

## 中华绒螯蟹血淋巴细胞的超微结构

朱宁宁, 王文, 顾志峰, 李正荣  
(南京师范大学生命科学学院, 江苏南京 210097)

**摘要:**改进常规血液细胞电镜制样技术,直接取中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)血淋巴液固定、脱水、包埋、电镜观察。结果显示,中华绒螯蟹血淋巴具有3类细胞,即无颗粒细胞、小颗粒细胞和人颗粒细胞。其中,无颗粒细胞的核质比最大,异染色质高度浓缩、边缘化,几乎没有常染色质,胞质内线粒体数目相对较多,与高等动物的中幼红细胞结构很相似,该细胞数目在中华绒螯蟹血淋巴中最多,可能担负着血液的能量转换功能;小颗粒细胞核内常染色质较多,内质网、高尔基体发达,胞质中存在0.2~0.4 μm的电子致密颗粒,而且胞质中有许多大小不一的空泡,细胞表面有许多突起似伪足,类似高等动物的单核细胞,可能具有吞噬和消化异物的功能;大颗粒细胞胞质中的颗粒较大,直径1.4~2.0 μm,胞质中具空泡,细胞表面也常见伪足突起,类似高等动物的嗜酸性粒细胞。

**关键词:**中华绒螯蟹;血淋巴;超微结构

**中图分类号:**Q959.223

**文献标识码:**A

**文章编号:**1005-8737(2002)02-0114-03

血淋巴细胞的种类、数量与动物生理状态和免疫功能密切相关,了解血淋巴细胞的结构和功能,在理论及实践中都具有重要意义<sup>[1]</sup>。目前,在该领域内,国外研究的对象主要集中于海产种类<sup>[2,3]</sup>;国内有关虾类血淋巴细胞的结构与功能也有一些报道<sup>[4,5]</sup>,而关于中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)血淋巴细胞的超微结构仅成永旭等<sup>[6]</sup>进行了报道,但只观察到粒性细胞。本文作者在研究的中华绒螯蟹中发现3种类型血淋巴细胞,并对其超微结构特点和功能进行研究和探讨,旨在了解这3类细胞在河蟹机体中的作用和功能。

### 1 材料和方法

中华绒螯蟹103只,分别取自江苏苏州东山、淮阴、常州、宜兴等地河蟹养殖场,体重30~100 g。用75%酒精体表消毒后,从基部截断第4对步足,使血淋巴自动滴于干净的载玻片上,待血淋巴凝固后放入4%戊二醛中固定12 h,用0.3 mol/L磷酸缓

冲液(pH 7.3)清洗3次,将凝聚的血块切成0.5~1.0 mm<sup>3</sup>小块,用1%锇酸固定2 h,再用磷酸缓冲液清洗3次,丙酮梯度脱水,Epon812环氧树脂包埋,Reichert-Jung超薄切片机超薄切片,厚度50~80 nm,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,日立H-600透射电镜观察并照像。

### 2 结果

根据透射电镜观察结果,中华绒螯蟹血淋巴细胞可分为3类(图版I-1)。

#### 2.1 无颗粒细胞

见图版I-2。细胞呈球形,数目最多,直径5.6~7.2 μm,胞质中无颗粒,核质比(N/C)最大,约3/5,核呈球形,居中,几乎占满整个细胞,核内几乎无常染色质分布,异染色质高度浓缩且边缘化,分布于核膜内侧,核周腔扩大;胞质很少,只有薄薄一层,但线粒体相对较多,其余细胞器较少,有核糖体和少量内质网。

#### 2.2 小颗粒细胞

见图版I-3。细胞呈不规则卵圆形,短径5.2~7.0 μm,长径8.0~10.2 μm,外周常伸出伪足,胞质中含有圆形或卵圆形的电子致密颗粒,短径0.1~0.2 μm,长径0.3~0.4 μm。有的细胞中颗粒少

收稿日期:2001-07-16。

基金项目:江苏省水产三项工程项目(Z200101)。

作者简介:朱宁宁(1976-),男,硕士研究生,从事水生生物细胞学研究。

通讯作者:王文.E-mail:wenwang@njnu.edu.cn

而分散,有的细胞中颗粒多且分布均匀。其核质比(N/C)介于无颗粒细胞和大颗粒细胞之间,约1/6,核卵圆形或肾形,常位于细胞一侧。核内常染色质较多,异染色质分布均匀,胞质中有许多大小不一的空泡,内质网、高尔基体发达。

### 2.3 大颗粒细胞

细胞呈卵圆形,短径6.2~8.4 μm,长径9.2~12.4 μm,在3类细胞中体积最大,边缘不规则,也常见伪足。胞质中有较大的圆形电子致密颗粒,直径1.4~2.0 μm,远远大于小颗粒细胞中的颗粒,数目因不同细胞而异。其核质比(N/C)最小,约1/10,核肾形,偏向细胞一侧,胞质中细胞器较少,有较大的空泡(图版I-4)。

## 3 讨论与分析

### 3.1 血淋巴细胞电镜制样技术的改进和效果

在有关中华绒螯蟹血淋巴细胞超微结构的报道<sup>[6]</sup>中,没有发现非粒性细胞,可能是由于粒性细胞和非粒性细胞的比重不同,在离心过程中被分开。本实验未进行离心处理,直接取血淋巴液固定、脱水、包埋,所以不会因离心提取而丢失血细胞成分,因而发现无颗粒细胞的数目较多(图版I-2)。

常规制做电镜观察的血细胞样品需离心处理,并用琼脂预包埋,目的是为了收集血细胞并将其凝聚在一起。而中华绒螯蟹血淋巴极易凝固,不需再用琼脂将其凝聚在一起。本实验利用这一特点,不进行预包埋,也不用离心处理,而是直接双固定,避免了制样过程中对血细胞的人为破坏和遗失。用此方法在3年时间里分别对11批样品进行了处理,其结果显示一致,表明该方法具有可靠的重复性,是蟹类血细胞电镜制样的有效方法。

用改进方法制出的样品,虽然细胞密度不高,但能较真实地再现各类血细胞的分布情况。本电镜观察的结果中,血细胞的种类及各类细胞的数量基本与我们血涂片的光镜观察结果以及在组织中(如鳃、心肌、结缔组织等)的电镜观察结果相同。

### 3.2 中华绒螯蟹血淋巴细胞的分类和功能

目前,对甲壳动物血淋巴细胞分类与命名的一般依据是血细胞胞质中颗粒的有无,颗粒的多少以及颗粒的大小<sup>[4]</sup>。其命名大致分为:无颗粒细胞/透明细胞、小颗粒细胞/半颗粒细胞、大颗粒细胞/颗粒细胞<sup>[5]</sup>。依照于建平<sup>[7]</sup>对血细胞的分类,本文将中华绒螯蟹血淋巴细胞分为3类,即无颗粒细胞、

小颗粒细胞和大颗粒细胞(图版I-1)。

根据无颗粒细胞的形态特征分析,它的细胞核内基因复制、转录及转录初产物的加工等功能很微弱,这与高等动物的中幼红细胞结构很相似。而该细胞胞质内线粒体数目相对较多,推断其可能承担一种耗能较多的生理机能,如物质转运、代谢等。此外,该细胞数目在中华绒螯蟹血淋巴中最多,它们可能担负着血液的能量转换功能。

小颗粒细胞表面有许多伪足样突起,可能具有运动和吞噬能力。该细胞核内常染色质较多,内质网、高尔基体发达,表明细胞合成代谢活跃(图版I-3)。胞质中存在电子致密颗粒,而且有许多大小不一的空泡,分布于胞质周边。上述特征均类似高等动物的单核细胞<sup>[8,9]</sup>,因而其内部颗粒可能具有初级溶酶体的功能,可吞噬和消化异物,在机体免疫中起重要作用。

大颗粒细胞也有伪足样突起,可能也具有运动或吞噬能力。其结构特征与高等动物血液中的嗜酸性粒细胞很相近,可能也具有吞噬、杀菌能力。对于小颗粒细胞和大颗粒细胞胞质中出现的空泡,Cohen<sup>[10]</sup>认为它是胞吐作用后留下的胞斑(Exocytotic domain)。

总之,中华绒螯蟹血淋巴的3种细胞具有各自特有的功能,分别担负着异物吞噬消化、自身衰老细胞器的更替等功能,在机体能量转换、自身防御及自身代谢中起着重要作用。小颗粒细胞与高等动物的单核细胞很相似,其内部颗粒可能具有初级溶酶体的功能,因而成为具有吞噬能力的细胞,能在机体免疫中起重要作用。

### 参考文献:

- [1] 堵南山. 甲壳动物学(上册)[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 32-34.
- [2] Johnston M A, Davies P S. Cytology of carcinus hemocytes and their ruction incarcobhydrate metabolism[J]. Comp Biochem Physiol, 1973, 46A: 569-581.
- [3] Vaca L L, Fingerman M. The less of hemocytes in tanning during the molting cycle: A histochemical study of the fiddler crab, *Uca pugilator*[J]. Bid Bull, 1983, 165: 758-777.
- [4] 李光友, 王青. 中国对虾血细胞及其免疫研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(6): 591-597.
- [5] 蔡雪峰, 罗琳. 日本沼虾血细胞的初步研究[J]. 水生生物学报, 2000, 24(3): 289-292.
- [6] 成永旭, 堵南山. 河蟹血淋巴细胞的超微结构观察[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1998, (3): 110-112.

- [7] 于建平. 日本对虾血细胞分类、密度及组成[J]. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(1): 107-114.
- [8] 钟慈声. 细胞和组织的超微结构[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984. 86-95.
- [9] 陈文杰. 血液分子细胞生物学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993. 30-41.
- [10] Cohen W D, Nemhauser I, Cohen M F. Marginal bands of lobster blood cells disappearance associated with changes in cell morphology[J]. Biol Bull, 1983, 164: 50-61.

## Ultrastructural study on hemocyte of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*

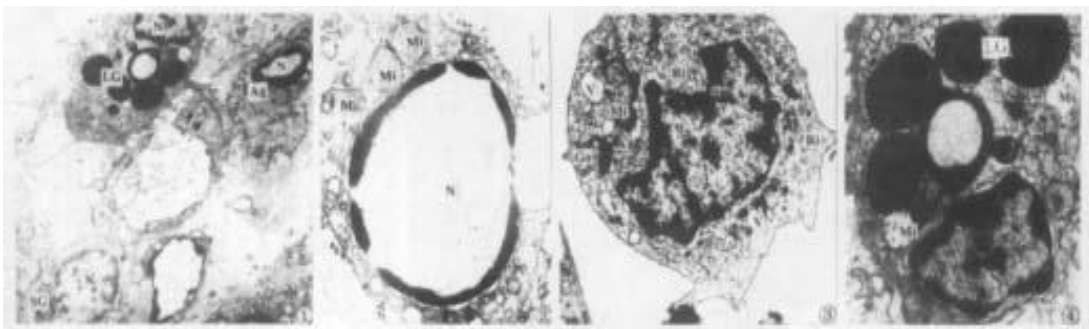
ZHU Ning-ning, WANG Wen, GU Zhi-feng, LI Zheng-rong

(College of Biological Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** The samples of *Eriocheir sinensis* were collected from the farms in Jiangsu Province. Directly using the hemocyte of the crab to fix, dehydrate and embed, the ultra-thin section was observed under electron microscope (Hitachi H-600). The results show that the hemocyte includes three types of cells, i. e. agranular hemocyte, small granular hemocyte and large granular hemocyte. The agranular hemocyte has the highest ratio of nucleus to cytoplasm (N/C) and the nucleus has no euchromatin but has heterochromatin condensing around the nuclear membrane, just like the rubricyte. There is a large number of mitochondria in the agranular hemocyte, which play the role of energy transform. There are a lot of euchromatin in the small granular hemocyte where the mitochondria and Golgi apparatus develop well and in the cytoplasm there exist electron-dense granules of 0.2-0.4  $\mu\text{m}$  in diameter and some vacuoles, and on the membrane of the cell often form the prominences and pseudopodiums. This type of cell has the similar characters to the monocyte, performing the function of phagocytosis. The large granular hemocyte has larger granules with diameter of 1.4-2.0  $\mu\text{m}$  and with vacuoles in the cytoplasm and pseudopodiums on the cell surface.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; hemocyte; ultrastructure

**Corresponding author:** WANG Wen



图版 I Plate I

1. 中华绒螯蟹血淋巴细胞, 示3种血细胞: 无颗粒细胞(Ag)、小颗粒细胞(Sg)和大颗粒细胞(LG),  $\times 2\ 720$ 。Three kinds of hemocytes of *Eriocheir sinensis*: agranular hemocyte (Ag), small granular hemocyte (Sg) and large granular hemocyte (LG),  $\times 2\ 720$ .
2. 无颗粒细胞, 示无常染色质的细胞核(N)、线粒体(Mi),  $\times 6\ 800$ 。Agranular hemocyte, showing nucleus (N) without euchromatin, mitochondria (Mi),  $\times 6\ 800$ .
3. 小颗粒细胞, 示细胞核(N)、高尔基体(Go)、线粒体(Mi)、核糖体(Ri)、空泡(V)及小颗粒( $\uparrow$ ),  $\times 5\ 440$ 。Small granular hemocyte, showing nucleus (N), Golgi apparatus (Go), mitochondria (Mi), ribosomes (Ri), vacuoles (V) and small granules ( $\uparrow$ ),  $\times 5\ 440$ .
4. 大颗粒细胞, 示细胞核(N)、线粒体(Mi)、空泡(V)及大颗粒(LG),  $\times 6\ 800$ 。Large granular hemocyte, showing nucleus (N), mitochondria (Mi), vacuoles (V) and large granules (LG),  $\times 6\ 800$ .