

斜带髯鲷外周血红细胞和血栓细胞的超微结构

梅景良¹, 闫琳¹, 王湘平²

(1. 福建农林大学 动物科学学院; 2. 福建农林大学 测试中心, 福建 福州 350002)

摘要: 应用透射电镜技术研究了斜带髯鲷(*Haploegenys nitens*)外周血红细胞和血栓细胞的超微结构。结果表明: 红细胞呈卵圆形或长椭圆形, 胞核居中, 异染色质呈斑块状分布; 胞质中含有线粒体、多核糖体、小囊泡、高尔基体和边缘带; 可见核正处于分裂的细胞或双核细胞, 以及凋亡红细胞。血栓细胞形态多样, 细胞表面有的无突起, 有的有短的突起或长的丝状伪足; 胞核位于细胞中央, 异染色质呈片状或网状分布; 胞质中含有丰富的游离核糖体、微管, 少量的粗面内质网、线粒体、致密颗粒和大液泡; 由大量空泡和大小不一、形态各异的小管构成的表面相连小管系遍布于胞质中, 成为血栓细胞的一个显著特征; 偶见血栓细胞以其丝状伪足包裹异物颗粒的现象。

关键词: 红细胞; 血栓细胞; 超微结构; 外周血; 斜带髯鲷(*Haploegenys nitens*)

中图分类号: Q172

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)02-0080-06

作为血液有形成分的血细胞既是鱼类机体的组成部分, 也是机体主要的免疫细胞, 在维持机体正常的生理机能和防御疾病的过程中发挥着重要作用。鱼类的血液学参数资料不但可以反映鱼体的生理状态和健康情况, 也常结合其他常规诊断方法用来确定和评估导致鱼体产生应激进而致病的环境条件^[1-3], 所以一直以来都是人们极感兴趣的热门研究课题^[4-7]。斜带髯鲷(*Haploegenys nitens*)是中国东南沿海近年来重要的经济鱼类养殖对象, 有关其人工繁殖、遗传特性和养殖条件等方面的研究已有较多报道^[8-11], 对其组织器官中肥大细胞的超微形态学结构亦有见报道^[12], 然而有关其血细胞形态学的研究资料却极少, 目前仅见作者关于其嗜中性粒细胞核内包涵体超微结构的报道^[13]。故此, 作者对斜带髯鲷外周血细胞的超微结构进行了系统研究, 旨在丰富鱼类外周血细胞的形态学资料。作者就红细胞和血栓细胞的超微结构研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用 8 尾人工养殖斜带髯鲷购自福州市农贸市场, 观察体表健康无病, 个体大小接近, 体质量为 317.8~351.3 g, 体长为 25.9~28.2 cm。活体运回实验室, 暂养于水族箱 2 d 直到采集血样, 其间不投饵料, 用空气压缩机 24 h 充气增氧。

1.2 方法

实验鱼用 MS-222 麻醉, 心脏采血 2 mL 注入离心管中, 3 000 r/min 离心 10 min, 除去上清液, 在 4℃ 1.5% 多聚甲醛-3% 戊二醛溶液中预固定 20 min, 挑取白细胞层, pH7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗 2~3 次, 于 5℃ 低温环境下切成约 2 mm×1 mm×1 mm 大小, 再放入固定液中固定 1 周。之后将样本经 4℃ PBS 清洗, 1% 锇酸后固定, 酒精-丙酮梯度脱水, 环氧树脂包埋, 半薄切片以亚甲蓝染色后在光镜下定位, LKB-V 型超薄切片机切片, 醋酸铀-柠檬酸铅双重染色, JEM-1010 透射电镜观察、拍片。

2 结果

2.1 斜带髯鲷红细胞的超微结构

斜带髯鲷外周血红细胞呈卵圆形或长椭圆形, 表面光滑无胞突。胞核居中, 呈卵圆形, 核膜清晰, 部分细胞可见核膜周隙宽阔, 核孔明显。浓密的异染色质沿核膜内侧周边呈带状分布, 核中央呈斑块状分布(图 1A)。大部分细胞胞质均匀, 电子密度较低; 少数细胞胞体较大, 胞质电子密度相对偏低而较为

收稿日期: 2008-03-24; 修回日期: 2009-05-12

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(X0650005)

作者简介: 梅景良(1967-), 男, 福建惠安人, 副教授, 硕士, 主要从事水产动物疾病防治研究, 电话: 0591-87694452, E-mail: fujianmjli@126.com

透亮(图 1B)。胞质中含有 1~5 个线粒体, 线粒体呈卵圆形, 板层嵴与长轴平行, 嵴间腔清晰可见; 还散布着少量多核糖体、小囊泡和一个高尔基体, 在靠近膜下的胞质偶尔可见边缘带(图 1A、图 1C)。除可见到核正处于分裂的细胞或双核细胞之外(图 1D、图 1E), 尚可见凋亡红细胞, 细胞表面较粗糙, 细胞核染色质凝聚、边集呈环状排列, 线粒体解体空化或致密化而结构较为模糊, 并移近胞膜, 有的与胞膜发生融合(图 1F)。

2.2 斜带髯鲷血栓细胞的超微结构

血栓细胞呈纺锤形、长纺锤形、椭圆形、圆形或不规则形, 有的细胞表面较光滑无胞突, 有的细胞表面则存在较多突起或凹陷(图 1G)。核位于细胞中央, 较大, 一侧常有较深的凹入缺刻, 故因切面位置不同, 核可呈各种形状, 有圆形、长椭圆形, 甚至出现双核形; 异染色质丰富, 电子致密, 多集中在核膜内侧分布, 核中央呈片状或网状分布。胞质较少, 主要集中于两端, 故垂直于长轴横切的细胞仅呈现为一薄层胞质包于核外(图 1G)。胞质中除含有丰富的游离核糖体和微管之外, 还有少量粗面内质网, 这些内质网有的相互交联成网状, 核糖体大多已脱落; 胞质中可见个别大型线粒体, 线粒体的板层嵴与长轴垂直, 嵴间腔清晰可见(图 1H)。胞质中偶见电子密度较均匀的致密颗粒(图 2A)。

电镜下, 斜带髯鲷血栓细胞最具特征性的结构是普遍存在于胞质中的表面相连小管系(surface-connected canicular system, SCCS)。根据这些表面相连小管系所呈现的超微结构特点不同, 可将其分为 SCCS1、SCCS2 和 SCCS3 三种类型(图 1H, 图 2A)。SCCS1 为细管型表面相连小管系, 其超微结构与粗面内质网较为相似, 细管内基质电子密度与胞质接近, 但因无核糖体附着, 故表面较为光滑; 单根存在或交叉连接成网, 在细胞膜表面常有开口(图 1H, 图 2B), 并偶尔可见其开口处有分泌物排出(图 2C)。SCCS2 为小囊泡型表面相连小管系, 由大量小囊泡和小管构成, 囊泡大小约为 90 nm×60 nm, 其超微结构类似于滑面内质网, 囊泡内基质电子密度中等或稍低于胞质; 小囊泡常数个紧靠在一起或已融合呈小管状, 分布于膜下胞质中的小管系在细胞膜表面也有开口(图 2A)。在斜带髯鲷血栓细胞中存在最为普遍的是 SCCS3, 即大空泡型表面相连小管系。构成 SCCS3 的空泡大小不等、形状各异, 有的空泡大小约为 340 nm×220 nm, 呈椭圆形, 开口于细胞膜表

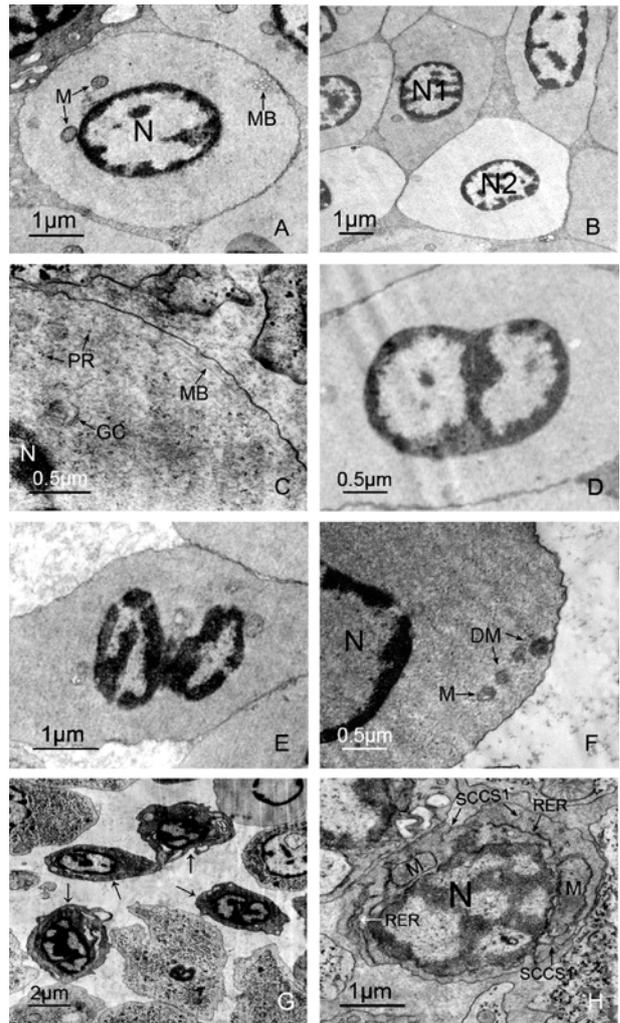


图 1 斜带髯鲷外周血红细胞和血栓细胞电镜图

Fig. 1 Electron micrographs of peripheral blood erythrocytes and thrombocytes in skewband grunt (*Haplogeny nitens*)

A. 红细胞, 示胞核(N)、线粒体(M)和边缘带(MB); B. 红细胞, 示 N2 细胞胞质较透亮; C. 红细胞的一部分, 示边缘带(MB)、多核糖体(PR)和高尔基体(GC); D. 红细胞, 示正处在分裂的核; E. 红细胞, 示双核; F. 凋亡红细胞, 示核染色质凝聚、边集, 线粒体降解(DM); G. 血栓细胞, 示血栓细胞(†)的不同形状; H. 血栓细胞, 示粗面内质网(RER)、线粒体(M)、I 型表面相连小管系(SCCS1)

面的则呈热水瓶状, 泡内基质电子密度极低(图 2A); 有的空泡较大, 约为 580 nm×360 nm, 呈椭圆形或短管状, 泡内基质透亮, 在细胞膜表面有明显的开口(图 2D); 有的空泡内具有颗粒状内含物, 其结构较为模糊, 与胞质存有联系(图 2E); 有的空泡内有长条形胞质结构伸入, 使空泡呈弯管状(图 2F); 有的大空泡内嵌套着 1~2 个由胞质相互联系在一起的中等空泡, 形成奇特的“空泡迷宫”(图 2G)。

一些血栓细胞的胞质尚存在个别大液泡, 这种液泡其内部基质有的较均匀, 电子密度接近或稍低于细

胞基质(图 2E); 有的基质不甚均匀而呈絮凝状, 其中有电子密度较高的微细点状物散在分布(图 2F)。偶尔可见此种液泡通过 SCCS1 而与 SCCS3 相连(图 2F)。

泡内侧胞质膜面呈现强烈的嗜染性, 泡中的异物颗粒电子密度中等, 结构已较为模糊不清。

3 讨论

3.1 关于斜带髯鲷红细胞的超微结构

研究表明, 斜带髯鲷的红细胞是一种有核细胞。外周血中的红细胞明显存在两个不同发育阶段, 一个是不成熟阶段, 这个阶段红细胞的胞质因血红蛋白含量较少而致电子密度较低较透亮; 另一个是成熟阶段, 细胞胞质电子密度较高, 且细胞数量占绝对优势, 这些现象与其他鱼类红细胞的观察结果相似^[4,14]。本研究中观察到了核正处于分裂或已成双核的红细胞, 表明斜带髯鲷的红细胞可以在外周中进行直接分裂。国内学者在一些鱼类的外周血中也发现了红细胞的直接分裂现象, 但他们是在显微镜而非在电镜下观察到这类红细胞的。因此, 在电镜下观察到红细胞的直接分裂现象这在国内尚属首次报道。

在斜带髯鲷红细胞中很容易观察到线粒体, 这一点与 López-Ruiz 等^[14]、Sekhon 等^[15]、梅景良等^[5]、袁仕取等^[16]、周玉等^[17]对一些鱼类红细胞的观察结果相似, 但范瑞青等^[18]、朱洪文等^[19]在个别鱼类的红细胞中却未能观察到线粒体。目前一般认为, 鱼类红细胞电镜样品中是否能够观察到线粒体很可能与鱼类的种间差异、鱼龄或红细胞的发育状态不同有关^[5,16]。当然, 在红细胞中观察不到线粒体, 也不排除可能是因为线粒体已被降解代谢或已被排出胞外所致, 如本研究中曾观察到有些线粒体结构已模糊不清, 并不断移近细胞膜而与之融合; Sekhon 等^[15]在对虹鳟(*Salmo gairdneri*)红细胞的观察过程中也发现, 随着红细胞的成熟, 胞质中降解的线粒体不断被排出胞外。在斜带髯鲷红细胞中尚观察到多核糖体、小囊泡和高尔基体, 这与 López-Ruiz 等^[14]、Sekhon 等^[15]的观察结果相一致, 而与朱洪文等^[19]的观察结果不同。在斜带髯鲷红细胞胞质中存在较多的细胞器表明, 这种红细胞的代谢功能较强, 并且相较于哺乳动物外周血红细胞而言其分化程度较低。

在斜带髯鲷红细胞中尚偶然发现一种现象, 就是其膜下胞质中存在着边缘带(marginal band)。关于鱼类红细胞中的边缘带, 国外已有较多报道^[4,15,20,21], 但国内相关报道极少^[22]。边缘带也称边缘维管束(marginal microtubule bundle), 有人认为它们是低等脊椎动物有核红细胞的特征之一^[22], 并可能具有骨架的功能而在维持红细胞的弹性和形状方面起重要

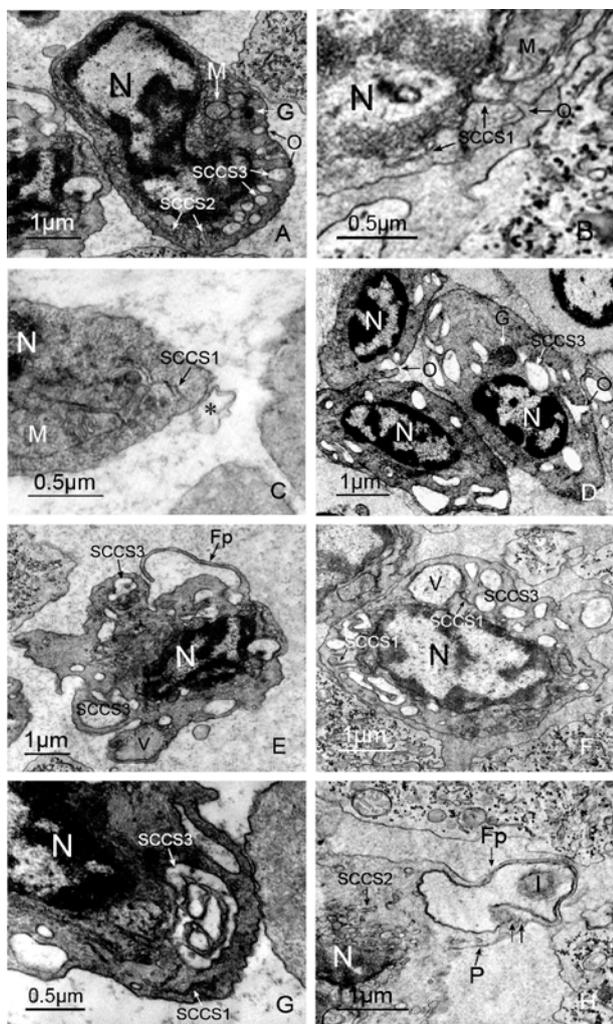


图 2 斜带髯鲷外周血血栓细胞电镜图

Fig. 2 Electron micrographs of peripheral blood thrombocytes in skewband grunt (*Haploxygnathys nitens*)

A. 血栓细胞, 示胞核(N)、线粒体(M)、致密颗粒(G)、II型表面相连小管系(SCCS2)、III型表面相连小管系(SCCS3)和小管系开口(O); B. 血栓细胞的一部分, 示 SCCS1 及其开口(O), 大型线粒体(M); C. 血栓细胞的一部分, 示 SCCS1 及其开口处的分泌物(*), 大型线粒体(M); D. 三个血栓细胞, 示 SCCS3 其开口(O); E. 血栓细胞, 示 SCCS3、丝状伪足(Fp)、大液泡(V); F. 血栓细胞, 示 SCCS1、SCCS3、大液泡(V); G. 血栓细胞的一部分, 示 SCCS1、SCCS3; H. 血栓细胞的一部分, 示丝状伪足(Fp)、指状突起(P)、紧密连接(↑↑)、SCCS2、内含物(I)

有的细胞胞质向外伸出许多指状突起或细长的丝状伪足(图 2E、G)。偶见血栓细胞以其丝状伪足包裹异物颗粒的现象(图 2H)。图 2H 中可见到丝状伪足与同侧的指状突起正在接合而形成一个大泡, 其接合处的紧密连接清晰可见; 丝状伪足和指状突起的

作用, 以及可能在细胞内的物质转运方面起促进作用^[4,23,24]。但到目前为止, 对于大多数研究结果来说, 在鱼类红细胞中存在边缘带并不是一种普遍现象^[14,16,17,20], 因此断定边缘带是低等脊椎动物有核红细胞的一种特征这一观点是值得商榷的。

3.2 关于斜带髯鲷血栓细胞的超微结构

有学者认为, 鱼类血栓细胞是仅次于红细胞的常见血细胞种类^[5,14], 但与红细胞和白细胞相比较而言, 有关血栓细胞形态学方面的研究却很少^[14]。血栓细胞是参与鱼类凝血过程的外周血细胞, 它相当于哺乳动物的血小板^[25,26]。鱼类血栓细胞与哺乳动物血小板之间最大的不同之处在于鱼类血栓细胞是有核的, 并且核质比较大, 斜带髯鲷的血栓细胞也不例外。

斜带髯鲷血栓细胞在超微结构方面不同于其他血细胞的一个最显著特征是其胞质中遍布着表面相连小管系, 这与一些鱼类血栓细胞的形态结构特点是相一致的^[4,14,27,28]。表面相连小管系曾有不同的名称, 如“表面相连系统”(surface-connected system)、“开放小管系”(open canalicular system)^[29]、“吞饮小囊泡”(pinocytotic vesicle)^[15,20], 目前普遍采用的是“表面相连小管系”这一名称^[4,14,29]。在人类血小板胞质内也存在着小管系, 但有两套, 一套是开放小管系, 呈现为大小不等的空泡状, 在血小板表面有开口; 另一套是致密小管系(dense tubular system), 属封闭性小管, 多分布在血小板周边, 管腔电子密度中等, 相当于滑面内质网^[30]。在低等脊椎动物有核血栓细胞中所发现的表面相连小管系在结构上基本都与前者相同^[4,14,27,29]。Daimon 等^[27]根据研究结果发现, 表面相连小管系并非由众多孤立的空泡构成, 而是由遍布于胞质的小管相互连通构成的一个管网结构, 电镜下所见到的空泡只是小管的横切面。由于表面相连小管系的总面积可达血栓细胞表面积的四倍之多^[4,28], 因此通常认为, 表面相连小管系的作用在于扩大胞浆膜面积以提高血栓细胞与外界之间进行代谢交换的效率^[4,27], 这可能也就是斜带髯鲷血栓细胞存在“空泡迷宫”的意义所在。还有学者发现在表面相连小管系内含有钙镁依赖性 ATP 酶^[31]和存储着钙离子^[32,33], 并且在凝血过程中对细胞所合成化学物质的释放起着通道性的作用^[27]。当然, 表面相连小管系也已成为电镜下血栓细胞有别于淋巴细胞的一个标志性特征, 因为淋巴细胞中并不具有表面相连小管系^[4]。

本研究表明, 斜带髯鲷血栓细胞中明显存在着三种不同形态的表面相连小管系 SCCS1、SCCS2 和

SCCS3, 并呈现出了一种有趣的现象, 就是具有 SCCS1、SCCS2 的血栓细胞一般细胞表面较光滑无胞突, 而具有 SCCS3 的细胞表面则存在较多指状突起或丝状伪足。Sano-Martins 等^[34]研究表明, 当蛇 *Waglerophis merremii* 的静息态血栓细胞受到二磷酸腺苷(ADP)激活时, 其形态就会由椭圆体变成球状体, 且细胞表面的突起大量增多, 表面相连小管系显著扩张。人类的血小板也同样具有两种形态, 一是呈双凸圆盘状未激活态, 一种是具有丝状伪足而呈不规则形的激活态^[30]。据此似乎可以推测得到, 以 SCCS1 分布为主的斜带髯鲷血栓细胞是处于静息态的血栓细胞, 以 SCCS3 分布为主的是已经被激活后的血栓细胞, 而以 SCCS2 分布为主的则是正处在激活过程中的血栓细胞。但是, 在研究中还发现了另一些奇特的现象, 即以 SCCS1 分布为主的血栓细胞其所含有的线粒体普遍为大型线粒体, 有的长度可达 1.55 μm , 约为胞核的一半长, 同时在 SCCS1 的开口处可见有胞内物质排出。这些迹象有表明, 含有 SCCS1 血栓细胞的代谢功能相当活跃, 很可能并非处于静息状态, 而是在执行某种特定的生理功能。因此, 斜带髯鲷血栓细胞中这三种不同形态的小管系所代表的确切生理学意义尚需进一步的研究探讨。

斜带髯鲷血栓细胞胞质中还含有丰富的游离核糖体、微管和少量的粗面内质网、线粒体, 这与 Sekhon 等^[15]、Daimon 等^[27]、Daimon 等^[28]、Ferguson^[35]对其他一些鱼类的研究结果是相一致的, 但对其中相互交联成网状结构的内质网笔者则倾向于认为这很可能是斜带髯鲷血栓细胞的致密小管系, 因为它与 Daimon 等^[36]在鸡血栓细胞中所观察到的致密小管系结构类似。在斜带髯鲷血栓细胞胞质中尚观察到少量电子密度较均匀的致密颗粒, 这些颗粒在形态学上较类似于人类血栓细胞的 α 颗粒^[30]。Esteban 等^[21]在舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)、Cannon 等^[37]在斑鲷(*Ictalurus punctatus*)的血栓细胞中也发现有类似的致密颗粒, 但 López-Ruiz 等^[14]在金头鲷(*Sparus aurata*)血栓细胞中未能观察到这种颗粒。Sano-Martins 等^[34]在蛇 *W. merremii* 的血栓细胞中除了观察到 α 颗粒之外, 还观察到了次级溶酶体, 并且随着血栓细胞的激活这两种颗粒的内容物都会被释放。在斜带髯鲷一些血栓细胞中存在的个别大液泡, 由于其内部呈较均匀低电子密度基质或絮凝状基质, 完全有别于 SCCS3 的大空泡, 并且其内容物很可能通过 SCCS1 和 SCCS3 进行外排, 因此这种大液泡在

形态上与 Daimon 等^[38]所描述的鸡血栓细胞的大空泡较为接近,并相当于哺乳动物血栓细胞的致密颗粒或人类血栓细胞的 δ 颗粒^[30]。

在本研究中观察到的血栓细胞包裹异物颗粒现象,根据其丝状伪足和指状突起的泡内侧胞质膜面所呈现的强烈嗜染性,以及泡中异物颗粒的结构已模糊不清,可以推测这可能是血栓细胞正通过泡内侧胞质膜面分泌一些酶类对所包裹异物进行消化的一种吞噬作用。由观察结果尚可以发现,这种吞噬作用是一个主动的过程,这与 Burrows 等^[39]的观点一致。关于鱼类血栓细胞对各种异物(包括细菌和其他抗原)是否具有吞噬能力的问题,一直存有争议^[40,41]。但许多学者的研究结果表明,鱼类血栓细胞不仅能吞噬碳颗粒^[35,39]和细菌^[42],还能吞噬消化血循环中的细胞残骸^[43]和蚕蚀分解衰老红细胞^[5]。因此从形态学的角度上来说,鱼类血栓细胞不应只是一种参与凝血过程和免疫过程的血细胞^[41,44],很可能还是一种具有吞噬作用的细胞。

参考文献:

- [1] Beelen R, Boyd B, Garavello J C, *et al.* A cytochemical, light and electron microscopic study of the peripheral blood leucocytes of hybrid surubim catfish (*Pseudoplatystoma corruscans* × *Pseudoplatystoma fasciatum*) [J]. *Comp Clin Path*, 2003, 12: 61-68.
- [2] Pavlidis M, Futter W C, Katharios P, *et al.* Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species[J]. *J Appl Ichthyol*, 2007, 23: 70-73.
- [3] Sepici-Dinçel A, Benli A C K, Selvi M, *et al.* Sublethal cyfluthrin toxicity to carp(*Cyprinus carpio* L.)fingerlings: biochemical, hematological, histopathological alterations[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2009, 10: 1 016-1 019.
- [4] Esteban M A, Muñoz J, Meseguer J. Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies[J]. *The Anatomical Record*, 2000, 258: 80-89.
- [5] 梅景良,王寿昆,祁保民,等. 黑鲷外周血细胞的显微和超微结构观察[J]. *热带海洋学报*, 2008, 27(2): 45-53.
- [6] 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.
- [7] 周永灿,邢玉娜,冯全英. 鱼类血细胞研究进展[J]. *海南大学学报(自然科学版)*, 2003, 21(2): 171-176.
- [8] 方琼珊,郑乐云,王涵生. 斜带髭鲷人工催产技术研究[J]. *海洋科学*, 2001, 25(12): 15-17,45.
- [9] 王世锋,杜佳莹,苏永全,等. 斜带髭鲷野生与养殖群体遗传结构的 ISSR 分析[J]. *海洋学报*, 2007, 29(4): 105-110.
- [10] 张雅芝,胡家财,谢仰杰,等. 不同饵料对斜带髭鲷稚鱼生长和存活的影响[J]. *海洋科学*, 2003, 27(1): 30-33.
- [11] 郑乐云,方琼珊,王涵生,等. 盐度对斜带髭鲷仔鱼活力及摄食率的影响[J]. *海洋科学*, 2004, 28(4): 5-7,28.
- [12] 梅景良,闫琳,王湘平. 斜带髭鲷后肠、头肾及脾脏中肥大细胞超微结构观察[J]. *海洋学报*, 2009, 31(2): 120-128.
- [13] 梅景良,闫琳,王湘平. 斜带髭鲷外周血嗜中性粒细胞核内包涵体的超微结构[J]. *中国实验动物学报*, 2008, 16(6): 431-434.
- [14] López-Ruiz A, Esteban M A, Meseguer J. Blood cells of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): light and electron microscopic studies[J]. *The Anatomical Record*, 1992, 234(2): 161-71.
- [15] Sekhon S S, Beams H W. Fine structure of the developing trout erythrocytes and thrombocytes with special reference to the marginal band and the cytoplasmic organelles[J]. *American Journal of Anatomy*, 1969, 125(3): 353-373.
- [16] 袁仕取,张永安,姚卫建,等. 鳊鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察[J]. *水生生物学报*, 1998, 22(1): 39-45.
- [17] 周玉,郭文场,杨振国,等. 欧洲鳊外周血细胞的显微和超微结构[J]. *动物学报*, 2002, 48(3): 393-401.
- [18] 范瑞青,姜明,汝少国,等. 不同渗透压下美国红鱼外周血细胞超微结构的变化[J]. *海洋科学*, 2000, 24(11): 48-53.
- [19] 朱洪文,王浩,秦国强. 鲫鱼(*Carassius auratus*)外周血细胞显微和亚显微结构的观察[J]. *动物学研究*, 1985, 6(2): 147-153.
- [20] Fawcett D W, Witebsky F. Observations on the ultrastructure of nucleated erythrocytes and thrombocytes with particular reference to the structural basis of their discoidal shape[J]. *Z Zellforsch*, 1964, 62: 785-806.
- [21] Esteban M A, Meseguer J, García A A, *et al.* Erythropoiesis and thrombopoiesis in the head kidney of the sea bass(*Dicentrarchus labrax* L.). An ultrastructural study[J]. *Arch Histol Cyto*, 1989, 152: 407-419.
- [22] 傅莉娟,高平,严绍颀. 金鱼成熟红血细胞的超微结构研究[J]. *科学通报*, 1988, 33(15): 1 178-1 181.
- [23] Cohen W D. Observations of the marginal band system of nucleated erythrocytes[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1978, 78: 260-273.
- [24] Joseph-Silverstein J, Cohen W D. The cytoskeletal system of nucleated erythrocytes. III. Marginal band function in mature cells[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1984, 98: 2 118-2 125.
- [25] Doggett T A, Harris J E. Ultrastructure of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*[J]. *Journal of Fish Biology*, 1989, 34(5): 747-756.
- [26] Jagadeeswaran P, Sheehan J P, Craig F E, *et al.* Identification and characterization of zebrafish thrombocytes[J]. *British Journal of Haematology*, 1999, 107: 731-738.
- [27] Daimon T, Uchida K. Ultrastructural evidence of the existence of the surface connected canalicular system in the thrombocyte of the shark(*Triakis scyllia*) [J]. *J Anat*, 1985, 141: 193-200.
- [28] Daimon T, Mizuhira V, Takahashi I, *et al.* The surface connected canalicular system of carp(*Cyprinus carpio*) thrombocytes: its fine structure and three-dimensional architecture[J]. *Cell Tissue Res*, 1979, 203: 355-365.

- [29] Daimon T, Mizuhira V, Uchida K. Fine structural distribution of the surface-connected canalicular system in frog thrombocytes[J]. **Cell Tissue Res**, 1979, 201: 431-439.
- [30] 成令忠, 钟翠平, 蔡文琴. 现代组织学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003. 286-301.
- [31] Cutler L S, Feinstein M B, Christian C P. Cytochemical localization of ouabain-sensitive (K^+)-dependent *p*-nitrophenyl phosphatase (transport ATPase) in human blood platelets[J]. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 1980, 28: 1 183-1 188.
- [32] Daimon T, Uchida K, Mizuhira V. Ultrastructural localization of acid protein polysaccharides and calcium in the vacuoles of the chicken thrombocyte[J]. **Histochemistry**, 1977, 52: 25-32.
- [33] Daimon T, Mizuhira V, Uchida K. Ultrastructural localization of calcium around the membrane of the surface connected system in the human platelet[J]. **Histochemistry**, 1978, 55: 271-279.
- [34] Sano-Martins I S, Jared C, Brunner A J R. Ultrastructural alterations in thrombocytes of the snake *Waglerophis merremii* after activation by ADP[J]. **Comparative Haematology International**, 1994, 4: 226-231.
- [35] Ferguson H W. The ultrastructure of plaice(*Pleuronectes platessa*)leucocytes[J]. **J Fish Biol**, 1976, 8: 139-142.
- [36] Daimon T, Uchida K. Electron microscopic cytochemical observations on the membrane systems of the chicken thrombocyte[J]. **J Anat**, 1978, 125(1): 11-21.
- [37] Cannon M S, Mollenhauer H H, Eurell T E, *et al.* An ultrastructural study of the leukocytes of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. **J Morphol**, 1980, 164: 1-23.
- [38] Daimon T, Uchida K. Cytochemical demonstration of amine-storing vacuoles and lysosomes in the chicken thrombocytes[J]. **Histochemistry**, 1982, 75: 309-317.
- [39] Burrows A S, Fletcher T C, Manning M J. Haematology of the turbot, *Psetta maxima* (L.): ultrastructural, cytochemical and morphological properties of peripheral blood leucocytes[J]. **J Appl Ichthyol**, 2001, 17: 77-84.
- [40] Meseguer J, Esteban M A, Rodríguez A. Are thrombocytes and platelets true phagocytes?[J]. **Microscopy Research and Technique**, 2002, 57: 491-497.
- [41] Passantino L, Cianciotta A, Patrino R, *et al.* Do fish thrombocytes play an immunological role? Their cytoenzymatic profiles and function during an accidental piscine candidiasis in aquarium[J]. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, 2005, 27: 345-356.
- [42] Stosik M, Deptula W, Trávnicek M. Studies on the number and ingesting ability of thrombocytes in sick carps(*Cyprinus carpio* L.)[J]. **Vet Med**, 2001, 46: 12-16.
- [43] Tavares-Dias M, Ono E A, Pilarski F, *et al.* Can thrombocytes participate in the removal of cellular debris in the blood circulation of teleost fish? A cytochemical study and ultrastructural analysis[J]. **J Appl Ichthyol**, 2007, 23: 709-712.
- [44] Köllner B, Fischer U, Rombout J H W M, *et al.* Potential involvement of rainbow trout thrombocytes in immune functions:a study using a panel of monoclonal antibodies and RT-PCR[J]. **Dev Comp Immunol**, 2004, 28: 1 049-1 062.

Ultrastructural study on peripheral blood erythrocytes and thrombocytes in skewband grunt (*Hapalogenys nitens*)

MEI Jing-liang¹, YAN Lin¹, WANG Xiang-ping²

(1. College of Animal Science; 2. Test Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Received: Mar., 24, 2008

Key words: erythrocyte; thrombocyte; ultrastructure; peripheral blood; *Hapalogenys nitens*

Abstract: The aim of the present paper was first to examine the peripheral blood erythrocytes and thrombocytes in skewband grunt (*Hapalogenys nitens*) by transmission electron microscopic method and second to characterize them ultrastructurally. Subsequent study showed that erythrocytes were oval or elongated ellipsoidal cells with a central, oval nucleus with heterochromatin blocks. A few dividing or divided nuclei appeared in the cells. Scarce organelles such as some mitochondria, polyribosomes, small vesicles and an occasional small Golgi complex were found in the cytoplasm. A marginal band of microtubules was presented beneath the plasmalemma. Some apoptotic red blood cells were also seen. On the electron micrographs, thrombocytes were variable in form with short pseudopodia, long filopodia or no protrusion. The nucleus exhibited the characteristics of large heterochromatin blocks or networks. Organelles such as free ribosomes and microtubules were abundant, rough endoplasmic reticulum, mitochondria, electrondense granules and large vesicles were scarce. The surface-connected canalicular system(SCCS) formed by numerous vacuoles and canaliculi of different sizes and shapes has a distinguishing feature of thrombocytes and distributed throughout the cytoplasm. Meanwhile, the phagocytosis of thrombocytes was described. And the phagocytic ability of piscine thrombocytes was also discussed in this paper.

(本文编辑: 梁德海)