



长蛸脑显微结构及视腺的超微结构

朱之发^{1,2}, 边力^{2,3}, 陈四清^{2,3*}, 王亚美^{1,4}, 张鹏飞^{1,2}, 李凤辉^{1,2},
张盛农^{2,3}, 葛建龙^{2,3}, 常青^{2,3}, 刘长琳^{2,3}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;

4. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 为研究长蛸神经系统结构及神经调控机制, 通过解剖学和石蜡组织切片技术对长蛸的脑部结构进行观察。结果显示, 以食道为参照, 根据所处位置将脑分为 3 部分: 食道上神经团、食道下神经团以及位于食道上下神经团两侧的视叶区。食道上神经团包含垂直叶、上额叶、下额叶、前基底叶和后基底叶, 食道下神经团包含腕叶、足叶、巨细胞叶、色素细胞叶、内脏叶、外套内脏叶和血管舒缩叶, 视叶区包含视神经、视叶、视腺、嗅叶、脑脚叶和视神经束。采用石蜡组织切片、光镜和透射电镜技术对视腺进行显微和超显微结构观察, 结果发现视腺外有一层结缔组织包裹, 位于视神经束区上, 与嗅叶和脑脚叶相邻; 内部可观察到大量分泌细胞, 细胞核较大, 直径范围为 4~8 μm ; 分泌细胞含有丰富的粗面内质网、高尔基体及高尔基体分泌的分泌小泡与大泡。研究表明, 长蛸视腺结构特征与曼氏无针乌贼和真蛸的高度相似。

关键词: 长蛸; 脑; 视腺; 显微结构; 超显微结构

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

在无脊椎动物中, 头足类拥有最复杂的神经系统与集中且特化的脑部结构^[1-2]。虽脑部结构与脊椎动物不同, 但头足类有复杂的行为特征, 甚至使用工具^[3], 开展头足类脑部研究可为了解人类大脑的功能和作用机制提供参考。为研究头足类脑部功能与作用机制, 首先需探明脑部的各组织结构。目前已对曼氏无针乌贼 (*Sepiella maindroni*)^[4]、商乌贼 (*Sepia officinalis*)^[5]、枪乌贼 (*Loligo vulgaris*)^[6]、真蛸 (*Octopus vulgaris*)^[7-9] 开展了脑与神经系统结构研究。长蛸 (*O. minor*) 俗称大蛸、长腿蛸等, 属于八腕目 (Octopoda)、

蛸科 (Octopodidae)、蛸属 (*Octopus*), 分布于韩国、中国、日本和俄罗斯库页岛沿海水域^[10-11], 喜穴居, 腕部常用于捕食、爬行、探索、搬运与攻击等, 肉质鲜嫩, 蛋白质丰富且营养均衡^[12], 是我国沿海重要的经济蛸类^[13]。长蛸全年内易获取, 价格较低, 可作为研究头足类脑部功能与行为特征的模式物种, 其脑部形态与结构的研究目前国内尚未见报道。

视腺为头足类脑部视神经束上近视叶端的圆球状分泌腺体, 于 1828 年被 delle Chiaje 首次发现并命名^[14]。头足类中视腺的作用类似于脊椎

收稿日期: 2020-02-26 修回日期: 2020-05-30

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-49); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2020GH02)

第一作者: 朱之发 (照片), 从事海水鱼类繁育及增养殖技术研究, E-mail: 1317640499@qq.com

通信作者: 陈四清, E-mail: chensq@ysfri.ac.cn



动物的垂体, 可分泌促进性腺发育的神经肽, 调控性腺的发育, 加速性腺细胞的生长与分裂, 加快卵黄细胞的生成^[15]。真蛸视腺切除后, 会导致成熟的性腺发育停止并萎缩; 视腺的分泌物调控性腺的生长发育, 受食道神经团中脑亚脚叶的负向调控, 同时受光照调控^[16-17]。在拟乌贼 (*Sepiotheuthis sepioidea*) 视腺超显微结构研究中, 幼体分泌细胞呈树突状, 胞质突起薄, 线粒体呈圆形, 有管状突起和丰富的核糖体; 成体分泌细胞含有粗面内质网, 呈扩张状态; 高尔基体分泌电子致密颗粒; 线粒体稀少, 脂褐素颗粒增大^[18]。长蛸作为重要的经济物种, 近年来在我国开始进行人工养殖研究, 对于性腺结构和功能的研究, 可以为人工养殖与苗种繁育提供理论支持。本研究运用解剖学、石蜡组织切片、光镜及透射电镜技术, 观察长蛸脑部的组织结构和视腺的超微结构, 旨在完善长蛸的基础生物学信息, 为研究长蛸脑部结构功能及生殖相关神经肽的分泌特征提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验样本

长蛸来自于山东青岛市南区晓港码头水产市场, 体质量为 126~189 g。

1.2 脑形态观察

将长蛸用 10 mL/L 的乙醇溶液麻醉后, 迅速用解剖刀、解剖剪和手术镊取出脑部组织, 观察并拍照。

1.3 脑显微结构

组织固定 将长蛸用 10 mL/L 的乙醇溶液麻醉后, 迅速解剖出完整的脑组织, 放入 Davison 固定液固定 24 h。

石蜡切片制作 将固定好的长蛸脑组织依次脱水: 75% 乙醇溶液浸泡 20 min, 85% 乙醇 30 min, 95% 乙醇 20 min, 95% 乙醇 30 min, 100% 乙醇 20 min, 100% 乙醇 30 min。透明: 二甲苯浸泡 30 min, 二甲苯浸泡 30 min; 63 °C 二甲苯石蜡溶液浸泡 60 min。用石蜡包埋盒在石蜡包埋机中进行组织包埋。切片: 放置徕卡石蜡切片机中, 切片厚度为 6 μm, 在 40 °C 水中展片, 吸附至载玻片, 45 °C 烘干台上干燥 4 h。在全自动组织切片染色机中, 进行苏木精-伊红染色。

滴加中性树脂封片, 静置 2 h 后显微镜下观察拍照。

1.4 视腺超微结构

组织固定 将长蛸用 10 mL/L 的乙醇溶液麻醉后, 迅速取出长蛸视腺, 放入 2.5% 的戊二醛溶液中 4 °C 固定过夜, 保存备用。

电镜超薄切片制作 取固定好的视腺, 倒掉固定液, 用 0.1 mol/L、pH 7.0 的磷酸盐缓冲液冲洗 3 次, 每次 10 min; 用 1% 锇酸溶液固定样品 2 h, 再用磷酸盐缓冲液冲洗 3 次, 每次 10 min; 样品经乙醇系列梯度脱水: 30%、50%、70%、90% 和 100% 的乙醇每次 10 min, 其中 100% 乙醇 2 次; 经丙酮与 Epon812 环氧树脂的梯度渗透后, 分别在 37、45 和 65 °C 的温箱中固化, 每级温度 24 h。样品在 UltracutE 超薄切片机中切片, 获得 70~90 nm 的切片, 经柠檬酸铅溶液和醋酸双氧铀 50% 乙醇饱和溶液各染色 15 min, 在日本 JEOL JEM-1200EX 型透射电镜中观察。

2 结果

2.1 长蛸脑部结构

长蛸的脑部位于两眼之间 (图 1), 分为 3 部分 (图 2): 食道上神经团、食道下神经团及视叶区。食道上神经团与食道下神经团外侧有软骨 (cartilage) 包裹, 中间有食道穿过 (图 2)。2 个视叶区分别位于食道上下神经团两侧 (图 2), 向内通过视神经束与食道上下神经团相连, 向外通过视神经与眼相连。食道上下神经团中的神经细胞胞体集中分布于神经团外围形成神经叶, 不同区域特化为不同的神经叶^[1,5]。不同区域的方向是由正常水平运动时所处状态决定的^[10], 沿着食道朝向口的方向为前侧, 相反一边为后侧。朝向中线方向为内侧, 而远离中线方向为外侧, 朝向食道上神经团方向为背侧, 朝向食道下神经团方向为腹侧。

食道上神经团 食道上神经团 (supraoesophageal mass) 可以分为垂直叶 (vertical lobe)、上额叶 (superior frontal lobe)、下额叶 (inferior frontal lobe)、前基底叶 (anterior basal lobes) 和后基底叶 (posterior basal lobes) (图 3)。前基底叶可分为前侧前基底叶 (anterior anterior basal lobes) 和后侧前基底叶 (posterior anterior basal lobes)。后基底叶可分为背侧基底叶 (dorsal lateral basal lobe)、脑亚脚叶 (subpeduncle lobe)、背基底叶 (dorsal basal lobe)、

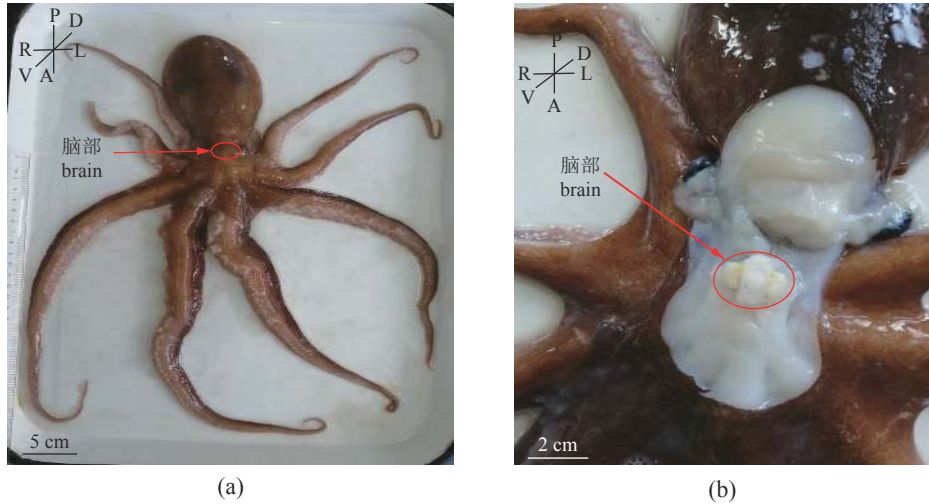


图 1 长蛸脑部位置

(a) 长蛸脑部位置, (b) 长蛸解剖后脑部位置。L. 左侧, R. 右侧, D. 背侧, V. 腹侧, A. 前侧, P. 后侧, 下同

Fig. 1 Brain location of *O. minor*

(a) brain location of *O. minor*, (b) brain position of *O. minor* after dissection. L. left, R. right, D. dorsal, V. ventral, A. anterior, P. posterior, the same below

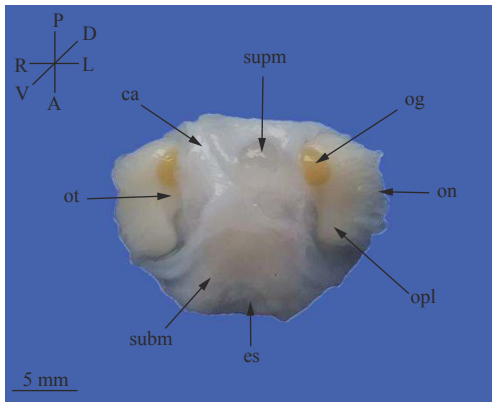


图 2 长蛸脑部

supm. 食道神经团, subm. 食道下神经团, og. 视腺, opl. 视叶, ot. 视神经束, on. 视神经, es. 食道, ca. 软骨, 下同

Fig. 2 Brain of *O. minor*

supm. supraesophageal mass, subm. subesophageal mass, og. optic gland, opl. optic lobe, ot. optic tract, on. optic nerve, es. esophagus, ca. cartilage, the same below

中基底叶 (median basal lobe) 和侧基底叶 (lateral basal lobe)(图 3)。

食道下神经团 食道下神经团 (subesophageal mass) 根据所处位置分为前、中和后 3 个部分 (图 3), 分别与腕部、外套膜和内脏的活动与功能相关, 每部分由多个神经叶组成^[5]。前部包含腕叶 (brachial lobe) 和前足叶 (anterior pedal lobe); 中部包含中足叶 (median pedal lobe)、后足

叶 (posterior pedal lobe)、前巨细胞叶 (anterior magnocellular lobe) 和前色素细胞叶 (anterior chromatophore lobe); 后部包含后色素细胞叶 (posterior chromatophore lobe)、后巨细胞叶 (posterior magnocellular lobe)、内脏叶 (visceral lobe)、外套内脏叶 (palliovisceral lobe) 和血管舒缩叶 (vasomotor lobe)。

视叶区 视叶区包括视神经 (optic nerve)、视叶 (optic lobe)、视腺 (optic gland)、嗅叶 (olfactory lobe)、脑脚叶 (peduncle lobe) 和视神经束 (optic tract) (图 3)。视神经内侧与视叶相连, 外侧与眼睛相连。视神经束外侧与视叶相连, 内侧与食道神经团与食道下神经团相连。视腺、嗅叶和脑脚叶相邻并位于视神经束上靠近视叶的一端。

2.2 长蛸的视腺结构

长蛸视腺呈黄色圆球状, 位于视神经束上靠近视叶的一端 (图 2, 图 3), 为具神经内分泌功能的腺体, 能够分泌促进性腺成熟的神经肽类激素。

视腺显微结构 长蛸的视腺表层由单层结缔组织组成, 保护内部组织 (图版 I -2)。视腺中分泌细胞数量最多, 是分泌器官的典型特征。分泌细胞的细胞核较大, 直径 4~8 μm (图版 I -3~4), 占据细胞的大部分, 有利于细胞内核糖体合成与遗传信息转录翻译。视腺中含有少量支撑

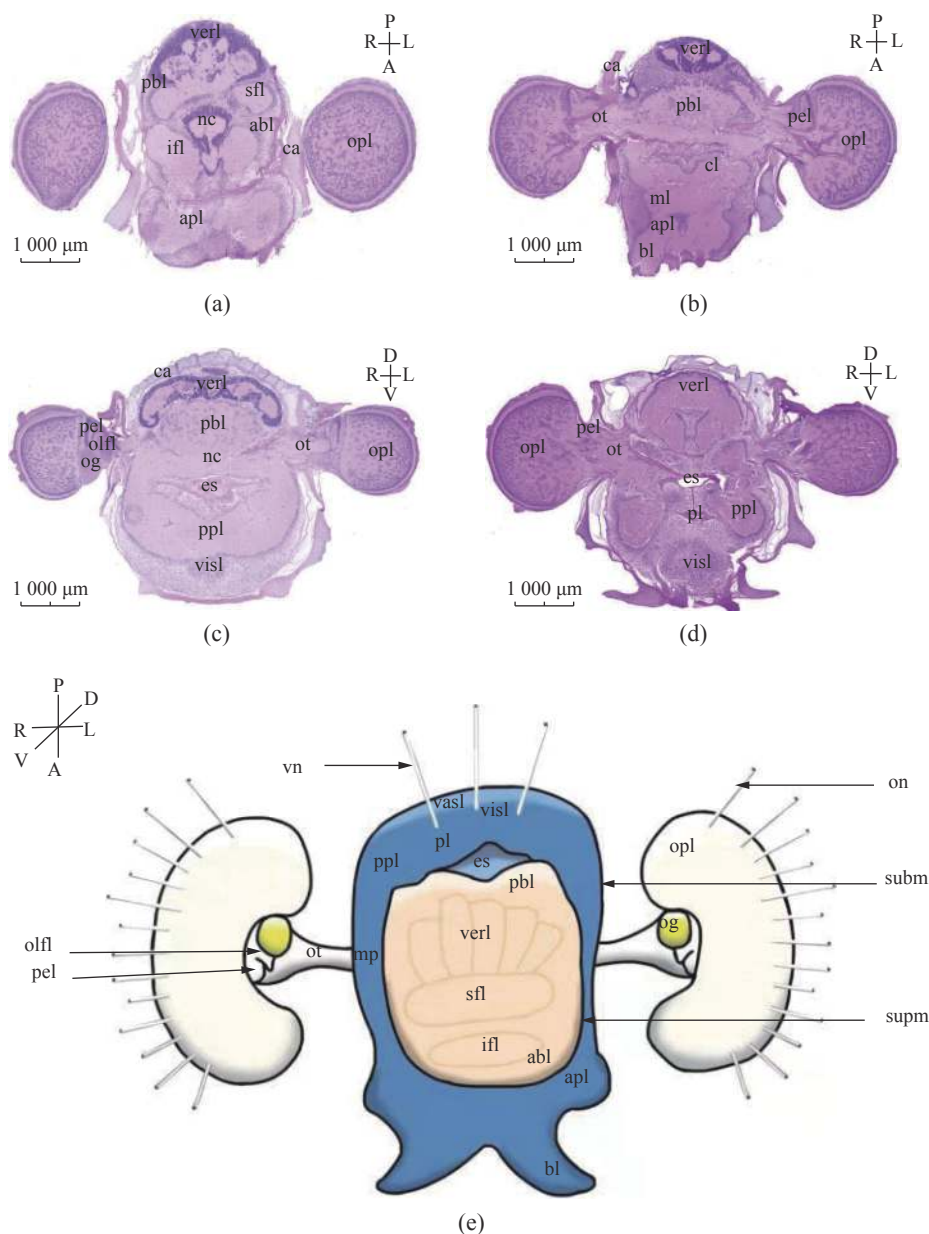


图 3 长蚱脑部组织结构和脑部模式图

(a) 脑纵切, (b) 脑纵切, (c) 脑横切, (d) 脑横切, (e) 脑部模式图。ver1. 垂直叶, sfl. 上额叶, ifl. 下额叶, abl. 前基底叶, pbl. 后基底叶, bl. 腕叶, ml. 巨细胞叶, cl. 色素细胞叶, apl. 前足叶, ppl. 后足叶, mp. 中足叶, visl. 内脏叶, pl. 外套内脏叶, vasl. 血管舒缩叶, vn. 内脏神经, olfl. 嗅叶, pel. 脑脚叶, nc. 神经连合

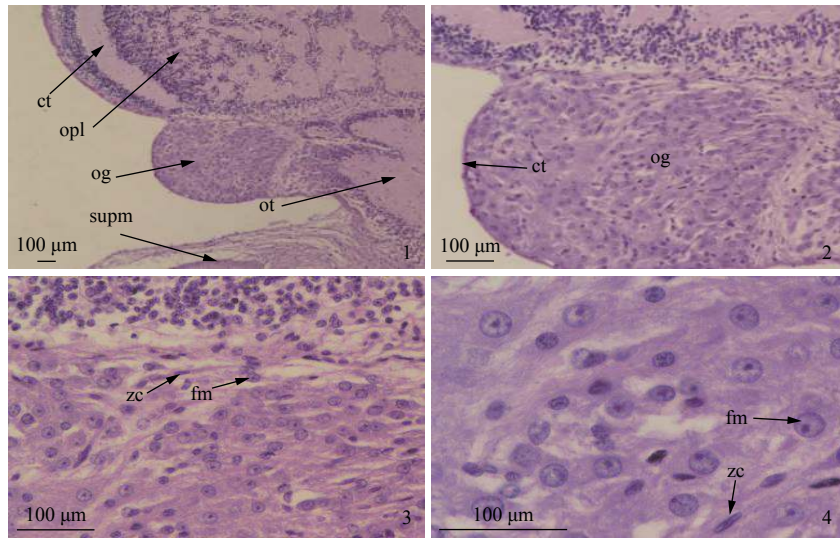
Fig. 3 Brain structure and brain pattern of *O. minor*

(a) brain portrait, (b) brain portrait, (c) brain transect, (d) brain transect, (e) brain pattern. ver1. vertical lobe, sfl. superior frontal lobe, ifl. inferior frontal lobe, abl. anterior basal lobes, pbl. posterior basal lobes, subm. suboesophageal mass, bl. brachial lobe, ml. magnocellular lobe, cl. chromatophore lobe, apl. anterior pedal lobe, ppl. posterior pedal lobe, mp. median pedal lobe, visl. visceral lobe, pl. palliovisceral lobe, vasl. vasomotor lobe, vn. visceral nerve, olfl. olfactory lobe, pel. peduncle lobe, nc. neural commissure

细胞, 细胞核致密、较小, 对视腺起支撑与固定作用 (图版 I -3~4)。

视腺超显微结构 长蚱视腺的分泌细胞较大, 细胞核占比较大 (图版 II -1)。细胞质中含

有丰富的线粒体 (图版 II -2), 为分泌活动提供充足能量。糙面内质网上含有大量的核糖体 (图版 II -3), 能够合成大量多肽, 为分泌神经肽类物质提供基础。分泌细胞不仅含有糙面内质网, 且含

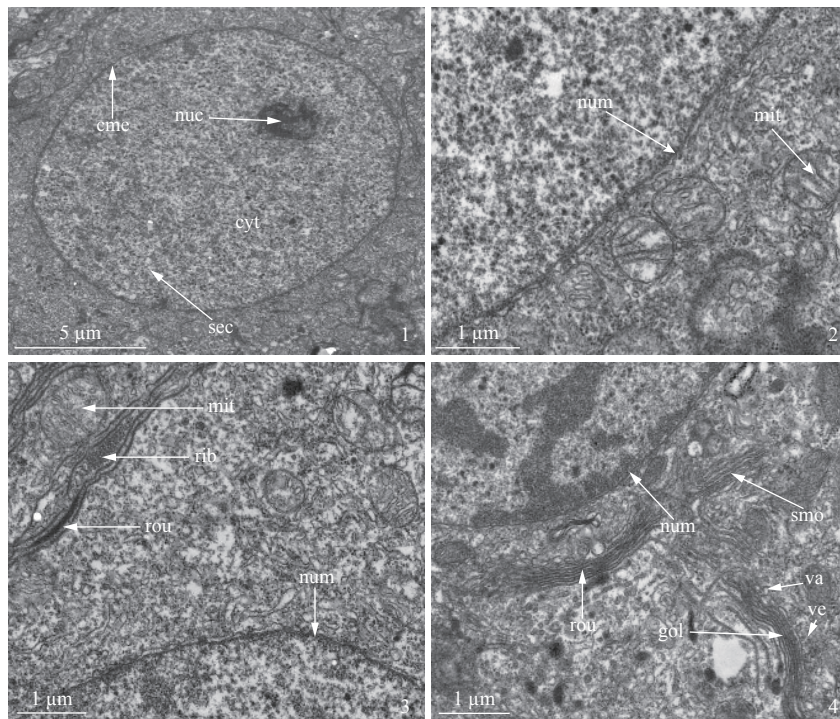


图版 I 长蛸视腺组织结构

1. 视腺位置, $\times 10$; 2. 视腺, $\times 100$; 3. 视腺, $\times 200$; 4. 视腺, $\times 400$; ct. 结缔组织层, fm. 分泌细胞, zc. 支撑细胞

Plate I Optic gland structure of *O. minor*

1. optic gland position, $\times 10$; 2. optic gland, $\times 100$; 3. optic gland, $\times 200$; 4. optic gland, $\times 400$; ct. connective tissue layer, fm. secretory cell, zc. supporting cell



图版 II 长蛸视腺分泌细胞超微结构

1. 分泌细胞, $\times 2000$; 2. 分泌细胞, $\times 8000$; 3. 分泌细胞, $\times 8000$; 4. 分泌细胞, $\times 8000$; nuc. 细胞核, num: 核膜, cyt. 细胞质, cme. 细胞膜, sec. 分泌细胞, gol. 高尔基体, rou. 粗面内质网, smo. 光滑内质网, rib. 核糖体, mit. 线粒体, ve. 小泡, va. 大泡

Plate II Ultrastructure of secretory cells in the optic gland of *O. minor*

1. secretory cell, $\times 2000$; 2. secretory cell, $\times 8000$; 3. secretory cell, $\times 8000$; 4. secretory cell, $\times 8000$; nuc. nucleus, num. nuclear membrane, cyt. cytoplasm, cme. cell membrane, sec. secretory cell, gol. Golgi apparatus, rou. rough endoplasmic reticulum, smo. smooth endoplasmic reticulum, rib. ribosome, mit. mitochondrion, ve. vesicle, va. vacuole

有光滑内质网来合成脂类物质, 高尔基体含有大量合成的分泌小泡和大泡, 构成高尔基复合体(图版 II-4), 表明高尔基体分泌活动较为活跃。

3 讨论

3.1 脑部结构的对比

长蛸的脑部结构与真蛸的脑部结构具有高度相似性^[19], 神经叶及其之间的神经连接相似, 在真蛸的脑部结构中, 视叶区的占比较大, 表明真蛸的视觉功能可能要强于长蛸。长蛸脑部结构与曼氏无针乌贼相比差异较大, 在与曼氏无针乌贼的脑部结构对比中^[4], 发现长蛸脑部中的垂直叶占比更大, 表明长蛸的学习和记忆能力可能要强于曼氏无针乌贼。

3.2 脑部相关功能

经长蛸脑部解剖与石蜡组织切片观察, 长蛸与真蛸、曼氏无针乌贼、商乌贼和枪乌贼的脑部结构相似, 在功能上可能也存在相似性。在对真蛸、欧洲横纹乌贼(*S. officinalis*)、玄妙微鳍乌贼(*Idiosepius paradoxus*)等头足类通过电流刺激、切除与阻断等方式探究了脑部各区域的功能, 并按功能划分为记忆、运动、感觉及分泌等相关的神经中枢^[1, 5, 14, 20]。

学习与记忆 头足类的行为是由高度发达的脑部^[19]主导的, 其中垂直叶参与学习和记忆^[21-22]。将垂直叶切除会严重损害长期记忆和学习能力^[23]。移除垂直叶也会削弱头足类通过模仿同类行为进行学习的独特能力^[24-25]。垂直叶拥有存储长期记忆并对周围环境进行分辨与定位的功能^[2]; 章鱼被切除垂直叶后依然可以缓慢且不完整地学习, 表明脑部其他神经叶也具有学习和记忆功能^[7]; 上额叶和下额叶与学习和捕食行为有关, 垂直叶与上额叶在记忆过程中起着重要作用, 下额叶是章鱼触觉学习的主要部位^[1, 5, 26-28]。

运动 分为高级运动中枢、中级运动中枢与低级运动中枢, 分别位于食道神经团、食道下神经团和周围神经节^[5, 14, 29]。前基底叶主要与头部、腕部和眼睛的位置有关, 在游泳时通过外套膜和漏斗来控制方向; 外侧和内侧基底叶控制色素体和皮肤的运动; 内侧基底叶控制游泳、呼吸、外套膜的运动和各内脏功能; 基底间叶控制着腕的运动; 外侧基底叶和脑脚叶控制眼部运动^[1, 5]。前足叶和后足叶参与腕部

活动的调控; 后足叶控制漏斗和外套膜的肌肉运动; 侧足叶调控眼部肌肉和眼周组织的活动; 腕叶对各腕部的运动进行协调; 外套脏叶调节外套膜肌肉运动和内脏的活动; 血管舒缩叶调控血管的活动; 细胞色素叶调控细胞色素的分布; 细胞色素前叶参与调节皮肤和腕部肌肉的运动^[14, 19]。

感觉 垂直叶接收来自视叶、腕部、口和皮肤感受器的信息输入, 信息经过处理后输出到控制腕部和外套膜的大神经元, 启动攻击或撤退等行为^[7]。下额叶接收来自腕部、口、外套膜和皮肤的信息, 向上传递到上额叶, 信息反馈到口球和腕部^[9]。脑脚叶接收来自视叶的视觉信息和平衡囊的位置信息, 将处理后的信息投射到基底叶和动眼神经中枢, 对眼睛、外套膜、头部、漏斗和腕部的活动进行精细调整^[6]。嗅叶接收嗅觉器官受到外部刺激后所整合的信息, 且该叶在生长和发育过程中起关键作用^[30-32]。视网膜感受外界光线变化产生信息, 经过视神经传递到视叶, 视叶经过初步处理传递到脑脚叶和基底叶中进行进一步处理^[14]。基底叶和脑脚叶接收视觉信息后, 将处理后的信息发送到动眼神经中枢并返回到视叶中, 动眼神经中枢也接收来自平衡囊的信息输入^[9]。

分泌 在未性成熟头足类中, 将与视腺有神经连接的后基底叶切除, 视腺会提前释放生殖激素, 导致雌性卵巢增大并迅速产卵, 产出的卵能够正常孵化, 表明后基底叶参与生殖激素的调控^[6, 15, 33]。在生长发育过程中, 视腺的增大会导致卵巢增大成熟^[32]。视腺的去除, 会导致雌性章鱼卵泡细胞中卵黄蛋白合成停止^[34], 通过添加雄性或雌性视腺的水提取物, 卵黄蛋白合成功能部分恢复^[15]。嗅叶中含有 GnRH、FMRF-amide、APGW-amide 和 NPY 等参与生殖和能量平衡调控相关的神经肽, 且嗅叶神经与视腺相通, 表明嗅叶可通过调节神经肽的分泌进而参与生殖调控^[31-32, 35-36]。在生殖过程中, 头足类存在脑亚脚叶、嗅叶-视腺-性腺神经内分泌调节系统, 类似于哺乳动物中的下丘脑-垂体-性腺神经内分泌调节系统^[37-38]。

3.3 长蛸、曼氏无针乌贼和真蛸视腺的对比

长蛸视腺与曼氏无针乌贼和真蛸视腺的位置和视叶颜色相同, 形状和大小相似^[4, 30-32, 34]。最

大的区别在于颜色,长蛸的视腺为黄色,曼氏无针乌贼的视腺为乳白色,真蛸的视腺为暗黄

色。因此头足类视腺外形相似,颜色和大小因物种不同而存在一定差异(表1)。

表1 长蛸、曼氏无针乌贼和真蛸视腺的对比

Tab. 1 Comparison of the optic glands of *O. minor*, *S. maindroni* and *O. vulgaris*

物种 species	颜色 colour	形状 shape	位置 position	大小 size	视叶颜色 optic lobe color	单侧视神经束长度 length of unilateral optic tract
长蛸 <i>O. minor</i>	黄色	圆球形	视神经束上	中等	乳白色	>2 mm
曼氏无针乌贼 <i>S. maindroni</i>	乳白色	椭圆形	视神经束上	较小	乳白色	<2 mm
真蛸 <i>O. vulgaris</i>	暗黄色	圆球形	视神经束上	较大	乳白色	>2 mm

3.4 视腺功能

视腺是头足类的内分泌腺体,位于头部中与视叶相连的视神经束上,两侧视神经束各1个,形状近球形,受来自视觉和嗅觉神经中枢的直接或间接神经信号的调控,分泌促进性腺成熟的激素^[35, 39-40]。视网膜受光照刺激产生信号,经视神经传递到脑亚脚叶,脑亚脚叶分泌神经肽或传导信号到视腺,从而对视腺的功能起抑制作用^[16, 41]。视腺分泌活动受神经肽的调控,在脑亚脚叶、嗅叶、视叶和脑脚叶中检测到 GnRH 和 FMRF-amide 神经肽,在视腺细胞上发现含有 GnRH 和 FMRF-amide 神经肽的神经末梢,脑亚脚叶可能是 FMRF-amide 神经肽的来源,而嗅叶可能是 GnRH 神经肽的来源^[35, 38, 42]。

参考文献 (References):

- [1] Shigeno S, Yamamoto M. Organization of the nervous system in the pygmy cuttlefish, *Idiosepius paradoxus* Ortmann (Idiosepiidae, Cephalopoda)[J]. *Journal of Morphology*, 2002, 254(1): 65-80.
- [2] Hochner B, Shomrat T, Fiorito G. Marine invertebrate models of learning and memory: the octopus: a model for a comparative analysis of the evolution of learning and memory mechanisms[J]. *The Biological Bulletin*, 2006, 210(3): 308-317.
- [3] Finn J K, Tregenza T, Norman M D. Defensive tool use in a coconut-carrying octopus[J]. *Current Biology*, 2009, 19(23): R1069-R1070.
- [4] 于新秀, 吴常文, 迟长凤. 曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)脑显微结构及视腺超微结构观察[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(2): 300-304.
- Yu X X, Wu C W, Chi C F. Brain microstructure and

optic gland ultrastructure in *Sepiella maindroni*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(2): 300-304(in Chinese).

- [5] Boycott B B. The functional organization of the brain of the cuttlefish *Sepia officinalis*[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1961, 153(953): 503-534.
- [6] Messenger J B. The nervous system of *Loligo* IV. The peduncle and olfactory lobes[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1979, 285(1008): 275-309.
- [7] Young J Z. The Failures of discrimination learning following the removal of the vertical lobes in *Octopus*[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1960, 153(950): 18-46.
- [8] Young J Z. The nervous system of *Loligo* II. Suboesophageal centres[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1976, 274(930): 101-167.
- [9] Young J Z. The nervous system of *Loligo*. V. The vertical lobe complex[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1979, 285(1009): 311-354.
- [10] Andrew P. The brains and lives of cephalopods[J]. *Journal of Plankton Research*, 2004, 26(3): 383-385.
- [11] Voss N A, Sweeney M J. Systematics and biogeography of cephalopods. Volume I [J]. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 1988: 1-276.
- [12] 钱耀森, 郑小东, 王培亮, 等. 天鵝湖长蛸营养成分的分析及评价[J]. *海洋科学*, 2010, 34(12): 14-18.
- Qian Y S, Zheng X D, Wang P L, et al. Analysis and evaluation of nutritive composition of *Octopus minor* in Lake Swan[J]. *Marine Sciences*, 2010, 34(12): 14-18(in Chinese)

- Chinese).
- [13] 薛静, 马继民, 张信祥, 等. 两种海洋蛸类营养成分分析与评价[J]. 中国食品学报, 2015, 15(12): 203-211.
Xue J, Ma J M, Zhang X X, *et al.* Analysis and quality evaluation of nutritional components in the muscle of two kinds of octopus[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(12): 203-211(in Chinese).
- [14] Messenger J B. The effects on locomotion of lesions to the visuo-motor system in *Octopus*[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1967, 167(1008): 252-281.
- [15] Wells M J, O'Dor R K, Buckley S K L. An *in vitro* bioassay for a molluscan gonadotropin[J]. The Journal of Experimental Biology, 1975, 62(2): 433-446.
- [16] Wells M J, Wells J. Hormonal control of sexual maturity in *Octopus*[J]. Journal of Experimental Biology, 1959, 36(1): 1-33.
- [17] Wells M J, Wells J. Optic glands and the state of the testis in *Octopus*[J]. *Marine Behaviour and Physiology*, 1972, 1(1-4): 71-83.
- [18] Arrieche D. Ultrastructure of the optic gland of the squid *Sepiotheutis sepioidea* (Cephalopoda: Loliginidae)[J]. Revista de Biología Tropical, 1999, 47(4): 831-842.
- [19] Newth D R. The anatomy of the nervous system of *octopus vulgaris*[J]. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 1972, 35(3): 421.
- [20] Young J Z. The nervous system of *loligo*, III. Higher motor centres: the basal supraoesophageal lobes[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 1977, 276(948): 351-398.
- [21] Sanders G D. The cephalopods[M]//Corning W C, Dyal J A, Willows A O D. Invertebrate Learning. Boston: Springer, 1975: 1-101.
- [22] Graziadei P P C. A cephalopod. (Book reviews: octopus. Physiology and behaviour of an advanced invertebrate)[J]. Science, 1979, 204(4392): 492-493.
- [23] Boycott B B, Young J Z. A memory system in *Octopus vulgaris* Lamarck[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1955, 143(913): 449-480.
- [24] Fiorito G, Chichery R. Lesions of the vertical lobe impair visual discrimination learning by observation in *Octopus vulgaris*[J]. *Neuroscience Letters*, 1995, 192(2): 117-120.
- [25] Fiorito G, Scotto P. Observational Learning in *Octopus vulgaris*[J]. *Science*, 1992, 256(5056): 545-547.
- [26] Wells M J, Wells J. The function of the brain of *Octopus* in tactile discrimination[J]. Journal of Experimental Biology, 1957, 34: 131-142.
- [27] Wells M J, Wells J. The effect of lesions to the vertical and optic lobes on tactile discrimination in *Octopus*[J]. Journal of Experimental Biology, 1957, 34(3): 378-393.
- [28] Young J Z. Learning and discrimination in the octopus[J]. *Biological Reviews*, 1961, 36(1): 32-95.
- [29] Carpenter M B. A model of the brain[J]. *Neurology*, 1965, 15(5): 506.
- [30] Di Cosmo A, Polese G. Cephalopods meet neuroecology: the role of chemoreception in *Octopus vulgaris* reproductive behavior. Neuroecology and neuroethology in molluscs-the interface between behaviour and environment[M]//Di Cosmo A, Winlow W. Neuroecology and Neuroethology in Molluscs: the interface between Behaviour and Environment. New York: NOVA Science Publishers, 2014: 117-132.
- [31] Polese G, Bertapelle C, Di Cosmo A. Olfactory organ of *Octopus vulgaris*: morphology, plasticity, turnover and sensory characterization[J]. *Biology Open*, 2016, 5(5): 611-619.
- [32] Polese G, Bertapelle C, Di Cosmo A. Role of olfaction in *Octopus vulgaris* reproduction[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2015, 210: 55-62.
- [33] Froesch D. The subpedunculate lobe of the octopus brain: evidence for dual function[J]. *Brain Research*, 1974, 75(2): 277-285.
- [34] O'Dor R K, Wells M J. Yolk protein synthesis in the ovary of *Octopus vulgaris* and its control by the optic gland gonadotropin[J]. The Journal of Experimental Biology, 1973, 59(3): 665-674.
- [35] Di Cosmo A, Di Cristo C. Neuropeptidergic control of the optic gland of *Octopus vulgaris*: FMRF-amide and GnRH immunoreactivity[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 1998, 398(1): 1-12.
- [36] Di Cristo C, van Minnen J, Di Cosmo A. The presence of APGWamide in *Octopus vulgaris*: a possible role in the reproductive behavior[J]. *Peptides*, 2005, 26(1): 53-62.
- [37] Minakata H, Shigeno S, Kano N, *et al.* Octopus gonadotropin-releasing hormone: a multifunctional peptide in

- the endocrine and nervous systems of the cephalopod[J]. *Journal of Neuroendocrinology*, 2009, 21(4): 322-326.
- [38] Iwakoshi-Ukena E, Ukena K, Takuwa-Kuroda K, *et al.* Expression and distribution of octopus gonadotropin-releasing hormone in the central nervous system and peripheral organs of the octopus (*Octopus vulgaris*) by in situ hybridization and immunohistochemistry[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 2004, 477(3): 310-323.
- [39] Wells M J, Wells J. Pituitary analogue in the octopus[J]. *Nature*, 1963, 222(5190): 293-294.
- [40] Durchon M, Richard A. Étude, en culture organotypique, du rôle endocrine de la glande optique dans la maturation ovarienne chez *Sepia officinalis* L. (Mollusque Céphalopode)[J]. *Science*, 1967, 264: 1497-1500.
- [41] Boyle P R, Thorpe R S. Optic gland enlargement and female gonad maturation in a population of the octopus *Eledone cirrhosa*: a multivariate analysis[J]. *Marine Biology*, 1984, 79(2): 127-132.
- [42] Onitsuka C, Yamaguchi A, Kanamaru H, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of a GnRH-like dodecapeptide in the swordtip squid, *Loligo edulis*[J]. *Zoological Science*, 2009, 26(3): 203-208.

Microstructure of brain and ultrastructure of optic gland of *Octopus minor*

ZHU Zhifa^{1,2}, BIAN Li^{2,3}, CHEN Siqing^{2,3*}, WANG Yamei^{1,4}, ZHANG Pengfei^{1,2}, LI Fenghui^{1,2}, ZHANG Shengnong^{2,3}, GE Jianlong^{2,3}, CHANG Qing^{2,3}, LIU Changlin^{2,3}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,

Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China;

4. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090)

Abstract: The brain structure of *Octopus minor* was observed by anatomy and paraffin section. The results showed that the brain was divided into three parts according to the location of the esophagus: the supraoesophageal mass, the suboesophageal mass and the optic lobe area on both sides of the supraoesophageal mass and the suboesophageal mass. The supraoesophageal mass includes the vertical lobe, the superior frontal lobe, the inferior frontal lobe, the anterior basal lobes and the posterior basal lobes. The suboesophageal mass includes the brachial lobe, the pedal lobe, the magnocellular lobe, the chromatophore lobe, the visceral lobe, the palliovisceral lobe and the vasomotor lobe. The optic lobe area includes the optic nerve, the optic lobe, the optic gland, the olfactory lobe, the peduncle lobe and the optic tract. Paraffin section, optical microscope and transmission electron microscope were used to observe the microstructure and ultrastructure of the optic gland. The results showed that there was a layer of connective tissue wrapped outside the optic gland, which was located in the optic tract area, adjacent to the olfactory lobe and the peduncle lobe. A large number of secretory cells were observed in the inner part, with a relatively large nucleus and a diameter range of 4-8 μm . The secretory cells were rich in rough endoplasmic reticula, Golgi apparatus, secretory vesicles and vacuoles secreted by Golgi apparatus. The results showed that the structural characteristics of the optic glands of *O. minor* were similar to those of *Sepiella maindroni* and *O. vulgaris*.

Key words: *Octopus minor*; brain; optic gland; microstructure; ultrastructure

Corresponding author: CHEN Siqing. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

Funding projects: Special Fund for the Construction of Modern Agricultural Industry Technology System (CARS-49); Basic Scientific Research Business Fee of Chinese Academy of Fishery Sciences (2020GH02)