DOI: 10.3724/SP.J.1035.2012.00665

饥饿对胭脂鱼血液指标及造血的影响

金 丽 赵 娜 周传江 黄 林 张耀光

(西南大学生命科学学院, 三峡库区生态环境与生物资源省部共建国家重点实验室培育基地, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 对胭脂鱼[体长 141—178 mm, 体重(94.82±4.52) g]在 26.0—27.5℃进行禁食, 研究了不同饥饿时间(0、5、10、20、30、60d)对其血液指标和造血的影响。结果表明, 饥饿对胭脂鱼 RBC、Hb、MCV、MCH 和 MCHC 等生理指标都有显著影响, 而对 WBC 和 HCT 影响不显著。饥饿 5—30d 之间, 外周血红细胞中含有较多数量的未成熟红细胞和较年轻的成熟红细胞, 饥饿至 60d 时新生红细胞的能力严重减弱。饥饿 60d 的胭脂鱼出现大量断裂核红细胞, 显示了营养不良造成的细胞病理学特征。血红蛋白含量和红细胞压积的变化与红细胞数量变化趋势一致。除胆固醇和谷草转氨酶外, 其余各项生化指标均受到饥饿的显著性影响。血糖对饥饿较敏感。持续饥饿使肾脏、头肾、脾脏、肝脏等造血器官体积减小、内部结构排列疏松、细胞萎缩、造血区解体。随饥饿时间的延长, 造血器官中成熟和趋向衰老的血细胞数量明显增多, 各种原始和幼稚血细胞减少, 造血机能下降, 甚至丧失。饥饿使胭脂鱼造血过程和原有红细胞的衰老过程减缓, 从而降低能量的代谢: 当饥饿对鱼的生存产生胁迫时, 作为能量节省机制, 保存现有红细胞和停止红细胞生成可能是鱼类耐受饥饿的常用对策。

关键词: 胭脂鱼; 饥饿; 血液指标; 造血作用; 造血器官

中图分类号: Q246; Q965 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2012)04-0665-09

由于自然界中食物分布在空间上的不均匀性、季节更替或环境剧变等原因, 鱼类经常会在生活周期的一定阶段面临食物资源的缺乏而受到饥饿胁迫[1]; 在人工饲养条件下由于饲养密度过大, 投喂不及时、投喂不均匀或投喂技术等原因, 鱼类也经常出现饥饿现象, 因而饥饿是鱼类生活史中经常面临的环境胁迫因子之一[2]。不同的鱼类忍受饥饿的能力和对饥饿的适应方式不同, 了解鱼类适应饥饿的生理生态机制, 不仅对全面阐明鱼类生物学特征有重要的理论价值, 而且对渔业资源管理和水产养殖也有重要的指导意义。血液在动物体内起着十分重要的作用, 与机体的代谢、营养状况、疾病及环境等密切相关[3]。当机体受到胁迫时, 变化最明显最快的是血液指标, 因此血液指标被广泛地用来评价鱼类的健康状况、营养状况及对环境的适应状况, 是良好的生理、病理和毒理学指标。

近几年来, 饥饿对鱼类血液指标的影响研究逐渐增多[4−10], 但饥饿对鱼类造血的影响却未见报道。胭脂鱼 *Myxocyprinus asiaticus*(Bleeker)属鲤形目(Cypriniformes)胭脂鱼科或称亚口鱼科(Catostomidae), 是国家二级保护动物, 饥饿对胭脂鱼血液学指标影响的研究尚无资料。本文就饥饿对胭脂鱼血液生理生化指标及造血的影响进行了研究, 以丰富鱼类的血液生态学、生理生态学内容, 也为胭脂鱼的养殖及疾病的监控提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用胭脂鱼由万州水产研究所赠予, 在实验室暂养 4 周后选健康活泼个体用于实验, 驯养期间

收稿日期: 2011-04-12; 修订日期: 2012-02-28

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2009C180); 重庆市自然科学基金计划重点项目(CSTS, 2009BA1053)资助

作者简介: 金丽(1977—), 女, 山东德州人; 博士; 主要从事渔业生物学研究。Email: jinll@swu.edu.cn

通讯作者: 张耀光, E-mail: zhangyg@swu.edu.cn

投喂万州水产研究所提供的胭脂鱼专用饵料。实验开始前一周开始控制实验条件直到实验结束, 水环境温度在 26.0—27.5℃之间, 充气泵持续充气以保证氧充足, 养殖密度在 10 尾/m^3。实验时间从 2008 年 7 月 7 日开始至 9 月 5 日结束, 共 60d。实验鱼共 60 尾, 体重(94.82±4.52) g, 体长 141—178 mm。性腺处于发育早期, 肉眼不能辨别雌雄, 因此未作雌雄区分。

1.2 实验方法

分组 实验鱼分 6 组, 即饥饿时间分别为 0(对照)、5、10、20、30、60d, 每组 10 尾鱼。

血样制备 用一次性无菌注射器从胭脂鱼尾动脉采血 1.5 mL, 分成两份, 一份用来制备血清, 测定各项生化指标; 另一份用来测定各项血液生理指标。采血全过程不超过 1min, 以免引起鱼体的应激反应影响血液指标[11]。

红细胞参数与生理指标的测定 血涂片空气干燥后吉姆萨染色, 每组分析 5 张涂片, 每片大约计数 4000 个细胞, 确定每种细胞类型的百分比。同样量化分叶红细胞和无核红细胞。

用图像处理软件 IPP 进行细胞形态测量。每组分析 5 张涂片, 每片测 50 个红细胞。测量红细胞面积、长短径及周长。红细胞形态系数(*S*)根据公式 $S=(4\pi A)P^{-2}$ 确定[12], 其中 *A* 是面积, *P* 是细胞周长, *S*=1 表示圆, *S*=0 表示线。

血细胞计数: 用 Dacie's 稀释液将血液稀释 200 倍在 Neubauer 计数板上完成计数。

红细胞压积(HCT): 通过毛细管血液离心机 3000 g 离心 10min 后读取。

血红蛋白(Hb): 取 20 μL 全血在 5 mL 氰化高铁溶液中摇匀放置 5min 后, 用血红蛋白仪测定。

平均红细胞体积(*MCV*)、平均红细胞血红蛋白含量(*MCH*)和平均红细胞血红蛋白浓度(*MCHC*)利用下列公式计算:

MCV(fL)=HCT/RBC(10^6/μL)

MCH(pg)=[Hb(gd/L)]×10/ RBC(10^6/μL)

$MCHC$(g/L)=[Hb(gd/L)]×10/ HCT

血液生化指标测定 包括: 血糖(GLU)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、甘油三脂(TG)、胆固醇(CHOL)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(AKP)、总胆红素(TB)、尿素(UREA)、肌酸酐(CREA)、血清氯(Cl)、血清钙(Ca)的测定。采用 Eos-bravo 全自动生化分析仪于 37℃下测定, 测定所用试剂和校准血清均由上海复星长征医学科学有限公司生产。

对造血器官的影响 解剖鱼体取肝脏、脾脏、头肾和体肾进行印片和组织学固定。印片经甲醇固定后吉姆萨染色; 组织学材料中性甲醛固定后石蜡切片, HE 染色。Nikon 80i 显微镜观察并拍照, IPP 软件测量。

数据分析 所得数据用微软系统软件和 SPSS(15.0)软件进行统计分析, 结果用平均值±SE 表示。差异显著性 $P < 0.05$。

2 结果

2.1 饥饿对血液生理指标的影响

WBC 数量在饥饿过程中先上升, 至第 5 天后出现下降, 至第 20 天又开始出现上升, 饥饿至第 30 天达到最大值, 约为饥饿前 WBC 数量的两倍(表 1)。饥饿 30d 后 WBC 数量又稍有下降, 但差异不显著。RBC 数量先升高后下降。在饥饿开始的前 10d 内 RBC 数量一直呈上升趋势, 在第 10 天升到最大值, 之后到第 60 天一直呈下降趋势, 在第 20 至第 30 天之间下降缓慢。Hb 含量先升高后下降, 在饥饿至第 10 天时达到最大值, 之后到第 60 天一直呈下降趋势。Hb 含量上升到最大值的时间与 RBC 数量上升到最大值的时间一致。而饥饿对 HCT 影响不大。平均红细胞体积 MCV 在饥饿过程中逐渐降低, 在饥饿 30d 时达到最小, 之后又出现上升。通过 ANOVA 分析结果显示, 饥饿对胭脂鱼 RBC、Hb、MCV、MCH 和 MCHC 都有显著影响, 而对 WBC 和 HCT 影响不显著。

2.2 饥饿对血液生化指标的影响

经 ANOVA 分析结果显示, 除 CHOL 和 AST 外, 胭脂鱼其余各项生化指标均受到饥饿的显著性影响(表 2)。

胭脂鱼的 GLU 对饥饿较敏感, 在饥饿的前 5d, GLU 迅速下降到饥饿前的 57.83%, 与饥饿前差异显著(P <0.05), 之后下降趋缓, 在 20d 时出现回升, 但各饥饿组间无显著性差异(P >0.05), 各饥饿组同对照组均有显著性差异(P <0.05)。

TP 和 ALB 在饥饿后有所增加, 5d 组最高, 与对照组差异显著(P <0.05), 之后缓慢下降。而 GLB 在饥饿 10d 时最高, 之后下降, 饥饿至 60d 时与对照组无显著差异(P >0.05)。

TG 和 ALT 在饥饿开始时下降显著(P <0.05), 第 5 天时分别降为对照组的 40.39%和 44.51%, 之后变化趋缓, 各饥饿组间无显著性差异(P >0.05)。

CHOL 在饥饿的前 30d 缓慢下降, 但各组间无显著性差异(P >0.05), 说明短期饥饿对 CHOL 无显著性影响; 但饥饿至 60d, 胆固醇下降为(2.68±0.43) mmol/L, 与对照组的(4.91±0.88)mmol/L 相比差异显著(P <0.05), 说明长期饥饿对胆固醇有显著性影响。

饥饿使胭脂鱼 AKP 下降显著, 第 5 天时为对照组的 59.68%, 至第 60 天时为对照组的 27.04%, 短期饥饿(<30d)各饥饿组间差异不显著(P >0.05), 但与长时间饥饿(>30d)相比差异显著(P <0.05)。

TB、CREA、UREA、Ca 和 Cl 在饥饿过程中都显著性降低。

2.3　饥饿对不同发育阶段红细胞数量和成熟红细胞形态的影响

饥饿前 20d, 成熟与未成熟红细胞的百分比显著降低(P <0.05), 以后保持缓慢减少, 但差异不显著(表 3), 直到饥饿 30d 以后, 未成熟红细胞的比例显著性降低(P <0.05), 饥饿至 60d 时产生新生红细胞的能力几乎消失。

在饥饿的前 5d 内, 红细胞长径、短径均减小(表 3)。红细胞形态系数在饥饿的前 30d 显著(P <0.05)高于对照组, 之后降低。饥饿 60d 时红细胞形态系数与对照组无显著性差异。胞核长径在饥饿前 10d 先增大, 10d 后逐渐减小, 饥饿 10d 时长径最大, 与对照组及 60d 组都有显著性差异(P <0.05)。胞核短径一直减小, 且达到了显著性差异(P <0.05)。

表 1　饥饿对胭脂鱼血液部分生理指标的影响

Tab. 1　Effect of starvation on haematological parameters in *Myxocyprinus asiaticus*

指标 Parameters	对照 Control	5d 组 5 day group	10d 组 10 day group	20d 组 20 day group	30d 组 30 day group	60d 组 60 day group
RBC(10^{12}/L)	0.60±0.06^{d}	1.19±0.11^{bc}	1.47±0.09^{a}	1.33±0.10^{ab}	1.32±0.09^{ab}	1.03±0.06^{c}
WBC(10^{9}/L)	0.67±0.10^{b}	1.10±0.18^{ab}	1.02±0.17^{ab}	0.77±0.08^{b}	1.34±0.33^{a}	0.76±0.13^{b}
Hb(g/L)	55.20±3.50^{c}	79.20±1.42^{a}	81.80±2.29^{a}	78.30±6.90^{a}	73.20±5.50^{ab}	65.10±1.88^{bc}
HCT(%)	31.50±1.82^{abc}	33.42±1.40^{a}	33.27±2.14^{ab}	31.39±3.86^{ac}	26.19±1.79^{c}	31.59±1.27^{abc}
MCV(fl)	542.03±47.04^{a}	286.61±20.35^{b}	228.33±14.22^{bc}	224.04±43.65^{bc}	199.60±13.31^{c}	307.98±11.04^{b}
MCH(pg)	93.86±5.32^{a}	68.04±4.56^{b}	56.23±2.37^{b}	59.28±5.04^{b}	55.54±2.97^{b}	64.17±4.93^{b}
MCHC(g/L)	175.90±9.09^{c}	238.63±10.37^{ab}	249.51±15.94^{ab}	258.01±24.60^{a}	281.80±20.24^{a}	207.70±11.45^{bc}

注: 数据用平均值±SE 表示, n=10; 同一行中上标 a, b, c, d 表示差异显著(P<0.05); 下同

Note: The data were expressed as mean± S.E. Different superscripts in the same row indicate significant (P<0.05) difference between groups; the same bellow

表 2　饥饿对胭脂鱼血液生化指标的影响

Tab. 2　Effect of starvation on serum biochemical values in *Myxocyprinus asiaticus*

指标 Parameters	对照 Control	5d 组 5 day group	10d 组 10 day group	20d 组 20 day group	30d 组 30 day group	60d 组 60 day group
GLU	7.66±0.79^{a}	4.43±0.69^{b}	4.15±0.61^{b}	4.63±0.57^{b}	3.99±0.77^{b}	4.68±0.51^{b}
TP	28.72±2.48^{b}	34.97±1.21^{a}	31.62±1.23^{ab}	28.20±2.77^{b}	20.71±1.69^{c}	20.89±1.42^{c}
ALB	15.40±1.70^{b}	18.60±0.60^{a}	11.46±1.26^{c}	9.58±0.49^{cd}	8.06±0.39^{d}	7.84±0.45^{d}
GLB	13.33±1.48^{b}	16.38±0.75^{ab}	20.16±2.01^{a}	18.63±2.33^{a}	12.65±1.61^{b}	13.05±1.61^{b}
TG	3.54±0.88^{a}	1.43±0.21^{b}	1.37±0.07^{b}	1.48±0.21^{b}	1.04±0.10^{b}	0.95±0.09^{b}
CHOL	4.91±0.88^{a}	4.67±0.70^{ab}	4.59±0.82^{ab}	4.84±0.63^{a}	3.66±0.61^{ab}	2.68±0.43^{b}
ALT	13.93 ±1.49^{a}	6.20±1.92^{b}	5.44±1.39^{b}	5.23±0.91^{b}	8.03±0.71^{b}	6.28±1.21^{b}
AST	221.90±11.06	266.78±34.60	300.29±33.06	297.43±40.80	309.97±54.20	314.33±24.32
AKP	81.43±5.98^{a}	48.60±5.34^{b}	48.20±19.16^{b}	42.04±5.16^{b}	34.10±3.45^{bc}	22.02±1.61^{c}
TB	776.03±94.62^{a}	750.37±56.30^{a}	316.17±37.28^{b}	335.53±18.87^{b}	257.32±50.16^{b}	302.32±23.73^{b}
UREA	1.55±0.36^{a}	1.40±0.20^{ab}	0.93±0.15^{bc}	0.59±0.05^{c}	0.67±0.05^{c}	0.46±0.10^{c}
CREA	83.16±8.89^{a}	75.30±1.76^{ab}	65.19±1.93^{bc}	60.38±4.19^{c}	59.80±1.68^{c}	58.74±1.97^{c}
Cl	110.84±6.63^{ab}	114.07±3.66^{a}	99.67±1.53^{c}	104.09±1.96^{bc}	99.44±1.40^{c}	105.88±1.34^{bc}
Ca	2.57±0.16^{a}	2.76±0.11^{a}	2.57±0.19^{a}	2.44±0.14^{ab}	2.17±0.11^{b}	1.77±0.09^{c}

表 3 不同饥饿时间下胭脂鱼外周血未成熟红细胞与成熟红细胞的比例及红细胞形态特性
Tab. 3 Proportion of erythrothoid cells and morphological parameters of erythrocytes in circulation of control and starved groups

项目 Item	对照 Control	5d 组 5 day group	10d 组 10 day group	20d 组 20 day group	30d 组 30 day group	60d 组 60 day group
幼红细胞(%) Immature erythrocyte	3.36±0.88^{a}	1.88±0.37^{ab}	1.10±0.30^{bc}	0.66±0.30^{bc}	0.66±0.59^{bc}	0.01±0.01^{c}
红细胞(%) Erythrocyte	94.67±1.15^{b}	96.68±0.37^{a}	96.21±0.34^{ab}	96.81±0.20^{a}	95.35±0.59^{ab}	97.57±1.38^{a}
双叶(核)红细胞(%) Bilobed erythrocyte	0.15±0.06^{c}	0.65±0.24^{c}	1.72±0.35^{ab}	1.72±0.30^{ab}	1.89±0.47^{a}	0.74±0.18^{bc}
退化红细胞(%) Degenerating erythrocyte	1.81±0.35	0.79±0.12	0.97±0.08	0.81±0.12	2.09±0.97	1.68±1.19
细胞长径(μm) Major diameter of cell	14.00±0.09^{a}	13.60±0.07^{b}	13.77±0.06^{b}	13.62±0.06^{b}	13.59±0.07^{b}	14.05±0.11^{a}
细胞短径(μm) Minor diameter of cell	9.89±0.07^{a}	9.73±0.05^{b}	9.42±0.05^{c}	9.27±0.05^{d}	9.30±0.05^{cd}	9.85±0.06^{ab}
细胞形态系数 Shape factor	0.69±0.01^{b}	0.80±0.00^{a}	0.80±0.00^{a}	0.81±0.00^{a}	0.80±0.00^{a}	0.68±0.01^{b}
胞核长径(μm) Major diameter of nuclear	6.66±0.05^{b}	6.84±0.04^{a}	6.85±0.04^{a}	6.74±0.04^{ab}	6.67±0.04^{b}	6.37±0.08^{c}
胞核短径(μm) Minor diameter of nuclear	4.08±0.03^{a}	3.85±0.03^{b}	3.89±0.02^{b}	3.65±0.02^{c}	3.54±0.02^{d}	3.33±0.04^{e}

2.4 饥饿对造血器官及造血的影响

造血器官 在饥饿的短时间内(<5d), 腹腔内脂肪明显, 同对照组相比, 肝脏及造血器官没有明显的变化。随饥饿时间的延长, 各造血器官柔韧性明显下降, 脆性增加。腹腔内脂肪逐渐被吸收, 肝脏萎缩, 体积变小, 肝细胞由多角形(图版Ⅰ-1)变成圆形, 细胞体积也显著性(P <0.05)缩小(图 1; 图版Ⅰ-2), 排列逐渐疏松。饥饿至 60d 时肝细胞有解体现象, 窦状隙增多(图版Ⅰ-3)。正常鱼脾脏表面有光泽, 暗红色呈光滑细长条状。长期饥饿使胭脂鱼脾脏明显肿胀缩短、颜色变深、表面粗糙黯淡无光泽; 经切片发现其内成熟或衰老红细胞较对照组(图版Ⅰ-4)明显增多(图版Ⅰ-5)。头肾和体肾的体积也明显下降, 柔韧性下降, 成熟红细胞数量明显增多。对照组头肾的造血组织均匀密实(图版Ⅰ-6), 而饥饿各组均表现出造血组织变得疏松, 饥饿 30d 后黑色素巨噬(细胞)中心数量增多(图版Ⅰ-7)。对照组体肾的肾间造血组织充实紧密(图版Ⅰ-8), 饥饿 10d 时肾间造血组织(造血区)开始减少, 变得疏松, 饥饿 30d 时肾单位与造血区出现分离, 饥饿至 60d 时肾单位周围的造血区大面积减少, 肾小球缩小, 肾小囊腔隙增大, 黑色素巨噬中心数量增多(图版Ⅰ-9)。

造血机能 造血器官中成熟和趋向衰老的血细胞数量明显增多, 各种原始和幼稚血细胞减少, 造血机能下降。对照组肝脏有微弱的产生红细胞的功能, 饥饿使其造血功能减弱, 饥饿 60d 时, 肝脏印片中已很难见到原始血细胞。与对照组相比, 脾脏印片内造血细胞也减少, 成熟及衰老(退化)红细胞增多。正常组肾脏印片中各种原始及幼稚血细胞分布均匀, 且数量较多, 成熟红细胞较少。饥饿早期对肾脏造血功能的影响不显著。随饥饿时间延长, 肾脏印片中的原始及幼稚血细胞分布逐渐不均匀, 饥饿 60d 时, 印片中的各种原始血细胞的分布已经极度不均匀, 出现大面积无原始血细胞区, 成熟红细胞增多, 此时在印片中准确计数已十分困难。而胭脂鱼最主要的造血器官肾脏(头肾和体肾)中的造血组织随饥饿时间的延长逐渐变得疏松, 也说明造血机能逐渐减弱。

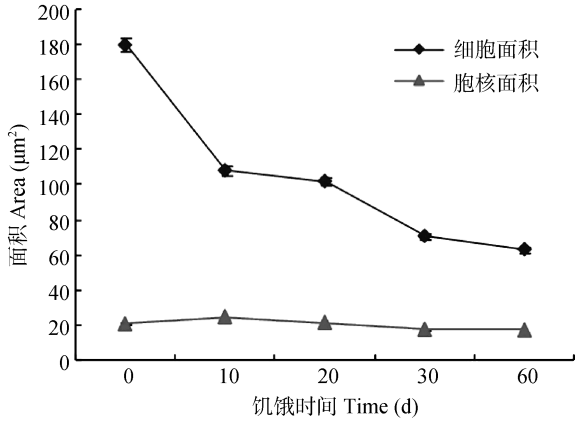


图 1 胭脂鱼肝细胞大小随饥饿时间的变化
Fig. 1 The changes on size of heptic cells in *Myxocyprinus asiaticus* during starvation

3 讨论

血液变化是由内因和外因共同引起的。包括血液采样、季节变化、大小、遗传特性、性腺成熟度、种群密度、食物缺乏、环境压力等都会影响血液学数据[13−17], 因此研究者在建立参考间隔和作比较时必须十分谨慎。由于实验条件不同, 实验结果往往是不能直接比较的。本实验用胭脂鱼为 14 月龄的人工养殖个体。性腺处于发育早期, 肉眼不能辨别雌

雄, 因此未作雌雄区分。实验开始前一周开始控制实验条件直到实验结束, 水温在 26.0—27.5℃之间, 充气泵持续充气以保证氧充足, 养殖密度在 10 尾/m^3, 实验鱼体重(94.82±4.52) g, 运动及摄食情况良好, 体表检测无寄生虫, 无损伤。因此本实验结果对 26.0—27.5℃的人工养殖条件下, 健康状况良好, 处于最佳水环境无胁迫的胭脂鱼幼鱼是有效的。潘莹等[17] 2008 年对 2 龄胭脂鱼 RBC、WBC、Hb 及 SOD 和溶菌酶活性作了测定, 但其测定季节、水环境和温度等均与本实验不同, 因此和本实验所得数据无直接可比性。

3.1　饥饿对胭脂鱼红细胞参数的影响

对一些鱼类的研究表明, 血液红细胞数量(RBC)和红细胞压积(HCT)随着饥饿时间的延长而下降[4−6]。本研究显示胭脂鱼在饥饿的短期内(5d 左右), 红细胞数量显著性上升, 与鲫鱼[5]、奥利亚罗非鱼[6]、泥鳅[7]等的红细胞数量下降明显不同。但随饥饿时间的延长, 胭脂鱼红细胞数量下降, 这与王爱民等[8]对异育银鲫的研究结果相似, 只是异育银鲫饥饿 20d 后红细胞数量才开始下降, 比胭脂鱼更晚。胭脂鱼血红蛋白含量和红细胞压积的变化趋势与红细胞数量变化趋势一致, 但血红蛋白含量的最高值(饥饿 10d 时)和红细胞数量(饥饿 10d 时)达最高值的时间一致, 在时间上滞后于红细胞压积(饥饿 5d 时)。这与异育银鲫的红细胞数量变化滞后于血红蛋白不同[8]。红细胞压积降低除了与红细胞数量的减少直接有关外, 还与红细胞体积的变化及血浆中蛋白含量的变化有关[4]。胭脂鱼饥饿的前 10d 红细胞数量剧增, 但压积变化不大, 由此说明平均红细胞体积变小。饥饿 5d 时压积达到最大值, 而此时红细胞数量和血红蛋白含量还在上升, 说明饥饿前 5d, 平均红细胞体积(MCV)减小较快, 在新生红细胞不断释放到外周血中的同时, 原有红细胞走向衰老的速度减慢。饥饿 10d 时, 新生红细胞量逐渐减少, 新生红细胞增加的体积开始小于衰老过程中红细胞减少的体积, 而其成熟过程中体积减小和平均血红蛋白含量(MCH)增加, 因此血液血红蛋白含量(Hb)达到最大, 而此时红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)增加, 说明外周血中趋向衰老的红细胞百分比增加, 红细胞衰老过程减慢。因此, 饥饿使胭脂鱼造血过程和原有红细胞的衰老过程减缓, 从而降低能量的代谢, 减少对贮存能量的利用, 维持机体的基本生命活动。因此可以看出: 当饥饿对鱼体生存产生胁迫时, 作为能量节省机制, 保存现有红细胞和停止红细胞生成可能是鱼类耐受饥饿的常用对策。但是, 目前可比较的有效数据较少[12], 因此包括更多物种的进一步研究来证明这一假设是十分必要的。

Arnold[13]认为在软骨鱼类, 手工红细胞计数缺乏精确性, 而这种精确度是准确评估贫血或计算 MCV 与 MCH 值所必需的。Blaxhall, *et al*.[18]通过对硬骨鱼类的研究, 得出结论人工红细胞计数是不准确的, MCV 和 Hb 是评估鱼类贫血的较好指标。而 Vázquez, *et al*. [19]认为 MCV 和 Hb 的确是评估鱼类贫血的较好指标, 但人工红细胞计数也是足够精确的方法, 因为暴露于化学胁迫下的鱼和正常对照处理的鱼, 其红细胞数量有明显的差异。本实验通过对不同饥饿时间段的胭脂鱼外周血液进行红细胞计数发现, 不同组间存在显著性差异, 这说明人工红细胞计数也是相对准确的, 赞同 Vázquez 的观点。

在饥饿的前 5d 内, 红细胞长径、短径及面积均减小, 说明红细胞体积减小, 这同 MCV 变化一致。饥饿 5—30d 之间较高的红细胞形态系数说明红细胞整体形态较圆, 这反映了外周血红细胞中含有较多数量的未成熟红细胞和较年轻的成熟红细胞。饥饿 60d 时红细胞形态系数恢复到对照组水平, 但各类红细胞的比例与对照组并不相同, 幼稚红细胞很少, 且成熟红细胞多处于晚期的退化状态。胞核面积显著性减少, 也说明红细胞多处于成熟的晚期状态。这也反映了饥饿对造血功能有一定的影响, 长期饥饿使胭脂鱼造血机能下降甚至消失, 外周血中没有新生细胞代替即将衰老的细胞, 致使外周血中红细胞老龄化。

在某种病理条件下, 成熟红细胞会出现异状性。双叶红细胞在正常健康鱼外周血中出现的频率很低[20]。在饮食病理、贫血和胁迫状态下的鱼中发现这种细胞的百分比增加[20, 21]。Houston, *et al*. [20] 认为双叶细胞是无丝分裂红细胞, 来完成短期内提高氧运输能力。但 Ellis[22]认为双叶红细胞是一种病态断裂或衰老的形式。以上因素提示双叶形态和凋亡过程相关。虹鳟缺乏叶酸时, 有无核红细胞或分叶或片段化的细胞核形成[23]。饥饿 60d 的胭脂鱼出现大量断裂核红细胞, 显示了营养不良造成的细胞

病理学特征。

3.2 饥饿与血糖

一般认为饥饿使鱼类血浆葡萄糖(血糖, GLU)降低。丁鳜饥饿 7d 时, GLU 浓度显著性降低[24]。高首鲟在饥饿的前 70d 内, 其血糖、血脂显著减少[19]。鲫鱼[5]、鲈鱼[10]的 GLU 浓度在饥饿第 1 周显著下降, 随时间的延长, GLU 浓度略有降低, 但差异不明显。与此类似, 胭脂鱼血糖浓度在前 5d 显著下降, 之后变化差异不显著, 说明血糖在饥饿初期下降显著, 之后鱼体通过自身的调节, 使血糖维持在一个较低的相对稳定的水平, 以维持生命基本活动。血糖是许多组织的必需能量来源, 可以被机体直接利用。鱼体的糖类以糖原的形式存在于肝脏和肌肉中。牙鱼在饥饿过程中, 无外界能源物质的摄入, 其饥饿最初消耗的能源物质来源于糖原和内脏周围的脂肪[25]。在本实验中虽未检测糖原的含量, 但解剖学上观察到内脏周围的脂肪逐渐减少, 肝脏体积明显减小; 在组织学水平观察到肝细胞体积显著性减小, 细胞空泡化, 这也暗示肝细胞内糖原及脂滴等含量减少。胭脂鱼在饥饿过程中除肝脏体积明显减少外, 其活动明显减少。在面临食物缺乏或饥饿时, 为节省能量, 保存生命, 鱼类不得不减少活动, 甚至通过转换成冬眠或夏眠的麻痹状态以克服不利条件, 保存生命[26, 27]。

3.3 饥饿对造血的影响

正常鱼的各造血组织细胞舒展, 造血区域造血细胞充实, 随着饥饿时间的延长造血器官的组织细胞变小, 造血区域变小, 窦状隙增大。这说明造血功能受到严重影响。而随着饥饿时间的延长, 外周血红细胞系各阶段细胞计数发现成熟后期的红细胞及衰老红细胞增多, 幼红细胞减少, 也说明循环中现有红细胞没有新生的细胞取代, 从侧面也反映了红细胞生成大大减弱。在脾脏中衰老红细胞明显增多说明脾脏不仅是造血器官, 还是衰老血细胞的清除器官。饥饿造成脾脏功能的减弱, 加之鱼体内成熟晚期及衰老红细胞的逐渐增多, 因此脾脏中衰老红细胞比例大幅上升。从对造血的影响来看, 14 月龄胭脂鱼在 26.0—27.5℃时饥饿 60d 可能已达到饥饿极限, 造血器官受到严重损伤, 造血机能严重减弱, 即使再投喂, 恢复期也会很长, 短期内很难恢复或根本无法恢复。

在饥饿过程中红细胞的大小、数量、形态、类型变化说明: 饥饿初期, 造血器官机能尚属正常, 通过动员造血器官产生红血细胞, 并提前释放至外周血中, 用以维持机体的正常生理机能, 因此外周血中幼稚红细胞数量上升; 随着饥饿胁迫程度的增加, 造血器官机能不足, 幼稚红细胞数量明显减少, 外周血中衰老红细胞数量增加, 机体的正常生理机能受到影响; 饥饿胁迫严重时, 造血器官结构受到严重损伤, 造血机能严重削弱, 外周血中以衰老红细胞为主, 鱼体正常的生理机能完全紊乱, 生存受到严重威胁。这表现出饥饿——造血器官——血细胞形态数量与类型——生理机能之间的密切关系。

参考文献:

[1] Xie X J, Deng L, Zhang B. Advances and studies on eco-physiological effects of starvation on fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, **22**(2): 181—188 [谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展. 水生生物学报, 1998, **22**(2): 181—188]

[2] Sun H M, Huang Q, Cong B. Effects of starvation on factors associated with immunity in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, **21**(4): 307—310 [孙红梅, 黄权, 丛波. 饥饿对黄颡鱼血液中几种免疫相关因子的影响. 大连水产学院学报, 2006, **21**(4): 307—310]

[3] Gabriel U U, Ezeri G N O, Opabunmi O O. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822) [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2004, **3**(9): 463—467

[4] Chen H Q, Yang W G. Effects of starvation on some blood properties of Japanese eel, *Auguilla japonica* [J]. *Fisheries Science*, 2001, **20**(2): 10—11 [陈惠群, 杨文鸽. 饥饿对鳗鲡某些血液指标的影响. 水产科学, 2001, **20**(2): 10—11]

[5] Cheng C, Shi G M. Effects of starvation on blood physio-biochemical indices and hemorheological properties of *Carassius auratus* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, **24**(1): 516—519 [程超, 施光美. 饥饿对鲫鱼血液生理生化指标和流变学性质的影响. 中国农学通报, 2008, **24**(1): 516—519]

[6] Luo Z Y, Wang L, Wang B J, *et al*. Effects of compensatory growth of tilapia after starvation on its blood biochemical indices [J]. *Advances in Marine Science*, 2007, **25**(3): 340—345 [骆作勇, 王雷, 王宝杰, 等. 奥利亚罗非鱼饥饿后补偿生长对血液理化指标的影响. 海洋科学进展, 2007, **25**(3): 340—345]

[7] Huang B F, Tong X B, Luo J B. Effects of starvation on the blood indices of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **36**(6): 33—35 [黄辨非, 童响波, 罗静波. 饥饿对泥鳅某些血液指标的影响. 淡水渔业, 2006, **36**(6): 33—35]

[8] Wang A M, Ma D B, Lü L L, *et al*. Effects of starvation on growth and some blood physiological indicators of allogynogenetic crucian carp [J]. *Acta Agriculture Jiangxi*, 2007, **19**(5): 100—102 [王爱民, 马德斌, 吕林兰, 等. 饥饿对异育银鲫鱼种生长及部分血液生理指标的影响. 江西农业学报, 2007, **19**(5): 100—102]

[9] Hung S S O, Liu W, Li H, *et al*. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus* [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**(1—4): 357—363

[10] Qian Y X, Chen H Q, Sun J F. Effects of starvation on hematological and blood biochemical indices in cultured *Lateolabrax japonicas* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2002, **9**(2): 133—137 [钱云霞, 陈惠群, 孙江飞. 饥饿对养殖鲈鱼血液生理生化指标的影响. 中国水产科学, 2002, **9**(2): 133—137]

[11] Walencik J, Witeska M. The effects of anticoagulants on hematological indices and blood cell morphology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2007, **146**(3): 331—335

[12] Rios F S, Oba E T, Fernandes M N, *et al*. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traira, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2005, **140**(3): 281—287

[13] Arnold J E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs [J]. *Veterinary clinical pathology*, 2005, **34**(2): 115—123

[14] Kori-Siakpere O, Ake J E G, Idoge E. Haematological characteristics of the African snakehead, *Parachacnna obscura* [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2005, **4**(6): 527—530

[15] Guijarro A I, Lopez-Patiño M A, Pinillos M L, *et al*. Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench [J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, **62**(4): 803—815

[16] Benfey T J, Biron M. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) [J]. *Aquaculture*, 2000, **184**(1-2): 167—176

[17] Pan Y, Tang W Q, Zhang Y J, *et al*. Parts of hematology indexes of *Myxocyprinus asiaticus* and the response to the water of Suzhou Creek [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, **17**(4): 440—446 [潘莹, 唐文乔, 张饮江, 等. 胭脂鱼部分血液学指标测定及其对苏州河水的响应. 上海水产大学学报, 2008, **17**(4): 440—446]

[18] Blaxhall P, Daisley K. Routine hematololgical methods for use with fish blood [J]. *Journal of Fish Biology*, 1973, **5**(6): 771—781

[19] Vázquez G R, Guerrero G A. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes) [J]. *Tissue and Cell*, 2007, **39**(3): 151—160

[20] Houston A H, Murad A. Erythrodynamics in fish: recovery of the goldfish *Carassius auratus* from acute anemia [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1995, **73**(3): 411—418

[21] Noyes A D, Grizzle J, Mand Plumb J A. Hematology and histopathology of an idiopathic anemia of channel catfish [J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1991, **3**(3): 161—167

[22] Ellis A E. Bizzare forms of erythrocytes in a specimen of plaice, *Pleuronectes platessa* L. [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1984, **7**(5): 411—414

[23] Kawatsu H. Studies on the anemia of fish VII. Folic acid anemia in brook trout [J]. *Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory*, 1975, **25**(1): 21— 31

[24] De Pedro N, Delgado M J, Gancedo B, *et al*. Changes in glucose, glycogen, thyroid activity and hypothalamic catecholamines in tench by starvation and refeeding [J]. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 2003, **173**(6): 475—481

[25] Rios F S, Moraes G, Oba E T, *et al*. Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding [J]. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 2006, **176**(7): 721—728

[26] Rios F S, Kalinin A L, Fernandes M N, *et al*. Changes in gut gross morphometry of traíra, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after refeeding [J]. *Brazilian Journal of Biology*, 2004, **64**(3b): 683—689

[27] Rios F S, Kalinin A L, Rantin F T. The effects of long-term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, **61**(1): 85—95

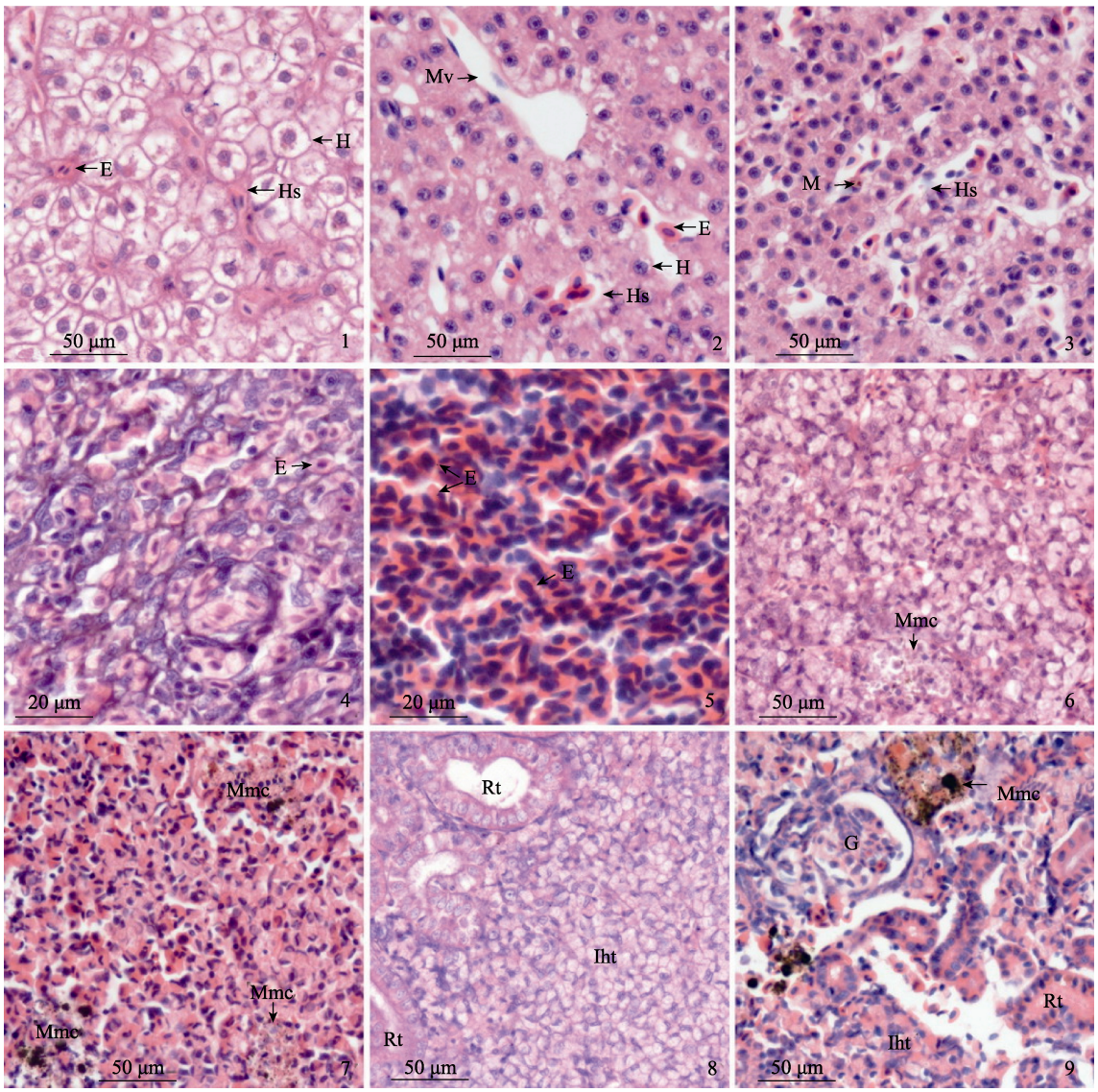
EFFECTS OF STARVATION ON HEMATOLOGICAL PARAMETERS AND HEMATOGENESIS IN *MYXOCYPRINUS ASIATICUS*

JIN Li, ZHAO Na, ZHOU Chuan-Jiang, HUANG Lin and ZHANG Yao-Guang

(*State Key Laboratory Breeding Base of Eco-Environment and Bio-Resource of the Three Gorges Area*, *Key Laboratory of Aquatic Organism Reproduction and Development*, *Ministry of Education*, *School of Life Science*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*)

Abstract: Hematological parameters are closely related to the response of the animal to the environment, an indication that the environment where fishes live could exert some influence on the hematological characteristics. Starvation is one of the stress factors that fish often undergo in their life history. There is a direct relationship between the resistance to some diseases and good nutritional state since fish immune systems are affected by nutritional state. *Myxocyprinus asiaticus* (Bleeker), Chinese suker, is a national protected species and an important resource for culture industry in China. Under this background, we observed the effects of starvation (0 to 60 days) on hematological parameters and hematopoiesis in Chinese suker. The specimens were (94.82±4.52) g in weight, 141–178 mm in length and maintained in tanks (10 individuals /m^3) supplied with a continuous flow of normoxic water, at average temperature of 26.5(26–27.5℃). After the acclimation period (7 days), fish were separated into six groups of 10 individuals each. The control group was sampled just after the acclimation period. The other five groups were distributed over five individual tanks. Each group was then subjected to a different period of food deprivation (5, 10, 20, 30 and 60 days). The result showed that starvation had significant effect on physiological parameters, such as RBC, Hb, MCV, MCH and MCHC, but the influence on WBC and HCT was not significant in *Myxocyprinus asiaticus*. When Chinese sucker were deprived of food from 5 to 30 days, circulatory erythroid cells included large numbers of immature erythrocytes and young erythrocytes. The decreased number of erythroblasts suggests that food deprivation impaired erythrocyte production in Chinese suker. The ability of generating new erythrocytes almost lost after 60 days of food deprivation. Blood cells had achieved their maximum age concomitant with the low nutrient/energy availability to cell replacement. Bilobed erythrocytes were observed in the blood of healthy fish at a low frequency, but stressed fish at a high frequency. The presence of a high number of erythrocytes with segmented nuclei in Chinese suker starved for 30 days may indicate cell pathology resulting from malnutrition. Changes of hemoglobin content and hematocrit were consistent with the changes in number of erythrocytes. hematological parameters were all effected by starvation except cholesterol and aspartate aminotransferase. Blood glucose is a sensitivity index to food deprivation. Continuous starvation caused significant changes of hematopoietic organs such as kidney, head kidney, spleen and liver. These included decreasing of cell volume, loosening of their cell arrangement, cellular atrophy and hematopoietic tissue disintegration. With the prolonging of starvation, the number of mature and degenerative blood cells increased significantly, and hematogonium and immature blood cells decreased in hematopoietic organs. Moreover, the function of hematopoiesis decreased, even lost finally. These changes coincided with the exhaustion of the main endogenous energy reserves. The period of 60 days of starvation seems critical to this species survival. The hematopoiesis and the senescence of existing erythrocyte were slowed down corresponding to starvation to slow down energy metabolism. It is possible that the preservation of existing erythrocytes and cessation of erythropoiesis is a strategy commonly employed by fish to tolerate starvation as an energy-saving mechanism. The biochemical parameters excepting cholesterol and aspartate aminotransferase were affected significantly by starvation.

Key words: *Myxocyprinus asiaticus*; Starvation; Hematological paremeters; Hematogenesis; Hematogenetic organs



图版 I　饥饿对胭脂鱼造血器官的影响

Plate I　Effects of Starvation on Hematogenetic organs in *Myxocyprinus asiaticus*

1. 对照组肝脏; 2. 饥饿 10d 的肝脏; 3. 饥饿 60d 的肝脏; 4. 对照组脾脏; 5. 饥饿 60d 的脾脏; 6. 对照组的头肾; 7. 饥饿 30d 的头肾; 8. 对照组的体肾; 9. 饥饿 60d 的体肾

1. liver of normal fish; 2. liver of 10d-starved fish; 3. liver of 60d-starved fish; 4. spleen of normal fish; 5. spleen of 10d-starved fish; 6. head kidney of normal fish; 7. head kidney of 30d-starved fish; 8. body kidney of normal fish; 9. body kidney of 60d-starved fish

H: 肝细胞; E: 红细胞; Hs: 肝血窦; Mv: 微血管; M: 巨噬细胞; Mmc: 黑色素巨噬中心; Rt: 肾小管; Iht: 肾间造血组织; G: 肾小球

H: hepatocyte; E: erythrocyte; Hs: hepatic sinusoid; Mv: microvessel; M: marophage; Mmc: melanin-macrophage center; Rt: renal tubule; Iht: interrenal hemopoietic tissue; G: renal glomerulus