

紫贻贝消化系统的组织学和组织化学研究

崔龙波 马圣媛 刘萍 王明娟 王延波

(烟台大学生化系, 264005)

摘要 对紫贻贝消化系统进行了组织学和组织化学研究。紫贻贝消化系统由消化腺——肝胰腺和消化道——食道、胃(包括晶杆囊)、肠和直肠组成。消化腺为复管腺,腺上皮有消化细胞和嗜碱性细胞两种类型。消化道管壁由粘膜层、粘膜下层和外膜组成,无肌层。粘膜上皮主要为单层柱状纤毛细胞。组织化学研究表明:消化腺嗜碱性细胞富含蛋白质和RNA,消化细胞富含脂类和多种酶类:蛋白酶、非特异性酯酶、脂酶、酸性磷酸酶及碱性磷酸酶。消化道中酶的种类及活性低于消化腺。

关键词 紫贻贝, 消化系统, 组织学, 组织化学

中图分类号 S917

紫贻贝(*Mytilus edulis* Linnaeus)俗名海红,它的干制品叫淡菜,其肉味鲜美,营养价值很高,肉亦可入中药,为著名的海产品,在我国黄、渤海一带为主要养殖贝类。迄今,国外学者对其消化系统的大体解剖已作过描述[Bullough 1958, Dales 1981],但未见组织学特别是系统的组织化学研究的报道。本文对紫贻贝消化系统的组织学和组织化学进行了较为详细的研究,讨论其结构与功能的关系,以期对紫贻贝的消化生理研究提出理论依据,同时为其人工养殖提供必要的参考资料。

1 材料和方法

新鲜紫贻贝40只,取自烟台海滨。紫贻贝壳高约24~35mm,长约40~59mm,打开壳后即取出消化系统各部位。

组织学方法。新鲜组织块经 Bouin 氏或 Zenker 氏液固定,石蜡包埋,连续切片,苏木精—伊红(H. E)染色。

组织化学方法:①石蜡包埋切片的组化方法。组织块经固定后,石蜡包埋,切片厚约4~8 μm ,进行如下组化研究(表1)。②冰冻切片的组化方法。新鲜组织块直接在恒冷冰冻切片机上切片,切片厚6~10 μm 。进行如下组化研究(表1)。

2 结果

紫贻贝的消化系统由消化道和消化腺组成,前者又包括食道、胃和晶杆囊、肠以及直肠。

表1 组织化学研究方法
Tab. 1 The methods of histochemical study

方 法	显 示 成 分	固 定 液
PAS 反应	多糖	Bouin 氏液或 Zenker 氏液
PAS 反应/唾液作用	糖原	Carnoy 氏液
Alcian 蓝-PAS 反应(AB/PAS 法)	中、酸性粘多糖	Bouin 氏液或 Zenker 氏液
醛品红-Alcian 法(醛品红/AB 法)	硫酸化、羧基化粘多糖	Bouin 氏液或 Zenker 氏液
汞溴酚蓝法	蛋白质	Bouin 氏液或 Zenker 氏液
甲基绿派洛宁法	RNA、DNA	Carnoy 氏液
茜素红 S 法	钙	Bouin 氏液或 Zenker 氏液
改良的 Turnbull 氏蓝法	铁	Bouin 氏液
明胶薄膜法	蛋白酶	—
酸性乙酸- α -萘酯-六偶氮对品红法	非特异性酯酶	甲醛钙液
Tween 法	脂酶	甲醛钙液
钙钴法	碱性磷酸酶	无水丙酮
硝酸铅法	酸性磷酸酶	无水丙酮
苏丹 III 法	脂类	甲醛钙液

2.1 组织学研究

2.1.1 消化道各段的组织结构

消化道管壁由粘膜、粘膜下层和外膜构成,无肌层。粘膜由单层上皮组成,主要为柱状纤毛细胞,另有少量的粘液细胞和颗粒状腺细胞,后者以胞浆内含嗜酸性颗粒为特征。

食道内壁呈纵行褶皱,柱状纤毛细胞的纤毛较稀疏。胃的粘膜或平坦,或形成小的褶皱,柱状纤毛细胞高低不一,纤毛较短但密集。胃左后方有一胃楯,其下方的上皮细胞呈高柱状、嗜碱性,游离端有微绒毛。晶杆囊可视为胃的一部分,其内壁有两个大的突起,系由高柱状上皮细胞形成。晶杆均质红染,晶杆所处区域的柱状纤毛细胞高度整齐,纤毛较长并密集(图版-1)。肠内壁形成明显的肠沟,在肠沟散在分布较多的粘液细胞和颗粒性腺细胞(图版-2)。直肠粘液细胞数量较多。

2.1.2 消化腺的组织结构

消化腺,又称消化盲囊、肝胰腺,为复管腺,由许多具分枝的小管组成,各腺管之间有少量结缔组织连接。腺上皮有消化细胞和嗜碱性细胞两种类型(图版-3)。消化细胞多呈柱状,体积大小不一,胞质内有许多大小不等的囊泡或红色颗粒,胞核多位于基部。嗜碱性细胞呈锥形,体积较小,胞质深蓝染,胞核多呈圆形、位于细胞中央,核仁明显。嗜碱性细胞散布于消化细胞之间。众多腺管汇集于小导管,再经较大的导管开口于胃。导管上皮为单层柱状纤毛细胞。

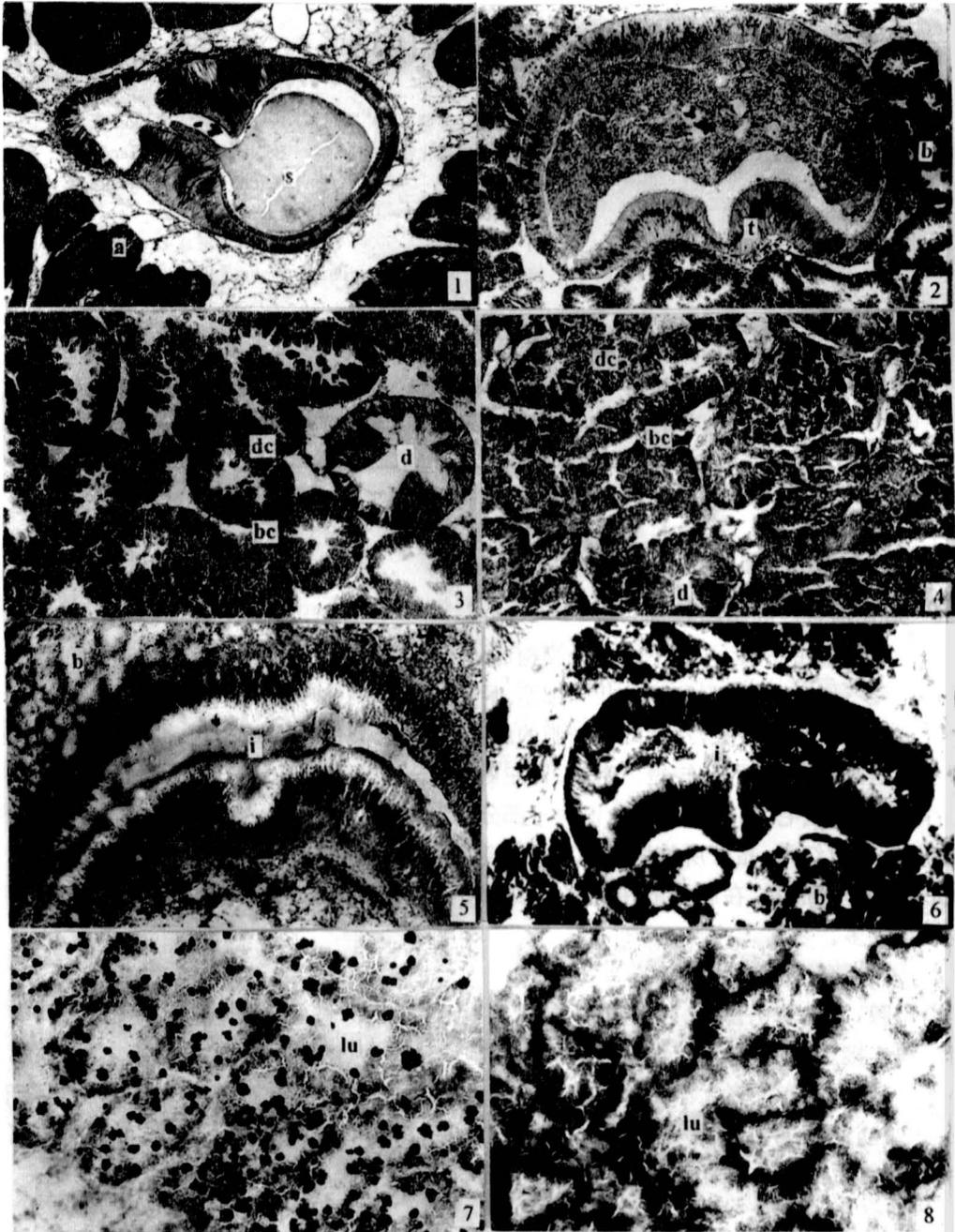
2.2 组织化学研究

2.2.1 石蜡包埋切片的组织化学研究

(1)PAS 反应。消化道粘液细胞细胞质、消化腺消化细胞的颗粒呈紫红色,表明含多糖类物质。

(2)PAS/唾液作用法。消化系统各部位均呈阴性,表明不含糖原。

(3)AB/PAS 法。消化道粘液细胞细胞质呈紫红色,表明其分泌中性和酸性混合粘液物



图版 Plate

1. 晶杆 $\times 40$; 2. 肠 $\times 66$; 3. 消化囊 $\times 132$; 4. 消化腺 $\times 132$; 5. 肠与消化腺 $\times 66$; 6. 肠与消化腺 $\times 66$;
 7. 消化腺 $\times 132$; 8. 消化腺 $\times 132$

a. 性腺; b. 消化腺; bc. 嗜碱性细胞; d. 导管; dc. 消化细胞; i. 肠; lu. 腺管腔; s. 晶杆; t. 肠沟

质。

(4) 醛品红/AB法。消化道粘液细胞细胞质呈蓝色,表明其分泌羧基化酸性粘液物质。

(5) 汞溴酚蓝法。消化腺嗜碱性细胞细胞质呈深蓝色,着色明显深于消化细胞和消化道上皮细胞,表明其细胞质中含有大量的蛋白质。

(6) 甲基绿派洛宁法。消化腺嗜碱性细胞细胞质、核仁呈红紫色,胞质深染处为RNA,含量丰富(图版-4)。消化细胞和消化道上皮细胞质着色甚浅。

(7) 茜素红S法和Turnbull氏蓝法。消化系统各部位均呈阴性,表明不含钙和铁。

2.2.2 冰冻切片的组织化学研究

(1) 蛋白酶。在消化腺消化细胞游离端及管腔内、肠上皮细胞游离端显示阳性,酶活性部位呈透明空斑(图版-5),其余部位呈阴性。

(2) 非特异性酯酶。除消化腺嗜碱性细胞外,其它细胞的细胞质均呈阳性,酶活性部位呈棕色,其中尤以消化腺消化细胞、导管细胞以及肠上皮细胞活性最强(图版-6)。

(3) 脂酶。消化腺消化细胞呈阳性,酶活性部位呈黑色颗粒(图版-7),导管细胞、胃和肠上皮细胞显示极弱的阳性反应。

(4) 酸性磷酸酶。消化腺消化细胞细胞质呈阳性,胃、肠上皮细胞游离端也呈弱的阳性反应。

(5) 碱性磷酸酶。消化腺消化细胞和导管细胞基底部细胞膜呈阳性,酶活性部位呈黑色(图版-8),胃和肠上皮细胞顶部细胞膜亦显示阳性,但较弱。

(6) 脂类。消化腺消化细胞细胞质显示阳性,胃和肠局部上皮细胞细胞质也含少量的脂类。

3 讨论

紫贻贝消化道各部粘膜上皮的主体细胞是柱状纤毛细胞,纤毛或疏或密广泛存在于从食道到直肠的腔面,这对于缺乏肌层不能进行蠕动的紫贻贝消化道来讲是极其重要的。食物自口摄入后在消化道内的运送及胃内食物颗粒的分选(至消化腺和肠)主要靠纤毛的摆动。晶杆囊内密集而排列整齐的纤毛亦表明晶杆旋转的动力来源于纤毛。除柱状纤毛细胞外,消化道各段还含有数量不等的粘液细胞,它们分泌中性和羧基化酸性混合粘液物质,起到粘合食物颗粒、润滑腔面和便于食物运送的作用。

组织学和组织化学研究表明,紫贻贝消化道不同部位的消化作用各有差异。胃和晶杆囊内有两个特殊的结构:胃楯和晶杆。胃楯是由其下方的上皮细胞分泌而成的几丁质结构,可以作为晶杆的支座,通过晶杆的旋转而对胃内大的食物颗粒进行研磨[Morton 1983, Thomas 1993]。有学者认为晶杆是进行细胞外消化的酶的来源[Judd 1979]。本研究中胃和晶杆囊的非特异性酯酶、酸性磷酸酶及碱性磷酸酶呈弱阳性,并缺乏蛋白酶和脂酶活性,表明胃除对食物具有分选作用外,主要起机械研磨的作用。而在肠中,本实验所涉及的水解酶类都或多或少存在,尤以非特异性酯酶和蛋白酶活性较强,表明肠在紫贻贝消化系统的作用是比较重要的。食道和直肠则主要是食物或残渣的运输管道。

如同其它瓣鳃纲动物一样[王文等 1995, Owen 1970, Sumner 1965],紫贻贝消化腺有两种类型细胞:消化细胞和嗜碱性细胞。本实验观察到,消化细胞内含有众多大小不等的囊泡或颗粒,细胞内的蛋白酶、非特异性酯酶、脂酶和酸性磷酸酶等水解酶类在整个消化系统中活性

最高,而酸性磷酸酶是溶酶体的标志酶,该酶含量丰富的细胞具溶酶体活性,可进行细胞内消化[翟中和和丁明孝 1995, Owen 1970]。另外,在消化细胞的基底部质膜存在碱性磷酸酶活性,而该酶与跨膜运输有关,可参与物质的转运[Babula 和 Skoweon 1985]。上述实验结果表明当胃内食物经由导管进入消化腺腺管后,消化细胞可通过胞饮及吞噬作用将食物摄入细胞内[Owen 1970],在许多水解酶类和溶酶体酶的作用下进行细胞内消化,营养物质在细胞基部被吸收、转运至腺管间的血腔,而残余物则由顶端释放入腺管腔[Thomas 1992]。本研究未能在消化系统内检查出糖原,但发现消化细胞中含有丰富的脂类,表明紫贻贝可将吸收的营养物质以脂类形式贮藏于消化细胞内。因此,除具有上述的内吞、细胞内消化和吸收作用外,消化细胞还具有贮藏功能。本研究观察到消化细胞的体积及内部所含的囊泡或颗粒的大小不一,表明这些细胞在消化循环中发生着结构变化[Wigham 1976]。

嗜碱性细胞又称隐窝细胞(crypt cell),因总是几个细胞集中存在于腺管的隐窝处[Owen 1970, Sumner 1965, Thomas 1992]。但与其它瓣鳃纲动物有所不同的是,紫贻贝嗜碱性细胞单个散在于消化细胞之间,腺管不形成明显的隐窝。对于嗜碱性细胞的功能,目前仍不清楚,被认为可能具有分泌功能或作为消化细胞的前体[Owen 1970, Sumner 1965, Morton 1983]。尽管本研究未观察到嗜碱性细胞有酶的活性,但其细胞质中含量明显高于其它细胞的 RNA 和蛋白质则表明紫贻贝嗜碱性细胞可能具有分泌功能。

参 考 文 献

- 王 文, 杜开和, 王福明. 1995. 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. 南京师范大学学报(自然科学版), 18(4): 134~138
- 翟中和, 丁明孝. 1995. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社. 47~49
- Babula A, Skoweon D. 1985. Histological and histochemical studies of the digestive system of the slug *Deroceras reticulatus*. Sciences Biologiques, 26: 65~71
- Bullough W S. 1985. Practical invertebrate anatomy. London: The Macmillan Press Ltd. 342~380
- Dales R P. 1981. Practical invertebrate zoology. Oxford: Blackwell Scientific Publication. 155~190
- Judd W. 1979. The secretions and fine structure of bivalve style sacs. Ophelia, 18: 205~233
- Morton B. 1983. Feeding and digestion in the Bivalvia. In: The Mollusca. New York: Academic Press. 139~124
- Owen G. 1970. The fine structure of digestive tubules of the marine bivalve *Cardium edule*. Phil Trans R Soc Lond, B258: 245~260
- Sumner A T. 1965. The cytology and histochemistry of the digestive gland cells of some freshwater lamellibranchs. J R Microsc Soc, 85: 201~211
- Thomas K A. 1992. The functional morphology of digestive system of *Lyonsia hyalina* Conrad 1831. J Moll Stud, 59: 175~186
- Wigham G D. 1976. Feeding and digestion in the marine prosobranch *Rissoa parva* (Da Costa). J Moll Stud, 42: 74~94

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES ON DIGESTIVE SYSTEM OF *MYTILUS EDULIS* LINNAEUS

CUI Long-Bo, MA Sheng-Yuan, LIU Ping, WANG Ming-Juan, WANG Yan-Bo

(Department of Biochemistry, Yantai University, 264005)

ABSTRACT Histological and Histochemical studies on digestive system of *Mytilus edulis* were reported in this paper. The digestive system of *Mytilus edulis* consists of digestive gland and digestive tract-esophagus, stomach (including style sac), intestine and rectum. The digestive gland is a compound tubular gland having two kinds of cells; digestive cells and basophilic cells. The wall of the digestive tract is made of three layers; tunica mucosa, tunica submucosa and tunica serosa, no muscular layer. Most of the epithelia are ciliated columnar cells. Histochemical studies show the basophilic cells in the gland contain abundant protein and RNA. The digestive cells contain lipid and many kinds of enzymes; non-specific esterase, acid phosphatase, proteinase, lipase and alkaline phosphatase. But the kinds and the activity of enzymes are less and weaker than that in the digestive gland.

KEYWORDS *Mytilus edulis*, digestive system, histology, histochemistry