

刺参

养殖生物学

王吉桥 田相利◎主编

新进展

*CISHEN YANGZHI SHENGWUXUE
XINJINZHAN*



海洋出版社

刺参养殖生物学新进展

王吉桥 田相利 主编

海洋出版社

2012年·北京

内容简介

本书共分8章,76万余字。作者结合自身的科研和生产实践,综合国内、外最新资料,全面、详尽地介绍了海参的营养成分与保健作用、形态与分类以及刺参的形态、营养与饲料、摄食与生长、排脏与再生、呼吸、代谢、运输、标记、繁殖与育苗、免疫与病害的生物学理论及其应用,以期为刺参养殖提供理论基础和技术支撑,适于水产养殖科研、管理和生产人员使用,也可供高等院校水产养殖、生物技术和动物科学等专业师生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

刺参养殖生物学新进展 / 王吉桥, 田相利主编. —北京: 海洋出版社, 2012. 2
ISBN 978-7-5027-8125-5

I. ①刺… II. ①王… ②田… III. ①刺参—海水养殖—生物学—研究 IV. ①S968.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 206081 号

责任编辑: 郑珂

责任印制: 赵麟苏

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

北京市海淀区大慧寺路8号 邮编: 100081

北京盛兰兄弟印刷装订有限公司印刷 新华书店发行所经销

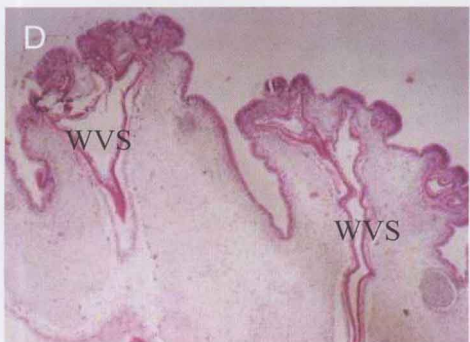
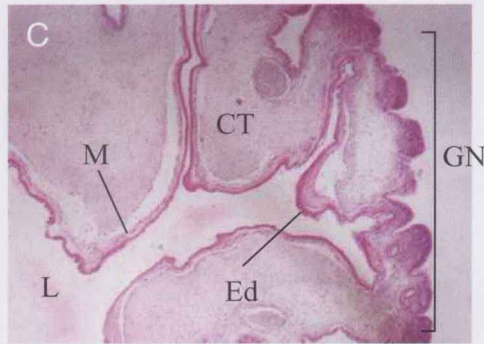
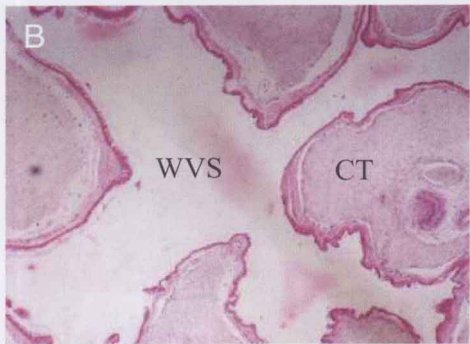
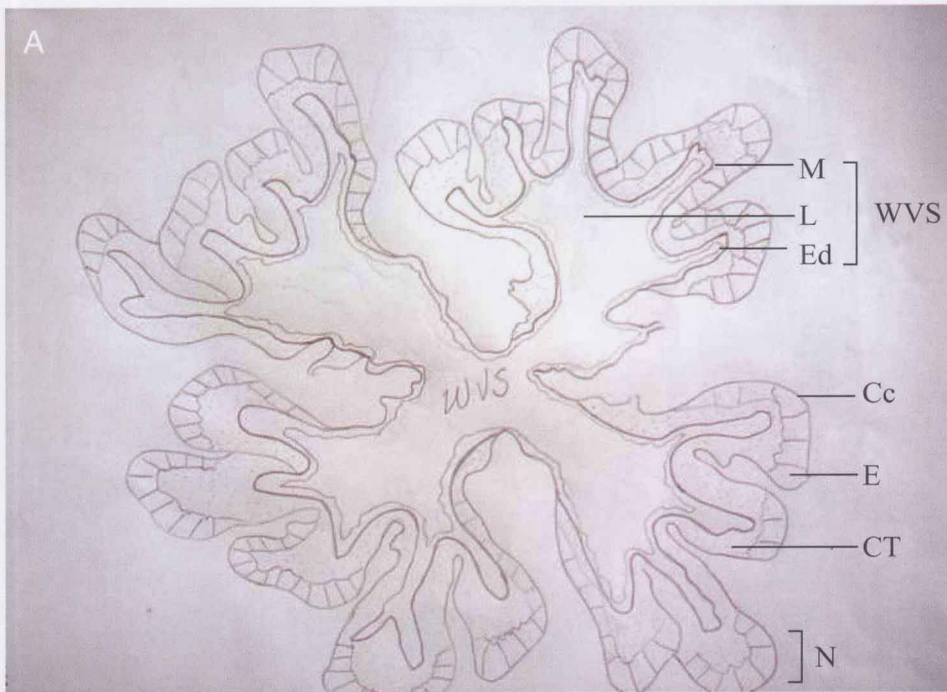
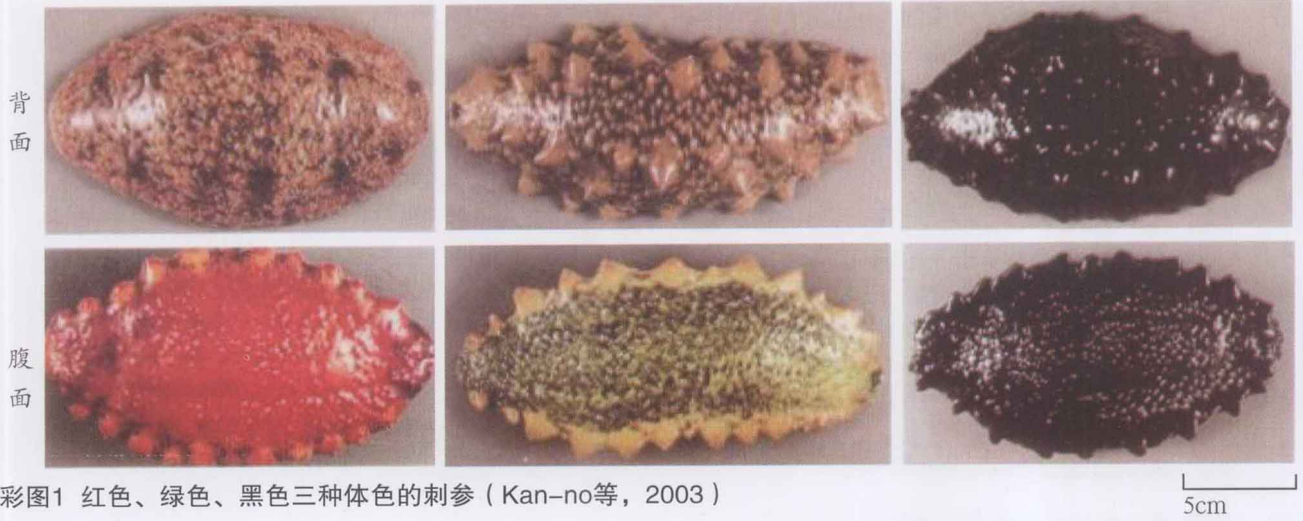
2012年2月第1版 2012年2月第1次印刷

开本: 850mm×1168mm 1/16 印张: 26

字数: 769千字 定价: 89.80元

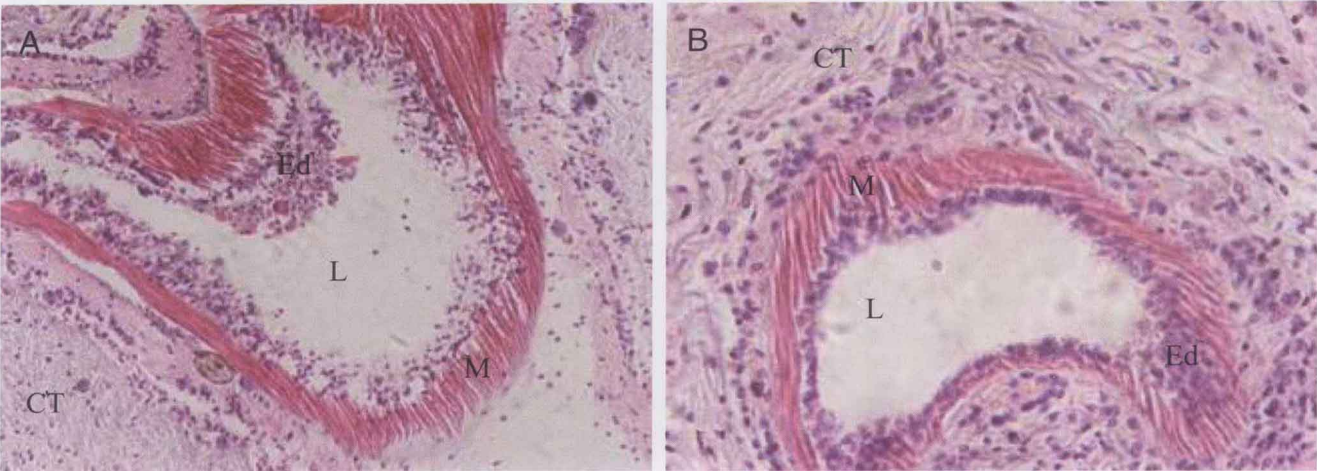
发行部: 010-62132549 邮购部: 010-68038093 总编室: 010-62114335

海洋版图书印、装错误可随时退换



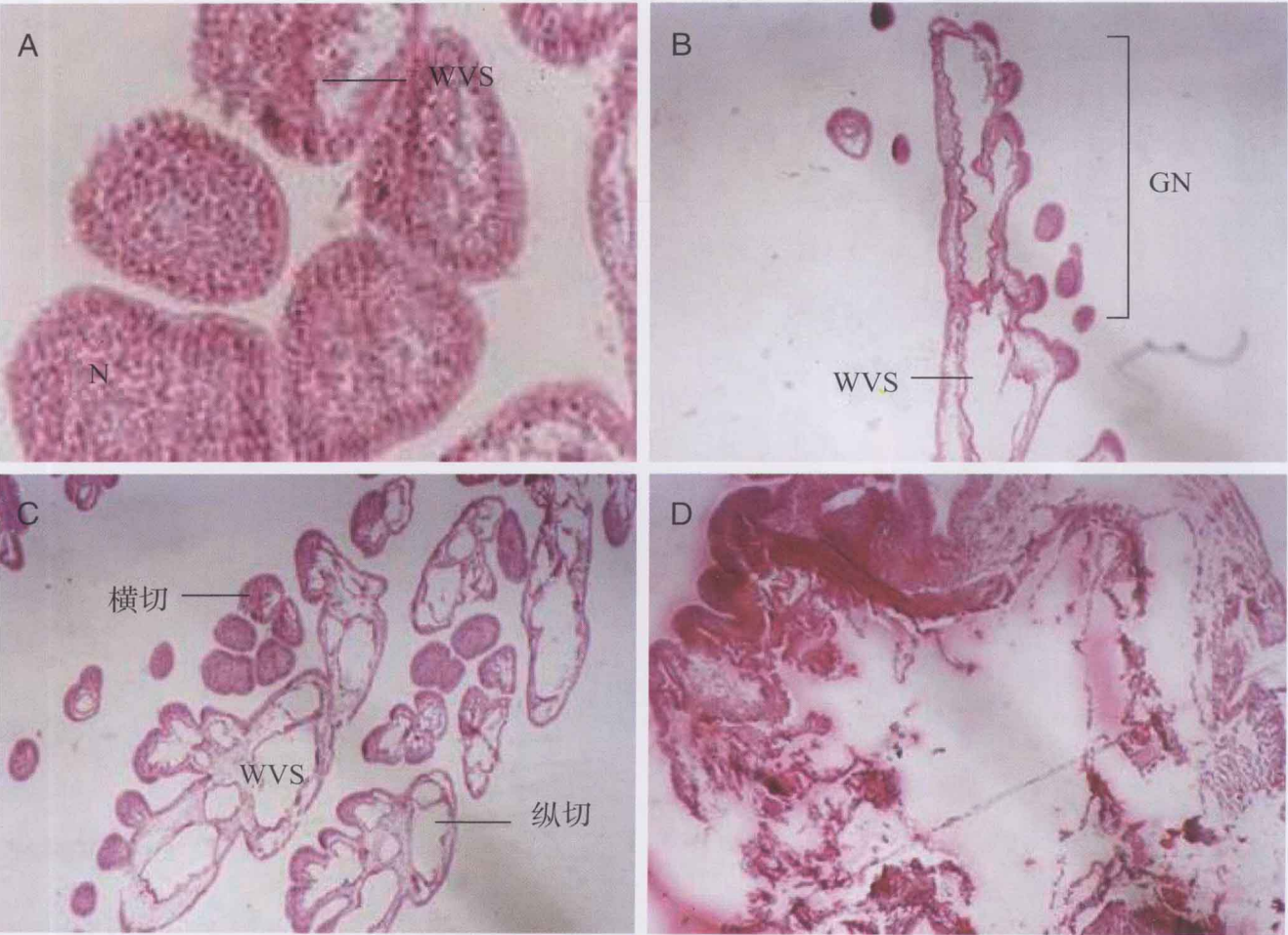
彩图2 刺参触手冠及触手柄的组织结构

A. 大个体刺参触手冠模式图；
B. 大个体刺参触手中央十字水血管系统 (WVS)， $\times 4$ ；C. 大个体刺参触手的一个分支， $\times 4$ ；D. 小个体刺参触手的一个分支， $\times 4$ ；E. 触手柄， $\times 4$
CT: 结缔组织；Ed: 内皮；E: 上皮层 (表皮)；GN: 小瘤群；L: 水血管腔；M: 肌肉组织；N: 小瘤；WVS: 水血管系统



彩图3 刺参触手分支的水血管系统结构

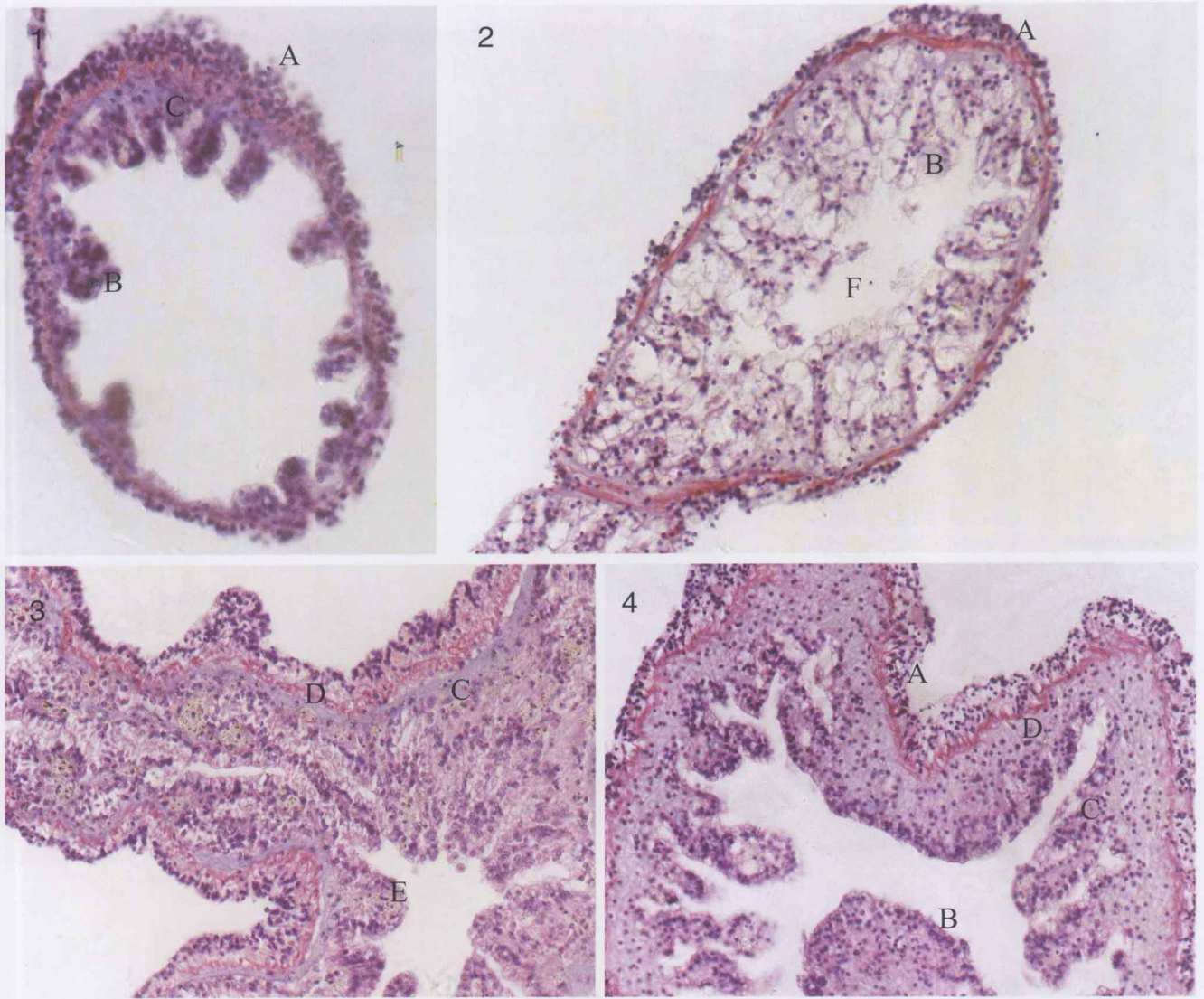
A.小刺参触手分支上的水血管系统， $\times 20$ ；B.小刺参触手分支上的水血管系统， $\times 40$
(图中字母的含义同彩图2)



彩图4 刺参触手横纵切结构及残碎的组织切片

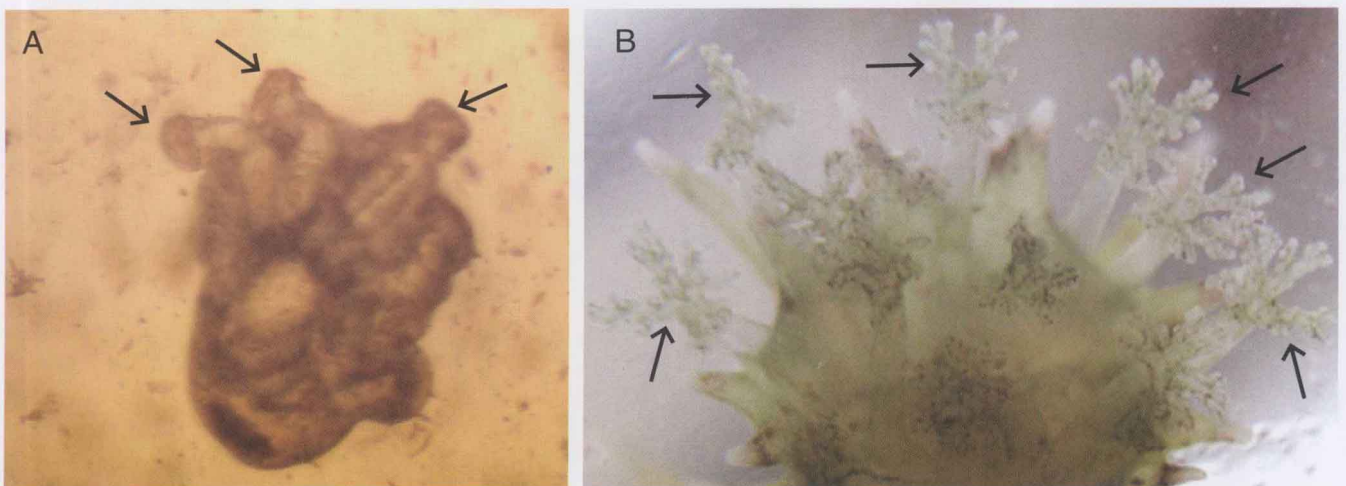
A.刺参触手瘤状突起的横切面， $\times 20$ ；B.刺参触手纵切面， $\times 10$ ；C.刺参触手横纵切， $\times 10$ ；D.刺参触手石蜡切片残碎

N: 小瘤；GN: 小瘤群；WVS: 水血管系统

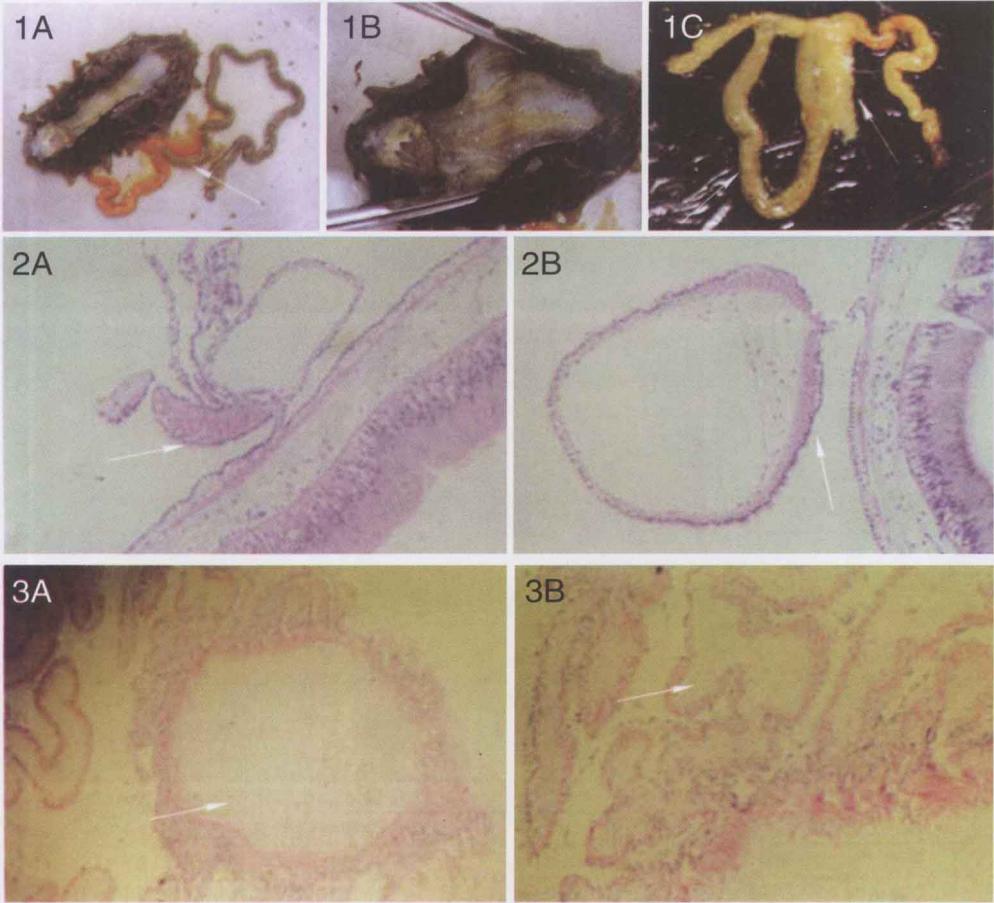


彩图5 不同盐度下刺参呼吸树的组织结构($\times 200$)

1. 盐度为34, 各层明显, 中央腔大, 血腔不明显; 2. 盐度为29, 体腔上皮细胞显著减少, 内皮细胞空泡增多, 中央腔变小; 3. 盐度为24, 细胞分泌物增多, 中央腔变为狭缝; 4. 盐度为18, 体腔上皮细胞又增厚, 血腔增厚
A: 体腔上层; B: 内皮细胞; C: 血腔; D: 肌层; E: 细胞分泌物; F: 中央腔



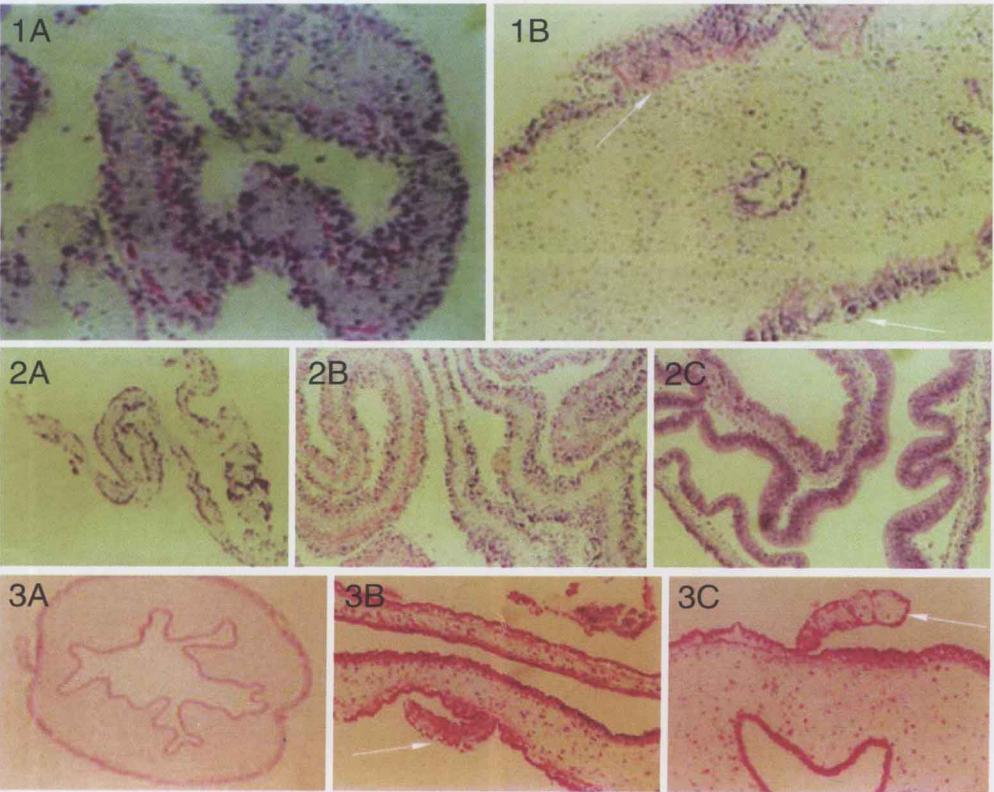
彩图6 刺参稚参 (A, 光镜 $\times 40$) 和幼参 (B, Sony F707) 的形态区别



彩图7 刺参排脏后前2d的再生过程 (郑法新等, 2006)

1A~1C.排脏的刺参; 2A~2B.排脏后的大肠肠系膜组织切片; 3A~3B.排脏后第2 d的刺参泄殖腔基部组织切片

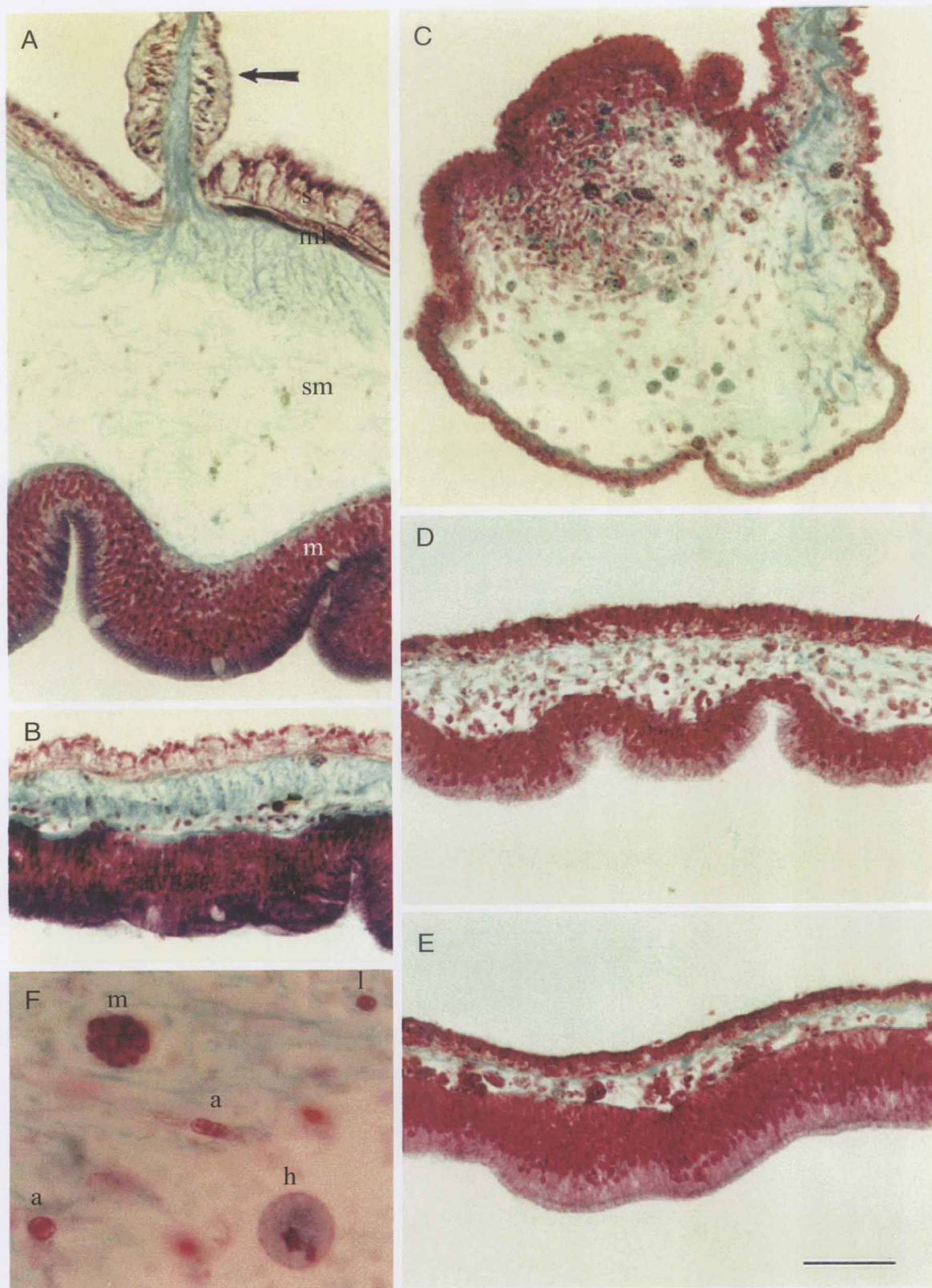
1A: 吐出的内脏 (→); 1B: 排脏后的海参内脏体收缩; 1C: 吐出的肠 (→) 和呼吸树 (→); 2A: 背部肠系膜 (→), $\times 66$; 2B: 腹部肠系膜 (→), $\times 66$; 3A: 呼吸树主干 (→), $\times 66$; 3B: 呼吸树分支 (→), $\times 66$



彩图8 刺参吐脏2d后的再生过程 (郑法新等, 2006)

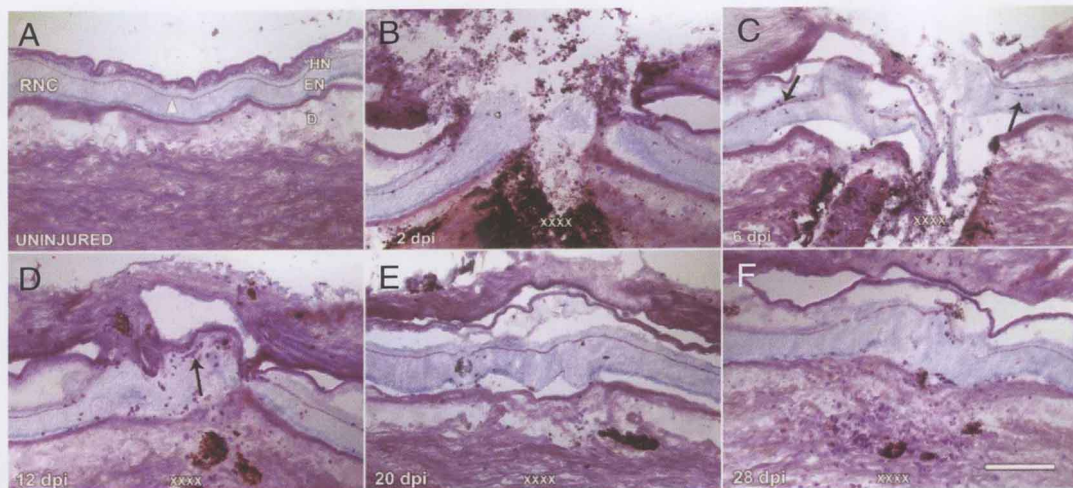
1A~1B.吐脏后第3~5d再生肠的组织切片; 2A~2C.吐脏后第7d (2A)、第9d (2B)、第11d (2C) 再生肠组织膜的组织切片; 3A~3C.吐脏后第14d再生肠管的组织切片

1A: 再生3~5d的肠组织膜, $\times 66$; 1B: 再生3~5d的肠组织上皮 (→) 和肌肉组织 (→), $\times 132$; 3A: 吐脏第14d再生肠管的组织切片; 3B: 再生肠管背部肠系膜 (→); 3C: 腹部肠系膜 (→)



彩图9 用Killigan三染色的正常和排脏后再生的海参 (*Holothuria glaberrima*) 肠组织学 (Garcia-Arraras等, 1998)

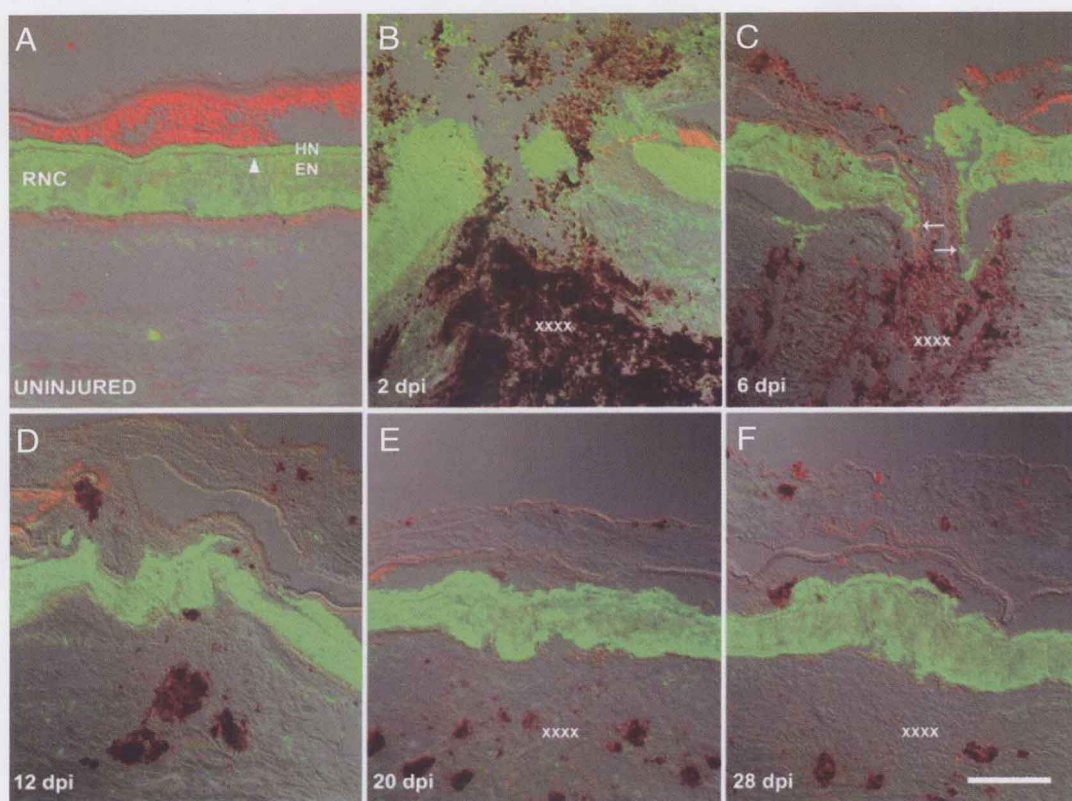
A. 排脏期间与肠系膜的连接处和肠系膜自切平面 (箭头), 未排脏海参大肠 (A)、小肠 (B) 的横切片上有4层体腔膜 (coelomic lining), 即浆膜(s)、肌层 (ml)、内结缔组织层即黏膜下层(sm) 和肠腔上皮即黏膜层(m); C~E. 排脏过程的3个阶段, 示排脏后7d (C)、14d (D) 和21d (E) 时前肠的再生; F. 示C胚基状结构中的4种类型细胞: 桑椹胚细胞即球形细胞(m)、血细胞(h)、变形细胞(a)和淋巴细胞(l); A~E. 标尺=60 μm ; F. 标尺=15 μm



彩图10 未受伤 (A) 和受伤后2d (B)、6d (C)、12d (D)、20d (E) 和28d (dpi) (F) 的海参 (*Holothuria glaberrima*) 桡神经索 (RNC) 再生的纵切片 (甲苯胺蓝染色) (Miguel-Ruiz等, 2009)

A. 未受伤海参的桡神经索外神经(EN)粗, 下神经(HN)薄, 由结缔组织带分隔开; B. 受伤2d 时, 伤口区开放, 堆满了碎屑; C. 受伤6 d 时, 伤口处的桡神经索呈棒状结构; D. 到12 d 时, 伤口裂缝处充满了神经组织, 形成了连续的突出, 与伤口连接在一起; E. 到20 d 时, 伤口处的桡神经索仍略有紊乱, 没有结缔组织带; F. 受伤28 d 时, 桡神经索大为恢复, 结构与未受伤的海参相似, 外神经和下神经由结缔组织带分隔开

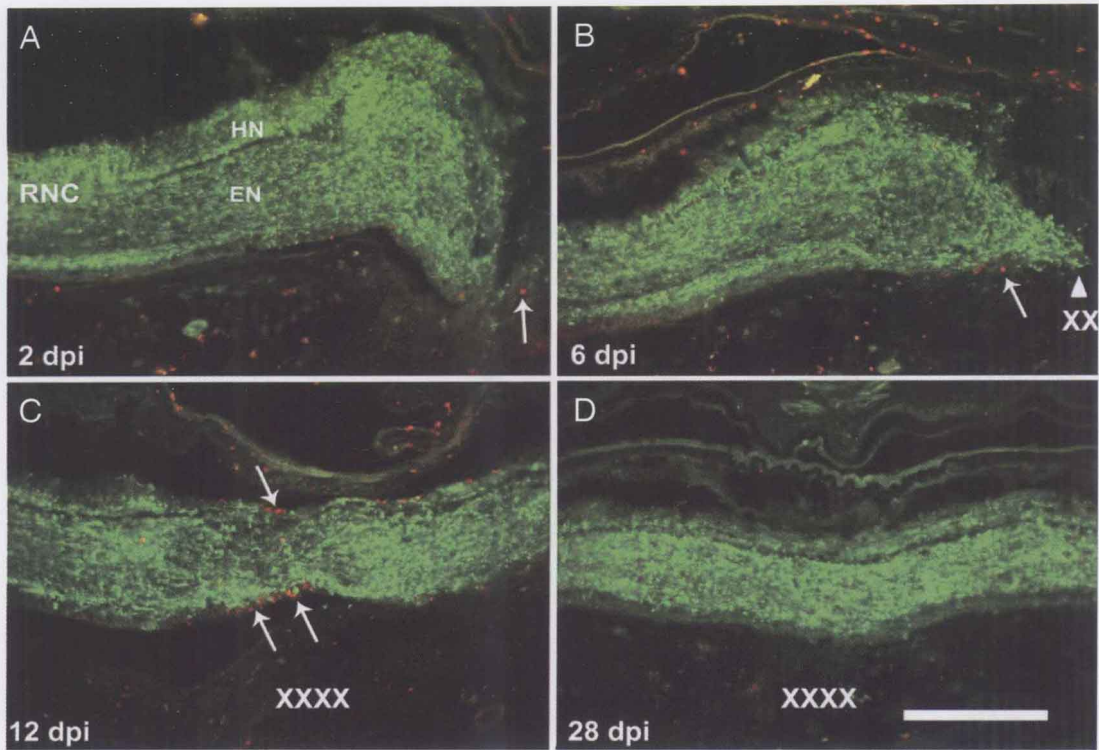
D: 真皮; EN: 外神经; HN: 下神经; RNC: 桡神经索; X指受伤部位; 星号示标记受伤处的tattoo墨水; 箭头示桡神经索中的桑椹胚细胞; 标尺=300 μ m



彩图11 用单克隆RNI抗体标记的未受伤 (A) 和受伤后2d (B)、6d (C)、12d (D)、20d (E) 和28d (F) 的海参 (*Holothuria glaberrima*) 桡神经索 (RNC) 再生的纵切片 (Miguel-Ruiz等, 2009)

A. 未受伤海参桡神经索的标记物对外神经(EN)和下神经(HN)的专一性很高, 而结缔组织带未被标记 (箭头); B. 受伤2 d 时, 伤口附近有神经纤维碎屑, 纤维排列紊乱; C. 受伤6 d 时, 伤口的桡神经索呈棒状结构, 其中有些纤维伸长 (箭头); D. 到12 d 时, 伤口裂缝处充满了神经组织, 形成了连续的突出, 与伤口连接在一起; E. 到20 d 时, 伤口处的桡神经索仍略有紊乱, 长轴上没有结缔组织带; F. 受伤28 d 时, 大部分桡神经索恢复, 结构与未受伤海参的相似, 外神经和下神经由结缔组织带分隔开

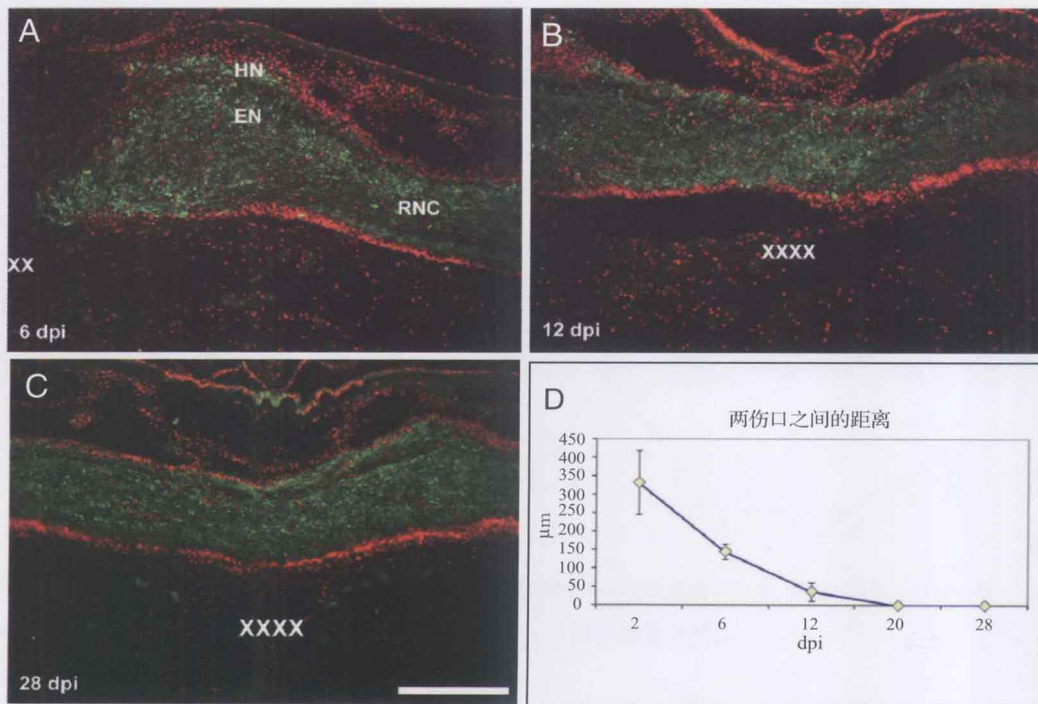
EN: 外神经; HN: 下神经; RNC: 桡神经索; X指受伤部位; 标尺=300 μ m



彩图12 用抗GFS抗体（绿色）和抗溴脱氧尿苷抗体（红色）标记的受伤后2d（A）、6d（B）、12d（C）和28d（D）（dpi）的海参（*Holothuria glaberrima*）桡神经索（RNC）再生的纵切片（Miguel-Ruiz等，2009）

B. 受伤6 d 时，GFS表达纤维由伤口拉长（箭头）；D. 到28 d 时，桡神经索中GFS表达纤维完全恢复；受伤2 d 或28 d 时，细胞分裂很少；分裂活跃期的细胞主要在桡神经索周边，此处有多个细胞核（箭头）；受伤6 d 时，外神经和下神经（箭头）开始细胞分裂；受伤12 d 时，达最高峰

EN：外神经；HN：下神经；RNC：桡神经索；X指受伤部位；箭头示桡神经索中溴脱氧尿苷标记的细胞；标尺=300 μm

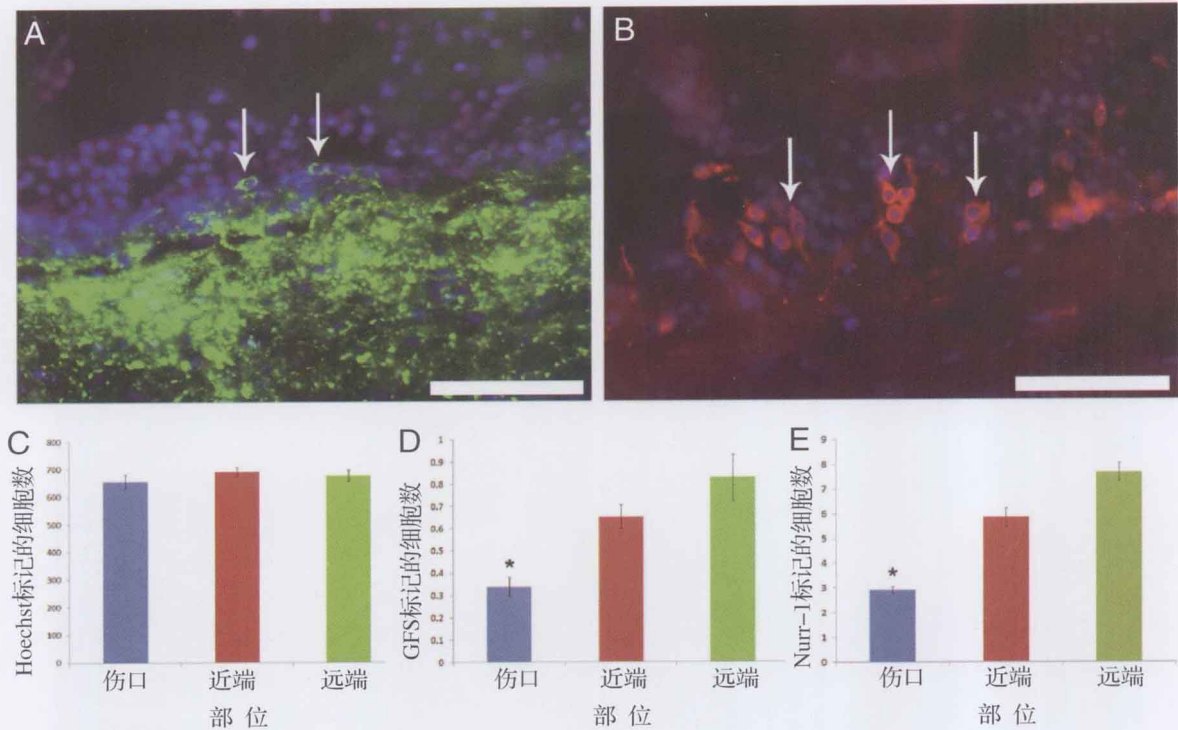


彩图13 用抗甘丙肽抗体（绿色）和Hoescht对比染色（红色）细胞核的受伤后6d（A）、12d（B）和28d（C）（dpi）的海参（*Holothuria glaberrima*）再生桡神经索的纵切片（Miguel-Ruiz等，2009）

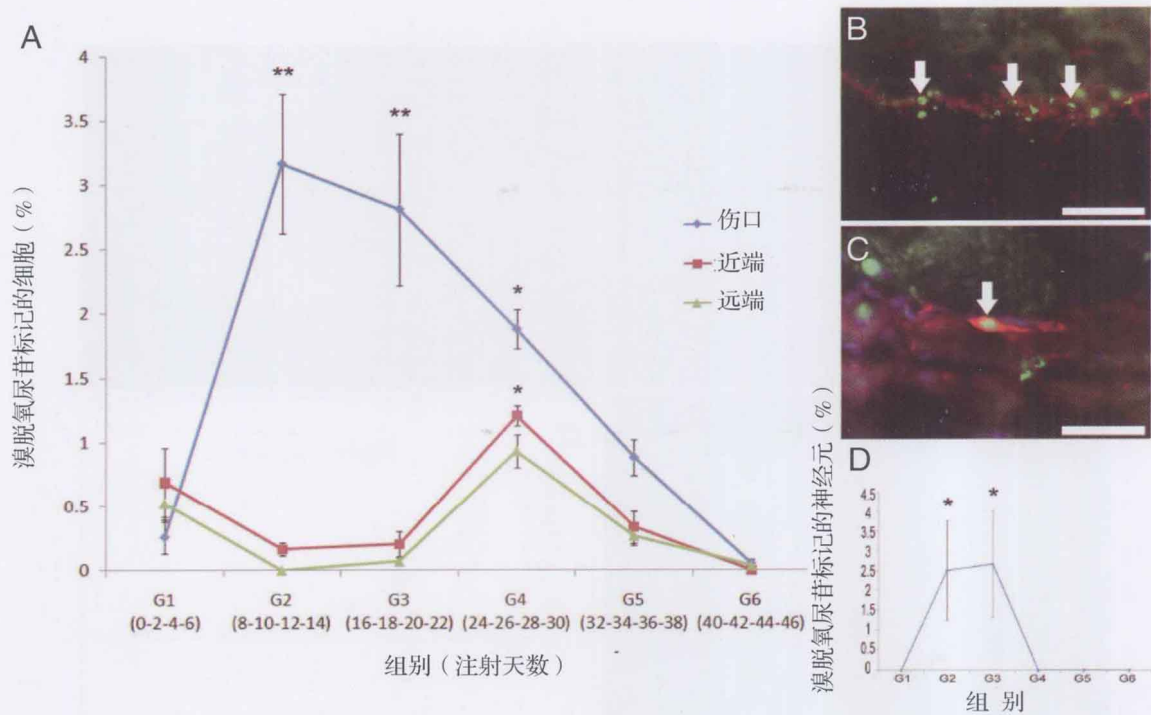
A. 受伤桡神经索边缘的甘丙肽免疫反应消失（星号），受伤6 d 时，伤口附近有间断标记；

B. 受伤12 d 时，免疫反应纤维穿过伤口，标记更加均质性；C. 到28 d 时，标记类似于未受伤的桡神经索（未显示出）

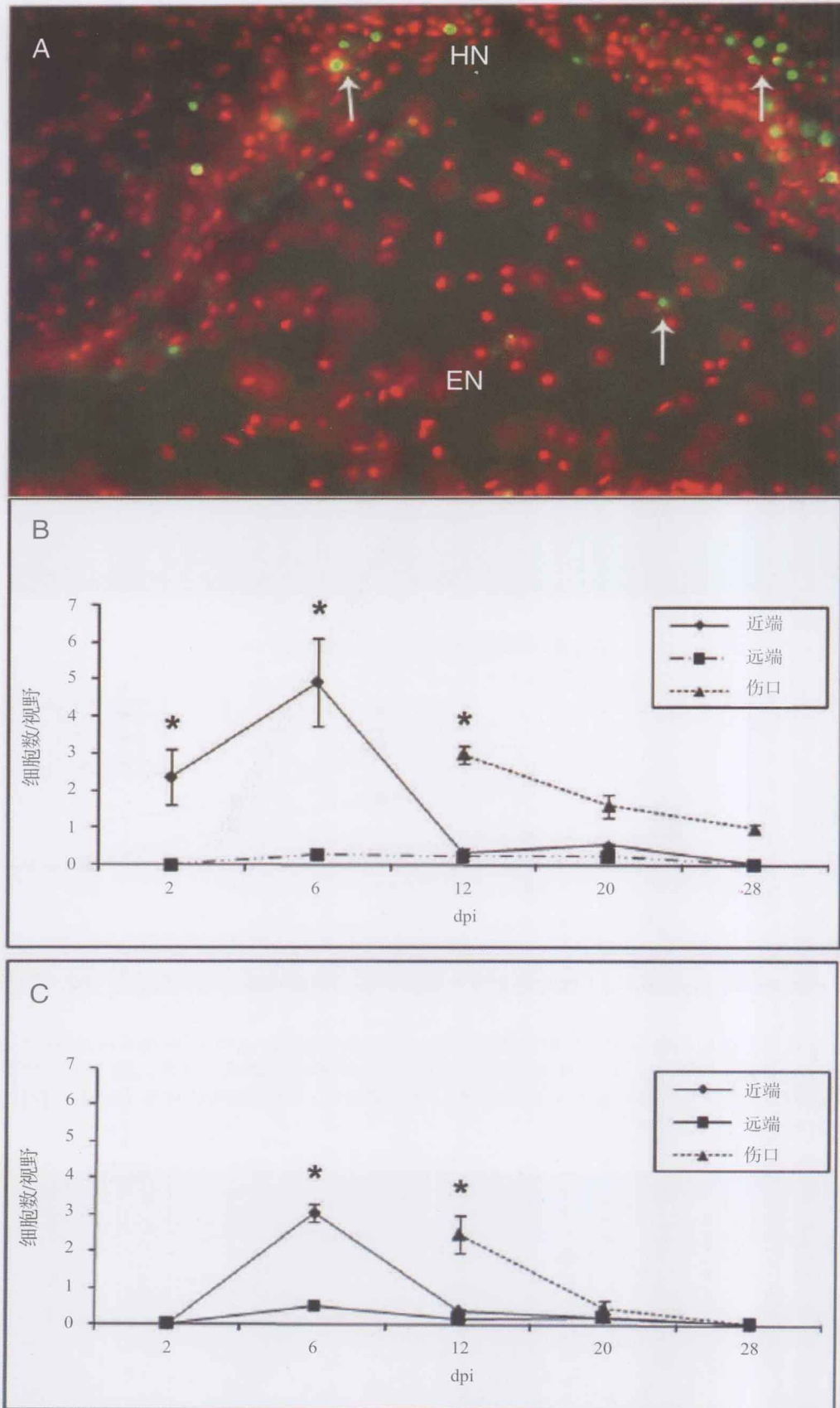
EN：外神经；HN：下神经；RNC：桡神经索；X指受伤部位；标尺=300 μm



彩图14 海参 (*Holothuria glaberrima*) 再生桡神经索中细胞生成的时间 (Miguel-Ruiz等, 2009)
A~B. 受伤62 d 时, 用抗GFS (A) 和抗Nurr-1抗体 (B) 标记物标记的再生桡神经中的神经元 (箭头); C. 再生桡神经中的细胞总数与伤口远、近端的没有显著差异, 而伤口神经元的百分率显著低于伤口远、近端; 标尺=50 μ m



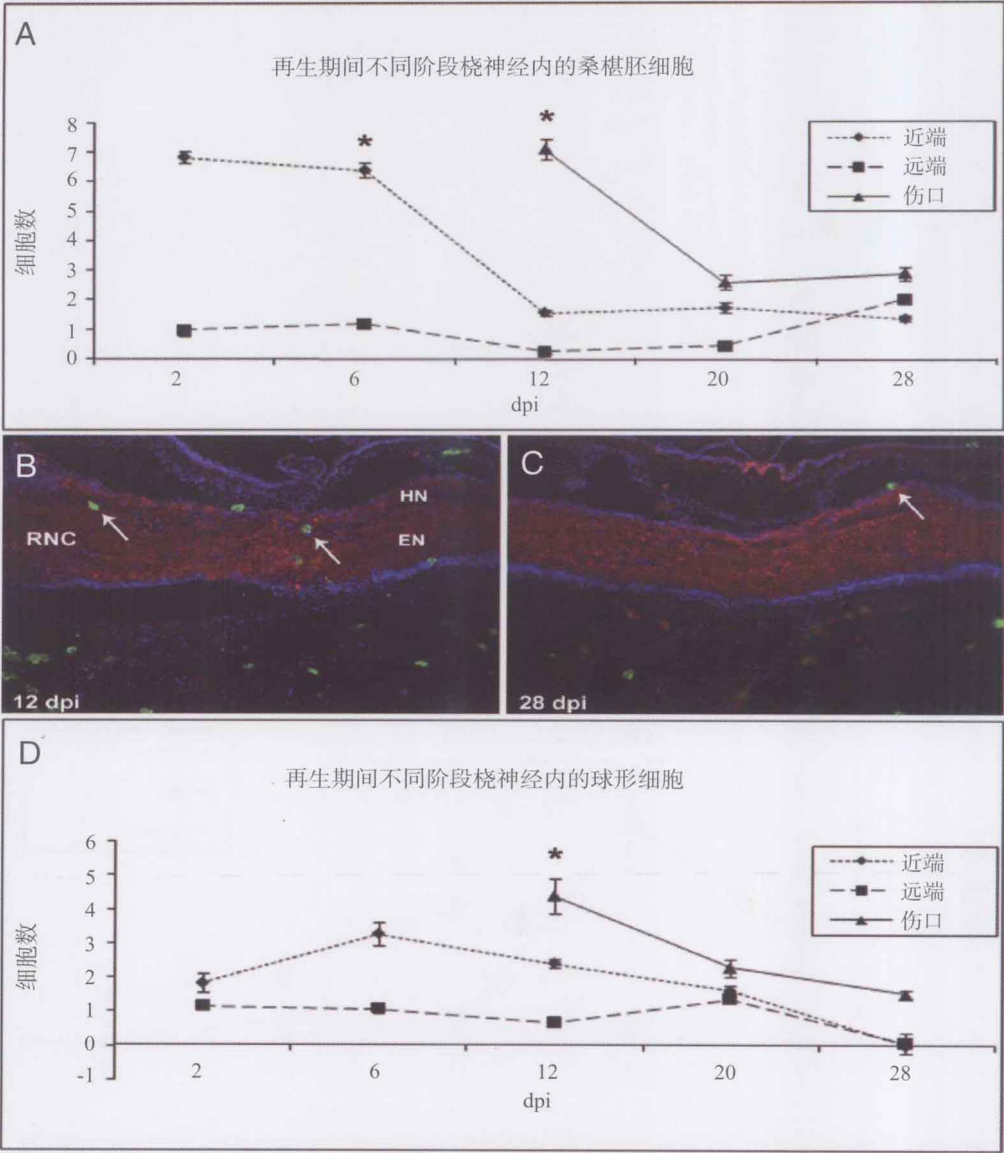
彩图15 海参 (*Holothuria glaberrima*) 再生桡神经索中神经元的标记 (Miguel-Ruiz等, 2009)
A. 解剖前62 d 的不同时间给海参注射溴脱氧尿苷, 然后定量分析每组溴脱氧尿苷标记的细胞核的百分数; B. 再生第2周, 注射溴脱氧尿苷海参伤口的桡神经中Hoechst标记的细胞核 (红色) 中溴脱氧尿苷标记的细胞核 (绿色, 箭头); C. 3个标记示伤口下神经中用溴脱氧尿苷标记细胞核 (绿色) 的Nurr1表达细胞 (红色, 箭头); D. 再生62 d 时, 用溴脱氧尿苷标记的Nurr1神经百分数; B. 标尺=50 μ m; C. 标尺=25 μ m



彩图16 海参 (*Holothuria glaberrima*) 桡神经索再生中细胞程序性死亡的情况 (Miguel-Ruiz等, 2009)

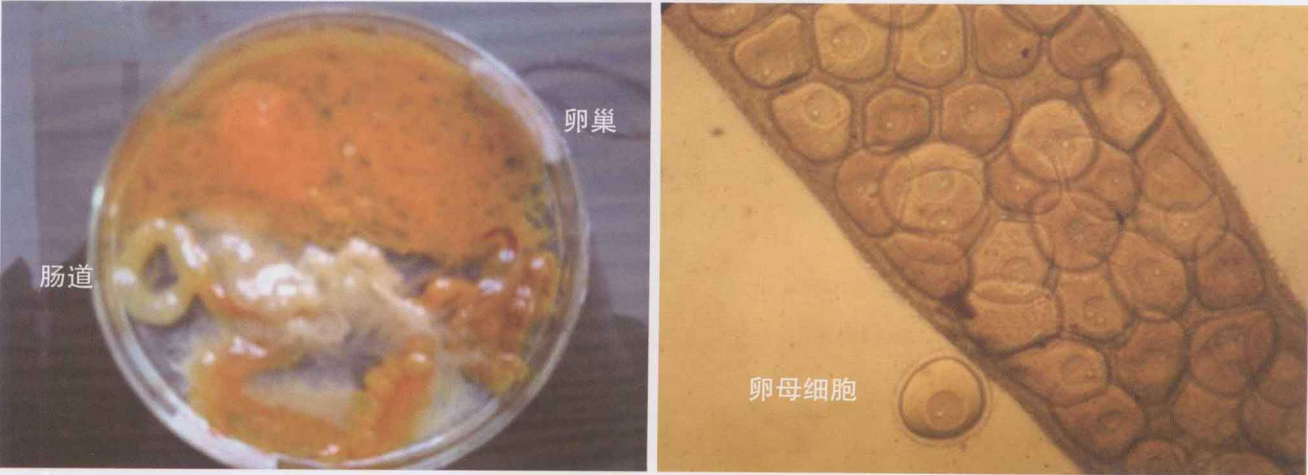
受伤12 d 时, 再生桡神经索的纵切片, 示凋亡中细胞 (箭头) 的TUNEL标记 (绿色) (Hoescht红色的反差染色); 受伤6 d 时, 伤口附近再生桡神经索的下神经(B)和外神经(C)中细胞程序性死亡达最高峰, 伤口远端很少或不出现细胞程序性死亡; 直到第12 d伤口区域才出现再生组织;

EN: 外神经; HN: 下神经

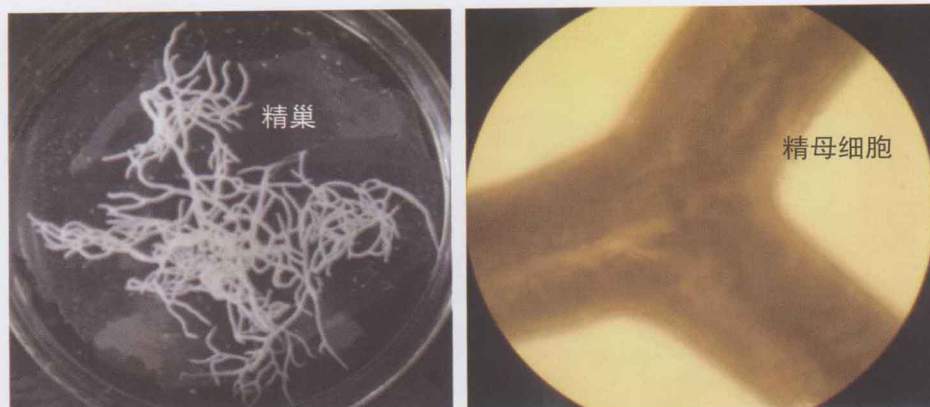


彩图17 海参 (*Holothuria glaberrima*) 桡神经索再生期间桑椹胚细胞和球形细胞数目的变化 (Miguel-Ruiz等, 2009)

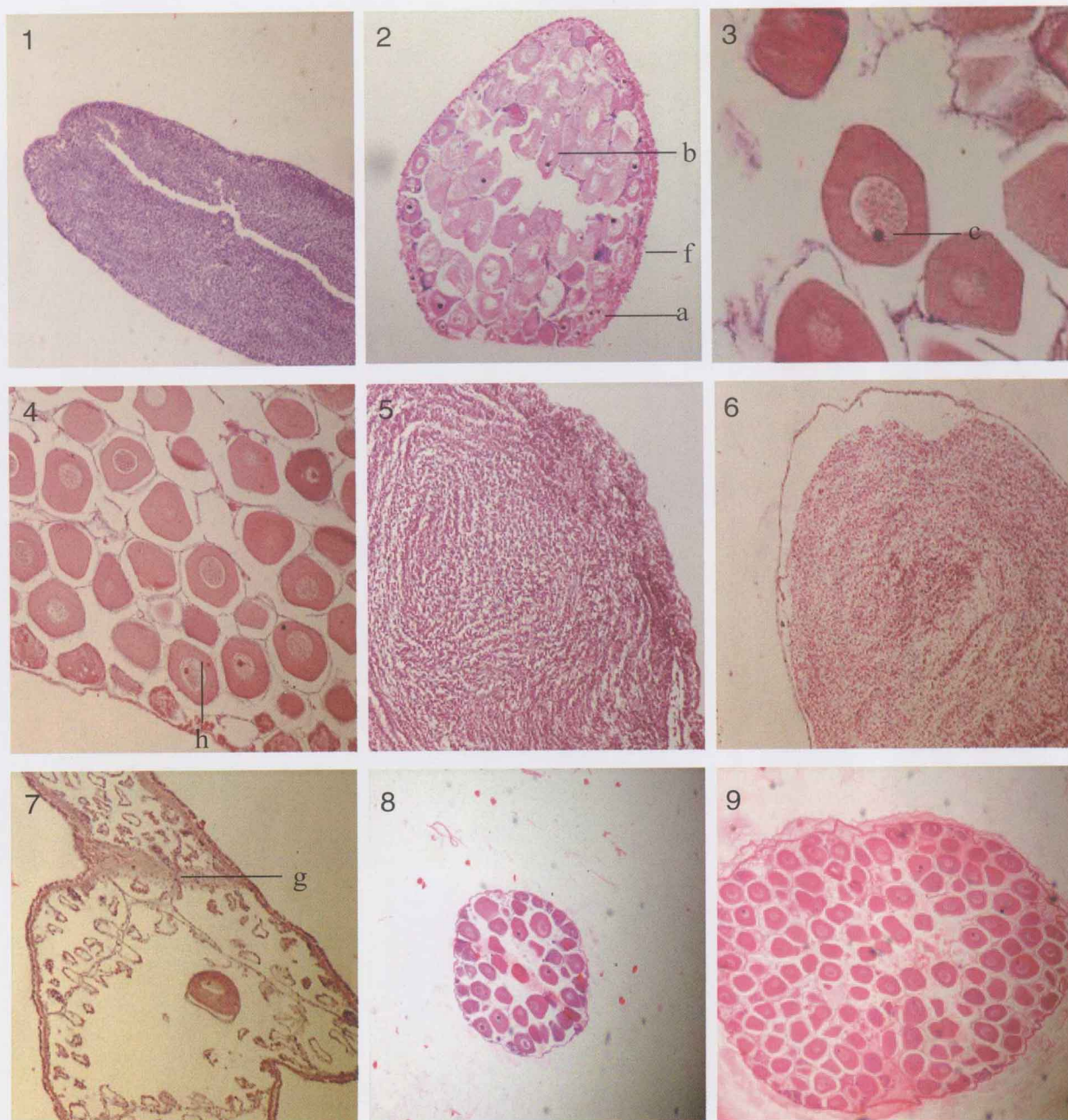
A.伤后再生桡神经索中桑椹胚细胞和球形细胞的数量增加, 受伤2~6 d 时, 伤口附近(近端)的神经中桑椹胚细胞数量达最高峰, 伤口远端数量变化很小; B~C.用单克隆抗体Sph2可检测出球形细胞 (绿色, 箭头), 受伤12d (B) 和28 (C) d 时的纵切片示再生早期桡神经索中的球形细胞, 但后期没有; 用抗甘丙肽抗体 (红色) 和Hoescht细胞核染料染色 (蓝色) 标记切片; X指伤口



彩图18 刺参的卵巢 (于培养皿中)

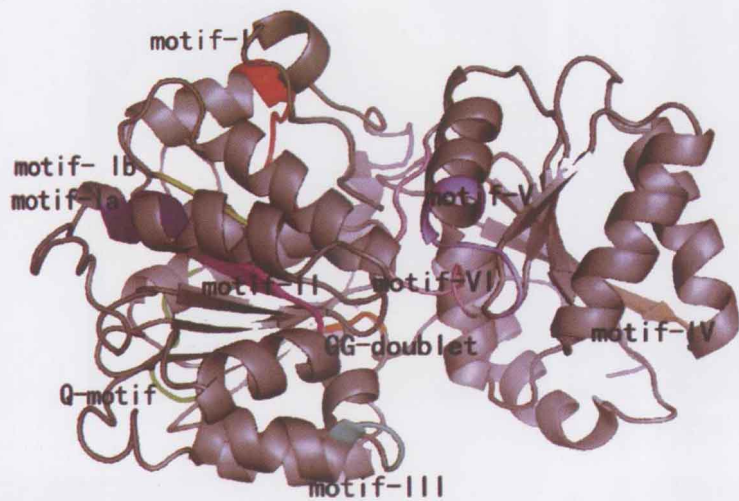


彩图19 刺参的精巢（于培养皿中）

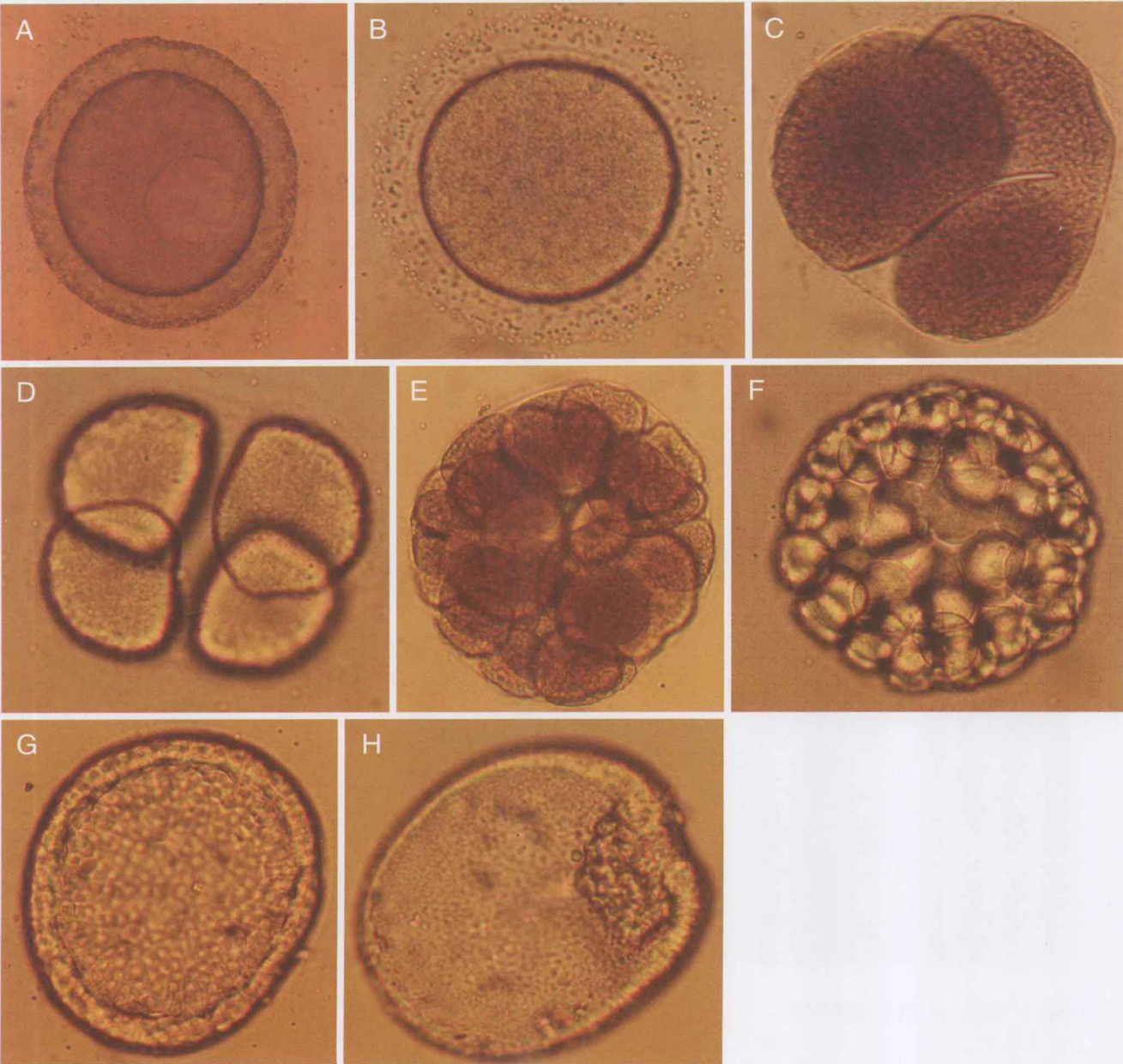


彩图20 刺参各期性腺的组织学

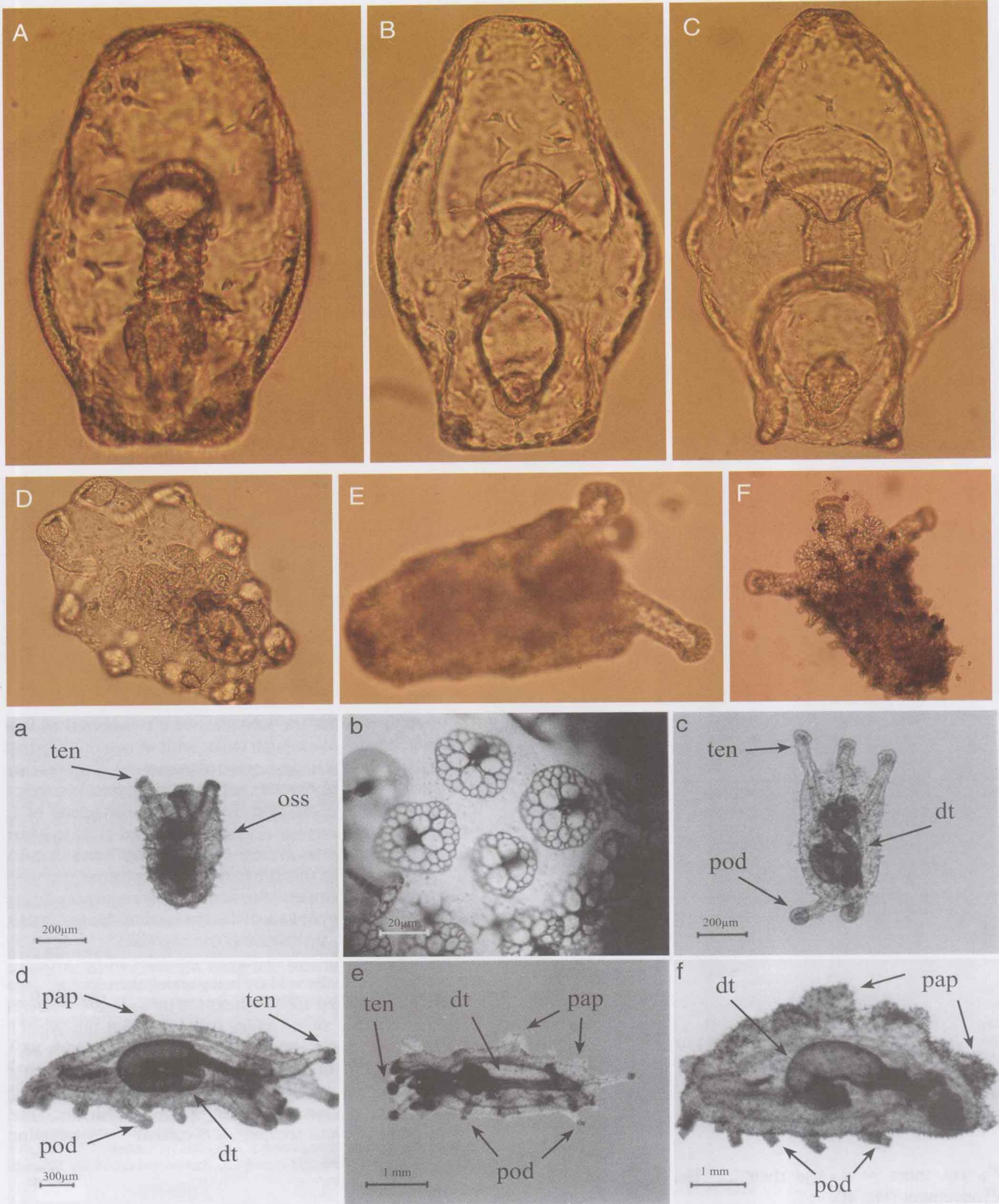
1. ♂ 生长期, $\times 400$; 2. ♀ 生长期, $\times 400$; 3. ♀ 成熟期, $\times 2\,000$; 4. ♀ 成熟期, $\times 1\,000$; 5. ♂ 成熟期, $\times 1\,000$; 6. ♂ 排放期, $\times 1\,000$; 7. ♀ 排放期, $\times 1\,000$; 8. ♀ 成熟期前部, $\times 400$; 9. ♀ 成熟期后部, $\times 400$
a: 卵原细胞; b: 卵母细胞; c: 成熟卵子; f: 滤胞; g: 营养吞噬细胞; h: 卵母细胞的核



彩图21 刺参vasa蛋白的三维结构图（隋娟等，2008）
每个保守结构域都用不同颜色标出：Q-motif绿色，motif- I 红色，motif- I a蓝色，motif- I b黄色，motif - II 桃红色，motif- III青色，motif-IV 灰粉色，motif- V浅紫色，motif- VI 浅粉色，GG-doublet 橙色

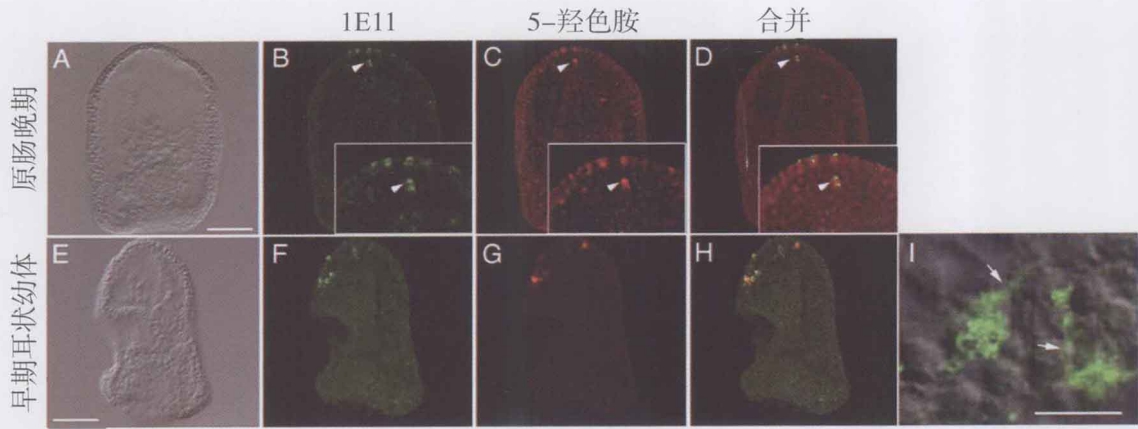


彩图22 刺参的胚胎发育



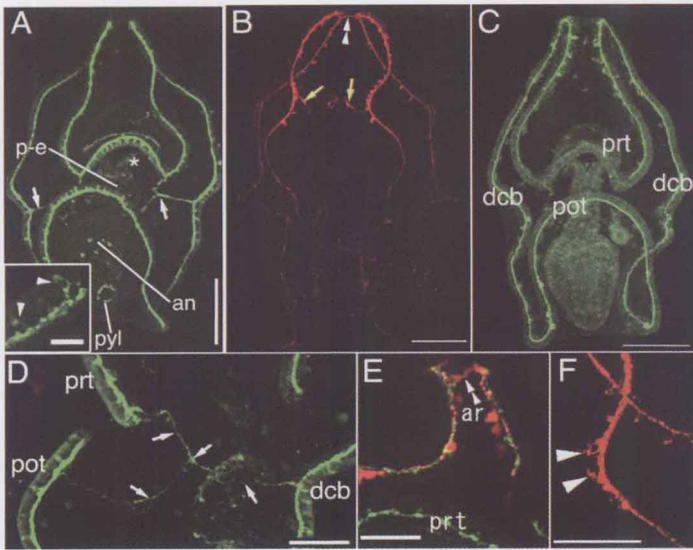
彩图23 我国北方刺参(*Apostichopus japonica*, 20 ~ 22℃) (A~F) 和南海刺参属刺参(*Apostichopus* sp.) (a~f) (Hu等, 2010) 的幼体发育

a. 五触手幼体; b. 背部骨片; c. 15日龄稚参; d. 20日龄稚参; e. 20日龄幼稚参; f. 25日龄幼参
ten: 触手; oss: 骨片; pod: 管足; dt: 消化管; pap: 突起



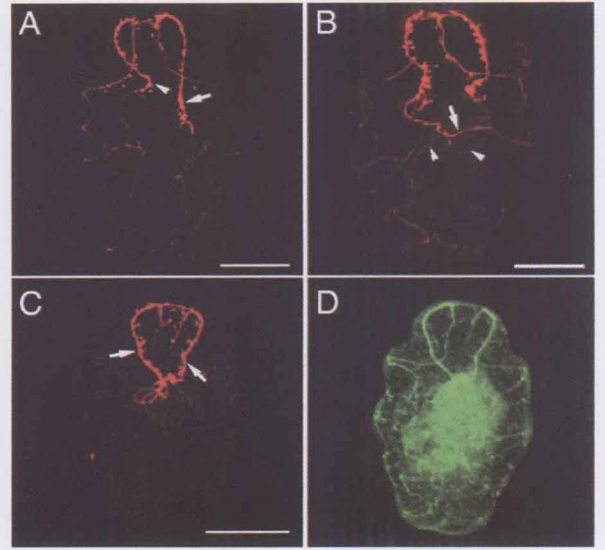
彩图24 刺参原肠晚期至耳状幼体初期时1E11和5-羟色氨能免疫反应(Nakano, 2006)

A~D. 原肠晚期, 1E11 免疫反应首先见于原肠晚期前部顶端的细胞上(B); 有些1E11阳性细胞也与5-羟色氨能抗体发生反应(B~D, 图中箭头指示部位、胚胎前端); E~I. 耳状幼体初期, 口笠中有1E11阳性细胞(F); 有的阳性细胞也呈5-羟色氨能免疫反应 (G, H), 类似于伪足的物质从口笠中1E11反应细胞伸出 (I, 箭头); Nomarski DIC 影像 (A, E); A. 标尺=50 μm ; E. 标尺=50 μm ; I. 标尺=10 μm



彩图25 刺参中期耳状幼体的神经系统 (Nakano等, 2006)

A. 1E11染色, 神经束沿纤毛带排列, 纤毛带神经束上有1E11阳性神经细胞, 尤其是在口前、后纤毛带神经束上; 侧三辐射神经束将口前、后纤毛带神经束连接起来 (箭头); 下唇 (*)、咽周区 (p-e)、幽门周围 (pyl) 和肛门 (an) 附近也有免疫反应细胞; 插入图: 口前横向纤毛带神经束的2个瓶形1E11阳性细胞 (箭头), 这些神经束中的细胞间隔约10 μm ; B. 幼体前部纤毛带有明显的5-羟色氨能免疫反应, 前脊的神经束(双箭头), 将左、右纤毛带神经束连接在一起, 许多神经细胞排列在幼体前部, 尤其是腹面, 口笠 (黄色箭头) 上有些轴突抵达纤毛带神经束; C. 1F9免疫反应, 神经束沿整个纤毛带均可见到, 口前横向纤毛带神经束(prt)呈弱免疫反应, 口前、后纤毛带神经束 (pot) 的1E11阳性细胞体不与1F9发生反应, 沿背纤毛带神经束(dcb)有少量免疫反应神经细胞体; D. 侧三辐射神经束(箭头), 连接口前横部位(prt)、口后横部位(pot)和背纤毛带神经束(dcb)的“Y”形1E11阳性神经突束, 左侧面观, 腹面朝向图像的左面; E. 幼体的前部, 腹面观, 用1E11 (绿色)和5-羟色氨(红色)抗体复染, 5-羟色氨能神经突将幼体脊顶端(ar)左、右纤毛带神经连接在一起(双箭头), 沿纤毛带神经束可见5-羟色氨能细胞体; F. 幼体前部的两个双极5-羟色氨能中间神经原(双箭头), 中间神经原由轴突伸入神经束; : A~C. 标尺=100 μm ; A插入图. 标尺=10 μm ; D~F. 标尺=50 μm .



彩图26 耳状幼体向樽形幼体转变期间的神经系统 (Nakano等, 2006)

A. 开始向樽形幼体转变的大耳幼体的5-羟色氨能免疫反应, 纤毛带神经束改变了位置, 但仍连续, 无一丢失; 幼体前部的神经束5-羟色氨能免疫反应强, 右弯向腹中线(箭头), 但左神经束平直(箭头); B. 由耳状幼体向樽形幼体转变期间5-羟色氨能的免疫反应, 脊被吸收, 身体变小, 后腹脊纤毛带神经束向前伸长(箭头), 随之形成口后纤毛带神经束 (箭头), 由中线偏向左; C. 过度期后期幼体的5-羟色氨能免疫反应, 前腹脊纤毛带神经束彼此靠近腹面, 形成环状(箭头), 环上有细胞体; D. 同一幼体的1F9 免疫反应如C, 重组的纤毛带上信号; 标尺=100 μm