

赵莎莎, 丁丽军. 胡子鲇外周血细胞的组成及显微与超微结构[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 220–223.

胡子鲇外周血细胞的组成及显微与超微结构

赵莎莎, 丁丽军

(江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300)

摘要:采用显微和超微技术对胡子鲇外周血细胞的组成及组织结构进行观察。在血涂片上可辨别出红细胞和各种白细胞, 电镜观察可确认这些细胞类型。血涂片上还观察到各个时期的红细胞。白细胞中淋巴细胞数量最多, 约占白细胞总数的 48.70%, 嗜中性粒细胞占 24.76%, 单核细胞占 17.03%, 血栓细胞少, 约为 9.51%。组织结构显示, 红细胞为长椭圆形, 胞质中未见细胞器。淋巴细胞以大的核质比、短的伪足和较多的胞质液泡为特征。单核细胞特征为可见有少量的伪足、线粒体、核糖体、内质网、胞质液泡以及偏位核。而有粒白细胞根据胞质内颗粒形态, 将其分为 I 型、II 型、III 型颗粒细胞 3 种类型, II 型类似于其他鱼类的嗜中性粒细胞, III 型类似于草鱼中功能衰退的嗜中性粒细胞, I 型类似于鳊鱼 I 型粒细胞, 属于哪种类型尚待进一步研究。

关键词:胡子鲇; 血细胞; 血细胞分类计数; 显微结构; 超微结构

中图分类号: S917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0220-04

一种鱼类完整的血液学资料可以反映机体的生理状态和健康情况, 对鱼病的预防和诊断具有一定意义^[1]。血液学检查再结合其他常规诊断方法, 常用于确定和评估鱼体产生应激进而致病的环境条件^[2]。作为鱼类有形成分的血细胞既是鱼类机体的组成部分, 也是机体细胞免疫和体液免疫的重要组成部分, 在鱼类疾病的预防过程中发挥着重要作用。目前, 国内外有关鱼类外周血细胞的研究, 已有较多报道, 主要集中在鲤鱼、鲇鱼、斑点叉尾鲷、淡水石斑鱼、鲫鱼、黄颡鱼、长吻鮠和军曹鱼^[3-10]上。

胡子鲇 (*Claris fuscus* Lacepede) 属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes) 鲇形目 (Siuriformes) 胡子鲇科 (Clariidae), 广泛分布于我国长江以南各水体, 其肉质细嫩, 营养丰富, 适应能力强, 经济价值及养殖效益较高, 是我国重要的淡水养殖鱼类。有关胡子鲇的研究已有相关报道^[11-12], 有关血细胞方面的研究报道较少^[13]。本研究以胡子鲇外周血液为材料, 利用光镜和电镜技术对其血细胞的组成及其显微与超微结构进行研究, 以期胡子鲇外周血细胞研究提供基础资料, 并为其养殖和病

害防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

20 尾体表无伤痕、健康、成熟的胡子鲇购自水产市场, 平均体质量 1.45 kg, 雌雄各占 50%。暂养于水族箱里。

1.2 试验方法

用盛有抗凝剂的 5 mL 注射器从鱼尾静脉采血。部分制成血涂片 (4 张/尾)。经甲醇固定后用 Wright's 液染色。光镜下观察, 进行分类描述, 并对 80 张血涂片上的 8 000 个白细胞进行分类计数。部分用于血细胞指标的测定。红细胞数 (RBC): 用 0.9% NaCl 溶液将血液稀释 100 倍, 用血细胞计数板在显微镜下计数。白细胞数 (WBC): 用 2% 醋酸将血液稀释 10 倍, 用血细胞计数板在显微镜下计数。部分血液作电镜观察。在加有抗凝剂的 1.5 mL 离心管中加入 1 mL 血液, 1 000 r/min, 离心 10 min。除去血清, 加入冷的 (4 ℃) 2% 的戊二醛, 4 ℃ 固定 1 h。然后将其切成 1 mm³ 的小块, 用 0.1 mol/L 的 PBS (pH 值 7.2) 液漂洗 4 次, 再用 1% 锇酸进行固定, 漂洗过夜, 丙酮逐级脱水, Epon812 包埋, LKB 5 型超薄切片机切片 (厚度约 600 × 10⁻¹⁰ m), 醋酸双氧钨-柠檬酸铅双重染色, PHILIPS TECNAI 10 型透射电镜观察并拍照。

收稿日期: 2014-04-14

作者简介: 赵莎莎 (1979—), 女, 江苏徐州人, 实验师, 主要从事实验室教学工作。E-mail: 157568300@qq.com。

品中的微量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1454–1457.

[19] 江梅, 伦中财, 范云慧, 等. 火焰原子吸收法最灵敏度和次灵敏线测定水样中钠的不确定度分析[J]. 分析仪器, 2011(2): 42–47.

[20] 卑占宇, 范小娜, 李洪亮. 中药白茅根中金属元素的含量测定[J]. 光谱实验室, 2006, 23(6): 1213–1215.

[21] 王黎, 王晓霞, 刘彦明. 原子吸收光谱法测定中成药中微量元素[J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2008, 21(2): 273–275.

[22] 陈德明, 俞仁培. 盐胁迫下不同小麦品种的耐盐性及其离子特征[J]. 土壤学报, 1998(1): 88–94.

[23] 谷奉天, 高六礼. 环渤海盐生牧草类型及其开发利用[J]. 草业科学, 1991(3): 60–65.

[24] 崔悦慧, 张汝民, 潘瑞平, 等. 植物蒸腾与土壤盐分的研究[J]. 内蒙古科技与经济, 2002(5): 18–20.

[25] 谷奉天. 黄河口地区柽柳群落及其利用[J]. 中国草地, 1991(3): 33–36.

[26] 乔勇进, 夏阳. 黄河三角洲沿海滩涂的绿化先锋——柽柳[J]. 植物杂志, 2001(6): 13.

[27] Sethi V P, Sharma S K. Survey of cooling technologies for worldwide agricultural greenhouse applications[J]. Solar Energy, 2007, 81(12): 1447–1459.

2 结果与分析

2.1 血细胞计数和各类血细胞大小

雄性胡子鲇红细胞数和白细胞数分别为 $(4.25 \pm 0.54) \times 10^6 \text{ mm}^3$ 和 $(0.83 \pm 0.26) \times 10^4 \text{ mm}^3$, 均高于雌性的 $(4.05 \pm 0.51) \times 10^6 \text{ mm}^3$ 和 $(0.81 \pm 0.23) \times 10^4 \text{ mm}^3$, 但都差异不显著性。胡子鲇各类白细胞分类计数及血细胞的大小见表 1。

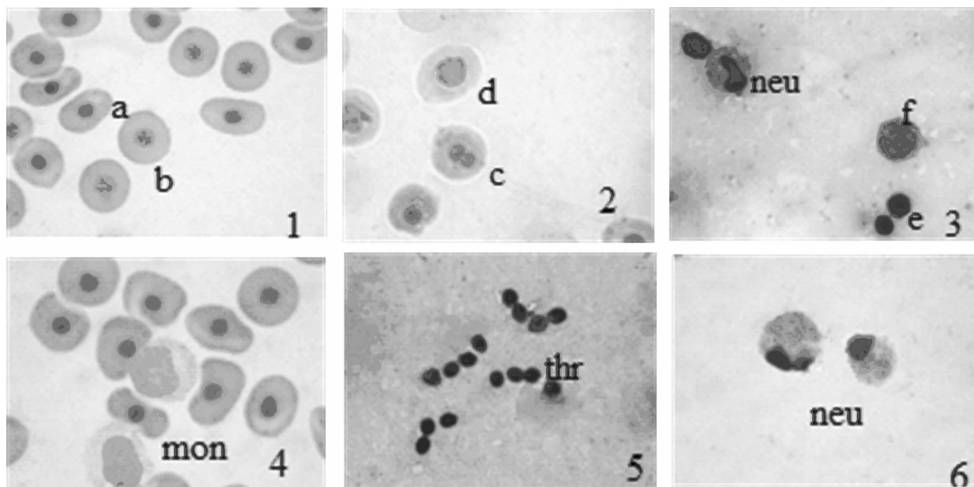
表 1 白细胞分类计数和各类血细胞大小

细胞类型	白细胞分类计数 (%)	细胞大小 (μm)		细胞大小变异系数 (%)	
		长径	短径	长径	短径
红细胞		9.31 ± 0.85	7.38 ± 1.36	9.07	18.47
嗜中性粒细胞	24.76	10.13 ± 2.09	8.15 ± 1.01	20.70	12.44
单核细胞	17.03	10.16 ± 1.86	8.16 ± 1.03	22.76	12.59
淋巴细胞	48.70	4.20 ± 0.34	3.26 ± 0.26	8.01	8.04
血栓细胞	9.51	3.91 ± 0.32	2.19 ± 0.24	8.12	10.94

注:表中细胞大小数据均为“平均值 \pm 标准差”。

2.2 胡子鲇外周血液中血细胞的显微结构

胡子鲇外周血涂片上大多数是红细胞,分散在红细胞中



1—正常红细胞(a)和未成熟红细胞(b); 2—正在分裂的红细胞(c)和衰退的红细胞(d); 3—淋巴细胞(e、f); 4—单核细胞(mon); 5—聚群的血栓细胞(thr); 6—嗜中性粒细胞(neu)

图1 胡子鲇外周血细胞显微(1 000 \times)

2.3 胡子鲇外周血液中血细胞的超微结构

红细胞(图 2-1、图 2-2):细胞呈长橄榄形或长椭圆形,细胞表面光滑。胞核呈圆形或椭圆形,核膜清晰,核膜围隙宽阔,染色质在核中央呈块状分布。胞质均匀分布,未见细胞器。还见到一些核小而圆,核内染色质疏松、胞质中充满中等电子密度的结构,可能是正在成熟的红细胞。还可见胞核消失的凋亡红细胞。

淋巴细胞(图 2-2、图 2-3):接近圆形,表面可见伪足。胞核较大,居中,因切面位置不同而呈圆形、椭圆形,异染色质较多,占细胞核的 50% 以上,岛状分布在核中央。胞质较少,包在核周围,内含数量不等的空泡结构。

单核细胞(图 2-1、图 2-4):略呈圆形,表面常有伪足样突起。核呈椭圆形、肾形。异染色质数量较少,主要分布在核膜两侧。胞质内可见线粒体、内质网、核糖体,还可见少量的空泡。

间的白细胞可区分为淋巴细胞、单核细胞、血栓细胞和嗜中性粒细胞。

红细胞(图 1-1、图 1-2):细胞呈长椭圆形,表面光滑。胞质淡染,核居中呈椭圆形,紫红色染色质浓密,无核仁。未成熟的红细胞,形状较圆,核染色质呈网状,染色相对成熟者为浅,细胞质着色也浅于成熟者。在血涂片中可见核分裂现象和正在衰退的红细胞。

淋巴细胞(图 1-3):细胞呈圆形,胞体大小变化明显,大多为中、小球体。核质比大,胞质呈淡蓝色、淡红色,胞核呈圆形,染色质致密。

单核细胞(图 1-4):细胞呈椭圆形或圆形,胞体较大。胞质嗜碱性,呈淡蓝色,可见空泡、嗜天青颗粒。胞核呈卵圆形、不规则形,偏于一侧或居中。染色质呈疏松网状,蓝紫色。

血栓细胞(图 1-5):细胞呈卵圆形,胞体较小。核质比大,胞质染色呈蓝色,胞核形态多样,染色质致密,呈深蓝紫色,大多是以群聚出现。

嗜中性粒细胞(图 1-3、图 1-6):一般呈圆形,胞质淡红,可见细小浅蓝色颗粒。胞核呈豆状或分叶状,分叶中间有核丝相连,偶有不相连的。染色质致密,呈蓝紫色。

有粒细胞:根据细胞内颗粒不同分为 3 种类型:

I 型颗粒细胞(图 2-6):细胞略呈圆形,表面可见伪足。核椭圆,异染色质主要分布在核边缘和中央,核膜清晰,可见核孔。胞质中含有圆形或卵圆形的中等电子密度的特殊颗粒,未见细胞器。

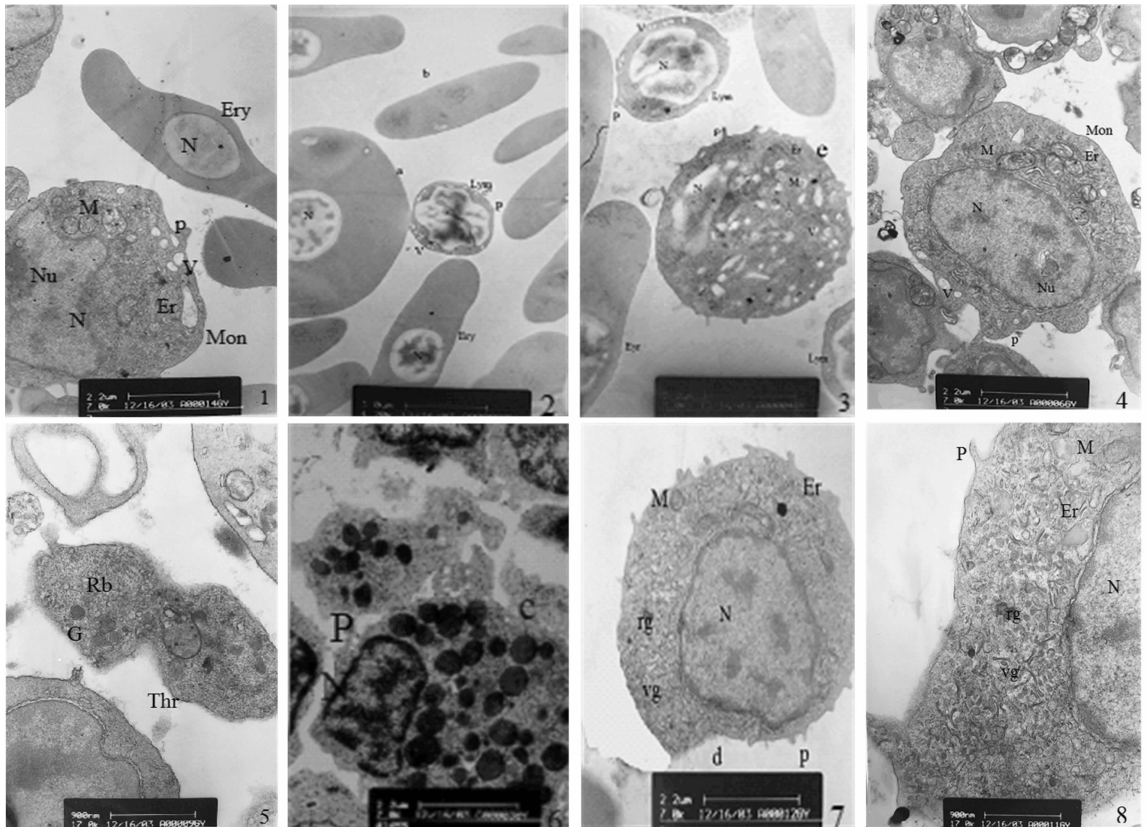
II 型颗粒细胞(图 2-7、图 2-8):细胞略呈圆形,表面可见伪足。核椭圆,异染色质带状分布在核膜周围,核中央呈岛状分布。核膜、核间隙清晰,胞质中含有低等电子密度的棒状颗粒和圆形颗粒,可见内质网和线粒体。

III 型颗粒细胞(图 2-3):细胞呈圆形,表面可见伪足。核呈长椭圆形,偏位,异染色质块状分布在核中央,核膜模糊不清。胞质中的圆形颗粒解体分散且空泡化,致使胞质中大量空泡形成。线粒体和内质网不太清晰,细胞开始衰退。

血栓细胞(图 2-5):细胞呈长纺锤形,表面具有较深的凹陷。核位于细胞中央,呈长椭圆形,可见核膜,异染色质沿

核膜内侧分布。胞质中除含有核糖体外,未见其他细胞器。胞质中还含有 1 种颗粒,外包被膜,中间为致密的基质,基质

与被膜间有一狭窄的间隙,可能与哺乳动物血小板的致密颗粒相当。



1—红细胞 $\times 7\,000$, 示细胞核; 2—未成熟红细胞(a), $\times 4\,200$, 衰退的红细胞(b), $\times 4\,200$; 3—淋巴细胞(Lym), $\times 7\,000$, 示指状伪足(P)、囊泡(V); 4—单核细胞(Mon), $\times 7\,000$, 示指状伪足、细胞核、核仁、线粒体、内质网、核糖体、空泡; 5—血栓细胞(Thr), $\times 10\,000$, 示核糖体、颗粒; 6—I型粒细胞(c), $\times 7\,000$, 示圆形颗粒; 7—II型粒细胞(d), $\times 7\,000$, 示棒状颗粒(vg)、圆形颗粒(rg)、线粒体(M)、内质网(Er)、伪足(P); 8—II型粒细胞的放大图($\times 17\,000$); 3—III型粒细胞(e), $\times 7\,000$, 示伪足, 颗粒退化形成的空泡, 线粒体和内质网

图2 胡子鲇外周血细胞超微结构

3 讨论

3.1 血细胞的组成与大小

胡子鲇白细胞比例中淋巴细胞数量最多,与日本白鲫、成年草鱼^[14-15]相同;与鳊鱼^[16]、黄颡鱼^[8]、南方鲇^[17]等以血栓细胞为最多的鱼类明显不同。各类白细胞所占比例,相关报道并不一致,主要表现为淋巴细胞(9%~74%)和血栓细胞(5%~72%)所占比例,其他白细胞则因数量较少而所占比例没有大的差异^[16]。造成淋巴细胞和血栓细胞比例有差异的主要原因有 3 个方面:(1)相关学者在计数时没有把血栓细胞算在内,因而淋巴细胞比例显著提高;(2)血涂片上血栓细胞易与淋巴细胞混淆,所以计数时可能造成误差;(3)淋巴细胞对外部环境变化比较敏感,采血时鱼体所处状态不同,造成种间或个体间差异^[16]。有关各类细胞大小相关报道基本一致,即血栓细胞和淋巴细胞较小,单核细胞和粒细胞较大。

3.2 血细胞形态

鱼类外周血红细胞与哺乳动物的相比,体积大,数量少,具有细胞核,胞质中还有少量细胞器^[18],表明其代谢比较活跃。然而在胡子鲇红细胞胞质中未见到任何细胞器,这可能是由于在制作电镜样品时使用锇酸和戊二醛的双重固定使血

红蛋白保存比较完整而掩盖了其他细胞器^[19]。胡子鲇外周血中所见到的较幼稚和正在分裂的红细胞,在某些鱼类^[18]也有报道,表明鱼类红细胞除了在造血器官中产生外,还可在外周血中通过直接分裂而产生。

在大多数硬骨鱼类中淋巴细胞形态结构基本相似,但不同鱼类其细胞器却存在较大差异。本研究进一步证实该结论的正确性。胡子鲇淋巴细胞胞质的超微结构中看不到细胞器,而在黄颡鱼中有线粒体及大量的游离核糖体^[8],草鱼中有溶酶体、核糖体等细胞器^[15]。

单核细胞存在于所有脊椎动物中,起着比较重要的非特异性免疫的作用。鱼类血液中有无单核细胞及其命名问题,早期报道中存在分歧,但被后来的研究^[20]所肯定并统一了名称。胡子鲇的单核细胞与哺乳动物的相似,也有胞质突起,胞质中含有较多的液泡和吞噬物,说明胡子鲇也可进行活跃的变形运动,具有吞噬功能,这在多种鱼类^[20-21]得到直接的证实。

血栓细胞是鱼类中具有凝血作用的细胞,在外周血中一般成群分布。胡子鲇的血栓细胞也是如此。Rowley 等解释这是由于在制作血涂片时较慢或在此之前血液已有部分凝固导致。胡子鲇的血栓细胞中所含有的电子致密颗粒,在鲮、

鲩、鳊、鲢和星鲨^[22-23]中均能见到,均认为与哺乳动物血小板中称为血栓颗粒的功能相当。

3.3 血细胞种类

在对有粒白细胞的研究中,不同学者对鱼类有粒白细胞的了解也并未统一,主要表现在因分类依据不同而造成命名各异,即使同种鱼类相似的细胞也会被不同研究者解释为不同性质的细胞。在光镜下,一般有粒白细胞可分为 3 类:嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。一般情况下,嗜中性粒细胞存在于所有硬骨鱼类中,但是嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的存在会因鱼种类而异。Weinreb 在金鱼外周血中只见到少量嗜碱性粒细胞^[24]。林光华等在 100 张革胡子鲇的血涂片上仅发现一个嗜碱性粒细胞^[25]。南方鲇、花尾胡椒鲷、勒氏笛鲷^[26-28]等的外周血中有嗜酸性粒细胞,但未发现嗜碱性粒细胞。而军曹鱼^[10]、欧洲鳗鲡^[29]等鱼类的外周血中嗜酸性、嗜碱性 2 种粒细胞均未发现。即使同一种鱼,不同研究者得出的结果也不一致。Williamms 等在斑点叉尾鲇的血液发现了嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞^[30],而 Cannon 等在斑点叉尾鲇的血液中 2 种细胞均未发现^[31]。我们对胡子鲇血涂片有粒白细胞的观察也证实嗜中性粒细胞数量较少,在 80 张血涂片中没有观察到嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。这可能是由于这 2 种细胞的颗粒易溶于水,导致其被溶解掉。电镜下胡子鲇粒细胞根据其特殊颗粒的结构特征,将其分为 I 型、II 型、III 型。I 型粒细胞超微结构类似于鳊鱼 I 型粒细胞^[16],相同地方是细胞质内有基本呈圆形大小不等的电子致密颗粒,但其归属还不清楚;II 型类似于鱼类中的嗜中性粒细胞^[15,32],胞质中有 2 种类型的颗粒:一种为棒形,内为匀质的基质而外部包有 1 层被膜,另一种为圆形,膜内基质也较均匀,外被被膜;III 型粒细胞类似于林光华提出的功能衰退的嗜中性粒细胞^[15],圆形颗粒分散解体而呈空泡化,致使胞质中形成大量空泡,细胞器数量严重减少,细胞表现出退化趋势。

参考文献:

- [1] Shigdar S, Cook D, Jones P, et al. Blood cells of Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) [J]. *Journal of Fish Biology*, 2007, 70 (3): 973-980.
- [2] Pavlidis M, Futter W C, Katharios P, et al. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2007, 23 (1): 70-73.
- [3] 路卫星, 王 韞, 贾银涛, 等. 几种变温脊椎动物的血细胞比较 [J]. *动物学报*, 2008, 54 (2): 387-392.
- [4] Fijan N. Morphogenesis of blood cell lineages in channel catfish [J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, 60 (4): 999-1014.
- [5] Petrie - Hanson L, Ainsworth A J. Differential cytochemical staining characteristics of channel catfish leukocytes identify cell populations in lymphoid organs [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000, 73 (2): 129-144.
- [6] 顾馨余, 杜 寅. 淡水石斑鱼血细胞发生的观察 [J]. *水产科学*, 2008, 27 (4): 179-183.
- [7] 任培丽, 张迎梅, 耿广琴, 等. 污染水域鲫鱼外周血细胞形态和数量的变化 [J]. *动物学杂志*, 2008, 43 (2): 37-42.
- [8] 刘小玲, 严安生. 黄颡鱼外周血细胞的组成及其显微与超显微结

- 构 [J]. *华中农业大学学报*, 2006, 25 (6): 659-663.
- [9] 金 丽, 张耀光. 长吻鲩血细胞发生的研究 [J]. *水生生物学报*, 2007, 31 (6): 807-816.
- [10] 陈 刚, 周 晖, 张健东, 等. 军曹鱼血液指标及血细胞发生的观察 [J]. *水生生物学报*, 2005, 29 (5): 564-570.
- [11] 杨筱珍, 高登慧, 许乐仁. 胡子鲇肥大细胞的组织化学及形态学 [J]. *中国水产科学*, 2003, 10 (2): 106-110.
- [12] 刘文生, 王凤麟. 胡子鲇、月鳢、泥鳅具气呼吸作用器官呼吸上皮的电镜观察 [J]. *水生生物学报*, 2004, 28 (5): 519-525.
- [13] 龙 华, 刘 薇, 赵 刚. 3 种鲇形目鱼的解剖学与血液学比较 [J]. *水利渔业*, 2005, 25 (3): 6-7.
- [14] 谢艳霞, 林光华. 日本白鲫外周血细胞显微及亚显微结构的研究 [J]. *动物学杂志*, 1996, 31 (1): 12-16, 67.
- [15] 林光华. 成年草鱼外周血细胞的超微结构 [J]. *动物学报*, 1996, 42 (2): 123-128, 229-230.
- [16] 袁仕取, 张永安, 姚卫建, 等. 鳊鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察 [J]. *水生生物学报*, 1998, 22 (1): 39-47, 101-103.
- [17] 赵海涛, 张其中, 赵海鹏, 等. 南方鲇幼鱼和成鱼血液指标的比较 [J]. *动物学杂志*, 2006, 41 (1): 94-99.
- [18] 吴维宁. 团头鲂血细胞发生的研究 [J]. *水产学报*, 1990, 14 (4): 328-335.
- [19] 朱洪文, 王 浩, 秦国强. 鲫鱼 (*Carassius auratus*) 外周血细胞显微和亚显微结构的观察 [J]. *动物学研究*, 1985, 6 (2): 147-153.
- [20] Ellis A E. The leucocytes of fish: A review [J]. *J Fish Biol*, 1977, 11: 453-491.
- [21] 周炳生, 李连祥. 银鲫白细胞及鳃颗粒粒细胞的超微结构 [J]. *水生生物学报*, 1992 (1): 81-83, 98.
- [22] 徐 豪, 张志宇. 四种淡水养殖鱼类血细胞的细微结构 [J]. *水生生物学集刊*, 1983, 8 (1): 85-91, 93-96.
- [23] Parish N. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L - morphological study [J]. *Journal of Fish Biology*, 1986, 28 (5): 545-561.
- [24] Weinreb E L. Studies on the fine structure of teleost blood cells. I. Peripheral blood [J]. *The Anatomical Record*, 1963, 147 (2): 219-238.
- [25] 林光华, 张丰旺. 革胡子鲇血液常数值的周年变化 [J]. *动物学报*, 1991, 37 (3): 341-342.
- [26] 陈晓耘. 南方鲇幼鱼血细胞发生的研究 [J]. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2000, 25 (3): 281-287.
- [27] 李长玲, 曹伏君, 刘楚吾, 等. 花尾胡椒鲷肾脏和脾脏血细胞发育的研究 [J]. *热带海洋学报*, 2002, 21 (3): 7-13, 101-102.
- [28] 李长玲, 曹伏君, 刘楚吾, 等. 勒氏笛鲷外周血细胞显微结构的观察 [J]. *湛江海洋大学学报*, 2001, 21 (3): 5-9.
- [29] 周 玉, 郭文场, 杨振国, 等. 欧洲鳗鲡外周血细胞的显微和超微结构 [J]. *动物学报*, 2002, 48 (3): 393-401.
- [30] Williams R W, Warner M C. Some observations on the stained cellular elements of channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Journal of Fish Biology*, 1976, 9: 491-497.
- [31] Cannon M S, Mollenhuer H, tompkins C. An ulstructural study of the leukocytes of the channel fish, *Ictalurus punctatus* [J]. *J Morphology*, 1980, 164: 1-23.
- [32] 颜桂利, 黄 键, 江道提, 等. 四种脊椎动物血细胞亚显微结构的比较观察 [J]. *解剖学报*, 1996, 27 (1): 100-103.