

文章编号: 1000-0615(2017)02-0221-09

DOI: 10.11964/jfc.20160410354

## 加利福尼亚红刺参胚胎及幼体发育过程

夏 斌<sup>1</sup>, 任贻超<sup>1\*</sup>, 王永香<sup>2</sup>, 王文琪<sup>1</sup>, 郭恩棉<sup>1</sup>, 于 丹<sup>3</sup>

(1. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东 青岛 266109;

2. 青岛农业大学工会, 山东 青岛 266109;

3. 青岛农业大学图书馆, 山东 青岛 266109)

**摘要:** 为开发加利福尼亚红刺参人工繁育技术, 在显微镜下测定加利福尼亚红刺参受精卵、胚胎和幼体大小变化, 观察加利福尼亚红刺参从受精卵到稚参的发育过程。结果显示, 利用阴干法人工催产, 可以顺利促进加利福尼亚红刺参排卵, 受精率超过95%。加利福尼亚红刺参胚胎和幼体发育过程包括受精卵、卵裂期、囊胚期、旋转囊胚、原肠期、小耳状幼体、中耳状幼体、大耳状幼体、樽形幼体和稚参几个阶段。在水温为14℃, 盐度为30, pH为8.0条件下, 受精卵在10~20 min后陆续出现极体, 1 h后开始卵裂, 1 d后进入旋转囊胚, 2 d后进入原肠期, 第4天进入耳状幼体初期; 受精卵经历15 d后进入樽形幼体阶段, 18 d后变态为稚参。加利福尼亚红刺参耳状幼体最大长度可达1125 μm。加利福尼亚红刺参胚胎和幼体发育时间与仿刺参、糙海参等存在差异。

**关键词:** 加利福尼亚红刺参; 胚胎; 幼体; 发育过程; 人工繁育

**中图分类号:** Q 132; S 968.9

**文献标志码:** A

海参自古以来被人们誉为“海产八珍”之首。由于野生海参的过度捕捞和消费需求不断增加, 我国海参养殖业在过去十几年中迅速发展, 目前已成为北方沿海最重要的经济物种之一。仿刺参(*Apostichopus japonicus*)是我国当前唯一规模化养殖的海参品种。热带的糙海参(*Holothuria scabra*)在中国南方的人工繁殖、育苗和增养殖已获得成功<sup>[1]</sup>, 在海南、广东等地开展小规模人工养殖。近几年, 我国北方从日本引入了红刺参<sup>[2]</sup>, 但受养殖技术限制未形成规模。因此, 有必要开发适宜北方沿海养殖的海参新品种, 提高海参产品多样化和种群多样性。

加利福尼亚红刺参(*Parastichopus californicus*), 又称加州红参或大红海参, 原产地分布于美国加利福尼亚至阿拉斯加沿海, 生活在低的潮间带至潮下带区域, 最深处达250 m<sup>[3-6]</sup>。加利福尼亚红刺参在原产地自然资源丰富, 在加拿大俾诗

省、美国华盛顿州和阿拉斯加等地一直被限额捕捞<sup>[6-7]</sup>。受传统文化影响, 海参消费群体主要来自认可中医和食疗的亚洲人。因加利福尼亚红刺参高的品质和营养价值<sup>[8]</sup>, 从加拿大和美国被大量出口到中国、日本、韩国等亚洲国家。食用海参的过度捕捞导致野生资源锐减, 为满足快速增长的市场需求, 开展高品质海参的水产养殖势在必行。

目前, 针对加利福尼亚红刺参的研究大多关注其生态学方面, 如Cameron等<sup>[3-4]</sup>研究了加利福尼亚红刺参在自然栖息地的产卵行为、繁殖周期、幼体发育与环境等生态学特征, 但仅限于野外潜水采卵, 并未开展人工条件下海参的发育过程研究; Paltzat等<sup>[9]</sup>和Ahlgren<sup>[10]</sup>分别研究了加利福尼亚红刺参与长牡蛎(*Crassostrea gigas*)、细鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus gorbuscha*)或大麻哈鱼(*O. keta*)幼鱼的混养效果, 探讨利用加利福尼

收稿日期: 2016-04-11 修回日期: 2016-08-24

资助项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2015HZ004); 青岛市自主创新计划(青年专项19-9-1-89-jch); 青岛农业大学博士基金(1113329)

通信作者: 任贻超, E-mail: yichaor@126.com

亚红刺参沉积食性进行生态修复。然而, 尚没有关于加利福尼亚红刺参繁育生物学及养殖技术的研究报道。本实验团队开展了微藻饵料对加利福尼亚红刺参幼体发育的影响研究, 探讨了不同饵料对加利福尼亚红刺参幼体生长的影响, 发现硅藻饵料角毛藻(*Chaetoceros calcitrans*)能促进加利福尼亚红刺参幼体生长<sup>[1]</sup>。为有效利用加利福尼亚红刺参资源, 本研究进一步观察了加利福尼亚红刺参胚胎和幼体发育过程, 为新品种海参人工繁育及养殖奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲参采集与管理

加利福尼亚红刺参亲本采自加拿大温哥华岛海域, 通过潜水进行采捕。亲本个体体长15~30 cm, 湿重240~550 g。亲参采捕后, 经暂养驯化转移到实验室, 养殖在玻璃钢水槽中。水槽规格长×宽×高分别为120 cm×90 cm×30 cm。海参亲本在室内流水养殖, 水流速度10 L/h, 水温12~14 °C、盐度30、pH 8.0。饲料为藻粉、鱼粉、沉积物、微量元素等组成的配合饲料。每天投喂1次, 投喂前清理水槽内的粪便, 采用全池泼洒方法投喂。每日例行管理, 观察海参活动情况。促熟期间, 每月解剖10只雌性亲参, 测定生殖腺重量, 计算性腺指数。采用阴干流水刺激法催产。用吸管收集雄性海参精子, 将排卵海参转移至盛满海水的桶中(容积20 L), 慢慢搅动水体, 缓缓加入精子, 保证每个卵子周围附3~5个精子, 在显微镜下连续观察胚胎发育过程。

### 1.2 胚胎发育过程

卵裂阶段, 每10 min取样于浮游动物计数

框, 用尼康光学显微镜连续观察。囊胚期至原肠期阶段每30 min至1 h取样, 从囊胚到幼参发育过程的每阶段分别取样2~3次, 每次取样观测样本30个, 总共观察样本60批次。采集的样本在显微镜下测量胚胎大小, 用Motic Images Advances 3.2 for Windows软件测定各发育阶段幼体体长。

### 1.3 幼体培育及生长发育

海参幼体密度为3个/mL, 饵料为等鞭金藻(*Isochrysis* sp.)和牟氏角毛藻(*C. muelleri*)等比例混合, 每日上午投饵1次。早期投饵密度为20 000细胞/mL, 后期逐渐增至30 000细胞/mL。约1/3幼体变态至樽形幼体后, 投波纹板附着基。在光学显微镜下, 用尼康相机记录发育形态, 测定30个幼体体长(Motic Images Advances 3.2 for Windows软件)。

## 2 结果

### 2.1 加利福尼亚红刺参人工催产与受精

亲参采集后历经4个月营养强化, 性腺从零逐渐发育成熟, 翌年3月海参逐渐排精和排卵。成熟的雄性加利福尼亚红刺参性腺为乳白色管状结构(图1-a), 镜检精子有活力; 雌性性腺为橘黄色管状结构(图1-b), 镜检卵子相互挤压, 大小均一, 个体饱满。本研究中, 上午将亲参阴干20~30 min后至流水水槽中, 海参活动剧烈, 并往池壁聚集。大约1 h后, 雄性海参排精, 20~30 min后, 雌性海参排卵, 精卵在水中结合自然受精。镜检受精率达到95%(表1)。

### 2.2 胚胎发育

生殖细胞和受精卵 加利福尼亚红刺参卵径为176.0~191.0 μm, 平均(183.5±5.4) μm(图版 I -

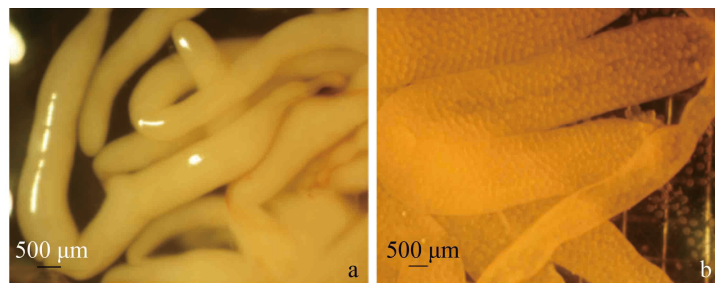


图1 加利福尼亚红刺参生殖腺

a. 雄性生殖腺; b. 雌性生殖腺

Fig. 1 Gonad of *P. californicus*

a. male gonad; b. female gonad

表 1 加利福尼亚红刺参胚胎和幼体发育过程  
Tab. 1 Embryonic and larval development process of *P. californicus*

| 发育阶段<br>development<br>stage      | 受精后时间<br>time after<br>fertilization | 体长范围/ $\mu\text{m}$<br>body length<br>range | 平均体长/ $\mu\text{m}$<br>mean body<br>length |
|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 受精卵<br>fertilized egg             | 0 min                                | 176.0~191.0                                 | 183.5 $\pm$ 5.4                            |
| 第一极体<br>first polarbody           | 10~20 min                            | 176.0~191.0                                 | 183.5 $\pm$ 5.4                            |
| 第二极体<br>second polarbody          | 30 min~1 h                           | 176.0~191.0                                 | 183.5 $\pm$ 5.4                            |
| 2细胞期<br>2-cell stage              | 1~2 h                                | 178.0~193.0                                 | 184.9 $\pm$ 4.6                            |
| 4细胞期<br>4-cell stage              | 2~3 h                                | 180.0~211.0                                 | 191.7 $\pm$ 8.9                            |
| 8细胞期<br>8-cell stage              | 3~4 h                                | 220.0~261.0                                 | 243.4 $\pm$ 11.6                           |
| 16细胞期<br>16-cell stage            | 4~5 h                                | 221.0~258.0                                 | 235.9 $\pm$ 12.8                           |
| 32细胞期<br>32-cell stage            | 4.5~6 h                              | 225.0~263.0                                 | 244.9 $\pm$ 10.4                           |
| 64细胞期<br>64-cell stage            | 5.5~7 h                              | 232.0~264.0                                 | 250.9 $\pm$ 8.5                            |
| 128细胞期<br>128-cell stage          | 6~8 h                                | 233.0~266.0                                 | 252.4 $\pm$ 9.0                            |
| 256细胞期<br>256-cell stage          | 7.7~9 h                              | 245.0~277.0                                 | 258.5 $\pm$ 10.1                           |
| 囊胚期<br>blastula stage             | 10~18 h                              | 211.0~240.0                                 | 228.6 $\pm$ 8.0                            |
| 旋转囊胚期<br>rotating blastula        | 1~2 d                                | 208.0~238.0                                 | 223.0 $\pm$ 6.5                            |
| 原肠初期<br>primary gastrula          | 2~3 d                                | 261.0~322.0                                 | 298.6 $\pm$ 18.5                           |
| 原肠期<br>gastrula stage             | 3 d                                  | 322.0~385.0                                 | 355.5 $\pm$ 20.1                           |
| 初耳状幼体期<br>early auricularia stage | 4 d                                  | 384.0~533.0                                 | 460.3 $\pm$ 41.5                           |
| 中耳状幼体期<br>mid auricularia stage   | 5~10 d                               | 468.0~850.0                                 | 610.4 $\pm$ 94.3                           |
| 大耳状幼体期<br>late auricularia stage  | 10~14 d                              | 770.0~1125.0                                | 920.7 $\pm$ 73.1                           |
| 樽形初期幼体期<br>early doliolaria stage | 12~16 d                              | 611.0~866.0                                 | 755.8 $\pm$ 99.0                           |
| 樽形期幼体期<br>doliolaria stage        | 15~17 d                              | 366.0~535.0                                 | 442.5 $\pm$ 50.6                           |
| 五触手幼体期<br>pentactula stage        | 16~19 d                              | 334.0~523.0                                 | 426.3 $\pm$ 65.3                           |
| 稚参<br>juvenile stage              | 18~20 d                              | >400                                        | >400                                       |

1); 精子为椭圆形或圆形, 在光学显微镜下呈一亮点快速游动。精子和卵子结合后, 在卵母细胞周围举起一层薄的受精膜(图版 I -2), 卵膜呈圆形或椭圆形。精卵结合 10~20 min 后现第一极体(图版 I -3), 30~60 min 后现第二极体(图版 I -4), 随后开始卵裂。

卵裂 受精卵经 30~60 min 后, 进入卵裂期, 初期为全等卵裂, 卵细胞中部凹陷, 横裂成两

个相同细胞(图版 I -5), 第一次卵裂 1 h 后进入第二次卵裂, 受精卵纵裂成 4 个大小相等的细胞(图版 I -6)。此后每隔 1 h, 胚胎发生一次分裂, 经历 8 细胞期(图版 I -7)、16 细胞期(图版 I -8)、32 细胞期(图版 I -9)、64 细胞期(图版 I -10)、128 细胞期(图版 I -11)和 256 细胞期(图版 I -12), 细胞逐渐缩小, 历经约 10 h 进入囊胚期(图版 I -13)。

囊胚期 受精 10~18 h 后, 胚胎直径为 211.0~240.0  $\mu\text{m}$ , 平均为 (228.6 $\pm$ 8.0)  $\mu\text{m}$ , 期间大小变化不显著。随着胚胎发育, 细胞数量不断增加, 形成由细胞层构成的中空球体。紧接 4~5 h 后, 静止囊胚开始旋转, 脱去卵膜, 在水中自由转动。动物极较宽, 细胞层薄, 植物极较窄, 细胞层厚, 形状类似指环, 囊胚旋转速度随胚胎发育加快, 逐渐呈现显著圆形(图版 I -13)。

原肠期 受精卵经历 2 d 的发育, 囊胚拉长, 动物极变厚, 植物极变平内陷, 形成原肠原基, 胚胎进入原肠初期(图版 I -14)。原肠初期长度 261.0~322.0  $\mu\text{m}$ , 平均 (298.6 $\pm$ 18.5)  $\mu\text{m}$ 。随着内陷加深, 胚胎内出现树状结构(图版 I -15), 形成间质细胞, 随着发育进行, 胚胎拉长至 (322.0~385.0)  $\mu\text{m}$ , 原肠转向腹面形成食道, 此时消化道未完全分化, 区分不明显。随着进一步发育, 侧面观察幼体中央下凹, 前部隆起, 呈耳状, 体色逐渐加深。胚胎进入浮游生活, 幼体不摄食(图版 I -16)。

2.3 幼体发育

初耳状幼体 在 14  $^{\circ}\text{C}$  水温下, 受精卵经历 4 d 形成初耳状幼体, 体长为 384.0~533.0  $\mu\text{m}$ , 平均 (460.3 $\pm$ 41.5)  $\mu\text{m}$  (图版 II -1)。此时幼体消化道基本成形, 胃部膨大呈椭圆形, 食道不时收缩, 纤毛带在口的上方形成口前环, 幼体四处游动并开始摄食。肠形成时, 原口转变成肛口, 纤毛在肛门前形成肛前环, 开口在消化道上方。幼体靠纤毛摆动在水中旋转游动, 口前环纤毛摆动摄食, 食道开始蠕动, 胃部有节律收缩。在初耳状幼体后期, 体长达 533.0  $\mu\text{m}$ , 一部分体腔囊向胃左侧延伸, 形成水体腔雏形(图版 II -2)。胃和口逐渐变大, 通过咽和食道伸缩进食。

中耳状幼体 在 14  $^{\circ}\text{C}$  水温下, 受精卵发育 5 d 进入中耳状幼体期(图版 II -3, 4)。此时, 幼体明显长大, 周围幼虫臂显著变长, 体长达 468.0~850.0  $\mu\text{m}$ , 平均 (610.4 $\pm$ 94.3)  $\mu\text{m}$ 。幼体形态和内部器官发育较快, 胃部进一步膨大, 摄食



量增加,胃部食物清晰可见。后背臂和前背臂逐渐形成,后侧臂和间背臂发达。水体腔增大,紧贴在胃和食道接合处左侧,并固定在此发育。石灰质骨片突出,不断向后端伸长。

**大耳状幼体** 受精卵经历10 d进入大耳状幼体,体长在中耳状幼体基础上达到770.0~1125.0  $\mu\text{m}$ ,平均(920.7 $\pm$ 73.1)  $\mu\text{m}$ 。此阶段胃左右分别出现左体腔和右体腔。水体腔突起形成初级口触手原基。间背臂和后背臂纤毛弯曲,后侧臂和间背臂顶部出现球状体,随着幼体发育,各臂顶部均有球状体出现(图版 II -5~9)。胃部膨大成卵圆形,颜色变深。后期幼体臂顶端变钝变圆并逐渐收缩(图版 II -10)。

**樽形幼体** 12日龄幼体陆续开始进入樽形幼体初期,幼体体型开始收缩,部分纤毛脱落,胃部萎缩,逐渐形成纤毛带(图版 II -11~12)。15~17日龄幼体已完全发育成樽形幼体(图版 II -13),发育快的个体体长缩至442.5  $\mu\text{m}$ ,5对球状体明显可见,有5道纤毛带,水体腔在第2、3条纤毛带之间包围食道。17日龄幼体已进入樽形末期,五触手包在幼体体内(图版 II -14),有少数个体进入五触手幼体前期,体长均小于400.0  $\mu\text{m}$ ,最小为366.0  $\mu\text{m}$ 。水管颜色明显加深呈黑色。底部有钙质骨片,腹部有弯曲的肠道。

**五触手幼体** 16~18日龄幼体,开始伸出五触手(图版 II -15),平均体长420.0  $\mu\text{m}$ ,幼体在第一管足和五触手协助下运动,身体背部现刺状突起。

**稚参阶段** 18日龄后,进入稚参初期(图版 II -16)。全身骨片相连,布满肉刺,身体可灵活伸缩,附在基质上运动觅食。

## 2.4 加利福尼亚红刺参自然栖息地表层和底层水温变化

本实验中的加利福尼亚红刺参采集地(自然栖息地),温哥华岛海域乔治亚海峡(49°23'05"N, 123°91'61" W)表层和底层周年水温变化如图2所示。表层平均水温周年变化范围为6.0~17.4  $^{\circ}\text{C}$ ,其中7、8月份水温最高,1、2月份水温最低。底层平均水温变化范围为7.2~14.5  $^{\circ}\text{C}$ ,7、8月份最高,1—3月份最低。

## 3 讨论

本研究探索了加利福尼亚红刺参人工采卵、受精及幼体培育技术。研究表明在室内通过人

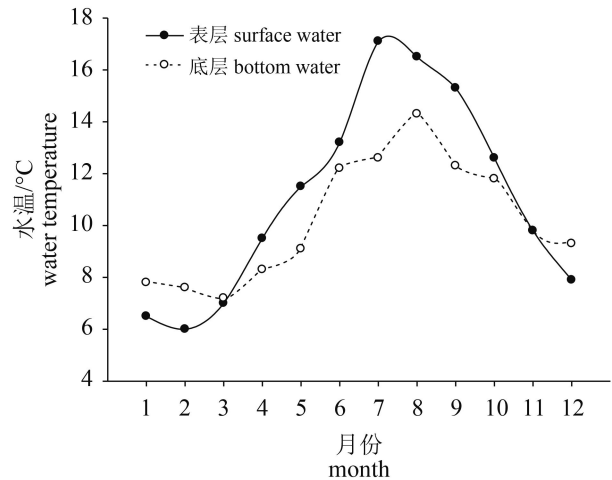


图2 加利福尼亚红刺参自然栖息地水温变化  
Fig. 2 Water temperature in habit of *P. californicus*

工促熟开展加利福尼亚红刺参人工育苗是完全可行的。当前,只有Cameron等<sup>[3-4]</sup>研究了自然条件下加利福尼亚红刺参繁殖周期及产卵行为,并指出每年5—6月为加利福尼亚红刺参生殖腺指数较高时期,6—7月是加利福尼亚红刺参自然产卵旺盛期。本研究中,加利福尼亚红刺参亲本捕捞于11月,期间已完成产卵,解剖发现体内无生殖腺,该发现与Cameron等<sup>[4]</sup>的观察结果一致。加利福尼亚红刺参在室内12  $^{\circ}\text{C}$ 水温条件下进行人工投饲管理,性腺指数由0%达到10%历时4个月。在5—6月,加利福尼亚红刺参大量产卵,此时性腺指数为15%~20%,并且该产卵期与自然产卵期吻合。研究发现,有少数加利福尼亚红刺参具有2~3个生殖孔并同时排精,产卵时多数海参会移动到池壁上,摇头摆尾,活动剧烈,其产卵行为与以往研究中仿刺参产卵行为描述类似<sup>[12]</sup>。

严俊贤等<sup>[13]</sup>观察糙海参人工受精及胚胎发育过程,谭杰等<sup>[14]</sup>对仿刺参胚胎发育过程进行观察研究,均发现海参人工受精过程具有潜在的多精入卵现象。多精入卵是海洋无脊椎动物受精生物学的重要研究内容,多个精子同时进入卵子,致使胚胎出现非整倍体导致发育停止,引起胚胎早期死亡<sup>[15]</sup>。因此,在加利福尼亚红刺参人工受精过程中,通过清洗及时稀释精子密度,可有效避免多精入卵。本研究发现,海参卵子周围有3~5个精子,能够保证较好的受精质量。

本研究中,加利福尼亚红刺参成功受精后10~20 min释放第一极体,30 min后释放第二极

体, 1 h后第一次卵裂, 这与孙秀俊等<sup>[12]</sup>、谭杰等<sup>[13]</sup>对仿刺参人工受精及早期胚胎学观察的研究结果一致, 但卵裂后的发育时间与仿刺参存在差异。加利福尼亚红刺参胚胎发育时间与Cameron等<sup>[3-4]</sup>在野外采卵至室内观察的结果不同, Cameron等<sup>[3-4]</sup>通过潜水采集自然环境中加利福尼亚红刺参受精卵, 在10~12 °C水温培育条件下, 卵裂发生在受精后3~4 h, 明显滞后于本研究的结果, 这可能与水体环境因素, 如温度、盐度等变化有关。Eudeline等<sup>[16]</sup>对长牡蛎极体排动力学研究认为, 较高的水温能加速受精卵极体排放。本研究中, 加利福尼亚红刺参处于相对高的水温中(维持在14 °C), 人工培育环境稳定, 受到外界干扰因素少。胡利华等<sup>[17]</sup>对刺参胚胎和幼体发育的研究表明, 温度对刺参受精卵孵化率、胚胎发育和幼体变态时间有显著影响。海参在适宜水温(1~22 °C)和盐度(28~32)下, 受精卵经过20~30 h可发育成耳状幼体, 14 d后发育到稚参阶段<sup>[13, 18]</sup>。而本研究中, 加利福尼亚红刺参在14 °C下, 需经历18 d才能发育至稚参。Cameron等<sup>[3]</sup>对加利福尼亚红刺参幼体的研究发现, 受精卵13日龄后进入耳状幼体期, 而最终发育到樽形幼体发生在第65~125天。本研究中, 12日龄之后, 大耳幼体开始收缩并陆续进入樽形期, 这种差异可能和受精条件、培育温度有关。加利福尼亚红刺参自然分布海区表层水温变化范围为6.0~17.4 °C, 底层水温较为稳定, 维持在7.2~14.3 °C, 海参自然产卵的旺盛期, 水温平均为12~14 °C, 季度分布明显, 结果与Cameron等<sup>[3]</sup>研究结果一致。本研究依据加利福尼亚红刺参亲本采集地的自然条件, 将培育水温设为14 °C, 但加利福尼亚红刺参幼体生长的最适水温还有待进一步研究。

本研究采用阴干流水刺激成熟的亲本自然产卵, 而Cameron等<sup>[4]</sup>研究采用解剖取卵方法, 并利用海星鞘神经提取液和二硫苏糖醇(DDT)诱导胚泡破裂(germinal vesicle breakdown)完成受精, 这也可能是影响海参胚胎发育的原因之一。Chen等<sup>[19]</sup>研究了海参(*Actinopyga echinites*)卵母细胞体外诱导促熟并观察其胚胎发育过程, 发现脂质球营养积累对幼体变态发育至关重要, 卵母细胞前期营养积累不足可能影响海参幼体正常发育。

在仿刺参人工育苗中, 幼体胃部饱满程度

和大耳幼体水管发育程度是两个重要指标。前者决定幼体饵料摄食和营养物质吸收, 后者影响幼体从耳状幼体到樽形幼体的过渡, 如果幼体水体腔发育不全或者5对球体未完全产生, 则难以正常过渡到樽形幼体。本研究中, 加利福尼亚红刺参幼体发育过程体型整齐一致, 胃部饱满, 水体腔发育完整, 5对球体清晰可见。Liu等<sup>[20]</sup>研究认为, 仿刺参耳状幼体长度达到最大值后可作为判断变形的依据。本研究中, 加利福尼亚红刺参耳状幼体平均体长达到920.7 μm后开始进入樽形期, 耳状幼体最大长度可达到1125.0 μm。利用光学显微镜能够清晰观察加利福尼亚红刺参胚胎早期发育情况, 随着幼体生长和透明度降低, 还有必要运用组织学手段开展深入研究。本研究中, 幼体不同个体发育到每个阶段所需时间存在差异, 如何保持幼体发育过程中的同步性, 需进一步研究。本研究将为加利福尼亚红刺参引种、人工繁育和养殖技术提供参考。

感谢加拿大渔业与海洋部的Chris Pearce博士对本研究提供实验的便利。

#### 参考文献:

- [1] 陈水春, 毛海峰, 曹俊明, 等. 糙海参的繁育生物学和人工育苗研究进展[J]. 广东农业科学, 2011, 38(3): 111-114.  
Chen S C, Mao H F, Cao J M, *et al.* The research progress of breeding biology and artificial breeding of sea cucumber (*Holothuria scabra*)[J]. Guangdong Agriculture Science, 2011, 38(3): 111-114 (in Chinese).
- [2] Jiang S H, Dong S L, Gao Q F, *et al.* Effects of water depth and substrate color on the growth and body color of the red sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, 33(3): 616-623.
- [3] Cameron J L, Fankboner P V. Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson) (Echinodermata: Holothuroidea). I. Reproductive periodicity and spawning behavior[J]. Canadian Journal of Zoology, 1989, 64(656): 168-175.
- [4] Cameron J L, Fankboner P V. Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson) (Echinodermata: Holothuroidea). II.

- Observations on the ecology of development, recruitment, and the juvenile life stage[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1989, 127(1): 43-67.
- [5] Kozloff E N. Keys to the Marine Invertebrates of Puget Sound, the San Juan Archipelago, and Adjacent Regions[M]. Seattle: University of Washington Press, 1996: 226.
- [6] Woodby D, Smiley S, Larson R. Depth and habitat distribution of *Parastichopus californicus* near Sitka, Alaska[J]. Alaska Fishery Research Bulletin, 2000, 7: 22-32.
- [7] Department of Fisheries and Oceans. Giant red sea cucumber[R]. Stock Status Report C6-10. Dartmouth: Fisheries and Oceans Canada, 2002.
- [8] Liu Z Y, Su Y C, Zeng M Y. Amino acid composition and functional properties of giant red sea cucumber (*Parastichopus californicus*) collagen hydrolysates[J]. Journal of Ocean University of China, 2011, 10(1): 80-84.
- [9] Paltzat D L, Pearce C M, Barnes P A, *et al.* Growth and production of California sea cucumbers (*Parastichopus californicus* Stimpson) co-cultured with suspended Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg)[J]. Aquaculture, 2008, 275(1-4): 124-137.
- [10] Ahlgren M O. Consumption and assimilation of salmon net pen fouling debris by the red sea cucumber *Parastichopus californicus*: implications for polyculture[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1998, 29(2): 133-139.
- [11] 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.
- [12] 孙秀俊, 李琪, 孔令锋, 等. 中国刺参(♂)×日本红刺参(♀)杂交子代的胚胎、幼体发育及幼参生长性状的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2012, 42(4): 26-32.
- Sun X J, Li Q, Kong L F, *et al.* Embryonic, larval development and juvenile growth in hybrid between green (♂) and red (♀) sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2012, 42(4): 26-32 (in Chinese).
- [13] 严俊贤, 王世锋, 周永灿, 等. 糙海参胚胎和幼体发育的形态观察[J]. 水产学报, 2012, 36(7): 1073-1080.
- Yan J X, Wang S F, Zhou Y C, *et al.* Studies on embryonic and larval development of sea cucumber (*Holothuria scabra*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(7): 1073-1080 (in Chinese).
- [14] 谭杰, 孙慧玲, 高菲, 等. 刺参受精及早期胚胎发育过程的细胞学观察[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 272-277.
- Tan J, Sun H L, Gao F, *et al.* Cytological observations on fertilization and early embryonic development in sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 272-277 (in Chinese).
- [15] Niwa K, Park C K, Okuda K. Penetration *in vitro* of bovine oocytes during maturation by frozen-thawed spermatozoa[J]. Journal of Reproduction and Fertility, 1991, 91(1): 329-336.
- [16] Eudeline B, Allen J S K, Guo X M. Delayed meiosis and polar body release in eggs of triploid pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in relation to tetraploid production[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 248(2): 151-161.
- [17] 胡利华, 周朝生, 吴洪喜, 等. 温度和盐度对南移养殖刺参(*Apostichopus japonicus*)胚胎和幼体发育的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2015, 28(1): 8-14.
- Hu L H, Zhou C S, Wu X H, *et al.* Effects of temperature and salinity on embryonic and larval development of cultured sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) in southern Zhejiang sea area[J]. Journal of Ningbo University (NESS), 2015, 28(1): 8-14 (in Chinese).
- [18] 孙吉东. 温度、盐度对刺参胚胎发育的影响[J]. 河北渔业, 2014(11): 1-3.
- Sun J D. The effects of temperature and salinity to the embryonic development of *Apostichopus japonicas*[J]. Hebei Fisheries, 2014(11): 1-3 (in Chinese).
- [19] Chen C P, Hsu H W, Deng D C. Comparison of larval development and growth of the sea cucumber *Actinopyga echinites*: ovary-induced ova and DTT-induced ova[J]. Marine Biology, 1991, 109(3): 453-457.
- [20] Liu G B, Yang H S, Liu S L. Effects of rearing temperature and density on growth, survival and development of sea cucumber larvae, *Apostichopus japonicus* (Selenka)[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(4): 842-848.

## Studies on embryonic and larval development of red giant sea cucumber (*Parastichopus californicus*)

XIA Bin<sup>1</sup>, REN Yichao<sup>1\*</sup>, WANG Yongxiang<sup>2</sup>, WANG Wenqi<sup>1</sup>,  
GUO Enmian<sup>1</sup>, YU Dan<sup>3</sup>

(1. Marine Science and Engineering College, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

2. Labour Union of Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

3. Library of Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

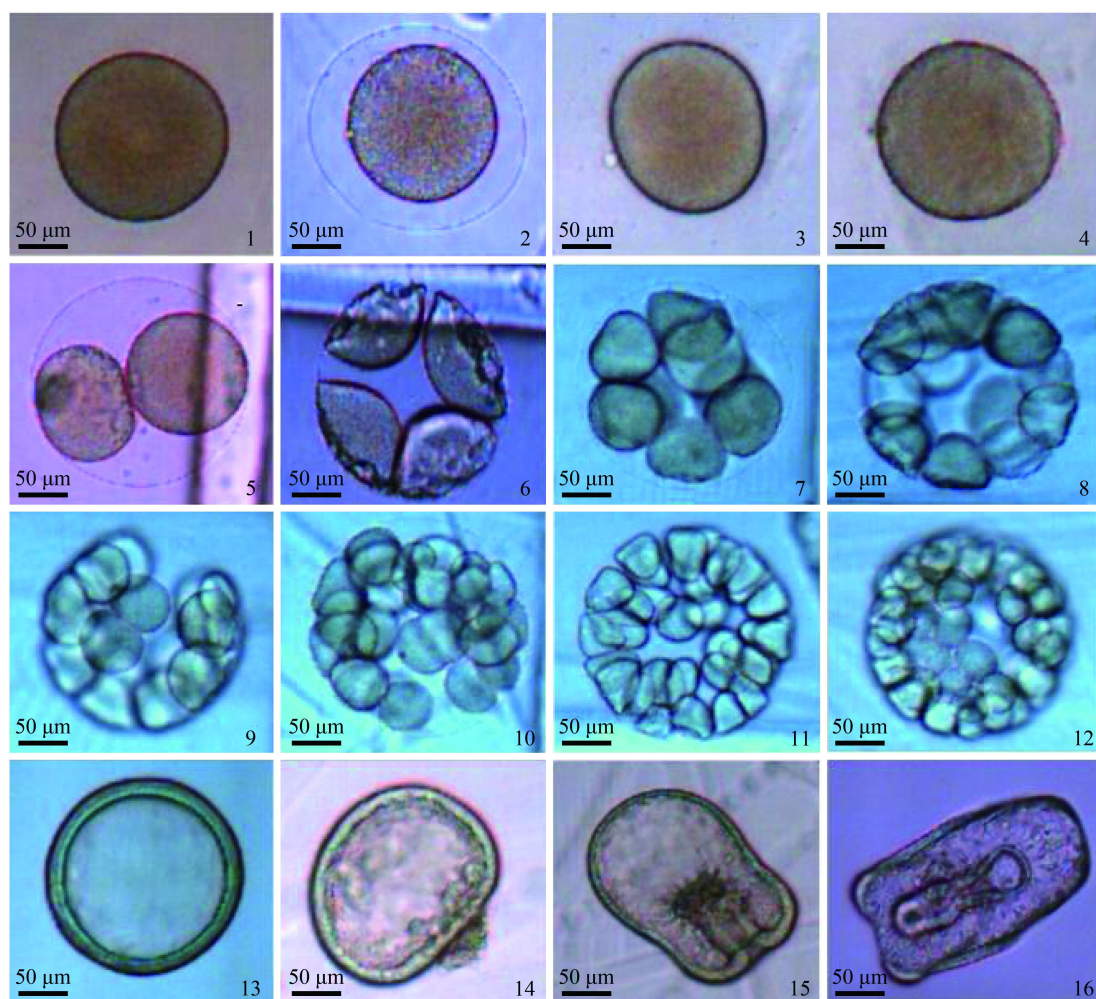
**Abstract:** The red giant sea cucumber (*Parastichopus californicus*) is native to the west coast of North America, and is under quota fishery in the United State of America and Canada. As a result of global over-fishing of sea cucumbers and increasing market demand, it is in urgent need to develop artificial breeding of *P. californicus* to promote the development of aquaculture. In order to develop artificial breeding of *P. californicus*, the embryonic and larval development of *P. californicus* was observed and recorded in the present study, and the size variations of fertilization eggs, embryos and larvae were measured under a microscope. The results showed that the gonad of *P. californicus* could be ripened by artificial diets, and the spawning of brood stock could be induced by desiccation method, in which the artificial fertilization rate exceeded 95%. The embryonic and larval development of *P. californicus* can be divided into the following stages: fertilization egg, cleavage, blastula, rotary blastula, gastrula, early auricularia, mid auricularia, late auricularia, doliolaria, pentactula, and juvenile. At the water temperature of 14 °C, the salinity of 30 and pH of 8, the polar body occurred in 10 to 20 minutes after fertilization, and the eggs started cleavage in 1 hour, and went into rotating blastula stage in 1 day, and went into gastrula in 2 days, and went into early auricularia in 4 days. It took a total of 15 days for fertilization eggs to develop into doliolaria stage, and 18 days to develop into juvenile stage. The auricularia *P. californicus* reached a maximum body length of 1125.0 μm. This is the first study on embryonic and larval development of *P. californicus*, which may provide scientific basis for the hatchery rearing, and artificial breeding of red giant sea cucumber.

**Key words:** *Parastichopus californicus*; embryo; larvae; development process; artificial breeding

**Corresponding author:** REN Yichao. E-mail: yichaor@126.com

**Funding projects:** The Promotive Research Fund for Young and Middle-aged Scientists of Shandong Province (BS2015HZ004); Doctor Science Research Foundation of Qingdao City (15-9-1-89-jch); Natural Science Foundation of Qingdao Agricultural University (1113329)





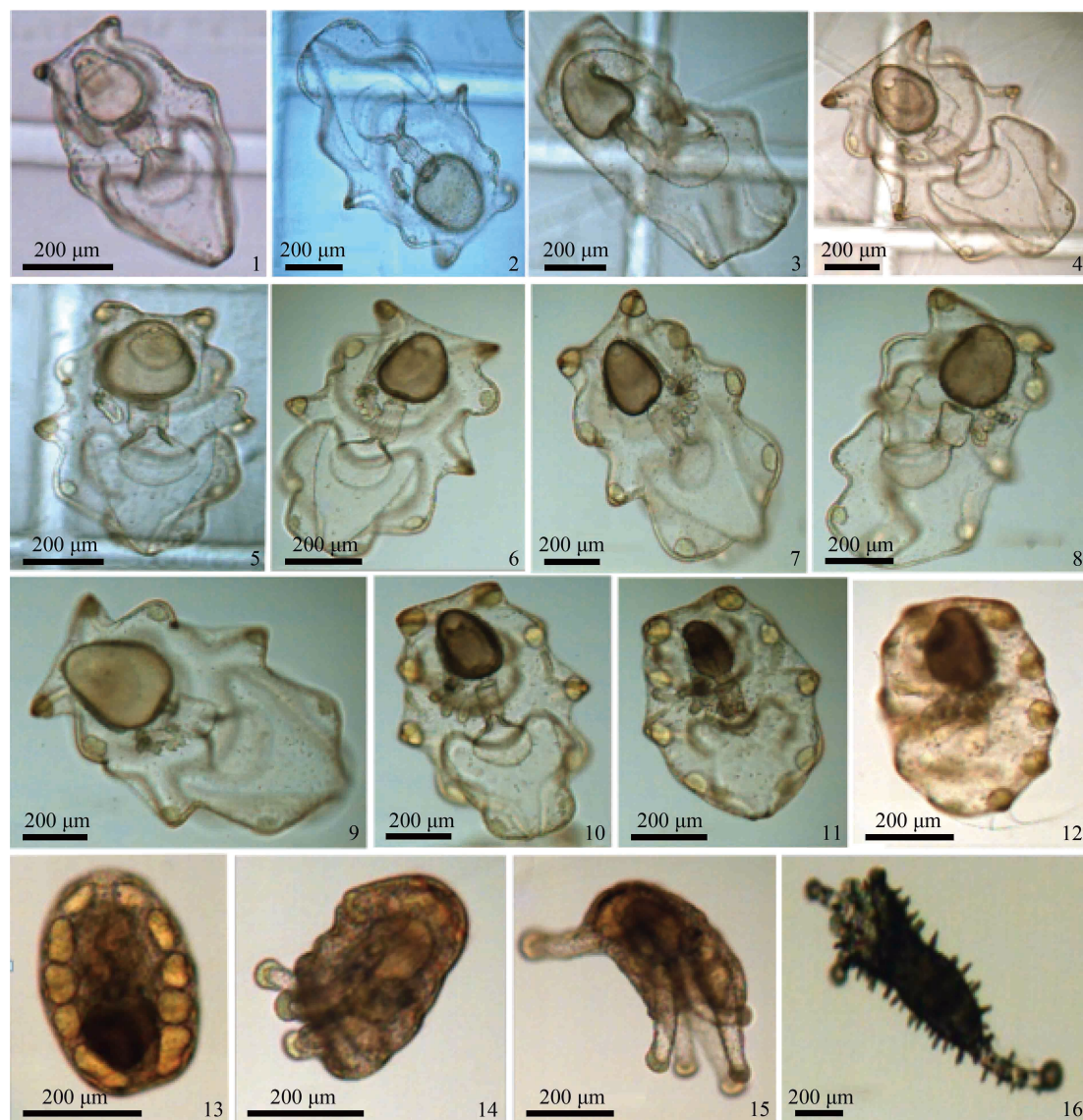
图版 I 加利福尼亚红刺参胚胎发育过程

1. 受精卵; 2. 卵膜举起; 3. 第一极体产生; 4. 第二极体产生; 5. 2细胞期; 6. 4细胞期; 7. 8细胞期; 8. 16细胞期; 9. 32细胞期; 10. 64细胞期; 11. 128细胞期; 12. 256细胞期; 13. 旋转囊胚; 14. 原肠初期; 15. 原肠期; 16. 原肠后期

**Plate I Embryonic development of *P. californicus***

1. fertilized egg; 2. egg membrane; 3. first polarbody; 4. second polarbody; 5. 2-cell stage; 6. 4-cell stage; 7. 8-cell stage; 8. 16-cell stage; 9. 32-cell stage; 10. 64-cell stage; 11. 128-cell stage; 12. 256-cell stage; 13. rotating blastula; 14. primary gastrula; 15. gastrula; 16. post-gastrula





图版 II 加利福尼亚红刺参幼体发育过程

1. 耳状幼体前期; 2. 4日龄耳状幼体; 3. 5日龄耳状幼体侧面; 4. 中耳状幼体正面; 5. 10日龄大耳状幼体; 6. 11日龄大耳状幼体; 7. 12日龄大耳状幼体后期; 8. 12日龄大耳状幼体侧面; 9. 大耳状幼体正面; 10. 樽形幼体初期; 11. 12日龄樽形幼体; 12. 樽形幼体中期; 13. 16日龄樽形幼体; 14. 五触手初期; 15. 17日龄五触手期; 16. 稚参初期

### Plate II Larval development of *P. californicus*

1. early auricularia stage; 2. 4-day auricularia; 3. 5-day auricularia; 4. mid auricularia stage; 5. 10-day auricularia; 6. 11-day auricularia; 7. 12-day auricularia; 8. 12-day auricularia profile; 9. late auricularia stage front; 10. early doliolaria stage; 11. 12-day doliolaria stage; 12. mid-doliolaria stage; 13. 16-day doliolaria; 14. pentactula stage; 15. 17-day pentactula; 16. early juvenile stage