

林蛙属 3 物种皮肤的组织结构比较

米志平 廖文波

西华师范大学, 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室 南充 637009

摘要: 利用石蜡切片和 H.E 染色技术, 对蛙科 (Ranidae) 林蛙属 (*Rana*) 高原林蛙 (*R. kukunoris*)、昭觉林蛙 (*R. chaochiaoensis*) 和峨眉林蛙 (*R. omeimontis*) 的皮肤组织结构进行了观察。应用 SPSS 13.0 统计软件, 对皮肤的厚度、皮肤腺的相对数量和面积作了比较分析。3 物种皮肤的基本结构相似, 都由表皮和真皮组成。表皮是角质化的复层扁平上皮, 由角质层、颗粒层、棘细胞层和生发层构成。真皮又分为疏松层和致密层, 疏松层内分布有黏液腺、颗粒腺和脂腺 3 种类型的皮肤腺, 黏液腺在体背和体腹皮肤内基本均匀分布, 而颗粒腺主要以团块聚集形式散布在体背皮肤中。在高原林蛙皮肤中还发现了 1 种与以往描述不同的特殊嗜酸性腺体。皮肤厚度存在种间差异和部位差异。高原林蛙的表皮里有少量毛细血管和发达的色素细胞分布, 真皮疏松层里有发达的腺体, 这些可能是其对高海拔、低氧、低温和强紫外线辐射生活环境的适应策略。在峨眉林蛙和昭觉林蛙皮肤真皮的疏松层和致密层相邻处, 发现有呈波浪条带状的、H.E 染色呈蓝色的钙化层结构, 体背部的钙化层比体腹部的发达。钙化层的功能可能包括防止体内水分散失、贮存钙离子、构成与体外环境进行物质交换的屏障等方面。

关键词: 林蛙属; 皮肤; 组织学; 钙化层

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 05-844-09

Comparison of Skin Histostructures in Three Species of Genus *Rana*

MI Zhi-Ping LIAO Wen-Bo

Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resources Conservation, China West Normal University, Ministry of Education, Nanchong 637009, China

Abstract: The histological structures of the dorsal-ventral skin in three species of genus *Rana*, Plateau Brown Frog (*R. kukunoris*), Chaochiao Brown Frog (*R. chaochiaoensis*) and Omei Brown Frog (*R. omeimontis*) were observed using paraffin section and hematoxylin-eosin staining. A paired *t*-test was used to analyse differences in thickness of skin, relative number of mucous glands and transverse areas of a mucous gland between dorsal and ventral skin in each species. Differences in thickness of skin and transverse areas of a mucous gland among species were tested using One-way ANOVA. We used Mann-Whitney *U*-test to compare differences in relative number of mucous glands and transverse areas of a granular gland among species, because normal distribution of the variance was not met. All statistical tests were performed using software SPSS 13.0. All values given were shown as Mean \pm SD. The adaptive mechanism of skin to

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31471996);

第一作者介绍 米志平, 男, 教授; 研究方向: 比较组织学; E-mail: mizhp@163.com。

收稿日期: 2015-12-09, 修回日期: 2016-02-26 DOI: 10.13859/j.cjz.201605014

terrestrial environment was also discussed. The results show that the skin structures of 3 frog species studied are similar, composed of epidermis and dermis (Plate I). The epidermis is keratinized stratified squamous epithelium, which is made up of stratum comeum, stratum granosum, stratum spinosum and stratum germinativum. The dermis consists of two layers, the stratum spongiosum and the stratum compactum. The stratum spongiosum is mostly composed of loose connective tissue. The stratum compactum is made up of dense connective tissue. The collagen fibers in the stratum compactum lie in bundles parallel to the body surface. There are three types of cutaneous glands, mucous glands, granular glands and lipidic glands in the stratum spongiosum (Plate I). The mucous glands are evenly distributed in the dorsal-ventral skin, however, the granular glands mostly are distributed in the dorsal skin in a cluster. A new type of eosinophil gland (Plate I: 5, 8), different from mucous glands and granular glands described before, have been found in *R. kukunoris*. The skin thickness varies both between different species and between different regions of skin from the same animal (Table 1), and it is related to the size of mucous glands (Table 2). In *R. kukunoris*, the epidermis contains a few capillaries and rich chromatophores, and rich cutaneous glands exist in the stratum spongiosum, which is probably a strategy of adaption to environment with high altitude, low temperature, and strong ultraviolet radiation. The calcified layer lies between the stratum spongiosum and the stratum compactum in *R. chaochiaoensis* and in *R. omeimontis* (Plate I: 2 - 4, 10). It is a wavy strip and stains blue by hematoxylin-eosin staining. The calcified layer is more developed in the dorsal skin than in the ventral. Its function may be associated with hydric balance, calcium storage, or serve as a barrier in the exchange of substances.

Key words: Genus *Rana*; Skin; Histology; Calcified layer

两栖动物的皮肤在调节水平衡、热量散失、防御天敌、呼吸、繁殖行为和保护内部结构等方面有重要作用(雷飞宙等 2012)。近些年来, 已对两栖动物皮肤组织结构及其对生态环境的适应性进行了一些研究(刘满樱等 2007, 林文达等 2008, 李洋等 2009, 林文达等 2009, 王丽等 2010, 曹燕等 2011, 雷飞宙等 2012)。这些研究发现, 两栖类的皮肤结构相似, 但是不同种类之间, 同一物种在繁殖期和非繁殖期, 皮肤的形态结构出现了特有的变化, 对不同的生态环境和生理状态体现出不同的适应策略。本文以分布于横断山区不同海拔的林蛙属 (*Rana*) 物种高原林蛙 (*R. kukunoris*)、昭觉林蛙 (*R. chaochiaoensis*) 和峨眉林蛙 (*R. omeimontis*) 为研究对象, 应用组织学技术对其躯干背部和腹部皮肤形态结构进行了比较研究, 目的是进一步了解林蛙属物种的皮肤结构与功能的关系, 为比较组织学提供一些基础资

料, 并探讨其皮肤结构与环境相适应特点的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

高原林蛙 5 只 (3 雄, 2 雌), 体长 49.3 ~ 54.6 mm, 体重 9.3 ~ 14.7 g, 于 2013 年 5 月采自西藏自治区江达县(东经 98°12', 北纬 31°26', 海拔 3 867 m); 昭觉林蛙 4 只 (雄), 体长 44.8 ~ 53.2 mm, 体重 5.9 ~ 11.1 g, 于 2011 年 6 月采自四川省宁南县(东经 102°34', 北纬 27°10', 海拔 1 935 m); 峨眉林蛙 5 只 (雌), 体长 44.3 ~ 60.5 mm, 体重 6.6 ~ 14.4 g, 于 2011 年 11 月采自四川省宜宾市(东经 104°33', 北纬 28°47', 海拔 308 m)。

1.2 方法

动物经双毁髓处死后, 立即放入 4% 甲醛溶液中浸泡固定并保存。在固定后的每个标本

躯干背部中央和腹部中央各切取 $1.5\text{ cm} \times 1.0\text{ cm}$ 大小的皮肤小块, 自来水洗 24 h, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋。Leica RM2016 石蜡切片机作连续横切片, 切片厚度 $7\text{ }\mu\text{m}$, 每隔 30 张切片选取一张切片, 每一个体的体背和体腹各选取 5 张切片。5 只高原林蛙的体背和体腹皮肤共选取了 50 张切片, 4 只昭觉林蛙的体背和体腹皮肤共选取了 40 张切片, 5 只峨眉林蛙的体背和体腹皮肤共选取了 50 张切片, 经 H.E 染色后, MOTIC BA300 显微镜观察、照相, 用 Motic Images Advanced 3.2 软件测量。每张切片选取 2~3 个位点, 测量表皮和真皮的厚度、腺体的长径和短径(只测量有腺腔的腺体), 再根据椭圆面积公式($S = \pi \times \text{长径} \times \text{短径} / 4$) 算出每个腺体切面的近似面积。同时, 测量皮肤切面的长度(μm), 并计数该长度范围内黏液腺和颗粒腺的个数, 然后换算成 1 mm 长的数量, 作为相对腺体数量。

同一物种不同个体体背和体腹的数据分别合并后, 采用 SPSS 13.0 统计软件分析, 差异显著性的判断标准是 0.05。统计分析之前, 先用 Kolmogorov-Smirnov 检验判断数据是否符合正态分布。用配对样本 t 检验分别分析同一物种体背和体腹皮肤厚度、相对黏液腺数量及单个黏液腺面积的差异性, 用单因素方差分析 (ANOVA) 检验不同物种之间皮肤厚度、单个黏液腺面积的差异性, 用 Mann-whitney U -test 检验分析不同物种之间皮肤相对黏液腺数量、单个颗粒腺面积的差异性。所有数据以平均值 \pm 标准差的形式表示。由于样品有限, 未考虑性别差异。

2 结果

2.1 皮肤结构

3 种林蛙的皮肤均由表皮和真皮组成 (图版 I)。

2.1.1 表皮的结构 表皮是角质化的复层扁平上皮, 由浅及深可分为角质层、颗粒层、棘细胞层和生发层 (图版 I: 1~4)。角质层已失去

细胞结构, 嗜酸性, 易脱离。颗粒层有 1~2 层细胞, 细胞呈长梭形, 胞质内颗粒不明显, 胞质弱嗜酸性, 角化现象明显。棘细胞层有 2~3 层细胞, 细胞大, 呈不规则多边形, 核周围的细胞质染色浅淡, 细胞交界处空隙明显, 染色较浅, 可能是由于棘突存在的原因。生发层位于表皮的最基部, 1 层细胞紧密排列, 核卵圆形, 染色深。

在高原林蛙的体背表皮内有大量色素细胞分布 (图版 I: 5, 6), 而在昭觉林蛙和峨眉林蛙的体背表皮内极少有色素细胞分布 (图版 I: 4, 7), 3 物种的体腹表皮内均未见到色素细胞分布 (图版 I: 3, 8, 9)。

表皮和真皮的交界呈平滑的波浪形, 并未形成明显的真皮乳头 (图版 I: 3, 9, 10)。在真皮内有较多微血管和毛细血管分布 (图版 I: 11), 在高原林蛙皮肤中观察到毛细血管深入到表皮中的现象 (图版 I: 6)。

2.1.2 真皮的构造 真皮位于表皮的下方, 比表皮厚, 可分为浅层的疏松层和深层的致密层, 在疏松层内分布有皮肤腺。

疏松层主要是疏松结缔组织, 胶原纤维明显比致密层的少, 且呈杂乱排列 (图版 I: 3, 9)。色素细胞在体背的疏松层内排列成一层, 细胞或伸展呈分支状并交织成网, 或收缩呈近卵圆形 (图版 I: 5, 6, 10, 11); 在体腹的疏松层内未见到色素细胞 (图版 I: 8, 9, 12)。疏松层内的微血管和毛细血管发达, 且在真皮与表皮交界处有较多微血管和毛细血管分布 (图版 I: 11)。

在峨眉林蛙体背和体腹皮肤的疏松层与致密层交界处, 发现有染成蓝色的波浪状条带结构——钙化层。体背的钙化层发达, 几乎排列成连续的完整层, 而体腹的钙化层欠发达, 不是连续的完整层 (图版 I: 3, 4, 11)。昭觉林蛙体背和体腹皮肤内也有钙化层, 也是背部的钙化层比腹部的发达 (图版 I: 2, 10), 但其钙化层的厚度比峨眉林蛙的薄些; 在高原林蛙体背和体腹皮肤内均未观察到钙化层。

致密层主要是致密结缔组织。胶原纤维束粗大, 排列紧密、规则, 呈波浪状, 纤维的长轴走向与体表平行; 细胞成分较少 (图版 I: 10, 12)。

2.1.3 皮肤腺的种类、分布和形态结构 皮肤腺位于疏松层内, 其种类、形态和分布在同一物种的腹部与背部间以及种间均有差异。

黏液腺在 3 物种的体背和体腹皮肤都有分布, 腺细胞的细胞质染色浅淡, 呈灰色或淡蓝色。昭觉林蛙和峨眉林蛙的腺细胞较矮, 呈立方形, 腺腔较大 (图版 I: 3, 9, 11), 而高原林蛙的腺细胞较大, 呈柱状, 腺腔较小 (图版 I: 5, 8)。

颗粒腺又称为嗜酸腺或毒腺, 在 3 物种均主要分布于体背皮肤, 在昭觉林蛙的体腹皮肤内偶见其分布 (图版 I: 9), 在高原林蛙和峨眉林蛙的体腹皮肤内未见其分布, 颗粒腺不像黏液腺那样在皮肤内均匀分布, 而是在皮肤的某些部位团簇集中存在。颗粒腺的体积明显比黏液腺大, 腺细胞界限消失, 为合胞体, 细胞核多个, 位于腺泡边缘, 腺腔内充满粗大的红色圆形分泌颗粒 (图版 I: 6, 7, 11)。高原林

蛙和昭觉林蛙皮肤的颗粒腺比峨眉林蛙的发达。

在高原林蛙的体背和体腹的皮肤疏松层内还观察到一种特殊的腺体, 其腺细胞呈高柱状, 细胞分界较明显, 细胞核扁圆形, 位于基部, 细胞质经 H.E 染色染成淡红色, 细胞质内未见分泌颗粒 (图版 I: 5, 8), 此种腺体的大小和形态与黏液腺相似, 最大的区别在于黏液腺细胞的细胞质染色浅淡, 呈灰色或淡蓝色 (图版 I: 5, 8)。在昭觉林蛙和峨眉林蛙皮肤中未观察到这种腺体。

在 3 种林蛙体背和体腹皮肤的疏松层和生发层交界处, 观察到一种大而圆的细胞, 细胞核近卵圆形, 偏于细胞一侧, 细胞质几乎不被染色, 呈白色。这种细胞常常单独或几个排列成一行, 与生发层细胞平行排列, 偶见几个细胞围成一团的情况 (图版 I: 1, 2, 4)。初步判定这种细胞是脂肪细胞或脂腺。

2.2 皮肤的厚度、皮肤腺的数量和大小比较

皮肤厚度见表 1, 黏液腺数量、大小见表 2。高原林蛙的体背皮肤比体腹的厚 ($t = 2.319, P < 0.05$); 峨眉林蛙的体腹皮肤比体背的厚 ($t =$

表 1 3 种林蛙皮肤厚度的比较 (单位: μm)

Table 1 Skin thickness in three species of genus *Rana* (Unit: μm)

物种 Species	部位 Position	表皮 Epidermis		真皮 Dermis		皮肤整体 Whole skin	
		平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range	平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range	平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range
高原林蛙 <i>R. kukunoris</i>	体背 Dorsal $n = 50$	53.9 \pm 18.8	21.5 ~ 106.7	126.3 \pm 41.7	66.3 ~ 236.5	180.2 \pm 52.9	96.2 ~ 293.9
	体腹 Ventral $n = 52$	56.6 \pm 14.1	29.5 ~ 93.7	104.4 \pm 22.2	60.3 ~ 172.5	161.0 \pm 26.7	119.5 ~ 266.1
昭觉林蛙 <i>R. chaochiaoensis</i>	体背 Dorsal $n = 40$	25.5 \pm 5.8	14.5 ~ 39.3	95.8 \pm 23.6	47.4 ~ 142.3	121.3 \pm 25.8	73.8 ~ 175.2
	体腹 Ventral $n = 40$	35.3 \pm 8.4	21.8 ~ 56.7	93.2 \pm 28.8	47.8 ~ 154.8	128.5 \pm 33.1	81.1 ~ 196.2
峨眉林蛙 <i>R. omeimontis</i>	体背 Dorsal $n = 60$	25.5 \pm 5.0	17.0 ~ 40.9	79.4 \pm 15.8	39.6 ~ 107.7	104.9 \pm 14.0	60.7 ~ 132.2
	体腹 Ventral $n = 45$	39.7 \pm 7.8	27.5 ~ 56.2	79.8 \pm 21.2	48.5 ~ 117.8	119.5 \pm 20.5	81.6 ~ 157.7

表 2 3 种林蛙黏液腺的形态比较
Table 2 Morphological comparison of the mucous glands among three species of genus *Rana*

物种 Species	部位 Position	数量 (个) Number			长径 Long diameter (μm)			短径 Short diameter (μm)			面积 Areas (μm ²)		
		平均值 ± 标准差 Mean ± SD	范围 Range	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	范围 Range	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	范围 Range	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	范围 Range	平均值 ± 标准差 Mean ± SD	范围 Range		
高原林蛙 <i>R. tataricorum</i>	体背 Dorsal n = 43	6.9 ± 2.1	2.0 ~ 11.8	113.0 ± 21.4	77.4 ~ 161.6	76.9 ± 18.8	45.6 ~ 121.0	7 020.0 ± 2 743.2	3 367.7 ~ 14 743.0				
	体腹 Ventral n = 45	8.4 ± 2.0	5.9 ~ 12.5	97.7 ± 19.8	63.6 ~ 154.0	73.8 ± 17.2	44.7 ~ 109.2	5 992.6 ± 2 453.7	2 506.8 ~ 12 936.1				
昭觉林蛙 <i>R. chaochiaoensis</i>	体背 Dorsal n = 32	6.4 ± 3.2	2.0 ~ 12.7	67.6 ± 10.5	45.8 ~ 86.6	40.6 ± 9.6	23.7 ~ 63.0	2 174.7 ± 694.3	886.7 ~ 3 637.3				
	体腹 Ventral n = 40	9.3 ± 3.7	1.8 ~ 15.4	66.5 ± 12.3	46.0 ~ 109.6	38.5 ± 7.9	26.9 ~ 64.6	2 043.4 ± 766.7	1 163.3 ~ 5 551.6				
峨眉林蛙 <i>R. omeimontis</i>	体背 Dorsal n = 53	8.0 ± 3.3	2.0 ~ 15.4	53.2 ± 12.5	32.0 ~ 82.5	34.9 ± 9.8	18.9 ~ 55.7	1 528.9 ± 722.3	541.2 ~ 3 604.2				
	体腹 Ventral n = 48	12.0 ± 3.8	5.7 ~ 18.5	71.5 ± 15.0	50.2 ~ 119.2	47.0 ± 11.1	29.2 ~ 67.0	2 726.6 ± 1 120.1	1 190.4 ~ 6 060.7				

- 2.832, $P < 0.01$); 昭觉林蛙的体背和体腹的皮肤厚度无差异 ($t = -1.597$, $P > 0.05$)。3 种林蛙体背皮肤的厚度不同, 高原林蛙的最厚, 昭觉林蛙次之, 峨眉林蛙最薄 (ANOVA, $P < 0.01$); 3 种林蛙体腹皮肤的厚度也有差异, 高原林蛙的最厚, 昭觉林蛙和峨眉林蛙次之 (ANOVA, $P < 0.01$), 而昭觉林蛙和峨眉林蛙之间无差异 (ANOVA, $P > 0.05$)。

不同林蛙皮肤中的相对黏液腺数量、黏液腺长短径和单个腺体面积见表 2。统计分析表明, 3 种林蛙的体腹部皮肤的相对黏液腺数量都明显多于体背部 (高原林蛙 $t = -2.602$, $P < 0.05$; 昭觉林蛙 $t = -2.710$, $P < 0.05$; 峨眉林蛙 $t = -3.800$, $P < 0.01$)。体背部皮肤的相对黏液腺数量在 3 种林蛙之间都无差异 (Mann-whitney U -Test, $P > 0.05$); 体腹部皮肤的相对黏液腺数量在 3 种林蛙之间有差异, 峨眉林蛙的相对黏液腺数量比高原林蛙和昭觉林蛙的多 (Mann-whitney U -Test, $P < 0.05$), 但是高原林蛙和昭觉林蛙之间无差异 (Mann-whitney U -Test, $P > 0.05$)。单个黏液腺的面积在昭觉林蛙的体背和体腹皮肤之间无差异 ($t = 0.967$, $P > 0.05$); 高原林蛙体背部皮肤的单个黏液腺面积大于体腹部 ($t = 2.033$, $P < 0.05$); 而峨眉林蛙体腹部皮肤的单个黏液腺

面积大于体背部 ($t = -8.715$, $P < 0.01$)。单个黏液腺面积在 3 种林蛙之间比较, 体背部高原林蛙最大, 昭觉林蛙次之, 峨眉林蛙最小 (ANOVA, $P < 0.01$); 体腹部高原林蛙亦最大, 峨眉林蛙次之, 昭觉林蛙最小 (ANOVA, $P < 0.01$)。

3 种林蛙皮肤颗粒腺的长短径和单个腺体面积见表 3。3 种林蛙体背部的单个颗粒腺面积, 昭觉林蛙大于高原林蛙和峨眉林蛙 (Mann-whitney U -Test, $P < 0.01$), 而高原林蛙和峨眉林蛙之间无差异 (Mann-whitney U -Test, $P > 0.05$)。

3 讨论

高原林蛙、昭觉林蛙和峨眉林蛙都是陆栖性较强的种类 (费梁等 2000), 它们的体背和体腹皮肤的表皮都出现了一层角质层, 这一方面可以防止体内水分的过快散失, 有利于陆栖生活, 另一方面, 皮肤疏松层内又有丰富的微血管和毛细血管, 角质层又保持了一定的透气性, 说明这 3 种林蛙的皮肤有着重要的呼吸功能。而且, 生活在高海拔的高原林蛙表皮内还有毛细血管分布, 以前的研究也发现, 生活在高海拔地区的刺胸齿突蟾 (*Scutiger mammatus*) 和胸腺齿突蟾 (*S. glandulatus*) 的表皮内也有

表 3 3 种林蛙体背皮肤颗粒腺的形态比较

Table 3 Morphological comparison of the granular glands in dorsal skin among three species of genus *Rana*

物种 Species	长径 Long diameter (μm)		短径 Short diameter (μm)		面积 Areas (μm^2)	
	平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range	平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range	平均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	范围 Range
	高原林蛙 ($n = 10$) <i>R. kukunoris</i>	161.3 \pm 43.5	97.6 ~ 229.7	103.1 \pm 34.3	65.6 ~ 172.0	13 589.3 \pm 7 080.7
昭觉林蛙 ($n = 12$) <i>R. chaochiaoensis</i>	257.2 \pm 43.5	203.9 ~ 353.0	196.0 \pm 32.5	134.4 ~ 247.9	40 121.0 \pm 11 487.0	21 515.4 ~ 59 751.9
峨眉林蛙 ($n = 5$) <i>R. omeimontis</i>	102.6 \pm 2.6	100.7 ~ 105.5	86.5 \pm 13.6	71.9 ~ 98.6	6 947.3 \pm 930.4	5 952.4 ~ 7 795.8

毛细血管存在(曹燕等 2011), 这些血管更接近身体表面, 提高了气体交换的效率, 这可能是对高海拔环境下低氧的一种适应策略。但是, 值得注意的是, 同样是生活在高海拔的西藏齿突蟾 (*S. boulengeri*) 和木里齿突蟾 (*S. muliensis*) 的表皮内却没有毛细血管分布(曹燕等 2011); 而一些生活在较低海拔的种类, 比如中华大蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) (张贤芳等 2002) 和隆肛蛙 (*Nanorana quadranus*) (梁刚等 2004), 它们的表皮内又有源自真皮的毛细血管分布, 这可能与个体的新陈代谢强弱和补偿肺的呼吸功能有关, 当然这种假设还需要更多的实验来验证。

高原林蛙、昭觉林蛙和峨眉林蛙体背皮肤的色素细胞比体腹的发达, 这一结果与对多疣狭口蛙 (*Kaloula verrucosa*) 和黑斑蛙 (*R. nigromaculata*) 的研究结果相一致(林文达等 2008)。一般认为色素细胞有 3 个方面的作用:

(1) 其形态受光线、温度影响而发生改变, 从而改变皮肤的颜色, 起到警戒和保护作用; (2) 从外界环境中吸收热量, 满足新陈代谢的需要; (3) 减少紫外线对深层组织的损害。高原林蛙的体背皮肤, 除真皮疏松层内有发达的色素细胞层外, 在表皮内还有大量的色素细胞分布, 这可能是高原林蛙对其所生活的低温和强紫外线环境的适应策略。

本研究发现, 3 种林蛙皮肤的厚度存在种间差异和部位间的差异, 而这种差异主要是由疏松层内的黏液腺的大小造成的, 黏液腺大则皮肤厚, 黏液腺小则皮肤薄。黏液腺分泌的黏液经导管排放到身体表面, 与皮肤呼吸、繁殖、温度调节和防御等功能相关(刘炯宇等 2004)。峨眉林蛙和昭觉林蛙体腹皮肤的黏液腺比体背部的发达, 高原林蛙的体背和体腹皮肤的黏液腺差异不大, 都发达, 这可能有利于繁殖时的雌雄抱对, 以及减少对腹部的机械摩擦。3 种林蛙互相比较后发现, 峨眉林蛙的腹部黏液腺最发达, 高原林蛙的背部黏液腺最发达, 对这种种间差异, 还不能提出合理的解释。

颗粒腺主要分布在体背皮肤, 这是因为颗粒腺能分泌大量的毒液, 具有防御功能, 这 3 种林蛙的陆栖性较强, 在营陆地生活时, 能有

效对抗来自背部方向的侵扰。

在高原林蛙皮肤中发现了一种与以前的记载不一样的腺体, 它的大小和细胞形态与黏液腺相似, 细胞质嗜酸性, 经 H.E 染色染成淡红色, 细胞质内未见分泌颗粒。与黏液腺的区别在于细胞质的颜色不同, 黏液腺细胞呈灰色或淡蓝色。在美洲豹蛙 (*Rana pipiens*) 中发现了两种类型的颗粒腺, 一种是细胞腺, 由含分泌颗粒的大细胞构成; 另一种是腔腺, 为合胞体, 腺体的体积更大, 分泌颗粒也更大, 也就是一般所说的颗粒腺(Toledo et al. 1995)。与之比较发现, 高原林蛙的这种腺体的腺细胞内没有颗粒, 经 H.E 染色后, 呈均质的红色, 与美洲豹蛙的细胞型颗粒腺不一样, 因此, 推测其可能是另一种特殊的嗜酸性腺体, 它的结构和功能还有待进一步的研究。

在 3 种林蛙中被初步认定的脂肪细胞或脂腺, 有待于利用其他研究技术进一步证实。

皮肤钙化层属于皮肤内骨骼的一种, 已在较多的无尾类中被发现, 且有更多存在于陆生性强的无尾类的趋势(Toledo et al. 1993, Vickaryous et al. 2009), 但在中国两栖类中发现的并不多, 目前仅在角蟾科的几个物种中被发现(曹燕等 2011, 雷飞宙等 2012)。本研究在蛙科林蛙属的峨眉林蛙和昭觉林蛙的皮肤中发现了钙化层, 但在高原林蛙皮肤中却没有观察到钙化层, 这种同科或同属的部分物种才具有钙化层的现象在已有的研究中较为普遍存在(Toledo et al. 1993, Vickaryous et al. 2009)。这是继角蟾科之后, 在国内的又一两栖动物类群的皮肤中发现了钙化层的存在。已有的研究表明, 钙化层都位于皮肤腺下方, 疏松层和致密层相邻处, 且体背部的钙化层比体腹部的发达(曹燕等 2011, 雷飞宙等 2012), 本研究在峨眉林蛙和昭觉林蛙中也获得了相同的结果。这一现象可能与维持个体的水平衡有关, 蛙类特殊的生活姿势使其背部比腹部有更易脱水的倾向, 背部完整的钙化层可能有效防止了水分的散失; 而腹部的钙化层不完整, 可能更有利于腹部皮肤从潮湿的接触面吸收更多水分(Toledo et al. 1993)。高原林蛙的皮肤中没有钙化层, 可能与其生活环境的温度较低、水分

不易蒸发有关。这可能说明钙化层是蛙类适应陆地生活减少水分散失的一种结构。其他研究还发现: 钙化层富含糖胺多糖、蛋白多糖和钙盐, 无细胞成分, 有针状结晶的小泡, 结晶物可能是羟磷灰石 (Toledo et al. 1993)。目前, 还不清楚皮肤钙化层的发生机理。钙化层的功能可能还涉及到钙的贮存和运输、作为机体内部和外环境之间的物质交换屏障等方面。为了更好地理解皮肤内骨骼的演化过程和功能意义, 有必要在更多的无尾目动物中进行深入研究。

致谢 对刘文超、娄尚林所做的标本采集工作和杨岚、张丹、王丹所做的组织切片工作表示感谢。

参 考 文 献

- Toledo R C, Jared C. 1993. The calcified dermal layer in anurans. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Comparative Physiology*, 104(3): 443–448.
- Toledo R C, Jared C. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Comparative Physiology*, 111(1): 1–29.
- Vickaryous M K, Sire J Y. 2009. The integumentary skeleton of tetrapods: origin, evolution, and development. *Journal of Anatomy*, 214(4): 441–464.
- 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.
- 费梁, 叶昌媛. 2000. 四川两栖类原色图鉴. 北京: 中国林业出版社, 166–173.
- 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: 自然科学版*, 32(5): 466–470.
- 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.
- 林文达, 朱静. 2009. 多疣狭口蛙不同繁殖时期皮肤显微结构观察. *四川动物*, 28(1): 89–91.
- 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. *野生动物杂志*, 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.
- 张贤芳, 张耀光, 王志坚, 等. 2002. 中华蟾蜍皮肤的组织学观察. *西南农业大学学报*, 24(5): 454–457.

图 版 说 明

3 种林蛙皮肤的显微结构, 标尺 = 100 μm

1. 高原林蛙体背皮肤 ($\times 40$);
2. 昭觉林蛙体背皮肤 ($\times 40$);
3. 峨眉林蛙体腹皮肤 ($\times 40$);
4. 峨眉林蛙体背皮肤 ($\times 40$);
5. 高原林蛙体背皮肤 ($\times 20$);
6. 高原林蛙体背皮肤 ($\times 20$);
7. 昭觉林蛙体背皮肤 ($\times 40$);
8. 高原林蛙体腹皮肤 ($\times 20$);
9. 昭觉林蛙体腹皮肤 ($\times 20$);
10. 昭觉林蛙体背皮肤 ($\times 20$);
11. 峨眉林蛙体背皮肤 ($\times 20$);
12. 峨眉林蛙体腹皮肤 ($\times 20$).

Explanation of Plate

Histological structure of the skin in three species of genus *Rana*, Bar = 100 μm

1. Dorsal skin of *R. kukunoris* ($\times 40$);
2. Dorsal skin of *R. chaochiaoensis* ($\times 40$);
3. Ventral skin of *R. omeimontis* ($\times 40$);
4. Dorsal skin of *R. omeimontis* ($\times 40$);
5. Dorsal skin of *R. kukunoris* ($\times 20$);
6. Dorsal skin of *R. kukunoris* ($\times 20$);
7. Dorsal skin of *R. chaochiaoensis* ($\times 40$);
8. Ventral skin of *R. kukunoris* ($\times 20$);
9. Ventral skin of *R. chaochiaoensis* ($\times 20$);
10. Dorsal skin of *R. chaochiaoensis* ($\times 20$);
11. Dorsal skin of *R. omeimontis* ($\times 20$);
12. Ventral skin of *R. omeimontis* ($\times 20$).

Ca. 钙化层; CV. 毛细血管; EG. 特殊的嗜酸腺; EP. 表皮; GG. 颗粒腺; Li. 脂腺或脂肪细胞; MG. 黏液腺; PC. 色素细胞; SC. 致密层; SCO. 角质层; SGE. 生发层; SGR. 颗粒层; SS. 疏松层; SSP. 棘细胞层。

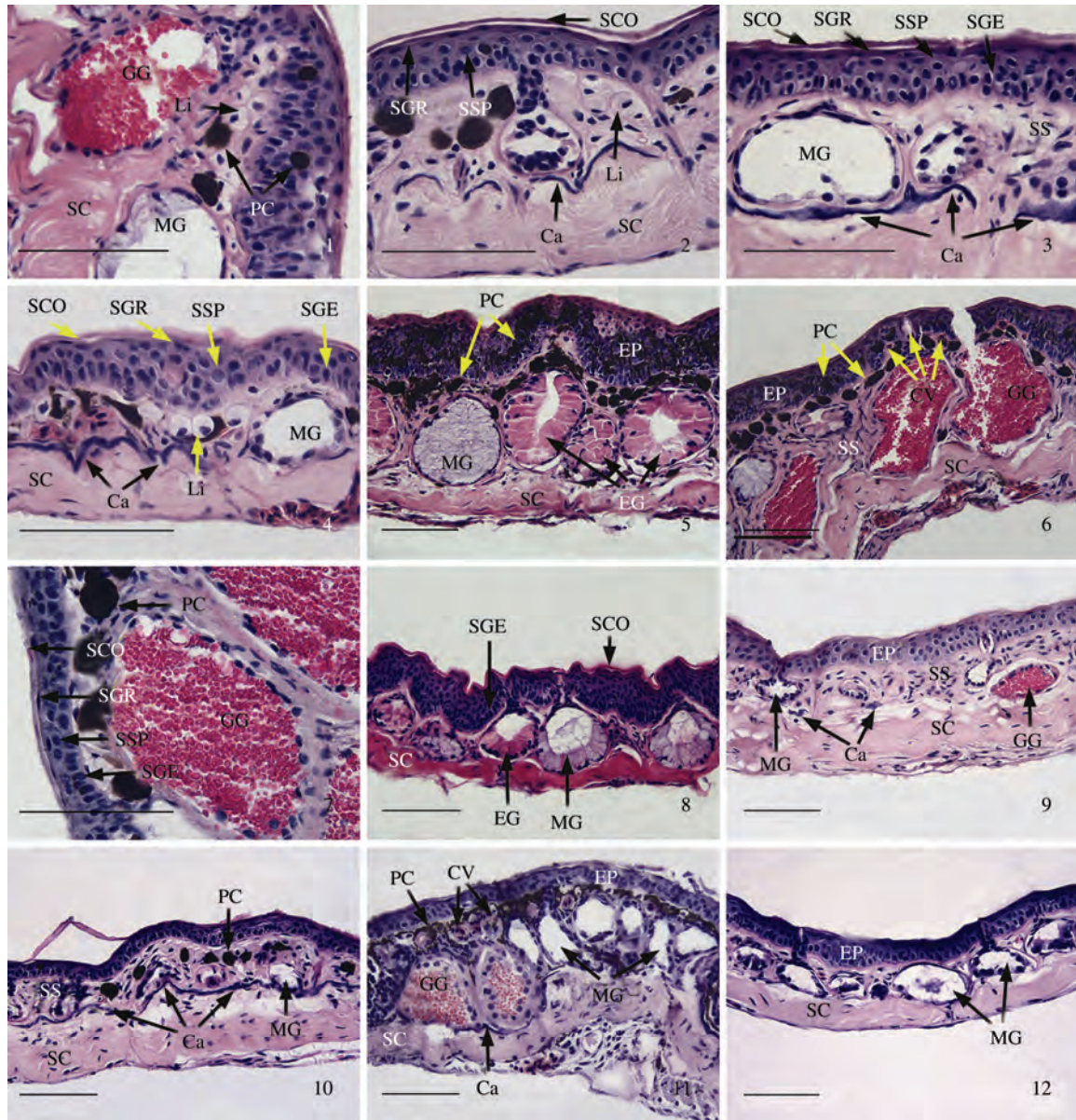
Ca. Calcified layer; CV. Capillary vessel; EG. Eosinophil gland; EP. Epidermis; GG. Granular gland; Li. Lipidic gland or Lipocyte; MG. Mucous gland; PC. Pigment cell; SC. Stratum compactum; SCO. Stratum comeum; SGE. Stratum germinativum; SGR. Stratum granosum; SS. Stratum spongiosum; SSP. Stratum spinosum.

米志平等：林蛙属 3 物种皮肤的组织结构比较

图版 I

MI Zhi-Ping *et al.*: Comparison of Skin Histostructures in Three Species of Genus *Rana*

Plate I



图版说明见文后