

水位对黑斑侧褶蛙蝌蚪形态表型、 白细胞数量和应激反应的影响

伍亮 李龙萱 高歌 史爽 王月妍 冯文红 鲍传和 张志强*

安徽农业大学动物科技学院 合肥 230036

摘要: 为探究水位变化对黑斑侧褶蛙 (*Pelophylax nigromaculatus*) 蝌蚪形态表型、免疫功能和应激反应能力的影响, 实验室内测定了水位恒定组以及水位快速、中速和慢速下降组 37 期蝌蚪发育至变态完成期的变态时长、身体大小和血液中各型白细胞的百分比, 以及嗜中性粒细胞与淋巴细胞比值的变化。结果表明, 水位快速下降显著缩短了蝌蚪的变态时长 ($P < 0.05$), 体长下降明显 ($P < 0.05$), 体重和体宽有所降低, 但组间差异不显著 ($P > 0.05$)。嗜中性粒细胞的百分比快速下降组显著高于其他处理组, 单核细胞的百分比水位恒定组显著高于中速下降组 ($P < 0.05$), 嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和淋巴细胞的百分比均无明显的组间差异 ($P > 0.05$); 嗜中性粒细胞与淋巴细胞比值快速下降组显著高于其他处理组 ($P < 0.05$)。水位加速下降导致登陆后幼蛙的个体变小, 由嗜中性粒细胞和单核细胞所代表的天然免疫能力变化趋势不同, 应激反应能力增强, 可能不利于幼蛙的存活。

关键词: 黑斑侧褶蛙蝌蚪; 水位; 身体大小; 白细胞数量; 应激

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2023) 01-117-09

Effects of Water Level on Morphological Phenotype, Number of Leukocytes and Stress Response in Tadpoles of *Pelophylax nigromaculatus*

WU Liang LI Long-Xuan GAO Ge SHI Shuang WANG Yue-Yan
FENG Wen-Hong BAO Chuan-He ZHANG Zhi-Qiang*

College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

Abstract: [Objectives] The present study aims to investigate the effects of water level changes on morphological phenotypes, immune function and stress responsiveness ability in tadpoles of the Dark-spotted Frogs (*Pelophylax nigromaculatus*). [Methods] The variations in metamorphosis duration, body size and percentage of different subtypes of leukocyte in the circulation blood, as well as the ratio of neutrophils to

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31170379), 安徽农业大学 2020 年度省级重点教学研究项目 (No. 2020jyxm0531), 安徽农业大学 2022 年国家级大学生 (研究生) 创新创业训练计划项目 (No. 202210364096), 安徽农业大学 2021 年度省级线下课程项目 (No. 2021xxkc039);

* 通讯作者, E-mail: zzq-003@163.com;

第一作者简介 伍亮, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水产养殖学; E-mail: 1031847504@qq.com。

收稿日期: 2022-05-06, 修回日期: 2022-09-25 DOI: 10.13859/j.cjz.202301011

lymphocytes were measured in the laboratory in the constant water level group and in the rapid, moderate and slow reduction groups at metamorphosis completion. All statistical analyses were performed using SPSS software packages (SPSS 19.0 for windows). One-way ANOVA or one-way ANCOVA and multiple comparisons were used to compare the differences of the parameters mentioned above among different groups. Results were presented as means \pm standard error, and $P < 0.05$ was considered to be statistically significant. **[Results]** The results showed that the rapid reduction group significantly reduced the metamorphosis duration of tadpoles (Fig. 1a, $P < 0.05$); the snout to vent length (SVL) of froglets was significantly declined in the rapid reduction group compared with that of any other group (Fig. 1d, $P < 0.05$), both the body mass (Fig. 1b, $P > 0.05$) and body width (Fig. 1c, $P > 0.05$) displayed lower values in the rapid desiccation group, but no significant differences were found among different groups. The percentage of neutrophils was significantly higher in the rapid reduction group than that of any other group (Fig. 3c, $P < 0.05$), the percentage of monocytes was significantly higher in the constant water level group than that of the moderate reduction group (Fig. 3e, $P < 0.05$), and no significant group differences were observed for the percentage of eosinophils (Fig. 3f, $P > 0.05$), basophils (Fig. 3b, $P > 0.05$) or lymphocytes (Fig. 3a, $P > 0.05$). The ratio of neutrophils to lymphocytes was significantly higher in the rapid reduction group than that of any other group (Fig. 3d, $P < 0.05$). **[Conclusion]** The accelerated water level reduction can lead to smaller froglet individuals, natural immunity represented by both neutrophils and monocytes displayed different patterns, and accompanying with increased stress response ability, which may be detrimental to the survival of froglets.

Key words: *Pelophylax nigromaculatus* tadpoles; Water level; Body size; Number of leukocytes; Stress

临时性或季节性的池塘、溪流和稻田等地, 是两栖动物理想的栖息地, 栖息地中水的可利用性 (water availability) 是决定其分布范围的关键因素之一 (Melo et al. 2018)。与工业化前的 1850 至 1900 年相比, 2011 至 2020 年全球地表温度升高了 1.09 °C (IPCC 2021); 升温加速了两栖动物栖息地的干涸速度, 影响卵和蝌蚪的形态表型 (Denver 1997, 刘莉等 2006, Márquez-García et al. 2009, 王守红等 2018), 也影响其生理活动和免疫功能 (Weerathunga et al. 2020)。然而, 面对快速下降的水位和干旱胁迫, 两栖动物的形态表型 (唐小芬等 2015) 和生理应答表现出物种特异性 (Székely et al. 2020, Petrović et al. 2021, Prokić et al. 2021)。例如, 分布于浙江雨水的中华蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) 和黑眶蟾蜍 (*Duttaphrynus melanostictus*) 蝌蚪, 前者生活于更易于发生干旱的环境, 形态表型的可塑性较低, 而后者喜好在雨水充沛的环境中繁殖, 形态表型的可塑

性较高 (唐小芬等 2015)。快速下降的水位可诱导林蛙 (*Rana sylvatica*) 蝌蚪提前变态, 同时导致变态后 21 d 的幼蛙白细胞总数量下降, 对植物血凝素 (phytohaemagglutinin-P, PHA-P) 的反应减弱 (Gervasi et al. 2008), 但对血液中各型白细胞的形态特征、数量动态及嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值 (ratio of neutrophils to lymphocytes) 研究较少, 且多集中于栖息地恶化对成体两栖动物健康状态的影响方面 (Rodrigues et al. 2017, Neto et al. 2020, Franco-Belussi et al. 2022)。

黑斑侧褶蛙 (*Pelophylax nigromaculatus*) 喜栖于静水水域, 包括稻田和池塘等浅水处 (费梁等 2010)。目前, 关于无尾两栖类蝌蚪各型白细胞的动态研究, 多见于变态前后 (连丽燕等 2018) 或温度对变态后幼体的影响 (张志强等 2022), 关于干旱胁迫是否也影响其形态表型、应激反应和免疫功能, 仍不清楚。本研究模拟自然状态的水位变化, 以黑斑侧褶蛙

37 期蝌蚪为研究对象, 设置了恒定水位组以及快速、中速和慢速水位下降组, 比较了变态时长及变态完成期幼蛙形态表型、血液中各型白细胞的百分比和嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值的组间差异, 旨在为深入理解全球气候变化背景下两栖动物幼体表型可塑性的生理机制提供基础资料。

1 材料与amp;方法

1.1 实验动物和水位处理

经安徽农业大学实验动物福利伦理委员会批准(批准号: AHAU2021039), 实验用黑斑侧褶蛙 28 期蝌蚪捕获于合肥市包河区圩西村一池塘(31°45' N, 117°23' E), 饲养于安徽农业大学动物生理生态学实验室 3 个长 × 宽 × 高为 70 cm × 50 cm × 38 cm 的塑料箱内, 控制水温为(24 ± 1) °C, 水深约 15 cm, 自然光照。参照 Gosner 分期表(Gosner 1960), 选取 480 只大小相似的 37 期蝌蚪, 每 20 只蝌蚪饲养于含有 8.0 L 水、容积为 10.2 L 的一个玻璃缸(长 × 宽 × 高为 30 cm × 17 cm × 20 cm) 内, 作为一个水位处理组, 共设置 4 个水位处理组, 每个水位处理组做 6 次平行实验, 共使用 24 个玻璃缸, 各缸内 37 期蝌蚪初始平均体重($F_{3,20} = 1.440$, $P > 0.05$)、初始平均体全长($F_{3,20} = 1.042$, $P > 0.05$)和初始平均体宽($F_{3,20} = 0.814$, $P > 0.05$)均无显著性差异。4 个水位处理分组情况如下: 水位恒定组, 玻璃缸内水的容积始终为 8 L; 快速下降组, 每天减少 1 L 水; 中速下降组, 前 7 d 每天减少 0.5 L 水, 之后每天减少 1 L 水; 慢速下降组, 每天减少 0.5 L 水。快速、中速和慢速下降组均在水的容积降至 1 L 时不再下降, 当蝌蚪发育至 42 期时, 玻璃缸一侧倾斜, 露出 1/2 的陆地环境; 水位恒定组放置由竹篾和纱布制作成的浮床, 为蝌蚪成功登陆创造条件。实验期间, 每天定时投喂足量的商品化饲料(粗蛋白 ≥ 42.0%, 粗脂肪 ≥ 3.0%, 赖氨酸 ≥ 1.8%, 厦门健牌饲料有限公司), 同时增加水位恒定组或减少快速、中速和

慢速下降组水量至既定容积, 每隔 3 d 更换曝气 24 h 以上的自来水 1 次。实验过程中, 若有蝌蚪意外死亡, 用相似大小的剪尾个体替代, 替换后的个体只用于保持蝌蚪密度不变, 不用于后续实验指标测定。至取材时, 水位恒定组、快速下降组、中速下降组和慢速下降组被剪尾个体替代的蝌蚪数分别为 10 只、25 只、17 只和 15 只, 平均变态存活率分别为 91.7%、79.2%、85.8%和 87.5%。一旦发育至 46 期幼蛙, 从每一玻璃缸中各取前 8 只 46 期幼蛙(同一缸内前 8 只个体抵达 46 期幼蛙的时差不超过 1 d), 即每一水位处理组的样本数均为 48 只, 并记录每一水位处理组共 48 只幼蛙的变态时间, 统计其变态时长。剩余蝌蚪继续饲养至 46 期幼蛙, 用于其他实验的指标测定。变态时长为发育至 46 期幼蛙的日期与实验开始时 37 期蝌蚪分组日期之间的差值。

1.2 幼蛙形态表型测定

用电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司, ± 0.000 1 g)测量幼蛙体重, 瑞士产 Tesa 数显卡尺(瑞士 Shopcal, 150 mm, ± 0.01 mm)测量幼蛙的体长和体宽。之后, 断腿采血, 制作血涂片。

1.3 46 期幼蛙各型白细胞的百分比和嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值的测定

每只 46 期幼蛙制作 1 张血涂片, 制作和计数方法参照花背蟾蜍(*Pseudepidalea raddei*)蝌蚪血涂片制作方法进行(连丽燕等 2018)。用快速瑞氏姬姆萨染色液(南京建成生物工程有限公司, D011)进行染色, 中性树胶封片, 42 °C 烘干后, 在 400 倍的显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司, Panthera i)下按照说明书鉴别嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞, 按照“几”字形计数各型白细胞的数目, 直至每张血涂片计数的白细胞总数量达到 100 个时为止。每个玻璃缸共计数 8 只 46 期幼蛙的血涂片, 以 8 只的平均值代表该缸的情况, 以 6 只缸的平均值代表其水位组的情况。嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比

值即嗜中性粒细胞的百分比 (%) 与淋巴细胞的百分比 (%) 的比值。

1.4 统计分析

使用统计分析软件 SPSS 软件包 (SPSS 19.0 for windows) 进行数据处理。用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 比较不同水位处理组 46 期幼蛙变态时长、体长和各型白细胞的百分比, 以及嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值的组间差异。以体长为协变量, 用单因素协方差分析 (one-way ANCOVA) 比较不同水位处理组 46 期幼蛙体重和体宽的组间差异。文中数值均以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 水位对 46 期幼蛙变态时长和形态表型的影响

快速下降组 46 期幼蛙的变态时长显著短

于水位恒定组 ($F_{3,20} = 3.965, P < 0.05$), 但与中速下降组和慢速下降组均无显著性差异 (图 1a)。快速下降组 46 期幼蛙的体重 ($F_{3,19} = 0.306, P > 0.05$) (图 1b) 和体宽 ($F_{3,19} = 0.980, P > 0.05$) (图 1c) 都低于其他水位组, 但组间差异不显著; 快速下降组体长最短, 显著低于水位恒定组和慢速下降组 ($F_{3,20} = 9.511, P < 0.05$), 但与中速下降组差异不显著 (图 1d)。

2.2 水位对黑斑侧褶蛙 46 期幼蛙白细胞形态特征的影响

水位变化对 46 期幼蛙血液中各型白细胞的形态特征均无明显影响。嗜中性粒细胞均呈圆形, 胞浆无色, 胞核分叶状, 呈蓝紫色 (图 2a ~ d); 嗜酸性粒细胞的胞浆均为粉红色颗粒, 胞核呈椭圆形或马蹄状, 蓝紫色 (图 2e ~ h); 嗜碱性粒细胞的胞浆内均含大小分布不均、粗大、染色呈蓝紫色的嗜碱性颗粒, 颗粒覆盖在细胞核上 (图 2d, i ~ k); 单核细胞的胞核均

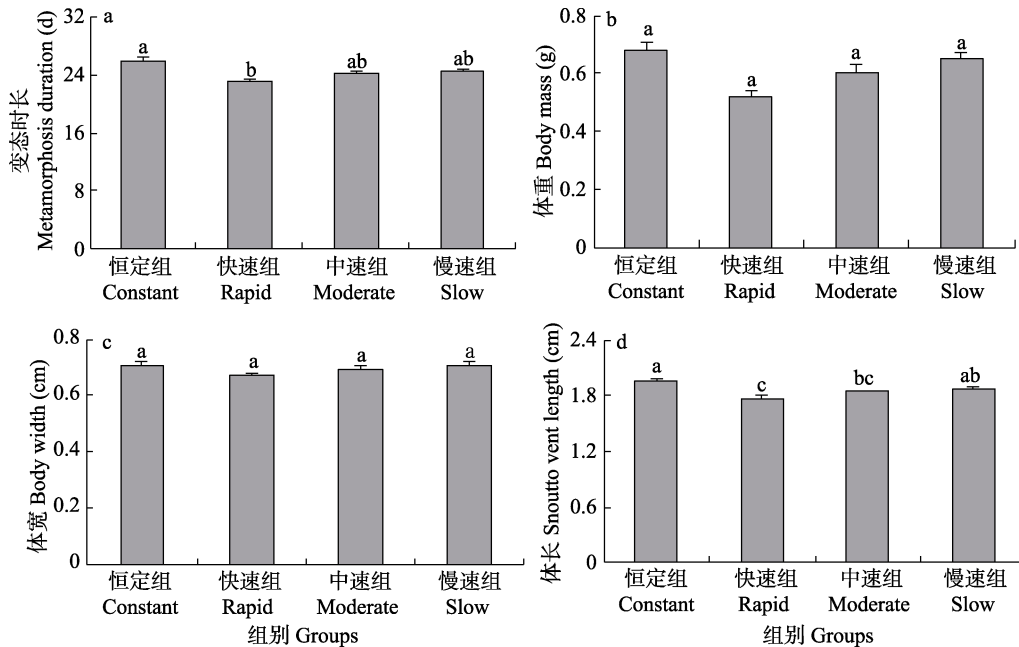


图 1 水位对黑斑侧褶蛙 46 期幼蛙变态时长和形态表型的影响

Fig. 1 Effects of water level on the metamorphosis duration and morphological phenotypes in the Gosner stage 46 froglets of *Pelophylax nigromaculatus*

a. 变态时长; b. 体重; c. 体宽; d. 体长。a. Metamorphosis duration; b. Body mass; c. Body width; d. Snout to vent length.

柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05, a > b > c$)。Different letters above the columns meant significant differences ($P < 0.05, a > b > c$).

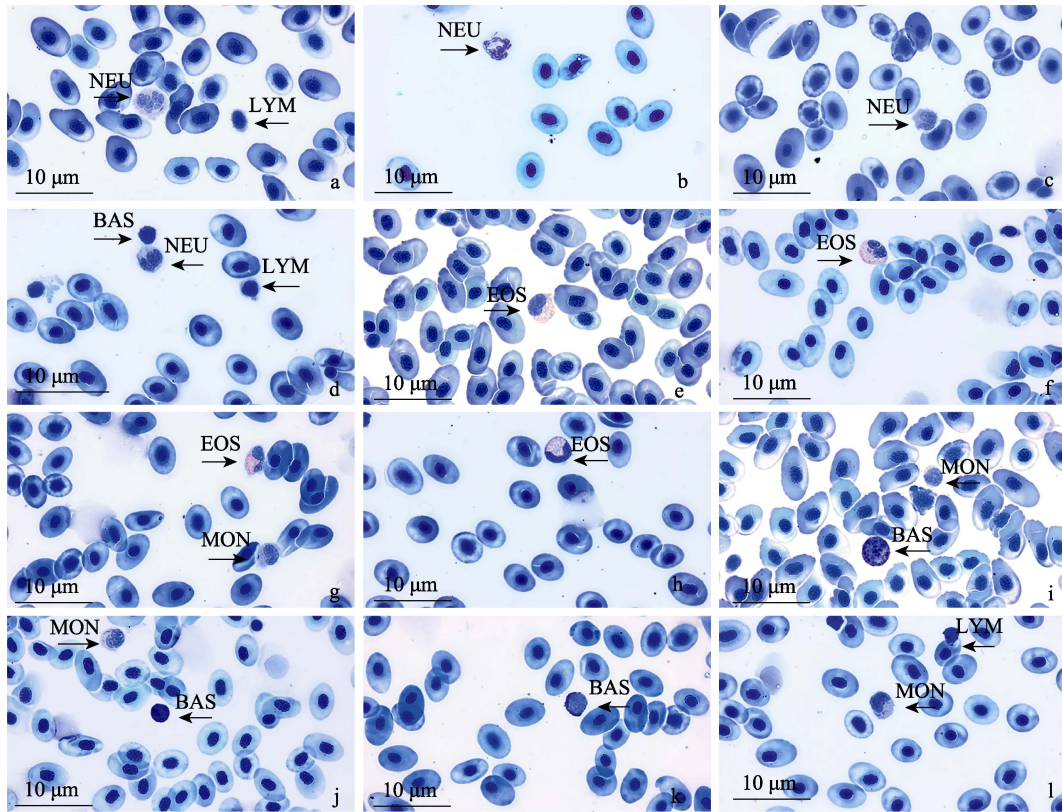


图 2 水位对黑斑侧褶蛙 46 期幼蛙各型白细胞形态特征的影响

Fig. 2 Effects of water level on the morphological characteristics of various subtypes of leukocyte in the Gosner stage 46 froglets of *Pelophylax nigromaculatus*

a. 水位恒定组嗜中性粒细胞和淋巴细胞；b. 快速下降组嗜中性粒细胞；c. 中速下降组嗜中性粒细胞；d. 慢速下降组嗜中性粒细胞、淋巴细胞和嗜碱性粒细胞；e. 水位恒定组嗜酸性粒细胞；f. 快速下降组嗜酸性粒细胞；g. 中速下降组嗜酸性粒细胞和单核细胞；h. 慢速下降组嗜酸性粒细胞；i. 水位恒定组嗜碱性粒细胞和单核细胞；j. 快速下降组嗜碱性粒细胞和单核细胞；k. 中速下降组嗜碱性粒细胞；l. 慢速下降组单核细胞和淋巴细胞。

a. Neutrophils and lymphocytes in constant water level group; b. Neutrophils in rapid reduction group; c. Neutrophils in moderate reduction group; d. Neutrophils, lymphocytes and basophils in slow reduction group; e. Eosinophils in constant water level group; f. Eosinophils in rapid reduction group; g. Eosinophils and monocytes in moderate reduction group; h. Eosinophils in slow reduction group; i. Basophils and monocytes in constant water level group; j. Basophils and monocytes in rapid reduction group; k. Basophils in moderate reduction group; l. Monocytes and lymphocytes in slow reduction group.

BAS. 嗜碱性粒细胞；EOS. 嗜酸性粒细胞；LYM. 淋巴细胞；MON. 单核细胞；NEU. 嗜中性粒细胞

BAS. Basophils; EOS. Eosinophils; LYM. Lymphocytes; MON. Monocytes; NEU. Neutrophils

呈马蹄状，胞浆呈无色，无颗粒（图 2g, i, j, l）；淋巴细胞的胞核圆形，较大，蓝紫色，胞质蓝色，无颗粒，占比少（图 2a, d, l）。

2.3 水位对 46 期幼蛙各型白细胞的百分比和嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值的影响

不同水位处理组 46 期幼蛙都以淋巴细胞

的占比为最高（图 3a），嗜碱性粒细胞其次（图 3b）。快速下降组 46 期幼蛙嗜中性粒细胞的百分比（ $F_{3,20} = 8.019$, $P < 0.05$ ）（图 3c）和嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值（ $F_{3,20} = 6.728$, $P < 0.05$ ）（图 3d）都显著高于水位恒定组、中速下降组和慢速下降组；水位恒定组单核细

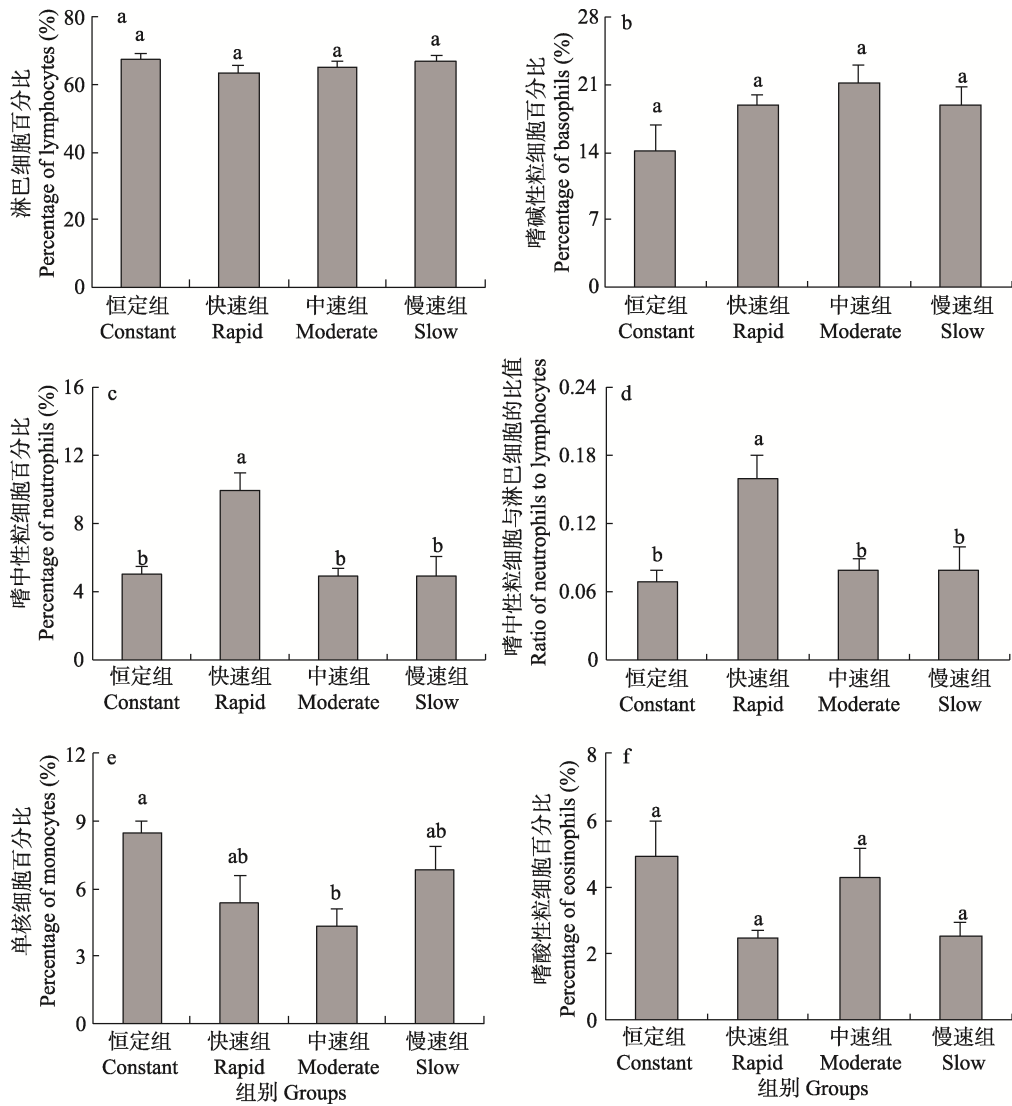


图 3 水位对黑斑侧褶蛙 46 期幼蛙各型白细胞的百分比及嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值的影响

Fig. 3 Effects of water level on the percentage of different subtypes of leukocyte and ratio of neutrophils to lymphocytes (ratio of N/L) in the Gosner stage 46 froglets of *Pelophylax nigromaculatus*

a. 淋巴细胞百分比; b. 嗜碱性粒细胞百分比; c. 嗜中性粒细胞百分比; d. 嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值; e. 单核细胞百分比; f. 嗜酸性粒细胞百分比。

a. Percentage of lymphocytes; b. Percentage of basophils; c. Percentage of neutrophils; d. Ratio of neutrophils to lymphocytes; e. Percentage of monocytes; f. Percentage of eosinophils.

柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$, $a > b$)。Different letters above the columns meant significant differences ($P < 0.05$, $a > b$)。)

胞的百分比显著高于中速下降组 ($F_{3, 20} = 3.776$, $P < 0.05$), 但慢速下降组和快速下降组与水位恒定组和中速下降组的差异均不显著 (图 3e); 淋巴细胞 ($F_{3, 20} = 0.889$, $P > 0.05$)

(图 3a)、嗜碱性粒细胞 ($F_{3, 20} = 2.395$, $P > 0.05$) (图 3b) 和嗜酸性粒细胞 ($F_{3, 20} = 2.88$, $P > 0.05$) 的百分比 (图 3f) 均无显著的组间差异。

3 讨论

3.1 水位对黑斑侧褶蛙变态时长和形态表型的影响

随着全球气候变暖，导致蝌蚪栖息地水分蒸发速度加快、干涸程度加剧，干旱胁迫限制了蝌蚪的活动空间及食物来源，但种群密度同时加大。干旱胁迫条件下，黑框蟾蜍（唐小芬等 2015）、二光肿肋蟾（*Pleurodema diplolister*）（Maciel et al. 2009）和短头蛙（*Sphaerotheca breviceps*）（Mogali et al. 2011）等会加速变态发育进程，但变态后的个体偏小。经稳定的高水位、低水位、快速下降水位和慢速下降水位处理后，快速下降的水位导致叙利亚锄足蟾（*Pelobates syriacus*）缩短了变态时长，使变态后个体的体重减小、体长缩短，但体重和体长的最低值都见于低水位组，这可能与低水位产生的拥挤效应有关（Székely et al. 2010）。黑斑侧褶蛙蝌蚪面临水位干涸风险时，快速下降组的变态时长显著缩短，体长显著缩短，体重和体宽等指标呈下降趋势，将提前发育出较小的个体，该结果与黑眶蟾蜍等一致，表明生活在季节性池塘中的黑斑侧褶蛙蝌蚪对变化的水位具有较强的适应能力，以表型改变来应对干旱胁迫（Amburgey et al. 2016）。水位变化导致的能量积累不足不利于蝌蚪的生长发育，可能以升高的氧化应激反应和受损的免疫功能作为代价（Gervasi et al. 2008, Székely et al. 2020, Prokić et al. 2021）。

3.2 水位对黑斑侧褶蛙幼蛙白细胞形态特征和数量的影响

两栖动物血液中有五种常见类型的白细胞，即嗜中性粒细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞，各种细胞的形态特征和数量变化可指示其健康或疾病状况（Davis et al. 2008, Monalisa et al. 2021）。其中，嗜中性粒细胞在应激、感染、组织损伤、炎症和代谢功能障碍等情况下大量增殖，是执行吞噬功能的主要白细胞类型之一；淋巴细胞

主要包括 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞，分别参与细胞免疫与体液免疫；嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞分别与寄生虫感染和炎症反应有关；单核细胞参与抵御细菌感染（Davis et al. 2008, Maceda-Veiga et al. 2015）。温度、发育阶段等因素对各型白细胞的数量动态有不同的影响。例如，在 21 ~ 27 °C 范围内，升温可加速黑斑侧褶蛙 37 期蝌蚪的变态过程，但不影响各型白细胞的数量动态（张志强等 2022）；花背蟾蜍血液中嗜中性粒细胞的百分比 45 期显著高于 38 期，嗜酸性粒细胞的百分比 44 期显著高于 42 和 45 期，但淋巴细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞的百分比均不随发育阶段而变化（连丽燕等 2018）。黑斑侧褶蛙蝌蚪经历水位变化模拟实验后，幼蛙血液中淋巴细胞的占比最高，嗜碱性粒细胞其次，各种白细胞的形态特征无明显变化，嗜中性粒细胞的百分比快速下降组最高，单核细胞的百分比水位恒定组最高，淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的百分比均无明显的组间差异。然而，在快速下降的水位条件下，变态后 21 天的林蛙幼蛙，其血液中白细胞的总数量有所下降（Gervasi et al. 2008）。两栖动物成体血液中白细胞的形态特征（Rodrigues et al. 2017）和动态变化受栖息地类型影响（Rodrigues et al. 2017, Franco-Belussi et al. 2022），也受人类活动的干扰程度影响（Neto et al. 2020）。例如，栖息于巴西城市居民区的委内瑞拉长鼻树蛙（*Scinax x-signatus*）和居维尔泡蟾（*Physalaemus cuvieri*），前者淋巴细胞的百分比稍低，但嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞的百分比都高于自然环境中的个体，而后者淋巴细胞和嗜碱性粒细胞的百分比都较高，但嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单核细胞的百分比都低于自然环境中的个体，说明白细胞的百分比可随物种而变化，且不同物种对变化的环境条件具有不同的反应（Neto et al. 2020）。黑斑侧褶蛙蝌蚪登陆后将面临更多的病原菌感染风险，为适应干旱胁迫，表现出升高的嗜中性粒细胞的

百分比,但单核细胞的百分比有所下降,说明血液中白细胞的吞噬功能得到了加强,但抵御病原菌感染的能力降低,两者间的权衡可能不利于幼蛙的存活。

3.3 水位对黑斑侧褶蛙应激反应能力的影响

血浆中糖皮质激素水平是评估脊椎动物应激反应能力的有效指标之一。此外,两栖动物中,也常用嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值来评估蝌蚪或幼蛙的应激反应能力(Davis et al. 2018, Prokić et al. 2021)。与糖皮质激素水平通常在受到外界环境刺激后短时间内即可迅速上升或恢复至原来水平不同,嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值需时更长(Davis et al. 2008, 2018),更适用于两栖动物成体和蝌蚪研究(Davis et al. 2008, 连丽燕等 2018)。例如,对捕获的野生美洲大鲵(*Cryptobranchus alleganiensis*)进行研究发现,皮质醇水平在捕获 1 h 后达到峰值,而嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值在捕获 28 h 后仍保持在较低水平(DuRant et al. 2015)。经 21 °C 至 27 °C 的升温处理,不同温度组黑斑侧褶蛙变态后幼蛙的嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值无明显的组间差异(张志强等 2022)。快速下降组幼蛙嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值显著高于其他水位处理组,但水位恒定组与中速下降组和慢速下降组无明显差异,表明幼蛙对快速下降的水位较为敏感,将以较高的应激反应来应对干旱胁迫。

黑斑侧褶蛙蝌蚪面临水位干涸胁迫时,提前发育出较小个体,血液中嗜中性粒细胞的百分比显著升高,单核细胞的百分比有所下降,嗜中性粒细胞与淋巴细胞的比值显著升高,这些变化有助于快速登陆,但可能不利于蝌蚪的未来存活。

参 考 文 献

- Amburgey S M, Murphy M, Chris F. W. 2016. Phenotypic plasticity in developmental rate is insufficient to offset high tadpole mortality in rapidly drying ponds. *Ecosphere*, 7(7): e01386.
- Davis A K, Maney D L. 2018. The use of glucocorticoid hormones or leucocyte profiles to measure stress in vertebrates: what's the difference? *Methods in Ecology and Evolution*, 9(6): 1556–1568.
- Davis A K, Maney D L, Maerz J C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22(5): 760–772.
- Denver R J. 1997. Proximate mechanisms of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. *American Zoologist*, 37(2): 172–184.
- DuRant S E, Hopkins W A, Davis A K, et al. 2015. Evidence of ectoparasite-induced endocrine disruption in an imperiled giant salamander, the Eastern Hellbender (*Cryptobranchus alleganiensis*). *The Journal of Experimental Biology*, 218(14): 2297–2304.
- Franco-Belussi L, Provete D B, Leão T R F, et al. 2022. Hematological parameters of a neotropical wild frog population, with a phylogenetic perspective on blood cell composition in Anura. *Current Zoology*, 68(3): 361–369.
- Gervasi S S, Fofopoulos J. 2008. Costs of plasticity: responses to desiccation decrease post-metamorphic immune function in a pond-breeding amphibian. *Functional Ecology*, 22(1): 100–108.
- Gosner K L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(3): 183–190.
- IPCC. 2021. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. New York: Cambridge University Press.
- Maceda-Veiga A, Figuerola J, Martínez-Silvestre A, et al. 2015. Inside the redbox: applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *Science of the Total Environment*, 514: 322–332.
- Maciel T A, Juncá F A. 2009. Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura). *Zoologia (Curitiba)*, 26(3): 413–418.
- Márquez-García M, Correa-Solis M, Sallaberry M, et al. 2009. Effects of pond drying on morphological and life-history traits in the anuran *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *Evolutionary*

- Ecology Research, 11(5): 803–815.
- Melo L, Garey M V, Rossa-Feres D. 2018. Looking for a place: how are tadpoles distributed within tropical ponds and streams? Herpetology Notes, 11: 379–386.
- Mogali S M, Saidapur S K, Shanbhag B A. 2011. Receding water levels hasten metamorphosis in the frog, *Sphaerotheca breviceps* (Schneider, 1799): a laboratory study. Current Science, 101(9): 1219–1222.
- Monalisa L, Sonali D, Biswakanth K, et al. 2021. Hematological profile of Indian Bullfrog and Common Toad from different environmental habitats. International Journal of Zoological Investigations, 7(1): 17–21.
- Neto P G G, Nowakowski A J, da Silva A F C, et al. 2020. Leukocyte profiles of two neotropical anuran species affected by anthropogenic habitat alteration. Animal Conservation, 23(5): 524–532.
- Petrović T G, Kijanović A, Tomašević N K, et al. 2021. Effects of desiccation on metamorphic climax in *Bombina variegata*: changes in levels and patterns of oxidative stress parameters. Animals, 11(4): 953.
- Prokić M D, Petrović T G, Gavrilović B R, et al. 2021. Carry-over effects of desiccation stress on the oxidative status of fasting Anuran juveniles. Frontiers in Physiology, 12: 783288.
- Rodrigues S M, Ewbank A C, de Francisco S R, et al. 2017. Comparative leukocyte morphometric analysis between endemic Anurans from Brazil and the invasive species *Lithobates catesbeianus*. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 54(2): 159–167.
- Székely D, Cogălniceanu D, Székely P, et al. 2020. How to recover from a bad start: size at metamorphosis affects growth and survival in a tropical amphibian. BMC Ecology, 20: 24.
- Székely P, Cogălniceanu D, Tudor M. 2010. Effect of habitat drying on the development of the Eastern Spadefoot Toad (*Pelobates syriacus*) tadpoles. Amphibia-Reptilia, 31(3): 425–434.
- Weerathunga W A, Rajapaksa G. 2020. The impact of elevated temperature and CO₂ on growth, physiological and immune responses of *Polypedates cruciger* (Common Hourglass Tree Frog). Frontiers in Zoology, 17: 3.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平. 2010. 中国两栖动物彩色图鉴. 成都: 四川科学技术出版社.
- 连丽燕, 高慧清, 孙嘉璐, 等. 2018. 变态前后花背蟾蝌蚪消化器官大小及各型白细胞百分比的适应性变化. 生态学杂志, 37(4): 1204–1210.
- 刘莉, 李成, 李乃兵, 等. 2006. 不同水温条件下中华蟾蝌蚪的表型可塑性研究. 四川动物, 25(2): 214–217.
- 唐小芬, 樊晓丽, 林植华, 等. 2015. 浙江丽水中华大蟾蜍和黑眶蟾蝌蚪对水位变化的表型响应. 生态学报, 35(3): 911–918.
- 王守红, 李豪, 刘露莎, 等. 2018. 温度对饰纹姬蛙蝌蚪生长的影响. 动物学杂志, 53(2): 191–197.
- 张志强, 杨雨晴, 陈利, 等. 2022. 升温对黑斑侧褶蛙蝌蚪变态时长和血液学参数的影响. 安徽农业大学学报, 49(2): 254–258.