

# 蛙科物种背侧褶组织形态特征

曾一唯<sup>①②</sup> 谢锋<sup>①\*</sup>

① 中国科学院成都生物研究所 成都 610041; ② 中国科学院大学 北京 100049

**摘要:** 背侧褶是无尾两栖类的重要形态特征,但对于其组织结构和功能缺乏了解。本文运用组织学技术, H.E、AB-PAS 和 Masson 三色三种染色方法对蛙科 4 属的代表物种滇蛙 (*Dianrana pleuraden*)、阔褶蛙 (*Sylvirana latouchii*)、仙琴蛙 (*Nidirana daunchina*)、沼蛙 (*Boulengerana guentheri*) 背侧褶和背部皮肤的显微结构进行了系统的比较研究。结果发现: 1) 蛙科物种的皮肤腺体单元丰富多样, 由黏液腺和颗粒腺组成。其黏液腺均为普通黏液腺, 按照其分泌物及分泌细胞形态将黏液腺分为 I 型黏液腺和 II 型黏液腺。I 型黏液腺在沼蛙和仙琴蛙中缺失, II 型普遍分布。颗粒腺分 I 型颗粒腺、II 型颗粒腺及特化颗粒腺, II 型颗粒腺仅见于仙琴蛙, 特化颗粒腺仅见于阔褶蛙和沼蛙的背侧褶; 2) 滇蛙与仙琴蛙背侧褶基本结构与其背部常规皮肤一致, 且两种皮肤结构组成也较为相似, 在真皮层下都有一层较厚的脂肪层, 滇蛙脂肪层厚度约为真皮层厚度的 1.52 倍, 仙琴蛙脂肪层厚度约为真皮层的 1.60 倍; 阔褶蛙与沼蛙背侧褶基本结构也与其常规皮肤一致, 且背侧褶结构组成也较为相似, 阔褶蛙及沼蛙真皮层内具有单层排列、集中分布的大型特化颗粒腺, 其分泌物为两种颗粒物的混合物。3) 蛙科中两种背侧褶结构类型代表了两个进化方向, 其功能分别为能量储存和反捕, 推测其与环境适应进化相关。

**关键词:** 蛙科; 背侧褶; 组织学和组织化学; 功能

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2018) 05-723-10

## Morphology of Dorsolateral Fold in Ranids (Amphibia, Anura, Ranidae)

ZENG Yi-Wei<sup>①②</sup> XIE Feng<sup>①\*</sup>

① Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041; ② University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** The dorsolateral fold is an important morphological structure of Anurans, but little is known about its histological structure and function. We studied the histology and histochemistry of the dorsolateral fold and dorsal skin by using Hematoxylin-Eosin, Alcian Blue-Periodic Acid Schiff and Masson staining methods in four Ranid species: *Dianrana pleuraden*, *Sylvirana latouchii*, *Nidirana daunchina* and *Boulengerana guentheri*. Our results found that: 1) The skin gland units of Ranidae consist of rich and diversified mucous and granular glands. There were two types of ordinary mucous glands (OMGs), types OMG I and II, and the former was absent in *B. guentheri* and *N. daunchina* (Fig. 1 b2, d2). The granular glands were categorized

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31372174) ;

\* 通讯作者, E-mail: xiefeng@cib.ac.cn;

**第一作者介绍** 曾一唯, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两栖动物的生态适应进化和保护; E-mail: coralsea1943@163.com。

收稿日期: 2018-03-06, 修回日期: 2018-06-15 DOI: 10.13859/j.cjz.201805007

into type I, type II and specialized type, but type II was only found in *N. daunchina* (Fig. 1 b3, Fig 2 b3). Specialized granular glands were only found in the dorsolateral fold of *S. latouchii* and *B. guentheri* (Fig. 2 c3, d3). 2) The dorsolateral fold consists of a fat layer which is similar between *D. pleuraden* and *N. daunchina* (Table 1, Fig. 2 a3, b3). The dorsal skin of *N. daunchina* had a fat layer whereas this layer was absent in *D. pleuraden*. The fat layer was 1.52 times and 1.60 times thick as their dermis in *D. pleuraden* and *N. daunchina*, respectively. The dorsolateral fold contained a layer of clustered and enlarged specialized granular glands in the dermis which was similar in *S. latouchii* and *B. guentheri* (Table 1, Fig. 2 c3, d3). Two types of granule secretions were found in the specialized granular gland (Fig. 2 d3). 3) Their functions included energy storage and antipredation. We speculate that the structural and functional evolution of the dorsolateral fold is related to environmental adaptation. The evolution of two types of dorsolateral fold in ranid species may represent two evolutionary orientations.

**Key words:** Ranidae; Dorsolateral fold; Histology and histochemistry; Function

两栖动物皮肤充当着动物本身与外界环境物质与信息交换的重要媒介, 其具有丰富的腺体结构 (Brizzi et al. 2003)。这些腺体根据其形态及生物化学性质差异可分为颗粒腺、黏液腺、混合腺及脂腺4种主要类型单元(Blaylock et al. 1976, Toledo et al. 1995), 各腺体单元在体表多呈分散分布。一些类群物种的腺体单元呈集中分布, 并在身体各部位发生特化。不同的腺体特化现象广泛存在于无尾类 (Bartholomus 1994) 和有尾类 (Houck et al. 1994) 中, 特殊腺体的主要功能体现在两栖动物的反捕食防御、通讯或交配繁殖等方面。当特化皮肤腺体发生时, 其分泌单元特点明显不同于普通腺体, 常表现为大的、拉长的且紧密堆叠的单元形成肥大的丛集 (voluminous clusters), 甚至变化为肉眼可见的皮肤增生, 如褶皱和突起, 如蟾蜍 (*Bufo*) 的耳后腺、胫腺蛙 (*Liurhurana shuchinae*) 的胫腺、仙琴蛙 (*Nidirana daunchina*) 的肩腺等 (费梁等 2005) 就是这一类结构。

在无尾两栖类物种中, 背侧褶是一种常见的皮肤形态结构, 其位于背部两侧, 一般起自眼后伸达胯部, 为1对纵走皮肤腺隆起。背侧褶的有无、形态及发达程度可以作为属、种分类的依据 (费梁等 2005)。关于这一发生在多个类群的外部形态相似的结构, 其内部形态和

功能目前缺乏认识。这一结构是仅仅增大皮肤表面积而有利于气体或物质交换, 还是一种腺体特化, 均有待验证。

蛙科 (Ranidae) 是背侧褶出现比较集中的类群, 背侧褶见于林蛙属 (*Rana*)、侧褶蛙属 (*Pelophylax*)、水蛙属 (*Hylarana*)、琴蛙属 (*Nidirana*)、滇蛙属 (*Dianrana*)、肱腺蛙属 (*Sylvirana*)、沼蛙属 (*Boulengerana*) 等多个属中。部分类群的背侧褶发达程度较低, 如胫腺蛙, 断续、不显著或细窄, 部分类群的背侧褶发达程度较高, 如阔褶蛙种组 (*S. latouchii* species group)、金线侧褶蛙种组 (*P. plancyi* species group) 等, 特化程度较高, 其宽度与上眼睑等宽 (费梁等 2005)。其为验证背侧褶结构和功能的分化情况提供了重要的模式。

本文选用代表不同背侧褶发达程度的蛙科4个物种作为研究对象: 滇蛙属的滇蛙 (*D. pleuraden*)、肱腺蛙属的阔褶蛙 (*S. latouchii*)、琴蛙属的仙琴蛙 (*N. daunchina*)、沼蛙属的沼蛙 (*B. guentheri*), 以组织学技术, H.E、AB-PAS 及 Masson 三色三种染色方法, 对其背部常规皮肤及背侧褶的显微结构进行研究和对比。以期回答: (1) 外部形态相似的背侧褶, 在不同类群的物种中, 其内部结构是否存在差异? (2) 背侧褶在不同类群中是否存在结构及功能上的特化, 是否已经特化为真正的腺体结构?

## 1 材料与方法

### 1.1 样品准备

实验用的滇蛙在2017年5月中旬的繁殖季节期间,采自凉山彝族自治州普格县螺髻山镇黄草坪村( $27^{\circ}37'0.83''N$ ,  $102^{\circ}26'8.83''E$ , 海拔1 930 m),雄性16只,雌性13只。阔褶蛙在2017年6月繁殖季节间,采自浙江宁波北仑,雄性5只,雌性1只。仙琴蛙于2017年6月繁殖季节间,采自四川省峨眉山市( $29^{\circ}35'39.32''N$ ,  $103^{\circ}16'36.27''E$ , 海拔1 272 m),8只标本个体全部为雄性。实验用沼蛙共2只雄性,一只于2017年8月繁殖季节期间采自广西壮族自治区龙州县郊( $22^{\circ}19'32.62''N$ ,  $107^{\circ}2'4.22''E$ , 海拔151 m),另一只于2009年7月繁殖季节间,采自贵州省荔波县茂兰国家级自然保护区。将全部活体标本用双毀髓法处死,取样,皮肤样品经Bouin液固定24 h备用;福尔马林固定标本取样,经24 h冲水作去福尔马林处理后,经Bouin液固定24 h备用。所有标本保藏于中国科学院成都生物研究所两栖爬行动物标本馆。

### 1.2 组织学及组织化学方法

为比较背侧褶与常规背部皮肤的差异,分别取滇蛙(2♂、2♀)、仙琴蛙(2♂)、阔褶蛙(2♂、1♀)、沼蛙(2♂)的背侧褶和背中部皮肤各5 mm × 10 mm样本。经Bouin液固定24 h,水洗30 min,70%酒精洗涤脱色30 min,随后逐级浓度酒精(80%、95%、100%、100%)脱水,二甲苯透明,石蜡浸蜡包埋,Leica RM2135轮转切片机常规石蜡切片,厚度6 μm,贴片、展片后,分别进行三种方法染色:1)H.E(Mayer氏苏木素-伊红)染色(蔡晓雯等2011),苏木苏染液为碱性,主要使细胞核内的染色质与胞质内的核糖体着紫蓝色;伊红为酸性染料,主要使细胞质和细胞外基质中的成分着红色。2)AB-PAS染色(李妍等2013)(北京索莱宝AB-PAS染色液试剂盒),阿利新蓝可将唾液黏蛋白、硫黏蛋白和蛋白多糖染成蓝色;PAS可将中性黏蛋白染成深红/红紫色,同时将既含中

性黏蛋白又含酸性黏蛋白的组织和细胞染成深浅不同的紫色。3)Masson三色染色(韩天龙等2011)(北京索莱宝Masson三色染色液试剂盒),Masson染色后肌纤维、细胞浆、红细胞呈红色,胶原纤维呈绿色或蓝色,细胞核、胶原蛋白呈蓝色,主要用于区分胶原纤维和肌纤维。染色后用树胶封片,用Nikon E200显微镜观察并拍照。

### 1.3 统计分析方法

运用ImageJ软件分别对皮肤厚度、真皮层厚度、特化颗粒腺泡长径、颗粒腺分泌物颗粒直径等参数进行测量,运用Excel对数据进行分析处理,文中形态数据以平均值±标准差(Mean ± SD)的形式给出,不同部位的形态差异比较分析运用T-test完成,显著性水平为0.05。

## 2 结果

### 2.1 蛙科物种皮肤腺体单元结构组成及组化

蛙科4个物种中皮肤腺体单元组成丰富多样(图1,2,表1),分为黏液腺及颗粒腺两大类。

黏液腺均为普通黏液腺,分I型黏液腺及II型黏液腺,未发现Brizzi等(2002)所描述的存在于蛙科物种雄性背面的特化黏液腺。I型黏液腺腺泡细胞及内分泌物经AB-PAS染色为AB阳性,主要为糖原、胶原蛋白及酸性黏多糖,分泌细胞主要形态为矮柱状,细胞核位于细胞基底部,核较小。构成腺体的细胞为矮柱状,在腺体内呈半包围状排布,矮柱状细胞主要集中在腺泡下2/3部,向表皮伸展的细胞至导管开口处呈立方状;II型黏液腺黏液分泌细胞及内分泌物经AB-PAS染色为PAS弱阳性,主要为酸性黏多糖、透明质酸。分泌细胞形态为短柱状,细胞核位于细胞中间,核较大。在腺体内,分泌细胞呈包绕状排布,球状腺体基底部分泌细胞较高,并于腺细胞的游离面可见染成蓝紫色的呈PAS强阳性的基膜。由导管细胞构成的黏液腺导管开口于表皮层。

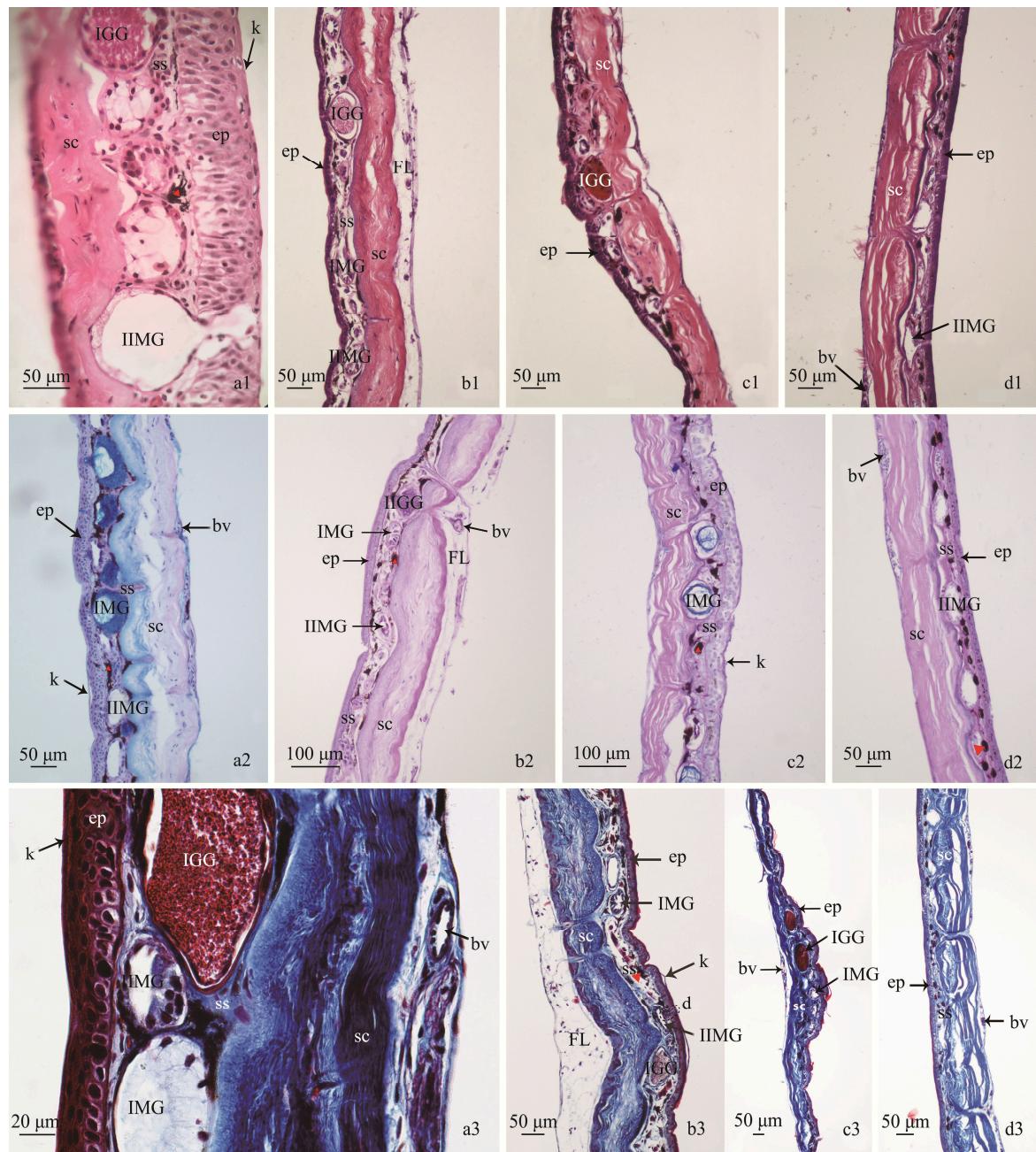


图 1 蛙科 4 物种背部常规皮肤的组织形态和组织化学染色特征

Fig. 1 The histology and histochemistry of dorsal skin of 4 species of Ranidae

a1 ~ a3. 滇蛙背部常规皮肤; b1 ~ b3. 仙琴蛙背部常规皮肤; c1 ~ c3. 阔褶蛙背部常规皮肤; d1 ~ d3. 沼蛙背部常规皮肤; 1 为 H.E 染色, 2 为 AB-PAS 染色, 3 为 Masson 染色。

a1 ~ a3. Dorsal skin of *D. pleuraden*; b1 ~ b3. Dorsal skin of *N. daunchina*; c1 ~ c3. Dorsal skin of *S. latouchii*; d1 ~ d3. Dorsal skin of *B. guentheri*; 1. Stained with hematoxylin-eosin; 2. Stained with Alcian blue-periodic acid Schiff; 3. Stained by Masson's trichrome method.

I MG. I型黏液腺; II MG. II型黏液腺; I GG. I型颗粒腺; II GG. II型颗粒腺; d. 导管; k. 角质层细胞; ep. 表皮; ss. 结缔组织疏松层; sc. 结缔组织致密层; FL. 脂肪层; bv. 血管; 红△. 黑色素细胞。

I MG. I type mucous gland; II MG. II type mucous gland; I GG. I type granular glands; II GG. II type granular glands; d. Duct; k. Keratinized epidermal cell; ep. Epidermis; ss. Stratum spongiosum; sc. Stratum compactum; FL. Fat layer; bv. Blood vessel; Red △. Melanophore.

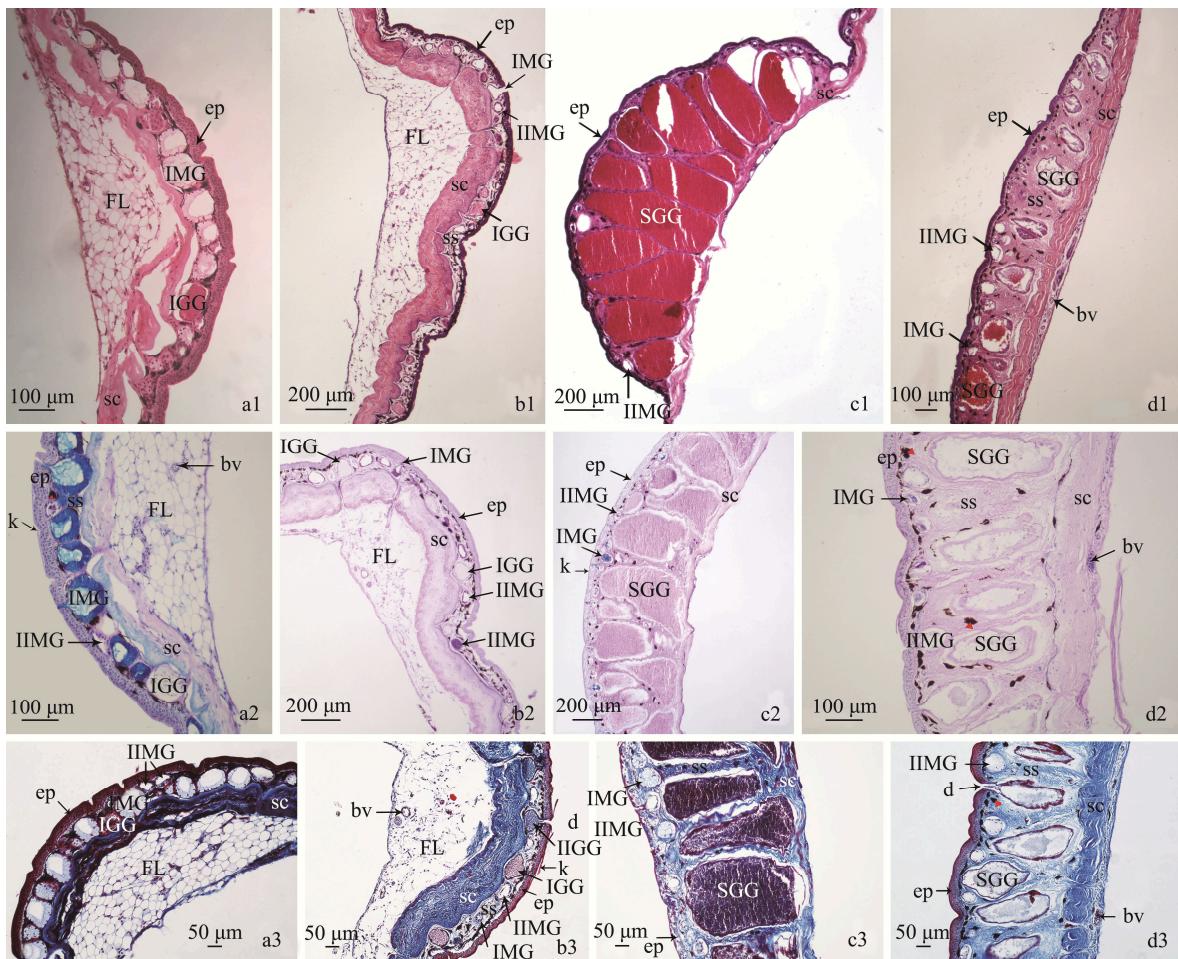


图 2 蛙科 4 物种背侧褶皮肤的组织形态和组织化学染色特征

Fig. 2 The histology and histochemistry of dorsolateral fold skin of 4 species of Ranidae

a1 ~ a3. 漳蛙背侧褶皮肤; b1 ~ b3. 仙琴蛙背侧褶皮肤; c1 ~ c3. 阔褶蛙背侧褶皮肤; d1 ~ d3. 沼蛙背侧褶皮肤; 1 为 H.E 染色, 2 为 AB-PAS 染色, 3 为 Masson 染色。

a1 ~ a3. dorsolateral fold skin of *D. pleuraden*; b1 ~ b3. dorsolateral fold skin of *N. daunchina*; c1 ~ c3. dorsolateral fold skin of *S. latouchii*; d1 ~ d3. dorsolateral fold skin of *B. guentheri*; 1. Stained with hematoxylin-eosin; 2. Stained with Alcian blue-periodic acid Schiff; 3. Stained by Masson's trichrome method.

I MG. I型黏液腺; II MG. II型黏液腺; I GG. I型颗粒腺; II GG. II型颗粒腺; SGG. 特化颗粒腺; d. 导管; k. 角质层细胞; ep. 表皮; ss. 结缔组织疏松层; sc. 结缔组织致密层; FL. 脂肪层; bv. 血管; 红△. 黑色素细胞。

I MG. I type mucous gland; II MG. II type mucous gland; I GG. I type granular glands; II GG. II type granular glands; SGG. Special granular glands; d. Duct; k. Keratinized epidermal cell; ep. Epidermis; ss. Stratum spongiosum; sc. Stratum compactum; FL. Fat layer; bv. Blood vessel; Red Δ. Melanophore.

颗粒腺分 I 型颗粒腺、II 型颗粒腺及特化颗粒腺。I 型颗粒腺分泌细胞经 AB-PAS 染色为 PAS 弱阳性, 分泌物染色为 PAS 阴性, 分泌

细胞及分泌物经 Masson 染色为红色, 颗粒物较小, 为  $(1.30 \pm 0.23) \mu\text{m}$  ( $n = 30$ ), 较为分散, 主要为中性黏蛋白及少量酸性黏蛋白、糖

表 1 蛙科 4 物种背部皮肤及背侧褶皮肤形态特征比较表  
Table 1 Comparison on the morphology between dorsolateral fold and dorsal skin in 4 species of Ranidae

	阑褶蛙 <i>Sylvirana latouchii</i>		沼蛙 <i>Boulengerana guentheri</i>		滇蛙 <i>Dianana pleuraden</i>		仙琴蛙 <i>Nidirana dianuchina</i>	
	背部皮肤	背侧褶 Dorsolateral fold skin	背部皮肤	背侧褶 Dorsolateral fold skin	背部皮肤	Dorsolateral fold skin	背部皮肤	Dorsal skin
皮肤总厚度 Skin thickness (μm)	170.94 ± 10.25	719.73 ± 36.49	151.34 ± 4.23	643.75 ± 18.91	217.77 ± 16.10	485.26 ± 6.48	192.09 ± 8.22	604.15 ± 11.39
表皮细胞层数 The number of plies of epidermal cells	4 ~ 5	3 ~ 4	5 ~ 6	5	5	5	3 ~ 4	3 ~ 4
脂肪丰富度 Degree of fat development	-	-	-	-	++	++	+	++
脂肪层厚度 Fat thickness (μm)					282.15 ± 6.92	32.24 ± 9.25	363.01 ± 29.73	
色素细胞 Chromocyte	+	+	++	++	++	++	++	++
真皮层厚度 Corium layer (μm)	131.41 ± 5.96	730.52 ± 12.55	131.24 ± 1.37	590.05 ± 10.94	195.79 ± 2.85	175.06 ± 4.80	136.06 ± 3.24	212.86 ± 8.27
I型黏液腺 I type mucous gland	++	+	-	-	++	++	-	-
II型黏液腺 II type mucous gland	+	++	+	++	+	+	+	+
I型颗粒腺 I type granular glands	+	-	+	-	+	+	+	++
I型颗粒腺分泌物长径 I type granule maximum diameter (μm)					1.30 ± 0.23			
II型颗粒腺分泌物长径 II type granular glands	-	-	-	-	-	-	-	-
II型颗粒腺分泌物长径 II type granule maximum diameter (μm)					3.06 ± 0.75*			
特化颗粒腺泡多少及长径 Specialized granule gland and its' maximum diameter (μm)	-	+++	-	417.60 ± 10.32	+++	284.86 ± 7.49	-	-

“+”号的多少分别代表细胞或腺体的多少, “-”代表缺失, “\*”代表检验差异显著。

The number of “+” represents the level of cells or glands; “-” which is absent, “\*” has significant difference in *t*-test.

蛋白, 分泌细胞在较多分泌颗粒挤压下形态为梭状, 细胞核较大, 也呈梭状, 位于细胞正中。构成腺泡的梭状分泌细胞单层排布, 包围球状腔体, 至导管开口处变形为立方状, 导管细胞的细胞核较大, 位于细胞正中; II型颗粒腺分泌细胞经 AB-PAS 染色为 PAS 弱阳性, 分泌物染为 PAS 强阳性, 分泌细胞及分泌物经 Masson 染色为蓝色, 颗粒物极显著大于 I型颗粒腺( $t = -39.24, P < 0.01, n = 30$ ), 为  $(3.06 \pm 0.75) \mu\text{m}$  ( $n = 30$ ), 较为致密, 主要为中性黏蛋白及少量酸性黏蛋白、糖蛋白, 分泌细胞形态椭球状, 细胞核较大, 呈近圆形, 位于细胞正中。构成腺泡的分泌细胞单层排布, 包围球状腔体, 至导管开口处呈立方状, 细胞核仍位于细胞正中, 占比较大。II型颗粒腺仅见于仙琴蛙雄性背部常规皮肤及背侧褶部位皮肤。

特化颗粒腺见于阔褶蛙及沼蛙的背侧褶部位, 其分泌细胞在较多分泌颗粒挤压下形态为梭状, 细胞核较小, 位于细胞正中。经 Masson 染色可见分泌物为两种颗粒物的混合物, 分别与 I、II两型颗粒腺分泌的颗粒物相似。

## 2.2 各物种背部常规皮肤与背侧褶结构比较

滇蛙背部常规皮肤结构由表皮(角质化层、表皮细胞层)、真皮(疏松结缔组织层及致密结缔组织层)构成(图 1, 表 1)。表皮层较厚、细胞层数较多, 1层柱状基细胞层上为 3层逐渐变化移行的扁平上皮细胞, 最外为 1层角质化细胞层。真皮疏松层内具有 I、II两型黏液腺, 偶见 I型颗粒腺。滇蛙背侧褶基本结构与常规皮肤一致(图 2, 表 1), 但在真皮层下还有一层较厚的脂肪层, 厚度为  $(282.15 \pm 6.92) \mu\text{m}$  ( $n = 30$ ), 约为真皮层的 1.52 倍, 腺体组成基本一致。

仙琴蛙背部常规皮肤由表皮和真皮构成(图 1, 表 1), 表皮层较薄, 细胞层数较少, 仅由 1层基细胞及 1~2层扁平上皮细胞构成, 最外层为 1层角质化细胞层。真皮层内具有 II型黏液腺, 未见 I型黏液腺, 具有 I、II两型颗粒腺。与本文其他 3物种不同, 仙琴蛙全身

皮肤结缔组织下皆具一层脂肪层, 厚度为  $(32.24 \pm 9.25) \mu\text{m}$  ( $n = 30$ )。仙琴蛙背侧褶基本结构与常规皮肤一致(图 2, 表 1), 也与滇蛙背侧褶结构较为相似, 在真皮层下还有一层较背部皮肤显著增厚的脂肪层, 厚度为  $(363.01 \pm 29.73) \mu\text{m}$  ( $n = 30$ ), 达真皮层的 1.60 倍, 腺体组成基本一致, 仅在背侧褶部位有 I型颗粒腺分布量的增加。

阔褶蛙背部常规皮肤由表皮和真皮构成(图 1, 表 1), 表皮中, 1层柱状基细胞层上为 2~3层的扁平上皮细胞, 最外层为 1层角质化细胞层。真皮层内具有 I、II两型黏液腺及少量 I型颗粒腺。阔褶蛙背侧褶基本结构与常规皮肤一致(图 2, 表 1), 真皮层内分布有两类黏液腺, 其分布量各部位有所差异。其 I型颗粒腺缺失, 具有高度特化加厚并集中分布的特化颗粒腺, 其颗粒腺大小为  $(417.60 \pm 10.32) \mu\text{m}$  ( $n = 10$ ), 为常规皮肤颗粒腺的 5.16 倍。

沼蛙背部常规皮肤由表皮和真皮构成(图 1, 表 1), 表皮薄、细胞层数较少, 仅由 1层基细胞及 1~2层逐渐变移的扁平上皮细胞构成, 最外层为 1层角质化细胞层。真皮层内具有 II型黏液腺, 未见 I型黏液腺。偶见颗粒腺。沼蛙背侧褶基本结构与常规皮肤一致(图 2, 表 1), 但变移细胞层数较多, 加厚为 3层, 极少处局部甚至加厚至 4层; 与阔褶蛙相似的是, 该物种 I型颗粒腺缺失, 具高度特化加厚并集中分布的特化颗粒腺, 其颗粒腺大小为  $(284.86 \pm 7.49) \mu\text{m}$  ( $n = 10$ ), 为常规皮肤颗粒腺的 5.81 倍。所不同之处在于该物种真皮层内仅分布 II型这一种黏液腺。

## 3 讨论

### 3.1 蛙科背侧褶的结构差异

对于两栖动物皮肤而言, 同一部位的形态结构往往具有趋同或相似的内部结构, 即使不同科间也差异不大。Mailho-Fontana (2017) 对刃齿泽蟾科(Odontophryidae) 物种耳后腺的形态研究发现, 刀齿泽蟾科物种耳后腺和蟾蜍

科 (Bufonidae) 物种耳后腺的位置相近, 结构与蟾蜍耳后腺相似, 呈现典型的蜂窝状结构。但也有例外, 如曼蛙科 (Mantellidae) 不同物种的股腺结构, Glaw 等 (2000) 发现其内部解剖形态可分为 4 种类型, 表现出同一科内其外部形态相似, 内部结构却差异显著。

由本文研究结果可知, 蛙科物种背侧褶的结构多样性丰富, 典型属于后者, 其可以分为两种不同类型: 一类为脂肪增厚型, 以滇蛙与仙琴蛙为代表, 其背侧褶显微结构与常规皮肤相似, 腺体组成也基本相似, 皮肤增厚的主要原因是脂肪层的出现或增厚导致; 另一类为颗粒腺集中加长型, 以阔褶蛙与沼蛙为代表, 其背侧褶显微结构与常规背部皮肤总体相似, 背侧褶部位皮肤的隆起或增厚主要是由此部位的颗粒腺的特化、堆积和加长导致。外部形态相似、出现在同一部位的蛙科物种的背侧褶, 其内部结构具有明显差异, 揭示了该结构具有两个不同的进化方向。

### 3.2 蛙科物种背侧褶的功能和适应进化

不论其内部结构属于哪种类型, 蛙科物种背侧褶的共同特点是具有皮肤的隆起。这些部位分布有丰富的黏液腺和毛细血管, 推测隆起增大了皮肤与外界的接触面, 其共同的功能是增加了皮肤的气体和水盐交换能力, 但其增加量的大小需要进一步验证。

由于不同类型的背侧褶内部结构差异, 其功能也有所不同。脂肪对于两栖动物的功能主要为保温和储能, 参与繁殖供能、维持越冬, 并为机体代谢提供能量 (Noble 1931, Duellman et al. 1986), 因此, 对于脂肪增厚型背侧褶, 其丰富的脂肪主要功能为能量的储存; 对于颗粒腺增大型背侧褶, 大量颗粒腺特化聚集, 颗粒腺又叫“毒腺”, 其主要功能为免疫和反捕 (Brizzi et al. 2001, Lenzi-Mattos et al. 2005), 但本文特化颗粒腺的组化研究中并未观测到与免疫相关的酸性黏蛋白, 因此推测这类背侧褶腺体具有的主要功能为反捕。而另一点值得注意的是, 与阔褶蛙及沼蛙不同, 在滇蛙背侧褶

真皮层中, 极少见可以分泌脂类物质的颗粒腺 (Cannon et al. 1976), 仙琴蛙背侧褶真皮层中, 单位长度内黏液腺数量之和为 I 、 II 两型颗粒腺数量之和的 2.41 倍 ( $n = 30$ )。由此可见, 不同类型间腺体成分不但在结构上发生了变化, 在组成上也出现了差异。

蛙科部分物种背侧褶部位皮肤高起且色斑明显, 其是否像腹股沟腺一样对天敌有示警效果 (Lenzi-Mattos1 et al. 2005), 需要未来的进一步研究。

根据趾端横沟的有无, 刘承钊和胡淑琴 (1961) 将原广义蛙属 (*Rana* sensu lato) 划分为真蛙类和水蛙类两大类, 滇蛙属于真蛙类, 而本文研究对象中的后 3 者属于水蛙类的沼蛙群, 背侧褶的功能分化并不符合真蛙类和水蛙类的划分。同时, 其也不遵循分子系统学研究的结果 (Che et al. 2007, Pyron et al. 2011)。本文推断其可能与环境选择相关。滇蛙分布的海拔范围为 1 150 ~ 2 300 m, 仙琴蛙为 1 000 ~ 1 800 m (费梁等 2012), 两者均分布在中高山区域, 环境温度较低, 皮下脂肪组织丰富, 颗粒腺相对较少, 可能是对这一低温环境适应的结果; 而阔褶蛙与沼蛙皆生活在海拔较低的区域, 前者分布海拔范围为 30 ~ 1 500 m (费梁等 2012), 后者为 30 ~ 1 100 m, 主要在分布于平原、丘陵区。两者所处的环境温度均较高, 主要自然选择压力为天敌的捕食, 因而其背侧褶的颗粒腺特化、聚集并增大, 主要进化方向为反捕性防御。

### 3.3 蛙科背侧褶的特化

特化腺体是局限分布的具有某类腺体单位聚集并形成具有特定功能的组织结构 (Brizzi 2003)。由颗粒腺特化而成的大型腺体有耳后腺 (Jared et al. 2009)、股腺 (Vences et al. 2007)、胫腺 (Crook et al. 1981)、髂腺 (Gonçalves et al. 2008) 等。本研究发现, 阔褶蛙和沼蛙的背侧褶为典型的局限分布, 其真皮层疏松层均为颗粒腺的特化、增大和聚集, 主要具有反捕功能。根据 Brizzi 等 (2003) 的特化腺体判别标准,

可以将其定义为一类颗粒腺特化的腺体, 建议命名为背侧褶腺。而滇蛙及仙琴蛙背侧褶无大量腺体特化聚集, 仅在真皮层下存在较厚的储能脂肪层, 不能称为背侧褶腺。

综上, 蛙科物种相似部位着生形态接近的背侧褶, 其结构和功能并不一致。要进一步深入探讨该科各类群背侧褶的进化特点, 需要对该类群中其他属种的背侧褶形态结构和功能有全面认识和了解, 特别是内部的组织结构和功能。

**致谢** 本文得到了中国科学院成都生物研究所王斌和方光战先生以及中国计量学院徐爱春先生在标本采集方面的帮助, 在此致以衷心的感谢!

## 参 考 文 献

- Barthalmus G. 1994. Biological roles of amphibian skin secretions//Heatwole H, Barthalmus G T. *Amphibian Biology*. Volume I. Australia, New South Wales: Surrey Beatty and Sons, 382–410.
- Blaylock L A, Ruibal R, Platt-Aloia K. 1976. Skin structure and wiping behavior of Phyllomedusine frogs. *Copeia*, 1976(2): 283–295.
- Brizzi R, Delfino G, Jantra S, et al. 2001. The amphibian cutaneous glands: some aspects of their structure and adaptive role//Lymberakis P, Valakos E, Pafilis P, et al. *Herpetologica Candiana*. Greece: Natural History Museum of Crete, 43–49.
- Brizzi R, Delfino G, Jantra S. 2003. An overview of breeding glands//Jamieson B G M. *Reproductive Biology and Phylogeny of Anura*. Enfield, New Hampshire: Science Publishers, Incorporated, 253–317.
- Brizzi R, Delfino G, Pellegrini R. 2002. Specialized mucous glands and their possible adaptive role in the males of some species of *Rana* (Amphibia, Anura). *Journal of Morphology*, 254(3): 328–341.
- Cannon M S, Hostetler J R. 1976. The anatomy of the parotoid gland in Bufonidae with some histochemical findings. II. *Bufo alvarius*. *Journal of Morphology*, 148(2): 137–160.
- Che J, Pang J, Zhao H, et al. 2007. Phylogeny of Raninae (Anura: Ranidae) inferred from mitochondrial and nuclear sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(1): 1–13.
- Crook G A, Tyler M J. 1981. Structure and function of the tibial gland of the Australian frog *Limnodynastes dumerili* (Peters). *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 105(2): 49–52.
- Duellman W E, Trueb L. 1986. *Biology of Amphibia*. New York: Mograll-Hill Book Company, 408.
- Glaw F, Vences M, Gossmann V. 2000. A new species of *Mantidactylus* (subgenus *Guibemantis*) from Madagascar, with a comparative survey of internal femoral gland structure in the genus (Amphibia: Ranidae: Mantellinae). *Annals & Magazine of Natural History*, 34(7): 1135–1154.
- Gonçalves V F, de Brito-Gitirana L. 2008. Structure of the sexually dimorphic gland of *Cycloramphus fuliginosus* (Amphibia, Anura, Cycloramphidae). *Micron*, 39(1): 32–39.
- Houck L D, Sever D M. 1994. Role of the skin in reproduction and behavior//Heatwole H, Barthalmus G T. *Amphibian Biology*. Volume I. Australia, New South Wales: Surrey Beatty and Sons, 351–381.
- Jared C, Antoniazzi M M, Jordao A E C, et al. 2009. Parotoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): their structure and functioning in passive defence. *Toxicon*, 54(3): 197–207.
- Lenzi-Mattos R, Antoniazzi M M, Haddad C F B, et al. 2005. The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): structure, toxic secretion and relationship with deimatic behaviour. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 266(4): 385–394.
- Mailho-Fontana P L, Antoniazzi M M, Rodrigues I, et al. 2017. Parotoid, radial, and tibial macroglands of the frog *Odontophrynus cultripes*: differences and similarities with toads. *Toxicon*, 129: 123–133.
- Noble G K. 1931. *The Biology of the Amphibia*. New York: Gladwyn Kingsley Noble, 208, 280–281.
- Pyron R A, Wiens J J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of advanced frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(2): 543–583.
- Toledo R C, Jared C. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian

- venoms. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Physiology*, 111(1): 1–29.
- Vences M, Wahl-Boos G, Hoegg S, et al. 2007. Molecular systematics of mantelline frogs from Madagascar and the evolution of their femoral glands. *Biological Journal of the Linnean Society*, 92(3): 529–539.
- 蔡晓雯, 沈武成. 2011. 石蜡切片 H.E 染色的体会. *医药论坛杂志*, (1): 167.
- 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, 1–600.
- 费梁, 叶昌媛, 黄永昭, 等. 2005. 中国两栖动物检索及图解. 成都: 四川科学技术出版社, 1–340, 图版 I – X II.
- 韩天龙, 王敏, 红敏, 等. 2011. Masson 三色染色与 H.E 染色在豚鼠牙齿组织石蜡切片中的比较研究及应用. *中国畜牧兽医*, 38(3): 55–57.
- 李妍, 李丕鹏, 崔惠生, 等. 2013. 花背蟾蜍蝌蚪皮肤的结构与发育. *动物学杂志*, 48(4): 588–596.
- 刘承钊, 胡淑琴. 1961. 中国无尾两栖类. 北京: 科学出版社, 1–364.