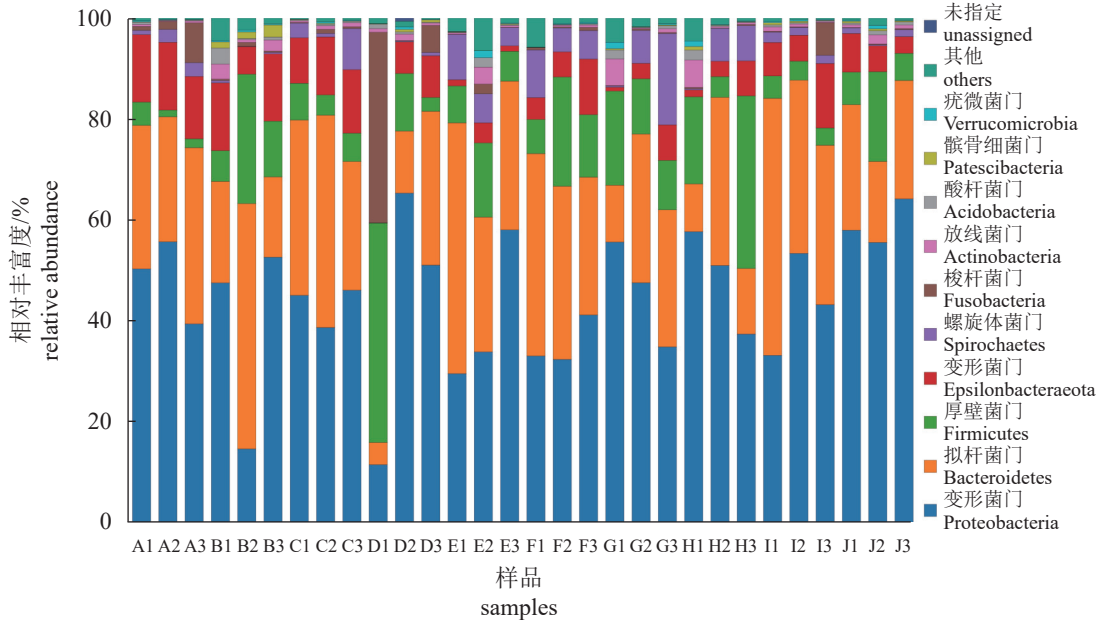


图 3 各家系微生物在门水平上的分布图

A、B 分别代表 1 号家系饥饿、投喂状态; C、D 分别代表 2 号家系饥饿、投喂状态; E、F 分别代表 3 号家系饥饿、投喂状态; G、H 分别代表 5 号家系饥饿、投喂状态; I、J 分别代表 7 号家系饥饿、投喂状态; 数字代表生物学重复。

Fig. 3 Distribution map of various strains of microbes at phylum level

A and B respectively represent the state of starvation and feeding in genealogy No. 1; C and D respectively represent the state of starvation and feeding in genealogy No. 2; E and F respectively represent the state of starvation and feeding in no. 3 genealogy; G and H respectively represent the state of starvation and feeding in no. 5 genealogy; I and J respectively represent the state of starvation and feeding in no. 7 genealogy; numbers represent biological repetition; the same as fig.5.

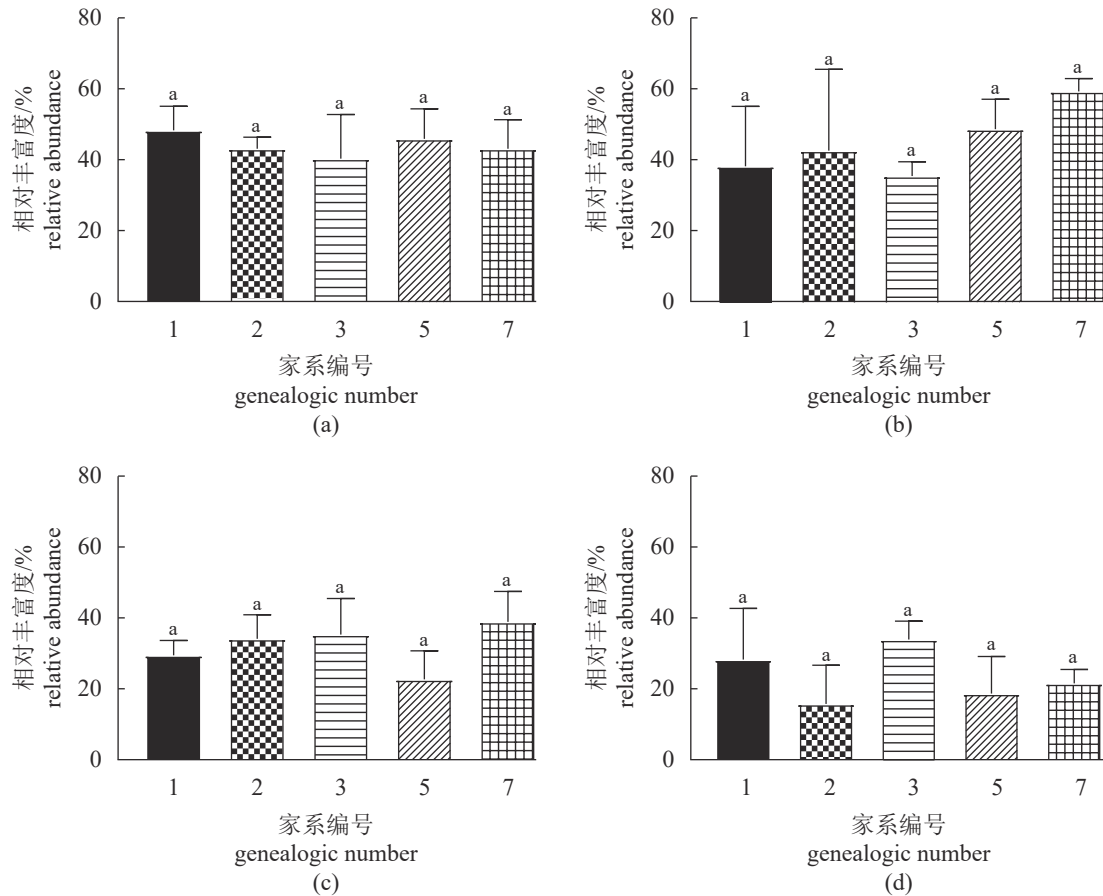


图 4 各家系在饥饿状态和投喂状态下变形杆菌门和拟杆菌门的相对丰度

(a)~(d) 分别是饥饿状态下变形杆菌门的相对丰度, 投喂状态下变形杆菌门的相对丰度, 饥饿状态下拟杆菌门的相对丰度, 投喂状态下拟杆菌门的相对丰度; 数字 1、2、3、5、7 分别 1、2、3、5、7 号家系; 相同字母代表无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 图 6 同。

#### Fig. 4 Relative abundances of Proteobacteria and Bacteroidetes in each strain under starvation and feeding conditions

(a)~(d) are relative abundance of Proteobacteria in each strain under starvation condition, relative abundance of Proteobacteria in each strain under feeding condition, relative abundance of Bacteroidetes in each strain under starvation condition, relative abundance of Bacteroidetes in each strain under feeding condition; numbers 1, 2, 3, 5 and 7 are respectively 1, 2, 3, 5 and 7 families; The same letter means no significant difference ( $P>0.05$ ); the same as fig. 6.

(44.8%) 与拟杆菌门 ((Bacteroidetes))(28.3%)(图 3)。不论是饥饿状态还是投喂状态, 在变形杆菌门或拟杆菌门上, 各级家系间的微生物相对丰度无显著性差异 ( $P>0.05$ )(图 4-a~d); 但是各家系微生物的弧菌丰度有明显变化 (图 5)。如图 6-a,b 所示, 在属水平上, 1 号家系饥饿状态的弧菌相对丰度为 17.7%, 与其他家系存在显著性差异 ( $P<0.05$ ); 2、7 号家系饥饿状态的弧菌相对丰度分别为 15.1%、15.0%, 两者间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 但与其他家系存在显著性差异 ( $P<0.05$ ); 3、5 号家系饥饿状态的弧菌相对丰度均为 3.9%, 两者间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 但与其他家系存在显著性差异 ( $P<0.05$ )。在投喂状态下, 各家系间的弧菌相对丰度无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 胚胎、早期幼体和变态阶段家系间成活率差异大

海胆生活史具有浮游和底栖两个阶段。早期浮游幼体的成活率极低, 能够成功变态存活的个体数量不超过 10%<sup>[10-11]</sup>; 而成体的存活率则较高。大多数海洋无脊椎动物的幼体存活率都很低, 并且其自然种群新增个体数量年度变化波动巨大, 常常相差几个数量级<sup>[12-13]</sup>。早期研究认为饵料、洋流、繁殖策略、浮游期和幼体行为等因素<sup>[14-15]</sup>决定了幼体的成活率, 但这些因素往往无法解释如此大幅度的数量波动<sup>[16]</sup>。这提示有其他因素如遗传可能在幼体早期存活中发挥了重要作用<sup>[17]</sup>。

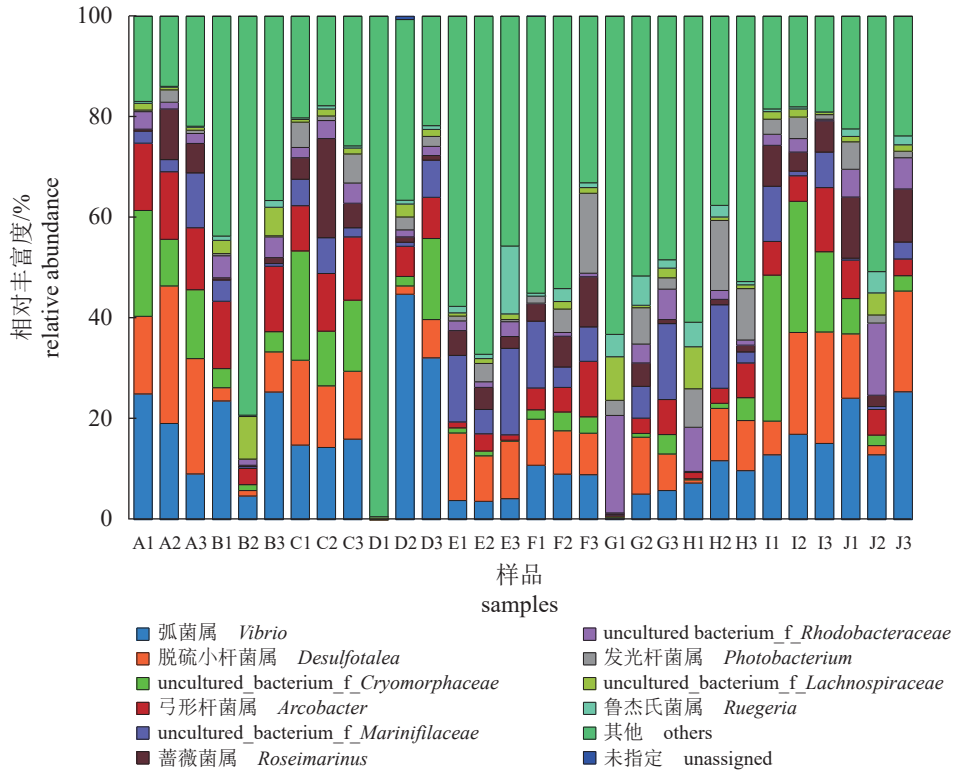


图 5 各家系微生物在属水平上的分布图

Fig. 5 Distribution map of various strains of microbes at genus level

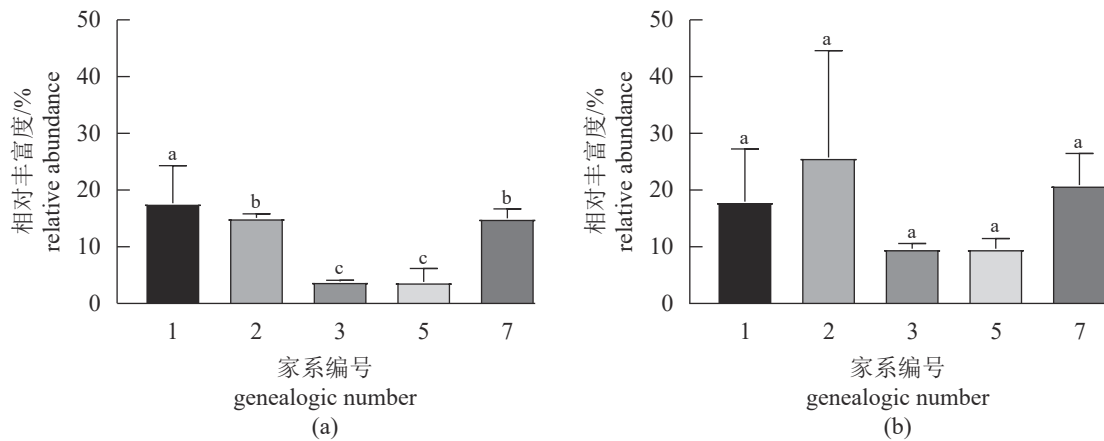


图 6 各家系在饥饿状态和投喂状态下弧菌属的相对丰度

(a) (b) 分别是各家系在饥饿状态下弧菌属的相对丰度, 各家系在投喂状态下弧菌属的相对丰度。

Fig. 6 Relative abundance of *Vibrio* in each genealogy under starvation and feeding condition

(a) (b) are relative abundance of *Vibrio* in each genealogy under starvation condition, relative abundance of *Vibrio* in each genealogy under feeding condition.

本实验构建的家系在培育过程中环境条件基本相同, 但不同家系在孵化率、幼体成活率和变态率间存在显著性差异, 也提示遗传是产生差异的原因之一。

很早就有研究发现双壳类后代比例与孟德尔遗传定律不符<sup>[18-19]</sup>。后来发现海洋无脊椎动物中

广泛存在偏分离现象。Change 等<sup>[20]</sup>在中间球海胆中也发现了 85 个偏分离的标记。一般认为偏分离不是亲本配子繁殖能力缺陷导致, 而是个体携带的有害隐性等位基因在早期发育阶段表达所致<sup>[21-22]</sup>。本实验中, 6 号家系受精率 95% 以上, 受精卵分裂正常, 但是大部分胚胎停留原肠胚阶段, 孵化

率为零。这表明其亲本配子具有受精能力, 胚胎在原肠胚阶段可能表达了有害隐性等位基因导致胚胎死亡。即使孵化率最高的 3 号家系也仅有 58% 胚胎孵化, 显著低于混合群体。这也暗示着各家系都有相当大比例的胚胎表达了有害隐性等位基因。常规紫海胆育苗生产将多个个体的卵子和精子混合后, 再进行授精, 孵化率超过 80%<sup>[3]</sup>。多个亲本配子配对增加遗传物质组合的多样性, 显著降低了有害隐性等位基因纯合几率, 这可能是其孵化率较高的原因。在 25~28 °C, 紫海胆在受精后 24 h 内就能孵化。孵化过程环境因素容易控制, 可推论不同家系孵化率的差异主要是遗传因素导致, 这与 Plough 等<sup>[17]</sup>的观点相符。

有研究表明, 早期发育阶段的致死突变是通过有丝分裂积累的<sup>[21-22]</sup>, 因此其表达与细胞分裂活跃程度有关。海胆胚胎阶段有丝分裂非常活跃, 四腕幼体不仅细胞分裂旺盛, 而且细胞分化程度高, 几乎所有的幼体组织和大部分海胆原基雏形都在该阶段形成<sup>[23-25]</sup>。本实验表明这两个阶段的死亡率高, 可能与活跃的有丝分裂导致有害隐性等位基因表达机会增加有关。长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 近交群体 90% 以上的个体在幼体阶段或变态阶段表达有害隐性等位基因<sup>[26-27]</sup>。紫海胆各家系后期幼体的存活率在 80% 左右, 远高于早期幼体, 表明紫海胆幼体阶段的有害隐性等位基因主要表达在早期幼体。参与细胞分化和组织形成的基因众多、基因网络复杂, 有害隐性等位基因大量表达机会多, 是早期阶段幼体死亡高的原因之一。

海胆变态时伸出初级管足探索附着基, 若条件适宜发育完善的海胆原基从前厅孔外翻, 幼体腕及表皮组织被迅速吸收, 转变为半球形的稚胆。该过程迅速, 常在 1 h 内完成, 细胞间信号通讯频繁而复杂<sup>[23]</sup>, 组织形态变化巨大<sup>[25]</sup>。在变态 3 d 后稚胆重新形成口和肛门, 开始摄食底栖硅藻<sup>[28]</sup>; 同时次级管足形成, 稚胆具有移动能力<sup>[29]</sup>。变态和开口可能也是有害隐性等位基因表达的高峰期之一。开口后的紫海胆极少发生死亡, 在人工培育条件下成活率可长期稳定在 90% 以上, 可以认为有害隐性等位基因基本不表达。

虽然海洋动物具有高度的遗传多样性, 但是其有效繁殖个体数量远远小于种群个体数量<sup>[17, 25, 30]</sup>。中性进化理论认为, 海洋动物极高的突变率是其遗传多样性重要的来源。与相对均质化较高的中上层水体相比, 底栖环境差异化程度大。通常海

胆种群相距 100 km 以上时, 遗传上就存在明显的差异<sup>[31]</sup>。我国紫海胆不同地理种群间存在明显形态差异<sup>[32]</sup>。双壳类幼体随洋流扩散到新环境附着, 其生活环境与亲本生活环境存在差异。由于双壳类成体移动范围非常有限, 因此需要高突变率产生多种基因型以应对不同底栖环境<sup>[17]</sup>。海胆也可能存在类似情况。这虽然能够保证在不同底栖环境中都有后代存活, 但在某一底栖环境必然有大量后代无法适应而死亡, 这可能是海胆变态过程死亡率高的原因。我们数据也表明不同家系幼体的变态差异巨大, 高者接近 80%, 低者不到 10%。开口率的情况也类似。家系的遗传可能是变态率和开口率差异的主要原因。人工育苗环境对不同家系的选择压力存在显著差异。紫海胆苗种生产中, 变态率(包括变态和开口)最高也仅为 20%, 远低于中间球海胆 50% 的变态<sup>[33]</sup>。紫海胆苗种生产尚处于试验阶段, 其亲本都来自野生群体, 未经过人工育苗环境的选择可能是原因之一。而中间球海胆为引进种, 已有 20 多年的养殖历史, 苗种全部来自人工育苗<sup>[4]</sup>。人工育苗已经对中间球海胆进行了强烈的选择, 目前种群已经高度适应人工育苗的变态环境, 所以具有较高的变态率。紫海胆尚处于驯养的初期, 野生群体尚未经过多代的人工育苗环境选择, 其变态率相对较低。

### 3.2 家系间幼胆生长和性腺发育存在显著差异

紫海胆变态后生长比较缓慢, 壳径达到 0.5~0.6 cm 约需 6 周, 但是壳径超过 0.5 cm 生长迅速。本文选取其最快生长阶段进行了生长比较。在家系内部个体间壳径参差, 为了初始壳径一致, 在每个家系中挑选了 0.55~0.6 cm 的个体进行养殖实验。养殖实验开始时, 3 号和 2 号家系大部分个体都超过 0.6 cm, 选取的实验对象是家系中的极小个体; 而其他 3 个家系个体大多在 0.6 cm 左右, 实验对象是中等个体。在海胆苗种生产中, 按照生长速率将苗种群体分为一类苗、二类苗和末类苗。一类苗始终保持较快的生长速率, 而末类苗生长则一直缓慢。虽然 3 号和 2 号家系的生长试验个体属于末类苗, 但其生长率仍高于其他家系的二类苗。这提示家系遗传背景对幼胆生长有很多影响, 而生产中的一类苗很可能具有遗传上的优势。

海胆性腺兼具能量储备和繁殖双重功能<sup>[34]</sup>。本研究发现 3 号家系壳径 1.35 cm 时性腺已经非常



明显, 而其他家系均无性腺。这说明 3 号家系不仅壳径增长快, 而且有多余的营养可以储备在性腺中。生长比较实验采用饱食性投喂方式, 各家系的摄食量和粪便量没有明显差异。这反映了 3 号家系具有较好的消化吸收, 获取的营养不仅能满足壳径生长, 剩余营养还可以积累在性腺中。据报道紫海胆的繁殖生物学最小型为 2.5 cm<sup>[35]</sup>。3 号家系性腺发育明显早于生物学最小型。显微观察表明性腺发育处于早期, 尚不具有繁殖能力, 只能作为能量储备器官。性腺是海胆唯一可食用部分, 3 号家系性腺早发育的能力可能对生产具有重要意义。这也表明紫海胆性腺发育具有改良的潜力。

### 3.3 家系间消化道微生物存在显著性差异

海胆食道分泌黏液包裹食物形成颗粒, 在消化过程中食物颗粒外形保持完整直至排出体外<sup>[36-37]</sup>, 因此食物颗粒的微生物组成与消化道壁生物组成存在明显差异<sup>[38]</sup>。放射线造影表明紫球海胆消化道排空时间为 78 h<sup>[28]</sup>, 根据解剖观察紫海胆的排空时间约为 72 h。投喂样品与饥饿样品中变形菌门和拟杆菌门丰度存在显著变化。

肠道微生物在宿主的物质代谢、转运和信号传递中具有重要作用。肠道微生物能够代谢、转运多种碳水化合物<sup>[39-40]</sup>, 并且能够合成多种神经递质, 影响神经和内分泌从而调节肠道功能<sup>[41-45]</sup>。微生物的代谢物还能够通过三磷酸肌醇调节组蛋白乙酰酶的活性影响宿主肠道蛋白的乙酰化<sup>[46]</sup>。变形菌门是海胆肠道壁微生物的主要成员<sup>[38, 47-48]</sup>, 而拟杆菌门则是海胆食物颗粒中的主要微生物<sup>[47]</sup>。拟杆菌门参与了大分子有机物的降解, 包括蛋白和多糖<sup>[49]</sup>。复合多糖能够抑制消化酶活性<sup>[49]</sup>。海胆自身消化酶有限<sup>[48]</sup>, 拟杆菌门具有丰富的消化碳水化合物的酶类, 能够与真核生物的消化酶互补, 在消化营养物质中具有重要作用<sup>[49]</sup>。尤其是拟杆菌门微生物能够消化复合多糖等抗营养多聚物, 对海胆消化和吸收具有积极作用<sup>[49]</sup>。

肠道微生物分析表明, 3 号家系变形菌门丰度少而拟杆菌门丰度高, 这种微生物组成可能更利于海胆营养物质的消化和吸收, 因此 3 号家系的幼胆的生长速率最高。相反, 幼胆生长速度率最差的 5 号家系的变形菌门丰度高, 而拟杆菌门丰度低。海胆消化道微生物组成不依赖于外界环境具有独特性<sup>[47]</sup>, 而且不同种类海胆消化道微生物

组成具有种属特异性<sup>[38]</sup>。3 号家系与 5 号家系间微生物组成的差异表明, 海胆同一物种的不同遗传背景个体的微生物组成也存在差异, 且与其生长具有密切关系<sup>[47, 50]</sup>。

宿主通过免疫和营养依赖等方式对选择肠道微生物种类, 造成肠道微生物的种类和数量的差异, 并且微生物在肠道的分布具有显著的空间分布特征<sup>[41]</sup>。宿主遗传差异导致免疫能力和肠道分泌物不同, 因此对肠道微生物种类进行差异性选择, 导致微生物种类随着宿主遗传变化而变化<sup>[51-53]</sup>。例如, 人类肠道微生物组成具有高度个体特异化, 个体间差异程度远超同一个体不同发育阶段的差异<sup>[54]</sup>。而且个体间的微生物存在明显的 SNP 差异, 存在个体特异的菌株且能长时间稳定存在<sup>[55]</sup>。此外, 基于 16S *rRNA* 测序的肠道微生物种类分析无法有效进行菌株水平的区分<sup>[9]</sup>; 而肠道微生物大多数物种都包含多种菌株, 而且存在宿主个体差异<sup>[55-56]</sup>。因此本实验不同家系肠道微生物组成可能存在更多菌株层次的差异。

拟杆菌门中的弧菌属种类主要存在海胆食物颗粒和粪便中<sup>[47]</sup>, 其蛋白和脂质代谢水平高于变形菌门种类, 被认为参与了海胆脂质和脂肪酸生物合成过程<sup>[57-59]</sup>。3 号家系的弧菌属丰度低于 2 号家系, 但是 3 号家系不仅生长速度高于 2 号家系, 其性腺发育状况也高于 2 号家系。这与弧菌属利于海胆脂质和脂肪酸合成的结论不一致。在食物充足的情况下, 食物通过肠道速率较快, 不利于微生物定植于肠道<sup>[8]</sup>。这可能是导致饥饿状态下家系间弧菌的丰度存在差异, 而投喂状态下家系间弧菌丰度不存在差异的原因。除弧菌属外, 其他鉴定的各属微生物在不同家系间没有显著性差异, 而未鉴定种类的微生物可能对家系生长差异具有一定贡献。

## 4 总结

紫海胆家系间在孵化率、幼体存活率、变态率、稚胆开口率等方面存在差异, 遗传因素在紫海胆早期发育阶段死亡具有重要作用, 遗传改良在提高早期发育阶段成活率和提高人工苗种生产效率中具有巨大潜力。建议在紫海胆苗种生产过程中采用 1 雌 1 雄配对授精的方法, 以提高遗传选择强度, 加快紫海胆育苗驯化过程。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [ 1 ] Qin C, Chen P, Sara G, *et al.* Ecological implications of purple sea urchin (*Heliocidaris crassispina*, Agassiz, 1864) enhancement on the coastal benthic food web: evidence from stable isotope analysis[J]. *Marine Environmental Research*, 2020, 158: 104957
- [ 2 ] 杨章武, 李正良, 郑雅友, 等. 紫海胆人工育苗技术的研究[J]. *台湾海峡*, 2001, 20(1): 32-36.  
Yang Z W, Li Z L, Zheng Y Y, *et al.* A study on artificial rearing of larvae and juveniles of *Anthocidaris crassispina*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2001, 20(1): 32-36 (in Chinese).
- [ 3 ] 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 *Heliocidaris crassispina*[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science)*, 2021, 26(6): 481-488 (in Chinese).
- [ 4 ] Lawrence J M, Zhao C, Chang Y Q. Large-scale production of sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*) seed in a hatchery in China[J]. *Aquaculture International*, 2019, 27(1): 1-7.
- [ 5 ] Xu W T, Chen S L. Genomics and genetic breeding in aquatic animals: progress and prospects[J]. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2017, 4(3): 305-318.
- [ 6 ] 常亚青, 赵冲, 胡方圆, 等. 福建沿海试养中间球海胆的初步研究[J]. *南方水产科学*, 2020, 16(3): 1-9.  
Chang Y Q, Zhao C, Hu F Y, *et al.* Aquaculture of *Strongylocentrotus intermedius* in Fujian coastal areas[J]. *South China Fisheries Science*, 2020, 16(3): 1-9 (in Chinese).
- [ 7 ] Metaxas A. Larval ecology of echinoids[J]. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 2013, 38: 69-81.
- [ 8 ] Prim P, Lawrence J M. Utilization of marine plants and their constituents by bacteria isolated from the gut of echinoids (Echinodermata)[J]. *Marine Biology*, 1975, 33(2): 167-173.
- [ 9 ] Jiang H Y, Chen W, Su L, *et al.* Impact of host intraspecies genetic variation, diet, and age on bacterial and fungal intestinal microbiota in tigers[J]. *Microbiology-Open*, 2020, 9(7): e1050.
- [10] Highsmith R C, Emlet R B. Delayed metamorphosis: effect on growth and survival of juvenile sand dollars (Echinoidea: Clypeasteroidea)[J]. *Bulletin of Marine Science*, 1986, 39(2): 347-361.
- [11] Johnson P T. The coelomic elements of sea urchins (*Strongylocentrotus*) I. The normal coelomocytes; their morphology and dynamics in hanging drops[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1969, 13(1): 25-41.
- [12] Roughgarden J, Gaines S, Possingham H. Recruitment dynamics in complex life cycles[J]. *Science*, 1988, 241(4872): 1460-1466.
- [13] Llodra E R. Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates[J]. *Advances in Marine Biology*, 2002, 43: 87-170.
- [14] Zhang W J, Chen X H, Jiang H J, *et al.* Interactive effects of family and stocking density on survival and growth of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2019, 50(5): 969-982.
- [15] Cushing D H. Plankton production and year-class strength in fish populations: an update of the match/mismatch hypothesis[J]. *Advances in Marine Biology*, 1990, 26: 249-293.
- [16] Houde E D. Emerging from Hjort's Shadow[J]. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 2008, 41(41): 53-70.
- [17] Plough L V, Shin G, Hedgecock D. Genetic inviability is a major driver of type III survivorship in experimental families of a highly fecund marine bivalve[J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(4): 895-910.
- [18] Katsuhiko T. Electrophoretic variants of leucin aminopeptidase of the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould)[J]. *Bull. National Pearl Res. Lab*, 1975(19): 2152-2156.
- [19] Wilkins N P, Mathers N F. Enzyme polymorphisms in the European oyster, *Ostrea edulis* L.[J]. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1973, 4(1): 41-47.
- [20] Chang Y Q, Ding J, Xu Y H, *et al.* SLAF-based high-density genetic map construction and QTL mapping for major economic traits in sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 820.
- [21] Launey S, Hedgecock D. High genetic load in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Genetics*, 2001, 159(1): 255-265.

- [22] Li Y G, He M X. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in *Pinctada fucata* using restriction-site associated DNA sequencing[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111707.
- [23] Gosselin P, Jangoux M. From competent larva to exotrophic juvenile: a morphofunctional study of the perimetamorphic period of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoida)[J]. *Zoomorphology*, 1998, 118(1): 31-43.
- [24] Paganos P, Voronov D, Musser J M, et al. Single-cell RNA sequencing of the *Strongylocentrotus purpuratus* larva reveals the blueprint of major cell types and nervous system of a non-chordate deuterostome[J]. *eLife*, 2021, 10: e70416.
- [25] Smith M M, Cruz Smith L, Cameron R A, et al. The larval stages of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*[J]. *Journal of Morphology*, 2008, 269(6): 713-733.
- [26] Plough L V. Genome-wide analysis of genetic load and larval mortality in a highly fecund marine invertebrate, the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[D]. Los Angeles: University of Southern California, 2011: 2233-2238.
- [27] Plough L V, Hedgecock D. Quantitative trait locus analysis of stage-specific inbreeding depression in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Genetics*, 2011, 189(4): 1473-1486.
- [28] Holland N D. Digestive system in regular sea urchins[J]. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 2020, 43: 147-163.
- [29] Thompson J R, Paganos P, Benvenuto G, et al. Post-metamorphic skeletal growth in the sea urchin *Paracentrotus lividus* and implications for body plan evolution[J]. *EvoDevo*, 2021, 12(1): 3.
- [30] Hedgecock D, Pudovkin A I. Sweepstakes reproductive success in highly fecund marine fish and shellfish: a review and commentary[J]. *Bulletin of Marine Science*, 2011, 87(4): 971-1002.
- [31] Morgan L E, Shepherd S A. Population and spatial structure of two common temperate reef herbivores: abalone and sea urchins[M]//Kritzer J P, Sale P F. *Marine Metapopulations*. Amsterdam: Academic Press, 2006: 205-246.
- [32] Luo H X, Chen P M, Li X G, et al. Analysis on morphological variations among six wild groups of *Anthocidaris crassispina* from South China Sea[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2015, 16(12): 2774-2778, 2808.
- [33] 王波, 孙丕喜, 张朝晖, 等. 中间球海胆生产性育苗高产试验[J]. *中国水产*, 2004(z1): 264-265.
- Wang B, Sun P X, Zhang Z H, et al. High yield experiment of productive rearing of sea urchin[J]. *Chinese Fisheries*, 2004(z1): 264-265 (in Chinese).
- [34] Lawrence J M. *Sea urchins: biology and ecology*[M]. Amsterdam: Academic press, 2013.
- [35] 高绪生, 常亚青. *中国经济海胆及其增殖* [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- Gao X S, Chang Y Q. *Chinese economic sea urchin and its culture*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999 (in Chinese).
- [36] Sauchyn L K, Lauzon-Guay J S, Scheibling R E. Sea urchin fecal production and accumulation in a rocky subtidal ecosystem[J]. *Aquatic Biology*, 2011, 13(3): 215-223.
- [37] Holland N D. Digestive system[J]. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 2013, 38: 119-133.
- [38] Hakim J A, Koo H, Dennis L N, et al. An abundance of Epsilonproteobacteria revealed in the gut microbiome of the laboratory cultured sea urchin, *Lytechinus variegatus*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1047.
- [39] Greenblum S, Carr R, Borenstein E. Extensive strain-level copy-number variation across human gut microbiome species[J]. *Cell*, 2015, 160(4): 583-594.
- [40] Zhu A A, Sunagawa S, Mende D R, et al. Inter-individual differences in the gene content of human gut bacterial species[J]. *Genome Biology*, 2015, 16(1): 82.
- [41] Donaldson G P, Lee S M, Mazmanian S K. Gut biogeography of the bacterial microbiota[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(1): 20-32.
- [42] Segata N, Waldron L, Ballarini A, et al. Metagenomic microbial community profiling using unique clade-specific marker genes[J]. *Nature Methods*, 2012, 9(8): 811-814.
- [43] Sekirov I, Russell S L, Antunes L C M, et al. Gut microbiota in health and disease[J]. *Physiological Reviews*, 2010, 90(3): 859-904.
- [44] Shapiro B J, Friedman J, Cordero O X, et al. Population genomics of early events in the ecological differentiation of bacteria[J]. *Science*, 2012, 336(6077): 48-51.
- [45] Sharon I, Kertesz M, Hug L A, et al. Accurate, multi-kb

- reads resolve complex populations and detect rare microorganisms[J]. *Genome Research*, 2015, 25(4): 534-543.
- [46] Sanders J G, Beichman A C, Roman J, *et al.* Baleen whales host a unique gut microbiome with similarities to both carnivores and herbivores[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 8285.
- [47] Hakim J A, Koo H, Kumar R, *et al.* The gut microbiome of the sea urchin, *Lytechinus variegatus*, from its natural habitat demonstrates selective attributes of microbial taxa and predictive metabolic profiles[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(9): fiw146.
- [48] Nelson L, Blair B, Murdock C, *et al.* Molecular analysis of gut microflora in captive-raised sea urchins (*Lytechinus variegatus*)[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, 41(5): 807-815.
- [49] Thomas F, Hehemann J H, Rebuffet E, *et al.* Environmental and gut *Bacteroidetes*: the food connection[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 93.
- [50] Yao Q C, Yu K F, Liang J Y, *et al.* The composition, diversity and predictive metabolic profiles of bacteria associated with the gut digesta of five sea urchins in Luhuitou fringing reef (northern South China Sea)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1168.
- [51] Ley R E, Hamady M, Lozupone C, *et al.* Evolution of mammals and their gut microbes[J]. *Science*, 2008, 320(5883): 1647-1651.
- [52] Nishida A H, Ochman H. Rates of gut microbiome divergence in mammals[J]. *Molecular Ecology*, 2018, 27(8): 1884-1897.
- [53] Song S J, Sanders J G, Delsuc F, *et al.* Comparative analyses of vertebrate gut microbiomes reveal convergence between birds and bats[J]. *MBio*, 2020, 11(1): e02901-19.
- [54] Costello E K, Lauber C L, Hamady M, *et al.* Bacterial community variation in human body habitats across space and time[J]. *Science*, 2009, 326(5960): 1694-1697.
- [55] Schloissnig S, Arumugam M, Sunagawa S, *et al.* Genomic variation landscape of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2013, 493(7430): 45-50.
- [56] Faith J J, Guruge J L, Charbonneau M, *et al.* The long-term stability of the human gut microbiota[J]. *Science*, 2013, 341(6141): 1237439.
- [57] Leo R F, Parker P L. Branched-chain fatty acids in sediments[J]. *Science*, 1966, 152(3722): 649-650.
- [58] Cook E J, Bell M V, Black K D, *et al.* Fatty acid compositions of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutritional implications[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 255(2): 261-274.
- [59] Arafa S, Chouaibi M, Sadok S, *et al.* The influence of season on the gonad index and biochemical composition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* from the Gulf of Tunis[J]. *The Scientific World Journal*, 2012, 2012: 815935.

## Comparison of early development, metamorphosis, growth and intestinal microbiota in different families of *Heliocidaris crassispinas*

ZHONG Youping<sup>1,2</sup>, FENG Wei<sup>1,2</sup>, ZHANG Lili<sup>1,2</sup>, HUANG Shiyu<sup>1,2</sup>, WANG Guodong<sup>1,2\*</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** In order to compare the differences of larva growth and development among different families of *Heliocidaris crassispinas*, 9 full-sibling families of *H. crassispinas* were constructed. The important indicators of larval growth and development, including fertilization rate, hatching rate, larva survival rate, metamorphosis rate and initial feeding rate, were compared in the 9 families. The results showed that the fertilization rate of every family was over 95%, without no significant difference ( $P>0.05$ ), but there are significant differences in other indicators in 9 families ( $P<0.05$ ). The highest hatching rate, early larval survival rate, late larval survival rate, metamorphosis rate and initial feeding rate are family No.3 (58%), family No.1 (83%), family No.4 (90%), family No.2 (75%) and family No.9 (100%), respectively, and the lowest are family No. 6 (0%), family No.3 (42%), family No.2 (76%), family No. 9 (6%) and family No.5 (24.5%), respectively. The growth rate of family No. 3 is 146%, which is the fastest in all families. While, the slowest one is No.5 families (76%). At the end of the experiment, the gonad development of family No.3 was obvious; the other families were not, yet. The Proteobacteria proportion of family No.3 is high, but Bacteroidetes proportion is low. The proportion of the two phyla of family No.5 is opposite to that of family No.3. The results show that there are differences in production traits among different families of *H. crassispinas*, which has the potential for breeding and improving, and this study accumulate relevant data for the cultivation of *H. crassispinas*.

**Key words:** *Heliocidaris crassispinas*; genealogy; early development; growth; metamorphosis

**Corresponding author:** WANG Guodong. E-mail: gdwang@jmu.edu.cn, gdongwang@163.com

**Funding projects:** Blue Granary Science and Technology Innovation under the National Key R&D Program (2018YFD0901605); Guiding Project of Fujian Provincial Department of Science and Technology (2020N0014)