

日本黄姑鱼血细胞发生的观察

苑淑宾¹, 朱爱意^{1*}, 江丽华¹, 柴学军²

(1. 浙江海洋学院, 浙江省海洋养殖装备与工程中心重点实验室, 浙江 舟山 316000;

2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江 舟山 316000)

摘要:用 Wright's-Giemsa 混合染料对日本黄姑鱼外周血涂片以及头肾、肾脏、肝脏和脾脏组织印片染色, 观察其中各种血细胞的大小、形态特征, 研究了日本黄姑鱼血细胞的发生发育模式。观察发现, 在外周血涂片中, 除红细胞外, 还观察到多种白细胞, 主要有单核细胞、嗜中性细胞、嗜酸性细胞和淋巴细胞, 而嗜碱性细胞没有被发现。红细胞、淋巴细胞和单核细胞的发生主要在肾脏和头肾, 其次是脾脏; 粒细胞的发生主要在头肾和脾脏。红细胞的发育经历 3 个阶段: 原红细胞、幼红细胞和成熟红细胞阶段。红细胞在成熟过程中, 细胞核的体积逐渐变小, 细胞与细胞核的体积比由大变小然后再变大。成熟红细胞除了由幼稚细胞发育而来以外, 还可以进行一分为二的方式进行分裂; 粒细胞的发育经历 5 个阶段: 原粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞和成熟粒细胞; 淋巴细胞经历了 3 个阶段: 原淋巴细胞、幼淋巴细胞和成熟淋巴细胞; 单核细胞的发育和淋巴细胞相似, 也经历了 3 个阶段: 原单核细胞、幼单核细胞和成熟单核细胞。

关键词: 日本黄姑鱼; 血细胞发生; 血细胞发育; 造血器官

中图分类号: S 917; Q 172

文献标志码: A

鱼类血细胞具有运输、体液调节等功能, 还能参与机体的损伤修复、免疫等生理机制, 从而维持机体各种生理环境的稳定。血细胞是动物体对自身生理状态变化和对外界环境因子刺激非常敏感的细胞, 是机体免疫的重要组成部分; 鱼类是水生低等脊椎动物, 缺乏完善的淋巴系统, 血液免疫在鱼类抵抗疾病的过程中发挥着重要作用, 因此, 开展鱼类血液的研究对于鱼类病理学和鱼类免疫学具有重要意义, 国内外学者已对鳟 (*Salmo gairdneri*)^[1]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、青石爬鮡 (*Euchiloglanis davidi*)^[3] 等多种鱼类的血细胞形态结构、发生和发育进行了研究。

日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*) 俗称黑毛鲈^[4], 鲈形目 (Perciformes), 石首鱼科 (Sciaenidae), 黄姑鱼属 (*Nibea*), 为中下层鱼类, 分布于我国的东海、南海以及日本南部沿海^[5], 其鳔是一种非常昂贵的药物材料, 因此, 日本黄姑鱼是一种极具开

发潜力的经济鱼类。目前, 对日本黄姑鱼的研究只涉及苗种培育技术^[6]、养殖技术及相关的生物学特性^[7], 有关日本黄姑鱼血细胞发生的研究很少有报道。本研究通过对日本黄姑鱼血细胞的发生、发育、形态结构的研究, 旨在为其血液学、病理学和免疫学研究积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼 试验用日本黄姑鱼系 2010 年 12 月捕自大海洋公司东极岛网箱养殖场。实验鱼捕起后, 在室内养殖池内暂养 1 d (水温 20 ℃, pH 7.8 ~ 7.9、盐度 28.7)。实验时选用体色正常、外表无损伤、反应灵活的健康个体 5 尾, 体质量 250 ~ 350 g。

实验用染料 Wright's-Giemsa 混合染料 (以下简称 W-G); 取 Wright's 染料和 Giemsa 染料

收稿日期: 2011-04-14 修回日期: 2011-06-25

资助项目: 国家科技部国际科技合作项目 (2009DFB20290)

通讯作者: 朱爱意, E-mail: zay008@163.com

各 0.5 g,以甲醇研溶,加甲醇至 500 mL 保存,每天摇匀一次,7 d 后使用。缓冲液:将 1 g Na_2HPO_4 和 2 g KH_2PO_4 溶解于 4 mL 蒸馏水中,然后加入 75 mL 甘油,水浴 24 h 溶解混匀,保存于密封的瓶中备用。实验时,取上述甘油缓冲液 1.5 mL,加 W-G 混合染液 50 mL,混匀后即可使用。

1.2 实验方法

制片 先用 MS-222 麻醉处理,尾静脉取血,加入适量抗凝剂,静置 30 min 后,制作血涂片,每尾鱼制作 3 张;将已取血的鱼立即解剖,迅速取出头肾、肾脏、肝脏和脾脏,用生理盐水冲洗器官表面,用吸水纸将表面拭干。用刀片将上述器官横切,将切面轻轻与玻片接触,制取印片,每尾鱼每一种器官制成 3 张;将制作好的血涂片和印片在空气中干燥;干燥后用 W-G 混合染液染色。

观察和测量分析 染色完成后,将血涂片和脏器印片置于显微镜(LEICA DM4000 B 型,徕卡仪器有限公司)下观察、计数、拍照。对每种脏器每张印片随机选取 10 个视野,对各种不同发育阶段血细胞的形态特征进行分类统计,用 Excel 软件分析,结果用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示。

判定标准 参照 1960 年我国血液学工作者座谈会规定统一血细胞的命名原则^[8]。即一般将血细胞按成熟过程分为 3 个阶段:原始阶段、幼稚阶段和成熟阶段。由于粒细胞系在成熟过程中形态变化较大,可将其幼稚阶段再分为早幼、中幼、晚幼 3 个时期。

2 结果

2.1 红细胞系

原红细胞(primitive erythrocyte, PE) 原红细胞呈圆形或椭圆形,细胞体积比较大,直径为 12 ~ 14 μm 。细胞质比较丰富,深蓝色,有明显的环核带。胞核圆或椭圆形,居中或偏位,占细胞大部分。染色质深紫红色、较浓,不均匀,核膜清晰,核仁较大(图版 I-1)。

幼红细胞(immature erythrocyte, IE) 幼红细胞呈圆形或类圆形,胞体较大,直径为 11 ~ 13 μm 。细胞质丰富、蓝色或者灰蓝色。核圆形或者椭圆形,居中或稍微偏移。染色质比较疏松,核仁逐渐消失,相对于成熟红细胞略圆、大,居于

中间(图版 I-2)。

红细胞(erythrocyte, EO) 成熟红细胞呈椭圆形或长椭圆形,长径为 10 ~ 12 μm ,短径为 6 ~ 8 μm ,表面光滑。细胞质内充满血红蛋白,浅粉红色。核呈长椭圆形,位于细胞中央。核内含有致密染色质团块,染成深紫红色(图版 I-2)。

2.2 粒细胞系

原粒细胞(primitive granulocyte, PG) 原粒细胞呈不规则圆形或卵圆形。胞体较大,直径 13 ~ 14 μm 。胞质蓝色或灰蓝色,胞浆较少,均匀,透明。胞核椭圆形或圆形,较大,居中或者略偏于一侧,染色质呈细丝状,分布均匀,核仁的边界比较明显,容易区分(图版 I-1,5)。

早幼嗜中性粒细胞(early immature neutrophil, EIN) 早幼嗜中性粒细胞呈圆形或卵圆形,直径 12 ~ 14 μm 。细胞质颜色同原粒细胞,量比原粒细胞多,有紫红色的嗜天青颗粒,核呈卵圆形,常常偏于细胞的一侧。染色质则呈细粒网状至粗粒网状,有时能看见核仁(图版 I-3,6)。

中幼嗜中性粒细胞(middle immature neutrophil, MIN) 中幼嗜中性粒细胞呈圆形或卵圆形,直径为 13 ~ 14 μm 。细胞质比中性早幼粒细胞丰富,浅蓝色至浅粉红色,可以看到粉红色的嗜中性颗粒,部分中性中幼粒细胞有少量粗大圆形的紫红色颗粒。核呈椭圆形,接近中央,无核仁,染色质粒聚集呈网状的(图版 I-4)。

晚幼中性粒细胞(later immature neutrophil, LIN) 晚幼中性粒细胞呈圆形或卵圆形,直径为 13 ~ 15 μm 。胞质较多,呈浅红色,其中含有大量细小的中性颗粒。核大多呈肾形或椭圆形,偏于细胞一侧或者与质膜相切,无核仁,染色质凝集呈块状,排列更加紧密(图版 I-4)。

嗜中性粒细胞(neutrophil, NE) 嗜中性粒细胞比较少,细胞呈圆形或卵圆形,直径为 14 ~ 16 μm 。细胞质呈粉红色,其中充满一些细小的中性颗粒。细胞核较小、呈椭圆形。无核仁,染色质较浓密(图版 I-1)。

嗜酸性粒细胞(eosinophilic granulocyte, EG) 嗜酸性粒细胞呈圆形,胞体比中性晚幼粒细胞小,直径为 10 ~ 12 μm 。细胞质呈淡红色,其中充满透明的红色颗粒。细胞核呈圆形或卵圆形,常常偏于细胞一侧,染色质固缩紧密(图版 I-3,8)。

嗜碱性粒细胞(basophilic granulocyte, BG)

嗜碱性粒细胞呈圆形或卵圆形,细胞体积比较大,直径为15~18 μm。细胞质呈浅蓝色,里面充满了蓝黑色粗大圆形的嗜碱性颗粒。核一般呈椭圆形,常常偏于细胞的一侧(图版 I-7)。

2.3 单核细胞系

原单核细胞(primitive monocyte, PM)

原单核细胞呈椭圆形或不规则形,细胞质较其它原始细胞丰富,呈浅蓝色,有时可见突出的伪足。核呈肾形或不规则圆形,质呈细网状,分布不均,核仁明显(图版 I-5,8)。

幼单核细胞(Immature monocyte, IM)

幼单核细胞呈椭圆或不规则形,细胞质增多,呈浅蓝色,有少量液泡出现,常常可见伪足状的突起。核圆形或不规则形,紫红色染色质开始凝聚,呈网状,核仁不明显(图版 I-9)。

单核细胞(monocyte, MO)

成熟单核细胞呈圆形或不规则形,胞质很多,显蓝色,可见空泡,有些可见伪足,细胞质内有少许紫红色嗜天青颗粒。核呈不规则形,形态多种多样,常偏于细胞一侧,紫红色染色质呈疏松粗网状,没有核仁(图版 I-2)。

巨噬细胞(macrophagocyte, MP)

巨噬细胞的体积比较大,直径为16~17 μm。细胞质中有较多的空泡,胞核中染色质染色较浅,可见核仁,细胞核靠近细胞边缘,在细胞质中有时可以看到衰老的红细胞。巨噬细胞在头肾、肾脏和脾脏中都有发现(图版 I-10)。

2.4 淋巴细胞系

原淋巴细胞(primitive lymphocyte, PL)

原淋巴细胞呈圆形或卵圆形,胞体较小,直径为10~12 μm。细胞质深蓝色,量较少,可见环核带。胞核圆形或椭圆形,核膜清晰,核质比例大,核居中。染色质深紫红色、粗糙、浓密,不均匀,呈粗粒状。核仁的周界明显(图版 I-3,5)。

幼淋巴细胞(immature lymphocyte, IL)

幼淋巴细胞呈圆形或卵圆形,与原淋巴细胞相似,直径为9~10 μm。胞质深蓝色,细胞质的量比原淋巴细胞稍多,常常可见伪足。核圆形或椭圆形,占细胞的绝大部分,位置居中或偏位,染色质比较粗糙,紧密,核仁逐渐消失(图版 I-2)。

淋巴细胞(lymphocyte, LP)

淋巴细胞包括小淋巴细胞和大淋巴细胞两种,但是主要以小

淋巴细胞为主。小淋巴细胞的胞体较小,直径为6~8 μm,圆形或卵圆形,细胞质呈浅蓝色,量极少。胞核圆形或椭圆形,占细胞绝大部分,核染色质致密成块,无核仁。大淋巴细胞形态与小淋巴细胞相似,体积比小淋巴细胞稍大,胞质比小淋巴细胞丰富,胞核染色稍微淡一点(图版 I-7,9,11)。

2.5 其他血细胞

血栓细胞(thrombocyte, THR)

血栓细胞呈纺锤形或长椭圆形,表面光滑。长径为7~8 μm,短径为3~4 μm。细胞膜染色呈淡蓝色或有时不清,核质比较大,胞核呈长椭圆形,染色质致密,被染成紫红色。仅仅在日本黄姑鱼血液中发现血栓细胞,而在上述4种器官中没有发现原始的血栓细胞(图版 II)。

网状细胞(reticulocyte, RE)

网状细胞的体积变化较大,长径7~15 μm,短径3~12 μm,网状或者海绵状,有很多伪足状突起,常常可见到表面有一些泡状空囊。细胞质染色呈淡蓝色(图版 II)。

2.6 外周血涂片观察

外周血涂片中血细胞类型及大小的比较

血涂片镜检:血细胞由红细胞、白细胞(主要包括嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞)和少量的血栓细胞组成,外周血涂片中未见原始血细胞,绝大多数为成熟和幼稚红细胞。除了成熟红细胞外,还发现少量正在分裂的红细胞(图版 I-6)。

血涂片血细胞计数结果,红细胞数目为 $(1.91 \pm 0.34) \times 10^6/\text{mm}^3$;白细胞数目为 $(2.15 \pm 0.51) \times 10^4/\text{mm}^3$ 。外周血涂片中各类血细胞大小统计结果见表1。

表1 外周血液中成熟血细胞的大小
Tab.1 Sizes of some mature blood cells in the peripheral blood

细胞类型 cell types	长径/μm major-axis	短径/μm minor-axis
红细胞 ER	10.45 ± 1.59	7.25 ± 0.89
单核细胞 MO	14.53 ± 1.17	13.08 ± 1.04
嗜中性细胞 NE	14.07 ± 0.98	13.64 ± 1.02
嗜酸性细胞 EG	10.38 ± 1.07	9.17 ± 0.93
大淋巴细胞 LL	8.45 ± 1.07	8.19 ± 0.97
小淋巴细胞 SL	6.85 ± 0.79	6.28 ± 0.67
血栓细胞 THR	7.65 ± 1.41	3.92 ± 0.99

4 种组织涂片中血细胞计数结果 肝脏、脾脏、头肾和肾脏等 4 种组织涂片中各种不同发育阶段的细胞分类计数结果见表 2。从表 2 中可以看出,原始红细胞只在头肾和体肾中有所发现,而肝脏和脾脏则没有观察到;原始粒细胞的数量最多的部位是头肾和脾脏;原单核细胞和原淋巴

细胞数目最多的部位是头肾。

表 3 是 4 种组织中血细胞大小的比较,从表中可以看出:红细胞系和淋巴细胞系的细胞体积随着发育逐渐变小;粒细胞系的细胞体积因为最终发育成不同功能的细胞而有所不同;单核细胞系的细胞体积先变大然后逐渐缩小。

表 2 4 种组织中血细胞所占百分比
Tab.2 Percentages of different blood cells in four tissues

细胞类型 cell types		头肾 head kidney	体肾 kidney	肝脏 liver	脾脏 spleen
红细胞系 erythroid lineage	原始红细胞 PE	0.40 ± 0.23	0.50 ± 0.21	0	0
	幼稚红细胞 IE	2.36 ± 1.62	1.22 ± 0.76	0.92 ± 0.27	0.18 ± 0.16
	成熟红细胞 ER	19.97 ± 6.03	53.82 ± 12.68	73.63 ± 18.30	36.36 ± 6.15
粒细胞系 granuloid lineage	原始粒细胞 PG	4.87 ± 2.61	1.72 ± 0.55	1.33 ± 0.98	2.21 ± 0.53
	早幼嗜中性粒细胞 EIN	5.07 ± 0.97	4.11 ± 1.28	4.34 ± 0.72	1.05 ± 0.40
	中幼嗜中性粒细胞 MIN	5.22 ± 1.46	3.34 ± 1.56	3.18 ± 0.68	1.12 ± 0.30
	晚幼嗜中性粒细胞 LIN	4.21 ± 0.94	3.93 ± 1.69	3.11 ± 1.73	0.81 ± 0.52
	嗜中性粒细胞 NE	2.26 ± 0.80	1.81 ± 1.02	0.14 ± 0.16	0.60 ± 0.22
	嗜酸性粒细胞 EG	1.35 ± 1.18	1.04 ± 1.10	0.07 ± 0.12	0.39 ± 0.40
单核细胞系 monocytoid lineage	嗜碱性粒细胞 BG	1.46 ± 0.48	1.13 ± 1.32	0.10 ± 0.10	0.18 ± 0.16
	原单核细胞 PM	1.56 ± 0.74	0.99 ± 0.28	0.48 ± 0.26	0.81 ± 0.76
	幼单核细胞 IM	0.35 ± 0.17	0.27 ± 0.27	0.14 ± 0.12	0.42 ± 0.32
淋巴细胞系 lymphoid lineage	单核细胞 MO	0.35 ± 0.38	1.13 ± 0.63	0.38 ± 0.21	1.51 ± 0.82
	原淋巴细胞 PL	2.61 ± 1.80	1.49 ± 1.06	1.23 ± 0.72	1.65 ± 0.64
	幼淋巴细胞 IL	0.45 ± 0.40	0.23 ± 0.28	0.31 ± 0.10	1.23 ± 0.32
	大淋巴细胞 LL	7.07 ± 1.44	2.94 ± 0.75	1.68 ± 0.77	13.25 ± 2.53
	小淋巴细胞 SL	40.44 ± 14.63	20.33 ± 6.98	7.59 ± 2.43	37.90 ± 8.53

表 3 4 种组织血细胞的大小
Tab.3 Sizes of different blood cells in four tissues

细胞类型 cell types	胞体大小 size of volumes		胞核大小 size of nuclei		
	长径/μm major-axis	短径/μm minor-axis	长径/μm major-axis	短径/μm minor-axis	
	红细胞系 erythroid lineage	原始红细胞 PE	13.15 ± 1.05	12.61 ± 0.73	10.31 ± 0.86
	幼稚红细胞 IE	12.03 ± 0.86	10.19 ± 0.91	9.72 ± 1.03	8.93 ± 0.97
	成熟红细胞 ER	10.45 ± 1.59	6.45 ± 0.89	6.48 ± 1.05	4.87 ± 0.74
粒细胞系 granuloid lineage	原始粒细胞 PG	13.34 ± 1.09	13.19 ± 0.26	10.28 ± 1.02	9.97 ± 0.98
	早幼嗜中性粒细胞 EIN	13.05 ± 0.85	12.06 ± 0.88	9.34 ± 1.01	6.37 ± 1.15
	中幼嗜中性粒细胞 MIN	13.38 ± 0.93	13.07 ± 0.91	10.29 ± 0.99	7.75 ± 1.03
	晚幼嗜中性粒细胞 LIN	14.49 ± 0.91	13.24 ± 1.15	11.16 ± 1.04	9.94 ± 0.91
	嗜中性粒细胞 NE	15.07 ± 0.89	14.46 ± 1.02	11.84 ± 1.09	11.37 ± 0.97
	嗜酸性粒细胞 EG	11.08 ± 1.04	10.17 ± 0.98	9.46 ± 1.14	8.57 ± 1.08
单核细胞系 monocytoid lineage	嗜碱性粒细胞 BG	17.08 ± 0.71	16.05 ± 1.15	13.94 ± 1.49	13.04 ± 1.28
	原单核细胞 PM	15.04 ± 1.19	14.26 ± 1.04	12.87 ± 1.31	12.05 ± 1.13
	幼单核细胞 IM	16.14 ± 0.81	15.03 ± 0.93	13.89 ± 1.05	13.12 ± 1.27
淋巴细胞系 lymphoid lineage	单核细胞 MO	15.03 ± 1.07	14.08 ± 1.04	12.76 ± 1.25	11.99 ± 1.16
	原淋巴细胞 PL	11.19 ± 1.34	10.22 ± 1.08	9.48 ± 1.39	8.97 ± 1.17
	幼淋巴细胞 IL	9.27 ± 0.83	8.95 ± 1.19	7.29 ± 0.97	6.34 ± 1.15
	大淋巴细胞 LL	8.45 ± 1.07	8.19 ± 0.97	6.47 ± 1.12	6.01 ± 1.02
	小淋巴细胞 SL	6.85 ± 0.79	6.28 ± 0.67	5.03 ± 0.94	4.81 ± 0.73

3 讨论

3.1 血细胞发生的场所

关于血细胞发生的场所,不同鱼类,研究结果并不相同^[9]。本实验参照人类血细胞发生的研究方法,可以通过各个器官组织不同类型血细胞的原始型和未成熟型的数量和占血细胞总数的比例来分析血细胞发生的场所^[10]。

大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 的红细胞系和单核细胞系的发育部位主要在肾脏,淋巴细胞系和粒细胞系的发育在肾脏和脾脏中均存在^[11];长吻鲩 (*Leiocassis longirostris*) 肾脏、头肾和脾脏除产生红细胞外,还产生各种白细胞,而肝脏不是长吻鲩的造血器官^[12];卵形鲳鲹在造血功能上脾脏、头肾最为重要,体肾次之^[10];花尾胡椒鲷 (*Plectorhinchus cinctus*) 的头肾是主要的造血器官,脾脏次之,体肾再次之^[13];美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 头肾和体肾是红细胞的主要产生场所,淋巴细胞在脾脏中产生而粒细胞则主要在肝脏中产生^[9]。对淡水石斑鱼的研究结果表明了头肾、肾和脾是淡水石斑鱼的主要造血器官,肝组织印片上未观察到原始阶段血细胞,提示肝脏不是淡水石斑鱼的造血器官^[14]。

据表2和表3,原红细胞大量存在于头肾和肾脏中,而在外周血涂片、肝脏印片和脾脏印片都没有发现原始红细胞,因此推断红细胞的产生部位主要是头肾和肾脏;在头肾、脾脏、肝脏、肾脏的组织印片中均观察到了原始的粒细胞,按数目依次分别是头肾、脾脏、肝脏和肾脏,因此认为头肾和脾脏是粒细胞的产生场所;在上述4种造血器官印片以及外周血涂片中都可发现各种不同时期的单核细胞(图版I),但头肾和体肾中原单核细胞的数量最多,而成熟的单核细胞在头肾和脾脏中所占比例较大,因此,单核细胞的发生场所主要是头肾和体肾;头肾、体肾、肝脏和脾脏都能产生原淋巴细胞,头肾中所占比例较大,因此头肾是淋巴细胞的主要发生部位。综上所述,头肾、体肾和脾脏是日本黄姑鱼最主要的造血器官,而肝脏中成熟的红细胞的数目最多,但这并不能说明肝脏是红细胞成熟的最主要的部位,也有可能和肝脏的消化、解毒等功能有关,这些功能的行使必定消耗较多的氧气,循环系统从而将更多的血液运送至肝脏,因而出现了大量的成熟红细胞。根据

本实验结果,肝脏可能不是日本黄姑鱼主要的造血器官。

3.2 血细胞的发育

红细胞系 红细胞的发育经历了原红细胞、幼红细胞、红细胞3个阶段。头肾和肾脏产生原红细胞之后,通过血液的流动运送到各组织器官中。红细胞在整个发育过程当中都能观察到细胞核,在成熟过程中,细胞核的体积逐渐变小,细胞与核的体积比由大变小然后再逐渐变大,这一发育特点与兴国红鲤 (*Cyprinus carpio* var. *singuenensis*)^[15]、大弹涂鱼^[11]、军曹鱼 (*Rachycentron canadum* Linnaeus)^[16]、暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*)^[17]、花尾胡椒鲷^[13]以及美国红鱼^[9]等的研究结论一致,但与MAHAJAN等^[18]的观点有所不同,他认为红细胞在发育的过程中体积是连续增大的。血涂片中还观察到分叶的红细胞(图版I-5,6),ELLIS等^[19]认为红细胞核的分叶现象是病态的断裂增殖或者红细胞衰老的一种方式,根据实验结果,作者认为分叶的红细胞,是红细胞的一种一分为二的分裂增殖方式,日本黄姑鱼除了头肾和肾脏产生红细胞外,通过这种分裂增殖方式直接补充血液中的红细胞数量,与大弹涂鱼^[11]、暗纹东方鲀^[17]红细胞发育特点的研究结果是一致的。

粒细胞系 根据图版I和表2,粒细胞系的发育过程,大体上可分为5个时期,分别是原粒细胞期、早幼粒细胞期、中幼粒细胞期、晚幼粒细胞期和成熟粒细胞期,成熟粒细胞包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和嗜碱性粒细胞,这3种不同的粒细胞的发育过程也不一样。

在早幼粒细胞胞质内最早出现嗜天青颗粒,随着粒细胞的逐渐成熟嗜中性和嗜酸性颗粒逐步增多,早幼粒细胞逐渐分化成嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞和嗜碱性粒细胞,它们的细胞核也由规则的圆形逐渐变成椭圆形或肾形。嗜酸性粒细胞在头肾和体肾中的含量最多,所以头肾和体肾是嗜酸性粒细胞最主要的发育部位,而在外周血图片上没有观察到原始和幼稚的粒细胞,因此嗜酸性粒细胞是在造血器官产生了之后逐渐发育至成熟,然后随着流入血液中,这与长吻鲩血细胞发生的研究^[12]是一致的。全血涂片上只观察到晚幼时期和成熟时期的嗜中性粒细胞,而且数量较多,这说明了日本黄姑鱼嗜中性粒细胞是在造血器官

中发育至晚幼期嗜中性粒细胞后才进入到血液循环,然后在血液中发育成嗜中性粒细胞,这与暗纹东方鲀^[17]的研究是一致的。外周血涂片上没有发现嗜碱性粒细胞,这可能是由于嗜碱性颗粒极易溶于水,嗜碱性粒细胞外周血中停留的时间非常短暂,制片过程中易解体,因此在外周血涂片中很难见到,这点在长吻鲩血细胞发生的研究^[12]中也有提到。

单核细胞系 单核细胞的发育过程大致分为原单核细胞、幼单核细胞和单核细胞 3 个阶段。随着单核细胞的发育,细胞体积先变大然后逐渐缩小,细胞内的紫红色嗜天青颗粒逐渐增多。巨噬细胞形态、染色情况与单核细胞很相近,因此推测巨噬细胞可能是由单核细胞发育而来。巨噬细胞在脾脏中数量较多,这可能与脾脏衰老红细胞的清除过程有关,衰老红细胞和红细胞胞质小体通过被巨噬细胞吞噬而消亡^[12]。团头鲂血细胞发生的研究^[20]发现,肾脏是单核细胞的发育产地。单核细胞形成巨噬细胞的过程尚不明确,有待进一步研究。

淋巴细胞系 淋巴细胞的发育过程经历了原淋巴细胞、幼淋巴细胞和淋巴细胞 3 个阶段,根据体积的大小,分为大淋巴细胞和小淋巴细胞两种(图版 II 和表 2)。头肾、体肾、肝脏和脾脏中均可以发现各种时期的淋巴细胞,但在外周血液中没有发现原淋巴细胞和幼淋巴细胞,这说明了淋巴细胞可能是在这 4 种器官中产生之后,部分进入血液并在其中发育成熟,或者是在造血器官中产生并发育成熟之后再流经血液。ELLIS^[19]认为将淋巴细胞分为大、小两类的这种做法非常武断,因为大、小淋巴细胞极有可能代表了同一种细胞表现不同功能时的状态。BARBER^[21]认为,许多淋巴细胞的体积随着发育而不断变化,不能够简单地用“大”和“小”来区分。有部分研究人员将大、小淋巴细胞归为一类进行描述,只不过它们的体积变化范围较宽而已。但 LEWIS^[22]在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)中提供了区分两种淋巴细胞的免疫证据,认为有必要将之分为大、小两种淋巴细胞,现已被证明。目前大多数人也认同他的这种区分方法,因此一般把淋巴细胞分为大、小两种。有关大、小淋巴细胞的功能有待进一步研究。

其他细胞的发育 血栓细胞只在血涂片、

肝脏器官印片中有发现,其他印片中均无发现。血栓细胞的发育过程仍不清楚,尚有待探究。在鱼类的免疫学上,一般认为网状细胞作为框架支撑着能迁移或不能迁移的细胞群组成鱼类的系统淋巴组织,这些细胞群主要包括 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、粒细胞、巨噬细胞等。网状细胞的发生和发育目前研究的不多,发育过程尚不清楚。

本研究结果表明,在外周血涂片中,除红细胞外,还观察到多种白细胞,主要有单核细胞、嗜中性细胞、嗜酸性细胞和淋巴细胞,而嗜碱性细胞没有发现。红细胞、淋巴细胞和单核细胞的发生主要在肾脏和头肾,其次是脾脏;粒细胞的发生主要在头肾和脾脏。肝脏相对头肾、体肾和脾脏对造血功能的贡献较小。

红细胞的发育经历 3 个阶段:原红细胞、幼红细胞和成熟红细胞阶段。红细胞在成熟过程中,细胞核的体积逐渐变小,细胞与细胞核的体积比由大变小然后再变大。成熟红细胞除了有幼稚细胞发育而来以外,还可以进行一分为二的方式进行分裂;粒细胞的发育经历 5 个阶段:原粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞和成熟粒细胞;淋巴细胞经历了 3 个阶段:原淋巴细胞、幼淋巴细胞和成熟淋巴细胞;单核细胞的发育和淋巴细胞相似,也经历了 3 个阶段:原单核细胞、幼单核细胞和成熟单核细胞。

参考文献:

- [1] CATTON W T. Blood cell formation in certain teleost fishes[J]. *Blood*, 1951, 6:39-60.
- [2] DEWILDE M A, HOUSON A H. Haematological aspect of the thermoacclimatory process in the rainbow trout, *Salmo gairdner* [J]. *Journal of Fish Research Board of Canada*, 1967, 27A:2267-2281.
- [3] 冯健,杨丹,覃志彪,等.青石爬鮡血浆生化指标、血细胞分类与发生[J]. *水产学报*, 2009, 33(4): 581-589.
- [4] 许源剑. 日本黄姑鱼的研究进展[J]. *现代渔业信息*, 2010, 25(5):6-8.
- [5] 朱元鼎,张春霖,成庆泰. 东海鱼类志[M]. 北京:科学出版社,1963:277-288.
- [6] 苏跃中,全汉锋,李燕平,等. 日本黄姑鱼人工繁殖及苗种培育技术的初步研究[J]. *试验与技术*, 1994(4):1-2.
- [7] 王波,张锡烈,曲秀家,等. 日本黄姑鱼的生物学特性及苗种生产技术[J]. *海洋水产研究*, 2002(4):

- 13-19.
- [8] 余振玉. 血液病形态诊断学[M]. 北京:战士出版社,1981;6-11.
- [9] 陈刚,周晖,叶富良,等. 美国红鱼血细胞观察[J]. 热带海洋学报,2006,25(2):59-65.
- [10] 张健东,周晖,陈刚,等. 卵形鲳鲹血细胞发生的观察[J]. 水生生物学报,2007,31(6):780-787.
- [11] 李长玲,曹伏君,刘楚吾,等. 大弹涂鱼血细胞的发生[J]. 中国水产科学,2002,8(1):10-14.
- [12] 金丽,张耀光. 长吻鲈血细胞发生的研究[J]. 水生生物学报,2007,31(6):807-816.
- [13] 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):7-15.
- [14] 顾曙余,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.
- [15] 林光华,林琼,洪一江,等. 兴国红鲤鱼血细胞发生的研究[J]. 动物学报,1998,44(4):488-489.
- [16] 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.
- [17] 顾曙余,赵璧影,杨家新. 暗纹东方鲀血细胞发生的观察[J]. 淡水渔业,2007,37(1):13-18.
- [18] MAHAJAN C L, DHEER J M. An autoradiographic and cytochemical study of erythropoiesis in a fresh water fish, *Channa punctatus* Bloch [J]. Journal of Fish Biology, 1980, 17:641-648.
- [19] ELLIS A E. Bizarre forms of erythrocytes in a specimen of plaice, *Pleuronectes platessa* L [J]. Journal of Fish Disease, 1984, (7):411-414.
- [20] 吴维宁. 团头鲂血细胞发生的研究[J]. 水产学报, 1990, 14(4):328-343.
- [21] BARBER D L. The blood cells of the Antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* lonnberg: light and electron microscopic observations [J]. Fish Biology, 1981, 19:11-28.
- [22] LEWIS D H. Vibriosis in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) [J]. Journal of Fish Diseases, 1985, 8(6):539-545.

欢迎订阅 2012 年《水产科学》

《水产科学》杂志是由辽宁省水产学会主办的水产科技期刊,辽宁省一级期刊,1982年创刊,是中文水产、渔业类核心期刊和全国农业系统优秀期刊之一。现已被美国《化学文摘》、《剑桥科学文摘》、《乌利希期刊指南》,俄罗斯《文摘杂志》,英国《动物学记录》、《食品科技文摘》、《农业与生物科学研究中心文摘》,波兰《哥白尼索引》,日本科学技术振兴机构文献数据库,中国科学引文(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库、《中国学术期刊(光盘版)》、中国期刊网和万方数字化期刊群、中文科技期刊数据库、中文科技期刊精品数据库、台湾华艺数据库、中国生物学数据库收录。杂志主要刊载渔业资源、海淡水捕捞、水产养殖与增殖、水产生物病害及防治、水产饲料与营养、水产品保鲜与加工综合利用及水产基础科学等方面研究的新进展、新技术、新方法等。设有研究与应用、综述与专论栏目。读者对象为水产科技工作者,大中专院校水产、生物、环保等专业师生,渔业行政、事业和企业单位有关管理和技术人员及广大知识渔民。

本刊为月刊,A4开本,64页,每月25日出版,定价6.00元/期,全年72.00元。国内外发行,中国标准连续出版物号:ISSN 1003-1111, CN 21-1110/S, 邮发代号8-164。订阅者请到邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅,还可通过银行信汇订阅。

开户行:建行大连高新园区支行,账号:21201501900059000315,户名:辽宁省海洋水产科学研究院,请注明订阅《水产科学》。

编辑部地址:大连市沙河口区黑石礁街50号 辽宁省海洋水产科学研究院《水产科学》编辑部

邮政编码:116023

传真:0411-84679512

E-mail: shchxjb@yahoo.com.cn

Observations on the developments of blood cells in *Nibea japonica*

YUAN Shu-bin¹, ZHU Ai-yi^{1*}, JIANG Li-hua¹, CHAI Xue-jun²

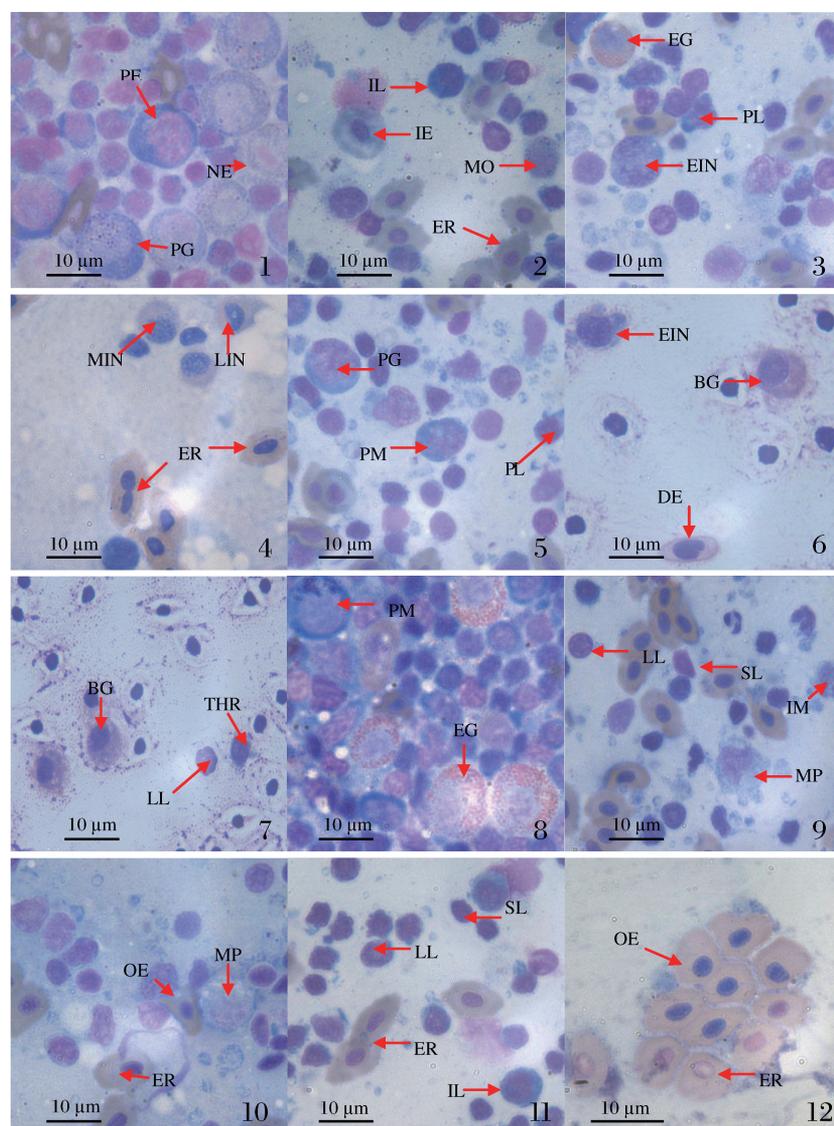
(1. Zhejiang Key Laboratory of Mariculture Equipment and Engineering Technology,
Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China;

2. Marine Fishery Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316000, China)

Abstract: The sizes and morphological characteristics of blood cells were observed and the patterns of developments of blood cells were ultimately found, through the observation on the smears stained by Wright's-Giemsa of whole blood, head kidney, kidney, liver and spleen in *Nibea japonica*. The results were as follows: In peripheral blood smears, many kinds of leukocytes cells were also observed that mainly included monocytes, neutrophils, eosinophilic granulocytes and lymphocytes in addition to red blood cells, while no basophilic cell was found. Erythrocyte, lymphocyte and monocyte stemmed mainly from head kidney and kidney, and the next was spleen; but granulocyte originated mainly from head kidney and spleen. The erythron consisted of proerythrocyte, immature erythrocyte and erythrocyte. During maturation of the erythrocyte, the volume of cells shrunk gradually, and the ratio between the volume of cells and nucleus' decreased at first and then increased. Matured erythrocyte could be proliferated per division except generating from immature erythrocyte. The development of granuloid lineages was divided into five stages: primitive granulocyte, early immature neutrophil, middle immature neutrophil, later immature neutrophil and neutrophil. The development of lymphoid lineages was divided into three stages: primitive lymphocyte, immature lymphocyte, lymphocyte. The development of monocyte lineages was similar to that of lymphoid lineages, and they experienced three stages respectively: primitive monocyte, immature monocyte and monocyte.

Key words: *Nibea japonica*; developments of blood cells; blood cells; hematopoietic organs

Corresponding author: ZHU Ai-yi. E-mail: zay008@163.com



图版 I 日本黄姑鱼外周血涂片及各组织器官印片

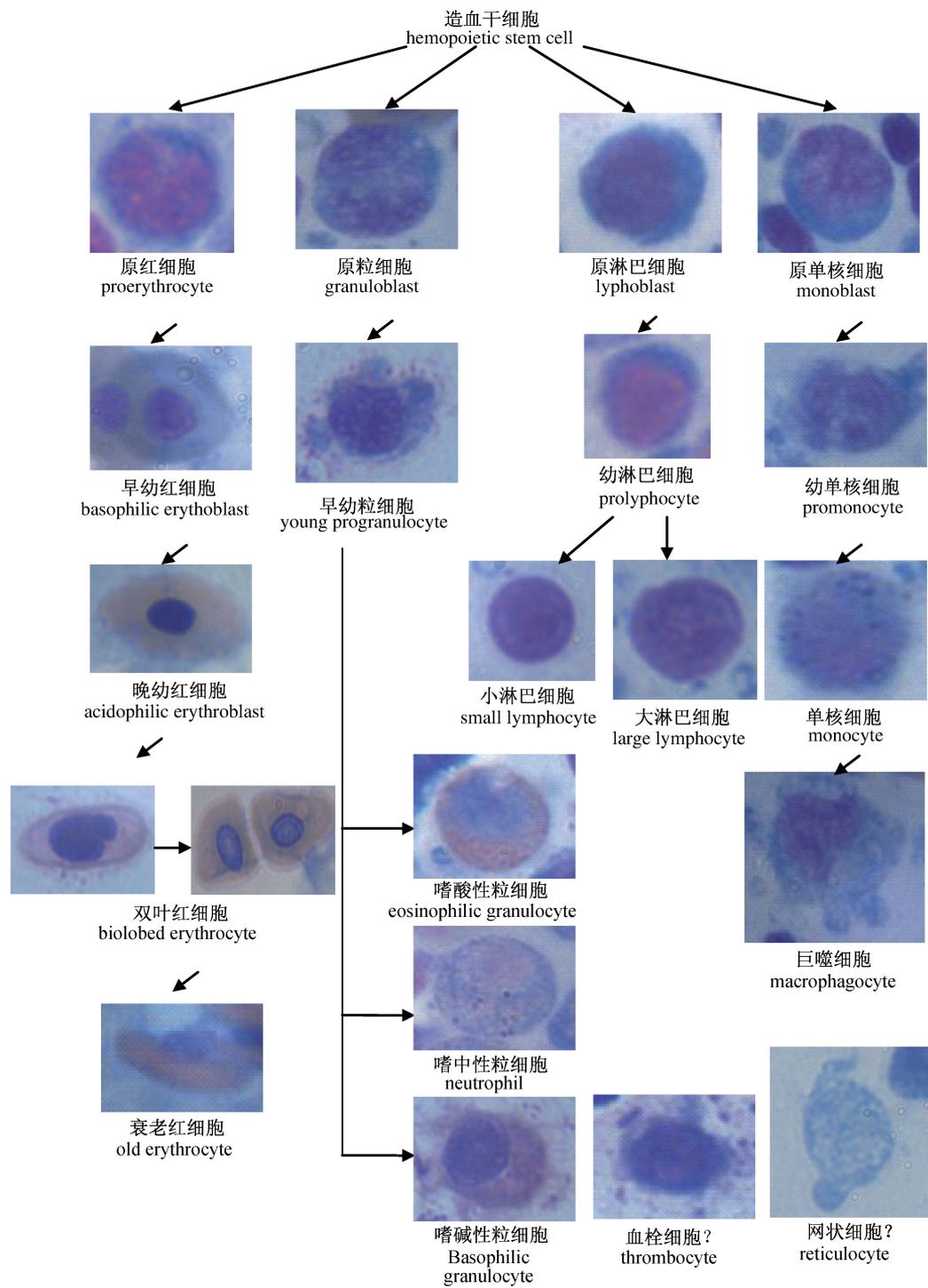
1. 头肾印片; 2. 体肾印片; 3. 脾脏印片; 4. 肝脏印片; 5. 脾脏印片; 6. 外周血涂片; 7. 外周血涂片; 8. 头肾印片; 9. 脾脏印片; 10. 脾脏印片; 11. 体肾印片; 12. 体肾印片。

PE. 原红细胞; IE. 幼红细胞; ER. 红细胞; DE. 分叶红细胞; OE. 衰老红细胞; PG. 原粒细胞; EIN. 早幼嗜中性粒细胞; MIN. 中幼嗜中性粒细胞; LIN. 晚幼中性粒细胞; NE. 嗜中性粒细胞; EG. 嗜酸性粒细胞; BG. 嗜碱性粒细胞; PM. 原单核细胞; IM. 幼单核细胞; MO. 单核细胞; PL. 原淋巴细胞; IL. 幼淋巴细胞; LP. 淋巴细胞; THR. 血栓细胞; MP. 巨噬细胞; HSC. 造血干细胞; RE. 网状细胞。

Plate I Smears of peripheral blood cells and four kinds of tissue organs in *N. japonica*

1. head kidney; 2. kidney; 3. spleen; 4. liver; 5. spleen; 6. peripheral blood; 7. peripheral blood; 8. head kidney; 9. spleen; 10. spleen; 11. kidney; 12. kidney.

PE. primitive erythrocyte; IE. immature erythrocyte; ER. erythrocyte; DE. dividing erythrocyte; OE. old erythrocyte; PG. primitive granulocyte; EIN. early immature neutrophil; MIN. middle immature neutrophil; LIN. later immature neutrophil; NE. neutrophil; EG. eosinophilic granulocyte; BG. basophilic granulocyte; PM. primitive monocyte; IM. immature monocyte; MO. Monocyte; PL. primitive lymphocyte; IL. immature lymphocyte; LP. lymphocyte; THR. Thrombocyte; MP. Macrophagocyte; HSC. hemopoietic stem cell; RE. reticulocyte.



图版 II 日本黄姑鱼血细胞不同细胞系的发育

图中“?”表示其发育过程未知。

Plate II The development of blood cells lineages of *N. japonica*

“?” shows that the process is unknown.