

黑斑口虾蛄血细胞的显微观察及与斑节对虾血细胞的比较

MICROSCOPIC OBSERVATION AND COMPARISON OF HEMOCYTE OF *Oratosquilla kempfi* (Schmitt) and *Penaeus monodon*

廖永岩 周友广

(湛江海洋大学水产学院 524025)

关键词 黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kempfi*), 斑节对虾(*Penaeus monodon*), 血细胞, 显微观察

口虾蛄(*Oratosquilla*)是我国沿海常见十足类。随着海洋经济鱼虾资源的减少,开发利用口虾蛄资源的经济意义显得越来越大。而黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kempfi*)则更是其中体较肥胖、生长快、值得推荐的一种,很有养殖价值^[1]。国内外有关黑斑口虾蛄的资料相当少,仅少量的有关形态、生态方面的报道^[1],而有关黑斑口虾蛄血细胞,尚未见到详细的报道,一般认为它只有一种血细胞^[2],故对其进行观察很有必要。

斑节对虾(*Penaeus monodon*)是目前中国南方养殖的主要经济虾类。对虾类血细胞形态结构的研究,国内外已有一些资料^[3-4]。本文就黑斑口虾蛄与斑节对虾的血细胞进行显微观察、比较,来研究黑斑口虾蛄的血细胞及其种类。

1 材料与方 法

1.1 材 料

所有黑斑口虾蛄、斑节对虾均购自湛江市霞山区东风市场。尽量选取附肢完整,活力强的个体作为样本。

1.2 方 法

1.2.1 血涂片的制作及显微摄影

Wright 染液及 Giemsa 染液按杨景山的配方配制^[5]。

血涂片的制作参照杨景山的方法^[5],在取血前将样本体表的水分用滤纸拭干,用 2 ml 注射器从心脏取血,然后迅速制成血涂片。

染色也采用杨景山的方法^[5],用 Wright 染色法、Giemsa 染色法及 Wright-Giemsa 混合染色法对涂片进行染色。按常规法封片。光镜观察, Olympus 显微镜显微摄影,照片按常规方法冲洗和放大。

1.2.2 观察及测定

对每次采的斑节对虾及黑斑口虾蛄样本均进行形态测定,对血细胞大小、核质比进行测定,并比较细胞内颗粒的有无、大小及多少。随机选取斑节对虾及黑斑口虾蛄血涂片的视野,进行各种类型血细胞的统计。

核质比 = 细胞核长径 / (细胞长径 - 细胞核长径)

2 结果与分析

2.1 黑斑口虾蛄和斑节对虾的形态观察

本实验用样本均进行了性别的观察、体长及体重的测定。实验用黑斑口虾蛄体长:雄体介于 9.47 ~ 15.18 cm 之间,雌体介于 10.45 ~ 13.35 cm 之间;体重:雄体介于 15.43 ~ 35.11 g 之间,雌体介于 17.02 ~ 17.30 g 之间。实验用斑节对虾体长:雄体介于 7.52 ~ 14.26 cm 之间,雌体介于 7.20 ~ 17.53 cm 之间;体重:雄体介于 10.28 ~ 50.18 g 之间,雌体介于 10.81 ~ 62.41 g 之间。

2.2 黑斑口虾蛄血细胞观察与血细胞分类

作者在光镜下对黑斑口虾蛄血细胞显微构造进行观察,并用显微镜测微尺直接对血细胞大小、核大小进行测定,计算核质比。结果发现,若以血细胞大小、核质比大小和细胞质内颗粒的有无为标准,可将黑斑口虾蛄血细胞分为 3 类:无颗粒细胞;小颗粒细胞;颗粒细胞。

2.2.1 无颗粒细胞(见图 1-1, 1-2) 细胞相对较小(10.1 μm × 9.0 μm)。细胞多数呈卵圆形或球形,表面光滑无突起。细胞核形状比较规则,卵圆形或球

收稿日期:2000-02-16;修回日期:2000-04-26

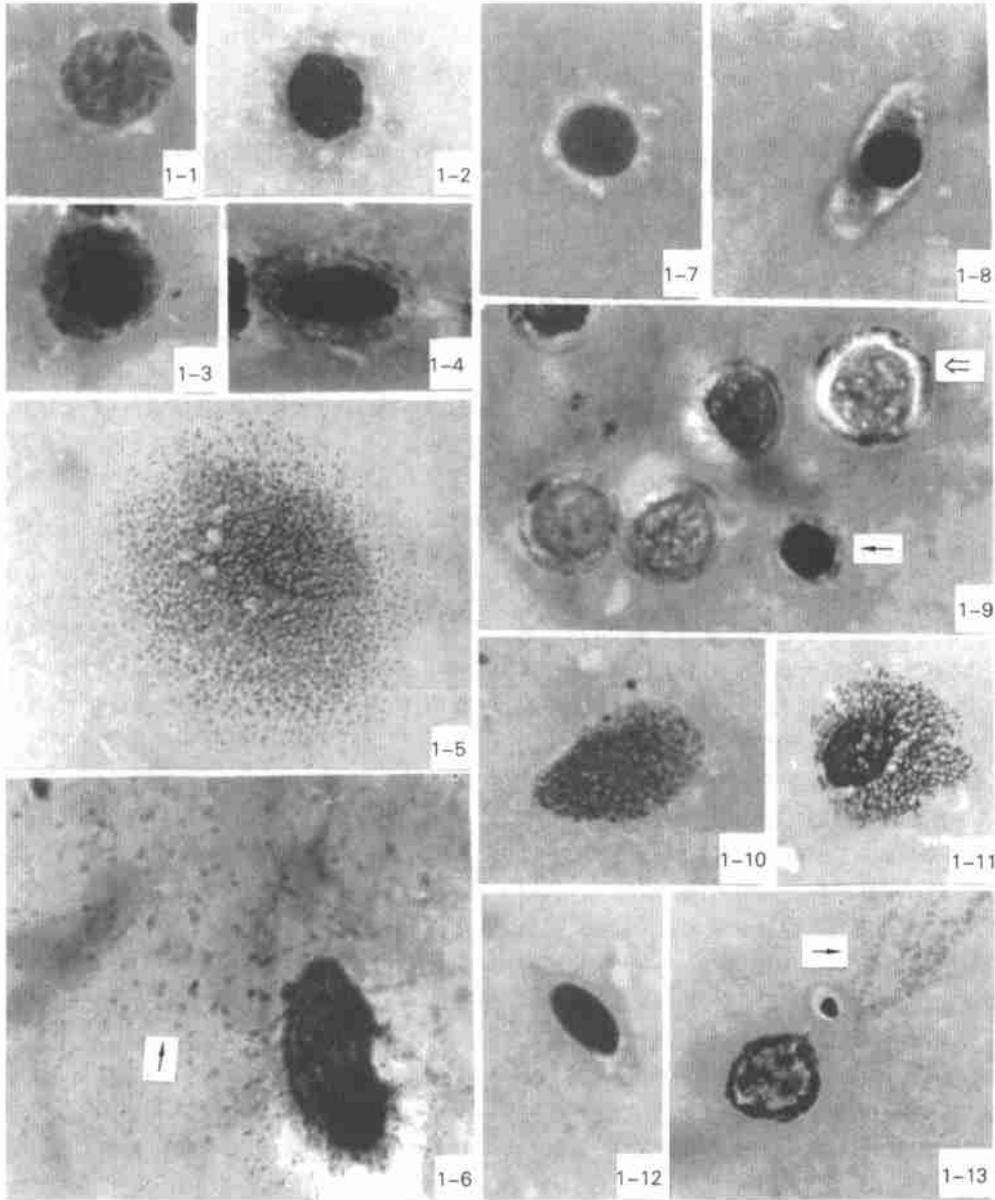


图1 黑斑口虾与斑节对虾血细胞的显微观察

1-1 黑斑口虾无颗粒血细胞 Wright 染色 $\times 1\,500$; 1-2 黑斑口虾无颗粒血细胞 Geimsa 染色 $\times 1\,200$; 1-3 黑斑口虾小颗粒血细胞 示卵圆形细胞 $\times 14\,00$; 1-4 黑斑口虾小颗粒血细胞 示椭圆形细胞 $\times 1\,400$; 1-5 黑斑口虾颗粒血细胞 示颗粒大而密集, 细胞核被遮盖而看不见 $\times 1\,400$; 1-6 黑斑口虾颗粒血细胞 示颗粒已破裂, 颗粒大部已散开 (↑所示), 可见高度异染色质化细胞核 $\times 1\,400$; 1-7 斑节对虾无颗粒血细胞 示卵圆形血细胞 $\times 1\,300$; 1-8 斑节对虾小颗粒血细胞 示椭圆形细胞 $\times 1\,400$; 1-9 斑节对虾小颗粒血细胞 示早期小颗粒血细胞 (→所示) 和晚期小颗粒血细胞 (←所示) 的比较 $\times 1\,400$; 1-10 斑节对虾颗粒血细胞 示未破裂的颗粒细胞, 核被颗粒遮住而不能看见 $\times 1\,400$; 1-11 斑节对虾颗粒血细胞 示正在破裂的颗粒细胞, 能看见细胞核 $\times 1\,400$; 1-12 斑节对虾无颗粒血细胞 示梭形细胞 $\times 1\,400$; 1-13 斑节对虾颗粒血细胞 示颗粒细胞已完全破裂, 可见已高度异染色质化的细胞核 $\times 1\,400$

形, 体积大, 居中位置。核异染色质化不太明显, 整体染色为紫红色或红褐色。细胞质较少, 成一薄层围绕核, 胞质无颗粒或颗粒不明显, 呈幼小细胞状态。核质比大。

2.2.2 小颗粒细胞(见图 1-3, 1-4) 细胞较无颗粒细胞大($10.8 \mu\text{m} \times 10.0 \mu\text{m}$)。细胞多数呈卵圆形(图 1-3)或椭圆形(图 1-4),表面不太光滑,有小突起。胞核居中,形状不规则,周围有小突起,略呈卵圆形或椭圆形。核染色较深,呈暗紫色。胞质层明显较无颗粒细胞厚,可见明显的颗粒,但颗粒数较少而小,染色较浅。核质比较大。

2.2.3 颗粒细胞(见图 1-5, 1-6) 细胞大($14.5 \mu\text{m} \times 13.4 \mu\text{m}$)。胞质发达,颗粒相当多,且大而染色深。所以当细胞未破裂排出时,颗粒将细胞核遮盖,显微观察很难看见细胞核。当颗粒排出后,发现核多为卵圆形或椭圆形或不规则形。颗粒细胞对外界刺激相当敏感,是 3 种细胞中最易破裂(或爆炸)者。颗粒细胞破裂后,释放大量颗粒(图 1-6“←”所示)。颗粒染色为紫色或紫红色。颗粒越成熟,颗粒染色越深。核高度异染色质化。核质比小。

2.3 斑节对虾血细胞的观察

作者对斑节对虾血细胞进行显微观察,并用显微镜测微尺直接对血细胞大小、核大小进行测定,计算核质比。结果发现,以血细胞大小、核质比大小和胞质内颗粒的有无为标准,可将斑节对虾血细胞可分为 3 类:无颗粒细胞;小颗粒细胞;颗粒细胞。

2.3.1 无颗粒细胞(见图 1-7, 1-12) 无颗粒细胞占血细胞总数的 47.3%。细胞较小($8.2 \mu\text{m} \times 7.0 \mu\text{m}$)。细胞多数呈卵圆形或椭圆形(图 1-7)或梭形(图 1-12),表面光滑无突起。胞核细胞形状比较规则,卵圆形或椭圆形,体积大,居中位置。核异染色质化较为明显,整体染色为紫红色或红褐色。胞质稀少,成一薄层围绕核,胞质无颗粒或颗粒不明显,呈幼小细胞状态。核质比大。

2.3.2 小颗粒细胞(见图 1-8, 1-9) 小颗粒细胞占血细胞总数的 13.1%。细胞较无颗粒细胞大($11.0 \mu\text{m} \times 10.1 \mu\text{m}$)。细胞多数呈椭圆形(图 1-8)或卵圆形(图 1-9),表面不太光滑,有突起。胞核居中或略偏于一侧。形状较规则,周围有小突起,略呈卵圆形或椭圆形。这类细胞还可进一步细分为早期小颗粒细胞(图 1-9“←”所示)和晚期小颗粒细胞(图 1-9“⇐”所示)。早期小颗粒细胞,核染色较深,较异染色质化,呈暗紫色,说明此种细胞颗粒蛋白质合成不旺盛。胞层相对较晚期小颗粒细胞薄,可见颗粒,但颗粒较晚期小颗粒细胞少而小。晚期小颗粒细胞,核染色较浅,明显较常染色质化,说明正进行旺盛的 mRNA 转录和蛋白质合成,说明此种细胞是正在进行颗粒物质合成

的细胞。整个细胞体积和核体积都较早期小颗粒细胞大。可明显见颗粒。胞质层明显较厚,但染色较浅。小颗粒细胞核质比较大。

2.3.3 颗粒细胞(见图 1-10, 1-11, 1-13) 颗粒细胞占血细胞总数的 39.6%。细胞大($12.8 \mu\text{m} \times 11.6 \mu\text{m}$)。胞质发达,颗粒相当多,且大而染色深。所以当细胞未破裂排出时,颗粒将细胞核遮盖,显微观察很难看见细胞核(图 1-10)。当细胞破裂颗粒排出后,发现核多为卵圆形或椭圆形或不规则形(图 1-11, 1-13)。胞质内充盈大颗粒,颗粒染色为紫色或紫红色。颗粒越成熟,颗粒染色越深。颗粒细胞对外界刺激相当敏感,是 3 种细胞中最易破裂(或爆炸)者。颗粒细胞破裂后,释放大量颗粒(图 1-13“→”所示)。核高度异染色质化(图 1-13),说明此种细胞已不再进行大量的 mRNA 转录,颗粒内蛋白质合成已告结束。颗粒细胞核质比小。

2.4 黑斑口虾蛄和斑节对虾血细胞的比较

通过以上的观察可以看出,黑斑口虾蛄和斑节对虾一样,也具有 3 种血细胞,且 3 种血细胞的类型相似,均为无颗粒细胞、小颗粒细胞和大颗粒细胞。说明黑斑口虾蛄这类十足目甲壳动物和斑节对虾这类十足目早壳动物血细胞基本相似,应具有相似的生理功能。也暗示今后进行黑斑口虾蛄人工养殖时,其病害防治也应与斑节对虾基本相似。

3 讨论

3.1 甲壳类动物血细胞形态、结构与命名

Bauchau 1981 年将甲壳类动物血细胞分为 Hyaline cell(透明细胞)、Semigranular cell(半颗粒细胞)、Granular cell(颗粒细胞)^[7]。这种分类和命名的根据是血细胞颗粒的有无、直径大小和核质比大小。叶燕玲等 1993 年则将血细胞命名为:透明细胞、小颗粒细胞、大颗粒细胞^[6]。森滕羲 1992 年和李光友等 1995 年比叶燕玲又完善了一步,将透明细胞称为无颗粒细胞^[6],也即将血细胞分为:无颗粒细胞、小颗粒细胞、颗粒细胞。这种分类法比较符合以有无颗粒、颗粒多少及颗粒大小为依据来分类血细胞的分类法相一致。本文作者在此也采用李光友等的分类方法,将黑斑口虾蛄和斑节对虾的血细胞分为 3 种,即:无颗粒细胞,呈球形或梭形,胞质内不含颗粒;小颗粒细胞,胞质内含颗粒较颗粒细胞少而小;颗粒细胞,球形或椭球形,胞质内充盈大颗粒。不同作者对甲壳类动物血细胞的分类法的详细情况见表 1。

表1 甲壳动物血细胞的分类与命名

甲壳动物	血细胞命名		作者
螯虾类甲壳类	透明细胞	半颗粒细胞	Bauchau, 1981年
中国对虾	透明细胞	小颗粒细胞	叶燕玲, 1989年
甲壳类动物	无颗粒细胞	小颗粒细胞	森滕羲, 1992年
中国对虾	无颗粒细胞	小颗粒细胞	李光友等, 1995年
斑节对虾	无颗粒细胞	小颗粒细胞	陈平, 1998年
黑斑口虾蛄	无颗粒细胞	小颗粒细胞	本文作者

分别占循环血细胞总量的 25.32%, 61.79% 和 12.89%^[7]。本实验在光镜下对血涂片随机选取视野, 对各血细胞类型进行粗略统计, 发现, 无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞等分别占黑斑口虾蛄循环血细胞总量的 29.6%, 31.7% 和 38.7%; 无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞等分别占斑节对虾循环血细胞总量的 47.3%, 13.1% 和 39.6%。3 种甲壳类的 3 种血细胞分别所占比例差异相当显著, 且哪一种占得最多亦有所不同, 原因除研究方法不同外, 甲壳类动物的不同生长时期及其不同的生理状态是否也会造成这种差异, 有待更进一步研究。

本实验尚发现, 黑斑口虾蛄与斑节对虾的 3 种血细胞在结构、细胞大小、核质比、染色上都颇为相似, 估计它们的功能亦相似, 亦即: (1) 无颗粒细胞, 估计有产生血蓝蛋白的作用, 应属新生细胞; (2) 小颗粒细胞, 有可能从无颗粒细胞分化而来, 参与一定的生理活动; (3) 颗粒细胞, 认为可能是最成熟的细胞, 分泌物可能与凝血、抗菌等生理功能有关。

3.3 颗粒细胞分析

光镜观察显示, 即使是同一细胞内的颗粒, 它们的着色情况也有较为显著的差异, 即染色时这些颗粒的嗜酸性与嗜碱性差异, 应为同一细胞内这些颗粒的成分不相同所致。从另一个角度也说明, 颗粒细胞内的颗粒, 可能分为几种, 分别具有凝血、抗菌等不同的功能。通过光镜可以观察到一些细胞伸出伪足而变形, 说明这些细胞的确存在着一定的免疫或抗菌能力, 其功能可能与哺乳动物的白细胞相似, 这也致使不规则细胞的增多。至于哪一类型的血细胞免疫能力最强, 有待研究。

3.4 十足目的血细胞种类

目前国内普遍认为, 十足目血液中除淋巴细胞外无其他血细胞^[2]。本实验结果表明, 黑斑口虾蛄的

血细胞有 3 种: 无颗粒细胞, 小颗粒细胞, 颗粒细胞。这就说明, 十足目与其他十足目等甲壳动物一样, 有 3 种血细胞, 它们对疾病的免疫作用也应有一定的相似性。

3.5 梭形细胞

目前普遍认为, 在甲壳类血细胞中梭形细胞是一种较早出现而未经分化的幼稚细胞。本实验在斑节对虾血液里经观察发现梭形细胞(见图 1-12), 不过数量极少。梭形细胞两端渐尖呈梭形, 细胞核大, 细胞核异染色质化。从以上特征可以看出, 梭形细胞与浆细胞相似, 应属于特殊的 G₀ 细胞。浆细胞多见于节肢动物血液, 尤以昆虫为著, 被认为是一种干血细胞。浆细胞由于与原始血细胞在形态及结构上相似, 核的比例也较大, 亦为嗜碱性, 又是唯一常见有丝分裂的类型, 故一般认为此种类型血细胞分裂后的子细胞为原始血细胞。所以, 一般认为梭形细胞分裂产生原始血细胞, 梭形细胞为造血干细胞。当然, 这有待进一步证实。

参考文献

- 1 魏崇德主编. 浙江动物志——甲壳类. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1991. 74~94
- 2 堵南山编著. 甲壳动物学(下册). 北京: 科学出版社, 1993. 374~398
- 3 Dall, W. 等. 对虾生物学. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1995. 31~35
- 4 陈平, 黄槐, 池信才等. 水生生物学报, 1998, 22(2): 158~163
- 5 杨景山主编. 医学细胞化学与细胞生物技术. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1990. 6~8
- 6 李光友, 王青. 海洋与湖沼, 1995, 26(6): 591~597
- 7 Bauchau A. G. . Crustaceans. Invertebrate Blood Cells. London, New York: Academic Press, 1981. 2385~2420

(本文编辑: 刘珊珊)

3.2 各类血细胞所占比例与功能的关系

叶燕玲等研究中国对虾循环系统的超微结构、分类和计数, 发现透明细胞、小颗粒细胞和大颗粒细胞等