

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所



碩士論文

Institute of Fisheries Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

不同波長可見光譜對海參行為及生理影響之探討

Effects of different visible light spectrums on the
behavior and physiology of *Holothuria* sp.

王睦翔

Mu-Hsiang Wang

指導教授：王永松 博士

Advisor: Yung-Song Wang, Ph.D.

中華民國 112 年 7 月

July, 2023

致謝

對我而言，這段研究所經歷不只是單純取得學位頭銜，其過程所獲得的學術思維更是無價，也因為有著許多人的幫助，我相當享受這段研究所生活。

能擁有這段體驗，首先要感謝是王永松老師，不設阻攔地允許我在研究中自由發揮，在論文和學術期刊的撰寫中也不厭其煩地指導身為初學者的我。雖然他身為師長，在相處中更像是一位好朋友，不管在學術、生活或研究所生涯規劃上都相當尊重我的想法並且也會給予大量支持和適當建議，使研究室氣氛也相當放鬆且融洽。感謝國立中山大學海洋科學系的劉莉蓮老師、國立東華大學海洋生物研究所暨國立海洋生物博物館副館長的陳德豪老師、國立台南大學生物科技學系的曾登裕老師委員們為一位素未謀面的學生，大老遠從南部北上口試，並且對本篇論文所提出的寶貴建議和指正，促使論文更加準確與完善。

也感謝國立臺灣自然科學博物館的趙世民研究員，為海參的品種鑑定提供諮詢和幫助。謝謝臺東水產試驗所知本種原庫的謝易叡學長對本論文中的海參採集做出了巨大貢獻，還有國立臺灣大學獸醫研究所的蘇豐傑博士對海參鑑定、實驗和討論給予建議與協助。在碩士班的日常中，每次與師大大學朋友們的聚會都是我離開實驗室後的小確幸，而對於晚一學期才進入碩班的我，漁科所的同學們還是十分熱情友善，謝謝你們讓我的生活更加有趣。

最後，我最想對爸媽表達本人的感激之情，有了你們在教育上的栽培和生活上的照顧，我才可以無虞地順利完成學業。在論文完成的此刻，我願與以上的你們分享這份成果。

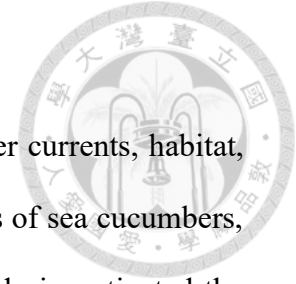
中文摘要



海洋環境因子如光照、溫度、海流、棲地和鹽度等會影響海參行為及生理反應，進而造成其不同生長表現。在實驗室環境下，本研究利用不同可見光光譜對海參(*Holothuria* sp.)觀察其尋找遮蔽物、趨光性和明暗棲地環境之偏好選擇等行為反應，以及是否造成生理上之免疫緊迫，如耗氧率、體腔液細胞吞噬作用和呼吸樹組織損傷觀察。在研究中利用三組 LED 光源，分別為紅光(波長: 630 nm)、藍光(波長: 450 nm)和白光(波長: 400-750 nm)來進行行為實驗。在藍光和白光照射下，海參傾向尋找遮蔽物躲藏；三種光源在相同距離下，藍光引發海參最強的負趨光性，其次為白光，而紅光則沒有明顯的反應；在明暗棲地偏好選擇實驗中，藍光和白光光譜對大部分海參個體的偏好選擇行為產生了干擾；實驗透過測量不同光波長照明距離下的平均光通量密度(mean photon flux density)值，發現每組海參個體分別為遠離特定波長光源而產生負趨光行為後，直至在光通量密度接近 $57 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 的區域時才減緩其移動行為；反觀紅光組之個體幾乎無移動行為發生，但如果提升紅光組的光通量後，海參個體則明顯產生負趨光行為。所以不同光波長之光照對於海參的移動行為可能是由其光譜所含光子數目之多寡有關。在生理實驗當中，藍光組之海參相對紅光組表現出更高的氧氣消耗率；然而在體腔液細胞吞噬活性試驗中，藍光組和紅光組之間沒有顯著差異；呼吸樹組織切片結果顯示藍光組在實驗第 1 和 2 小時結締組織比控制組薄，但在第 6 小時回復，且呼吸樹組織在所有實驗組別中都無明顯破損。本篇研究結果表明，海參會躲避藍光和白光，而藍光和白光光譜引起的負趨光行為可能是由海參表皮上感光受器在一定的時間和面積中接收的光子數量刺激所致。同時，實驗在生理方面上並未發現短時間的藍光或紅光光譜照射明顯對海參造成緊迫或呼吸樹的損傷。

關鍵字：海參、光通量密度、趨光性、光譜、遮蔽行為。

Abstract



Marine environmental factors such as light, temperature, water currents, habitat, and salinity can influence the behavior and physiological responses of sea cucumbers, consequently resulting in different growth performances. This study investigated the effects of different visible light spectra on the behavior and physiological responses of sea cucumbers (*Holothuria* sp.). The sea cucumbers were first divided into three groups (red LED: 630 nm wavelength; blue LED: 450 nm; white LED: 400-750 nm) to conduct a series of behavioral experiments. Under blue LED and white LED illumination, the sea cucumbers exhibited shelter-seeking behavior. The phototaxis experiment found that the blue LED light elicited the strongest negative phototaxis, followed by the white LED, while the red LED light elicited no obvious response. In the bottom zone preference experiment, blue LED and white LED illumination affected the bottom preference behaviors of some individuals. By measuring the mean photon flux density (MPFD) values at different illumination distances, the individuals in each group tended to stop moving at a similar MPFD value of $57 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$. However, when the photon flux of red LED was raised, individuals of the red LED group exhibited negative phototaxis. Next, we examined the physiological effects of red LED and blue LED illumination on sea cucumbers. Interestingly, the blue LED group exhibited higher oxygen consumption rates and thinner connective tissue in the respiratory tree during the early stage of the experiment. In contrast, no significant differences in coelomocyte phagocytosis were observed between the blue LED and red LED groups. Our findings suggested that the behaviors and physiological responses elicited by the blue or white LED light are likely caused by the number of photons in a specific time and area received by photoreceptors on the integument of sea cucumbers. Furthermore, neither long- nor short-wavelength spectra caused significant stress or damage to sea

cucumbers in this study.

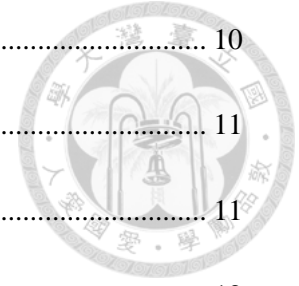
Keywords: sea cucumbers, photon flux density, phototaxis, light spectrum, sheltering behavior.



目錄



中文摘要.....	ii
Abstract.....	iii
目錄.....	v
表目錄.....	viii
圖目錄.....	ix
第一章 前言.....	1
1.1 海參的環境角色.....	1
1.3 光線對棘皮動物的行為之影響.....	2
1.4 紫外光對海參的影響.....	3
1.5 海參的分布與生態習性.....	4
1.6 研究動機.....	4
第二章 材料方法.....	5
2.1 實驗動物處理與採樣.....	5
2.2 海參品種鑑定.....	6
2.3 LED 燈具.....	6
2.4 遮蔽行為.....	7
2.5 趨光行為.....	7
2.6 黑白底選擇行為.....	7
2.7 不同波長光通量密度的刺激行為.....	8
2.7.1 平均光通量密度.....	9
2.7.2 位置分布機率.....	9
2.7.3 移動速度.....	10

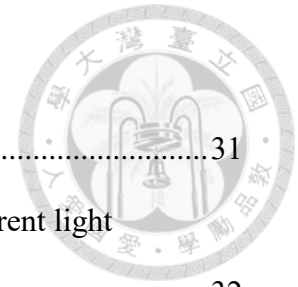


2.8 不同光波長相同光通量密度下的海參趨光行為	10
2.9 氧氣消耗率	11
2.10 細胞吞噬活性試驗	11
2.11 呼吸樹組織切片和 H&E 染色	12
2.12 統計分析	13
第三章 實驗結果	14
3.1 海參品種鑑定	14
3.2 不同光源對於海參遮蔽行為的影響	14
3.3 不同光源對於海參趨光性的影響	14
3.4 不同光源對於海參黑白底選擇的影響	15
3.5 不同波長的光通量密度的刺激行為	15
3.5.1 平均分布機率與平均光通量密度	15
3.5.2 移動速度	16
3.6 不同光波長相同光通量密度下的海參趨光性	17
3.7 氧氣消耗率與細胞吞噬活性試驗	17
3.8 呼吸樹組織切片	18
第四章 討論	19
4.1 光譜對海參遮蔽和趨光行為的影響	19
4.2 光譜對海參黑白底選擇行為的影響	20
4.3 不同可見光光譜之光通量密度對海參趨光行為的影響	21
4.4 光譜對海參生理的影響	22
第五章 結論	24



表目錄

Table 1. Percentage of bottom preference behavior in each group	31
Table 2. Distance movement (cm) of sea cucumbers under the different light spectrums with the same photon flux density	32



圖目錄



Figure 1. Sea cucumbers (<i>Holothuria</i> sp.).....	33
Figure 2. Light emitting diode spectrum.....	34
Figure 3. Photon flux density at each position in the tank filled with seawater to 7 cm depth.....	35
Figure 4. Species identification.....	36
Figure 5. Sets of experiments.....	37
Figure 6. Neutral Red for the phagocytic activity of exposed phagocytes.....	38
Figure 7. Percentage of sheltering sea cucumbers.	39
Figure 8. The phototaxis of sea cucumbers in different LEDs.	40
Figure 9. Probability distribution of moving position of each individual after the 90 minutes and 6 hours experiments.....	41
Figure 10. Moving distance of individual and mean PFD value in each LED light source.	42
Figure 11. Movement velocity measurement of sea cucumbers under LED lighting..	43
Figure 12. The effect of different spectra of the same PFD on the moving distance of sea cucumbers.	44
Figure 13. Oxygen consumption rate tests of sea cucumbers under long- or short- wavelength illumination.....	45
Figure 14. Phagocytosis capability of coelomocytes tests of sea cucumbers under long- or short-wavelength illumination.	46
Figure 15. Changes of the respiratory tree of sea cucumbers at various times under different LED light environments.....	47

第一章 前言



1.1 海參的環境角色

棘皮動物包括海星、海參、海膽、陽隧足和海百合等動物，同時也是海洋中最大的動物門之一，在潮間帶至深海平原都可以見到其蹤跡。棘皮動物對於維持生態環境中扮演著十分重要的角色，其中海參更是如此。海參攝食方式靠著過濾水體或泥沙中有機碎屑過活，這樣的攝食模式可以降低有機營養鹽等物質在海洋底質中過度堆積，進而維持海洋底棲環境(Lee et al., 2017)。在珊瑚礁生態系統中，海參可以藉由攝食將碎屑中有機氮和磷攝入，在體內轉化成無機物後以銨根和磷酸根離子形式排出到水體中，這些水體中的銨根和磷酸根離子可以再被水中的生產者所利用，藉此達到氮和磷的循環(Purcell et al., 2016)。由上述可以得知，在整個生態系統中，海參做為清除者的角色顯得十分重要。

台灣地區之海參依據觸手類型大致可分類成三種不同目(order)進而衍生出不同的棲地習性與食性：(1)樹手目(Dendrochirotida)，其枝狀觸手主要是以黏取水中的浮游生物、有機碎屑和顆粒作為食物來源，如非洲異瓜參(*Afroccumis africana*)和脆懷玉參(*Phyrella fragilis*)；(2)無足目(Apodida)，其羽狀及指狀觸手以抓取底質的有機物和小生物為食，如斑錨參(*Synapta maculata*)及臺灣步錨參(*Patinapta taiwaniensis*)；(3)楯手目(Aspidochirotida)，其楯狀觸手則是以抓取珊瑚沙，過濾沙中的微生物及有機物為食，或抓取岩石上的嫩藻為食，如黑海參(*Holothuria atra*)及蕩皮參(*Holothuria leucospilota*)(趙世民, 1998)。

1.2 海參產業概況

全世界海參有大約有 1250 種，台灣約有 30 種，其中有食用價值的物種有棘輻肛參(*Actinopyga echinites*)、黑海參、白底輻肛參(*Actinopyga mauritiana*)、黑乳參(*Holothuria nobilis*)、蛇目參(*Bohadschia argus*)、黑刺星海參(*Holothuria*

cinerascens)、糙刺參(*Stichopus horrens*)、梅花參(*Theleota ananas*)、脆懷玉參等，但是其中有許多海參種類的食用價值並不高，主要因為體型太小和體壁肌肉太薄，而高食用價值的海參族群在野外數目有限。台灣地區除澎湖以外的礁岩海岸地形因海底地形高低落差太大，所以並不適合人工放流或放養，因此海參養殖產業在台灣的發展目前仍有所限制(趙世民, 1998)。反觀在亞洲許多國家中，海參極具經濟價值，是熱門的水產養殖物種之一。

海參的營養價值豐富，其中豐富的蛋白質(Zaenuri et al., 2016)使其在亞洲市場成為相當受歡迎的食材。另外，先前研究也指出許多種類的海參具有藥用價值，從海參萃取出來的皂素(Saponin)具有抗癌功能(Soltani et al., 2014)，蛋白聚醣(Proteoglycan)(Liu et al., 2002)和膠原蛋白(Syahputra et al., 2021)對於在化妝品保養等產業極具潛力。從許多資訊可以得知，在未來海參不論在食品或科技發展都有相當大的空間，海參的養殖產業和研究在近代也逐漸興起，成為水產養殖業主要的研究目標之一。

1.3 光線對棘皮動物的行為之影響

研究環境對海參行為的影響對於養殖業是相當重要的，因為行為會牽涉到海參的攝食量多寡和覓食效率，從而可能影響到海參的生長、繁殖與健康狀況(Yang et al., 2022)。在過去的研究中，許多環境因子已經被用來檢視其對海參行為、成長或生理上的影響，例如晃動、光強度、水流、藥浴、溶氧量、鹽度等因子(Hou et al., 2019; Lin et al., 2013; Yang et al., 2022; Yu et al., 2013)。然而，目前對於在不同可見光波長(visible light spectrum)環境下，海參的行為或成長上的反應卻很少有人研究，就算在棘皮動物門中，曾被研究的物種也大多圍繞在海星和海膽等物種上。白棘三列海膽 (*Tripneustes gratilla*) 俗稱馬糞海膽，為臺灣經濟價值高可食用的水產物種，曾被發現對可見光之短波長光照(LED 藍光)和全光譜波長(LED 白光)具有負趨光性，反而對長波長(LED 紅光)沒有任何的趨光性反應。同時，進

一步觀察海膽受精卵在胚胎發育的過程中，在短波長光照的環境下雖然會加速胚胎早期的發育，但也有發現其胚胎存活率相較低於長波長光照試驗組(Li et al., 2021)；綠海膽 (*Psammechinus miliaris*) 分布於東大西洋和北海的淺海地區，也是一種可食用的海膽，有研究指出牠們對於波長介於 440 到 560 nm 的波長相當敏感(Millott & Yoshida, 1956)；棘冠海星 (*Acanthaster planci*) 俗稱魔鬼海星，分布於印度洋到西太平洋的珊瑚礁海域，具有神經毒性且以海參、貝類和珊瑚的水螅體為食，曾導致大量珊瑚礁被破壞(Chesher, 1969)，其被發現對 LED 藍光有正趨光性，而對 LED 白光有負趨光性，顯示了可以藉由不同波長光做為控制棘冠海星的可能性(de Dios & Sotto, 2014)。由上述文獻回顧可知，不同可見光波長光照對於棘皮動物門中不同物種有著不一樣的行為反應，而不同可見光波長也可能對於海參的行為反應產生不同程度之影響。

1.4 紫外光對海參的影響

相較於可見光波長的作用，目前的主要研究聚焦於非可見光(non-visible light spectrum)對於海參的影響，尤其是紫外光 (Ultraviolet)對於海參生理組織之損害。紫外光為小於可見光波長的光，波長越短能量越強，過度照射會對皮膚造成損傷，能量強的紫外光由於會破壞細胞核中的 DNA 結構(Ichihashi et al., 2003)，造成細胞損傷、死亡或是癌化，所以對於生物有著很強的威脅性。研究指出，仿刺參 (*Stichopus japonicus*) 在經過 0.5 小時的紫外光 (253.7 nm, 0.056 mW/cm²) 照射後，體腔液細胞為修復紫外光所造成之損傷，其細胞內之自噬作用(autophagy)有先增加而後減少之趨勢，接著引發 caspase-signaling 的細胞凋亡現象(Sun et al., 2022)；後者導致仿刺參產生自溶(autolysis)之現象(Yang et al., 2015)，若經口投餵 Rapamycin(一種細胞自噬的促進劑)，則可以有效減緩海參腸道組織損傷(Sun et al., 2022)。可見光雖然能量不足以直接破壞細胞核中的 DNA 結構，但仍然有可能對海參造成行為刺激，例如趨光性的發生，是否進一

步影響其在生理層面的變化同樣仍不清楚。



1.5 海參的分布與生態習性

本研究中使用之實驗動物屬於棘皮動物門 (Echinodermata)，海參綱 (Holothuroidea)，楯手目 (Aspidochirotida)，海參科 (Aspidochirotida)，海參屬 (Holothuria)。海參體色為黑色，觸手舒張時為樹枝狀，收縮時成楯狀，背腹側分化明顯。腹側的管足為褐色並呈三縱列，背側上有許多乳突狀突起呈不規則分布，主要棲息於低潮線的石縫中或石頭底下 (Figure 1a)。飼養於實驗室水缸時鮮少移動，喜歡固著於水與空氣交接處、石頭凹陷處或石頭下，受到外在刺激如人為捕捉時會吸水膨脹。

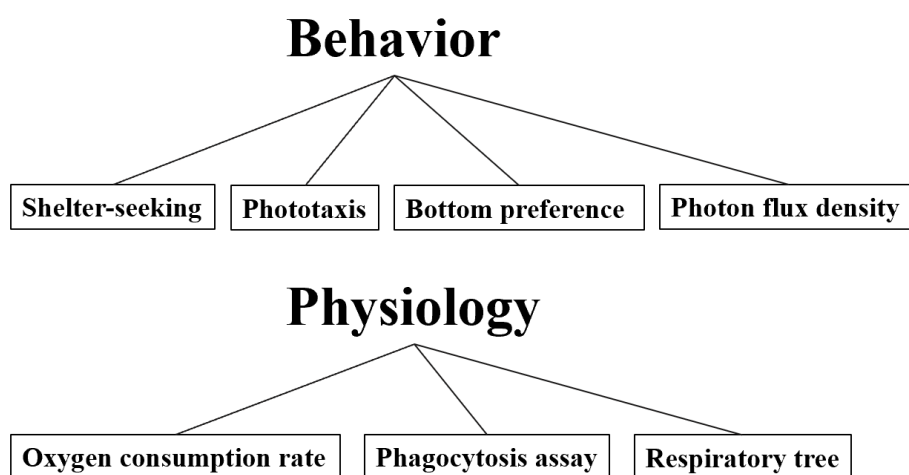
1.6 研究動機

先前研究主要在紫外線短波長光對海參的影響，然而自然界中不只是存在紫外光，在日常的太陽可見光光照中，就是約由 400 到 700 nm 波長的光譜混和而成。許多海參具有晝伏夜出的習性(Dong et al., 2010; Mercier et al., 1999)，所以顯見海參對於可見光光譜具有避光行為之發生，但海參對於感測全光譜中哪些特定波長光譜而產生這樣的行為尚不清楚。所以在本研究之主要標的，以全光譜之兩特定極端波長之色光(藍光和紅光)作為測試因子，並比較全波長光譜(白光)，觀察海參是否在不同光譜之照射下產生不同的移動行為和生理反應。

第二章 材料方法



本研究中以發光二極體 (Light emitting diodes, LED) 來模擬自然光中的不同色光。LED 燈由半導體元件所組成，其藉由材料中化學組成成分的不同能發出單色且不連續波長的光譜。實驗以不同波長光譜的 LED 燈具調控水體的顏色，分別為紅光 (波長 630 nm)、藍光 (波長 450 nm) 和白光 (全波長 400-700 nm)，接著設計不同實驗進行觀察。趨光行為實驗檢視海參對於不同光譜的趨光性；黑白底選擇行為實驗用來探討不同光譜是否會對海參在選擇棲息底質環境之亮或暗區行為造成影響；遮蔽行為實驗探討海參對不同光譜是否有迴避性；藉由測量平均光通量密度 (Mean photo flux density, MPFD) 來尋找海參對不同光譜的光強度忍受度(移動速度和距離)，取代傳統研究以光照度 (Luminance, Lux)作為測量單位；耗氧率、細胞吞噬試驗和呼吸樹組織切片用來檢視海參在不同光譜環境下的生理與緊迫反應為何。



2.1 實驗動物處理與採樣

實驗所使用之海參為臺東成功港附近海岸(22°42'04"N, 121°05'12"E)之低潮線石頭下及岩縫所捕捉(Figure 1a)，濕重約為 5 至 8 g 之間。海參野外捕捉之後，

以活體方式立即運送到臺灣大學漁業科學研究所的實驗室中，置於兩個 20 L 水循環系統的魚缸(Figure 1b)，魚缸環境都控制在水溫 25°C、鹽度 35 PSU (Practical salinity unit)，海水以海水素調配而成，每三天投食一次鰻粉，七天換一次 1/3 的海水，馴養一個星期後進行實驗。參照前人的研究方法，每次進行實驗前所挑選之海參皆以肉眼觀察體壁表面無明顯自溶、無排腸的個體為主(Yu et al., 2018)，避免個體因健康條件而影響實驗結果。

2.2 海參品種鑑定

海參送至實驗室後，藉由觀察海參觸手、外觀和體內骨針型態、生活習性後分類，並與圖鑑〈臺灣礁岩海岸的海參〉進行比對，且向圖鑑作者趙世民博士諮詢。進行骨針觀察時，剪取觸手和體壁一小塊組織下來置於玻片上，用滴管滴上 2 到 3 滴 5%次氯酸鈉水溶液，待組織溶解後以拭鏡紙從周圍小心吸乾；再滴蒸餾水對殘餘液體稀釋，以拭鏡紙小心吸乾，如此稀釋動作重複 4 到 5 次，即可蓋上蓋玻片後以複式顯微鏡觀察溶出的骨針型態。

2.3 LED 燈具

本研究中所使用的 LED 燈具(5W；EVERLIGHT Electronics Co., Ltd., Taiwan)有紅光、藍光和白光三種光源。其中，紅光波長為 640 nm、藍光波長為 450 nm 和白光全光譜波長為 400 ~ 700 nm，如 Figure 2 所示(Schachtner et al., 2016)，並以 MQ-210X Underwater Quantum Meter (Apogee Instruments, America)測定各個光譜的光通量密度。



2.4 遮蔽行為

如 Figure 5a 所示，本實驗在一個 $45 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ 的玻璃觀察缸中進行，觀察缸底部固定了 12 個人工遮蔽物（覆蓋面積 $5 \times 5 \text{ cm}^2$ ，四腳 $1 \times 1 \times 2 \text{ cm}^3$ ），以相互間隔 $5 \times 5 \text{ cm}^2$ 面積排列，注入略高於遮蔽物的海水，觀察缸正上方依據不同組別放置不同 LED 光源，剩餘四周缸壁和上方以黑色塑膠板遮蔽。實驗共有 3 組：450 nm、630 nm 和全光譜各 1 組。本實驗開始時將海參置於遮蔽物之間，接著開啟光源持續照明 10 分鐘後，紀錄缸中躲進遮蔽物的海參比例。每 1 次實驗 3 組光譜各有 5 隻個體，實驗 3 次重複。

2.5 趨光行為

如 Figure 5b 所示，本實驗在一個 $45 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ 的玻璃觀察缸中進行，先於觀察缸底部放置透明量尺，然後於觀察缸中注入水深 7 公分的海水，缸外兩側邊根據不同組別分別放置不同的 LED 燈光源(Figure 1b)，剩餘的觀察缸四周和上方以黑色塑膠板遮蔽，整段實驗時間只有 LED 燈照明。實驗共有 6 組：單側光源 3 組 (450 nm、630 nm、全光譜) 和兩側不同光源組 (450 nm、630 nm、全光譜) 3 組。實驗開始時從飼養缸中隨機小心地挑出一隻海參，將海參垂直量尺置於觀察缸正中間，開啟 LED 燈，經過 2 分鐘後，紀錄海參頭部所在位置與觀察缸中線垂直距離，6 種組別各以 18 隻個體進行實驗，因為海參為重複使用，每組之間至少休息 1 天後進行實驗。

2.6 黑白底選擇行為

如 Figure 5c 所示，本實驗在一個 $45 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ 的玻璃觀察缸中進行，首先於觀察缸中注入水深 7 公分的海水，然後在觀察缸底部各一半分別鋪上黑色與白色的壓克力板，缸外兩側邊根據不同組別分別放置不同的 LED 燈光源(Figure 5c)，

剩餘的觀察缸四周以黑色塑膠板遮蔽，在室內正常的照明下進行實驗。實驗共有 10 組：黑白底兩側無光源組 1 組、黑白底兩側同光源組 (450 nm、630 nm、全光譜) 3 組和黑白底兩側不同光源組 (450 nm、630 nm、全光譜) 6 組。實驗開始時會從飼養缸中隨機溫柔地挑出一隻海參，將海參平行置於觀察缸的黑色與白色的壓克力板中間，開啟 LED 燈，經過 2 分鐘後，以海參頭部的所在顏色位置來做為海參選擇的判定，紀錄有三種結果：黑底、白底和無選擇(海參頭部置於黑白底交界之間)，10 種組別各以 25 隻個體進行實驗，因為海參為重複使用，每組之間至少會休息 1 天後進行實驗。

2.7 不同波長光通量密度的刺激行為

以往所謂的光強度通常以每平方公尺上的流明度，也就是勒克斯($\text{lm}/\text{m}^2 = \text{lux}$)作為光照度的計算單位，然而此方法是以人眼對不同波長可見光的靈敏度經由光度函數(spectral luminous efficiency)的計算轉換而成(l'Eclairage, 2017)，或許不適用本研究中的量測。舉例來說，同樣在水下距離燈源 5 公分處，本實驗所使用的 5 瓦 LED 燈具中，藍色 LED 照度為 196 lux，紅色 LED 照度為 1255 lux，而白色 LED 照度更是達到 9960 lux。如此可見，不同光譜之間照度因經過光度函數轉換後差距過大，所以難以比較。反觀，單位光合光通量密度(PPFD, photosynthetic photo flux density)原為計算植物生長所需的光能量，是指觀測在 1 秒內，每 1 平方公尺所接收 400 至 700 nm 波長範圍的光子數目(McCree, 1971)，而本次所使用的紅光、白光與藍光 LED 正好落在此範圍內，因此可以測得光通量密度(photon flux density)，此單位也使不同光譜之間更方便比較，類似的實驗方法也被先前關於牙鯨研究中所使用過(Zou et al., 2022)。在本實驗中，實驗設計和計算公式為參考前人以光強度(light intensity)對海參移動之研究(Lin et al., 2013)後修改而成。實驗設計如 Figure 5d 所示，本實驗在一個 $80 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ 的玻璃觀察缸中進行，觀察缸底部長每 5 cm 被劃分成一格共 16 格，先於觀察缸中注入水深 7 cm 的海水，

觀察缸四周和上方以黑色塑膠板遮蔽以阻絕實驗室背景光源的照射，缸外一側邊根據不同組別分別放置不同的 LED 燈光源，在觀察缸長度每間隔 5 公分由儀器測量後，則可以畫出一光通量密度之梯度數值(Figure 3)。實驗共有 3 組: 450 nm、630 nm 和全光譜各 1 組。實驗開始時從飼養缸中小心地拿出海參，將海參們平均置於離光源約 5 cm 處，開啟 LED 燈，紀錄每 15 分鐘直到 90 分鐘及每小時直到 6 小時的時間點，海參分布在每一格的數量。每次紀錄時輕輕地打開缸上的遮蔽物，盡量以不驚動海參的狀況下紀錄每格海參數量。每次實驗之 3 種組別各自以 47 隻個體一起進行實驗，實驗 2 次重複，由於海參為重複使用，每次組別和重複之間至少會休息一天。

2.7.1 平均光通量密度

平均光通量密度 MPFD (Mean Photon Flux Density, $\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$) 用來表示海參總體平均所在位置的光通量密度，以下列算式計算:

$$\text{MPFD} = \sum_{i=1}^{16} \frac{qc_i \times \text{PFDC}_i}{S}$$

其中， qc_i 表示第 i 格上的海參數量， PFDC_i 表示第 i 格環境上的光通量密度 ($\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$)， S 為每次實驗的海參總數量。

2.7.2 位置分布機率

位置分布機率 PD (Probability Distribution, %) 用來表示第 i 格上的海參分布機率，以下列算式計算:

$$\text{PD} = \frac{1}{n} \sum_t^n \frac{qc_i}{S} \times 100\%$$

其中， qc_i 表示第*i*格上的海參數量， S 為每組實驗的海參總數量， n 為實驗重複次數， t 為每次實驗。



2.7.3 移動速度

移動速度 V (Velocity, mm/min) 用來表示每 15 分鐘和 1 小時內海參相對於光源的位移速度，以下列算式計算：

$$V = \frac{(\sum_{i=1}^{16} qc_i \times d_i)_t - (\sum_{i=1}^{16} qc_i \times d_i)_{t-1}}{S \times (min_t - min_{t-1})}$$

其中， qc_i 表示第*i*格上的海參數量， d_i 表示每格與光源的距離 (mm)， t 為每組時間點， S 為每組實驗的海參總數量， min_t 為每組時間點實驗已進行的時間 (minutes)。

2.8 不同光波長相同光通量密度下的海參趨光行為

本實驗於臺東水產試驗所知本種原庫進行，一個 $45 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ 的玻璃觀察缸中注入水深 7 公分的海水。缸外一側邊根據不同組別分別放置不同的 LED 燈光源，剩餘的觀察缸四周和上方以黑色塑膠板遮蔽，整段實驗時間只有 LED 燈照明。經由調整不同燈源的遠近，在各組別中使缸裡一直線光通量為 $100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ 。LED 燈實驗共有 3 組：450 nm、630 nm 和全光譜各 1 組。實驗開始時從飼養缸中溫柔地拿出海參，將海參們平均置於直線處，開啟 LED 燈，持續照明 10 分鐘，每 2 分鐘記錄每隻個體頭部與出發點的位移量。3 個組別各以 6 隻個體進行實驗，實驗 3 次重複。

2.9 氧氣消耗率

如 Figure 5e 所示，將溶氧計 DO-5509 (Lutron Electronics, Taiwan) 的測量棒固定在 0.3 公升玻璃罐的蓋子上。本實驗開始前會記錄每隻海參體重、圓柱玻璃空罐加上測量棒固定的蓋子重量後，於水下輕輕地將海參放入罐子後用測量棒蓋鎖緊，以防氣泡進入罐中，接著取出含有海參的玻璃罐，立即將玻璃罐外部水分擦乾，記錄整罐重量後置於光源旁，開啟 LED 燈開始實驗。每次實驗共有 3 組:450 nm、650 nm 和全光譜的光環境各一組。實驗時間 0、0.5、1、1.5、2、2.5 和 3 小時的時間點記錄溶氧計讀值。每次實驗每組各有 2 隻個體，每組 3 次重覆。氧氣消耗率 OCR (Oxygen Consumption Rate, mg/g/h) 經參考前人研究並修改 (Yu et al., 2013)，以下列算式計算：

$$\text{OCR} = \frac{(C_0 - C_t)(W_f - W_s - W_j)}{W_s \times hr \times D}$$

其中， C_0 為實驗開始時海水溶氧量 (mg/L)， C_t 為各時間點海水的溶氧量 (mg/L)， W_f 為玻璃罐、海水和海參的總重量 (g)， W_s 為海參重量 (g)， W_j 為空玻璃罐重量 (g)， hr 為實驗時間 (hours)， D 為海水密度 (1.0271 kg/L)

2.10 細胞吞噬活性試驗

本實驗利用中性紅 (neutral red) 方法來測定體腔液細胞吞噬活性，中性紅為一種真核生物的染劑，可以染色活細胞中的溶酶體 (Figure 6)。首先從飼養缸中隨機挑出海參，抽取 100 μ l 體腔液後置入水深 6 cm 的圓柱玻璃罐 (直徑 8 cm、高度 9 cm)，每隻海參一罐，在不同的光環境 30 分鐘後，取出海參再次抽取 100 μ l 的體腔液。實驗共有兩組:450 nm 和 650 nm 的光環境。抽取海參體腔液時，利用 1 ml、針頭為 25G 的針管，從海參的背側斜上方小心插入後抽取，取出體腔液後，以體積 1:1 的比例和抗凝劑 (EGTA 0.02 M, NaCl 0.48 M, KCl 0.019 M, Tris-HCl 0.068 M) 混和。從混合液中取 50 μ l 和 0.8% trypan blue (0.33% 海水稀釋) 以體積

1:1 比例繼續混和，取 15 μ l 至細胞計數器上進行計數；另外再從體腔液和抗凝劑的混和液中取 100 μ l 到 96 孔盤上，在室溫中靜置 30 分鐘，讓混和液中的細胞附著於孔壁上，30 分鐘後輕輕吸除孔中的混和液，加入 100 μ l 0.001M 中性紅後再靜置 30 分鐘進行染色，接著抽除 neutral red 溶液，以 100 μ l 0.85% 食鹽水重覆浸洗 3 次，最後使用 200 μ l 的由醋酸和酒精的混和液 (100% Ethanol 和 99.9% Acetic acid，體積 1:1) 溶解細胞 20 分鐘後，將 96 孔盤上分光光譜儀 SpectraMax ABS readers (Molecular Devices, America) 讀取 540 nm 的吸光值。細胞吞噬活性以每 10^6 個細胞所吸收 540 nm 的吸光值來表示。2 種組別中各以 13 隻個體進行實驗。

2.11 呼吸樹組織切片和 H&E 染色

本實驗開始時將海參置於水深 6 公分的圓柱玻璃罐內 (直徑 8 cm、高度 9 cm)，依據不同的組別置於不同的燈光旁。實驗共有三組: 450 nm、650 nm、全光譜。每組海參於玻璃罐中持續以不同的光源照射 6 小時，其中在第 0、1、2、6 小時的時間點取出 1 隻個體將背側體壁剪開，以鑷子取得呼吸樹組織。

取出的呼吸樹浸於 10% 甲醛中至少 24 小時後開始石蠟包埋步驟。步驟依序進行浸泡: 70% 酒精 (2 次，每次 1 小時)、80% 酒精 (1 小時)、95% 酒精 (1 小時)、100% 酒精 (3 次，每次 1.5 小時)、二甲苯 (3 次，每次 1.5 小時)、59°C 石蠟液 (2 次，每次 2 小時)。最後包埋組織成石蠟塊，切片 5 μ m 後置於 42°C 水浴槽，展片後以玻片從水浴槽中撈起，風乾 30 分鐘後於 45°C 烘箱過夜後進行組織染色。

組織染色步驟依序為下: 二甲苯 (2 次，每次 10 分鐘)、100% 酒精 (2 次，每次 5 分鐘)、95% 酒精 (2 次，每次 2 分鐘)、蒸餾水 (30 秒)、Hematoxylin (8 分鐘)、流水 (5 分鐘)、酸性酒精 (30 秒)、流水 (1 分鐘)、bluing solution (30 秒)、流水 (1 分鐘)、蒸餾水 (30 秒)、95% 酒精 (30 秒)、Eosin (1 分鐘)、95% 酒精 (2

次，每次 5 分鐘)、100%酒精 (2 次，每次 5 分鐘)、二甲苯 (2 次，每次 5 分鐘)，待風乾後，以封片膠封片。

玻片標本製作完成後，上複式顯微鏡觀察和拍照，在呼吸樹結締組織隨機取 5 個點利用 ImageJ 軟體測量厚度，計算平均值。



2.12 統計分析

所有數據分別利用 Levene test 和 Shapiro–Wilk test 檢測變異數同質性檢定和常態性。遮蔽行為和移動速度分別使用 Kruskal-Wallis test 和 Friedman test 判斷有顯著差異後，使用 Dunn's multiple comparison test 進行事後比較。不同波長相同光通量的海參趨光行為實驗數據利用 one-way ANOVA 判斷有顯著差異後，以 Tukey multiple comparison test 進行事後比較。氧氣消耗率在每個時間點以 Friedman test 判斷有顯著差異後，使用 Dunn's multiple comparison test 進行事後比較。細胞吞噬活性試驗和呼吸樹結締組織厚度利用 Student's t-test 與控制組(第 0 分鐘和第 0 小時)進行比較。遮蔽行為、移動速度、相同光通量趨光行為、氧氣消耗率、細胞吞噬活性試驗和呼吸樹結締組織厚度的統計和作圖使用 GraphPad Prism; 海參平均光通量密度、分佈率使用 R 軟體作圖。顯著差異定義為 $P < 0.05$ 。

第三章 實驗結果



3.1 海參品種鑑定

為了進一步確認本實驗所研究之生物品種，所有的海參經過外觀觀察後發現此海參觸手在收縮時成楯狀，舒張時成枝狀(Figure 4a, 4b)；外觀背腹側分界明顯，其管足於腹部之位置並且明顯呈現三縱列之排列方式(Figure 4c)；觸手和背部皮膚內骨針型態均成桿狀(Figure 4d, 4e)，喜於固著於缸壁或石頭表面上，並且無吞食底沙之習性。以上特徵和特性經由圖鑑〈臺灣礁岩海岸的海參〉(趙世民, 1998)比對後，因無發現相符之物種，所以攜帶活體前往國立臺灣自然科學博物館向趙世民博士諮詢，經初步鑑定後疑似為臺灣未紀錄之新物種。由於海參物種尚待確認，本篇研究先以鑑定之外型與骨針特徵將其歸類於海參屬(*Holothuria* sp.)。

3.2 不同光源對於海參遮蔽行為的影響

如 Figure 7 所示，不同光源照射下，海參躲進遮蔽物的數量比例有顯著差異。其中，紅光組中沒有海參躲進遮蔽物，藍光組躲進遮蔽物的海參比例顯著高於紅光組，而白光組躲進遮蔽物的海參比例介於紅光組和藍光組之間，並與兩者無顯著差異。結果顯示海參在藍光和白光環境下比較傾向尋找遮蔽物。

3.3 不同光源對於海參趨光性的影響

如 Figure 8 所示，在只有一側有光源的環境下，藍光組之海參的移動距離為 -4.25 ± 3.021 cm；紅光組移動距離為 -0.8611 ± 2.611 cm；白光組移動距離為 -3.639 ± 2.935 cm。在混和光源組別中，兩側為藍光和紅光時，海參會向紅光側移動(5.417 ± 2.539 cm)；兩側為白、紅光時，海參會向紅光側移動(3.694 ± 1.637 cm)；

而在兩側分別為藍、白光的情況下，海參會向白光側移動(2.972 ± 2.839 cm)。實驗結果顯示，海參對於同樣紅光(長波長)光源無明顯存在趨光性；在兩側光源的環境下，海參顯示出為了躲避短波長光源而往長波長光源移動之現象。



3.4 不同光源對於海參黑白底選擇的影響

如 Table 1 所示，在室內一般照明，黑白底兩側無光源的環境下，有 88% 的海參選擇往黑底移動、4% 不選擇、8% 選擇白底；在黑白底左右兩側相同光源的環境下，紅光組有 72% 選擇黑底、12% 不選擇、16% 選擇白底，藍光組有 48% 選擇黑底、16% 不選擇、36% 選擇白底，白光組有 52% 選擇黑底、16% 不選擇、32% 選擇白底；在黑底側都為紅光的環境下，白底藍光組有 92% 選擇黑底、8% 不選擇，白底白光組有 100% 選擇黑底；在黑底側都為白光的環境下，白底紅光組有 100% 選擇白底，白底藍光組有 80% 選擇黑底、20% 不選擇；在黑底側都為藍光的環境下，白底紅光組有 96% 選擇白底、4% 選擇黑底，白底白光組有 12% 選擇黑底、32% 不選擇、56% 選擇白底。實驗結果顯示，藍光或白光的照射會干擾海參對於黑白底棲地(亮區或暗區)的選擇行為。

3.5 不同波長的光通量密度的刺激行為

3.5.1 平均分布機率與平均光通量密度

Figure 9 顯示在不同光源的光通量梯度下，海參在觀察缸分布機率的改變。紅光組在紀錄的前 90 分鐘和 6 小時內，各時間點海參的位置分布幾乎沒有任何改變(Figure 9a 和 Figure 9d)；然而，藍光組大部分的海參在前 90 分鐘內就快速地遠離藍色 LED 光源(Figure 9b)，並且隨著紀錄的時間拉長，實驗在第 6 小時已

經有約 50% 的海參到達離光源最遠的區域(Figure 9e)；另外，白光組的海參在前 90 分鐘內部分海參位置分布有逐漸脫離光源的跡象(Figure 9c)，在整個 6 個小時實驗過程中，白光組的移動距離相較於紅光組明顯但不如藍光組快 (Figure 9f)。

由於觀察缸中的每個位置上的光通量密度大小與光源的距離遠近呈反比，所以海參體表所接收到的平均光通量密度會和移動距離有負相關。如 Figure 10 所示，紅光組在前 90 分鐘(Figure 10a)或是 6 小時(Figure 10d)內，海參在各時間點的環境中光通量密度幾乎不變，在實驗的第 6 小時海參所停留環境的光通量密度只從原本實驗開始的 $57 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 移動到約 $54.3 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 的距離(Figure 10d)；藍光組在 6 小時內，連續記錄的環境光通量密度都有下降的趨勢，並且在前期的 90 分鐘內下降快速(Figure 10b)，在實驗的第 6 小時海參所停留環境的光通量密度從原本實驗開始的 $175 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 移動到約 $54 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 的距離(Figure 10e)；白光組在 6 小時內，連續記錄的環境光通量密度也有下降的趨勢，但是前期 90 分鐘內不如藍光組下降那麼快(Figure 10c)，在實驗的第 6 小時海參所停留環境的光通量密度從實驗開始的 $100 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 移動到約 $63.3 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 的距離(Figure 10f)。實驗結果顯示，海參持續暴露在紅光(長波長)的環境仍然不會產生任何行為反應；另一方面，海參的運動行為分別在藍光和白光下的第 3 和第 5 小時逐漸下降。實驗結果也同時發現海參個體在藍光或白光組皆大約位於 $60 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 的光通量密度之區域逐漸停止移動，其行為較開始不活躍。

3.5.2 移動速度

Figure 11 顯示海參在不同光波長的光通量密度梯度下的移動速度。統計結果顯示，在 90 分鐘(Figure 11a)和 6 小時(Figure 11b)內，不同光波長組別的海參移動速度有顯著差異。藍光組均顯著大於紅光組；白光組與另外兩組均無顯著差

異。實驗結果顯示，海參在不同光譜照射下，藍光和白光相較紅光更刺激海參因為遠離光源而快速移動，而在實驗 1 小時其移動速度皆有減緩之趨勢。



3.6 不同光波長相同光通量密度下的海參趨光性

由 Figure 3 的實驗結果得知不同的光譜 LED 燈具在相同位置其於遠處每平方公尺每秒位置所產生的光強度有所不同，所以為了確認海參在不同光譜之照射下其體表所接受到之光通量密度大小是影響海參產生負趨光行為的因子而非某一特定光波長所影響，實驗進一步將三種不同光源組皆藉由調整燈具不同位置，使海參在觀察缸內起始位置處其體表所接收之光通量密度皆為 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 來觀察海參的移動行為。Table 2 和 Figure 12 顯示海參在 10 分鐘內在相同光源下與出發點的位移量。結果顯示在相同光通量密度的光譜照射下，所有組別的海參均有明顯的移動行為，並且統計結果顯示在實驗的第 2、4 和 8 分鐘有顯著差異，均為白光組位移量大於藍光組，而藍光與紅光組的移動距離均無顯著差異。實驗結果顯示，對於單一波長光譜而言，海參個體在特定時間某一區域內接收的光子數量產生極有可能是其產生負趨光行為的因子，而非不同波長所產生的現象。但對於白光組的海參個體而言，由於光譜波長組成範圍過大且複雜，還有可能存在其他因子影響海參的行為。

3.7 氧氣消耗率與細胞吞噬活性試驗

Figure 13 顯示在 3 小時的紅光和藍光環境下，海參於水中氧氣消耗量的變化。統計結果顯示，3 小時內藍光組海參的氧氣消耗率明顯大於紅光組，實驗顯示短光譜的刺激會增加海參在初期階段的氧氣消耗率，推測是海參為了躲避短波長光譜而增加了運動行為所導致；為了更進一步地確認海參因短光譜而產生的負

趨光行為，是否對海參造成緊迫，於是體腔液免疫細胞的胞噬作用被作為緊迫的指標。如 Figure 14 所示，紅光組與藍光組進行實驗處理 30 分鐘後，和實驗處理前(0 分鐘)均無顯著差異。實驗結果顯示，短光譜或長光譜的刺激對海參緊迫的產生並無明顯分別。

3.8 呼吸樹組織切片

Figure 15a 顯示經過 6 小時內的紅光與藍光的照射後，海參呼吸樹組織切片圖。圖中顯示海參在經過紅光或藍光 1、2 和 6 小時的照射後，呼吸樹組織均未發現破損的情形；Figure 15b 顯示紅光組和藍光組中每個時間點呼吸樹結締組織的厚度情形。統計結果指出，紅光組在 1、2 和 6 小時的時間點與 0 小時控制組均無顯著差異；藍光組在 1 和 2 小時顯著低於控制組，然而在第 6 小時與 0 小時控制組無顯著差異。結果顯示在實驗初期階段，呼吸樹結締組織因海參體表因為受到短波長(藍光)的刺激下，因肌肉收縮活動而短暫產生組織變薄之現象。

第四章 討論



光照對於生物一直都是相當重要的環境因子，除了調控生物的光週期，不同波長的光譜對不同生物也有不一樣的影響。其中藍光屬於可見光光譜中之短波長波段，其攜帶之能量相較於其他可見光強但卻又不會直接穿透生物表皮層造成損傷。在先前的研究中，被發現具有抑制生物膜中細菌的能力(Shany-Kdoshim et al., 2019)；除此之外，藍光 LED 也被證實對香魚(*Plecoglossus altivelis*)的生長表現、抗氧化、先天免疫和生殖能力有益(Hsieh et al., 2023)，且在小丑魚的飢餓試驗中會抑制氧化壓力中產生的 H_2O_2 (Choi et al., 2012)；反觀，紅光 LED 會抑制魚類生長卻會促進卵巢成熟，如藍刻齒雀鯛(*chrysiptera cyanea*)(Bapary et al., 2011)。以上研究都體現了未來可見光光譜對於水產養殖應用的潛力。使用發光二極體來有著許多優點，具有方便操作、節能省電、體積小和使用壽命長，近年來發光二極體被大量應用在水產養殖界如魚類生長、行為、生殖和水體環境消毒等研究(Yeh et al., 2014)，於是在本研究中，實驗利用不同 LED 光譜照射海參，來觀察其行為和生理反應為何，來評估對未來不管在水產養殖、生態或野外採集中的應用潛力和方式。


4.1 光譜對海參遮蔽和趨光行為的影響

在自然水域環境中，藍光的光強度越高通常伴隨著紫外線越強，在過去的許多研究中已知對海參健康有害(Sun et al., 2022; Yang et al., 2015)，因此推測海參傾向避免其身體暴露於短波長光譜中。在棘皮動物門中，海膽被發現在短波長光譜的照射下，會在環境中抓取可以用以遮光的物質尋求遮蔽減少光線的直接照射(Li et al., 2021)。同樣屬於棘皮動物之海參也被發現有類似的行為，自然環境日光的照射下，許多種類之海參藉由躲進遮蔽物或將身體裹砂來避免日光的直射

(Bonham & Held, 1963; Palomar-Abesamis et al., 2018; Yamaguchi et al., 2018)。本篇研究中的遮蔽和趨光行為實驗中，發現海參有躲避藍光和白光的行為，而混和光源的環境下，大部分海參會往長波長光譜的方向前進。由於實驗結果與先前實驗室的海膽研究結果相似(Li et al., 2021)，所以推測海參和海膽等棘皮動物門之海洋生物對不同光譜之光照可能具有相似的反應機制。在過去，動物對光譜的各種趨光行為被大量應用於生物防治或收集上，例如捕蚊燈利用蚊蟲的正趨光性來吸引飛蚊進入高壓電將其擊殺；收集豐年蝦時會先利用光源將剛破殼的豐年蝦幼蟲吸引至水面下，方便與水中的卵殼進行分離；曾經有研究想利用魔鬼海星對於藍光的正趨光性和白光的負趨光性來進行誘捕，降低其對珊瑚礁環境的破壞(de Dios & Sotto, 2014)。同樣的概念亦可用於海參上，在養殖或野外生態環境中針對海參對短波長光譜的負趨光性來進行生物收集，來達到方便管理之效果。

4.2 光譜對海參黑白底選擇行為的影響

黑白底選擇行為實驗設計靈感來自於馴養期間對海參的觀察，我們觀察到海參似乎有偏好待在暗底的區域，並且根據目前的資料顯示無人描述過此偏好行為。在自然環境中，各種海參發展出許多不同躲避天敵的策略，例如黑海參和豹斑海參(*Holothuria pardalis*)會透過群聚行為降低個體被捕食的風險(Sanvicente-Anorve et al., 2017)；多種海參也會利用皮膚毒素或居維氏管來做為防禦機制(Hamel & Mercier, 2000)，或是透過晝夜規律的外出覓食避免和捕食者活動時間重疊(Mercier et al., 1999)。本研究之海參經觀察有固著和鮮少移動等特性，並且缺乏居維氏管作為防禦手段，因此可能發展出另一種方式避免被捕食風險，像是躲藏於岩石縫或粗糙的石頭表面，藉由吸水膨脹使身體牢牢卡在附著物上，如黑刺星海參(Chao & Wu, 2015)。因此在黑白選擇行為實驗中，海參對於黑底的偏好推測是由於黑底類似於石縫環境，可以提供海參躲藏或保護色等功能；在實驗室



背景光的條件下(兩側無光源)，有 88% 的海參個體會移動至黑底區域，然而在兩側同光源的實驗中，當光源為藍光或白光時，選擇不動或白底的海參比例有上升的趨勢，實驗結果顯示含有短波長的光源似乎會干擾海參偏好黑底的行為，推測是因為短波長光源的光通量密度較大；在兩側不同光源的實驗中，實驗結果顯示每當黑底側為藍光或白光時，大部分的海參會迴避該側燈源，其中藍光對海參的影響更為明顯，此實驗結果與先前的趨光行為相符，顯示來自短波長光源大量的光子數使海參產生負趨光性而不選擇該側；反之當該側為長波長光源，因其光子數相對較弱，所以對海參的趨光性行為沒有明顯的影響。總而言之，此現象的發生推測是由於海參在短時間內接受到來自藍光和白光的大量光子，並影響海參辨別黑白底的能力。

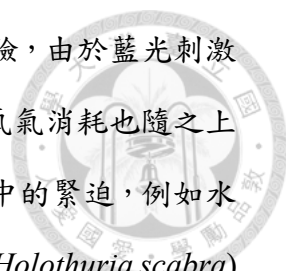
4.3 不同可見光光譜之光通量密度對海參趨光行為的影響

除了探討不同波長光譜對海參行為的影響外，光譜強度也是相當重要的因子。日本仿刺參(*Apostichopus japonicus*)曾被發現對鹵素燈的光強度有著不同的反應(Lin et al., 2013)；而海膽在高強度的日光照射或紫外線輻射下，亦曾被發現產生負趨光行為和增加抓取遮蔽物的數量(Adams, 2001; Crook et al., 1999; Dumont et al., 2007)；黑海參(*Holothuria atra*)和玉足海參(*Holothuria leucospilota*)對強光產生負趨光行為(Bonham & Held, 1963)。本研究中嘗試以光通量密度作為光強度的指標，期望以觀察海參所接收到的光子的數目來得到更客觀的結果。本研究在觀察缸環境中於各種光譜建立了光通量密度梯度，觀察每個時間點海參所在的光通量密度環境來得知海參對光的忍受程度。海參的分布和移動速度結果顯示在前 90 分鐘內，藍光組的負趨光行為最為明顯，其次為白光組，而紅光組無明顯移動行為，推測是由於各個光譜在距離光源的 5 公分處，光通量密度強度依序為藍光、白光和紅光，而造成遠離光源速度的不同。在連續照射 6 小時後，所有組別的海

參不再明顯移動，藍光組、紅光組和白光組的海參分別約停留在光通量密度 54、54.3 和 63 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 的區域，推論海參為了躲避過多的光子數照射，而移動到光通量密度低之其體表可忍受之相對舒適區域，此區域光通量密度約為平均 57 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 的範圍左右。在不同光波長相同光通量的實驗中，將三種不同波長的光譜統一調整成 100 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 後，各組海參皆表現出負趨光性，結果排除了波長因素，因為如果將紅光組從原本不會移動的光通量密度 57 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 的條件下調整至 100 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 後，海參個體就會產生移動行為，說明光通量大小的很有可能為刺激海參負趨光行為的原因。在棘皮動物門中，先前研究指出紫海膽(*Strongylocentrotus purpuratus*)管足細胞有表現 Sp-Opsin4 和 Sp-Pax6 的基因，分別為光受器的功能和發育的相關基因，顯示管足上極可能有感光細胞的存在(Ullrich-Lüter et al., 2011)；同樣地，在糖海星(*Asterias rubens*)的研究中，其視墊和體背表皮組織也分別檢測到睫狀視蛋白和桿狀視蛋白，此兩種蛋白對於視覺和非視覺的感光扮演十分重要的角色(Delroisse et al., 2013)；在日本仿刺參的研究中，在其觸手、棘突和管足被雷射燈刺激後，Pax6 相關基因的表現線也有增加的現象(Liu et al., 2020)。這些類光感受蛋白或許和視網膜中視桿細胞的視紫質(rhodopsin)一樣，具有捕獲單一光子功能(Hecht et al., 1942; Rieke & Baylor, 1998)。根據前人研究，本實驗所使用海參推測也有類似的感光機制，使其對光通量密度不同的環境有不同的反應，但還需進一步研究來證實其可能之機制。

4.4 光譜對海參生理的影響

移動行為之實驗結果顯示在相同的光照距離下，不同光波長燈具具有不同光子數，直接對生物體造成影響，產生極大的行為反應之差異。因此本研究進一步選擇藍光與紅光此二種光譜來檢視對海參影響，也代表不同的光子數對於生物體生理之反應。氧氣消耗率的實驗結果顯示，海參在 3 小時內的藍光環境下明顯比



在紅光環境下有著更高的氧氣消耗。此結果呼應先前的行為實驗，由於藍光刺激海參產生負趨光行為，換言之其運動行為增加，而運動所需的氧氣消耗也隨之上升。先前的研究指出海參氧氣消耗的變化也有可能來自於環境中的緊迫，例如水溫和鹽度的變化等，先前在長達三十天實驗研究指出，糙海參(*Holothuria scabra*)耗氧量差異在 21°C 和 33°C 環境下最高可達三到四倍之多(Kühnhold et al., 2017); 在連續七天不同鹽度環境對玉足海參的耗氧量在 18 PSU 和 28 PSU 之間也可達到約兩倍之多(Yu et al., 2013); 而本研究中的海參於藍光環境下只有在實驗初期的第 0.5 小時的耗氧量平均值約為紅光環境下的兩倍，於是推測可能是來自因光環境的不同而產生的緊迫。當海參歷經緊迫後，其自主神經系統會釋放兒茶酚胺類等神經傳導物質(Tan et al., 2016)，刺激個體產生免疫(Xie et al., 2019)、生殖(Jiang et al., 2019)或抑制生長(Pei et al., 2012)等相關機制，幫助生物個體內維持恆定。本研究為了調查海參是否因藍光環境而產生緊迫，細胞吞噬活性試驗被用來檢視因不同光波長所造成的緊迫進一步影響免疫反應(Tan et al., 2015)，然而實驗結果在不同的光波長組別中無顯示顯著差異；海參呼吸樹組織切片也無顯示有因氧化壓力所造成的破損，只有在藍光環境下第 1 和 2 小時呼吸樹結締組織厚度較薄，但在第 6 小時回復原狀。由於呼吸樹是海參排除代謝廢物的重要器官(Montalenti, 1958)，實驗初期所觀察到結締組織厚度的改變原因可能來自於海參在藍光下由運動引發呼吸樹肌肉層的收縮。綜觀以上實驗，短時間海參暴露在藍光或紅光的照射下，對個體生理上無明顯損傷。

第五章 結論

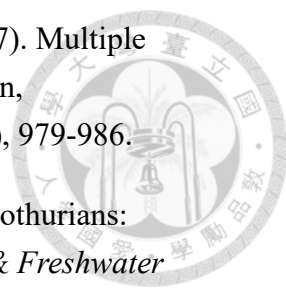


本篇研究描述了不同波長 LED 對海參行為和生理上的影響。遮蔽行為實驗顯示光源中含有藍光光譜會刺激海參尋找遮蔽物；在黑白底選擇行為實驗中，研究發現海參在自然環境下有趨向黑底的偏好，但是在左右含有藍光光譜的照射下，會影響其趨向偏好。藍光光譜引起的負趨光行為可能是由海參體表面中光感受器接收到特定時間和區域內的大量光子所造成，而紅光光譜如可能因其光子數量不足，所以無法觸發負趨光行為反應，而對海參而言，觸發其負趨光行為的光通量密度域值約平均為 $57 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 。同時研究也發現，海參在短時間紅光和藍光光譜的照射下，除了在藍光環境下氧氣消耗量明顯增加，均未對海參生理或呼吸樹組織上分別造成顯著的緊迫或損害。總體而言，本篇的研究結果為海參在環境中對藍光光譜的負趨光反應提供可能之原因，也說明藍光光譜在短時間內對海參不會造成負面影響。本篇研究結果可以延伸應用於其他商業性棘皮動物的養殖或是在自然環境中的調查，例如養殖環境的光源設置、野外或室內的生物收集等，呈現一個有價值的參考資料。

參考文獻



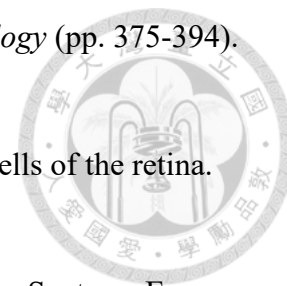
- Adams, N. L. (2001). UV radiation evokes negative phototaxis and covering behavior in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 213, 87-95.
- Bapary, M. A. J., Amin, M. N., Takeuchi, Y., & Takemura, A. (2011). The stimulatory effects of long wavelengths of light on the ovarian development in the tropical damselfish, *Chrysiptera cyanea*. *Aquaculture*, 314(1-4), 188-192.
- Bonham, K., & Held, E. E. (1963). Ecological observations on the sea cucumbers *Holothuria atra* and *H. leucospilota* at Rongelap Atoll, Marshall Islands.
- Chao, S.-M., & Wu, S.-C. (2015). Response of the sea cucumber *Holothuria cinerascens* to the predatory gastropod *Tonna pernix*. *Platax*, 2015, 81-88.
- Chesher, R. H. (1969). Destruction of Pacific corals by the sea star *Acanthaster planci*. *Science*, 165(3890), 280-283.
- Choi, C. Y., Shin, H. S., Choi, Y. J., Kim, N. N., Lee, J., & Kil, G.-S. (2012). Effect of LED light spectra on starvation-induced oxidative stress in the cinnamon clownfish *Amphiprion melanopus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 163(3-4), 357-363.
- Crook, A. C., Verling, E., & Barnes, D. K. (1999). Comparative study of the covering reaction of the purple sea urchin, *Paracentrotus lividus*, under laboratory and field conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79(6), 1117-1121.
- de Dios, H. H., & Sotto, F. (2014). Phototactic behavior of crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci* (Linnaeus, 1758) to different light spectra. *Journal of Science, Engineering and Technology (JSET)*, 2, 1-16.
- Delroisse, J., Lanterbecq, D., Eeckhaut, I., Mallefet, J., & Flammang, P. (2013). Opsin detection in the sea urchin *Paracentrotus lividus* and the sea star *Asterias rubens*. *Cah Biol Mar*, 54(4), 721-727.
- Dong, G., Dong, S., Wang, F., & Tian, X. (2010). Effects of light intensity on daily activity rhythm of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research*, 41(11), 1640-1647.

- 
- Dumont, C. P., Drolet, D., Deschênes, I., & Himmelman, J. H. (2007). Multiple factors explain the covering behaviour in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Animal Behaviour*, 73(6), 979-986.
- Hamel, J. F., & Mercier, A. (2000). Cuvierian tubules in tropical holothurians: usefulness and efficiency as a defence mechanism. *Marine & Freshwater Behaviour & Phy*, 33(2), 115-139.
- Hecht, S., Shlaer, S., & Pirenne, M. H. (1942). Energy, quanta, and vision. *The Journal of general physiology*, 25(6), 819-840.
- Hou, S., Jin, Z., Jiang, W., Chi, L., Xia, B., & Chen, J. (2019). Physiological and immunological responses of sea cucumber *Apostichopus japonicus* during desiccation and subsequent resubmersion. *PeerJ*, 7, e7427.
- Hsieh, Y.-J., Ho, Y.-S., & Wang, Y.-S. (2023). Illumination of different light wavelengths on growth performance and physiological response of juvenile sweetfish, *Plecoglossus altivelis*. *Aquaculture Reports*, 30, 101569.
- Ichihashi, M., Ueda, M., Budiyanto, A., Bito, T., Oka, M., Fukunaga, M., Tsuru, K., & Horikawa, T. (2003). UV-induced skin damage. *Toxicology*, 189(1-2), 21-39.
- Jiang, J., Zhao, Z., Pan, Y., Dong, Y., Gao, S., Li, S., Wang, C., Yang, H., Lin, S., & Zhou, Z. (2019). Gender specific differences of immune competence in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* before and after spawning. *Fish & Shellfish Immunology*, 90, 73-79.
- Kühnhold, H., Kamyab, E., Novais, S., Indriana, L., Kunzmann, A., Slater, M., & Lemos, M. (2017). Thermal stress effects on energy resource allocation and oxygen consumption rate in the juvenile sea cucumber, *Holothuria scabra* (Jaeger, 1833). *Aquaculture*, 467, 109-117.
- l'Eclairage, C. I. d. (2017). *Colorimetry for Display Technologies* (17-21-039). CIE Standard No. 17-21-039
- Lee, S., Ferse, S. C., Ford, A., Wild, C., & Mangubhai, S. (2017). Effect of sea cucumber density on the health of reef-flat sediments. In. Wildlife Conservation Society.
- Li, Y.-Y., Su, F.-J., Hsieh, Y.-J., Huang, T.-C., & Wang, Y.-S. (2021). Embryo Development and Behavior in Sea Urchin (*Tripneustes gratilla*) Under

Different Light Emitting Diodes Condition. *Frontiers in Marine Science*, 8, 785.

- Lin, C., Zhang, L., Liu, S., Gao, S., Xu, Q., & Yang, H. (2013). A comparison of the effects of light intensity on movement and growth of albino and normal sea cucumbers (*Apostichopus japonicus* Selenka). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 46(6), 351-366.
- Liu, S.-S., Hu, M.-L., & Ko, W.-C. (2002). Isolation of proteoglycan from sea cucumber and investigation of its biological activities. *Fisheries science*, 68(sup2), 1645-1646.
- Liu, X., Chenggang, L., Sun, L., Liu, S., Sun, J., & Yang, H. (2020). Behavioural response of different epithelial tissues of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) to light and differential expression of the light-related gene Pax6. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 53(2), 73-85.
- McCree, K. J. (1971). The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agricultural Meteorology*, 9, 191-216.
- Mercier, A., Battaglione, S. C., & Hamel, J.-F. (1999). Daily burrowing cycle and feeding activity of juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra* in response to environmental factors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 239(1), 125-156.
- Millott, N., & Yoshida, M. (1956). Reactions to shading in the sea urchin, *Psammechinus miliaris* (Gmelin). *Nature*, 178(4545), 1300-1300.
- Montalenti, G. (1958). The Invertebrates, Vol 4, Echinodermata - Hyman, Lh. *Scientia*, 93(7), 196-197. <Go to ISI>://WOS:A1958CLH0500006
- Palomar-Abesamis, N., Juinio-Meñez, M. A., & Slater, M. J. (2018). Effects of light and microhabitat on activity pattern and behaviour of wild and hatchery-reared juveniles of *Stichopus* cf. *horrens*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 98(7), 1703-1713.
- Pei, S., Dong, S., Wang, F., Tian, X., & Gao, Q. (2012). Effects of density on variation in individual growth and differentiation in endocrine response of Japanese sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka). *Aquaculture*, 356, 398-403.
- Purcell, S. W., Conand, C., Uthicke, S., & Byrne, M. (2016). Ecological roles of

exploited sea cucumbers. In *Oceanography and marine biology* (pp. 375-394). CRC Press.



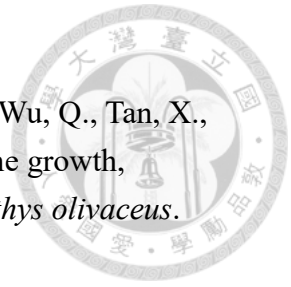
- Rieke, F., & Baylor, D. A. (1998). Single-photon detection by rod cells of the retina. *Reviews of Modern Physics*, 70(3), 1027.
- Sanvicente-Anorve, L., Solis-Marin, F. A., Solis-Weiss, V., & Lemus-Santana, E. (2017). Population density and spatial arrangement of two holothurian species in a coral reef system: is clumping behaviour an anti-predatory strategy. *Cahiers de Biologie Marine*, 58(11), 307-315.
- Schachtner, J., Bayer, P., & von Wangelin, A. J. (2016). A flow reactor setup for photochemistry of biphasic gas/liquid reactions. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12(1), 1798-1811.
- Shany-Kdoshim, S., Polak, D., Hour-Haddad, Y., & Feuerstein, O. (2019). Killing mechanism of bacteria within multi-species biofilm by blue light. *Journal of oral microbiology*, 11(1), 1628577.
- Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M. A., & Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 3(1), 43.
- Sun, J., Zheng, J., Wang, Y., Yang, S., & Yang, J. (2022). The exogenous autophagy inducement alleviated the sea cucumber (*Stichopus japonicus*) autolysis with exposure to stress stimuli of ultraviolet light. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(8), 3416-3424.
- Syahputra, G., Hariyatun, H., Firdaus, M., & Santoso, P. (2021). Extraction and Characterization of Collagen from Sand Sea Cucumber (*Holothuria scabra*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*(00).
- Tan, J., Li, F., Sun, H., Gao, F., Yan, J., Gai, C., Chen, A., & Wang, Q. (2015). Mechanical stress induces neuroendocrine and immune responses of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Journal of Ocean University of China*, 14(2), 350-356.
- Tan, J., Sun, X., Gao, F., Sun, H., Chen, A., Gai, C., & Yan, J. (2016). Immune responses of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* to stress in two different transport systems. *Aquaculture Research*, 47(7), 2114-2122.

- Ullrich-Lüter, E. M., Dupont, S., Arboleda, E., Hausen, H., & Arnone, M. I. (2011). Unique system of photoreceptors in sea urchin tube feet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8367-8372.
- Xie, X., Yang, M., Sun, J., Zhang, T., Zhou, Z., Wang, Q., Zhang, L., & Yang, H. (2019). Quality evaluation of indoor-and outdoor-cultured sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) seedlings: Insight from survival and immune performance in response to combined stress of hyperthermia and hyposalinity. *Aquaculture Research*, 50(12), 3673-3683.
- Yamaguchi, M., Masuda, R., & Yamashita, Y. (2018). Phototaxis, thigmotaxis, geotaxis, and response to turbulence of sea cucumber *Apostichopus japonicus* juveniles. *Fisheries science*, 84(1), 33-39.
- Yang, J.-F., Gao, R.-C., Wu, H.-T., Li, P.-F., Hu, X.-S., Zhou, D.-Y., Zhu, B.-W., & Su, Y.-C. (2015). Analysis of apoptosis in ultraviolet-induced sea cucumber (*Stichopus japonicus*) melting using terminal deoxynucleotidyl-transferase-mediated dUTP nick end-labeling assay and cleaved caspase-3 immunohistochemistry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(43), 9601-9608.
- Yang, M., Li, X., Hu, F., Ning, Y., Tian, R., Ding, P., Chi, X., Huang, X., Zuo, R., & Chang, Y. (2022). Effects of handling stresses on fitness related behaviors of small sea cucumbers *Apostichopus japonicus*: New insights into seed production. *Aquaculture*, 546, 737321.
- Yeh, N., Yeh, P., Shih, N., Byadgi, O., & Cheng, T. C. (2014). Applications of light-emitting diodes in researches conducted in aquatic environment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 611-618.
- Yu, Z., Luo, P., Liu, W., Huang, W., & Hu, C. (2018). Influence of water temperature on physiological performance of the sea cucumber *Holothuria moebii*. *Aquaculture Research*, 49(11), 3595-3600.
- Yu, Z., Qi, Z., Hu, C., Liu, W., & Huang, H. (2013). Effects of salinity on ingestion, oxygen consumption and ammonium excretion rates of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Aquaculture Research*, 44(11), 1760-1767.
- Zaenuri, M., Anggoro, S., & Kusumaningrum, H. P. S. (2016). Nutritional value of sea cucumber [*Paracaudina australis* (Semper, 1868)]. *Aquatic Procedia*, 7, 271-

276.

Zou, Y., Peng, Z., Wang, W., Liang, S., Song, C., Wang, L., Wu, Z., Wu, Q., Tan, X., & You, F. (2022). The stimulation effects of green light on the growth, testicular development and stress of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 546, 737275.

趙世民. (1998). 臺灣礁岩海岸的海參. 臺中市:國立自然科學博物館.



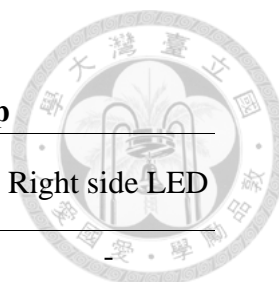


Table 1. Percentage of bottom preference behavior in each group

Left side LED	Black bottom (%)	Still (%)	White bottom (%)	Right side LED
-	88	4	8	
Red	72	12	16	Red
White	52	16	32	White
Blue	48	16	36	Blue
Red	100	0	0	Blue
Red	92	8	0	White
White	0	0	100	Red
White	80	20	0	Blue
Blue	4	0	96	Red
Blue	12	32	56	White

N = 25 in each group

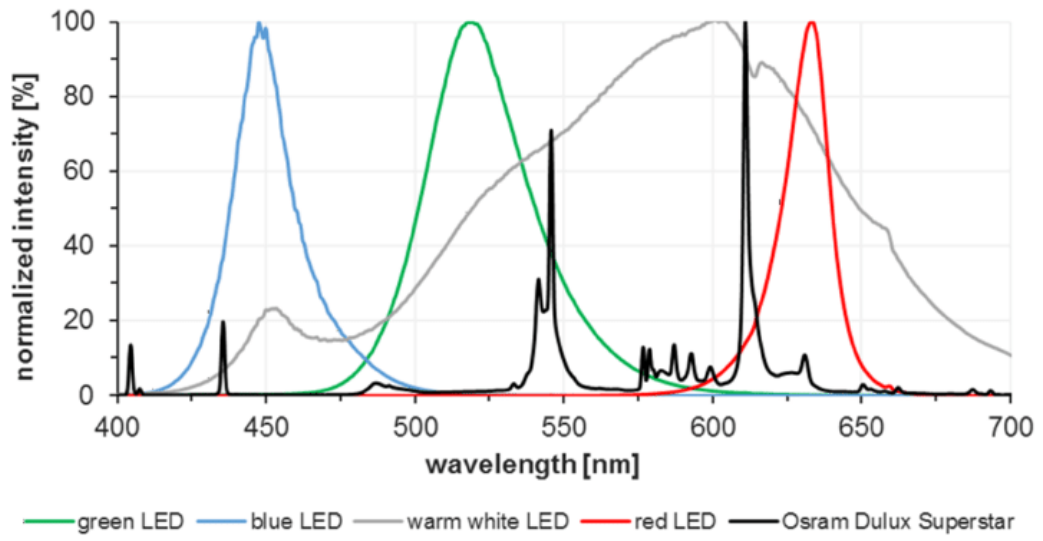
Table 2. Distance movement (cm) of sea cucumbers under the different light spectrums with the same photon flux density

Time (min)	Red	Blue	White	<i>F</i> (2, 6)	<i>P</i> value
	Mean ± SD				
2	2.12 ± 0.84 ^{ab}	0.91 ± 0.40 ^a	2.80 ± 0.43 ^b	7.918	0.021*
4	4.20 ± 0.85 ^{ab}	2.71 ± 1.51 ^a	5.68 ± 0.44 ^b	6.263	0.034*
6	5.56 ± 1.28	4.71 ± 2.34	8.03 ± 0.16	3.760	0.087
8	7.06 ± 1.96 ^{ab}	6.41 ± 1.02 ^a	10.03 ± 0.18 ^b	6.845	0.028*
10	8.45 ± 1.75	8.46 ± 1.74	10.41 ± 1.70	1.273	0.346

Data are presented as mean ± SE (n=3 in each group), letters a and b indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).



Figure 1. Sea cucumbers (*Holothuria* sp.)
(a) on rocks off the coast of Taitung, Taiwan, and (b) in a lab tank



(Schachtner et al., 2016)

Figure 2. Light emitting diode spectrum

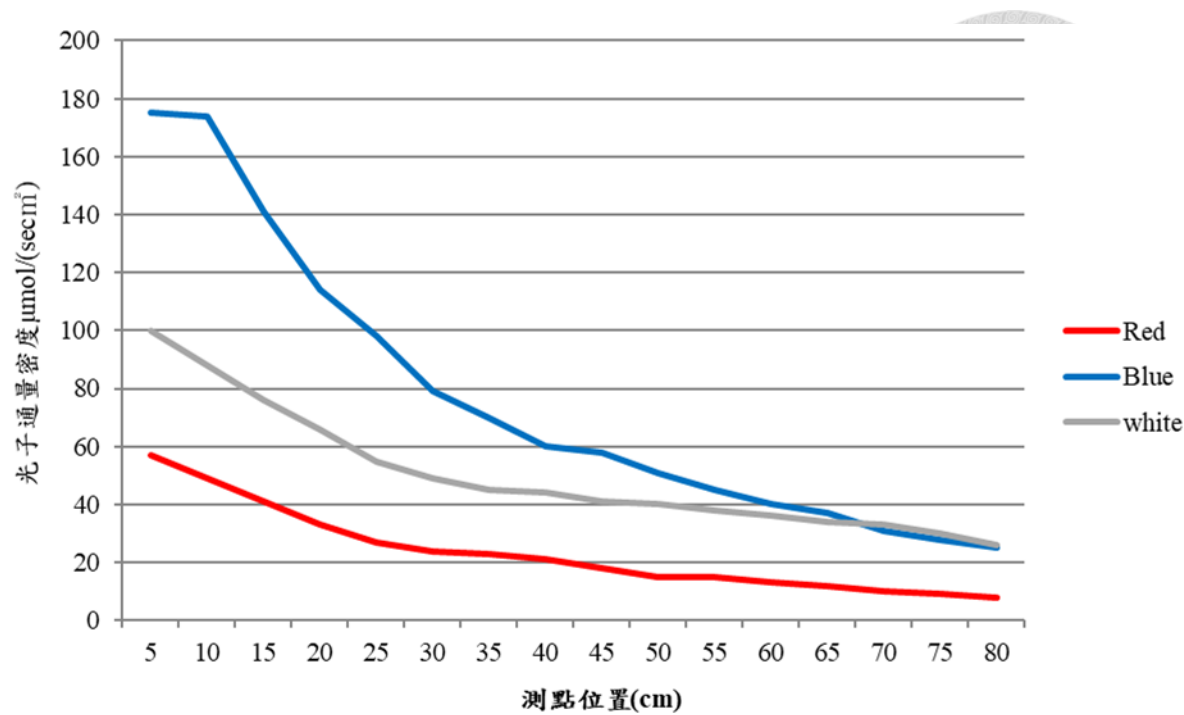


Figure 3. Photon flux density at each position in the tank filled with seawater to 7 cm depth.

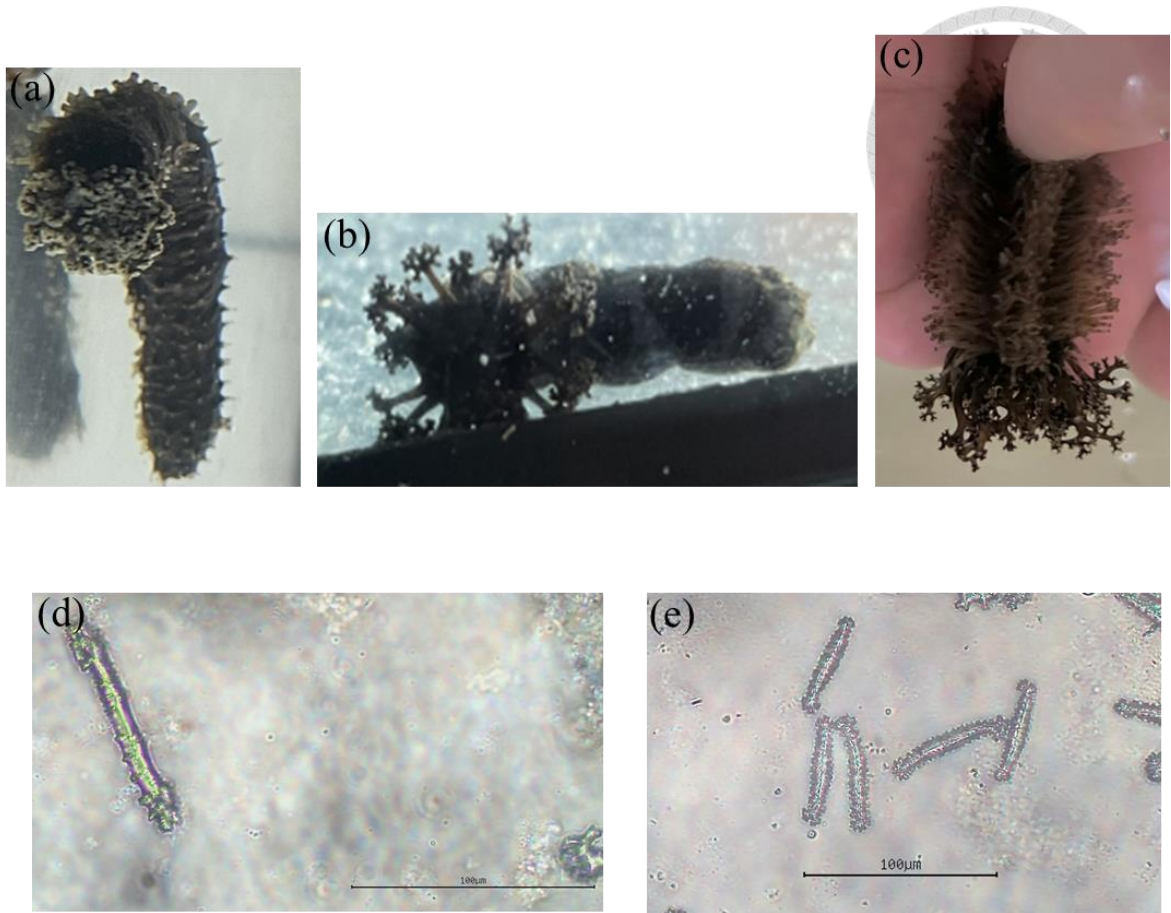


Figure 4. Species identification.

(a) peltate contracting tentacles, (b) dendriform stretching tentacles, (c) three rows of pedicels on the ventral side, (d) rod of the tentacle, and (e) rods of the dorsal body wall.

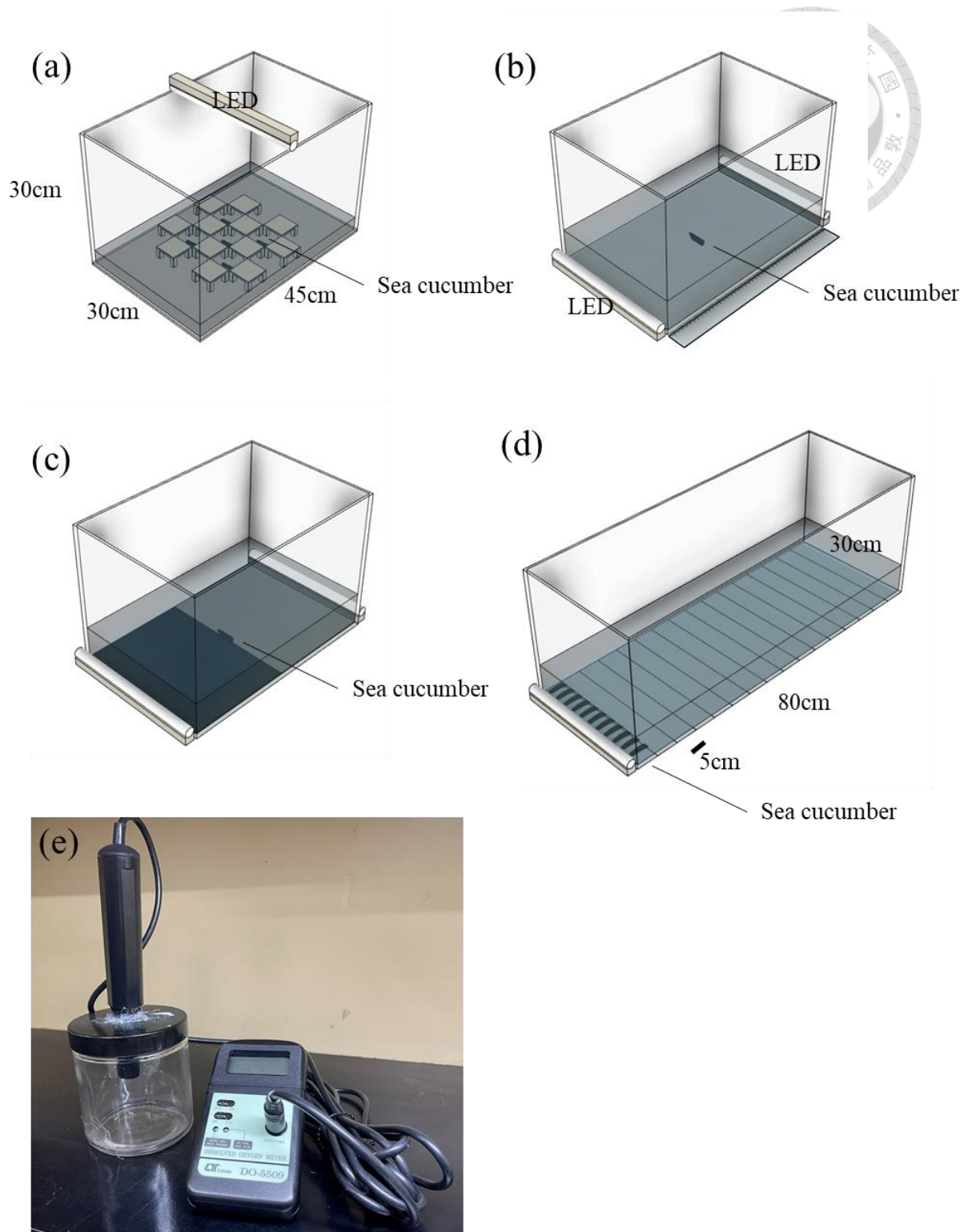


Figure 5. Sets of experiments.

(a) Shelter selection, (b) phototaxis, (c) preference behavior, (d) moving distance of individual, and (e) oxygen consumption.



Figure 6. Neutral Red for the phagocytic activity of exposed phagocytes.

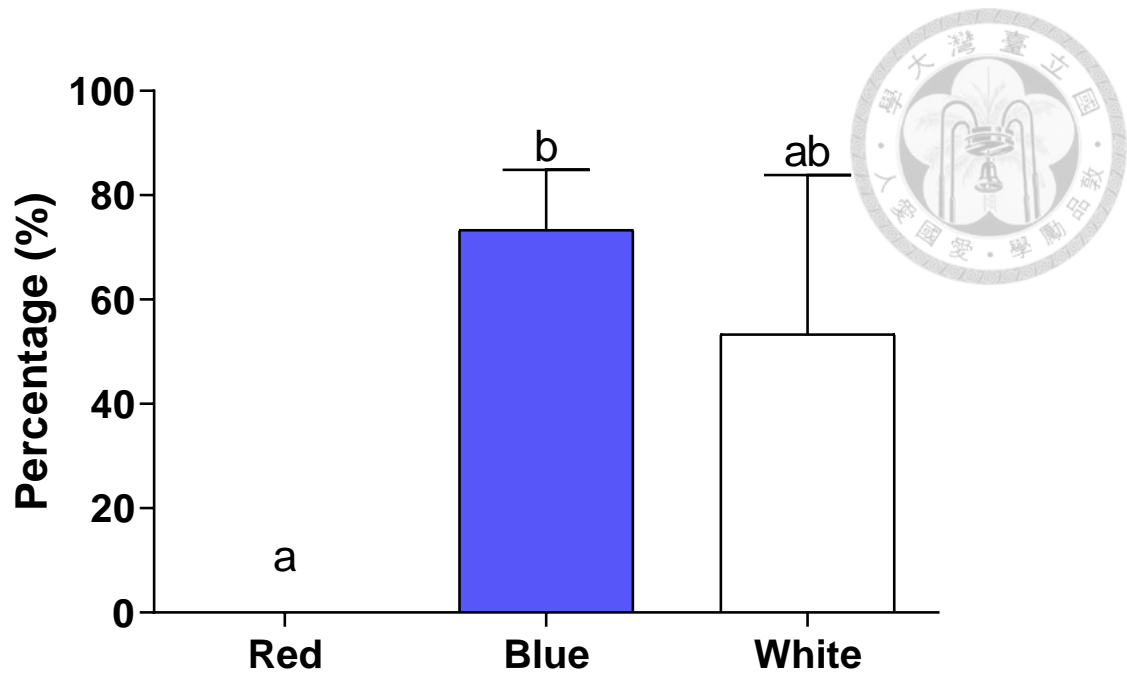


Figure 7. Percentage of sheltering sea cucumbers.

Data are presented as mean \pm SE (n=3 in each group), letters a, b, and c indicate significant differences between groups ($p < 0.05$), and the same letters indicate no significant differences between groups.

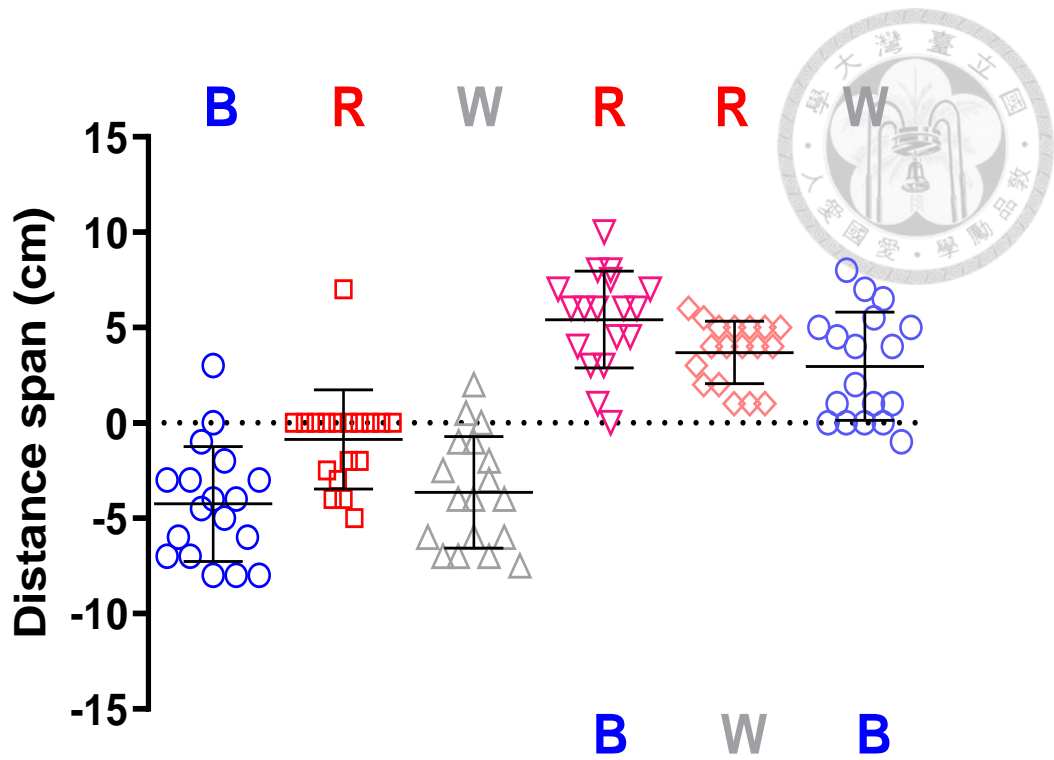


Figure 8. The phototaxis of sea cucumbers in different LEDs.

The positive and negative indicate the sea cucumber moved toward or away from the light source. B: blue LED, R: red LED, W: white LED. Each plot represents an individual. Data are presented as mean \pm SE (n=18 in each group).

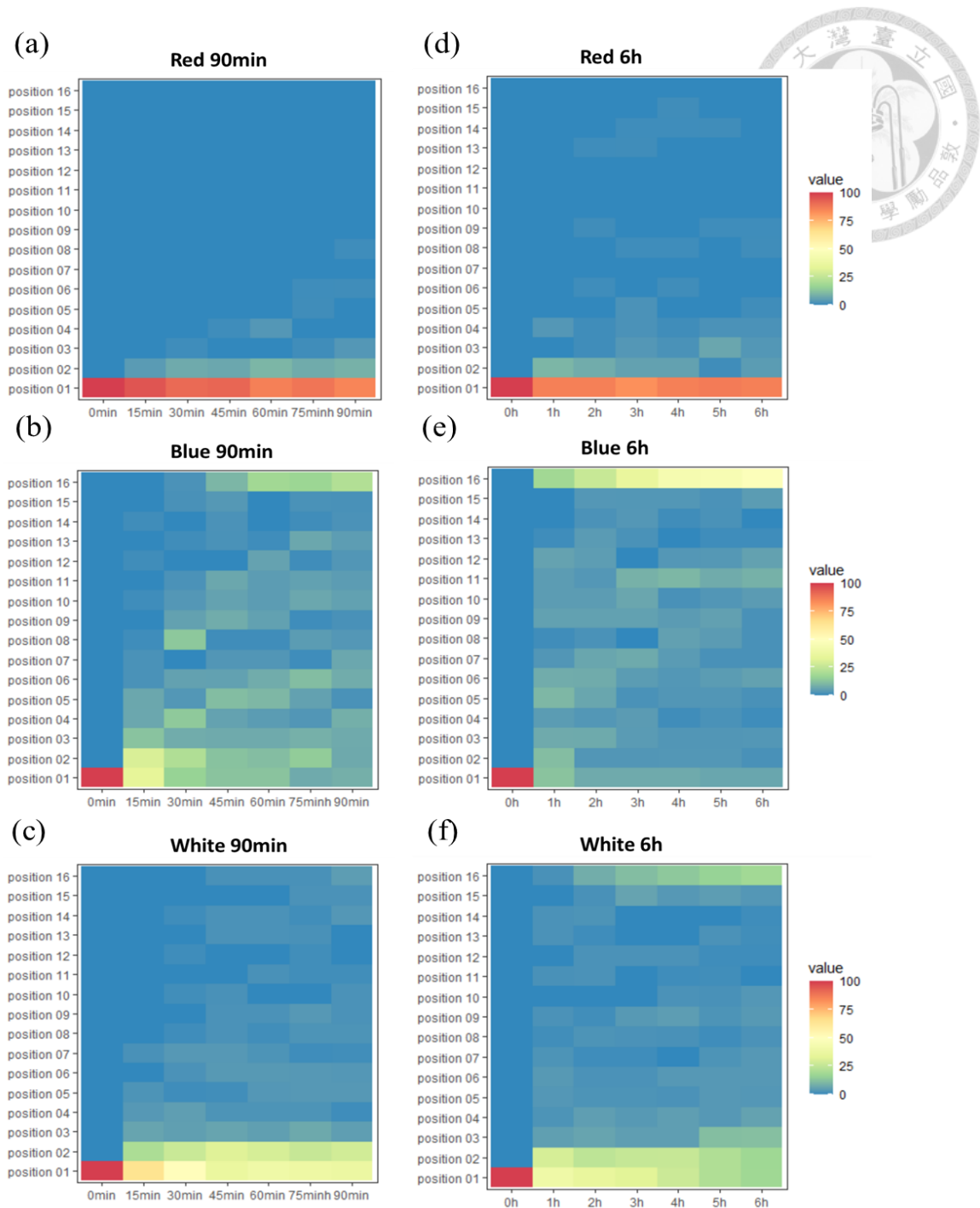


Figure 9. Probability distribution of moving position of each individual after the 90 minutes and 6 hours experiments.

(a) Red, (b) blue, and (c) white LED groups for 90 minutes; (d) red, (e) blue, and (f) white LED groups for 6 hours. Each color with a value represents a percentage ($n=2$).

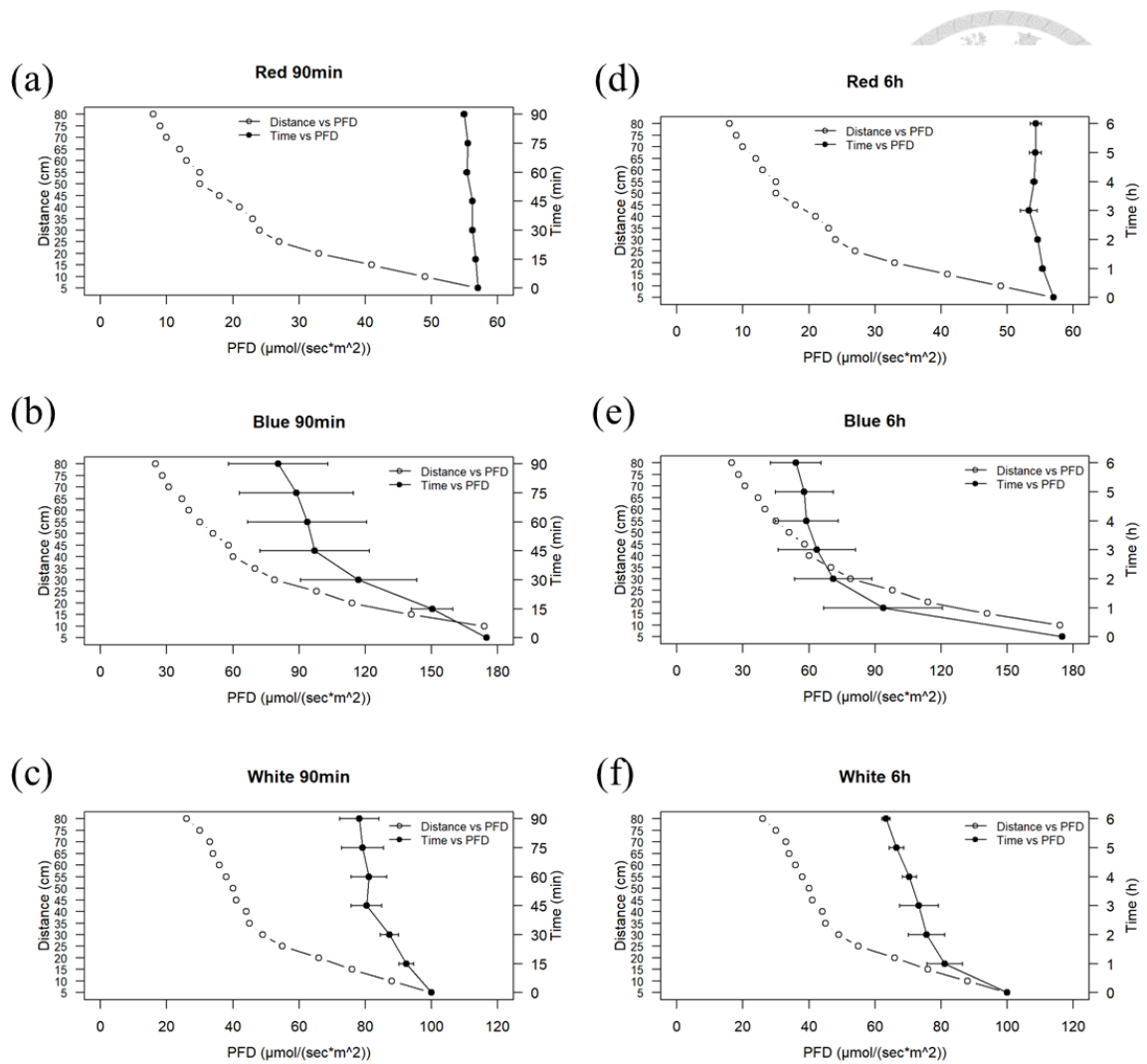


Figure 10. Moving distance of individual and mean PFD value in each LED light source.

(a) Red, (b) blue, and (c) white LED groups for 90 minutes; (d) red, (e) blue, and (f) white LED groups for 6 hours. White plots indicate the value of photon flux density at each position, and black plots indicate the value of mean photon flux density on sea cucumbers at each time point. Data are presented as mean \pm SE (n=3).

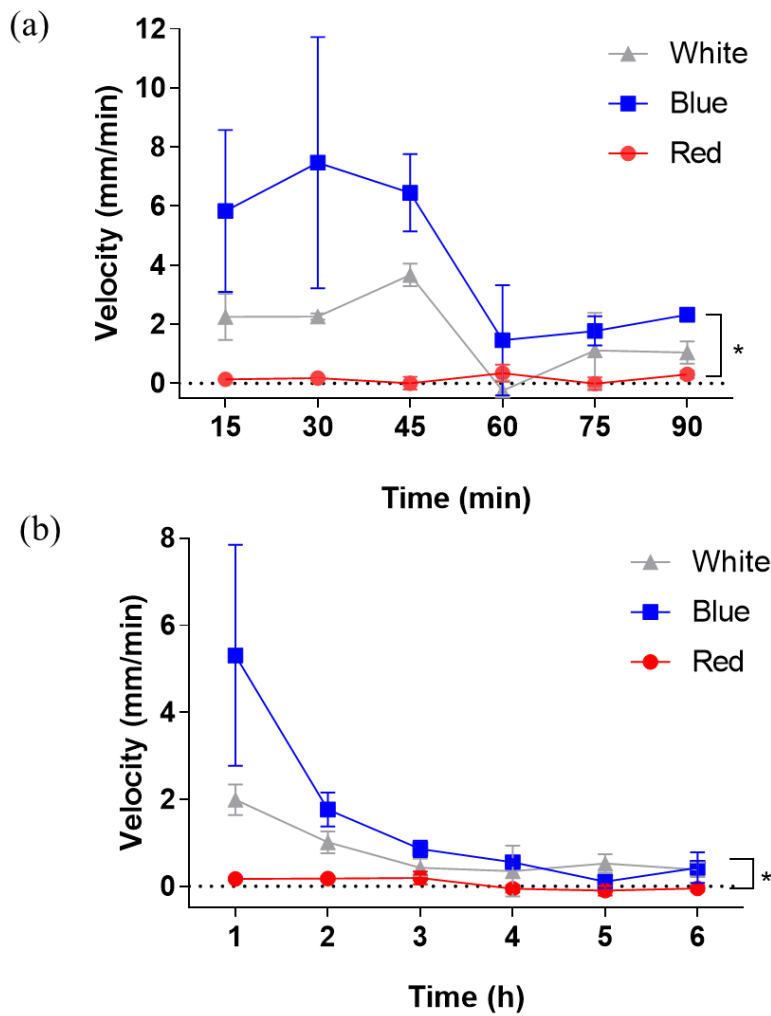


Figure 11. Movement velocity measurement of sea cucumbers under LED lighting. Data are presented as mean \pm SE (n=2). * indicate significant differences between groups ($p < 0.05$). (a) 15-minute and (b) 1-hour intervals.

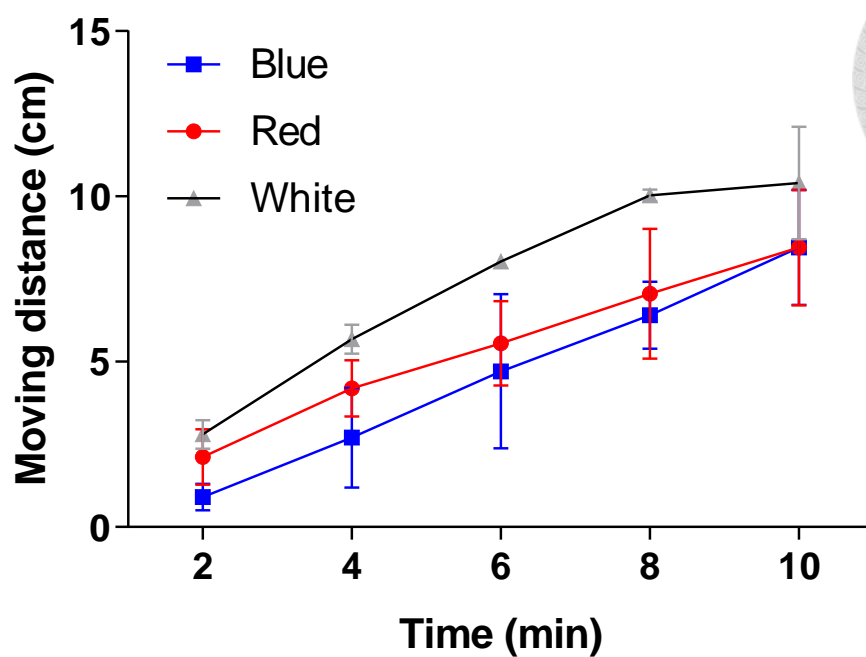


Figure 12. The effect of different spectra of the same PFD on the moving distance of sea cucumbers.

Data are presented as mean \pm SE (n=6).

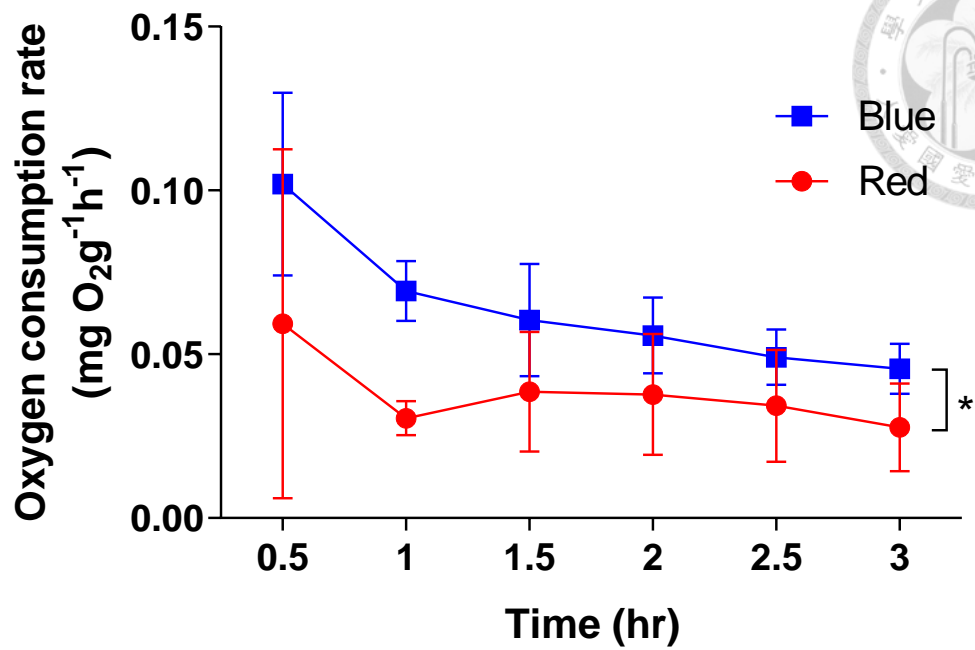


Figure 13. Oxygen consumption rate tests of sea cucumbers under long- or short-wavelength illumination.

Data are presented as mean \pm SE (n=3). * indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

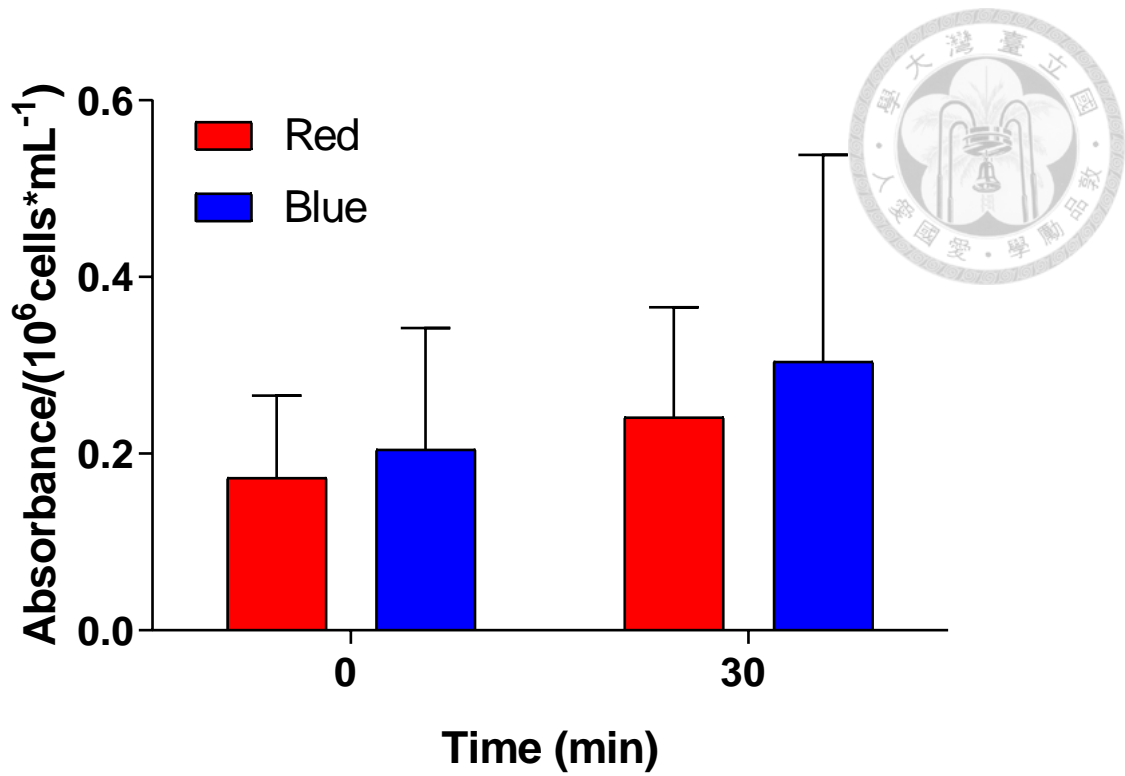


Figure 14. Phagocytosis capability of coelomocytes tests of sea cucumbers under long- or short-wavelength illumination.

Data are presented as mean \pm SE (n=13 in each group).

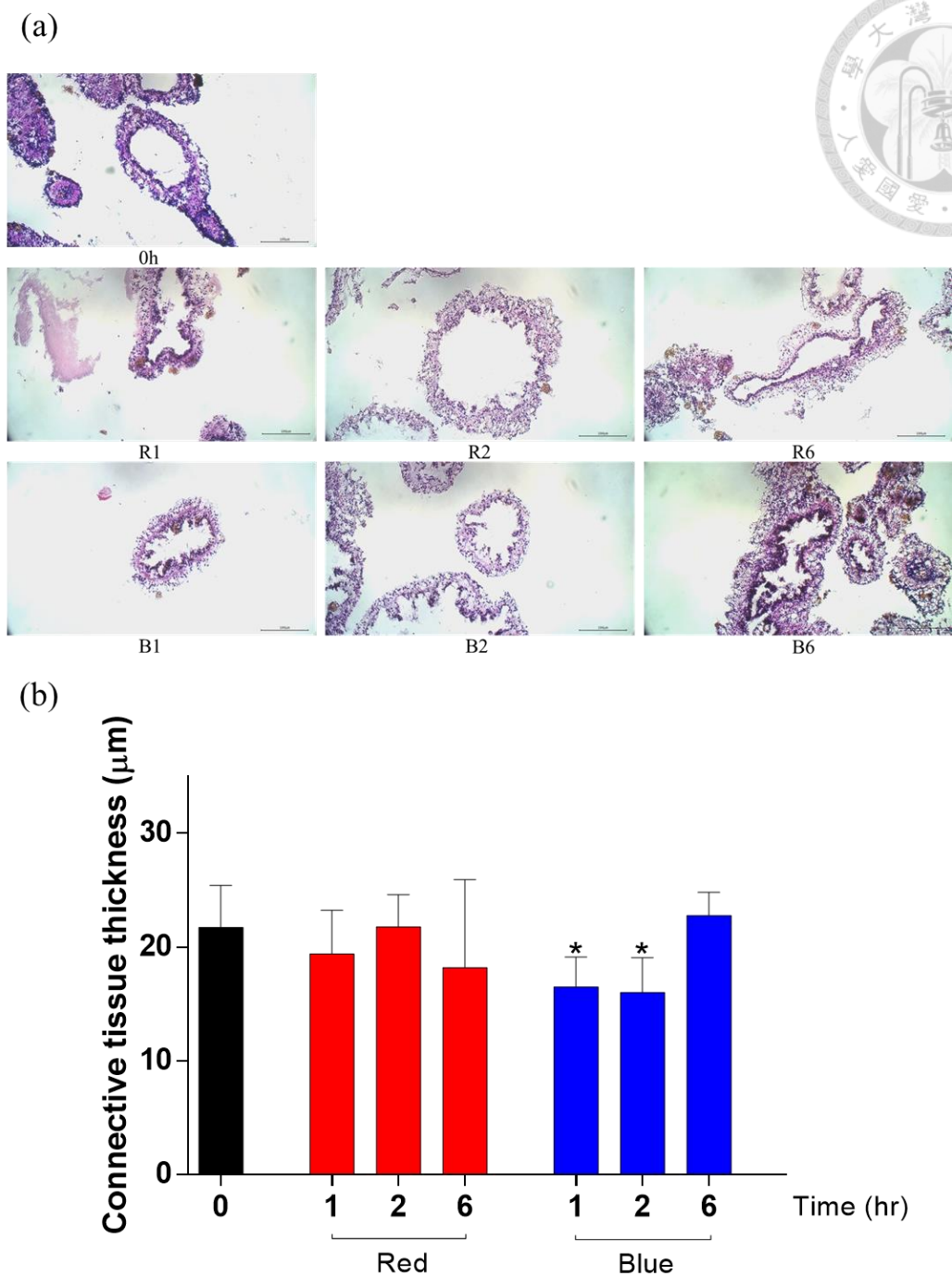


Figure 15. Changes of the respiratory tree of sea cucumbers at various times under different LED light environments.

Data are presented as mean \pm SE (n=5). * indicate significant differences with the control group ($p < 0.05$). (a) Tissue sections; (b) Thickness of connective tissue of the respiratory tree.