第42卷第2期 2018年3月

doi: 10.7541/2018.041

中华鲟外周血细胞组成及形态观察

张艳珍^{1,2} 王彦鹏² 危起伟¹ 杜 浩¹ 刘志刚¹ 胡维勇² 张晓雁² (1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223; 2. 北京信沃达海洋科技有限公司(北京海洋馆), 北京 100081)

摘要:利用光镜和透射电镜技术对北京海洋馆养殖的40尾中华鲟(*Acipenser sinensis*)(介于4—30龄以上,包括 野生、子一代和子二代共7个龄组)外周血细胞组成、大小、显微和超微结构进行研究。结果表明,在外周血 细胞中可区分出以下六类细胞。形态结果:红细胞卵圆形,胞质内可见少量线粒体;淋巴细胞多圆形,有明显 伪足样或指状胞凸,核质比大,可明显分为大淋巴和小淋巴;嗜中性粒细胞核型多样,胞质细胞器丰富,含有大 小不等的特殊颗粒;嗜酸性粒细胞多为规则圆形,表面大量细小指状突起,胞质细胞器丰富,含有大量个体较 大的嗜酸性颗粒;单核细胞变形现象多,胞质内大量空泡,核型多样;血栓细胞形状多样,胞质内大量小的空 泡,散布或成团出现,常见直接分裂现象。各类血细胞从大到小依次为:单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒 细胞、大淋巴细胞、红细胞、血栓细胞和小淋巴细胞,各龄组间无显著差异。外周血红细胞总数(RBC)平均 为(5.56±1.19)×10⁸/mL,18龄和11龄与其他龄组之间存在显著性差异(*P*<0.05);白细胞总数(WBC)平均为 (16.53±4.94)×10⁶/mL,18龄与4龄间存在显著差异,且分别与其他龄组间存在显著性差异(*P*<0.05);血栓细胞总 数(15.53±15.82)×10⁶/mL。白细胞分类计数(DLC)中大淋巴细胞、小淋巴细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细 胞和单核细胞所占百分比分别为:(5.26±3.95)%、(77.74±11.73)%、(9.40±7.98)%、(1.90±2.06)%、 (5.50±4.00)%,>30龄和4龄间显著差异,且分别与其他龄组间存在显著性差异(*P*<0.05)。结论认为中华鲟血细 胞进化地位低,免疫系统为淋巴细胞系为主,主要包括淋巴细胞、粒细胞和单核细胞,结果对中华鲟的健康评 价与保育研究有重要的参考意义。

关键词: 中华鲟; 血细胞; 显微结构; 超微结构 中图分类号: Q172 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2018)02-0323-10

血细胞在动物的生命活动中起着重要作用,是 动物体对自身生理状态变化和对外界环境因子刺 激非常敏感的细胞,是机体免疫的重要成分,具有 吞噬、分泌等多种功能,参与机体的伤口修复和防 御等生理机制。鱼类的血细胞的功能与维持体内 各种生理环境的稳定性有密切关系,形态与数量变 化是鱼类健康判断、疾病诊断与预防的重要依据, 己有多种鱼类进行相关研究^[1,2]。鲟鱼相关研究也 较多,包括大西洋鲟(Acipenser oxyrinchus)、短吻 鲟(Acipenser brevirostrum)、欧洲鳇(Huso huso)、 纳氏鲟(Acipenser naccarii)、高首鲟(Acipenser transmontanus)、史氏鲟(Acipenser schrenckii)等^[3-8]。 中华鲟(Acipenser sinensis)作为国家一级保护动物、 目前处于极危状态^[9],但对于中华鲟血细胞形态研 究仅见1龄幼鱼报道^[10]。北京海洋馆作为中华鲟重 要的迁地保护和保育科教基地之一,育有多尾野生 中华鲟和各龄子一代及子二代中华鲟,养殖中采用 单尾护理的方式^[11-12],利于对个体研究与评价。本 次通过对从幼体到成体多个年龄中华鲟血细胞进 行形态观察,了解中华鲟血细胞的组成与功能,旨 在为中华鲟的健康保育研究提供基础依据,同时为 动物血细胞研究相关领域丰富基础资料。

1 材料与方法

1.1 研究对象

40尾中华鲟来自中国水产科学研究院长江水

收稿日期: 2017-02-14;修订日期: 2017-05-16

基金项目: 国家重点基础研究发展计划("973"计划) (2015CB150702)资助 [Supported by the National Program on Key Basic Research Project (973 Program, 2015CB150702]

作者简介:张艳珍(1985—),女,内蒙古包头人;硕士,助理研究员;研究方向为濒危物种保护生理生态学。E-mail: zhyanzh1985@163.com 通信作者:危起伟, E-mail: weiqw@yfi.ac.cn

产研究所中华鲟养殖基地,在北京海洋馆长期驯养, 包括野生中华鲟2个年龄组,人工繁殖子一代中华 鲟4组,子二代1组,信息如表1所示。

1.2 养殖条件

养殖池体规格29.0 m (长)×11.0 m (宽) ×4.4 m (高), 配置20.0 m ×3.0 m的展示观察窗, 两侧设置从 展窗面向对面池壁的水平水流,与展窗呈近45°角 向池体后方水流。养殖水温21.0—22.5 ℃, 溶氧 7.0—7.8 mg/L, pH 7.5—8.0, 浊度< 0.07 NTU。池体 上方设置7盏1000 W金属卤素灯照明,光周期设定 为10h:14h(光:暗).从池体底部到水体表面的白天 照度多介于50-4000 lx, 夜间为全黑。养殖密度小 于2.4 kg/m³。饵料种类包括生鲜饵料和特制混合 饵料,投喂率约1%,每周3次,采用水下单独投喂方 式。

1.3 光镜和电镜样本制备

血液采集:实验中华鲟停食3d后进行血液采 集、尾静脉采血注入肝素锂抗凝管中备用,采血后 立即血涂片,每个样本制备5个血涂片,检测在采血 后2h内开始。

光镜样本:新鲜血液制备涂片,自然干燥,采用 Wright-Giemsa法进行染色, 自来水冲洗自然干燥后 在Olympus CX41油镜下观察。

电镜样本:血液经10000 r/min低温离心 10min后, 使用一次性毛细针筒吸取白细胞层和少 量红细胞,采用2.5%戊二醛固定后,常规透射电镜 生物样品制备方法制备电镜样品,在FEI TECNAI G²20型透射电镜及成像系统下观察并采集图片。

1.4 数据统计

华鲟

F1-2005 (11-year)

W-2009 (7-year)

F2-2012 (4-year)

细胞测量方法:圆形、椭圆或较规则细胞直接 测量最长和最短直径;不规则细胞测量最长径和与

1 ab. 1 miormation of the animat				
组别	样本(尾)	全长Total	体质量Body	
Group	Number	length (cm)	weight (kg)	
W-N (>30-year)	4	335.1 ± 8.2	220.1±15.3	
F1-1998 (18-year)	10	270.0±13.7	134.5±25.2	
F1-2000 (16-year)	4	244.8±21.6	88.0±24.2	
F1-2001 (15-year)	6	249.4±19.5	102.8±26.8	

240.0±15.4

197.9±8.3

183.5±10.1

注: 组别中A-B表示来源-繁殖年份, 其中W表示野生中华

Note: "A-B"in groups row means "Source-breeding year",

鲟, F1表示人工繁殖子一代中华鲟, F2表示人工繁殖子二代中

letter W means the wild samples, F1 means the first filial generation samples, F2 means the second filial generation samples

3

9

4

90.0±25.3

40.9±3.7

30.3±5.1

表1 中华鲟样本信息

Tab. 1 Information of the animal

其垂直方向的直径分别作为长短径;

细胞核测量方法:圆形、近圆形、肾形、杆状 或较规则核型直接测量最长和最短直径;分叶核型 细胞的长短径分别测量各叶的长径和短径。

使用LQ530显微数码成像装置及图像处理系 统采集图片,进行各类细胞及细胞核长短径测定, 单位 um。其中红细胞每个样本测量20个细胞,其 他类型细胞每个样本测量5—10个细胞,结果取各 类型所有细胞的平均值,以(平均值±标准差)表示。 采用SPSS分析软件对数据进行分析处理。

2 结果

2.1 血细胞组成与大小

中华鲟外周血可见细胞中最多的是红细胞 (Erythrocyte), 红细胞平均密度为(5.56±1.19)× 10⁸/mL, 白细胞(Leukocyte)和血栓细胞(Thrombocvte)占少数,平均密度分别为(16.53 ± 4.94)×10°/mL 和(15.53 ± 15.82)×10⁶/mL, 血栓细胞数量波动大。 其中白细胞中数量最多的是淋巴细胞(Lymphocyte) 约占83%, 大淋巴和小淋巴各自比例详见表 2, 其次 是嗜中性粒细胞(Neutrophil)、单核细胞(Monocyte), 最少的是嗜酸性粒细胞(Eosinophil),各自比例详见 表 2。未见到嗜碱性粒细胞(Basophil)。

对不同年龄中华鲟的血细胞密度及组成进行 比较(表 2), 结果显示: RBC值为18龄和11龄较低, 与其他龄组之间存在显著性差异(P<0.05),>30龄 (W-N)组略高于其他组,差异不显著;WBC值为 18龄、4龄分别与其他龄组间存在显著性差异 (P<0.05), DLC结果中NEU和LYM比例显示18龄、 4龄分别与其他龄组间存在显著性差异(P<0.05),子 一代各龄之间有差异不显著,另2类白细胞之间年 龄间变化大。

细胞的测量结果均值详见表 3。在本次试验中 单核细胞和嗜中性粒细胞个体最大,细胞大小范围 分别为(14.95—21.93) µm×(8.89—18.79) µm和 (9.45-22.69) µm × (9.18-17.85) µm; 其次是嗜酸 性粒细胞和大淋巴细胞,细胞大小范围分别为(14.20— 17.09) µm ×(13.42—16.39) µm和(12.95—24.39) µm× (6.30—18.19) µm, 酸性粒细胞的直径差异极小; 依 次为红细胞(13.00—18.54) µm ×(7.94—13.25) µm, 血栓细胞和小淋巴细胞最小,细胞大小范围分别为 (9.71—15.62) µm ×(4.54—11.61) µm和(7.51— 12.84) µm ×(5.91—10.89) µm。各类血细胞结构和 大小在不同年龄组间无显著差异,仅个别鱼体略有 区别。

rab. 2 The blood centypes of unified ages						
龄组Group	RBC (×10 ⁸ /mL)	WBC (×10 ⁶ /mL)	NEU %	LYM %	EOS %	MON %
>30-year	6.83±1.41 ^a	10.42 ± 3.93^{a}	$18.02{\pm}11.48^{a}$	70.73 ± 10.53^{a}	1.10±0.61 ^a	9.58±9.21 ^a
18-year	4.55±0.95 ^b	18.22±4.75 ^b	$7.10{\pm}4.49^{\circ}$	$82.48 \pm 9.42^{\circ}$	2.23±2.13 ^a	4.68 ± 5.68^{b}
16-year	5.61 ± 0.90^{a}	16.22 ± 1.94^{a}	9.25±3.80 ^c	88.53±4.05°	$0.68{\pm}0.54^{a}$	1.55±1.27 ^c
15-year	6.00±1.21 ^a	13.99±2.97 ^a	12.75±13.69°	76.50±18.09°	3.63±2.23 ^a	7.13±4.03 ^b
11-year	4.02±1.14 ^b	10.31±3.79 ^a	7.50±3.88 ^c	87.00±7.02c ^b	1.00 ± 1.06^{a}	4.50±4.56 ^b
7-year	6.10±1.18 ^a	12.75±7.03 ^a	8.40±8.28 ^c	$80.30 \pm 14.10^{\circ}$	3.70±3.56 ^a	7.60 ± 4.75^{b}
4-year	5.78±1.28 ^a	33.81±10.17 ^c	1.75 ± 0.96^{b}	94.75±1.71 ^b	1.75 ± 0.96^{a}	$2.00\pm2.00^{\circ}$

表 2 不同年龄血细胞组成比较 Tab 2 The blood cell types of different ages

注:同列数据后字母不同表示有显著性差异(P<0.05)

Note: Different letters in the same column means significant difference between the treatments (P<0.05)

Tab. 5 The blood centypes and the sizes of different cens					
细胞类型 白细胞分类 Cell types 计数DLC (%)	白细胞分类	细胞Cell (µm)		细胞核Nuclei (µm)	
	长径Long diameter	短径Short diameter	长径Long diameter	短径Short diameter	
Ery.	—	15.76±0.97	10.63±0.94	6.27±0.64	4.78±0.38
LLym.	5.26±3.95	16.23±2.80	13.85±2.48	12.81±1.23	9.72±2.27
SLym.	77.74±11.73	9.75±1.23	8.71±1.27	8.55±1.06	6.98±1.20
Neu.	9.40±7.98	17.79±3.04	14.05±2.45	8.53±2.67	5.10±1.50
Eos.	1.90 ± 2.06	15.44±0.71	14.51±0.79	6.85±2.33	3.91±0.94
Mon.	5.50±4.00	18.74±2.14	13.05±2.42	8.97±2.76	5.61±1.38
Thr.	—	12.00±1.64	7.18±2.02	8.78±1.33	5.07±0.78

表 3 血细胞组成及细胞大小

Tab. 3 The blood cell types and the sizes of different cells

注: LLym.大淋巴细胞; SLym. 小淋巴细胞; DLC. 白细胞分类计数

Note: LLym. large lymphocyte; SLym. small lymphocyte; DLC. different leucocytes counts

2.2 光镜观察结果

通过光学显微镜观察发现,中华鲟外周血涂片 中红细胞的数量最多,白细胞和血栓细胞数量较少, 单个或少数几个聚集分散在红细胞之间。白细胞 包括淋巴细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和 单核细胞。

红细胞 红细胞呈椭圆或卵圆形,表面光滑, 细胞核形状与细胞形状相似,位于细胞中央,少数 略偏位,细胞核内染色质多质密,被染色为深紫蓝 色,无核仁。细胞质丰富,细胞质被染色为灰蓝色 (图版 I-1—17)。部分血涂片染色过程中环境偏碱 性,细胞呈灰蓝色。另偶可见圆形原红细胞。

淋巴细胞 淋巴细胞呈圆形、椭圆形或不 规则形,大小不等,可分为大淋巴和小淋巴细胞(图 版 I-1—4),细胞核质比大,是白细胞中数量最多的 类型。细胞核多为圆形或肾形,染色质致密呈块状, 无核仁,着色深紫红色。细胞质较少,染色为蓝色, 多数有明显的伪足突起,有的呈一薄层包裹细胞核, 有的经胞吞呈空泡状似浆细胞(Plasma cell)(图版 I-3),有的胞质几乎不可见,细胞近似裸核。其中 大淋巴细胞少数,胞核颜色较小淋巴略浅。外周血 中偶可见正在分裂的淋巴细胞(图版 I-4)。未见到 原淋巴细胞和幼淋巴细胞。

嗜中性粒细胞 嗜中性粒细胞呈圆形、卵 圆形或不规则形等,细胞较大,核质比低于淋巴细 胞和单核细胞(图版 I-5—7)。细胞核为弯曲呈肾 形、杆状(图版 I-5)、带状或分叶型(图版 I-6、7), 杆状和分叶核型数量多,分叶核一般2—5叶,核常 偏于细胞一侧,细胞核内染色质较质密,被染色为 紫红色或蓝紫色,无核仁。细胞质丰富,被染色较 浅,呈淡粉红色,少数无色,布满少量细小、淡紫色 或红色小颗粒,大小不均匀。未见到原粒细胞、早 幼和中幼粒细胞。

嗜酸性粒细胞 嗜酸性粒细胞多呈圆形, 个 别卵圆形, 细胞中等偏大, 核质比小, 数量极少, 在 血涂片中偶尔见到(图版 I-8—10)。细胞核常因胞 浆颗粒覆盖不能见完整形状, 主要为杆状或分叶形 等, 分叶核多, 常见2—3叶, 核偏于细胞一侧或贴细 胞膜, 细胞核内染色质致密, 被染色为蓝紫色, 无核 仁。细胞质丰富, 充满了大小均匀的圆形橘红色嗜 酸性颗粒, 数量不尽相同, 细胞表面常可见饱满颗 粒溢出胞膜。未见到嗜酸早幼粒细胞和中幼粒细胞。 单核细胞 单核细胞呈椭圆形、不规则形 或圆形,细胞较大,核质比介于中性粒细胞和淋巴 细胞之间,在血涂片中数量极少(图版 I-11—14)。 细胞核形状多样,包括肾形、马蹄形、分叶或不规 则等,略偏于细胞一侧,染色质多疏松网状,染色呈 淡紫红色或淡紫色,无核仁。细胞质较丰富,细胞 质被染色为灰蓝色或蓝色,染色不均匀且可见有些 胞浆内含有空泡(图版 I-12、13)。在显微镜下,单 核细胞和嗜中性粒细胞有时难以区分,差异详见 表 4。

血栓细胞 血栓细胞呈长杆形、圆形或椭圆形,表面大部分光滑,仅2端常有放射状延长突出, 细胞较小,核质比变化大,其数量接近淋巴细胞,在 血涂片中多为单个出现,有时数个聚集在一起成团 出现(图版 I-15—17)。细胞核呈长杆形、椭圆形 或肾形等,位于细胞中央,少数偏位,细胞核内染色 质致密,被染色为紫红色。细胞质胞浆量随细胞的 不同形状差别大,长杆状细胞的胞浆量近2倍于细 胞核,圆形或椭圆形仅一薄层包裹细胞核,细胞质 染色较淡,呈粉红色。另,外周血中常见到正在分 裂或刚形成的血栓细胞(图版 I-17)。

2.3 电镜观察结果

电镜下可观察到细胞类型有六大类,包括红细胞、血栓细胞、淋巴细胞、I型粒细胞、II型粒细胞、II型粒细胞。

红细胞 红细胞质膜表面大部分较平滑, 个 别部位出现质膜内褶。细胞质电子密度低, 可见到 少量线粒体或个别部位电子密度略高(图版 II-1、 2)。核周间隙明显, 核孔多个且清晰, 异染色质呈 团块状沿核膜分布和分散在核内, 未见到核仁。

淋巴细胞 淋巴细胞质膜表面常形成细小的圆形或指状突起(图版 II-3)。细胞质电子密度高于红细胞,环绕着几乎占据整个细胞的细胞核,胞质有丰富的细胞器包括内质网、线粒体、溶酶体、游离核糖体以及个别空泡(图版 II-4);核周间隙不明显,核孔清晰,异染色质呈带状或块状。也有部分淋巴细胞质膜延伸成长突起或形成褶皱,或胞浆散出,可见大量胞吞作用。

I 型(嗜中性)粒细胞

质膜表面常有细长或粗大的突起。细胞质含大量 分散的特殊小颗粒,呈长短不一的杆状或长椭圆形 等,直径0.2—1 μm不等,颗粒电子密度高,由膜包 被,内涵物均匀(图版 II-9、13、14)。溶酶体电子 密度较低,呈大小不一的圆形,内涵物均匀。细胞 质中还有丰富的线粒体、粗面内质网、高尔基体 及游离核糖体等细胞器(图版 II-10—12)。核膜清 晰,异染色质疏松。常可见胞质中有多个胞吞过程或形 成的空泡,并发现特殊颗粒的胞吞作用(图版 II-10)。

II型(嗜酸性)粒细胞 II型(嗜酸性)粒细胞 质膜表面形成大量细小的指状突起或膜包被游离 至细胞外。细胞质含大量的特殊大颗粒,几乎覆盖 整个细胞,多数呈圆形或近圆形,直径0.5—2 μm不 等,颗粒电子密度深,由膜包被,内含物均匀。溶酶 体电子密度较低,明显小于特殊颗粒,呈大小不一 的圆形,内涵物均匀(图版II-17、18)。细胞质中还 有丰富的线粒体、粗面内质网、高尔基体、溶酶 体及游离核糖体等细胞器(图版II-19)。细胞核小, 偏向一侧,核膜核孔清晰,异染色质疏松呈块状。

单核细胞 单核细胞质膜表面有指状或短 粗突起,细胞多变形。细胞质含大量的溶酶体和颗 粒,常可见大量空泡(图版 II-5—8)。溶酶体电子密 度不一,大小不等,个别呈空泡状。核内异染色质 少,沿核膜分布。少见到颗粒。

血栓细胞 血栓细胞质膜表面一端或两端 常形成长指状突起。细胞质电子密度较低,含许多 小空泡或几个电子密度极高的颗粒,部分空泡开口 于细胞表面。核膜清晰,异染色质呈带状沿核膜分 布(图版 II-15、16)。

3 讨论

3.1 血细胞的组成与大小

血细胞的组成受到鱼体大小、发育阶段、营养水平、环境条件、应激水平以及采血过程等多种因素影响^[13],本次血液样本的采集中严格控制操作时间与过程,所有样本在采样前均已在养殖池体内养殖多年,并经过长时间的亲和训练和捕捞训练,以减少人为或应激对血液指标的影响,同时对样本进行血清皮质醇检测以判断受应激程度^[14]。

表 4 嗜中性粒细胞和单核细胞形态比较 Tab. 4 The morphological differences between Neutrophil and Monocyte

I型(嗜中性)粒细胞

结构Structure	嗜中性粒细胞Neutrophil	单核细胞Monocyte
胞体Cytobody	圆形或近圆形;大小不均匀	圆形或不规则形,无明显包膜边界
细胞核Nucleus	呈杆状、带状,或分叶型, 呈紫红色或蓝紫色,偏紫	胞核染色质疏松网状,稍偏位,形状不规则或分叶(一般2叶), 呈淡紫红色或淡紫色,偏蓝
细胞质Cytoplasm	胞浆呈淡粉红色,偏粉,内布满少量 细小、紫红色颗粒	胞浆呈淡蓝色, 偏蓝, 还可见细胞 胞浆内有空泡

鱼类的血细胞一般包括红细胞、血栓细胞、 淋巴细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱 性粒细胞以及单核细胞7大类[1]。本次结果显示中 华鲟外周血中包括6类细胞类型,各类型细胞分别 有不同种核型结构或处于不同时期,其中红细胞比 例最高,白细胞和血栓细胞较少。其血细胞密度远 低于黄颡鱼(Pelteobagrus fulvidraco)、罗非鱼、军 曹鱼(Rachycecentron canadum)、斜带石斑鱼(Epfnephelus coioides)、革胡子鯰(Clarias gariepinus) 等^[14-18]; 红细胞密度较达氏鳇(Huso dauricus)、高 首鲟、欧洲鳇、纳氏鲟等鲟鱼低^[3-7],与史氏鲟接 近^[8],而白细胞的密度较上述几类鲟鱼均低^[3-8],表 明其抵抗力相对较弱。研究认为鱼类活动能力越 强,红细胞数比较高,这与它们的生活习性相一 致^[19]。白细胞中以淋巴细胞为主,数量最多,其次 是中性粒细胞和单核细胞,酸性粒细胞数量极少, 这与多数淡水养殖鱼类一致^[19]。粒细胞中未发现 嗜碱性粒细胞,这与达氏鳇、高首鲟、史氏鲟、淡 水石斑(Cichlasoma managuense)等结果一致^[2,6-8,20]; 而美国红鱼(Sciaenops ocellatus)、犬牙缰虾虎鱼 (Amoya caninus)、斑点叉尾鲴(Ietalurus punetaus)、 长鳍裸颊鲷(Lethrinus erythropterus)的外周血液中 均发现嗜碱性粒细胞^[2, 21-23]。有学者认为嗜碱性 粒细胞的嗜碱性颗粒极易溶于水,制片过程中易解 体难见到^[20],也可能与发育的不同时期以及生活环 境有关,对此需进一步研究。本结果显示血栓细胞 数量个体间波动极大, 受操作过程影响明显, 且未 见明显的吞噬作用,因此在白细胞分类计数时不予 列入。

不同年龄的血细胞组成结果显示, 18龄中华鲟 红细胞和白细胞均与其他龄组有差异, 可能与其接 近性成熟或处于性腺快速发育时期有关, 该阶段特 殊营养需求及能耗水平导致血细胞组成差异性^[1,2], 野生成熟中华鲟、4龄中华鲟的白细胞组成分别与 其他年龄组存在显著差异, 分析野生成熟个体与人 工养殖个体免疫机能差异显著性, 而子二代中华鲟 因技术、种质等因素免疫力更弱^[9,12], 这也为我们 养殖中如何提高鱼体免疫提出更高要求。在本次 结果中11龄中华鲟血细胞差异性可能与样本数量 有关, 需进一步研究。

中华鲟外周血细胞的测量结果显示单核细胞 和嗜中性粒细胞个体最大,大小接近,其次是嗜酸 性粒细胞和大淋巴细胞,酸性粒细胞的大小差异极 小,血栓细胞和小淋巴细胞最小。中华鲟血细胞个 体明显大于达氏鳇等几种鲟鱼^[2-8],以及黄颡鱼、罗 非鱼、美国红鱼、淡水石斑等多数硬骨鱼类^[14,16,20,21]。 脊椎动物中血细胞的大小与其进化程度高低相一致, 一般认为, 进化地位越高等的动物, 红细胞越小, 数量越多, 因为红细胞体积的缩小会带来表面积的 增加, 起到提高呼吸机能的作用^[15]。本次研究显示 中华鲟的细胞大于多数鱼类及部分鲟鱼, 细胞密度 也较低, 表明其进化程度较其他鲟鱼更低, 显示其 古老性。

3.2 血细胞形态与功能

鱼类成熟红细胞为椭圆形的中心凸出的细胞, 具有细胞核。对鱼类的研究结果显示原红细胞到 成熟红细胞, 胞体及胞核均由大变小, 形态由圆形 变为椭圆形,核固缩浓染[14-24],中华鲟外周血红细 胞多为椭圆形成熟红细胞,偶尔见到圆形的原红细 胞。对军曹鱼研究发现红细胞直接分裂现象但其 少^[24], 高泽霞等^[10]在1龄中华鲟中观察到该现象, 本 次研究中极少见到,可见个体间或不同生长阶段有 差异,说明红细胞主要由造血器官产生后释放入外 周血液,极少数靠直接分裂产生。中华鲟红细胞个 体较其他鱼类大,数量少,表明其携氧能力相对低, 这与本作者关于中华鲟的行为活动缓慢的研究结 论一致^[25]。中华鲟红细胞胞质中常可见几个线粒 体等细胞器,表明其红细胞的代谢活动水平相对较 高,其他鱼类红细胞胞质中多无细胞器^[26],一般认 为是因为红细胞在成熟的过程中,血红蛋白逐渐增 多,为获得更多的空间,细胞内的细胞器也逐渐退 化消失,这种结构特点可使红细胞自身的代谢率大 大降低,利于相关气体运输,由此可见中华鲟红细 胞气体运输能力相对较低,进化等级低。

淋巴细胞是免疫细胞的重要组成部分,本次研 究发现中华鲟的淋巴细胞分为大淋巴细胞和小淋 巴细胞2大类,除了细胞直径显著差别外,在形态结 构上差别较小,表面均有大量的伪足或突起,且常 见发生变形,一般认为吞噬反应发生时细胞伸出伪 足包围细菌、衰老细胞等异物; W-G染色结果显示 大淋巴细胞核染色略浅, 胞浆更丰富, 且大淋巴细 胞胞质中出现空泡的几率高于小淋巴细胞,而空泡 主要为吞噬物被溶解后形成,也显示大淋巴细胞的 活跃性更高,该分类法与一些研究结果一致^[7,14,15]。 有些研究将淋巴细胞分为大、小2类分别描述^[7],本 次研究认为中华鲟大小淋巴细胞可能代表了同种 细胞的不同功能状态,有学者表示当处于静息不活 跃状态的小淋巴细胞遇到抗原刺激时,将转变成代 谢活跃并能进行增殖的大淋巴细胞,此时细胞核增 大,染色质致密,细胞质增多,重新分裂和分化进行 免疫应答^[27],可见不同的形态结构决定了其不同的 功能。

中华鲟粒细胞主要有嗜中性和嗜酸性2类,核 型种类较多,有些鱼类中性粒细胞核型单一,少见 到3叶及以上^[15],分析与细胞功能机制的进化地位 有关系。中性粒细胞具有吞噬性,存在于所有硬骨 鱼类血液中,能做变形运动,参与机体的炎症反应, 大多数出现在炎症的初期,其功能可能是产生细胞 因子和补充免疫细胞到达损伤处^[15, 28, 29]。吞噬作 用在本研究中多有发现,本次观察中发现胞质中特 殊颗粒有吞噬作用,这点未见报道。中华鲟嗜酸性 粒细胞形状极规则,直径变异系数小,数量稳定,未 见到有吞噬作用的细胞,分析嗜酸性细胞并非中华 鲟主要免疫细胞。一般认为嗜酸性粒细胞与应激 反应刺激—肾上腺皮质系统有关,在寄生虫感染和 变态反应性疾病中,还可能与吞噬异物有关^[30]。

单核细胞存在于所有脊椎动物中,担负着非特异性免疫的重要作用。中华鲟单核细胞胞核形状 多样,细胞有较多的胞突和胞质含有空泡和吞噬物, 说明其有较强的变形与吞噬能力,这在鳜(Siniperca chuitsi)、鲤(Cyprinus carpio)、军曹鱼、欧 洲鳗鲡(Anguilla anguilla)等多种鱼类已得到证 实^[15,31-33]。本次研究显示在外周血液中,单核细胞 和嗜中性粒细胞中出现吞噬作用的细胞所占比例 高于淋巴细胞,有研究显示特异性反应的淋巴细胞 较非特异性的单核细胞和粒细胞发挥作用迟^[34]。

鱼类血栓细胞在功能上与哺乳动物的血小板 类似参与凝血过程,在鲤、鳜等鱼类的血栓细胞内 发现有类似于血小板内血栓粒的颗粒存在^[31,32],但 两者在形态和来源上却迥然不同,鱼类血栓细胞形 态和淋巴细胞相似,它的来源还没有定论^[24],中华 鲟未见相关报道。中华鲟血栓细胞形态多样,胞质 中常形成细小的空泡结构,这与军曹鱼等的研究结 果较一致^[26],细小空泡及长伪足及黏连等超微结构 均表明其参与凝血功能,未观察到吞噬作用,对于 血栓细胞是否具有吞噬性存在争议^[27,35,36]。其他 功能可能存在种的差异性,有待进一步研究。本次 观察到大量正在分裂或刚分裂形成的血栓细胞,可 见外周血中可直接形成。

鱼类的血液学指标值不仅与鱼的种类、生活 环境和营养有关,还与性别和健康状况有关,本文 未对不同性别、不同发育阶段或疾病异常状况下 的血细胞组成和大小进行研究,需进一步完成。本 次实验结果可为中华鲟的健康监测以及保育研究 提供基础依据,同时丰富动物血细胞研究相关领域。

参考文献:

[1] Zhou Y, Guo W C, Yang Z G. The progress of studies on

fish blood cells [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2001, **36**(6): 55—57 [周玉, 郭文场, 杨振国. 鱼类血细胞研究 进展. 动物学杂志, 2001, **36**(6): 55—57]

- [2] Zinkl J G, Cox W T, Kono C S. Morphology and cytochemistry of leucocytes and thrombocytes of six species of fish [J]. *Comparative Clinical Pathology*, 1991, 1(4): 187–195
- [3] Bahmani M, Kazemi R, Donskava P. A comparative study on hematological features in young reared sturgeons (Acipenser persicus and Huso huso) [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 24(2): 135–140
- [4] Martinez-A'Iyaarez R M, Hidalgo M C, Domezain A, et al. Physiological changes of sturgeon, Acipenser naccarii, caused by increasing environmental salinity [J]. Journal of Experimental Biology, 2002, 205(23): 699–706
- [5] Baker D W, Wood A M, Lityak M K, et al. Hematology of juvenile Acipenser oxyrinchus and Acipenser brevirostrum at rest and following forced activity [J]. Journal of Fish Biology, 2005, 66(1): 208–221
- [6] Asad M Z, Mohammad A J, Mohammad S, et al. Hematology of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile exposed to brackish water environment [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2010, 36(3): 655–659
- [7] Zhou Y, Pan F G, Li Y S, et al. Morphological study on peripheral blood cells of Kalugaa, Huso dauricus [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(3): 480— 484 [周玉, 潘风光, 李岩松, 等. 达氏鳇外周血细胞的形 态学研究. 中国水产科学, 2006, 13(3): 480—484]
- [8] Liu H B, Hua Y P, Qu Q Z, et al. Microstructure and ultrastructure of peripheral blood cells of Amur sturgeon Acipenser schrencki Brandt [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(2): 214—220 [刘红柏, 华育平, 曲秋芝, 等. 史氏鲟外周血细胞的显微及超微结构. 水生生物学 报, 2006, 30(2): 214—220]
- [9] Wei Q W, Li L X, Du H, et al. Research on technology for controlled propagation of cultured Chinese sturgeon (Acipenser sinensis) [J]. Journal of Fishery Science of China, 2013, 20(1): 1—11 [危起伟, 李罗新, 杜浩, 等. 中 华鲟全人工繁殖技术研究. 中国水产科学, 2013, 20(1): 1—11]
- [10] Gao Z X, Wang W M, Yang Y, et al. Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2007, 33(3): 213—222
- [11] Zhang Y Z, Zhang X Y, Wang Y P. The bacteria distribution and sterilization effect of four kinds of natural baits for cultured *Acipenser sinensis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2014, 44(3): 90—94 [张艳珍, 张晓雁, 王彦鹏, 养殖中华 鲟鲜饵细菌分布及灭菌效果的研究. 淡水渔业, 2014, 44(3): 90—94]
- [12] Zhang X Y, Du H, Wei Q W, et al. The post-spawned recovery of cultured Chinese sturgeon Acipenser Sinensis
 [J]. Acta Hyrobiologica Sinica, 2015, 39(4): 705—713
 [张晓雁, 杜浩, 危起伟, 等. 养殖中华鲟的产后康复. 水 生生物学报, 2015, 39(4): 705—713]

- [13] Barton B A, Iwama G K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids [J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1991, 1(1): 3–26
- [14] Liu X L, Yan A S. Light and electron microscopic observations on the peripheral blood cells of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* (Bagridae: Teleostei) [J]. Journal of Huazhong Agricultural University (Natural Science Edition), 2006, 25(6): 659—663 [刘小玲, 严安生. 黄颡鱼外周血细胞的组成及其显微与超显微结构. 华 中农业大学学报(自然科学版), 2006, 25(6): 659—663]
- [15] Chen G, Zhou H, Zhang J D, et al. Hematological study and observation on development of blood cells in Cobia Rachycentron canadum [J]. Acta Hyrobiologica Sinica, 2005, 29(5): 564—570 [陈刚,周晖,张健东,等. 军曹鱼 血液指标及血细胞发生的观察. 水生生物学报, 2005, 29(5): 564—570]
- [16] Fu L R, Chen X G, Li X C, et al. Comparative Observation of microstructure of peripheral blood cells in Oreochromis niloticu and hybrid tilapia [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2008, 47(9): 1065—1068 [傅丽容, 陈学光, 黎学春, 等. 两种罗非鱼外周血细胞显微结构比较观察. 湖北农业科学, 2008, 47(9): 1065—1068]
- [17] Zhang H F, Wang Y X, Lin L, et al. Study on hematic properties and biochemical indices of Epinephelus coioides [J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2004, 1: 102—107 [张海发, 王云新, 林蠡, 等. 斜带石斑鱼血液性状及生化指标的研究. 华南师范大学学报(自然科学版), 2004, 1: 102—107]
- [18] Olufayo M O. Haematological characteristics of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) juveniles exposed to derris elliptica root powder [J]. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 2009, 9(3): 920–933
- [19] Lin G H, Zhang F W, Hong Y J, et al. Hematological study of two years old silver carp Hypophthalmichthys molirtix and bighead carp Aristichthys nobilicx [J]. Acta Hyrobiologica Sinica, 1998, 22(1): 9—16 [林光华, 张丰 旺, 洪一江, 等. 二龄鲢和鳙血液的比较研究. 水生生物 学报, 1998, 22(1): 9—16]
- [20] Gu S Y, Du Y. Observation of development of blood cells in jaguar guapote Cichlasoma managuense [J]. Fisheries Science, 2008, 27(4): 179—183 [顾曙余, 杜寅. 淡水石斑 鱼血细胞发生的观察.水产科学, 2008, 27(4): 179—183]
- [21] Chen G, Zhou H, Ye F L, et al. A hematological study and observation on development of blood cells in American red fish (*Sciaenops ocellatus*) [J]. Journal of Tropical Oceanography, 2006, 25(2): 59—65 [陈刚,周晖,叶 富良,等. 美国红鱼血细胞观察. 热带海洋学报, 2006, 25(2): 59—65]
- [22] Ye N, Luo J, Cao F J, et al. Microscopic structures of the peripheral blood cells in the Amoya caninus [J]. Journal of Aquaculture, 2013, 34(1): 32—36 [叶宁, 罗杰, 曹伏 君, 等. 犬牙缰虾虎鱼外周血细胞的显微结构. 水产养

殖, 2013, 34(1): 32-36]

- [23] Shi S L, Cao F J, Chen S, et al. Microstructure of peripheral blood cells in Lethrinus erythropterus [J]. Marine Fisheries, 2014, 36(5): 418—423 [师尚丽, 曹伏君, 陈思, 等. 长鳍裸颊鲷外周血细胞的显微结构. 海洋渔业, 2014, 36(5): 418—423]
- [24] Su Y L, Xu L W, Feng J, et al. Study on the morphology of peripheral blood cells of juvenile cobia Rachycentron canadum [J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(1): 48—53 [苏友禄, 徐力文, 冯娟, 等. 军曹鱼稚鱼外周血 细胞及其形态学观察. 南方水产, 2007, 3(1): 48—53]
- [25] Zhang Y Z, Zhang X Y, Wang Y P, et al. Free-swimming velocity and respiratory frequency related to the age and gonadual development of Chinese sturgeon (Acipenser sinensis Gray 1835) in aquarium [J]. Chinese Journal of Zoology, 2017, 52(4): 680—684 [张艳珍,张 晓雁, 王彦鹏,等. 水族馆不同年龄与发育状况的中华 鲟呼吸频率及自发游速的观察. 动物学杂志, 2017, 52(4): 680—684]
- [26] Jin L, Zhao N, Huang L, et al. Structure and cytochemical characteristics of blood cells in Myxocyprinus Asiaticus [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(3): 550—556 [金丽, 赵娜, 黄林, 等. 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, 2011, 35(3): 550—556]
- [27] Ellis A E. The leucocytes of fish: a review [J]. Journal of Fish Biology, 1977, 11(1): 453–491
- [28] Zhao F Q, Cao J L. Advance on development and analysis on economic outlook of blood cells in teleostean [J]. *Chinese Fisheries Economics*, 2007, (3): 30—33 [赵凤 岐, 曹谨玲. 硬骨鱼血细胞发生的研究进展及经济前景 分析. 中国渔业经济, 2007, (3): 30—33]
- [29] Rombout J M, Huttenhuish B T, Picchietti S, et al. Phylogeny and ontogeny of fish leucocytes [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2005, 19(5): 441–455
- [30] Wu M Q. Diagnostic Manual of Veterinary Laboratory
 [M]. Jiangsu: Jiangsu Science and Technology Press.
 2009, 63—64 [吴敏秋. 兽医实验室诊断手册. 江苏: 江苏科学技术出版社. 2009, 63—64]
- [31] Yuan S Q, Zhang Y A, Yao W J, et al. Micro and ultrastructure of peripheral blood cells of the Mandarin fish, Siniperca chuatsi (Basilewsky) [J]. Acta Hyrobiologica Sinica, 1998, 22(1): 39—47 [袁仕取,张永安,姚卫建,等. 鳜鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察. 水生生物学报, 1998, 22(1): 39—47]
- [32] Feng H L, Li W W, Wang T H, et al. Observation on the micromorphological and supermicromorphological structures of the blood cell of carp [J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 15(3): 241—244 [冯怀亮, 李文武, 王铁恒, 等. 鲤鱼血细胞显微和亚显微结构的观察. 水产学报, 1991, 15(3): 241—244]
- [33] Zhou Y, Guo W G, Yang Z G, et al. Microstructure and Ultrastructure of the peripheral blood cells of European eel (Anguilla anguilla) [J]. Acta Zoologica Sinica, 2002,

48(3): 393—401 [周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 欧洲鳗鲡外 周血细胞的显微和超微结构. 动物学报, 2002, 48(3): 393—401]

[34] Shan H, Zhang Q Z, Liu Q P, et al. Changes of cell immunity index in blood of southern catfish, Silurus meridionalis, immunized by formalin-killed Aeromonas hydrophila [J]. Journal of Fishery Science of China, 2005, 12(3): 275—280 [单红, 张其中, 刘强平, 等. 灭活菌苗免疫的南方鲇外周血液细胞免疫指标的变化. 中国水产

科学, 2005, 12(3): 275-280]

- [35] Barber D L, Millis W J E, White M G. The blood cells of the antarcitic icefish *Chaenocephalus aceratus* Lonnberg: light and electron microscopic abservations [J]. *Journal of Fish Biology*, 1981, **19**(1): 11–28
- [36] Ferguson H W, Claxton M J, Moccia R D, et al. The quantitative clearance of bacteria from the bloodstream of rainbow trout (*Salmo gairdne*) [J]. *Veterinary Pathology*, 1982, **19**(1): 687–699

COMPOSITION AND MORPHOLOGY OF THE PERIPHERAL BLOOD CELLS OF ACIPENSER SINENSIS

ZHANG Yan-Zhen^{1, 2}, WANG Yan-Peng², WEI Qi-Wei¹, DU Hao¹, LIU Zhi-Gang¹, HU Wei-Yong² and ZHANG Xiao-Yan²

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China; 2. Beijing Xinwoda Marine Technology Co. Ltd (Beijing Aquarium), Beijing 100081, China)

Abstract: Chinese sturgeon, Acipenser sinensis, is in extremely Critically Endangered status. The Beijing aquarium plays a major role in supporting and promoting the conservation. The facility rears wild sturgeon individually which allows to conduct the research at an individual level. The blood cell is an important indicator of fish health in clinical diagnosis. In this study, the peripheral blood cells of 40 sturgeons distributed in 7 age groups (from 4 to > 30 years old including wild samples, and the first and second generations of offspring) were studied by light microscopy and transmission electron microscopy. The morphological results revealed that there were 6 cell types in the peripheral blood: Erythrocytes were oval shape with about (13.00–18.54) µm in length and (7.94–13.25) µm in width, and a few mitochondrion were observed in cytoplasm. Lymphocytes were round shape, with pseudopod cytoplasm bulge and many microvillus on the membrane. The size lymphocytes were $(12.95-24.39) \mu m \times (6.30-18.19) \mu m$ among the large cells and $(7.51-12.84) \mu m \times (5.91-10.89) \mu m$ among the small cells. Neutrophils were $(9.45-22.69) \mu m \times (9.18-17.85) \mu m$, with kinds of nuclei types and many organelles were observed in cytoplasm. In addition, there were many special granules in cytoplasm. Eosinophils had round shape with size about $(14.20-17.09) \mu m \times (13.42-16.39) \mu m$ and they were rich in granules and organelles. Monocytes had multiple nuclei types and the shape was either round, oval or irregular shape with size about (14.95–21.93) μ m×(8.89–18.79) μ m. A large number of vacuoles and very few organelles were observed in cytoplasm. Thrombocytes had different shapes with (9.71–15.62) µm×(4.54–11.61) µm in size. Many small vacuoles were observed in cytoplasm, they appeared either alone or in clusters with many cells dividing. The size of blood cells from large to small follows the order as follows: monocyte, neutrophil, eosinophil, large lymphocyte, erythrocyte, thrombocyte and small lymphocyte. There was no significant difference on morphology and classification of haemocytes between different age groups. The average concentration of erythrocytes (RBC), leukocyte (WBC) and thrombocyte were $(5.56\pm1.19)\times10^8$ /mL, $(16.53\pm4.94)\times10^6$ /mL and $(15.53\pm15.82)\times10^6$ /mL, respectively. The percentage of large lymphocyte, small lymphocyte, neutrophil, eosinophil, and monocyte were (5.26±3.95)%, (77.74±11.73)%, (9.40±7.98)%, (1.90±2.06)% and (5.50±4.00)%, respectively. The RBC of 18 age and 11 age groups showed significant differences with the rest of groups (P < 0.05). The WBC of 18 age had significant differences with age 4 group, and they all showed significant differences with other groups (P < 0.05). The neutrophil and lymphocyte of >30 year-old sturgeon had significant differences with 4 age group, and they all showed significant differences with other groups. It was concluded that the blood cell of Acipenser sinensis was at a low level of evolution; their immune system was mainly composed of lymphocytes, granulocytes and monocytes. The results are important to the health assessment and conservation research of Acipenser sinensis.

Key words: Acipenser sinensis; Blood cell; Microstructure; Ultrastructure



图版 I 光镜下血细胞形态图

Plate I The morphology of blood cells under Light Microscopic

1—4示淋巴细胞; 5—7示嗜中性粒细胞(核型依次为杆状、2叶、3叶核); 8—10示嗜酸性粒细胞(核型依次为杆状、2叶、3叶核); 11—14示单核细胞(核型依次为肾形、杆状、2叶、不规则核); 15—17示血栓细胞; 17示刚分裂后的血栓细胞; 1—17示红细胞; Ery: 红细胞; Lym: 淋巴细胞; SL: 小淋巴细胞; LL: 大淋巴细胞; Va: 空泡; DL: 分裂中淋巴细胞; Ne: 嗜中性粒细胞; Eo: 嗜酸性粒细胞; Mo: 单核细胞; Th: 血栓细胞

1—4. lymphocyte; 5—7. neutrophil (nucleus: band, 2 lobes and 3 lobes); 8—10. eosinophil (nucleus: band, 2 lobes and 3 lobes); 11—14. monocyte (nucleus: reniform, band, 2 lobes, and irregular form); 15—17. thrombocyte; 17. the young thrombocyte after division; 1—17. erythrocyte; Ery: erythrocyte; Lym: lymphocyte; SL: small lymphocyte; LL: large lymphocyte; Va: vesicle; DL: dividing lymphocyte; Ne: neutrophil; Eo: eosinophil; Mo: monocyte; Th: thrombocyte



图版Ⅱ 电镜下血细胞形态



1、2示红细胞及线粒体; 3、4示淋巴细胞及细胞器; 5—8示单核细胞及空泡; 9—12示嗜中性杆状核粒细胞及细胞器; 13、14示嗜中 性分叶核粒细胞; 15、16示血栓细胞及其管泡; 17—19示嗜酸性粒细胞; □示放大区域; Ery: 红细胞; Lym: 淋巴细胞; Ne: 嗜中性粒细胞; Eo: 嗜酸性粒细胞; Mo: 单核细胞; Thr: 血栓细胞。Mt: 线粒体; N: 细胞核; Hc: 异染色质; Gc: 高尔基复合体; Lg: 溶酶体样颗粒; Rer: 粗面内质网; Gr: 特殊颗粒; P: 伪足; V: 囊泡; Cv: 管泡; Lcv: 大型管泡; Ocv: 管泡在细胞表面的开口; Fb: 吞噬的异物

1. erythrocyte; 2. showing mitochondrium in erythrocyte; 3. lymphocyte; 4. showing organelles in lymphocyte; 5. monocyte; 6. showing cannular vesicle in monocyte; 7. monocyte; 8. Showing ingestion of foreign body in monocyte; 9-12. the band neutrophil and organelles in it; 13-14. polymorphonuclear neutrophil and organelles in it; 15. thrombocyte; 16. showing vesicles in thrombocyte; 17-19. eosinophil and organelles in it; 1 - 14. polymorphonuclear neutrophil and organelles in it; 15. thrombocyte; 16. showing vesicles in thrombocyte; 17-19. eosinophil and organelles in it; 1 - 14. polymorphonuclear neutrophil and organelles in it; 15. thrombocyte; 16. showing vesicles in thrombocyte; 17-19. eosinophil and organelles in it; 1 - 14. molified region; Ery: erythrocyte; Lym: lymphocyte; Ne: neutrophil; Eo: eosinophil; Mo: monocyte; Thr: thrombocyte; Mt: mitochondrium; N: nucleus; Hc: heterogenous chromatin; Gc: golgi complex; Lg: lysosome—like granular; Rer: rough endoplasmic; Gr: granules; P: pseudopod; V: vesicle; Cv: cannular vesicle; Lcv: large cannular vesicle; Ocv: vesicle opening on cell surface; Fb: foreign body