

Ультраструктура сперматозоидов четырех видов двустворчатых моллюсков – представителей семейств *Cardiidae* и *Astartidae* из Японского моря

С.А. Тюрин¹, А.Л. Дроздов^{1,2}

¹Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток 690059, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, 690950, Россия
e-mail: anatoliyld@mail.ru

Изучена ультраструктура спермиев четырех видов двустворчатых моллюсков из семейств *Cardiidae* (*Serripes groenlandicus*, *Clinocardium californiense*, *Clinocardium ciliatum*) и *Astartidae* (*Astarte borealis*). Показано, что описанные спермии представляют собой классические акваспермии и состоят из головки, средней части и хвоста. Форма головки варьирует от конической изогнутой (сем. *Cardiidae*) до стержневидной (сем. *Astartidae*). Средняя часть имеет сходное строение и представлена четырьмя митохондриями, которые окружают перпендикулярно расположенные центриоли, от дистальной центриоли берет начало аксонема. Коническая изогнутая форма головки спермиев у представителей сем. *Cardiidae* подтверждает ранее опубликованные данные. Сравнительный анализ строения спермиев двустворчатых моллюсков свидетельствует о специфичности формы сперматозоидов для семейств.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски, *Cardiidae*, *Astartidae*, строение спермиев, Японское море.

Spermatozoa ultrastructure of four bivalve species of the families *Cardiidae* and *Astartidae* from the Sea of Japan

S.A. Tyurin¹, A.L. Drozdov^{1,2}

¹A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far East Branch,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690059, Russia

²Far Eastern Federal University, Vladivostok 690950, Russia
e-mail: anatoliyld@mail.ru

Sperm ultrastructure of three bivalve mollusks of the family *Cardiidae* (*Serripes groenlandicus*, *Clinocardium californiense*, *Clinocardium ciliatum*), and one species of the family *Astartidae* (*Astarte borealis*) from the Sea of Japan was examined. It is shown that studied spermatozoa are of «classical» aquasperm type, they consist of head, mid-piece and tale. Spermatozoa of the cardiid species are conical and slightly curved while ones of the astartid are rod-like. Mid-piece of all spermatozoa has similar structure: it comprises four spherical mitochondria, surrounding two perpendicularly located centrioles, the distal centriole gives rise to axoneme. The described conical and curved shape of sperm head of the cardiid species is in agreement with previous studies. Comparative analysis of sperm morphology corroborates the idea that shape of sperm is specific for bivalve families.

Key words: bivalve mollusks, *Cardiidae*, *Astartidae*, spermatozoa structure, Sea of Japan.

Мужские гаметы – сперматозоиды – неоднократно использовались как для разделения видов-двойников, так и для уточнения таксономического статуса более высокого порядка [Аксенова, 1978; Дроздов, Иванков, 2000; Тюрин, Дроздов, 2003; Eckelbarger, Grassle, 1987; Ferraguti et al., 1994; Hodgson, 1995; Pashchenko, Drozdov, 1998]. Однако необходимо отметить, что ультраструктура спермиев двустворчатых моллюсков изучена лишь у нескольких

десятков из нескольких тысяч известных науке видов.

В свете значимости знания строения спермиев для таксономии и филогении, необходимо изучить ультраструктуру гамет у гораздо большего количества видов, чем это пока сделано. В настоящей работе мы изучили ультраструктуру спермиев 4 видов двустворчатых моллюсков из семейств *Cardiidae* и *Astartidae* и сравнили их строение со спермиями некоторых ранее изученных видов.

Материал и методика

Исследованы сперматозоиды следующих видов моллюсков, принадлежащих к подклассу *Heterodonta*, отряду *Veneroidea*, надсем. *Cardioidea* и сем. *Cardiidae*: *Clinocardium (Ciliatocardium) ciliatum* (Fabricius, 1790), *Clinocardium (Keenocardium) californiense* (Deshayes, 1839), *Serripes groenlandicus* (Mohr, 1796), и надсем. *Astartoidea* и сем. *Astartidae*: *Astarte borealis* (Schumacher, 1817). Классификация дана по статье: Lutaenko [2005].

Для ультраструктурного исследования сперматозоидов кусочки семенных фиксировали 2.5% раствором глутаральдегида на морской воде, про-

мывали фильтрованной морской водой и дофиксировали в 4% растворе OsO_4 в течении 30 мин. Фиксированный материал обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в смесь эпон-аралдит. Предварительный просмотр материала осуществляли на полутонких срезах, окрашенных метиленовым синим. Ультратонкие срезы получали на микротоме *Ultracut* фирмы *Reichert*. Для исследования выбирались только серебристые и золотистые срезы. Контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Просмотр и фотографирование срезов осуществляли в электронном микроскопе *JEOL-100S*.

Результаты

Описанные спермии двустворчатых моллюсков представляют собой типичные хвостатые спермии, адаптированные для передвижения в воде. Они состоят из головки, средней части и хвоста, представленного жгутиком. Головка включает в себя акросому и ядро, средняя часть – митохондрии и центриольный аппарат.

Serripes groenlandicus. Головка спермиев коническая, слегка изогнутая (рис. 1А, 2А). Длина 4, ширина от 0.5–1 мкм. Акросома коническая (рис. 1В). Высота 0.8 мкм. Периакросомный материал содержит лишь электронносветлый гранулярный компонент, который равномерно распределен по всему пространству под акросомным пузырьком.

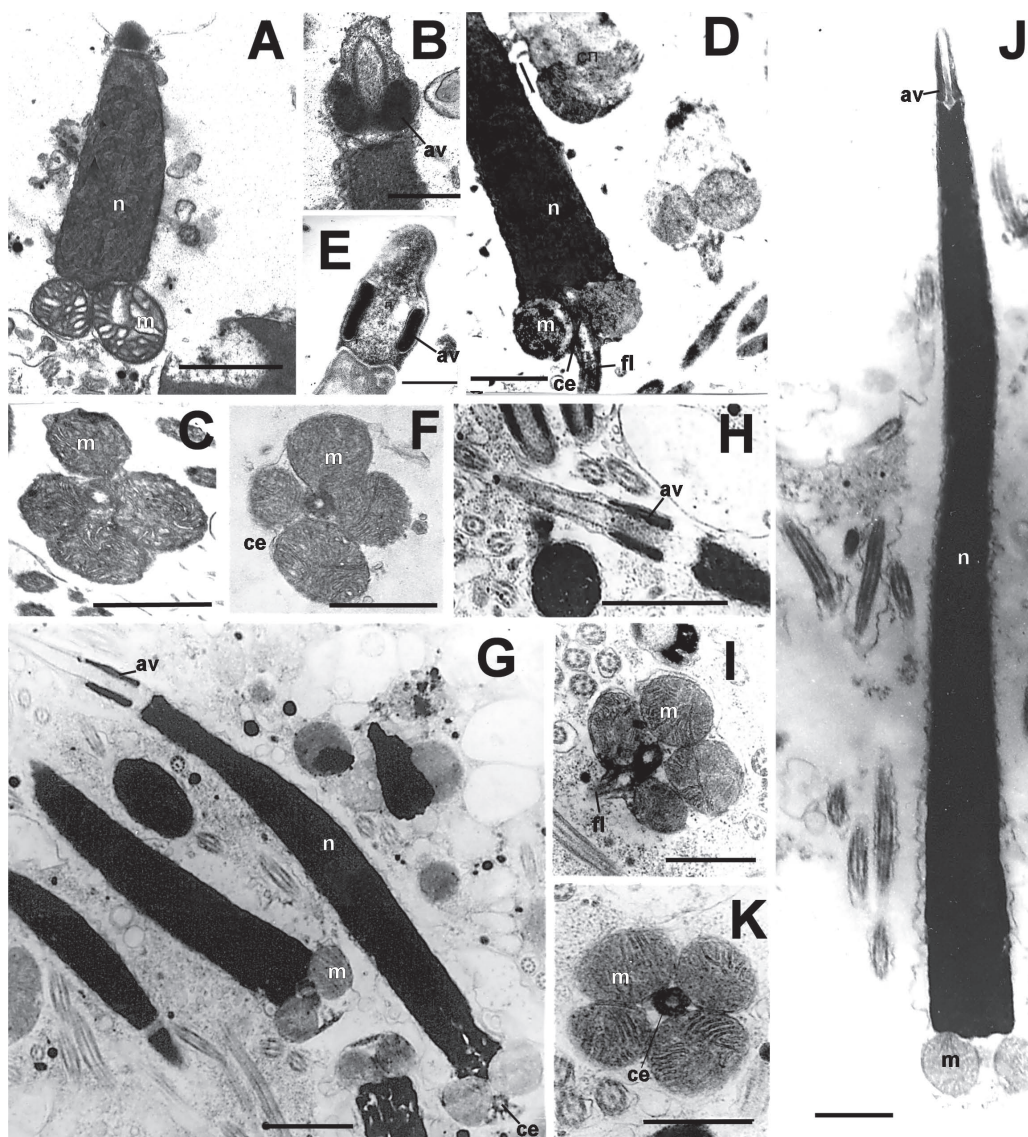


Рис. 1. Срезы сперматозоидов. *Serripes groenlandicus*: **A** – продольный срез, **B** – акросома, **C** – митохондрии и центриоли; *Clinocardium californiense*: **D** – продольный срез, **E** – акросома, **F** – митохондрии и центриоли; *Clinocardium ciliatum*: **G** – продольный срез, **H** – акросома, **I** – митохондрии и центриоли; *Astarte borealis*: **J** – продольный срез, **K** – митохондрии и центриоли. Условные обозначения: av – акросомная гранула, ce – центриоли, fl – жгутик, m – митохондрии, n – ядро. Масштаб **A, C, D, F, G, H, I, J, K** – 1 мкм; **B, E** – 0.5 мкм.

Fig. 1. Sections of the spermatozoa. *Serripes groenlandicus*: **A** – longitudinal section, **B** – acrosome, **C** – mitochondria and centrioles; *Clinocardium californiense*: **D** – longitudinal section, **E** – acrosome, **F** – mitochondria and centrioles; *Clinocardium ciliatum*: **G** – longitudinal section, **H** – acrosome, **I** – mitochondria and centrioles; *Astarte borealis*: **J** – longitudinal section, **K** – mitochondria and centrioles. Abbreviations: av – acrosomal vesicle, ce – centrioles, fl – flagellum, m – mitochondrion, n – nucleus. Scale bar for **A, C, D, F, G, H, I, J, K** – 1 μm ; for **B, E** – 0.5 μm .

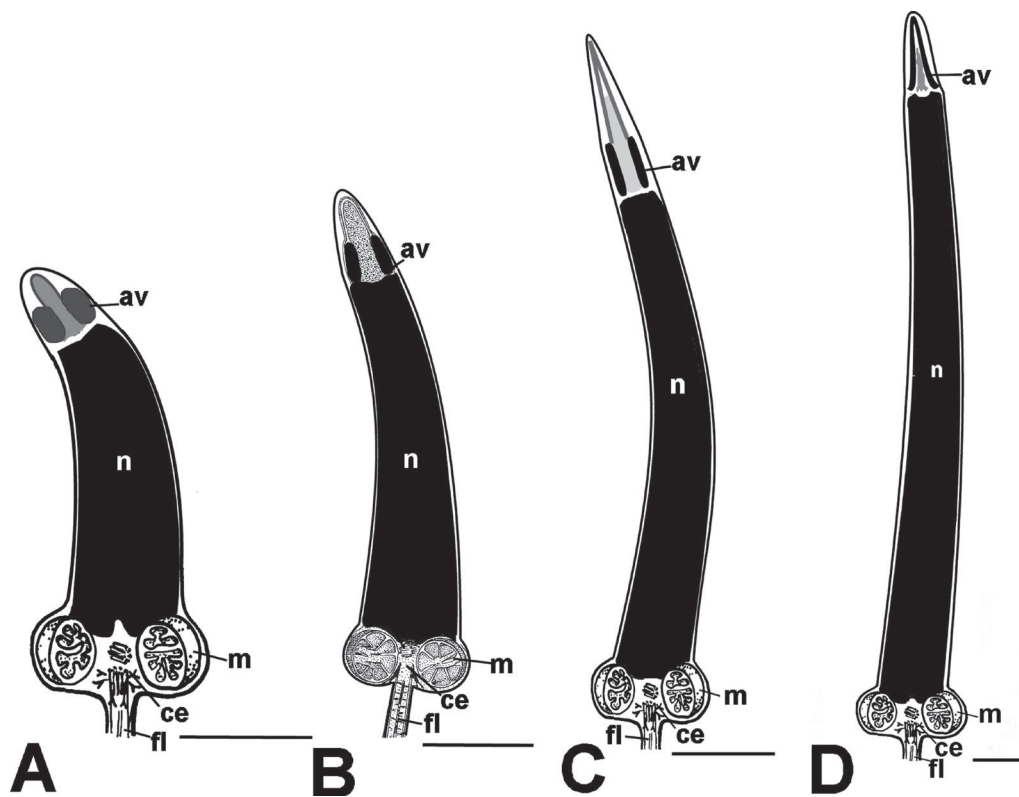


Рис. 2. Схемы строения сперматозоидов: А – *Serripes groenlandicus*, В – *Clinocardium californiense*, С – *Clinocardium ciliatum*, D – *Astarte borealis*. Обозначения см. в подписи к рис. 1. Масштаб 1 мкм.

Fig. 2. Schemes of sperm: А – *Serripes groenlandicus*, В – *Clinocardium californiense*, С – *Clinocardium ciliatum*, D – *Astarte borealis*. Abbreviations: see caption to Fig. 1. Scale bar 1 μm .

В средней части сперматозоида лежат четыре сферические митохондрии диаметром 0.6–0.7 мкм (рис. 1С). Внутри кольца митохондрий лежат 2 взаимно перпендикулярные центриоли. Проксимальная центриоль соединяется с небольшим углублением дистальной поверхности ядра жгутиковым корешком. Дистальная центриоль окружена сателлитным комплексом, которым она прикреплена к мембране. От дистальной центриоли берет начало хвостовой жгутик.

***Clinocardium californiense*.** Головка спермиев этого вида вытянутая, коническая, слегка изогнутая (рис. 1D, 2B).

Длина 7, ширина от 1 в широкой части до 0.5 мкм в узкой. Акросома коническая (рис. 1E). Высота 1.5 мкм. Периакросомный материал содержит лишь электронносветлый гранулярный компонент, который равномерно распределен по всему пространству под акросомным пузырьком. В средней части сперматозоида лежат четыре сферические митохондрии диаметром 0.6–0.7 мкм (рис. 1F).

***Clinocardium ciliatum*.** Головка спермиев вытянутая, коническая, изогнутая (рис. 1G, 2C). Длина 8 мкм, ширина от 0.8 до 0.4 мкм. Акросома вытянутая, остро коническая (рис. 1H). Высота 3 мкм, периакросомный мате-

риал содержит лишь электронносветлый гранулярный компонент. В средней части сперматозоида лежат четыре сферические митохондрии диаметром 0.6–0.7 мкм (рис. 1П) и центриоли, расположенные перпендикулярно.

Astarte borealis. Спермии данного вида имеют вытянутую, стержневидную

головку (рис. 1J, 2D), длиной 12, шириной до 1.2 мкм. Акросома небольшая, остро вытянутая, высотой до 1.7 мкм. Периакросомный материал имеет фибриллярный компонент. В средней части спермия лежат 4 митохондрии и центриоли (рис. 1К). Митохондрии сферические, диаметр 0.8–0.9 мкм.

Обсуждение

Моллюски – один из наиболее разнообразных и специализированных типов животных, тем не менее, вопрос о происхождении сестринских групп моллюсков не решен [Winnepeninckx et al., 1996; Giribet et al., 2006]. Нет устоявшихся представлений и о взаимоотношении таксонов внутри типа моллюсков, и об их филогении. Всего в мире описано примерно 8 тыс. видов двустворчатых моллюсков, в Японском море обитает около 400–500 видов. Спермии моллюсков демонстрируют очень высокое разнообразие. Несмотря на то, что почти все спермии двустворчатых моллюсков относятся к «классическим» спермиям – акваспермиям, для них характерно большое разнообразие форм среди моллюсков: простая сферическая, бочонковидная, коротко-коническая, вытянутая коническая, изогнутая, палочковидная, спиральная и другие [Tyurin, Drozdov, 2005]. Каждому семейству двустворчатых моллюсков, а также подсемействам сложных семейств, таких как Mytilidae и Cardiidae, характерна своя особая форма спермиев. То есть у двустворчатых моллюсков ультраструктура спермиев специфична не только для видов, но и для родов и семейств, и хорошо коррелирует с их таксономическим статусом.

Семейство Cardiidae – одно из самых многочисленных семейств двустворчатых моллюсков мелководных, преимущественно тепловодных морей, имеющих широкое распространение в Мировом океане. Оно включает около 200 видов, которые очень разнообразны, в связи с чем семейство иногда разделяют на несколько самостоятельных семейств. В одном только Арало-Понто-Каспийском регионе насчитывается 43 современных вида кардиид, 9 из которых принадлежат подсем. Cardiinae, 34 – подсем. Lymnocardiinae [Мунасыпова-Мотяш, 2009]. По численности и разнообразию кардииды уступают только митилидам, огромное разнообразие которых представлено приблизительно 250 современными видами, входящими в состав 33 родов [Boss, 1971], или 57 современными и вымершими таксонами родового ранга [Kafanov, Drozdov, 1998].

Нами изучены представители двух семейств: Cardiidae и Astartidae, которые принадлежат отряду Veneroidea. Как видно из рисунков, спермии *C. californiense*, *C. ciliatum*, *A. borealis*, *S. groenlandicus* имеют классическое строение водных спермиев, или акваспермиев. В целом план строения спермиев является типичным для большинства исследова-

нных видов двустворчатых моллюсков [Дроздов, Касьянов, 1985]. Наряду с наличием общего плана строения, спермии описанных нами видов отличаются друг от друга. Акросомы спермиев двустворчатых моллюсков довольно разнообразны. Относительно небольшая акросома у спермиев гребешков: она слегка вытянутая конусообразная, высотой 0.5–0.8 мкм и шириной в основании 0.5 мкм. Фибриллярный компонент периакросомного материала так или иначе присутствует и у других видов, кроме *C. ciliatum*, у которого несмотря на крупную остро-коническую акросому, периакросомный материал представлен лишь гранулярным материалом. Хорошо выражен периакросомный материал в необычной акросоме мактры китайской, он располагается под шаровидно-раздутым электронносветлым акросомным пузырьком и не погружается в ядерное углубление. Весьма похожее строение акросомы было описано и для других видов из сем. Macridae – *Spisula subtruncata* (da Costa, 1778) [Ercan, Sousa, 2001] и *Spisula solidissima* (Dillwyn, 1817) [Sousa et al., 1995]. Не имеют ядерного углубления и спермии *Mercentaria stimpsoni* (Gould, 1861) [Дроздов и др., 2009].

У спермиев изученных видов по четыре митохондрии. Это совпадает с числом митохондрий для других представителей отряда Veneroida. В то же время у ранее описанных видов из этого семейства (Veneridae) митохондрий пять [Gwo et al., 2002].

У описанных в настоящей работе видов спермии имеют строение, сходное со спермиями других видов из сем. Cardiidae: *Tridacna maxima* Röding, 1798 [Keys, Healy, 1999], *Fulvia tenuicostata* (Lamarck, 1819) [Popham, 1979], *Acrosterigma reeveanum* (Dunker, 1852). За исключением спермиев солоноватоводных кардиид *Cerastoderma edule* (L., 1758) [Sousa, Azevedo 1988; Sousa et al., 1995] и *Cerastoderma lamarcki* (Reeve, 1845) [Drozдов et al., 2001], ядро головки которых закручено в спираль. Спермии *A. borealis* отличаются от спермиев сем. Cardiidae. Они менее изогнуты, но более вытянуты, чем напоминают спермии *T. maxima*, однако в значительной степени отличаются от последних строением акросомы. Наши наблюдения подтверждают представления, что спермии двустворчатых моллюсков специфичны для семейств [Дроздов и др., 2009].

Литература

- Аксенова Т.Г. 1978. Особенности строения сперматозоидов и их значение в систематике серых полевок (Rodentia, Microtus) // Труды Зоологического института АН СССР. Т. 79. С. 91–101.
- Дроздов А.Л., Иванков В.Н. 2000. Морфология гамет животных. Значение для систематики и филогенетики. Москва: Круглый год. 460 с.
- Дроздов А.Л., Касьянов В.Л. 1985. Размеры и форма гамет у морских двустворчатых моллюсков // Биология моря. № 4. С. 33–40.
- Дроздов А.Л., Шарина С.Н., Тюрин С.А. 2009. Ультраструктура сперматозоидов у представителей шести семейств двустворчатых моллюсков из залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. Т. 35, № 3. С. 205–211.
- Мунасыпова-Мотьяи И.А. 2009. Фауно-зоогеографическая характеристика семейства Cardiidae (Mollusca, Bivalvia) Понто-Каспийского бассейна // Вестник зоологии. Т. 43, № 2. С. 141–149.

- Тюрин С.А., Дроздов А.Л. 2003. Ультраструктура спермиев четырех видов морских гребешков Японского моря (Mollusca, Bivalvia) // Зоологический журнал. Т. 82, № 12. С. 1513–1517.
- Boss K.J. 1971. Critical estimate of the number of recent Mollusca // Occasional Papers on Mollusks (Museum of Comparative Zoology Harvard University). V. 3. P. 81–135.
- Drozдов A.L., Frolenko M.L., Ferraguti M. 2001. Spermatogenesis and gamete structure in a brackishwater cardiid *Cerastoderma lamarki* // Ruthenica (Russian Malacological Journal). V. 11, N 2. P. 175–181.
- Eckelbarger K.J., Grassle J.P. 1987. Interspecific variation in genital spine, sperm, and larval morphology in six sibling species of *Capitella* // Bulletin of the Biological Society of Washington. V. 7. P. 62–76.
- Ercan M., Sousa M. 2001. Ultrastructure of spermatogenesis in *Cerastoderma glaucum* (Cardiacea) and *Spisula subtruncata* (Mactracea) // Invertebrate Reproduction and Development. V. 40. P. 227–238.
- Ferraguti M., Ruprecht D., Erseus Ch., Gies O. 1994. An ultrastructural review of tubificid spermatozoa // Hydrobiology. N 278. P. 165–178.
- Giribet G., Okusu A., Lindgren A.R., Huff S.W., Schrödl M., Nishiguchi M.K. 2006. Evidence for a clade composed of molluscs with serially repeated structures: monoplacophorans are related to chitons // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. V. 20, N 103. P. 7723–7728.
- Gwo J.-C., Yang W.-T., Sheu Y.-T., Cheng H.-Y. 2002. Spermatozoan morphology of four species of bivalve (Heterodonta, Veneridae) from Taiwan // Tissue and Cell. V. 34. P. 39–43.
- Hodgson A.N. 1995. Spermatozoal morphology of Patellogastropoda and Vetigastropoda (Mollusca, Prosobranchia) // Memories du Muséum National d'Histoire Naturelle. N 166. P. 167–177.
- Kafanov A.I., Drozdov A.L. 1998. Comparative sperm morphology and phylogenetic classification of Recent Mytiloidea (Bivalvia) // Malacologia. V. 39. P. 129–139.
- Keys J.L., Healy J.M. 1999. Sperm ultrastructure of the giant clam *Tridacna maxima* (Tridacnidae: Bivalvia: Mollusca) from the Great Barrier Reef // Marine Biology. V. 135. P. 41–46.
- Lutaenko K.A. 2005. Bivalve mollusks of Ussuriysky Bay (Sea of Japan). Part 1 // Bulletin of the Russian Far East Malacological Society. V. 9. P. 59–81.
- Paschehko S.D., Drozdov A.L. 1998. Morphology of gametes in five species of Far-Eastern chitons // Invertebrate Reproduction and Development. V. 33. P. 47–56.
- Popham J.D. 1979. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny // Malacological Review. V. 12, N 1. P. 1–20.
- Sousa M., Azevedo C. 1988. Comparative silver staining analysis on spermatozoa of various invertebrate species // International Journal of Invertebrate Reproduction and Development. V. 13. P. 1–8.
- Sousa M., Oliveira E., Carvalho J., Oliveira V. 1995. Comparative silver staining of molluscan spermatozoa // Memories du Muséum National d'Histoire Naturelle. V. 166. P. 179–187.
- Tyurin S.A., Drozdov A.L. 2005. Sperm ultrastructure of two *Yoldia* species (Yoldiidae, Nuculoida, Bivalvia) from the Sea of Japan // Ruthenica (Russian Malacological Journal). V. 15, N 2. P. 157–160.
- Winnepenninckx B., Backeljau T., De Wachter R. 1996. Investigation of molluscan phylogeny on the basis of 18S rRNA sequences // Molecular Biology and Evolution. V. 10, N 13. P. 1306–1317.