

Władysław Zamachowski\*

**Zmiany w krwi obwodowej żaby trawnej  
(*Rana temporaria* L.) w cyklu rocznym  
jako wyraz adaptacji do warunków życia**

S t r e s z c z e n i e

Określono przy zastosowaniu rutynowych metod liczbę erytrocytów i leukocytów, wskaźnik hematokrytowy, poziom hemoglobiny, wymiary erytrocytów i zróżnicowanie leukocytów oraz wyliczono niektóre wskaźniki hematokrytowe. Zaobserwowano wyraźne zmiany wszystkich parametrów krwi żaby w cyklu rocznym. Stwierdzono występowanie różnic płciowych oraz duże zróżnicowanie osobnicze, a także wyraźne zmiany przeciętnej objętości krwinki czerwonej, przeciętnej zawartości i stężenia hemoglobiny w krwince. Najniższe wartości tych wskaźników występują w początkowym okresie życia aktywnego, najwyższe - w początkowym okresie snu zimowego.

**Wstęp**

Krew płazów w odróżnieniu od krwi wyższych kręgowców charakteryzuje się, między innymi, takimi swoistymi cechami, jak: duża zmienność osobnicza, zróżnicowanie płciowe oraz różnice sezonowe. Układ krwiotwórczy i krew płazów - zwierząt zmiennocieplnych - po-

---

\* Zakład Zoologii Instytutu Biologii Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Krakowie

dobnie jak wiele procesów fizjologicznych podlega charakterystycznym zmianom w cyklu rocznym. Na roczny cykl życia płazów strefy umiarkowanej składa się okres życia aktywnego, pokrywający się na ogół z okresem wegetacyjnym, oraz występujący zimą stan letargu - hibernacji (Juszczak 1959, 1967).

Krew płazów była przedmiotem wielu badań. Niemniej jednak ich wyniki są w dalszym ciągu fragmentaryczne i przedstawiają tylko niektóre jej aspekty. Wielu autorów badających obraz krwi płaza nie uwzględnia płci, pory roku, a nawet gatunku. Inni uwzględniają wymienione wyżej czynniki, jednak wyniki charakteryzują się dużą rozbieżnością. Stwierdzono, że wiele czynników może wpływać na obraz krwi. Jak wykazała Harris (1972) na obraz krwi płaza mogą wpływać różne infekcje, stany stresowe, stan odżywienia oraz zmiany środowiska. Inni badacze wykazują, że układ czerwonokrwinkowy zależy od płci (Arvey 1947, Kaplan 1952, Noble 1954, Harris 1972) oraz od właściwości indywidualnych płaza (Hutchison i Szarski 1965).

Dotychczasowe badania krwi obwodowej płazów dotyczą głównie krwinek czerwonych, w tym ich liczby i wymiarów (Wisner 1934, Schermer 1954, Hutchison i Szarski 1965, Włoch 1980, Szarski 1985) oraz wskaźnika hematokrytowego i poziomu hemoglobiny (Wisner 1934, Wintrobe 1967, Rouf 1969, Harris 1972). Badania powyższe prowadzono na różnych gatunkach płazów, a ich wyniki często są rozbieżne. Nieliczne prace kompleksowo obejmują większość wskaźników czerwonokrwinkowych u jednego gatunku (np. badania Harris 1972 przeprowadzone na *Rana pipiens* w 4 sezonach roku).

Dane dotyczące krwinek białych płazów są również niepełne. Wiadomo, że liczba leukocytów zależy od obecności pasożytów (Kaplan 1951, 1952) i zmian sezonowych (Schermer 1967). Jednak dane liczbowe są bardzo rozbieżne i brak danych dotyczących zróżnicowania tych krwinek w ciągu roku.

W związku z dużymi rozbieżnościami wyników, uzyskanych przez różnych badaczy, obrazu krwi żaby celowe było określenie podstawowych jej parametrów czerwonokrwinkowych i białokrwinkowych u żaby trawnej - *Rana temporaria* L. w cyklu rocznym.

### **Materiał i metodyka badań**

Badania przeprowadzono w latach 1988-1989 na dojrzałych płciowo samicach i samcach żaby trawnej - *Rana temporaria* L. w 9 okresach rocznego cyklu życia. Okresy badawcze obejmowały wszystkie zasadnicze fazy życia żaby trawnej, tj. porę godową (III dek. marca) okres życia aktywnego (od II dek. kwietnia do I dek. września) oraz sen zimowy (od III dek. października do I dek. marca). Łącznie przebadano 84 samice i 89 samców złowionych w ich naturalnym środowisku, w miejscowości Węgrzce Wielkie k. Krakowa (wys. ok. 200 m n.p.m., szer. geogr. 50°05' N, dług. geogr. 20°08' E). Żaby badano na drugi dzień po ich złowieniu. Przez ten okres przetrzymywanym w laboratorium żabom starano się zapewnić podobne warunki wilgotności i temperatury jak w miejscu ich złowienia. Krew do badań pobierano bezpośrednio z serca po uprzednim zabiciu zwierzęcia przez zniszczenie centralnego systemu nerwowego.

Liczbę erytrocytów i leukocytów określano przy zastosowaniu rutynowej metody ich liczenia w komorze Bürkera. Wskaźnik hematokrytowy oznaczano przy użyciu heparynizowanych mikrokapilar, które po napełnieniu krwią wirowano w wirówce hematokrytowej typu Unipan 346. Wynik odczytywano na skali dostosowanej do tej wirówki. Poziom hemoglobiny oznaczano metodą kolorymetryczną na jednopromieniowym spektrofotometrze "Spekol 10". Ekstynkcję próbki mierzono przy długości fali 540 nm. Wielkość erytrocytów określano metodą bezpośredniego ich pomiaru przy użyciu mikrometru okularowego. Mierzono wielkość długich i krótkich osi losowo wybranych nie uszkodzonych

erytrocytów w świeżych rozmazach krwi. Zróżnicowanie białych krwinek określano w rozmazach krwi wybarwionych metodą Pappenheima.

Wyniki badań opracowano statystycznie określając wartości średnie poszczególnych parametrów oraz odchylenie standardowe. W celu określenia istotności różnic między wartościami średnimi uzyskanymi dla samców i samic oraz między okresami badawczymi zastosowano test "t" Studenta-Gosseta. Różnicę przyjęto za statystycznie istotną, jeżeli prawdopodobieństwo jej zaistnienia było równe lub mniejsze od 0.05. W celu określenia istotności zmian poszczególnych parametrów krwi w cyklu rocznym zastosowano test "F" analizy wariancji.

W pracy wykorzystano niektóre wyniki analiz wykonanych przez Małgorzatę Błądzińską, Marię Dymek i Beatę Jancarz, magistrantów autora niniejszego opracowania.

## **Wyniki badań**

### **1. Liczba erytrocytów**

Liczba erytrocytów zarówno u samic jak i u samców zmienia się w cyklu rocznym. W poszczególnych okresach występują różnice między samicami i samcami, a także znaczne zróżnicowanie osobnicze (tab. I). Najmniejszą liczbę erytrocytów stwierdzono u samic w okresie pory godowej (III dek. marca). Od tego czasu następuje stopniowy wzrost liczby erytrocytów aż do początkowego okresu hibernacji (III dek. października), po czym widać spadek trwający do pory godowej. U samców najmniejsza liczba erytrocytów występuje w okresie hibernacji (II dek. grudnia). Od tego momentu obserwuje się niewielkie wahania ich liczby do pory godowej (III dek. marca). W początkowej fazie życia aktywnego (II dek. kwietnia) liczba erytrocytów u samców jest największa, po czym w okresie życia aktywnego powoli spada aż do rozpoczęcia snu zimowego.

Tabela I

Liczba erytrocytów (w T/1) w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L.  
w cyklu rocznym

Okres badawczy	Samice				Samce				$t$ $q/\sigma^2$
	N	min. - maks.	średn. $\pm$ SD	t	N	min. - maks.	średn. $\pm$ SD	t	
III dekada stycznia	8	0.40 - 0.65	0.49 $\pm$ 0.08	1.15	8	0.36 - 0.63	0.50 $\pm$ 0.09	0.03	0.16
I dekada marca	10	0.38 - 0.56	0.44 $\pm$ 0.10		0.00	10	0.30 - 0.51		0.49 $\pm$ 0.06
III dekada marca	10	0.37 - 0.45	0.44 $\pm$ 0.03	1.26	10	0.38 - 0.55	0.50 $\pm$ 0.06	1.71	2.75*
II dekada kwietnia	8	0.36 - 0.65	0.48 $\pm$ 0.09		0.38	8	0.31 - 0.65		0.57 $\pm$ 0.10
III dekada maja	8	0.35 - 0.55	0.50 $\pm$ 0.08	0.99	8	0.37 - 0.61	0.56 $\pm$ 0.11	0.22	1.39
II dekada lipca	5	0.42 - 0.79	0.54 $\pm$ 0.08		0.40	10	0.38 - 0.69		0.55 $\pm$ 0.09
I dekada września	10	0.40 - 0.70	0.56 $\pm$ 0.08	0.29	10	0.36 - 0.69	0.54 $\pm$ 0.07	0.04	0.73
III dekada października	10	0.47 - 0.72	0.57 $\pm$ 0.09		1.37	10	0.43 - 0.65		0.53 $\pm$ 0.04
II dekada grudnia	15	0.37 - 0.61	0.52 $\pm$ 0.08	0.87	15	0.33 - 0.70	0.48 $\pm$ 0.05	0.58	1.77
III dekada stycznia	8	0.40 - 0.65	0.49 $\pm$ 0.08		0.87	8	0.36 - 0.63		0.50 $\pm$ 0.09

\* Różnica statystycznie istotna przy  $P \leq 0.05$ . Wartość  $t$   $q/\sigma^2$  dotyczy różnicy między samicami i samcami w tym samym okresie

U obu płci różnice między poszczególnymi okresami w zakresie liczby erytrocytów są małe. Jednak jak wynika z testu analizy wariancji, w całym cyklu rocznym liczba erytrocytów zmienia się w sposób istotny. Wartość "F" testu analizy wariancji wynosi dla samic 2.97, co przy  $P = 0.01$  i 8/73 stopniach swobody wskazuje na istotne zmiany. Dla samców wartość "F" równa się 2.87, co przy  $P = 0.01$  i 8/80 stopniach swobody również wskazuje na istotne zmiany.

## 2. Wskaźnik hematokrytowy

U samic wartość wskaźnika hematokrytowego jest najwyższa na początku snu zimowego (III dek. października), po czym widać spadek trwający do II dek. grudnia, a następnie - stabilizację do III dek. stycznia i ponowny niewielki spadek do III dek. marca (pora godowa). Dalej wartość wskaźnika hematokrytowego jest ustabilizowana do III dek. maja. Ponowny spadek następuje w II dek. lipca, kiedy osiąga najniższą wartość w cyklu rocznym. W III dek. października następuje znaczny i istotny wzrost hematokrytu.

U samców maksymalną wartość wskaźnika hematokrytowego stwierdzono w okresie pory godowej. W II dek. kwietnia następuje spadek, a następnie wzrost w III dek. maja wartości hematokrytu. Od tego okresu do II dek. lipca wskaźnik hematokrytowy spada, osiągając najniższą wartość w cyklu rocznym. Od lipca do marca następuje stopniowy wzrost hematokrytu (tab. II).

W każdym okresie zaobserwowano dużą zmienność osobniczą oraz różnice między samicami i samcami, które w porze godowej, końcowym okresie życia aktywnego i na początku hibernacji są znaczne i istotne statystycznie (tab. II). Z testu analizy wariancji wynika, że istnieją istotne zmiany wskaźnika hematokrytowego w cyklu rocznym, zarówno u samic jak i u samców. Wartość "F" wynosi dla samic

Tabela II

Wartość wskaźnika hematokrytowego w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L.  
w cyklu rocznym

Okres badawczy	Samice				Samce				$t$	$q/\sigma^2$
	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$		
III dekada styczna	8	0.28 - 0.40	0.37 $\pm$ 0.03	1.09	8	0.30 - 0.41	0.36 $\pm$ 0.01	1.22	0.32	
I dekada marca	10	0.30 - 0.42	0.35 $\pm$ 0.02	1.28	10	0.34 - 0.41	0.38 $\pm$ 0.03	0.00	1.91	
III dekada marca	10	0.27 - 0.35	0.34 $\pm$ 0.02	0.47	10	0.24 - 0.46	0.38 $\pm$ 0.03	2.03	3.56*	
II dekada kwietnia	8	0.24 - 0.47	0.35 $\pm$ 0.04	0.00	8	0.25 - 0.41	0.35 $\pm$ 0.04	1.26	0.00	
III dekada maja	8	0.25 - 0.40	0.35 $\pm$ 0.04	1.27	8	0.28 - 0.46	0.37 $\pm$ 0.03	3.59*	1.06	
II dekada lipca	5	0.31 - 0.35	0.33 $\pm$ 0.01	3.72*	10	0.25 - 0.36	0.31 $\pm$ 0.03	0.60	1.29	
I dekada września	10	0.30 - 0.40	0.36 $\pm$ 0.01	3.50*	10	0.29 - 0.41	0.32 $\pm$ 0.02	1.94	4.61*	
III dekada października	10	0.35 - 0.46	0.40 $\pm$ 0.03	3.74*	10	0.28 - 0.43	0.34 $\pm$ 0.03	0.00	3.28*	
II dekada grudnia	15	0.34 - 0.38	0.36 $\pm$ 0.01	0.50	15	0.33 - 0.42	0.36 $\pm$ 0.03	0.57	0.00	
III dekada stycznia	8	0.28 - 0.40	0.37 $\pm$ 0.03		8	0.30 - 0.41	0.36 $\pm$ 0.01		0.32	

\* Różnica statystycznie istotna przy  $P \leq 0.05$ . Wartość  $t$   $q/\sigma^2$  dotyczy różnicy między samicami i samcami w tym samym okresie

6.81 i dla samców 7.44, co przy  $P = 0.01$  i odpowiednio 8/73 i 8/80 stopniach swobody wskazuje na istotne zmiany.

### 3. Poziom hemoglobiny

U samic najniższy poziom hemoglobiny stwierdzono w początkowym okresie życia aktywnego (II dek. kwietnia). Od tego momentu do początku snu zimowego (III dek. października) następuje wzrost poziomu hemoglobiny aż do osiągnięcia maksymalnej wartości w cyklu rocznym. W czasie hibernacji poziom hemoglobiny stopniowo spada do początkowego okresu życia aktywnego (II dek. kwietnia - tab. III).

U samców obserwuje się 3 okresy wzrostu i 3 okresy spadku poziomu hemoglobiny. Mianowicie od II dek. kwietnia, kiedy jest najniższy poziom w cyklu rocznym, do maja następuje wzrost, a następnie spadek poziomu hemoglobiny. Od II dek. lipca do II dek. grudnia poziom hemoglobiny stopniowo wzrasta i osiąga maksimum w cyklu rocznym, po czym spada do III dek. stycznia i ponownie wzrasta w okresie pory godowej (III dek. marca). Od pory godowej do II dek. kwietnia poziom hemoglobiny maleje.

Między samicami i samcami największe różnice występują na początku i pod koniec snu zimowego oraz w okresie pory godowej. Zaobserwowano duże indywidualne różnice osobnicze (tab. III). Wartość "F" 11.01 przy  $P = 0.01$  i 8/47 stopniach swobody dla samic i 4.52 przy 8/52 stopniach swobody dla samców wskazuje na istotne zmiany poziomu hemoglobiny u obu płci w cyklu rocznym.

### 4. Wielkość erytrocytów

Wymiary erytrocytów zbadano w 4 okresach, obejmując porę godową, życie aktywne oraz początkowy i środkowy okres hibernacji. Erytrocyty krwi obwodowej są bardzo zróżnicowane u każdego osobnika. Oprócz erytrocytów małych spotyka się duże. Największe różni-



Tabela III

Poziom hemoglobiny (w mmol/l) w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L.  
w cyklu rocznym

Okres badawczy	Samice				Samce				$t$ $\bar{q}/\sigma^2$
	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$	
III dekada stycznia	8	4.77 - 7.15	5.76 $\pm$ 0.74	0.82	8	4.47 - 6.95	5.86 $\pm$ 0.68	1.70	0.28
I dekada marca	5	5.03 - 6.49	5.46 $\pm$ 0.59	0.36	5	5.99 - 7.49	6.35 $\pm$ 0.37	0.05	2.90*
III dekada marca	5	4.92 - 5.93	5.32 $\pm$ 0.54	0.43	5	5.14 - 7.16	6.37 $\pm$ 0.75	3.11*	2.52*
II dekada kwietnia	8	4.17 - 6.95	5.16 $\pm$ 0.81	0.66	8	3.87 - 6.65	4.96 $\pm$ 0.87	0.92	0.47
III dekada maja	5	5.31 - 6.50	5.44 $\pm$ 0.71	0.05	5	3.46 - 7.82	5.72 $\pm$ 1.71	0.71	0.34
II dekada lipca	5	5.06 - 5.86	5.46 $\pm$ 0.25	3.71*	10	4.17 - 5.76	5.16 $\pm$ 0.49	2.88*	1.55
I dekada września	10	5.43 - 7.15	6.17 $\pm$ 0.50	5.37*	10	5.57 - 7.20	5.77 $\pm$ 0.43	1.28	1.91
III dekada października	5	7.04 - 8.06	7.54 $\pm$ 0.44	1.43	5	5.14 - 7.72	6.39 $\pm$ 1.04	0.91	2.28
II dekada grudnia	5	6.14 - 7.50	6.65 $\pm$ 0.52	2.57*	5	6.49 - 7.17	6.83 $\pm$ 0.29	3.57*	0.60
III dekada stycznia	8	4.77 - 7.15	5.76 $\pm$ 0.74		8	4.47 - 6.95	5.86 $\pm$ 0.68		0.28

\* Różnica statystycznie istotna przy  $P \leq 0.05$ . Wartość  $t$   $\bar{q}/\sigma^2$  dotyczy różnicy między samicami i samcami w tym samym okresie

cowanie stwierdzono w okresie życia aktywnego (III dek. maja), najmniejsze w początkowym okresie hibernacji (III dek. października). Największe erytrocyty spotyka się pod koniec snu zimowego i w okresie pory godowej (tab. IV).

Tabela IV

Wymiary erytrocytów (w  $\mu\text{m}$ ) w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L. w cyklu rocznym

Okres badawczy	Płeć	Oś długa w $\mu\text{m}$			Oś krótka w $\mu\text{m}$		
		min. - maks.	średn	Mo	min. - maks.	średn	Mo
III dekada marca	♀	20.7 - 27.0	23.54	24.3	13.05 - 18.45	16.16	16.20
	♂	20.7 - 28.35	23.89	24.3	13.05 - 18.9	16.24	16.65
III dekada maja	♀	13.95 - 26.1	21.65	21.60	8.55 - 18.45	14.75	14.85
	♂	13.05 - 24.75	20.47	21.60	8.10 - 18.45	14.11	15.30
III dekada października	♀	17.1 - 21.15	19.49	19.35	12.15 - 16.20	13.92	13.95
	♂	16.65 - 22.95	20.87	21.60	10.8 - 14.85	12.63	12.60
II dekada grudnia	♀	17.1 - 23.85	20.77	21.15	12.15 - 18.90	15.79	16.42
	♂	18.0 - 25.65	22.12	22.05	11.7 - 17.1	14.86	15.30

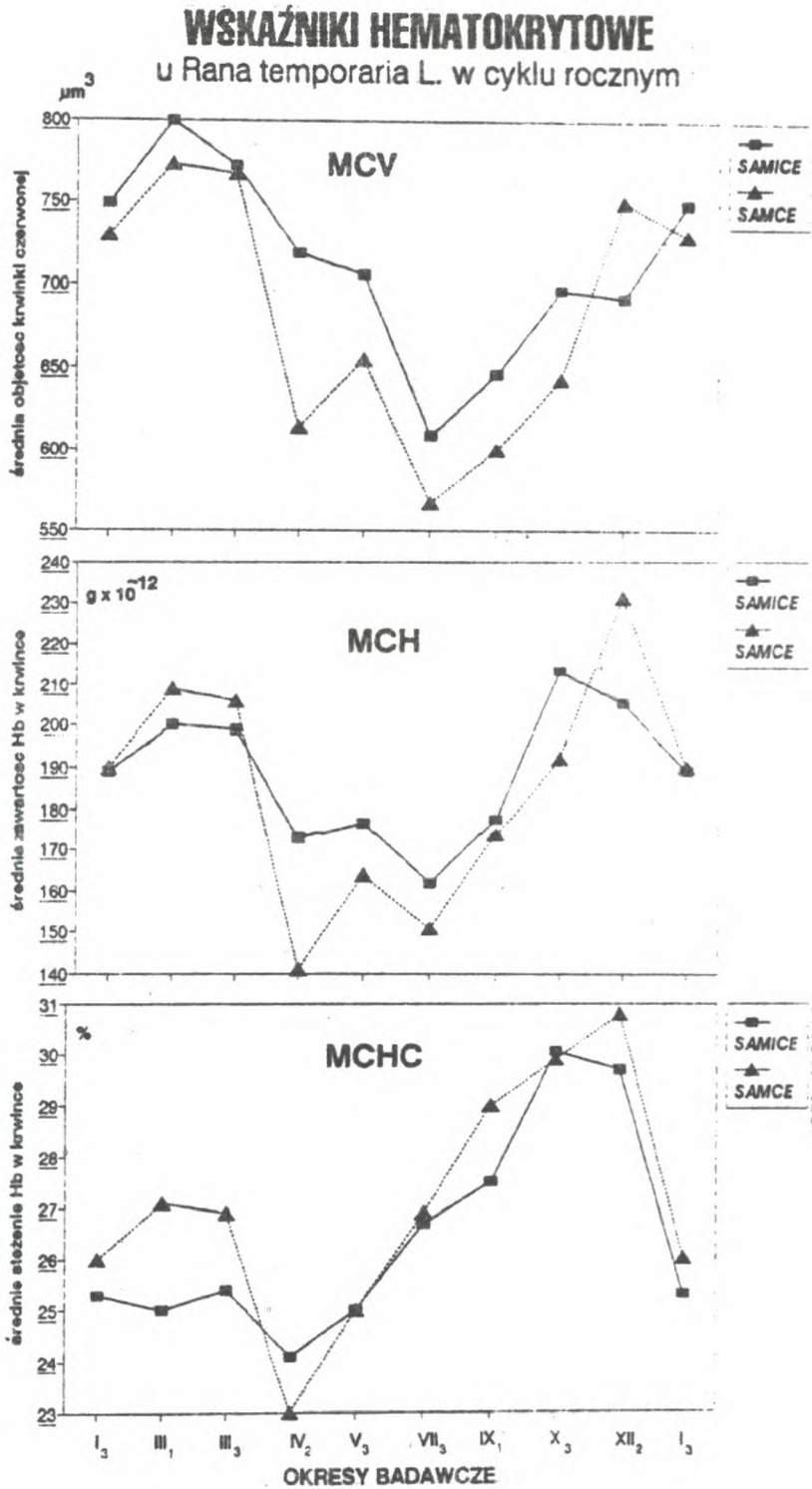
### 5. Wskaźniki hematokrytowe

Obliczenia wskaźników hematokrytowych oparto o wzory podane przez Wintrobe (1967). Wyniki tych obliczeń przedstawiono na wykresie 1.

Największą przeciętną objętość krwinek czerwonych (MCV) stwierdzono u obu płci pod koniec snu zimowego (I dek. marca). Od tego czasu obserwuje się stopniowe zmniejszanie objętości krwinek do środkowego okresu życia aktywnego (II dek. lipca), a następnie wzrost trwający do końca snu zimowego.

Wykres 1. Wskaźniki hematokrytowe u żaby trawnej – *Rana temporaria* L. w cyklu rocznym.

MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, MCH – średnia zawartość hemoglobiny w krwince czerwonej, MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej. Cyframi rzymskimi oznaczono miesiące, a arabskimi dekady, w których prowadzono badania



Przeciętna zawartość hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH) ma odmienny przebieg u samców i samic w pierwszej połowie hibernacji. I tak u samic od lipca do III dek. października wzrasta MCH, po czym następuje spadek do III dek. stycznia, następnie wzrost do III dek. marca i spadek do II dek. lipca. U samców maksymalną wartość osiąga ten wskaźnik w II dek. grudnia, po czym spada w III dek. stycznia i ponownie wzrasta do I dek. marca.

Najniższe przeciętne stężenie hemoglobiny w krwince (MCHC) stwierdzono u obu płci w początkowym okresie życia aktywnego (II dek. kwietnia). Od tego czasu następuje stopniowy wzrost wartości MCHC trwający u samic do III dek. października, a u samców do II dek. grudnia, po czym następuje spadek trwający do III dek. stycznia.

## 6. Liczba leukocytów

U obu płci liczba leukocytów ulega wyraźnym zmianom w cyklu rocznym (tab. V). W okresie snu zimowego od II dek. grudnia oraz w porze godowej (III dek. marca) i początkowym okresie życia aktywnego liczba leukocytów jest najmniejsza w cyklu rocznym, a między samicami i samcami różnice są niewielkie. Najmniejszą ilość tych krwinek u obu płci stwierdzono w I dek. marca. W okresie życia aktywnego liczba białych krwinek wyraźnie wzrasta w pierwszej połowie, osiągając maksimum w III dek. maja. Od tego czasu obserwuje się stopniowe powolne zmniejszanie liczby leukocytów aż do osiągnięcia minimum w czasie hibernacji. W okresie życia aktywnego u samic liczba krwinek białych jest wyraźnie wyższa niż u samców (tab. V).

Wartość "F" dla samic 91.15 przy 8/47 stopniach swobody i dla samców 55.82 przy 8/52 stopniach swobody i  $P = 0.01$  wskazuje na wysoce istotne zmiany liczby białych krwinek u obu płci w cyklu rocznym.

Liczba leukocytów (w G/l) w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L.  
w cyklu rocznym

Okres badawczy	Samice				Samce				$t$ $\frac{\sigma}{\sigma}$
	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$	N	min. - maks.	sredn. $\pm$ SD	$t$	
III dekada stycznia	8	3.76 - 5.48	3.98 $\pm$ 0.23	0.07	8	3.68 - 5.24	3.90 $\pm$ 0.20	1.58	0.73
I dekada marca	5	3.40 - 4.99	3.97 $\pm$ 0.29	0.10	5	3.20 - 4.75	3.60 $\pm$ 0.39	1.74	1.68
III dekada marca	5	2.53 - 7.22	4.01 $\pm$ 0.86	0.88	5	3.61 - 6.18	4.33 $\pm$ 0.86	0.05	0.59
II dekada kwietnia	8	3.65 - 5.16	4.38 $\pm$ 0.48	12.50*	8	3.60 - 5.12	4.31 $\pm$ 0.49	11.38*	0.29
III dekada maja	5	5.75 - 11.86	8.38 $\pm$ 0.60	0.74	5	4.38 - 10.42	7.61 $\pm$ 0.52	0.81	2.14
II dekada lipca	5	5.71 - 8.90	8.12 $\pm$ 0.49	1.04	10	5.70 - 8.10	7.39 $\pm$ 0.45	4.05*	2.70*
I dekada września	10	4.32 - 8.12	7.85 $\pm$ 0.45	2.50*	10	4.45 - 7.98	6.50 $\pm$ 0.52	4.05*	6.14*
III dekada października	5	6.18 - 8.72	7.40 $\pm$ 0.25	11.96*	5	3.78 - 6.77	5.69 $\pm$ 0.26	3.74*	10.69*
II dekada grudnia	5	3.16 - 5.90	4.65 $\pm$ 0.45	3.05*	5	3.65 - 5.24	4.53 $\pm$ 0.63	2.17	0.73
III dekada stycznia	8	3.76 - 5.48	3.98 $\pm$ 0.23		8	3.68 - 5.24	3.90 $\pm$ 0.20		0.73

\* Różnica statystycznie istotna przy  $P \leq 0.05$ . Wartość  $t$   $\frac{\sigma}{\sigma}$  dotyczy różnicy między samicami i samcami w tym samym okresie

## 7. Zróźnicowanie leukocytów (w %)

Przeanalizowano zmiany 6 rodzajów krwinek białych w cyklu rocznym, a mianowicie: neutrofile z jądrem pałeczkowatym i segmentowanym, granulocytów kwasochłonnych i zasadochłonnych, limfocytów i monocytów. Stwierdzono wyraźne zmiany wszystkich rodzajów leukocytów (tab. VI).

Tabela VI

Zróźnicowanie leukocytów (w %) w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L. w cyklu rocznym  
(Przedstawione wyniki są średnimi arytmetycznymi z przebadanych 5 samic i 5 samców w każdym okresie badawczym)

Okres badawczy	Płeć	Neutrofile z jądrem pałeczkowatym	Neutrofile z jądrem segmentowanym	Granulocyty kwasochłonne (eozynofile)	Granulocyty zasadochłonne (bazofile)	Limfocyty	Monocyty
III dekada stycznia	♀	0.3	29.7	5.4	0.1	60.8	3.7
	♂	0.1	28.8	6.7	0.1	60.6	3.7
I dekada marca	♀	2.6	35.2	6.8	3.2	51.2	1.0
	♂	1.8	30.0	6.4	1.6	58.8	1.4
III dekada marca	♀	1.4	30.6	8.2	0.4	58.2	1.2
	♂	1.2	32.2	6.6	0.8	58.6	0.6
II dekada kwietnia	♀	2.3	27.2	4.3	0.3	62.8	3.1
	♂	2.5	27.7	4.1	0.3	62.1	3.3
III dekada maja	♀	1.8	13.2	15.0	0.6	68.2	1.2
	♂	1.2	15.2	13.6	1.0	67.6	1.4
III dekada czerwca	♀	1.0	20.3	18.6	0.4	57.4	2.3
	♂	0.3	22.7	20.2	0.2	55.1	1.5
I dekada września	♀	1.2	25.2	12.3	0.3	58.1	2.9
	♂	0.8	24.6	14.3	0.3	57.8	2.2
III dekada października	♀	0.2	30.5	6.5	0.1	60.0	2.7
	♂	0.9	27.8	8.1	0.3	60.1	2.8
II dekada grudnia	♀	0.4	29.8	6.4	0.2	60.2	3.0
	♂	0.5	28.4	7.4	0.2	60.8	2.7

W obrazie leukocytnym najliczniejsze są limfocyty, które stanowią ponad 50% krwinek białych. Drugą grupą są neutrofile z jądrem segmentowanym. Ich ilość oscyluje w przedziale 20 - 35%, z wyjątkiem III dek. maja, kiedy ich ilość spada do 13.2% u samic i 15.2% u samców. Następną grupę stanowią granulocyty kwasochłonne. Ich ilość w okresie snu zimowego (III dek. października - I dek. marca), pory godowej (III dek. marca) i początkowym okresie życia aktywnego (II dek. kwietnia) jest niższa od 10%, zaś w okresie życia aktywnego znacznie przekracza 10%. Najmniejszą ilość stanowią neutrofile z jądrem pałeczkowatym, granulocyty zasadochłonne i monocyty. Ich ilość waha się w granicach od 0.1% do 3.7% (tab. VI).

### Dyskusja

Z dotychczasowych badań krwi płazów wynika, że znaczny wpływ na układ czerwonokrwinkowy i białokrwinkowy mają między innymi: różne infekcje, sytuacje stresowe, wiek zwierzęcia, stan odżywienia, płeć, zmiany sezonowe itp. Czynniki te mogą być przyczyną zarówno zmian krótkotrwałych jak i długotrwałych. Z wiekiem płazów łączy się uwodnienie ich organizmu. Osobniki młode są bardziej uwodnione niż starsze (Zamachowski 1985). Jak stwierdzono eksperymentalnie, zmniejszenie uwodnienia wpływa wyraźnie na niektóre wskaźniki czerwonokrwinkowe (Zamachowski 1988). Głodzenie może wpływać na wzrost liczby niedojrzałych erytrocytów, wzrost liczby limfocytów i zmniejszenie liczby neutrofilii i monocytów (Chury 1952), a także na spadek liczby erytrocytów (Harris 1953). Zmiany liczby erytrocytów obserwowano u płazów w różnych sezonach roku (Holzapfel 1937, Schermer 1967, Harris 1972, Frangioni i Borgioli 1984). Hutchison i Szarski (1965) oraz Schermer (1968) wskazują na znaczne zróżnicowanie osobnicze liczby erytrocytów u płazów. Stwierdzono również, że zmiany sezonowe (Holzapfel 1937, Harris 1972) oraz uwodnienie orga-

nizmu płaza w sposób znaczący wpływa na poziom hemoglobiny i wartość hematokrytu (Zamachowski 1988).

Jak wynika z przeprowadzonych badań wszystkie parametry układu czerwonekrwinkowego i białokrwinkowego podlegają istotnym zmianom sezonowym. Zaobserwowano również znaczne różnice osobnicze wszystkich badanych parametrów krwi żaby trawnej. Większa liczba erytrocytów występuje u obu płci *Rana temporaria* w okresie życia aktywnego (od kwietnia do października), wiąże się to z intensywnością procesu erythropoezy w tym czasie, jak również z mniejszym uwodnieniem organizmu żaby (Zamachowski 1968). Szczególnie wyraźny wzrost liczby czerwonych krwinek następuje bezpośrednio po śnie zimowym i porze godowej (III dek. marca). Podobne zjawisko zaobserwowała Harris (1972) u *Rana pipiens*. O wzmożonej w tym czasie erythropoezie świadczy pojawienie się w krwi obwodowej małych erytrocytów. Powoduje to duże zróżnicowanie rozmiarów krwinek. Jest ono o wiele większe niż pod koniec hibernacji, a średnie rozmiary osi długiej i krótkiej były mniejsze niż pod koniec snu zimowego. Najmniejsze zróżnicowanie wielkości erytrocytów stwierdzono w początkowym okresie hibernacji. Podobne zjawisko zaobserwował u innych gatunków płazów bezogonowych Włoch (1980). Wzrost wielkości erytrocytów w okresie hibernacji wiąże się zapewne z większym uwodnieniem organizmu żaby i wzrostem ilości wody w krwinkach, jak również z ich starzeniem się. Jak stwierdzono uwodnienie organizmu *Rana temporaria* w czasie hibernacji znacznie wzrasta (Zamachowski 1966, 1968).

U obu płci *Rana temporaria* stwierdzono wahania wartości wskaźnika hematokrytowego. Największy wzrost przypada na drugą połowę życia aktywnego (od lipca) i trwa on u samic do początkowego okresu hibernacji, zaś u samców jest on znacznie dłuższy, bowiem ciągnie się przez okres hibernacji i kończy w czasie pory godowej. Najniższe wartości wskaźnika hematokrytowego u obu płci stwierdzono w II



dek. lipca. Przebieg zmian wartości hematokrytu odbiega od podanego przez Wismera (1934) dla *Rana temporaria*. Badał on żaby pochodzące z różnych okolic, które przetrzymywał przez okres 1 do 2 tygodni w pracowni, co mogło wpływać na zmiany w obrazie krwi. Z badań Harris (1972) wynika, że najniższy hematokryt u *R. pipiens* przypada na wiosnę, po czym następuje wzrost trwający do jesieni. Obraz ten tylko częściowo jest zgodny z wynikami niniejszego opracowania. Sumując, wyniki uzyskane przeze mnie są znacznie niższe niż podawane przez innych autorów dla *R. temporaria* (np. Wismer 1934, Terentiew 1950).

U samic w ciągu roku zaobserwowano jedno minimum (II dek. kwietnia) i jedno maksimum (III dek. października) poziomu hemoglobiny. U samców natomiast występują 3 okresy wzrostu i 3 okresy zmniejszania się poziomu hemoglobiny, przy czym najwyższą wartość stwierdzono w grudniu, a najniższą w kwietniu. Tylko u samic *R. temporaria* przebieg zmian poziomu hemoglobiny jest podobny do obrazu podanego dla *R. pipiens* przez Harris (1972). Wiąże się on ściśle zarówno ze zmianami uwodnienia organizmu *R. temporaria*, jak i przebiegiem procesu erytropoezy.

Wahania wielkości poszczególnych wskaźników czerwonokrwinkowych mogą mieć związek z różnymi typami anemii u żab. Wintrobe (1967) sugeruje istnienie u żab w okresie zimy anemii makrocytarnej, po której na wiosnę pojawia się anemia mikrocytarnej. Przez cały okres letni odbywa się regeneracja krwi, która charakteryzuje się obecnością młodych form erytrocytów. Obecność małych erytrocytów w krwi obwodowej w pierwszej połowie życia aktywnego prawdopodobnie wpływa na spadek poziomu hemoglobiny w tym czasie. Wzrost jej poziomu następuje dopiero po przebytej wiosną anemii mikrocytarnej.

Po hibernacji i następującej bezpośrednio po niej porze godowej wzrastają wartości takich parametrów, jak: poziom hemoglobiny, he-

matokryt, przeciętna objętość krwinki czerwonej, przeciętna zawartość i stężenie hemoglobiny w krwince, przy dość niskiej liczbie erytrocytów. Wysokie wartości tych parametrów przypadają na okres wzmożonego metabolizmu i aktywności związanej z odżywianiem się i rozwojem narządu rozrodczego *Rana temporaria* (Juszczuk 1959, 1967).

U obu płci najmniejszą liczbę leukocytów stwierdzono pod koniec hibernacji (I dek. marca), największą zaś w okresie życia aktywnego (III dek. maja). Wzrost liczby leukocytów u *R. temporaria* następuje po porze godowej i rozpoczęciu lądowego życia aktywnego. W tym czasie żaby intensywnie się odżywiają, a przewód pokarmowy wyraźnie się zmienia (Juszczuk i inni 1966). Zwiększenie liczby białych krwinek w maju koreluje ze wzrostem aktywności układu krwiotwórczego, bowiem w tym okresie pojawia się również w krwi obwodowej większa ilość młodych erytrocytów. Podobne zmiany zaobserwowała Harris (1972) u *R. pipiens*, wiążąc małą liczbę leukocytów w okresie zimy ze zjawiskiem hibernacji. Również Foxon (1964) cytuje dane Varela i Sellaresa, którzy u brazylijskiego gatunku ropuchy stwierdzili zmiany liczby białych krwinek w ciągu roku. Przedstawiony w niniejszej pracy przebieg cyklicznych zmian liczby leukocytów pokrywa się w zasadzie z danymi literaturowymi dotyczącymi innych gatunków płazów. Zaobserwowano również wahania ilości poszczególnych rodzajów białych krwinek. Mają one różny przebieg, a maksymalne i minimalne ilości przypadają w innych okresach roku. Na zróżnicowanie leukocytów, jak stwierdził Chury (1952), wpływa głodzenie płaza, które prowadzi do wzrostu ilości limfocytów i zmniejszenia liczby monocytów i neutrofilii. Kaplan (1952) stwierdził, że infekcje bakteryjne mogą wpływać zarówno na liczbę, jak i zróżnicowanie białych krwinek u płaza. Niektórzy badacze upatrują wzrostu liczby limfocytów w zwiększonej ich reaktywności na substancje toksyczne (Lewczuk i

Smolik 1984, Williams i inni 1983). Wyczerpująca interpretacja przebiegu zmian ilości poszczególnych rodzajów leukocytów byłaby możliwa dopiero po przeprowadzeniu szczegółowych eksperymentalnych badań wpływu różnych substancji (np. środków ochrony roślin, nawozów mineralnych itp.) na obraz krwi żaby.

Krew należy do tkanek odnawiających się, w związku z tym może na nią wpływać również funkcja tarczycy zmieniająca się w ciągu roku (Szarski 1968). Również funkcja innych gruczołów dokrewnych, a także takich układów, jak przewód pokarmowy i stan jego aktywności może oddziaływać na zmiany obrazu krwi obwodowej. Jak stwierdzono, przewód pokarmowy nie funkcjonuje przez cały okres hibernacji, a już pod koniec lata następuje jego regresja (Juszczak i inni 1966). Nie bez znaczenia jest również, co już wcześniej podkreślano, uwodnienie organizmu żaby, które zmienia się w ciągu roku (Zamachowski 1968). Zmiana środowiska życia przez *R. temporaria*, która okres hibernacji spędza w wodzie, a życie aktywne na lądzie, wywiera również wpływ na obraz krwi.

Sumując, należy stwierdzić, że na cykliczne zmiany w obrazie krwi obwodowej może wpływać wiele czynników. Pełne uzasadnienie ich wpływu jest niezwykle trudne z uwagi na dużą zmienność osobniczą. Poza tym badania przeprowadzono w okresie nietypowej w okolicach Krakowa zimy 1988/89, która była łagodna z dość wysoką temperaturą. Mogło to również mieć wpływ na obraz zarówno białokrwinkowy jak i czerwonekrwinkowy. Stąd istnieje potrzeba dalszych badań w okresie charakterystycznej i typowej dla okolic Krakowa zimy i pozostałych pór roku. Pozwoli to na pełniejszą charakterystykę cyklicznych zmian, jakie zachodzą we krwi obwodowej żaby *Rana temporaria*.

## Literatura

- Arvey L., 1947. Le dimorphisme sexuel sanguin chez *Rana temporaria* L. et *Bufo vulgaris* Laur. C.r. Soc. Biol. 141. 457-459.
- Chury Z., 1952. Some hematologic data in the fasting hreen toad (*Bufo viridis*). Scripta Med. Fac. Med. Univ. Braun. Palack. 25. 23-30.
- Foxon G.E.H., 1964. Blood and respiration. Physiology of the Amphibia. Ed. Moore J.A. Acad. Press N.Y. 151-202.
- Frangioni G., Borgioli G., 1984. Seasonal erythrocyte count variations in laboratory raised newts. Monitore zool. ital. (N.S.) 18, 301-306.
- Harris J.A., 1972. Seasonal variation in some hematological characteristic of *Rana pipiens*. Comp. Biochem. Physiol. 43A. 975-989.
- Harris J.P.Jr., 1953. Note on the blood of Necturus. Field and Lab. 21. 147-148.
- Holzapfel R.A., 1937. The cyclic character of hibernation frogs. Q.Rev. Biol. 12. 65-84.
- Hutchison V.H., Szarski H., 1965. Number of erythrocytes in some amphibians and reptiles. Copeia 3. 373-375.
- Juszczuk W., 1959. The development of the reproductive organs of the female common frog (*Rana temporaria* L.) in the yearly cycle. Annales UMCS Lublin. 14. 11. 169-231.
- Juszczuk W., 1967. Zjawisko rytmu rocznego u płazów. Roczn. Nauk.-Dydakt. WSP w Krakowie. z. 29. Prace z zoologii I. 67-87.
- Juszczuk W., Obrzut K., Zamachowski W., 1966. Morphological changes in the alimentary canal of the common frog (*Rana temporaria* L.) in the annual cycle. Acta Biol. Crac. zool. 9. 239-246.

- Kaplan H.M., 1951. A study of frog blood in red leg disease. Trans. III. State Acad. Sci. 44. 209-215.
- Kaplan H.M., 1952. Variations in white blood cells between normal and red-leg frogs. Trans. III. State Acad.Sci. 45. 170-176.
- Lewczuk E., Smolik R., 1984. Niedokrwistości jako następstwo narażenia na chemiczne szkodliwości zawodowe. Pol. Tyg. Lek. 39. 414-417.
- Noble G.K., 1954. The biology of the Amphibia. Dover Public. New York.
- Rouf M.A. 1969. The hematology of the leopard frog. *Rana pipiens*. Copeia 4. 682-687.
- Schermer S., 1954. Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Borth. Leipzig.
- Schermer S., 1967. The blood morphology of laboratory animals. Davis F.A. Philadelphia. 171-187.
- Szarski H., 1968. Evolution of cell size in lower vertebrates. Nobel Symp. 4. Current problems of lower vertebrates phylogeny. Stockholm. 445-453.
- Szarski H., 1985. Cell size in various vertebrate tissues. Fortschritte der Zoologie. In Vertebrate Morphology Eds. Ducker and Fleischer. band 30. 313-316.
- Szarski H., Czopek G., 1966. Erythrocyte diameter in some amphibians and reptiles. Bull. Acad. Polon. s.Sci. Biol. 14. 433-437.
- Terentiew P.W., 1950. Laguszka. Gos. Izdet. Sow. Nauka. Moskwa.
- Williams W.J., Beutler E., Erslev A.J., Lichtman M., 1983. Hematology. McCraw - Hill Book Comp. New York - Toronto.
- Wintrobe M.M., 1967. Clinical Hematology. Lea and Febiger. Philadelphia.

- Wisner H., 1934. Untersuchungen über die Physicalischen Elemente des Blutes von *Rana temporaria*. Biol. Gener. 10. 1.
- Włoch T., 1980. Rozmiary erytrocytów krwi obwodowej u wybranych gatunków płazów polskich w cyklu rocznym (maszynopis pracy doktorskiej - Zakł. Zool. WSP w Krakowie).
- Zamachowski W., 1966. Changes in the weight of the body of the common frog (*Rana temporaria* L.) during in the period of hibernation. Acta Biol. Crac. zool. 9. 199-206.
- Zamachowski W., 1968. Changes in the water content in the organism of the common frog (*Rana temporaria* L.) and the water frog (*Rana esculenta* L.) in the annual cycle. Acta Biol. Crac. zool. 11. 213-225.
- Zamachowski W., 1985. Changes in the body content of water in the common frog. *Rana temporaria* L. during its ontogenesis. Acta Biol. Crac. zool. 27. 11-18.
- Zamachowski W., 1988. Wpływ dehydratacji na ilość hemoglobiny i wartość hematokrytu w krwi obwodowej żaby trawnej - *Rana temporaria* L. Roczn. Nauk.-Dydakt. WSP w Krakowie, z. 117. Prace Fizjologiczne I, 167-178.

CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD IN THE COMMON FROG  
*RANA TEMPORARIA* L.  
IN THE ANNUAL CYCLE AS AN INDICATOR OF ADAPTATION  
TO HABITAT CONDITIONS

S u m m a r y

By means of routine methods a number of erythrocytes and of leucocytes, haematocrite index, haemoglobin content, a size of erythrocytes, and differential white blood count were determined and some haematocrite indices were calculated. Marked changes in all the parameters of frog's blood in the annual cycle were observed. Differences between the two sexes as well as a great individual differentiation were found. The average volume of erythrocytes as well as the average concentration of haemoglobin in an erythrocyte also distinctly changes. The lowest values of these indices were recorded in the initial phase of active life, while the highest ones at the beginning of hibernation.

ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЛЯГУШКИ –  
*RANA TEMPORARIA L.*  
В ГОДИЧНОМ ЦИКЛЕ, КАК ВЫРАЖЕНИЕ  
АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ЖИЗНИ

Р е з ю м е

При применении рутинных методов было определено: число эритроцитов, лейкоцитов, индекс гематокрита, уровень гемоглобина, величина эритроцитов, дифференциация лейкоцитов, а также были подсчитаны некоторые индексы гематокрита. Наблюдались четкие изменения всех параметров крови лягушки в годичном цикле. Были отмечены половые различия, а также дифференциация среди особей. Были также отмечены четкие изменения в объеме средних эритроцитов, среднего количества и насыщения гемоглобина в кровяном шарике. Самые небольшие значения этих величин в начальном периоде активной жизни, самое большое в начальном периоде зимовки.