

黄石爬鮡外周血液指标特征的观察

杨 淞 符红梅 赵柳兰* 肖 青 王 艳 杜宗君

四川农业大学动物科技学院 雅安 625014

摘要: 黄石爬鮡 (*Euchiloglanis kishinouyei*) 属于较为原始的高原鱼类。通过生化分析仪测定红细胞数及血红蛋白含量, Wright's 染色及细胞化学方法, 即过碘酸雪夫 (PAS)、酚氧化酶 (PO)、苏丹黑 B (SBB) 和过氧化物 (POX) 染色, 观察其外周血细胞的显微结构及细胞化学特征。黄石爬鮡的红细胞数为 $(0.55 \pm 0.06) \times 10^{12}$ 个/L, 血红蛋白含量为 (73.00 ± 5.57) g/L; 血细胞中红细胞占 98.03%, 且其细胞体积较大, 白细胞中血栓细胞占比例最多, 为 37.06%, 异嗜性粒细胞最少, 为 9.64%, 异嗜性粒细胞分为 I 型、II 型和 III 型。细胞化学染色显示, 红细胞均呈阴性, 白细胞存在染色特性差异, 其中白细胞过碘酸雪夫 (PAS) 染色均为阳性, 过氧化物 (POX) 染色除 I 型和 III 型异嗜性粒细胞外均为阴性。

关键词: 黄石爬鮡; 外周血液指标; 显微结构; 细胞化学

中图分类号: Q246, S942.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 06-922-09

Characteristics of Peripheral Haematological Parameters in *Euchiloglanis kishinouyei*

YANG Song FU Hong-Mei ZHAO Liu-Lan* XIAO Qing WANG Yang DU Zong-Jun

College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: *Euchiloglanis kishinouyei* is an ancestral mountain fish, however, as a result of water project construction and over-fishing, populations of the fish have declined extremely in abundance in the last decades. So, the protection of fish resource becomes particularly urgent and it is high time to take a series of protective measures. The purpose of this study was to investigate the morphological and cytochemical characteristics of peripheral blood cells of the fish by light microscopy in order to provide information for domestication and disease cure and to accumulate basic data for hematology of the fish. In this work, red blood cell count (RBC) and haemoglobin concentration (Hb) were determined by fully automatic biochemical analyzer and blood smears stained with Wright's and cytochemical approaches, including periodic-acid schiff (PAS), phenoloxidas (PO), sudan black B (SBB) and peroxidase (POX) stainings. Data are presented as Mean \pm SD. The results showed that RBC was $(0.55 \pm 0.06) \times 10^{12}$ cell/L, hemoglobin concentration was $73.00 \pm$

基金项目 四川省农业厅水产局高原鱼类资源保护与开发, 四川农业大学“双支计划”项目 (No. 03750202);

* 通讯作者, E-mail: zhaoliulan2007@163.com;

第一作者介绍 杨淞, 男, 博士; 研究方向: 水产动物健康养殖与资源保护; E-mail: ysys210@hotmail.com.

收稿日期: 2015-01-26, 修回日期: 2015-05-20 DOI: 10.13859/j.cjz.201506011

5.57 g/L, and erythrocytes and four types of leukocytes: thrombocytes, lymphocytes, monocytes and heterophils, were identified in *E. kishinouyei* peripheral blood (Fig. 1). Additionally, erythrocytes were the most abundant and largest cells in smears of the peripheral blood, accounting for 98.03%. Thrombocytes were the predominant, accounting for 37.06% of all leukocytes, whereas heterophils were rare, only accounting for 9.64% (Table 1). According to the size and morphological features of heterophils and nucleus and quantities of cytoplasmic granules, types I, II and III of heterophils were recognized. Erythrocytes were negative for periodic-acid schiff (PAS), phenoloxidas (PO), sudan black B (SBB) and peroxidase (POX) stainings, and all leukocytes were positive for periodic-acid schiff (PAS) (Fig. 2). Types I and III of heterophils were strongly positive for peroxidase (POX) staining, while thrombocytes, lymphocytes, monocytes and type II of heterophils were negative for peroxidase (POX) staining (Table 2).

Key words: *Euchiloglanis kishinouyei*; Peripheral haematological parameters; Microstructure; Cytochemical characteristics

黄石爬鮡 (*Euchiloglanis kishinouyei*), 属鲇形目 (Siluriformes) 鮡科 (Sisoridae) 石爬鮡属, 主要分布于长江流域的岷江水系和金沙江水系海拔 1 800 ~ 3 600 m 河段, 是高山峡谷, 陡坡急流及枯洪流量的环境中生活的小型底栖淡水鱼类, 并且是鳃鮡鱼类 (除原鮡外) 中最为原始的种类。因其生态分布的特殊性, 是研究鱼类进化及系统分类学重要材料 (诸新洛等 1999, 唐文家等 2011)。由于酷捕, 黄石爬鮡的天然资源量急剧减少, 已处于濒危状态, 亟待采取有效措施加以保护 (郭宪光等 2004, 汪松等 2004)。血细胞是动物体内一种极其重要的组织, 血液指标能够指示外界环境因子的刺激, 与疾病有着密切的关系, 通过血液指标可以初步了解鱼类生活的水域环境 (Ellis 1977, 陈晓耘等 2000, Claver et al. 2009), 可以为动物分类进化的研究提供重要线索 (Claver et al. 2009)。目前关于黄石爬鮡生物学基础资料较少, 仅见其分类及分布的研究 (郭宪光等 2004, 唐文家等 2011)。通过研究黄石爬鮡血液指标、外周血细胞显微结构及细胞化学特征, 旨在丰富鱼类血液学方面的内容, 为有关鱼类分类进化关系研究和高原鱼类的资源保护和开发利用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2014 年 6 月从雅安市宝兴县宝兴河当地渔民捕捞的黄石爬鮡中购得 20 尾反应灵敏、体表完好的个体作为实验材料。平均体长 (163.5 ± 8.2) mm, 体重 (47.3 ± 15.2) g, 雌雄性比为 1 : 1, 塑料袋充氧后运回实验室, 暂养于泡沫水族箱内。水体为曝气 2 d 以上的自来水, pH 约 7.8, 通过加冰控制水温在 (12 ± 1) °C, 不间断充氧。

1.2 实验方法

1.2.1 血涂片的制作及生理指标测定 用 1 ml 无菌注射器从鱼尾静脉取血, 以 1 : 10 体积比加入抗凝剂 (30 mmol/L 柠檬酸钠, 115 mmol/L 葡萄糖, 10 mmol/L EDTA, 338 mmol/L 氯化钠, pH 7.0) 置于离心管中, 混匀后滴在用盐酸酒精处理后的干净玻片上, 用盖玻片呈 30°角轻推, 制备血细胞单层涂片, 室温干燥, 2.5% 戊二醛固定 10 min。Wright's 染色, 显微镜 (Olympus BX51) 下对细胞进行分类和计数。另取未抗凝处理的血液 50 μ l, 使用全自动生化自动分析仪 (日立 7170 A 型), 测定黄石爬鮡血液红细胞数 (red blood cell count, RBC) 和血红蛋白 (haemoglobin concentration, Hb) 含量。

1.2.2 细胞化学染色 细胞化学染色参照已有方法 (Shigdar et al. 2009, da Silva et al. 2011)

进行。过碘酸雪夫染色 (periodic-acid schiff, PAS) 显示糖类物质, 阴性对照用唾液淀粉酶消化; 酚氧化酶染液 [5 g/L 左旋多巴 (3, 4-hydroxyphenylalanine, L-DOPA) 溶于 0.1 mol/L PBS] 中 37℃ 下染色 2 h, 显示酚氧化酶 (phenoloxidase, PO), 阴性对照用 PBS 代替 L-DOPA。苏丹黑 B (sudan black B, SBB) 染色显示脂类物质; 双氨基联苯胺 (3, 3'-diaminobenzidine, DAB) 法显示过氧化物酶 (peroxidase, POX), 阴性对照孵育前 90℃ 加热 10 min。

1.2.3 细胞形态观察计数 分别按过碘酸雪夫 (PAS)、酚氧化酶 (PO)、苏丹黑 (SBB)、过氧化物酶 (POX) 染色方法染色, 每尾鱼各染 5 张血涂片, 中性树脂封片。显微镜油镜观察瑞氏 (Wright's) 染色结果, 每尾鱼 5 张涂片, 每张涂片选取 3 个视野, 20 尾鱼共计取 300 个视野, 共统计 5 000 个细胞, 进行血细胞分类、计数, 然后各种细胞均选取 30 个, 用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定细胞大小, 数据用平均值 \pm 标准差表示。

2 结果

2.1 外周血细胞的显微结构

黄石爬鲑外周血细胞主要分为红细胞和白细胞, 红细胞占血细胞总数的绝大部分, 比例为 98.03%, 测得黄石爬鲑红细胞数 (RBC) 为 $(0.55 \pm 0.06) \times 10^{12}$ 个/L, 血红蛋白 (Hb) 含量为 (73.00 ± 5.57) g/L。白细胞占比例较少, 但种类较多, 主要包括异嗜性粒细胞、淋巴细胞、血栓细胞以及单核细胞 (图 1)。黄石爬鲑血细胞大小及白细胞计数统计结果见表 1。

红细胞 细胞大小为血细胞中最大 (表 1), 成熟红细胞胞体圆形或近圆形, 表面光滑, 胞浆呈粉红色或暗红色 (图 1a~d), 有的红细胞胞质中存在明显淡染的环核带 (图 1a); 胞核圆形或卵圆 (图 1b), 偶见心形和肾形核 (图 1c, d), 中位, 核质比较小, 其核长径仅为胞体长径的 38.14% (表 1), 核中有致密的染色

质小块, 深紫色, 不规则分布, 无核仁。可见不同发育时期的中幼红细胞 (图 1b) 和晚幼红细胞 (图 1e), 中幼红细胞胞浆丰富, 蓝色或深蓝, 核质比较成熟红细胞大, 胞核深紫红色; 晚幼红细胞较中幼红细胞小, 胞浆整体呈粉红色或带极淡的蓝色。另外, 可见少量正在分裂的红细胞 (图 1f) 和胞质外凸的红细胞 (图 1g), 其中分裂的类型发现有两种, 细胞核与胞质不均等和均等的分裂, 还发现仅胞质发生缢缩的细胞 (图 1a)。

粒细胞 在白细胞中所占比例较低 (表 1)。细胞与细胞核均呈圆形或近圆形, 细胞表面光滑, 胞核多与细胞膜相切 (图 1e), 另外可见细胞核呈长椭圆形 (图 1c)、分叶形 (图 1h) 和肾形 (图 1i)。胞质存在嗜碱性的蓝色颗粒和嗜酸性的红色颗粒, 即异嗜性粒细胞, 且根据其胞体大小, 胞核的染色特征及胞质中颗粒特征又分为 I 型、II 型和 III 型。I 型胞核被染成淡蓝紫色, 核染色质颗粒疏松, 胞质淡粉红色或接近无色, 其中见零星的蓝色颗粒 (图 1j); II 型细胞大小与 I 型相当 (表 1), 胞核表面有突出感, 紫红色, 核染色质较致密, 胞质中可见大量红色颗粒物质和极少的蓝色颗粒 (图 1k); III 型细胞胞核中的核染色质较前两种类型更为致密, 呈深紫红色, 胞质中充满了红色颗粒物质和少量蓝色颗粒 (图 1e)。可见核质比为 1/2, 胞质中充满颗粒物质的长椭圆形的粒细胞 (图 1l)。

淋巴细胞 在白细胞中所占比例仅次于血栓细胞 (表 1), 同时也是细胞大小差异最大的一类。淋巴细胞圆形或不规则形, 有的细胞表面有指状伪足样突起, 胞核呈紫红色或蓝紫色, 形态多样, 多椭圆形, 偶见凸起形及心形 (图 1l~n), 核质比大, 胞质被染成淡蓝色。根据细胞大小将淋巴细胞分为小淋巴细胞 (图 1h) 和大淋巴细胞 (图 1o)。

血栓细胞 是白细胞中数量最多一类 (表 1)。细胞体积较小, 核质比大, 几乎看不到胞质, 细胞核呈深紫红色, 胞质呈浅紫红色,

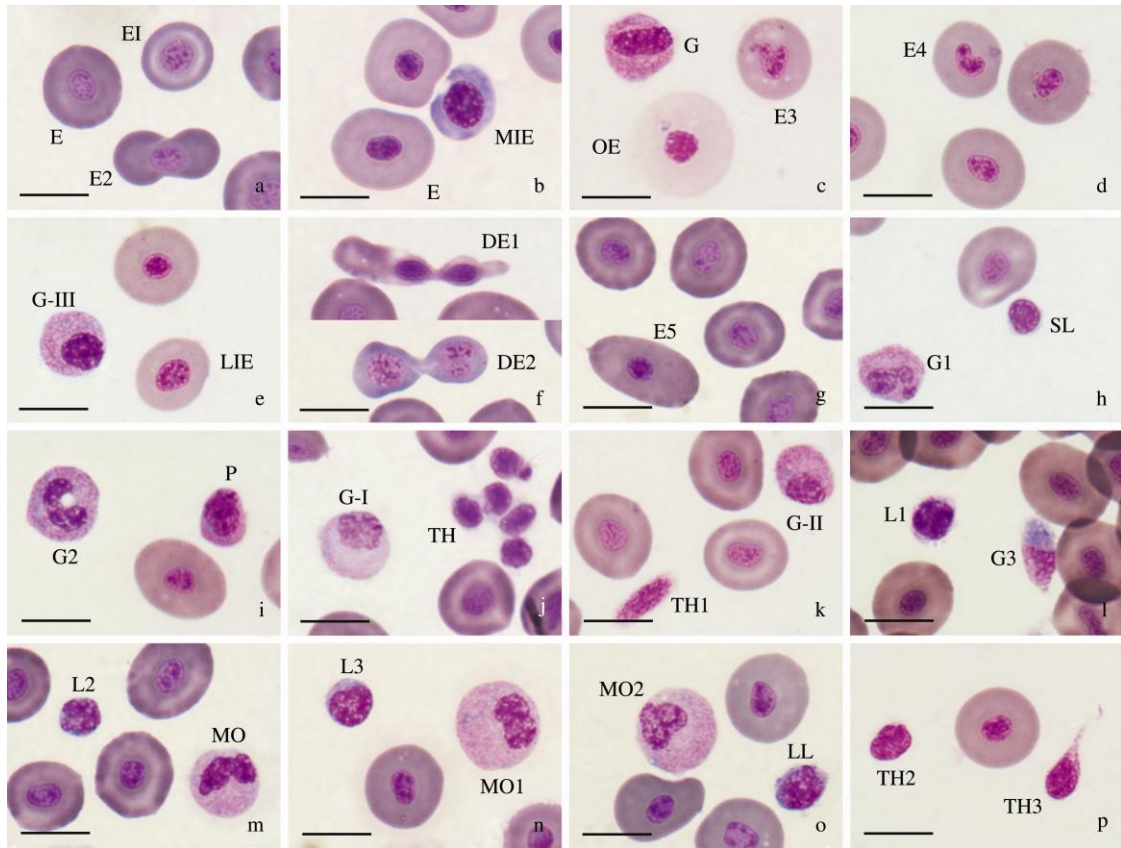


图 1 黄石爬鮡外周血细胞显微结构 (瑞氏染色)

Fig. 1 Microstructure of the peripheral blood cells in *Euchiloglanis kishinouyei* (Wright's staining)

a. 具环核带的红细胞 (E1), 胞质缢缩的红细胞 (E2), 红细胞 (E); b. 红细胞 (E), 中幼红细胞 (MIE); c. 衰老的红细胞 (OE), 粒细胞 (G), 具心形核的红细胞 (E3); d. 具肾形核的红细胞 (E4); e. III型粒细胞 (G-III), 晚幼红细胞 (LIE); f. 不均等分裂红细胞 (DE1), 均等分裂红细胞 (DE2); g. 胞质外凸的红细胞 (E5); h. 小淋巴细胞 (SL), 核分叶粒细胞 (G1); i. 具肾形核的粒细胞 (G2), 浆细胞 (P); j. 聚集的血栓细胞 (TH), I 型粒细胞 (G- I); k. 长棒状血栓细胞 (TH1), II 型粒细胞 (G- II); l. 伸出伪足淋巴细胞 (L1), 长椭圆形粒细胞 (G3); m. 核分叶的单核细胞 (MO), 核伸出突起的淋巴细胞 (L2); n. 具心形核的淋巴细胞 (L3), 具哑铃型核的单核细胞 (MO1); o. 具心形核的单核细胞 (MO2), 大淋巴细胞 (LL); p. 椭圆形血栓细胞 (TH2), 水滴形的血栓细胞 (TH3); 标尺 = 10 μm 。

a. Erythrocyte with a narrow rim (E1), the constricted cytoplasm of erythrocyte (E2), erythrocyte (E); b. Erythrocyte (E), middle immature erythrocyte (MIE); c. Old erythrocyte (OE), granulocyte with long and elliptical nucleus (G), erythrocyte with heart-shaped nucleus (E3); d. Erythrocyte with kidney-shaped nuclei (E4); e. Granulocyte-III (G-III), late immature erythrocyte (LIE); f. Unequal dividing erythrocyte (DE1), equal dividing erythrocyte (DE2); g. Erythrocyte with lobed cytoplasm (E5); h. Small lymphocyte (SL), granulocyte with bilobed nucleus (G1); i. Granulocyte (G2), plasmocyte (P); j. Thrombocyte in a cluster (TH), granulocyte- I (G- I); k. Clavate thrombocyte (TH1), granulocyte- II (G- II); l. Lymphocyte with pseudopodia (L1), lens shaped granulocyte (G3); m. Monocyte with bilobed nucleus (MO), lymphocyte with lobed nucleus (L2); n. Lymphocyte with heart-shaped nucleus (L3), monocyte with dumbbell-shaped nucleus (MO1); o. Monocyte with heart-shaped nucleus (MO2), large lymphocyte (LL); p. Oval thrombocyte (TH2), drop-shaped thrombocyte (TH3). Bar = 10 μm .

表 1 石爬鳃外周血细胞数量百分比及细胞大小

Table 1 The percent and size of blood cells in *Euchiloglanis kishinouyei*

		白细胞分类计 数 (%) Differential leucocyte counts (DLC)	细胞大小: 长径 (μm) × 短径 (μm) Cell size: long diameter (μm) × short diameter (μm)	核大小: 长径 (μm) × 短径 (μm) Nucleus size: long diameter (μm) × short diameter (μm)
红细胞	Erythrocyte		(13.95 ± 0.71) × (12.58 ± 0.75)	(5.32 ± 0.68) × (4.31 ± 0.54)
粒细胞	I 型粒细胞 Granulocyte- I	9.64 ± 0.16	(11.40 ± 0.99) × (10.35 ± 0.76)	(7.67 ± 0.98) × (4.43 ± 0.72)
	II 型粒细胞 Granulocyte- II		(11.04 ± 0.78) × (10.11 ± 0.70)	(8.09 ± 0.68) × (4.14 ± 0.98)
	III 型粒细胞 Granulocyte- III		(10.96 ± 0.81) × (10.21 ± 0.76)	(7.54 ± 0.99) × (4.50 ± 0.62)
淋巴细胞	大淋巴细胞 Large lymphocyte	27.41 ± 1.31	(8.01 ± 0.73) × (6.61 ± 0.78)	(6.15 ± 0.71) × (4.60 ± 0.67)
	小淋巴细胞 Small lymphocyte		(6.59 ± 0.42) × (5.77 ± 0.61)	(5.18 ± 0.51) × (4.37 ± 0.50)
血栓细胞	Thrombocyte	37.06 ± 2.54	(5.54 ± 0.78) × (4.21 ± 0.71)	
单核细胞	Monocyte	25.89 ± 1.20	(12.20 ± 0.82) × (10.63 ± 0.80)	(7.69 ± 0.83) × (5.14 ± 0.74)

细胞表面光滑, 无突起, 易与小淋巴细胞混淆。血栓细胞常成群聚集 (图 1j), 亦能发现单个存在的细胞 (图 1k)。可见不同形态的血栓细胞, 一般呈圆形或椭圆形 (图 1j, p), 少见棒形 (图 1k) 和水滴形 (图 1p)。

单核细胞 白细胞中比例较少 (表 1), 是白细胞中体积最大的一类细胞。细胞圆形或卵圆形, 胞核形态多样, 多呈不规则形或肾型, 少部分呈心形, 胞核较大, 占细胞总体积的 1/3 ~ 1/2, 胞核被染成蓝紫色, 胞质淡蓝色, 其中可见细紫红色颗粒, 偶见大小不一的空泡 (图 1m ~ o)。

浆细胞 细胞为长椭圆形, 细胞核卵圆形, 处于胞浆一极, 占细胞的大部分, 部分细胞核裸露在外, 细胞质较少, 深蓝色 (图 1i)。

2.2 细胞化学特征

黄石爬鳃的外周血细胞细胞化学染色, 红细胞过碘酸雪夫 (PAS)、酚氧化酶 (PO)、苏丹黑 B (SBB) 和过氧化物 (POX) 染色均呈

阴性, 而不同白细胞存在染色特征差异 (图 2)。

所有白细胞均呈过碘酸雪夫染色 (PAS) 阳性 (图 2a ~ d), 红色, 而不同白细胞染色程度不一致。淋巴细胞和 I 型、II 型、III 型粒细胞阳性较深, 深红色 (图 2a ~ c), 单核细胞、血栓细胞阳性次之 (图 2d)。

酚氧化酶染色 (PO), I 型、II 型粒细胞呈强烈阳性, 呈褐色 (图 2e, f), 单核细胞和 III 型粒细胞染色次之 (图 2g, h), 大淋巴细胞染色最弱 (图 2e), 血栓细胞呈阴性 (表 2)。

苏丹黑 B 染色 (SBB), 除血栓细胞外的所有白细胞染色呈黑色阳性。单核细胞阳性最为强烈, 深黑色 (图 2i), 其次为小淋巴细胞和 I 型、II 型、III 型粒细胞 (图 2j ~ m), 大淋巴细胞染色最浅 (图 2n)。

过氧化物酶染色 (POX), I 型粒细胞阳性较强, 呈棕色 (图 2o), III 型粒细胞阳性, 颜色稍浅 (图 2p), 其余血细胞均呈阴性 (表 2)。

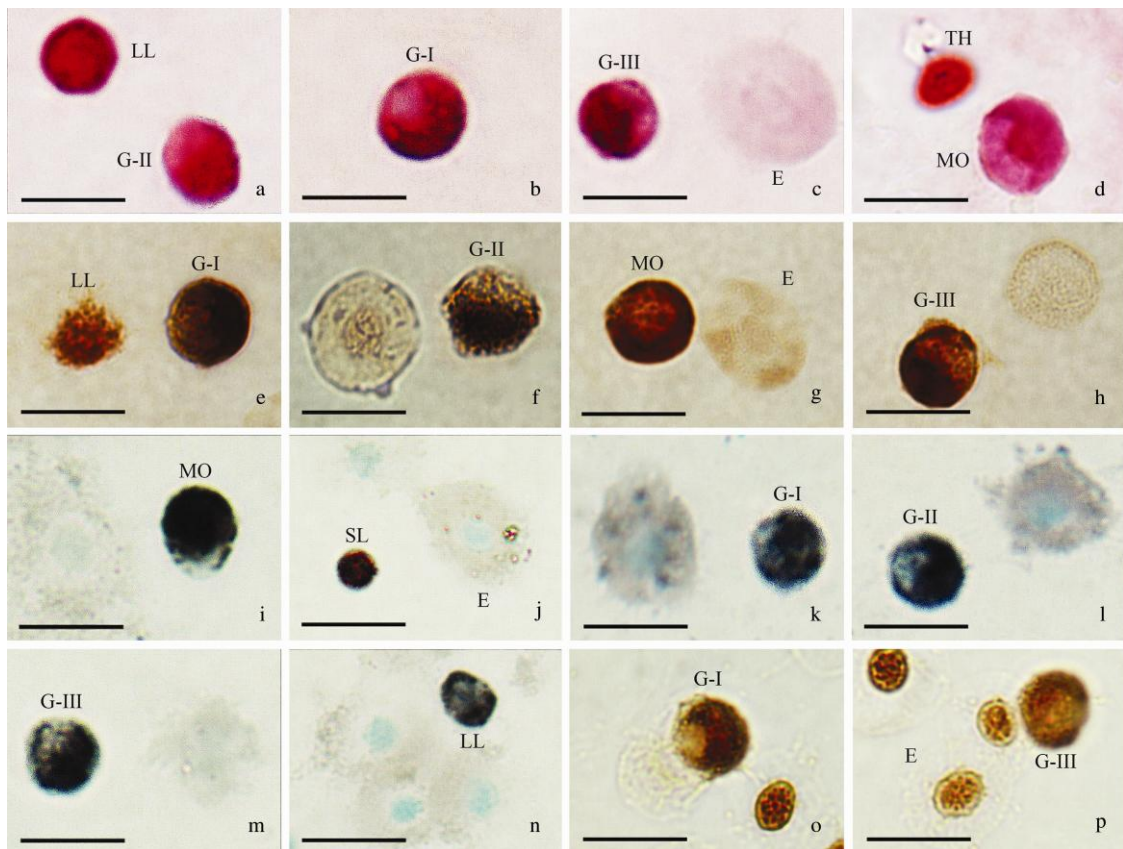


图 2 黄石爬鮡细胞化学染色

Fig. 2 The cytochemical characteristics of *Euchiloglanis kishinouyei*

a~d. 过碘酸雪夫染色 (PAS); e~h. 酚氧化酶染色 (PO); i~n. 苏丹黑 B 染色 (SBB); o~p. 过氧化物酶染色 (POX)。

a. II 型粒细胞 (G-II), 大淋巴细胞 (LL); b. I 型粒细胞 (G-I); c. III 型粒细胞 (G-III), 红细胞 (E); d. 血栓细胞 (TH), 单核细胞 (MO); e. 大淋巴细胞 (LL), I 型粒细胞 (G-I); f. II 型粒细胞 (G-II); g. 单核细胞 (MO), 红细胞 (E); h. III 型粒细胞 (G-III); i. 单核细胞 (MO); j. 小淋巴细胞 (SL), 红细胞 (E); k. I 型粒细胞 (G-I); l. II 型粒细胞 (G-II); m. III 型粒细胞 (G-III); n. 大淋巴细胞 (LL); o. I 型粒细胞 (G-I); p. III 型粒细胞 (G-III), 红细胞 (E)。标尺 = 10 μm 。

a - b. Periodic acid-Schiff (PAS) staining; e - h. Phenoloxidas (PO) staining; i - n. Sudan Black B (SBB) staining; o - p. Peroxidase (POX) staining.

a. Granulocyte-II (G-II), large lymphocyte (LL); b. Granulocyte-I (G-I); c. Granulocyte-III (G-III), erythrocyte (E); d. Thrombocyte (TH), monocyte (MO); e. Large lymphocyte (LL), granulocyte-I (G-I); f. Granulocyte-II (G-II); g. Monocyte (MO), erythrocyte (E); h. Granulocyte-III (G-III); i. Monocyte (MO); j. Small lymphocyte (SL); erythrocyte (E); k. Granulocyte-I (G-I); l. Granulocyte-II (G-II); m. Granulocyte-III (G-III); n. Large lymphocyte (LL); o. Granulocyte-I (G-I); p. Granulocyte-III (G-III). Bar = 10 μm .

3 讨论

3.1 黄石爬鮡的血液指标特征

一般进化越高等的动物, 红细胞越小, 数量越多 (高泽霞等 2008, Zhang et al. 2011),

红细胞和血红蛋白在血液中执行着运输氧的功能。本研究发现, 黄石爬鮡红血细胞数目较少, 而血红蛋白含量较高, 其红细胞数明显低于虎利齿脂鲤 (*Hoplias malabaricus*) 的 (2.05×10^{12}) 个/L (Rios et al. 2005)、杂色兵鲇 (*Corydoras*

表 2 黄石爬鮡血细胞不同细胞化学染色的比较

Table 2 Cytochemical characteristics of different blood cells in *Euchiloglanis kishinouyei*

	红细胞 Erythrocyte	I型粒细胞 Granulocyte-I	II型粒细胞 Granulocyte-II	III型粒细胞 Granulocyte-III	淋巴细胞 Lymphocyte	血栓细胞 Thrombocyte	单核细胞 Monocyte
过碘酸雪夫染色 Periodic acid-Schiff, PAS	—	++	++	++	++	+	+
酚氧化酶 Phenoloxidas, PO	—	+++	+++	++	+	—	++
苏丹黑 B Sudan Black B, SBB	—	++	++	++	+	—	+++
过氧化物酶 Peroxidase, POX	—	++	—	+	—	—	—

“—”染色阴性;“+++”染色强烈阳性;“++”染色阳性较深;“+”染色阳性。

“—”negative;“+++”strongly positive;“++”positive;“+”weakly positive.

paleatus)的 $(1.90 \pm 0.50) \times 10^{12}$ 个/L (Cazenave et al. 2005)、瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)的 $(1.35 \pm 0.04) \times 10^{12}$ 个/L (仇明等 2011)等;黄石爬鮡的血红蛋白含量为 (73.00 ± 5.57) g/L,高于虎利齿脂鲤的 48.9 g/L、杂色兵鲃的 (69.0 ± 1.90) g/L、瓦氏黄颡鱼的 (62.0 ± 0.3) g/L;黄石爬鮡外周血细胞中红细胞大小为 $(13.95 \pm 0.71) \mu\text{m} \times (12.58 \pm 0.75) \mu\text{m}$,大于日本黄姑鱼(*Nibeajaponica*)的 $(10.45 \pm 1.59) \mu\text{m} \times (7.25 \pm 0.89) \mu\text{m}$ (苑淑宾等 2011)、鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)的 $(10.51 \pm 0.89) \mu\text{m} \times (8.14 \pm 0.65) \mu\text{m}$ (袁仕取等 1998)、长薄鳅(*Leptobotia elongata*)的 $(10.56 \pm 0.49) \mu\text{m} \times (8.13 \pm 0.51) \mu\text{m}$ (黄小铭等 2012),小于黑斑原鮡(*Glyptosternum maculatum*)的 $(19.39 \pm 2.48) \mu\text{m} \times (15.15 \pm 1.9) \mu\text{m}$ (Zhang et al. 2011)。说明黄石爬鮡在高海拔低氧环境中可能形成了特有的红细胞系统。也说明黄石爬鮡属于较原始鱼类。

3.2 黄石爬鮡外周血细胞中粒细胞分类

鱼类的粒细胞一般分为嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞 3 类 (Kondera 2011)。有学者还发现异嗜性粒细胞 (heterophils) (Tavares-Dias et al. 2005), 这种

粒细胞胞质中存在两种嗜性颗粒 (eosinophilic-basophilic granules)。在血细胞发生过程中, 原始的粒细胞为强烈的嗜碱性, 随后分化为不同嗜性的粒细胞, 如嗜酸性或嗜中性等 (金丽 2005, Kondera 2011), 这几种粒细胞一般不同时存在。中华鲟 (*Acipenser sinensis*) (Gao et al. 2007) 血液中仅存在嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞, 齐口裂腹鱼 (*Schizothorax prenanti*) (杨淞等 2011) 仅发现嗜中性粒细胞, 滨岸护胸鲃 (*Hoplosternum littorale*) (Tavares-Dias et al. 2005) 仅发现嗜中性粒细胞和异嗜性粒细胞, 鳙鱼 (*Maccullochella peelii peelii*) (Shigdar et al. 2009) 仅发现嗜碱性粒细胞和异嗜性粒细胞。本研究与原始鱼类黑斑原鮡 (Zhang et al. 2011) 一致, 仅存在异嗜性粒细胞。Arévalo 等 (2003) 认为嗜酸性粒细胞是未成熟的异嗜性粒细胞, Huttenhuis 等 (2006) 发现在鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 白细胞的发育过程中, 嗜碱性粒细胞比异嗜性粒细胞发生要晚。异嗜性粒细胞是否是粒细胞分化不完全的体现, 则需要更多的研究。有的学者将粒细胞直接分为幼稚粒细胞和成熟粒细胞两类 (da Silva et al. 2011)。而在黑斑原鮡 (Zhang et al. 2011) 的粒细胞超微结构

中发现 3 种不同形态的颗粒物质, 这 3 种颗粒物质是否对应于本实验的 3 种类型的粒细胞仍不明了。而 I 型粒细胞胞质较多, 呈浅红色, 其中含有大量的颗粒物质, 与苑淑宾 (2011) 和 da Silva (2011) 描述的幼稚粒细胞类似; II 型粒细胞胞质呈粉红色, 其中充满一些颗粒物质, 细胞核较小, 呈椭圆形, 无核仁, 染色质较浓密, 与苑淑宾 (2011) 和 da Silva (2011) 描述的成熟粒细胞形态类似; III 型粒细胞是否不同发育阶段的细胞则需要更进一步的研究。

3.3 细胞化学特征

糖原是真核生物最重要的短期存储物质, 是 ATP 唯一能量来源, 其合成和分解比脂类迅速, 在抵御环境变化 (如抗逆境) 过程中尤为重要, 且能为吞噬作用提供内生和外生的能量 (Ueda et al. 2001)。过碘酸雪夫染色 (PAS) 主要显示细胞内糖原含量。黄石爬鮡外周血中所有白细胞均含糖类物质, 即过碘酸雪夫染色 (PAS) 呈阳性, 这与齐口裂腹鱼 (Fang et al. 2014) 和长吻鮠 (*Leiocassis longirostris*) (金丽等 2011a) 的研究结果一致。黄石爬鮡除血栓细胞外, 其余白细胞苏丹黑 B (SBB) 染色均呈阳性, 即均含脂类, 说明黄石爬鮡白细胞中脂类丰富。多种鱼类白细胞缺乏脂类或脂类很少, 如长薄鳅 (黄小铭等 2012) 和胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*) (金丽等 2011b) 的白细胞经苏丹黑 B (SBB) 染色后所有细胞均呈阴性, 长吻鮠 (金丽等 2011a)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) (赵宝生等 1991) 脂类只在粒细胞中出现, 而鳙鱼 (Shigdar et al. 2009) 仅在粒细胞和淋巴细胞中出现。酚氧化酶 (PO) 不仅参与伤口的愈合而且具有免疫识别和免疫防御作用 (Johansson et al. 1996), 本研究发现除血栓细胞之外的白细胞均含有酚氧化酶, 说明酚氧化酶是黄石爬鮡白细胞内普遍存在的一种酶。过氧化物酶 (POX) 被认为是生物体的保护酶之一, 过氧化物酶可降解过氧化物及过氧化脂质, 具有杀菌作用 (Shigdar et al. 2009)。黄石爬鮡与厚颌鲂 (*Megalobrama*

pellegrini) (赵娜等 2011) 相同, 仅粒细胞中含有少部分过氧化物酶 (POX)。郭琼林等 (1994) 指出草鱼白细胞发育过程中过氧化物酶 (POX) 的缺乏, 有可能直接影响吞噬细胞杀伤病原体及异物的功能, 也是草鱼易遭受病原体侵袭的原因之一。而黄石爬鮡缺乏过氧化物酶 (POX), 抵抗病原侵袭的能力差, 这可能是其人工驯化较难的原因之一。

参 考 文 献

- Ar évalo M, Castellano J A. 2003. Word Aquaculture Society. Brazil: Anais Salvador, 50
- Cazenave J, Wunderlin D A, Hued A C, et al. 2005. Haematological parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (Pisces, Callichthyidae), captured from pristine and polluted water. *Hydrobiologia*, 537(1/3): 25–33.
- Claver J A, Quaglia A I E. 2009. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2): 87–97.
- da Silva W F, Egami M I, Santos A A, et al. 2011. Cytochemical, immunocytochemical and ultrastructural observations on leukocytes and thrombocytes of fat snook (*Centropomus parallelus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 31(4): 571–577.
- Ellis A E. 1977. The leucocytes of fish: a review. *Journal of Fish Biology*, 11(5): 453–491.
- Fang J, Chen K, Cui H M, et al. 2014. Morphological and cytochemical studies of peripheral blood cells of *Schizothorax prenanti*. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 43(5): 386–394.
- Gao Z X, Wang W M, Yang Y, et al. 2007. Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(3): 213–222.
- Huttenhuis H B T, Taverne-Thiele A J, Grou C P O, et al. 2006. Ontogeny of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) innate immune system. *Developmental and Comparative Immunology*, 30(6): 557–574.
- Johansson M W, Söderh ål K. 1996. The prophenoloxidase activating system and associated proteins in invertebrates. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, 15(3): 46–66.
- Kondera E. 2011. Haematopoiesis in the head kidney of common carp

- (*Cyprinus carpio* L.): a morphological study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(3): 355–362.
- Rios F S, Oba E T, Fernandes M N, et al. 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish tra fa, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 140(3): 281–287.
- Shigdar S, Harford A, Ward A C. 2009. Cytochemical characterisation of the leucocytes and thrombocytes from Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*, Mitchell). *Fish and Shellfish Immunology*, 26(5): 731–736.
- Tavares-Dias M, Barcellos J F M. 2005. Peripheral blood cells of the armored catfish *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828: a morphological and cytochemical study. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 22(4): 215–220.
- Ueda I K, Egami M I, Sasso W S, et al. 2001. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis (Tilapia) niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei): part II. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38(6): 273–277.
- Zhang H J, Xie C X, Li D P, et al. 2011. Blood cells of a sisorid catfish *Glyptosternum maculatum* (Siluriformes: Sisoridae), in Tibetan Plateau. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(1): 169–176.
- 陈晓耘. 2000. 鱼类的血液. *重庆师专学报*, 19(3): 70–73.
- 高泽霞, 王卫民. 2008. 鱼类外周血红细胞研究进展. *水利渔业*, 28(2): 1–3.
- 郭琼林, 卢全章. 1994. 草鱼肾脏、脾脏血细胞发育过程超微结构与细胞化学的研究. *水生生物学报*, 18(3): 240–246.
- 郭宪光, 张耀光, 何舜平. 2004. 中国石爬鲃属鱼类的形态变异及物种有效性研究. *水生生物学报*, 28(3): 260–268.
- 黄小铭, 张耀光, 江星, 等. 2012. 长薄鳅外周血细胞的显微结构和细胞化学特征研究. *四川动物*, 31(1): 59–63.
- 金丽. 2005. 长吻鲢循环系统结构及血细胞发生. 重庆: 西南师范大学硕士学位论文.
- 金丽, 杜长雷, 张耀光. 2011a. 长吻鲢血细胞的显微、亚显微结构及细胞化学研究. *西南大学学报: 自然科学版*, 32(12): 79–85.
- 金丽, 赵娜, 黄林, 等. 2011b. 胭脂鱼外周血细胞的显微、超微结构与细胞化学观察. *水生生物学报*, 35(3): 550–556.
- 仇明, 封功能, 张启焕, 等. 2011. 饥饿胁迫对瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 幼鱼肌肉营养成分及血液指标的影响. *饲料工业*, 32(14): 41–43.
- 唐文家, 李柯懋, 陈燕琴, 等. 2011. 黄石爬鲃生物学特性及保护建议. *河北渔业*, 210(6): 19–21.
- 汪松, 解焱. 2004. 中国物种红色名录: 第1卷 红色名录. 北京: 高等教育出版社.
- 杨淞, 杨世勇, 肖拉, 等. 2011. 养殖齐口裂腹鱼外周血细胞显微观察. *四川动物*, 30(2): 202–206.
- 袁仕取, 张永安. 1998. 鳊鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察. *水生生物学报*, 22(1): 39–47.
- 苑淑宾, 朱爱意, 江丽华, 等. 2011. 日本黄姑鱼血细胞发生的观察. *水产学报*, 35(9): 1374–1383.
- 赵宝生, 沈成刚. 1991. 五种鲤科幼鱼外周血白细胞形态和细胞化学的研究. *水生生物学报*, 15(2): 184–186.
- 赵娜, 杜长雷, 金丽, 等. 2011. 厚颌鲂外周血细胞形态及细胞化学特征研究. *淡水渔业*, 41(2): 36–42.
- 诸新洛, 郑葆珊, 戴定远. 1999. 中国动物志: 硬骨鱼 纲鲃形目. 北京: 科学出版社.