

曼氏无针乌贼内脏及缠卵腺组织学研究

朱成功, 姜斌, 张峰, 王杰, 杨陈, 郑利兵, 迟长风*

(浙江海洋大学海洋科学与技术学院, 国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 海洋生物种质发掘与利用国家地方联合实验室, 浙江舟山 316022)

摘要 为详细了解曼氏无针乌贼的内脏和缠卵腺的组织学结构, 采用组织学技术对曼氏无针乌贼的肠、肝、胰、胃、缠卵腺进行了显微观察, 阐述了各个器官的组织学结构。观察结果表明, 肠较短, 肠壁由黏膜层、黏膜下层和肌层构成; 黏膜层主要由单层柱状上皮细胞组成, 黏膜下层肌纤维丰富, 毛细血管较少, 肌层较薄; 肝脏由若干肝小叶构成, 每一肝小叶由外缘的胚细胞和内部的腺细胞围成; 胃较圆, 胃壁肌肉层较厚, 纤毛细胞丰富; 胰脏由一颗颗松散的黄色小颗粒构成, 细胞主要有胚细胞和分泌细胞; 缠卵腺则呈“书页状”, 各叶瓣分泌的分泌物充斥着缠卵腺的空腔。该研究结果丰富了头足类繁殖生物学研究的资料, 为曼氏无针乌贼人工繁育提供了一定的理论参考。

关键词 曼氏无针乌贼; 内脏; 缠卵腺; 组织学

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)12-0095-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.12.027



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Histology Study on Viscera and Nidamental Gland of *Sepiella japonica*

ZHU Cheng-gong, JIANG Bin, ZHANG Feng et al (National and Provincial Joint Laboratory of Exploration and Utilization of Marine Aquatic Genetic Resources, National Engineering Research Center of Marine Facilities Aquaculture, School of Marine Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022)

Abstract In order to understand the histological structure of viscera and nidamental gland of *Sepiella japonica*, the intestine, liver, pancreas, stomach and nidamental gland of *S. japonica* were observed by histological technique, and the histological structure of each organ was described. The results show that the intestine is short and its wall consists of mucosa, submucosa and muscular layer. The submucosa is mainly composed of monolayer columnar epithelial cells. The submucosa is rich in muscle fibers, with fewer capillaries and thinner muscular layer. The liver is composed of several hepatic lobules, each of which is surrounded by embryonic cells at the outer edge and glandular cells at the inner edge. The stomach is round, the muscle layer of the stomach wall is thick, and the cilia are rich. The pancreas is composed of loose yellow particles. The cells are mainly embryonic cells and secretory cells. The nidamental gland looks like “book pages” and the secretions of each leaf valve filled in the cavity of the nidamental gland. This study enriched the cephalopods reproductive biology research data and might provide certain theoretical reference for *S. japonica* artificial breeding.

Key words *Sepiella japonica*; Viscera; Nidamental gland; Histology

曼氏无针乌贼(*Sepiella japonica*)是我国沿海地区重要的经济头足类, 分布区域从香港南部一直到韩国北部和日本西部。它曾经是这些地区收获的主要4种头足类物种之一^[1]。20世纪70年代末, 由于渔业的过度捕捞和生态环境的持续恶化, 曼氏无针乌贼产量急剧下降。21世纪初, 随着曼氏无针乌贼人工育苗技术被突破, 浙江和福建等地已经进行规模化人工育苗和增殖放流^[2]。目前, 国内对于曼氏无针乌贼的研究主要集中在繁育生殖等方面^[3]。迄今为止, 鲜见有关曼氏无针乌贼内脏器官肠、肝、胃、胰研究的报道, 该研究在组织学水平上对曼氏无针乌贼雌性的肠、肝、胃、胰、缠卵腺结构进行详细的显微观察, 以期丰富头足类繁殖生物学资料, 为曼氏无针乌贼人工繁育提供一定的理论参考。

1 材料与方

1.1 材料 试验所用乌贼取自浙江省海洋水产研究所西轩岛乌贼养殖基地, 胴长7.0~9.5 cm, 体重55.7~101.5 g, 曼氏无针乌贼处于繁殖产卵期。

1.2 方法 活体解剖出雌性曼氏无针乌贼的肠、肝、胃、胰、

缠卵腺组织, 切成0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm的小方块^[4], 放入Bouin固定液固定24 h, 保存于4℃冰箱中。经系列乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 切片连续切片(厚度7 μm), 再经H.E染色和中性树胶封片, 采用Leica-DMiL型显微镜观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 肠的组织学结构 如图1所示, 曼氏无针乌贼肠较短, 为一直管, 没有盘曲, 与其食性为肉食性相一致。肠吸收表面积大, 肠黏膜向肠腔褶入许多隆起, 上密布指状绒毛, 绒毛上皮和褶上密布微绒毛, 为上皮细胞游离面细胞膜形成的指状突起(图1B、C)。肠壁的组织学构造分为黏膜层、黏膜下层和肌层。肌层由内层的纵行肌和外层的环形肌组成(图1D)。

2.2 肝的组织学结构 如图2所示, 观察到曼氏无针乌贼肝脏为呈狭长、弥散分布的腺体(图2A)。腺体的边缘处具较薄的浆膜, 浆膜由单层扁平上皮和结缔组织构成。浆膜下外层肝细胞排列较为紧密, 清晰可见中央静脉和脂肪滴空泡。靠近肝脏边缘处, 肝细胞出现一块极为紧密的团块状肝细胞团, 内层肝细胞排列不规则, 细胞核被染成蓝色(图2B)。

2.3 胃的组织学结构 如图3所示, 曼氏无针乌贼的胃位于口腔下面, 下部与肠相连, 通过对组织切片的观察, 可以清晰地观察到曼氏无针乌贼的胃壁由肌层、黏膜层、结缔组织、黏膜层组成(图3A)。还可以清晰地观察到胃壁里排列紧密的柱状上皮细胞的细胞核, 柱状上皮细胞的细胞核较大且呈椭

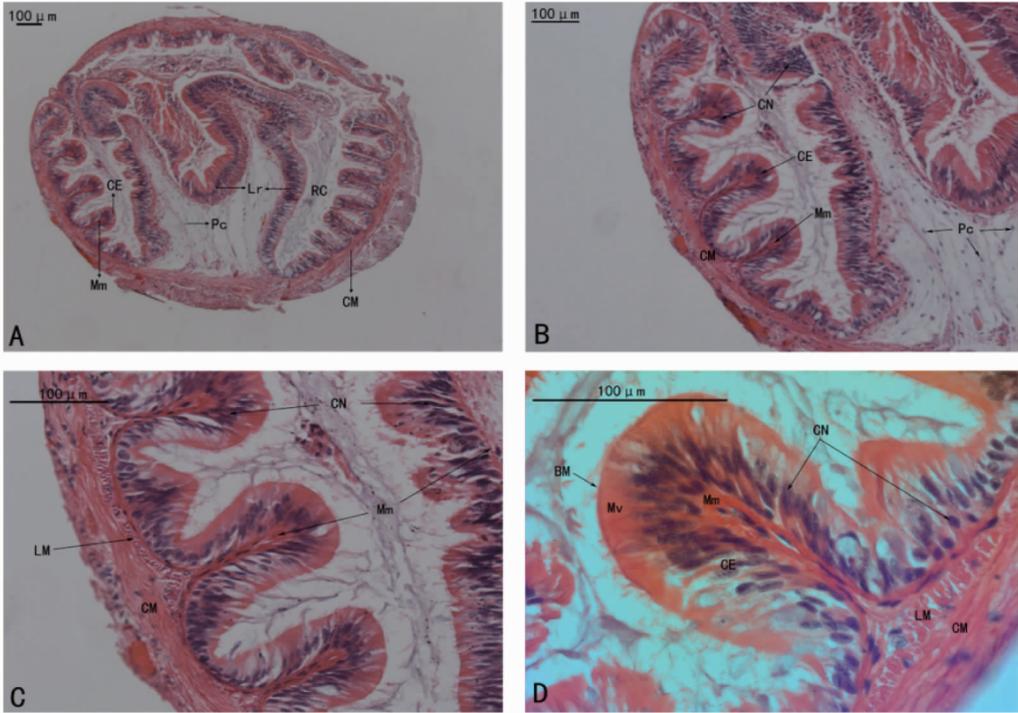
基金项目 国家自然科学基金项目(31872547); 浙江省自然科学基金项目(LY20C190007); 国家级大学生创新训练项目(201810340001)。

作者简介 朱成功(1996—), 男, 安徽宿州人, 硕士研究生, 研究方向: 海洋生物学。*通信作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事海洋生物种质资源的开发与利用研究。

收稿日期 2019-12-23; **修回日期** 2020-01-23

圆状。而结缔组织里分布着比较松散的细胞的细胞核,该细

胞核相较柱状上皮细胞的细胞核较小(图 3D)。

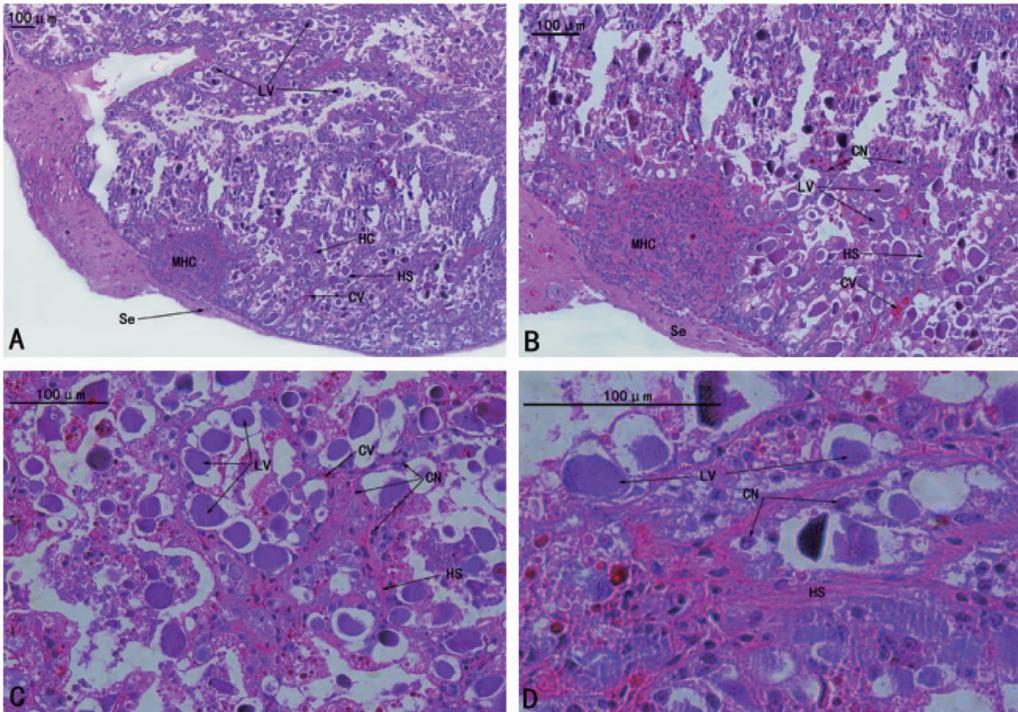


注:CE.柱状上皮细胞;CN.细胞核;Mm.黏膜层;Pc.游走细胞;RC.直肠肠腔;Mv.微绒毛;CM.环肌;LM.纵肌;BM.基膜;Lr.长嵴

Note:CE.Columnar epithelium;CN.Cell nucleus;Mm.Mucosal folds;Pc.Wandering cells;RC.Rectal cavity;Mv.Microvilli;CM.Circular muscle;LM.Longitudinal muscle;BM.Basement membranae;Lr.Long ridge

图 1 曼氏无针乌贼肠 H.E

Fig.1 H.E staining of the intestine of *S.japonica*



注:LV.脂肪滴空泡;HS.肝血窦;HC.肝细胞;CV.中央静脉;MHC.肝细胞团;Se.浆膜层;CN.细胞核

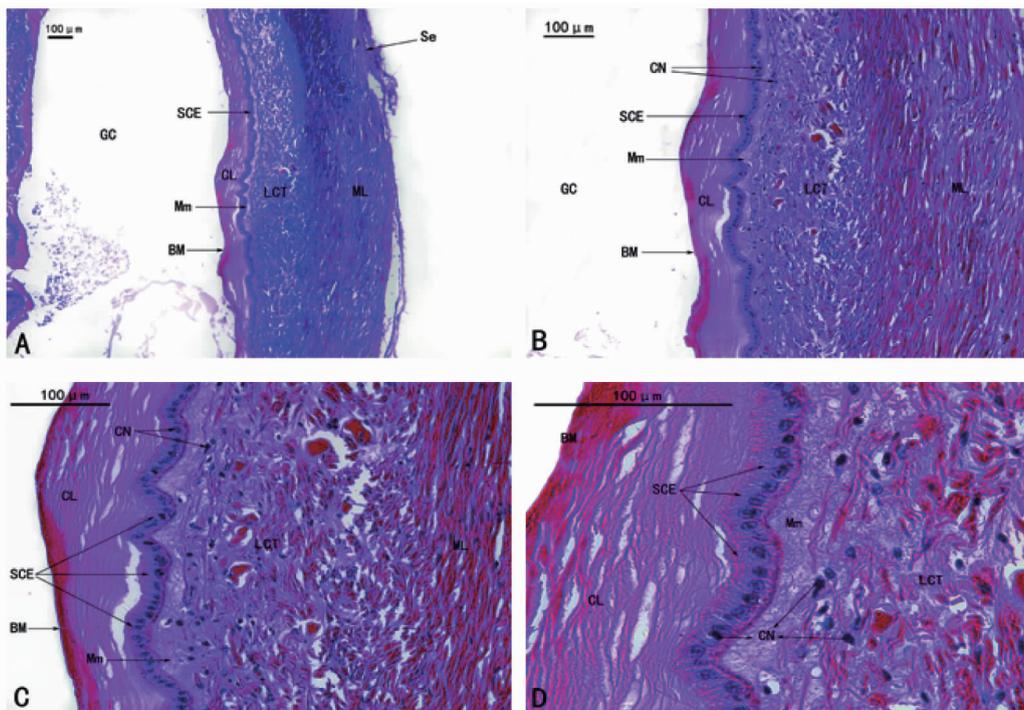
Note:LV.Lipid vacuoles;HS.Hepatic sinus;HC.Hepatic cell;CV.Central vein;MHC.Mass hepatocyte cell;Se.Serosal layer;CN.Cell nucleus

图 2 曼氏无针乌贼肝 H.E

Fig.2 H.E staining of the liver of *S.japonica*

2.4 胰脏的组织学结构 如图 4 所示,曼氏无针乌贼的胰脏比较发达,为一独立的致密型器官,由若干小块状分叶的腺组织构成(图 4A)。胰腺表面包有由结缔组织构成的一薄层

被膜,被膜深入实质将其分为若干小叶。因小叶间结缔组织不发达,所以界限不明显。胰腺实质分为两部分,即外分泌部和内分泌部。内分泌部分散于腺泡之间的胰岛。胰岛染色较

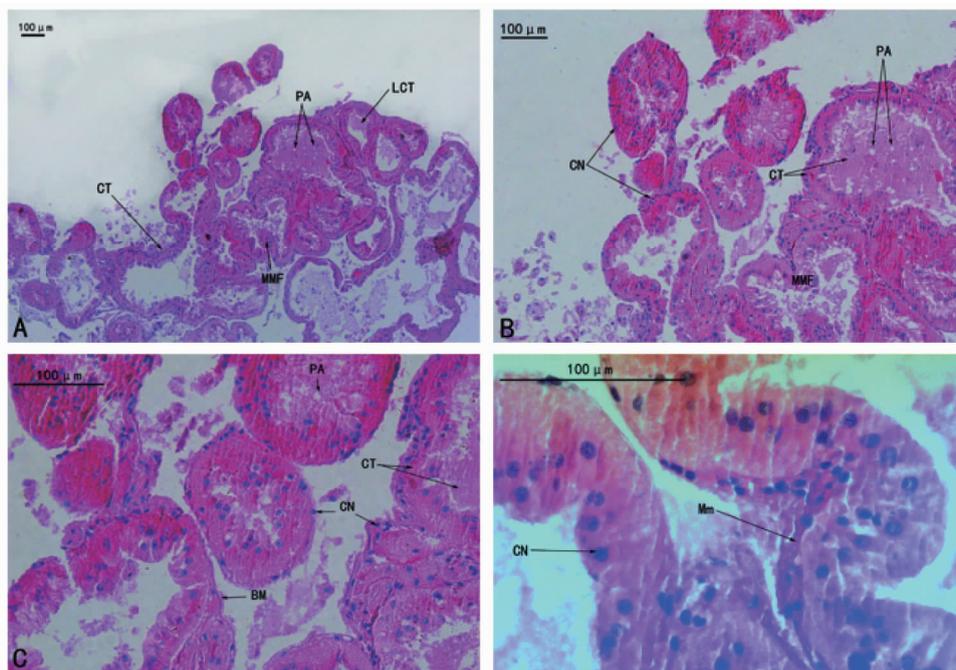


注:GC.胃腔;SCE.单层柱状上皮细胞;CL.纤毛层;Mm.黏膜层;BM.基膜;LCT.疏松结缔组织;ML.肌层;Se.浆膜层;CN.细胞核

Note:GC.Gastric cavity;SCE.Simple columnar epithelium;CL.Cilia lager;Mm.Mucosal layer;BM.Basement membranae;LCT.Loose connective tissue;ML.Muscle layer;Se.Serosal layer;CN.Cell nucleus

图 3 曼氏无针乌贼胃 H.E

Fig.3 H.E staining of the stomach of *S.japonica*



注:PA.胰腺腺泡;CT.结缔组织层;LCT.疏松结缔组织;MMF.黏膜皱褶;BM.基膜;CN.细胞核

Note:PA.Pancreatic acinus;CT.Connective tissue;LCT.Loose connective tissue;MMF.Mucosal folds;BM.Basement membranae;CN.Cell nucleus

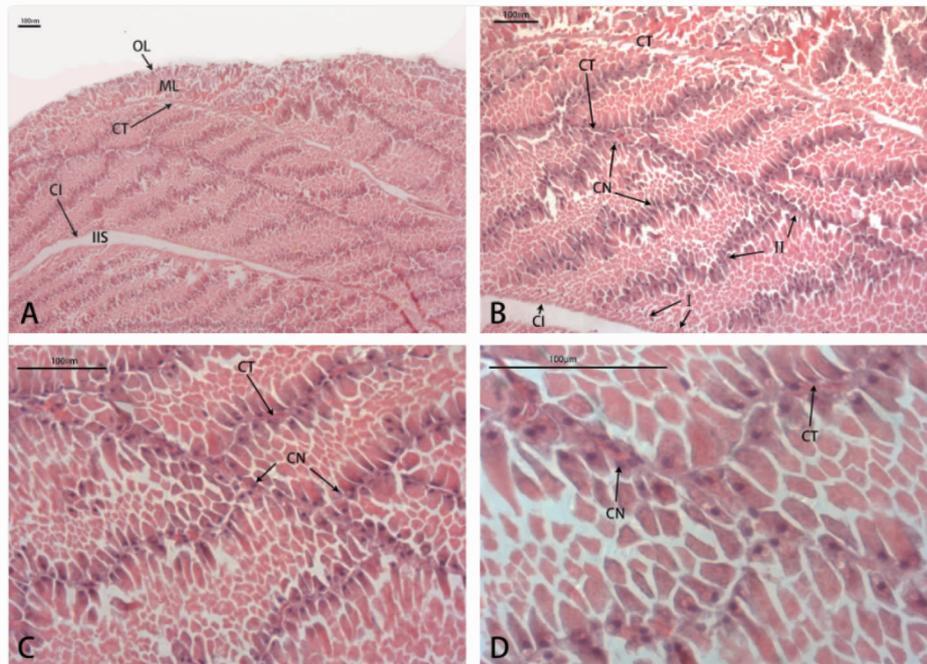
图 4 曼氏无针乌贼胰脏 H.E

Fig.4 H.E staining of pancreas of *S.japonica*

浅,圆形或卵圆形,大小不一且与腺泡之间分界明显,由一薄层结缔组织分隔开(图4B)。图中深蓝色的为结缔组织细胞的细胞核。腺泡细胞位于腺泡腔面,核圆形位于基底部。

2.5 缠卵腺的组织学结构 如图5所示,缠卵腺壁由三部分

构成,分别是内外上皮组织、肌纤维和结缔组织。内层纤毛上皮与结缔组织一起向腺腔内凸出从而构成了分泌叶瓣,各叶瓣间平行排列,且彼此长度不同,叶瓣的外围有较致密的纤毛。肌层为平滑肌,约为四五层,主要为环肌。



注:OL.外膜层;ML.肌层;CT.结缔组织;CI.纤毛 Cilia;IIS.瓣间区;CN.细胞核;I.I型细胞;II.II型细胞

Note:OL.Adventitia;ML.Muscle layer;CT.Connective tissue;CI.Cilia;IIS.Intervalvular zone;CN.Cell nucleus;I.Type I cells;II.Type II cells

图5 曼氏无针乌贼缠卵腺 H.E

Fig.5 H.E staining of nidamental gland of *S.japonica*

3 讨论

曼氏无针乌贼的肠、肝、胰、胃都参与食物的消化与吸收。肝可分泌酶进入胃中,进行消化作用。胰位于肝脏旁,分泌淀粉酶和蛋白酶流入胃中^[5]。胃位于内脏团的顶端,呈豆状,胃的环肌层特别发达,内壁有很厚的护膜,其细胞也相当发达,主要有胃肌细胞和分泌性细胞,分泌细胞多带有纤毛,有助于分泌相关的消化类物质和机械挪动,这与长蛸(*Octopus variabilis*)^[6-7]和短蛸(*Octopus socellatus*)^[8]的胃结构极其相似,胃壁肌层都极厚且胃内壁有皱褶和长脊,这一结构在很大程度上增加了吸收面积。

曼氏无针乌贼无晶杆囊组织结构。而据报道大部分瓣鳃纲动物存在晶杆囊,且其或与肠分离或在基部连接,如紫贻贝(*Mytilus edulis*)^[9]、长竹蛸(*Solen Gouldi*)^[10]和海湾扇贝(*Argopecten irradians*)^[11]。然而,同为瓣鳃纲的背角无齿蚌(*Anodonta woodiana*)^[12]和腹足纲的脉红螺(*Rapana venosa*)^[13]却无晶杆囊组织。由此可以看出,滤食性软体动物的瓣鳃纲晶杆囊组织的有无存在一定的物种差异性,而腹足纲则无晶杆囊组织。肉食性的长蛸、短蛸和该文研究的曼氏无针乌贼也无此结构,这一特点与食性具有密切关系,晶杆的旋转可对胃内大的食物颗粒进行研磨,而部分瓣鳃纲动物以及腹足纲动物、肉食性动物的胃本身具有强大的研磨能力,不再需要晶杆的辅助。

曼氏无针乌贼的肠较粗短,自幽门口笔直前伸,稍作弯曲,后末端为直肠,以肛门开口于外套腔,漏斗基部后方。而瓣鳃纲、双壳纲等软体动物的肠均较长,一般可分前、中、后三部分,如三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)^[14]、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)^[15]和皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)^[16-17]。而曼氏无针乌贼的肠较短,主要起吸收作用,肠内多皱褶,很好地扩大了其吸收食物的表面积,肠中还有条特别长的长嵴,占了肠的大部分空间,这可能使食物在肠中停留更长时间。肠中的柱状细胞表面有密集的微绒毛,主要起食物消化、吸收作用。

软体动物门瓣鳃纲和腹足纲动物的肝脏具有多重功能,除具有分泌作用外,食物的吸收主要发生在肝脏中^[18]。曼氏无针乌贼肝脏中有腺细胞和胚细胞,这和崔龙波等^[19]报道的大连湾牡蛎(*Ostrea gigas thunberg*)和Owen^[20]报道的乌蛤(*Cardium edule*)肝脏中的细胞类型不同。曼氏无针乌贼肝脏中脂肪滴空泡的形态与陈慕雁等^[21]描述的大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)成鱼肝细胞贮存了大量的肝糖原以致逐渐空泡化类似。曼氏无针乌贼的胰脏也仅有一种腺细胞,推断其应该分泌相关的水解酶类,和肝脏一同将其汇入导管并最终流入盲囊。此外,胰脏细胞游离端有密集的微绒毛,提示该细胞可能与某种或者某些物质的吸收、转运有关。

符方尧等^[22]首次发表了关于曼氏无针乌贼缠卵腺的初

步研究,观察到缠卵腺外包有韧性结缔质皮膜,内部分为数瓣的中空室状构造,与王津伟等^[23]报道的曼氏无针乌贼缠卵腺呈中空室状,分为数瓣的结构类似。该研究通过观察曼氏无针乌贼的缠卵腺,发现其与金乌贼(*Sepia esculenta*)^[24]的缠卵腺结构相似,都呈“书页状”。缠卵腺内许多分泌叶瓣平行排列组成“书页状”腺体,分泌叶瓣上的分泌细胞将分泌物排到各个分泌叶瓣间隙,之后通过导管排出缠卵腺。这种腺体结构充分利用了腺体的空间体积,增大了分泌面积^[23]。Klussmann-Kolb^[25]在研究腹足纲物种拟捻螺(*Acteocina atrata*)的缠卵腺时发现其缠卵腺由许多小的分泌小瓣组成,对拟捻螺进行超微结构观察,发现拟捻螺分泌细胞的细胞核较大且表面长有纤毛,这与曼氏无针乌贼的缠卵腺结构相似。I型细胞和II型细胞存在于曼氏无针乌贼缠卵腺叶瓣上皮中,并分别位于叶瓣的外围和基部。I型细胞靠近管道内壁的一侧生有丰富的纤毛,这与其分泌功能有关。曼氏无针乌贼的缠卵腺是成对存在的,成熟后缠卵腺较大,呈扁平状卵圆形乳白色。曼氏无针乌贼的分泌细胞上有丰富的内质网和线粒体,且在胞质内存在大量的囊泡和分泌颗粒,说明缠卵腺是一种典型的分泌腺体^[23]。曼氏无针乌贼缠卵腺腔中含有丰富的糖蛋白,但是关于曼氏无针乌贼缠卵腺分泌物基本组成成分的研究国内还没有。汪彩进等^[26]报道了阿根廷鱿鱼(*Illex argentinus*)缠卵腺的水分含量为73.39%、粗蛋白干重含量为60.39%、粗脂肪含量为3.13%。戴宏杰等^[27]报道了虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)缠卵腺中的水分含量为73.27%、粗蛋白含量为18.40%、粗脂肪含量为0.16%。刘长琳等^[28]报道了野生金乌贼缠卵腺中的水分含量为65.75%、粗蛋白含量为28.31%、粗脂肪含量为2.04%。不论是阿根廷鱿鱼还是虎斑乌贼或者金乌贼,其缠卵腺都具有高蛋白、低脂肪的特点。Shigeru等^[29]对阿根廷鱿鱼缠卵腺分泌的黏性物质进行了深入研究,发现一种特殊的海洋黏蛋白,具有黏度大、保水性好等特点,可作为化妆品的成分。阿根廷滑柔鱼产出的卵被包裹一层易碎的凝胶状外膜,这层膜是由缠卵腺分泌的黏性物质形成的。缠卵腺分泌的黏液物质主要成分是水溶性物质、盐溶性物质和不溶性物质,其中盐溶性物质是具有很大分子量的蛋白型复合物。目前,从海蜇(*Rhopilema esculentum*)^[30]、蛤蜊(*Ruditapes philippinarum*)^[31]、海马(*Hippocampus kuda*)^[32]和牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[33-34]等中提取的糖蛋白具有显著的抗氧化、抗肿瘤、抗疲劳、调节免疫力等生物活性。陈淑敏等^[35]研究了曼氏无针乌贼缠卵腺中糖蛋白的抗菌活性,发现其对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌都具有强烈的抑菌作用,具有广谱性,可作为一种生物防腐剂。

参考文献

- [1] LÜ Z M, LIU W, LIU L Q, et al. De novo assembly and comparison of the ovarian transcriptomes of the common Chinese cuttlefish (*Sepiella japonica*) with different gonadal development [J]. Genomics data, 2016, 7: 155-158.
- [2] 史会来, 张涛, 平洪领, 等. 曼氏无针乌贼规模化人工繁育及增殖放流技术探讨[J]. 科学养鱼, 2015(12): 44-46.
- [3] 叶素兰, 王健鑫, 吴常文. 曼氏无针乌贼雄性生殖系统的组织学研究[J]. 浙江海洋大学学报(自然科学版), 2007, 26(4): 371-377.
- [4] 罗江, 蒋霞敏, 彭瑞冰, 等. 拟目乌贼生殖系统的组织学研究[J]. 水产学报, 2014, 38(7): 946-955.
- [5] 陆伟进. 曼氏无针乌贼消化系统组织细胞学和酶化学的研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2012.
- [6] 崔龙波, 赵华. 长蛸消化道的组织学与组织化学研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2000, 13(4): 277-281.
- [7] 崔龙波, 赵华. 长蛸唾液腺和消化腺的组织学与组织化学研究[J]. 海洋科学, 2001, 25(7): 38-41.
- [8] 王宜艳, 孙虎山, 刘玉生, 等. 短蛸消化系统粘液细胞的类型与分布[J]. 鲁东大学学报(自然科学版), 2007, 23(1): 76-79.
- [9] 崔龙波, 马圣媛, 刘萍, 等. 紫贻贝消化系统的组织学和组织化学研究[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(4): 316-321.
- [10] 崔龙波, 周加敏, 陆瑶华. 长竹蛏消化系统的组织学和组织化学研究[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(2): 17-21.
- [11] 王宜艳, 孙虎山, 孙修勤, 等. 海湾扇贝消化系统粘液细胞的类型与分布[J]. 中国水产科学, 2003, 10(3): 254-257.
- [12] 涂序堂. 背角无齿蚌消化系统的组织解剖学研究[J]. 江西教育学院学报, 1994, 15(5): 52-56.
- [13] 侯林, 程济民, 侯圣陶, 等. 脉红螺消化系统的形态学研究[J]. 动物学报, 1991, 37(1): 7-15.
- [14] 王文, 杜开和, 王福明. 三角帆蚌消化系统的组织学研究及其胃肠在饥饿状态下的变化[J]. 南京师大学报(自然科学版), 1995, 18(4): 134-138.
- [15] 许星鸿, 郑家声. 缢蛏消化盲囊的组织学与组织化学[J]. 水产学报, 2003, 27(3): 225-232.
- [16] 崔龙波, 刘传琳, 刘迅, 等. 皱纹盘鲍唾囊和胃的超微结构与功能[J]. 水产学报, 2000, 24(1): 7-10.
- [17] 崔龙波, 房晶, 周雪莹. 菲律宾蛤仔消化系统的组织学和组织化学研究[J]. 黄渤海海洋, 2001, 19(2): 65-70.
- [18] 蔡英亚, 张英, 魏若飞. 贝类学概论(修订版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.
- [19] 崔龙波, 王延波, 马圣媛, 等. 大连湾牡蛎消化系统的组织学和组织化学研究[C]//中国动物学会. 中国动物科学研究——中国动物学会第十四届会员代表大会及中国动物学会65周年年会论文集. 北京: 中国林业出版社, 1999.
- [20] OWEN G. The fine structure of the digestive tubules of the marine bivalve *Cardium edule* [J]. Philosophical transactions of the royal society of London, 1970, 258(822): 245-260.
- [21] 陈慕雁, 张秀梅. 大菱鲆仔稚幼鱼消化系统发育的组织学研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(2): 236-240.
- [22] 符方尧, 蒋霞敏, 柳敬海. 曼氏无针乌贼的药用价值及其人工养殖[J]. 中国水产, 2005(12): 26-27.
- [23] 王津伟, 王春琳, 余红卫. 曼氏无针乌贼缠卵腺组织学及超微结构的研究[J]. 水产科学, 2010, 29(2): 87-90.
- [24] 尹亚南. 金乌贼生殖系统结构特征和卵子发生的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- [25] KLUSSMANN-KOLB A. Comparative investigation of the genital systems in the Opisthobranchia (Mollusca, Gastropoda) with special emphasis on the nidamental glandular system [J]. Zoomorphology, 2001, 120(4): 215-235.
- [26] 汪彩进, 吴鹏, 徐长安, 等. 雌性阿根廷鱿鱼生殖腺营养成分分析及评价[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 231-236.
- [27] 戴宏杰, 孙玉林, 冯梓欣, 等. 雌性虎斑乌贼缠卵腺营养成分分析及评价[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 97-103.
- [28] 刘长琳, 葛建龙, 陈四清, 等. 野生金乌贼缠卵腺的营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2018, 40(4): 412-414.
- [29] SHIGERU K, YOKO S, HARUO M. Occurrence of a mucin-type glycoprotein in nidamental gland mucosubstance from the squid *Illex argentinus* [J]. Fisheries science, 1994, 60(2): 193-197.
- [30] 任国艳, 李八方, 赵雪, 等. 海蜇头糖蛋白超声辅助提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 255-259.
- [31] 郁迪, 杨永芳, 王加斌, 等. 菲律宾蛤仔糖蛋白提取及体外抗肿瘤活性研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2011, 30(4): 336-339.
- [32] 徐永健, 宿宇婷, 葛晓鸣, 等. 海蜇蛋白结构的初步鉴定及其抗氧化特性分析[J]. 中国海洋药物, 2017, 36(6): 39-46.
- [33] 黄来珍, 钟敏, 胡雪琼, 等. 不同方式提取的近江牡蛎糖蛋白的体外抗氧化活性[J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(3): 95-98.
- [34] 冯晓梅, 韩玉谦, 赵志强, 等. 牡蛎中糖蛋白成分的分离纯化及其性质研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4): 709-712.
- [35] 陈淑敏, 张玉琦, 龚芳芳, 等. 曼氏无针乌贼缠卵腺抗菌糖蛋白提取工艺优化[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(10): 1799-1806.