

高温胁迫和恢复对牛蛙蝌蚪及幼蛙 生长、变态和抗氧化功能的影响*

丁昊, 何颖琳, 李沃杏, 潘燕芳, 陈卓, 徐超, 杨慧荣

华南农业大学海洋学院, 广东 广州 540642; 华南农业大学中山创新中心, 广东 中山 528400

摘要:为探究牛蛙(*Lithobates catesbeiana*)在热应激下的生理调控特征,通过模拟高温及恢复环境,研究了水温对蝌蚪及幼蛙期生长、变态和抗氧化功能的影响。随机选取 3 600 尾开口摄食的牛蛙蝌蚪[7 日龄, Gosner stage 25, (0.04±0.00) g/尾],随机分为 12 缸,每缸 300 尾,分别于 24、27 和 30 °C 水温下养殖 80 d;其后,将变态后的幼蛙在 24 °C 水温下继续养殖 56 d。结果显示,蝌蚪阶段,末均质量(FBW)、增质量率(WGR)和特定生长率(SGR)在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义($P>0.05$),但它们的值均显著高于 30 °C 组蝌蚪($P<0.05$);27 °C 组蝌蚪的雄性率和变态率显著高于 24 °C 组,但显著低于 30 °C 组($P<0.05$)。24 °C 水温养殖下的幼蛙,FBW、WGR、SGR 和存活率在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义($P>0.05$),但它们的值均显著高于 30 °C 组幼蛙($P<0.05$)。在肠道酶活性上,幼蛙肠道蛋白酶和肌酸激酶活性在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义($P>0.05$),但它们均显著低于 30 °C 组($P<0.05$);24 °C 组幼蛙肠道的脂肪酶和酸性磷酸酶活性显著高于 27 和 30 °C 组幼蛙($P<0.05$)。在抗氧化能力指标上,幼蛙肠道超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义($P>0.05$),但它们均显著高于 30 °C 组($P<0.05$)。肝脏谷丙转氨酶、谷草转氨酶、SOD 和 CAT 活性及丙二醛含量在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义($P>0.05$),但它们均显著低于 30 °C 组($P<0.05$);27 和 30 °C 组幼蛙肝脏的总抗氧化能力值则显著高于 24 °C 组幼蛙($P<0.05$)。综上,27 °C 水温能促进牛蛙蝌蚪的生长和变态,并能够增强应激后幼蛙体内的抗氧化能力,提高幼蛙的生长性能。

关键词:高温胁迫;牛蛙;生长;变态;抗氧化能力;氧化应激

中图分类号:S96 **文献标志码:**A **文章编号:**2097-0137(2026)02-0099-10

Effects of high temperature stress and recovery on growth, metamorphosis and antioxidant function of bullfrog (*Lithobates catesbeiana*) in tadpoles and juvenile stage

DING Hao, HE Yinglin, LI Woxing, PAN Yanfang, CHEN Zhuo, XU Chao, YANG Huirong

College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
Zhongshan Innovation Center of South China Agricultural University, Zhongshan 528400, China

* 收稿日期:2025-08-13

录用日期:2025-10-16

网络首发日期:2025-10-27

基金项目:广东省科技厅“百千万工程”农村科技特派员第二轮重点派驻项目(KTP20240658);农业农村部农产品质量安全风险评估项目(20244088);农业农村部农产品质量安全风险评估项目(20254059)

作者简介:丁昊(2001年生),男;研究方向:水产动物营养与饲料;E-mail:haoding@stu.scau.edu.cn;

何颖琳(1998年生),女;研究方向:水生生物学;E-mail:yinglinhe@stu.scau.edu.cn

(丁昊、何颖琳并列第一作者)

通信作者:杨慧荣(1977年生),女;研究方向:水产养殖;E-mail:hry@scau.edu.cn;

徐超(1989年生),男;研究方向:水产动物营养与饲料;E-mail:xuc1213@scau.edu.cn

(杨慧荣、徐超为共同通信作者)

全文阅读



ZR20250170

Abstract: To investigate the physiological regulation of bullfrogs (*Lithobates catesbeiana*) under long-term heat stress, this study simulated a high-temperature and recovery environment to examine the effects of water temperature on growth, metamorphosis, and antioxidant function during the tadpole and juvenile stages. Three thousand six hundred bullfrog tadpoles at Gosner stage 25 [7 d old; (0.04±0.00) g] were randomly divided into 12 tanks, with 300 individuals per tank, and reared for 80 days at water temperatures of 24, 27, and 30 °C, respectively. Subsequently, post-metamorphic juveniles were maintained at 24 °C for an additional 56 days. The results showed that, during the tadpole stage, final body weight (FBW), weight gain rate (WGR), and specific growth rate (SGR) did not differ significantly between the 24 and 27 °C groups ($P>0.05$), but their values were all significantly higher than those of tadpoles in the 30 °C group ($P<0.05$). The male ratio and metamorphosis rate in the 27 °C group were significantly higher than those in the 24 °C group, but lower in the 30 °C group ($P<0.05$). For juveniles reared at 24 °C, FBW, WGR, SGR, and survival rate showed no significant differences between the 24 and 27 °C groups ($P>0.05$), but their values were all significantly higher than those in the 30 °C group ($P<0.05$). In terms of intestinal enzyme activity, protease and creatine kinase activities in juveniles did not differ significantly between the 24 and 27 °C groups ($P>0.05$), but both were significantly lower than those in the 30 °C group ($P<0.05$); lipase and acid phosphatase activities in the 24 °C group were significantly higher than those in the 27 and 30 °C groups ($P<0.05$). Regarding antioxidant indices, intestinal superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities in the 24 and 27 °C groups were not significantly different ($P>0.05$), but both were significantly higher than those in the 30 °C group ($P<0.05$). In the liver, glutamic pyruvic transaminase, glutamic oxaloacetic transaminase, SOD, and CAT activities, as well as malondialdehyde content, did not differ significantly between the 24 and 27 °C groups ($P>0.05$), but all were significantly lower than those in the 30 °C group ($P<0.05$). The hepatic total antioxidant capacity values of juveniles in the 27 and 30 °C groups were significantly higher than those in the 24 °C group ($P<0.05$). In conclusion, a water temperature of 27 °C can promote the growth performance, metamorphosis rate, and male ratio of bullfrog tadpoles, and can enhance the antioxidant capacity of juveniles after stress, thereby improving juvenile growth performance. These findings suggest that maintaining 27 °C during the tadpole stage could optimize bullfrog aquaculture in subtropical regions under summer heat waves.

Key words: high temperature stress; bullfrogs; growth; metamorphosis; antioxidant capacity; oxidative stress

水温作为水生生态系统中的关键环境因子,通过调控代谢速率、酶活性及激素分泌等生理过程,广泛地影响生命有机体的生长发育和生存适应性(He et al., 2023; Niu et al., 2023; Park et al., 2023)。诸多水生动物,如鱼类和两栖动物,都是变温动物,对温度十分敏感(Aguirre-Becerra et al., 2018; Han et al., 2023; Luo et al., 2024)。当水体温度超出养殖动物耐受阈值时,它们会因机体产生氧化应激、内稳态失衡,而出现大量死亡(Liu et al., 2019; Gao et al., 2021; Liu et al., 2022)。在大鲵(*Andrias davidianus*)(Wang et al., 2018a)上的研究证实,热暴露会激活抗氧化酶系统,以保护肝脏免受热应激引起的氧化损伤,但是温度超出耐受限度

时,则会导致肝脏代谢功能障碍。在短体下眼鲮(*Horabagrus brachysoma*)(Dalvi et al., 2017)上的研究证实,高温抑制了机体抗氧化代谢途径和脂类合成相关酶的活性,加剧了氧化应激并影响细胞稳态。因此,鉴于水体温度是影响水生动物生长发育和机体健康的关键因子,探究水生动物应对高温胁迫的响应机制及应对策略,对水产养殖业具有重要现实意义。

牛蛙(*Lithobates catesbeiana*)原产于北美,隶属脊椎动物门(Chordata)、两栖纲(Amphibia)、无尾目(Anura)、蛙科(Ranidae)、蛙属(*Rana*)、牛蛙亚属(*Lithobates*),是一种大型食用蛙。牛蛙以其快速的生长、细腻的肉质、鲜美的口感以及丰富的营养价值,赢得了市场和消费者的广泛青睐,被誉为国际

市场上最具商业价值的两栖动物之一(邵闯等, 2023)。目前,牛蛙作为中国南方地区经济重要的养殖动物,其养殖过程中面临亚热带地区季节性高温的严峻挑战。Bellakhal et al.(2014)和Ding et al.(2015)的研究表明,水温是影响两栖动物生长、变态及存活的重要因子。蝌蚪和幼蛙期作为牛蛙生命周期中的关键发育阶段,其对水体温度变化十分敏感(Arrighi et al., 2013; Yu et al., 2016)。水温升高会提高牛蛙的采食量,加速其新陈代谢和个体发育,但过高的水温会改变其机体的能量分配模式,从而导致存在变态期的养殖动物如牛蛙的生长停滞。Fielder et al.(2005)发现,水温升高虽然会加速两栖动物如牛蛙的变态发育,但会导致其变态后个体生长停滞。Corrie et al.(2024)发现,在5℃环境下,牛蛙蝌蚪的变态程序会暂停,但在转移到25℃环境后,其发育会继续进行。Grott et al.(2023)表明,牛蛙蝌蚪的最适生长温度接近25℃,升高3~4℃会加快变态发育速,但长期过高的温度可能对生理过程产生负面影响,导致生长和发育不平衡。相似的现象在棘腹蛙(*Quasipaa boulengeri*)(徐敬明等, 2018)、中国林蛙(*Rana chensinensis*)和大蟾蜍(*Bufo gargarizans*)(王立志等, 2005),以及泽陆蛙(*Fejervarya limnocharis*)和饰纹姬蛙(*Microhyla ornata*)(施林强等, 2012)等蛙类中也有报道。Bustos et al.(2007)等发现,在高温胁迫后,两栖动物生长停滞的现象与其机体产生的氧化应激损伤密切相关。Freitas et al.(2017)表明,高温胁迫会诱发活性氧积累,破坏抗氧化防御系统,导致氧化损伤,并干扰能量代谢和内稳态调节,进而影响生长健康。余子豪等(2024)在兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *singuonensis*)上的研究表明,38℃高水温胁迫后再恢复至适宜水温(28℃),该鱼的缺氧症状消除。然而,针对有变态期的两栖类在高温后复温能否逆转生长及氧化损伤,仍缺少全生命周期追踪数据。

我们假设:(1)30℃会加速变态,但将以变态后的生长为代价;(2)在24℃下恢复只能部分还原抗氧化功能。鉴于此,本研究以牛蛙为研究对象,设置常温(24℃组)、中温(27℃组)和高温(30℃组)3个水温,探究高温胁迫对牛蛙蝌蚪生长和变态的影响;随后,将变态后的幼蛙在24℃水温下养殖56d,分析生长、肠道消化吸收功能和组织抗氧化能力等相关指标,探究高温胁迫后复温是否能够改善蛙的生长性能及健康状态。本研究所获结果将为牛蛙的健康养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 养殖动物及试验饲料

本研究已获得华南农业大学动物伦理委员会批准(审批号:2017D006)。

牛蛙蝌蚪购自福建省漳州市啸天水产有限公司;牛蛙蝌蚪饲料选用广东源信饲料实业有限公司生产的 $w(\text{粗蛋白})\geq 35\%$ 和 $w(\text{粗脂肪})\geq 5\%$ 的粉状饲料;幼蛙饲料选用广东恒兴集团有限公司生产的 $w(\text{粗蛋白})\geq 40\%$ 和 $w(\text{粗脂肪})\geq 4.0\%$ 的膨化料。2种饲料的主要蛋白原均为鱼粉和豆粕,脂肪源均为鱼油。

1.2 养殖实验设计

蝌蚪期:各温度组水温用钛加热棒(800 W,江苏泰州,SLH-01)进行控制,控温误差范围为 $\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$,并用智能温控仪进行监控。设置3个温度组,分别为24、27和30℃组,每组4重复,随机选取3600尾开口摄食的牛蛙蝌蚪[7日龄, Gosner stage 25, $(0.04\pm 0.00)\text{ g/尾}$],随机分配到12个玻璃缸(1.80 m \times 0.6 m \times 0.55 m, 300 L),每缸300尾,进行为期80 d的养殖实验。期间,每天分别在6:00、10:00、14:00和18:00进行投喂,日投喂量为5%~8%。

幼蛙期:80 d后,将27和30℃组变态完成的幼蛙从缸中捞出,在24℃下进行56 d的复温实验。每缸30尾,每组4重复,每天分别在6:00和18:00进行投喂,日投喂量为5%。

上述养殖期间,pH值为 7.86 ± 0.72 ,溶解氧为 $(7.45\pm 0.35)\text{ mg/L}$,氨氮为 $(0.39\pm 0.14)\text{ mg/L}$,亚硝酸盐为 $(0.07\pm 0.02)\text{ mg/L}$,光照周期为12 L:12 D。

1.3 样品采集

蝌蚪期:每间隔5 d从每缸随机抽取10尾牛蛙蝌蚪测量其体质量。从第1尾牛蛙蝌蚪变态起,每5 d统计一次牛蛙蝌蚪的变态数。养殖80 d后,禁食24 h,每缸随机抽取30尾前肢和后肢完全长成,且尾巴尚未开始消失的牛蛙蝌蚪(Gosner stage 42~46),测量体质量;并解剖蝌蚪,通过体视显微镜(Axio Zoom.V16, Zeiss)对每只蝌蚪的性腺进行组织学结构鉴定,统计雄性率(MR, male rate)。根据Wolff et al.(2015)的标准进行判断,具有明显的曲细精管判定为雄性,具有明显的卵巢腔,周围环绕着卵母细胞判定为雌性。

幼蛙期:每间隔14 d从每缸随机抽取10只幼蛙测量其体质量。养殖56 d后,禁食24 h,每缸随机挑选4只幼蛙采集肠道和肝脏后置于冻存管中,液氮速冻后,-80℃下保存。

1.4 生长及变态指标分析

按照以下公式计算存活率(SR, survival rate)、增质量率(WGR, weight growth rate)、特定生长率(SGR, specific growth rate)、变态率(MMR, metamorphosis rate)和MR:

$$\text{蝌蚪 SR} = (N_t / N_0) \times 100\%,$$

$$\text{蝌蚪 WGR} = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100\%,$$

$$\text{蝌蚪 SGR} = [(\text{Ln}W_t - \text{Ln}W_0) / T] \times 100\%,$$

$$\text{MMR} = (N_t / N_0) \times 100\%,$$

$$\text{MR} = [N_m / (N_m + N_f)] \times 100\%,$$

$$\text{幼蛙 SR} = (N'_t / N'_0) \times 100\%,$$

$$\text{幼蛙 WGR} = [(W'_t - W'_0) / W'_0] \times 100\%,$$

$$\text{幼蛙 SGR} = [(\text{Ln}W'_t - \text{Ln}W'_0) / (T + T_1)] \times 100\%,$$

式中 N_0 为蝌蚪初始数量; N_t 为高温胁迫 80 d 后蝌蚪和幼蛙的存活数量; W_0 为蝌蚪初始均质量; W_t 为蝌蚪末均质量; T 为蝌蚪养殖天数; N_t 为处于 Gosner stage 42~46 蝌蚪数; N_m 为解剖蝌蚪中的雄性数量; N_f 为解剖蝌蚪中的雌性数量; N'_0 为幼蛙初始数量; N'_t 为温度恢复实验 56 d 时幼蛙的存活数量; W'_t 为幼蛙末均质量; T_1 为幼蛙养殖天数。

1.5 组织生理生化指标的测定

将幼蛙肠道和肝脏分别称取 0.1 g, 加入 0.9 mL 的 $w=0.9\%$ 生理盐水, 匀浆后, 在 4 °C 下 2 500 r/min 离心 15 min, 取上清液。肠道组织 α -淀粉酶(α -AMS, α -amylase)、脂肪酶(LPS, lipase)、蛋白酶(PES, pepsin)、酸性磷酸酶(ACP, acid phosphatase)、肌酸激酶(CK, creatine kinase)、超氧化物歧化酶(SOD, superoxide dismutase,)、过氧化氢酶(CAT, catalase)和丙二醛(MDA, malondialdehyde), 及肝脏组织谷丙转氨酶(GPT, glutamic pyruvic transaminase)、谷草转氨酶(GOT, glutamic oxaloacetic transaminase)、总抗氧化能力(T-AOC, total antioxidant capacity)、SOD、CAT 和 MDA 均采用南京建成生物工程研究

所生产的试剂盒测定。

1.6 数据处理

用 IBM SPSS Statistics V22.0 软件, 对蝌蚪和幼蛙的增质量率和变态率数据进行双因素方差分析; 其余数据采用单因素方差分析, 并通过 Turkey 法进行事后多重比较。数值以“平均值 \pm 标准差”表示, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同温度组牛蛙蝌蚪生长性能及变态相关指标的比较

80 d 的实验后, 各温度组蝌蚪 SR 的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。30 °C 组蝌蚪的 FBW、WGR 和 SGR 显著低于 24 和 27 °C 组蝌蚪 ($P < 0.05$), 但这些指标的值在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。30 °C 组蝌蚪的 MR 和 MMR 显著高于 24 和 27 °C 组蝌蚪 ($P < 0.05$), 并且 27 °C 组蝌蚪的 MR 和 MMR 也显著高于 24 °C 组蝌蚪 ($P < 0.05$) (表 1)。

养殖天数和水温对蝌蚪的 WGR 和 MMR 均产生了显著影响 ($P < 0.05$)。相同水温下, 随养殖天数的增加, 蝌蚪的 WGR 和 MMR 均显著上升 ($P < 0.05$)。相同养殖天数下, 随水温的增加, 蝌蚪的 MMR 显著上升 ($P < 0.05$), 但 WGR 的变化趋势与之相反 ($P < 0.05$)。此外, 在养殖第 45 天时, 30 °C 组蝌蚪出现第 1 只变态幼蛙。在养殖第 55 天时, 27 °C 组蝌蚪出现第 1 只变态幼蛙。在养殖第 60 天时, 24 °C 组蝌蚪出现第 1 只变态幼蛙。这些说明, 27 和 30 °C 水温能有效缩短了蝌蚪的变态时间 (图 1~2)。

2.2 不同温度组幼蛙生长性能相关指标的比较

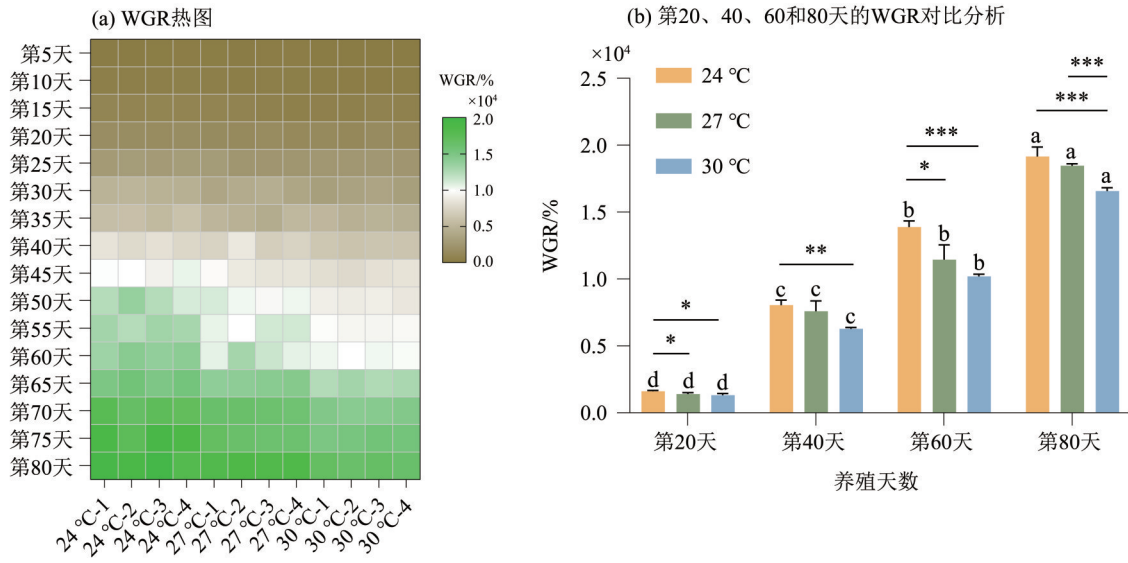
56 d 的复温实验后, 30 °C 幼蛙的 FBW、SR、WGR 和 SGR 显著低于 24 和 27 °C 组幼蛙 ($P < 0.05$), 但这些指标的值在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2)。

表 1 水温对牛蛙蝌蚪生长性能及变态的影响¹⁾

Table 1 Effects of water temperature on growth performance and metamorphosis in bullfrog tadpoles

指标	24 °C 组	27 °C 组	30 °C 组
末均质量(FBW)/g	6.97 \pm 0.26 ^a	6.73 \pm 0.05 ^a	6.03 \pm 0.09 ^b
增质量率(WGR)/%	19 163.74 \pm 706.39 ^a	18 478.66 \pm 136.45 ^a	16 568.99 \pm 257.93 ^b
特定生长率(SGR)/(%)·d ⁻¹	6.58 \pm 0.05 ^a	6.53 \pm 0.01 ^a	6.4 \pm 0.02 ^b
存活率(SR)/%	96.30 \pm 0.93	95.38 \pm 2.75	92.29 \pm 2.94
变态率(MMR)/%	58.02 \pm 6.96 ^c	68.60 \pm 1.60 ^b	85.10 \pm 1.31 ^a
雄性率(MR)/%	55.56 \pm 2.97 ^c	77.36 \pm 1.42 ^b	84.21 \pm 2.57 ^a

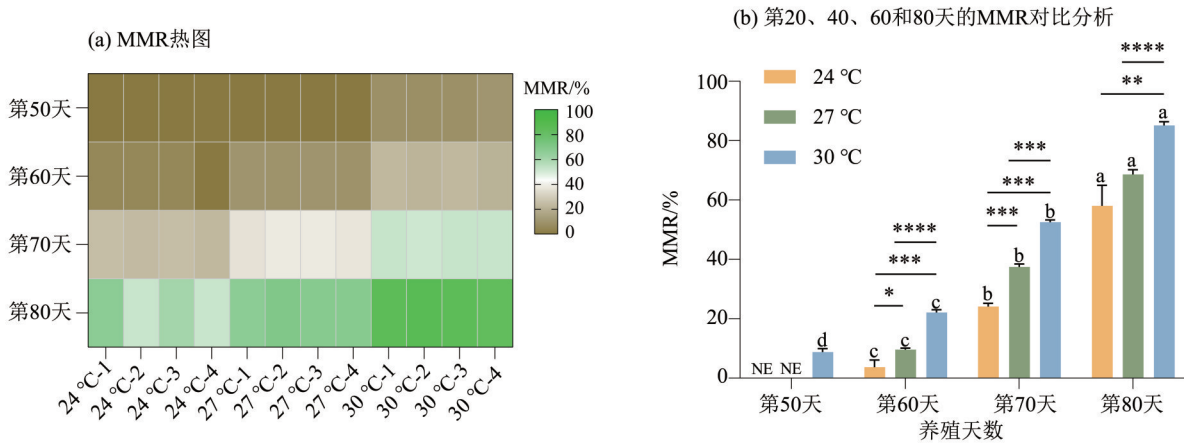
1) 同一行中不同上标字母表示组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。



各组内不同养殖天数之间的小写字母表示差异具有统计学意义($P < 0.05$);
 同一养殖天数不同组之间的“*”表示差异具有统计学意义($P < 0.05$);
 $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$ 。

图 1 水温和养殖天数对牛蛙蝌蚪增质量率(WGR)的影响

Fig. 1 Effects of water temperature and breeding days on weight growth rate (WGR) in bullfrog tadpoles



各组内不同养殖天数之间的小写字母表示差异具有统计学意义($P < 0.05$);
 同一养殖天数不同组之间的“*”表示差异具有统计学意义($P < 0.05$);
 $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$ 。

图 2 水温和养殖天数对牛蛙蝌蚪变态率(MMR)的影响

Fig. 2 Effects of water temperature and breeding days on metamorphosis rate (MMR) in bullfrog tadpoles

表 2 水温对幼蛙生长性能的影响¹⁾

Table 2 Effects of water temperature on growth performance in juvenile bullfrogs

指标	24 °C组	27 °C组	30 °C组
均末质量(FBW)/g	76.66±5.31 ^a	73.36±4.08 ^a	59.03±3.33 ^b
存活率(SR)/%	78.97±1.03 ^a	75.43±2.73 ^a	69.33±2.67 ^b
增质量率(WGR)/%	211 655.52±14 677.59 ^a	202 553.37±11 257.56 ^a	162 971.48±9 210.30 ^b
特定生长率(SGR)/(·d ⁻¹)	5.63±0.05 ^a	5.59±0.04 ^a	5.44±0.04 ^b

1) 同一行中不同上标字母表示组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

养殖天数和蝌蚪期水温对幼蛙的 WGR 产生了显著影响 ($P < 0.05$)。相同水温下,随养殖天数的增加,幼蛙的 WGR 均显著上升 ($P < 0.05$)。此外,相同养殖天数下,随水温的增加,幼蛙的 WGR 显著下降 ($P < 0.05$)。结果表明,蝌蚪期在 30 °C 水温下养殖的幼蛙,在恢复到 24 °C 水温养殖时,幼蛙的生长机能未能恢复正常(图 3)。

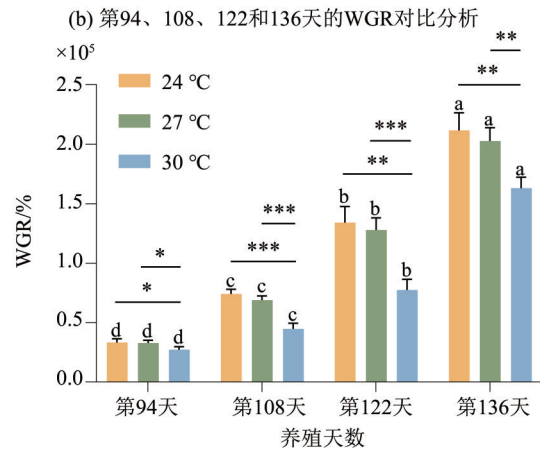
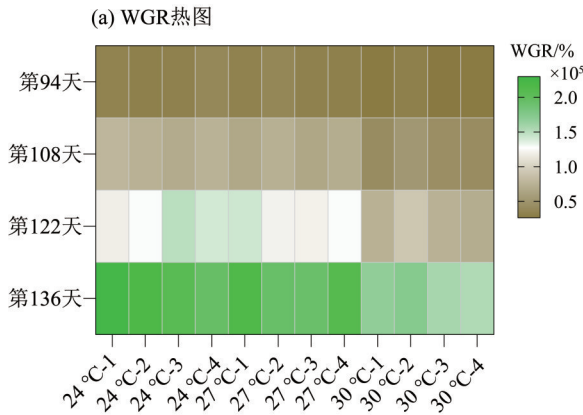
2.3 不同温度组幼蛙肠道酶活性的比较

从图 4 中我们可以得知,56 d 的复温实验后,各组幼蛙肠道 α -AMS 活性的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。24 °C 组幼蛙肠道的 LPS 和 ACP 活性显著高于 27 和 30 °C 组幼蛙 ($P < 0.05$),然而这些指标的值在 27 和 30 °C 组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。30 °C 组幼蛙肠道的 PES 和 CK 活性显

著 ($P < 0.05$) 高于 24 和 27 °C 组幼蛙,但这些指标的值在 24 和 27 °C 组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 不同温度组幼蛙组织抗氧化功能相关指标的比较

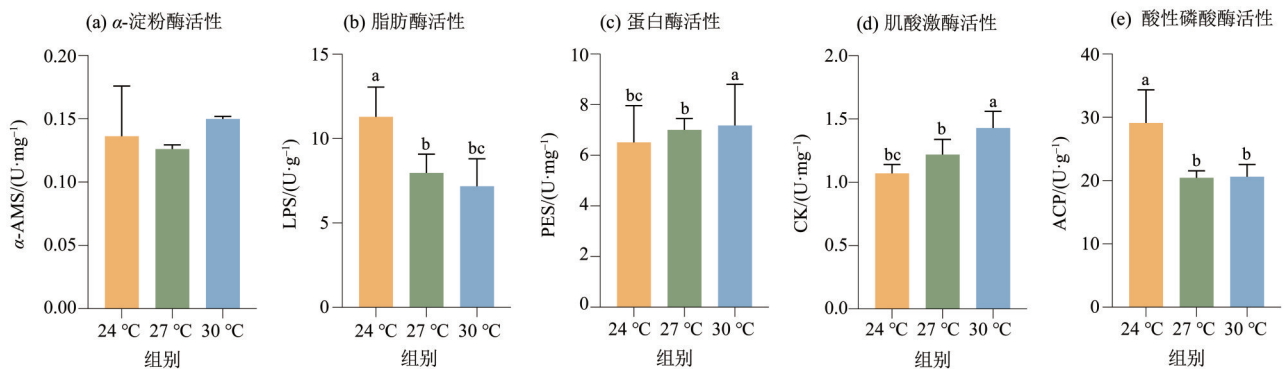
56 d 的复温实验后,各组幼蛙肠道的 MDA 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。30 °C 组幼蛙肠道的 SOD 和 CAT 活性显著低于 24 和 27 °C 组 ($P < 0.05$),而肝脏的 GPT、GOT、SOD、CAT 活性和 MDA 含量显著高于 24 和 27 °C 组 ($P < 0.05$); 27 和 30 °C 组肝脏的 T-AOC 值显著高于 24 °C 组幼蛙 ($P < 0.05$)。同时,27 °C 组幼蛙肠道的 CAT 活性和肝脏的 GPT、GOT、SOD 和 CAT 活性高于 24 °C 组幼蛙(图 5~6)。



各组内不同养殖天数之间的小写字母表示差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 同一养殖天数不同组之间的“*”表示差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 3 水温和养殖天数对幼蛙增质量率(WGR)的影响

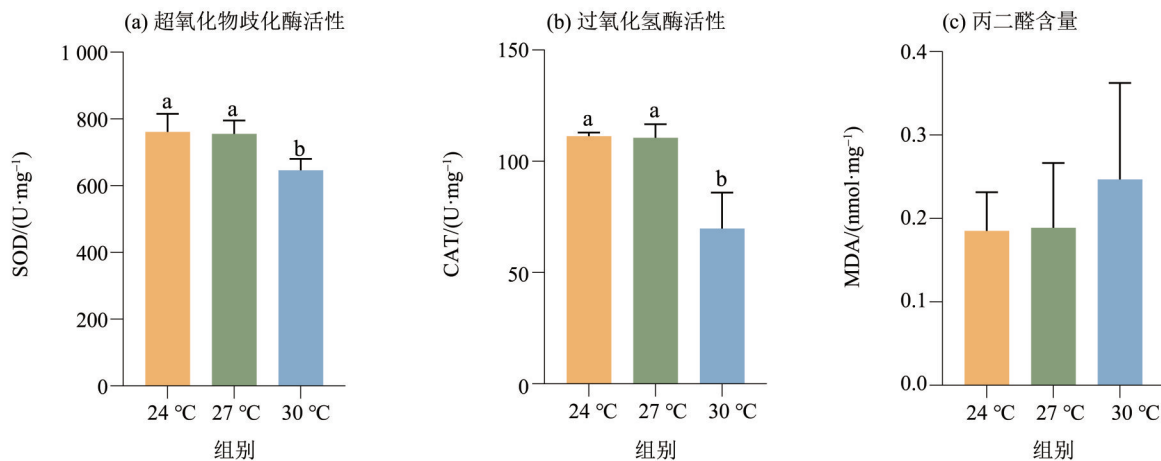
Fig. 3 Effects of water temperature and breeding days on weight gain rate (WGR) in juvenile bullfrogs



柱形图不同上标字母表示组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

图 4 水温对幼蛙肠道酶活的影响

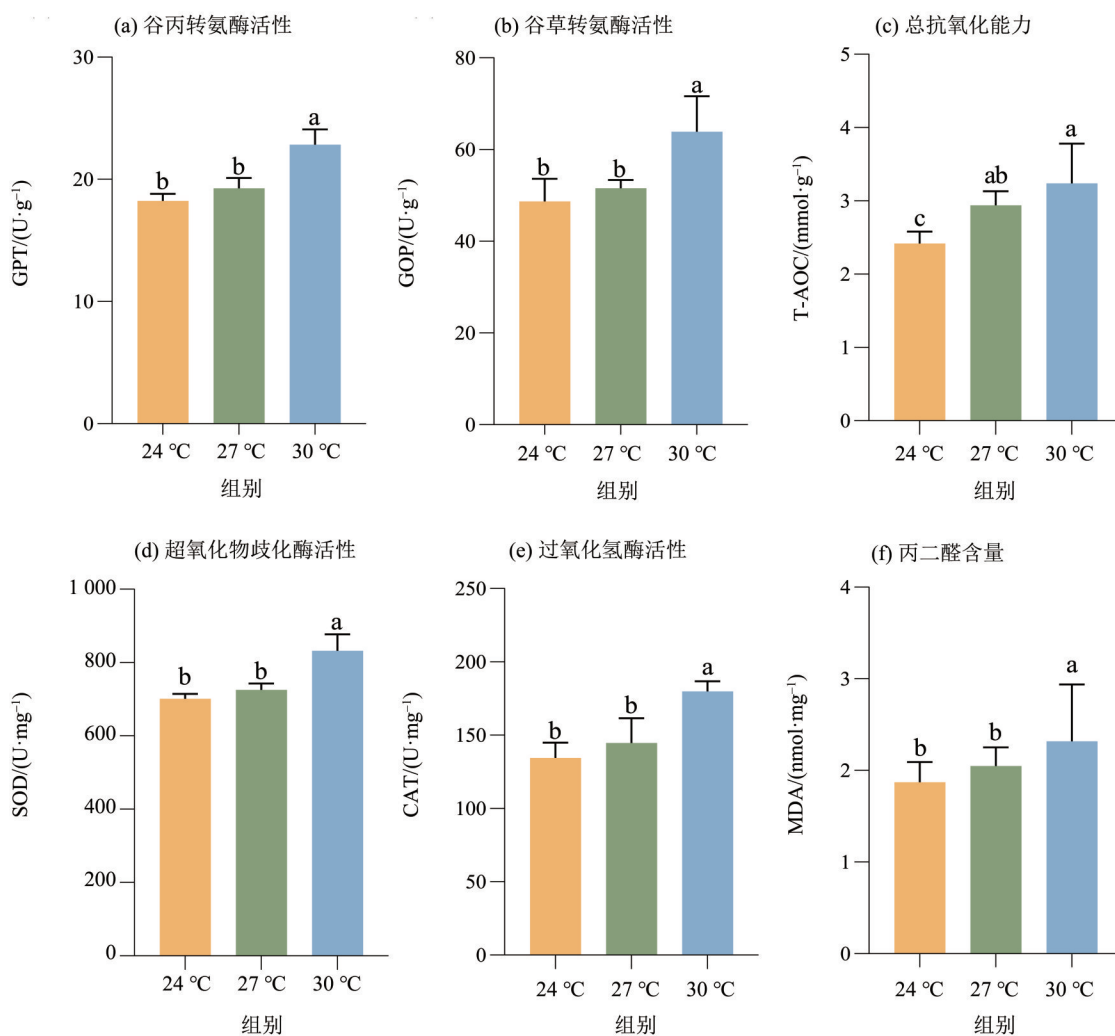
Fig. 4 Effect of water temperature on intestinal enzymes activities in juvenile bullfrogs



柱形图不同上标字母表示组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

图5 水温对幼蛙肠道抗氧化功能相关指标的影响

Fig. 5 Effect of water temperature on intestinal antioxidant parameters in juvenile bullfrogs



柱形图不同上标字母表示组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

图6 水温对幼蛙肝脏抗氧化功能相关指标的影响

Fig. 6 Effect of water temperature on hepatic antioxidant parameters in juvenile bullfrogs

3 讨论

3.1 高温胁迫和恢复对牛蛙蝌蚪和幼蛙生长及变态的影响

在具有复杂生命周期的两栖类中,环境因子会直接影响它们幼虫和幼体期的生长状态(Pechenik, 2006)。其中,温度被认为是调节两栖动物生长和变态最重要的因素之一(Denver, 1997)。本研究发现,30 °C水温虽显著促进牛蛙蝌蚪的变态,但导致变态后幼蛙的生长性能显著降低,并引起雄性比例的增加。这一现象可能是由于高水温会激活下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴,促进了甲状腺素的分泌,进而加速牛蛙蝌蚪的变态发育过程(Ohmer et al., 2023)。然而,过快的变态会导致蝌蚪的生长期变短,引起机体能量储备不足,进而对其变态后的幼蛙生长产生严重的负面影响。Scott et al.(2007)等和王立志等(2007)的研究结果一致,即蝌蚪在变态前的体型直接影响变态后幼蛙的生长潜力。根据Weber et al.(2020)对龟类的研究我们推测,高水温可能通过影响表观修饰因子(如组蛋白去甲基化酶Kdm6b)的活性,抑制雌性相关基因的表达,同时上调雄性相关基因(如Dmrt1)的表达,进而增加了牛蛙蝌蚪的雄性比例。戴生飞等(2025)也表明,温度是影响动物性别可塑性的一个重要因素。然而,这种高温导致的养殖物种性别比例失衡,不利于养殖业的健康发展。相较棘胸蛙(*Quasipaa spinosa*) (梅祎芸等, 2018; 李娟等, 2024)和虎纹蛙(*Hoplobatrachus rugulosus*) (唐韵, 2021), 30 °C下牛蛙蝌蚪体型缩小的程度和雄性化趋势更为明显,表明不同物种对高温的能量代谢和性别决定响应存在的差异具有统计学意义($P < 0.05$)。此外,蝌蚪FBW、WGR、SGR和SR在24和27 °C组间的差异无统计学意义($P > 0.05$),但27 °C组蝌蚪的MMR和MR显著升高。这提示,27 °C水温在促进蝌蚪变态和全雄率方面更优。经高温胁迫复温养殖56 d后,30 °C组幼蛙的WGR全程低于27 °C组幼蛙。这提示,前期30 °C高温胁迫会对牛蛙的健康生长带来不可逆的负面影响。

3.2 高温胁迫后恢复对幼蛙肠道酶活性的影响

为了探究高温胁迫后复温对其幼蛙生长状态的潜在影响因素,分析了肠道酶活性的变化。肠道是两栖动物从食物中获取营养的重要器官,环境温度会直接影响两栖动物肠道消化吸收酶的活性(潘忠超等, 2014)。此外,这些酶的活性又直接决定了牛蛙肠道的消化吸收能力,进而影响其生长发育进

程(白海文等, 2012)。复温后,30 °C组幼蛙肠道 α -AMS、PES和CK的活性呈现增加趋势。这表明,复温会增强幼蛙肠道消化和吸收的功能,这可能会提高蛙的饲料利用率。这个结果可以通过以下原因解释:(1)淀粉酶和蛋白酶能够消化蛙所摄食饲料中的淀粉和蛋白的原料(Suzer et al., 2008),这两种酶活性的增加通常表明养殖动物从饲料中获取营养物质能力的增强(Furné et al., 2005);(2)CK参与机体内能量代谢和ATP与激酶的偶联(Wallimann et al., 1994),进而促进营养物质的吸收。

3.3 高温胁迫后恢复对幼蛙组织抗氧化功能的影响

高温胁迫会导致两栖类机体的氧化应激损伤,进而导致其生长停滞(Bustos et al., 2007)。然而,高温胁迫后复温是否会对牛蛙机体的抗氧化能力产生影响,尚不明确。总的来讲,动物机体的抗氧化能力在应对环境因子改变中发挥着重要的作用(李智巧等, 2023)。SOD是机体内应对氧化应激的常见酶,它催化超氧阴离子如 $O_2^{\cdot-}$ 转化为氧化性较弱的 H_2O_2 ,随后被CAT转化为水和氧(Wang et al., 2018b),从而阻断氧自由基造成的损伤,修复细胞。T-AOC是反映机体抗氧化能力的综合性指标(Reiter et al., 2016)。GPT和GOT是肝脏细胞内的功能酶,其活性高低与肝组织的损伤程度呈正相关(Tejpal et al., 2009)。MDA是脂质过氧化的终产物和细胞损伤的标志物,其含量能够直接反映细胞膜等脂质结构遭受自由基攻击的程度(Ibrahim et al., 2019)。复温后,30 °C组幼蛙肝脏的SOD和CAT活性以及T-AOC显著升高,但肠道SOD和CAT活性却显著降低。此外,30 °C组幼蛙肝脏GPT和GOT活性、MDA含量,及肠道MDA含量仍然高于27 °C组幼蛙。这些结果表明,在蝌蚪期长期高温胁迫对牛蛙的抗氧化能力带来了不可逆的负面影响。这与Dawood et al.(2022)的研究结果相似,即长期高温刺激机体产生的活性氧超出了机体抗氧化系统的负荷,导致机体产生了氧化损伤的累积(He et al., 2021)。

4 结论

27 °C水温能够提高牛蛙蝌蚪的生长性能、变态率和雄性率,并且在提高变态率的同时未造成严重的雄性化偏移。高温胁迫(30 °C)会对牛蛙的健康生长带来不可逆的负面影响。本结论与研究假设基本吻合。华南夏季池塘水温常达32~34 °C,应采用遮阳、加深水位、微流水等降温措施。

参考文献:

- 白海文,张颖,李雪,等,2012.温度对施氏鲟幼鱼摄食、生长和肠道消化酶活性的影响[J].中国水产科学,19(5):799-805.
- 戴生飞,孙丽娜,周林燕,等,2025.鱼类性别可塑性的分子机制[J].中山大学学报(自然科学版中英文),64(1):133-146.
- 李娟,张廖瑞林,周洁,等,2024.温度和17 α -甲基睾酮、来曲唑对棘胸蛙雄性化研究[J].特种经济动植物,27(5):1-7.
- 李智巧,刘旭佳,姜发军,等,2023.水温对糙海参幼参生长、抗氧化酶及免疫酶活力的影响[J].中国水产科学,30(12):1429-1444.
- 梅祎芸,郑荣泉,郑善坚,等,2018.棘胸蛙的性腺分化及温度对其性别决定的影响[J].生态学报,38(13):4809-4816.
- 潘忠超,石和荣,杨慧荣,等,2014.饲料中添加生长激素基因重组蛋白对斜带石斑鱼生长、消化及抗氧化能力的影响[J].中山大学学报(自然科学版),53(3):101-109.
- 邵闯,秦守旺,朱波,等,2023.投喂策略对牛蛙蝌蚪生长发育及肝肠功能的影响[J].水产学报,47(10):72-83.
- 施林强,赵丽华,马小浩,等,2012.泽陆蛙和饰纹姬蛙蝌蚪不同热驯化下选择体温和热耐受性[J].生态学报,32(2):465-471.
- 唐韵,2021.虎纹蛙表型变异的温度和芳香化酶抑制剂影响及性腺转录组学分析[D].江苏:南京师范大学.
- 王立志,李晓晨,2007.温度对中国林蛙卵孵化和孵出热耐受性的影响[J].动物学杂志,(1):121-127.
- 王立志,孙涛,2005.中国林蛙蝌蚪和大蟾蜍蝌蚪的最适温度、逃避温度及致死温度[J].动物学杂志,(2):23-27.
- 徐敬明,姜玉松,樊汶樵,2018.不同温度对棘腹蛙宜宾种群蝌蚪生长发育的影响[J].黑龙江畜牧兽医,(1):207-210.
- 余子豪,陆俊杰,孙佳敏,等,2024.兴国红鲤幼鱼对高温胁迫与复温恢复的氧化应激和适应机制[J].中国水产科学,31(11):1351-1364.
- AGUIRRE-BECERRA H, GARCÍA-TREJO J F, PEÑA-HERREJÓN G A, et al, 2018. Effect of two levels of temperature and natural and artificial photoperiod on growth and metamorphosis of bullfrog tadpoles in an intensive rearing system [J]. North Am J Aquacult, 80(4):388-396.
- ARRIGHI J M, LENCER E S, JUKAR A, et al, 2013. Daily temperature fluctuations unpredictably influence developmental rate and morphology at a critical early larval stage in a frog[J]. BMC Ecol, 13(1):18.
- BELLAKHAL M, NEVEU A, FARTOUNA-BELLAKHAL M, et al, 2014. Effects of temperature, density and food quality on larval growth and metamorphosis in the north African green frog *Pelophylax saharicus* [J]. J Therm Biol, 45:81-86.
- BUSTOS C A, LANDAETA M F, BAY-SCHMITH E, et al, 2007. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae[J]. Aquaculture, 270(1):535-540.
- CORRIE L M, KUECKS-WINGER H, EBRAHIMKONDORI H, et al, 2024. Transcriptomic profiling of *Rana [Lithobates] catesbeiana* back skin during natural and thyroid hormone-induced metamorphosis under different temperature regimes with particular emphasis on innate immune system components [J]. Comp Biochem Phy D, 50:101238.
- DALVI R S, DAS T, DEBNATH D, et al, 2017. Metabolic and cellular stress responses of catfish, *Horabragrus brachysoma* (Günther) acclimated to increasing temperatures[J]. J Therm Biol, 65:32-40.
- DAWOOD M A O, ALKAFAYY M, SEWILAM H, 2022. The antioxidant responses of gills, intestines and livers and blood immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to salinity and temperature stressors [J]. Fish Physiol Biochem, 48(2):397-408.
- DENVER R J, 1997. Environmental stress as a developmental cue: Corticotropin-releasing hormone is a proximate mediator of adaptive phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis[J]. Horm Behav, 31(2):169-179.
- DING G H, LIN Z H, FAN X L, et al, 2015. The combined effects of food supply and larval density on survival, growth and metamorphosis of Chinese tiger frog (*Hoplobatrachus rugulosa*) tadpoles [J]. Aquaculture, 435:398-402.
- FIELDER D S, BARDSLEY W J, ALLAN G L, et al, 2005. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae[J]. Aquaculture, 250(1):201-214.
- FREITAS J S, FELÍCIO A A, TERESA F B, et al, 2017. Combined effects of temperature and clomazone (Gamit®) on oxidative stress responses and B-esterase activity of *Physalaemus nattereri* (Leiuperidae) and *Rhinella schneideri* (Bufonidae) tadpoles[J]. Chemosphere, 185:548-562.
- FURNÉ M, HIDALGO M C, LÓPEZ A, et al, 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A com-

- parative study[J]. *Aquaculture*, 250(1): 391–398.
- GAO Y C, WEI Y F, CAO D N, et al, 2021. Transcriptome analysis reveals decreased immunity under heat stress in *Mauremys mutica*[J]. *Aquaculture*, 531: 735894.
- GROTT S C, ISRAEL N G, LIMAD, et al, 2023. Effects of the herbicide ametryn on development and thyroidogenesis of bullfrog tadpoles (*Aquarana catesbeiana*) under different temperatures[J]. *Environ Pollut*, 322: 121159.
- HAN P, QIAO Y J, HE J Y, et al, 2023. Stress responses to warming in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) from different environmental scenarios[J]. *Sci Total Environ*, 897: 165341.
- HE G X, LIU X L, XU Y, et al, 2021. Repeated exposure to simulated marine heatwaves enhances the thermal tolerance in pearl oysters[J]. *Aquat Toxicol*, 239: 105959.
- HE G X, XIONG X W, PENG Y L, et al, 2023. Transcriptomic responses reveal impaired physiological performance of the pearl oyster following repeated exposure to marine heatwaves[J]. *Sci Total Environ*, 854: 158726.
- IBRAHIM R E, EL-HOUSEINY W, BEHAIRY A, et al, 2019. The palliative role of *Eruca sativa* leaves dietary supplementation against oxidative stress, immunosuppression, and growth retardation in temperature-stressed *Oreochromis niloticus*[J]. *J Therm Biol*, 84: 26–35.
- LIU M, ZHOU Y L, GUO X F, et al, 2022. Comparative transcriptomes and metabolomes reveal different tolerance mechanisms to cold stress in two different catfish species[J]. *Aquaculture*, 560: 738543.
- LIU Y, LIU J S, YE S W, et al, 2019. Global metabolic responses of the lenok (*Brachymystax lenok*) to thermal stress [J]. *Comp Biochem Physiol D: Genomics Proteomics*, 29: 308–319.
- LUO M K, ZHU W B, LIANG Z Y, et al, 2024. High-temperature stress response: Insights into the molecular regulation of American shad (*Alosa sapidissima*) using a multi-omics approach [J]. *Sci Total Environ*, 916: 170329.
- NIU Z, XUE H, JIANG Z, et al, 2023. Effects of temperature on metamorphosis and endochondral ossification in *Rana chensinensis* tadpoles [J]. *Comp Biochem Phys D*, 45: 101057.
- OHMER M E B, HAMMOND T T, SWITZER S, et al, 2023. Developmental environment has lasting effects on amphibian post-metamorphic behavior and thermal physiology[J]. *J Exp Biol*, 226(9).
- PARK J K, PARK W B, DO Y, 2023. Tadpole growth rates and gut bacterial community: Dominance of developmental stages over temperature variations[J]. *PLoS One*, 18(10): e0292521.
- PECHENIK J A, 2006. Larval experience and latent effects: Metamorphosis is not a new beginning [J]. *Integr Comp Biol*, 46(3): 323–333.
- REITER R J, MAYO J C, TAN D X, et al, 2016. Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers[J]. *J Pineal Res*, 61(3): 253–278.
- SCOTT D E, CASEY E D, DONOVAN M F, et al, 2007. Amphibian lipid levels at metamorphosis correlate to post-metamorphic terrestrial survival[J]. *Oecologia*, 153(3): 521–532.
- SUZER C, ÇOBAN D, KAMACI H O, et al, 2008. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities [J]. *Aquaculture*, 280(1): 140–145.
- TEJPAL C S, PAL A K, SAHU N P, et al, 2009. Dietary supplementation of l-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings [J]. *Aquaculture*, 293(3): 272–277.
- WALLIMANN T, HEMMER W, 1994. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 133(1): 193–220.
- WANG C, ZHOU Y L, ZHU Q H, et al, 2018a. Effects of heat stress on the liver of the Chinese giant salamander *Andrias davidianus*: Histopathological changes and expression characterization of Nrf2-mediated antioxidant pathway genes[J]. *J Therm Biol*, 76: 115–125.
- WANG Y, BRANICKY R, NOË A, et al, 2018b. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling[J]. *J Cell Biol*, 217(6): 1915–1928.
- WEBER C, ZHOU Y, LEE J G, et al, 2020. Temperature-dependent sex determination is mediated by pSTAT3 repression of *Kdm6b*[J]. *Science*, 368(6488): 303–306.
- WOLFF S E, VELDHORN N, HELBING C C, et al, 2015. Estrogenic environmental contaminants alter the mRNA abundance profiles of genes involved in gonadal differentiation of the American bullfrog [J]. *Sci Total Environ*, 521–522: 380–387.
- YU T L, HAN Y T, ZHANG S P, 2016. Plasticity in metamorphic traits of *Rana kukunoris* tadpoles: The interactive effects of food level and rearing temperature[J]. *Russ J Ecol*, 47(6): 552–556.