

4 种常见头足类动物的血细胞分类及比较*

宋微微 王春琳 励迪平 母昌考 李荣华

(1. 宁波大学海洋学院 宁波 315211; 2. 应用海洋生物技术教育部重点实验室 宁波 315211)

提要 以长蛸(*Octopus variabilis*)、短蛸(*Octopus ocellatus*)、真蛸(*Octopus vulgaris*)和曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)的血细胞为研究对象,通过光镜和电镜观察对血液中的血细胞形态结构进行比较。根据观察结果,将头足类血细胞分成 3 种类型:透明细胞,小颗粒细胞和颗粒细胞,但在真蛸血细胞中有一定数量的血细胞其细胞核呈马蹄形,因此将此类细胞独立划为马蹄形核细胞。通过比较发现,曼氏无针乌贼的血细胞与其它 3 个种存在明显的差异,其胞质内的颗粒数量与性质均与其它 3 个种有较明显的区别差异。从总体来看,头足类血细胞内含颗粒数量较少,其颗粒的数量与免疫力的强弱无直接关联。通过对比,推断真蛸血细胞中的马蹄形核细胞为透明细胞到小颗粒细胞的中间类型,从而得出此 4 个类型细胞有从透明细胞 马蹄形核细胞 小颗粒细胞 颗粒细胞的发育进程。

关键词 长蛸;短蛸;真蛸;曼氏无针乌贼;血细胞

中图分类号 Q786, Q789

头足类动物在分类上属软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda),主要经济种类有乌贼科(Sepiidae)、枪乌贼科(Loliginidae)、柔鱼科(Ommastrephidae)和蛸科(Octopodidae),全部为海产。近几十年来,头足类逐步成为世界主要的海洋渔业之一,尤其在无脊椎动物中占有重要地位。1978—1988 年间,全世界头足类产量已达 2×10^6 t (Carvalho *et al*, 1998)。头足类具有高营养、生活史较短(通常为一年)和生长快等特点,而且占据着海洋生物食物链举足轻重的位置。头足类是很有前途的海水养殖种类,同时也是海洋中最大、最具潜在价值的蛋白质资源(Nesis, 1987)。多年来,在头足类的分类区系、形态解剖、胚胎发育、生理生态和渔业资源等基础研究和应用研究方面做了许多工作(李嘉泳, 1965; 李复雪, 1983; 董正之, 1993),但对于头足类免疫和抗病力的研究未见报道。

免疫防御体系是软体动物抗病力的基础,但其免疫反应要比高等动物简单得多(Couleau *et al*,

2012)。软体动物免疫系统属非特异免疫系统,不能产生免疫球蛋白,缺乏抗体介导的免疫反应,然而它们却能以不同的方式抵御病原体的侵袭并能识别异己物质,其免疫反应具有不同于脊椎动物的一些独特的性质,主要包括血细胞的吞噬、包掩和多种非免疫球蛋白的血清因子介导的非特异性免疫(Cheng *et al*, 1987)。血细胞在清除病原体、修复伤口中有着重要作用。因此软体动物的血细胞形态、结构、数量一直是作为研究软体动物机体免疫防御能力的一个重要指标(Zhang *et al*, 2013)。关于头足类血细胞方面的研究目前在国内外均比较少,所进行的研究也不够详细和全面。

本文以 4 种常见头足类曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)、长蛸(*Octopus variabilis*)、短蛸(*O. ocellatus*)、真蛸(*O. vulgaris*)的血液为研究对象,通过光镜电镜手段对其血细胞形态结构进行详细的观察,并参考其它无脊椎动物血细胞分类依据进行分类,旨在为头足类血细胞及其免疫功能研究提供理论依据。

* 国家自然科学基金项目资助, 41206114 号, 41176124 号; 教育部博士点基金资助, 20103305110003 号; 浙江省自然科学基金重点项目资助, Z3110482 号; 浙江省自然科学基金项目资助, LQ12C19002 号。宋微微, E-mail: songweiwei@nbu.edu.cn

通讯作者: 王春琳, 教授, E-mail: wangchunlin@nbu.edu.cn

收稿日期: 2012-05-23, 收修改稿日期: 2012-08-16

1 材料与方 法

1.1 实验材料

曼氏无针乌贼购自福建霞浦, 体重为(20.2±2.5)g; 真蛸[体重(30.6±3.2)g]、短蛸[体重(15.6±1.2)g]和长蛸[体重(33.6±2.2)g], 购自宁波市水产大世界。暂养 2d, 以除去由应激反应引起的体内免疫变化。将活体头足类个体的外套膜剪开心脏取血, 将血液与抗凝剂 1:1 混合均匀, 制成血细胞悬液。

1.2 血细胞密度

将取到的血细胞悬液用血球计数板在显微镜下计数。每次取 5 个个体血液, 每份样品计数 3 次。根据下式计算出每 mL 血液中的血细胞数目。

血细胞密度(Total Haemocyte Count, THC)(血细胞个数/mL) = 50000×A×B

式中, A 为 5 个方格中总血细胞数, B 为稀释倍数。

1.3 血细胞分类

将上述新鲜血液进行涂片并染色。参考王凤计(2002)方法加以改进, 用瑞氏染液 缓冲液按 1:3 比例进行染色, 染色时间 10—20min, 小水流冲洗掉涂片上染液, 冲洗过程中不断晃动涂片使染液残渣不易沉淀, 待涂片自然风干后置于光镜下观察。在油镜视野内随机选取 200 个细胞, 观察血细胞的形态特征, 依据其核质比, 以及细胞质内是否具有颗粒, 颗粒的大小和密度, 细胞核、细胞质以及胞质颗粒的着色情况等对血细胞进行初步分类。

1.4 电镜样品制备

将血液与抗凝剂 1:1 混合后放入 4℃ 冰箱 2h, 然后以 3000r/min 离心 10min, 吸出上清液, 在沉淀中加入 4℃ 预冷的 5% 戊二醛固定。离心后取血细胞沉淀, 包埋于 3% 琼脂内, 冷凝成凝胶块后, 将样品区切成 1mm³ 大小。然后经梯度脱水、锇酸后固定、树脂包埋、超薄切片和醋酸铀染色后, Nikon H-7650 透射电镜下观察。

2 结果

2.1 血细胞分类

在光镜下, 血细胞核被染成紫色, 深浅稍有差别; 细胞质基本无色, 胞质内所见为浅蓝色或淡红色、大小不一、密度不一的颗粒。根据无脊椎动物血细胞常见分类依据: 血细胞的形态特征、核质比、细胞质内是否具有颗粒、颗粒的大小和密度、细胞核、细胞质以及胞质颗粒的着色情况, 将曼氏无针乌贼、短蛸、

长蛸 3 种头足类的血细胞分为 3 种类型。

(1) 透明细胞(Hyaline homocytes, HH): 细胞体积小, 圆形或椭圆形; 细胞核也为圆形或椭圆形; 细胞核在细胞中所占的空间大, 细胞质所占的空间很小, 有时几乎不可见; 细胞质较为均一, 没有发现颗粒状物质, 仅有少许很小的低密度颗粒。见图 1a、c、f、j。电镜观察结果为细胞表面光滑偶有某些区域呈锯齿状, 细胞质中含有少量的低密度颗粒, 细胞器稀少。细胞核较大, 核膜内侧有一定量染色质, 还有部分染色质呈岛状分布在核中央。超微结构显示核质比大, 核占据细胞大部分体积。见图 2a、d、g、k。

(2) 小颗粒细胞(Smallgranular homocytes, SGH): 细胞体积介于透明细胞与颗粒细胞之间, 圆形或椭圆形, 偶有不规则形状出现; 细胞核近圆形, 略偏于细胞一侧; 细胞核在细胞中所占的空间比较大, 细胞质所占空间较小; 细胞质内有一定密度大小较为均一的小颗粒, 偶有伪足伸出。见图 1b、d、g、k。电镜观察结果为细胞圆形或卵圆形, 细胞质内含有数量不等、具有一定密度的小颗粒, 颗粒有椭圆形、圆形、肾形等, 颗粒外包被单层膜, 偶见粗面内质网、线粒体和一些游离核糖体。细胞核略偏于细胞一侧, 核内染色质丰富, 分布在核膜内侧以及呈岛状分布在核中央。见图 2b、e、h、l。

(3) 颗粒细胞(Granular homocytes, GH): 细胞体积大, 多为卵圆形或不规则形; 细胞核在细胞中所占的空间小, 常偏于细胞一侧; 细胞质所占空间大; 有较多大小不均的浓密颗粒, 偶有伪足伸出。见图 1e、h、l。电镜观察结果为细胞圆形或卵圆形, 细胞质内含有数量不等、具有一定密度的小颗粒, 颗粒有椭圆形、圆形、肾形等, 颗粒外包被单层膜, 偶见粗面内质网、线粒体和一些游离核糖体。细胞核略偏于细胞一侧, 核内染色质丰富, 分布在核膜内侧以及呈岛状分布在核中央。见图 2c、f、i。

(4) 在真蛸血细胞涂片中观察到, 另有一类与上述 3 类明显不同的细胞, 其细胞核呈马蹄状, 故暂命名为马蹄形核细胞(U-shaped nuclear homocytes, UNH): 细胞体积与颗粒细胞类似, 圆形或椭圆形; 细胞核近中央位置有明显的凹陷, 凹陷程度不一, 核偏于细胞一侧, 紧贴细胞壁; 细胞核占细胞空间 50% 左右; 细胞质内较为均一, 偶见颗粒状物质。见图 1i。电镜观察结果为细胞多为近圆形, 偶见不规则形状, 细胞质内含有定量的小颗粒以及一些大颗粒, 但密度均不大, 细胞器稀少。细胞核较大, 位于近中央

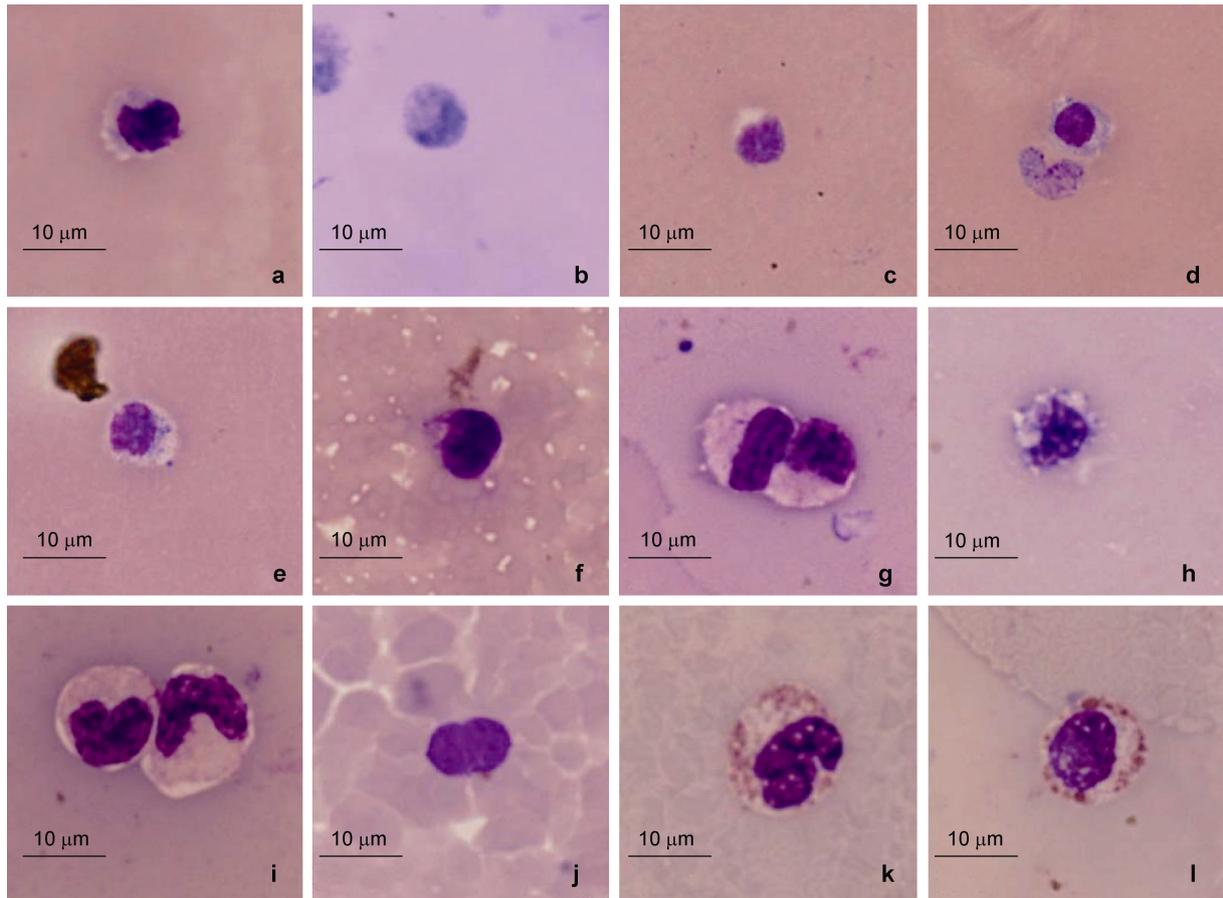


图 1 4 种头足类血细胞显微镜下的形态

Fig.1 Morphology of hemocytes in four species of cephalopod by microscope

a. 长蛸透明细胞; b. 长蛸小颗粒细胞; c. 短蛸透明细胞; d. 短蛸小颗粒细胞; e. 短蛸颗粒细胞; f. 真蛸透明细胞; g. 真蛸小颗粒细胞; h. 真蛸颗粒细胞; i. 真蛸马蹄形核细胞; j. 曼氏无针乌贼透明细胞; k. 曼氏无针乌贼小颗粒细胞; l. 曼氏无针乌贼颗粒细胞。(放大倍数 $\times 1000$)

位置, 呈马蹄形, 核中央位置明显凹陷, 整个核被拉长, 核内染色质相当丰富, 分布在核膜内侧以及呈岛状分布在核中央, 核中央的凹陷并未影响染色质的分布, 反而在凹陷部位的核膜内密度更大, 见图 2j。

2.2 血细胞密度及各类血细胞所占比例比较

4 种头足类的血细胞数量由多到少依次为曼氏无针乌贼>短蛸>真蛸>长蛸, 但经统计分析后显示均无显著差异($P>0.05$)。由表 1 可知, 3 种类型细胞所占比例均为小颗粒细胞>透明细胞>颗粒细胞, 且 4 种头足类中小颗粒细胞所占比例均显著大于其它两类细胞($P<0.01$); 而除短蛸的透明细胞与颗粒细胞所占比例无显著差异外, 其它 3 种透明细胞所占比例均显著大于颗粒细胞($P<0.01$)。4 种头足类透明细胞所占比例从多到少依次为长蛸>曼氏无针乌贼>真蛸>短蛸, 显著性分析结果表明, 小颗粒细胞所占比例从多到少依次为短蛸>曼氏无针乌贼>真蛸>长蛸, 其中除短蛸

显著大于真蛸外($P<0.01$)其余种间均无显著差异; 颗粒细胞所占比例从多到少依次为短蛸>曼氏无针乌贼>长蛸>真蛸, 两两之间均有显著差异($P<0.01$)。真蛸马蹄形核细胞占血细胞总量的 $18.44\% \pm 1.50\%$, 居 4 种类型细胞中的第 2 位, 仅次于小颗粒细胞。

2.3 血细胞大小比较

4 种头足类 3 类血细胞大小依次为颗粒细胞>小颗粒细胞>透明细胞。由表 2 可知, 4 种头足类透明细胞大小依次为真蛸>曼氏无针乌贼>短蛸>长蛸; 小颗粒细胞大小依次为真蛸>曼氏无针乌贼>短蛸>长蛸, 与透明细胞相同, 而其两两间差异的显著性比较与透明细胞也完全相同; 颗粒细胞大小依次为短蛸>真蛸>曼氏无针乌贼>长蛸, 两两间均无显著差异。真蛸马蹄形核细胞的大小为 $13.26\mu\text{m} \times 11.43\mu\text{m}$, 仅次于颗粒细胞。

2.4 血细胞形态与超微结构比较

4 种头足类血细胞的形态与特点比较见表 3。

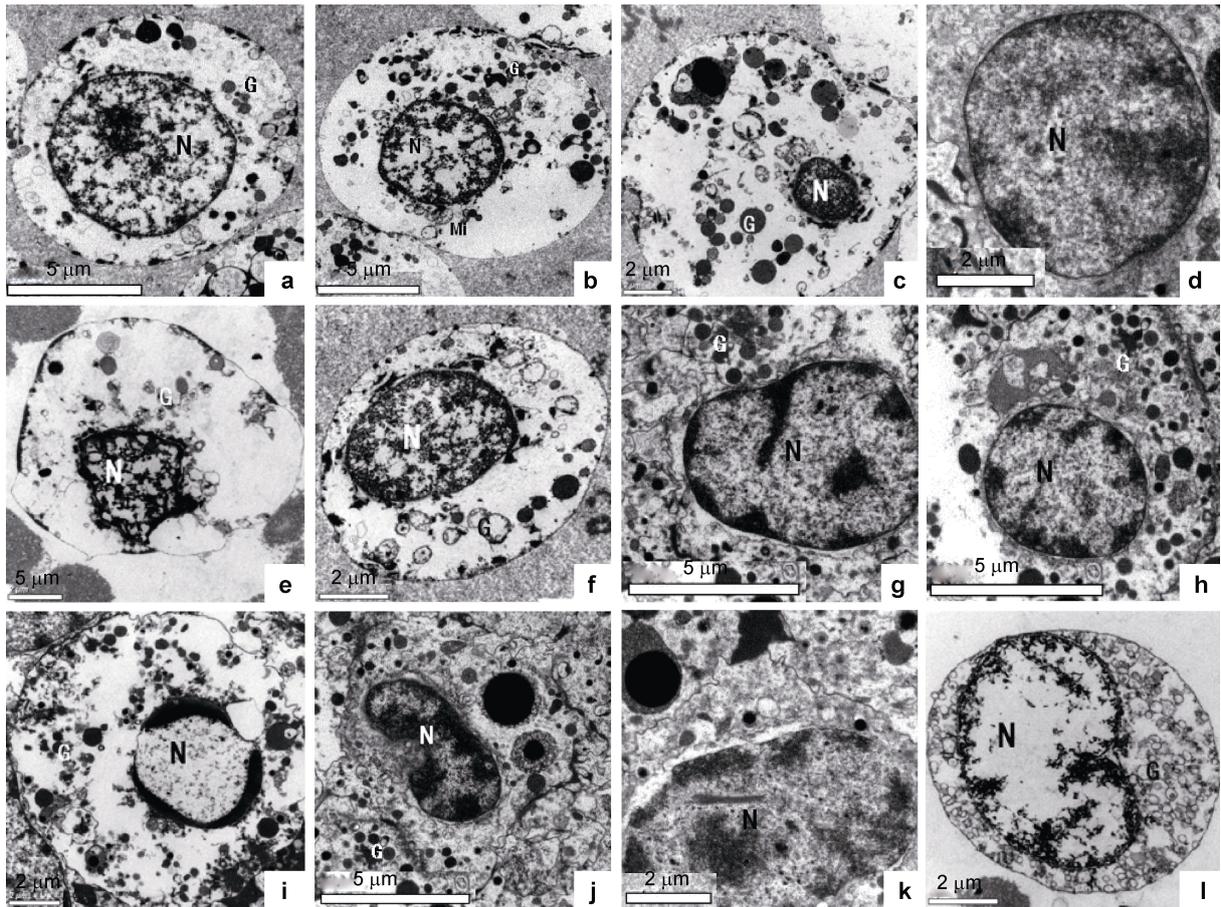


图2 4种头足类血细胞亚显微结构

Fig.2 Ultrastructure of hemocytes in four species of cephalopod by TEM

a. 长蛸透明细胞; b. 长蛸小颗粒细胞; c. 长蛸颗粒细胞; d. 短蛸透明细胞; e. 短蛸小颗粒细胞; f. 短蛸颗粒细胞; g. 真蛸透明细胞; h. 真蛸小颗粒细胞; i. 真蛸颗粒细胞; j. 真蛸马蹄形核细胞; k. 曼氏无针乌贼透明细胞; l. 曼氏无针乌贼小颗粒细胞。

N: 细胞核; G: 颗粒; Mi: 线粒体; RER: 粗面内质网

表1 4种头足类血细胞的分类细胞比例

Tab.1 Comparison on proportion of hemocytes in four species of cephalopod

血细胞类型	长蛸(<i>O. variabilis</i>)		短蛸(<i>O. ocellatus</i>)		真蛸(<i>O. vulgaris</i>)		曼氏无针乌贼(<i>S. maindroni</i>)	
	($X \pm SD$)%	CV%	($X \pm SD$)%	CV%	($X \pm SD$)%	CV%	($X \pm SD$)%	CV%
透明细胞(HH)	30.95 \pm 12.52	40.46	12.46 \pm 1.50	20.06	13.45 \pm 3.50	26.02	23.12 \pm 8.00	34.60
小颗粒细胞(SGH)	66.56 \pm 13.02	19.56	76.08 \pm 4.00	5.26	66.61 \pm 4.50	6.76	72.69 \pm 9.01	12.40
颗粒细胞(GH)	2.48 \pm 0.50	20.17	11.46 \pm 1.50	13.09	1.50 \pm 0.50	33.33	4.19 \pm 1.05	25.06
马蹄形核细胞(UNH)	—	—	—	—	18.44 \pm 1.50	8.13	—	—
血细胞数量(THC) (10^6 ind/ml)	2.50 \pm 0.85	34.18	3.4 \pm 1.66	48.95	3.25 \pm 0.92	28.36	3.78 \pm 1.65	43.52

注: $X \pm SD$ 为平均值 \pm 标准差; CV 为变异系数

3 讨论

3.1 血细胞的类型及其功能

研究结果表明, 头足类血细胞数量的结果处于同一水平上, 并无显著差异, 与虾蟹类以及其它贝类血细胞数量亦相近(Oliver *et al.*, 2011)。从变异系数可

以看出血细胞数量在个体间差异很大, 此结果与周晖等(2005)对4种虾类血细胞研究的结果一致。血细胞数量的变化与机体免疫力的强弱直接相关, 因此THC 可以作为研究机体免疫力变化的一个重要指标(Garcia-Garcia *et al.*, 2008)。头足类透明细胞所占比例远远大于对虾透明细胞, 而颗粒细胞的比例是3种细

表 2 4 种头足类的血细胞大小比较
Tab.2 Comparison on size of hemocytes in four species of cephalopod

血细胞类型	血细胞参数	长蛸(<i>O. variabilis</i>)		短蛸(<i>O. ocellatus</i>)		真蛸(<i>O. vulgaris</i>)		曼氏无针乌贼(<i>S. maindroni</i>)	
		X±SD	CV%	X±SD	CV%	X±SD	CV%	X±SD	CV%
透明细胞 (HH)	CL	8.48±2.89	34.08	8.75±2.01	22.97	11.33±2.27	20.03	9.72±3.17	32.61
	CS	8.41±2.73	32.46	8.60±2.17	25.23	11.00±1.95	17.76	9.17±2.50	27.26
	NL	7.75±2.49	32.13	8.20±1.66	20.24	10.21±2.28	22.33	8.19±2.66	32.48
	NS	7.57±2.17	28.67	7.65±1.21	15.82	8.25±1.99	24.12	7.64±2.11	27.62
小颗粒细胞 (SGH)	CL	11.35±2.90	25.55	11.79±1.44	12.21	12.68±1.72	13.56	12.02±2.85	23.71
	CS	10.48±2.62	25.00	11.66±1.33	11.41	12.43±1.28	10.30	11.69±2.60	22.24
	NL	7.68±2.16	28.13	8.15±1.19	14.60	8.82±1.51	17.12	7.65±1.90	24.84
	NS	6.81±1.76	25.84	8.08±1.17	14.48	8.53±1.11	13.01	7.31±1.83	25.03
颗粒细胞 (GH)	CL	11.94±3.32	27.81	14.46±2.89	19.99	13.75±1.37	9.96	12.92±2.35	18.19
	CS	11.48±2.49	21.70	12.55±2.08	16.57	13.75±1.37	9.96	12.75±2.19	17.18
	NL	4.75±1.64	34.53	6.85±1.72	25.11	6.25±0.79	12.64	5.83±1.41	24.19
	NS	4.58±1.26	27.51	6.36±1.41	22.17	6.25±0.79	12.64	5.71±1.42	24.87
马蹄形核细胞 (UNH)	CL					13.26±2.62	19.76		
	CS					11.43±1.89	16.54		
	NL					12.32±1.66	13.47		
	NS					8.30±1.41	16.99		
	C					4.82±1.51	31.32		

注: 血细胞数据单位为 μm 。CL 为细胞长径(cell long diameter); CS 为细胞短径(cell short diameter); NL 为细胞核长径(nucleolus long diameter); NS 为细胞核短径(nucleolus short diameter); C 为凹陷处长核(the length of the sunken place of nucleolus)

表 3 4 种头足类血细胞的形态与超微结构特点
Tab.3 Comparison on ultrastructure characteristic of hemocytes in four species of cephalopod

血细胞类型	长蛸(<i>O. variabilis</i>)	短蛸(<i>O. ocellatus</i>)	真蛸(<i>O. vulgaris</i>)	曼氏无针乌贼(<i>S. maindroni</i>)
透明细胞 (HH)	细胞表面光滑, 细胞质中含有少数颗粒, 偶见有几个较大颗粒, 几未见细胞器, 有少量游离核糖体。	细胞形状不规则, 某些区域细胞膜呈锯齿状, 细胞质中有一些颗粒, 基本未见有细胞器和游离核糖体分布	细胞近圆形, 表面稍有变形, 细胞质内含物不明显	细胞近椭圆形, 表面较光滑, 细胞质内含物不明显
小颗粒细胞 (SGH)	细胞卵圆形, 细胞质内小颗粒密度较大, 颗粒以圆形居多, 偶见粗面内质网, 有一定量线粒体和游离核糖体	细胞圆形或卵圆形, 偶有不规则形状, 细胞质内含有一定量小颗粒, 颗粒大小不等	细胞卵圆形, 细胞质内含有高密度小颗粒, 偶见有大颗粒出现	细胞圆形, 细胞质内含有高密度小颗粒, 且与其它 3 个种相比颗粒内填充物很少, 颗粒大多未被染色
颗粒细胞 (GH)	近圆形, 细胞质中含大量大颗粒并混杂少量小颗粒, 可见一些线粒体、游离核糖体和数个空泡	细胞椭圆形, 细胞质中含有大量大颗粒并有一定量小颗粒混杂, 可见一些线粒体	细胞圆形, 某些区域稍有变形或伪足样突起, 细胞质内含有大颗粒并伴有一定密度小颗粒	细胞圆形, 细胞质中含有大量大颗粒并混杂高密度小颗粒, 所含大颗粒也与其它 3 个种不同, 颗粒内填充物稀少, 大多未被染色
马蹄形核细胞 (UNH)			细胞形状不规则, 细胞质内含有一些小颗粒, 与数个大颗粒	

胞中最小的, 这一点亦与对虾不同, 其原因可能是透明细胞的含量多一方面是在绝对数量上的增多, 另一方面则是由于在光镜下看不到颗粒的细胞较多, 电镜下可见到即使是透明内亦含有颗粒, 因此认为细胞内颗粒较小, 不易辨认, 或细胞质颗粒的着色过浅,

而头足类颗粒细胞内较低的颗粒含量则更促使透明细胞量的增多。

本研究中, 头足类细胞颗粒不明显主要原因是细胞内颗粒密度过低导致透明细胞的绝对比例增多。小颗粒细胞比例占绝对优势可能是因为光镜观察中

细胞质内大颗粒的缺乏,以及大颗粒细胞绝对数量的减少。廖永岩等(2002)认为斑节对虾颗粒不明显是因为细胞破裂或颗粒排出。4个种间每类细胞的比例比较结果可从一定程度上反映出每个种间免疫力的差异情况,两类有较强免疫防御作用的颗粒细胞含量均表现为短蛸与曼氏无针乌贼最大,透明细胞的含量长蛸与曼氏无针乌贼最大,但如考虑作为中间型细胞存在的马蹄形核细胞,那么真蛸的透明细胞比例将是最高,因此可推测透明细胞在真蛸机体免疫方面有其特殊的作用及地位。

头足类4个种3类血细胞大小比较的顺序与虾蟹类相同(于建平,1993;李光友等,1995;周玉,2003;周晖等,2005),而3类血细胞的大小也基本与虾蟹类处于同一变化范围内。4个种类的透明细胞与小颗粒细胞大小顺序完全相同揭示了4个种类细胞大小的规律性,真蛸具有较大的血细胞,而长蛸的血细胞最小。虽然血细胞的大小与免疫能力的强弱并无关联,但作为各类型细胞进一步深入研究的基础性数据仍有其特殊的意义和作用。

3.2 血细胞的发育进程

在观察中发现真蛸的血细胞里有一类非常特殊的细胞,它的细胞核形如马蹄,比起普通的细胞核来,明显较长,核有分裂的趋势,因此推测此类细胞乃透明细胞与小颗粒细胞的中间型。王晶等(2007)将血细胞分为大透明细胞、小透明细胞、小颗粒细胞、大颗粒细胞4类,证明小透明细胞是大颗粒细胞完成全质分泌后的残余胞体。杨军等(2002)认为河蚌从颗粒细胞与透明细胞之间存在的中间类型细胞,可能颗粒细胞在生命过程中逐渐失去颗粒,而衰老形成透明细胞。廖永岩等(2002)则认为斑节对虾无颗粒细胞属新生细胞,小颗粒细胞有可能从无颗粒细胞分化而来,颗粒细胞可能是最成熟的细胞。而陆宏达(2002)也认为中华绒螯蟹无颗粒细胞处于细胞发育的早期阶段,它可能是3种有颗粒细胞的共同母细胞。本研究中观察到的马蹄形核细胞细胞质内颗粒含量少,核质内有染色质富集,沈亦平等(1993)观察到皱纹冠鲍透明细胞有双核现象,与本实验观察的结果有相似之处,因此马蹄形核细胞可能是透明细胞拉长所致,并最终继续发育成小颗粒细胞。而马蹄形核细胞在其余3个种的血细胞内较为少见,且只能看到细胞核稍有凹陷现象,可能由于其余3个种的血细胞处于此阶段的时间极少,不易观察到。

3.3 细胞颗粒与免疫能力的关系

研究结果表明除曼氏无针乌贼以外的其它3个种的两类颗粒细胞中颗粒较少,但曼氏无针乌贼颗粒细胞中所含的颗粒密度却基本与虾蟹类以及其它贝类中所观察到的较为相近。廖永岩等(2002)认为斑节对虾颗粒细胞内的颗粒可能不只一种,并且每种分别负责不同的功能,即有的颗粒负责凝血外,有的颗粒可能还有抗菌抗病毒的功能。王晶等(2007)指出短蛸大颗粒细胞和小颗粒细胞很可能是行使免疫功能的关键性细胞,可能与外来病原的吞噬及清除有关。而邢婧等(2003)更进一步指出栉孔扇贝大颗粒细胞以溶酶体酶释放来杀伤病原体,而小颗粒细胞则产生高活性的活性氧来抵御外源物质的损害。可见曼氏无针乌贼与其它3个种之间种间关系的远近决定了它们颗粒细胞内所含颗粒数量与性质的差异,而颗粒的多少与免疫力强弱的关系还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 于建平,1993.日本对虾血细胞分类、密度及组成.青岛海洋大学学报,23(1):107—113
- 王晶,樊廷俊,姜国建等,2007.短蛸血细胞的形态结构、类型、细胞化学特性及其吞噬活性研究.山东大学学报(理学版),42(5):79—85
- 王凤计,2002.现代血液细胞诊断学.天津:天津科技翻译出版公司,9—10
- 邢婧,战文斌,周丽,2003.栉孔扇贝血细胞类型及抗菌力的研究.青岛海洋大学学报,33(1):41—46
- 李光友,王青,1995.中国对虾血细胞及其免疫研究.海洋与湖沼,26(6):591—596
- 李复雪,1983.台湾海峡头足类区系的研究.台湾海峡,2(1):103—107
- 李嘉泳,1965.金乌贼(*Sepia esculenta* Hoyle)在黄渤海的生殖洄游和发育.太平洋西部渔业研究委员会第六次全体会议论文集.北京:科学出版社,61—92
- 杨军,石安静,2002.3种淡水育珠河蚌血细胞类型的研究.四川大学学报(自然科学版),39:68—72
- 沈亦平,马丽君,1993.淡水育珠蚌皱纹冠蚌血细胞的初步研究.水生生物学报,17(2):190—192
- 陆宏达,2002.中华绒螯蟹血细胞的显微、亚显微形态结构及其分类.水生生物学报,26(5):494—500
- 周玉,2003.日本绒螯蟹血淋巴细胞的研究.水生生物学报,27(6):664—666
- 周晖,谢数涛,2005.4种对虾血细胞的分类和形态比较.湛江海洋大学学报,25(4):84—87
- 董正之,1993.中国海洋科学研究及开发.青岛:青岛出版社,23—26
- 廖永岩,周友广,叶富良,2002.斑节对虾与黑斑口虾蛄血相的比较研究.中山大学学报(自然科学版),39:271—277

- Carvalho G R, Nigmatullin C M, 1998. Stock structure analysis and species identification. Rome: FAO Fish Techn Pap, 376: 199—232
- Cheng T C, Bivalves R, 1987. Invertebrate Blood Cells. Academic Press, New York, 1: 233—330
- Couleau N, Techer D, Pagnout C *et al*, 2012. Hemocyte responses of *Dreissena polymorpha* following a short-term *in vivo* exposure to titanium dioxide nanoparticles: preliminary investigations. *Sci Total Environ*, 438: 490—497
- Garcia-Garcia E, Prado-Alvarez M, Novoa B *et al*, 2008. Immune responses of mussel hemocyte subpopulations are differentially regulated by enzymes of the PI 3-K, PKC, and ERK kinase families. *Dev Comp Immunol*, 32(6): 637—653
- Nesis K N, 1987. Cephalopods of the World. T F H Publications Inc., USA, 9
- Oliver J D, Dusty Loy J, Parikh G *et al*, 2011. Comparative analysis of hemocyte phagocytosis between six species of arthropods as measured by flow cytometry. *J Invertebr Pathol*, 108(2): 126—130
- Zhang Y, Li J, Yu F *et al*, 2013. Allograft inflammatory factor-1 stimulates hemocyte immune activation by enhancing phagocytosis and expression of inflammatory cytokines in *Crassostrea gigas*. *Fish Shellfish Immunol*, 34(5): 1071—1077

CLASSIFICATION AND COMPARISON ON HEMOCYTES AMONG FOUR COMMON CEPHALOPOD SPECIES

SONG Wei-Wei, WANG Chun-Lin, LI Di-Ping, MU Chang-Kao, LI Rong-Hua
(1. School of Marine Science of Ningbo University, Ningbo, 315211; 2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo, 315211)

Abstract Blood from four cephalopod species, namely, *Octopus variabilis*, *O. ocellatus*, *O. vulgaris* and *Sepiella maindroni*, were investigated in this study. Hemocyte configuration was observed under a microscope and a transmission electron microscope. The hemocytes were classified according to cytoplasm granules and size, consistency, proportion, and so on, and were divided into three types, namely, hyaline hemocytes, small granular hemocytes, and granular hemocytes. A number of *O. vulgaris* hemocyte nucleoli were U-shaped, which were classified as an individual type named U-shaped nuclear homocytes. These four hemocyte types were systematically described and compared. The quantity and quality of *S. maindroni* hemocyte granules were obviously different from those of the other species. In general, the cephalopod hemocyte granules were few. The number of granules is not directly related to its immunity. By comparison, we conclude that the U-shaped nuclear hemocytes of *O. vulgaris* were the intergradation between the hyaline hemocytes and the small granular hemocytes. Consequently, the four hemocyte types exhibit a certain development course: hyaline hemocytes→U-shaped nuclear hemocytes→small granular hemocytes→granular hemocytes.

Key words *Octopus variabilis*; *Octopus ocellatus*; *Octopus vulgaris*; *Sepiella maindroni*; hemocyte