

研究简报

## 五种鲤科幼鱼外周血白细胞形态和细胞化学的研究

赵宝生 沈成刚

(大连水产学院养殖系,大连 116024)

### A MORPHOLOGICAL AND CYTOCHEMICAL STUDY OF THE PERIPHERAL BLOOD LEUCOCYTES ON FIVE SPECIES OF THE JUVENILE IN CYPRINIDAE

Zhao Baosheng and Shen chengang

(Department of Aquiculture, Dalian Fisheries College, Dalian 116024)

**关键词** 白细胞,细胞化学,淋巴细胞,血栓细胞,单核细胞,颗粒白细胞

**Key words** Leucocytes, Cytochemistry, Lymphocytes Thrombocytes, Monocytes, Granulocytes

鱼类外周血白细胞同高等脊椎动物血液中的白细胞一样,是机体细胞和体液免疫的重要成分<sup>[1]</sup>,是快速诊断疾病的有效指标。有关成体鱼类白细胞的分类、形态、生理和细胞化学的研究,国外已有报道<sup>[2,3]</sup>,但国内的报道较少<sup>[4,5]</sup>。而幼鱼外周血白细胞方面的研究至今未见报道。因此,这项研究对幼鱼血液有形成分的理解和认识,疾病诊断,尤其北方越冬鱼种死亡原因的调查具有一定意义。

#### 材料和方法

实验用鱼于1989年10月取自吉林朝阳水库的同一鱼池不同实验小网箱内,全部为当年鱼种。有21尾杂交鲤、17尾镜鲤、20尾白鲢、16尾鳙鱼和17尾草鱼。平均体重分别为50.2g、58.4g、41.6g、36.2g和38.2g。将每种鱼断尾,收集全血制做涂片,用吉姆萨氏液和瑞氏液复染后进行形态学观察。分别用过碘酸稀夫氏剂(PAS)、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和苏丹黑B试剂浸染,以观察

其细胞化学特征。

#### 结果和讨论

##### (一) 形态结构

五种幼鱼的血液有形成分已经分化,其白细胞可分为:血栓细胞、淋巴细胞、单核细胞和颗粒白细胞四大类。

**血栓细胞**(Thrombocytes) 五种幼鱼均含泪滴状和圆球形两种血栓细胞(版图1:1,2)。前者短径一般3.6—5.2 $\mu\text{m}$ ,长径7.8—12.7 $\mu\text{m}$ 。细胞质在细胞的一极或二极拉长,形成尖峰。细胞核为椭圆形,核质致密染成暗紫色。后者直径为4.9—5.6 $\mu\text{m}$ 。胞质较少,只有圆形核周围的一薄层。有时边缘有突起(版图1:2)。

从表1可知,杂交鲤的血栓细胞占白细胞的13.1%,在五种幼鱼中最高。两种类型较易看到。其细胞核相对较大,几乎占据整个细胞。其余4

1990年2月13日收到。

表 1 五种幼鱼各类白细胞的比例和细胞化学过程及结果

Tab. 1 The percentage and the cytochemical process and results of the leucocytes in five species of the juvenile

细胞类型 Cell types 结果 Result		血栓细胞 Thrombo- cyte	淋巴细胞 Lympho- cyte	单核细胞 Monocyte	颗粒白细胞 Granulocyte		
					I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III
种及项目 Species and Items	%						
杂交鲤 (21 尾) 21 hybrid carps	PAS	13.1±0.31	73.4±0.25	5.2±0.23	1.2±0.1	6.7±0.25	1.4±0.11
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	-	-	-	-	-	-
	苏丹黑 B Sudan black B	-	+	+	-	+	+
镜鲤 (17 尾) 17 mirror carps	PAS	6±1.1	74.5±0.01	4.7±0.23	1.4±0.3	7.4±0.2	6.0±0.51
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	-	-	-	-	-	-
	苏丹黑 B Sudan black B	-	-	+	-	+	+
草鱼 (17 尾) 17 grass carps	PAS	4.7±0.65	59.6±0.12	20±0.36	11.8±0.1	1.3±0.41	2.6±0.32
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	-	-	-	-	-	-
	苏丹黑 B Sudan black B	-	-	+	-	+	+
鲢鱼 (20 尾) 20 silver carps	PAS	7.7±0.42	69.2±0.51	4.8±1.03	2.6±0.2	2.1±0.4	11.3±0.1
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	-	-	-	-	-	-
	苏丹黑 B Sudan black B	-	-	+	-	+	+
鳊鱼 (16 尾) 16 bighead carps	PAS	12.1±0.11	79.4±0.22	1.2±0.72	5.3±0.21	3.2±0.4	1.2±0.3
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	-	-	-	-	-	-
	苏丹黑 B Sudan black B	-	-	+	-	+	+

注: “+”表示阳性反应;“-”表示阴性反应。%: 占白细胞数的百分比

“+” Positive reaction;“-” Negative reaction; % Percentage of cell in leucocytes

种鱼均以圆球形血栓细胞为主。鳊和鲢鱼的血栓细胞有聚群现象。草鱼血栓细胞较少,占白细胞的4%。每种幼鱼血栓细胞核均未分叶,表现细胞的初期分化状态,与成体的观察不同<sup>[4]</sup>。

**淋巴细胞 (Lymphocytes)** 占白细胞数的一半以上(表1),为圆球形(版图1:2,3)。直径一般4.5—9.2 $\mu\text{m}$ ,表面有突起或伪足(版图1:3)。直径在7.8 $\mu\text{m}$ 以上的大淋巴细胞胞质较丰富,且嗜碱性。核圆形居中,占细胞一半以上(版图1:2,3)。

五种幼鱼的淋巴细胞占白细胞比例不同。鳊鱼较高为79.4%,草鱼略低为59.6%。淋巴细胞具有对外源物质的敏感性反应,结果使淋巴细胞增殖,并产生抗体且白(IgM)<sup>[4,23]</sup>。因此,这种不同表明同一环境下淋巴细胞的敏感性具有种间差异。

**单核细胞 (Monocytes)** 近于球形,直径8.5—16.8 $\mu\text{m}$ 。胞质内有嗜碱性颗粒,核圆形或不规则形,偏心血管在质膜上(版图1:9,10)。五种幼鱼的单核细胞占白细胞的比例差别很大(表1),鳊鱼仅有1.2%,而草鱼高达20%。据赵明蓓(1979)<sup>[11]</sup>等的观察,在污染严重鱼池内的草鱼,单核细胞等高达白细胞数的50%。Ellis(1976)在给鳊鱼注射胶碳颗粒后,单核细胞由0.1—0.2%增加到1.5—3%。由此可知,鱼体受到侵染会导致单核细胞增加。因此,表1结果表明草鱼单核细胞敏感性最高,而鳊鱼较差。

**颗粒白细胞 (Granulocytes)** 五种幼鱼的颗粒白细胞均可分出染色和形态不同的三种,按近期较一致的分类方法<sup>[13,21]</sup>,分别称为I型、II型和III型颗粒白细胞。

**I型颗粒白细胞 (Granulocytes type I)** 为球形,直径10.4—14.3 $\mu\text{m}$ 。细胞嗜碱性,核为卵圆形或不规则形(版图1:4,7)。位置偏心或近中。在成鱼,I型细胞有“S”形、蚕豆形、袋状和分叶形核<sup>[2,23]</sup>,赵明蓓(1979)<sup>[11]</sup>认为核分叶是细胞老化的标志。因此,幼鱼的卵圆形核与其发育阶段是一致的。

**II型颗粒白细胞 (Granulocytes type II)** 也为球形,直径9.1—15.2 $\mu\text{m}$ 。核卵圆或扁椭圆形,

偏向细胞一侧(版图1:7,8)。与I型细胞不同的是胞质内含有丰富的嗜酸性颗粒。这种细胞和以前描述的嗜酸性颗粒细胞属同类<sup>[1,2]</sup>。

**III型颗粒白细胞 (Granulocytes type III)** 为三种球形颗粒细胞中最大的一类。直径11.7—16.7 $\mu\text{m}$ 。在复染的血片上,其胞质几乎不着色。核染成粉红色,为典型的多形核:椭圆形、亚铃形、蜡肠形和分叶形(版图1:4,5,10)。这种细胞与以前描述的嗜中性颗粒细胞是一致的<sup>[4]</sup>。在五种幼鱼,鳊和草鱼的核分叶现象较杂交鲤和镜鲤少很多,这种现象应属种间差异,而不是老化所致。

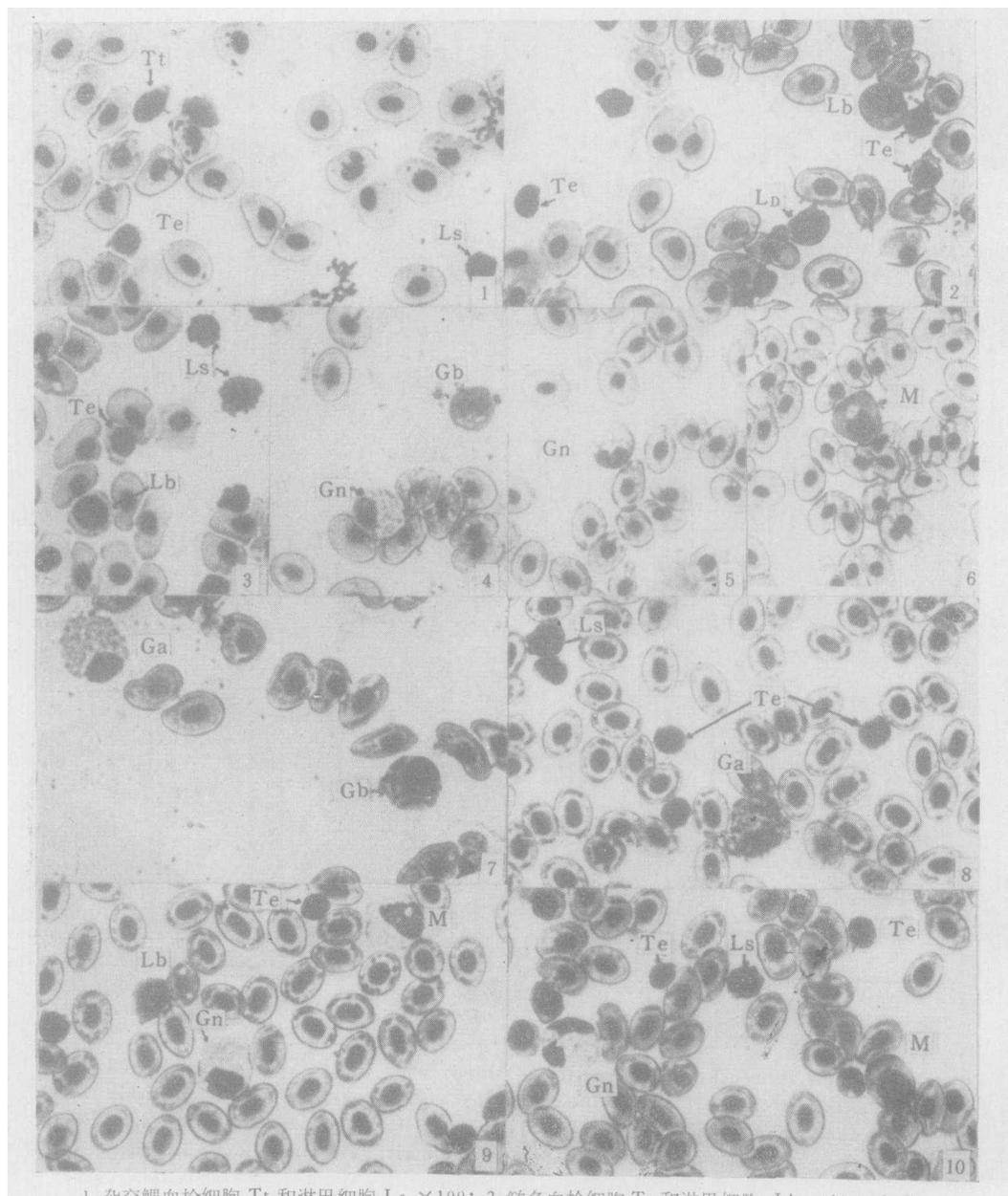
## (二) 细胞化学

正如表1所示,4种试剂浸染结果表明:每种幼鱼各类白细胞内均含有糖类颗粒,即PAS阳性反应。而不具有碱性磷酸酶活性。这与目前的报道是一致的。酸性磷酸酶只存在于单核细胞和II、III型颗粒白细胞中。I型颗粒白细胞含有丰富的腊类物质,即苏丹黑B反应呈阳性。五种幼鱼中,只有杂交鲤大淋巴细胞表现酸性磷酸酶活性。这与丽鱼科种类的观察结果相同<sup>[1]</sup>。其余幼鱼无此特征。除此之外,幼鱼白细胞的细胞化学特征的种间差别很小。

综上所述,I龄幼鱼外周血白细胞的分化,基本上具有成鱼的细胞分类特征。血栓细胞和I型颗粒细胞仍表现未成熟,各类白细胞对外源刺激的敏感性具有一定的种间差异,表现为明显细胞数量不同。但细胞化学特征的种间差异很小。

## 参 考 文 献

- [1] 赵明蓓,1979. 鲤鱼和草鱼血液指标的研究. 水生生物学集刊,6(4): 453—463.
- [2] 徐豪等,1983. 四种淡水养殖鱼类血细胞的细微结构. 水生生物学集刊,8(1): 85—96.
- [3] Doggett, T. A., Wrathmell, A. B. & Harris, J. E., 1987. A cytochemical and light microscopical study of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*, Cichlidae. *J. Fish Biol.*, 31, 147—153.
- [4] Ellis, A. E., 1977. The leucocytes of fish: a review. *J. Fish Biol.*, 11, 453—491.
- [5] Margaret, L. M. & Mary, F. T., 1985. Fish immunology. Academic press, Florida. pp9—49.



1. 杂交鲤血栓细胞 Tt 和淋巴细胞 Ls  $\times 100$ ; 2. 鲢鱼血栓细胞 Te 和淋巴细胞 Lb  $\times 100$ ; 3. 草鱼淋巴细胞 Lb  $\times 100$ ; 4. 镜鲤 I, III 型颗粒白细胞 Gb, Gn  $\times 100$ ; 5. 草鱼 III 型颗粒细胞 Gn  $\times 100$ ; 6. 鲢鱼单核细胞 M  $\times 100$ ; 7. 鳊鱼 I, II 型颗粒白细胞 Gb, Ga  $\times 100$ ; 8. 杂交鲤 II 型颗粒白细胞 Ga, 血栓细胞 Te  $\times 100$ ; 9. 杂交鲤单核细胞 M, III 型颗粒白细胞 Gn  $\times 100$ ; 10. 镜鲤 III 型颗粒白细胞 Gn, 单核细胞 M, 淋巴细胞 Ls 和血栓细胞 Te  $\times 100$

1. Thrombocytes Tt and Lymphocytes Ls of hybrid carp  $\times 100$ ; 2. Thrombocytes Te and Lymphocytes Lb of silver carp  $\times 100$ ; 3. Lymphocytes Lb of grass carp  $\times 100$ ; 4. Granulocytes Type I, III, Gb, Gn of mirror carp  $\times 100$ ; 5. Granulocytes Type III Gn of grass carp  $\times 100$ ; 6. Monocytes M of silver carp  $\times 100$ ; 7. Granulocyte Type I, II, Gb, Ga of bighead carp  $\times 100$ ; 8. Granulocytes Type II Ga of hybrid carp  $\times 100$ ; 9. Monocytes M and Granulocytes Type III of hybrid carp  $\times 100$ ; 10. Granulocytes Type III and Monocytes M, Lymphocytes Ls and Thrombocyte Te of mirror carp  $\times 100$