

不同渗透压下美国红鱼外周血细胞超微结构的变化*

范瑞青¹ 姜明¹ 汝少国² 谢嘉琳³ 高澜¹

(青岛海洋大学¹ 测试中心,² 海洋生命学院 266003)

(³ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 采用电子显微镜技术研究了不同渗透压条件下美国红鱼外周血细胞超微结构的变化。在海水中,红细胞为长椭圆形,核较小,无细胞器;淋巴细胞呈不规则圆形,核大,有伪足;单核细胞胞质中有少量的线粒体,核大且不规则;血栓细胞多呈泪滴状或纺锤状;粒细胞分为 I 型和 II 型粒细胞, I 型粒细胞中具有较多高电子密度的颗粒, II 型粒细胞中有密集的细管样结构。在淡水中,各类血细胞的核膜均有不同程度的水肿现象,红细胞核略有膨胀;淋巴细胞伪足缩小,胞质中有线粒体;单核细胞线粒体发达;血栓细胞核略有凹陷; I 型粒细胞颗粒大,但数量减少,电子密度降低,线粒体和粗面内质网发达,空泡内有吞噬物; II 型粒细胞结构无明显变化。

关键词 美国红鱼,血细胞,渗透压,超微结构

开展美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)等广盐性鱼类^[1]的基础生物学研究,对于我国近海海洋鱼类的养殖开发和病害综合防治,具有极其重要的现实意义。目前,国内外关于美国红鱼的研究主要集中于养殖技术、生活习性等方面^[1],关于其生活于不同渗透压环境中的生物学基础研究的报道较少。研究并探讨广盐性鱼类特别是广温广盐溯河性鱼类的基础生物学特点及其在不同渗透压环境中器官和细胞的变化规律,对于充实基础生物学理论和海洋鱼类的近海养殖开发具有重要的理论价值。为此,作者对生活于不同渗透压环境中美国红鱼的细胞结构变化进行了研究,本文报道不同渗透压下美国红鱼外周血细胞超微结构变化的初步研究结果,以期对广盐性鱼类的生物学研究提供基础理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

材料采集于山东青岛即墨美国红鱼鱼苗厂,为

美国红鱼幼苗,共 200 尾,体长 1.5 cm,进行实验室海水养殖。其体长长至 7~9 cm 时,分为海水组和淡水驯化组继续养殖,其中淡水驯养组海水盐度以 5 为梯度,由海水过渡至淡水环境中(每一梯度间隔 3 d)并继续驯养 2 个月 后取材。海水取自青岛近海,盐度为 32。

1.2 方 法

采用断尾取血的方法,分别取海水组、淡水组美国红鱼外周血 5 ml,注入离心管中,以 4 000 r/min 离心 10 min,除去血清,加入 2.5%戊二醛固定 2 h,分别做扫描电镜和透射电镜样品。

1.2.1 扫描电镜样品制备 将固定好的海水组血样和淡水组血样各取 1 滴并滴于干净的 4 mm × 4 mm 盖玻片上,均匀涂开,经脱水, HCP-2 临界点干燥仪干燥, IB-3 离子溅射仪喷金,用 S250 MKIII 型扫描电

* 国家自然科学基金资助项目 39870580 号和山东省自然科学基金资助项目 Y97D07066 号。

收稿日期:2000-05-10;修回日期:2000-07-18

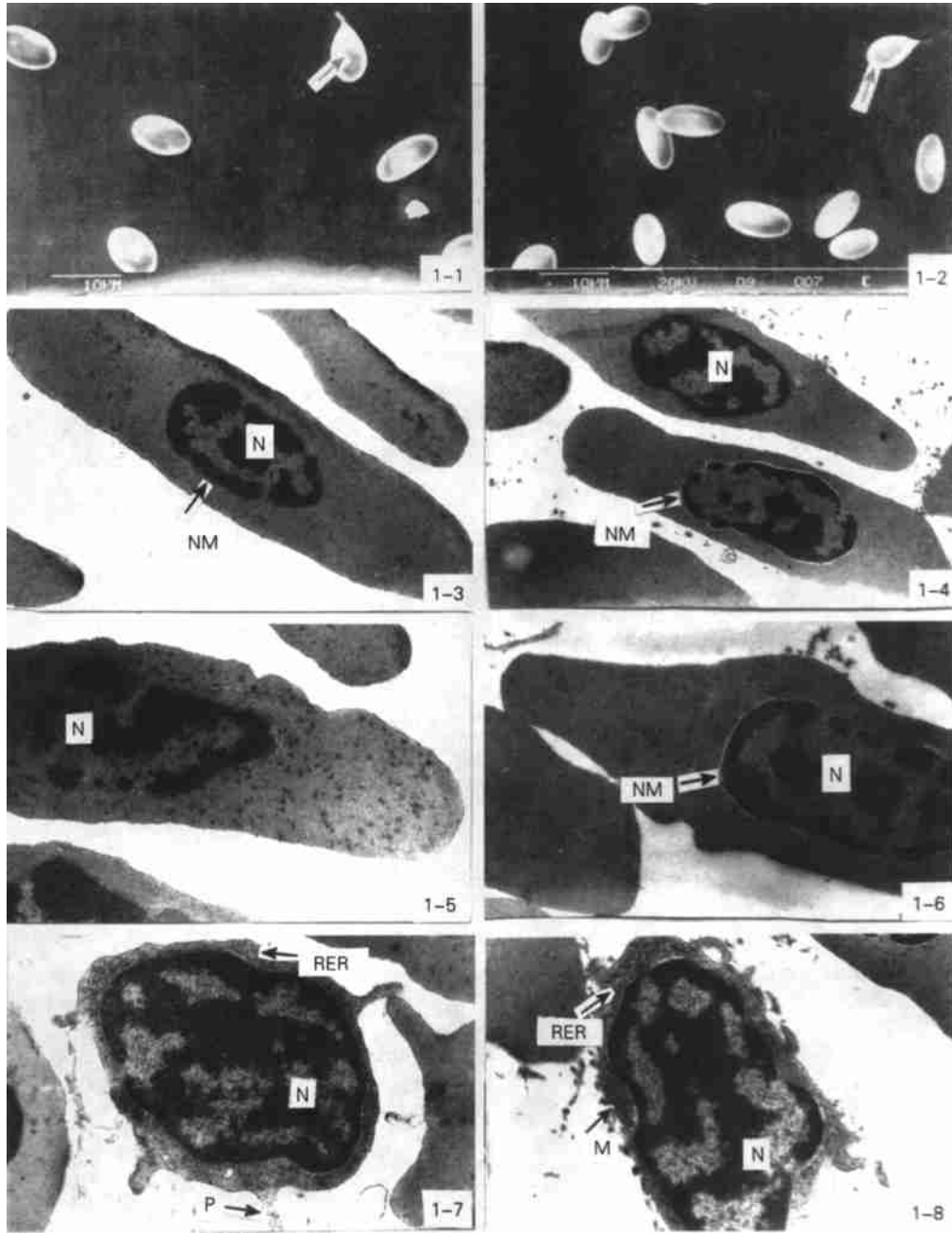
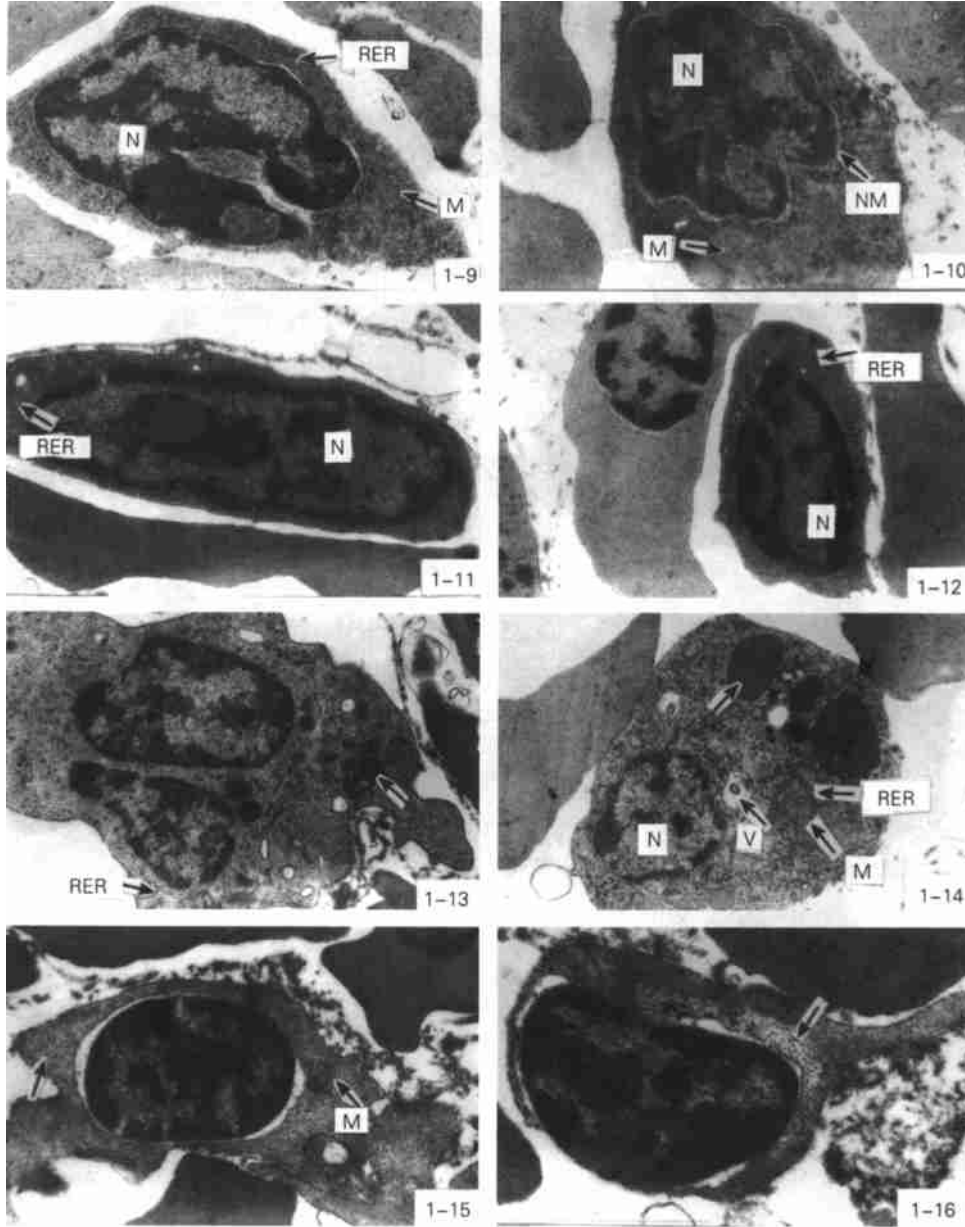


图1 美国红鱼外周血细胞超微结构

1-1 海水美国红鱼血液的扫描电镜照片, (→):血栓细胞; 1-2 淡水美国红鱼血液的扫描电镜照片, (→):血栓细胞; 1-3 海水组红细胞[×11 000]; 1-4 淡水红细胞[×8 400]; 1-5 海水组衰老的红细胞[×15 000]; 1-6 淡水组衰老的红细胞[×10 500]; 1-7 海水组淋巴细胞, P伪足[×13 200]; 1-8. 淡水组淋巴细胞[×11 000]

Fig.1 Ultrastructure of the blood cell of *Sciaenops ocellatus*

1-1 Electron micrograph of SEM of the blood cell of *S. ocellatus* in sea water (SW), (→): thrombocyte. 1-2 Electron micrograph of SEM of the blood cell of *S. ocellatus* in fresh water (FW), (→): thrombocyte. 1-3 The erythrocyte (SW) [×11 000]. 1-4 The erythrocyte (FW) [×8 400]. 1-5 The late stage of growth in development of the erythrocyte (SW) [×15 000]. 1-6 The stage of growth in development of the erythrocyte (FW) [×10 500]. 1-7 The lymphocyte (SW), P Pseudopodiums [×13 200]. 1-8 The lymphocyte (FW) [×11 000]



1-9 海水组单核细胞, RER 粗面内质网[× 11 000]; 1-10 淡水组单核细胞[× 13 200]; 1-11 海水组血栓细胞[× 11 000]; 1-12 淡水组血栓细胞, RER 粗面内质网[× 11 000]; 1-13 海水组 I 型粒细胞[× 9 000]; 1-14 淡水组 I 型粒细胞, V 液泡[× 12 000]; 1-15 海水组 II 型粒细胞及微细管(→), M 线粒体[× 12 000]; 1-16 淡水组 II 型粒细胞及微细管样结构[× 18 000]

1-9 The mitochondria(SW) [× 11 000]. 1-10 The mitochondria(FW) [× 13 200]. 1-11 The thrombocyte(SW) [× 11 000]. 1-12 The thrombocyte (FW), RER rough endoplasmic reticulum [× 11 000]. 1-13 I -type particle cell(SW) [× 9 000]. 1-14 I -type particle cell(FW), V vacuole [× 12 000]. 1-15 II - type particle cell(SW), (→): tubule, M Mitochondrium [× 12 000]. 1-16 II - type particle cell(FW) [× 18 000]

镜观察并摄影。

1.2.2 透射电镜样品制备 样品经 2.5%戊二醛固定 2 h,用 1%锇酸后固定 0.5 h,常规梯度乙醇脱水,Epom812 包埋,用 LKB 超薄切片机进行切片,常规电镜切片染色^[2],经日立 H7000 型透射电镜(TEM)进行观察并摄影。

2 观察结果与分析

2.1 驯养过程中美国红鱼的体征观察

实验用美国红鱼选用体质较强壮的个体,驯养前,海水组和淡水组美国红鱼体长均为约 6 cm。驯养过程中,两组在水体、水温及饵料投放量等条件均保持一致。驯养及实验取材前观察,两组美国红鱼均呈健康状态,体长测量发现,海水组体长(8.5~9 cm)略长于淡水组(7~7.5 cm),表明海水组的生长速度略高于淡水组。

2.2 美国红鱼外周血细胞的形态

海水组和淡水组红细胞基本均呈椭圆形,为血液中血细胞的主体。海水组,红细胞体积均匀(图 1-1);淡水组中,部分红细胞的体积略有膨大,细胞密度略有下降(图 1-2)。白细胞数量极少,扫描电镜下观察时很少发现,在观察到的白细胞中,血栓细胞特征最明显,呈泪滴状,且在尖端部有似鞭毛状突起(图 1-1,1-2 中箭头所示)。海水组与淡水组血细胞相比,细胞外形结构无显著的变化。

2.3 美国红鱼血细胞的超微结构

透射电镜对海水组和淡水组美国红鱼血液超薄切片样品的观察表明,由于美国红鱼生活于不同的水体环境中,水体渗透压的变化导致了海水组和淡水组血液的血细胞,包括红细胞、淋巴细胞、单核细胞、血栓细胞及粒细胞的超微结构呈现出不同程度的变化,具体结果描述如下:

2.3.1 红细胞 在海水环境中,红细胞呈长椭圆形(图 1-1),表面光滑,核较小且呈卵圆形,位于细胞的中央双层核膜结构均匀紧密,核孔清晰,异染色质在核内呈带状或片状分布。细胞质电子密度较高且为均质结构,未见线粒体、内质网等细胞器;在淡水环境中,有部分血细胞外形呈不规则状态(图 1-2)。细胞核略有增大,核膜有轻微水肿膨胀现象。另外,无论是海水组(图 1-5)还是淡水组(图 1-6)的血细胞样品中,均未观察到红细胞存在细胞分裂的现象,但观察到部分红血球胞浆中有大量高电子密度颗粒,而且淡水组中的此类细胞数量明显高于海水组,推测细胞中的高

电子密度颗粒是由胞浆内血红蛋白凝结而成的。是何原因造成红细胞出现此类结构变化还不太清楚,是否与血细胞衰老过程中细胞结构变化有关,尚须进一步研究。

2.3.2 淋巴细胞 海水环境中,淋巴细胞呈不规则圆形(图 1-7),表面伸出许多长短不一的伪足,核大,占细胞体积约 3/4,染色质呈中等电子密度;细胞质较少,其内部可见少量粗面内质网、游离核糖体和液泡;在淡水环境中,淋巴细胞外形略有伸长,细胞体积普遍呈轻微膨胀状态,伪足缩短,细胞核内染色质凝聚程度增加,电子密度略有增加,核膜有轻微肿胀;胞质中,可见少量线粒体和粗面内质网(图 1-8)。由此表明,随着渗透压的降低,淋巴细胞中的各种细胞器呈现一定程度的退化状态,细胞代谢有所下降,由此推测淋巴细胞的功能在渗透压变化过程中有所下降。

2.3.3 单核细胞 海水环境中,单核细胞胞体表面较为平整,细胞核较大,多数核的中央部分有一较深的凹陷,多数呈肾形,核膜结构清晰均匀;细胞质中,可见一定数量的粗面内质网和游离分布的核糖体颗粒,线粒体较少且不发达(图 1-9)。淡水环境中,细胞核略有收缩,核膜略有膨胀;胞质中,线粒体的数量明显增加且较为发达(图 1-10),表明在水体渗透压变化(降低)的过程中,单核细胞的细胞代谢功能有所加强,是血液中较为活跃的细胞,对于机体在渗透压变化过程中保持一定的免疫力,具有重要的意义。

2.3.4 血栓细胞 在血液中,血栓细胞是一种呈泪滴形或纺锤形的细胞(图 1-11,1-12)。海水环境中,血栓细胞外形较长,为长纺锤形,细胞膜表面大部分较为光滑;核体较大,呈长椭圆形,核膜均匀,核膜孔清晰,异染色质在核中主要沿核膜分布,呈中等电子密度;细胞质中,有少量粗面内质网、游离核糖体和液泡存在(图 1-11);淡水环境中,血栓细胞外形明显缩短,有胞突,细胞核的部分区域有内陷,核膜略有膨胀,异染色质沿核膜边缘聚集程度明显增高,电子密度较大,呈板块状分布;细胞质中,各种细胞器未见明显改变(图 1-12)。

2.3.5 粒细胞 美国红鱼外周血中的粒细胞可分为 I 型粒细胞和 II 型粒细胞。海水环境中, I 型粒细胞形状不规则,胞体较大,具有胞突,细胞核的形状呈现多样性,异染色质电子密度较高,有一定的趋边性,核膜分布均匀;细胞质中,可见大量电子密度较高的圆形颗粒,颗粒较小,内质网较少,可见少量的核

糖体散在分布于胞浆中,线粒体很少,有较多的小空泡(图 1-13)。II 型粒细胞亦呈不规则形态,胞体延伸较长,具胞突,核较小,多呈近似的卵圆形,核内染色质电子密度较高;胞质中,可见少量的线粒体,部分区域分布有微细小管样结构(图 1-15)。淡水环境中,I 型粒细胞的细胞核略有缩小,核膜略有膨胀;胞质内,粗面内质网大量增多,颗粒数量有所减少,个体明显增大,但颗粒的电子密度有一定程度降低,空泡减少但体积增大,其内部可见少量内涵物,线粒体较为发达(图 1-14);II 型粒细胞核体略有膨大,形状形似肾形,细胞质中可见微细小管样结构有所增多,其他未见明显变化(图 1-16)。

3 讨论

3.1 美国红鱼系鲈形目石首鱼科鱼类中少数广温广盐溯河性鱼类之一,研究其血液在生活于不同渗透压环境中的结构变化,对于研究海水生型广盐性鱼类血液在渗透压变化过程中形态的变化规律以及对器官功能和生理的影响具有重要的意义。美国红鱼外周血的血细胞类型主要包括红细胞、淋巴细胞、单核细胞、血栓细胞和粒细胞 5 种类型,其中红细胞占血液中血细胞数量的绝大多数,其他 4 种血细胞数量极少。由海水过渡到淡水过程中,即水体渗透压逐渐降低的过程中,上述血细胞的外部形态和细胞超微结构均发生程度不同的变化,主要表现为在淡水环境中各类血细胞不同程度膨胀、变形,细胞核、线粒体及内质网等细胞器均出现不同程度的结构改变,由此导致血细胞的载氧、代谢及免疫等功能出现不同程度的变化,进而可能影响鱼体的生长率,与我们实验过程的观察结果一致,同时与毛兴华等^[1]关于美国红鱼试养的初步研究的结果是一致的。作者认为,由海水环境向淡水环境过渡过程中,美国红鱼血细胞超微结构一定程度的变化,主要是广盐性鱼类在水体的渗透压改变过程中所导致的适应性变化。

3.2 红细胞膜具有选择性的通透性,当我们对美国红鱼进行淡水驯养时,红细胞所处的环境是由高渗环境向低渗水体环境过渡的动态过程,在这一过程

中,水分渗入红细胞膜引起其胞体膨胀,细胞结构表现出胞体形态变形,细胞核及部分细胞器膨胀,细胞浆电子密度轻微降低等特征,而细胞的上述结构变化将导致红细胞及胞内细胞器的功能出现一定程度的下降和衰退,同时,将进一步缩短红细胞的生活周期,这一点与我们的观察结果基本一致。另外,观察发现海水组和淡水组的部分红血球胞浆中有大量高电子密度颗粒,而且淡水组中的此类细胞数量明显高于海水组。作者认为,这与红细胞的生活周期有关,初步确定这些红细胞为处于衰老期的红细胞;淡水组中的此类红细胞数量明显高于海水组,进一步表明由高渗环境向低渗水体环境过渡过程中红细胞存在细胞功能下降和生活周期缩短的现象。根据观察结果,我们推测细胞中的高电子密度颗粒是由胞浆内血红蛋白凝缩而成的,是何原因造成红细胞出现此类结构变化还不太清楚,尚须进一步研究。

3.3 美国红鱼外周血液中除了占绝大多数的红细胞外,各种白血球数量极少,就其细胞机能来说,具有机体免疫和吞噬能力,而各种白细胞的具体功能目前还不十分清楚。我们观察发现,当美国红鱼由海水环境进入淡水环境时,血液中的单核细胞、淋巴细胞、粒细胞均发生一定程度的结构变化,表现为单核细胞线粒体发达且数量增多,粒细胞线粒体和内质网发达,而淋巴细胞及其伪足结构普遍有所萎缩。上述结果表明,渗透压变化过程中,美国红鱼血液中单核细胞、粒细胞的细胞代谢和功能有所增强,淋巴细胞的细胞功能和代谢水平有所下降,但美国红鱼的机体免疫力普遍有所下降,因此加强水质和饵料管理,在广盐性鱼类驯化养殖和养殖开发过程中是极其重要的。关于这一点,应引起足够的重视并进行进一步研究和探讨。

参考文献

- 1 毛兴华等。黄渤海海洋,1997,15(1):30~34
- 2 洪涛主编。生物医学超微结构与电子显微技术。北京:科学出版社,1980,111~155
- 3 姜明等。青岛海洋大学学报,1998,28(4):603~608

PRELIMINARY STUDY ON THE CHANGES OF ULTRA-STRUCTURE OF THE BLOOD CELL OF *Sciaenops ocellatus* UNDER DIFFERENT OSMOTIC PRESSURE

FAN Rui-qing¹ JIANG Ming¹ RU Shaoguo² XIE Jia-lin³ GAO Lan¹ WEI Xuan-hui²

(¹ Test Centre, ² College of Marine Life Science, Ocean University of Qingdao 266003)

(³ Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences Qingdao 266071)

Received: May 10, 2000

Key Words: *Sciaenops ocellatus*, Blood cell, Osmotic, Ultrastructure

Abstract

The changes of ultrastructure of the peripheral blood cell of *Sciaenops ocellatus* under different osmotic pressure are studied using electron microscope in this paper. In sea water, the shape of erythrocyte is long elliptic and nucleus is small. There are no organs in cytoplasm. The shape of lymphocyte is irregular discular, and nucleus is very big. It has pseudopodiums. There are few mitochondrias in cytoplasm of the monocyte. The shape of most thrombocytes looks like a teardrop or a spindle. Particle cell has two types. There are some high electron dense particles in the cytoplasm of type I. There are many tubules in the cytoplasm of type II. In fresh water, the membrane of all cells nucleus expands little or more. The nucleus of erythrocyte expands a little. The pseudopodiums of lymphocyte becomes small and there are mitochondrias in cytoplasm. There are many big mitochondrias in cytoplasm of the monocyte. There is a hollow in nucleus of the thrombocyte. The particle of type I cells is big, but its number decreases and electron-dense becomes lower. Mitochondrias and RER are many and big. And there are some things swallowing in vacuole. The structure of type II particle cells changes little.

(本文编辑:刘珊珊)