

皱纹盘鲍嗉囊和胃的超微结构与功能

崔龙波 刘传琳 刘 迅 唐 慧 陆瑶华
(烟台大学生物化学系, 264005)

摘 要 以扫描电镜和透射电镜观察、组织化学及酶活性测定等方法研究了皱纹盘鲍的嗉囊和胃。嗉囊及胃平展处上皮细胞呈现吸收细胞的超微结构特征: 微绒毛、质膜内陷和胞饮泡、次级溶酶体以及贮存物质(脂类和糖原)。胃褶皱处上皮细胞具纤毛, 起分选和运输食物的作用。胃上皮细胞基部有神经分布。组织化学研究表明嗉囊和胃上皮细胞呈现蛋白酶和非特异性酯酶活性。体外酶活性分析表明嗉囊和胃上皮细胞分别具有三种和四种植物多糖酶活性。

关键词 皱纹盘鲍, 嗉囊, 胃, 超微结构, 酶

Ultrastructure and function of the crop and the stomach of *Haliotis discus hannai*

Cui Longbo, Liu Chuanlin, Liu Xun, Tang Hui, Lu Yaohua
(Department of Biochemistry, Yantai University, 264005)

ABSTRACT The ultrastructure and function of crop and stomach of *Haliotis discus hannai* Ino were studied with histochemical method, electron microscopic observation and test for some enzymatic activity *in vitro*. The epithelial cells of the crop and the flat part of the stomach show the ultrastructural features of absorptive cells: microvilli, signs of endocytosis, occurrence of secondary lysosomes and storage of reserve materials (glycogen and lipid). These features indicate that absorption of energy-rich substances can occur in the crop and the stomach. The fold part of the stomach is lined by ciliated cells which are involved in sorting and transport of food particles. The intraepithelial neurons were observed in the stomach. The epithelial cells of the crop and the stomach show proteinase and non-specific esterase activity by histochemical tests, and show activity of three or four polysaccharide enzymes by test *in vitro*.

KEYWORDS *Haliotis discus hannai* Ino, crop, stomach, ultrastructure, enzyme

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)是一种以褐藻、红藻等植物性饵料为食的藻食性腹足类动物, 亦是我国北方沿海重要的养殖贝类之一。与其食性相适应, 皱纹盘鲍的消化道甚长, 其中嗉囊和胃非常发达, 容积最大, 并与在机体消化过程中发挥重要作用的消化腺直接相连通^[1]。组织学研究表明其嗉囊和胃的粘膜上皮为单层柱状上皮细胞^[2]。本研究的主要目的是皱纹盘鲍嗉囊和胃的超微结构及其在机体消化过程中发挥的作用。

国家自然科学基金资助项目(皱纹盘鲍消化系统胚后发育的研究), 39470351 号。

第一作者简介: 崔龙波, 男, 1962 年 3 月生, 硕士, 副教授。Tel: 0535- 6903037, E-mail: glbio@ytu.edu.cn

收稿日期: 1998- 12- 08

1 材料与方法

1.1 材料

皱纹盘鲍取自烟台市芝罘区隆海珍品养殖场, 鲍壳长 5.8~6.2cm, 壳宽 3.7~4.2cm。解剖取出嗦囊和胃后进行研究。

1.2 方法

1.2.1 扫描电镜观察

将嗦囊和胃用 0.1mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.4)充分洗涤, 于 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, 梯度丙酮脱水, 醋酸异戊酯置换, 常规临界点干燥, 离子镀膜。日立 S-570 型扫描电镜观察。

1.2.2 透射电镜观察

组织块用 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, 梯度酒精脱水, Epon812 环氧树脂包埋, 切片厚 50~70nm, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。JEM-1200EXII 型透射电镜观察。

1.2.3 组织化学研究

组织块分别置于 10% 甲醛溶液、Bouin 氏液及 Zenker 氏液固定, 石蜡包埋, 切片厚 5~8 μ m, 进行以下染色: PAS 反应显示多糖类, 唾液消化后 PAS 反应显示糖原, 以及 Turnbull 氏蓝法显示铁。

新鲜组织块直接于恒冷冰冻切片机上切片, 切片厚 6~10 μ m, 切片分别进行以下染色: Cunningham 氏明胶薄膜法显示蛋白酶, Gomori 氏吐温(40 或 80)法显示脂酶, 酸性乙酸 α -萘酚-六偶氮对品红法显示非特异性酯酶, Gomori 氏硝酸铅法显示酸性磷酸酶, Gomori 氏钙钴法显示碱性磷酸酶, 以及苏丹黑 B 法显示脂类。

以上组织化学见文献[3]。

1.2.4 酶活性测定

5 只个体为一组, 平行测定三组。嗦囊和胃粘膜上皮经匀浆后, 进行以下四种多糖水解酶活性的测定。用 3,5-二硝基水杨酸显色法测定淀粉酶、纤维素酶和海藻多糖酶的活性^[4], 以波长 232nm 进行紫外光吸收测定褐藻酸酶活性^[5], 以牛血清蛋白为标准, 用考马斯亮蓝 G250 显色法测定蛋白质^[6]。

2 结果

2.1 扫描电镜观察

嗦囊的粘膜面形成众多弯曲、起伏的纵行褶皱。尽管经过充分洗涤, 但仍有部分嗦囊粘膜表面被覆一层呈网状的粘液物质(图版 I-1)。嗦囊粘膜只有一种上皮细胞, 其形状不规则, 直径从 3 μ m 至 5 μ m 不等, 细胞顶端微向外凸出, 细胞界限清晰。嗦囊粘膜上皮细胞的显著特征是细胞表面布满较长的微绒毛(图版 I-2)。

胃的粘膜表面比较平展、或形成高低不等、走向不一的褶皱或瓣膜。胃平展处的粘膜上皮细胞与嗦囊相似, 主要为微绒毛细胞, 即其游离端布满长的微绒毛, 部分粘膜表面亦覆盖有粘液物质。胃褶皱或瓣膜处的粘膜上皮细胞主要为纤毛细胞, 即其游离端布满纤毛。观察该处粘膜的断面, 柱状的细胞胞体与其密集的纤毛就如同大葱与其根须一样(图版 I-3)。纤毛长约 11 μ m, 约占细胞胞体高度的 1/4。

2.2 透射电镜观察

嗦囊粘膜上皮细胞的显著特征之一是细胞游离端具有密集而长的微绒毛(图版 I-4)。微绒毛长约 6.0 μ m, 直径约 0.1 μ m, 其轴心的微丝束伸入细胞内部。细胞游离端的质膜常见内陷, 质膜下方含有大量直径约 0.1 μ m 的胞饮泡(图版 I-4), 泡内含中等电子密度的内容物, 与充盈在微绒毛之间的物质

相似。在细胞中部, 见数量不等的内含电子致密物质的次级溶酶体。嗉囊粘膜上皮细胞的另一个显著特征是细胞内特别是在细胞中部含有大量的呈中等电子密度的脂质体, 其直径从 $1.0\mu\text{m}$ 到 $2.5\mu\text{m}$ 不等(图版 I-5)。细胞核呈长椭圆形, 位于细胞的基部。线粒体在细胞的顶端和基部数量甚多(图版 I-4), 高尔基体和内质网主要位于核的上方。在细胞的顶端可见膜围绕的、内含电子致密物质的小囊泡(图版 I-4)。在细胞游离端, 细胞之间通过桥粒紧密连接在一起(图版 I-4); 在细胞中部, 细胞之间常通过指状突起相互交联。

胃平展处粘膜上皮细胞的游离面亦具有密集而长的微绒毛(图版 I-6), 微绒毛及端网区的微丝束清晰可见。微绒毛基部的质膜内陷, 形成内吞小窝, 内含同胃内容物相似的物质。在质膜下方有大量的胞饮泡, 直径从 $0.05\sim 0.3\mu\text{m}$ 不等(图版 I-6)。细胞中部含有许多直径为 $0.4\sim 2.0\mu\text{m}$ 、内含不同电子密度物质的次级溶酶体以及多泡小体(图版 II-1)。该细胞脂质体的数量少于嗉囊上皮细胞, 但在细胞基部却见到大量的糖原颗粒(图版 II-2)。位于基部的细胞核亦呈长的椭圆形。细胞游离端及基部含有大量的线粒体(图版 II-3)。高尔基体比较发达, 位于核的上方。粗面内质网以及游离的核糖体主要位于细胞中部。细胞游离端含有许多直径为 $0.2\sim 0.4\mu\text{m}$ 的膜绕囊泡(图版 II-3), 内含电子致密物质, 此可能为分泌颗粒。

胃褶皱或瓣膜处粘膜上皮细胞的显著特征是细胞游离缘具有密集的纤毛(图版 II-3), 基体与纤毛小根清晰可见, 带横纹的纤毛小根深插入细胞内部。大量的线粒体分布于纤毛小根之间。微绒毛缺乏或稀疏而短。胞饮泡及次级溶酶体均明显少于胃平展处的上皮细胞。在该细胞基部与基膜之间见有神经轴突, 内含许多电子密度不等的颗粒状分泌囊泡(图版 II-4)。

2.3 组织化学研究

PAS 反应: 嗉囊和胃上皮细胞的刷状缘以及胃上皮细胞的细胞质呈阳性。唾液消化后 PAS 反应: 胃上皮细胞的细胞质仍呈阳性, 表明含有糖原。

Turnbull 氏蓝法: 嗉囊和胃上皮细胞核上方的细胞质中有蓝色的细小颗粒, 表明含有铁。

Cumingham 氏明胶薄膜法: 局部嗉囊上皮细胞以及大部分胃上皮细胞的顶端细胞质及游离缘呈透明空斑(图版 II-5), 表明具有蛋白酶活性。

酸性乙酸- α -萘酚-六偶氮对品红法: 嗉囊和胃上皮细胞的顶端细胞质呈红棕色(图版 II-6, 7), 表明具有非特异性酯酶活性。

Gomori 氏钙钴法: 嗉囊上皮细胞游离端的质膜、胃上皮细胞游离端及基底部的质膜均呈黑色, 表明具有碱性磷酸酶活性。

Gomori 氏吐温法和 Gomori 氏硝酸铅法: 嗉囊和胃上皮细胞均成阴性。

苏丹黑 B 法: 嗉囊上皮细胞整个细胞质内充盈大量大小不等的呈黑色的脂滴(图版 II-8), 胃上皮细胞的黑色脂滴数量较少, 或分散于细胞质中, 或局限于细胞的顶端和基部(图版 II-9)。

2.4 酶活性测定

三组 15 只个体嗉囊与胃粘膜上皮淀粉酶、纤维素酶及海藻多糖酶平均比活力分别为 458 ± 41 与 222 ± 47 、 108 ± 63 与 79 ± 41 、以及 0 与 51 ± 9 , 单位为 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖/min/mg 蛋白质; 褐藻酸酶的平均比活力为 0.62 ± 0.23 与 0.95 ± 0.32 , 单位为 1.0 光密度/h/mg 蛋白质。结果表明, 嗉囊和胃粘膜上皮分别具有三种和四种植物多糖酶, 其中以淀粉酶活性最高。

3 讨论

研究表明, 皱纹盘鲍的嗉囊和胃作为消化道的两个器官, 不应简单地将它们认为只是容纳和运送食物的管道, 事实上它们在机体的消化过程中发挥着更为复杂的作用。首先, 它们参与吸收作用。电镜观察表明, 嗉囊和胃平展处的粘膜上皮细胞呈现吸收细胞的超微结构特征: 细胞游离面具有密集而长的微

绒毛, 细胞质膜内陷和细胞游离端出现大量的胞饮泡, 细胞中部出现次级溶酶体, 以及细胞内含有大量的脂类和糖原。微绒毛是吸收细胞扩大表面积的特征结构^[7], 质膜内陷和胞饮泡的出现表明细胞进行活跃的内吞作用^[8, 9], 次级溶酶体的存在显示了细胞正在进行细胞内降解^[9, 10], 脂类和糖原则为细胞内的贮存物质^[8, 9]。组化研究亦表明, 嗦囊和胃上皮细胞的游离端质膜显示碱性磷酸酶活性, 而碱性磷酸酶与物质的跨膜转运有关^[9, 11]。McLean^[12]通过同位素标记及体外通透试验亦表明红鲍(*Haliotis rufescens*)的嗦囊能够吸收葡萄糖和苯丙氨酸。

其次, 皱纹盘鲍的嗦囊和胃能分泌消化水解酶并进行细胞外消化。组化研究表明, 嗦囊和胃上皮细胞显示不同程度的蛋白酶和非特异性酯酶活性。体外酶活性分析检测到胃上皮细胞具有淀粉酶、纤维素酶、海藻多糖酶和褐藻酸酶活性, 嗦囊上皮细胞亦具有淀粉酶、纤维素酶和褐藻酸酶活性。电镜下观察到嗦囊和胃平展处上皮细胞的游离端具有内含电子致密物质的小囊泡, 它们很可能是含有消化水解酶的分泌颗粒。这些分泌颗粒可能以顶浆分泌的形式向细胞外分泌消化酶^[13], 从而在嗦囊和胃腔内进行细胞外消化。McLean^[12]曾报道红鲍的嗦囊液除有蛋白酶和淀粉酶活性外, 还具有脂酶的活性。此脂酶可能来自食道, 因为作者在皱纹盘鲍嗦囊上皮细胞中未检测到脂酶活性, 但却存在于食道上皮细胞中⁽¹⁾。因此, 来自消化道其它部位和消化腺的、以及嗦囊和胃本身所分泌的消化酶都可以在嗦囊和胃内消化食物, 以利于嗦囊和胃上皮细胞的吸收。

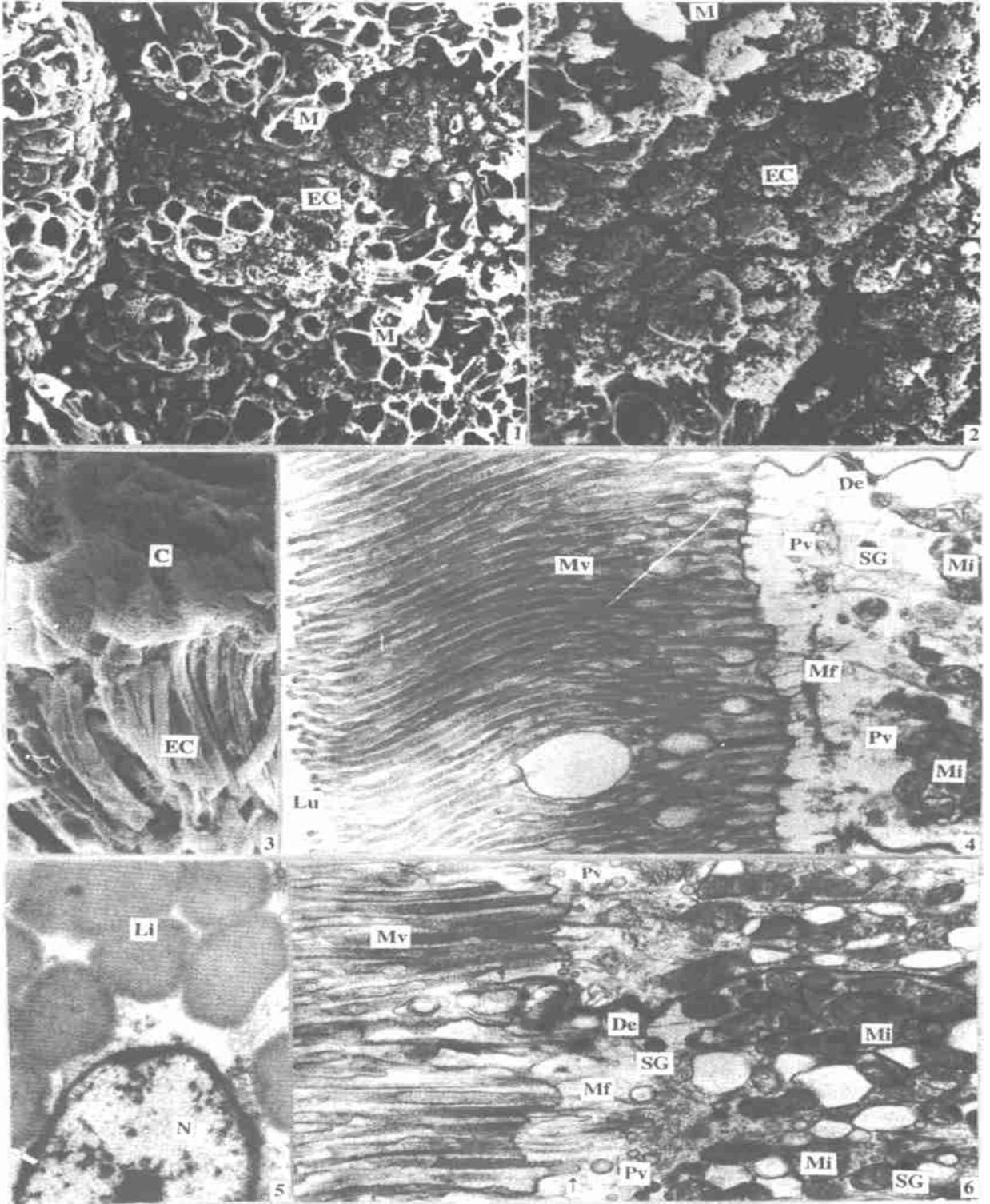
胃的褶皱部主要构成胃的分选区, 该处上皮细胞的结构特征是具有密集的纤毛, 以及纤毛小根之间含有大量的线粒体。纤毛的摆动对于分选和运送食物具有重要的意义^[7, 8], 而线粒体的存在则保证了纤毛摆动的动力来源。上皮细胞下的神经分布表明纤毛上皮细胞对食物的分选和运送受到神经的调控。

综上所述, 皱纹盘鲍的嗦囊和胃是进行消化和吸收的两个重要器官, 胃褶皱区的纤毛上皮还具有分选和运送食物的作用。

参 考 文 献

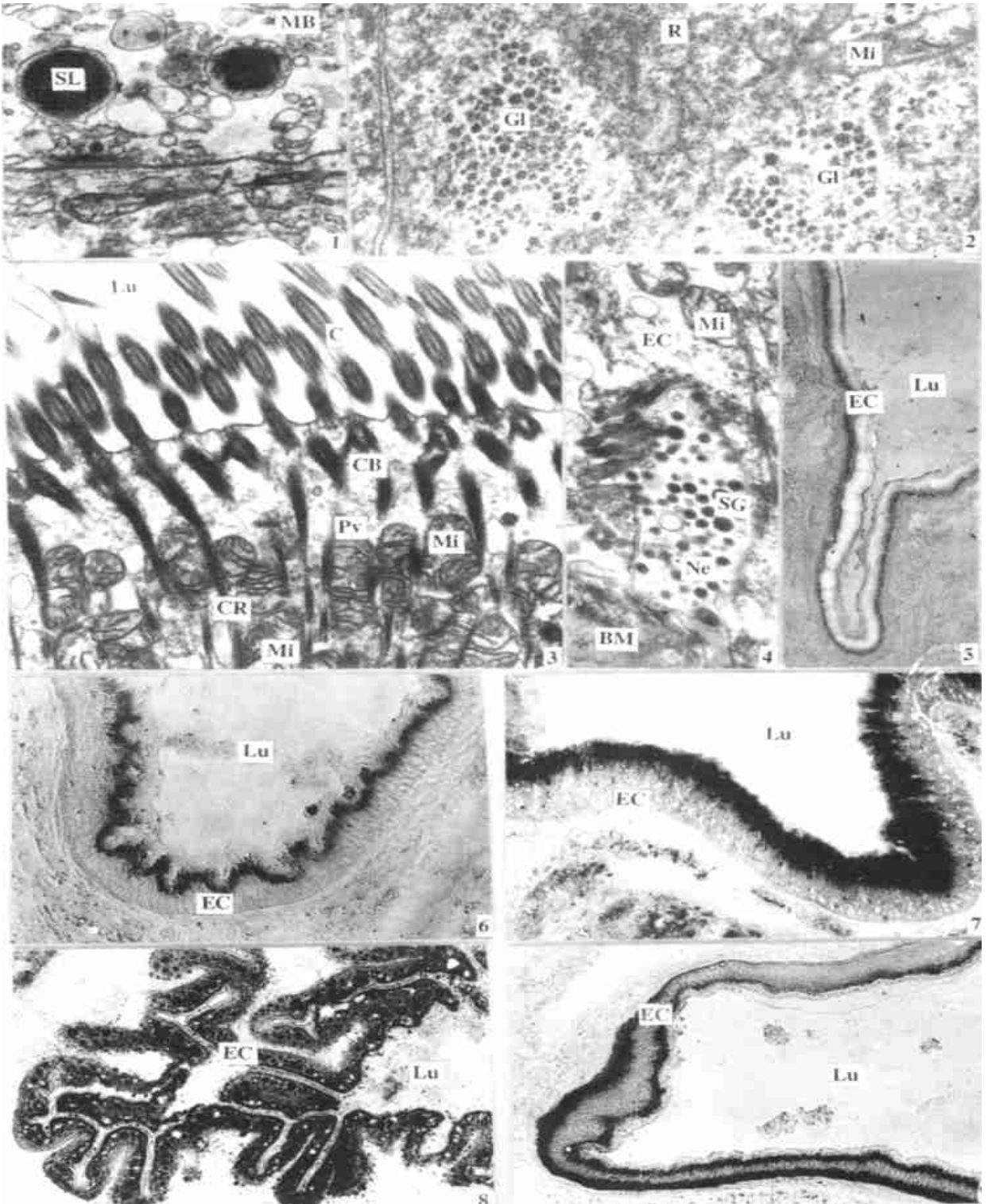
- 1 Dales R P. Practical invertebrate zoology. 2ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1981, 155~ 159
- 2 崔龙波, 刘传琳, 王丽景等. 成年皱纹盘鲍消化道的组织学研究. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 1995, 10(4): 22~ 25
- 3 Pearse A G E. Histochemistry, theoretical and applied. 4th edition. London: Churchill Livingstone, 1983,
- 4 Bemfeld P. Methods in enzymes. New York: Academic Press. 1995, 1949
- 5 Boyd J, Turvey J R. Isolation of a poly- α - γ glutamate lyase from *Klebsiella aerogenes*. Carbohydr Res, 1977, 57: 163~ 171
- 6 Braford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 1976, 72(2): 248~ 254
- 7 Babula A, Wielinska L. Ultrastructural studies of the digestive system of the Slug *Deroceras reticulatus* (Pulmonata). Bull Soc Amis Sci Lett Poznan D, 1988, 26(1): 72~ 78
- 8 Boer H H, Kits K S. Histochemical and ultrastructural study of the alimentary tract of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. J Morphol, 1995, 205: 99~ 111
- 9 Franchini A, Ottaviani E. Intestinal cell types in the freshwater snail *Planorbis Corneus*: histochemical, immunocytochemical and ultrastructural observation. Tissue and cell, 1992, 24(3): 387~ 396
- 10 Bush M S. The ultrastructure and function of the intestine of *Patella vulgata*. J Zool, Lond, 1988, 215(4): 685~ 702
- 11 Babula A, Skowronska-wendland D. Histochemical studies of the digestive system of the Slug *Deroceras reticulatus* (Pulmonata). Bull Soc Amis Sci Lett Poznan D, 1988, 26(1): 65~ 71
- 12 McLean N. Digestion in *Haliotis rufescens* Swainson (Gastropoda: Prosobranchia). J Exp Zool, 1970, 173(2): 303~ 318
- 13 Bush M S. The ultrastructure and function of the oesophagus of *Patella vulgata* Linnæus. J Moll Stud, 1989, 55(1): 111~ 124

(1) 崔龙波, 陆瑶华. 皱纹盘鲍食道结构与功能的研究.



1. 嗦囊粘膜上皮表面 × 1 070; 2. 嗦囊粘膜上皮表面 × 2 660; 3. 胃褶皱部粘膜上皮断面与表面 × 950; 4. 嗦囊上皮细胞游离端 × 10 640; 5. 嗦囊粘膜上皮中部 × 13 300; 6. 胃平展部上皮细胞游离端 × 13 300

EC. 上皮细胞 M. 粘液 C. 纤毛 De. 桥粒连接 Lu. 嗦囊腔 Mf. 微丝 Mi. 线粒体 Mv. 微绒毛 Pv. 胞饮泡 SG. 分泌颗粒
Li. 脂质体 N. 细胞核 ↑. 内吞小窝



1. 胃平展部上皮细胞中部 × 13 300; 2. 胃平展部上皮细胞基部 × 26 600; 3. 胃褶皱部上皮细胞游离端 × 13 300; 4. 胃褶皱部上皮细胞基部 × 13 000; 5. 胃平展部, 示蛋白酶活性 × 40; 6. 嗦囊, 示非特异性酯酶活性 × 40; 7. 胃平展部, 示非特异性酯酶活性 × 40; 8. 嗦囊, 示上皮细胞内的脂滴 × 40; 9. 胃平展部, 示上皮细胞内的脂滴 × 40
 MB. 多泡小体 SL. 次级溶酶体 GI. 糖原颗粒 Mi. 线粒体 R. 核糖体 C. 纤毛 CB. 纤毛基体 CR. 纤毛小根 Lu. 胃腔 Mi. 线粒体 Pv. 胞饮泡 BM. 基底膜 EC. 上皮细胞 Mi. 线粒体 Ne. 神经 SG. 分泌颗粒 EC. 上皮细胞