

十一种无尾两栖类物种皮肤和肺显微结构

王莉^{①②} 宋仕贤^③ 李奇生^{①*}

① 西南林业大学云南省高校极小种群野生动物保育重点实验室 昆明 650224;

② 新疆农业大学动物科学学院 乌鲁木齐 830052; ③ 中国大熊猫保护研究中心 都江堰 611830

摘要: 无尾两栖类动物的呼吸方式为肺呼吸和皮肤辅助呼吸, 为探究两种呼吸器官的显微结构, 本文采用解剖学和组织学的方法, 对大蹼铃蟾 (*Bombina maxima*)、腺角蟾 (*Megophrys glandulosa*)、中华蟾蜍 (*Bufo gargarizans*)、华西雨蛙 (*Hyla gongshanensis*)、昭觉林蛙 (*Rana chaochiaoensis*)、滇蛙 (*Dianrana pleuraden*)、双团棘胸蛙 (*Gynandropaa yunnanensis*)、贡山树蛙 (*Rhacophorus gongshanensis*)、斑腿泛树蛙 (*Polypedates megacephalus*)、饰纹姬蛙 (*Microhyla fissipes*)、多疣狭口蛙 (*Kaloula verrucosa*) 的皮肤和肺的形态及显微结构进行观察。结果显示, 背部和腹部皮下可见血管交错成网状, 皮肤由表皮层和真皮层构成。除华西雨蛙外, 其余 10 种均有分布于真皮疏松层与致密层间的钙化层; 色素细胞位于疏松层上层, 体背色素层较发达。肺囊状, 中空密布血管, 分为大小相当的左右肺叶, 两肺叶相通并与心粘连, 无气管和支气管。肺由肺囊壁、隔膜、毛细血管、肺泡细胞等结构组成。肺囊壁分为胸膜层、中间层和内层: 胸膜层由扁平细胞构成, 中间层由结缔组织构成, 内层由肺细胞和毛细血管组成, 隔膜由毛细血管和结缔组织构成, 游离隔膜向中部靠拢可形成半封闭腔室, 结合隔膜与肺囊壁形成封闭小腔室。在这 11 个物种中, 肺较发达的个体, 其皮肤结构中黏液腺的数量就会相对较少, 组织形态学特征表现出与环境适应性关系较大, 而受到系统发育关系影响较小。

关键词: 无尾目; 显微结构; 肺; 皮肤

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2019) 03-382-13

Histological Observation of Skins and Lungs in Eleven Anuran Species

WANG Li^{①②} SONG Shi-Xian^③ LI Qi-Sheng^{①*}

① Key Laboratory for Conserving Wildlife with Small Populations in Yunnan, Southwest Forestry University, Kunming 650224;

② College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052;

③ Conservation and Research Center for the Giant Panda, Dujiangyan 611830, China

Abstract: We used light microscope to observe the histological characteristics of the dorsal, ventral skins and lungs of *Bombina maxima*, *Megophrys glandulosa*, *Bufo gargarizans*, *Hyla gongshanensis*, *Rana chaochiaoensis*, *Dianrana pleuraden*, *Gynandropaa yunnanensis*, *Rhacophorus gongshanensis*, *Polypedates*

* 通讯作者, E-mail: li_qi_sheng@163.com;

第一作者简介 王莉, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: 1679558291@qq.com。

收稿日期: 2018-11-05, 修回日期: 2019-02-15 DOI: 10.13859/j.cjz.201903008

megacephalus, *Microhyla fissipes*, *Kaloula verrucosa* (Table 1). The results showed that the blood vessels in the back and the abdomen were interlaced into reticular veins. The morphological characteristics of dorsal skins, abdominal skins and lungs of these species were different (Table 2). The skin consisted of the epidermis and dermis (Table 3). Except for *Hyla gongshanensis*, the remaining 10 species had lamina calcarea distributed between the stratum spongiosum and stratum compactum of the dermis (Fig. 1). The pigment cells were located in the stratum spongiosum, with the dorsal pigment layer more developed. The alveolar sac, shaped hollow with dense blood vessels (Fig. 3), were divided into the right and left lobules of the same size. The lung was composed of pulmonary cyst wall, septum (Table 4), capillary and pulmonary alveoli. The pulmonary cyst wall consisted of the pleural layer, the middle layer and the inner layer: the pleural layer was composed of flat cells; the middle layer was composed of connective tissue; the inner layer was composed of pulmonary alveoli and capillaries; and the septum was composed of capillaries and connective tissues (Fig. 4). In these 11 species, individuals with more developed lungs tended to have reduced mucous glands in the skin structure. Individuals with more developed lungs had reduced mucous glands in their skin structure, and their histological features showed greater adaptation to the environment and less influence from phylogenetic relationships.

Key words: Anurans; Microstructure; Lungs; Skin

两栖类有广泛的生态适应性,形成了形态、生理、生化和行为的多样性。在适应进化过程中,两栖类的皮肤在气体交换中起着重要作用,有调节水平衡、抵抗和逃避猎食者、抗菌、调节温度等多方面的功能,对适应环境起重要作用(Maina 1989, Toledo et al. 1995),还能够辅助肺进行呼吸(刘炯宇等 2004, 曹燕等 2011)。

关于两栖类皮肤的研究描述了其表皮层和真皮层结构,真皮层中含有颗粒腺与黏液腺,皮肤黏液腺内含有细小的颗粒分泌物,腺体内黏液比腔内黏液的密度大,但其组织化学性质相同(Dapson 1970)。对皮肤组织学观察,发现疏松层与致密层间存在钙化层条带和贯穿皮肤全层结构的通道,以及分布于疏松层上层的黑色素等(曹燕等 2011, 吴文英等 2011)。

环境和微生境的特性可以影响两栖动物应对水分缺失时所做出的反应和生理调节机制(Blaylock et al. 1976)。两栖动物作为水生向陆生转变的过渡类群,肺作为主要的呼吸器官,结构还比较简单,需要皮肤进行辅助呼吸(Burggren et al. 1986),不同种间由于生境差异,这两种器官在形态上会有所不同(谢文海

等 2007)。李明会等(2006)对昆明地区的滇蛙(*Dianrana pleuraden*)、昭觉林蛙(*Rana chaochiaoensis*)和大蹼铃蟾(*Bombina maxima*)的呼吸系统进行了比较解剖研究,发现3种蛙均具有2个肺囊,昭觉林蛙与滇蛙的肺表面沟回比大蹼铃蟾的小而稠密,呼吸能力较强,并从肺部的发育情况得出前两者较后者进化。李蓓等(2012)对大凉疣螈(*Tylototriton taliangensis*)肺的组织形态学观察,发现其囊状肺与气管直接连接,可以观察到肺内的胶原纤维。皮肤和肺的显微结构是否在不同蛙类中存在差异?我们选择无尾目分属7科11属的11个物种,观察其皮肤和肺部显微结构,初步探究这一类群动物呼吸器官的发展变化历程,以补充和完善蛙类皮肤和肺部结构显微形态资料,加深对脊椎动物从水生到陆生的适应进化和逐步适应陆生机制的了解。

1 材料与方法

1.1 材料

标本信息详情见表1,均为成体,使用10%甲醛浸泡保存。

表 1 11 种无尾两栖类实验标本信息

Table 1 Information on experimental specimens of 11 Anurans

科 Family	种 Species	标本号 Specimen no.	采集地 Collecting site	采集时间 (年-月-日) Acquisition time (Year-month-date)	采集地生境 Habitat
铃蟾科 Bombinatoridae	大蹼铃蟾 <i>Bombina maxima</i>	20150709001	大姚县桂花镇 Guihua Town, Dayao County	2015-07-09	山涧溪流 Mountain streams
		20150709002	大姚县桂花镇 Guihua Town, Dayao County	2015-07-09	次生林 Secondary forest
角蟾科 Megophryidae	腺角蟾 <i>Megophrys glandulosa</i>	20160621002	贡山县独龙江乡 Dulongjiang Township, Gongshan County	2016-06-21	阔叶林 Broadleaf forest
蟾蜍科 Bufonidae	中华蟾蜍 <i>Bufo gargarizans</i>	20171226002	楚雄市紫溪山 Zixi Mountain, Chuxiong City	2017-12-26	水坑 Puddle
		20171226005	楚雄市紫溪山 Zixi Mountain, Chuxiong City	2017-12-27	水坑 Puddle
雨蛙科 Hylidae	华西雨蛙 <i>Hyla gongshanensis</i>	20170410003	马关县箐厂镇 Miechang Town, Maguan County	2017-04-10	灌丛 Shrub
蛙科 Ranidae	昭觉林蛙 <i>Rana chaochiaoensis</i>	20170719002	马关县南捞乡 Nanlao Township, Maguan County	2017-07-19	水塘 Reservoir
	滇蛙 <i>Dianrana pleuraden</i>	20150803001	双柏县 Shuangbai County	2015-08-03	池塘 pond
		20150803002	双柏县 Shuangbai County	2015-08-03	池塘 pond
叉舌蛙科 Dicroglossidae	双团棘胸蛙 <i>Nanorana phrynoides</i>	20171226001	楚雄市紫溪山 Zixi Mountain, Chuxiong City	2017-12-26	水坑 Puddle
		20171227001	楚雄市紫溪山 Zixi Mountain, Chuxiong City	2017-12-27	水沟 Ditch
		20171227004	楚雄市紫溪山 Zixi Mountain, Chuxiong City	2017-12-27	草地 Grassland
树蛙科 Rhacophoridae	贡山树蛙 <i>Rhacophorus gongshanensis</i>	20160503003	贡山县独龙江乡 Dulongjiang Township, Gongshan County	2016-05-03	阔叶林 Broadleaf forest
		20160620002	贡山县独龙江乡 Dulongjiang Township, Gongshan County	2016-06-20	阔叶林 Broadleaf forest
	斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	20170614008	马关县古林箐乡 Gulinjing Township, Maguan County	2017-06-14	灌丛 Shrub
姬蛙科 Microhylidae	饰纹姬蛙 <i>Microhyla fissipes</i>	20180319001	镇沅县恩东镇 Endong Town, Zhenyuan County	2011-06-25	水田 Paddy field
		20180319002	镇沅县恩东镇 Endong Town, Zhenyuan County	2011-06-26	水田 Paddy field
	多疣狭口蛙 <i>Kaloula verrucosa</i>	2011050060	大理市银桥 Dali Yinqiao	2011-05-06	草地 Grassland
		2011050084	大理市银桥 Dali Yinqiao	2011-05-08	农田 farmland

1.2 方法

参照文献(曹燕等 2011)每个标本体背和体腹各取 1 cm × 1 cm 大小的皮肤组织。剥离心取出肺。所有组织均采用横切的方式,皮肤切全层,肺部选取最大横切面进行切片。将组织用甲醛固定液固定 24 h 以上,常规石蜡包埋

切片法制作组织切片,逐级浓度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,蜡块于 -20 °C 冻台加速冷却。三个部位的每个样品取 3 片制作切片,中间间隔 20 刀,切片厚 4 μm, H.E 染色,中性树胶封片。显微镜观察、扫描,用 Case Viewer 软件在 20 ~ 400 倍下观察并拍照。

2 结果

2.1 外部形态

观察 11 种蛙的皮肤和肺部特征,背部和腹部皮肤的表面粗糙程度与颜色在种间均有差异(表 2)。肺呈囊状,中空,肺囊壁密布血管,分为大小相当的左右肺叶,两肺叶相通并与心粘连,无气管和支气管。

2.2 皮肤显微结构

2.2.1 表皮 表皮含多层细胞,为复层上皮,由表及里分为角质层、颗粒层、棘细胞层和基底层。角质层由 1 或 2 层扁平上皮细胞构成,H.E 染色呈淡紫色或玫红色,细胞角化均匀,与颗粒层细胞区分明显(图 1, 2)。多疣狭口蛙背、腹部表皮角质层均为 2 层,中华蟾蜍背

部表皮角质层为 3 层,腹部 1 层,其余 9 种蛙背、腹部表皮角质层均为 1 层(表 3)。颗粒层由 1 ~ 3 层扁平细胞构成,细胞核形态多呈椭圆、扁平、长条或扁梭形(表 3)。棘细胞层由 1 ~ 3 层不规则状细胞构成,细胞核 H.E 染色为蓝紫色,腹部皮肤此层细胞的核多为圆形或卵圆形,背部皮肤的则多为圆形或椭圆形(表 3)。基底层由 1 层立方细胞构成,紧密竖直排列于表皮最内层,细胞核为圆形、椭圆形或长椭圆形。

2.2.2 真皮 位于表皮层下方,分为疏松层和致密层。疏松层由纤维细胞、成纤维细胞等构成,其顶端一般有色素细胞组成的斑块,中部存在黏液腺和颗粒腺;致密层由大量密集的胶

表 2 11 种无尾两栖类背、腹皮肤及肺形态特征

种 Species	皮肤 Skin		肺 Lung
	背部 Dorsal	腹部 Abdominal	
大蹼铃蟾 <i>Bombina maxima</i>	粗糙,黑灰色,满布瘰粒 Rough, dark grey, bestrew knobby	光滑,有橘红色与黑色花斑 Smooth, orange and black piebald	球状,表面有泡状突起 Spherical, with bubbly protuberances on the surface
腺角蟾 <i>Megophrys glandulosa</i>	光滑,棕褐色 Smooth, sepia	光滑,黄白色,满布深色斑块 Smooth, yellowish white, bestrew Dark patches	肾形 Reniform
中华蟾蜍 <i>Bufo gargarizans</i>	粗糙,褐绿色,有瘰粒 Rough, green, knobby	粗糙,浅黄色有黑色斑块 Rough, light yellow, Black patches	橄榄球形,底部骤缩成尾 A rugby ball with a tail at the bottom
华西雨蛙 <i>Hyla gongshanensis</i>	光滑,蓝绿色 Smooth, glaucous	较粗糙,具颗粒状疣粒 Little Rough, warts	椭球形 Apheroidicity
昭觉林蛙 <i>Rana chaochiaoensis</i>	光滑,棕黑色 Smooth, dark brown	光滑,乳黄色 Smooth, creamy yellow	似圆锥状,底部收缩变小 Conical like, the bottom contraction is smaller
滇蛙 <i>Dianrana pleuraden</i>	较光滑,黄褐色,有疣粒 Little smooth, fulvous, warts	一般光滑,有小痣粒 General smooth, tiny granules	漏斗状,底部尖 Funnelform, bottom tip
双团棘胸蛙 <i>Nanorana phrynoides</i>	粗糙,黄绿色,有肤棱和疣粒 Rough, yellowish green, skin ridge and warts	光滑,肉色,有棕色斑 Smooth, fleshcolor, brown patches	似芒果状,底部逐渐缩小且颜色加深 Mango like, the bottom gradually reduces and color deepens
贡山树蛙 <i>Rhacophorus gongshanensis</i>	较光滑,草绿色,白色小颗粒 Little smooth, grass-green, small white particles	密布扁平疣,紫棕色 Bestrew flat warts, Purple brown	圆筒形,底部骤缩呈黑色乳头状 Cylindrical, with a black nipple at the bottom
斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	光滑,褐绿色,有细小痣粒 Smooth, green, tiny granules	有扁平疣,乳白色 Flat warts, creamy yellow	肾形 Reniform
饰纹姬蛙 <i>Microhyla fissipes</i>	灰棕色,有小疣粒 Grayish brown, small warts	光滑,白色 Smooth, white	肾形 Reniform
多疣狭口蛙 <i>Kaloula verrucosa</i>	粗糙,橄榄绿,满布小疣粒 Rough, green, bestrew warts	光滑,米黄色 Smooth, beige	肾形 Reniform

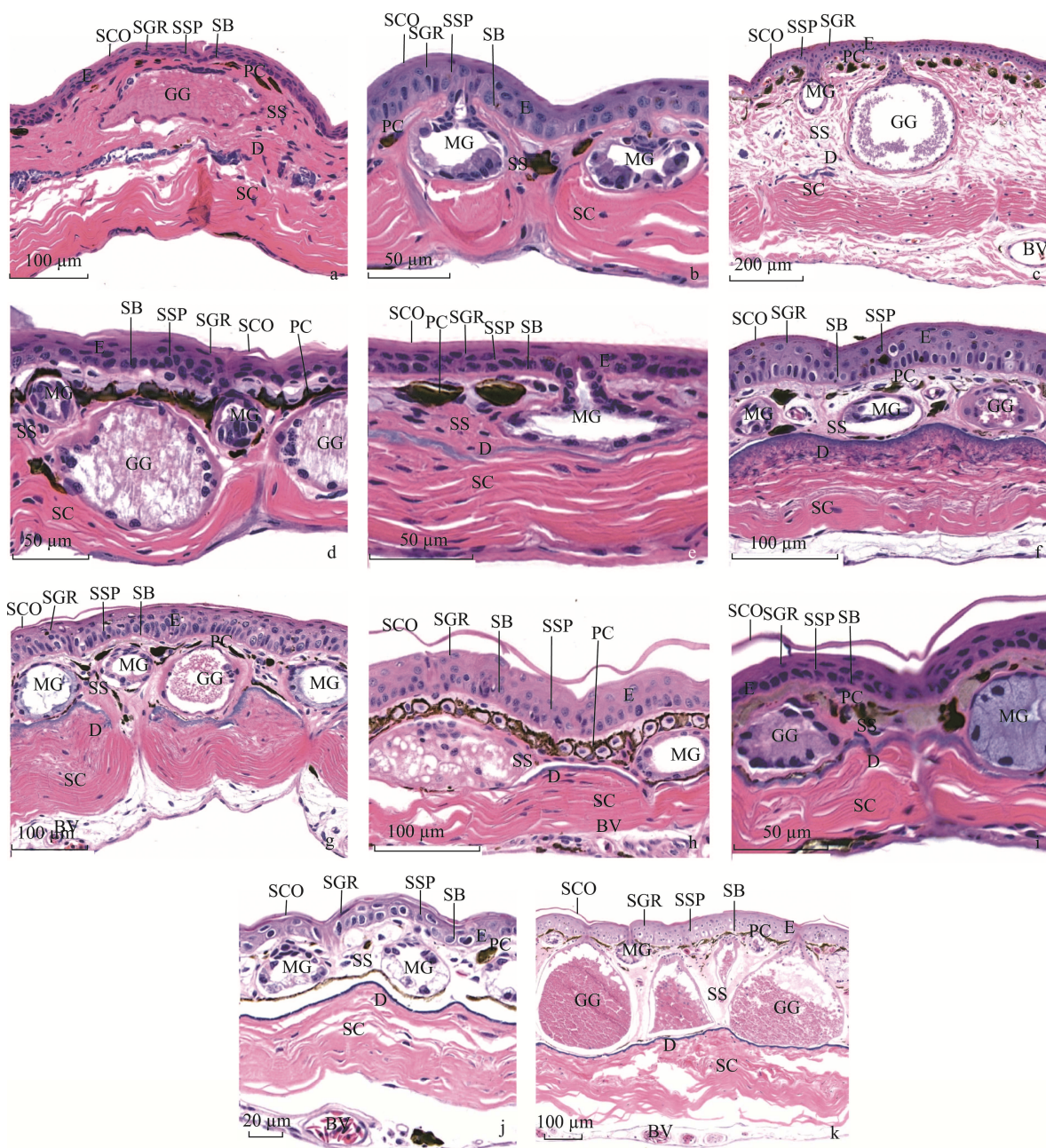


图1 背部皮肤横切显微结构

Fig. 1 Microstructure of dorsal skin transverse section

a. 大蹼铃蟾; b. 腺角蟾; c. 中华蟾蜍; d. 华西雨蛙; e. 昭觉林蛙; f. 滇蛙; g. 双团棘胸蛙; h. 贡山树蛙; i. 斑腿泛树蛙; j. 饰纹姬蛙; k. 多疣狭口蛙。

a. *Bombina maxima*; b. *Megophrys glandulosa*; c. *Bufo gargarizans*; d. *Hyla gongshanensis*; e. *Rana chaochiaoensis*; f. *Dianrana pleuraden*; g. *Gynandropaa yunnanensis*; h. *Rhacophorus gongshanensis*; i. *Polypedates megacephalus*; j. *Microhyla fissipes*; k. *Kaloula verrucosa*.

BV. 血管; D. 真皮; E. 表皮; GG. 颗粒腺; MG. 黏液腺; PC. 色素细胞; SB. 基底层; SC. 致密层; SCO. 角质层; SGR. 颗粒层; SS. 疏松层; SSP. 棘细胞层。

BV. Blood vessels; D. Dermis; E. Epidermis; GG. Granular gland; MG. Mucous gland; PC. Pigment cells; SB. Stratum basale; SC. Stratum compactum; SCO. Stratum corneum; SGR. Stratum granulosum; SS. Stratum spongiosum; SSP. Stratum spinosum.

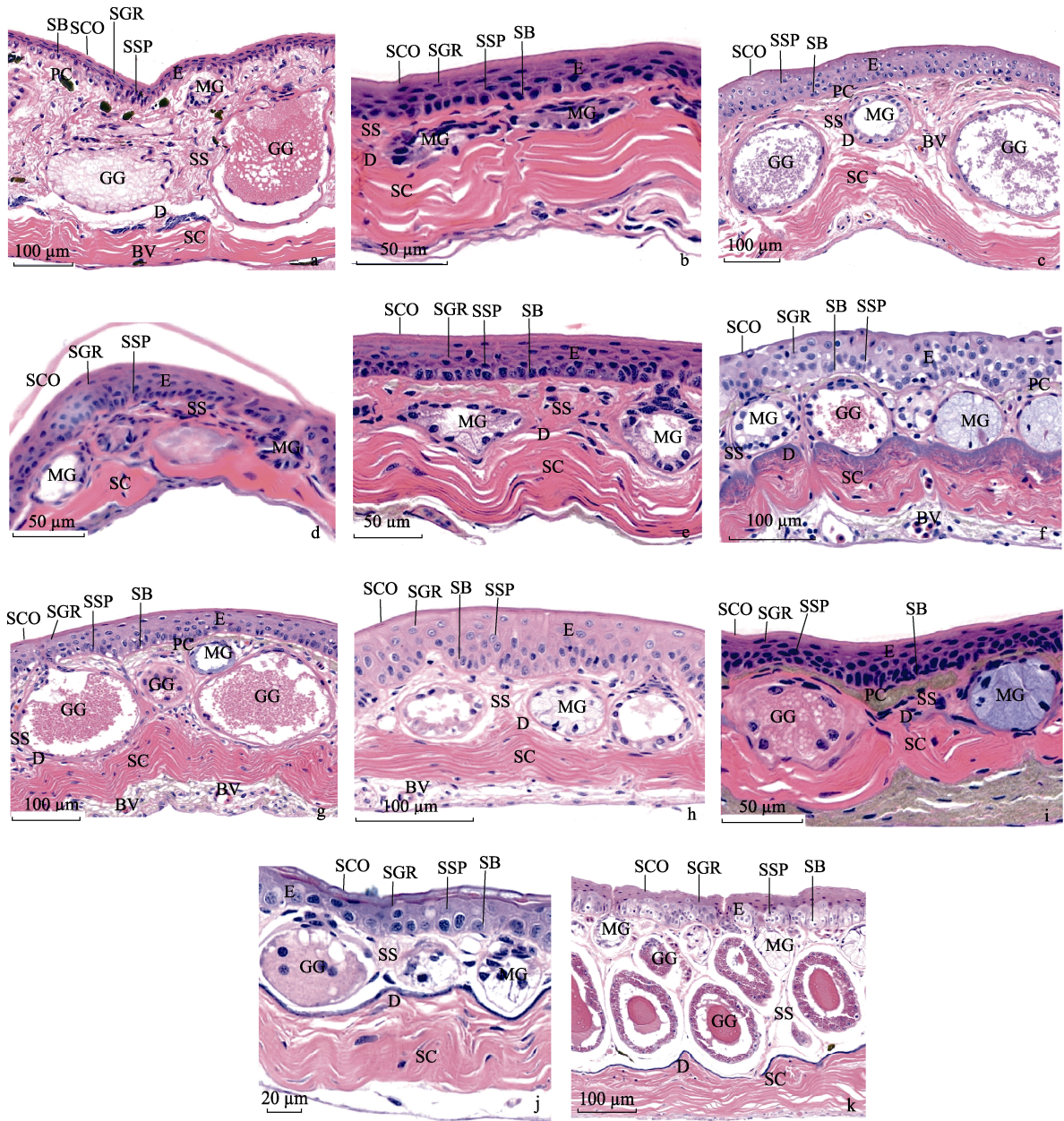


图 2 腹部皮肤横切显微结构

Fig. 2 Microstructure of abdominal skin transverse section

a. 大蹼铃蟾; b. 腺角蟾; c. 中华蟾蜍; d. 华西雨蛙; e. 昭觉林蛙; f. 滇蛙; g. 双团棘胸蛙; h. 贡山树蛙; i. 斑腿泛树蛙; j. 饰纹姬蛙; k. 多疣狭口蛙。

a. *Bombina maxima*; b. *Megophrys glandulosa*; c. *Bufo gargarizans*; d. *Hyla gongshanensis*; e. *Rana chaochiaoensis*; f. *Dianrana pleuraden*; g. *Gynandropaa yunnanensis*; h. *Rhacophorus gongshanensis*; i. *Polypedates megacephalus*; j. *Microhyla fissipes*; k. *Kaloula verrucosa*.

BV. 血管; D. 真皮; E. 表皮; GG. 颗粒腺; MG. 黏液腺; PC. 色素细胞; SB. 基底层; SC. 致密层; SCO. 角质层; SGR. 颗粒层; SS. 疏松层; SSP. 棘细胞层。

BV. Blood vessels; D. Dermis; E. Epidermis; GG. Granular gland; MG. Mucous gland; PC. Pigment cells; SB. Stratum basale; SC. Stratum compactum; SCO. Stratum corneum; SGR. Stratum granulosum; SS. Stratum spongiosum; SSP. Stratum spinosum.

表 3 11 种无尾两栖类表皮细胞结构特征（层）

Table 3 Structure characteristics of epidermal cells in 11 Anurans (layer)

种 Species	背部 Dorsal				腹部 Abdominal			
	角质层 Stratum corneum	颗粒层 Stratum granulosum	棘细胞层 Stratum spinosum	基底层 Stratum basale	角质层 Stratum corneum	颗粒层 Stratum granulosum	棘细胞层 Stratum spinosum	基底层 Stratum basale
大蹼铃蟾 <i>Bombina maxima</i>	1	1 - 3, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 椭圆 Ellipse	1, 椭圆 Ellipse	1	2 - 3, 扁圆 Oblate	1, 扁圆 Oblate	1, 圆形 Rounded
腺角蟾 <i>Megophrys glandulosa</i>	1	1, 长条 Linear	2 - 3, 圆形 Rounded	1, 椭圆 Ellipse	1	1 - 3, 椭圆 Ellipse	1, 扁平 Flat	1, 扁圆 Oblate
中华蟾蜍 <i>Bufo gargarizans</i>	3	1, 扁梭形 Flat spindle	1 - 2, 椭圆 Ellipse	1, 卵圆 Oval	1	1 - 2, 椭圆 Ellipse	1 - 3, 圆形 Rounded	1, 圆形 Rounded
华西雨蛙 <i>Hyla gongshanensis</i>	1	1 - 2, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 扁圆 Oblate	1	2 - 3, 扁平 Flat	1 - 2, 椭圆 Ellipse	1, 椭圆 Ellipse
昭觉林蛙 <i>Rana chaochiaoensis</i>	1	1 - 2, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 圆形 Rounded	1, 多边形 Polygon	1	1 - 3, 椭圆 Ellipse	1 - 2, 卵圆 Oval	1, 椭圆 Ellipse
滇蛙 <i>Dianrana pleuraden</i>	1	1, 椭圆 Ellipse	1 - 2, 卵圆 Oval	1, 椭圆 Ellipse	1	1, 椭圆 Ellipse	1 - 3, 圆形 Rounded	1, 椭圆 Ellipse
双团棘胸蛙 <i>Nanorana phrynoides</i>	1	1, 扁平状 Platykurtic	1, 圆形 Rounded	1, 长椭圆 Long oval	1	1, 扁平 Flat	1 - 3, 圆形 Rounded	1, 长椭圆 Long oval
贡山树蛙 <i>Rhacophorus gongshanensis</i>	1	1, 扁梭形 Flat spindle	1 - 2, 圆形 Rounded	1, 卵圆 Oval	1	1, 扁长条 Flat bar	1 - 3, 卵圆 Oval	1, 椭圆 Ellipse
斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	1	1, 椭圆 Ellipse	1 - 2, 扁圆 Oblate	1, 椭圆 Ellipse	1	1, 扁长条 Flat bar	1 - 3, 卵圆 Oval	1, 扁圆 Oblate
饰纹姬蛙 <i>Microhyla fissipes</i>	1	1 - 2, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 圆形 Rounded	1, 椭圆 Ellipse	1	1 - 2, 扁圆 Oblate	1 - 2, 圆形 Rounded	1, 椭圆 Ellipse
多疣狭口蛙 <i>Kaloula verrucosa</i>	2	1 - 2, 扁椭圆 Oblate ellipsoid	1, 圆形 Rounded	1, 圆形 Rounded	2	1 - 2, 扁圆 Oblate	1 - 2, 圆形 Rounded	1, 椭圆 Ellipse

原纤维平行排列构成,腱细胞位于纤维束之间。致密层 H.E 染色较疏松层着色深,为玫红色。

大蹼铃蟾:色素细胞大,不连续;腺体外壁由单层扁平细胞构成,背部颗粒腺大,腹部黏液腺多,呈卵圆形;疏松层较致密层厚;钙化层连续(图 1a, 2a)。

腺角蟾:色素细胞大,不连续;腺体外壁由单层球形细胞构成,背、腹部有黏液腺,无颗粒腺;疏松层薄,致密层有纤维束垂直伸至表皮,两层间无间隙;背部钙化层较腹部明显(图 1b, 2b)。

中华蟾蜍:背部色素细胞较腹部多,不连续;颗粒腺大,数量比黏液腺多,腺体外壁由扁平细胞构成;疏松层比致密层厚,两层间无间隙,致密层有纤维束垂直伸至表皮,背

部皮下血管较腹部多;钙化层薄且不连续(图 1c, 2c)。

华西雨蛙:背部色素细胞多且连续,腹部无色斑;腺体外壁由椭圆形细胞构成,黏液腺较小且中空,颗粒腺较大且充满颗粒状物;疏松层较薄,致密层有纤维束垂直伸至表皮,两层间无间隙;无钙化层(图 1d, 2d)。

昭觉林蛙:背部色素细胞不连续,腹部无色斑;腺体外壁由椭圆形细胞构成,无颗粒腺,黏液腺中空扁球形;疏松层较薄,致密层有纤维束垂直伸至表皮,二者间无间隙;背部钙化层明显多连续,腹部无钙化层(图 1e, 2e)。

滇蛙:背部色素细胞不连续,腹部无色斑;黏液腺球状较多,仅有个别颗粒腺,颗粒腺中

部有紫红色颗粒; 疏松层薄, 致密层上部为无规则絮状, 下部有胶质纤维呈水平波浪状排列, 两层间无间隙; 钙化层连续, 涉及至致密层上部絮状组织 (图 1f, 2f)。

双团棘胸蛙: 背部色素细胞不连续, 腹部无色斑; 颗粒腺中部有明显紫红色颗粒, 黏液腺中空边缘有蓝色立方细胞; 疏松层薄, 致密层上部为无规则絮状, 下部有胶质纤维呈水平波浪状排列, 有纤维束垂直伸至表皮, 两层间无间隙; 钙化层连续, 背部较腹部明显 (图 1g, 2g)。

贡山树蛙: 背部色素细胞连续, 腹部无色斑; 颗粒腺中部有紫红色颗粒, 黏液腺中空, 腹部黏液腺只存在于皮肤凸起处; 疏松层较薄, 致密层有纤维束垂直伸至表皮; 两层间无间隙; 背部钙化层明显, 腹部无 (图 1h, 2h)。

斑腿泛树蛙: 背部色素细胞不连续, 腹部色斑颜色较浅; 颗粒腺中部为紫红色, 黏液腺充满蓝色立方细胞; 背部疏松层较薄, 致密层有纤维束垂直伸至表皮, 两层间无间隙; 背部钙化层连续, 腹部不连续 (图 1i, 2i)。

饰纹姬蛙: 背部色素细胞不连续, 腹部无色斑; 腺体边缘细胞的细胞核呈椭圆形, 黏液腺内部中空或充满细胞, 颗粒腺圆形或多边形, 有血管交错分布在腺体左右; 疏松层与致密层厚度相当, 致密层上部为不规则结缔组织, 下层有胶质纤维呈水平波浪状, 有纤维束垂直伸至表皮, 两层间有间隙; 钙化层多连续 (图 1j, 2j)。

多疣狭口蛙: 背部色素细胞连续, 腹部无色斑; 腺体呈上下分布, 黏液腺在上层颗粒腺在下层, 背部颗粒腺中部为桃红色颗粒, 腹部颗粒腺为两层竖直长椭圆形排列, 中部呈玫红色实心椭圆, 颗粒分布于其周边, 黏液腺紧贴表皮, 边缘充满立方细胞, 有血管交错分布在黏液腺左右; 疏松层较厚, 致密层上部为不规则结缔组织, 下层有胶质纤维呈水平波浪状排列, 致密层有纤维束垂直伸至表皮, 两层间无间隙; 钙化层多连续 (图 1k, 2k)。

2.3 肺显微结构

11 种无尾两栖类的肺基本结构均由肺囊壁、腔室和中间的隔膜构成 (图 3), 肺囊壁和隔膜上有毛细血管和肺泡细胞分布 (表 4)。肺囊壁分为胸膜层、中间层和内层; 胸膜层由扁平细胞构成, 中间层由结缔组织构成, 大都含有色素细胞和血管, 内层由肺细胞和毛细血管组成 (图 4)。隔膜两面由毛细血管和结缔组织构成, 终端为网状组织, 分为游离隔膜和结合隔膜, 游离隔膜向中部靠拢可形成半封闭腔室, 结合隔膜与肺囊壁形成封闭小腔室, 并向内凹陷形成褶皱。

肺囊壁, 腺角蟾和中华蟾蜍胸膜层扁平上皮有 2 层细胞, 其余 9 种均为 1 层; 中间层的结缔组织在腺角蟾、贡山树蛙和斑腿泛树蛙中为致密组织, 其余 8 种为疏松组织; 在中间层中只有华西雨蛙没有观察到色素细胞; 内层细胞形态有圆形、扁圆形和椭圆形 (表 4)。观察到大蹼铃蟾腔室中形成非常多的小腔室, 斑腿泛树蛙次之, 中华蟾蜍和昭觉林蛙适中, 其余 7 种的较少。只在大蹼铃蟾切片中观察到隔膜轴; 游离隔膜, 双团棘胸蛙最多, 其次为腺角蟾、大蹼铃蟾、中华蟾蜍、滇蛙、昭觉林蛙、斑腿泛树蛙、贡山树蛙, 华西雨蛙、饰纹姬蛙和多疣狭口蛙 3 种没有观察到游离隔膜; 隔膜上绒毛的发达程度与游离隔膜的发达程度相仿。

3 讨论

3.1 皮肤结构特点与环境的适应

皮肤角质层可以帮助两栖类减少体内水分散失和减少机械损伤等, 皮肤角质层的发达与否反映着物种的陆栖与水栖习性 (曹燕等 2011)。本研究比较了无尾两栖类 11 个物种的皮肤显微结构, 中华蟾蜍背部表皮角质层最为发达, 有 3 层细胞, 多疣狭口蛙为 2 层细胞, 其余种类只有 1 层。中华蟾蜍能长时间离开水环境在草地等生境中捕食, 较发达的角质层可以减少体内水分的散失。多疣狭口蛙的主要分

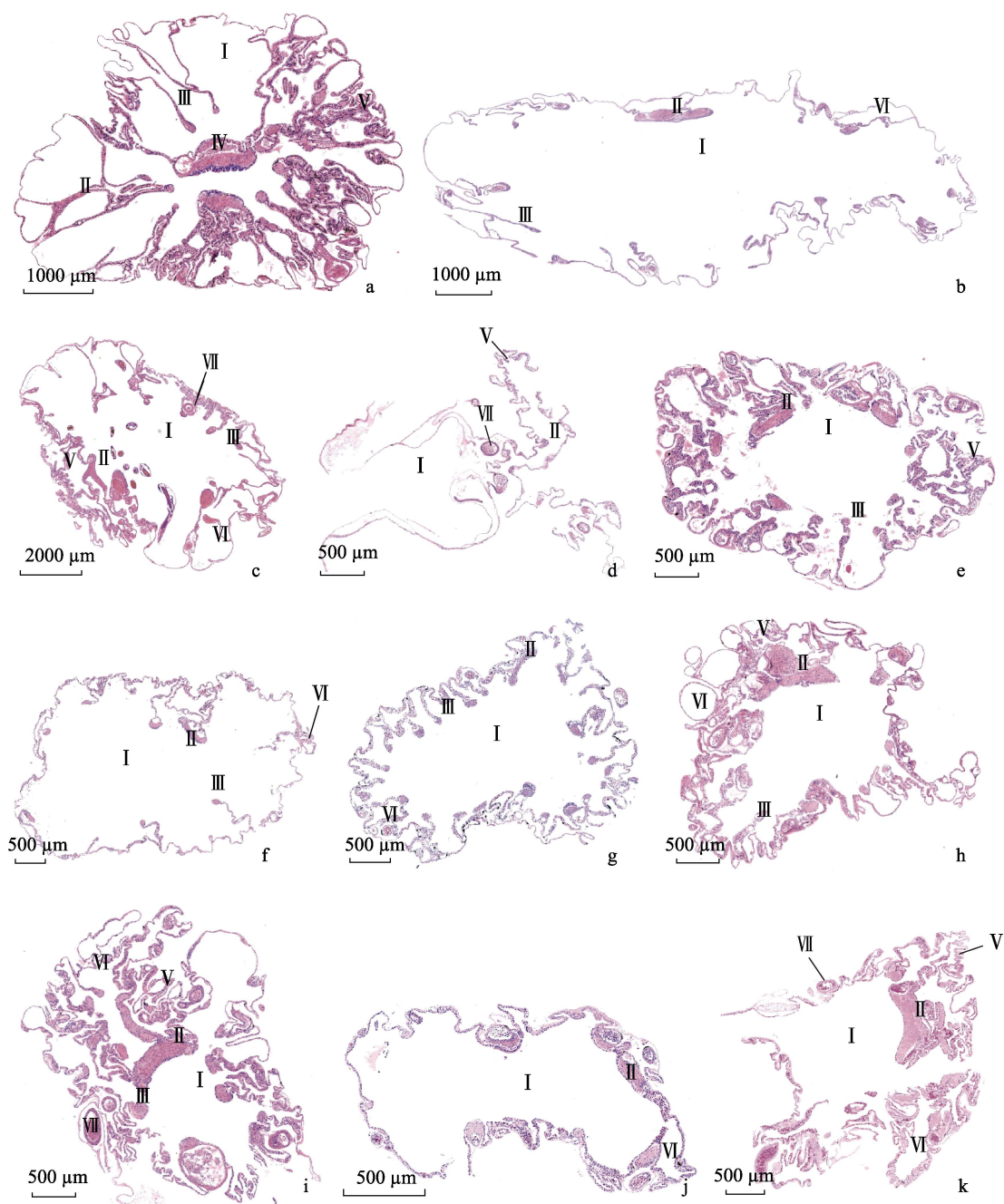


图3 肺部整体横切显微结构

Fig. 3 Microstructure of overall pulmonary transverse section

a. 大蹼铃蟾; b. 腺角蟾; c. 中华蟾蜍; d. 华西雨蛙; e. 昭觉林蛙; f. 滇蛙; g. 双团棘胸蛙; h. 贡山树蛙; i. 斑腿泛树蛙; j. 饰纹姬蛙; k. 多疣狭口蛙。

a. *Bombina maxima*; b. *Megophrys glandulosa*; c. *Bufo gargarizans*; d. *Hyla gongshanensis*; e. *Rana chaochiaoensis*; f. *Dianrana pleuraden*; g. *Gynandropaa yunnanensis*; h. *Rhacophorus gongshanensis*; i. *Polypedates megacephalus*; j. *Microhyla fissipes*; k. *Kaloula verrucosa*.

I. 大腔室; II. 结合隔膜; III. 游离隔膜; IV. 隔膜轴; V. 褶皱; VI. 小腔室; VII. 动脉。

I. The big chamber; II. Connective septum; III. Detached septum; IV. Central septum; V. Fold; VI. The little chamber; VII. Artery.

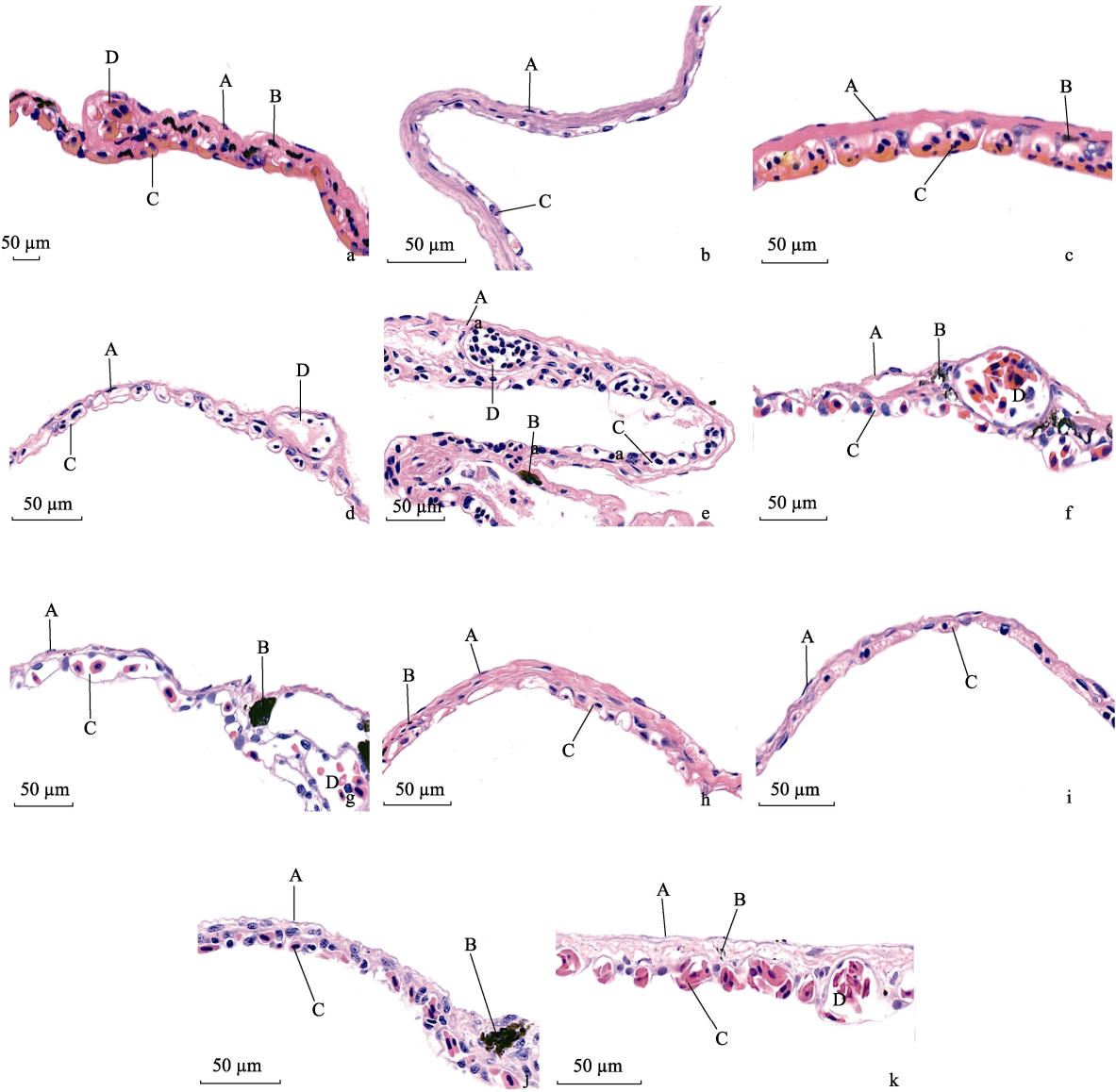


图 4 肺囊壁横切显微结构

Fig. 4 Microstructure of pulmonary wall transverse section

a. 大蹼铃蟾; b. 腺角蟾; c. 中华蟾蜍; d. 华西雨蛙; e. 昭觉林蛙; f. 滇蛙; g. 双团棘胸蛙; h. 贡山树蛙; i. 斑腿泛树蛙; j. 饰纹姬蛙; k. 多疣狭口蛙。
a. *Bombina maxima*; b. *Megophrys glandulosa*; c. *Bufo gargarizans*; d. *Hyla gongshanensis*; e. *Rana chaochiaoensis*; f. *Dianrana pleuraden*; g. *Gynandropaa yunnanensis*; h. *Rhacophorus gongshanensis*; i. *Polypedates megacephalus*; j. *Microhyla fissipes*; k. *Kaloula verrucosa*.
A. 胸膜层; B. 色素细胞; C. 毛细血管; D. 血管。A. Pleural layer; B. Pigment cells; C. Blood capillary; D. Blood vessels.

布区在云贵高原中心地带，这一区域典型的气候特征是干湿季分明，在 11 月至次年 6 月雨季到来前，多疣狭口蛙一般隐藏于地下的洞中。虽然洞中有一定的湿度，但较厚的角质层可以

在旱季时为其减少水分散失。角质层的厚度反映无尾两栖类动物对陆生环境的适应能力（李洋等 2009，曹燕等 2011），从本研究看出角质层厚度与其所在分类单元联系不紧密。颗粒层

表 4 11 种无尾两栖类肺显微结构特征

Table 4 Microstructure characteristics of lung of 11 Anurans

种 Species	肺囊壁 Pulmonary wall				隔膜 Septum	
	胸膜层 Pleural layer	中间层 Interlayer		内层 Subcoat	隔膜轴 Central septum	游离隔膜 Detached septum
	扁平上皮 细胞 (层) Flat epithelial cells (layer)	结缔组织 Connective tissue	色素细胞 Pigment cells	细胞形态 Cell morphology		
大蹼铃蟾 <i>Bombina maxima</i>	1	疏松 Loose	有 Present	扁圆 Oblate	有 Present	10 - 12 有微绒毛 Microvilli
腺角蟾 <i>Megophrys glandulosa</i>	2	致密 Close	有 Present	椭圆 Ellipse	无 Absent	15 - 18 有微绒毛 Microvilli
中华蟾蜍 <i>Bufo gargarizans</i>	2	疏松 Loose	有 Present	圆形 Roundness	无 Absent	11 - 14 有长绒毛 Long fluff
华西雨蛙 <i>Hyla gongshanensis</i>	1	疏松 Loose	无 Absent	圆形 Roundness	无 Absent	无 Absent
昭觉林蛙 <i>Rana chaochiaoensis</i>	1	疏松 Loose	有 Present	椭圆 Ellipse	无 Absent	5 - 7 无绒毛 No fluff
滇蛙 <i>Dianrana pleuraden</i>	1	疏松 Loose	有 Present	圆形 Roundness	无 Absent	6 - 10 有短绒毛 Short fluff
双团棘胸蛙 <i>Nanorana phrynoides</i>	1	疏松 Loose	有 Present	圆形 Roundness	无 Absent	20 - 24 有绒毛 fluffy
贡山树蛙 <i>Rhacophorus gongshanensis</i>	1	致密 Close	有 Present	扁圆 Oblate	无 Absent	5 - 8 无绒毛 No fluff
斑腿泛树蛙 <i>Polypedates megacephalus</i>	1	致密 Close	有 Present	椭圆 Ellipse	无 Absent	5 - 8 无绒毛 No fluff
饰纹姬蛙 <i>Microhyla fissipes</i>	1	疏松 Loose	有 Present	圆形 Roundness	无 Absent	无 Absent
多疣狭口蛙 <i>Kaloula verrucosa</i>	1	疏松 Loose	有 Present	圆形 Roundness	无 Absent	无 Absent

可以有效阻止外界物质通过表皮，形成主要屏障 (Gomes et al. 2007)。大蹼铃蟾表皮颗粒层数较其他 10 种多，在采集时发现大蹼铃蟾生活在腐败物较多的浑水中；颗粒层较少的种类如双团棘胸蛙生活于水流清澈的溪流中。

色素细胞主要分布于真皮疏松层的上层，滇蛙、双团棘胸蛙和中华蟾蜍的表皮结构中都存在少量色素细胞。在光照、温度、紫外线或人为干扰的影响下，色素细胞可以通过形态变化引起体色改变，在皮肤表面形成保护色或警戒色 (Hunsaker et al. 1959)。对比切片结果发现，11 个物种的背侧皮肤色素细胞比腹侧更为发达且密集，其中昭觉林蛙、大蹼铃蟾和中华蟾蜍的皮下色素细胞形态相似，均为独立的团状；色素细胞在大蹼铃蟾和中华蟾蜍背、腹部

皮肤都有分布，昭觉林蛙仅在背侧皮肤存在。昭觉林蛙和中华蟾蜍的色素细胞仅分布在疏松层上层，而其余 9 个物种的色素细胞除了在疏松层上层有分布，还在颗粒腺、黏液腺的左右和真皮下的血管附近都有分布。这种色素细胞发达的现象，有利于它们从外界环境中吸收热量，根据环境温度调节体温 (王丽等 2010)。黑色素还能够有效减少紫外线对机体的伤害，这在人类皮肤上的研究较多 (Kaidbey et al. 1979)，紫外辐射会导致两栖动物的胚胎畸形，生活在高原地区的大蹼铃蟾、腺角蟾、华西雨蛙和贡山树蛙皮肤内色素细胞发达是对强紫外线辐射生活的适应。

皮肤腺体由分泌部和导管组成，能增加皮肤的厚度，根据分泌物性质分为黏液腺和颗粒

腺（刘满樱等 2007）。黏液腺分泌黏液保持皮肤湿润，颗粒腺分泌毒液起到防御作用（徐强等 2002，李洋等 2009）。观察发现，昭觉林蛙背侧皮肤腺体的形态与其他种不同，腺体扁平似贴合在一起没有空隙；中华蟾蜍背部和腹部皮肤都有较大而明显的颗粒腺，内部有细小颗粒，腺体密度比其他 10 种低；大蹼铃蟾背侧皮肤有大颗粒腺，腹侧皮肤的黏液腺和颗粒腺分布比较均匀；多疣狭口蛙的皮肤腺体最为特殊，不仅与其他 6 个科的物种差异很大，与同科的饰纹姬蛙的皮肤腺体在形态和结构上都有不同。

华西雨蛙、贡山树蛙和昭觉林蛙的腹部皮肤未发现钙化层的存在，其余 8 种的皮肤中都含有钙化层。钙化层有两种存在形式，一种是条带状，另一种是团状均分布在疏松层与致密层之间。大蹼铃蟾的钙化层为团状，其余 7 种的钙化层多为连续的条带状分布，有些在纤维束处断开。皮肤内的钙化层属于皮肤内骨骼，钙化层可能是对干旱条件的适应（曹燕等 2011）。在冬眠期钙化层多连续，以防止体内水分的散失，活跃期多不连续，依靠自身来进行水分调节。

3.2 呼吸器官结构与进化的关系

肺的形成和强化是陆生动物的巨大适应性进化，相比皮肤或其他呼吸器官有更高的呼吸效率，但多数两栖动物仍需要保持皮肤的湿润来辅助呼吸。无尾两栖类的肺部和皮肤都有呼吸功能，在本研究中，肺较发达的物种，其皮肤结构中黏液腺不发达；肺结构简单的，则皮肤黏液腺发达。大蹼铃蟾为无尾目的原始类群（张云 2006），但其肺部结构反而最复杂，其背侧皮肤结构较简单，仅有起防御作用的颗粒腺。观察肺显微切片发现，对比其他 10 个物种，大蹼铃蟾肺部结构最复杂，出现了由平滑肌纤维、弹性纤维和血管组成的隔膜轴，将肺分为两个大腔室，游离隔膜长且向中部靠拢形成半封闭腔，肺囊壁与结合隔膜形成众多褶皱，较大程度增加了肺内表面积，利于气体交换，这可能是其对分布海拔高和云南高原干湿分明气

候的适应。中华蟾蜍肺部复杂程度小于大蹼铃蟾，腺角蟾和华西雨蛙的肺部结构没有中华蟾蜍的复杂，前二者皮肤结构中有丰富的黏液腺，而中华蟾蜍则是颗粒腺发达。双团棘胸蛙、腺角蟾和滇蛙肺部游离隔膜较多但都很短，腔体中空面积大，边缘没有形成褶皱。华西雨蛙、饰纹姬蛙和多疣狭口蛙肺部均无游离隔膜，但后两者的肺形成小腔室增大了呼吸面积。昭觉林蛙、贡山树蛙和斑腿泛树蛙肺部游离隔膜较少，但结合隔膜与肺囊壁形成较多褶皱和小腔室，使中部空腔面积明显缩小，其中昭觉林蛙肺部边缘均匀增厚，后两者一端增厚明显。从细胞组成来看，11 个物种的肺囊壁结构相似，均有 3 层，细胞的形态在种间差异不大，多为圆形和椭圆形。两种树蛙和大蹼铃蟾肺囊壁中间层为致密结缔组织，其余种为疏松组织且形态较为相似。饰纹姬蛙和多疣狭口蛙同属姬蛙科，但后者肺部有褶皱加厚现象，使得肺的内部表面积增大，皮肤内颗粒腺多，而前者肺部仅为薄层囊壁，中空部分大，皮肤黏液腺多；双团棘胸蛙肺内众多的游离隔膜也同样增加了肺内表面积，其皮肤中的黏液腺趋于减少；昭觉林蛙和滇蛙的情况与姬蛙科两种相似，前者肺壁褶皱加厚，后者没有这种现象。

这 11 个物种中多生活在陆地上的个体肺较发达，表现在肺壁褶皱加厚，腔室数量增多，游离隔膜数量增加；肺结构较简单的物种通过发达的黏液腺使皮肤保持湿润利于呼吸；皮肤与肺部的组织形态学特征表现出与生物所处环境的适应性关系较强。

参 考 文 献

- Blaylock L A, Platt-Aloia R K. 1976. Skin structure and wiping behavior of *Phyllomedusine* Frogs. *Copeia*, (2): 283–295.
- Burggren W W, Feder M E. 1986. Effect of experimental ventilation of the skin on cutaneous gas exchange in the bullfrog. *Journal of Experimental Biology*, 121(121): 445–449.
- Dapson R W. 1970. Histochemistry of mucus in the skin of the frog, *Rana pipiens*. *Anatomical Record*, 166(4): 615–625.

- Gomes A, Giri B, Saha A, et al. 2007. Bioactive molecules from amphibian skin: Their biological activities with reference to therapeutic potentials for possible drug development. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45(7): 579–593.
- Hunsaker D, Johnson C. 1959. Internal Pigmentation and Ultraviolet Transmission of the Integument in Amphibians and Reptiles. *Copeia*, (4): 311–315.
- Kaidbey K H, Agin P P, Sayre R M, et al. 1979. Photoprotection by melanina a comparison of black and Caucasian skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1(3): 249–260.
- Maina J N. 1989. The morphology of the lung of the East African tree frog *Chiromantis petersi* with observations on the skin and the buccal cavity as secondary gas exchange organs: A TEM and SEM study. *Journal of Anatomy*, 165(4): 29–43.
- Toledo R C, Jared C. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 111(1): 1–29.
- 曹燕, 谢锋, 江建平. 2011. 齿突蟾属四个物种皮肤的组织学观察. *四川动物*, 30(2): 214–219.
- 李蓓, 邹立扣, 王朋, 等. 2012. 大凉疣螈形态学观察及消化、呼吸系统解剖. *四川农业大学学报*, 30(1): 98–102.
- 李明会, 李伟, 周伟, 等. 2006. 三种蛙类呼吸系统比较解剖及进化关系探讨. *四川动物*, 25(2): 223–227.
- 李洋, 金磊, 李昌春, 等. 2009. 黑斑蛙、虎纹蛙和牛蛙皮肤的比较组织学. *安徽师范大学学报*, 32(5): 466–470.
- 刘炯宇, 江建平, 谢锋, 等. 2004. 两栖动物皮肤结构及皮肤抗菌肽. *动物学杂志*, 39(1): 112–116.
- 刘满樱, 肖向红, 徐佳佳, 等. 2007. 东北林蛙皮肤及其腺体组织形态学观察. *野生动物*, 28(4): 6–9.
- 王丽, 徐珂, 李晏宇, 等. 2010. 金线侧褶蛙和黑斑侧褶蛙皮肤显微结构. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 38(6): 116–120.
- 吴文英, 李丕鹏, 陆宇燕, 等. 2011. 黑龙江林蛙繁殖期两性皮肤组织结构的差异比较. *野生动物*, 32(3): 141–145.
- 谢文海, 周善义, 李桂芬. 2007. 我国两栖类呼吸系统研究概述. *玉林师范学院学报: 自然科学*, 28(5): 96–99.
- 徐强, 华跃进, 徐步进, 等. 2002. 蛙类皮肤分泌物中的抗菌肽和抗癌肽. *动物学杂志*, 37(2): 73–76.
- 张云. 2006. 两栖类动物皮肤分泌物及其生物学适应意义——大蹼铃蟾皮肤分泌物蛋白质多肽组的启示. *动物学研究*, 27(1): 101–112.