

# 刺参夏眠不同时期划分以及前肠各组织层厚度定量分析

苏琳<sup>1,2</sup>, 陈慕雁<sup>3</sup>, 王天明<sup>1</sup>, 刘进<sup>3</sup>, 赵业<sup>1,2</sup>, 杨红生<sup>1</sup>

(1.中国科学院 海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2.中国科学院 研究生院, 北京 100049; 3. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 以非夏眠期刺参(*Apostichopus japonicus*)为对照组, 在刺参夏眠不同程度选取 3 个时间点, 将其分为夏眠初期、深度夏眠期、夏眠解除期 3 个阶段, 采集前肠组织为研究材料, 制作石蜡切片, 统计不同时期刺参前肠壁厚度、前肠黏膜上皮、黏膜下层、肌肉层和外膜的厚度及直径。结果显示, 与对照组相比, 夏眠不同时期黏膜下层厚度均无差异( $P>0.05$ ), 夏眠初期黏膜上皮和外膜显著薄于对照组( $P<0.05$ ), 深度夏眠期黏膜上皮和肌肉层显著薄于对照组( $P<0.01$ ), 刺参前肠直径在深度夏眠期显著变小( $P<0.01$ )。计算前肠各组织层占肠壁厚度的比例发现: 夏眠初期黏膜上皮和外膜厚度占肠壁总厚度的比例要显著小于非夏眠期( $P<0.05$ ), 黏膜下层的比例则显著变大( $P<0.01$ ), 肌肉层所占比例在深度夏眠期显著小于其他几个时期( $P<0.05$ )。

**关键词:** 刺参(*Apostichopus japonicus*); 夏眠; 分期; 前肠组织层厚度

中图分类号: Q954.6 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)12-0001-05

关于刺参(*Apostichopus japonicus*)消化道组织学和生理特性的研究已有报道<sup>[1-5]</sup>。正常情况下, 刺参的消化道分为口、咽、食道、胃、前肠、后肠和肛门等部分<sup>[6]</sup>, 消化道基本结构由内到外依次分为黏膜上皮、黏膜下层、肌肉层和外膜 4 层<sup>[1]</sup>。进入夏眠后, 刺参消化道基本结构不发生变化, 但是消化道发生退化, 消化道整体变细、变短, 各部分限界变得不明显, 并且各组织层变薄<sup>[2-3]</sup>。目前对于刺参消化道组织学的研究主要是通过光镜或电镜切片的观察来进行定性的描述<sup>[1-3]</sup>, 而没有对各组织层厚度进行定量分析。

在刺参夏眠分期方面, 李润玲等<sup>[2]</sup>提出根据刺参夏眠程度的不同, 可分为夏眠初期、中期和末期, 但是没有给出具体的分期标准。李霞等<sup>[3]</sup>根据刺参消化道和呼吸树的外部形态和组织结构变化特点, 按照退化程度由浅到深的顺序, 将夏眠退化过程科学地划分为早、中、晚 3 个阶段。

为了更为全面地界定刺参由正常到衰退、再由衰退到恢复的整个夏眠过程中的关键节点, 并且更加客观地描述刺参的夏眠程度, 本实验将刺参的夏眠细分为夏眠初期、深度夏眠期、夏眠解除期 3 个阶段, 并对刺参夏眠期间前肠各组织层厚度进行了定量分析。本研究旨在丰富刺参夏眠期间消化道组

织学的基础理论, 为进一步研究刺参夏眠过程提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物及取样

按照下列标准将刺参夏眠阶段分为 3 个时期: 夏眠初期的判断标准为刺参活动及摄食量明显减少; 深度夏眠期的判断标准为绝大多数刺参躲进石缝不动不食, 解剖后可发现消化道最粗处不足 1 mm<sup>[7]</sup>; 夏眠解除期的判断标准为刺参开始恢复活动与摄食。活动量大、正常摄食的刺参为非夏眠期刺参, 作为对照组。

实验刺参取自山东省胶南市刺参养殖池, 按照取样时间及取样时刺参肠道的退化程度分为夏眠初期、深度夏眠期、夏眠解除期和非夏眠期刺参, 4 个时期的样品分别于 2011 年 6 月 24 日、8 月 25 日、10 月 9 日和 10 月 28 日采集, 海水温度分别为 24、

收稿日期: 2012-03-28; 修回日期: 2012-04-27

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(2011BAD13B02); 国家自然科学基金资助项目(41176139)

作者简介: 苏琳(1986-), 女, 山东胶南人, 硕士研究生, 主要从事养殖生态学研究, 电话: 0532-82898596, E-mail: sulin113@126.com; 杨红生, 通信作者, 研究员, 电话: 0532-82898582, E-mail: hshyang@qdio.ac.cn

29、20、15 每次取 10 头刺参, 体质量约 80~100 g。

### 1.2 光镜样品处理及观察

采捕获得的刺参进行现场解剖, 截取前肠, 迅速放入 Bouin 液固定, 固定 24 h 后, 经梯度酒精脱水、透明、浸蜡等过程, 再用石蜡包埋组织, 用切片机连续切片, 切片厚度为 6 μm, 再经黏片、烤片、脱蜡、复水、H.E 染色、封片等过程, 制成石蜡切片。用 Olympus 显微镜观察测量并拍照, 每个刺参样品随机选取 3 张切片, 每张切片随机选取 4 个位点测量各组织层的厚度及壁厚, 并随机测量直径 4 次。

### 1.3 数据分析

计算每个刺参样品各数据的平均值, 以及各层

占肠壁总厚度的百分比, 计算每个时期样品的平均值和标准差, 并用统计软件(SPSS Statistics 17.0)进行单因素方差分析, 分析各时期样品之间的差异显著性,  $P < 0.05$  为差异显著,  $P < 0.01$  为差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 夏眠不同阶段刺参前肠直径和前肠壁厚度变化

深度夏眠期刺参前肠的直径显著小于对照组 ( $P < 0.01$ ), 其他两组与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。夏眠各时期前肠壁厚与对照组之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 夏眠解除期前肠壁厚显著大于夏眠初期 ( $P < 0.05$ )和深度夏眠期 ( $P < 0.01$ ) (图 1, 图 2)。

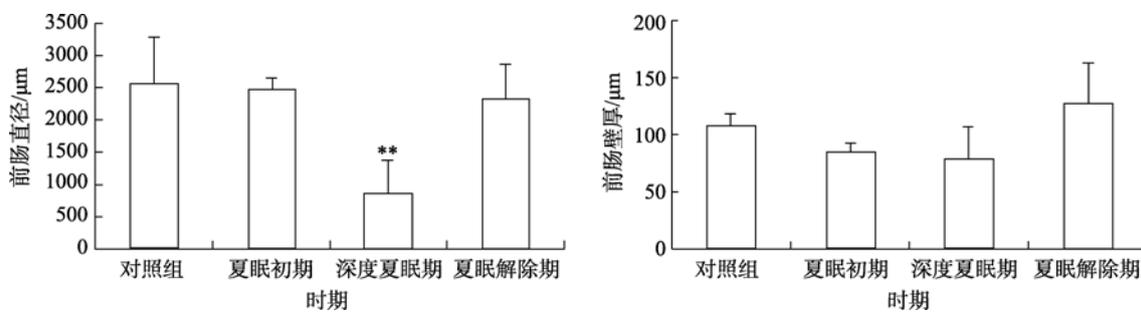


图 1 夏眠不同时期刺参前肠直径和肠壁厚度(μm)

Fig. 1 Diameter and thickness of anterior intestine at different stages of aestivating *A. japonicus* (μm)

\*\* 实验组与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 数值为平均数 ± 标准差, 每组取样数为 10

\*\* extremely significant differences ( $P < 0.01$ ) between control and experimental groups, values indicate the mean ± SD ( $n=10$ )

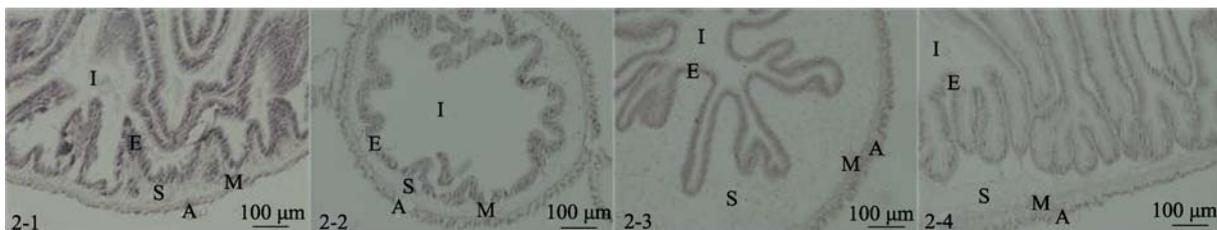


图 2 夏眠不同时期刺参前肠的组织学变化

Fig. 2 The histological changes of anterior intestine at different stages of aestivating *A. japonicus*

2-1. 夏眠初期; 2-2. 深度夏眠期; 2-3. 夏眠解除期; 2-4. 非夏眠期; I. 肠腔; E. 黏膜上皮; S. 黏膜下层; M. 肌肉层; A. 外膜

2-1. the initial stage of aestivation; 2-2. deep aestivation; 2-3. the arousal stage of aestivation; 2-4. non-aestivation stage; I. intestine lumen; E. epithelium mucosae; S. submucosa; M. mucous epithelium; A. adventitia

### 2.2 夏眠不同阶段刺参前肠各组织层厚度的比较

夏眠初期和深度夏眠期刺参前肠黏膜上皮的厚度显著小于对照组 ( $P < 0.01$ ); 黏膜下层在各时期之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 深度夏眠期肌肉层的厚度显著小于对照组 ( $P < 0.01$ ), 其他时期与对照组相

比无显著变化 ( $P > 0.05$ ); 夏眠初期外膜的厚度显著小于对照组 ( $P < 0.05$ ), 之后逐步恢复到正常状态 (图 3)。

### 2.3 夏眠不同阶段刺参前肠各组织层厚度占前肠壁总厚度的比例

夏眠初期黏膜上皮厚度占肠壁总厚度的比例显著

小于对照组( $P < 0.05$ ), 黏膜下层所占比例则显著大于对照组( $P < 0.01$ ); 深度夏眠期肌肉层所占比例显著小于对照组( $P < 0.05$ ), 同时也显著小于夏眠初期和夏眠

解除期( $P < 0.01$ ); 夏眠初期外膜厚度所占比例也显著小于对照组( $P < 0.05$ ), 在深度夏眠期和夏眠解除期与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )(表 1)。

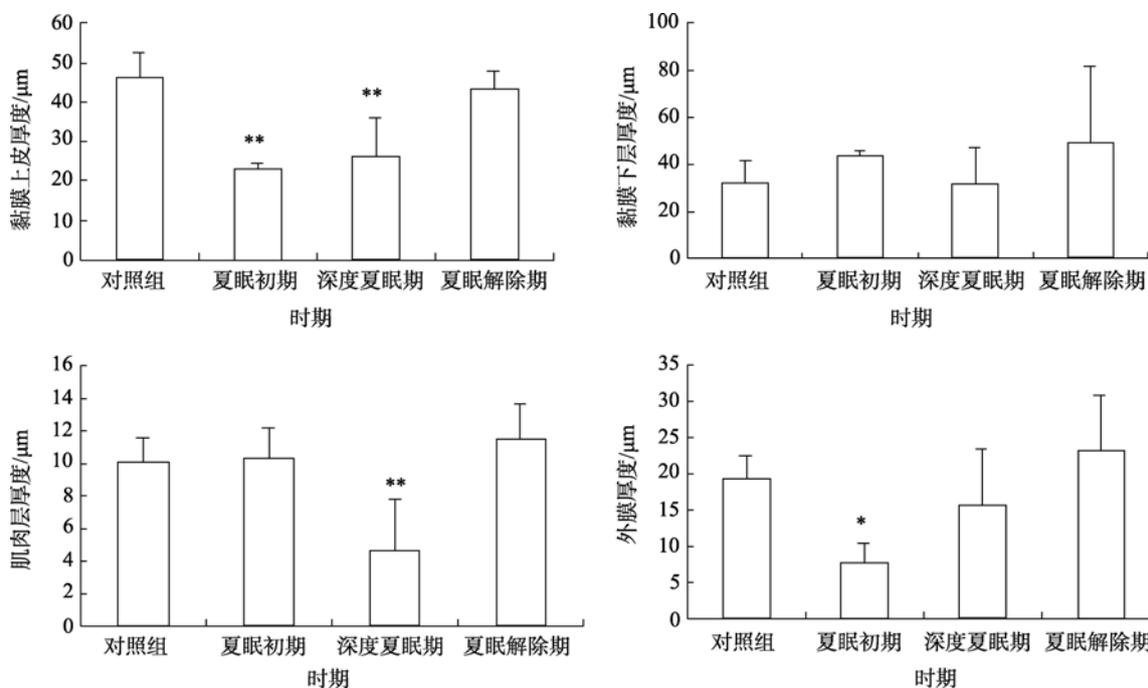


图 3 夏眠不同时期刺参前肠各组织层厚度(μm)

Fig. 3 Tissue layers thickness of anterior intestine at different stages of aestivating *A. japonicus* (μm)

\*. 实验组与对照组差异显著( $P < 0.05$ ); \*\*. 实验组与对照组差异极显著( $P < 0.01$ ), 数值为平均数±标准差, 每组取样数为 10  
\*. significant differences ( $P < 0.05$ ); \*\*. extremely significant differences ( $P < 0.01$ ) between control and experimental groups, values indicate the mean ± SD ( $n=10$ )

表 1 夏眠不同时期刺参前肠各组织层厚度占前肠壁总厚度的比例(%)

Tab. 1 The proportion of thickness of different layers in anterior intestine wall at different stages of aestivating *A. japonicus* (%)

组别	黏膜上皮/壁厚	黏膜下层/壁厚	肌肉层/壁厚	外膜/壁厚
对照组	43.32 <sup>a</sup> ±5.66	29.08 <sup>b</sup> ±6.80	9.48 <sup>a</sup> ±1.68	22.53 <sup>a</sup> ±7.76
夏眠初期	27.53 <sup>b</sup> ±1.84	51.26 <sup>a</sup> ±1.45	12.15 <sup>a</sup> ±1.20	12.87 <sup>b</sup> ±5.41
深度夏眠期	34.40 <sup>ab</sup> ±12.51	38.91 <sup>ab</sup> ±15.64	5.76 <sup>b</sup> ±3.43	22.74 <sup>a</sup> ±11.95
夏眠解除期	35.91 <sup>ab</sup> ±7.71	36.39 <sup>b</sup> ±9.35	9.44 <sup>a</sup> ±2.11	19.77 <sup>a</sup> ±4.91

注: 同列数据上角不含相同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ), 只要有一个字母相同则表示差异不显著( $P > 0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 刺参夏眠不同时期划分

本研究主要以水温、刺参的摄食、活动和肠道内容物的多少为标准, 将刺参夏眠阶段分为 3 个时期: 夏眠初期、深度夏眠期和夏眠解除期。当夏季水温升至 20~25°C 时, 刺参进入夏眠初期, 摄食量和活动量明显减少, 肠道开始退化, 肠道内容物变少; 当

水温接近 30°C 时, 刺参进入深度夏眠期, 停止摄食与活动, 躲进石缝进入休眠状态, 消化道发生严重退化, 各部分已没有明显的分界, 消化道最粗处不足 1 mm<sup>[7]</sup>, 并且没有内容物; 当温度下降到 20~25°C 时, 刺参恢复活动与摄食, 消化道也逐步恢复到正常状态, 肠道内容物开始增多, 此时为夏眠解除期。本研究对刺参夏眠的分期和李霞等<sup>[3]</sup>稍有不同, 李霞等根据刺参消化道和呼吸树的外部形态和

组织结构变化特点,按照退化程度由浅到深的顺序,将夏眠退化过程划分为早、中、晚3个阶段,而本实验将刺参的夏眠周期从进入夏眠到结束夏眠进行了更细致的分区,开始由正常进入夏眠的时期定为夏眠初期,夏眠最强烈的时期为深度夏眠期,由夏眠恢复到正常状态定义为夏眠解除期。这样的划分不仅涵盖了刺参由正常状态进入夏眠的过程,还包括了刺参由夏眠状态恢复到正常状态的过程,将刺参夏眠的几个关键点均包含在内。而李润玲<sup>[2]</sup>的研究则没有对夏眠的分期进行详细的界定。

### 3.2 刺参夏眠不同时期前肠各组织层厚度定量分析

刺参进入夏眠后消化道的基本结构没有发生变化,消化道变细,黏膜上皮和肌肉层的厚度在夏眠期间比非夏眠期显著变薄,这与李润玲<sup>[2]</sup>等的研究结果一致,并且黏膜上皮和肌肉层的厚度占整个肠壁厚度的比例在夏眠期间也比非夏眠期显著小,分析原因可能是黏膜上皮和肌肉层在食物的消化和吸收中发挥着十分重要的作用,在刺参进入夏眠以后,消化道的消化与吸收功能发生大幅度的减弱,负责消化与吸收功能的组织层也会随之变薄。夏眠初期消化道外膜厚度与对照组相比显著变薄,消化道外膜厚度占整个肠壁厚度的比例也比对照组显著变小,深度夏眠期,外膜厚度没有明显变化,到夏眠解除期,外膜厚度略有增厚,但是没有显著差异;整个夏眠过程中呈现出先变薄后增厚的趋势。李润玲等研究发现刺参夏眠后食道的外膜略有增厚而肠道的外膜则无明显变化。这与我们的研究结果略有差异,可能是因为夏眠时期不同,消化道的退化程度也不同,而李润玲等没有对夏眠过程中消化道退化进行具体

的分期研究。李润玲<sup>[2]</sup>等的研究还认为,夏眠时刺参消化道的黏膜下层变薄,本实验数据统计显示刺参夏眠各阶段前肠黏膜下层厚度与对照组无明显差异( $P>0.05$ ),但是,夏眠初期刺参前肠黏膜下层厚度占肠壁厚度的比例比对照组显著变大( $P<0.01$ ),这可能是由于黏膜上皮和外膜厚度在夏眠初期比对照组变小,因此黏膜下层厚度占肠壁厚度的比例会相对变大。

刺参消化道在夏眠期间表现出明显的退化现象,本研究丰富了刺参夏眠期间消化道组织学的基础理论,然而对刺参夏眠期间消化道退化机制的研究有待进一步深入。

参考文献:

- [1] 崔龙波,董志宁,陆瑶华. 仿刺参消化系统的组织学和组织化学研究[J]. 动物学杂志, 2000, 35(6): 2-4.
- [2] 李润玲,丁君,张玉勇,等. 刺参(*Apostichopus japonicus*)夏眠期间消化道的组织学研究[J]. 海洋环境科学, 2006, 25(4): 15-19.
- [3] 李霞,王霞. 仿刺参在实验性夏眠过程中消化道和呼吸树的组织学变化[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(2): 82-85.
- [4] 孙奕,陈驊. 刺参体内外微生物组成及其生理特性的研究[J]. 海洋与湖沼, 1989, 20(4): 300-307.
- [5] 王霞,李霞. 仿刺参消化道的再生形态学与组织学[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(5): 340-346.
- [6] 廖玉麟. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 334-335.
- [7] 袁秀堂,杨红生,陈慕雁,等. 刺参夏眠的研究进展[J]. 海洋科学, 2007, 31(8): 88-90.

# The division of different stages of aestivation and quantitative analysis of tissue layers thickness of anterior intestine in sea cucumber *Apostichopus japonicus*

SU Lin<sup>1,2</sup>, CHEN Mu-yan<sup>3</sup>, WANG Tian-ming<sup>1</sup>, LIU Jin<sup>3</sup>, ZHAO Ye<sup>1,2</sup>, YANG Hong-sheng<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China; 3. Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Received:** Mar.,28,2012

**Key words:** *Apostichopus japonicus* (Selenka); aestivation; division of different stages; tissue layers thickness of anterior intestine

**Abstract:** Non-aestivation stage sea cucumber as control group, three time points were selected according to aestivating degree in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*): initial stage of aestivation, deep aestivation, and the arousal stage of aestivation. The diameter, thickness and different tissue layers thickness of anterior intestine at these three points were measured. As for the submucosa thickness, there was no significant difference between control group and any stage ( $P > 0.05$ ). As for mucous epithelium and the adventitia, the thickness of the initial stage of aestivation was significantly smaller than those of control group ( $P < 0.05$ ). At the deep aestivation stage, the thickness of mucous epithelium and muscular layer was significantly smaller than that of control group ( $P < 0.01$ ). The anterior intestine diameter at the deep aestivation stage was significantly smaller than that of control group ( $P < 0.01$ ). Calculating the proportion of each layer of the anterior intestine wall thickness, we found that the proportion of mucous epithelium and adventitia was significantly smaller at the initial stage than that of control group ( $P < 0.05$ ). However, the proportion of submucosa was significantly bigger at the initial stage than that of control group ( $P < 0.01$ ). The proportion of muscular layer was significantly smaller at the deep aestivation stage than any other stages ( $P < 0.05$ ).

(本文编辑: 谭雪静)