

两种鲤科鱼类红细胞参数与体质量的异速关系*

周静¹, 吕潇², 石辰辰², 罗毅平²

(1. 重庆医药高等专科学校 临床学院, 重庆 401331; 2. 西南大学 生命科学学院, 重庆 400715)

摘要:【目的】研究细胞大小随体质量增长的异速规律。【方法】以鲤(*Cyprinus carpio*)和鲫(*Carassius auratus*)为对象,测定不同体质量个体的红细胞数量、大小及血红蛋白含量,分析各参数随个体生长的异速规律,为检验细胞代谢假说提供基础资料。【结果】鲤红细胞大小随体质量增加的异速指数仅为0.037,鲫红细胞大小不随体质量增加而变化;估测它们的代谢率异速指数预测值分别为0.987和1,大于文献实测值。鲫红细胞面积大于鲤的红细胞面积,可能与二者基因组大小差异有关。鲤血红蛋白随体质量增长而增加,但在鲫中无明显变化。【结论】研究结果不支持细胞代谢假说,推测分别与鲤红细胞随体质量增长而增大而鲫红细胞无明显增大有关。

关键词:体质量;鲤;鲫;红细胞面积;血红蛋白含量

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2017)04-0024-04

动物体形态和功能随体质量增长的异速变化是动物生理生态学的重要科学问题之一。新陈代谢随体质量增长的变化可能受动物体各结构层次的形态和尺度限制,进而可能影响发育、性成熟、变异、分化和进化速率^[1],而细胞大小可能是其中重要的代谢限制因子之一^[2-4]。细胞大小的变化可造成细胞膜相对面积的变化,从而影响物质和能量的交换;当细胞增大时,细胞表面积与体积比减小,因而代谢活性降低。有研究者因此提出了著名的细胞代谢假说(Cell metabolism hypothesis):当个体增大完全依赖于细胞增多时,代谢水平的异速指数为1;当个体增大完全依赖于细胞增大时,代谢水平的异速指数为2/3^[5-6]。

红细胞具运载氧气的功能,它的大小与其他多种细胞的大小呈正相关关系,因此红细胞大小、数量随生长的变化对代谢异速可能有重要限制^[6-11],研究表明,代谢水平较高的动物通常具有较大的红细胞表面积/体积^[12]。在脊椎动物中,鱼类红细胞大小的种间变幅最大(接近30倍)^[13],但有关鱼类红细胞大小随体质量变化的研究资料仍相当匮乏,已有研究仅报道了沙鳅(*Cobitis taenia*)的红细胞大小随体质量增加而增大^[9],而草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的红细胞随体质量增加无明显变化^[14]。鱼类的红细胞大小随体质量增长是否需要更多的研究资料。本研究以两种常见的鲤科(Cyprinidae)近缘鱼类鲤(*Cyprinus carpio*)和鲫(*Carassius auratus*)为对象,在前代谢异速研究的基础上^[11,15],测定不同体质量个体的血液中红细胞数量、大小及血红蛋白含量,并分析各血液参数随个体生长的异速规律,从而为检验细胞代谢假说提供基础资料。

1 材料和方法

研究所用的鲤和鲫采集自重庆市北碚区歇马鱼场,体质量范围均为5~300 g,运回实验室驯养14 d以上。驯养水体为曝气自来水,水温为(25±1)℃,水体溶氧量维持饱和,光照周期为12 h光照:12 h黑暗。采用商业饲料,按实验鱼体质量的1%于每日18:00投喂1次。驯养结束后,选取健康的实验鱼为对象,禁食1 d后开始取样观测,其中鲤和鲫的样本个数分别为74和76。

用质量浓度为0.15 g·L⁻¹的MS-222麻醉实验鱼,待实验鱼身体失去平衡,快速测定体质量(*M*)并精确到0.1 g,置于冰上在1 min内完成从尾柄静脉采血。采血器材用0.04 g·L⁻¹氟化钠和0.12 g·L⁻¹草酸钾组成的混合液抗凝。将所采血液分成3份,1份用质量浓度为6.5 g·L⁻¹的生理盐水稀释200倍后,用Neubauer计数板在显微镜下测定红细胞数量;1份用Wright's-Giemsa染液涂片^[16],用爱国者数码科技有限公司生产的EV5680B显微镜数码系统在视野内随机测定50个红细胞的长径(*L*)和短径(*W*),并求平均值。红细胞近似椭

* 收稿日期:2016-12-20 修回日期:2017-01-11 网络出版时间:2017-05-16 11:24

资助项目:国家自然科学基金(No.31672287)

第一作者简介:周静,女,讲师,博士研究生,研究方向为实验动物生理生化,E-mail:zj4321228@sina.com;通信作者:罗毅平,教授,E-mail:luoguo@swu.edu.cn

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20170516.1124.014.html>

圆形,它的大小以面积表示,计算公式为 $S=L \times W \times (\pi/4)$;1份采用碱化血红蛋白法测定血红蛋白含量。

实验数据采用 Excel 2003 进行常规计算后,采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。采用最小二乘方回归分析体质量与其他参数的关系;以体质量为协变量,采用协方差分析各参数之间的关系。当 $p < 0.05$ 时,统计结果具有统计学意义。

2 结果

本研究中鲤的体质量范围为 14.5~331 g,红细胞面积范围为 79.1~111.9 μm^2 ,与体质量具有统计学意义上的正相关关系($r^2=0.228, p < 0.0001$),两者关系式为 $S=81.0M^{0.037}$,其中异速指数为 0.037(图 1);血红蛋白含量范围为 49.3~160.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,也与体质量具有统计学意义上的正相关关系($r^2=0.156, p < 0.05$),异速指数为 0.103(图 2);红细胞数量范围为 $0.28 \times 10^9 \sim 2.87 \times 10^9$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,单位面积血红蛋白含量范围为 $0.38 \sim 3.82 \text{ pg} \cdot \mu\text{m}^{-2}$,二者随体质量增加均无明显变化(图 3,图 4)。控制体质量影响后,鲫的血红蛋白含量与红细胞面积和红细胞数量均具有统计学意义上的正相关关系($p < 0.05$)。

鲫的体质量范围为 4.5~323.9 g,红细胞面积范围为 84.2~158.5 μm^2 (图 1),血红蛋白含量范围为 78.7~129.6 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 2),红细胞数量范围为 $0.29 \times 10^9 \sim 3.26 \times 10^9$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ (图 3),单位面积血红蛋白含量范围为 $0.22 \sim 2.76 \text{ pg} \cdot \mu\text{m}^{-2}$ (图 4)。结果显示,鲫的红细胞面积、红细胞数量、血红蛋白含量和单位面积血红蛋白含量与体质量均无统计学意义上的相关性。控制体质量影响后,鲫的血红蛋白含量与红细胞面积和红细胞数量均具有统计学意义上的正相关关系($p < 0.05$)。

此外,控制体质量效应后,鲫的红细胞面积高于鲤,两者差异具有统计学意义($F=71.34, p < 0.05$);但是两者红细胞数量、血红蛋白含量和单位面积血红蛋白含量之间的差异均不具有统计学意义。

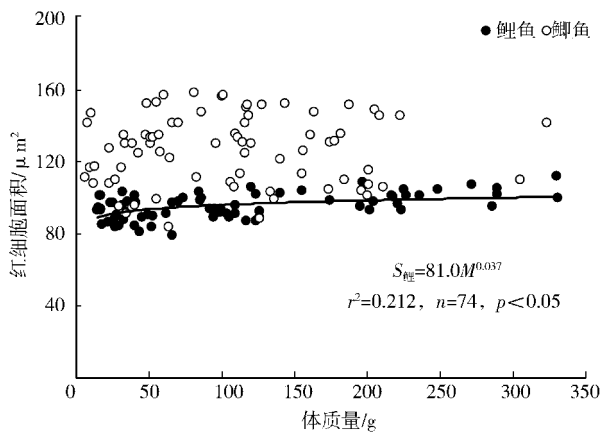


图 1 鲤和鲫的红细胞面积随体质量的变化

Fig. 1 The variations of red blood cell size with body mass in the common carp and the crucian carp

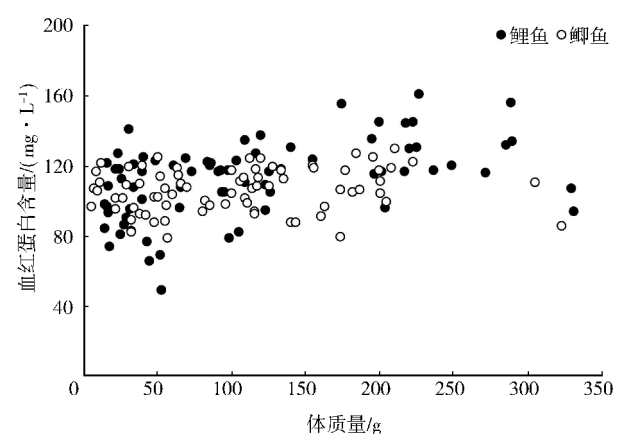


图 2 鲤和鲫的血红蛋白含量随体质量的变化

Fig. 2 The variations of hemoglobin content with body mass in the common carp and the crucian carp

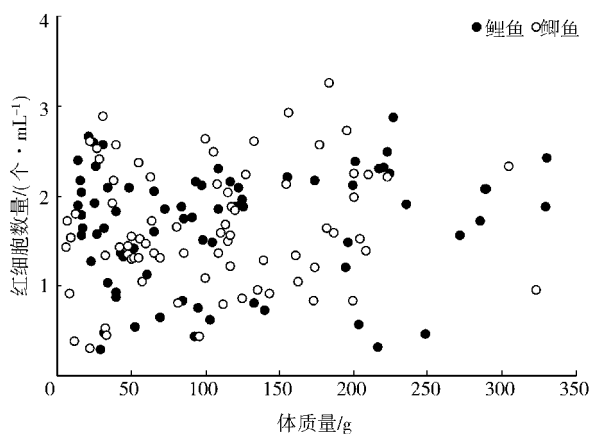


图 3 鲤和鲫的红细胞数量随体质量的变化

Fig. 3 The variations of red blood cell counts with body mass in the common carp and the crucian carp

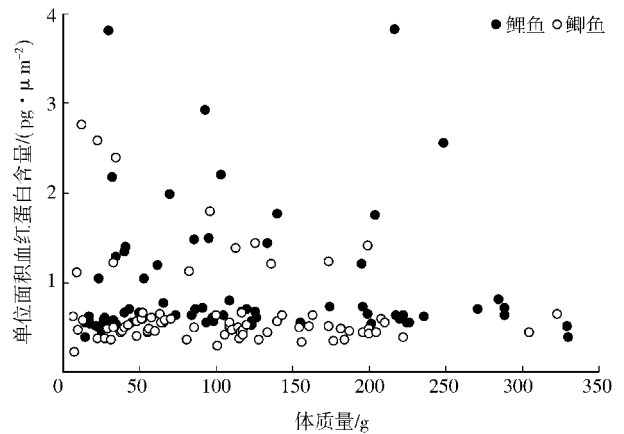


图 4 鲤和鲫的单位面积血红蛋白含量随体质量的变化

Fig. 4 The variations of hemoglobin content per area with body mass in the common carp and the crucian carp

3 讨论

本研究中测到的鲤、鲫红细胞参数与已有研究中相近体质量的鲤、鲫红细胞参数接近^[13,17]。结果发现,鲤红细胞大小随体质量增加的异速指数仅为 0.037,鲫红细胞大小甚至不随体质量增加而变化(图 1)。细胞大小与体质量的关系可用于解释代谢率的异速问题,即细胞代谢假说^[5-6]。该假说认为,在个体发育过程中,若细胞大小不变,则代谢率随体质量呈线型变化;若细胞大小随体质量增加,则代谢率随体质量呈负异速变化^[8]。根据这一假说,当细胞大小与体质量关系的异速指数为 0 时,代谢率的异速指数应为 1^[3-4,18],因此可以估测本研究中鲤和鲫的代谢率的异速指数预测值分别为 0.987 和 1^[19]。但前期研究实际测得鲤的代谢率异速指数值为 0.814,鲫的代谢率异速指数值为 0.776^[11,15],两者明显小于预测值。因此,本研究结果显然不支持细胞代谢假说。对草鱼的研究也发现了与本研究相似的结果^[14]。导致此类情况发生的可能原因有:1) 鱼类的红细胞未必能代表其他类型的细胞,尽管两栖类和鸟类的红细胞大小与其他类型的细胞大小紧密相关^[7,9],然而在哺乳类中却没有类似关系^[19],鱼类的红细胞大小与其他类型细胞大小的关系尚待研究;2) 除细胞表面积与体积比之外,细胞膜的渗透性、线粒体的活性与密度等其他与个体大小相关的因子也影响代谢水平^[19];3) 代谢活性器官比例随生长的变化也可能影代谢异速变化^[20-21]。

本研究中,鲫的红细胞面积大于鲤的红细胞面积,与前人的研究数据一致^[13]。细胞的大小往往与基因组大小有关,基因组较大的物种需要维持较大的细胞核,最终需要较大的细胞^[6]。鲫的基因组 C 值为 2.14^[22],明显大于鲤的 1.72^[23],故可造成这两种近缘物种的细胞大小存在较大差异。

此外,本研究中鲤的血红蛋白随体质量增长而增加,但在鲫中,这一现象并不明显(图 3)。由于血红蛋白含量与载氧能力有关^[24],表明鲤的血液载氧能力随鱼体的生长可能增强,而它的近缘物种鲫则无明显变化。但在另一种鲤科鱼类草鱼血液中,研究者也发现了血红蛋白含量随生长增高的现象^[14]。因此,血红蛋白含量随生长的变化可能不取决于种系关系。本研究中,鲤和鲫的血红蛋白含量均分别与红细胞面积和红细胞数量呈正相关关系,提示血液载氧能力的大小可由红细胞大小和多少共同决定。由于两种鱼类的红细胞数量和单位面积血红蛋白含量随体质量增长无明显变化(图 3,图 4),因此鲤的血红蛋白随体质量增长而增加在一定程度上由该物种的红细胞增大造成。而鲫的红细胞随体质量增长无明显增大,故该物种血红蛋白含量也相应地无明显增高。

参考文献:

- [1] BROWN J H, GILLOOLY J F, ALLEN A P, ET AL. Toward a metabolic theory of ecology[J]. *Ecology*, 2004, 85(7): 1771-1789.
- [2] GLAZIER D S. Beyond the '3/4-power law': variation in the intra- and interspecific scaling of metabolic rate in animals[J]. *Biological Reviews*, 2005, 80(4): 611-662.
- [3] GLAZIER D S. Scaling of metabolic scaling within physical limits[J]. *Systems*, 2014, 2(4): 425-450.
- [4] GLAZIER D S. Is metabolic rate a universal 'pacemaker' for biological processes? [J]. *Biological Reviews*, 2015, 90(2): 377-407.
- [5] DAVISON J. Body weight, cell surface and metabolic rate in anuran amphibian[J]. *Biological Bulletin*, 1955, 109(3): 407-419.
- [6] KOZŁOWSKI J, KONARZEWSKI M, GAWELCZYK A T. Cell size as a link between noncoding DNA and metabolic rate scaling [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2003, 100(24): 14080-14085.
- [7] STAROSTOVÁ Z, KUBIČKA L, KONARZEWSKI M, et al. Cell size but not genome size affects scaling of metabolic rate in eyelid geckos [J]. *American Naturalist*, 2009, 174(3): E100-E105.
- [8] STAROSTOVÁ Z, KONARZEWSKI M, KOZŁOWSKI J, et al. Ontogeny of metabolic rate and red blood cell size in eyelid geckos: species follow different paths [J]. *Plos One*, 2013, 8(5): e64715.
- [9] MACIAK S, JANKO K, KOTUSZ J, et al. M. Standard metabolic rate (SMR) is inversely related to erythrocyte and genome size in allopolyploid fish of *Cobitis taenia* hybrid complex [J]. *Functional Ecology*, 2011, 25(5): 1072-1078.
- [10] ZHANG Y R, HUANG Q D, LIU S T, et al. Intraspecific mass scaling of metabolic rates in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2014, 184(3): 347-354.
- [11] LUO Y, HE D, LI G, et al. Intraspecific metabolic scaling exponent depends on red blood cell size in fishes [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2015, 218(10): 1496-1503.
- [12] MILLIGAN C L. Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 1996, 113(1): 51-60.
- [13] Gregory T R. Animal genome size database [EB/OL]. [2016-12-10]. <http://www.genomesize.com>.

- [14] 张玉蓉, 黄庆达, 刘书婷, 等. 不同大小草鱼血液学指标研究[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2013, 30(1): 38-41.
ZHANG Y R, HUANG Q D, LIU S T, et al. Effect of body length on haematological parameters in *Mylopharyngodon piceus* [J]. Journal of Chongqing Normal University (Natural Science), 2013, 30(1): 38-41.
- [15] HUANG Q, ZHANG Y, LIU S, et al. Intraspecific scaling of the resting and maximum metabolic rates of the crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. Plos One, 2013, 8(12): e82837.
- [16] GAO Z X, WANG W M, ABBAS K, et al. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens [J]. Comparative Biochemistry and Physiology A, 2007, 147(4): 1001-1008.
- [17] MACIAK S, KOSTELECKA-MYRCHA A. Regularities of variation of the red blood indices characterizing the respiratory function of blood in selected fish [J]. Zoologica Poloniae, 2011, 56(1/2/3/4): 35-48.
- [18] SZARSKI H. Cell size and the concept of wasteful and frugal evolutionary strategies [J]. Journal of Theoretical Biology, 1983, 105(2): 201-209.
- [19] KOZŁOWSKI J, CZARNOŁĘSKI M, FRANÇOIS-KRASSOWSKA A, et al. Cell size is positively correlated between different tissues in passerine birds and amphibians, but not necessarily in mammals [J]. Biology Letters, 2010, 6: 792-796.
- [20] PORTER R K, BRAND M D. Cellular oxygen consumption depends on body mass [J]. American Journal of Physiology—Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 1995, 269 (1/2): 226-228.
- [21] SAVAGE V M, ALLEN A P, BROWN J H, et al. Scaling of number, size, and metabolic rate of cells with body size in mammals [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2007, 104(11): 4718-4723.
- [22] VINOGRADOV A E. Genome size and GC-percent in vertebrates as determined by flow cytometry: the triangular relationship [J]. Cytometry, 1998, 31(2): 100-109.
- [23] COLLARES-PEREIRA M J, MOREIRA DA COSTA L. Intraspecific and interspecific genome size variation in Iberian Cyprinidae and the problem of diploidy and polyploidy, with review of genome sizes within the family [J]. Folia Zoologica, 1998, 48(1): 61-76.
- [24] GRAHAM M S, HAEDRICH R L, FLETCHER G L. Hematology of three deep-sea fishes: a reflection of low metabolic rates [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1985, 80(1): 79-84.

Animal Sciences

Mass Scaling of Erythrocytes Parameters of Two Species of Cyprinids

ZHOU Jing¹, LÜ Xiao², SHI Chenchen², LUO Yiping²

(1. College of Clinical Medicine, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331;

2. School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: [Purposes] The relationship between cell size and body mass are studied here. [Methods] The common carp and the crucian carp were used as experimental animals in the present study to test the cell metabolism hypothesis, by determining the counts and sizes of the red blood cell and the hemoglobin concentrations of the fish with different body mass and analyzing their allometric relationships with body growth. [Findings] The red blood cell size scaled with body mass with an exponent of only 0.040, and the cell size of the crucian carp did not change with body mass. The theoretical metabolic scaling exponents would be 0.987 and 1 for the common carp and the crucian carp, and would be larger than those observed values by previous studies. [Conclusions] The results do not support the cell metabolism hypothesis. The red blood cell size of the crucian carp was larger than that of the common carp, which could be due to their different genome size. The hemoglobin concentration increased with body mass in common carp, but not significantly change in the crucian carp, which could be attributed to the increasing cell size of the common carp and unchanging cell size in the crucian carp.

Keywords: body mass; common carp; crucian carp; RBC surface area; hemoglobin content

(责任编辑 方 兴)