

北部湾棱皮树蛙外周血细胞显微结构观察

辛桂瑜^① 赵玲玉^② 贝永建^① 傅宏刚^① 卢玉莹^①
何相莲^① 黄彩诺^① 赖洁玲^{①*}

① 玉林师范学院生物与制药学院 玉林 537000; ② 贵州师范大学生命科学学院 贵阳 550025

摘要: 本文以人们极少关注的两栖动物北部湾棱皮树蛙 (*Theلودerma corticale*) 为研究对象, 采用瑞氏-姬姆萨混合染色法与血细胞计数法观察并统计了北部湾棱皮树蛙外周血细胞的形态特征和数量比例。结果显示, 北部湾棱皮树蛙的外周血由红细胞、嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞 (包括大、小淋巴细胞) 和单核细胞、血栓细胞 7 种细胞组成。其中, 红细胞的数目最多, 平均含量为 2.43×10^5 个/ mm^3 , 多呈椭圆形或卵圆形, 少数呈泪滴形、梨形、逗号形、梭形, 具椭圆或圆形核, 核染色质密集, 偶尔可观察到正在进行直接分裂或有丝分裂的红细胞。白细胞的数目比红细胞少, 平均含量为 1.74×10^4 个/ mm^3 , 其中, 小淋巴细胞占 $40.02\% \pm 1.77\%$ 、大淋巴细胞占 $10.83\% \pm 2.53\%$ 、单核细胞占 $23.17\% \pm 3.16\%$ 、嗜中性粒细胞占 $10.08\% \pm 4.62\%$ 、嗜碱性粒细胞占 $9.25\% \pm 2.69\%$ 、嗜酸性粒细胞占 $6.72\% \pm 1.50\%$ 。血栓细胞呈纺锤形和梭形, 常单独存在, 或者呈圆形和不规则圆形, 数个集合在一起。

关键词: 北部湾棱皮树蛙; 血细胞; 形态; 数量

中图分类号: Q952 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2020) 03-371-08

Microstructure of Peripheral Blood Cells in *Theلودerma corticale*

XIN Gui-Yu^① ZHAO Ling-Yu^② BEI Yong-Jian^① FU Hong-Gang^① LU Yu-Ying^①
HE Xiang-Lian^① HUANG Cai-Nuo^① LAI Jie-Ling^{①*}

① *College of Biology & Pharmacy, Yulin Normal University, Yulin 537000;*

② *School of Life Science, Guizhou Normal College, Guiyang 550025, China*

Abstract: The morphological characteristics of hemocytes in peripheral blood were investigated in *Theلودerma corticale* by the Wright-Giemsa staining method and manual counting of blood cells. The results showed that the peripheral hematocytes of the *T. corticale* were composed of erythrocytes, neutrophils, basophils and eosinophils, lymphocytes, monocytes, and thrombocytes (Fig. 1). Erythrocytes mostly were oval, elliptical and few were teardrop-shaped, pear-shaped, comma-shaped, spindle-shaped cells, and their mean density was 2.43×10^5 cells/ mm^3 . Occasionally, erythrocytes undergoing direct division or mitosis were

基金项目 环境保护部生物多样性保护专项, 大学生创新训练项目 (No. 201910606157, 201710606036);

* 通讯作者, E-mail: jllai_01@163.com;

第一作者介绍 辛桂瑜, 女, 讲师; 研究方向: 动物生态学; E-mail: xgy_4321@163.com。

收稿日期: 2019-11-07, 修回日期: 2020-03-24 DOI: 10.13859/j.cjz.202003011

observed. The mean of leucocytes was 1.74×10^4 cells/mm³. The proportions of small lymphocytes, large lymphocyte, monocytes, neutrophils, basophils and eosinophils were $40.02\% \pm 1.77\%$, $10.83\% \pm 2.53\%$, $23.17\% \pm 3.16\%$, $10.08\% \pm 4.62\%$, $9.25\% \pm 2.69\%$ and $6.72\% \pm 1.50\%$, respectively. Single thrombocyte was ovoid or spindle-like in shape and cluster thrombocyte was round and irregularly round in shape (Fig. 2 and Table 1).

Key words: *Theلودerma corticale*; Hemocyte; Morphology; Quantity

血液是动物体内重要的液体组织, 血细胞是组成血液的重要有形成分, 也是免疫防御系统的重要成分, 具有吞噬、分泌、修复损伤等功能, 参与机体的免疫应答 (Ellis 1977)。血细胞的形态特征同动物的分类、生理状况以及系统演化密切相关, 且可作为快速诊断动物体是否患有疾病的有效指标 (王静香 2011)。因而, 研究动物外周血细胞的形态特征和数量具有重要意义, 不仅提供了研究动物免疫功能的基础, 更有助于了解其血细胞发生的演化规律。此外, 两栖类动物的外周血细胞作为一种敏感的水环境污染指标 (Barmi et al. 2006), 通过对动物血细胞形态特征的观察和各类细胞的数量统计, 可推测其生活的水环境污染程度。因此, 越来越多的生物学家对动物血液学的研究感兴趣。北部湾棱皮树蛙 (*Theلودerma corticale*) 隶属于两栖纲 (Amphibia) 无尾目 (Anura) 树蛙科 (Rhacophoridae) 棱皮树蛙属, 主要分布在越南北部、我国华南地区的海南及广西和广东等地 (Chen et al. 2018)。北部湾棱皮树蛙生活在高海拔、丛林密集且阴暗潮湿的原始山林环境中, 种群数量极其稀少, 均为零星分布, 白天常隐藏在有水坑的落叶层下, 以掉落在水中的腐叶为食 (廖常乐 2013)。本研究采用瑞氏-姬姆萨 (Wright's-Giemsa's) 染色, 以人工计数法对采集于广西邦亮长臂猿国家级自然保护区的北部湾棱皮树蛙外周血细胞进行形态结构观察和数量统计, 并结合其生存环境, 与其他两栖类动物、鱼类以及爬行类动物的血细胞进行对比, 探讨北部湾棱皮树蛙的分化地位及生态适应性, 为两栖类血液学研究提供关于北部湾棱皮树蛙的基本血液学信息, 补充两栖类

血液生理学和比较细胞学的基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

2017年5月份自广西邦亮长臂猿国家级自然保护区采集北部湾棱皮树蛙亚成体4只, 体重为 (11.94 ± 1.35) g, 均为雄性。样品采集获得广西邦亮长臂猿国家级自然保护区管理局许可。

1.2 方法

经过玉林师范学院动物研究伦理委员会同意进行相关实验。对北部湾棱皮树蛙用双毁髓法破坏其脊髓, 然后立即打开围心腔, 用1 ml 无菌注射器从心取血后将新鲜血液滴到载玻片一端, 采用常规方法制作涂片, 每只蛙制作6张血涂片, 经快速瑞氏-姬姆萨 (Wright's-Giemsa's) 染色, 血涂片在Leica DC 500显微镜下使用油镜观察细胞的形态结构并拍照, 照片采用Adobe Photoshop CC软件处理。在Leica DC 500显微镜10×40倍镜下, 每张血涂片选取连续不重复的10个视野, 共计240个视野。每只蛙随机选取60个红细胞, 进行长短径的测量并计算比值; 每只蛙随机选取60个白细胞 (每种类型的白细胞各选取10个), 测量细胞大小 (长径×短径)。每只蛙的血涂片选取连续且不重复的若干个视野, 计数100个白细胞, 进行白细胞的分类计数 (differential leukocyte counts, DLC)。采用传统手工计数法, 在Neubaccer计数板上进行红细胞和白细胞的计数, 使用试管稀释法将北部湾棱皮树蛙新鲜血液用甲醛枸缘酸盐稀释液稀释200倍, 白细胞计数则用醋酸龙胆紫稀释液稀释20倍,

稀释后的血液滴入 Neubaccer 计数板中, 在显微镜下计数红细胞和白细胞数量, 每只蛙计数 3 或 4 次, 取平均值, 全部数据用 EXCEL 软件求出平均值和标准差。

2 结果

北部湾棱皮树蛙的外周血细胞由红细胞、嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和血栓细胞组成。红细胞长径为 $(21.24 \pm 0.73) \mu\text{m}$, 短径为 $(12.46 \pm 1.04) \mu\text{m}$, 红细胞长径与短径的比值为 1.75 ± 0.11 ; 红细胞的细胞核长径为 $(8.91 \pm 0.72) \mu\text{m}$, 核短径为 $(4.41 \pm 0.30) \mu\text{m}$, 核长径与短径的比值为 2.08 ± 0.21 。白细胞的形态参数详见表 1。

2.1 红细胞

外周血细胞中红细胞的数目最多, 平均为 2.43×10^5 个/ mm^3 。红细胞表面光滑, 形态上多呈卵圆形或椭圆形 (图 1a), 细胞核居中且呈圆形或椭圆形, 少数核偏位, 位于细胞一侧 (图 1b), 核内染色质密集, 经 Wright's-Giemsa's 染色后, 细胞核呈深紫红色, 细胞质颜色较浅, 呈浅红色。少数红细胞呈泪滴形、梨形、逗号形、梭形 (图 1c ~ f), 偶尔还观察到集群的红细胞, 以及细胞膜被破坏 (类似于棘细胞) 或膜皱缩的红细胞 (图 1g, h)。此外, 发现极少数的红细胞表面有小突起 (图 1i)。未成

熟红细胞呈圆形或椭圆形 (图 1j), 细胞核大且明显, 为圆形或椭圆形, 核质疏松, 染色较浅。

血涂片中还观察到正在分裂的红细胞, 多为直接分裂, 即先发生细胞核伸长, 后细胞拉长, 接着从中间发生缢裂, 细胞核向两边伸展, 中央凹陷呈哑铃形或肾形 (图 1k), 最后形成双核 (图 1e), 直至分裂成两个大小相似或一大一小的新细胞 (图 1l ~ n)。在血涂片中发现的梨形细胞 (图 1d) 即为直接分裂所产生, 而并非在制片过程中因外压力导致, 因为在视野中, 细胞各自尖端方向不同; 有时甚至能观察到无核红细胞的分裂形成过程及刚形成的无核红细胞 (图 1o, p)。除发现直接分裂的红细胞外, 偶尔发现正在进行有丝分裂的红细胞, 染色体清晰可见 (图 1q ~ s)。另外, 还可以观察到少量形状呈不规则圆形的“核影”红细胞 (图 1t), 与血液中其他有形成分不同, 被染成浅紫红色。

2.2 白细胞

白细胞形状多呈近圆形, 表面粗糙, 数量明显少于红细胞, 平均为 1.74×10^4 个/ mm^3 。根据其细胞质内是否存在特殊染色颗粒, 分为有粒白细胞和无粒白细胞。有粒白细胞根据其染色反应不同, 分为嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞。无粒白细胞可分为淋巴细胞和单核细胞。

表 1 北部湾棱皮树蛙白细胞形态学参数 ($n = 4$)

Table 1 Morphological parameters of leucocytes in *Theleiderma corticale*

项目 Item	细胞 Cell		细胞核 Nucleus		白细胞分类计数 Differential leukocyte counts (%)
	长径 Major axis (μm)	短径 Minor axis (μm)	长径 Major axis (μm)	短径 Minor axis (μm)	
嗜中性粒细胞 Neutrophil	16.50 ± 1.23	14.73 ± 0.87	11.81 ± 1.27	7.92 ± 0.65	10.08 ± 4.62
嗜碱性粒细胞 Basophil	13.67 ± 1.28	12.37 ± 0.99	—	—	9.25 ± 2.69
嗜酸性粒细胞 Eosinophils	17.55 ± 1.24	15.55 ± 1.12	10 ± 0.75	7.26 ± 0.42	6.72 ± 1.50
大淋巴细胞 Large lymphocyte	18.23 ± 0.90	14.58 ± 0.58	12.54 ± 0.69	10.70 ± 0.43	10.83 ± 2.53
小淋巴细胞 Small lymphocyte	13.08 ± 0.23	10.80 ± 0.41	9.67 ± 0.45	8.28 ± 0.18	40.02 ± 1.77
单核细胞 Monocyte	18.47 ± 0.77	14.50 ± 0.43	12.80 ± 0.56	10.65 ± 0.65	23.17 ± 3.16

表中值均为平均值 \pm 标准差; “—” 表示无法测量。

Shown as Mean \pm SD; “—” represents no measurable data.

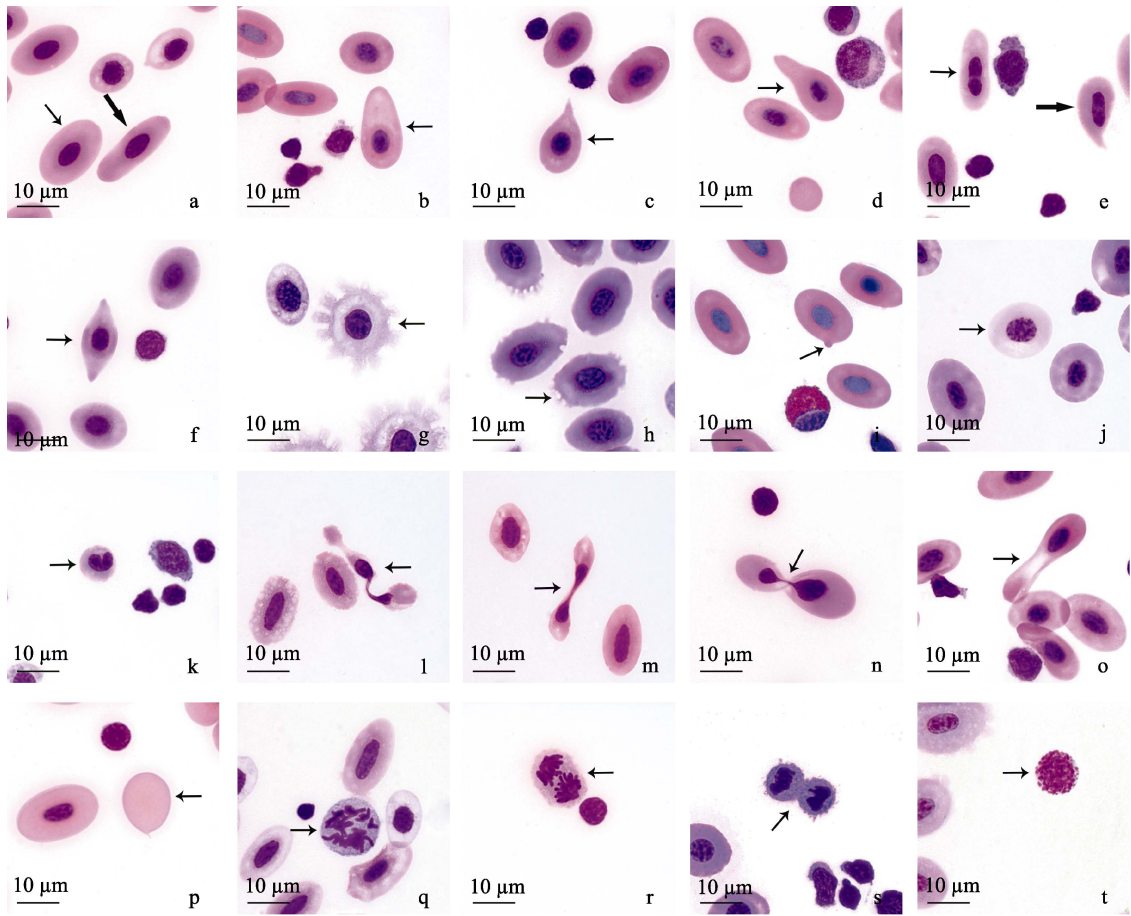


图 1 北部湾棱皮树蛙红细胞的显微结构

Fig. 1 The microstructure of erythrocytes in *Theloderma corticale*

a. 卵圆形红细胞（细箭头）和椭圆形红细胞（粗箭头）；b. 核偏心的椭圆形红细胞；c. 泪滴形红细胞；d. 梨形红细胞；e. 逗号形红细胞（粗箭头）和双叶核的红细胞（细箭头）；f. 梭形红细胞；g, h. 膜被破坏的红细胞（类似棘红细胞）和膜皱缩的红细胞；i. 表面有小突起的红细胞；j. 未成熟红细胞；k. 肾形核的红细胞；l~n. 正在进行分裂的红细胞；o, p. 正在进行分裂的无核红细胞和无核红细胞；q. 有丝分裂前期的红细胞；r. 有丝分裂后期的红细胞；s. 有丝分裂末期的红细胞；t. “核影”红细胞。

a. Oval-shaped erythrocyte (fine arrow) and ellipse-shaped erythrocyte (coarse arrow); b. Ellipse-shaped erythrocyte with eccentrically placed nucleus; c. Teardrop-shaped cell; d. Pear-shaped erythrocyte; e. Comma-shape erythrocyte (coarse arrow) and dinucleated (arrow) erythrocyte (fine arrow); f. Spindle-shaped erythrocyte; g, h. Destruction of erythrocytes' membrane (resembling acanthocytes); i. Erythrocyte with a small protuberant surface; j. Immature erythrocyte; k. Renal erythrocyte; l - n. Diving erythrocyte; o, p. Diving erythroplastid and erythroplastid; q. Pre-mitosis erythrocyte; r. Anaphase mitosis erythrocyte; s. Telophase mitosis erythrocyte; t. Nuclear shadow erythrocyte.

2.2.1 嗜中性粒细胞 嗜中性粒细胞长径为 $(16.50 \pm 1.23) \mu\text{m}$ ，短径为 $(14.73 \pm 0.87) \mu\text{m}$ ，数量约为白细胞总数的 $10.08\% \pm 4.62\%$ 。细胞多为椭圆形或不规则形，核质界限明显，细胞质着色浅，被染成浅粉色，部分细胞颗粒明显，呈淡紫红色，细胞核形态多样且常偏位，呈椭

圆形、肾形、杆状等（图 2a, b），少数呈异形（图 2c ~ e）。在血涂片中还可以观察到许多中性分叶核粒细胞，核与核之间有核丝或核桥相连或单独存在，成熟的胞核中，常见分叶核为 2 或 3 叶（图 2f, g），少数为 4~6 叶，被染成深紫红色。

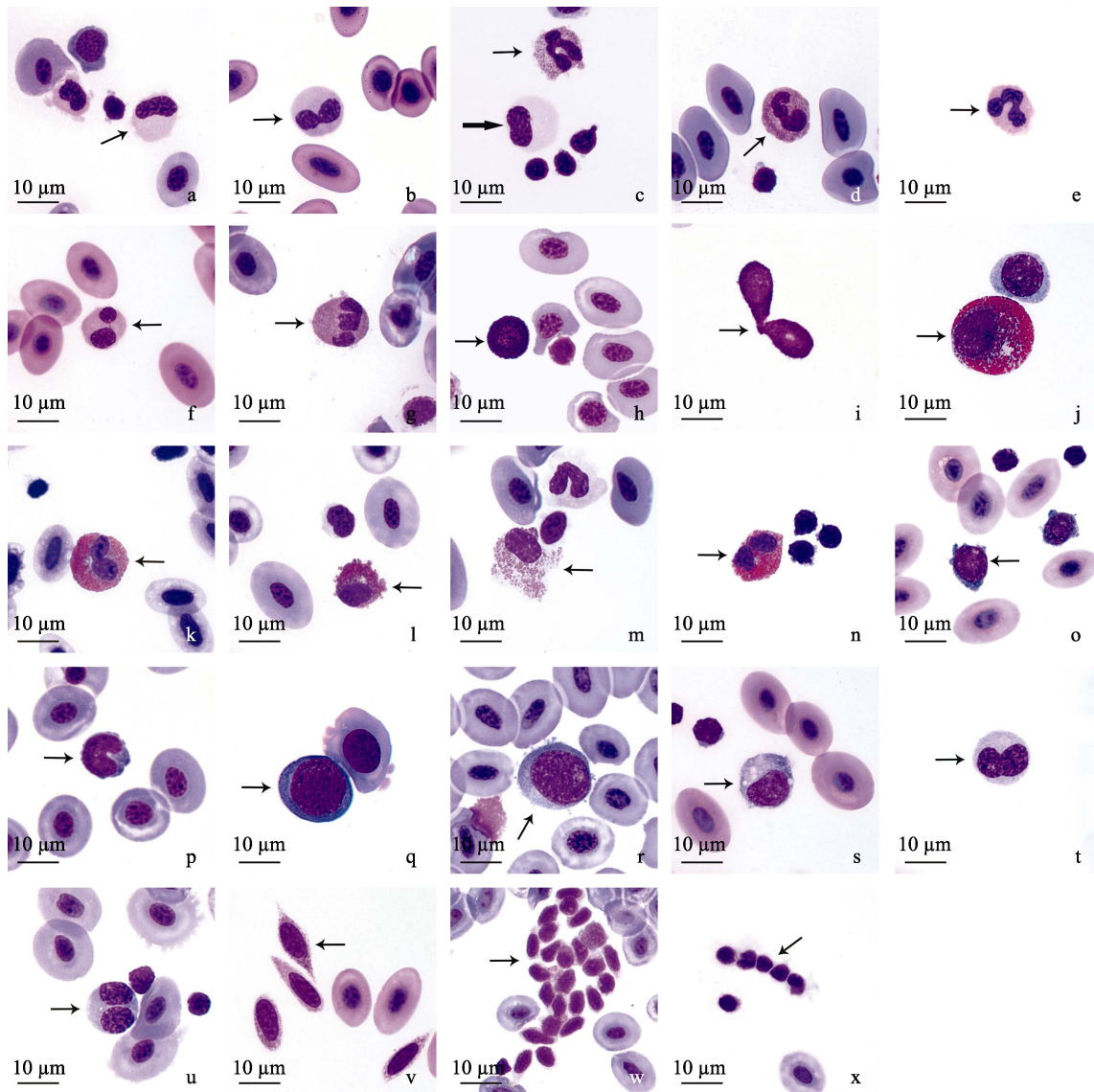


图 2 北部湾棱皮树蛙白细胞的显微结构

Fig. 2 The microstructure of leukocyte in *Theلودerma corticale*

a. 椭圆形核的嗜中性粒细胞; b. 肾形核的嗜中性粒细胞; c~e. 异形核的嗜中性粒细胞; f, g. 嗜中性分叶核粒细胞; h. 圆形嗜碱性粒细胞; i. 梨形嗜碱性粒细胞; j~l. 嗜酸性粒细胞; m. 颗粒分散的嗜酸性粒细胞; n. 双叶核的嗜酸性粒细胞; o. 小淋巴细胞; p. 肾形核的小淋巴细胞; q, r. 大淋巴细胞; s. 单核细胞; t. 肾形核的单核细胞; u. 分叶的单核细胞; v. 梭形血栓细胞; w, x. 聚集的血栓细胞。
 a. Neutrophils with oval nuclei; b. Neutrophils with nephroid nuclei; c - e. Neutrophils with heteromorphic nuclei; f, g. Neutrophilic segmented granulocyte; h. Circular basophil; i. Pear-shaped basophil; j - l. Eosinophil; m. Granulareosinophil; n. Dinucleated eosinophil; o. Small lymphocyte; p. Lymphocyte with nephroid nuclei; q, r. Large lymphocyte; s. Monocyte; t. Monocyte with nephroid nuclei; u. Sub-leaf nuclear monocyte; v. Spindle-shaped thrombocyte; w, x. Aggregation of thrombocyte.

2.2.2 嗜碱性粒细胞 嗜碱性粒细胞长径为 $(13.67 \pm 1.28) \mu\text{m}$, 短径为 $(12.37 \pm 0.99) \mu\text{m}$,

数量约为白细胞总数的 $9.25\% \pm 2.69\%$ 。多数呈圆形 (图 2h), 少数呈梨形 (图 2i), 其表面

不光滑,有少数突起的伪足。细胞核轮廓不清晰,染色质模糊,胞浆呈浅紫红色,其中充满大小不均匀,分布混乱的嗜碱性颗粒,颗粒呈蓝褐色。

2.2.3 嗜酸性粒细胞 嗜酸性粒细胞的长径为 $(17.55 \pm 1.24) \mu\text{m}$,短径为 $(15.55 \pm 1.12) \mu\text{m}$,数量约为白细胞总数的 $6.72\% \pm 1.50\%$ 。形状多为近圆形或不规则形,其表面也有伪足状突起,细胞核位于细胞中央或偏向细胞一侧,呈椭圆形、肾形或不规则形状,染色为浅紫色(图 2j~l);细胞质中充满桔红色颗粒,少数嗜酸性粒细胞经染色,发现其中的桔红色颗粒分散在细胞周围(图 2m)。此外,可观察到双叶核的嗜酸性粒细胞(图 2n)。

2.2.4 淋巴细胞 淋巴细胞是白细胞中数量最多的细胞类型,包括大淋巴细胞和小淋巴细胞。大淋巴细胞长径为 $(18.23 \pm 0.90) \mu\text{m}$,短径为 $(14.58 \pm 0.58) \mu\text{m}$,数量约为白细胞总数的 $10.83\% \pm 2.53\%$ 。小淋巴细胞长径为 $(13.08 \pm 0.23) \mu\text{m}$,短径为 $(10.80 \pm 0.41) \mu\text{m}$,约为白细胞总数的 $40.02\% \pm 1.77\%$ 。小淋巴细胞(图 2o)体积较小,呈圆形或不规则形,表面有伪足状突起,细胞核居中,几乎占据整个细胞,形状跟胞体类似,少数呈肾形(图 2p),染色质密集,染成深紫色,胞质较少,似裸核或周围仅有少许灰蓝色或淡蓝色胞质,内无颗粒。大淋巴细胞和小淋巴细胞相似(图 2q, r),多呈椭圆形,表面不光滑,有许多伪足状,细胞核呈圆形或椭圆形,具明显的内吞泡,核染色质明显,胞质较多,染成淡蓝色。

2.2.5 单核细胞 单核细胞长径为 $(18.47 \pm 0.77) \mu\text{m}$,短径为 $(14.50 \pm 0.43) \mu\text{m}$,约为白细胞总数的 $23.17\% \pm 3.16\%$ 。单核细胞呈椭圆形或不规则形,可观察到明显的假钝足或小突起(图 2s, t)。细胞核较大,位于细胞中央或偏位,多呈椭圆形,少数呈肾形或不规则形,偶尔可观察到具分叶核单核细胞(图 2u)被染成深紫色,细胞质较丰富,呈淡灰蓝色,其中包含很多内吞泡。

2.3 血栓细胞

血栓细胞可观察到两种形态,一是纺锤形或梭形(图 2v),常单独存在,胞核和胞体形态类似,胞核体积大,中央部分几乎被胞核填满,仅在胞体两端可见少量胞质,染色质致密,呈紫红色,胞浆呈浅红色;二是近圆形或不规则圆形,常多个聚集在一起(图 2w),也有 3 或 4 个连在一起,呈带状(图 2x),核质较大,染色质紧密,呈深紫色。

3 讨论

红细胞是构成血液的重要有形成分,是运输氧和二氧化碳的重要载体。红细胞长短径反映出细胞体积的大小,红细胞的长短径比值体现细胞的基本形状,比值越大,细胞越偏向椭圆形,越接近 1,则越呈圆形(林枢等 2015)。红细胞大小测量通常是两栖动物标准血液学调查的重要组成部分,用于不同物种间的比较,以及物种与相关环境、季节或海拔适应性的比较研究(Das et al. 2014)。脊椎动物中,陆生适应能力越强,代谢水平更高的物种,红细胞的体积越小,数量越多,其运输氧气的能力更强(郭宪光等 2002)。两栖动物的红细胞比绝大多数爬行动物的红细胞大,哺乳动物的红细胞比爬行动物的红细胞小(金星星等 2015)。北部湾棱皮树蛙红细胞的长径为 $(21.24 \pm 0.73) \mu\text{m}$,比爬行类动物竹叶青(*Trimeresurus stejnegeri*) [红细胞长径为 $(16.82 \pm 1.23) \mu\text{m}$] (李殿伟等 2015) 和铜蜓蜥(*Sphenomorphus indicus*) [红细胞长径为 $(15.16 \pm 1.37) \mu\text{m}$] (金星星等 2015) 的红细胞大,符合分化规律,即爬行类动物较两栖类动物分化更晚,有更强的陆生适应能力,红细胞较小可满足机体较强的代谢活动需求。北部湾棱皮树蛙与有尾目中的大鲵(*Andrias davidianus*) (红细胞长径为 $40 \sim 51 \mu\text{m}$) (李丕鹏 1989)、新疆北鲵(*Ranodom sibiricus*) (红细胞长径为 $26 \sim 37 \mu\text{m}$) (侯水薇 1995) 等相比较,红细胞相对较小,表明无尾目较有尾目有更强的生态适应习性,活动能

力更强，更适应陆生生活。与同科的印度树蛙 (*Polypedates maculatus*) (Das et al. 2012) [红细胞长径为 $(18.642 \pm 2.267) \mu\text{m}$] 相比，北部湾棱皮树蛙的红细胞稍大，这说明两栖纲同科物种间的红细胞大小可能还与其活动范围、强度等生活习性，生态环境及生理状态等有关。

血涂片中观察到极少数即将分裂形成的无核红细胞和已经形成的无核红细胞，类似的现象在中华蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) (郭宪光等 2002)、鱼类 (金丽 2005) 中曾有报道，研究认为这是红细胞处于从衰老阶段走向程序性死亡的象征，即从双核的红细胞中分裂成两个衰老的红细胞或核偏向一侧，产生一个有核的衰老红细胞和一个无核的红细胞 (体积相对减小)，并最终被吞噬细胞清除。在北部湾棱皮树蛙的血涂片中，还观察到不同形状的红细胞，如泪滴形、梨形、逗号形、梭形、类似棘形红细胞等。在脊椎动物的血细胞中，这些异形红细胞 (泪滴形、逗号形、梭形、类似棘形红细胞等) 通常是因为动物体处于贫血状态才会出现 (Das et al. 2012, 2014)。另外，在北部湾棱皮树蛙的血涂片中还发现少量“核影”红细胞，有研究认为它是红细胞经解体，残留裸核，染色质疏松而形成 (金丽 2005)。

白细胞是动物机体抵御入侵病原体的安全卫士，主要机能是变形运动和吞噬功能，且具有免疫机能 (李桂芬等 2009)，每种白细胞在免疫过程中执行各自的任務。淋巴细胞和单核细胞在机体的免疫防御过程中起着重要作用 (胡知渊等 2005)，在北部湾棱皮树蛙的白细胞中，这两种细胞的数量最多，这可能与其生存环境有关。单核细胞对环境变化敏感 (宋勇 2013)，在污染严重的水域其数量会增多。从与牛蛙 (*Rana catesbeiana*) (龚小玲等 2015)、黑斑蛙 (*R. nigromaculata*) (胡知渊等 2005) 的比较可看出，牛蛙、黑斑蛙的单核细胞数量比北部湾棱皮树蛙的高。主要原因与它们生活的环境差异有关，北部湾棱皮树蛙生活在树木繁茂，受人为干扰程度较低的自然保护区，环

境污染程度低，而且是树栖。而牛蛙、黑斑蛙则生活在农田、水库、菜地、沼泽地及附近草丛等环境，人为干扰程度高，环境污染较为严重。另外单核细胞具有较强的吞噬能力，承担非特异免疫的重要作用。在北部湾棱皮树蛙中发现较多的单核细胞，这也可能与其具备清除细胞碎片的功能有关 (Das et al. 2012)。本研究所用实验样本处于亚成体阶段，处于从蝌蚪向成体的变态发育阶段，所以在发育过程中，伴随着内部结构重组，组织裂解残留的细胞碎片较多，因此，单核细胞数量也会相应增多，但此观点需要进一步深入研究。在比较有尾目的大鲵 (淋巴细胞约占 72%、长径约为 $17 \sim 32 \mu\text{m}$) (李丕鹏 1989)，北部湾棱皮树蛙 [淋巴细胞约占 55.25%、长径约为 $(13.08 \pm 0.23) \sim (18.23 \pm 0.90) \mu\text{m}$]、爬行类的虎斑游蛇 (*Rhabdophis tigrina*) [淋巴细胞约占 31%、长径为 $(7.0 \pm 2.0) \mu\text{m}$] (吴孝兵等 1998)，发现淋巴细胞占白细胞总数的百分比依次减少，细胞长径也相对应减小，说明这可能与动物体生活模式的转变有关，即动物体已经逐渐适应从水生到陆生生活模式的转变，其对环境的免疫能力增强。

嗜中性粒细胞也称为吞噬细胞，是最先对感染部位做出反应的一类白细胞，执行非特异性免疫、能吞噬病原体并参与调节炎症反应，这一系列过程被认为是通过产生某些化学物质的结果 (Davis 2009)。北部湾棱皮树蛙的嗜中性粒细胞的胞核形态多样，可见许多分叶核，这可能是动物体为适应特殊的生理需要，通过增加核面积的方式得以满足 (周庆萍等 2011)。北部湾棱皮树蛙的外周血液中嗜碱性粒细胞多呈圆形，体积较小，表面粗糙，可观察到少量伪足，说明其能进行一定的变形运动。嗜酸性粒细胞具备较强的运动防御功能和吞噬能力，并能释放颗粒内容物杀灭虫体。在北部湾棱皮树蛙的血涂片中发现较多嗜酸性粒细胞，细胞表面可观察到许多伪足状突起，胞质内充满桔红色颗粒，内含组胺酶和溶酶体等，这些化学

物质可以调节免疫和炎症反应 (Das et al. 2012)。少数嗜酸性粒细胞经染色, 其中的桔红色颗粒分散在细胞周围, 这可能是细胞的正常衰老阶段, 也有可能是在制片过程中, 压力过大导致细胞破裂。

血栓细胞也称凝血细胞, 与哺乳类的血小板功能相似, 可参与止血和凝血过程, 具有保护作用, 但它们的形态和来源却不同, 哺乳类的血小板没有细胞核, 不具备完整的细胞结构 (金丽 2005), 而北部湾棱皮树蛙的血栓细胞有细胞核, 为真核细胞, 且细胞核周围有少量胞质。北部湾棱皮树蛙的血涂片中可观察到两种形态的血栓细胞, 一是纺锤形或梭形; 二是近圆形或裸露状的不规则形, 常成群分布, 或是几个连在一起成带状分布, 这个现象可能跟它具有凝血功能有关, 也可能是制作涂片时速度太慢或者血液已经部分凝固造成 (金丽 2005)。研究表明, 血栓细胞形态结构的差异显示了动物体发育时期或者功能状态的不同 (Barber et al. 1981, 金丽 2005)。有学者认为血栓细胞保留了红细胞的结构特点, 但有了功能的分化, 具有凝血作用 (郭宪光等 2002)。也有学者根据观察到的牛蛙血栓细胞的形态特点, 认为血栓细胞是红细胞的衍生物 (龚小玲等 2015)。

参 考 文 献

- Barber D L, Mills Westermann J E, White M G. 1981. The blood cells of the antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* Lönnberg: Light and electron microscopic observations. *Journal of Fish Biology*, 19(1): 11–28.
- Barmi S, Boncompagni E, Grosso A, et al. 2006. Evaluation of *Rana esculenta* blood cell response to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. *Aquatic Toxicology*, 81(1): 45–54.
- Chen W C, Liao X W, Zhou S C, et al. 2018. Rediscovery of *Rhacophorus yaoshanensis* and *Theoderma kwangsiensis* at their type localities after five decades. *Zootaxa*, 4379(4): 484–496.
- Das M, Mahapatra P K. 2012. Blood cell profiles of the tadpoles of the Dubois's Tree Frog, *Polypedates teraiensis* Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae). *The Scientific World Journal*, [J/OL] [2019-11-02]. <https://doi.org/10.1100/2012/701746>.
- Das M, Mahapatra P K. 2014. Hematology of wild caught Dubois's Tree Frog *Polypedates teraiensis*, Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae). *The Scientific World Journal*, [J/OL] [2019-11-02]. <https://doi.org/10.1155/2014/491415>.
- Davis A K. 2009. Metamorphosis-related changes in leukocyte profiles of larval bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Comparative Clinical Pathology*, 18(2): 181–186.
- Ellis A E. 1977. The leucocytes of fish: a review. *Journal of Fish Biology*, 11(1): 453–491.
- 龚小玲, 王米雪, 汪德海, 等. 2015. 牛蛙外周血细胞的形态学特点. *动物学杂志*, 50(4): 591–599.
- 郭宪光, 张耀光, 王志坚, 等. 2002. 中华蟾蜍血细胞的观察. *四川动物*, 21(4): 211–214.
- 侯水薇. 1995. 新疆北鲵血液的组织学观察. *两栖爬行动物学研究*, 4(5): 35–38.
- 胡知渊, 来雅萍, 陈文静. 2005. 棘胸蛙、虎纹蛙、黑斑蛙血细胞的比较. *四川动物*, 24(1): 5–8.
- 金丽. 2005. 长吻鮠循环系统结构及血细胞发生. 重庆: 西南师范大学硕士学位论文.
- 金星星, 张耀光, 陈幕飞, 等. 2015. 4种两栖爬行动物血细胞的显微结构及细胞化学特征观察. *四川动物*, 34(2): 223–228.
- 李殿伟, 郝婧玮, 赵文阁, 等. 2015. 4种毒蛇血细胞的比较研究. *黑龙江畜牧兽医*, 0(8): 235–237.
- 李桂芬, 蒙绍权, 李涛, 等. 2009. 版纳鱼鲷外周血细胞观察. *动物学杂志*, 44(2): 102–107.
- 李丕鹏. 1989. 大鲵的血液学观察. *陕西师大学报: 自然科学版*, 17(3): 50–53.
- 廖常乐. 2013. 广西棱皮树蛙 *Theoderma kwangsiensis* 生物学初步研究. *四川动物*, 32(6): 850–852.
- 林枢, 扬成, 赵文阁, 等. 2015. 四种蜥蜴血细胞的比较研究. *野生动物学报*, 36(1): 93–97.
- 宋勇. 2013. 叶尔羌高原鳅的核型分析及外周血细胞研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文.
- 王静香. 2011. 驼背鲈脑垂体、血细胞和肝脏的组织学和超微结构的研究. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文.
- 吴孝兵, 张盛周, 吴海龙, 等. 1998. 16种爬行动物血细胞形态学参数研究. *动物学杂志*, 33(1): 30–33.
- 周庆萍, 黄倩, 李松, 等. 2011. 棘腹蛙血细胞的形态特征及染色特性. *贵州农业科学*, 39(4): 154–156.