

3 种无尾两栖类肾形态结构及其对环境的适应性

贾迪^① 李丕鹏^① 王勇^① 周正彦^① 苏若萍^② 韩琳^③ 陆宇燕^{①*}

① 沈阳师范大学 辽宁省生物进化与生物多样性重点实验室 沈阳 110034;

② 中国医科大学 细胞生物教研室 沈阳 110001;

③ 沈阳医学院 科学实验中心 沈阳 110034

摘要:从显微和亚显微结构以及酸性磷酸酶组织化学等方面,比较研究了史氏蟾蜍(*Bufo stejnegeri*)、黑斑侧褶蛙(*Pelophylax nigromaculata*)和中国林蛙(*Rana chensinensis*)肾实质,尤其是肾单位的结构特点。3种动物在非繁殖期活动于不同的生境类型,黑斑侧褶蛙属于水生类型,而史氏蟾蜍和中国林蛙属于偏陆栖类型。结果表明,3种动物在肾小体的分布格局、肾单位的数量、肾小管的长度、肾小球相对滤过面积、近端小管和远端小管基底面质膜迷路及质膜内褶等方面均存在着显著的差别。史氏蟾蜍肾具有最大的滤过和重吸收能力。说明3种无尾两栖类肾的形态结构多样性和特点是由于长期适应不同生境所造成。

关键词:两栖类;肾;形态学;环境适应性

中图分类号:Q246.7 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)02-22-10

The Micro- and Ultra-structural Characteristics of Kidneys in Three Anurans and Their Adaptation to the Habitats

JIA Di^① LI Pi-Peng^① WANG Yong^① ZHOU Zheng-Yan^①
SU Ruo-Ping^② HAN Lin^③ LU Yu-Yan^{①*}

① Center for Chinese Endemic Herp-breeding and Conservation Research and Liaoning Key
Lab of Evolution and Biodiversity, Shenyang Normal University, Shenyang 110034;

② Department of Cell Biology, China Medical University, Shenyang 110001;

③ Laboratory Center of Basic Medical Science, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China

Abstract: The structural characteristics of the kidney, especially the nephron of three anurans (*Rana chensinensis*, *Pelophylax nigromaculata* and *Bufo stejnegeri*) were comparatively observed by electron microscopy, light microscopy with H. E and Toluidine blue staining, and Acid phosphatase histochemical method. The three anurans live in different habitats, such as *P. nigromaculata* in pond (water type) and *B. stejnegeri* and *R. chensinensis* in wetland or hills (terrestrial type) after reproductive period. Obvious differences in distributing patterns of renal corpuscle, number of nephrons, length of renal tubules, the glomerulus filtrate areas, the plasma membrane infolding of proximal tubule and distal tubule were observed among these anurans. The kidney of *B. stejnegeri* had the strongest activity in the functions of filtration and re-absorption. This study indicates that the diversity and characteristics of kidney structures are resulted from the adaptation to their

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30470206, 30870276), 辽宁省优秀才支持计划和教育厅科研项目;

* 通讯作者, E-mail: luyuyan2001@ yahoo. com;

第一作者介绍 贾迪, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两栖爬行动物机能形态学; E-mail: caoer1111@ 163. com。

收稿日期: 2010-09-20, 修回日期: 2010-12-29

different life habitats.

Key words: Amphibians Anuran; Kidney; Structure; Environmental adaptation

肾不仅是脊椎动物体内重要的排泄器官,在排泄机体代谢废物和维持内环境方面发挥着重要作用,而且还具有调节水、电解质和酸碱平衡的作用。两栖动物是脊椎动物中最早尝试登陆的类群,现生的两栖动物具有复杂多样的生境类型,因此,其肾功能也相应地具有了适应性。虽然国内外学者对两栖类肾已有较多的研究,但对不同生境类型两栖类肾的比较研究则很少^[1-9]。为了更深入地探讨两栖类肾结构及功能与生态环境之间的适应关系,选择了3种不同生境类型的无尾两栖动物——史氏蟾蜍(*Bufo stejnegeri*)、黑斑侧褶蛙(*Pelophylax nigromaculata*)和中国林蛙(*Rana chensinensis*)作为观察对象,比较它们在显微、亚显微水平及细胞化学方面的异同及其对环境的适应,为两栖动物肾功能及进化研究提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材料 史氏蟾蜍 2008 年 4 月采于辽宁省庄河,体长(50.3 ± 4.5) cm;黑斑侧褶蛙 2009 年 7 月采于沈阳北陵公园,体长(62.42 ± 5.46) cm;中国林蛙 2009 年 10 月采自山东省青岛崂山,体长(44.23 ± 2.33) cm。野外采集后在实验室水族箱内模拟生态环境中饲养,以水丝蚓和面包虫喂养。

1.2 实验方法 在当年的 10~11 月分别随机选取雄性性成熟个体各 6 只,乙醚麻醉,剖开体腔,将两侧肾整体取出,立即投入 10% 的中性福尔马林溶液中固定 24 h,常规石蜡包埋,切片厚度为 7 μm。两侧肾分别纵切和横切,并在近肾中部连续切片。H.E 染色、酸性磷酸酶(ACP)及甲苯胺蓝染色。奥林巴斯 BX51-DP71 显微镜观察和照相,运用 Image-Pro Express 6.0 图像分析软件进行测量。间隔 3~5 张组织切片选取一张进行肾小体和肾小管的测量,每个肾测量 10 张切片,测量数据均以平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示。采用 SPSS 16.0 软件包

对实验数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)。电镜材料用 2.5% 戊二醛固定,1% 锇酸后固定,LKD-V 型超薄切片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,日立 H-7650 透射电镜观察和照相。

1.3 统计分析 由于 3 个物种体长之间存在着明显的差异,而体长对肾、肾小体和肾小管管径等大小均存在着一定的影响。为了避免由此引起的分析上的偏差,除肾小球表面积外,其他测量数据均以相对值表示,具体计算方法如下。

肾小球表面积(μm²) = 4 × 3.14 × (肾小球长径/2) × (肾小球短径/2);

肾小体密度(个/mm²) = 肾小体个数/肾纵切面积;

肾小体相对面积(%) = (肾小体面积/肾纵切面积) × 100;

嗜酸性颗粒相对直径 = 嗜酸性颗粒直径/近端小管上皮高度平均值;

肾相对总滤过面积(%) = 肾小球表面积总和/肾纵切面积 × 100;

肾小球相对滤过面积(%) = (单个肾小球表面积/肾纵切面积) × 100;

肾小囊相对宽 = 肾小囊腔宽/[(肾小体长径 + 短径)/2];

近端小管相对管径 = 近端小管管径/[(肾小体长径 + 短径)/2];

远端小管相对管径 = 远端小管管径/[(肾小体长径 + 短径)/2];

间段相对管径 = 间段管径/[(肾小体长径 + 短径)/2];

近端小管细胞相对高 = 近端小管细胞高/[(肾小体长径 + 短径)/2];

远端小管细胞相对高 = 远端小管细胞高/[(肾小体长径 + 短径)/2];

间段细胞相对高 = 间段细胞高/[(肾小体长径 + 短径)/2]。

2 结 果

中国林蛙、黑斑侧褶蛙和史氏蟾蜍的肾均位于体腔中后部脊柱两侧,外形呈前宽后窄的长条状,暗红色。显微观察可见,3种动物肾实质主要由肾单位构成,这是肾的基本结构和功能单位。肾单位包括肾小体和肾小管两部分,其中肾小体可分为由毛细血管缠绕而成的肾小球及包围其外的由肾小管末端膨大而成的肾小囊,即鲍曼氏囊;而肾小管可分为近端小管、远端小管及连接两者的间段。3种动物肾结构的差异总结如下。

2.1 肾小体 光镜下,黑斑侧褶蛙、中国林蛙和史氏蟾蜍的肾小体主要呈单个分布,仅有少数两两相对或3个聚集在一起(图版 I:1~3)。

中国林蛙的肾小体主要分布在肾内侧(近脊柱)的狭窄区域内,且集中在肾的前2/3段;黑斑侧褶蛙的肾小体主要集中在肾纵切的中央近腹侧面,在肾的前、后1/4部分极少有分布;而史氏蟾蜍的肾小体在肾中基本呈均匀分布,仅肾的前、后两端极少区域缺少(图1)。

其次,3个物种在肾小体密度及肾小体相对大小上也存在明显差异(表1)。肾小体密度依次为:史氏蟾蜍>黑斑侧褶蛙>中国林蛙,即偏陆生的史氏蟾蜍和中国林蛙的肾小体密度分别占据了最大值与最小值,而偏水生的黑斑侧褶蛙介于它们之间,且史氏蟾蜍的肾小体密度与中国林蛙及黑斑侧褶蛙的肾小体密度之间呈极显著性差异,而中国林蛙的肾小体密度与黑斑侧褶蛙的肾小体密度呈显著性差异。

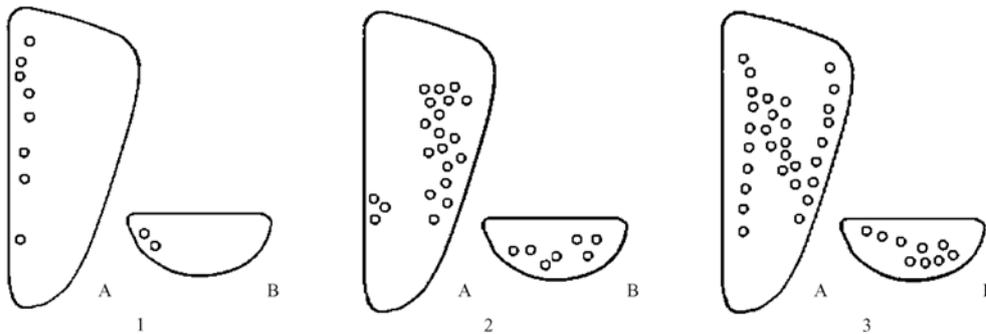


图1 肾小体在肾中的分布

Fig. 1 The distribution pattern of renal corpuscle in kidney

1: 中国林蛙; 2: 黑斑侧褶蛙; 3: 史氏蟾蜍。

A: 左肾纵切面, 左边为肾内侧, 右边为外侧; B: 左肾中部横切面, 上方为背侧面, 下方为腹侧面。

1. *Rana chensinensis*; 2. *Pelophylax nigromaculata*; 3. *Bufo stejnegeri*。

A. Longitudinal section of the left kidney, the left is medial zone and the right is lateral zone;

B. Transverse section of the left kidney, the upper is dorsal zone and the lower is ventral zone.

3个物种的肾小体相对面积与肾小体密度呈负相关关系,即中国林蛙>黑斑侧褶蛙>史氏蟾蜍。史氏蟾蜍的肾小体相对面积与中国林蛙及黑斑侧褶蛙的肾小体相对面积之间存在极显著性差异,中国林蛙的肾小体相对面积与黑斑侧褶蛙肾小体相对面积之间为显著性差异(表1)。

肾小球的滤过功能是指循环血液经过肾小球毛细血管时,血浆中的水和分子大小不同的

溶质滤入肾小囊形成超滤液(原尿)的功能,代表了肾清除代谢产物、毒物和体内过多水分的功能。肾小球的有效滤过面积是决定其滤过能力的最主要的因素^[12]。以肾小球的表面积来预示肾小球的有效滤过面积,结果表明,单个肾小球相对滤过面积大小依次为中国林蛙>史氏蟾蜍>黑斑侧褶蛙,且只有黑斑侧褶蛙与中国林蛙、史氏蟾蜍之间呈极显著性差异,而中国林蛙与史氏蟾蜍之间差异不显著(表1)。但是,

由于史氏蟾蜍具有极大的肾小球密度(即肾小球数量多),因此在肾相对总滤过面积上远远大于其他两种蛙,并与其呈极显著性差异。虽然中国林蛙的肾小球滤过面积大于黑斑侧褶蛙

蛙,但由于肾小体密度较小,故其肾相对总滤过面积显著小于黑斑侧褶蛙。另外,黑斑侧褶蛙的肾小囊宽度最大,中国林蛙只是黑斑侧褶蛙的 57%,而史氏蟾蜍仅是黑斑侧褶蛙的 28%。

表 1 黑斑侧褶蛙、中国林蛙和史氏蟾蜍肾小体相关值的比较

Table 1 Comparison of the values related to renal corpuscles among *Pelophylax nigromaculata*, *Rana chensinensis* and *Bufo stejnegeri*

	黑斑侧褶蛙 <i>Pelophylax nigromaculata</i>	中国林蛙 <i>Rana chensinensi</i>	史氏蟾蜍 <i>Bufo stejnegeri</i>
肾小体数(个) Number of renal corpuscle	36.30 ± 2.52	25.70 ± 3.06	55.30 ± 7.10
肾小体密度(个/mm ²) Density of renal corpuscle(number/mm ²)	4.85 ± 0.29	3.39 ± 0.27 ^a	7.16 ± 0.68 ^{df}
肾小体相对面积 Relative area of renal corpuscle	0.633 ± 0.127	0.709 ± 0.128 ^a	0.532 ± 0.098 ^{df}
肾小囊相对宽度 Relative width in bowman's corpuscle	0.107 ± 0.020	0.061 ± 0.013 ^b	0.031 ± 0.008 ^{df}
肾小球相对滤过面积 Relative filtration area in renal glomerulus	0.165 ± 0.032	0.204 ± 0.037 ^b	0.197 ± 0.035 ^d
肾相对总滤过面积 Kidney's relative filtration area	0.605 ± 0.017	0.518 ± 0.010 ^a	1.075 ± 0.041 ^{df}

中国林蛙与黑斑侧褶蛙比较;a 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, b 表示 $P \leq 0.01$; 史氏蟾蜍与黑斑侧褶蛙比较;c 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, d 表示 $P \leq 0.01$; 史氏蟾蜍与中国林蛙比较;e 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, f 表示 $P \leq 0.01$ 。

Comparison between *Rana chensinensis* and *Pelophylax nigromaculata*; a indicates $0.01 < P \leq 0.05$, b indicates $P \leq 0.01$; Comparison between *Bufo stejnegeri* and *P. nigromaculata*; c indicates $0.01 < P \leq 0.05$, d indicates $P \leq 0.01$; Comparison between *B. stejnegeri* and *R. chensinensis*; e indicates $0.01 < P \leq 0.05$, f indicates $P \leq 0.01$.

2.2 近端小管 近端小管是肾小管的起始端,也是最长最粗的一段。构成近端小管的细胞为单层上皮,细胞胞体饱满,呈锥形,胞质嗜酸性,细胞界限模糊;细胞游离面具有发达的刷状缘,故其腔很小,甚至很难分辨管腔的存在;核圆形或卵圆形,深染,位于基底部(图版 I:1~3)。在细胞的游离面和胞核间可见大量特殊染色的颗粒。H. E 染色呈棕褐色,甲苯胺蓝染色呈浅蓝色,酸性磷酸酶组织化学染色显示这些颗粒呈阳性。3 种动物中,以史氏蟾蜍的颗粒直径和密度最大,显色最强(图版 I:4~6,表 2)。

电镜下,3 个物种的近端小管细胞游离面均具有密集的微绒毛,其基部下方便有细胞进行胞饮而成的顶小管和顶小泡。其中,史氏蟾蜍最多、最大,中国林蛙其次,而黑斑侧褶蛙的最少,也最小。在顶小管和顶小泡的周围及下方,

可见有较多的初级溶酶体和次级溶酶体结构,此现象与光镜下嗜伊红颗粒分布位置一致(图版 I:7~9)。此现象提示,近端小管细胞游离面进行的对大分子物质的摄取功能,在 3 个物种间也存在着明显的差别。

相邻近端小管细胞间均有侧突彼此交错形成嵌合,史氏蟾蜍侧突较细,然而数量最多,所形成的嵌合区间最宽;黑斑侧褶蛙次之,中国林蛙的最小。在细胞的基底部,广泛存在着由质膜内陷而成的膜迷路,黑斑侧褶蛙和中国林蛙的膜迷路相对简单而疏松,史氏蟾蜍的膜迷路则较为复杂而致密(图版 I:10~12)。观察结果提示,史氏蟾蜍的近端小管对大分子物质及水分的重吸收功能在三者间是最强的,而中国林蛙最弱。

3 种动物在近端小管的相对直径和上皮细

胞的相对高度方面相互没有显著性差异(表 2)。

2.3 间段 间段的管腔较狭窄,由 4~6 个单层立方上皮细胞围绕而成,胞质着色较浅,核扁圆形,近腔面(图版 I:1~3)。在 3 种动物中,

以史氏蟾蜍间段的相对直径和细胞相对高度最小,与两种蛙的分别呈极显著性和显著性差异;而中国林蛙则介于史氏蟾蜍和黑斑侧褶蛙之间,且只有间段的相对直径与黑斑侧褶蛙之间呈极显著性差异(表 2)。

表 2 黑斑侧褶蛙、中国林蛙和史氏蟾蜍肾小管相关值的比较($n = 20, \text{Mean} \pm \text{SD}$)
Table 2 Comparison of the values related to renal tubules among *Pelophylax nigromaculata*, *Rana chensinensis* and *Bufo stejnegeri*

	黑斑侧褶蛙 <i>Pelophylax nigromaculata</i>	中国林蛙 <i>Rana chensinensi</i>	史氏蟾蜍 <i>Bufo stejnegeri</i>
近端小管相对直径 Relative diameter of proximal segment	0.482 ± 0.032	0.493 ± 0.025	0.500 ± 0.050
近端小管细胞相对高 Relative height of cell in proximal segment	0.240 ± 0.016	0.250 ± 0.010	0.250 ± 0.020
嗜酸性颗粒相对直径 Relative diameter of special granules	0.027 ± 0.004	0.029 ± 0.008	0.032 ± 0.007 ^{df}
间段相对直径 Relative diameter of intermediate segment	0.282 ± 0.046	0.246 ± 0.034 ^b	0.195 ± 0.020 ^{df}
间段细胞相对高 Relative height of cell in intermediate segment	0.052 ± 0.008	0.050 ± 0.010	0.046 ± 0.010 ^{ce}
远端小管相对直径 Relative diameter in distal segment	0.441 ± 0.055	0.470 ± 0.020 ^a	0.413 ± 0.049 ^{ef}
远端小管细胞相对高 Relative height of cell in distal segment	0.114 ± 0.018	0.113 ± 0.024	0.142 ± 0.027 ^{df}
远端与近端纵切面数量比 The ration of No distal segment/No. proximal segment	0.370 ± 0.014	0.520 ± 0.050 ^a	0.610 ± 0.020 ^{de}
远端与间段纵切面数量比 The ration of No distal segment/No intermediate segment	6.14 ± 0.30	27.37 ± 8.80 ^b	19.99 ± 5.13 ^c
近段与间段纵切面数量比 The ration of No proximal segment/No intermediate segment	16.57 ± 1.16	51.64 ± 11.29 ^b	32.54 ± 7.40 ^{ce}

中国林蛙与黑斑侧褶蛙比较;a 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, b 表示 $P \leq 0.01$; 史氏蟾蜍与黑斑侧褶蛙比较;c 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, d 表示 $P \leq 0.01$; 史氏蟾蜍与中国林蛙比较 e 表示 $0.01 < P \leq 0.05$, f 表示 $P \leq 0.01$ 。

Comparison between *Rana chensinens* and *Pelophylax nigromaculata*; a indicates $0.01 < P \leq 0.05$, b indicates $P \leq 0.01$; Comparison between *Bufo stejnegeri* and *P. nigromaculata*; c indicates $0.01 < P \leq 0.05$, d indicates $P \leq 0.01$; Comparison between *B. stejnegeri* and *R. chensinens*; e indicates $0.01 < P \leq 0.05$, f indicates $P \leq 0.01$.

2.4 远端小管 远端小管管径明显小于近端小管,且有清晰的管腔。远端小管由立方状上皮细胞围成,细胞界限较清晰;胞质嗜酸性,着色较浅;细胞游离面无明显刷状缘;细胞基底部可见明显的纵纹;胞核深染位于近腔侧(图版 I:1~3)。

电镜下,近端小管细胞游离面或多或少分

布有短小的质膜突起,相邻细胞间未见明显的嵌合现象,基底面均有较丰富的质膜内褶及分布于其间的线粒体。史氏蟾蜍的远端小管基底部的质膜内褶大多垂直于基膜,内褶长而密集排列,分布于质膜内褶间的线粒体也呈较长的杆状线粒体且数量较多。中国林蛙和黑斑侧褶蛙的基底部质膜内褶在数量上及高度上均不及

史氏蟾蜍,其排列不甚规则,分布于质膜内褶间的线粒体多呈长椭圆形。相对而言,中国林蛙的质膜内褶及线粒体的分布均要略多于黑斑侧褶蛙(图版 I:10~12)。

虽然史氏蟾蜍远端小管的相对直径在 3 种动物中最小,但其远端小管上皮细胞的相对高度却是最高,且在远端小管和近端小管数量的比值上也是最大的,与其他两种间的差异均具有统计学意义。中国林蛙远端小管虽然在细胞相对高度上与黑斑侧褶蛙近似,但在远端小管相对直径和远端小管与近端小管的数量比值上两者却存在显著性差异。尤其在远端小管和近端小管数量比值上远大于黑斑侧褶蛙(表 2)。由此可见,偏陆生的史氏蟾蜍和中国林蛙无论在远端小管结构特点还是测量数据上均表现得比水生的黑斑侧褶蛙发达,其中史氏蟾蜍更甚,说明他们具有较强大的水分重吸收功能。

肾切片上观察到的近端小管、远端小管及间段的切面数量与其长度有着密切的关系,即切片上能观察到的数量越多,相应的肾小管部分也就越长。这可以从一个侧面反应这部分肾小管的功能状况。近端小管与间段的比值、远端小管与间段比值一致地显现了中国林蛙 > 史氏蟾蜍 > 黑斑侧褶蛙的趋势(表 2)。

2.5 肾中的淋巴髓样组织 在黑斑侧褶蛙、中国林蛙和史氏蟾蜍的肾实质中,均可观察到淋巴髓样结构。淋巴髓样结构中均能观察到小淋巴细胞、大淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞,以及少量存在于微血窦中的红细胞。3 种动物的淋巴髓样结构有一定差异。史氏蟾蜍的淋巴髓样结构的数量、面积和其中包含的细胞均为最少,且仅出现在肾背面;黑斑侧褶蛙的淋巴髓样结构主要分布在近端小管和肾小体的附近,数量多于史氏蟾蜍;而中国林蛙肾中淋巴髓样结构最多,在整个肾纵切或者横切面上呈较为均匀的分布,在近端小管、远端小管和肾小体附近更为集中。

另外,甲苯胺蓝染色后可以显示出在中国林蛙的淋巴髓样结构中分布着较多的肥大细胞(图版 I:7),而其他两者较少。

3 讨 论

黑斑侧褶蛙、中国林蛙和史氏蟾蜍的肾结构与已报道的两栖类肾结构基本一致^[1-9]。但三者的栖息环境有着明显的不同^[10],史氏蟾蜍主要栖息于海拔 350~700 m 山区溪流附近的灌丛下或乱石间,属偏陆生物种;黑斑侧褶蛙则多栖于河流、池塘、稻田的水中,白天静伏于水草间或岸边的草丛中,夜晚活动,属偏水生物种;中国林蛙多喜栖息于细小河流、池塘等水域附近的针、阔叶混合林^[11],虽属陆生类型,但对水的依赖性应介于史氏蟾蜍和黑斑侧褶蛙之间。在不同的生境条件下,两栖动物要很好地维持自身稳定的体液渗透压,不仅需要有良好的清除血液中代谢终产物的结构基础——肾小球,更重要的是需要有能够依据体内对水分的需求,恰到好处的对原尿中的水分及无机盐离子进行重吸收的肾小管。只有两者功能的协调,才能保障两栖类与其栖息环境之间的适应。

3.1 肾小体结构与栖息环境的适应性 两栖动物的肾均属于中肾,肾小体的结构基本相同,均有由毛细血管上皮细胞和肾小囊脏层上皮细胞构成的对血液有滤过作用的血尿屏障,而对血液的过滤功能高低主要取决于肾小球血尿屏障的有效滤过面积^[12]。在实验观察的 3 种两栖动物中,偏陆生的史氏蟾蜍肾相对总滤过面积分别是中国林蛙和黑斑侧褶蛙的 207.53% 和 177.69%,显示了其肾小体对血液有着极强的滤过作用,可以将血液中代谢废物最大量地通过血尿屏障过滤进入肾小囊腔形成原尿,之后通过肾小管的重吸收,达到排除废物保留水分,维持正常的体液渗透压。黑斑侧褶蛙基本生活于水环境中,而其皮肤结构特性有利于水分子大量渗入体内。因此,黑斑侧褶蛙肾的主要功能是将体内过多的水分排出体外,故其肾相对总滤过面积也较大,以满足对血液中过多的水分的滤过,而后配以肾小管适当的重吸收,可将体液渗透压维持在正常范围内。中国林蛙生活在水域边缘的茂密树林下,生活环境较为湿润,不存在有过多的水分通过皮肤渗透进入

体内,故明显减轻了肾在调节自身渗透压方面的滤过压力,而其肾相对总滤过面积是三者中最小的,也从一个侧面反应出了这种结构与功能及环境的适应性。

3.2 肾小管结构与栖息环境的适应性 在肾小体完成了对血液的滤过作用后,是否能很好地将原尿中水分及无机盐进行重吸收,与肾小管的结构特征有着密切的关系。对于两栖类来说,由于缺少了哺乳动物肾在调节髓质渗透压方面起重要作用的髓袢,故近端小管和远端小管的结构就尤为重要。肾小管细胞的质膜内褶及质膜内褶形成的迷路是大多数需要完成水分吸收和分泌的细胞固有结构^[9,13-15],它们的出现一方面增加了细胞间及细胞与基膜间的空间,另一方面提供了大量的膜面积,促使与之相关的离子泵数量也有明显增加,有利于水分在细胞膜内外的运输。如在近端小管基底部的膜迷路及细胞间突起的胞膜上存在着大量的 Na^+ 泵,可将由近端小管细胞从原尿中吸收进入细胞的 Na^+ 泵出细胞,并且由于相邻细胞游离面存在紧密连接,这样 Na^+ 的主动运输就可以大幅度地增加细胞外空间中的离子浓度,进而在近端小管管腔和其细胞外空间之间形成有利于水分吸收的离子浓度差^[12]。

史氏蟾蜍的肾小管细胞表现出了极端适应水分重吸收的结构基础。3种动物近端小管的相对直径和细胞的相对高度差异不明显,说明它们在上述方面是比较一致的。而最明显的差别则是史氏蟾蜍近端小管细胞基底部的膜迷路和细胞间的侧突最为复杂,所形成的细胞外空间也最大,其结果就是可以产生最有利于水分重新吸收的小管内外渗透压差,提高了水分的重吸收能力。史氏蟾蜍在远端小管细胞底部存在着密集的质膜内褶与发达的线粒体,也为水分和无机物的重吸收提供了较强的结构基础。同时,在肾纵切面上远端小管与近端小管的比值上也提示史氏蟾蜍具有更长的远端小管,这说明水分的重吸收的过程长于其他两种蛙。上述几方面均提示了在远离水域环境中生活的史氏蟾蜍可以通过肾的重吸收作用有效地

保留自身体内的水分,以适应干燥的环境条件。中国林蛙肾小管结构及各项数据统计虽然与黑斑侧褶蛙的差别不太显著,但其本身对水分的排泄压力也不是十分大,而且有较长的远端小管(肾纵切面上远端小管与近端小管的比值大于黑斑侧褶蛙,且呈显著性差异),即具有比黑斑侧褶蛙更有利于水分吸收的结构基础,保证了其对环境的适应性。

3.3 淋巴髓样结构的种间差异 两栖类肾实质中存在淋巴髓样结构^[7-8,16],但在复杂多样的两栖动物类群中,这一结构的特点及其系统发生和生态适应趋势尚无研究。本文通过对蟾蜍科蟾蜍属的史氏蟾蜍以及蛙科侧褶蛙属的黑斑侧褶蛙和林蛙属的中国林蛙肾的观察表明,淋巴髓样结构在上述3种动物之间存在着明显的形态结构和分布格局的差异。这种差异是否为对不同生境的适应性结果,尚难下结论。

3.4 特殊颗粒与近端小管的功能 本文在3种无尾类肾的近端小管细胞中均观察到许多染色特殊的颗粒,这与前人报道鱼肾近端小管中的嗜伊红颗粒相似^[17-19]。关于这一结构的性质和功能,Ogawa^[17]认为其源起于线粒体,是线粒体转化形成的结构;而韩金珠等^[18]和Bettina等^[19]认为是次级溶酶体,是上皮细胞重吸收蛋白质等大分子物质形成的小液泡与初级溶酶体形成的次级溶酶体。在本实验中,3种动物的近端小管细胞的游离面均有溶酶体或类似的致密颗粒样结构,与光镜下在该区域观察到的颗粒形状及大小相似。说明无尾类与鱼类相同,在近端小管的细胞中都存在光镜下可以观察到的颗粒结构。

在3种动物中,近端小管细胞颗粒的染色性质则有所不同。史氏蟾蜍的颗粒表现出最强的酸性磷酸酶活性,并可以被甲苯胺蓝染成浅蓝色;而中国林蛙的颗粒酸性磷酸酶活性较弱,同时甲苯胺蓝染色基本不着色。黑斑侧褶蛙在上述两种染色中均为阴性。这说明3种动物肾近端小管的颗粒内含物及其性质具有明显的不同,提示应从系统发育的角度进一步探讨其形态结构及性质的多样性。

参 考 文 献

- [1] Farias A, Fiorito L E, Hermida G N. Structure of the *Bufo arenarum* kidney: renal corpuscle, neck segment and proximal tubule. *Biocell*, 1998, 22(3): 187 - 196.
- [2] Farias A, Hermida G N, Fiorito L E. Structure of the kidney of *Bufo arenarum*: Intermediate segment, distal tubule and collecting tubule. *Biocell*, 2003, 27(1): 19 - 28
- [3] Fenoglio C, Vaccarone R, Chiari P, et al. An ultrastructural and cytochemical study of the mesonephros of *Rana esculenta* during activity and hibernation. *Eur J Morph*, 1996, 34(1): 107 - 121.
- [4] Uchiyama M, Murakami T, Yoshizawa H, et al. Structure of the kidney in the crab-eating frog, *Rana cancrivora*. *J Morph*, 1990, 204(1): 147 - 156.
- [5] Møbjerg N, Larsen E H, Jespersen Å. Morphology of the nephron in the mesonephros of *Bufo bufo* (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 1998, 79(1): 31 - 50.
- [6] Meseguer J, Agulleiro B, Llombart B A. Structure and ultrastructure of the frog's nephron (*R. ridibunda*). II. Proximal convoluted tubule, distal convoluted tubule and segment of connection. *Morfología Normal Y Patológica Sec A*, 1978, 2: 41 - 60.
- [7] 敖磊, 张耀光, 王志坚, 等. 中华蟾蜍泌尿系统组织学的初步研究. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2002, 27(3): 390 - 394.
- [8] 李朝波, 高登慧, 李秀波. 黑斑侧褶蛙肾的组织结构. *动物学杂志*, 2010, 45(2): 134 - 137.
- [9] 潘鸿春, 吴孝兵. 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*, 2002, 8(3): 262 - 266.
- [10] 叶昌媛, 费梁, 胡淑琴. 中国珍稀及经济两栖动物. 成都: 四川科学技术出版社, 1993: 212 - 215.
- [11] 王寿兵, 屈云芳, 经佐琴, 等. 中国林蛙幼体适宜生存环境的探讨. *动物学杂志*, 1997, 32(1): 38 - 41.
- [12] 成令忠, 王一飞, 钟翠平. 组织胚胎学. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 281 - 284.
- [13] Minoru V. Structure of the kidney in the crab-eating frog *Rana cancrivora*. *Morphol*, 1990, 204(2): 147 - 149.
- [14] Roberts J S, Schmidt-Nielsen B. Renal ultrastructure and excretion of salt and water by three terrestrial lizards. *Amer Physiol*, 1966, 211(2): 476 - 479.
- [15] Arvid B M. Quantitative ultrastructure and functional correlates in proximal tubule of *Ambystoma* and *Necturus*. *Amer Physiol*, 1984, 246: F710 - F724.
- [16] 杨冬梅, 许乐仁, 谢华兴, 等. 牛蛙的解剖组织学观察. *山地农业生物学报*, 2007, 26(2): 179 - 182.
- [17] Ogawa M. Comparative study on the internal structure of the teleostean kidney. *Sci Rep Saitama Univ*, 1962, Ser B4: 107 - 130.
- [18] 韩金珠, 汪艳丽, 李艳萍. 尼罗罗非鱼显微结构和酶组化反应观察. *河南水产*, 1997, 3: 29 - 31.
- [19] Bettina G, Richard D L. Renal morphology of fresh water trout. *Amer J Anat*, 1975, 143: 93 - 114.

图 版 说 明

3 种无尾两栖类肾的显微结构及超微结构

1. 中国林蛙肾显微结构, H. E 染色; 2. 黑斑侧褶蛙肾显微结构, H. E 染色; 3. 史氏蟾蜍肾显微结构, H. E 染色; 4. 史氏蟾蜍近端小管细胞中的特殊颗粒, H. E 染色; 5. 史氏蟾蜍近端小管细胞中的特殊颗粒, 甲苯胺蓝染色; 6. 史氏蟾蜍近端小管细胞中的特殊颗粒, 酸性磷酸酶组化染色; 7. 中国林蛙肾淋巴髓样结构, 甲苯胺蓝染色; 8. 黑斑侧褶蛙肾淋巴髓样结构, 甲苯胺蓝染色; 9. 史氏蟾蜍肾淋巴髓样结构, 甲苯胺蓝染色。1~9. 标尺 = 40 μm 。10. 中国林蛙近端小管上皮细胞; 11. 黑斑侧褶蛙近端小管上皮细胞; 12. 史氏蟾蜍近端小管上皮细胞; 13. 中国林蛙远端小管上皮细胞; 14. 黑斑侧褶蛙远端小管上皮细胞; 15. 史氏蟾蜍远端小管上皮细胞。

Explanation of Plate

Microstructures and ultrastructure of kidneys in 3 anurans

1. Microstructure of kidney in *Rana chensinensis*, H. E staining; 2. Microstructure of kidney in *Pelophylax nigromaculata*, H. E staining; 3. Microstructure of kidney in *Bufo stejnegeri*, H. E staining; 4. The cellular granules of proximal tubule in *B. stejnegeri*, H. E staining; 5. The cellular granules of proximal tubule in *B. stejnegeri*, ACP histochemical staining; 6. The cellular granules of proximal tubule in *B. stejnegeri*, toluidine blue staining; 7-9. The lymphomyeloid tissue of the kidney in *R. chensinensis*, *P. nigromaculata* and *B. stejnegeri* respectively; 1-9. Bar = 40 μm ; 10-12. The cells of the proximal tubule in *R. chensinensis*, *P. nigromaculata* and *B. stejnegeri* respectively; 13-15. The cells of the distal tubule in *R. chensinensis*, *P. nigromaculata* and *B. stejnegeri* respectively.

RC: 肾小体; P: 近端小管; D: 远端小管; I: 间段; AG: 嗜伊红颗粒; L: 淋巴细胞; M: 肥大细胞; N: 细胞核; BM: 基膜; PM: 细胞膜; BI: 质膜内褶; BIL: 质膜内褶迷路; M: 线粒体; SOC: 细胞外空间; MV: 微绒毛。

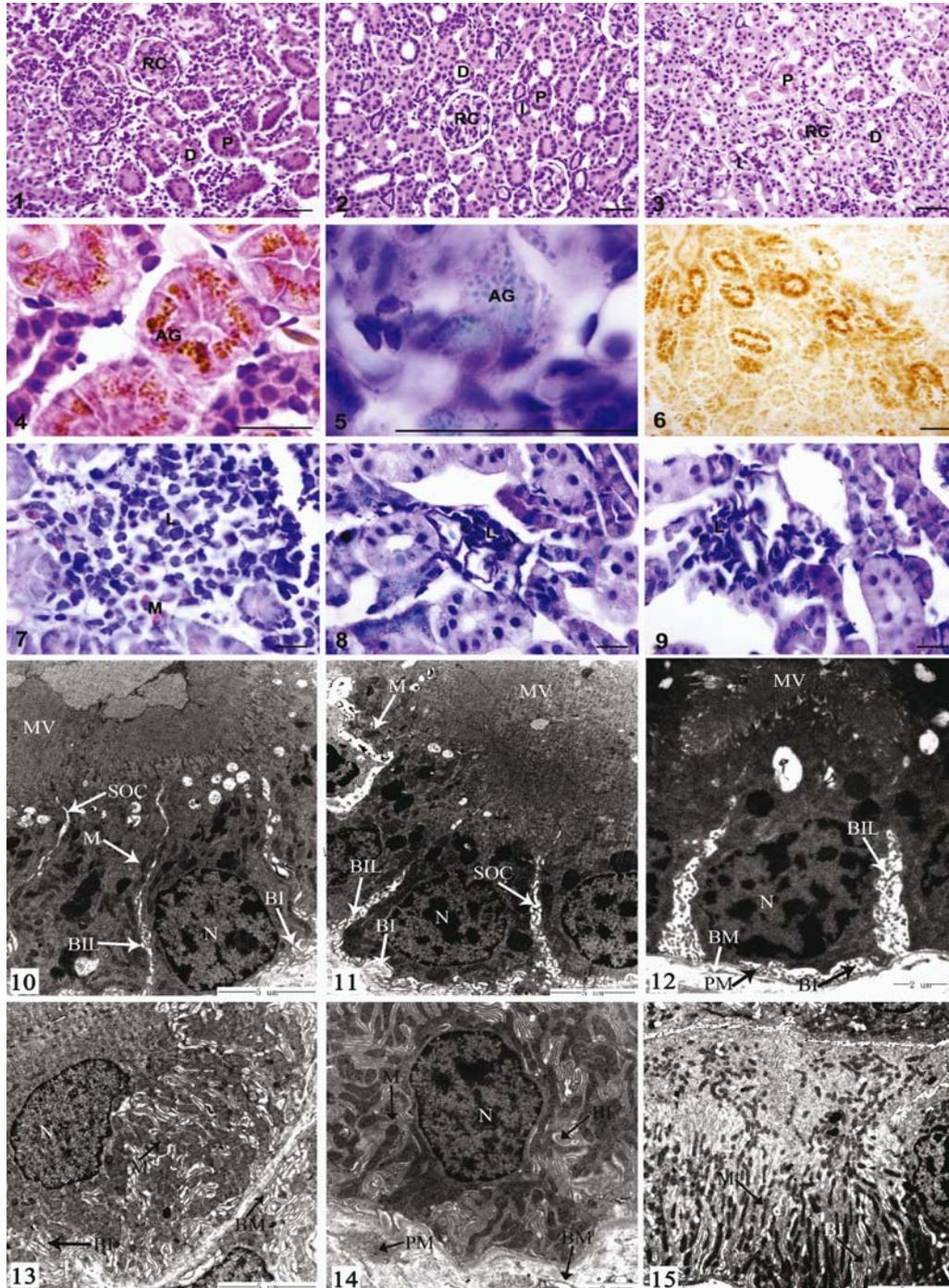
RC: Renal corpuscle; P: Proximal segment; D: Distal segment; I: Intermediate segment; AG: Acidophilic granules; L: Lymphocyte; M: Mast cells; N: Nucleus; BM: Basal membrane; PM: Plasma membrane; BI: Basal plasma infolding; BIL: Basal plasma membrane infolding labyrinth; M: Mitochondria; SOC: Space outside cell; MV: Microvilli.

贾 迪等:3 种无尾两栖类肾形态结构及其对环境的适应性

图版 I

JIA Di *et al.* :The Micro-and Ultra-structural Characteristics of Kidneys in Three Anurans
and Their Adaptation to the Habitats

Plate I



图版说明见文后