

研究简报

淡水育珠蚌褶纹冠蚌血细胞的初步研究

沈亦平 马丽君

(武汉大学生物系, 430072)

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON HAEMOCYTES OF FRESHWATER PEARL OYSTER *Cristaria plicata* LEACH

Shen Yiping and Ma Lijun

(Biol. Dept. of Wuhan University, 430072)

关键词 褶纹冠蚌, 血细胞, 形态与分类

Key words *Cristaria plicata* Leach, Haemocytes, Morphology and classification

国外关于海产双壳贝血细胞形态与功能的研究虽然较多^[1-4], 但对于淡水育珠蚌褶纹冠蚌的血细胞却无研究报告, 国内关于软体动物血细胞的研究甚少, 对于育珠蚌血细胞只笼统地称之为游走细胞^[5], 颗粒细胞^[6]等, 对它们的种类和形态无详细的描述。为此作者对褶纹冠蚌的血细胞进行了形态学的初步观察, 以期对今后的研究工作提供参考。

材料与方法

褶纹冠蚌取自南湖养殖场, 2—3 龄。切断一侧的前后闭壳肌后裸露出心脏, 用注射器直接从心脏中抽取血液, 立即进行涂片, 待血液细胞贴壁后, 将多余的血液倒掉, 作如下三种处理:

1. 液体石蜡封片后在油镜下观察血细胞的活体状态。
2. 甲醇固定 10min 后空气干燥, Gimsa 染色 (pH7.2) 5—7min, 不封片及中性树胶封片观察;
3. 生理盐水轻轻漂洗玻片后入 Bouin 氏固定液固定 10min, Ehrlich 苏木精-伊红染色 (H. E.)。

液固定 10min, Ehrlich 苏木精-伊红染色 (H. E.)。
中性树胶封片观察。

另外, 取小块鳃和外套膜组织经 Bouin 氏固定液固定, 石蜡包埋, 切片 (5—7μm), H. E 染色, 中性树胶封片观察。

观察结果

1. 活体细胞观察 透明细胞 (Hyalinocyte) (图版 I : 1) 贴壁迅速, 胞体伸展, 胞体狭小, 宽 2.6—4.6μm, 胞质少且均匀, 无明显的颗粒, 胞质突起较丰富, 突起端有明显伸出的棘突, 胞核多呈长条形, 常位于胞质突起中, 核质较均匀。这类细胞占血细胞总数的 40%左右。

A 型颗粒细胞 (A-type granulocyte) (图版 I : 2) 的贴壁行为及胞体形态类似于透明细胞, 但胞体较透明细胞大, 胞体宽 13.0—16.7μm, 胞质多, 胞体四周及突起中的胞质均匀无颗粒, 细胞中央 (内质) 有明显的大液泡, 数目 2—10 个以上, 大小不一, 另有一类点状颗粒, 带有折光性, 数目多

寡不一,分布于液泡之间。胞核较大,呈不规则圆形,常偏位于胞体一侧,核膜明显,核质中可辨认出点状结构及核仁,胞质突起丰富,端部具棘突。这类细胞占血细胞总数的30%左右。

B型颗粒细胞(B-type granulocyte)充分贴壁铺展,胞体呈不规则圆形或扇形,胞体宽20.0—26.7 μm ,无胞质突起和棘突,细胞核较大,呈圆形,位于内质中,核质内有点状的染色质结构,核膜清晰,核周围胞质中有液泡和较多的小颗粒,这类细胞占血细胞总数的20%左右。

浆液细胞(Serous cell)(图版I:3,4)贴壁性能差,几乎不伸展,胞体呈圆形,有时具少量细小突起,胞体宽(10.0—13.0 μm)胞质内充满大的球状颗粒,胞核隐藏于这些颗粒之间,调节焦距可见明显的核膜,核呈不规则圆形,偏位于胞体一侧。这类细胞的数目较少。

2. Gimsa染色的血细胞观察 透明细胞核染成深红色,形态不规则,胞体狭小,胞质少,突起细长,细胞间常由突起相连成团,有双核细胞现象。A型颗粒细胞核呈圆形,着色稍浅,可辨出核内的点状染色质,胞质较多,内外质分明,内质中颗粒较多,外质和突起中无颗粒,胞质突起丰富,观察到有双核和三核现象。B型颗粒细胞的核在形态和着色上与A型颗粒细胞相同,胞体多呈扇形,内质中颗粒较多,外质均匀,细胞边缘呈波纹状,无胞质突起和棘突,也观察到双核现象。浆液细胞的核较致密,着色深,呈不规则椭圆形,胞体小,胞质中具圆形颗粒。经中性树胶封片后细胞轮廓不复清晰,透明细胞和颗粒细胞的胞质呈淡蓝色,浆液细胞的胞质呈较深的蓝色(图版I:5)。

3. H.E染色的血细胞观察 透明细胞核染成蓝紫色,核内可辨认出条状染色质,A型、B型颗粒细胞的细胞核形态和染色特性均相似,核呈椭圆形,核内有点状染色质,有时可见核仁结构,浆液细胞的核内染色质也呈圆点状。透明细胞和A型颗粒细胞有丰富的胞质突起,同时可清晰地观察到棘突自细胞内部发出(图版I:6,7)。透明细胞胞质均匀,没有明显的颗粒,A型颗粒细胞内质中有嗜苏木精的异染色颗粒和网格状结构,外质及胞质突起中无颗粒,B型颗粒细胞内质中有嗜苏木精的异染色颗粒,细胞外质多且薄,

没有突起和棘突。浆液细胞胞质中有明显的大圆形颗粒,强嗜伊红性,大小不一,较少的颗粒着色更深。(图版I:9)。

4. 结缔组织间的血细胞观察 切片观察发现,鳃组织的血窦和结缔组织间有许多血细胞,其中浆液细胞的数目很多,胞质明显地染成红色,其内充满圆形的嗜伊红颗粒,它们大量地渗透到鳃丝的结缔组织间。颗粒细胞胞质不被伊红着色,但有少量嗜苏木精的异染颗粒,胞核大而圆,颗粒细胞在鳃组织间的分布数量较少。未见透明细胞。外套膜外表皮间的结缔组织中也有少量的浆液细胞和颗粒细胞,浆液细胞的数目较鳃组织中少。未观察到透明细胞的分布。

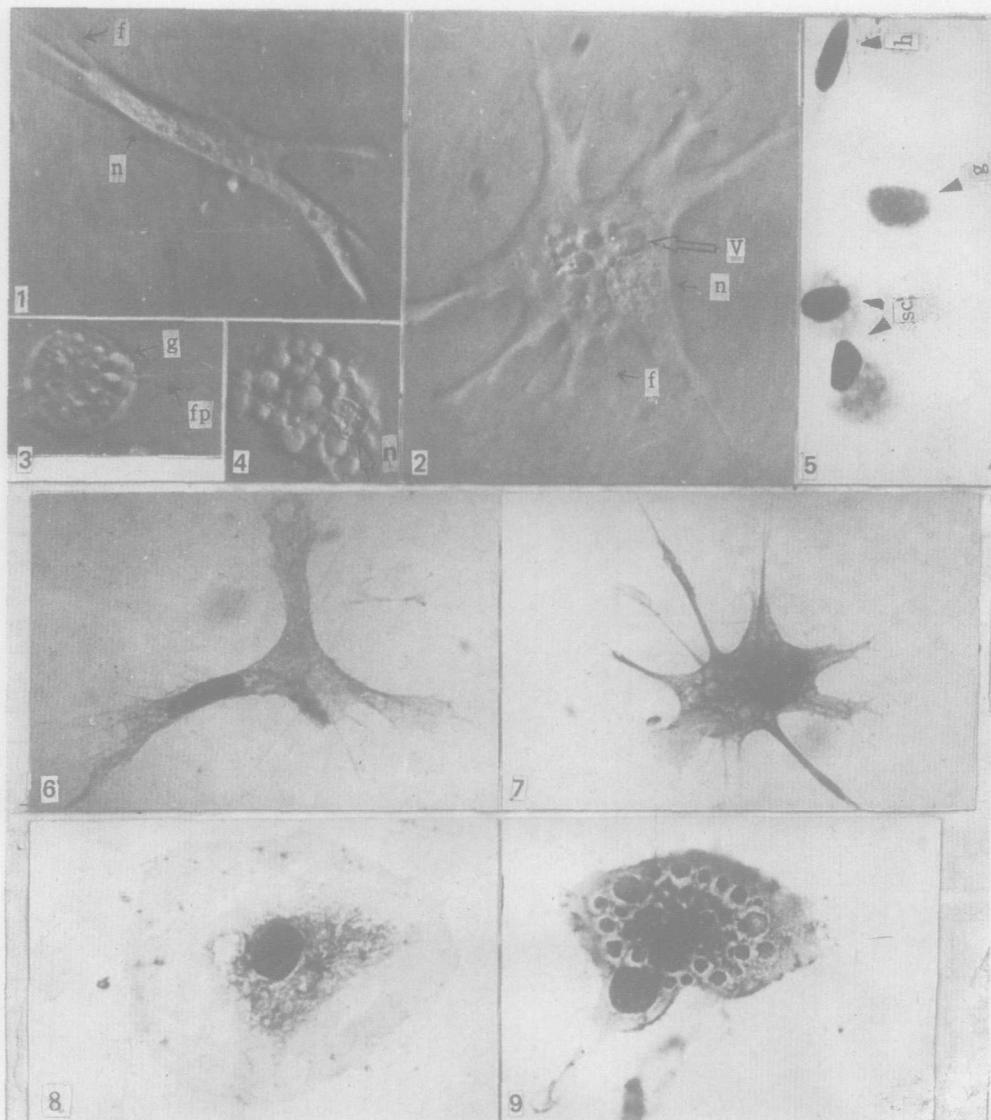
讨 论

cheng对双壳贝血细胞类型的研究有过综述报道^[2],他认为双壳贝血细胞基本上分为3类:透明细胞,颗粒细胞和浆液细胞,且认为透明细胞胞核较大,没有胞质突起。作者对褶纹冠蚌血细胞进行了常规方法的观察,根据细胞的形态区分出4类细胞,透明细胞胞质中无颗粒,且胞体小,这符合cheng所称的透明细胞的主要特征,但我们还观察到发达的胞质突起和棘突。町井昭在海水育珠贝马氏珠母贝血细胞的透明细胞中也观察到了发达的胞质突起,作者认为这一观察结果是对cheng结论的补充。A型和B型颗粒细胞虽然在胞体形态上有十分明显的区别,但其它许多重要特征,如胞质颗粒及分布,胞核形态及着色特性等均相同,另有一些细胞在形态上介于这两类细胞之间,即胞质突起和棘突减少,形态渐成圆形。可以推测A型和B型颗粒细胞在个体发生上可能是属于同一类细胞的不同发育阶段。前人的研究报道对浆液细胞的描述很少,这可能与这类细胞在血液中所占比例较小有关,同时因为这类细胞的贴壁性能差,容易从玻片上被洗掉,而结缔组织间观察到的这类细胞常被认为是颗粒细胞^[3]或游走细胞^[4]。一般认为浆液细胞是在Keber氏腺中发生的,但对于这类细胞是否参与血液循环意见不一,作者在褶纹冠蚌的血液中确实观察到了这一类细胞,因此证实浆液细胞是血细胞的一个成员,参与血液循环。作者从鳃组织

间观察到了浆液细胞的活跃活动,推测它在气体的交换和循环过程中可能起重要作用,这方面有待深入研究。杜晓东等^[5]在褶纹冠蚌珍珠囊发育到第10天时观察到大量的浆液细胞和颗粒细胞侵入囊腔,并随后自行解体,认为这是血细胞对异物的免疫反应,对珍珠囊的形态建成有重要影响。血细胞究竟如何参与珍珠囊的构建和珍珠的形成,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Beedham G E. Repair of the shell in species of Anodonta. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 1965, 145: 108—126.
- [2] Cheng T C. Bivalves. In "Invertebrate Blood Cells I" (Ratcliff, N. A. and Rowley, A. F. ed.) Academic Press, New York, 1981. 233—300.
- [3] Wagge L E. Amoebocytes. In "Int. Rev. Cyt. Vol 4" (Bourne, G. H. and Danielli, J. E. ed.): pp. 31—78. Academic Press, New York, 1955.
- [4] Wilbur K M. Shell formation and regeneration. In "Physiology of Mollusca 1" (Wilbur, K. M. and Yong, C. M. ed.); New York: Academic Press 1964. 243—282.
- [5] 杜晓东等。褶纹冠蚌珍珠囊发育的研究。水生生物学报,1991,15(3):227—233。
- [6] 刘小明。河蚌外套膜—新结构及分泌物的初步研究。水生生物学报,1989,13(3):294—296。
- [7] 町井昭。真珠袋形成に關する組織学的研究。国立真珠研究所報告。1968,13:1489—1539。



1. 活体透明细胞(相差), $\times 1500$;2. 活体颗粒细胞(相差), $\times 1500$;3,4. 活体浆液细胞(相差), $\times 1500$;5. Gimsa 染色的三种细胞, $\times 1000$;6. H. E 染色的透明细胞, $\times 1000$;7. H. E 染色的 A 型颗粒细胞, $\times 1000$;8. H. E 染色的 B 型颗粒细胞, $\times 1000$;9. H. E 染色的浆细胞, $\times 1000$

1. Living hyalinocyte (Phase contrast), $\times 1500$; 2. Living granulocyte (Phase contrast), $\times 1500$; 3, 4. living serous cell (Phase contrast), $\times 1500$; 5. Three kinds of Giemsa stained haemocyte: hyaline (h), granulocyte (g) and serous cell (sc), $\times 1000$; 6. H. E. stained hyalinocyte, $\times 1000$; 7. H. E. stained A-type granulocyte, $\times 1000$; 8. H. E. stained B-type granulocyte, $\times 1000$; 9. H. E. stained serous cell, $\times 1000$.

f (Filopodia, 肋突); n (Nucleus, 细胞核); v (Vacuole, 液泡); g (Granules, 胞质颗粒); fp (Filopodia-like projection, 肋突样胞突)