

仿刺参骨片的种类和形态学研究

张莉恒, 丁君, 韩昭衡, 常亚青, 宋坚, 田莹, 白雪秋, 丁文君

(大连海洋大学 农业部北方海水增养殖重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要: 以大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室培育的已明确年龄(1龄、2龄、3龄)的仿刺参(*Apostichopus japonicus*)为实验材料, 采用原位压片法对仿刺参棘、体壁、触手、管足、纵肌、呼吸树、肠7种组织标本进行骨片形态学观察和SPSS统计分析, 获得了不同年龄、组织仿刺参中各类型骨片的相对比例。结果表明, 原位压片法得到的骨片较NaClO法结构损坏较小, 且能观察到骨片在组织中的分布。仿刺参各组织中存在桌形体、扣形体、杆状体、花纹状体、复合盘状骨片和长孔状体6种主要骨片类型。体壁中主要骨片类型为扣形体和桌形体; 棘和触手中主要骨片类型为扣形体、桌形体和杆状体; 管足中主要骨片类型为特有的复合盘状骨片、扣形体和桌形体; 呼吸树和肠中主要骨片类型为花纹状体; 纵肌不含任何类型骨片。不同组织间相同类型骨片的形态结构一致, 无组织间特异性。通过对不同年龄仿刺参各组织的骨片比较分析发现, 不同年龄仿刺参相同组织中骨片比例存在差异, 例如, 1龄、2龄、3龄仿刺参触手中桌形体骨片的相对比例分别为11.55%±2.69%、20.76%±2.34%、3.75%±0.72%, 2龄仿刺参触手中桌形体骨片的相对比例显著高于1龄、3龄仿刺参触手中桌形体骨片比例($P<0.05$); 1龄、2龄、3龄仿刺参棘中扣形体相对比例分别为92.55%±1.98%、65.45%±1.79%、88.36%±3.08%, 2龄仿刺参棘中扣形体相对比例显著低于1龄和3龄仿刺参棘中扣形体骨片比例($P<0.05$)。本研究为仿刺参的基础生物学研究提供资料, 为仿刺参的年龄鉴别提供参考。

关键词: 仿刺参(*Apostichopus japonicus*); 骨片; 形态学

中图分类号: P735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2015)04-0008-07

doi: 10.11759/hyhx20140226002

海参隶属于棘皮动物门(Echinodermata), 海参纲(Holothuroidea)。全世界海参约有160个属, 近1400种, 中国约有海参140种^[1]。目前海参相关研究多为分子生物学^[2-6]和遗传育种^[7]方面, 海参骨片形态学研究较少。海参体内真皮层具骨片, 海参的骨片通常被认为是胚胎期骨骼的存留, 其主要成分是碳酸钙。不同种海参的骨片类型不同, 海参骨片是进行海参分类的重要依据^[8]。国内外已有学者对海参骨片进行了研究, 廖玉麟^[9]对中国134种海参进行了形态学分类; Massin等^[10]对糙海参(*Holothuria scabra*)幼参的骨片发育进行了研究; Richard Rasolofonirina和Michel Jangoux^[11]对糙海参(*H. scabra*)幼虫和稚参的骨片进行了研究, 确定了糙海参(*H. scabra*)不同类型骨片出现的时期; 另外, 李赞等^[12]比较了国内外15种海参体壁的骨片类型; 文菁等^[13]利用扫描电镜对中国6种热带海参体壁骨片的组成和类型进行了研究, 丰富了海参骨片形态学的研究信息。

目前, 国内外关于海参体壁骨片的研究有报道, 但仿刺参各组织的骨片类型及骨片在不同组织中的

分布, 各类型骨片的相对比例与仿刺参年龄相关关系的研究尚未见报道。本研究以大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室培育的1~3龄仿刺参(*Apostichopus japonicus*)为研究对象, 采用原位压片法研究仿刺参各组织的骨片类型及应用SPSS软件统计各类型骨片相对比例, 为仿刺参的基础生物学研究提供资料, 为其年龄鉴别提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用材料为大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室培育的1~3龄仿刺参, 1龄仿刺参

收稿日期: 2014-07-07; 修回日期: 2014-10-22

基金项目: 国家“863”计划项目(2010AA10A401, 2012AA10A412); 辽宁省农业攻关及成果产业化项目(2011203003, 201401549)

作者简介: 张莉恒(1990-), 女, 硕士研究生, 内蒙古赤峰人, 主要从事水产养殖研究, 电话: 13478558935, E-mail: shiqudeyoushang@126.com; 丁君, 通信作者, 研究员, 电话: 0411-84762871, E-mail: dingjun1119@dlou.edu.cn

平均体长为 54.7 mm±1.5mm; 2 龄仿刺参平均体长为 81.7 mm±2.0mm; 3 龄仿刺参平均体长为 102.3±1.8mm。按年龄将仿刺参分为 3 组, 每组取 5 头, 分别取棘、纵肌、触手、管足、呼吸树、体壁和肠 7 种组织进行分析。其中每头仿刺参取棘(6 个)、纵肌(5cm)、触手(4~8 根)、管足(4~8 根)、呼吸树(6 小枝)、体壁(背部, 1cm×1cm×1cm)、肠(上升肠、下降肠各 4 段, 每段 1cm)7 种组织。

1.2 实验方法

采用 NaClO 法和原位压片法两种方法制备仿刺参各组织标本, 比较样本制备结果; 采用原位压片法研究不同年龄仿刺参各组织骨片类型; 采用扫描电子显微镜法观察仿刺参各组织骨片的显微结构。

1.2.1 NaClO 法

将仿刺参各组织用无菌海水冲洗干净, 并用滤纸吸干水分, 将所取组织置于 1.5mL 的离心管, 滴加 0.5~1 mL30%次氯酸钠溶液, 消化 20~60 s, 可见离心管底部出现白色颗粒, 待白色颗粒完全沉淀后, 用吸管吸取上层溶液, 蒸馏水重复漂洗 3 次。用吸管将骨片转移到载玻片上, 置于自然条件下干燥, 将载玻片置于显微镜(Nikon ECLip5E 50i)下观察, 并拍照。

1.2.2 原位压片法

将所取仿刺参各组织用无菌海水冲洗干净, 并用滤纸吸干水分, 将组织展开平铺于玻片上, 并吸干组织周围水分, 在组织样上加盖玻片, 轻轻敲击盖玻片, 使样品充分分散(避免出现气泡); 在显微镜(Nikon ECLip5E 50i)下观察, 并拍照。

1.2.3 扫描电子显微镜法

将 0.1mol/L PBS 缓冲液滴入由 NaClO 法获得的骨片样品离心管, 静止 5min 左右, 待骨片沉淀后更换清洗液, 重复 3 次, 清洗 NaClO 等残留物; 将含有骨片的溶液滴到载玻片上, 使用不同梯度叔丁醇(50%、70%、80%、90%、95%、100%)脱水, 每 3min 更换一次梯度; 吸干叔丁醇, 并将骨片放到电镜(JEOL JEM-1200EX)观察台上, 镀膜并进行观察, 拍照。

1.3 数据分析

利用 Excel 和 SPSS16.0 软件对获得的数据进行统计分析, 采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检测, 显著水平设置为 $P<0.05$ 。

2 实验结果

2.1 NaClO 法和原位压片法制备仿刺参各组织骨片标本结果比较

采用 NaClO 法和原位压片法均能获得仿刺参各组织骨片标本(图 1)。经过 NaClO 法获得的骨片已与组织分离, 由于不附带其他组织, 标本较干净, 但骨片结构已损坏, 且不能观察到骨片在组织中的分布。原位压片法制样简单, 骨片结构较完整, 且能观察到骨片在组织中的分布状态, 适于仿刺参各组织骨片的观察统计。因此, 在以下研究不同年龄仿刺参各组织骨片类型分析采用原位压片法, 而电镜扫描法前期处理采用 NaClO 法。

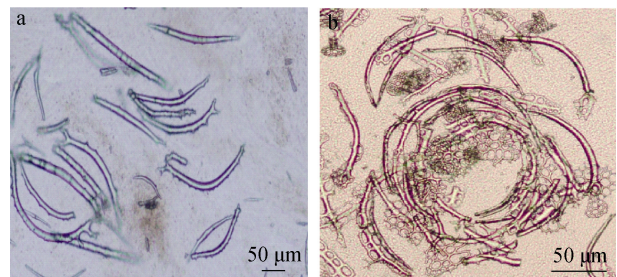


图 1 仿刺参触手骨片标本

Fig.1 The production of *Apostichopus japonicus* tentacle bone chips

a. NaClO 法; b.原位压片法
a. NaClO method; b. Situ compression method

2.2 仿刺参不同组织骨片类型分析

利用原位压片法对不同年龄仿刺参各组织骨片类型及骨片在不同组织中的分布进行分析, 仿刺参各组织中存在桌形体、扣形体、杆状体、花纹状体、复合盘状骨片和长孔状体 6 种主要骨片类型。仿刺参各组织中的骨片类型存在差异(图 2)。仿刺参体壁中存在的骨片类型为扣形体、桌形体和杆状体; 管足中存在的骨片类型为扣形体、桌形体和复合盘状骨片, 其中复合盘状骨片是管足特有的骨片类型; 棘中存在的骨片类型为扣形体、桌形体和杆状体; 触手中存在的骨片类型为扣形体、桌形体和杆状体; 肠和呼吸树中存在的骨片类型为花纹状体; 纵肌中不存在任何类型骨片; 另外, 在 3 龄仿刺参的肠及呼吸树中发现了 C 形体。

利用 Excel 和 SPSS16.0 软件对不同年龄仿刺参各组织中存在不同类型骨片进行计数及统计分析, 结果见表 1。

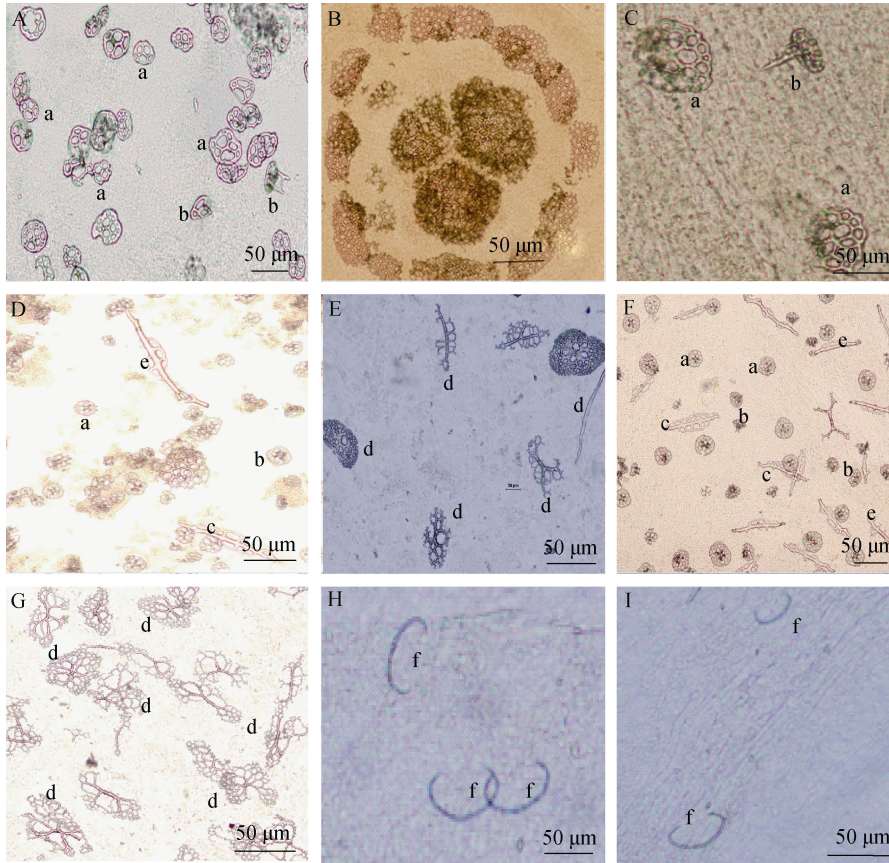


图 2 仿刺参不同组织骨片的显微观察图

Fig. 2 Ossicles of different tissues of *Apostichopus japonicus* observed under microscope

A. 体壁中骨片(2 龄); B. 管足中骨片(2 龄, 显示复合盘状骨片); C. 管足中骨片(2 龄, 显示桌形体和扣形体); D. 棘中骨片(2 龄); E. 肠中骨片(2 龄); F. 触手中骨片(2 龄); G. 呼吸树中骨片(2 龄); H. 呼吸树中骨片(3 龄, 显示 C 形体); I. 肠中骨片(3 龄, 显示 C 形体)
 a. 扣形体; b. 桌形体; c. 长孔状体; d. 花纹状体; e. 杆状体; f. C 形体
 A. ossicles of body wall(2 years); B. ossicles of tube feet(2 years, show composite discoid ossicles); C. ossicles of tube feet(2 years, show table-shaped ossicles and button-shaped ossicles); D. ossicles of spine(2 years); E. ossicles of intestine(2 years); F. ossicles of tentacle(2 years); G. ossicles of respiratory tree(2 years); H. ossicles of respiratory tree(3 years, show C-shaped ossicles); I. ossicles of intestine(3 years, show C-shaped ossicles)
 a. button-shaped ossicles; b. table-shaped ossicles; c. long hole-like body ossicles; d. rosste-shaped ossicles; e. rod-shaped ossicles; f. C-shaped ossicles

由表 1 可知, 仿刺参不同组织中桌形体骨片比例是不一致的, 在 1 龄仿刺参中, 体壁和触手中桌形体相对比例较高, 分别达到 $12.15\% \pm 2.99\%$ 和 $11.55\% \pm 2.69\%$; 2 龄和 3 龄仿刺参中, 管足和棘中桌形体相对比例较高, 2 龄仿刺参管足和棘中桌形体比例分别为 $21.83\% \pm 5.64\%$ 和 $24.16\% \pm 0.93\%$, 3 龄仿刺参管足和棘中桌形体比例分别为 $8.89\% \pm 4.84\%$ 和 $11.36\% \pm 3.22\%$ 。不同年龄仿刺参相同组织中桌形体骨片的相对比例也存在差异, 2 龄仿刺参管足中桌形体骨片相对比例为 $21.83\% \pm 5.64\%$, 显著高于 1 龄仿刺参管足中桌形体相对比例($P < 0.05$); 2 龄仿刺参棘和触手中桌形体骨片相对比例分别为 $24.16\% \pm 0.93\%$ 和 $20.76\% \pm 2.34\%$, 显著高于 1 龄和 3 龄仿刺参棘和

触手中桌形体相对比例($P < 0.05$)。

由表 1 可知, 仿刺参不同组织中扣形体骨片相对比例不一致, 1-3 龄仿刺参棘和体壁中扣形体相对比例较高, 触手中扣形体比例最低, 触手中扣形体比例分别为 $36.58\% \pm 6.13\%$ 、 $49.61\% \pm 2.46\%$ 、 $7.68\% \pm 2.89\%$ 。不同年龄仿刺参相同组织中扣形体骨片相对比例具有显著差异性, 2 龄仿刺参棘中扣形体相对比例为 $65.45\% \pm 1.79\%$, 显著低于 1 龄和 3 龄仿刺参棘中扣形体($P < 0.05$); 3 龄仿刺参触手中扣形体相对比例为 $7.68\% \pm 2.89\%$, 显著低于 1 龄和 2 龄仿刺参触手中扣形体($P < 0.05$)。

2.3 仿刺参各组织骨片显微结构观察

在扫描电子显微镜下观察仿刺参骨片的显微结

表 1 不同年龄仿刺参不同组织各类型骨片分析

Tab. 1 The types of ossicles of different tissues in *Apostichopus japonicus* Selenka with different ages

组织年龄(龄)	骨片类型(%)						
	扣形体	长孔状体	桌形体	花纹状体	杆状体	复合盘状骨片	C 形体
体壁	1	84.61±2.62 ^{ax}	—	12.15±2.99 ^{ax}	—	3.24±0.38	—
	2	89.39±4.84 ^{ax}	—	7.31±2.36 ^{ax}	—	3.3±1.98	—
	3	91.94±0.74 ^{ax}	—	7.42±0.95 ^{ax}	—	0.64±0.32	—
管足	1	59.31±2.99 ^{bx}	—	3.57±0.69 ^{bx}	—	—	37.12±10.22
	2	60.84±8.32 ^{bx}	—	21.83±5.64 ^{by}	—	—	17.33±1.71
	3	68.28±17.29 ^{ax}	—	8.89±4.84 ^{axy}	—	—	22.83±1.48
棘	1	92.55±1.98 ^{ax}	—	6.74±2.12 ^{abx}	—	0.71±0.14	—
	2	65.45±1.79 ^{by}	—	24.16±0.93 ^{by}	—	10.39±2.86	—
	3	88.36±3.08 ^{ax}	—	11.36±3.22 ^{ax}	—	0.28±0.28	—
触手	1	36.58±6.13 ^{cx}	—	11.55±2.69 ^{ax}	—	51.87±7.48	—
	2	49.61±2.46 ^{bx}	8.75±2.01	20.76±2.34 ^{by}	—	20.88±2.11	—
	3	7.68±2.89 ^{by}	—	3.75±0.72 ^{az}	—	88.57±1.67	—
肠	1	—	—	—	100	—	—
	2	—	—	—	100	—	—
	3	—	—	—	95.59±4.40	—	4.41±4.41
呼吸树	1	—	—	—	100	—	—
	2	—	—	—	100	—	—
	3	—	—	—	91.19±7.10	—	8.81±6.20
纵肌	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—

注: a、b、c 代表相同年龄不同组织间的差异性, x、y、z 代表不同年龄相同组织间的差异性($p < 0.05$)

构,发现不同组织中相同类型骨片的形态结构一致,不存在组织间特异性。桌形体骨片(图 3A)由底盘和立柱组成,底盘近似为圆形,具有穿孔,底盘边缘具突起,中央有 1 塔部,由 4 个立柱和 1 个横梁构成。扣形体(图 3B)近似于圆形或椭圆形,具有大小不等的圆孔,通常中央部位圆孔较大,边缘部位圆孔较小,与桌形体的底盘类似,本次研究在电镜下还发现了部分扣形体一面具有 4 个突起痕迹(箭头所示),推测可能与桌形体的 4 个立柱存在某种关系。杆状体主要存在于体壁、棘和触手等外部组织中,杆状体(图 3C)是最简单的骨片,不分枝,表面具有瘤。长孔状体(图 3D)为长椭圆形,两侧分布大小不等、近似椭圆形的细孔。花纹状体(图 3E)为呼吸树和肠中所特有的骨片,呈“8”字型,边缘有不规则排列的卷曲状分枝,每个分枝孔并不光滑,表面具有小突起。复合盘状骨片是仿刺参管足所特有的骨片,其形状近似圆形,为多层网状,由许多小骨片组成,具有突起,附着扣形体和桌形体(图 3F)。

3 讨论

3.1 实验方法

国内外学者对于海参骨片形态学研究通常采用 NaClO 法、NaOH 法、蛋白酶法,本研究采用 NaClO 法和原位压片法。通过比较 NaClO 法和原位压片法两种实验方法发现,原位压片法具有制样简单,骨片不易碎,结构较完整,以及能显示出骨片在组织中的分布状态等优点,同时具有制作的骨片标本观察不够清晰的缺点,原位压片法是一种适于观察骨片完整结构的方法,推荐使用原位压片法观察骨片。NaClO 法能观察到较干净的骨片,但骨片损坏、结构不完整。所以本研究在对不同年龄仿刺参各组织骨片类型进行分析时采取原位压片法,使能观察到较完整的骨片,而电镜扫描法前期处理采用 NaClO 法。

3.2 仿刺参各组织中骨片类型分析

研究仿刺参不同组织的骨片类型发现,不同组

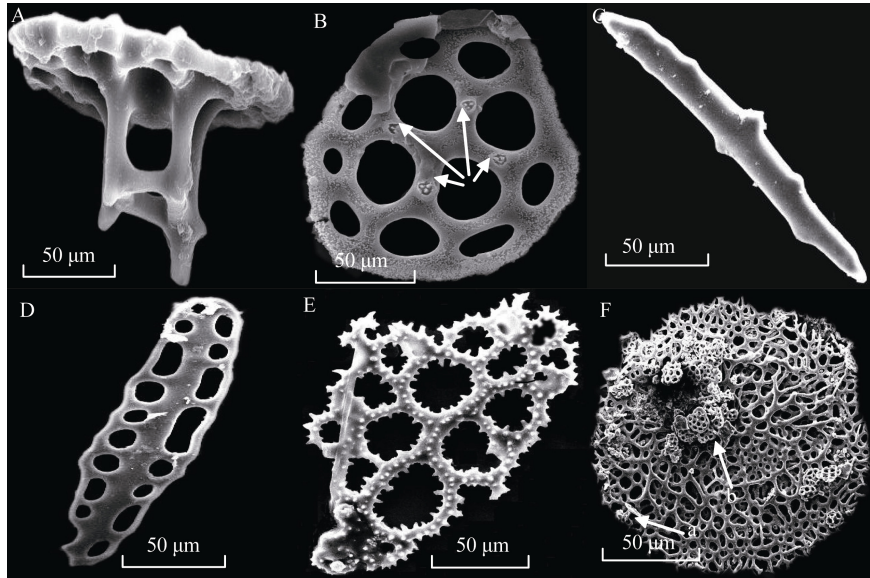


图3 不同类型骨片的扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscopy images of different types of ossicles

A. 桌形体; B. 扣形体; C. 杆状体; D. 长孔状体; E. 花纹状体; F. 复合盘状骨片
a. 桌形体; b. 扣形体

A. table-shaped ossicles; B. button-shaped ossicles; C. rod-shaped ossicles; D. long hole-like body ossicles; E. rosste-shaped ossicles; F. composite discoid ossicles
a. table-shaped ossicles; b. button-shaped ossicles

织间骨片类型具有差异性,例如,管足中存在独特的复合盘状骨片;肠和呼吸树中存在花纹状体;纵肌中不含有任何类型骨片;另外,在3龄仿刺参肠和呼吸树中发现了C形体,而通常认为仿刺参中不存在C形体骨片^[9]。陈建伟等^[14]同时比较了海参背脊部、腹部、触手、口部和肛门部骨片的特征,结果表明,海参不同部位骨片类型存在明显不同,例如,背部多为扣形体,触手多为杆状体骨片,与本研究结果有相同之处。进一步比较不同组织中相同类型骨片发现,仿刺参不同组织中相同类型骨片的形态结构一致,无组织特异性,如管足和体壁中的桌形体骨片形态结构一致。Delboni^[15]研究了 *Synaptula hydriformis* 海参的骨片生长,并记录了锚形体等骨片类型的生长变化过程。本研究发现扣形体一面存在4个突起痕迹,推测为桌形体退化形成,是否能作为仿刺参骨片间类型转化依据还有待进一步探索。本研究为仿刺参的基础生物学研究提供资料。

3.3 不同年龄仿刺参不同组织各骨片相对比例分析

国外学者 Rowe^[16]认为海参骨片类型的进化过程是由简单到复杂,例如由杆状体和花纹状体进化到桌形体和扣形体,Levin的结论与之相反,认为骨

片进化过程是由复杂到简单。本研究发现随着仿刺参年龄的增长发现,不同年龄仿刺参不同组织各类型骨片的比例是动态变化的,例如,桌形体骨片的“桌腿”消失;1龄仿刺参体壁、触手中桌形体的含量高于管足和棘,但到了2龄、3龄,管足和棘中的桌形体的含量高于体壁和触手。这种变化造成不同年龄仿刺参不同组织中各类型骨片的相对比例存在差异。对于桌形体骨片,1龄、2龄、3龄仿刺参触手间桌形体骨片相对比例存在显著差异性($P < 0.05$)。对于扣形体骨片,2龄仿刺参棘中扣形体骨片相对比例显著低于1龄和3龄仿刺参棘中扣形体相对比例($P < 0.05$)。通过仿刺参各组织不同类型骨片相对比例综合分析,可为仿刺参的年龄判断提供参考。

参考文献:

- [1] 常亚青,隋锡林,李俊. 刺参增养殖业现状、存在问题与展望[J]. 水产科学, 2006, 25(4): 198-201.
- [2] 董颖,高杉,陈仲,等. 仿刺参 profilin 基因全长 cDNA 的克隆及表达分析[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(2): 159-167.
- [3] 杜慧霞. 仿刺参(*Apostichopus japonicus*)转录组分析与遗传图谱构建[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [4] 鄢婧婧. 仿刺参(*Apostichopus japonicus*)分子标记开

- 发及应用[D].青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [5] 彭薇. 仿刺参 (*Apostichopus japonicus*) 微卫星标记的开发及应用[D].青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [6] 臧云鹏. 仿刺参微卫星 DNA 标记的筛选与应用及性别差异研究初探[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- [7] 马得友. 基于高通量测序的刺参白化机理和白参子代体色分离表征研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2013.
- [8] 常亚青, 宋坚, 丁君, 等. 海参、海胆生物学研究与养殖[M]. 北京: 海洋出版社, 2004: 107-110.
- [9] 廖玉麟. 中国动物志·棘皮动物门·海参纲[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [10] Massin C, Mercier A, Hamel J F. Ossicle change in *Holothuria scabra* with a discussion of ossicle evolution within the Holothuriidae (Echinodermata)[J]. Acta Zoologica (Stockholm), 2000, 81: 77-91.
- [11] Richard Rasolofonirina and Michel Jangoux. Appearance and development of skeletal structures in *Holothuria scabra* larvae and epibiont juveniles[J]. SPC Beche-de-mer Information Bulletin, 2005, 12: 6-11.
- [12] 李赞, 费来华, 陈家鑫, 等. 十五种海参骨片的形态学研究[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38: 211-216.
- [13] 文菁, 张吕平, 胡超群, 等. 中国热带 6 种海参骨片的种类和形态研究[J]. 海洋学报, 2009, 31(2): 139-145.
- [14] 陈建伟, 李平, 王春根, 等. 市售海参类药材的品种鉴定[J]. 中国中医药杂志, 2002, 27 (4) : 250-253.
- [15] Delboni C. Description of calcareous structures of the apoda holothurian *Synaptula hydriformis* (Lesueur 1824)[J]. SPC Beche de Mer Information Bulletin, 2008, 27: 13-15.
- [16] Kerr M A, Janles A D, Clouse M R, et al . Molecular phylogeny of coral reef sea cucumbers(Holothuriidae: Aspidochirota) based on 16S mitochondrial ribosomal DNA sequence[J]. Marine Biotechnology, 2005, 7: 53-60 .

Classification and morphology of ossicles of Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)

ZHANG Li-heng, DING Jun, HAN Zhao-heng, CHANG Ya-qing, SONG Jian, TIAN ying, BAI Xue-qiu, DING Wen-jun

(Dalian Ocean University, Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's sea, Ministry of Agriculture, Dalian 116023, China)

Received: Jul., 7, 2014

Key words: sea cucumber (*Apostichopus japonicus*); ossicle; morphology

Abstract: In this study, the sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*) cultivated by Dalian Ocean University, Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture, with clear ages (1~3 years old) were used as experimental materials. The proportions of various types of ossicles in different tissues including spine, body wall, tentacle, tube feet, longitudinal muscle, respiratory tree and intestine were obtained and analyzed with in-situ compression method. The results showed that in-situ compression method was superior to NaClO method. The in-situ compression method created less damage to the structure of ossicles. And the distribution of ossicles can be observed clearly by this method. Six types of ossicles, including table-shaped ossicles, button-shaped ossicles, rod-shaped ossicles, rosste-shaped ossicles, composite discoid ossicles and long hole-like body ossicles were observed. The button-shaped ossicles and table-shaped ossicles were observed in body wall; the button-shaped ossicles, table-shaped ossicles and rod-shaped ossicles were observed in spine and tentacle; unique composite discoid ossicles, button-shaped ossicles, and table-shaped ossicles were observed in tube foot;

rod-shaped ossicles were observed in respiratory tree and intestine; no ossicles were observed in longitudinal muscle. The structures of the same type ossicles in different tissues were same. There is no specific structure in different organizations. Furthermore the proportions of different types or ages were different in the same tissue, the proportion of table-shaped ossicles in the tentacle of *A. japonicus*(1, 2 and 3 years old) was 11.55% ±2.69%, 20.76%±2.34% and 3.75%±0.72%, respectively. The proportion of table-shaped ossicles in the tentacle of 2 years old *A. japonicus* was significantly higher than that of table-shaped ossicles in the tentacle of 1 and 3 years old ($P < 0.05$). The proportion of button-shaped ossicles in the spine was 92.55%±1.98%, 65.45%±1.79% and 88.36%±3.08%, respectively. The proportion of button-shaped ossicles in the spine of 2 years old *A. japonicus* was significantly lower than that of button-shaped ossicles in the spine of 1 and 3 years old ($P < 0.05$). This research provided information for basic biological research of sea cucumber, and also a reference for identification of sea cucumber ages.

(本文编辑: 梁德海)