

帕米尔漠蟾蜍皮肤、肾和肝的组织结构

燕鹏^{①②} 江建平^② 石胜超^② 董丙君^{①*} 张美华^{②*}

① 沈阳师范大学生命科学学院 沈阳 110034; ② 中国科学院成都生物研究所 成都 610041

摘要: 为探究帕米尔漠蟾蜍 (*Bufo taxkorensis*) 对高原环境的适应特征, 观察了其皮肤、肾和肝的组织结构, 并对躯干和胫部的皮肤总厚度、表皮层厚度、真皮层厚度和相对腺体数量, 肾的肾小球密度、肾相对总滤过面积、远端小管和近端小管的相对管径在 SPSS 25.0 中做了独立样本 *t* 检验分析。结果显示: (1) 帕米尔漠蟾蜍皮肤粗糙, 布满皱褶, 由表皮和真皮组成。皮肤厚度存在部位和性别差异。雌雄性躯干和胫部的皮肤总厚度及真皮层厚度均背部显著大于腹部。雌雄性躯干的表皮层为背部显著小于腹部。雄性胫背部表皮层厚度显著大于腹部, 而雌性胫背部表皮层厚度差异不显著。黏液腺分布于体背和体腹的真皮疏松层, 颗粒腺主要分布于体背真皮疏松层。色素呈不规则网状分布于疏松层, 背部较腹部多, 部分黏液腺和颗粒腺被不连续的色素层包绕。真皮层中存在大量毛细血管, 并可见部分毛细血管突入表皮。帕米尔漠蟾蜍的皮肤组织结构体现了对干燥、低温、强紫外线辐射和低氧生活环境的适应, 与同样生活在高原环境中的多数无尾两栖类相似。(2) 肾呈饱满长条状。肾小体主要分布于肾中央, 部分肾小体中肾小球较小, 鲍曼囊较宽阔。肾远端小管数量多于近端小管。管周毛细血管分布密集。帕米尔漠蟾蜍肾的总相对滤过面积介于陆栖与水栖无尾两栖类之间, 且其肾组织结构体现了对干燥和盐碱环境的适应。(3) 肝内结缔组织较少, 相邻肝小叶之间界限不清。肝细胞中可见明显的空泡或间隙, 细胞核大多位于细胞一侧。肝实质中存在大量黑色素团块。帕米尔漠蟾蜍的肝组织结构体现了对低温和低氧环境特征的适应。

关键词: 帕米尔漠蟾蜍; 皮肤; 肾; 肝; 组织结构; 环境适应

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2022) 02-256-13

Histological Structures of the Skin, Kidney and Liver of *Bufo taxkorensis*

YAN Peng^{①②} JIANG Jian-Ping^② SHI Sheng-Chao^② DONG Bing-Jun^{①*} ZHANG Mei-Hua^{②*}

① College of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034;

② Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: [Objectives] *Bufo taxkorensis* is endemic to China and mainly distributes in Pamirs Plateau at an

基金项目 第二次青藏高原综合科学考察研究项目 (No. 2019QZKK05010503), 辽宁省自然科学基金项目 (No. 2021-MS-241), 辽宁省教育厅一般项目 (No. LJC201901);

* 通讯作者, E-mail: zhangmh@cib.ac.cn, dongbingjun@synu.edu.cn;

第一作者介绍 燕鹏, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物学; E-mail: ypz8899@163.com。

收稿日期: 2021-05-17, 修回日期: 2021-12-04 DOI: 10.13859/j.cjz.202202011

altitude of 2 900 - 3 150 m. This species is one of the few anurans that can inhabit saline environments. To investigate the adaptive features of *B. taxkorensis* to the extreme environment, we conducted qualitative and quantitative analyses on the histological structures of its skin, kidney and liver. **[Methods]** Three males and three females of *B. taxkorensis* were used for study (Table 1). The histological structures of their skins, livers and kidneys were observed using paraffin and hematoxylin-eosin staining. The total thickness, epidermis thickness, dermis thickness and relative gland number of the trunk and tibia's skin, and the corpuscular density, relative filtration area of renal glomerulus, relative filtration area of kidney, relative diameter of proximal and distal tubules of the kidney were measured. The independent sample *t*-test was used to compare differences in these measurements utilizing software SPSS 25.0. **[Results]** (1) The skin, comprising of the epidermis and dermis, was rough and wrinkled (Fig. 1). Skin thickness varied considerably in different regions of the body (Table 2). Both sexes displayed thicker total thickness and dermis thickness in the dorsal truncal and tibial regions than in the ventral truncal and tibial regions ($P < 0.05$). Both sexes displayed thinner epidermis thickness in the dorsal truncal region than in the ventral truncal regions ($P < 0.05$). The epidermis of the tibial region was significantly thicker dorsally than ventrally in males ($P < 0.05$), while the epidermis thicknesses were not significantly different between the dorsal and ventral tibial region in females ($P > 0.05$). The mucous glands and granular glands distributed in stratum spongiosum, with the former in dorsal-ventral skin and the latter in dorsal skin (Fig. 1). Chromatophores were found in the stratum spongiosum and presented in irregular web shape, which were richer dorsally than ventrally. Some skin glands were surrounded by discontinuous pigment layers (Fig. 1 e, m). There were rich capillary vessels in the dermis, and some of them protruded into the epidermis (Fig. 1 j, m, n). (2) The renal corpuscles mostly distributed centrally in kidney (Fig. 2). In some renal corpuscles, the glomeruli were smaller and the Bowman's capsule was broader (Fig. 2 b, e). The number of the distal tubules was more than that of the proximal tubules (Fig. 2 b, c, e, f). The peritubular capillaries densely distributed (Fig. 2). The relative diameter of proximal segment in male was significantly greater than that in female ($P < 0.05$), other measurements showed no significant differences between two sexes ($P > 0.05$) (Table 3). (3) There were no clear boundaries between adjacent hepatic lobules because of less connective tissues in the liver. The hepatocytes contained prominent vacuoles or spaces, with nuclei mostly on the side. The liver parenchyma contained numerous melanin masses (Fig. 3). **[Conclusion]** Our study indicates that the thicker epidermis, rich pigment cells and capillary vessels of *B. taxkorensis* make this species adapt to the strong ultraviolet radiation, low temperature and hypoxia of the Pamirs Plateau at high altitude. Its wider Bowman's capsule as well as the relative kidney filtration area between aquatic and terrestrial anurans present adaptations to the dry and saline habitat. Its liver contains plentiful pigment cells, which reflects adaptation to the low temperature of the living environment.

Key words: *Bufo taxkorensis*; Skin; Kidney; Liver; Histological structure; Environmental adaptations

环境对生物的选择和影响以及生物对环境变化的适应是进化生物学关注的核心问题 (Li et al. 2018, Yuan et al. 2020, Luo et al. 2021)。两栖动物是脊椎动物进化史上由水生向陆生转变的过渡类群, 也是最早适应陆地生活的脊椎

动物 (Reniers et al. 2015)。两栖动物包括蚓螈类、有尾类和无尾类, 其中, 无尾类具有较强的环境适应能力, 约占两栖动物物种总数的 88.2% (Frost 2021)。该类群从潮湿的热带雨林到沙漠, 从海平面到海拔 5 000 m 以上的融化

冰川和池塘中均有分布 (Seimon et al. 2007)。皮肤作为生物有机体与外界环境直接接触的第一道屏障, 具有机械保护、化学防御、呼吸、温度调节、水平衡等功能, 对无尾两栖类适应各种生境具有重要作用 (Toledo et al. 1995, 雷飞宙等 2012, Vanburen et al. 2019)。例如, 偏水栖无尾类的皮肤光滑且通透性高, 真皮层具有丰富的微血管, 有利于提高在水中的呼吸效率 (梁刚等 2004, 许双等 2020)。陆栖无尾类的皮肤粗糙, 角质化程度高, 具有较强的保水和机械防护能力 (Wang et al. 2020)。穴居无尾类的皮肤富含腺体, 其分泌物使体表更光滑, 便于在泥土中前进 (边树蕊 2012)。部分长期生活在洞穴的无尾类皮肤还会出现色素缺失 (透明化) 的情况 (Zhu et al. 2018)。树栖无尾类的皮肤表面有一层微绒毛, 并有黏液和脂质等皮肤腺体分泌物覆盖, 具有很强的抗蒸发能力 (Linsenmair et al. 1999, Vanburen et al. 2019)。

肾是无尾两栖类体内的主要排泄器官和渗透调节器官, 通过控制尿液的排出量来调控体内水、离子和葡萄糖浓度, 以应对外界环境不同渗透压的刺激 (Farias et al. 1999)。不同生境中, 无尾类肾的结构存在差异。陆栖性较强的无尾类肾小球表面积较大, 对血液中的水、无机盐和葡萄糖等物质的过滤能力更强, 而偏水栖的无尾两栖类肾小球表面积较小, 过滤能力相对较弱 (Balinsky et al. 1961, 贾迪等 2011)。此外, 陆栖性较强的无尾类肾小管具发达的质膜内褶和质膜内褶迷路, 这些结构极大地提高了肾对水分的重吸收效率, 从而提高了无尾两

栖类对干旱环境的适应能力 (潘鸿春等 2002)。肝是无尾两栖类体内的重要储能器官, 可将消化系统吸收的能量储存成糖原和脂肪, 为生命活动提供能量, 这在适应陆地的过程中发挥了重要作用 (Akiyoshi et al. 2012)。研究表明, 栖息地海拔越高, 无尾两栖类的肝体积越大 (Zhong et al. 2017)。

帕米尔漠蟾蜍 (*Bufo taxkorensis*) 为中国特有种, 隶属于两栖纲 (Amphibia) 无尾目 (Anura) 蟾蜍科 (Bufonidae) 漠蟾属, 模式产地位于新疆维吾尔自治区塔什库尔干县境内 (费梁等 2012, 江建平等 2020)。该物种生活于海拔 2 900 ~ 3 150 m 的帕米尔高原地区, 成体白天多隐蔽于土洞内、石块下或草丛中, 黄昏或夜间出来活动 (费梁等 2012)。迄今, 对帕米尔漠蟾蜍的研究主要集中于细胞分类学 (Betto-Colliard et al. 2018, Литвинчук et al. 2019) 和系统发育关系 (Stöck et al. 2006)。有关帕米尔漠蟾蜍较强的环境适应特征尚无研究报道。在此背景下, 本研究将对帕米尔漠蟾蜍的皮肤、肝和肾组织结构进行观察和量化分析, 以探讨该物种对高原极端环境的适应性特征。

1 材料与方法

1.1 材料

2020 年 10 月 12 和 13 日, 在新疆喀什地区塔什库尔干塔吉克自治县提孜那甫乡斯特古孜 (37°49'59" N, 75°13'48" E, 海拔 3 003 m) 采集帕米尔漠蟾蜍成体雌雄各 3 只。测量其头体长 (snout-vent length, SVL; 表 1), 然后使

表 1 标本信息

Table 1 Sample information

样本编号 Sample number	性别 Gender	头体长 Snout-vent length (mm)	发育程度 Development degree
QZ839	♀	59.25	成体 Adult
QZ842	♂	60.21	成体, 有婚垫 Adult having the nuptial pad
QZ843	♀	63.68	成体, 可见卵 Adult having visible eggs
QZ844	♂	61.80	成体, 有婚垫 Adult having the nuptial pad
QZ850	♀	61.58	成体, 可见卵 Adult having visible eggs
QZ851	♂	57.74	成体, 有婚垫 Adult having the nuptial pad

用 MS-222 溶液对其实施安乐死, 75%酒精溶液固定保存标本。此外, 使用温湿度仪 (HTC-1, 深圳市同力兴科技有限公司) 和便携式水质测量仪 (Orion, 美国赛默飞世尔科技公司) 测量并记录采集地的部分环境因子, 即气温 (17.2 °C)、空气相对湿度 (32%)、水温 (9.6 °C)、水体 pH (8.61) 和水体电导率 (177.3 mV)。

1.2 方法

分别取每个标本的躯干背部和腹部以及左侧肢的背部和腹部, 共 4 处皮肤组织, 取材大小为 1 cm × 1 cm。剖开体腔, 取双侧完整肾和部分肝。采用常规石蜡包埋法制作组织切片, 切片厚度 3 ~ 5 μm, 每隔 30 张切片选取 1 张, 随后进行组织学染色。皮肤组织采用 H.E 和 Masson 两种方法染色, 肝和肾采用 H.E 染色。每个部位的皮肤选取 10 张切片, 每个标本的肾选取横切和纵切切片各 5 张, 每个标本的肝选取 10 张切片。所有切片置于光学显微镜 (Optec B302, 重庆奥特光学仪器有限公司) 下观察并拍照。

此外, 每张皮肤切片均匀选取 5 个位点, 观察记录表皮层层数和角质层层数; 测量皮肤总厚度、表皮层厚度和真皮层厚度, 测量方法参照 Vanburen 等 (2019)。每个部位选取 3 张切片记录皮肤的相对腺体数量, 具体方法为测量皮肤切面长度 (μm), 计算该长度内黏液腺和颗粒腺个数, 然后换算成 1 mm 长的数量, 作为相对腺体数量 (米志平等 2016)。每个肾横切面中随机选取 5 个肾小球和肾小管, 测量并计算其肾小体密度、肾小球相对滤过面积、肾相对总滤过面积、近端小管相对管径和远端小管相对管径。以上各组数据的计算方法如下: 肾小体密度为肾小球个数与肾横切面积之比, 肾小球相对滤过面积为肾小球表面积占肾横切面积的百分比, 肾相对总滤过面积 = 100% (肾小球表面积 × 肾小球个数) / 肾横切面积, 近端小管相对管径 = 近端小管管径 / [(肾小球长径 + 肾小球短径) / 2], 远端小管相对管径 = 远端小管管径 / [(肾小球长径 + 肾小球短径) / 2]

(何一帆 2018)。使用 Image View 3.7 测量皮肤和肾组织以上指标。

使用 SPSS 25.0 进行统计分析, 统计分析前, 先用 Kolmogorov-Smirnov 检验数据是否符合正态分布, 独立样本 *t* 检验分析雌雄个体的皮肤和肾相应测量指标的差异性, 显著性的判断标准是 $P < 0.05$ 。所有数据均以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示。

2 结果

2.1 皮肤

帕米尔漠蟾蜍的皮肤表面粗糙, 皮肤背部分布大量疣粒。皮肤由表皮和真皮两部分构成, 其中, 表皮层含多层细胞, 真皮层含黏液腺和颗粒腺 (图 1)。

表皮为复层上皮, 由外向内分别为角质层、颗粒层、棘细胞层和生发层。角质层由 1 或 2 层扁平状死细胞构成, 角质化均匀, 细胞轮廓不清, 经 H.E 染色呈淡粉色。颗粒层由 2 或 3 层扁平的梭状细胞组成, 细胞排列与皮肤表面平行, 胞核呈梭形或椭圆形, 染色较浅, 细胞结构明显退化。棘细胞层由 1 或 2 层不规则多边形细胞构成, 细胞较大, 胞核呈较大的圆形或椭圆形, 核质浓缩, 核仁明显, 胞质丰富。生发层位于表皮最内层, 附着于基膜上, 细胞排列紧密, 通常由 1 层柱状或立方状细胞构成, 胞核大, 呈圆形, 染色深。此外, 帕米尔漠蟾蜍的表皮还存在色素细胞和突入表皮的毛细血管 (图 1j, m, n)。

真皮层位于表皮层下, 由外向内分别为疏松层和致密层。疏松层位于真皮浅层, 与表皮层的基膜相连, 交界处平滑, 不见明显真皮乳头结构 (图 1)。组成疏松层的主要结构为疏松结缔组织, 该层中的胶原纤维结构松散, 排列杂乱无规则。疏松层中含有丰富的腺体、神经末梢、毛细血管和色素细胞。色素细胞在真皮与表皮的交界处交织排列成层, H.E 染色后呈褐色斑块或较厚的网状层结构, 在皮肤腺体周围可见围绕腺体分布的色素细胞 (图 1e, m)。

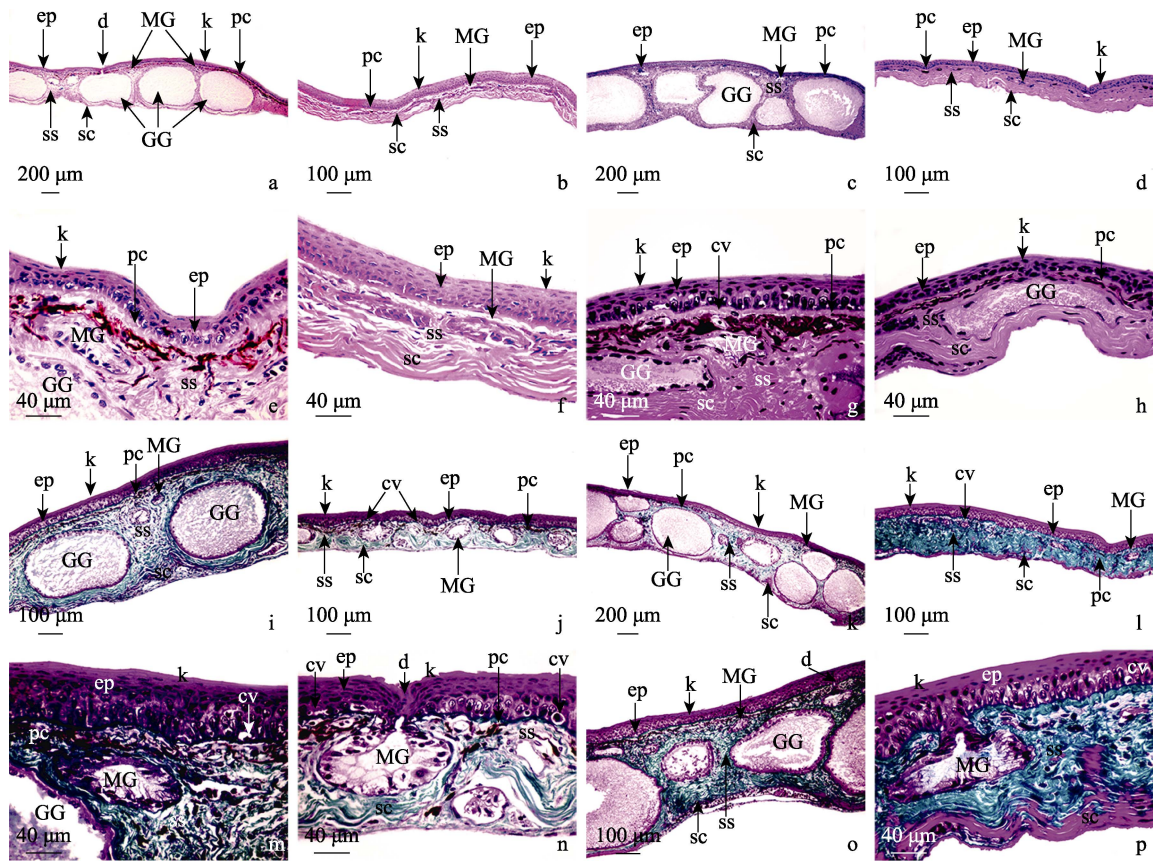


图 1 帕米尔漠蟾皮肤组织结构

Fig.1 The histological structure of skin in *Bufotes taxkorensis*

躯干背部皮肤: a. × 4, e. × 40, i. × 10, m. × 40; 躯干腹部皮肤 (雌雄差异展示): b. ♀, × 10, f. ♀, × 40, j. ♂, × 10, n. ♂, × 40; 胫背部皮肤: c. × 4, g. × 40, k. × 4, o. × 40; 胫腹部皮肤: d. × 10, h. × 40, l. × 10, p. × 40。a~h. H.E 染色; i~p. Masson 染色。

Dorsal skin of trunk: a. × 4, e. × 40, i. × 10, m. × 40; Ventral skin of trunk (differences between male and female): b. ♀, × 10, f. ♀, × 40, j. ♂, × 10, n. ♂, × 40; Dorsal skin of tibia: c. × 4, g. × 40, k. × 4, o. × 40; Ventral skin of tibia: d. × 10, h. × 40, l. × 10, p. × 40)。a - h. Hematoxylin-eosin staining; i - p. Masson staining.

cv. 毛细血管; d. 导管; ep. 表皮层; GG. 颗粒腺; k. 角质层; MG. 黏液腺; pc. 色素; sc. 真皮致密层; ss. 真皮疏松层

cv. Capillary vessel; d. Duct; ep. Epidermis; GG. Granular gland; k. Keratinized epidermal cell; MG. Mucous gland; pc. Pigment cell; sc. Stratum compactum; ss. Stratum spongiosum

致密层位于疏松层下面,与疏松层无明显分界。该层由粗大的胶原纤维束紧密排列而成,纤维束多呈波浪状,平行于皮肤表面,H.E 染色后较疏松层颜色深,Masson 染色后呈蓝绿色,纤维束之间可见梭状的成纤维细胞(图 1i~p)。

皮肤腺体位于真皮疏松层,包括黏液腺和颗粒腺,两者均为多细胞腺体,由分泌部和导管部组成。黏液腺在体背和体腹的真皮疏松层

均有分布且数量较多(表 2),较颗粒腺小,分泌细胞为柱状,胞核较小,呈圆形或椭圆形,位于细胞底部(图 1e, f, m, n)。雌性和雄性腹部皮肤中的黏液腺存在差异,雄性黏液腺的腺腔明显,雌性的则难以辨认(图 1b, f, g, n)。颗粒腺主要分布于背部皮肤(表 2),腺体较大,分泌细胞和胞核均为梭状,腺腔中充满嗜酸性分泌颗粒(图 1a, c, i, o)。

表 2 帕米尔漠蟾蜍各部位皮肤厚度及腺体数量比较

Table 2 Comparisons of skin thickness and gland numbers in different parts of *Bufo taxkorensis*

	性别 Gender	躯干 Trunk (<i>n</i> = 60)		胫 Gaskin (<i>n</i> = 60)	
		背部 Dorsal	腹部 Ventral	背部 Dorsal	腹部 Ventral
皮肤总厚度 (mm) Total thickness	♂	260.77 ± 96.56 ^c	219.16 ± 46.59 ^{ad}	325.93 ± 91.39 ^{ac}	99.20 ± 29.09 ^{ad}
	♀	270.11 ± 102.51 ^c	140.56 ± 28.76 ^{bd}	477.60 ± 159.64 ^{bc}	149.80 ± 46.74 ^{bd}
角质层层数 Number of cuticle	♂	1~2	1~2	1~2	1~2
	♀	1~2	1~2	1~2	1~2
表皮层层数 Number of epidermal layers	♂	4~8	6~10	4~7	5~8
	♀	4~7	6~10	4~7	5~7
表皮层厚度 (μm) Epidermis thickness	♂	35.35 ± 8.09 ^{ac}	63.68 ± 15.29 ^{ad}	37.62 ± 8.46 ^c	30.41 ± 6.81 ^{ad}
	♀	39.08 ± 12.05 ^{bc}	51.10 ± 9.72 ^{bd}	38.71 ± 12.69	38.72 ± 12.13 ^b
真皮层厚度 (μm) Dermis thickness	♂	225.42 ± 96.35 ^c	155.50 ± 40.33 ^{ad}	288.31 ± 91.64 ^{ac}	68.78 ± 26.12 ^{ad}
	♀	226.03 ± 98.91 ^c	89.36 ± 23.47 ^{bd}	438.89 ± 152.96 ^{bc}	111.07 ± 39.14 ^{bd}
黏液腺 (个/mm) Mucous gland	♂	1.06 ± 0.17	1.28 ± 0.60	1.43 ± 0.26 ^c	0.86 ± 0.32 ^{ad}
	♀	1.03 ± 0.35	1.13 ± 0.49	1.33 ± 0.40	1.34 ± 0.40 ^b
颗粒腺 (个/mm) Granular glands	♂	0.76 ± 0.37 ^c	0.23 ± 0.40 ^d	1.58 ± 0.34 ^c	0.14 ± 0.05 ^{ad}
	♀	0.73 ± 0.17 ^c	0.22 ± 0.20 ^d	1.49 ± 0.41 ^d	0.51 ± 0.21 ^{bd}

数据上标注的字母 a 和 b 表示相同部位雌雄间差异显著 ($P < 0.05$), c 和 d 表示个体相同部位背腹部之间差异显著 ($P < 0.05$), *n* 为观察皮肤切片的数量。

a and b indicate that there are significant differences between the same parts of the males and females ($P < 0.05$), c and d indicate significant differences between dorsal and ventral parts of the individuals ($P < 0.05$), "n" is the number of the observed skin sections.

皮肤厚度存在部位和性别差异。雌雄个体的躯干皮肤总厚度为背部显著大于腹部(雌性, $t = -13.627$, $P < 0.01$; 雄性, $t = -4.808$, $P < 0.01$), 表皮层厚度为腹部显著大于背部(雌性, $t = 9.551$, $P < 0.01$; 雄性, $t = 20.001$, $P < 0.01$), 真皮层厚度为背部显著大于腹部(雌性, $t = -15.713$, $P < 0.01$; 雄性, $t = -8.253$, $P < 0.01$)。躯干背部的皮肤总厚度雌雄差异不显著 ($t = 0.057$, $P > 0.05$), 但躯干腹部的皮肤总厚度为雄性显著大于雌性 ($t = 17.586$, $P < 0.01$)。躯干背部的表皮层厚度为雄性显著小于雌性 ($t = -3.119$, $P < 0.05$), 但腹部的表皮层厚度雄性显著大于雌性 ($t = 8.427$, $P < 0.01$)。躯干背部皮肤的真皮层厚度雌雄差异不显著 ($t = 0.386$, $P > 0.05$), 但腹部皮肤的真皮层厚度为雄性显著大于雌性 ($t = 17.361$, $P < 0.01$)。

雌雄个体的胫部皮肤总厚度背部显著大于

腹部(雌性, $t = 24.354$, $P < 0.01$; 雄性, $t = 28.981$, $P < 0.01$), 真皮层厚度背部显著大于腹部(雌性, $t = 25.444$, $P < 0.01$; 雄性, $t = 28.195$, $P < 0.01$)。雄性表皮层厚度背部显著大于腹部 ($t = 8.166$, $P < 0.01$), 但雌性的背腹部差异不显著 ($t = -0.010$, $P > 0.05$)。胫背部和腹部的皮肤总厚度均为雌性显著大于雄性(背部, $t = -10.097$, $P < 0.01$; 腹部, $t = -11.373$, $P < 0.01$)。胫背部皮肤的表皮层厚度雌雄差异不显著 ($t = -0.881$, $P > 0.05$), 但胫腹部的表皮层厚度雌性显著大于雄性 ($t = -7.384$, $P < 0.01$)。胫背部和腹部的真皮层厚度均为雌性显著大于雄性(背部, $t = -10.342$, $P < 0.01$; 腹部, $t = -11.048$, $P < 0.01$) (表 2)。

相对腺体数量也存在部位和性别差异。雌雄个体躯干背部与腹部皮肤的相对黏液腺数量差异不显著(雌性 $t = 0.052$, $P > 0.05$; 雄性 $t =$

1.075, $P > 0.05$), 躯干背部和腹部的相对黏液腺数量两性间差异均不显著 (背部 $t = 0.171$, $P > 0.05$; 腹部 $t = 0.564$, $P > 0.05$)。雄性胫背部的相对黏液腺数量显著大于腹部 ($t = 4.170$, $P < 0.01$), 雌性胫背部与腹部的相对黏液腺数量差异不显著 ($t = -0.059$, $P > 0.05$)。胫背部皮肤的相对黏液腺数量雌雄差异不显著 ($t = 0.632$, $P > 0.05$), 胫腹部皮肤的相对黏液腺数量为雄性显著小于雌性 ($t = -2.820$, $P < 0.05$)。躯干皮肤的相对颗粒腺数量背部显著大于腹部 (雌性, $t = -7.487$, $P < 0.05$; 雄性, $t = -3.742$, $P < 0.05$), 胫部皮肤的相对颗粒腺数量为背部显著大于腹部 (雌性, $t = 6.367$, $P < 0.05$; 雄性, $t = 12.300$, $P < 0.01$)。躯干背部和腹部、胫背部的相对颗粒腺数量雌雄差异均不显著 (躯体背部, $t = 0.164$, $P > 0.05$; 躯体腹部, $t = 0.146$, $P > 0.05$; 胫背部, $t = 0.632$, $P > 0.05$),

但胫腹部的相对颗粒腺数量雄性显著小于雌性 ($t = -5.107$, $P < 0.01$) (表 2)。

2.2 肾

帕米尔漠蟾肾发达, 呈饱满的长条状, 肾长度约为头体长的 25%~30%, 宽度约为头体长的 5%~8% (表 3)。

帕米尔漠蟾的肾实质主要由肾小体、肾小管和管周毛细血管组成, 还可见少量的结缔组织和淋巴细胞聚集形成的淋巴髓样组织 (图 2)。血管球是一团蟠曲的毛细血管簇, 在毛细血管管腔中可见椭圆形的血细胞。肾小囊由脏层和壁层两层细胞构成, 两层细胞间形成的肾小囊腔清晰可见 (图 2a, b, d, e)。

光学显微镜下可观察到肾小管由近端小管、间段和远端小管构成。近端小管管壁由单层立方细胞构成, 细胞界限模糊, 胞质强嗜酸性, 细胞核位于细胞底部, 管腔难以辨认。间

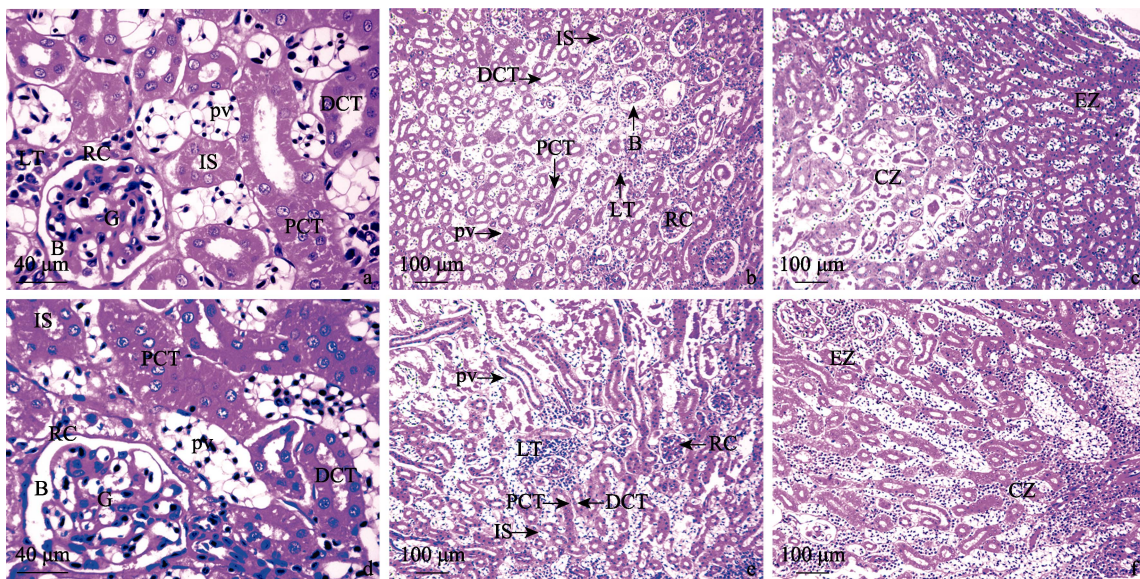


图 2 帕米尔漠蟾肾组织结构

Fig. 2 The histological structure of kidney in *Bufotes taxkorensis*

肾纵切面: a. $\times 40$, b. $\times 10$, c. $\times 10$; 肾横切面: d. $\times 40$, e. $\times 10$, f. $\times 10$ 。

Longitudinal section of the kidney: a. $\times 40$, b. $\times 10$, c. $\times 10$; Transverse section of the kidney: d. $\times 40$, e. $\times 10$, f. $\times 10$ 。

B. 鲍曼囊; CZ. 中央区域; DCT. 远端小管; EZ. 外周区域; G. 肾小球; IS. 间段; LT. 淋巴髓样组织; PCT. 近端小管; pv. 管周毛细血管; RC. 肾小体

B. Bowman's capsule; CZ. Central zone; DCT. Distal convoluted tubule; EZ. External zone; G. Glomerulus; IS. Intermediate segment; LT. Lymphomyeloid tissue; PCT. Proximal convoluted tubule; pv. Peritubular vessel; RC. Renal corpuscle

段连接近端小管和远端小管, 管壁由单层扁平细胞构成, 管腔狭窄。远端小管管壁由单层立方上皮细胞构成, 胞核较大, 近腔面, 胞质染色较浅, 弱嗜酸性, 管腔较大且清晰可见 (图 2a, b, d, e)。

帕米尔漠蟾蜍的肾小体多聚集分布于肾中央区域, 在边缘区域零散分布且数量较少。肾小管均匀分布在肾实质中, 近端小管多分布于肾外周, 远端小管多分布于肾中央 (图 2c, f)。管周毛细血管数量密集, 极为发达, 穿插分布于肾小球和肾小管之间, 在部分区域可见发达的血管将肾小管挤压至变形 (图 2)。

肾小体密度 ($t = -2.072, P > 0.05$)、肾小球相对滤过面积 ($t = -0.194, P > 0.05$)、肾相对总滤过面积 ($t = -1.358, P > 0.05$) 和远端小管相对管径 ($t = -1.609, P > 0.05$) 雌雄间差异均不显著, 但雄性的近端小管相对管径显著大于雌性 ($t = 3.035, P < 0.05$) (表 3)。

2.3 肝

帕米尔漠蟾蜍的肝呈棕褐色, 分 5 叶, 腹腔左侧 2 叶较大, 右侧 3 叶较小, 占据约 1/3 的腹腔。整个肝被一层浆膜覆盖, 其上可见呈树枝状分布的血管和针尖状的黑色素小点。

肝中结缔组织较少, 相邻肝小叶之间界限模糊, 常连成一片, 不能辨认出明显的肝小叶 (图 3)。肝小叶由肝细胞和肝窦毛细血管网络

组成, 在肝实质中形成肝细胞-肝窦结构。肝细胞数量多, 体积大, 胞核大且圆, 大部分位于细胞的一侧, H.E 染色呈深蓝, 核仁清晰可见, 胞质嗜酸性, 存在大量空泡。肝细胞的排列方式有两种, 一种是肝细胞聚集成簇状, 且各细胞簇之间相互连接形成网状结构, 排布在中央静脉附近 (图 3a, b); 第二种是肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列形成由双层细胞构成的细胞索结构, 即肝板 (图 3c, d)。肝血窦呈囊状或管状, 是相邻肝板或肝细胞团之间的腔隙, 是一种特殊的毛细血管。帕米尔漠蟾蜍的肝血窦在肝细胞成团分布的区域不易辨认, 在肝细胞索区域狭长且清晰。血窦中可见血细胞。窦壁的内皮细胞扁平且较薄, 细胞间连接松散, 肝巨噬细胞附着于其上, 肝巨噬细胞又称枯否氏细胞 (Kupffer cell), 细胞体积较大, 形状不规则。中央静脉一般位于肝小叶中央, 管壁较薄, 管腔内可见血细胞 (图 3a ~ d)。

门管区位于相邻小叶的交界处, 是一块三角形或椭圆形的结缔组织区域, 主要由小叶间静脉、小叶间动脉和小叶间胆管三种管道分支分布其中 (图 3e)。小叶间静脉管腔较大且不规则, 管壁较薄; 小叶间动脉管腔小, 管壁厚; 小叶间胆管为单层立方上皮细胞, 细胞核较大, 呈圆形或椭圆形 (图 3f)。

表 3 帕米尔漠蟾蜍肾测量数据

Table 3 Measurements of kidney in *Bufo taxkorensis*

	性别 Gender	
	♂ (n = 30)	♀ (n = 30)
肾长 Kidney length (mm)	15.77 ~ 17.98	14.24 ~ 21.06
肾宽 Kidney width (mm)	3.27 ~ 4.91	3.40 ~ 4.36
肾小体密度 Kidney corpuscular density (个/mm ²)	1.55 ± 0.26	2.15 ± 0.83
肾小球相对滤过面积 Relative filtration area of renal glomerulus (%)	0.46 ± 0.15	0.47 ± 0.19
肾相对总滤过面积 Relative filtration area of kidneys (%)	4.30 ± 1.09	4.65 ± 1.37
近端小管相对管径 Relative diameter of proximal segment	1.82 ± 0.39*	1.66 ± 0.52
远端小管相对管径 Relative diameter of distal segment	0.78 ± 0.10	0.79 ± 0.18

* 表示雌雄存在显著性差异, $P < 0.05$; n 为观察肾切片的数量。

* means there is a significant difference between males and females ($P < 0.05$). "n" is the number of the observed kidney sections.

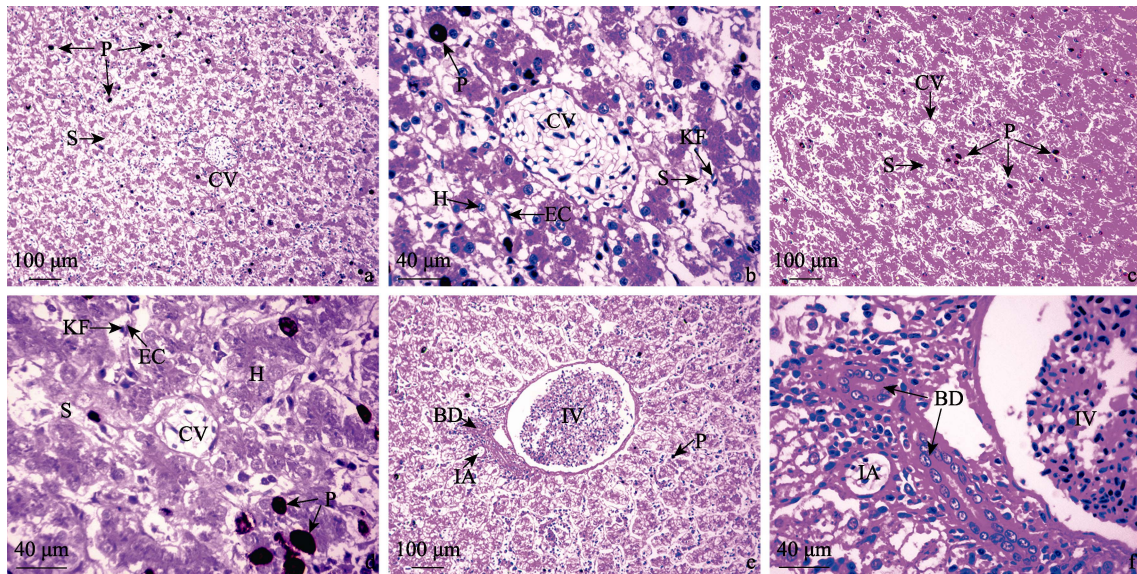


图 3 帕米尔漠蟾肝组织结构

Fig. 3 The histological structure of liver in *Bufotes taxkorensis*

簇状分布的肝细胞: a. $\times 10$, b. $\times 40$; 索状分布的肝细胞: c. $\times 10$, d. $\times 40$; 肝门管区: e. $\times 10$, f. $\times 40$ 。

Hepatocytes distributed in clusters: a. $\times 10$, b. $\times 40$; Hepatocytes distributed in cords: c. $\times 10$, d. $\times 40$; Portal area of liver: e. $\times 10$, f. $\times 40$ 。

BD. 小叶间胆管; CV. 中央静脉; EC. 内皮细胞; H. 肝细胞; IA. 小叶间动脉; IV. 小叶间静脉; KF. 枯否氏细胞; P. 色素; S. 肝血窦
BD. Interlobular bile duct; CV. Central vein; EC. Endothelial cell; H. Hepatocyte; IA. Interlobular artery; IV. Interlobular vein; KF. Kupffer cell; P. pigment; S. Sinusoid

3 讨论

3.1 皮肤对环境的适应特征

帕米尔漠蟾皮肤表面粗糙, 布满皱褶。躯干和四肢的背腹部表皮均有 1 或 2 层角质层, 疣粒处角质层更厚。腹部表皮层数 (6~10 层) 较背部 (4~8 层) 多。这些特征与同样生活在高海拔环境中的高原林蛙 (*Rana kukunoris*) (张涓泽等 2018)、昭觉林蛙 (*R. chaochiaoensis*) (林文达等 2008)、西藏齿突蟾 (*Scutigera boulengeri*) 和刺胸齿突蟾 (*S. mammatus*) (曹燕等 2011) 相似。粗糙且布满沟壑的皮肤可形成水通道, 通过毛细现象使体腹部所接触到的水分沿皮肤沟壑流动到体背部, 在远离水源的皮肤表面形成一层湿气膜, 以调节体温和应对外界干燥的环境 (Lillywhite et al. 1974)。皮肤表面的角质层可防止体内水分散失和保护机体

(Kosmala et al. 2020)。帕米尔漠蟾和西藏蟾 (*Bufo tibetanus*) (高凤娟等 2016) 的躯干腹部表皮层厚度大于背部, 这对于以爬行为主要运动方式的物种来说, 较厚的腹部表皮可有效保护腹部皮下组织不会因过度摩擦受损。帕米尔漠蟾的黏液腺分布全身皮肤中, 分泌的黏液有保湿和促进皮肤呼吸的作用, 这是陆栖性较强的无尾两栖类对于干旱环境的主要适应特征之一 (Lillywhite et al. 1975, Toledo et al. 1993)。相较于雌性, 雄性腹部黏液腺形态饱满, 腺腔明显, 结构组织清晰。这种差异可能与帕米尔漠蟾繁殖抱对行为有关, 抱对时雄性会长时间趴在雌性背部, 雄性腹部较多且发达的黏液腺可分泌更多黏液, 有助于防止从雌性背部掉落 (高凤娟等 2016)。颗粒腺主要分布于背部, 可产生有毒或趋避分泌物, 具防御和反捕食作用 (Toledo et al. 1995)。

帕米尔漠蟾蜍的表皮层和真皮层均有色素细胞分布，背部多于腹部。色素主要分布于真皮疏松层，表皮层和真皮致密层中较少。色素在真皮层中相互交织并紧密排列在疏松层上层，并可见色素分支延伸到腺体周围并包裹腺体，以防腺体受到强烈紫外线辐射损伤，这与生活在高原环境的西藏蟾蜍类似（高凤娟等 2016）。色素还可以从外界环境中吸收热量，满足自身新陈代谢的需要（米志平等 2016）。帕米尔漠蟾蜍的皮肤富含色素，这可能是对强紫外线辐射和低温生活环境的适应。此外，与生活在高海拔地区的高原林蛙（米志平等 2016）、刺胸齿突蟾和胸腺齿突蟾（*S. brevipes*）（曹燕等 2011）相似，帕米尔漠蟾蜍的表皮层内也有毛细血管分布。表皮层中的毛细血管更接近身体表面，可提高气体交换效率，这可能是对高海拔低氧环境的一种适应策略（Yang et al. 2019）。

3.2 肾对环境的适应特征

肾是两栖动物体内调节水分和离子平衡的重要器官（Seliverstova et al. 2018）。肾小体主要过滤血液中的水分和毒素，肾小球毛细血管内皮、基膜和肾小囊上皮形成的血尿屏障影响过滤效率。帕米尔漠蟾蜍肾的总相对滤过面积大于版纳大头蛙（*Limnonectes bannaensis*）和双团棘胸蛙（*R. yunnanensis*），小于中华蟾蜍（*B. gargarizans*）和黑眶蟾蜍（*B. melanostictus*）（何一帆 2018）。通过测量帕米尔漠蟾蜍样本采集地的环境因子，该地盐碱度较高（水体 pH 为 8.61，水体电导率为 177.3 mV），盐碱环境会使生物的肾小体过滤能力下降（Konno et al. 2006）。帕米尔漠蟾蜍的肾过滤能力处于偏水栖和偏陆栖物种之间，可能由于其偏陆栖的生活习性容易出现因失水而导致体内渗透压增高，发达的肾小体有助于将血液中过多的代谢废物排出体外以保证体内渗透压正常（何一帆 2018），但盐碱性微生境又倾向于降低肾小体的过滤能力来维持血液高渗状态以保持体内水分（Katz 1989），这可能是适应特定环境的一种权衡策

略。此外，帕米尔漠蟾蜍的部分肾小球较小，鲍曼囊较大，这与生活在盐碱环境中的海陆蛙（*Fejervarya cancrivora*，又称食蟹蛙）相似，较小的肾小球降低了肾的过滤能力，保证了血液的高渗状态以应对盐碱环境（Uchiyama et al. 1990）。

肾小管负责重吸收原尿中的水分和营养物质，由近端小管、间段和远端小管构成，各小管发挥的主要作用不同。近端小管可吸收原尿中的大部分水、葡萄糖和无机盐（杨大同 1991）；间段为连接近端小管和远端小管的过渡段；远端小管是离子交换的主要部位，几乎不吸收水分（顾焕斌 1998），该段上皮细胞基侧膜有较高的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性，该酶可促使细胞内外 Na^+ 和 K^+ 主动转运来调节尿液酸碱平衡（成令忠等 2003）。帕米尔漠蟾蜍肾长度达头体长的 1/3，从肾纵切面可见肾小管占据大部分区域，这说明帕米尔漠蟾蜍肾对原尿有较强的重吸收能力。此外，帕米尔漠蟾蜍远端小管占据的面积较近端小管多，表明肾小管远端小管较长，利于更充分吸收原尿中的离子。Uchiyama 等（1990）研究发现，当环境供水有限时，海陆蛙远端小管对离子的吸收能力有利于维持较高的血浆渗透性，防止体内水分过多流失。因此，我们推测帕米尔漠蟾蜍肾组织结构体现了对干燥和盐碱环境的适应。帕米尔漠蟾蜍雌雄性的肾无明显结构差异，仅雄性近端小管管径显著大于雌性，其余测量指标均表现为雌性略大于雄性，具体原因还需进一步研究。

3.3 肝对环境的适应特征

肝在无尾两栖类的储能方面发挥重要作用（Leão et al. 2021）。生活在寒冷地区的中国林蛙（*R. chensinensis*），栖息地温度越低，肝中储存的脂质和糖原越多（Jackson et al. 2010，Chen et al. 2011）。帕米尔漠蟾蜍的肝细胞分布密集，形态饱满，充满空泡和空隙，细胞核常位于细胞一侧。空泡和间隙是肝细胞中的糖原和脂质在组织切片制作过程中溶解消失所致，细胞核偏向一侧可能是被含量丰富的糖原和脂

肪挤压所致 (Vaissi et al. 2017)。帕米尔漠蟾蜍分布于海拔 3 003 m 的帕米尔高原, 栖息地温度较低, 肝储存更多的糖原和脂肪, 有利于提高低温环境中的生存能力。

帕米尔漠蟾蜍的肝具大量黑色素团块, 这与大凉疣螈 (*Tylotriton taliangensis*) (李蓓等 2013)、黄斑山地蝾螈 (*Neureergus microspilotus*) (Vaissi et al. 2017)、猫儿山小鲵 (*Hynobius maoershanensis*) (陈毓等 2020)、牛蛙 (*Lithobates catesbeianus*) (Seixas et al. 2017) 等大多数两栖动物类似。这些黑色素细胞也称单核巨噬细胞, 能够自主合成黑色素 (Scalia et al. 1988)。根据其定位和吞噬能力推测来源于枯否氏细胞 (Barni et al. 1999), 能够吸收和中和自由基及其他有毒聚合物 (Zapata et al. 1990)。Frangioni 等 (2000) 发现, 低氧条件下冠欧螈 (*Triturus carnifex*) 的肝黑色素含量明显增加, 这是由于低氧会强烈刺激络氨酸酶活性, 导致黑色素快速合成。Akai 等 (2017) 在斑点蝾螈 (*Salamandra infraimmaculata*) 的肝黑色素颗粒簇中检测到大量的糖原沉积, 认为这是一种非渗透性低温保护剂, 可防止水分低温下形成冰晶对细胞造成伤害。因此, 帕米尔漠蟾蜍肝中密集分布的黑色素可能是对低氧低温栖息环境的适应。

综上所述, 帕米尔漠蟾蜍的皮肤、肾和肝表现出了相应的环境适应性特征, 但是机体在适应高原极端恶劣环境的过程中, 这些器官间是否存在相互联动与协同, 还需进一步探究。

致谢 衷心感谢中国科学院成都生物研究所常利明和陈启恒在取样时给予的帮助, 感谢曾一唯在识别皮肤结构时给予的指导。

参 考 文 献

- Akat E, Arkan H. 2017. A histological study on liver of near eastern fire salamander, *Salamandra infraimmaculata* Martens, 1885 (Urodela: Salamandridae). *Acta Zoologica Bulgarica*, 69(3): 317–321.
- Akiyoshi H, Inoue A M. 2012. Comparative histological study of hepatic architecture in the three orders amphibian livers. *Comparative Hepatology*, 11(1): 1–8.
- Balinsky J B, Cragg M M, Baldwin E. 1961. The adaptation of amphibian waste nitrogen excretion to dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 3(4): 236–244.
- Barni S, Bertone V, Croce A C, et al. 1999. Increase in liver pigmentation during natural hibernation in some amphibians. *Journal of Anatomy*, 195(1): 19–25.
- Betto-Colliard C, Hofmann S, Sermier R, et al. 2018. Profound genetic divergence and asymmetric parental genome contributions as hallmarks of hybrid speciation in polyploid toads. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1872): 20172667.
- Chen W, Zhang L X, Lu X. 2011. Higher pre-hibernation energy storage in anurans from cold environments: a case study on a temperate frog *Rana chensinensis* along a broad latitudinal and altitudinal gradients. *Annales Zoologici Fennici*, 48(4): 214–220.
- Fariás A, Fiorito L E, Hermida G N. 1999. Structure of the *Bufo arenarum* kidney: Renal corpuscle, neck segment and proximal tubule. *Biocell*, 22(3): 187–196.
- Frangioni G, Borgioli G, Bianchi S, et al. 2000. Relationships between hepatic melanogenesis and respiratory conditions in the newt, *Triturus carnifex*. *Journal of Experimental Zoology*, 287(2): 120–127.
- Frost D R. 2022. *Amphibian Species of the World: An Online Reference*. v. 6.1. New York, USA: American Museum of Natural History. [2021-05-07]. [EB/OL]. <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia>.
- Jackson D C, Ultsch G R. 2010. Physiology of hibernation under the ice by turtles and frogs. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 313(6): 311–327.
- Katz U. 1989. Strategies of adaptation to osmotic stress in anuran Amphibia under salt and burrowing conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 93(3): 499–503.
- Konno N, Hyodo S, Matsuda K, et al. 2006. Effect of osmotic stress on expression of a putative facilitative urea transporter in the kidney and urinary bladder of the marine toad, *Bufo marinus*. *Journal of Experiment Biology*, 209(7): 1207–1216.
- Kosmala G K, Brown G P, Shine R. 2020. Thin-skinned invaders: geographic variation in the structure of the skin among

- populations of cane toads (*Rhinella marina*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 131(3): 611–621.
- Leão T, Siqueira M, Marcondes S, et al. 2021. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. *The Anatomical Record*, 304(4): 860–871.
- Li J T, Gao Y D, Xie L, et al. 2018. Comparative genomic investigation of high-elevation adaptation in ectothermic snakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(33): 8406–8411.
- Lillywhite H B, Licht P. 1974. Movement of water over toad skin: functional role of epidermal sculpturing. *Copeia*, 1: 165–171.
- Lillywhite H B, Licht P. 1975. A comparative study of integumentary mucous secretions in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 51(4): 937–941.
- Linsenmair K E, Rosenberg M, Warburg M R. 1999. Unusual cell ultrastructure in ventral epidermis of the African reed frog *Hyperolius viridiflavus* (Anura; Hyperoliidae). *Anatomy and Embryology*, 200(6): 607–614.
- Luo Z H, Wang X Y, Yang S F, et al. 2021. Combining the responses of habitat suitability and connectivity to climate change for an East Asian endemic frog. *Frontiers in Zoology*, 18(1): 14.
- Reniers J, Brendonck L, Roberts J D, et al. 2015. Environmental harshness shapes life-history variation in an Australian temporary pool breeding frog: a skeletochronological approach. *Oecologia*, 178(3): 931–941.
- Scalia M, Geremia E, Corsaro C, et al. 1988. The extracutaneous pigmentary system: evidence for the melanosynthesis in Amphibia and Reptilia liver. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 89(4): 715–717.
- Seimon T A, Seimon A, Daszak P, et al. 2007. Upward range extension of Andean anurans and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology*, 13(1): 288–299.
- Seixas F J T, Camargo Filho C B, Pereira M M, et al. 2017. Histopathological aspects of the liver of free-living and farmed bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(4): 275–279.
- Seliverstova E V, Prutskova N P. 2018. Protein reabsorption in the amphibian kidney: comparative and evolutionary aspects, Chapter 11. Rijeka. 137–151.
- Stöck M, Moritz C, Hickerson M, et al. 2006. Evolution of mitochondrial relationships and biogeography of Palearctic green toads (*Bufo viridis* subgroup) with insights in their genomic plasticity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41(3): 663–689.
- Toledo R C, Jared C. 1993. Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105(4): 593–608.
- Toledo R C, Jared C. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 111(1): 1–29.
- Uchiyama M, Murakami T, Wakasugi C, et al. 1990. Structure of the kidney in the crab-eating frog, *Rana cancrivora*. *Journal of Morphology*, 204(2): 147–156.
- Vaissi S, Parto P, Sharifi M. 2017. Anatomical and histological study of the liver and pancreas of two closely related mountain newts *Neurergus microspilotus* and *N. kaiseri* (Amphibia: Caudata: Salamandridae). *Zoologia (Curitiba)*, 34(2017): 1–8.
- Vanburen C S, Norman D B, Fröbisch N B. 2019. Examining the relationship between sexual dimorphism in skin anatomy and body size in the white-lipped treefrog, *Litoria infrafrenata* (Anura: Hylidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 186(2): 491–500.
- Wang C, Jin L, Mi Z P, et al. 2020. Geographic variation in skin structure in male Andrew's toad (*Bufo andrewsi*). *Animal Biology*, 70(2): 159–174.
- Yang C, Fu T, Lan X, et al. 2019. Comparative skin histology of frogs reveals high-elevation adaptation of the Tibetan *Nanorana parkeri*. *Asian Herpetological Research*, 10(2): 79–85.
- Yuan D, Chen X, Gu H, et al. 2020. Chromosomal genome of *Triplophysa bleekeri* provides insights into its evolution and environmental adaptation. *GigaScience*, 9(11): 1–14.
- Zapata A G, Cooper E L. 1990. *The Immune System: Comparative Histophysiology*. Chichester: John Wiley and Sons.
- Zhong M J, Wang X Y, Huang Y Y, et al. 2017. Altitudinal variation in organ size in *Polypedates megacephalus*. *Herpetological Journal*, 27(2): 235–238.

- Zhu W, Liu L, Wang X, et al. 2018. Transcriptomics reveals the molecular processes of light-induced rapid darkening of the non-obligate cave dweller *Oreolalax rhodostigmatus* (Megophryidae, Anura) and their genetic basis of pigmentation strategy. *BMC Genomics*, 19(1): 422.
- Литвинчук С. Н., Скоринов Д. В., Пасынкова Р. А., et al. 2019. Полиплоидное видообразование у азиатских зеленых жаб рода *Bufo* (Bufonidae). *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные Науки*, 1(25): 80–93.
- 边树蕊. 2012. 论穴居两栖爬行动物的原始性与特化性. *产业与科技论坛*, 11(11): 96–97.
- 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.
- 陈毓, 许爱兰, 崔甄甄, 等. 2020. 猫儿山小鲵肝的组织结构. *动物学杂志*, 55(5): 593–598.
- 成令忠, 钟翠平, 蔡文琴. 2003. 现代组织学. 3 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 940–942.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平. 2012. 中国两栖动物及其分布彩色图鉴. 成都: 四川科学技术出版社, 267.
- 高凤娟, 李丕鹏, 王译唱, 等. 2016. 西藏蟾蜍皮肤的组织学观察. *四川动物*, 35(3): 444–451.
- 顾焕斌. 1998. 肾小管的结构和功能. *生物学通报*, (1): 12–15.
- 何一帆. 2018. 云南 8 种无尾两栖类呼吸和水分调节器官的环境适应性研究. 昆明: 云南师范大学硕士学位论文, 57–60.
- 贾迪, 李丕鹏, 王勇, 等. 2011. 3 种无尾两栖类肾形态结构及其对环境的适应性. *动物学杂志*, 46(2): 22–31.
- 江建平, 谢锋, 李成, 等. 2020. 中国生物物种名录: 脊椎动物 (IV) /两栖纲. 北京: 科学出版社, 3–4.
- 雷飞宙, 江建平, 李成, 等. 2012. 角蟾亚科 3 物种皮肤的组织学观察. *动物学杂志*, 47(3): 20–27.
- 李蓓, 史一珺, 龙梅, 等. 2013. 成体大凉疣螈肝脏的组织形态学观察. *四川动物*, 32(3): 398–401.
- 梁刚, 王琼霞. 2004. 隆肛蛙皮肤及其腺体的显微结构特征. *动物学杂志*, 39(4): 73–76.
- 林文达, 朱静, 郭爱伟, 等. 2008. 云南昆明地区三种蛙皮肤显微结构的比较. *四川动物*, 27(3): 420–423.
- 米志平, 廖文波. 2016. 林蛙属 3 物种皮肤的组织结构比较. *动物学杂志*, 51(5): 844–852.
- 潘鸿春, 吴孝兵. 2002. 虎纹蛙和大树蛙肾细胞超微结构及其与环境适应性的关系. *应用与环境生物学报*, 8(3): 262–266.
- 许双, 戴强, 张丕珠, 等. 2020. 两栖类皮肤石蜡切片样本量探讨——以峨眉髭蟾毛细血管丰富度为例. *四川动物*, 39(3): 274–280.
- 杨大同. 1991. 云南两栖类志. 北京: 中国林业出版社.
- 张清泽, 彭飞, 侯业茂, 等. 2018. 高原林蛙不同部位皮肤组织结构比较. *动物学杂志*, 53(4): 582–588.