

В. В. Ярцев, В. Н. Куранова, Г. С. Мартынова

МОРФОЛОГИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ УГЛОЗУБОВ РОДА *SALAMANDRELLA* (CAUDATA: HYNOBIIIDAE)*

Морфология сперматозоидов двух криптических видов хвостатых земноводных рода *Salamandrella* исследована с помощью световой микроскопии. Изучена изменчивость длины акросомы, длины, ширины и объема головки, длины хвоста и общей длины сперматозоидов *S. keyserlingii* с юго-востока Западной Сибири и северо-востока Азии и самцов *S. tridactyla* с юга Дальнего Востока. Результаты дисперсионного и факторного анализов данных параметров показали высокую степень сходства на индивидуальном, популяционном и видовом уровнях. Отсутствие межвидовых различий в морфологии сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* согласуется с существующими в литературе сведениями о возможности лабораторной и естественной гибридизации между видами. Библиогр. 36 назв. Ил. 4. Табл. 4.

Ключевые слова: криптические виды, земноводные, углозубы, *Salamandrella*, морфология сперматозоидов.

V. V. Yartsev, V. N. Kuranova, G. S. Martynova

SPERM MORPHOLOGY IN TWO CRYPTIC SPECIES OF THE GENUS *SALAMANDRELLA* (CAUDATA: HYNOBIIIDAE)

National Research Tomsk State University, 36, Lenina pr., Tomsk, 634050, Russian Federation;
vadim_yartsev@mail.ru, kuranova49@mail.ru, galya-platonova1993@mail.ru.

We conducted a light microscopy study of the sperm morphology in two species of salamanders of the genus *Salamandrella*. We analysed the acrosome length, width, length and volume of the head, tail and total sperm lengths. Via canonical and factor analyses, we compared sperm morphology in males of *S. keyserlingii* from southeast of Western Siberia and northeast of Asia and in males of *S. tridactyla* from south of Russian Far East. Both analyses showed a high degree of similarity of sperm parameters in the individual, population and species levels. The absence of marked interspecific differences in sperm morphology between these species is consistent with literature data on the possibility of interspecific hybridisation in laboratory and natural conditions. Refs 36. Figs 4. Tables 4.

Keywords: cryptic species, amphibians, hynobiids, *Salamandrella*, sperm morphology.

Введение

Семейство Углозубые, Hynobiidae (Amphibia: Caudata, Cryptobrachioidea), представляет собой обширную группу хвостатых земноводных, обитающих преимущественно на территории Азии [1]. Комплексное исследование систематики и филогенетических связей углозубых показало наличие значительного числа криптических видов в различных группах данного семейства [2]. Одна из таких групп — углозубы рода *Salamandrella* Dybowski, 1870. В пределах данного рода выделяют два вида — углозуб сибирский, *S. keyserlingii* Dybowski, 1870, и приморский, *S. tridactyla* Nikolsky, 1905 [3]. Данные виды рассматриваются как криптические, выраженные различия выявлены по молекулярно-генетическим маркерам [4–7], размеру генома [8], среднему числу туловищных позвонков и костальных борозд [9]. Поиск морфологиче-

В. В. Ярцев (vadim_yartsev@mail.ru), В. Н. Куранова (kuranova49@mail.ru), Г. С. Мартынова (galya-platonova1993@mail.ru): Национальный исследовательский Томский государственный университет, Российская Федерация, 634050, Томск, пр. Ленина, 36.

* Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 16-34-01055.

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2016

ских, экологических и других различий между ними представляет значительный интерес. Особую роль играют сведения о морфологии сперматозоидов, которые могут быть использованы как для оценки степени дифференциации между видами, так и для комплексного изучения их репродуктивной биологии. Особенности микроструктуры мужских гамет генетически детерминированы и видоспецифичны, что позволяет использовать их наряду с другими признаками для решения ряда вопросов систематики и филогении различных групп животных [10–12], в том числе и земноводных [13–19].

Микроструктура сперматозоидов сибирского углозуба описана еще в начале XX в. В.Д. Лепешкиным [20], долгое время данная работа оставалась единственной [21]. В настоящее время имеются сведения о микроструктуре и размерах мужских гамет *S. keyserlingii* из окрестностей г. Томска [22, 23], Северо-Востока Азии [24] и острова Хоккайдо [15], а также *S. tridactyla* из окрестностей Хабаровска [25]. Существующие данные о размерах сперматозоидов и их частей этих двух видов получены с помощью разных микроскопических методов и схем измерений, что затрудняет проведение сравнительного анализа.

Цель настоящей работы — на основе единого методического подхода сравнить размерные характеристики сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* из трех географически отдаленных популяций для оценки степени различий между видами.

Материал и методика

Материалом послужили экземпляры *S. keyserlingii* и *S. tridactyla* из фондовой коллекции кафедры зоологии позвоночных и экологии Национального исследовательского Томского государственного университета. Самцы сибирского углозуба отловлены в период размножения в Томской и Магаданской областях, а самцы приморского углозуба собраны в период нерестовых миграций на юге Хабаровского края (табл. 1). Все исследованные экземпляры хранились в 10%-ном растворе формалина. Всего использовано 6 самцов *S. keyserlingii* и 3 самца *S. tridactyla*.

Таблица 1. Места и периоды отлова, длина тела (*L*, мм) самцов углозубов рода *Salamandrella*, использованных в работе

Вид	Место отлова	Период отлова	Код экземпляра	Длина тела (<i>L</i>), мм
<i>Salamandrella keyserlingii</i>	Томская область, окрестности г. Томска	20 апреля 2014 г.	T ₁	55,2
			T ₂	61,3
			T ₃	60,0
	Магаданская область, 100 км к западу от г. Магадана, долина р. Яна	Апрель–май 2004 г.	M ₁	48,1
			M ₂	52,7
			M ₃	52,3
<i>Salamandrella tridactyla</i>	Хабаровский край, окрестности г. Хабаровска, предгорья хребта Хехцир	30 апреля 2012 г.	X ₁	60,2
			X ₂	63,6
			X ₃	70,0

У исследуемых экземпляров, используя электронный штангенциркуль, измеряли длину тела (L , мм; табл. 1), извлекали фрагменты семяпроводов, из содержимого которых делали мазки на предметном стекле по стандартной методике [26]. Для каждой особи изготавливали по 5 мазков. Мазки подкрашивали гематоксилином Майера — эозином или по Романовскому—Гимзе. Для микроскопии и микрофото- съемки препаратов использовали лабораторный микроскоп AxioLab.A1 с фотока- мерой AxioCam ERc 5s и программным обеспечением ZEN 2012 (Carl Zeiss Micro- scopy, Германия).

В работе использована схема промеров, предложенная М. Курамото для срав- нительно-морфологического исследования сперматозоидов углозубых [15]. Про- ведены измерения следующих параметров клеток. Общая длина (TL) — рассто- яние от кончика акросомы до конца хвоста без краевой нити. Длина акросомы (A) — расстояние от кончика акросомы до ее основания. Длина (H) и ширина (D) головки — длина и максимальная ширина головки без акросомы. При измерении ширины головки учитывали наличие каплевидного цитоплазматического чехлика на головке некоторых сперматозоидов. Длина хвоста (T) — расстояние от задне- го края головки до конца хвостового стержня, исключая краевую нить: включает, кроме собственно длины хвоста, длину шейки и среднего отдела, границы между которыми трудно идентифицировать при использовании световой и сканирующей электронной микроскопии [15]. В качестве интегральной характеристики размеров головки использован расчетный объем головки (HV), который определяли на осно- ве формулы для объема цилиндра [16]:

$$HV = 0,25\pi \times H \times D^2 \text{ (мкм}^3\text{)},$$

где H — длина головки, D — ее ширина.

Измерения проведены с точностью до 0,1 мкм по микрофотоснимкам сперма- тозоидов с помощью специализированной программы для обработки изображений SIAMS Photolab (ООО «СИАМС», Россия), имеющей функцию определения длин ломаных линий. Последнее условие необходимо для точных измерений частей изо- гнутых объектов, какими являются сперматозоиды. Всего исследовано 235 клеток, из них 172 — *S. keyserlingii* и 63 — *S. tridactyla*.

Статистическая обработка данных выполнена в программе Statistica 8.0 (Stat- Soft, США). Из описательных статистик рассчитаны средняя (\bar{x}), ошибка средней ($m_{\bar{x}}$), минимум (min) и максимум (max). Оценку различий в размерах спермато- зоидов и их частей проводили с помощью факторного и дисперсионного анализов [27].

Результаты

Сперматозоиды сибирского и приморского углозубов имеют сходное строе- ние: акросома составляет около 8% общей длины сперматозоида, головка — око- ло 30%, на хвост приходится около 60% (рис. 1, табл. 2). У 30,8% сперматозои- дов *S. keyserlingii* и 44,4% *S. tridactyla* в области головки отмечены остатки цито- плазмы.

С помощью факторного анализа получено 4 фактора (Φ_1 – Φ_4), описывающих 96,37% изменчивости, при этом на Φ_1 приходится 34,31%, Φ_2 — 28,65%, Φ_3 — 18,07%

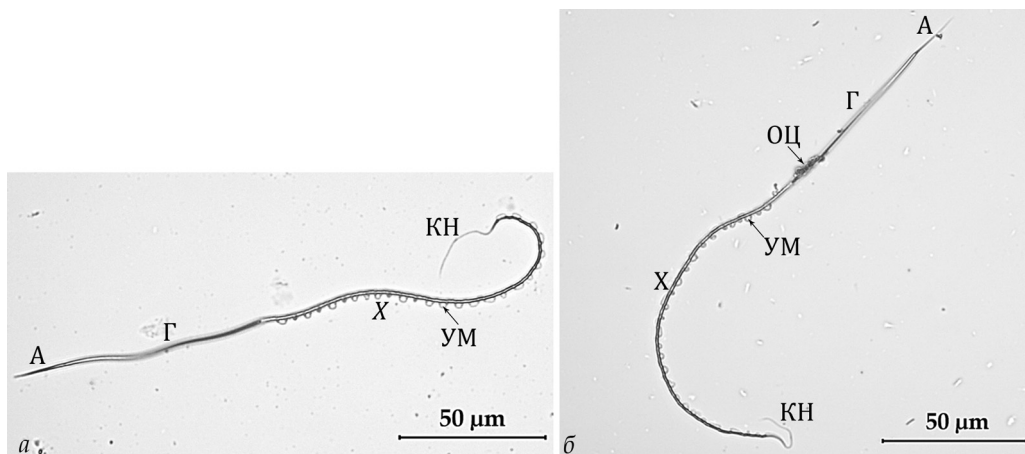


Рис. 1. Микрофотографии сперматозоидов *Salamandrella keyserlingii* (а) и *S. tridactyla* (б): А — акросома, Г — головка, КН — краевая нить, ОЦ — остаточная цитоплазма, УМ — ундулирующая мембрана, Х — хвост

и на Φ_4 — 15,34 %. Анализ факторных нагрузок показал, что Φ_1 отражает изменчивость ширины и объема головки, Φ_2 — длины хвоста и общей длины сперматозоида, Φ_3 — длины головки, а Φ_4 — длины акросомы (табл. 3).

Индивидуальная изменчивость. Средние значения объема головки отличаются у отдельных особей в томской популяции *S. keyserlingii* на 17,2%, для остальных признаков — на 3,5–6,6%, в магаданской популяции *S. keyserlingii* — на 27,9% и 2,5–16,5% соответственно и хехцирской популяции *S. tridactyla* — на 11,1% и 1,4–9,3% соответственно (табл. 2). В исследованных популяциях области распределения сперматозоидов отдельных особей в пространстве факторных координат значительно перекрываются (рис. 2). Это указывает на отсутствие выраженных индивидуальных отличий по размерным характеристикам сперматозоидов.

Межпопуляционная и межвидовая изменчивость. Средние значения размерных признаков сперматозоидов особей из томской и магаданской популяций *S. keyserlingii* отличаются на 1,0–19,7 % (табл. 2). При аналогичном сопоставлении на видовом уровне *S. keyserlingii* — *S. tridactyla* разница составляет 2,7–21,7 % (табл. 2). Области распределения сперматозоидов самцов из трех исследованных популяций в пространстве факторных координат в значительной степени перекрываются между собой (рис. 3), что указывает на отсутствие выраженных межпопуляционных и видовых различий по параметрам сперматозоидов.

Дискриминантный анализ также не выявил значительной обособленности исследованных популяций по параметрам сперматозоидов (рис. 4). Незначительное расхождение наблюдается между томской и магаданской популяциями сибирского углозуба вдоль оси первой канонической переменной, что обусловлено главным образом длиной акросомы и общей длиной сперматозоида (стандартизированные коэффициенты для обоих признаков — 0,5).

Таблица 2. Микрометрические характеристики сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella*

Код особи	n	Признаки					
		Длина акросомы (A), мкм	Ширина головки (D), мкм	Длина головки (H), мкм	Длина хвоста (T), мкм	Общая длина (TL), мкм	Объем головки (HV), мкм ³
<i>Salamandrella keyserlingii</i> г. Томск							
T ₁	24	16,7±0,02 14,1–18,1	1,1±0,02 0,9–1,3	66,9±0,51 61,3–70,0	125,7±0,91 118,6–132,8	209,1±0,98 202,4–217,3	62,7±2,48 42,5–88,6
T ₂	33	17,3±0,10 15,7–18,1	1,1±0,02 0,8–1,3	64,3±0,39 57,8–68,0	117,8±0,97 104,0–130,8	199,8±1,06 184,1–213,5	58,4±2,67 32,4–87,0
T ₃	25	17,2±0,15 15,2–18,3	1,0±0,03 0,7–1,2	62,7±0,36 58,9–65,3	117,4±0,71 111,2–125,0	197,3±0,69 191,6–204,6	51,9±2,49 23,8–71,3
T ₁ –T ₃	82	17,1±0,09 14,1–18,3	1,1±0,01 0,7–1,3	64,6±0,30 57,8–70,0	120,0±0,66 104,0–132,8	201,8±0,77 184,1–217,3	57,7±1,56 23,8–88,6
г. Магадан							
M ₁	30	14,5±0,22 12,1–17,2	1,2±0,02 0,97–0,11	60,6±0,53 56,1–69,6	120,3±0,91 111,1–128,4	195,4±1,04 183,0–204,7	44,7±1,30 28,56–57,2
M ₂	30	13,7±0,35 7,3–16,6	1,4±0,03 1,0–1,8	58,0±0,38 53,3–62,7	117,3±0,63 108,0–123,9	188,9±0,89 177,6–197,1	61,0±2,77 31,8–96,0
M ₃	30	16,4±0,20 13,1–19,0	1,4±0,03 1,1–1,7	61,6±0,55 56,3–67,6	118,9±0,80 109,4–128,2	196,9±1,06 181,6–205,3	62,0±3,25 39,0–103,9
M ₁ –M ₃	90	14,9±0,19 7,3–19,0	1,3±0,02 1,0–1,8	60,0±0,32 53,3–69,6	118,8±0,47 108,0–128,4	193,7±0,68 117,6–205,3	55,9±1,69 28,6–103,9
T ₁ –T ₃ , M ₁ –M ₃	172	15,9±0,14 7,3–19,0	1,2±0,02 0,7–1,8	62,2±0,28 53,3–70,0	119,4±0,40 104,0–132,8	197,6±0,59 117,6–217,3	47,6±1,21 15,9–103,9
<i>Salamandrella tridactyla</i> хр. Хехцир							
X ₁	24	16,4±0,18 14,6–17,9	1,1±0,03 0,8–1,3	60,7±0,46 56,9–66,8	127,5±1,30 106,1–135,4	204,4±1,15 184,8–212,3	57,2±3,17 29,8–80,9
X ₂	17	15,5±0,13 14,4–16,4	1,2±0,04 0,8–1,4	60,3±0,62 57,7–67,5	125,5±1,50 115,1–138,4	201,6±1,6 190,7–216,3	62,9±3,63 32,4–94,5
X ₃	22	17,2±0,27 12,9–18,7	1,2±0,02 1,0–1,3	59,9±0,37 54,3–62,4	125,8±1,12 115,8–136,1	202,9±1,31 186,0–214,7	64,5±2,82 42,6–81,9
X ₁ –X ₃	63	16,4±0,14 12,9–18,7	1,1±0,02 0,8–1,4	60,3±0,27 54,3–67,5	126,3±0,75 106,1–138,4	203,1±0,77 184,8–216,3	60,8±1,90 29,8–94,5

Примечание. Верхний ряд: $\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$; нижний ряд: *min*–*max*.

Таблица 3. Связь факторов с параметрами сперматозоидов (факторные нагрузки)

Параметр	Φ ₁	Φ ₂	Φ ₃	Φ ₄
A	0,04	0,10	0,001	0,99
D	0,99	–0,05	–0,08	0,02
H	0,01	0,04	0,99	–0,003
T	–0,06	0,94	–0,19	–0,02
TL	–0,04	0,88	0,33	0,18
HV	0,99	–0,03	0,08	0,02

Примечание. Жирным шрифтом выделена значимая связь ($p \leq 0,05$).

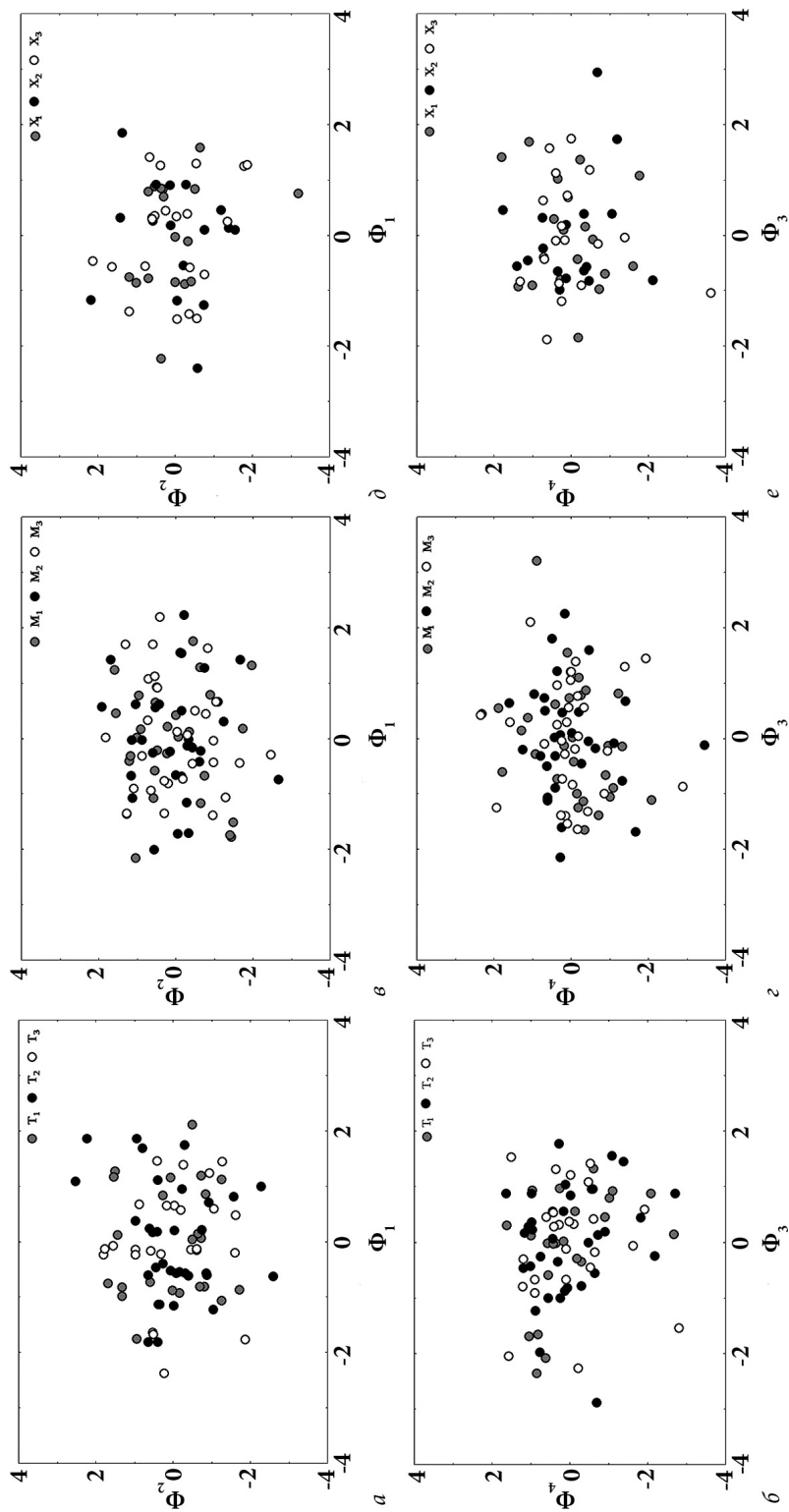


Рис. 2. Распределение выборки сперматозоидов самцов углозубов рода *Salpinctridella* в пространстве четырех факторов: а, б — томская и в, г — магаданская популяции *S. keyserlingii*; д, е — хехирская популяция *S. tridactyla*

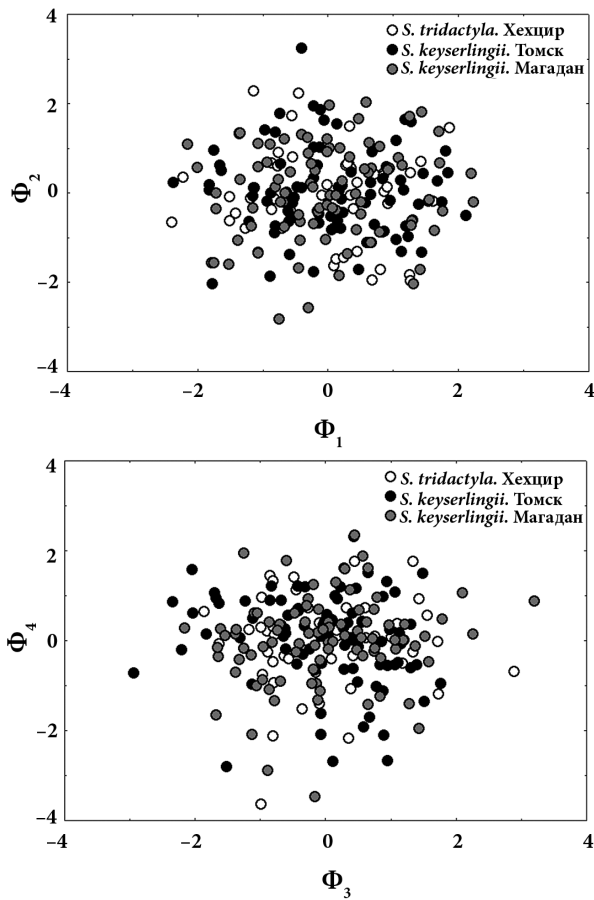


Рис. 3. Распределение выборок сперматозоидов самцов углозубов рода *Salamandrella* в пространстве четырех факторов

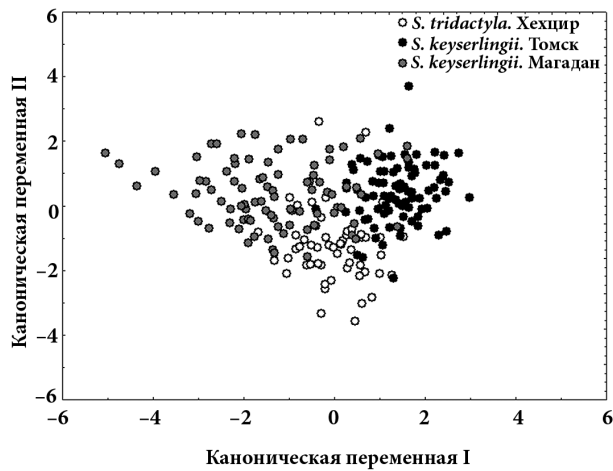


Рис. 4. Распределение выборок сперматозоидов самцов углозубов рода *Salamandrella* в пространстве первой (I) и второй (II) канонических переменных

Обсуждение

Микроструктура сперматозоидов. Микроструктура сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* соответствует общему плану строения мужских половых клеток других видов подотряда Cryptobranchioidea с наружным оплодотворением [15, 28–34]. Остатки цитоплазмы на головке сперматозоидов, отмеченные нами как у *S. keyserlingii*, так и у *S. tridactyla*, характерны и для других углозубых [15, 16], а также многих хвостатых, бесхвостых и безногих земноводных [19]. Только у безлегочных саламандр выявлена специфическая для данного семейства особенность: остатки цитоплазмы встречаются в области среднего отдела и хвоста сперматозоидов [19].

Полученные нами результаты о микроструктуре сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* в целом согласуются с данными других авторов [15, 20, 22–25]. Однако использование светлопольной микроскопии с контрастированием путем подкрашивания мазков по Романовскому—Гимзе или гематоксилином Майера — эозином не позволило нам дифференцировать средний отдел, описанный в качестве самостоятельной части сперматозоидов хвостатых земноводных [10, 19]. На невозможность выделения этого отдела при исследовании морфологии сперматозоидов гинобиид (в том числе и *S. keyserlingii*) методами сканирующей электронной микроскопии указывал и М. Курамото [15]. Однако средний отдел сперматозоидов гинобиид и криптобранхиид дифференцировали при сочетании светлопольной микроскопии и специальных методов окрашивания [20, 28, 30], темнопольной микроскопии [29], фазово-контрастной микроскопии [25], сканирующей [22] и просвечивающей электронной микроскопии [31, 32, 34].

Размерные характеристики сперматозоидов. Значительные различия проявляются при сравнении полученных результатов и данных литературы о размерных характеристиках сперматозоидов сибирских углозубов (табл. 4). Наши результаты наиболее соответствуют таковым М. Курамото [15]. При сравнении с данными других авторов выявленные противоречия, вероятно, связаны, с одной стороны, с разными подходами к делению клетки на части, а с другой — с разными методиками исследований. Такие данные могут быть крайне ограниченно использованы для выявления закономерностей географической изменчивости морфологии сперматозоидов или в межвидовых сравнениях.

Для *Hynobius nebulosus* и *H. naevius* описана индивидуальная и географическая формы изменчивости размеров сперматозоидов и их частей [16]. Установлено, что у данных видов степень индивидуальной изменчивости ниже, чем географической. У *S. keyserlingii* нами не обнаружено выраженных индивидуальных и географических различий, хотя в сопоставлении использованы две географически удаленные популяции.

Ранее при сравнении результатов разных исследований отмечено, что сперматозоиды приморского углозуба длиннее таковых сибирского [25]. Однако нами не выявлено явных межвидовых различий не только по длине, но и по другим мерным признакам сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella*. Дополнительным подтверждением данных результатов могут служить факты о возможности лабораторной [35] и естественной [36] гибридизации, которые указывают на отсутствие репродуктивных изоляционных механизмов, в том числе и связанных со строением гамет.

Таблица 4. Сведения о микрометрических параметрах сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* ($\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$)

Локалитет	Количество, <i>n</i>		Длина акросомы, мкм	Длина головки, мкм	Ширина головки, мкм	Длина хвоста, мкм	Общая длина, мкм	Источники
	особей	сперматозоидов						
<i>Salamandrella keyserlingii</i> Западная Сибирь								
Томск	–	270	–	–	–	60–65	115,0±6,0	[22]
	3	5	93,9±1,5*		–	124,6±4,3	219,0±4,2	[24]
	3	82	17,1±0,1	64,6±0,3	1,1±0,01	120,0±0,7	201,8±0,8	Наши данные
Остров Хоккайдо								
Кусиро	1	20	17,1±0,8	66,5±2,0	1,27±0,08	128,8±4,4	212,4±5,2	[15]
Северо-восток Азии								
«Малое Янское»	6	37	80,9±0,7		–	116,5±1,4	197,5±1,6	[24]
«Большое Янское»	2	23	77,7±1,5		–	111,6±1,2	188,9±1,6	[24]
Долина р. Яна	3	90	15,9±0,1	62,2±0,3	1,2±0,02	119,4±0,4	197,6±0,6	Наши данные
<i>Salamandrella tridactyla</i> Юг Дальнего Востока								
Хехцир	28	–	91,7±0,5		–	147,8±1,6	241,8±2,2	[25]
	3	63	16,4±0,1	60,3±0,3	1,14±0,02	126,3±0,8	203,1±0,8	Наши данные

Примечание. «*» — длина головки с акросомой, «–» — данные отсутствуют.

Размеры сперматозоидов углозубов рода *Salamandrella* занимают промежуточное положение в сравнении с таковыми других представителей семейства Hynobiidae. Они мельче, чем у типичных ручьевых форм — *Onychodactylus japonicus* (средняя общая длина — 549,8 мкм) [15], *Batrachuperus tibetanus* (289,9 мкм) [31], крупнее, чем у лимнофильных видов рода *Hynobius* (от 163,4 мкм у *H. nigrescens* до 194,3 мкм у *H. retardatus*) и близки по размерам к реофильным видам из данного рода (от 196,6 мкм у *H. boulengeri* до 272,7 мкм у *H. naevius*) [15, 16].

Заключение

Сперматозоиды углозубов *S. keyserlingii* и *S. tridactyla* имеют сходную микроструктуру. Индивидуальная, межпопуляционная и межвидовая изменчивость в размерных характеристиках сперматозоидов не выражена. Близкое строение мужских гамет данных криптических видов подтверждает точку зрения об отсутствии гаметических барьеров между видами и соответствует имеющимся сведениям о возможности межвидовой гибридизации [35, 36].

Благодарности

Авторы выражают благодарность А. А. Кузнецову за помощь в организации микроскопических исследований и двум анонимным рецензентам за работу с рукописью статьи.

Литература

1. Vitt L. J., Caldwell J. P. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 4th Edition. Academic Press, 2014. 630 p.
2. Поярко Н. А. Филогенетические связи и систематика хвостатых амфибий семейства углозубов (Amphibia: Caudata, Hynobiidae): дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 290 с.
3. Кузьмин С. Л. Земноводные бывшего СССР. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. 369 с.
4. Берман Д. И., Деренко М. В., Малярчук Б. А., Гржибовский Т., Крюков А. П., Мишичица-Шлипка Д. Внутривидовая генетическая дифференциация сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Caudata) и криптический вид *S. schrenckii* с юго-востока России // Зоол. журн. 2005. Т. 84, № 11. С. 1374–1388.
5. Берман Д. И., Деренко М. В., Малярчук Б. А., Булахова Н. А., Гржибовский Т., Крюков А. П., Лейрих Л. Н. Ареал и генетический полиморфизм углозуба Шренка (*Salamandrella schrenckii*, Amphibia, Caudata, Hynobiidae) // Зоол. журн. 2009. Т. 88, № 5. С. 530–545.
6. Поярко Н. А., Кузьмин С. Л. Филогеография сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*) по данным последовательностей митохондриальной ДНК // Генетика. 2008. Т. 44, № 8. С. 1089–1100.
7. Matsui M., Tominaga A., Liu W., Khonsue W., Grismer L., Diesmos A. C., Das I., Sudin A., Yambun P., Yong H., Sukumaran J., Brown R. M. Phylogenetic relationships of two *Salamandrella* species as revealed by mitochondrial DNA and allozyme variation (Amphibia: Caudata: Hynobiidae) // Mol. Phylogenet. Evol. 2008. Vol. 48. P. 84–93.
8. Litvinchuk S. N., Borkin L. J., Rosanov J. M. Intraspecific and interspecific genome size variation in hynobiid salamanders of Russia and Kazakhstan: determination by flow cytometry // Asiatic Herpetol. Res. 2004. Vol. 10. P. 282–294.
9. Litvinchuk S. N., Borkin L. J. Variation in number of trunk vertebrae and in count of costal grooves in salamanders of the family Hynobiidae // Contr. Zool. 2003. Vol. 72. № 4. P. 195–209.
10. Fawcett D. W. A comparative view of sperm ultrastructure // Biol. Reprod. Suppl., 1970. N 2. P. 90–127.
11. Дроздов А. Л., Иванков В. Н. Морфология гамет животных. Значение для систематики и филогенетики. М: Круглый год, 2000. 460 с.
12. Pitnick S., Horsken D. J., Birkhead T. R. Sperm morphological diversity // Sperm Biology: An Evolutional Perspective / eds T. R. Birkhead, D. J. Horsken, S. Pitnick. Elsevier, 2009. P. 69–150.
13. Brandon R. A., Martin J., Wortham J. W. E., Englert D. C. The influence of interspecific hybridization on the morphology of the spermatozoa of *Ambystoma* (Caudata, Ambystomatidae) // J. Reprod. Fertil. 1974. Vol. 41, N 2. P. 275–284.
14. Wortham J. W. E., Brandon R. A., Martan J. Comparative morphology of some plethodontid salamander spermatozoa // Copeia. 1977. Vol. 1977, N 4. P. 666–680.
15. Kuramoto M. Scanning electron microscopic studies on the spermatozoa of some Japanese salamanders (Hynobiidae, Cryptobranchidae, Salamandridae) // Jpn. J. Herpetol. 1995. Vol. 16, N 2. P. 49–58.
16. Kuramoto M. Further studies on sperm morphology of Japanese salamanders, with special reference to geographic and individual variation in sperm size // Jpn. J. Herpetol. 1997. Vol. 17, N 1. P. 1–10.
17. Selmi M. G., Brizzi R., Bigliardi E. Sperm morphology of salamandrids (Amphibia, Urodela): implications for phylogeny and fertilization biology // Tissue Cell. 1997. Vol. 29, N 6. P. 651–664.
18. Scheltina D. M., Jamieson B. G. M. Spermatogenesis and the mature spermatozoon: form, function and phylogenetic implications // Reproductive Biology and Phylogeny of Anura / ed. B. G. M. Jamieson. Enfield, Science Publishers, 2003. P. 119–251.
19. Scheltina D. M., Jamieson B. G. M. Mature spermatozoa // Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela / ed. D. M. Sever. Enfield, Science Publishers, 2003. P. 203–274.
20. Лепешкин В. Д. Спермии изодактиля (*Isodactylum Schrenkii* Str.) // Русс. зоол. журн. 1916а. Т. 1, вып. 1–2. С. 8–16.

21. Сытина Л. А., Медведева И. М., Година Л. Б. Половой диморфизм и состояние половой системы в период размножения // Сибирский углозуб: Зоогеография, систематика, морфология / под ред. Э. И. Воробьевой. М.: Наука, 1994. С. 268–273.
22. Савельев С. В., Куранова В. Н., Бесова Н. В. Размножение сибирского углозуба *Salamandrella keyserlingii* // Зоол. журн. 1993. Т. 72, № 8. С. 59–69.
23. Yartsev V. V., Kuranova V. N. Seasonal dynamics of male and female reproductive systems in the Siberian Salamander, *Salamandrella keyserlingii* (Caudata, Hynobiidae) // Asian Herpetol. Res. 2015. Vol. 6, N 3. P. 169–183.
24. Булахова Н. А., Берман Д. И. Возрастные и сезонные гистологические изменения половой системы самцов сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*, Caudata, Hynobiidae) на побережье Охотского моря // Зоол. журн. 2015. Т. 94, № 9. С. 1065–1076.
25. Булахова Н. А., Берман Д. И. Половая система углозуба Шренка (*Salamandrella schrenckii*, Amphibia, Caudata, Hynobiidae) весной и осенью // Зоол. журн. 2012. Т. 91, № 11. С. 1315–1329.
26. Ромейс Б. Микроскопическая техника / под ред. И. И. Соколова. М.: Изд-во иностранной литературы, 1954. 718 с.
27. Ефимов В. М., Ковалева В. Ю. Многомерный анализ биологических данных: учебное пособие. Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2007. 75 с.
28. Smith B. G. The embryology of *Cryptobranchus allegheniensis*, including comparisons with some other vertebrates. I. Introduction; the history of the egg before cleavage // J. Morphol. 1912. Vol. 23. P. 61–157.
29. Makino S. A. Cytological study on the maturation and fertilization of the egg of *Hynobius retardatus* (an Urodela Amphibian) // J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI Zool. 1934. N 3. P. 117–167.
30. Baker C. L. Spermatozoa and spermateleosis in *Cryptobranchus* and *Necturus* // J. Tenn. Acad. Sci. 1963. Vol. 34, N 1. P. 1–11.
31. Qin L., Xie F., Zheng Z., Jiang J. Sperm morphology of Alpine stream salamander, *Batrachuperus tibetanus* // Chin. J. Zool. 2005. Vol. 40. P. 71–74.
32. Zheng Zh., Jiang J., Xie F. Ultrastructure of the spermatozoa of Longdong stream salamander *Batrachuperus longdongensis* (Urodela: Hynobiidae) // Acta Zoologica Sinica. 2005. Vol. 51, N 4. P. 703–709.
33. Wang H., Zhang Y. Spermatogenesis in stream salamander *Batrachuperus tibetanus*: light microscopy and electronic microscopy studies // Chin. J. Zool. 2007. Vol. 5. P. 138–142.
34. Guo K., Mi X., Deng X. Morphological structures of the spermatozoa in *Hynobius guabangshanensis* (Urodela: Hynobiidae) // Life Sci. Res. 2010. Vol. 14. P. 38–43.
35. Ярцев В. В., Куранова В. Н. О возможности гибридизации приморского, *Salamandrella tridactyla*, и сибирского, *S. keyserlingii*, углозубов (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) // Вестн. Томск. гос. ун-та. Биология. 2013. № 3 (23). С. 83–90.
36. Малярчук Б. А., Деренко М. В., Денисова Г. А. Филогенетические взаимоотношения углозубов рода *Salamandrella* по данным об изменчивости ядерных генов // Генетика. 2015. Т. 51, № 1. С. 91–97.

Для цитирования: Ярцев В. В., Куранова В. Н., Мартынова Г. С. Морфология сперматозоидов криптических видов углозубов рода *Salamandrella* (Caudata: Hynobiidae) // Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 3. Биология. 2016. Вып. 2. С. 18–30. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.202

References

1. Vitt L. J., Caldwell J. P. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. 4th Edition. Academic Press Publ., 2014, 630 p.
2. Poyarkov N. A. *Filogeneticheskie svyazi i sistematika khvostatykh amfibii semeistva uglozubov (Amphibia: Caudata, Hynobiidae)*. Diss. kand. biol. nauk [Phylogenetic relationships and systematics of Asiatic salamanders of the family Hynobiidae (Amphibia: Caudata, Hynobiidae)]. PhD Dissertation, Biology]. Moscow, 2010, 290 p. (In Russian)
3. Kuz'min S. L. *Zemnovodnye byvshego SSSR [Amphibians of the former USSR]*. Moscow, Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2012, 369 p. (In Russian)
4. Berman D. I., Derenko M. V., Malyarchuk B. A., Grzhibovskiy T., Kryukov A. P., Mishchitska-Shlivka D. Vnutrividovaya geneticheskaya differentsiatsiya sibirskogo uglozuba (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Caudata) i kripticheskii vid *S. schrenckii* s yugo-vostoka Rossii [Intraspecific genetic differentiation of the Siberian newt (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Caudata) and the cryptic species *S. schrenckii* from southeastern Russia]. *Zool. Zhurn.* [Zoological Journal], 2005, vol. 84, no. 11, pp. 1374–1388. (In Russian)
5. Berman D. I., Derenko M. V., Malyarchuk B. A., Bulakhova N. A., Grzhibovskiy T., Kryukov A. P., Leyrikh L. N. Areal i geneticheskii polimorfizm uglozuba Shrenka (*Salamandrella schrenckii*, Amphibia,

Caudata, Hynobiidae) [Range and genetic polymorphism of *Salamandrella schrenckii* (Amphibia, Caudata, Hynobiidae)]. *Zool. Zhurn.* [Zoological Journal], 2009, vol. 88, no. 5, pp. 530–545. (In Russian)

6. Poyarkov N. A., Kuz'min S. L. Filogeografiia sibirskogo uglozuba (*Salamandrella keyserlingii*) po dannym posledovatel'nostei mitokhondrialnoi DNK [Phylogeography of the Siberian newt (*Salamandrella keyserlingii*) by mitochondrial DNA sequence analysis]. *Genetika* [Genetics], 2008, vol. 44, no. 8, pp. 1089–1100. (In Russian)

7. Matsui M., Tominaga A., Liu W., Khonsue W., Grismer L., Diesmos A. C., Das I., Sudin A., Yambun P., Yong H., Sukumaran J., Brown R. M. Phylogenetic relationships of two *Salamandrella* species as revealed by mitochondrial DNA and allozyme variation (Amphibia: Caudata: Hynobiidae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2008, vol. 48, pp. 84–93.

8. Litvinchuk S. N., Borkin L. J., Rosanov J. M. Intraspecific and interspecific genome size variation in hynobiid salamanders of Russia and Kazakhstan: determination by flow cytometry. *Asiatic Herpetol. Res.*, 2004, vol. 10, pp. 282–294.

9. Litvinchuk S. N., Borkin L. J. Variation in number of trunk vertebrae and in count of costal grooves in salamanders of the family Hynobiidae. *Contr. Zool.*, 2003, vol. 72, no. 4, pp. 195–209.

10. Fawcett D. W. A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol. Reprod. Suppl.*, 1970, no. 2, pp. 90–127.

11. Drozdov A. L., Ivankov V. N. *Morfologiia gamet zhivotnykh. Znachenie dlia sistemiki i filogenetiki* [Gamete morphology of animals. Meaning for systematic and phylogenetic]. Moscow, Kruglyy god Publ., 2000, 460 p. (In Russian)

12. Pitnick S., Horsken D. J., Birkhead T. R. Sperm morphological diversity. *Sperm Biology: An Evolutional Perspective*. Eds T. R. Birkhead, D. J. Horsken, S. Pitnick. Elsevier Publ., 2009, pp. 69–150.

13. Brandon R. A., Martin J., Wortham J. W. E., Englert D. C. The influence of interspecific hybridization on the morphology of the spermatozoa of *Ambystoma* (Caudata, Ambystomatidae). *J. Reprod. Fertil.*, 1974, vol. 41, no. 2, pp. 275–284.

14. Wortham J. W. E., Brandon R. A., Martan J. Comparative morphology of some plethodontid salamander spermatozoa. *Copeia*, 1977, vol. 1977, no. 4, pp. 666–680.

15. Kuramoto M. Scanning electron microscopic studies on the spermatozoa of some Japanese salamanders (Hynobiidae, Cryptobranchidae, Salamandridae). *Jpn. J. Herpetol.*, 1995, vol. 16, no. 2, pp. 49–58.

16. Kuramoto M. Further studies on sperm morphology of Japanese salamanders, with special reference to geographic and individual variation in sperm size. *Jpn. J. Herpetol.*, 1997, vol. 17, no. 1, pp. 1–10.

17. Selmi M. G., Brizzi R., Bigliardi E. Sperm morphology of salamandrids (Amphibia, Urodela): implications for phylogeny and fertilization biology. *Tissue Cell*, 1997, vol. 29, no. 6, pp. 651–664.

18. Scheltina D. M., Jamieson B. G. M. Spermatogenesis and the mature spermatozoon: form, function and phylogenetic implications. *Reproductive Biology and Phylogeny of Anura*. Ed. B. G. M. Jamieson. Enfield, Science Publishers, 2003, pp. 119–251.

19. Scheltina D. M., Jamieson B. G. M. Mature spermatozoa. *Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela*. Ed. D. M. Sever. Enfield, Science Publishers, 2003, pp. 203–274.

20. Lepeshkin V. D. Spermii izodaktilia (*Isodactylum Schrenkii* Str.) [Les spermatozoids de l'Isodactylum (*Isodactylum Schrenkii* Str.)]. *Russkii zoologicheskii zhurnal* [Revue Zoologique Russe], 1916a, vol. 1, no. 1–2, pp. 8–16. (In Russian)

21. Sytina L. A., Medvedeva I. M., Godina L. B. Polovoi dimorfizm i sostoianie polovoi sistemy v period razmnozheniia [Sexual dimorphism and the reproductive system state in the reproductive period]. *Sibirskii uglozub: Zoogeografiia, sistematika, morfologiia* [The Siberian Newt. Zoogeography, Systematics, Morphology]. Moscow, Nauka Publ., 1994, pp. 268–273. (In Russian)

22. Savel'ev S. V., Kuranova V. N., Besova N. V. Razmnozhenie sibirskogo uglozuba *Salamandrella keyserlingii* [Reproduction of Siberian salamander *Salamandrella keyserlingii*]. *Zool. Zhurn.* [Zoological Journal], 1993, vol. 72, no. 8, pp. 59–69. (In Russian)

23. Yartsev V. V., Kuranova V. N. Seasonal dynamics of male and female reproductive systems in the Siberian Salamander, *Salamandrella keyserlingii* (Caudata, Hynobiidae). *Asian Herpetol. Res.*, 2015, vol. 6, no. 3, pp. 169–183.

24. Bulakhova N. A., Berman D. I. Vozrastnye i sezonnye gistologicheskie izmeneniia polovoi sistemy samtsov sibirskogo uglozuba (*Salamandrella keyserlingii*, Caudata, Hynobiidae) na poberezh'e Okhotskogo moria [Age and seasonal histological changes of the male reproductive system in the Siberian salamander (*Salamandrella keyserlingii*, Caudata, Hynobiidae) from the Sea of Okhotsk coast]. *Zool. Zhurn.* [Zoological Journal], 2015, vol. 94, no. 9, pp. 1065–1076. (In Russian)

25. Bulakhova N. A., Berman D. I. Polovaia sistema uglozuba Shrenka (*Salamandrella schrenckii*, Amphibia, Caudata, Hynobiidae) vesnoi i osen'iu [Reproductive system of Schrenckii salamander (*Salaman-*

drella schrenckii, Amphibia, Caudata, Hynobiidae) in spring and autumn]. *Zool. Zhurn.* [Zoological Journal], 2012, vol. 91, no. 11, pp. 1315–1329. (In Russian)

26. Romeys B. *Mikroskopicheskaia tekhnika* [Microscopic technics]. Moscow, Publ. inostrannoi literatury, 1954, 718 p. (In Russian)

27. Efimov V.M., Kovaleva V.Iu. *Mnogomernyi analiz biologicheskikh dannyykh: uchebnoe posobie* [Multivariate analysis of biological data: a tutorial]. Gorno-Altaysk, RIO GAGU, 2007, 75 p. (In Russian)

28. Smith B.G. The embryology of *Cryptobranchus allegheniensis*, including comparisons with some other vertebrates. I. Introduction; the history of the egg before cleavage. *J. Morphol.*, 1912, vol. 23, pp. 61–157.

29. Makino S. A. Cytological study on the maturation and fertilization of the egg of *Hynobius retardatus* (an Urodela Amphibian). *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ., Ser. VI Zool.*, 1934, no. 3, pp. 117–167.

30. Baker C.L. Spermatozoa and spermateleosis in *Cryptobranchus* and *Necturus*. *J. Tenn. Acad. Sci.*, 1963, vol. 34, no. 1, pp. 1–11.

31. Qin L., Xie F., Zheng Z., Jiang J. Sperm morphology of Alpine stream salamander, *Batrachuperus tibetanus*. *Chin. J. Zool.*, 2005, vol. 40, pp. 71–74.

32. Zheng Zh., Jiang J., Xie F. Ultrastructure of the spermatozoa of Longdong stream salamander *Batrachuperus longdongensis* (Urodela: Hynobiidae). *Acta Zoologica Sinica*, 2005, vol. 51, no. 4, pp. 703–709.

33. Wang H., Zhang Y. Spermatogenesis in stream salamander *Batrachuperus tibetanus*: light microscopy and electronic microscopy studies. *Chin. J. Zool.*, 2007, vol. 5, pp. 138–142.

34. Guo K., Mi X., Deng X. Morphological structures of the spermatozoa in *Hynobius guabangshanensis* (Urodela: Hynobiidae). *Life Sci. Res.*, 2010, vol. 14, pp. 38–43.

35. Yartsev V.V., Kuranova V.N. O vozmozhnosti gibridizatsii primorskogo, *Salamandrella tridactyla*, i sibirskogo, *S. keyserlingii*, uglozubov (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) [On the possibility of hybridization between *Salamandrella tridactyla* and *S. keyserlingii* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae)]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Biologiya* [Tomsk State University Journal of Biology], 2013, no. 3(23), pp. 83–90. (In Russian)

36. Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Denisova G.A. Filogeneticheskie vzaimootnosheniia uglozubov roda *Salamandrella* po dannym ob izmenchivosti iadernykh genov [Phylogenetic relationships among Asiatic salamanders of the genus *Salamandrella* based on variability of nuclear genes]. *Genetika* [Russ. J. Genet.], 2015, vol. 51, no. 1, pp. 91–97. (In Russian)

For citation: Yartsev V.V., Kuranova V.N., Martynova G.S. Sperm morphology in two cryptic species of the genus *Salamandrella* (Caudata: Hynobiidae). *Vestnik of Saint-Petersburg University. Series 3. Biology*, 2016, issue 2, pp. 18–30. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.202

Статья поступила в редакцию 12 февраля, принята 2 марта 2016 г.

Сведения об авторах:

Ярцев Вадим Вадимович — кандидат биологических наук, старший преподаватель
Куранова Валентина Николаевна — кандидат биологических наук, доцент
Мартынова Галина Сергеевна — лаборант

Yartsev Vadim V. — PhD, Senior Lecturer
Kuranova Valentina N. — PhD, Associate Professor
Martynova Galina S. — Laboratory Assistant