

似刺鳊鲊外周血细胞显微结构和血清生化指标的初步研究

徐钢春 唐雪 顾若波* 闻海波

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室 无锡 214081 ;
南京农业大学动物医学院 南京 210095)

摘要:似刺鳊鲊 (*Paracanthobrama guichenoti*) 外周血细胞可分为红细胞、嗜中性粒细胞、单核细胞及大、小淋巴细胞和血栓细胞,未发现嗜酸性和嗜碱性粒细胞。外周血液中可观察到少量未成熟的及正在分裂的红血细胞。白细胞中,血栓细胞体积最小,嗜中性粒细胞体积最大;数量上,血栓细胞最多,而大淋巴细胞则最少。似刺鳊鲊血清生化指标测定结果显示,谷丙转氨酶(ALT)、胆固醇(CHOL)和总蛋白(TP)变化范围较大,且谷草转氨酶(AST)的水平较高,似刺鳊鲊雄鱼的血液生化指标相应值均显著低于雌鱼 ($P < 0.05$)。

关键词:似刺鳊鲊;血细胞;显微结构;生化指标

中图分类号:Q955 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2008)05-128-06

Microstructure of Peripheral Blood Cells and Blood Biochemical Parameters in *Paracanthobrama guichenoti*

XU Gang-Chun TANG Xue GU Ruo-Bo* WEN Hai-Bo

(Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081 ;
College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The peripheral blood cells of *Paracanthobrama guichenoti* were morphologically to perceive as erythrocyte, neutrophil, monocyte, large or small lymphocyte and thrombocyte distinctly on the stained smears of peripheral blood, but eosinophilic granulocyte and basophilic granulocyte were not found. In addition, some immature and diving erythrocyte could be observed. Among these leucocytes, the thrombocyte was the smallest cell while neutrophil the largest; and the number of large lymphocyte was the least, while that of thrombocyte the most. The results of blood biochemical parameters assay indicated that alanine aminotransferase (ALT), cholesterol (CHOL) and total protein (TP) have a fargooing change, especially aspartate aminotransferase (AST). This study also demonstrated that male *P. guichenoti* resulted in a significantly lower level of relative blood biochemical parameters as compared to the female ($P < 0.05$).

Key words: *Paracanthobrama guichenoti*; Blood cell; Microstructure; Biochemical parameters

基金项目 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心)资助项目(No. 2007JBBF03),农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室开放课题项目(No. BM2007-08);

*通讯作者, E-mail: gurb@ffrc.cn;

第一作者介绍 徐钢春,男,助理研究员;研究方向:水生生物基础生物学;E-mail: xugc@ffrc.cn.

收稿日期:2008-03-10, **修回日期:**2008-06-26

似刺鰟 (*Paracanthobrama guichenoti*) 隶属鲤形目鲤科鰟亚科似刺鰟属, 俗称石鲫^[1], 广泛分布于我国长江中、下游干流及附属湖泊。目前, 有诸多关于鱼类外周血细胞形态结构^[2-7]及血清生化指标方面的研究^[8-11]。但尚未见似刺鰟外周血细胞显微结构及血液生化指标的研究报道。本文着重对似刺鰟外周血各类血细胞的显微结构及生物学参数进行了研究和初步探讨, 并对其血液生化常值进行了测定, 旨在为其养殖和病害防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用似刺鰟于 2006 年 5 月采自太湖苏州湖区。运回室内暂养 7 d 后, 选择健康无伤的雄雌鱼各 10 尾, 均为 3 龄(鳞片鉴定)^[12]。其中, 雄鱼体长为(20.96 ± 0.59) cm, 体重为(187.32 ± 14.98) g; 雌鱼体长为(21.48 ± 0.41) cm, 体重为(193.68 ± 10.10) g。

1.2 实验方法

1.2.1 取样方法 用纱布擦去鱼体表的水分后称量, 然后用洁净的 2 ml 注射器从似刺鰟尾静脉抽血, 肝素钠抗凝。取少量血液, 常规方法制作血涂片。涂片在空气中干燥后用甲醇固定, 晾干后用瑞氏-姬姆萨染色液(Wright-Gemsa Stain, 购于珠海贝索生物技术有限公司)进行双染, 血涂片用 Nikon 90i 显微成像仪观察、拍照及测量, 并进行白细胞分类计数。剩余血液 3 000 g 离心 10 min, 取血清保存于 -20 备用。

1.2.2 血液生化指标测定 将血清解冻, 4 000 g 离心 10 min 除去凝胶状物, 在 Beckman LX20 型全自动生化测定仪上采用临床生化检测的方法进行血清生化指标的分析。血糖测定: 葡萄糖氧化酶法(葡萄糖试剂盒, 上海科华生工); 甘油三酯测定: 甘油磷酸氧化酶法(甘油三酯测定试剂, 上海名典生工); 蛋白质测定: 总蛋白测定用双缩尿比色法(总蛋白试剂盒, 上海科华东菱诊断用品有限公司), 白蛋白测定用溴甲酚绿比色法(白蛋白试剂盒, 上海科华东菱诊断用品有限公司), 球蛋白 = 总蛋白 - 白蛋白; 胆固醇测

定: 胆固醇氧化酶法(胆固醇测定试剂, 上海名典生工); 谷草转氨酶、谷丙转氨酶测定: 速率法(丙氨酸氨基转移酶和天冬氨酸氨基转移酶 IFCC 法检测试剂盒, 四川迈克科技有限公司); 碱性磷酸酶测定: 动力学法(碱性磷酸酶检测试剂盒, 上海复旦张江生物医药股份有限公司)。

1.3 数据处理 所有数据均用 SPSS 11.5 软件进行统计分析, 结果以 Mean ± SD 表示; 图片用 Photoshop 7.0 编辑处理。

2 结果

2.1 各类血细胞大小测定及白细胞分类计数

在似刺鰟的外周血涂片中可见红细胞、嗜中性粒细胞、单核细胞, 以及大、小淋巴细胞和血栓细胞, 未发现嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。各类血细胞大小及白细胞分类计数结果(表 1)显示, 似刺鰟的白细胞以血栓细胞和嗜中性粒细胞为主, 大淋巴细胞及单核细胞较少。嗜中性粒细胞和单核细胞较大, 其次为大淋巴细胞, 而小淋巴细胞与血栓细胞最小。

2.2 血细胞的显微结构及其特点

2.2.1 红细胞 血涂片中以成熟红细胞为主, 细胞呈卵圆形或长椭圆形, 表面光滑。胞核卵圆形或长椭圆形, 居中。核内染色质致密, 染成深紫红色, 胞质染色淡, 呈均匀的淡红色, 内含丰富的血红蛋白(图版 :1)。外周血中可见幼稚红细胞, 其核比成熟红细胞核稍大, 胞质中的血红蛋白含量较少, 染色较浅, 偶尔可见正在直接分裂的红细胞(图版 :2)。

2.2.2 嗜中性粒细胞 细胞圆形、卵圆形、近似长方形或椭圆形, 以卵圆形为主, 细胞外表面光滑。核的形状多样, 呈圆形、椭圆形、肾形、哑铃形、分叶形, 偶见两个以上核。核染成浅紫红色, 常偏于细胞一侧或与细胞膜相切。胞质丰富, 染成浅蓝色至近乎无色透明, 可见紫红色细小颗粒(图版 :3~7)。

2.2.3 单核细胞 细胞呈圆形或不规则形状, 核较大, 占整个细胞 1/3 ~ 3/4, 常偏于细胞一侧, 为椭圆形或不规则形状, 紫红色染色质呈疏

表 1 似刺鰻魮各类血细胞及其核大小(长径 ×短径)及白细胞分类计数($n = 10$)Table 1 The size(long diameter ×short diameter) of different blood cells and differential leukocyte counts (DLC) in *Paracanthobrama guichenoti*

各类血细胞 Different blood cells	细胞大小(μm) Size of cells	核大小(μm) Size of nuclei	白细胞分类计数值(%) Differential leukocyte counts (DLC)
红细胞 Erythrocyte	(12.73 ±0.95) ×(8.25 ±0.51)	(4.64 ±0.53) ×(2.86 ±0.29)	
嗜中性粒细胞 Neutrophil	(12.12 ±0.65) ×(11.04 ±0.31)	(6.35 ±0.93) ×(4.36 ±0.79)	18.60 ±5.7
单核细胞 Monocyte	(10.32 ±0.58) ×(9.84 ±0.38)	(8.35 ±0.75) ×(6.47 ±0.75)	4.50 ±1.5
大淋巴细胞 Large lymphocyte	(10.01 ±0.71) ×(7.04 ±0.35)	(8.25 ±0.65) ×(6.33 ±0.65)	2.00 ±0.8
小淋巴细胞 Small lymphocyte	(6.11 ±0.45) ×(5.34 ±0.30)	(5.05 ±0.35) ×(4.40 ±0.25)	9.40 ±2.1
血栓细胞 Thrombocyte	(4.61 ±0.52) ×(3.84 ±0.30)	(4.05 ±0.43) ×(3.00 ±0.30)	65.50 ±10.7

网状。胞质染成淡蓝色,可见大量大小不等的空泡,边缘常有伪足状突起(图版 :8,9)。

2.2.4 淋巴细胞 根据淋巴细胞大小和形状特征,可将其分为大淋巴细胞(图版 :10)和小淋巴细胞(图版 :11)两种。大淋巴细胞呈圆形或椭圆形,细胞表面有许多突起。核近圆形,较大,几乎占据整个细胞,染成紫蓝色。胞质量极少,染成蓝色或深蓝色。小淋巴细胞胞体为长椭圆形或不规则形状,具有明显的细胞突起,核近圆形或长椭圆形,染成深蓝色。胞质量少甚至不可见,染成深蓝色。小淋巴细胞有时与单个分布的血栓细胞难以区分,特别是血栓细胞的长径较短时。在同一张血涂片上,小淋巴细胞的胞体及细胞核均较圆,着色也比血栓细

胞略深,且胞质常向外伸出伪足状突起。

2.2.5 血栓细胞 血栓细胞在血涂片中常单个分布,也有集群分布。在似刺鰻魮外周血中,血栓细胞呈圆形或椭圆形,胞核居中,胞质少,染成深紫蓝色,细胞呈泪滴状、纺锤形、卵圆形或长杆形(图版 :12~14)。

2.3 血清生化指标 似刺鰻魮血清生化指标的测定数值详见表 2。从表中可以看出各项生化指标的参数变化范围。从实验结果来看,谷丙转氨酶(ALT)、胆固醇(CHOL)和总蛋白(TP)变化范围较大,且谷草转氨酶(AST)的水平较高。此外,结果还表明,似刺鰻魮雄鱼的血液生化指标值均显著低于雌鱼($P < 0.05$)。

表 2 似刺鰻魮血液血清生化指标

Table 2 The values of biochemistry of *Paracanthobrama guichenoti*

检测项目 Test Item	雄 Male ()		雌 Female ()	
	值 Value	幅度 Range	值 Value	幅度 Range
葡萄糖 Glucose GLU (mmol/L)	7.68 ±0.15	7.45 ~ 7.96	11.73 ±0.93	10.8 ~ 12.65
甘油三脂 Triglycerides TG (mmol/L)	1.26 ±0.17	0.97 ~ 1.55	1.75 ±0.19	1.56 ~ 1.93
总蛋白 Total protein TP (g/L)	31.07 ±0.43	30.51 ~ 31.92	42.48 ±3.01	38.11 ~ 48.26
白蛋白 Albumin ALB (g/L)	10.77 ±1.12	9.43 ~ 13.00	17.46 ±1.21	15.78 ~ 19.80
球蛋白 Globulin GLB (g/L)	20.33 ±1.3	17.8 ~ 22.10	25.03 ±1.83	22.3 ~ 28.50
ALB/GLB	0.5 ±0.10	0.40 ~ 0.70	0.70 ±0.11	0.58 ~ 0.81
胆固醇 Cholesterol CHOL (mmol/L)	3.98 ±0.74	3.24 ~ 4.72	5.44 ±0.41	4.83 ~ 6.22
谷丙转氨酶 Alanine aminotransferase ALT (U/L)	101.00 ±1.30	97.00 ~ 105.00	133.3 ±19.97	103.00 ~ 171.00
谷草转氨酶 Aspartate aminotransferase AST (U/L)	1 425.30 ±92.20	1 245.00 ~ 1 549.00	1 240.5 ±42.50	1 198.00 ~ 1 283.00
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase ALP (U/L)	63.00 ±6.08	52.00 ~ 73.00	174 ±31.72	111.00 ~ 199.00

3 讨 论

3.1 外周血细胞

3.1.1 红细胞 在华鲮 (*Sinilabeo rendahli*)^[8]、鳊鱼 (*Siniperca chuatsi*)^[2] 和淡水石斑 (*Cichlasoma managuense*)^[4] 等淡水鱼类外周血中均观察到红细胞直接分裂的现象,而在达氏鳊 (*Huso dauricus*)^[5] 的外周血中却未观察到。本实验的似刺鲃外周血中,除了大量成熟红细胞外,也观察到一些幼稚红细胞和正在分裂的红细胞。这表明,鱼类红细胞除了在造血器官中产生外,还可以在外周血中进行红细胞的成熟和增殖。但似刺鲃红细胞直接分裂数量甚少,且个体间有差异,与幼稚红细胞的数目也不成比例,说明红细胞主要由造血器官产生后释放到外周血中。

3.1.2 白细胞 似刺鲃血液白细胞中血栓细胞最多,这与鳊鱼^[2]、淡水石斑^[4]和史氏鲟 (*Acipenser schrencki*)^[6] 等相同;大淋巴细胞最少,这与达氏鳊^[5]一致。当然,各类白细胞所占比例的差异,可能是各学者分类计数差异或者采样所处状态不同造成。至于各类细胞大小,报道基本一致,即血栓细胞与小淋巴细胞较小,而单核细胞和粒细胞较大。

在淡水石斑^[4]、华鲮^[8] 等的外周血中观察到嗜酸性粒细胞;黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[3]、鳊鱼^[2] 等的外周血中却未观察到嗜酸性粒细胞,徐豪等^[13] 在 4 种淡水鱼中观察到嗜碱性粒细胞。本实验经多次重复,均未发现嗜酸性与嗜碱性粒细胞。这是鱼的种类造成,还是与其生存状态或者研究方法有关,需进一步研究。

3.2 血液生化指标 越来越多的研究^[7,9~11,14]

表明,鱼类血液生化指标受诸多因素(如年龄、性别、水温、季节和营养状况等)的影响,还因品种而异,但鱼类血液指标反映了鱼体健康状况及营养水平,可作为水体环境变化、污染物的监测指标,也是疾病诊断的重要依据。本实验测定结果表明,似刺鲃雄鱼的血液生化指标均显著低于雌鱼 ($P < 0.05$),这可能与取样时间

在繁殖季节有关。这与林光华等^[15]对团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 及日本白鲫 (*Carassius auratus caviere*) 的研究结果类似。在正常情况下,鱼类体内有机成分的分解代谢与合成代谢保持动态平衡,故其指标值也相对稳定。鱼类血糖研究表明,运动活跃鱼类血糖值高于运动迟缓的鱼类^[14],似刺鲃的血糖值处于较高的水平,与其生活习性相吻合。

ALT、CHOL 和 TP 有较大的变化范围,且 AST 的数值极大,在其他鲤科鱼类^[16]、鲇形目^[17]、鲈形目^[18]、鲟科鱼类^[19] 的研究中也存在类似的现象。人类 (*Homo sapiens*) 血清心肌酶包括谷草转氨酶指标偏高往往被认为是健康不佳的表现,但在鱼类血清生化指标中,谷草转氨酶指标是否都相对偏高,这需要更多鱼类血清心肌酶值的测定,其形成机理也有待于进一步研究。

本次实验借鉴医学方法,对似刺鲃的血糖、胆固醇、甘油三酯、蛋白质、谷草转氨酶及谷丙转氨酶等进行了初步的测定,结果可作为似刺鲃的正常生理常数参考值,为开展毒理学及病理学工作提供一定的参考。由于受研究方法的限制,对似刺鲃血液更多更深入的探讨仍有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 倪勇,朱成德主编.太湖鱼类志.上海:上海科学技术出版社,2005,139~142.
- [2] 袁仕取,张卫东,姚卫建等.鳊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.
- [3] 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,2006,25(6):659~663.
- [4] 顾曙余,杜寅,丁力等.淡水石斑外周血细胞显微结构观察.动物学杂志,2007,42(6):115~119.
- [5] 周玉,潘风光,李岩松等.达氏鳊外周血细胞的形态学研究.中国水产科学,2006,13(3):480~484.
- [6] 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.
- [7] 李懋,黄二春,魏于生等.淡水鲟六项血液指标的测定及血细胞结构的显微观察.淡水渔业,1992,(3):20~23.
- [8] 赵海鹏,赵海涛,金丽等.华鲮外周血细胞显微结构观

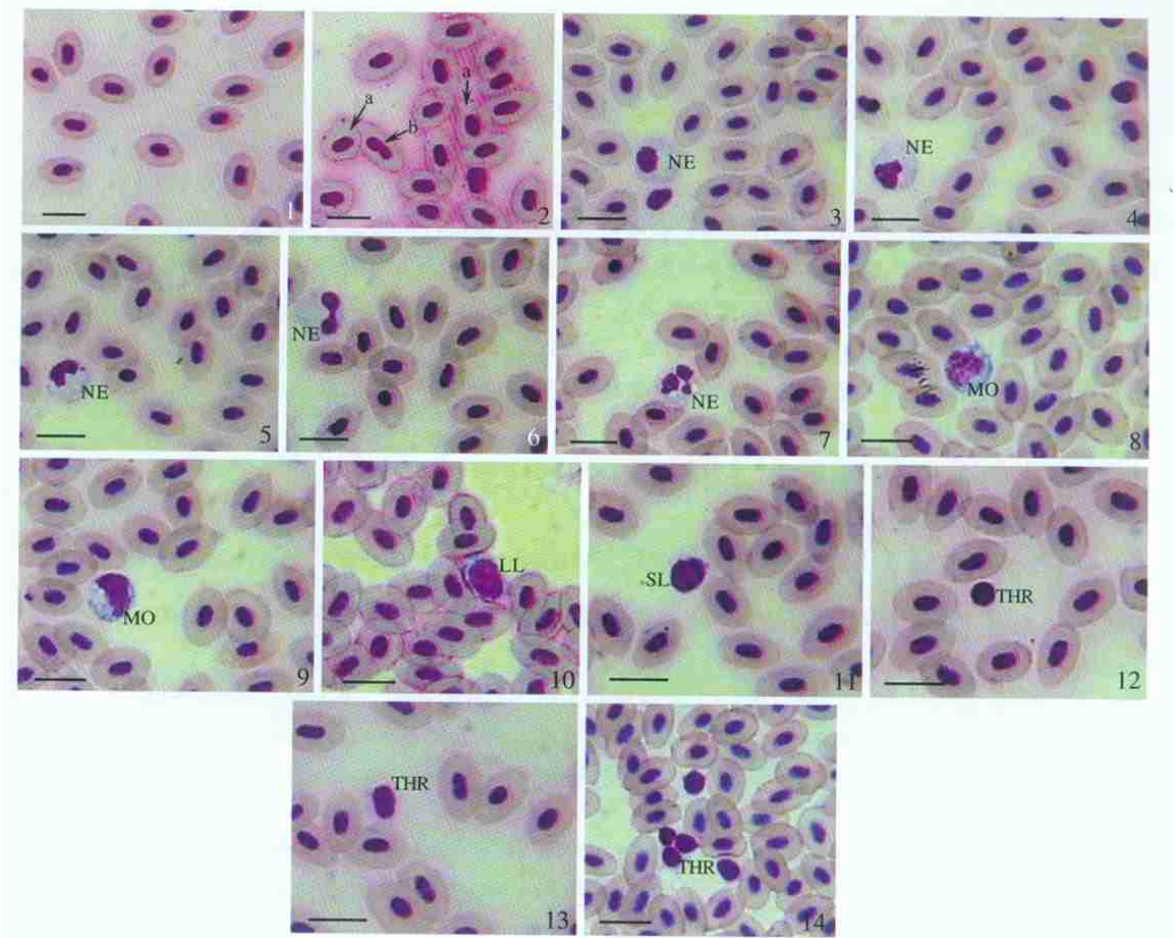
- 察. 水产科学, 2005, **24**(6): 24 ~ 27.
- [9] 杜震宇, 刘永坚, 田丽霞等. 饥饿对于鲈肌肉、肝脏和血清主要生化组成的影响. 动物学报, 2003, **49**(4): 458 ~ 465.
- [10] Yuan W, Li X, Kangjian Y, *et al.* Effect of beta-cypermethrin on GPT and GOT activities of crucian serum. *Agricultural Science & Technology*, 2005, **6**(1): 20 ~ 23.
- [11] 罗毅平, 袁伦强, 曹振东等. 嘉陵江大鳍鱮和瓦氏黄颡鱼血液学指标的研究. 水生生物学报, 2005, **29**(2): 161 ~ 166.
- [12] 殷名称. 太湖似刺鳊年龄和生长的研究. 生态学报, 1993, **13**(1): 38 ~ 44.
- [13] 徐豪, 张志宇. 四种淡水养殖鱼类血细胞的细微结构. 水生生物学集刊, 1983, **8**: 85 ~ 91.
- [14] 张海发, 王云新, 林鑫等. 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.
- [15] 林光华, 张丰旺, 洪一江等. 团头鲂和日本白鲫血液的比较研究. 动物学报, 1996, **42**(3): 260 ~ 268.
- [16] Harikrishnan R, Nisha-rani M, Balasund A. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*, 2003, **221**(1): 41 ~ 50.
- [17] Barcellos L J G, Kreutz L C, Rodrigues L B, *et al.* Haematological and biochemical characteristics of male jundi (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. *Aquacult Res*, 2003, **34**(15): 1 465 ~ 1 469.
- [18] 余卫红, 薛良义. 加州鲈血液生理生化指标的测定. 水利渔业, 2004, **24**(4): 41 ~ 42.
- [19] 郑卫东, 李大鹏. 中华鲟幼鱼的血液生化特性. 华中农业大学学报, 2007, **26**(1): 95 ~ 97.

徐钢春等:似刺扁蝱外周血细胞显微结构和血清生化指标的初步研究

图版

XU Gang-Chun *et al.*: Microstructure of Peripheral Blood Cells and Blood BiochemicalParameters in *Paracanthobrama guichenoti*

Plate



1. 红细胞; 2. 幼稚红细胞(a)和直接分裂的红细胞(b); 3~7. 嗜中性粒细胞; 8,9. 单核细胞; 10. 大淋巴细胞; 11. 小淋巴细胞; 12~14. 血栓细胞。标尺 = 10 μm

NE:嗜中性粒细胞; MO:单核细胞; LL:大淋巴细胞; SL:小淋巴细胞; THR:血栓细胞。

1. Erythrocyte; 2. Immature erythrocyte (a) and diving erythrocyte (b); 3 - 7. Neutrophil; 8,9. Monocyte; 10. Large lymphocyte; 11. Small lymphocyte; 12 - 14. Thrombocyte. Bar = 10 μm .

NE:Neutrophil; MO:Monocyte; LL:Large lymphocyte; SL:Small lymphocyte; THR:Thrombocyte.