

欧鳗脾和肾中黑色素巨噬细胞中心的形态学 与细胞化学研究

罗小春, 梅景良*, 王全溪, 邓红玉, 温亚萍

(福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要:应用组织化学与电镜技术对欧鳗脾脏和肾脏中黑色素巨噬细胞中心(MMCs)进行研究。结果表明:脾脏和肾脏中均存在 MMCs, 它们呈圆形、卵圆形或不规则形状;脾脏 MMCs 有邻血管分布的特点, 而肾脏 MMCs 的分布无此特点;脾脏和肾脏中的 MMCs 均含有铁血黄素、黑色素及脂褐质 3 种色素, 但脾脏 MMCs 以铁血黄素为主, 肾脏以黑色素和脂褐质为主;脾脏 MMCs 中存在色素颗粒和细胞碎片。初步推测, 欧鳗脾脏 MMCs 与肾脏 MMCs 的功能有可能是不相同的。

关键词: 欧鳗; 黑色素巨噬细胞中心; 形态学; 细胞化学; 脾脏; 肾脏

中图分类号: Q954.6 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)04-0401-06

Morphology and cytochemistry of melano-macrophage centers in spleen and kidney of *Anguilla anguilla*

Luo Xiaochun, Mei Jingliang*, Wang Quanxi, Deng Hongyu, Wen Yaping

(College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The morphology and cytochemistry of melano-macrophage centers (MMCs) in spleen and kidney of eel (*Anguilla anguilla*) were assessed by employing technologies of histochemistry and transmission electron microscopy. The results showed that there were MMCs both in spleen and kidney with round, oval or irregular shape; the majority of MMCs in spleen distributed regularly around blood vessel, on the contrary, MMCs in kidney did not follow the rule; the MMCs both in spleen and kidney were contained with haemosiderin, melanin and lipofuscin, while, haemosiderin dominated in the former and melanin and lipofuscin did in the latter. Ultrastructural observations revealed that there were granular pigments and cellular debris in MMCs of spleen. It seemed that MMCs in spleen and kidney undertook different function inferred from the experiments.

Keywords: *Anguilla anguilla*; melano-macrophage centers; morphology; cytochemistry; spleen; kidney

黑色素巨噬细胞中心(melano-macrophage centers, MMCs)又称为巨噬细胞聚集体(macrophage aggregates)或黑色素巨噬细胞聚集体(melanomacrophage aggregations), 是含色素细胞的不连续聚集, 主要存在于硬骨鱼的造血组织和肝组织中^[1-2]。黑色素巨噬细胞中心含有的不同色素, 如铁血黄素、黑色素、脂褐质(或蜡样色素)等, 经苏木精-伊

红染色后可呈现金黄色、棕色、黑色等不同颜色^[3-4]。这些特征性的色素使得 MMCs 易于与其他细胞聚集体相区别^[1]。MMCs 所含的各种色素可以通过普鲁士蓝染色法等组织化学染色进行鉴别^[5-6]。国外关于黑色素巨噬细胞中心的来源、结构、功能和分布等方面的研究已有较多报道^[7-12], 国内这方面的报道相对较少^[13-14]。鉴于目前国内尚无有关欧

鳗黑色素巨噬细胞中心方面的研究报道,笔者对欧鳗脾脏、肾脏黑色素巨噬细胞中心的组织化学和形态学进行了探讨,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

欧鳗于2014年4月购自福州某欧鳗养殖场,雌雄兼有,其体表健康无病,个体大小接近,体重为 (452.50 ± 44.36) g,体长为 (52.80 ± 3.19) cm。

1.2 方法

迅速解剖欧鳗,取出脾脏、体肾组织,在相同部位取小块组织,用多聚甲醛固定液固定24 h后,用流水冲洗1 d,逐级乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切成厚 $5 \mu\text{m}$ 的片。分别进行HE染色(苏木精-伊红染色)、Perls法染色(普鲁士蓝染色,核固红法)、Long Ziehl-Neelsen法染色、Masson-Fontana法染色,干燥后用中性树胶封片, Motic BA210 数码显微镜进行观察。同时取小块脾脏组织参照文献[13]中的方法制作电镜切片,用JEM-1010透射电镜观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 欧鳗脾脏黑色素巨噬细胞中心的显微观察结果

欧鳗脾脏表面覆盖着一层极薄的纤维结缔组织性被膜,被膜向脾实质内延伸,形成的脾小梁不明显。脾髓中红髓、白髓相混合,二者间无明显分界。白髓主要由密集的淋巴细胞聚集而成,未见脾小结、动脉周围淋巴鞘。红髓由脾索和脾窦构成,欧鳗脾索不发达,基本不形成条索状。

经HE染色后,脾脏组织中聚集成团的MMC呈棕黄色或淡黄色,其中散在分布一些棕褐色斑块。MMC大小不一,形状为圆形、椭圆形或不规则形,常位于血管周围,也有少数分布于红髓(图1-A)。可见部分MMC直接与血管内皮细胞相联系。MMC周围未见扁平细胞层包裹。高倍镜下可见MMC含有衰老退化的细胞和细胞碎片,其中的细胞有的是结构较为完整的红细胞或淋巴细胞,有的细胞的结构则模糊不清。在高倍镜下尚可见MMC中分布

有黑色或褐色的斑块状物质。这些斑块状物质密度不同,有些比较厚密,有些则比较稀薄透亮。

用Perls法染色后,脾脏组织中的MMC有的可见大量的蓝色斑块、黑色斑块和少量的黄褐色斑块,有的则以黑色斑块和黄褐色斑块为主,蓝色斑块少见。脾脏组织中尚可见大量散在分布的单个黑色素巨噬细胞,绝大多数呈蓝色,极个别为黄褐色(图1-B)。

经Long Ziehl-Neelsen法染色后,MMC的颜色主要呈褐色或棕褐色,脾脏组织其他基质细胞的细胞核大多呈蓝色,细胞质呈淡蓝色(图1-C)。此外,脾脏组织可见个别单个黑色素巨噬细胞,高倍镜下呈现为一到两块棕褐色斑块。

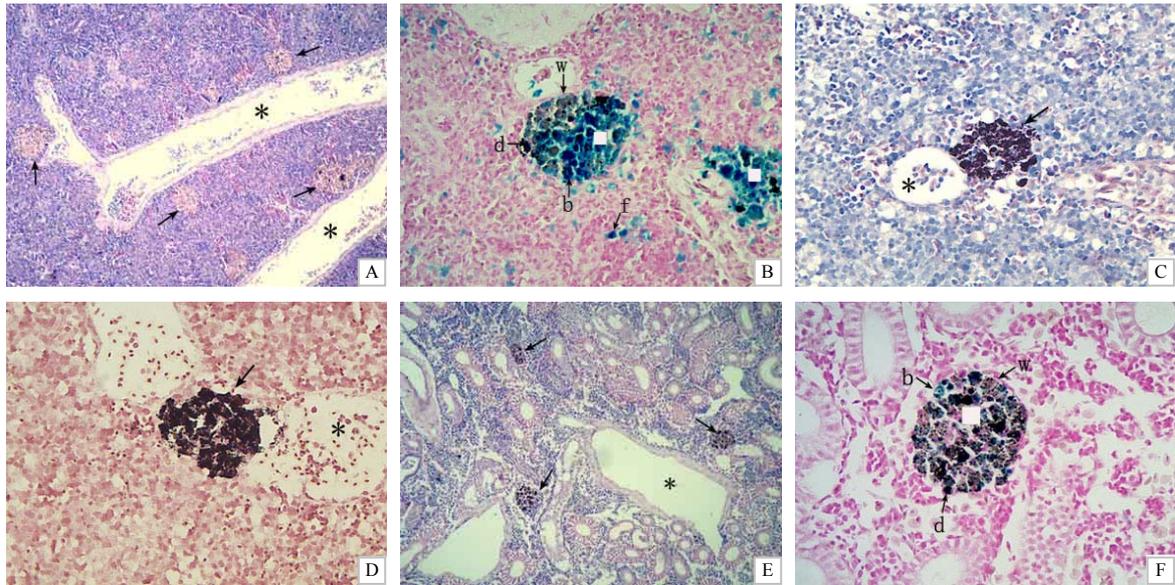
经Masson-Fontana法染色后,MMC呈大小不一的黑色斑块,有的连续分布,有的弥散分布;脾脏组织的其他细胞则被染成为红色(图1-D)。高倍镜下可见散在分布的黑色素巨噬细胞呈现为大小不同的黑色斑块。

2.2 欧鳗肾脏黑色素巨噬细胞中心的显微观察结果

欧鳗体肾主要由肾单位和拟淋巴组织构成。肾单位由肾小体和肾小管组成;拟淋巴组织分布于肾单位间,主要由淋巴细胞和粒细胞构成。

体肾组织中MMC的形状主要为圆形或椭圆形,HE染色后呈棕褐色(图1-E)。MMC大小不一,其周围一般无扁平细胞层包裹,极少数情况下可见被扁平细胞层部分包裹。MMC主要分布在肾脏拟淋巴组织之间。肾脏边缘面积较大的拟淋巴组织中MMC分布尤为密集,但体积相对较小。高倍镜下可见MMC含有大量的色素斑块沉着和少量衰老、退化的淋巴细胞。

经Perls法染色后,有的MMC中黑色斑块丰富且大小不一,黄褐色斑块和蓝色斑块较少(图1-F);有的MMC中黄色、棕褐色斑块较多,蓝色斑块未见或极少见;有的MMC含有丰富的深褐色斑块和黑色斑块,还有少量的灰黄色斑块和蓝色斑块。肾脏组织中单个散在的黑色素巨噬细胞呈蓝色,但极少见。



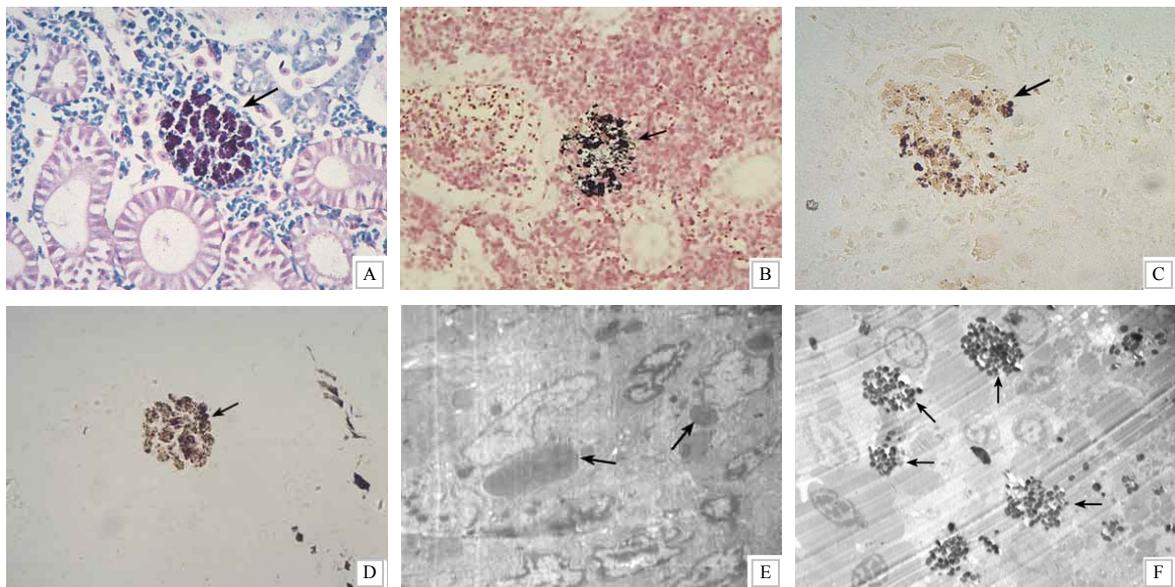
A中“↑”示脾脏MMC(HE染色)×100; B中“□”示脾脏MMC(Perls法染色)×400; C中“↑”示脾脏MMC(Long Ziehl-Neelsen法染色)×400; D中“↑”示脾脏MMC(Masson-Fontana法染色)×400; E中“↑”示肾脏MMC(HE染色)×100; F中“□”示肾脏MMC(Perls法染色)×400; “*”示血管; “b”示蓝色斑块; “d”示黑色斑块; “w”示棕黄色斑块; “f”示单个黑色素巨噬细胞

图1 欧鳗脾脏黑色素巨噬细胞中心的显微观察结果

Fig.1 Micrographs from the melano-macrophage centers of *Anguilla anguilla*

Long Ziehl-Neelsen 法染色时, MMCs 呈现为褐色、棕褐色的色素斑块, 其他肾脏组织细胞的细胞核染为蓝色, 细胞质呈淡红紫色(图 2-A)。高倍镜下可见个别单个散在的黑色素巨噬细胞呈深褐色斑块。

经 Masson-Fontana 法染色后, MMCs 呈大小不一的黑色色素沉着斑块, 有的聚集成团分布, 有的为不连续的弥散分布。肾脏组织细胞核为红色(图 2-B)。高倍镜下单个黑色素巨噬细胞呈黑色斑块。



A中“↑”示肾脏 MMC(Long Ziehl-Neelsen 法染色)×400; B中“↑”示肾脏 MMC(Masson-Fontana 法染色)×400; C中“↑”示脾脏 MMC(未染色)×400; D中“↑”示肾脏 MMC(未染色)×400; E中“↑”示脾脏 MMC 中的大型嗜染颗粒×6000; F中“↑”示脾脏 MMC 中极度嗜染的黑色素颗粒×6 000。

图2 欧鳗肾脏黑色素巨噬细胞中心的显微观察结果

Fig.2 Micrographs and ultramicrographs from the melano-macrophage centers of *Anguilla anguilla*

未经染色的脾脏和肾脏组织切片亦均可观察到暗棕色的 MMCs, 但 2 种组织中 MMCs 所含色素

斑块的结构不一样, 脾脏 MMCs 中色素斑块较为松散, 大部分颜色较淡, 少部分颜色较暗, 而肾脏

MMC_s 中的色素斑块结构较为密实, 颜色较深。在脾脏组织中尚可见散在分布的单个淡棕色黑色素巨噬细胞, 肾脏中极少见。2 种组织的其他基质细胞未见有色素沉着(图 2-C, D)。

2.3 欧鳎脾脏黑色素巨噬细胞中心的超微结构

在电镜下观察, 欧鳎脾脏中单个散在黑色素巨噬细胞的超微结构与 MMC_s 中黑色素巨噬细胞的基本相似, 胞体均较大, 呈圆形、椭圆形或不规则形; 胞核大多偏位, 呈椭圆形或不规则形状, 有的胞核因受到嗜染颗粒的挤压而呈锯齿状, 异染色质主要沿核膜内侧周边分布, 核中央的异染色质呈斑块状分布, 未见核仁; 胞质淡染, 胞质中圆形或不规则形的大型溶酶体较多, 且在溶酶体中可见各种处于不同降解阶段的细胞碎片。此外, 在胞质中尚可见 2 种不同类型的嗜染颗粒, 一种颗粒基质电子浓密, 个体大小不一, 呈圆形或长椭圆形, 数量较少(图 2-E); 另一种颗粒极度浓染, 个体大小较均一, 呈圆形或椭圆形, 数量较多, 往往可充斥整个细胞胞质(图 2-F)。胞质中还分布有少量线粒体, 其他细胞器少见。

3 结论与讨论

MMC_s 主要存在于变温脊椎动物的脾、肾和肝组织中, 在鳃、脑和性腺组织中也有发现^[15]。关于一些硬骨鱼的 MMC_s 已有较多研究^[1-4, 16]。HE 染色时, MMC_s 呈棕黄色。MMC_s 的形态结构主要有 2 种类型: 一种是结构较为松散, 分布面积较大, 包含的细胞数量多少不一; 另一种是结构较为密实, 细胞常聚集成团分布, 其外形多呈球形, 其中央是一些已衰老退化的细胞, 细胞轮廓较模糊, 有的细胞核已降解^[17]。普遍认为 MMC_s 在体内各种外源性和内源性物质的降解和再循环中发挥重要作用, 如吸收性腺中的闭锁卵泡细胞、退化精子和非特异性组织^[9], 储藏来自细胞本身的磷脂, 吞噬红细胞作用所产生的铁^[18-20], 免疫反应递呈抗原^[1]及作为生发中心的进化前体物^[21]等。MMC_s 的数量、大小、分布因鱼种类^[5]、器官^[22]、年龄^[23]或者营养及健康状况^[24]不同而不同。水体环境的改变, 尤其是水体中甲基汞^[25]、铜^[26]、镍和铬^[27]、镉^[28-29]、除草剂特丁津^[30]、汞^[31]等的含量增加, 也可导致 MMC_s 数量和大小发生变化, 因此, 鱼体 MMC_s 的变化, 不仅

可作为鱼体本身健康状况的良好指标, 也可作为水域环境应激状态的敏感指标^[11, 32]。

本课题组在前期研究中发现, 欧鳎肝脏中 MMC_s 的分布极少, 故本研究中仅针对脾脏和肾脏中 MMC_s 的形态学和组织化学进行初步研究。研究中发现欧鳎 MMC_s 的形态结构主要有 2 种类型: 一种是结构较为松散; 另一种是结构较为密实、紧凑, 呈圆形或椭圆形。欧鳎脾脏中的 MMC_s 较常分布在血管旁, 而体肾中的 MMC_s 很少靠近血管分布, 这一现象表明, 脾脏 MMC_s 的形成及其清除异物功能的发挥很可能与它们和血管系统在空间上的联系密切相关, 而体肾 MMC_s 则与外来物质的捕获和迁移似乎没有直接关系^[1, 7-9]。脾脏的 MMC_s 周围未见被膜层包裹, 这与 Leknes^[8]报道的剑尾鱼脾脏 MMC_s 周围没有细胞层包裹相似。肾脏 MMC_s 多为聚集成团分布, 有的 MMC_s 则为不连续的弥散性分布, 其周围一般无扁平细胞层包裹, 极少数情况下可见被扁平细胞层部分包裹。该现象与 Leknes^[8]报道的剑尾鱼肾脏 MMC_s 周围没有细胞层包裹不一样, 但与 Meseguer 等^[7]的研究结果一致。

欧鳎脾脏和肾脏 MMC_s 中所含色素在未经任何染色处理时呈现为暗棕色, 这与 Meseguer 等^[7]的报道相符, 且他们认为这种暗棕色物质是黑色素, 因为当他们用过氧化氢处理这种物质后发现褪色。MMC_s 中所含各种色素经 Perls 法普鲁士蓝染色后, 含铁血黄素呈现亮蓝色, 黑色素为黑色, 脂褐质则为棕黄色^[5-6, 33]; Long Ziehl-Neelsen 法仅对脂褐质和蜡样色素进行特异性染色^[15], 使其呈现棕黑色; Masson-Fontana 法仅对黑色素进行染色^[7, 15], 使其呈现为黑色, 因此, 通过 Perls 染色法再辅以其他特殊组织化学方法, 可以较好地对比 MMC_s 中存在的各种色素进行鉴别。本研究中对欧鳎脾脏和肾脏的组织切片分别进行如上 3 种组织化学方法的染色, 从显色结果可知, 欧鳎脾脏和肾脏 MMC_s 均含有血铁黄素、黑色素和脂褐质, 但在不同的 MMC_s 中, 这些色素的含量是不同的。脾脏 MMC_s 所含色素成分可分为 2 种情况, 即绝大部分 MMC_s 含有大量的血铁黄素、中等量的黑色素和少量的脂褐质, 少数 MMC_s 的黑色素和脂褐质含量较多, 血铁黄素含量较少。同时, 在脾脏观察到的大量散在分布的单个黑色素巨噬细胞的主要成分是血铁黄素, 极个别为脂褐

质。肾脏 MMCs 中所含色素成分可分为 3 种情况：第 1 种是 MMCs 含有大量的黑色素，而含血铁黄素和脂褐质较少；第 2 种是 MMCs 主要含有脂褐质，而含血铁黄素和黑色素极少；第 3 种情况是 MMCs 含有大量的脂褐质、中等量的黑色素和少量的血铁黄素。

综合分析后可知，欧鳎脾脏 MMCs 所含色素成分以血铁黄素为主，同时也含有黑色素和脂褐质；肾脏 MMCs 则以含黑色素和脂褐质为主。脾脏和肾脏 MMCs 中各种色素的分布特点不同，表明这 2 种脏器中 MMCs 的功能很可能是相异的。欧鳎肝脏 MMCs 的数量极少，而脾脏 MMCs 的数量较多，且黑色素巨噬细胞不论是聚集形成 MMCs 还是单个散在，其所含色素均以血铁黄素为主，表明欧鳎脾脏 MMCs 在铁代谢过程中发挥了主要作用。结合欧鳎脾脏 MMCs 的电镜观察结果可以推测，脾脏 MMCs 也参与了衰老细胞降解产物的处理过程。因为 MMCs 中的黑色素与鱼体有氧呼吸期间 NADPH 的氧化有关，并且在 O_2 转化成 H_2O_2 的过程中对机体起保护作用，脂褐质则与组织细胞降解有关，因此，由欧鳎肾脏 MMCs 所含色素以黑色素和脂褐质为主可推测，欧鳎肾脏 MMCs 的功能是有异于脾脏 MMCs 的功能的。

参考文献：

- [1] Agius C, Roberts R J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology[J]. Journal of Fish Diseases, 2003, 26(9): 499-509.
- [2] Schwindt A R, Truelove N, Schreck C B, et al. Quantitative evaluation of macrophage aggregates in brook trout *Salvelinus fontinalis* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2006, 68(2): 101-113.
- [3] Fournie J W, Summers J K, Courtney L A, et al. Utility of splenic macrophage aggregates as an indicator of fish exposure to degraded environments[J]. Journal of Aquatic Animal Health, 2001, 13(2): 105-116.
- [4] Gregori M, Miragliotta V, Leotta R, et al. Morphometric evaluation of interrenal gland and kidney macrophages aggregates in normal healthy rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and after bacterial challenge with *Yersinia ruckeri*[J]. Veterinary Medicine International, 2014, 2014(1): 1-7.
- [5] Ribeiro H J, Procópio M S, Gomes J M M, et al. Functional dissimilarity of melanomacrophage centres in the liver and spleen from females of the teleost fish *Prochilodus argenteus*[J]. Cell and Tissue Research, 2011, 346(3): 417-425.
- [6] Blazer V S. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2002, 26(1): 85-101.
- [7] Meseguer J, López-Ruiz A, Esteban M A. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): Morphology, formation and possible function[J]. Cell Tissue Research, 1994, 277(1): 1-10.
- [8] Leknes I L. Melano-macrophage centres and endocytic cells in kidney and spleen of pearl gouramy and platyfish (*Anabantidae*, *Poeciliidae*: *Teleostei*) [J]. Acta Histochemica, 2007, 109(2): 164-168.
- [9] Ravaglia M A, Mggese M C. Melano-macrophage centres in the gonads of the swamp eel, *Synbranchus marmoratus* Bloch (Pisces, Synbranchidae): Histological and histochemical characterization[J]. Journal of Fish Diseases, 1995, 18: 117-125.
- [10] Mizuno S, Misaka N, Miyakoshi Y, et al. Effects of starvation on melano-macrophages in the kidney of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) [J]. Aquaculture, 2002, 209(1): 247-255.
- [11] Balamurugan S, Deivasigamani B, Kumaran S, et al. Melanomacrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bio-indicator of environmental change[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2012(2): 635-638.
- [12] Lin H T, Lin H Y, Yang H L. Histology and histochemical enzyme-staining patterns of major immune organs in *Epinephelus malabaricus* [J]. Journal of Fish Biology, 2005, 66(3): 729-740.
- [13] 梅景良, 王寿昆, 王湘平, 等. 黑鲷造血组织中黑色素巨噬细胞发育过程的超微结构观察[J]. 海洋学报, 2008, 30(3): 102-108.
- [14] 张耀光, 罗泉笙, 钟明超. 长吻鮠肾脏黑色素巨噬细胞发育过程的超微结构变化[J]. 水生生物学报, 1997, 21(2): 187-189.
- [15] Macchi G J, Romanol A, Christiansen H E. Melanomacrophage centres in white mouth croaker *Micropogonias furneri*, as biological indicators of environmental changes[J]. Journal of Fish Biology, 1992, 40: 971-973.
- [16] Leknes I L. Melano-macrophage centres in the liver of platyfish, *Xiphophorus maculatus*, *Poeciliidae*: *Teleostei* [J]. Zoology, 2004, 107(2): 201-204.
- [17] 龚宁, 聂其灼. 鲤鱼头肾显微结构研究[J]. 山地农业生物学报, 2001, 20(1): 20-24.
- [18] Agius C. The role of melano-macrophage centres in iron storage in normal and diseased fish[J]. Journal of Fish Diseases, 1979(2): 337-343.

- [19] Agius C . Preliminary studies on the ontogeny of the melano-macrophages of teleost haemopoietic tissue and age-related changes[J] . Developmental and Comparative Immunology , 1981 , 5(4) : 597-606 .
- [20] Agius C , Agbede S A . Electron microscopical studies on the genesis of lipofuscin , melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish[J] . Journal of Fish Biology , 1984 , 24(4) : 471-488 .
- [21] Vigliano F A , Bermúdez R , Quiroga M I , et al . Evidence for melano-macrophage centres of teleost as evolutionary precursors of germinal centres of higher vertebrates : an immunohistochemical study[J] . Fish and Shellfish Immunology , 2006 , 21(4) : 467-471 .
- [22] Kranz H , Peters N . Melano-macrophage centres in liver and spleen of ruffe (*Gymnocephalus cernua*) from the Elbe Estuary[J] . Helgoland Marine Research , 1984 , 37(1-4) : 415-424 .
- [23] Brown C L , George C J . Age dependent accumulation of macrophage aggregates in the yellow perch , *Perca fluviatilis*(Mitchell)[J] . Journal of Fish Diseases , 1985 , 8 : 135-138 .
- [24] Hur J W , Woo S R , Jo J H , et al . Effects of starvation on kidney melano-macrophage centre in olive flounder , *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) [J] . Aquaculture Research , 2006 , 37(8) : 821-825 .
- [25] Mela M , Randi M A , Ventura D F , et al . Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*[J] . Ecotoxicology and Environmental Safety , 2007 , 68(3) : 426-435 .
- [26] Mela M , Guiloski I C , Doria H B , et al . Risks of waterborne copper exposure to a cultivated freshwater Neotropical catfish (*Rhamdia quelen*)[J] . Ecotoxicology and Environmental Safety , 2013 , 88 : 108-116 .
- [27] Werner I , Teh S J , Datta S , et al . Biomarker responses in *Macoma nasuta*(Bivalvia) exposed to sediments from northern San Francisco Bay[J] . Marine Environmental Research , 2004 , 58(2-5) : 299-304 .
- [28] Giari L , Manera M , Simoni E , et al . Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium[J] . Chemosphere , 2007 , 67 : 1171-1181 .
- [29] Suresh N . Effect of cadmium chloride on liver , spleen and kidney melano macrophage centres in *Tilapia mossambica*[J] . Journal of Environmental Biology , 2009 , 30(4) : 505-508 .
- [30] Dezfuli B S , Simoni E , Giari L , et al . Effects of experimental terbuthylazine exposure on the cells of *Dicentrarchus labrax*(L.)[J] . Chemosphere , 2006 , 64(10) : 1684-1694 .
- [31] Giari L , Simoni E , Manera M . Histo-cytological responses of *Dicentrarchus labrax*(L.) following mercury exposure[J] . Ecotoxicology and Environmental Safety , 2008 , 70(3) : 400-410 .
- [32] Haaparanta A , Valtonen E T , Hoffmann R W , et al . Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality? [J] . Aquatic Toxicology , 1996 , 34(3) : 253-272 .
- [33] Wolke R E , Murchelano R A , Dickstein C D , et al . Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates (MA) as fish health monitors[J] . Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology , 1985 , 35 : 222-227 .

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库