

Ультраструктура спермиев четырех видов морских блюдечек семейства Lottiidae: *Lottia angusta*, *L. kogamogai*, *L. versicolor* и *Nipponacmea moskalevi*

А.Л. Дроздов, Т.В. Шандрюк

Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия
Дальневосточный государственный университет, Владивосток 690000, Россия

Исследована ультраструктура спермиев *Lottia angusta*, *L. kogamogai*, *L. versicolor* и *Nipponacmea moskalevi* семейства Lottiidae (Patelliformes) из вод Японского моря. Все 4 вида имеют хвостатые спермии, типичные для животных с наружным осеменением и состоят из головки (включает акросому и ядро), средней части и хвостового жгутика. Структура спермиев *L. versicolor* соответствует общей схеме строения сперматозоидов семейства Lottiidae. Доказано отнесение *L. versicolor* в данный род на основе изучения ультраструктуры мужских гамет. Структура спермиев *N. moskalevi* оказалась схожей с *N. schrenckii*, но отмечены некоторые значительные различия в структуре и размерах. Данные особенности были найдены у *Patelloida pygmaea* со спорным систематическим положением, из чего был сделан вывод, что, возможно, этот вид должен быть помещен в род *Nipponacmea*. Структуры спермиев *L. angusta* и *L. kogamogai* оказались не соответствующими общей схеме строения мужских гамет семейства Lottiidae и, в частности, рода *Lottia*. При сопоставлении оригинальных данных по структуре спермиев изучаемых видов лоттий с информацией по другим представителям этого же семейства было обнаружено значительное сходство сперматозоидов *L. angusta* и *L. kogamogai* с таковыми видов рода *Nipponacmea* и вида *P. pygmaea* со спорным таксономическим положением. Была предположена необходимость переноса этих видов из рода *Lottia* в род *Nipponacmea*.

Sperm ultrastructure in four species of limpets of the family Lottiidae: *Lottia angusta*, *L. kogamogai*, *L. versicolor* and *Nipponacmea moskalevi*

A.L. Drozdov, T.V. Shandruk

Institute of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences,
Vladivostok 690041, Russia
Far Eastern National University, Vladivostok 690000, Russia

In present work, the sperm ultrastructure in four species of the limpets *Lottia angusta*, *L. kogamogai*, *L. versicolor* and *Nipponacmea moskalevi* (Lottiidae, Patelliformes) from Peter Great Bay of the Sea of Japan was studied. These species have the flagellate spermatozoa typical for animals with external insemination. They consist of the head (including an acrosome and a nucleus), a middle piece of sperm and a tail flagellum. The sperm structure in *L. versicolor* corresponds to the general scheme of sperm structure in the Lottiidae. It confirms that «*versicolor*-limpet» belongs to *Lottia*. The sperm structure in *N. moskalevi* looks like the sperm structure in other species of this genus – *N. schrenckii*, but some differences in a structure and in sizes are noted. The features were found out in the limpet *Patelloida pygmaea*. This species has a disputable taxonomical position and it is possible to suppose that this species may belong to *Nipponacmea*. The sperm structure in *L. angusta* and *L. kogamogai* does not correspond to the general scheme of sperm structure in Lottiidae and in particular of the genus *Lottia*. Significant similarity of *L. angusta* and *L. kogamogai* sperm with sperm structure of *Nipponacmea* and *P. pygmaea* was found. It was suggested the necessity of additional taxonomical studies of *L. angusta*, *L. kogamogai* and *P. pygmaea*. These species may belong to *Nipponacmea*.

Переднежаберные – разнообразная и прогрессирующая группа брюхоногих моллюсков. С открытием новых таксонов и использования новых таксономических методов пересматривали систематику этого подкласса [Haszprunar, 1988; Lindberg, 1988, 1990, 1998]. Проводили многочисленные работы по пересмотру систематики Patellostropoda на основе традиционных конхиологических и анатомических признаков. Однако для построения филогенетических связей этого отряда необходимо учитывать не только строение раковины и внутренних органов, но также цитологические и молекулярные данные. В качестве цитологических данных можно использовать ультраструктуру спермиев, для которых характерна видоспецифичность особенностей строения.

Сравнительные работы по морфологии спермиев предоставляют интересные данные по взаимоотношениям ветигастропод и пателлогастропод

[Healy 1988, 1989, 1990a, b; Hodgson, Bernard 1988, 1989; Hodgson et al., 1990; Jamieson et al., 1991; Hodgson, Foster 1992; Hodgson, 1995; Hodgson, Morton, 1998]. Однако если данные по морфологии спермиев имеют какую-либо ценность в филогенетических работах по пателлогастроподам, то необходима аналогичная информация по всем семействам этой группы (Lepetitidae, Acmaeidae и дальнейшее описание Lottiidae, Nacellidae) [Hodgson, Chia, 1993].

Цель работы состояла в изучении морфологии гамет 4 видов семейства Lottiidae из Японского моря и попытка интерпретировать полученную информацию для выявления филогенетических связей и систематического положения. Мы исследовали ультраструктуру спермиев *Lottia angusta*, *L. kogamogai*, *L. versicolor* и *Nipponacmea moskalevi* и сравнили ее с литературными данными по ультраструктуре спермиев других видов семейства Lottiidae.

Материал и методика

В качестве объектов исследования служили четыре вида брюхоногих моллюсков: *Lottia angusta* (Moskalev in Golikov et Scarlato, 1967), *L. kogamogai* Sasaki et Okutani, 1994, *L. versicolor* (Moskalev in Golikov et Scarlato, 1967) и *Nipponacmea moskalevi* Chernyshev et Chernova, 2002 (Patelliformes, семейство Lottiidae (=Tecturidae), подсемейство Lottiinae). Моллюски были собраны на биостанции Института биологии моря ДВО РАН «Восток» в зал. Восток и на Морской экспериментальной станции «Троица» Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН в зал. Посыета зал. Петра Великого Япон-

ского моря в летние месяцы разных лет. Для ультраструктурного исследования сперматозоидов кусочки гонад фиксировали в 2,5%-ном глутаральдегиде на морской воде, промывали фильтрованной морской водой и дофиксировали 4%-ным OsO₄ полчаса. Фиксированный материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы получали на микротоме Ultracut фирмы Reichert. Для исследования выбирались только серебристые и золотистые срезы. Просмотр и фотографирование срезов осуществляли на электронном микроскопе JEM-100B.

Результаты

Lottia angusta

Спермии *L. angusta* имеют классическое строение, характерное для животных с наружным осеменением (рис. 1–5). Они состоят из головки, включающей акросому и ядро, средней части спермия и хвостового жгутика. Длина головки сперматозоида варьирует от 3.4 мкм до 3.8 мкм.

В апикальной части головки находится акросома, длиной 1.4–1.6 мкм,

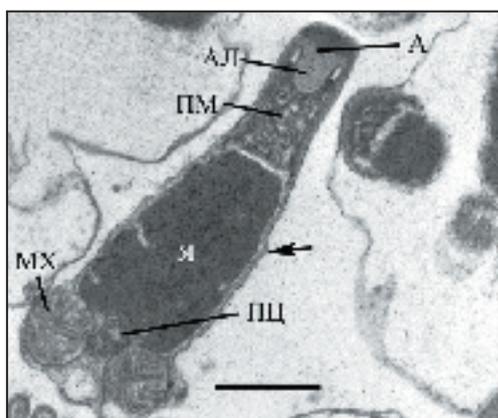


Рис. 1. Продольный срез спермия *Lottia angusta*. Обозначения на рис. 1–21: А – акросомный пузырек; АЛ – акросомная лопасть; В – электронно-плотная везикула; ДЦ – дистальная центриоль; Ж – жгутик; МХ – митохондрия; ПМ – периакросомный материал; ПЦ – проксимальная центриоль; ЦВ – цитоплазматический воротничок; ЭПЛ – электронно-плотная часть акросомного пузырька; Я – ядро; ЯЯ – ядерная ямка; стрелкой отмечена плазматическая мембрана. Масштаб 1 мкм.

Fig. 1. Spermatozoon of *Lottia angusta*. Abbreviations for figs. 1–21: А – acrosomal vesicle; АЛ – acrosomal blade; В – electronic-dense vesicle; ДЦ – distal centriole; Ж – flagellum; МХ – mitochondria; ПМ – periacrosomal material; ПЦ – proximal centriole; ЦВ – cytoplasmic collar; ЭПЛ – electronic-dense part of acrosomal vesicle; Я – nucleus; ЯЯ – nucleus dimple; arrow – plasma membrane. Scale bar = 1 μ .

что составляет 41–42% от общей длины головки (рис. 1, 2). С задней стороны акросомы находится широкое впячивание (диаметр 0.6–0.7 мкм) около 1.1–1.2 мкм глубиной, вследствие чего оно пронизывает ее на 75–79%. Таким образом, акросомная гранула имеет вид стакана с очень тонкими стенками и толстым дном, от которого в периакросомное пространство вдается задняя лопасть. Диаметр «стакана» постепенно изменяется от 0.3–0.4 мкм до 0.8 мкм. «Стенки стакана» представлены мембраной акросомного пузырька, которая создает складку с небольшим количеством электронно-прозрачного материала. Апикальная часть акросомной гранулы имеет плоскую поверхность с закругленными краями. Лопасть в длину достигает примерно 0.3 мкм, а в диаметре 0.2–0.3 мкм. Содержимое акросомной гранулы дифференцировано на электронно-плотный слой (толщина около 0.2 мкм) с самой апикальной стороны и электронно-прозрачную область, заполняющую лопасть и часть «дна». Периакросомный материал

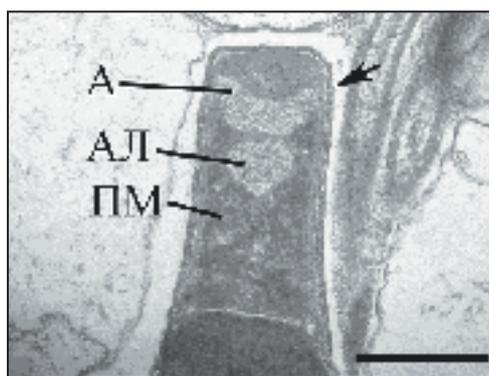


Рис. 2. Акросома *Lottia angusta*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 2. Acrosome of *Lottia angusta*. Scale bar = 0.5 μ .

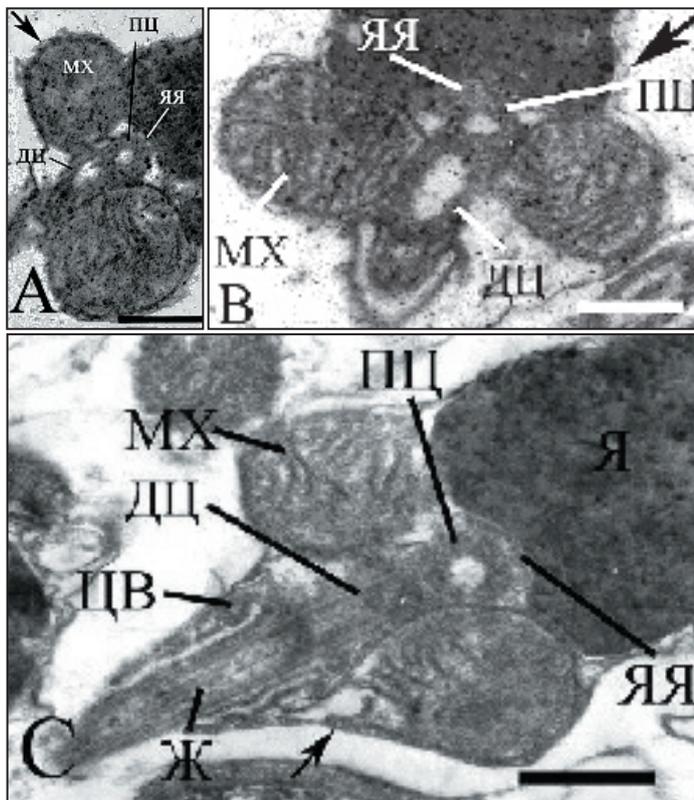


Рис. 3 А, В, С. Средняя часть спермия *Lottia angusta*. Масштаб 0.5 мкм.
 Fig. 3 А, В, С. The middle sperm piece of *Lottia angusta*. Scale bar = 0.5 μ .

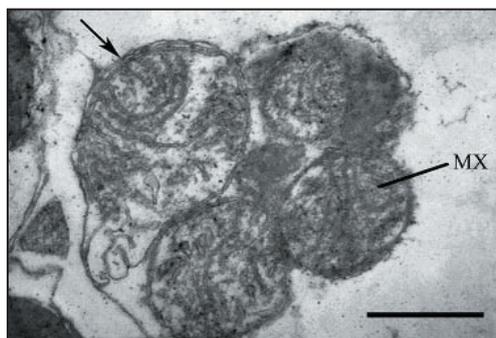


Рис. 4. Поперечный срез через среднюю часть спермия *Lottia angusta*. Масштаб 0.5 мкм.
 Fig. 4. The middle sperm piece of *Lottia angusta*. Scale bar = 0.5 μ .

представлен гранулами, которые неравномерно заполняют все пространство «стакана».

Ядро имеет форму бочонка либо усеченного конуса (рис. 1, 3). Высота его около 2.0–2.2 мкм. Поверхность ядра, контактирующая с периакросомным материалом, плоская. Диаметр верхней части ядра 0.4–0.6 мкм, который постепенно увеличивается до 1.0–1.2 мкм, либо на протяжении 2/3 длины ядра расширяется до 1.1 мкм, а потом вновь сужается до 1.0 мкм. На нижней поверхности ядра находится небольшая ямка глубиной 0.1 мкм и диаметром 0.4 мкм. В ямку частично заходит проксимальная центриоль. Электронно-плотный материал хроматина равномерно распределен по всему объему ядра.

Средняя часть спермия в высоту достигает 0.8–0.9 мкм, а в диаметре около 1.4–1.6 мкм (рис. 3). В ее состав входит четыре овальные митохондрии, заполненные относительно крупными и редкими пластинчатыми кристами, а также гранулярным материалом (рис. 4). Размер митохондрий составляет 0.5–0.9 мкм. Средняя часть представляет собой самую широкую часть спермия, несколько выдаваясь на поверхности и создавая небольшие бугры. Митохондрии окружают две центриоли, расположенные перпендикулярно друг другу. Проксимальная

центриоль частично заходит в ядерную ямку. От дистальной отходит аксонема жгутика. Жгутик имеет классический паттерн микротрубочек 9(2)+2. Весь сперматозоид покрыт общей плазматической мембраной, которая в проксимальной области аксонемы образует цитоплазматический воротничок длиной около 0.6 мкм (рис. 5).

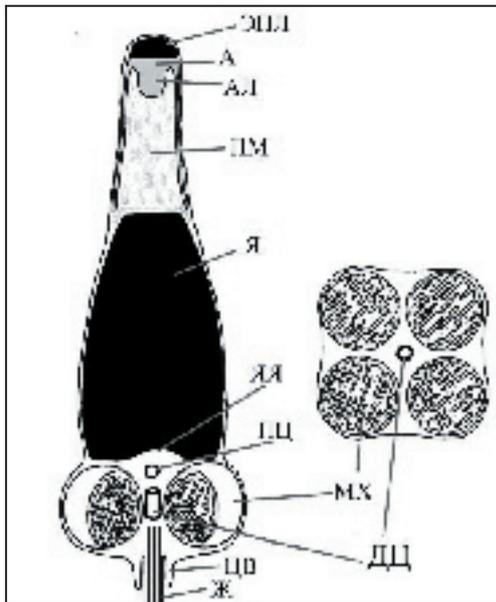


Рис. 5. Схема строения спермия *Lottia angusta*.

Fig. 5. Diagram of the mature spermatozoon of *Lottia angusta*.

Lottia kogamogai

Спермии *L. kogamoga* также имеют классическое строение, характерное для животных с наружным осеменением (рис. 6–9). Они состоят из головки, включающей акросому и ядро, средней части спермия и хвостового жгутика. Длина головки сперматозоида достигает от 3.5 мкм до 4.2 мкм.

Апикальная часть головки увенчана акросомой, акросомная гранула

которой представлена в виде «стакана» (рис. 6). Диаметр от «дна стакана» по направлению к ядру увеличивается от 0.2–0.3 мкм до 0.6–0.8 мкм. Глубокое вдачивание с задней стороны длится 1.3–1.5 мкм, что составляет от общей длины акросомы (1.5–2 мкм) примерно 75–87%. Диаметр этого углубления достигает 0.5–0.6 мкм. Акросома составляет 43–48% от длины головки спермия. Лопасть, отходящая в периакросомное пространство, имеет длину 0.3–0.4 мкм и диаметр 0.1–0.2 мкм. Объем акросомной гранулы заполнен дифференцированным материалом, который представлен электронно-плотным слоем (толщиной 0.2 мкм) с апикальной стороны и электронно-прозрачным в остальной части «стакана» и в лопасти. Периакросомное пространство заполнено гранулярным материалом, неравномерно распределенным по его объему.

Ядро имеет форму усеченного конуса высотой 2.0–2.2 мкм (рис. 6). Диаметр его постепенно изменяется от 0.5–0.6 мкм до 0.9–1.1 мкм. Верхняя поверхность ядра, обращенная к акросоме, практически плоская. В центре

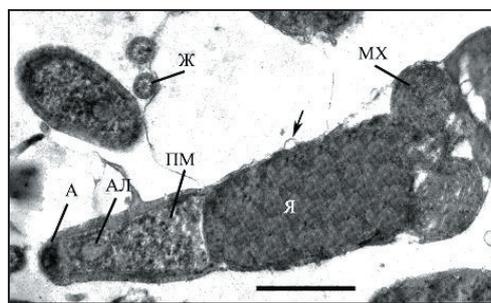


Рис. 6. Спермий *Lottia kogamogai*. Масштаб 1 мкм.

Рис. 6. Spermatozoon of *Lottia kogamogai*. Scale bar = 1 μ.

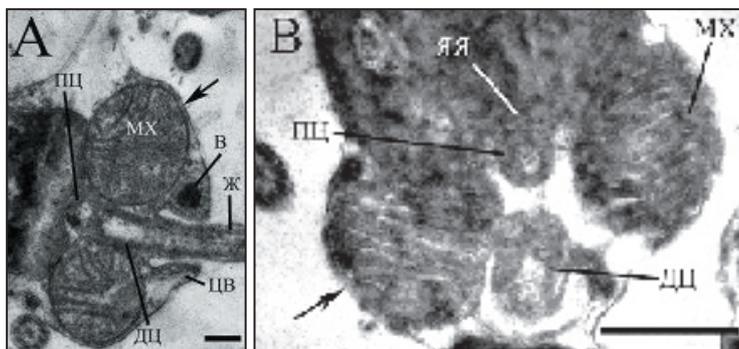


Рис. 7 А, В. Продольный срез через среднюю часть спермия *Lottia kogamogai*. Масштаб: А – 0.25 мкм, В – 0.5 мкм.

Fig. 7 А, В. The middle sperm part of *Lottia kogamogai*. Scale bars: А – 0.25 μ, В – 0.5 μ.

нижней поверхности ядра находится небольшая ямка (рис. 10). Ее глубина составляет 0.1 мкм, а диаметр – 0.3–0.4 мкм. Хроматин представлен электронно-плотной массой, которая равномерно заполняет весь объем ядра.

Средняя часть спермия высотой 0.7–0.9 мкм и диаметром 1.3–1.9 мкм

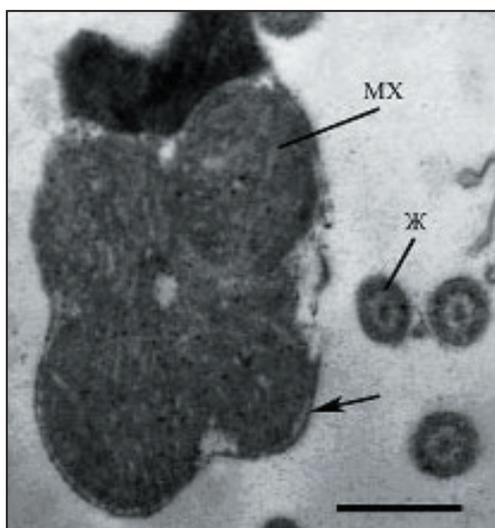


Рис. 8. Поперечный срез через среднюю часть спермия *Lottia kogamogai*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 8. The middle sperm part of *Lottia kogamogai*. Scale bar = 0.5 μ.

(рис. 7). В нее входит четыре округлые митохондрии, заполненные довольно частыми крупными пластинчатыми кристами и гранулярным материалом (рис. 8). Диаметр митохондрий варьирует от 0.4 мкм до 0.8 мкм. В центре кольца митохондрий находятся две перпен-

дикулярно расположенные центриоли. Проксимальная центриоль частично заходит в нижнюю ядерную ямку. Дистальная – дает начало аксонеме жгутика, который может идти либо, продолжаясь в направлении длины головки спермия, либо, развернувшись почти на 90° от ядра (рис. 7).

Весь спермий покрыт общей плазматической мембраной, которая образует цитоплазматический воротничок, окружающий переднюю часть аксонемы. Он обладает длиной 0.3–0.5 мкм. В состав цитоплазматического воротничка входит электронно-плотная везикула (рис. 9).

Lottia versicolor

Строение спермиев *L. versicolor* также имеет классический тип, характерный для гамет животных с наружным оплодотворением (рис. 10–17). Головка сперматозоидов имеет длину 5.5–5.7 мкм.

Акросома в апикальной части головки представлена в виде удлиненного конуса с округлым передним концом (рис. 10–12). Она достигает в длину 2.9–3.2 мкм, таким образом,

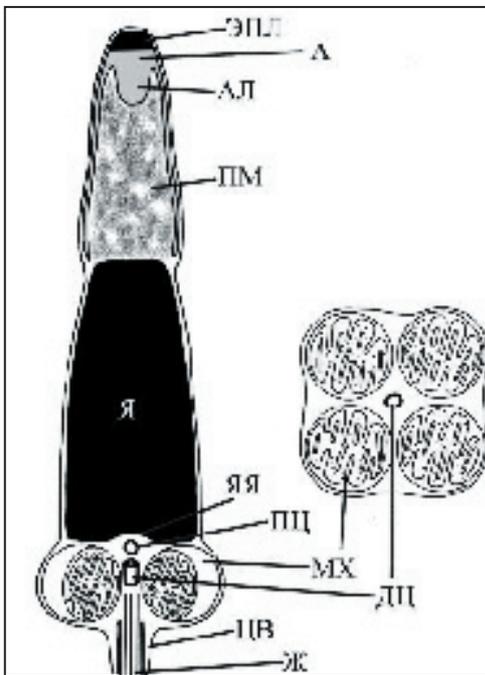


Рис. 9. Схема строения спермия *Lottia kogamogai*.

Fig. 9. Diagram of the mature spermatozoon of *Lottia kogamogai*.



Рис. 10. Продольный срез спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 1 мкм.

Fig. 10. Spermatozoon of *Lottia versicolor*. Scale bar = 1 μ .

составляя более 50% от общей длины головки. Акросомный пузырьрек содержит дифференцированный материал: снаружи находится электронно-прозрачный слой, а внутри электронно-плотная область (диаметром примерно 0.1 мкм) (рис. 11). С задней стороны акросомы имеется широкое впячивание, диаметр которого немного отличается от диаметра основания акросомы (0.5–0.6 мкм) и составляет примерно 0.3 мкм. В глубину это впячивание достигает 0.7–0.9 мкм и составляет 17–30% от общей длины акросомы. В периакросомное пространство вдается акросомная лопасть длиной 0.3–0.6 мкм и диаметром 0.2–0.3 мкм. Материал периакросомного пространства сконденсирован в осевую стержнеобразную структуру, расположенную между акросомной лопастью и ядром.

Пулеобразное ядро имеет длину 2.5–2.7 мкм (рис. 10, 17). Его диаметр постепенно изменяется в направлении от акросомы, увеличиваясь от 0.4–0.5 мкм до 0.7–0.9 мкм. Верхняя поверхность ядра немного выпуклая, вследствие чего она слегка внедряется в периакросомное пространство. На нижней стороне находится небольшая ямка глубиной 0.1 мкм и диаметром 0.3 мкм

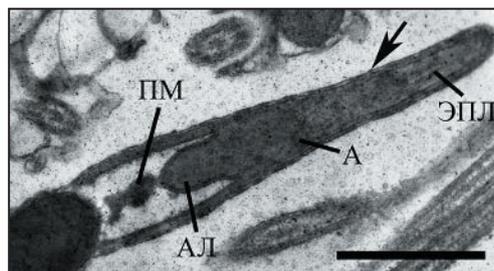


Рис. 11. Продольный срез через акросому спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 1 мкм.

Fig. 11. The acrosome of spermatozoon of *Lottia versicolor*. Scale bar = 1 μ .

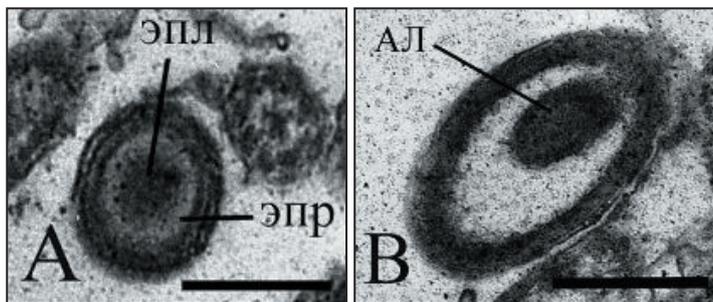


Рис. 12 А, В. Поперечный срез через акросому спермия *Lottia versicolor*. АЛ – акросомная лопасть; ЭПЛ – электронно-плотная осевая стержнеобразная структура; ЭПР – электронно-прозрачный материал. Масштаб: А – 0.5 мкм, В – 0.3 мкм.

Fig. 12 А, В. The transverse section of the acrosome of spermatozoon of *Lottia versicolor*. Scale bars: А – 0.5 μ , В – 0.3 μ .

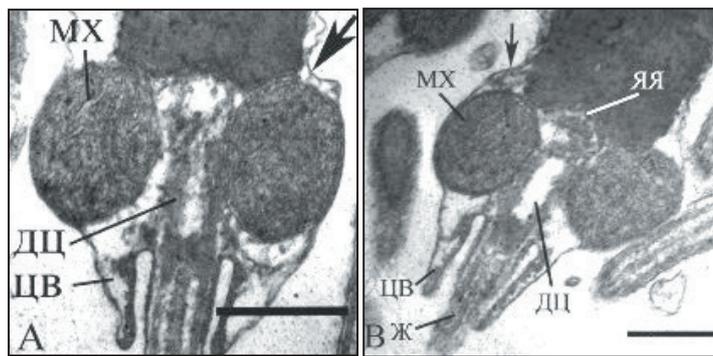


Рис. 13 А, В. Продольный срез через среднюю часть спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 13 А, В. The middle sperm part of *Lottia versicolor*. Scale bar = 0.5 μ .

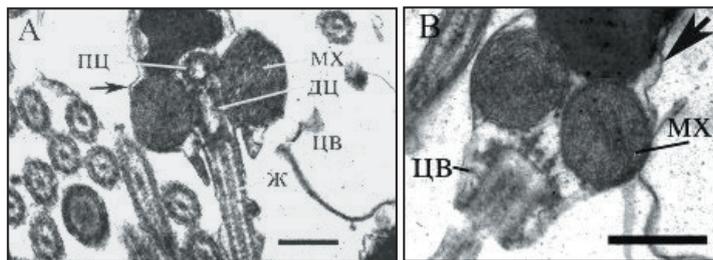


Рис. 14 А, В. Продольный срез через среднюю часть спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 14 А, В. The middle sperm part of *Lottia versicolor*. Scale bar = 0.5 μ .

(рис. 13, 14). Ядерный хроматин представлен электронно-плотным материалом, равномерно распределенным по всему объему ядра.

Средняя часть состоит из кольца четырех митохондрий и двух перпендикулярно расположенных центриол в его центре (рис. 10, 13–15). В высоту эта часть спермия достигает 0.5–0.7 мкм, а в диаметре – 0.8–1.4 мкм. Митохондрии в большинстве своем сферические с диаметром 0.4–0.6 мкм, некоторые более овальные. Содержимое их представлено мелкими, плотноупакованными пластинчатыми кристами. Проксимальная центриоль отчасти заходит в ядерную ямку на его нижней поверхности. От дистальной центриолы отходит жгутик с классическим паттерном микротрубочек (рис. 13, 14, 16). Весь спермий покрыт единой плазматической мембраной, которая в проксимальной области аксонемы

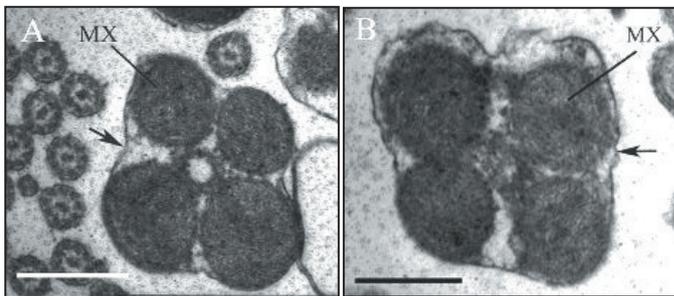


Рис. 15 А, В. Поперечный срез через среднюю часть спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 15 А, В. The middle sperm part of *Lottia versicolor*. Scale bar = 0.5 μ .

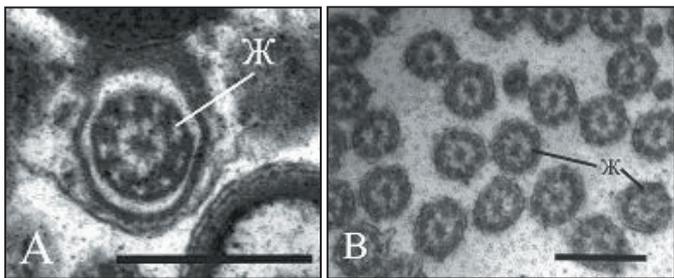


Рис. 16 А, В. Поперечный срез через жгутики спермия *Lottia versicolor*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 16 А, В. Transverse section of flagella of *Lottia versicolor*. Scale bar = 0.5 μ .

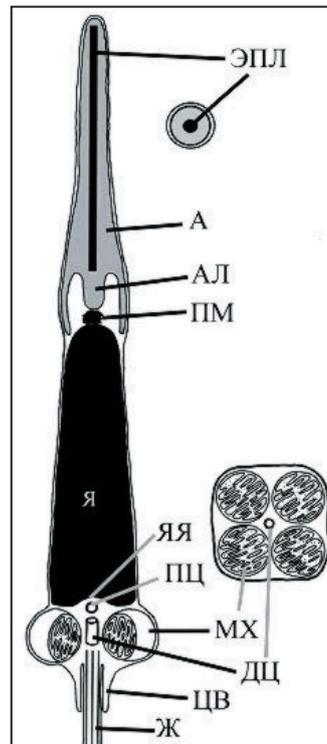


Рис. 17. Схема строения спермия *Lottia versicolor*.

Fig. 17. Diagram of the mature spermatozoon of *Lottia versicolor*.

образует цитоплазматический воротничок длиной 0.4–0.5 мкм (рис. 17).

Nipponacmea moskalevi

Спермии *N. moskalevi* также имеют классическое строение, характерное для животных с наружным осеменением (рис. 18–21). Они состоят из головки, включающей акросому и ядро, средней части спермия и хвостового жгутика. Длина головки сперматозоида варьируется от 3.5 мкм до 4.0 мкм.

Примерно 40–42% от общей длины головки составляет акросома, размер которой достигает 1.4–1.7 мкм в длину (рис. 18). Она имеет вид стакана с окру-

глым дном и тонкими стенками. Диаметр акросомы постепенно увеличивается от 0.3–0.4 мкм до 0.9 мкм. С задней стороны имеется широкое впячивание диаметром примерно 0.7 мкм и глубиной 0.9–1.3 мкм (64–76%). В это углубление вдается от «дна стакана» акросомная лопасть длиной 0.3–0.4 мкм и диаметром 0.2–0.3 мкм. Внутреннее содержимое акросомного пузырька состоит из электронно-плотного слоя (толщиной 0.3 мкм) с апикальной стороны «дна» и электронно-прозрачного материала в оставшейся части. Периакросомное пространство заполнено гранулярным материалом средней

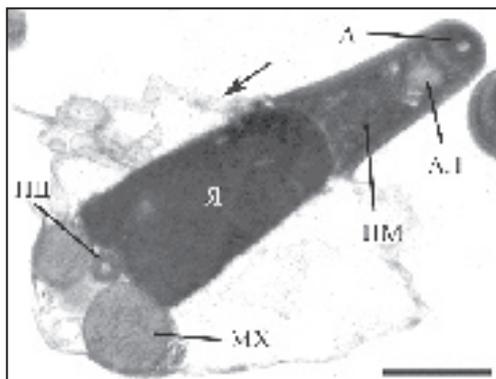


Рис. 18. Продольный срез спермия *Nipponacmea moskalevi*. Масштаб 1 мкм.

Fig. 18. The spermatozoon of *Nipponacmea moskalevi*. Scale bar = 1 μ .

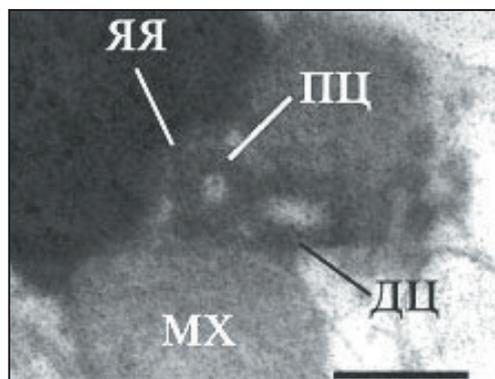


Рис. 19. Продольный срез через среднюю часть спермия *Nipponacmea moskalevi*. Масштаб 0.5 мкм.

Fig. 19. The middle sperm part of *Nipponacmea moskalevi*. Scale bar = 0.5 μ .

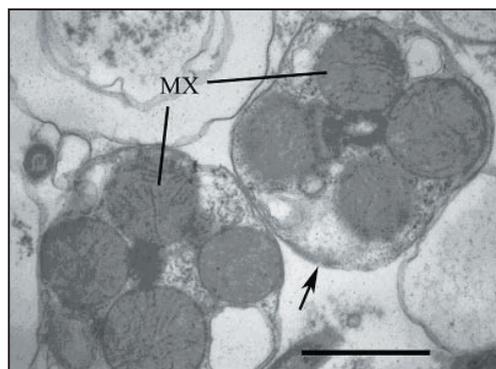


Рис. 20. Поперечный срез средней части спермия *Nipponacmea moskalevi*. Масштаб 1 мкм.

Fig. 20. The transverse section of the middle sperm part of *Nipponacmea moskalevi*. Scale bar = 1 μ .

электронной плотности, практически равномерно распределенным по всему объему.

Пулевидное ядро достигает в длину 2.1–2.3 мкм (рис. 18). Верхняя округлая поверхность немного выпячивается в периакросомное пространство. Диаметр ядра сверху вниз уменьшается от 0.7–0.9 мкм до 1.0–1.3 мкм. На нижней плоскости имеется небольшая ямка

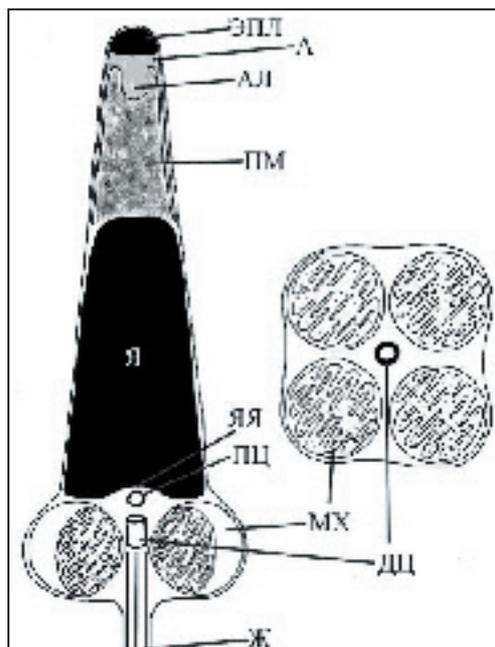


Рис. 21. Схема строения спермия *Nipponacmea moskalevi*.

Fig. 21. Diagram of the mature spermatozoon of *Nipponacmea moskalevi*.

глубиной 0.1 мкм и диаметром 0.5 мкм (рис. 18, 19). Хроматиновый материал представлен электронно-плотной мас-

сой, которая равномерно заполняет весь объем ядра, лишь в некоторых местах встречаются лакуны с электронно-плотным, почти прозрачным материалом.

В средней части находится четыре сферические митохондрии, окружающие две перпендикулярно расположенные центриоли (рис. 20). Высота средней части составляет 0.8 мкм, а диаметр – 1.5–2.0 мкм. Митохондрии имеют диаметр 0.7–0.8 мкм. Их содер-

жимое представлено гранулярным материалом и довольно мелкими пластинчатыми кристами со средней плотностью заполнения. Проксимальная центриоль частично заходит в нижнюю ядерную ямку. От дистальной центриоли берет начало аксонема жгутика (рис. 21). Размеры органелл четырех изученных видов приморских бюджетек представлены в табл 1.

Таблица 1

Размеры структур спермиев четырех видов Lottiidae [Hodgson, Chia, 1993]
 Sizes of sperm structure in four species of видов Lottiidae [Hodgson, Chia, 1993]

Семейство, вид	Общая длина головки	Ядро			Акросома			Акросомная лопасть		М
		Д	Ди	Д:Ди	Д	Ди	Д:Ди	Д	Ди	
<i>Lottia pelta</i>	5.52±0.04	2.22±0.03	1.10±0.02	2.0:1	3.30±0.01	0.9±0.02	3.7:1	0.60	0.20	4–5
<i>L. digitalis</i>	6.07±0.05	2.51±0.06	0.78±0.02	3.2:1	3.47±0.06	0.6±0.01	5.8:1	0.60	0.17	4
<i>L. strigatella</i>	5.81±0.04	2.69±0.02	0.86±0.01	3.1:1	3.12±0.02	0.5±0.01	6.2:1	1.04	0.17	4
<i>Tectura scutum</i>	8.76±0.05	3.00±0.04	0.78±0.03	3.8:1	5.80±0.03	0.5±0.03	11.6:1	1.30	0.15	4

Примечание. Д – длина; Ди – диаметр; Д:Ди – отношение длины к диаметру; М – количество митохондрий.

Обсуждение

Сравнение ультраструктуры спермиев *Lottia versicolor* и других видов рода *Lottia*

Структура спермиев *L. versicolor* соответствует общей схеме строения мужских гамет семейства Lottiidae (рис. 22), данной на основе изучения ультраструктуры у трех видов рода *Lottia* и одного вида рода *Tectura* (рис. 23) [Hodgson, Chia, 1993]. Так, головка спермиев *L. versicolor* удлиненная (длина/ширина > 7/1), что даже несколько больше, чем эта размерность у уже известных видов рода *Lottia* (длина/ширина > 5/1). Форма у нее

также коническая. В длину головка по размерам более сходна с *Lottia pelta* и *Lottia strigatella*, в то время как у *Lottia digitalis* она еще более длинная.

Ядро имеет пулеобразную форму и несколько заходит передним округлым краем в периакросомное пространство, также как и у других лоттий (хотя у *L. digitalis*, *L. pelta* и *L. strigatella* такую форму обозначили как почти цилиндрическую). У всех этих видов ядерный хроматин плотно сконденсирован

по всему объему, лишь иногда встречаются лакуны с менее электронно-плотным содержимым, но, возможно, они являются лишь результатом фиксации. Также отмечается деформация боковых стенок ядра в некоторых местах. Диаметр ядра у *L. versicolor* в среднем составляет 0.6 мкм, тогда как у других лоттий он несколько больше. Ближе всего по этой характеристике находится *L. digitalis*, а у *L. pelta* диаметр, по сравнению с изученным нами видом, почти в два раза больше. Длина ядра в среднем составляет 2.6 мкм и, тем самым, ставит *L. versicolor* по этому признаку между *Lottia digitalis* и *Lottia strigatella*. Отношение же длина/ширина у *L. versicolor* составляет 4.3/1, что значительно

больше, чем у изученных ранее представителей этого рода. У всех видов лоттий на нижней поверхности ядра обнаружена небольшая ядерная ямка.

Акросома *L. versicolor*, как и у других лоттий, составляет более 50% от общей длины головки и имеет коническую форму. Согласно варьирующей длине акросомы *L. versicolor* по этому признаку ближе всего к *L. strigatella*, хотя иногда эта размерность несколько превышает таковую у данного вида и, таким образом, приближается к *L. pelta*. Акросома же *L. digitalis* гораздо больше. Базальный диаметр акросомы *L. versicolor* очень схож с таковым *L. strigatella* и *L. digitalis*. Однако у *L. pelta* он несколько больше. Акросомы всех

видов сзади инвагинированы. Впячивание у *L. versicolor* немного меньше, хотя достигает до минимальных размеров остальных видов. То же самое можно сказать и про лопасть, внедряющуюся в периакросомное пространство у всех видов. Нужно лишь отметить, что у *L. versicolor* лопасть может быть в два раза меньше, чем у *L. pelta* и *L. digitalis*, а у *L. strigatella* отмечается наибольшая длина этой структуры. Что же касается диаметра этой лопасти, то у *L. versicolor* он достигает 0.2–0.3 мкм и представляет собой наибольшую величину по срав-

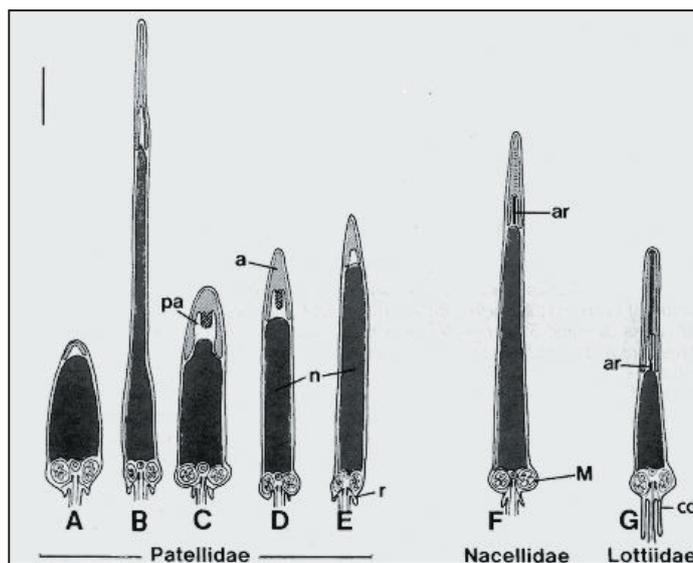
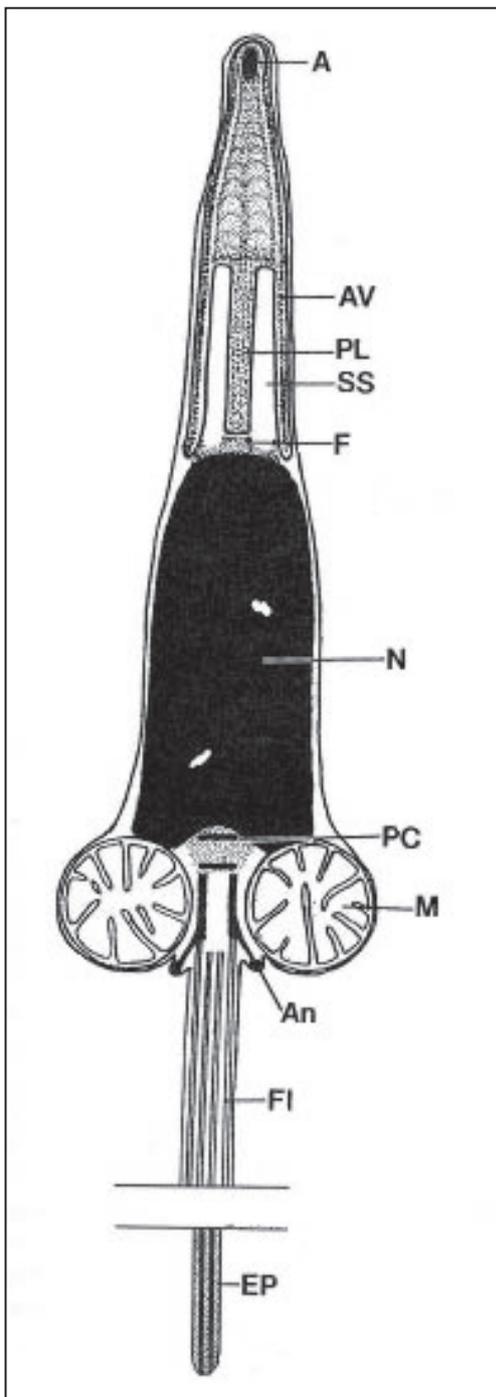


Рис. 22. Схематические продольные срезы через спермии показательных видов трех семейств пателлогастропод [Hodgson, 1995]. а – акросома; ar – акросомный стержень; со – цитоплазматический воротничок; m – митохондрия; n – ядро; r – центриольные сателлиты; pa – заднее акросомное впячивание. Масштаб 2 мкм.

Fig. 22. Diagram of the mature spermatozoa of some species of three families of Patellogastropoda [Hodgson, 1995]. a – acrosome; ar – acrosomal rod; co – cytoplasmic collar; m – mitochondria; n – nucleus; r – centriolar satellites; pa – posterior acrosomal intrusion. Scale bar = 2 μ.

нению с остальными видами лоттий. Лишь у *L. pelta* данная характеристика достигает минимума *L. versicolor*. В



периакросомном пространстве у всех лоттий материал агрегирует в осевую структуру, хотя у *L. versicolor* она более рыхлая. Передняя часть акросомы у всех дифференцирована на электронно-прозрачный слой снаружи и более электронно-плотную область в центральной области.

Средняя часть у всех видов сходного строения и содержит митохондрии, окружающие проксимальную и дистальную центриоли. Однако сравнить размеры средней части не представляется возможным, вследствие отсутствия данных по видам из литературных источников. У каждого из лоттий имеется по четыре митохондрии, исключением является лишь *L. pelta*, у которой иногда встречается пять штук. Митохондрии с хорошо развитыми пластинчатыми кристами. Диаметр митохондрий у *L. versicolor* несколько меньше, чем у остальных лоттий, но максимальный их размер все-таки совпадает с таковым у других.

Рис. 23. Схема строения спермия *Tectura testudinalis* [Buckland-Nicks, Howley, 1997]. А – актин верхушки акросомы; AV – акросомный пузырек; SS – периакросомное пространство; PL – задняя лопасть; F – хлопьевидный материал периакросомного пространства; N – ядро; PC – проксимальная центриоль; An – дистальная центриоль и центриолярные сателлиты, связывающие кольцо с плазматической мембраной; M – митохондрия; Fl – жгутик; EP – плотная средняя часть с редуцированными микротрубочками.

Fig. 23. Diagram of the mature spermatozoon of *Tectura testudinalis* [Buckland-Nicks, Howley, 1997]. A – actin of acrosomal tip; AV – acrosomal vesicle; SS – periacrosomal space; PL – posterior blade; F – flakes-like material of periacrosomal space; N – nucleus; PC – proximal centriole; An – distal centriole and pericentriolar satellites; M – mmitochondria; Fl – flagellum; EP – dense centrale part of flagellum tip.

Также у всех видов отмечается наличие цитоплазматического воротничка, окружающего проксимальную часть жгутика. Длина его составляет около 1 мкм, исходя из литературных данных, однако у *L. versicolor* эта величина примерно в два раза меньше. Таким

образом, можно сделать вывод, что *L. versicolor* является типичным представителем рода *Lottia*, ультраструктура спермиев которой соответствует общей схеме строения мужских гамет семейства Lottiidae, а также имеет уникальные размеры.

Сравнение ультраструктуры спермиев *Nipponacmea moskalevi* с таковой *N. schrenckii* и *Patelloida pygmaea*

Из литературных данных известно, что ультраструктура спермиев *P. pygmaea* оказалась очень сходна с таковой сперматозоидов *N. schrenckii*, в связи с чем сравнение мужских гамет изучаемого в данной работе представителя *N. moskalevi* будет проводиться параллельно относительно обоих видов. Систематика *Patelloida* далека от ясности. Схожесть по внешней морфологии раковины некоторых видов *Patelloida* с другимилоттиинами (*Notoacmea* (= *Nipponacmea*) и *Collisella* (= *Lottia*) часто приводит к ошибочному определению видов [Ponder, Creese, 1980]. Возможно, что *P. pygmaea* не принадлежит к этому роду (табл. 2).

Структура спермиев *N. moskalevi* не соответствует схеме строения спермиев семейства Lottiidae [Hodgson, Chia, 1993], так как в то время была неизвестна ультраструктура мужских гамет представителей данного рода. Сперматозоиды *N. moskalevi* имеют головку сходной с *N. schrenckii* и *P. pygmaea* формой, то есть усеченного конуса. Головки у всех видов удлиненные и имеют отношение длина/ширина > 3/1. Длина ее у исследуемого вида больше, чем у двух других блюдечек, хотя ее минимальная характеристика соответствует размеру у *P. pygmaea*.

Ядро *N. moskalevi* имеет пулевид-

ную форму, в то время как у *N. schrenckii* данная структура представлена в виде бутылки, передняя часть которой немного внедряется в периакросомное пространство. Ядро у *P. pygmaea* имеет округлую переднюю часть, как и у *N. moskalevi*, хотя у некоторых спермиев она приобретает некоторую схожесть с соответствующей частью ядра *N. schrenckii*. Хроматин плотно сконденсирован, хотя встречаются лакуны с менее электронно-плотным материалом. Редко, но также встречается деформация боковых ядерных стенок. Длина ядра *N. moskalevi* более сходна с таковой у *P. pygmaea*, в то время как у *N. schrenckii* она несколько меньше. Средний диаметр ядра у всех трех видов одинаков и составляет 1 мкм. Также для них характерно наличие ядерной ямки на задней поверхности ядра.

Акросома *N. moskalevi* составляет более 40% от общей длины головки, тогда как у двух других рассматриваемых видов эта величина составляет менее 40%. Форма ее у всех видов представлена в виде усеченного конуса. Длина акросомы *N. moskalevi* ближе всего по значению к таковой у *P. pygmaea*, а у *N. schrenckii* она несколько меньше. Все три вида характеризуются глубоко инвагинированными акросомами. Глубина впячивания у *N. mos-*

Таблица 2

Размеры структур спермиев *Lottia versicolor*, *L. angusta*, *L. kogamogai*, *Nipponasmea moskalevi*, *N. schrenkii* и *Patelloida rugmaea*
 Sizes of sperm structure in *Lottia versicolor*, *L. angusta*, *L. kogamogai*, *Nipponasmea moskalevi*, *N. schrenkii* and *Patelloida rugmaea*

Показатель	<i>Lottia versicolor</i>	<i>L. angusta</i>	<i>L. kogamogai</i>	<i>Nipponasmea moskalevi</i>	<i>N. schrenkii</i>	<i>Patelloida rugmaea</i>
Длина головки	5.6±0.1	3.6±0.2	3.85±0.35	3.75±0.25	3.2	3.5
Длина ядра	2.6±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1	2.2±0.1	2	2.2
Средний диаметр ядра	0.6	0.8	0.8	1	1	1
Длина акросомы от общей длины головки (%)	53–56	41–42	34–40	32–34	34	37
Длина акросомной лопасти	0.45±0.15	0.3	0.35±0.05	0.35±0.05	Очень маленькая	0.4
Глубина впячивания акросомного пузырька (%)	17–30	75–79	75–87	64–76	65	75
Длина средней части	0.6±0.1	0.85±0.05	0.8±0.1	0.8	Неизвестно	Неизвестно
Диаметр средней части	1.1±0.3	1.5±0.1	1.6±0.3	1.75±0.25	Неизвестно	Неизвестно
Количество митохондрий	4	4	4	4	4	4
Диаметр митохондрий	0.5±0.1	0.7±0.2	0.6±0.2	0.75±0.05	Неизвестно	Неизвестно
Длина цитоплазматического воротничка	0.45±0.05	0.55±0.05	0.4±0.1	Неизвестно	1	1
Наличие-отсутствие элек- тронно-плотной везикулы	Нет	Нет	Есть	Неизвестно	Есть	Есть

kalevi варьирует от 0.9 мкм до 1.3 мкм, таким образом, по этому признаку данный вид ближе к *Patelloida pygmaea*. Хотя, если учитывать процент этого впячивания по отношению к общей длине акросомы, то *N. moskalevi* охватывает весь диапазон измерений от *N. schrenckii* до *P. pygmaea*. Для *N. schrenckii* характерно сравнительно неглубокое впячивание. Средний диаметр акросом рассматриваемых видов не представляется возможным, вследствие отсутствия необходимых данных из литературных источников. Длина акросомной лопасти *N. moskalevi* немного меньше или такая же, как у *P. pygmaea*. Для *N. schrenckii* характерна почти незаметная лопасть, хотя, возможно, это результат получения среза не с центральной области спермия. Содержимое акросомы *N. moskalevi* дифференцировано так же, как и у *P. pygmaea*, а у *N. schrenckii* отсутствует какое-либо расслоения содержимого акросомного пузырька. Периакросомный материал средней электронной плотности *N. moskalevi* в основном равномерно заполняет периакросомное пространство, хотя у некоторых спермиев встречаются лакуны с менее плотным содержимым. Схожим образом можно сказать и про материал периакросомного пространства *P. pygmaea*, хотя его гранулы более сконцентрированы и их группы представлены в виде отдельных хлопьев также равномерно заполняющим все пространство. Для *N. schrenckii* характерен еще более

сконденсированный материал, расположенный в центральной области периакросомного пространства.

Размерности средней части данных видов не получилось сравнить из-за отсутствия информации по видам из литературных источников. Но можно отметить, что для них характерно типичное строение. Все они обладают четырьмя митохондриями, диаметр которых у *N. moskalevi* и *P. pygmaea* практически одинаков, в то время как у *N. schrenckii* эти структуры больший диаметр.

У *N. schrenckii* и *P. pygmaea* имеется довольно длинный цитоплазматический воротничок (1 мкм) с электронно-плотной гранулой, а для *N. moskalevi* такие данные не были получены, но можно предположить, что этот признак все-таки есть. Необходимо дальнейшее исследование.

Таким образом, можно сделать вывод, что *N. moskalevi* обладает спермиями, сходными с родственным видом *N. schrenckii*, хотя есть существенные отличия не только в размерах, но и некоторых особенностях строения. Именно эти отличительные признаки и измерения во многом соответствуют таковым другого вида *P. pygmaea* со спорным систематическим статусом. Предполагается, что этот вид необходимо перенести из рода *Patelloida* в род *Nipponacmea*, так как структура спермиев других видов рода *Patelloida* значительно отличается от таковой *P. pygmaea*.

Сравнение ультраструктуры спермиев *Lottia angusta* и *L. kogamogai* с таковой *Patelloida pygmaea* и двух видов рода *Nipponacmea*

Структура спермиев *L. angusta* и *L. kogamogai* не соответствует общей схеме строения мужских гамет семей-

ства Lottiidae [Hodgson, Chia, 1993], хотя изучение ультраструктуры сперматозоидов представителей именно этого

рода послужило основой для построения данной схемы.

Для сравнения структуры спермиев *L. angusta* и *L. kogamogai* были выбраны сперматозоиды представителей двух видов *Nipponacmea* и одного вида *P. pygmaea*, в связи с тем, что внешний облик и форма их спермиев оказалась наиболее близкой к таковой исследуемых видов (табл. 2).

Головки спермиев лоттий более удлиненные, чем у взятых для сравнения видов, и имеют отношение длина/ширина $> 7/1$. Длина головки спермиев *L. angusta* и *L. kogamogai* варьирует, и диапазон этих величин по большей части совпадает с таковым *N. moskalevi*, а также пересекается с размером головки *P. pygmaea*. Форма этой части спермия у всех видов совпадает и представлена в виде усеченного конуса.

Ядро у *L. angusta* и *L. kogamogai* имеет форму бочонка (*L. angusta*), либо усеченного конуса с относительно плоской передней поверхностью. Форма ядра у остальных видов очень похожа на данную, но с более округлой передней частью. Длина ядра *L. angusta* и *L. kogamogai* варьирует и с каждым из видов имеет общую величину. Однако средний диаметр этой структуры у *L. angusta* и *L. kogamogai* немного меньше, чем у других. Хроматин плотно сконденсирован, но есть и менее электронно-плотные лакуны. У всех отмечена небольшая задняя ядерная ямка.

Акросома у *L. angusta* составляет 41–42% от общей длины головки, что ближе всего к данной размерности у *N. moskalevi*. Процент же длины акросомы от размера головки *L. kogamogai* гораздо больше, чем у всех рассматриваемых видов. Форма этой структуры

спермиев представлена в виде усеченного конуса у данных блюдечек. Длина акросомы *L. angusta* и *L. kogamogai* ближе к таковой у *N. moskalevi*, однако у *L. kogamogai* она даже немного превышает. Изменяющийся диаметр акросомы *L. angusta* и *L. kogamogai* по ее длине можно сравнить с соответствующими величинами у *N. moskalevi*. В результате данного соотнесения размеров можно сказать, что ближе всего к этому виду находится *L. angusta*, тогда как у *L. kogamogai* акросома несколько меньше. Эта часть спермиев у всех видов имеет сзади глубокое впячивание. Процент, который составляет глубина этой структуры, у *L. angusta* и *L. kogamogai* превышает таковой у других. Причем у *L. kogamogai* данная величина варьирует больше, чем у остальных, и достигает относительно высокого значения. В периакрсомное пространство у всех внедряется лопасть, которая по длине у *L. kogamogai* и *N. moskalevi* совпадает, а также пересекается с величиной у *P. pygmaea*. Длина лопасти у *L. angusta* совпадает с минимумом такого же параметра у *L. kogamogai* и *N. moskalevi*. Внутреннее содержимое акросомы у лоттий дифференцировано так же, как у *N. moskalevi* и *P. pygmaea*. Материал периакрсомного пространства у видов рода *Lottia* подобен таковому *N. moskalevi* и *P. pygmaea*, но не такой плотный как у *N. moskalevi* и не настолько рыхлый, как у *P. pygmaea*.

Можно сравнить по размерам среднюю часть спермиев двух видов рода *Lottia* и *N. moskalevi*. В высоту у *L. angusta* эта структура либо такая же, как у *N. moskalevi*, либо чуть больше, тогда как у *L. kogamogai* она может быть и больше, и меньше. По величине сред-

него диаметра данной части лидирует *N. moskalevi*, у *L. kogamogai* он несколько меньше, а для *L. angusta* – еще меньше. Строение же этой структуры у всех этих видов одинаково. В ее состав входит четыре митохондрии, средний диаметр которых у *L. angusta* соответствует такому параметру *P. pygmaea*. У *L. kogamogai* эта величина немного меньше, и представляет собой наименьшую среди рассмотренных видов.

Имеется цитоплазматический воротничок у обеих лоттий. Однако, у *L. kogamogai* он меньше примерно вдвое или даже больше, чем у остальных видов с известной длиной этой структуры. Для *L. angusta* длина воротничка неизвестна. Нужно также отметить наличие

электронно-плотной гранулы в цитоплазматическом воротничке у *L. kogamogai*. Данная особенность характерна также для *P. pygmaea* и *N. schrenckii*.

Таким образом, можно сделать вывод, что *L. angusta* и *L. kogamogai* по ультраструктуре спермиев сходны не с другими видами лоттий, а с видами рода *Nipponacmea* и *P. pygmaea*. Наибольшее сходство наблюдалось при сравнении размеров и структуры спермиев с *N. moskalevi*, а также с *P. pygmaea*. Возможно, необходимо переместить *L. angusta* и *L. kogamogai* из рода *Lottia* в род *Nipponacmea*, где находится близкий по строению спермиев вид *N. moskalevi*.

Благодарности

Эта работа была поддержана фондом США CRDF (грант № REC-003), грантом Российского министерства образования Е-02.-6.0-249, грантом Фонда федеральной поддержки научных школ Российской Федерации (ИШ 1219.2003.4), грантом 03-1-0-06-036 «Программы фундаментальных исследований» РАН

«Физико-химическая биология» и грантом 04-3-Ж-06-005 конкурса ДВО РАН. Большую помощь при выполнении работы оказали Е.А. Гладышев (Гарвардский ун-т, США), А.В. Чернышев (ИБМ ДВО РАН) и Т.В. Чернова (Зоо-музей ДВГУ).

Литература

- Buckland-Nicks J., Howley B.* 1997. Spermiogenesis and sperm structure in relation to early events of fertilisation in the limpet *Tectura testudinalis* (Müller, 1776) // *Biological Bulletin*. V. 193. P. 306–319.
- Haszprunar G.* 1988. On the origin and evolution of major gastropod groups, with special reference to the *Streptoneura* // *Journal of Molluscan Studies*. V. 54. P. 367–441.
- Healy J.M.* 1988. Ultrastructural observations on the spermatozoa of *Pleurotomaria africana* Tomlin (Gastropoda) // *Journal of Molluscan Studies*. V. 54. P. 309–316.
- Healy J.M.* 1989. Ultrastructure of spermiogenesis in the gastropod *Calliotropis glyptus* Watson (Prosobranchia: Trochidae) with special reference to the embedded acrosome // *Gamete Research*. V. 24. P. 9–19.
- Healy J.M.* 1990a. Euspermatozoa and paraspermatozoa in the trochoid gastropod *Zalipais laseronei* (Trochoidea: Skeneidae) // *Marine Biology*. V. 105. P. 497–507.
- Healy J.M.* 1990b. Sperm structure in the scissurellid gastropod *Sinezona* sp. (Prosobranchia, Pleurotomarioidea) // *Zoologica Scripta*. V. 19. P. 189–193.
- Hodgson A.N.* 1995. Spermatozoal morphology of Patellogastropoda and Vetigastropoda (Mollusca: Prosobranchia) // *Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy*. Memoires du

- Museum national d'Histoire naturelle, Paris. P. 167–177.
- Hodgson A.N., Bernard R.T.F. 1988. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of patellid limpet (Mollusca: Gastropoda: Archaeogastropoda) // Journal of Morphology. V. 195. P. 205–223.
- Hodgson A.N., Bernard R.T.F. 1989. Spermatozoon structure and the taxonomic affinity of *Nacella delesserti* (Gastropoda: Patellidae) // Journal of Molluscan Studies V. 55. P. 145–147.
- Hodgson A.N., Chia F.-S. 1993. Spermatozoon structure of some North American prosobranchs from the families Lottiidae (Patellogastropoda) and Fissurellidae (Archaeogastropoda) // Marine Biology. V. 116. P. 97–101.
- Hodgson A.N., Foster G.G. 1992. Structure of the sperm of some South African archaeogastropods (Mollusca) from the superfamilies Haliotoidea, Fissurelloidea and Trochoidea // Marine Biology. V. 113. P. 89–97.
- Hodgson A.N., Heller J., Bernard R.T.F. 1990. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis in five South African species of the trochid genus *Oxystele* (Mollusca, Prosobranchia) // Molecular and Reproductive Development. V. 25. P. 263–271.
- Hodgson A.N., Morton B. 1998. Spermiogenesis and sperm structure in three species of *Patelloida* and one species of *Nipponacmea* (Patellogastropoda: Acmaeoidae) // Journal of Molluscan Studies. V. 64. P. 11–19.
- Jamieson B.G.M., Hodgson A.N., Bernard R.T.F. 1991. Phylogenetic trends and variation in the ultrastructure of the spermatozoa of sympatric species of South African limpets (Archaeogastropoda; Mollusca) // Invertebrate Reproduction and Development. V. 20. P. 137–146.
- Lindberg D.R. 1988. The Patellogastropoda // Malacological Review. Suppl. V. 4. P. 35–63.
- Lindberg D.R. 1990. Systematics of *Potamacmaea fluviatilis* (Blanford): a brackish water patellogastropod (Patelloidinae: Lottiidae) // Journal of Molluscan Studies. V. 56. P. 309–316.
- Lindberg D.R. 1998. Order Patellogastropoda // Mollusca: The southern Synthesis. Fauna of Australia. Part B. V. 5. Melbourne: CSIRO Publishing. P. 639–652.
- Ponder W.R., Creese R. 1980. A revision of the Australian species of *Notoacmaea*, *Collisella* and *Patelloida* (Mollusca: Gastropoda: Acmaeidae) // Journal of the Malacological Society of Australia. V. 4. P. 167–208.