

三种不同科属蛙类外周血细胞的比较

辛桂瑜^① 赵玲玉^{①②} 卢玉莹^① 赖洁玲^①
傅宏刚^① 李桂芬^① 蒙绍权^① 贝永建^{①*}

① 玉林师范学院生物与制药学院 玉林 537000; ② 广西民族师范学院附属中学 崇左 532200

摘要: 采用快速瑞氏-姬姆萨 (Wright's-Giemsa's) 染色法对斑腿泛树蛙 (*Polypedates megacephalus*) 和沼水蛙 (*Hylarana guentheri*) 的外周血细胞进行观察, 并与北部湾棱皮树蛙 (*Theloderma corticale*) 已有的数据进行了比较。结果显示, 三种蛙的血细胞均由红细胞、白细胞和血栓细胞组成, 三种蛙的血细胞在形态结构上具有一定的共性, 但在形态大小、数量上差异显著。沼水蛙的红细胞长径和短径均显著大于其余两种, 分别为 $(23.56 \pm 2.78) \mu\text{m}$ 和 $(14.25 \pm 1.62) \mu\text{m}$; 3 种蛙的嗜中性粒细胞和小淋巴细胞在大小上没有明显差别, 但北部湾棱皮树蛙的嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的长径、短径均显著大于其他两种蛙。北部湾棱皮树蛙的红细胞数量显著少于其余两者, 为 $(24.33 \pm 9.46) \times 10^4/\text{mm}^3$; 斑腿泛树蛙白细胞数量显著少于其余两种蛙, 为 $(1.40 \pm 0.40) \times 10^4/\text{mm}^3$ 。这些差异的产生可能与其生活环境以及生活习性有关。

关键词: 血细胞; 北部湾棱皮树蛙; 斑腿泛树蛙; 沼水蛙

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2021) 01-055-09

The Comparison of Peripheral Blood Cells in Three Frog Species from Different Families and Genera

XIN Gui-Yu^① ZHAO Ling-Yu^{①②} LU Yu-Ying^① LAI Jie-Ling^①
FU Hong-Gang^① LI Gui-Fen^① MENG Shao-Quan^① BEI Yong-Jian^{①*}

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

② Middle School Attached to Guangxi Normal University for Nationalities, Chongzuo 532200, China

Abstract: Peripheral blood cells were characterized in *Polypedates megacephalus* and *Hylarana guentheri* by the Wright-Giemsa staining method, and the data were compared with those previously recorded in *Theloderma corticale*. The results showed that the peripheral hematocytes of all three species were composed of erythrocytes, leukocytes and thrombocytes. The blood cells of the three species had the same commonality in morphology and structure (Fig. 1), while there were also remarkable differences in the shape, size and quantity (Fig. 2, Table 1 - 4). The nuclei of the red blood cells of *H. guentheri* were $(23.56 \pm 2.78) \mu\text{m} \times$

基金项目 广西自然科学基金项目 (No. 2018GXNSFBA281098), 大学生创新训练项目 (No. 201710606036, 201910606157);

* 通讯作者, E-mail: beiyongjian@ylnu.edu.cn;

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: 2020-06-22, 修回日期: 2020-10-21 DOI: 10.13859/j.cjz.202101007

(14.25 ± 1.62) μm in long diameter and short diameter, respectively, significantly larger than in *P. megacephalus* and *T. corticale*. There was no significant difference in size between neutrophils and lymphocytes, but the long diameter and short diameter of neutrophils and lymphocytes of *T. corticale* were the largest. In terms of the number of cells, the number of red blood cells in *T. corticale* was $(24.33 \pm 9.46) \times 10^4/\text{mm}^3$, significantly lower than that in *P. megacephalus* or *H. guentheri*, while the number of white blood cells of *P. megacephalus* was $(1.40 \pm 0.40) \times 10^4/\text{mm}^3$, which was the least among the three species, significantly different from the other two species ($P < 0.05$). These differences may be related to living environment and living habits of the frogs.

Key words: Hemocyte; *Theلودerma corticale*; *Polypedates megacephalus*; *Hylarana guentheri*

动物血液中含有丰富的血细胞,其在动物自身的生理、生化过程中起重要的调节作用 (Wang et al. 2000),血细胞的形态结构又与动物的进化地位、生长发育、繁殖以及对环境的生态适应有一定的关系 (闫桂琴 2010)。目前已有学者对两栖动物外周血细胞进行了显微结构的相关研究,如对大鲵 (*Andrias davidianus*) (李丕鹏等 1989)、中华蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) (郭宪光等 2002)、版纳鱼螈 (*Ichthyophis bannanica*) (李桂芬等 2009)、牛蛙 (*Rana catesbeiana*) (龚小玲等 2015)、北部湾棱皮树蛙 (*Theلودerma corticale*) (辛桂瑜等 2020) 等两栖类特定物种的血细胞观察。为了研究动物血细胞与环境的适应性,学者还对不同分类单元动物血细胞的显微结构进行比较观察,如颜桂利等 (1996) 发现罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)、虎纹蛙 (*Hoplobatrachus rugulosus*)、家鸽 (*Columba livia domestica*) 的血细胞在形态结构上有许多共性,而家兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 与上述三者相比,由于其系统发育处于较高的位置,其血细胞形态结构上存在较大的差异;金星等 (2015) 对两栖动物中华蟾蜍、牛蛙和爬行动物铜蜓蜥 (*Sphenomorphus indicus*) 和青海沙蜥 (*Phrynocephalus vlangalii*) 的血细胞比较研究,发现它们之间血细胞的差异可能与种属不同或与环境恶劣程度有关。有学者对两栖纲同科同属的蛙类血细胞显微结构进行比较研究,如研究发现生活习性、栖息环境相近且同属于蛙科 (Ranidae) 蛙属 (*Rana*)

的 3 种东北产林蛙黑龙江林蛙 (*R. amurensis*)、东北林蛙 (*R. dybowskii*) 和桓仁林蛙 (*R. huanrenensis*) 的红细胞形态相似大小接近 (刘琳琳等 2006);周庆萍等 (2010) 对人工饲养条件下的叉舌蛙科 (Dicroglossidae) 棘蛙属 (*Quasipaa*) 的棘腹蛙 (*Q. boulengeri*)、棘胸蛙 (*Q. spinosa*) 和双团棘胸蛙 (*Q. yunnanensis*) 进行血细胞比较,发现三者的血细胞形态区别不大,这些研究结果可能与其同为一个属,亲缘关系近,且生活环境相似有密切关系。沼水蛙 (*Hylarana guentheri*) 属两栖纲无尾目蛙科水蛙属,斑腿泛树蛙 (*Polypedates megacephalus*) 和北部湾棱皮树蛙分属于树蛙科泛树蛙属和棱皮树蛙属。沼水蛙生活于稻田、菜园、池塘、山沟等地,在繁殖季节迁移至水稻田、池塘和浅水库进行抱对生殖,后迁出,营偏水栖生活 (邹佩贞 2003);斑腿泛树蛙常栖息在树林、稻田及池塘附近,蝌蚪水中变态发育后登陆营半树栖生活 (陈金玲 2003);两者均为我国南方农田常见种类,栖息地人为干扰强、环境复杂污染高。北部湾棱皮树蛙种群数量较少,主要生活在高海拔且阴暗潮湿的原始山林环境中,人为干扰弱、环境污染低 (廖常乐 2013)。本文对上述分属 2 科 3 属且栖息环境差异较大的 3 种两栖动物的血细胞进行显微观察与比较,探讨两栖纲不同科、属、种的动物血细胞是否具有特征上的差异,以及这种差异性与其生态适应的相关性,为研究两栖动物与生态环境相适应提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

斑腿泛树蛙 4 只 (2♀, 2♂) 和沼水蛙 4 只 (2♀, 2♂), 2017 年 5 月采自玉林市市郊, 经过仔细检查, 所有采集的标本均为健康个体。

1.2 方法

经过玉林师范学院动物研究伦理委员会同意, 对两种蛙采用双毁髓法破坏其脊髓, 立即打开围心腔, 用无菌注射器心取血后常规法制作血涂片, 每种每只蛙制作 6 张血涂片, 用快速瑞氏-姬姆萨 (Wright's-Giemsa's) 染色, Leica DC 500 显微镜下用油镜观察并拍照。血涂片在 Olympus 显微镜 10 × 40 倍镜下, 每张选取连续不重复的 10 个视野, 每种蛙共计选取 240 个视野。每种每只蛙随机选取 60 个红细胞, 分别测量细胞及细胞核长短径并计算比值; 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), 即每种蛙每种白细胞选取 40 个, 测量细胞大小 (长径 × 短径)。每种每只蛙的血涂片随机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 计数板上进行血细胞计数, 其中, 红细胞计数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, 每种每只蛙计数 3~4 次, 取平均值。北部湾棱皮树蛙的数据来自本实验室早期研究结果 (辛桂瑜等 2020)。实验所得全部数据用 EXCEL 软件求出平均值和标准差, 用 SPSS 20.0 软件进行统计学处理分析, 用最小显著性差异 (least significant difference, LSD) 法检验差异显著性, 差异显著性设为 $\alpha \leq 0.05$ 。

2 结果

斑腿泛树蛙、沼水蛙和北部湾棱皮树蛙的血细胞均由红细胞、白细胞和血栓细胞组成, 其中, 白细胞包括嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、大淋巴细胞、小淋巴细胞

和单核细胞 6 种。沼水蛙和斑腿泛树蛙同种蛙的雌雄个体血细胞在外观形态结构上差别不大。3 种蛙的血细胞在外观形态上也十分相似, 但在大小和数量上均具有一定的差异性。

2.1 红细胞的差异

3 种蛙的红细胞外观形态相似, 红细胞表面光滑, 多呈卵圆或椭圆形, 核质界限明显, 经染色后细胞质染浅红色, 核质致密呈紫红色; 细胞核居中, 形态与细胞整体相似 (图 1a), 少数核偏移 (图 1b), 偶见正处于分裂期的红细胞 (图 1c~e)。

统计结果表明, 3 种蛙的红细胞大小差异显著 (表 1)。3 种蛙中, 沼水蛙的红细胞长径和短径均为最大, 北部湾棱皮树蛙的红细胞长径和短径都最小。分别对 3 种蛙红细胞的长径和短径进行两两比较, 均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。红细胞长短径比值北部湾棱皮树蛙显著大于斑腿泛树蛙和沼水蛙, 斑腿泛树蛙与沼水蛙间差异不显著。北部湾棱皮树蛙的红细胞核长径最长, 而短径最短, 且核长短径比值最大, 均与斑腿泛树蛙、沼水蛙的差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 白细胞的差异

3 种蛙的外周血液均发现有嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、大淋巴细胞、小淋巴细胞和单核细胞等 6 种白细胞。3 种蛙的各种白细胞外观形状上具有相似性, 但是在大小上有显著性差异。

嗜中性粒细胞多为近圆形、椭圆形或不规则形状。胞质丰富, 染色呈浅红色, 核质界限明显, 细胞核染色较深, 为深紫红色且常偏于细胞一侧, 有分叶核, 叶与叶之间有时可见细的核丝或粗的核桥连接 (图 1f, g)。

嗜酸性粒细胞多呈近圆或椭圆形, 胞质中充满桔红色嗜酸性颗粒, 有时可见颗粒分散在细胞周围或落于核上, 核形状多样, 位于细胞中央或偏一侧, 偶见分叶核 (图 1h, i)。

嗜碱性粒细胞多见近圆形, 染色较深, 呈深紫色, 核质界限不清, 胞质中充满染为蓝褐

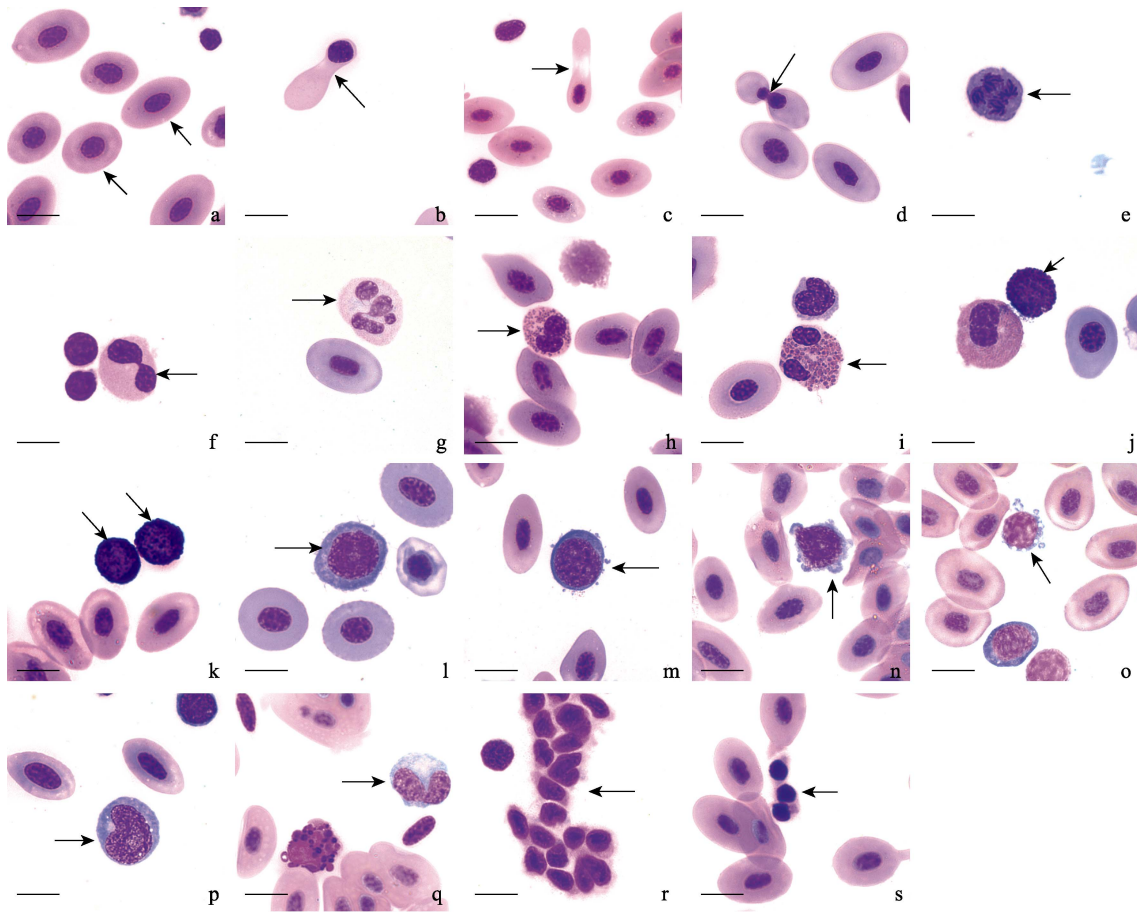


图 1 三种蛙外周血细胞比较

Fig. 1 The comparison of peripheral blood cells among three species frogs

a. 北部湾棱皮树蛙的红细胞; b. 斑腿泛树蛙的红细胞核偏移; c. 斑腿泛树蛙分裂期红细胞; d. 沼水蛙分裂期红细胞; e. 斑腿泛树蛙分裂期红细胞; f. 北部湾棱皮树蛙嗜中性粒细胞; g. 沼水蛙嗜中性粒细胞; h. 斑腿泛树蛙嗜酸性粒细胞; i. 沼水蛙嗜酸性粒细胞; j. 北部湾棱皮树蛙嗜碱性粒细胞; k. 斑腿泛树蛙嗜碱性粒细胞; l. 北部湾棱皮树蛙大淋巴细胞; m. 斑腿泛树蛙大淋巴细胞; n. 北部湾棱皮树蛙小淋巴细胞; o. 沼水蛙小淋巴细胞; p. 北部湾棱皮树蛙单核细胞; q. 沼水蛙单核细胞; r. 北部湾棱皮树蛙血栓细胞; s. 沼水蛙血栓细胞; 标尺 = 10 μm (× 1 000)。

a. Erythrocyte of *Theلودerma corticale*; b. Erythrocyte nuclear migration of *Polypedates megacephalus*; c. Cleavage erythrocyte of *Polypedates megacephalus*; d. Cleavage erythrocyte of *Hylarana guentheri*; e. Cleavage erythrocyte of *Polypedates megacephalus*; f. Neutrophil of *Theلودerma corticale*; g. Neutrophil of *Hylarana guentheri*; h. Eosinophil of *Polypedates megacephalus*; i. Eosinophil of *Hylarana guentheri*; j. Basophil of *Theلودerma corticale*; k. Basophil of *Polypedates megacephalus*; l. Macrolymphocyte of *Theلودerma corticale*; m. Macrolymphocyte of *Polypedates megacephalus*; n. Small lymphocyte of *Theلودerma corticale*; o. Small lymphocyte of *Hylarana guentheri*; p. Monocyte of *Theلودerma corticale*; q. Monocyte of *Hylarana guentheri*; r. Thrombocyte of *Theلودerma corticale*; s. Thrombocyte of *Hylarana guentheri*; Bar = 10 μm (× 1 000).

色或暗紫色的嗜碱性颗粒,覆盖在细胞核表面,使核不易被观察(图 1j, k)。

淋巴细胞呈圆形或椭圆形,核大,位于细

胞中央,偶见核大至与膜相切,细胞似裸核,胞核致密染色呈深紫色,胞质较少,有时仅有一薄层包在核周围,染色为淡蓝色。大、小淋

表 1 3 种蛙红细胞形态学参数 ($n = 12$)Table 1 Erythrocytes morphological parameters in *Theلودerma corticale*, *Polypedates megacephalus* and *Hylarana guentheri*

项目 Item	沼水蛙 <i>Hylarana guentheri</i>	斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	北部湾棱皮树蛙 <i>Theلودerma corticale</i> (辛桂瑜等 2020)
长径 Long diameter (μm)	23.56 \pm 2.78 ^a	21.80 \pm 2.17 ^b	21.24 \pm 2.26 ^c
短径 Short diameter (μm)	14.25 \pm 1.62 ^a	13.24 \pm 1.47 ^b	12.46 \pm 1.77 ^c
长短径比值 Ratio of long and short diameter	1.68 \pm 0.34 ^a	1.67 \pm 0.32 ^a	1.75 \pm 0.35 ^b
核长径 Long diameter of Nucleus (μm)	8.51 \pm 1.36 ^a	8.70 \pm 1.34 ^{ab}	8.91 \pm 1.26 ^b
核短径 Short diameter of Nucleus (μm)	4.90 \pm 0.80 ^a	5.07 \pm 0.96 ^b	4.41 \pm 0.72 ^c
核长短径比值 Ratio of long and short diameter of nucleus	1.76 \pm 0.32 ^a	1.75 \pm 0.29 ^a	2.08 \pm 0.46 ^c

表中的值均为平均值 \pm 标准差；同一行数据上标字母不同表示经最小显著性差异法分析两组数据差异显著 ($P < 0.05$)，上标字母相同表示无显著差异。

Shown as Mean \pm SD; Different superscript letters on the same row indicated significant difference ($P < 0.05$), while the same superscript letter showed no significant difference.

巴细胞形态相似，有时均可见向外伸出的伪足突起，但大淋巴细胞胞质较为丰富，胞核染色稍淡（图 11~o）。

单核细胞呈椭圆形或近圆形，偶见不规则形状。核大，位于细胞中央或偏位，形状多样，为卵圆形、马蹄形、肾形等，染成深紫色，胞质淡灰蓝色（图 1p, q）。

北部湾棱皮树蛙的嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的长径、短径均最大，沼水蛙的均最小，北部湾棱皮树蛙分别与斑腿泛树蛙、沼水蛙进行比较，均具有显著性差异 ($P < 0.05$)，而斑腿泛树蛙与沼水蛙的这两种细胞的大小接近，差异不显著。不同物种间大淋巴细胞和单核细胞的大小也存在明显差异，其中，北部湾棱皮树蛙这两种细胞的长径均最大，斑腿泛树蛙的最小，两种细胞长径在三物种间两两比较，均存在显著性差异 ($P < 0.05$)；斑腿泛树蛙的大淋巴细胞短径最小，且与其余两物种相比都具有显著性差异（表 2）。

2.3 血栓细胞的形态比较

3 种蛙的血栓细胞形态相似，细胞形状多样，呈纺锤形、梭形等。胞核致密、染紫红色，较大，有时占据整个细胞，胞质染浅红色。血栓细胞常多个聚集，也可见单个或几个散落存

在（图 1r, s）。

2.4 血细胞的数量差异

斑腿泛树蛙和沼水蛙的红细胞数量明显高于北部湾棱皮树蛙的红细胞数量 ($P < 0.05$)，而斑腿泛树蛙与沼水蛙之间差异不显著 ($P > 0.05$)。对 3 种蛙的白细胞数量相互间进行两两比较，存在显著差异 ($P < 0.05$)，斑腿泛树蛙白细胞数量最少，且其白细胞数量占血细胞总量的比例最低，而沼水蛙的白细胞数量最多（表 3）。

3 种蛙的白细胞分别进行分类计数（表 4），斑腿泛树蛙和沼水蛙的嗜中性粒细胞以及嗜碱性粒细胞的数量均显著高于北部湾棱皮树蛙的数量 ($P < 0.05$)，而北部湾棱皮树蛙大淋巴细胞、小淋巴细胞和单核细胞数量均显著多于其他两种蛙 ($P < 0.05$)。斑腿泛树蛙和沼水蛙之间嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、大淋巴细胞以及单核细胞的数量均无显著差异 ($P > 0.05$)，但斑腿泛树蛙的小淋巴细胞数量显著少于沼水蛙 ($P < 0.05$)。3 种蛙两两比较其嗜酸性粒细胞数量均差异不显著 ($P > 0.05$)。在各类白细胞数量的占比上，北部湾棱皮树蛙的白细胞中淋巴细胞的数量占比（包括大、小淋巴细胞）最多，斑腿泛树蛙和沼水蛙的嗜中性粒细胞占比

表 2 3 种蛙白细胞形态学参数 ($n = 12$)

Table 2 Leucocytes morphological parameters in *Theلودerma corticale*, *Polypedates megacephalus* and *Hylarana guentheri*

项目 Item	沼水蛙 <i>Hylarana guentheri</i>	斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	北部湾棱皮树蛙 <i>Theلودerma corticale</i> (辛桂瑜等 2020)
嗜中性粒细胞长径 Long diameter of neutrophils (μm)	15.74 ± 2.13 ^a	16.11 ± 2.49 ^a	16.50 ± 1.95 ^a
嗜中性粒细胞短径 Short diameter of neutrophils (μm)	13.53 ± 2.11 ^a	13.97 ± 1.92 ^{ab}	14.73 ± 1.75 ^b
嗜酸性粒细胞长径 Long diameter of eosinophils (μm)	14.84 ± 1.94 ^a	15.44 ± 2.51 ^a	17.55 ± 2.28 ^b
嗜酸性粒细胞短径 Short diameter of eosinophils (μm)	13.01 ± 1.74 ^a	12.55 ± 1.93 ^a	15.55 ± 1.91 ^b
嗜碱性粒细胞长径 Long diameter of basophils (μm)	12.41 ± 1.72 ^a	11.73 ± 1.23 ^a	13.67 ± 1.84 ^b
嗜碱性粒细胞短径 Short diameter of basophils (μm)	11.18 ± 1.48 ^a	10.60 ± 1.09 ^a	12.37 ± 1.47 ^b
大淋巴细胞长径 Long diameter of large lymphocyte (μm)	17.26 ± 2.23 ^a	16.24 ± 1.91 ^b	18.23 ± 2.35 ^c
大淋巴细胞短径 Short diameter of large lymphocyte (μm)	14.85 ± 2.14 ^a	13.05 ± 1.79 ^b	14.58 ± 2.26 ^a
小淋巴细胞长径 Long diameter of small lymphocyte (μm)	13.31 ± 1.68 ^a	12.97 ± 1.65 ^a	13.08 ± 1.40 ^a
小淋巴细胞短径 Short diameter of small lymphocyte (μm)	11.28 ± 1.78 ^a	11.30 ± 1.55 ^a	10.80 ± 1.97 ^a
单核细胞长径 Long diameter of monocyte (μm)	17.37 ± 2.31 ^a	15.97 ± 2.13 ^b	18.47 ± 2.64 ^c
单核细胞短径 Short diameter of monocyte (μm)	14.25 ± 2.75 ^a	13.33 ± 2.03 ^a	14.50 ± 2.29 ^a

表中的值均为平均值 ± 标准差; 同一行数据上标字母不同表示经最小显著性差异法分析两组数据差异性显著 ($P < 0.05$), 上标字母相同表示无显著差异。

Shown as Mean ± SD; Different superscript letters on the same row indicated significant difference ($P < 0.05$), while the same superscript letter showed no significant difference.

表 3 3 种蛙红细胞和白细胞的数量 ($n = 12$)

Table 3 The count of erythrocytes and leucocytes in 3 frog species

项目 Item	沼水蛙 <i>Hylarana guentheri</i>	斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	北部湾棱皮树蛙 <i>Theلودerma corticale</i> (辛桂瑜等 2020)
红细胞数量 Erythrocyte count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	40.67 ± 13.39 ^a	42.67 ± 19.16 ^a	24.33 ± 9.46 ^b
白细胞数量 Leucocyte count ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	2.38 ± 0.23 ^a	1.40 ± 0.40 ^b	1.74 ± 0.17 ^c
白细胞占血细胞的百分比 Percentage count of leucocyte (%)	5.53	3.18	6.67

表中的值均为平均值 ± 标准差; 同一行数据上标字母不同表示经最小显著性差异法分析两组数据差异性显著 ($P < 0.05$), 上标字母相同表示无显著差异。

Shown as Mean ± SD; Different superscript letters on the same row indicated significant difference ($P < 0.05$), while the same superscript letter showed no significant difference.

相对较高, 明显多于北部湾棱皮树蛙, 而 3 种蛙的嗜酸性粒细胞数量占比均最少。

3 讨论

隶属于不同科和属的沼水蛙、斑腿泛树蛙及北部湾棱皮树蛙血细胞在外观结构上基本相

同, 红细胞形状相似, 核质明显, 白细胞的种类一致, 且各种白细胞的核质在外观上也大同小异。研究发现同科属的 3 种林蛙 (刘琳琳等 2006) 和 3 种棘蛙 (周庆萍等 2010) 的血细胞外观结构相似。说明同科属或者不同科属的两栖动物血细胞在外观结构上均非常相似。红细

表 4 3 种蛙白细胞的分类计数 ($n = 12$)

Table 4 The leucocyte differential counts in 3 frog species

项目 Item	沼水蛙 <i>Hylarana guentheri</i>	斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	北部湾棱皮树蛙 <i>Theloderma corticale</i> (辛桂瑜等 2020)
嗜中性粒细胞计数 Neutrophil count (%)	33.50 ± 6.76 ^a	34.25 ± 7.59 ^a	10.10 ± 4.62 ^b
嗜酸性粒细胞计数 Eosinophil count (%)	3.25 ± 3.20 ^a	4.25 ± 3.30 ^a	6.17 ± 1.50 ^a
嗜碱性粒细胞计数 Basophil count (%)	16.00 ± 4.83 ^a	20.50 ± 4.12 ^a	9.27 ± 2.68 ^b
大淋巴细胞计数 Large lymphocyte count (%)	4.25 ± 1.29 ^a	5.75 ± 5.68 ^{ab}	10.85 ± 2.53 ^b
小淋巴细胞计数 Small lymphocyte count (%)	29.75 ± 5.38 ^a	20.50 ± 5.26 ^b	40.43 ± 1.77 ^c
单核细胞计数 Monocyte count (%)	13.25 ± 3.59 ^a	14.75 ± 2.06 ^a	23.18 ± 3.15 ^b

表中的值均为平均值 ± 标准差；同一行数据上标字母不同表示经最小显著性差异法分析两组数据差异显著 ($P < 0.05$)，上标字母相同表示无显著差异。

Shown as Mean ± SD; different superscript letters on the of the same row indicated significant difference ($P < 0.05$), while the same superscript letter showed no significant difference.

胞的长短径比值能反映其基本形状,比值越大,细胞越呈长椭圆形(林枢等 2015),北部湾棱皮树蛙的红细胞长短径比与同科的斑腿泛树蛙及不同科的沼水蛙均具有显著差异,但是不同科的斑腿泛树蛙与沼水蛙之间却不存在显著差异,表明北部湾棱皮树蛙的红细胞形态上更偏向于长椭圆形,而后两者间的红细胞在形态上更为相近且均偏向于椭圆形。这可能与这 3 种蛙的生活环境以及生活习性不同有关。北部湾棱皮树蛙生活在北热带喀斯特季节性雨林、山地常绿落叶阔叶混交林,此地植被丰富,多属于隐域性植被,林中含氧量高。且北部湾棱皮树蛙长时间栖息在树洞,偶尔回到水中生活,而空气中的氧气含量高于水体(李肇天等 2011,陈伟才 2018)。斑腿泛树蛙与沼水蛙生活环境相似,多栖息在稻田、菜园、池塘和水沟等地,营半树栖和偏水栖生活,水中溶氧量相对空气要少很多。对完全水栖的斑泥螈(*Necturus maculosus*)和偏陆栖的牛蛙呼吸强度的对比发现,在空气中长时间生活的牛蛙的肺呼吸溶氧量较高,皮肤呼吸较弱(Lenfant et al. 1967)。本研究 3 种蛙的红细胞形态差异是否与其呼吸方式有关,还需进一步研究。

本研究通过红细胞的大小对比发现,北部

湾棱皮树蛙的红细胞最小,沼水蛙的最大,三者间两两对比均存在显著差异。红细胞的大小与动物的进化程度及亲缘关系有密切相关性,研究表明,动物越高等红细胞越小,动物越低等红细胞越大(王芳 2013)。沼水蛙、斑腿泛树蛙和北部湾棱皮树蛙 3 种蛙的红细胞大小(21.24 ± 2.26) ~ (23.56 ± 2.78) μm ,小于大鲵($40 \sim 51 \mu\text{m}$)(李丕鹏等 1989)和新疆北鲵(*Ranodon sibiricus*)($29.98 \mu\text{m}$)(叶小芳等 2012),大于赤链蛇(*Dinodon rufozonatum*)($15.04 \sim 18.17 \mu\text{m}$)(李殿伟等 2007)、黑龙江草蜥(*Takydromus amurensis*)($13.47 \sim 15.53 \mu\text{m}$)(林枢等 2015)。对中国林蛙变态发育中骨的形态观察发现,无尾两栖动物的进化程度低于爬行动物(裴跃斌 2018)。本实验中的 3 种无尾两栖动物的血细胞比赤链蛇等爬行动物的血细胞要大,这与动物的进化和分类地位相符合。本研究的 3 种无尾目物种的红细胞比大鲵等有尾目物种的小,这是否可以说明有尾目在两栖类中较无尾目处于较原始地位,需要进一步的分子研究证实;另外,大鲵等有尾目物种水栖性极强,终身水栖,而水中含氧量较空气中低,其红细胞较大,可能与其携氧能力较强有关,需进一步分析比较。

动物体内红细胞数量和运载氧气的能力有关(和建政 2013)。斑腿泛树蛙与沼水蛙的红细胞数量都显著高于北部湾棱皮树蛙,而斑腿泛树蛙与沼水蛙间红细胞数量接近,说明斑腿泛树蛙与沼水蛙的红细胞运载氧气的能力相近且比北部湾棱皮树蛙强,也表明前两者对氧需求更高。本研究 3 种蛙红细胞数量的差异可能与它们平时的活动及运动量有关。北部湾棱皮树蛙喜长时间趴在树上栖息,觅食方式以坐等式为主,很少主动搜寻食物,运动量小(廖常乐 2013);斑腿泛树蛙和沼水蛙均栖息在稻田、菜园、池塘、水沟、山沟、树林、草丛或有水域的玉米地、芭蕉园等地,活动范围大、运动量大(陈金玲 2003,钟碧瑾 2009)。3 种蛙相比较,北部湾棱皮树蛙相对斑腿泛树蛙和沼水蛙运动量小,对氧气的需求量相对较少,相应地红细胞数量偏少。白细胞的数量主要与动物抵抗外界环境能力有关,是机体的免疫细胞(何诚 2013)。北部湾棱皮树蛙的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、大淋巴细胞及单核细胞的长径均显著大于斑腿泛树蛙和沼水蛙;北部湾棱皮树蛙的白细胞总体上比斑腿泛树蛙和沼水蛙的白细胞大,而后两者的白细胞较小且大小更为接近。斑腿泛树蛙与沼水蛙小淋巴计数差异显著,其余 5 种白细胞数量都接近,总体来说两者间的各类白细胞计数比例较为相似。斑腿泛树蛙和沼水蛙与北部湾棱皮树蛙相比,仅斑腿泛树蛙的大淋巴细胞数量与北部湾棱皮树蛙的大淋巴细胞数量接近,其余白细胞数量均存在显著差异,即北部湾棱皮树蛙的各类白细胞数量与两者具有较大的差别。3 种蛙之间的白细胞数量比例存在差异可能跟其生存模式及长期适应栖息的环境有一定的关系。北部湾棱皮树蛙是高度隐蔽的物种,多生活在亚热带的常绿阔叶林或混交林(陈伟才 2018),常栖息在树上,活跃度低,生活环境较为简单,人为干扰和污染程度较低,且北部湾棱皮树蛙捕食习惯为静等模式,食用林地昆虫为主(廖常乐 2013);而斑腿泛树蛙与沼水蛙生活环境均较为

复杂,有时甚至在积水的粪坑也有发现,两者均以农、林的害虫为食,食性较为复杂,人为干扰大,环境污染严重、微生物组成更为复杂(陈金玲 2003,邹佩贞等 2003);由于北部湾棱皮树蛙与斑腿泛树蛙和沼水蛙存在着这种生活习性、环境的差异,导致其在长期对抗环境中体内的白细胞种类含量异于后两者,而后两者生活模式、环境相近,使两者有着更为相似的白细胞种类含量,但这推测还需进一步研究证实。

北部湾棱皮树蛙的淋巴细胞和单核细胞数量所占比例较高,斑腿泛树蛙和沼水蛙的淋巴细胞和嗜中性粒细胞数量所占比例较高,这与牛蛙的外周血(龚小玲等 2015)、中华蟾蜍血(郭宪光等 2002)中都发现淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞占白细胞的含量较多相似。淋巴细胞是构成机体免疫系统的最主要细胞群体,在免疫应答过程中,嗜中性粒细胞和单核细胞都具有强大的吞噬杀菌功能(李春艳 2012)。本研究 3 种蛙中这三种细胞的含量都较高,表明,它们对动物的机体防御和免疫能力起十分重要的作用;但它们三者之间比较存在差异,也可能与其生存环境的恶劣程度或者个体营养水平、生活习性等有关,需进一步研究探讨。

参 考 文 献

- Lenfant C, Johansen K. 1967. Respiratory adaptations in selected amphibians. *Respiration Physiology*, 2(3): 247–260.
- Wang Y W, Field C J, Sim J S. 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. *Poultry Science*, 79(12): 1741–1748.
- 陈金玲. 2003. 斑腿泛树蛙繁殖习性的观察. *生物学通报*, 38(12): 49–50.
- 陈伟才. 2018. 广西棱皮树蛙. *广西林业*. (5): 34.
- 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.
- 何诚. 2013. 实验动物学. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 37-38.
- 和建政. 2013. 青海沙蜥低氧习服和适应的不同调节机制及低氧对荒漠沙蜥体温调节和静止代谢率的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文.
- 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.
- 李春艳. 2012. 免疫学基础. 北京: 科学出版社, 207-208.
- 李殿伟, 张志影, 李淑兰, 等. 2007. 黑龙江省产 10 种蛇类血细胞的比较研究. 四川动物, 26(2): 401-403.
- 李桂芬, 蒙绍权, 李涛, 等. 2009. 版纳鱼螈外周血细胞观察. 动物学杂志, 44(2): 102-107.
- 李丕鹏, 何国湘, 张育辉, 等. 1989. 大鲵的血液学观察. 陕西师大学报: 自然科学版, 17(3): 50-53.
- 李肇天, 周放, 杨岗, 等. 2011. 广西邦亮长臂猿自然保护区的鸟类. 动物学杂志, 46(5): 90-101.
- 廖常乐. 2013. 广西棱皮树蛙 *Theiaderma 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.
- 刘琳琳, 李淑兰, 赵文阁, 等. 2006. 东北产三种林蛙血细胞的比较研究. 四川动物, 25(2): 231-233.
- 裴跃斌. 2018. 中国林蛙变态发育中骨的形态变化. 陕西: 陕西师范大学硕士学位论文.
- 王芳. 2013. 血液学指标在大鲵虹彩病毒病诊断与免疫评估中的应用. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文.
- 辛桂瑜, 赵玲玉, 贝永建, 等. 2020. 北部湾棱皮树蛙外周血细胞显微结构观察. 动物学杂志, 55(3): 371-378.
- 闫桂琴. 2010. 生命科学导论. 北京: 北京师范大学出版社, 40-42.
- 颜桂利, 黄键, 江道提, 等. 1996. 四种脊椎动物血细胞亚显微结构的比较观察. 解剖学报, 27(1): 100-103.
- 叶小芳, 张佳佳, 袁亮, 等. 2012. 新疆北鲵血液学研究. 新疆畜牧业, (11): 33-36.
- 钟碧瑾. 2009. 两种有机磷农药对沼水蛙蝌蚪毒理学效应的研究. 福建: 福建师范大学硕士学位论文.
- 周庆萍, 李松, 黄倩, 等. 2010. 棘腹蛙、棘胸蛙和双团棘胸蛙血细胞的比较研究. 贵州农业科学, 38(1): 102-104.
- 邹佩贞, 温彩燕, 蓝燕彬, 等. 2003. 沼水蛙繁殖习性与食性的初步研究. 动物学杂志, 38(2): 64-67.