



盐度对紫海胆受精、胚胎发育、幼体生长、摄食和变态的影响

梁其旭, 张丽莉, 黄世玉, 钟幼平, 谢仰杰, 王国栋*

(集美大学水产学院, 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 为研究盐度对紫海胆受精、孵化、胚胎发育、浮游幼体生长发育、摄食和变态的影响, 本研究采用实验室培养幼体的方法, 设置了不同盐度(15、20、25、30、35和40)的水体, 对紫海胆的胚胎和浮游幼体进行实验。结果显示, 紫海胆在盐度20~35范围内的受精率超过95%, 但在盐度15和40下无法受精; 盐度30下胚胎发育最快, 孵化率显著高于其他盐度, 为89.8%; 浮游幼体期适宜盐度为25~35, 最适盐度为30, 盐度20和40下幼体仅能发育至八腕幼体I期, 而盐度15下幼体发育受抑制, 一直停留在四腕幼体阶段, 7d后死亡; 盐度为15~40时的八腕IV期幼体在72h的变态率超过21.4%, 其中盐度30下幼体变态率最高, 为54.7%, 且变态速率最快, 能在24h时出现稚胆。浮游幼体在盐度35时前侧腕和口后腕生长最快, 胃面积在盐度30时最大, 摄食率在盐度30时最大。研究表明, 盐度对紫海胆的早期发育有较显著的影响。本研究能够为紫海胆人工育苗培育提供基础资料。

关键词: 紫海胆; 盐度; 受精; 胚胎发育; 幼体生长; 摄食; 变态

中图分类号: Q 132.8; 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), 分布于我国东南沿海, 国外仅分布于日本南部沿海^[1], 是我国南方海域最重要的经济海胆。性腺是海胆唯一可食部位, 称为海胆黄。紫海胆的海胆黄味道鲜美, 具有较高的营养价值和药用价值。

我国主要养殖种类是中间球海胆 (*Strongylocentrotus intermedius*)^[2], 与之相比, 紫海胆具有耐高温、育苗周期短等优势^[3-4]。中间球海胆繁殖盛期为9—11月^[5], 与紫海胆繁殖盛期4—6月不同^[1], 进行紫海胆人工养殖可以弥补鲜活海胆黄供给的市场空档期。因此, 近年来紫海胆的需求量逐年增大, 且天然海胆的资源因过度捕捞难以满足市

场的需求, 发展紫海胆养殖受到重视, 迫切需要规模化的紫海胆苗供给。

盐度是影响海洋生物存活、生长发育的重要因素^[6]。无脊椎动物可以利用胞外和胞内两种渗透调节系统应对盐度变化引起的渗透胁迫。胞外调节系统通过专门的排泄器官来调节体液中的水和电解质, 胞内调节系统通过维持细胞内渗透压浓度与细胞外的平衡^[7]。棘皮动物没有专门的排泄器官, 组织的渗透压随着外部盐度的变化而迅速变化, 是狭盐动物^[8]。海胆的体表和围口鳃直接接触海水, 反口面的筛板与水管系统相通, 外界水体可经筛板上的小孔直接进入并充满整个水管系统^[9], 接触外界水体的面积较其他生物更多, 因此对盐度变化较敏感。例如, 刺冠海胆 (*Dia-*

收稿日期: 2021-03-24 修回日期: 2021-05-11

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0901605)

第一作者: 梁其旭 (照片), 从事水产生物遗传与育种研究, E-mail: 295320385@qq.com

通信作者: 王国栋, 从事水产生物遗传与育种研究, E-mail: gdongwang@163.com



dema setosum) 在盐度低于 28 或高于 37 时就无法存活和发育^[10]。北方球海胆 (*S. droebachiensis*) 适盐范围为 14~28^[11]。杂色松海胆 (*Lytechinus variegatus*) 的浮游幼体仅能在 27.5~35.0 的盐度中正常生长^[12]。

紫海胆的繁殖季节高温多雨, 盐度变化较大, 因此探讨盐度对紫海胆早期发育的影响具有重要意义。科研人员先后对紫海胆人工育苗^[4, 13-14]、成体养殖^[15-16]以及饵料^[17-18]等方面进行了实验研究, 然而盐度对紫海胆早期发育的影响尚未见报道。本研究在不同盐度下进行了紫海胆受精率、胚胎发育、浮游幼体生长发育、摄食率和变态率的实验, 以期对紫海胆人工育苗培育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 亲胆获取

实验所用的紫海胆亲胆取自福建省漳州市东山海域, 由潜水员采捕获得。采捕后经 8 h 运至集美大学海水试验场, 暂养于水泥池中。保持养殖水体水温为 28~29 °C, 盐度为 29.9~30.3, pH 为 7.9~8.1, 通过投喂海带和牡蛎进行促熟, 2 周后供实验用。

1.2 精卵采集

从亲胆围口膜处注射 1~2 mL 浓度为 0.5 mol/L 的 KCl 溶液 (3.727 5 g KCl 溶于至 100 mL 双蒸水中) 诱导产卵和排精。注射后将每枚海胆反口面朝上单独放置于干燥的培养皿上, 待其产卵、排精。分别收集精子和卵子, 操作中严格禁止意外受精。

1.3 受精、孵化及幼体培育

受精孵化实验于 1 000 mL 烧杯中进行。在每个烧杯中加入相应盐度的海水 500 mL, 用不同胶头滴管分别吸取精卵依次加入烧杯中, 轻轻摇动海水, 确保精卵充分接触, 受精后 1 h 取 100 粒以上卵子测定受精率。同时将每个烧杯的部分卵子转移到 12 孔培养板, 每孔放置 10 个卵子。在受精后 2.5、18 和 27 h, 使用倒置生物显微镜观察培养板中受精卵胚胎发育情况, 并统计孵化率。期间每隔 8 h 用 2 mL 一次性胶头滴管将受精卵移至含新鲜实验海水的孔板中, 以保证受精卵所处水环境的稳定。

幼体培育于 12 孔板中进行, 为确保实验环境的一致性, 将孔板放置于 28 °C 的培养箱中。

在培养孔中先加入 1 mL 相应盐度的海水, 再用胶头滴管吸取 1 个盐度 30 培养且活力较好的四腕幼体放入。加入幼体后, 更换 3 次海水以保证盐度梯度, 注意吸取海水时不要触碰到幼体。牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 新鲜藻液经 4 000 r/min 离心 7 min 后, 用相应盐度海水重新悬浮至 1×10^6 个/mL 的浓度投喂幼体。每日投饵 2 次, 四腕期投喂量为 2×10^4 个/mL, 六腕期投喂量为 3×10^4 个/mL, 八腕期投喂量为 4×10^4 个/mL。每天换水 1 次, 换水时将幼体用胶头滴管吸出移至含新鲜海水的孔板中, 每隔 48 h 使用倒置生物显微镜进行观察, 在第 1、3、5 和 7 天测量口后腕、前侧腕的长度和胃面积的长径和短径, 并记录第 3、5、7、9、11 和 13 天的幼体发育形态。实验过程中操作人员严格遵守实验动物相关伦理规范。

1.4 极端盐度对紫海胆精卵受精能力的影响

将精子和卵子分别吸取至盐度 15、30 和 40 的海水中处理 30 min 后进行组合受精, 为了便于描述, 将盐度 15 海水处理精卵的受精组合计为卵₁₅×精₁₅, 其他以此类推。低盐受精实验将卵₃₀×精₁₅、卵₁₅×精₁₅、卵₁₅×精₃₀和卵₃₀×精₃₀分别于盐度 15 和 30 海水中培养。高盐受精实验将卵₃₀×精₄₀、卵₄₀×精₄₀、卵₄₀×精₃₀和卵₃₀×精₃₀分别于盐度 30 和 40 海水中培养。受精率统计方法同“受精、孵化及幼体培育”。

1.5 浮游幼体摄食率和变态率

将 30 盐度培养的四腕幼体和八腕幼体 (I 期) 转移至相应盐度的过滤海水饥饿 3 h 后, 吸取至 12 孔板后于黑暗环境中进行摄食率实验。每孔加 1 mL 海水培养 1 只浮游幼体, 投饵方法与“受精、孵化及幼体培育”一致, 为了方便测定, 将实验投喂量提升至 8×10^4 个/mL。用 IA1000 全自动藻类计数仪测定微藻浓度, 测定初始和 12 h 后每孔中的微藻浓度, 以未投放幼体的孔作为空白对照以修正角毛藻浓度变化。

变态率实验于 6 孔板中进行, 分别在每孔加入 10 只盐度 30 培养的 IV 期八腕幼体, 连续 3 次换水以保证盐度梯度, 投饵方法与“受精、孵化及幼体培育”一致, 并放入一张 2 cm×2 cm 附着有底栖硅藻的 PVC 薄膜, 便于幼体附着变态, 72 h 后显微镜观察幼体变态情况, 并统计变态率。

1.6 不同盐度海水配制

采用 Formula 礁岩海水素与超滤海水 (滤膜孔

径为 0.01 μm) 配制高盐海水, 取纯净水与超滤海水配制低盐度水, 配制后静止 0.5 h, 使用盐度计进行标定。盐度实验设置 6 个盐度梯度, 分别为 15、20、25、30、35 和 40。每个实验以 1 板为 1 组, 每个盐度梯度设置 3 组生物学重复。

1.7 发育标志及指标计算

卵子受精膜举起并发生第 1 次卵裂作为受精标志。幼体具有上浮能力作为孵化标志。受精 27 h 后仍沉在底部看作死亡个体。显微观察时测量幼体的口后腕、前侧腕的长度和胃的长径和短径。出现后背腕幼体为六腕幼体; 刚发育出口前腕的幼体为 I 期八腕幼体; 具有前、后肩片的八腕幼体为 II 期八腕幼体; 前庭复合体的出现代表幼体发育至 III 期八腕幼体; 前庭复合体增大挤压了幼体的胃时, 为 IV 期八腕幼体; 腕脱落, 幼棘生成, 体呈半球形时作为变态完成标志。

指标计算公式:

受精率 (fertilization rate, %)=(受精卵数/总卵数) $\times 100\%$;

孵化率 (hatching rate, %)=(孵化数/受精卵数) $\times 100\%$;

胃面积 (stomach area, μm^2)=(长径/2) \times (短径/2) $\times \pi$;

摄食率 [ingestion rate, 个/(只 \cdot h)]=(初始微藻浓度-终末微藻浓度)/(幼体数 \times 时间);

变态率 (metamorphosis rate, %)=(稚海胆数/总幼体数) $\times 100\%$ 。

1.8 数据分析

采用 Excel 2018 软件对原始数据进行初步整理, 再用 SPSS 22.0 统计软件对受精率、孵化率、前腕长、后腕长、胃面积、摄食率和变态率进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan 氏多重比较分析。对极端盐度下精卵的受精能力进行双因素方差分析 (Two-Way ANOVA)。使用 Ridit 分析将胚胎发育及幼体形态学发育转化成连续数据作 t 检验, 分析其显著性。 $P < 0.05$ 为差异显著, 使用 GraphPad Prism (版本 8.0.1) 软件绘图。

2 结果

2.1 盐度对紫海胆受精和胚胎发育的影响

盐度对紫海胆受精率和孵化率的影响在盐度 20、25、30 和 35 时, 紫海胆的受精率接

近 100%, 相互之间差异不显著 ($P > 0.05$)。盐度 15 和 40 的受精率为 0, 与其他盐度组存在显著差异 ($P < 0.05$) (图 1)。盐度 30 的孵化率最高, 为 89.77%, 显著高于其他 3 个盐度 ($P < 0.05$); 盐度 20 的孵化率最低, 为 46.65%, 显著低于其他 3 个盐度 ($P < 0.05$), 盐度 25 和 35 的孵化率居中, 二者间没有显著差异 ($P > 0.05$) (图 2)。

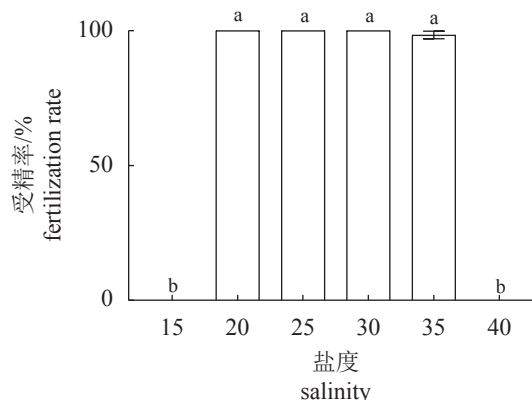


图 1 不同盐度对紫海胆受精率的影响

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 图 2 同。

Fig. 1 Effects of salinity on the fertilization rate of *H. crassispina*

Different letters mean significant differences ($P < 0.05$), the same for Fig. 2.

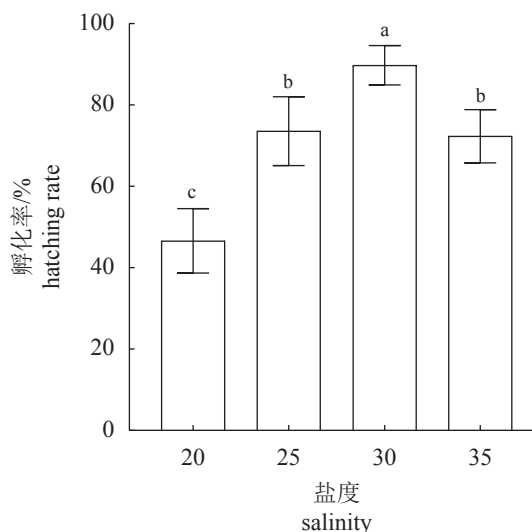


图 2 不同盐度对紫海胆孵化率的影响

Fig. 2 Effects of salinity on the hatching rate of *H. crassispina*

紫海胆精卵在盐度 15 下活力的差异 经盐度 15 海水培育的精卵受精能力均受到不同程度的影响(图 3), 在盐度 15 海水中, 4 组的受精率均为 0, 显著低于盐度 30 海水中 4 组的受精率

($P < 0.05$)。在盐度 30 海水中, 卵₁₅×精₃₀ 的受精率为 60.34%, 显著高于其他 2 组 ($P < 0.05$), 但显著低于卵₃₀×精₃₀, 卵₃₀×精₁₅ 与卵₁₅×精₁₅ 的受精率无显著差异 ($P > 0.05$)。在盐度 15 海水中培育时, 盐度对精子活力的影响大于卵子。

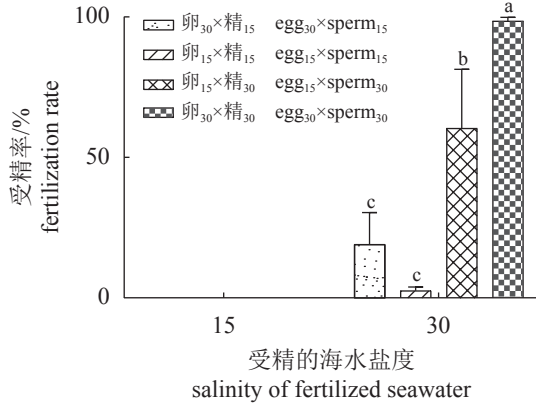


图 3 紫海胆精卵经 15 盐度处理 30 min 后的受精率
不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Fig. 3 Fertilization rate of *H. crassispina* sperm and egg under salinity 15 treatment for 30 min

Different letters mean significant differences between different groups ($P < 0.05$), the same below.

紫海胆精卵在盐度 40 下活力的差异 经盐度 40 海水培育的精卵活力均受到不同程度的影响 (图 4), 在盐度 40 海水中, 4 组的受精率为 0, 显著低于盐度 30 海水中 4 组的受精率 ($P < 0.05$), 在盐度 30 时, 卵₄₀×精₃₀ 的受精率为 47.03%, 显著高于其他 2 组 ($P < 0.05$), 但显著低于卵₃₀×精₃₀, 卵₃₀×精₄₀ 与卵₄₀×精₄₀ 间的受精率无显著差异 ($P > 0.05$)。在盐度 40 海水中培育时, 盐度对精子活力的影响

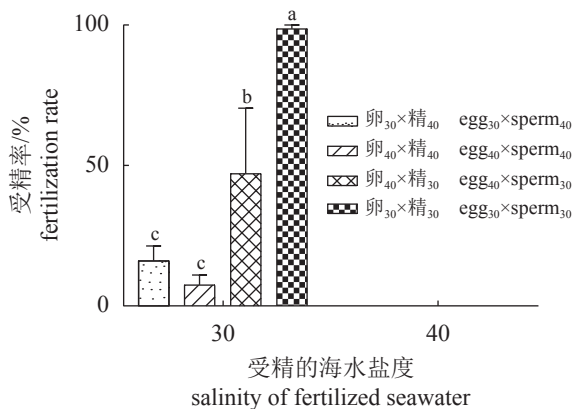


图 4 紫海胆精卵经 40 盐度处理 30 min 后的受精率
Fig. 4 Fertilization rate of *H. crassispina* sperm and egg under salinity 40 treatment for 30 min

大于卵子。

盐度对紫海胆受精卵发育的影响 盐度 30 下, 受精卵发育最快, 显著高于盐度 20 和 35 时 ($P < 0.05$), 受精后 1 h, 已有 92.61% 的受精卵发育至四细胞期, 2.5 h 时全部发育至多细胞期, 且在 27 h 时出现 68.86% 的二腕幼体。盐度 20 时受精卵发育最慢, 显著低于盐度 25 和 35 时 ($P < 0.05$), 92.30% 的受精卵在 2.5 h 时才发育至四细胞期, 27 h 时只有 46.65% 的棱柱幼体, 其余部分仍未孵化。盐度 25 和 35 下的受精卵发育速率无显著差异 ($P > 0.05$), 在 2.5 h 时分别有 96.26% 和 97.38% 的胚胎发育至多细胞期, 在 27 h 时分别出现 27.80% 和 23.04% 的二腕幼体 (图 5)。盐度 15 和 40 时, 受精卵均未卵裂。

2.2 盐度对紫海胆浮游幼体发育的影响

盐度对紫海胆浮游幼体口后腕发育的影响 第 1 天放入的四腕幼体口后腕为 $(469.75 \pm 9.44) \mu\text{m}$, 经不同盐度培育后, 在第 3、5、7 天进行显微观察并测量其变化。在第 3 天时, 盐度 35 的幼体腕最长, 显著高于盐度 15、20、25 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 30 次之, 显著高于盐度 15、20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 时幼体的腕最短, 显著低于盐度 20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 20 和 40 间腕长无显著差异 ($P > 0.05$)。在第 5 天时, 盐度 35 幼体的腕最长, 显著高于其他 5 组 ($P < 0.05$), 盐度 30 次之, 显著高于盐度 15、20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 40 的腕显著长于盐度 15 和 20 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 的腕最短, 显著低于盐度 20 组 ($P < 0.05$)。在第 7 天时, 盐度 35 时幼体的腕最长, 显著高于盐度 15、20、25 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 30 次之, 显著高于盐度 15 和 20 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 的腕最短, 显著低于盐度 20 组 ($P < 0.05$), 盐度 20、25 和 40 组间的腕长无显著差异 ($P > 0.05$)。在培育过程中, 除盐度 15 组外, 其他盐度下幼体的口后腕都有生长, 而盐度 15 没有生长, 还出现了萎缩 (图 6)。

盐度对紫海胆浮游幼体前侧腕发育的影响 第 1 天, 放入的四腕幼体前侧腕为 $(323.63 \pm 10.46) \mu\text{m}$, 经不同盐度培育后, 分别在第 3、5、7 天进行显微观察并测量其变化。在第 3 天时, 盐度 25、30 和 35 组幼体的腕较长, 之间差异不显著 ($P > 0.05$), 与其他 3 组有显著差异 ($P < 0.05$), 盐度 15 组的腕最短, 显著低于盐度 20 组 ($P <$

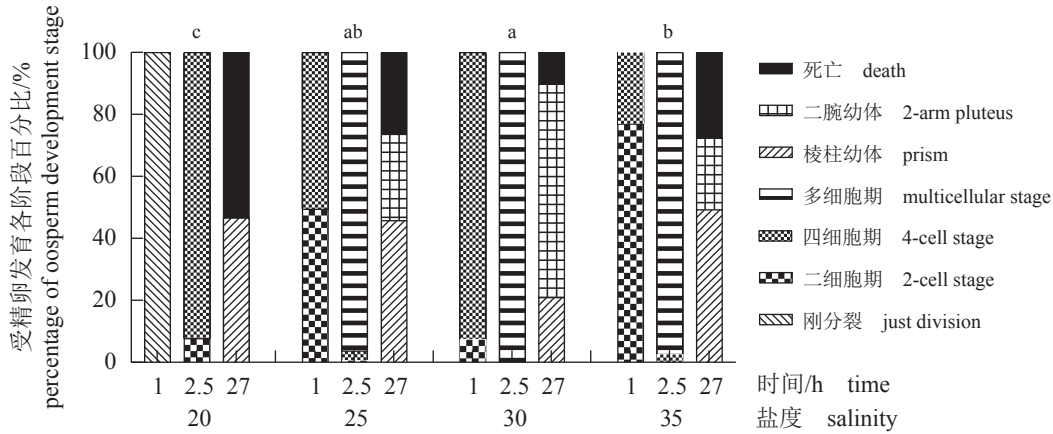


图 5 不同盐度下紫海胆受精卵的胚胎发育

不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$), 图 9 同。

Fig. 5 Effects of salinity on the embryonic development of *H. crassispina* zygote

Different letters mean significant differences between groups ($P < 0.05$), the same for Fig. 9.

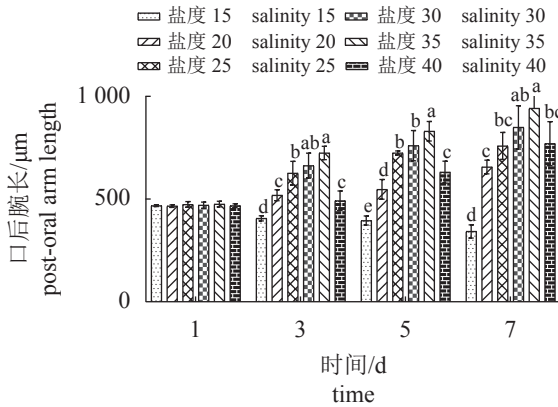


图 6 不同盐度对紫海胆浮游幼体口后腕发育的影响

Fig. 6 Effects of salinity on the post-oral arm development of *H. crassispina* planktonic larvae

0.05), 盐度 20 和 40 组的腕长无显著差异 ($P > 0.05$)。在第 5 天时, 盐度 25、30 和 35 组幼体的腕较长, 之间差异不显著 ($P > 0.05$), 与其他 3 组有显著差异 ($P < 0.05$), 盐度 15 的腕最短, 显著低于盐度 20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 20 和 40 组的腕长无显著性差异 ($P > 0.05$)。在第 7 天时, 盐度 30 和 35 组幼体的腕较长, 与盐度 25 组无显著差异 ($P > 0.05$), 显著高于盐度 15、20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 组的腕最短, 显著低于盐度 20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 20 和 40 组间无显著差异 ($P > 0.05$), 盐度 25 和 40 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。在培育过程中除盐度 15 外, 其他盐度下幼体的前侧腕都有生长, 盐度 15 没有生长, 还出现萎缩(图 7)。

盐度对紫海胆浮游幼体胃面积发育的影响
第 1 天放入的四腕幼体胃面积为 $(3\ 444.13 \pm$

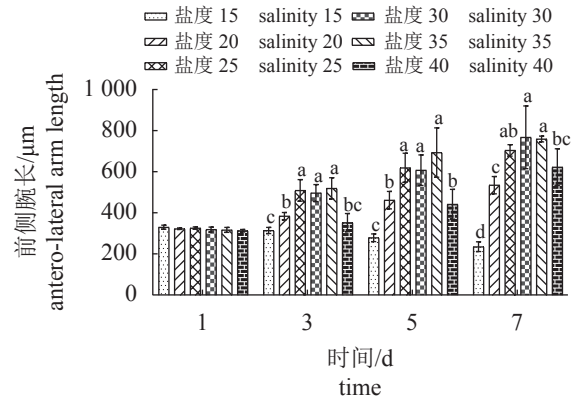


图 7 不同盐度对紫海胆浮游幼体前侧腕发育的影响

Fig. 7 Effects of salinity on the antero-lateral arm development of *H. crassispina* planktonic larvae

$329.15) \mu\text{m}^2$, 经不同盐度培育后, 分别在第 3、5 和 7 天进行显微观察测量其变化。在第 3 天时, 盐度 25、30 和 35 组幼体的胃面积较大, 之间差异不显著 ($P > 0.05$), 并与其他 4 组有显著差异 ($P < 0.05$), 盐度 15 和 40 组的胃面积最小, 二者之间差异不显著, 并显著小于盐度 20 组 ($P < 0.05$)。在第 5 天时, 盐度 25 和 30 组幼体的胃面积较大, 二者之间差异不显著 ($P > 0.05$), 并与其他 4 组有显著差异 ($P < 0.05$), 盐度 35 组次之, 显著大于盐度 15、20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 组的胃面积最小, 显著小于盐度 20 组 ($P < 0.05$), 盐度 20 和 40 组间没有显著差异 ($P > 0.05$)。在第 7 天时, 盐度 30 时幼体的胃面积最大, 与其他 4 组有显著差异 ($P < 0.05$), 盐度 25 组次之, 显著大于盐度 15、20、35 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 35 组居中, 显著

大于盐度 15、20 和 40 ($P<0.05$), 盐度 15 组的胃面积最小, 显著小于盐度 20 和 40 组 ($P<0.05$), 盐度 20 和 40 组间没有显著差异 ($P>0.05$)。在培育过程中除盐度 15 组外, 其他盐度下幼体胃面积都有生长, 盐度 15 组没有生长, 还出现了萎缩(图 8)。

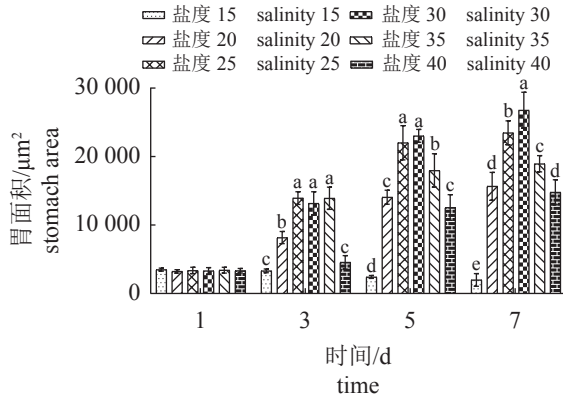


图 8 不同盐度对紫海胆浮游幼体胃面积发育的影响

Fig. 8 Effects of salinity on the stomach area development of *H. crassispina* planktonic larvae

盐度对紫海胆浮游幼体形态发育的影响

第 1 天放入的四腕幼体经不同盐度培育后, 分别在第 3、5、7、9、11 和 13 天对其形态进行记录。在第 3、5、7、9、11、13 天时, 除盐度 15 外, 其他盐度的幼体都能生长发育(图 9)。盐度 30 时幼体发育速率最快, 最为整齐, 显著高于其他盐度 ($P<0.05$), 在第 5 天时已有 91.67% 发育至八腕幼体 I 期, 在第 7 天时能全部发育至八腕幼体, 其中有 16.67% 已发育至 III 期, 并有 83.33%

的幼体在 13 天时已发育至 IV 期。盐度 35 组的幼体次之, 发育水平显著高于盐度 15、20 和 40 组幼体 ($P<0.05$), 但与盐度 25 组幼体无显著差异 ($P>0.05$), 二者在第 5 天时分别出现 83.33% 和 75.00% 的 I 期八腕幼体, 且部分幼体能在第 13 天时发育至 IV 期, 但个体发育间差异较大。盐度 15 的幼体发育最差, 发育水平显著低于盐度 20 和 40 的幼体 ($P<0.05$), 只能维持在四腕幼体。第 7 天起幼体开始出现死亡, 在 13 天时全部死亡。盐度 20 和 40 组的幼体发育水平无显著差异 ($P>0.05$), 从第 7 天开始逐渐发育至 I 期八腕幼体, 但在第 13 天时难以进入 II 期, 发育速率受到了抑制, 盐度 40 组的幼体在第 9 天时开始死亡。

2.3 盐度对紫海胆浮游幼体摄食率的影响

盐度对紫海胆四腕幼体摄食率的影响

实验中, 四腕幼体在盐度为 25~35 的海水中运动能力强, 在盐度 20 和 40 的海水中运动能力较弱, 在盐度 15 的海水中基本不运动。摄食结果显示, 四腕幼体在盐度 30 时摄食率为 2 780 个/(只·h), 显著高于盐度 15、20 和 40 组 ($P<0.05$), 盐度 15 时摄食率最低, 显著低于盐度 25、30 和 35 组 ($P<0.05$), 盐度 20、25、35 和 40 组间的摄食率无显著差异 ($P>0.05$) (图 10)。

盐度对紫海胆八腕幼体摄食率的影响

实验中, 八腕幼体在盐度为 25~35 的海水中纤毛摆动有力, 运动速度快, 在盐度 20 和 40 的海水中纤毛摆动较弱, 运动速度较弱, 在盐度 15 海水

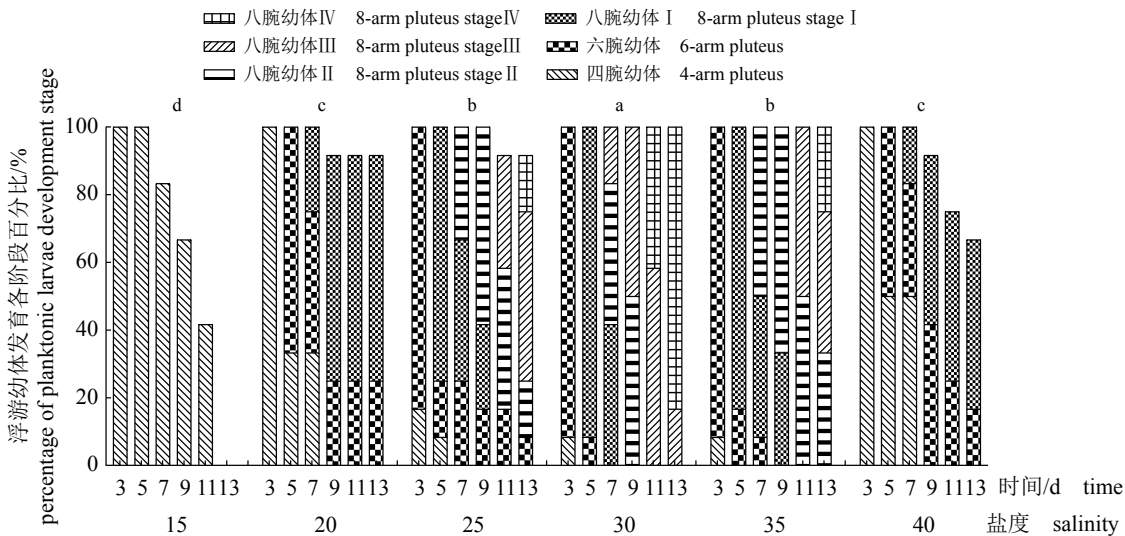


图 9 不同盐度对紫海胆浮游幼体形态发育的影响

Fig. 9 Effects of salinity on the morphological development of *H. crassispina* planktonic larvae

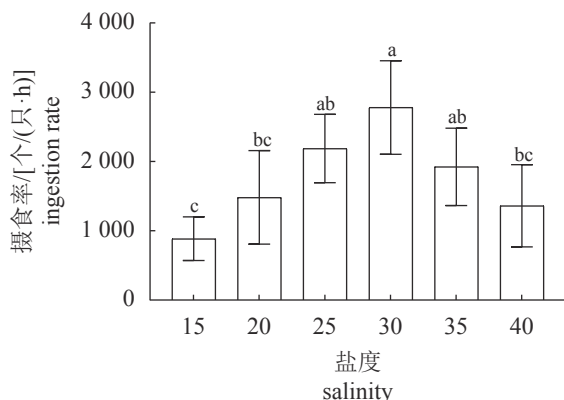


图 10 不同盐度对紫海胆四腕幼体摄食率的影响

Fig. 10 Effects of salinity on the ingestion rate of *H. crassispina* 4-arm larvae

中纤毛摆动最弱, 幼体基本不运动。摄食结果显示, 八腕幼体在盐度 30 时摄食率为 3 286 个/(只·h), 显著高于盐度 15、20、35 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 25 次之, 显著高于盐度 15、20 和 40 组 ($P < 0.05$), 盐度 15 的摄食率最低, 显著低于盐度 25、30 和 35 组 ($P < 0.05$), 盐度 15、20 和 40 组间的摄食率无显著差异 ($P > 0.05$) (图 11)。

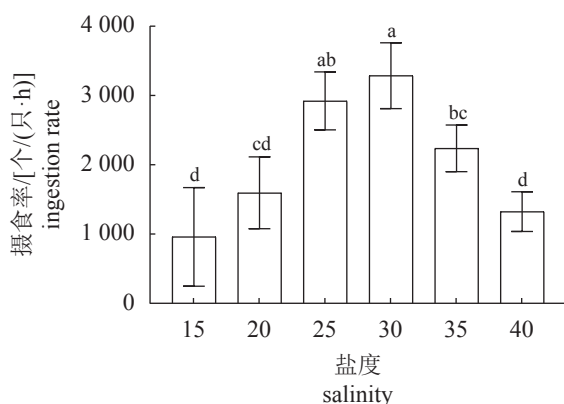


图 11 不同盐度对紫海胆八腕幼体摄食率的影响

Fig. 11 Effects of salinity on the ingestion rate of *H. crassispina* 8-arm larvae

2.4 盐度对紫海胆Ⅳ期八腕幼体变态率的影响

幼体变态时 8 个腕的表皮组织向基部收缩, 腕逐渐脱落。随着前庭复合体的增大, 体呈半球形, 幼棘组织长出并伸长。大部分幼棘 (棘末端分叉) 长大成棘时, 变态完成。盐度 30 时最早出现变态个体的时间为 24 h, 盐度 25 和 35 时为 36 h, 其他盐度为 48 h。

72 h 时Ⅳ期八腕幼体在盐度 30 组的变态率为 54.71%, 显著高于其他 5 组 ($P < 0.05$), 盐度 15

和 40 组的变态率分别为 21.43% 和 22.78%, 显著低于其他 4 组 ($P < 0.05$), 二者没有显著差异 ($P > 0.05$), 盐度 20、25 和 35 组的变态率居中, 且三者间没有显著差异 ($P > 0.05$) (图 12)。

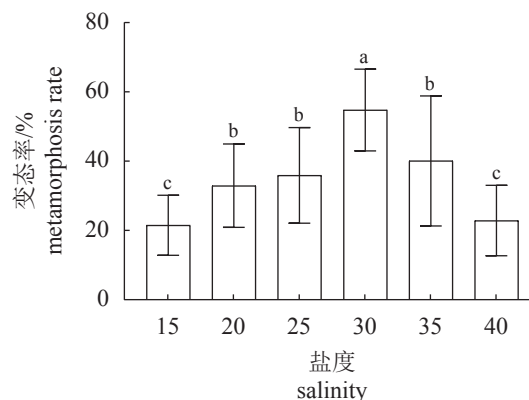


图 12 不同盐度对紫海胆Ⅳ期八腕幼体变态率的影响

Fig. 12 Effects of salinity on metamorphosis rate of *H. crassispina* 8-arm larvae

3 讨论

3.1 盐度对紫海胆受精和胚胎发育的影响

受精和胚胎发育通常是海洋动物生命中最脆弱的阶段, 对环境的敏感性很高^[19]。本研究表明, 盐度 25 和 35 分别是紫海胆正常受精和卵裂的上限和下限; 盐度 20 为成功受精的最低盐度限制, 虽能成功受精, 但受精和胚胎发育的时间延长; 在盐度 15 和 40 时, 即使精卵接触 3 h 后卵子也不能形成受精膜或卵裂, 盐度 15 的卵子还会吸水膨胀, 并在 12 h 后解体。这些结果与其他海胆类似, 表明海胆正常受精的盐度范围极窄, 配子缺乏对盐度改变时的适应能力^[12, 20]。

海胆在低盐海水下难以受精的主要原因是低盐环境中 Na^+ 浓度低, 难以引起卵细胞膜的去极化, 导致无法释放出卵子内的 Ca^{2+} , Ca^{2+} 浓度不足时会抑制皮质反应中皮质颗粒的分泌, 从而影响卵子的激活和胚胎发育的启动^[19, 21-23]。低盐环境还会损害卵表面肌动蛋白细胞骨架上微绒毛和细胞质, 使得受精膜难以举起^[19]。高盐下大部分精子活力较差, 不能到达卵细胞表面, 并且卵细胞表面肌动蛋白细胞骨架受到损坏, 即使受精膜举起也不能正常分裂^[19]。

经盐度 15 和 40 海水培养 30 min 后的配子移回正常海水中重新受精, 成功率分别为 2.50% 和 7.47%, 说明少量配子能抵抗短时间内的盐度胁迫。

经双因素方差分析发现, 盐度 15 和 40 海水对精子活力的影响要大于卵子, 但在 Greenwood 等^[24]报道的海胆 (*Parechinus angulosus*) 中, 盐度对精子的影响较小, 其卵子在盐度 15 时会解体, 而精子在盐度 3 时仍具有受精能力。这可能是由于物种间的差异或环境因素不同而引起的, 需要进行深入研究。

3.2 盐度对紫海胆浮游幼体发育的影响

对许多无脊椎动物幼体来说, 盐度对其生存、生长发育和活动有强烈的影响^[25-27]。海洋无脊椎动物成体主要通过渗透调节系统应对盐度变化^[28-29], 而幼体处于浮游阶段, 渗透调节能力差且机体水分渗透性很高^[30], 对盐度变化敏感^[12]。盐度 30 时幼体发育至Ⅳ期八腕幼体需要 11 d, 盐度 25 和 35 则需 13 d, 盐度 20 和 40 需要的时间更长, 而盐度 15 只能维持在四腕幼体阶段, 说明盐度 25~35 为浮游幼体生长的适宜盐度范围, 最适盐度为 30, 该结果与国内主要经济海胆的适盐范围相似^[31-33]。北方球海胆的四腕幼体和六腕幼体的耐盐阈值只有 24~27^[34], 热带海胆 (*Echinometra lucunter*) 的幼体在盐度为 27 或更低时, 不能发育超过四腕阶段^[25], 杂色松海胆的四腕幼体在盐度小于 27.5 时停止发育^[12], 相比之下, 紫海胆幼体的适盐范围更宽。

海水的渗透压是影响海洋动物生理活动和生理功能的主要因素^[35-36]。机体体液与水环境渗透压不同时, 动物不仅需要维持体内外离子平衡, 还需付出额外的能量来调节水盐平衡以维持体液渗透压, 因此会影响生长发育^[32, 37]。实验海水盐度变化对紫海胆幼体的运动能力和摄食率有明显影响。紫海胆幼体运动和摄食都是通过纤毛摆动完成, 二者具有很强的关联性。在盐度 25~35 海水中幼体的运动能力较强, 摄食率也较高; 盐度 20 和 40 下幼体的运动能力较弱, 摄食率一般; 盐度 15 时幼体基本不运动, 摄食率最低。随着幼体发育的进行, 盐度 25~35 的幼体摄食率略有上升, 但其他盐度下摄食率变化不大, 可能是运动能力受到限制, 只能摄食分布在底部的藻细胞。充足的食物供给是紫海胆幼体顺利生长发育的保障, 幼体摄食率高则发育快。在受到渗透胁迫时, 幼体获取能量的能力降低, 还需要将部分能量用于调节渗透压, 因此会影响其生长发育。

海胆浮游幼体具有发育可塑性, 其形态依赖

于食物的获取^[38-41]。在食物丰富时, 幼体将较少的资源用于腕的生长, 将更多的资源用于机体发育和营养积累, 发育速率更快, 浮游期更短, 胃更大; 反之, 在食物稀缺时, 幼体将更多的资源用于腕的生长, 以增加对食物的捕获能力, 但浮游期变长, 胃变小^[38]。因此胃大小是营养物质积累高低的标志, 腕长短是食物获取难易的标志。Carrier 等^[41]认为北方球海胆幼体的发育可塑性与营养感知通路 TOR 相关。盐度 25 和 35 的幼体发育速率一致, 但相较于盐度 25, 盐度 35 的幼体摄食藻类的数量较少, 腕较长, 胃面积较小。在盐度 20 和 40 中也出现类似情况。在低盐度的幼体中, 盐度 20 的幼体较盐度 25 的幼体虽然摄食减少, 但没有出现腕伸长和胃缩小的情况, 高盐环境可能是一种与食物供给无关的表型可塑性诱导信号。

八腕幼体变态速率会导致稚胆个体生长参差。3 d 完成变态的个体在变态后 2 个月时壳径可达 1 cm, 而 7 d 以上完成变态的个体只有 4 mm。浮游幼体的附着和变态受到多种因素的影响, 例如温度、盐度等物理因子, 微生物膜、饵料分泌物等化学因子^[42-44]。底栖硅藻在盐度 15~40 范围内都能有效诱导Ⅳ期八腕幼体变态, 其中盐度 30 时幼体的变态率最高, 达到 54.7%, 变态速率也最快, 其他盐度的变态率均显著低于盐度 30。这表明在变态阶段幼体对环境盐度要求较高, 是一个盐度敏感阶段。由于幼体已经发育到八腕幼体Ⅳ期, 营养积累基本完成, 因此不同盐度下变态率的差异不可能是由于盐度影响摄食率导致。盐度 25 和 30 的幼体摄食率没有显著差异但变态率有显著差异也说明了这一点。即使在盐度 30 下, 无底栖硅藻诱导幼体也会迟迟不能变态。这表明变态诱导信号在海洋无脊椎动物变态启动中具有重要作用^[42-44]。不同盐度下的变态率差异较大, 可能意味着盐度会影响幼体变态的信号通路, 从而导致了幼体对变态信号敏感性的变化。与许多海洋无脊椎动物不同, 大多数棘皮动物主要是通过细胞内等渗调节和离子调节维持渗透压^[45-48]。以刺参 (*Apostichopus japonicus*) 为例, 体腔液中的渗透压、离子稳态和 Na^+/K^+ -ATP 酶活性随环境盐度的变化而改变^[48]。当细胞内离子浓度发生改变还会使得细胞膜电位和酶活性受到影响。这可能是盐度影响变态信号传递的生理基础。

盐度 15 和 40 的精卵难以进行受精, 四腕幼

体能在盐度 15 时存活 7 d 并能在 40 盐度时生长发育, IV 期的八腕幼体在盐度 15~40 范围也能够完成变态过程。这些结果反映了其对盐度的适应能力随着发育逐步增加的规律。随着紫海胆生长发育的进行, 离子调节能力得到了提高, 且大个体的表面积与体积比小于小个体, 因而盐度胁迫相对更小^[49-50], 因此耐盐能力也逐渐增加。

许多海洋无脊椎动物在早期发育阶段死亡率非常高, 特别是幼体的变态阶段, 死亡率高达 90%^[51-52]。Plough 等^[53]认为, 这是海洋无脊椎动物对高度特异化的底栖环境的一种适应。浮游幼体的遗传背景具有高度多样性以保证存在适应各种特异底栖环境的个体, 但在某一特定底栖环境下变态时, 大量不能适应环境的幼体会出现很高的死亡率^[53-54]。本研究发现, 紫海胆浮游幼体在实验室条件下具有较高的存活率和变态率, 且某些海胆的后代在某个海区的浮游幼体和稚海胆的成活率很高, 能在同一海区形成一个新群体, 密度超过 100 个/m², 绵延数公里^[55]。说明海胆具备与某些特异环境适应的遗传背景。不同的地理种群的北方球海胆对低盐的适应能力差异巨大。分布在新苏格兰的种群可长期耐受 14 的低盐度, 而太平洋西北部的种群在 12~21.5 盐度时会全部死亡^[56]。这提示可以通过选育获得盐度耐受的品种。部分紫海胆幼体在盐度 15 时能够正常变态, 表明紫海胆可能具有耐受低盐的能力, 具备选育的条件。

4 结论

总之, 盐度对紫海胆各发育阶段均有显著的影响。盐度 30 是其最适盐度, 生长速率最快, 发育最佳; 高于或低于盐度 30, 其生长随着盐度的递增或递减而逐级下降, 但在 25~35 范围内仍可以维持正常的生长发育, 为适宜盐度。随着发育的进行, 紫海胆对盐度的耐受能力逐渐增强, IV 期的八腕幼体在盐度 15 和 40 时也能够完成变态过程。紫海胆的这种生物学特性对苗种生产比较有利。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

[1] 陈锤. 紫海胆的生物学与养殖[J]. 海洋与渔业, 2007(7): 32.

Chen C. Biology and culture of *Anthocardis crassispina*[J]. Ocean and Fishery, 2007(7): 32 (in Chinese).

- [2] 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).
- [3] 杨旭, 姜功敏, 周成志, 等. 虾夷马粪球海胆人工育苗[J]. 水产科学, 2001, 20(3): 27-28.
Yang X, Jiang G M, Zhou C Z, et al. Summary of artificial breeding of *Strongylocentrotus intermedius*[J]. Fisheries Science, 2001, 20(3): 27-28 (in Chinese).
- [4] 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 *Anthocardis crassispina*[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2001, 20(1): 32-36 (in Chinese).
- [5] 王波, 李有乐, 房慧, 等. 虾夷马粪球海胆生物学及增殖养殖技术[J]. 齐鲁渔业, 1999, 16(3): 14-16.
Wang B, Li Y L, Fang H, et al. On biology of *Strongylocentrotus intermedius* and the technique for cultivation and enhancement[J]. Shandong Fisheries, 1999, 16(3): 14-16 (in Chinese).
- [6] 冯丹青, 柯才焕, 周时强, 等. 盐度对冠瘤海鞘幼体附着与变态的影响[J]. 海洋科学, 2003, 27(1): 42-46.
Feng D Q, Ke C H, Zhou S Q, et al. Effects of salinity on the settlement and metamorphosis in *Styela canopus* larvae[J]. Marine Sciences, 2003, 27(1): 42-46 (in Chinese).
- [7] Florkin M. Régulation anisosmotique extracellulaire, régulation isosmotique intracellulaire et euryhalinité[J]. Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique, 1962, 92: 183-186.
- [8] Binyon J. Salinity tolerance and ionic regulation[J]. Physiology of Echinodermata, 1966: 359-377.
- [9] 常亚青, 丁君, 宋坚, 等. 海参、海胆生物学研究与养殖[M]. 北京: 海洋出版社, 2004: 211-215.
Chang Y Q, Ding J, Song J, et al. Biological research and culture of sea cucumber and sea urchin[M]. Beijing: China Ocean Press, 2004: 211-215 (in Chinese).
- [10] Sarifudin M, Rahman M A, Yusof F M, et al. Influence

- of salinity variations on the embryonic and early larval development of long-spined black sea urchin (*Diadema setosum*)[J]. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 2017, 27(1): 316-324.
- [11] Stickle W B, Ahokas R. The effects of tidal fluctuation of salinity on the perivisceral fluid composition of several echinoderms[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1974, 47(2): 469-476.
- [12] Roller R A, Stickle W B. Effects of temperature and salinity acclimation of adults on larval survival, physiology, and early development of *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea)[J]. *Marine Biology*, 1993, 116(4): 583-591.
- [13] 方少华, 吕小梅, 廖志强, 等. 闽南紫海胆生产性人工育苗技术[J]. *海洋科学*, 2003, 27(4): 1-3.
Fang S H, Lv X M, Liao Z Q, *et al.* Seed production techniques of sea urchin (*Anthocidaris crassispina*) in south of Fujian[J]. *Marine Sciences*, 2003, 27(4): 1-3 (in Chinese).
- [14] 冯永勤, 许志坚, 覃锐, 等. 紫海胆人工育苗技术研究[J]. *海洋科学*, 2006, 30(1): 5-8,48.
Feng Y Q, Xu Z J, Qin R, *et al.* The technique of artificial breeding of *Anthocidaris crassispina*[J]. *Marine Sciences*, 2006, 30(1): 5-8,48 (in Chinese).
- [15] 杨章武, 郑雅友, 李正良, 等. 紫海胆人工养殖试验[J]. *福建水产*, 2001(3): 14-18.
Yang Z W, Zheng Y Y, Li Z L, *et al.* An experiment on artificial culture of *Anthocidaris crassispina*[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2001(3): 14-18 (in Chinese).
- [16] 陈颜锋, 黄健, 游小艇, 等. 紫海胆陆上水池养殖试验[J]. *水产养殖*, 2003, 24(5): 23,14.
Chen Y F, Huang J, You X T, *et al.* Experiment on onshore pond culture of *Anthocidaris crassispina*[J]. *Journal of Aquaculture*, 2003, 24(5): 23,14 (in Chinese).
- [17] 李正良. 水温、饵料对紫海胆生长的影响[J]. *福建水产*, 2004(2): 26-28.
Li Z L. The effect of water temperature and food on growth of *Anthocidaris crassispina*[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2004(2): 26-28 (in Chinese).
- [18] 席世改, 秦传新, 马振华, 等. 微藻饵料对紫海胆浮游幼体生长及存活影响的研究[J]. *南方水产科学*, 2020, 16(2): 115-120.
Xi S G, Qin C X, Ma Z H, *et al.* Effects of dietary microalgae on growth and survival of larval development of sea urchin (*Anthocidaris crassispina*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2020, 16(2): 115-120 (in Chinese).
- [19] Limatola N, Chun J T, Santella L. Effects of salinity and pH of seawater on the reproduction of the sea urchin *Paracentrotus lividus*[J]. *The Biological Bulletin*, 2020, 239(1): 13-23.
- [20] Roller R A, Stickle W B. Effects of adult salinity acclimation on larval survival and early development of *Strongylocentrotus droebachiensis* and *Strongylocentrotus pallidus* (Echinodermata: Echinoidea)[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1994, 72(11): 1931-1939.
- [21] Schuel H, Schuel R, Dandekar P, *et al.* Sodium requirements in hardening of the fertilization envelope and embryonic development in sea urchins[J]. *The Biological Bulletin*, 1982, 162(2): 202-213.
- [22] Swann K, Jones K T. Membrane events of egg activation[M]//Hardy D M. Fertilization. Pittsburgh: Academic Press, 2002, 319-346.
- [23] Mak K K Y, Chan K Y K. Interactive effects of temperature and salinity on early life stages of the sea urchin *Heliocidaris crassispina*[J]. *Marine Biology*, 2018, 165(3): 57.
- [24] Greenwood P J, Bennett T. Some effects of temperature-salinity combinations on the early development of the sea urchin *Parechinus angulosus* (Leske). Fertilization[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1981, 51(2-3): 119-131.
- [25] Metaxas A, Young C M. Behaviour of echinoid larvae around sharp haloclines: effects of the salinity gradient and dietary conditioning[J]. *Marine Biology*, 1998, 131(3): 443-459.
- [26] Saranchova O L, Flyachinskaya L P. The influence of salinity on early ontogeny of the mussel *Mytilus edulis* and the starfish *Asterias rubens* from the White Sea[J]. *Russian Journal of Marine Biology*, 2001, 27(2): 87-93.
- [27] Qiu J W, Tremblay R, Bourget E. Ontogenetic changes in hyposaline tolerance in the mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus*: implications for distribution[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 228: 143-152.
- [28] Davenport J, Wankowski J. Pre-immersion salinity-choice behaviour in *Porcellana platycheles*[J]. *Marine Biology*, 1973, 22(4): 313-316.
- [29] Dufort C G, Jury S H, Newcomb J M, *et al.* Detection of

- salinity by the lobster, *Homarus americanus*[J]. *The Biological Bulletin*, 2001, 201(3): 424-434.
- [30] Kinne O. Salinity: 3. Animals: 1. invertebrates[M]// Kinne O. Marine ecology: a comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters: 1. environmental factors. London: Wiley, 1971: 821-995.
- [31] 孙勉英, 高绪生. 盐度对大连紫海胆生长发育的影响[J]. 水产学报, 1991, 15(1): 72-76,81.
- Sun M Y, Gao X S. The influence of salinity on development and growth of the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1991, 15(1): 72-76,81 (in Chinese).
- [32] 王笑月, 董颖, 王丽梅, 等. 盐度对中间球海胆(♀)×光棘球海胆(♂)杂交子代受精卵孵化及浮游幼体生长发育的影响[J]. 水产科学, 2009, 28(8): 472-474.
- Wang X Y, Dong Y, Wang L M, et al. Effects of salinity on embryonic development, growth and metamorphosis in larval sea urchin Hybrids (*Strongylocentrotus intermedius*♀×*S. nudus*♂)[J]. *Fisheries Science*, 2009, 28(8): 472-474 (in Chinese).
- [33] 张鹏, 曾晓起, 尤凯. 盐度及饵料对马粪海胆幼体生长发育及变态的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2004(4): 75-80.
- Zhang P, Zeng X Q, You K. Effect of salinity and food on the growth and metamorphosis of the larva of *Hemicentrotus pulcherrimus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2004(4): 75-80 (in Chinese).
- [34] Sameoto J A, Metaxas A. Can salinity-induced mortality explain larval vertical distribution with respect to a halocline?[J]. *The Biological Bulletin*, 2008, 214(3): 329-338.
- [35] Inoue M, Nonaka M. Notes on the cultured larvae of the Japanese spiny lobster, *Panulirus japonicus* (V. Siebold)[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1963, 29(3): 211-218.
- [36] 纪德华, 陈昌生, 蓝良纯, 等. 中国龙虾叶状幼体摄食、生长、存活与盐度的关系[J]. 水产科技情报, 2001, 28(6): 251-254.
- Ji D H, Chen C S, Lan L C, et al. Relationships between feeding, growth, survival and salinity of phyllosoma in Chinese spiny lobster (*Panulirus stimpsoni*)[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2001, 28(6): 251-254 (in Chinese).
- [37] 江新琴, 俞存根, 陈全震. 温度和盐度对锈斑螭卵孵育时间的影响[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 915-921.
- Jiang X Q, Yu C G, Chen Q Z. Effect of temperature and salinity on the egg incubation period of the *Carybdis feriatius*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(6): 915-921 (in Chinese).
- [38] Hart M W, Strathmann R R. Functional consequences of phenotypic plasticity in echinoid larvae[J]. *The Biological Bulletin*, 1994, 186(3): 291-299.
- [39] Soars N A, Prowse T A A, Byrne M. Overview of phenotypic plasticity in echinoid larvae, '*Echinopluteus transversus*' type vs. typical echinoplutei[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2009, 383: 113-125.
- [40] Adams D K, Sewell M A, Angerer R C, et al. Rapid adaptation to food availability by a dopamine-mediated morphogenetic response[J]. *Nature Communications*, 2011, 2(1): 592.
- [41] Carrier T J, King B L, Coffman J A. Gene expression changes associated with the developmental plasticity of sea urchin larvae in response to food availability[J]. *The Biological Bulletin*, 2015, 228(3): 171-180.
- [42] 张涛. 海洋无脊椎动物幼虫附着变态研究进展I. 影响因素子[J]. 海洋科学, 2000, 24(1): 25-29.
- Zhang T. Advancements in research on settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae I. factors[J]. *Marine Sciences*, 2000, 24(1): 25-29 (in Chinese).
- [43] 柯才焕, 冯丹青. 海洋底栖动物浮游幼体附着和变态的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(S2): 77-82.
- Ke C H, Feng D Q. Researches on larval settlement and metamorphosis of marine benthos[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 2006, 45(S2): 77-82 (in Chinese).
- [44] 王国栋, 张丽莉, 王艺磊. 幼虫变态分子机制的研究进展[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2012, 17(2): 101-108.
- Wang G D, Zhang L L, Wang Y L. Progress research on the molecular mechanism of abalone larvae metamorphosis[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science Edition)*, 2012, 17(2): 101-108 (in Chinese).
- [45] Talbot T D, Lawrence J M. The effect of salinity on respiration, excretion, regeneration and production in *Ophiophragmus filigraneus* (Echinodermata: Ophiuroidea)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2002, 275(1): 1-14.

- [46] Freire C A, Onken H, McNamara J C. A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2008, 151(3): 272-304.
- [47] Garçon D P, Lucena M N, Pinto M R, *et al.* Synergistic stimulation by potassium and ammonium of K⁺-phosphatase activity in gill microsomes from the crab *Callinectes ornatus* acclimated to low salinity: novel property of a primordial pump[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2013, 530(2): 55-63.
- [48] Geng C F, Tian Y, Shang Y P, *et al.* Effect of acute salinity stress on ion homeostasis, Na⁺/K⁺-ATPase and histological structure in sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *SpringerPlus*, 2016, 5(1): 1977.
- [49] Binyon J. Salinity tolerance and permeability to water of the starfish *Asterias rubens* L.[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1961, 41(1): 161-174.
- [50] Himmelman J H, Guderley H, Vignault G, *et al.* Response of the sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, to reduced salinities: importance of size, acclimation, and interpopulation differences[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1984, 62(6): 1015-1021.
- [51] 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.
- [52] 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.
- [53] 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.
- [54] Plough L V. Genetic load in marine animals: a review[J]. *Current Zoology*, 2016, 62(6): 567-579.
- [55] McEdward L R, Miner B G. Echinoid larval ecology[J]. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 2007, 37: 71-93.
- [56] Russell M P. Echinoderm responses to variation in salinity[J]. *Advances in Marine Biology*, 2013, 66: 171-212.

Effects of salinity on fertilization, embryonic development, larval growth, ingestion and metamorphosis of *Heliocidaris crassispina*

LIANG Qixu, ZHANG Lili, HUANG Shiyu, ZHONG Youping, XIE Yangjie, WANG Guodong*

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

Abstract: *Heliocidaris crassispina* is one of the most important economic sea urchin species in the southern China. Its breeding season is from April to June, with high temperature and rainy, and the salinity varies greatly in the sea area. In order to determine the appropriate salinity for the early development of *H. crassispina*, this study was conducted to investigate the effects of different salinity (15, 20, 25, 30, 35, and 40) on the fertilization, incubation, embryonic development, larval growth, ingestion and metamorphosis of *H. crassispina* under laboratory conditions. The main results are as follows. The fertilization rate was above 95% under the salinity range of 20-35, but there was no fertilization with a salinity of 15 or 40. The hatching rate under salinity 30 was 89.77%, which was significantly higher than other groups, the lowest hatching rate was 46.65% under salinity 20 treatment. The embryonic developed fastest with salinity 30 exposing, 92.61% of fertilized eggs developed to the 4-cell stage in 1 h after fertilization, and all developed into the multicellular stage in 2.5 h, and 68.86% of the 2-arm larvae appeared in 27 h, which were significantly higher than other groups. Moreover, with salinity 30 treatment, the larvae develop fastest and best, and were significantly higher than other five groups, 91.67% of 4-arm larvae developed to the 8-arm larvae stage I on the 5th day, and all developed into the 8-arm larvae on the 7th day, of which 16.67% have developed to stage III, and 83.33% of the larvae have developed to stage IV on the 13th day. The larvae with salinity 25 and 35 followed, 83.33% and 75% of stage I larvae appeared on the 5th day, and some larvae could develop to stage IV on the 13th day, but there was a difference in individual development. Under salinity 20 or 40 condition, the larvae only developed to 8-arm larva stage I on 13 days; further more under salinity 15 exposing, the larval development was inhibited and stayed at 4-arm larvae stage and died after 7 days. The metamorphosis rate of 8-arm stage IV larvae with salinity range of 15-40 in benthic diatoms is higher than 21.43% after 72 hours, and the salinity 30 is the highest with 54.71%. The larval post-oral and antero-lateral arms grew fastest under salinity 35 treatment on the 5th days (830.50 and 694.50 μm , respectively), which were significantly higher than other groups. But the stomach area was largest under salinity 30 with 23048.25 μm^2 , which was significantly higher than other five groups. And the feeding rate of 4-arm larvae and 8-arm larvae were highest under salinity 30 exposing (2780 and 3286 cell/ind·h, respectively), which were significantly higher than other groups. The study suggested that salinity has a significant impact on the growth and development of *H. crassispina* in early developmental stage. The optimum salinity was 30, which *H. crassispina* has fastest growth and best development. The suitable salinity range was 25 to 35, which *H. crassispina* can maintain normal growth and development. The results may provide basic data for the seed breeding technology of *H. crassispina*.

Key words: *Heliocidaris crassispina*; salinity; fertilization; embryonic development; larval growth; ingestion; metamorphosis

Corresponding author: WANG Guodong. E-mail: gdongwang@163.com

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901605)