

# 刺参呼吸树的超微结构观察与研究

刘晓云<sup>1</sup>, 包振民<sup>2</sup>, 范瑞青<sup>1</sup>, 谭金山<sup>3</sup>, 高 澜<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 3. 青岛大学 医学院, 山东 青岛 266021)

**摘要:**用光镜、扫描电镜和透射电镜观察研究健康刺参(*Apostichopus japonicus*)呼吸树的形态结构,并观察研究濒死刺参呼吸树的异常,结果显示:刺参呼吸树由外向内依次为体腔上皮、肌层、血管、内皮细胞和中央腔。体腔上皮细胞游离面有长而不规则的微绒毛,细胞上部吞饮小泡丰富,细胞中常见吞噬体。内皮细胞表面有各种形状的细胞突起,细胞顶浆分泌活跃,细胞内质膜小泡丰富。体腔上皮细胞和内皮细胞中丰富的吞饮小泡和质膜小泡提示这两种细胞具有吸收功能。体腔上皮和内皮下连续成层的基膜围成呼吸树中封闭的血管。内皮层与内皮基膜构成呼吸树的呼吸膜,由泄殖腔进入呼吸树中央腔的海水和呼吸树血管中的血液经此气-血屏障进行气体交换,完成呼吸作用。体腔上皮与上皮下基膜构成体腔液-血液屏障,刺参的体腔液与呼吸树血管中的血液经此屏障进行物质交换。呼吸树还在渗透压调节和代谢产物排泄中起作用。在濒死刺参的呼吸树中,纤毛虫大量积聚在中央腔中并附着在内皮层上,导致呼吸作用不能正常进行,这可能是当养殖水体恶化时造成刺参患病并死亡的重要原因之一。

**关键词:**刺参(*Apostichopus japonicus*);呼吸树;体腔上皮;内皮;呼吸膜

**中图分类号:** Q47 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2005)12-0025-06

近年来伴随刺参(*Apostichopus japonicus*)养殖业的快速发展,病害问题日趋突出<sup>[1]</sup>。由于刺参基础生物学研究工作的相对薄弱,人们对发生疾病时刺参的病理机制及其机体的免疫抗病机制缺乏基本的了解,因此造成刺参一旦发病,难以及时有效救治,严重制约了刺参养殖业的健康发展。加快开展刺参基础生物学的研究工作已成为一项紧要的任务。刺参是一种营沉积物食性(deposit-feeders)的海产无脊椎动物,由于大部分时间呆在水下,因此在水中的呼吸代谢活动就显得特别重要。研究动物的呼吸代谢可以了解动物的代谢特征、动物自身的生理状况和营养状况以及对外界条件的适应能力<sup>[2]</sup>。因此有关养殖新品种基础呼吸生理的研究就显得十分重要。人们研究海产无脊椎动物的呼吸代谢主要是研究动物的呼吸强度<sup>[3]</sup>和耗氧率<sup>[2,3]</sup>。对于刺参这种重要的海产经济无脊椎动物呼吸生理的研究相对薄弱<sup>[4]</sup>,对其呼吸机制的结构基础研究更为有限。作者从显微和超微结构水平研究刺参呼吸器官的形态结构,探讨其生理功能。同时对照健康刺参观察研究濒死刺参呼吸器官的异常,探讨养殖水体恶化对刺参呼吸的影响及其与刺参发病、死亡的关系。以期对刺参的人工养殖及疾病防治提供一些科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康刺参采自崂山近海,患病刺参取自胶南市泊里镇摇头村海参养殖场。

### 1.2 方法

活体解剖出泄殖腔、呼吸树和部分与之相连的血管网,整体固定于3%戊二醛中片刻,解剖镜下观察其解剖结构及呼吸树、泄殖腔、血管网三者的相互关系。

#### 1.2.1 扫描电镜观察

(1)取部分呼吸树组织进行常规扫描电镜样品制备, JSM-840扫描电镜观察拍照;(2)将患病刺参呼吸树沿纵轴剖开,常规扫描电镜样品制备, JSM-840扫描电镜观察拍照。

收稿日期:2005-05-24;修回日期:2005-09-18

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(G1999012009);山东省高校实验技术立项

作者简介:刘晓云(1969),女,山东青岛人,高级工程师,主要从事电镜技术和海洋生物的超微结构研究,电话:0532-82032447, E-mail: liuxiaoyun@ouc.edu.cn

### 1.2.2 光镜和透射电镜观察

将呼吸树切成大约 1 mm 长的小块, 3% 戊二醛固定 1.5 h, 1% 锇酸后固定 1 h, 乙醇梯度脱水, Epon812 包埋。在 ULTRACUTE 切片机上制作半薄切片, 甲苯胺蓝染色, 光镜观察; 在 Nvoa 超薄切片机上制作超薄切片, H-7000 透射电镜下观察拍照。

## 2 结果

### 2.1 呼吸树的解剖结构

刺参呼吸树是由泄殖腔壁伸出一短茎分出的两支树状分支管, 漂浮于体腔液中, 部分分支的端部与循环系统的血管网相连。

### 2.2 扫描电镜观察结果

呼吸树形似不断分叉的树枝(图 1-1), 放大观察呼吸树的表面, 可见其体腔上皮常以数个细胞聚团的方式分布(图 1-2), 体腔上皮细胞表面有长而不规则的微绒毛、分泌颗粒和吞饮小凹(图 1-3)。

### 2.3 光镜观察结果

呼吸树从外向内依次为体腔上皮、肌层、血腔和内皮层, 血腔中有许多血细胞。在濒死刺参呼吸树的半薄切片中看到, 呼吸树的中央腔中有大量的纤毛虫。

### 2.4 透射电镜观察结果

#### 2.4.1 体腔上皮的超微结构

体腔上皮以与基膜相连的 2~3 个细胞为单元, 纵向排列成数层, 形成有间隔的复层上皮, 复层上皮间隔部位以微绒毛形成细胞间的联系(图 1-4)。在细胞的游离面有不规则的微绒毛, 相邻细胞以中间连接相连, 细胞核大, 细胞上部有许多吞饮小泡(图 1-5), 细胞中常见的吞饮体(图 1-6)。上皮是纵、横走向的肌纤维, 肌纤维下有一层连续成层的基膜(图 1-7)。

#### 2.4.2 呼吸树内皮细胞的超微结构

内皮细胞形状不规则, 朝向中央管腔的细胞游离面有各种形状的细胞突起, 相邻细胞以中间连接相连(图 1-8), 顶浆分泌活跃(图 2-1), 中间连接下有紧密连接。细胞内上半部质膜小泡丰富, 并有高尔基体和少量线粒体(图 2-2), 胞核上方有许多消化泡及溶酶体颗粒(图 2-3), 细胞基部线粒体丰富。内皮下是连续成层的基膜(图 2-4)。

在取自患“腐皮病”海参的呼吸树中, 可见内皮细胞吞噬细菌(图 2-5)。呼吸树中央腔内充满纤毛虫(图 2-6, 2-7)。

### 2.4.3 血腔的超微结构

呼吸树内皮基膜与体腔上皮基膜共同构成了呼吸树管壁中的血腔, 在血腔内的血细胞周围有一些松散的网状结构(图 2-8)。

## 3 讨论

### 3.1 呼吸树的血腔

以往报道在呼吸树的内、外两层细胞下是结缔组织结构, 因此呼吸树由内向外的组织学结构是: 内层上皮、内层结缔组织、肌层、外层结缔组织和腹膜<sup>[5]</sup>。作者在光镜下看到呼吸树内外两层细胞之间是透明的腔, 腔内有许多游离细胞, 电镜进一步观察发现: 呼吸树的内皮层下是基膜, 外层的体腔细胞下依次是肌层和基膜, 在上皮基膜和内皮基膜之间是有着许多血细胞的腔状结构。作者没有在呼吸树的内、外两层细胞下看到结缔组织结构, 但是在血腔中有时可看到一些松散的网状结构。血液本身也是一种结缔组织<sup>[6]</sup>。因此, 是将呼吸树上皮基膜和内皮基膜之间的腔状结构称为血腔还是称为结缔组织可以进一步探讨, 但作者认为称其为血腔较为合适。血腔内的网状结构能减缓血液的流速, 利于血液与中央腔内的海水和与体腔内的体腔液进行充分的气体交换和物质交换。

### 3.2 呼吸树的内皮层

呼吸树中央腔与泄殖腔相通, 海水由泄殖腔进入呼吸树。在呼吸树的体腔上皮与内皮层之间, 连续成层的上皮基膜和内皮基膜构成了呼吸树的血腔, 血腔与血管系统中的血管相通。这种组织结构为海水与血液间的气体交换创造了条件。海洋生物的呼吸作用是由海水中的溶解 O<sub>2</sub> 与血液中的 CO<sub>2</sub> 依气体的分压差进行的扩散而完成的。在刺参的呼吸树中, 海水与血液之间隔着由内皮与内皮基膜构成的屏障。通过泄殖腔的收缩与舒张作用, 海水不断进入呼吸树中央腔, 海水中高浓度的溶解氧与呼吸树血腔血液中高浓度的 CO<sub>2</sub> 依气体分压差经内皮与内皮基膜进行双向扩散, 因此呼吸树的内皮与内皮基膜构成了呼吸树中的呼吸膜。

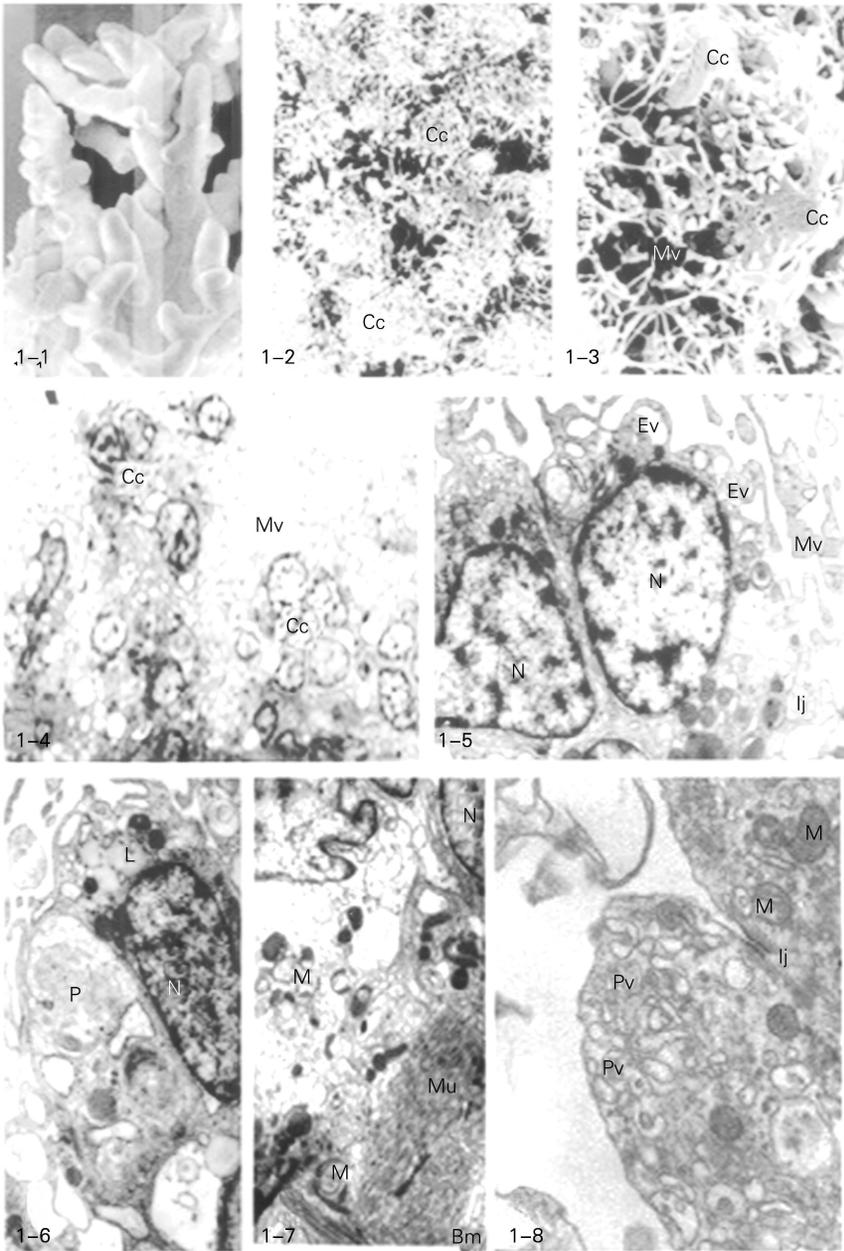


图1 刺参呼吸树的组织细胞结构 ( )

Fig. 1 The structure of tissue cells in the respiratory trees of *Apostichopus japonicus* ( )

1-1. 呼吸树局部,  $\times 50$ ; 1-2. 呼吸树体腔上皮,  $\times 1\ 500$ ; 1-3. 体腔上皮细胞,  $\times 6\ 000$ ; 1-4. 体腔上皮细胞,  $\times 2\ 000$ ; 1-5. 体腔上皮细胞,  $\times 8\ 000$ ; 1-6. 体腔上皮细胞,  $\times 6\ 000$ ; 1-7. 体腔上皮细胞基部,  $\times 6\ 000$ ; 1-8. 内皮细胞顶部,  $\times 17\ 000$ ; Bm: 基膜; Cc: 体腔上皮细胞; Ev: 吞饮小泡; Ij: 中向连接; L: 脂滴; M: 线粒体; Mu: 肌纤维; Mv: 微绒毛; N: 细胞核; P: 吞噬体; Pv: 质膜小泡(图2同)

1-1. the part of respiratory trees,  $\times 50$ ; 1-2. the coelothelium of respiratory trees,  $\times 1\ 500$ ; 1-3. the coelothelial cell,  $\times 6\ 000$ ; 1-4. the coelothelial cell,  $\times 2\ 000$ ; 1-5. the coelothelial cell,  $\times 8\ 000$ ; 1-6. the coelothelial cell,  $\times 6\ 000$ ; 1-7. the below of the coelothelial cell,  $\times 6\ 000$ ; 1-8. The top of endothelial cell,  $\times 17\ 000$ ; Bm: basement membrane; Cc: coelothelial cell; Ev: endocytic vesicle; Ij: intermediate junction; L: lipid granule; M: mitochondria; Mu: muscular fibre; Mv: microvilli; N: nucleus; P: phagosome; Pv: plasmalemmal

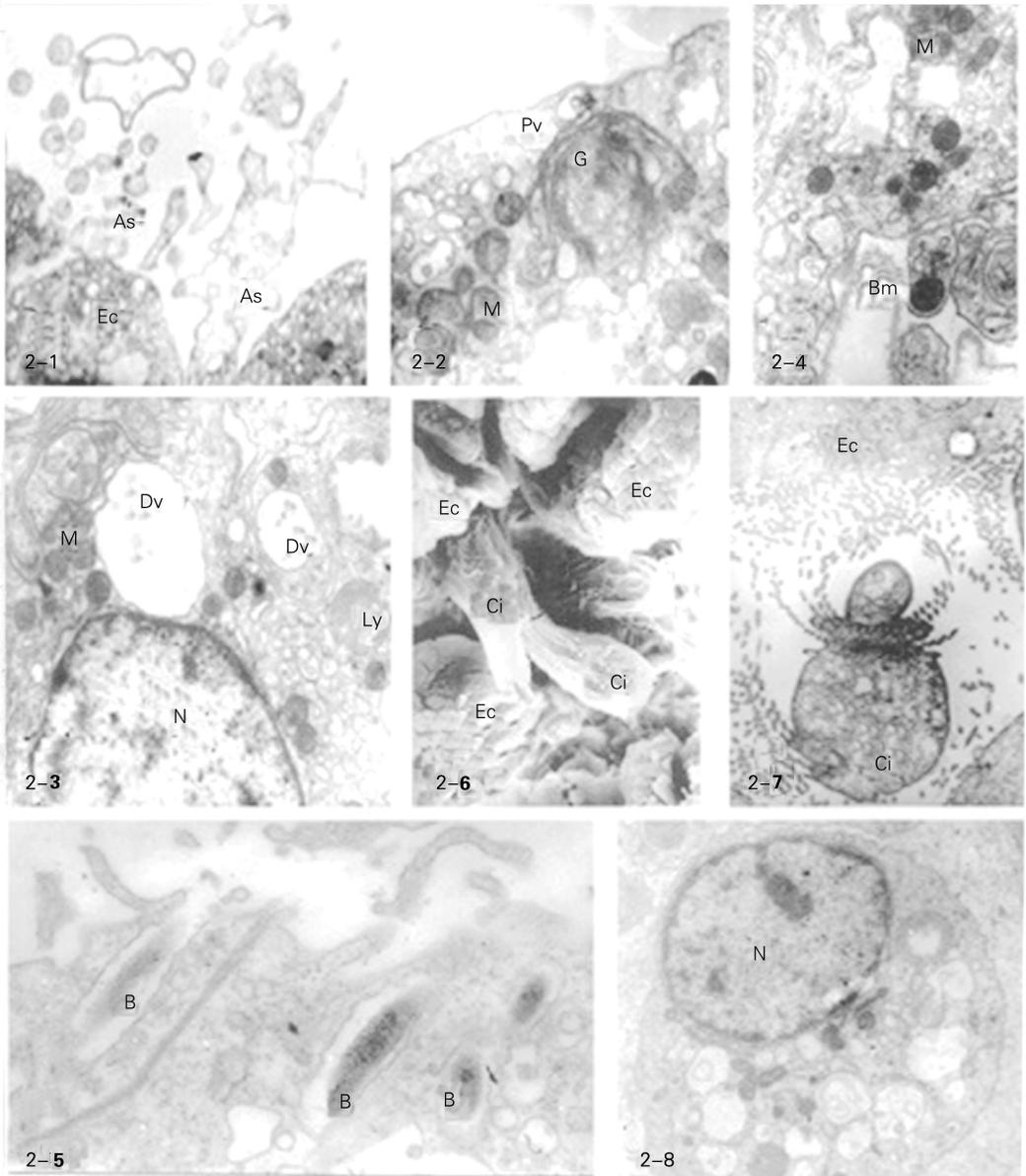


图 2 刺参呼吸树的组织细胞结构 ( )

Fig. 2 The structure of tissue cells in the respiratory trees of *Apostichopus japonicus* ( )

2-1. 内皮细胞的顶浆分泌,  $\times 7\ 000$ ; 2-2. 内皮细胞上部,  $\times 15\ 000$ ; 2-3. 内皮细胞中部,  $\times 10\ 000$ ; 2-4. 内皮细胞基部,  $\times 17\ 000$ ; 2-5. 示内皮细胞吞噬细菌,  $\times 22\ 500$ ; 2-6. 示呼吸树中央腔内纤毛虫,  $\times 1\ 200$ ; 2-7. 示呼吸树中央腔内纤毛虫,  $\times 2\ 500$ ; 2-8. 呼吸树血腔内血细胞和网状结构,  $\times 5\ 000$ ; As: 顶浆分泌; B: 细菌; Ci: 纤毛虫; Dv: 消化泡; Ec: 内皮细胞; G: 高尔基体; Ly: 溶酶;

2-1. The apocrine secretion of endothelial cell,  $\times 7\ 000$ ; 2-2. The upper part of endothelial cell,  $\times 15\ 000$ ; 2-3. The middle part of endothelial cell,  $\times 10\ 000$ ; 2-4. The base part of endothelial cell,  $\times 17\ 000$ ; 2-5. showing endothelial cell and bacteria,  $\times 22\ 500$ ; 2-6. showing ciliates in the center antrum of the respiratory trees,  $\times 1\ 200$ ; 2-7. showing ciliates in the center antrum of the respiratory trees,  $\times 2\ 500$ ; 2-8. the haemocyte and reticular formation in the haemocoel of the respiratory trees,  $\times 5\ 000$ ; As: apocrine secretion; B: bacteria; Ci: ciliates; Dv: digestion vacuole; Ec: endothelial cell; G: Golgi complex; Ly: lysosome

呼吸树内皮细胞表面各种形状的突起,对流体力学有影响,这些突起能使呼吸树中央腔面的海水形成涡流,减缓海水流动速度,有利于气体交换。另一方面,细胞表面的突起还扩大了内皮细胞的表面积。内皮表面的突起可能参与内吞作用,质膜小泡是内皮细胞中的一种运载工具,承担着运输大分子物质的功能<sup>[6]</sup>。呼吸树内皮细胞的质膜小泡多集中在细胞的上部,提示内皮细胞游离面吞饮活跃,可吞饮摄取海水中的大分子物质。吞饮的物质经细胞内消化后,转化成小分子物质,这种吞饮消化作用使内皮细胞一方面吸收来自海水的营养物质,另一方面可通过这种内化作用,降解来自海水的有毒物质。海水中的氨对刺参具有毒性作用<sup>[7]</sup>,氨是一种脂溶性物质,能够很容易地进入呼吸树内皮细胞,内皮细胞的吸收消化作用可能与氨等有毒物质的解毒作用有关。患病刺参内皮细胞可吞噬细菌,因此,呼吸树的呼吸膜是刺参抵御外来有害异物的一道屏障。经内皮细胞吸收消化的营养物质可进入到血腔中,内皮细胞基部丰富的线粒体为这种逆浓度梯度的物质转运提供能量。

研究表明,呼吸树在海参渗透压调节中起作用<sup>[8]</sup>。质膜小泡和内皮细胞间隙与水、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、葡萄糖等的运输有关<sup>[6]</sup>。呼吸树内皮细胞中的质膜小泡和内皮细胞间隙是呼吸树调节渗透压的结构基础。

2004年上半年爆发于山东沿海刺参养殖区域的“刺参腐皮病”被认为是细菌性疾病<sup>[9]</sup>。作者观察发现,取自“腐皮病”爆发时濒死刺参的呼吸树,在其中央腔内聚集着大量的纤毛虫,而在健康刺参呼吸树的中央腔内仅偶见纤毛虫,以往的研究表明,海水养殖水体中有多种纤毛虫是养殖动物的危害性生物<sup>[9,10]</sup>。本研究表明,大量的纤毛虫由泄殖腔随海水进入呼吸树并积聚在呼吸树的中央腔内,阻碍了呼吸树中央腔内海水的正常流动,另一方面,虫体附着在内皮层上,减小了呼吸膜的有效面积,导致呼吸膜的气体交换作用无法正常进行,造成刺参的呼吸障碍,这可能是导致刺参死亡的重要因素之一。原生动物和细菌在刺参发生“腐皮病”时的作用值得进一步的探讨。

### 3.3 呼吸树的体腔上皮

呼吸树的体腔上皮是一种特殊的有间隔的复层上皮,这种结构既扩大了上皮的表面积,又有利于上皮层两侧的物质交换。上皮细胞表面有大量微绒毛,并且细胞表面吞饮活跃,表明体腔上皮细胞具有吸收功能。海参的体腔液与海水是自由渗透的<sup>[11]</sup>。

体腔液中含有来自海水的营养物质,呼吸树体腔上皮能够吸收体腔液内的营养物质。体腔上皮细胞内大量的次级溶酶体提示体腔上皮在吸收体腔液内的代谢产物中发挥作用。体腔上皮细胞之间以中间连接相连,体腔上皮可通过细胞间连接成分的变化,引起细胞骨架结构的变化,导致体腔上皮细胞的变形,以此调控上皮层内外大分子物质和血细胞的出入,上皮基膜具有通透性的屏障作用,因此,体腔上皮与上皮基膜构成了血液与体腔液进行物质交换的血液-体腔液屏障。

## 4 结语

刺参的呼吸树是刺参的呼吸器官,其血腔与血管腔相通,流入呼吸树血腔中的血液,经呼吸树的呼吸膜与由泄殖腔进入呼吸树中央腔的海水进行气体交换;经呼吸树的血液-体腔液屏障进行血液与体腔液的物质交换。内皮细胞与体腔上皮细胞中的质膜小泡除了在血液与海水及体腔液的物质交换中发挥作用外,还在渗透压调节中起作用。

呼吸树的内皮细胞具有吸收、解毒及分泌代谢产物的功能;体腔上皮细胞也具有吸收功能。因此,刺参的呼吸树可能在一定程度上具有与消化道相似的功能。

养殖水体恶化时,大量纤毛虫积聚在呼吸树的中央腔中并附着在呼吸树的呼吸膜上,导致刺参无法正常呼吸。作者认为这是导致养殖刺参发病并死亡的重要原因之一。

### 参考文献:

- [1] 王印庚,荣小军,张春云,等. 养殖海参主要疾病及防治技术[J]. 海洋科学, 2005, 29(3): 1-7.
- [2] 林小涛,张秋明,许忠能,等. 虾蟹类呼吸代谢研究进展[J]. 水产学报, 2000, 24(6): 575-580.
- [3] 李映溪,崔玉影,殷杰,等. 海产无脊椎动物呼吸强度的比较[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 1994, 17(4): 323-327.
- [4] 李宝泉,杨红生,张涛. 温度和体重对刺参呼吸和排泄的影响[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(2): 182-187.
- [5] 廖玉麟. 中国动物志 海参纲[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 31-33.
- [6] 成令中,钟翠平,蔡文琴. 现代组织学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003.
- [7] 庞军辉,韩家波. 氨对刺参的毒性影响[J]. 水产科学, 1993, 12(9): 8-11.
- [8] Luz M F, Francisco C H. Ionosmotic response of respiratory trees of the holothurian *Isostichopus badionotus* Selenka preincubated in hyper-, iso- and hypo-osmotic

sea water[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1996, **202**(2): 151-164.

拟尾丝虫 *Parauronema longum* nov. spec. (纤毛门, 盾纤目)[J]. 青岛海洋大学学报, 1995, **25**(4): 461-474.

[9] 宋微波, 王梅. 海水养殖水体中的病害纤毛虫[J]. 海洋科学, 1993, 4: 41-47.

[11] 廖玉麟. 我国的海参[J]. 生物学通报, 2001, **36**(9): 1-3.

[10] 宋微波. 海水养殖水体中病害纤毛虫一新种——长

## Ultrastructural observation and study on the respiratory trees of *Apostichopus japonicus*

LIU Xiao-yun<sup>1</sup>, BAO Zhen-min<sup>2</sup>, FAN Rui-qing<sup>1</sup>, TAN Jin-shan<sup>3</sup>, GAO Lan<sup>1</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 3. College of medicinal, University of Qingdao, Qingdao 266021, China)

**Received:** May, 24, 2005

**Key words:** *Apostichopus japonicus*; respiratory trees; coelothelium; endothelium; breathing film

**Abstract:** The structure of respiratory trees of normal and amort *Apostichopus japonicus* was observed by optical microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope. The results showed that the respiratory trees were composed of coelothelium, muscular coat, haemocoel, endothelial cell and center antrum through outer to inner. There were long and irregular microvilli on the free side of coelothelial cell. Abundant endocytic vesicles existed in the upper part of the cell and phagosome was often observed in the cell. There were various shapes of cell protuberance on the surface of endothelial cell. The activity of apocrine secretion was high and there were lots of plasmalemmals in the endothelial cell. The abundant endocytic vesicles and plasmalemmals in coelothelial cell and endothelial cell respectively revealed that these two kinds of cells had the ability of absorption. The obturated haemocoel was enclosed by the continuous and stratified basement membrane under the coelothelium and endothelial. The breathing film was made up of endothelial and endothelial basement membrane. The seawater in respiratory trees through cloaca into center antrum and blood in haemocoel accomplished respiration via this gas-blood barrier. The coelomic fluid of *A. japonicus* and blood in haemocoel of respiratory trees completed metabolism via coelomic fluid-blood barrier which was composed of coelothelium and basement membrane under it. The respiratory trees also played an important role in the regulation of osmolarity and excretion of metabolized production. Lots of ciliates congregating in the center antrum keep close to the endothelial in the respiratory trees of amort *A. japonicus*. The absorbance disturbed the normal respiration, which might be one of the most important reasons for the illness and death of *A. japonicus* when the culture water deteriorated.

( 本文编辑: 刘珊珊)