

Научная статья
УДК 591.435+591.8(597.95)
doi: 10.17223/19988591/67/10

Анатомия клоаки углозубов рода *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae)

Вадим Вадимович Ярцев¹, София Сергеевна Евсеева²

^{1, 2} Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск, Россия

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7789-7424>, vadim_yartsev@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7644-8501>, sofiaewseewa@gmail.com

Аннотация. Для хвостатых земноводных характерна вариабельность в строении клоаки, которая проявляется не только на уровне семейств, но и внутри них. Особенности организации данного органа в целом и клоакальных желез в частности представляют интерес для понимания степени дифференциации близкородственных видов земноводных, поскольку данные структуры выполняют ряд важных для размножения функций. С помощью гистологического анализа и методов компьютерной 3D-реконструкции изучена анатомия клоаки самцов и самок двух криптических видов – *Salamandrella keyserlingii* и *S. tridactyla*. Обнаружено, что для них характерно схожее строение клоаки, один тип вентральных клоакальных желез, выделяющих секрет гликопротеиновой природы. Форма клоакальной камеры и топография клоакальных желез характеризуются незначительной изменчивостью в зависимости от пола или вида, однако данная вариабельность не может рассматриваться как значимая с точки зрения функций.

Ключевые слова: хвостатые земноводные, экзокринные железы, размножение, половые феромоны

Для цитирования: Ярцев В.В., Евсеева С.С. Анатомия клоаки углозубов рода *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2024. № 67. С. 170–186. doi: 10.17223/19988591/67/10

Original article
doi: 10.17223/19988591/67/10

Cloacal anatomy of the Siberian salamanders, *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae)

Vadim V. Yartsev¹, Sofiya S. Evseeva¹

^{1, 2} National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7789-7424>, vadim_yartsev@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7644-8501>, sofiaewseewa@gmail.com

Summary. In salamanders, anatomy of the cloacae is varying among families and inside of them. Futures of this organ and the cloacal glands are interesting for understanding of the levels of differentiation between close species of amphibians, because these structures perform some functions which important for reproduction.

We studied the male and female anatomy of cloacae in two cryptic species *Salamandrella keyserlingii* and *S. tridactyla* via histological analyses and methods of digital 3D-reconstruction. For histological study, we used whole cloacal samples fixed in 10% formalin, dehydrated them in graded series of ethanol solutions (70%, 96%, and absolute ethanol), clarified in butanol, and embedded in paraffin for histology. We cut paraffined organ's samples (10 µm sections) via rotary microtome. We used Mayer's haematoxylin–eosin, Masson–Goldner's trichrome, and modified azan for observation general histology, PAS-staining for detection of carbohydrates (PAS), alcian blue (AB) pH = 2,5 for visualization of mucopolysaccharides, and Coomassie blue (CB) for protein detection. We made 3D-reconstruction via software Free-d, using serial photos of cloacal sections.

We found that these species have the same structure of the cloacae and only the ventral glands secreting neutral glycoproteins, because secretion had PAS+, AB–, and CB+ reactions. There were a slight variability of form of the cloacal chamber and cloacal gland topography dependent on sex or species (See Figs. 1–6), but this variation is not important from the point of view of function. These features of the male and female cloacal structure and histochemistry of cloacal glands in species of the genus *Salamandrella* bring them closer to other members of the family Hynobiidae, with the exception of the genus *Onychodactylus*, whose males have three types of cloacal glands. This is consistent with modern views on the phylogenetic relationships of hynobiids.

The article contains 6 Figures, 26 References.

Keywords: salamanders, exocrine glands, reproduction, sexual pheromones

For citation: Yartsev VV, Evseeva SS. Cloacal anatomy of the Siberian salamanders, *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2024;67:170–186. doi: 10.17223/19988591/67/10

Введение

Отряд Хвостатые земноводные (Amphibia: Caudata), несмотря на свое относительно невысокое разнообразие – около 750 видов [1], включает представителей, которые имеют широкую вариабельность черт биологии, связанных с размножением. Даже такая базальная характеристика, как способ оплодотворения, отличается в разных группах данного отряда. Большинство из них – представители подотряда Salamandroidea – имеют внутреннее оплодотворение, в то время как хвостатые земноводные из подотрядов Cryptobranchoidea (семейства Cryptobranchidae и Hynobiidae) и Sirenoidea (семейство Sirenidae) размножаются с помощью наружного оплодотворения [2].

Приспособление к разным формам оплодотворения привело к наличию у хвостатых земноводных уникальной особенности организации – комплекса желез, расположенных в клоаке [3]. Они выполняют важные функции, связанные с размножением. Так, у видов с внутренним оплодотворением клоакальные железы самцов участвуют в образовании сперматофора, а у самок – сохраняют сперматозоиды в половых путях. Клоакальные железы характерны для всех хвостатых земноводных, кроме представителей семейства Sirenidae, однако число типов клоакальных желёз, организация каждого из них, как и особенности морфологии клоаки в целом, варьируют среди видов данного отряда [3].

Сибирский, *Salamandrella keyserlingii* Dybowski, 1870, и приморский, *Salamandrella tridactyla* Nikolsky 1905, углозубы – два криптических вида хвостатых земноводных семейства Углозубые, Hynobiidae [4]. В настоящее время между ними описаны различия по молекулярно-генетическим маркерам [5–9], размеру генома [10], среднему числу туловищных позвонков и костальных борозд [11], в форме тенденций установлено, что длина тела самок и плодовитость сибирского углозуба в целом выше в сравнении с таковыми приморского [12]. Однако по ряду особенностей биологии размножения виды крайне близки: обладают сходными элементами брачного поведения [13, 14], не имеют выраженных различий в морфологии сперматозоидов [12]. Оба вида являются лимнофилами, использующими широкий спектр биотопов, однако для приморского углозуба характерна меньшая избирательность в местах размножения: кроме непроточных водоемов для икрометания, может размножаться и в ручьях [14, 15]. При этом в области незначительного перекрытия ареалов в Еврейской автономной области и на юге Хабаровского края предполагается возможность синтопии видов [16].

В связи с этим особенности организации клоаки в целом и клоакальных желез в частности представляют интерес для понимания степени дифференциации данных криптических видов ввиду роли этих структур в размножении. В настоящей работе впервые в сравнительном аспекте изучены анатомия клоаки и гистохимические характеристики клоакальных желез близкородственных видов рода *Salamandrella*. Предполагается, что выраженные различия по данным структурам между исследуемыми криптическими видами отсутствуют.

Материалы и методы

Материалом для данного исследования послужила герпетологическая коллекция кафедры зоологии позвоночных и экологии Национального исследовательского Томского государственного университета. Всего использовано 13 экземпляров самцов и самок сибирского и приморского углозубов. Самцы ($n = 3$) и самки ($n = 3$) *S. keyserlingii* отловлены в окрестностях г. Томска (юго-восток Западной Сибири) 24.04.2009, 3.05.2013, 27.04.2014, самцы ($n = 3$) и самки ($n = 4$) *S. tridactyla* – в окрестностях г. Хабаровска (предгорья хребта Хехцир, Среднее Приамурье, 24.04–30.04.2012). Сроки отловов соответствовали периоду размножения в популяциях данных видов.

У фиксированных в 10% растворе формалина экземпляров вырезали клоаку. Вначале проводили два перпендикулярных главной оси тела разреза: первый – в области заднего края задних конечностей, второй – в нескольких миллиметрах после клоакального отверстия, а затем их соединяли фронтальным разрезом на уровне вентральной части хвостовых позвонков.

После вырезки образцы клоаки готовили к заливке в парафин по классической схеме [17]. Материал последовательно обезжизивали в 70%, 96% и абсолютном растворах этанола от 4 до 12 ч в каждом, просветляли дважды в бутаноле (не менее чем по 4 ч в каждом) и пропитывали в двух порциях

парафина (по 4 ч в каждом) с последующей заливкой в блок. Срезы толщиной 10 мкм изготавливали на ротационном микротоме RMD-3000 (MTPoint, Россия). Каждый образец нарезают полностью по следующей схеме: между сериями срезов, перенесенных на 4–6 предметных стекла, срезают 100 мкм образца для перехода к следующему участку. Таким образом получали серии срезов из разных частей органа, разделенные равными интервалами. Всего изготовлено около 400 микропрепаратов. Срезы для обзорных методов окрашивания монтировали на стекло с помощью белок-глицериновой смеси, для гистохимических методов окрашивания использовали стекла класса SuperFrost (Menzel, Германия).

Для анализа особенностей микроструктуры клоаки срезы окрашивали обзорными методами: гематоксилином Майера–эозином, трихромом по Массону–Гольднеру и модифицированным азаном [17]. Гистохимические особенности структур клоаки выявляли с помощью окрашивания ШИК-реакцией для углеводов, альциановым синим (pH = 2,5) – кислых мукополисахаридов, синим Кумасси – белков [17]. Микрофотоснимки изготавливали с помощью микроскопа Axio Lab A1 с камерой AxioCam ERc 5s и программного обеспечения ZEN 2012 (Carl Zeiss, Германия).

При обзорной микроскопии определяли структуру и расположение клоакальной камеры, трубочки и желез, характер их секрета и такового железистых клеток мерцательного эпителия, места открытия трубочек и желез. Использовано предложенное Д. Сивером [3] выделение структурных элементов клоаки хвостатых земноводных: клоакальная трубочка (КТ) – полость цилиндрической формы, расположенная в передней части клоаки от места впадения в прямую кишку мочеполовых протоков до открытия полости трубочки в клоакальную камеру, клоакальная камера (КК) – полость, следующая за трубочкой и открывающаяся наружу через клоакальную щель. Поскольку передний конец клоакальной трубочки не всегда присутствовал на срезах, за начало клоакальной полости принимали первый срез, где она выражена.

Определение особенностей пространственного расположения клоакальных структур проводили путем построения трехмерных моделей клоаки одного самца и самки обоих видов по сериям микрофотоснимков с помощью программы Free-d [18]. При построении моделей учитывали границы расположения клоакальных желез, трубочки, камеры и область клоакального отверстия. Для анализа топографии структур отмечали расположение мускулатуры, протоков, кожных складок и стенок клоаки.

Результаты исследования

У самцов и самок *S. keyserlingii* и *S. tridactyla* клоакальная трубочка имеет вид цилиндрической полости, расположенной в передней части клоаки дорсально (рис. 1–4). Задним концом трубочка открывается в дорсальную область клоакальной камеры. Характерной чертой клоакальной трубочки является наличие складок, образованных ее стенками. В исследованной нами серии их 4–5 у самцов *S. keyserlingii* и самок *S. tridactyla*, 6 – у

самок *S. keyserlingii*, 5–6 – у самцов *S. tridactyla*. Трубочка окружена слоем гладкой мускулатуры в передней части, а в задней – мускулатура смещается дорсально и латерально от трубочки и полностью исчезает в области клоакальной камеры (рис. 1–4). У самцов *S. keyserlingii* удалось выявить, что в дорсальную область как клоакальной трубочки, так и передней части клоакальной камеры открываются мочеполовые протоки, у самцов *S. tridactyla* они не попали на срезы.

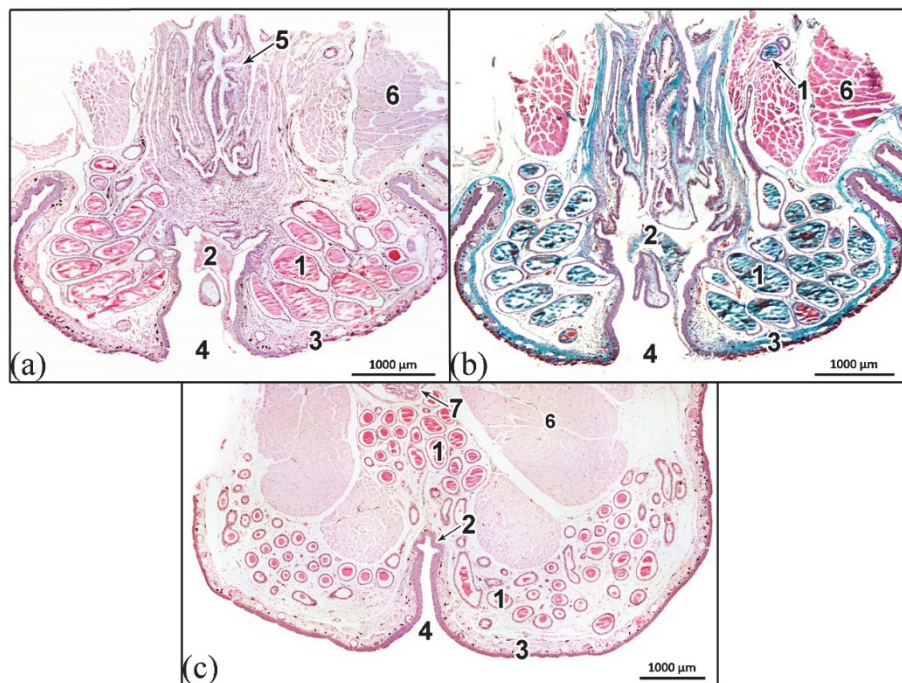


Рис. 1. Клоака самца *Salamandrella keyserlingii*: *a* – поперечный разрез в области клоакальной трубочки и камеры; *b* – поперечный разрез передней части клоакальной камеры; *c* – поперечный разрез задней части клоакальной камеры. 1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера; 3 – кожа; 4 – клоакальное отверстие; 5 – клоакальная трубочка; 6 – мускулатура; 7 – почка. Окрашивание: *a, c* – гематоксилин Майера–эозин, *b* – трихром по Массону–Гольднеру

[Fig. 1. The cloaca of a male of *Salamandrella keyserlingii*. *a* – transverse section through the region with the cloacal tube and chamber; *b* – transverse section through the anterior part of the cloacal chamber; *c* – transverse section through the posterior part of the cloacal chamber. 1 – cloacal (ventral) glands, 2 – cloacal chamber, 3 – skin, 4 – cloacal orifice, 5 – cloacal tube, 6 – musculature, 7 – kidney. Staining: *a, c* – Mayer's haematoxylin-eosin, *b* – Masson-Goldner's trichrome]

Клоакальная камера составляет основную часть полости клоаки, вентрально она открывается наружу клоакальным отверстием. У самцов и самок видов рода *Salamandrella* дорсальная стенка в передней части камеры складчатая, вентролатеральные стенки складок не образуют (см. рис. 1–4). Исключение составляют самцы *S. keyserlingii*, у которых присутствуют небольшие складки вентролатеральных стенок камеры (см. рис. 1). В каудальном направлении полость камеры сужается с боков и по высоте. При этом

происходит исчезновение складок дорсальной стенки, и в задних отделах камера представлена простой щелью с ровными стенками. Она полностью исчезает в крайних задних отделах. Кроме этого, обнаружено, что у самцов и самок обоих видов в полость камеры могут вдаваться выпячивания стенок клоаки. Они тянутся от передней до средней части камеры, а у самцов *S. tridactyla* – до задней ее части.

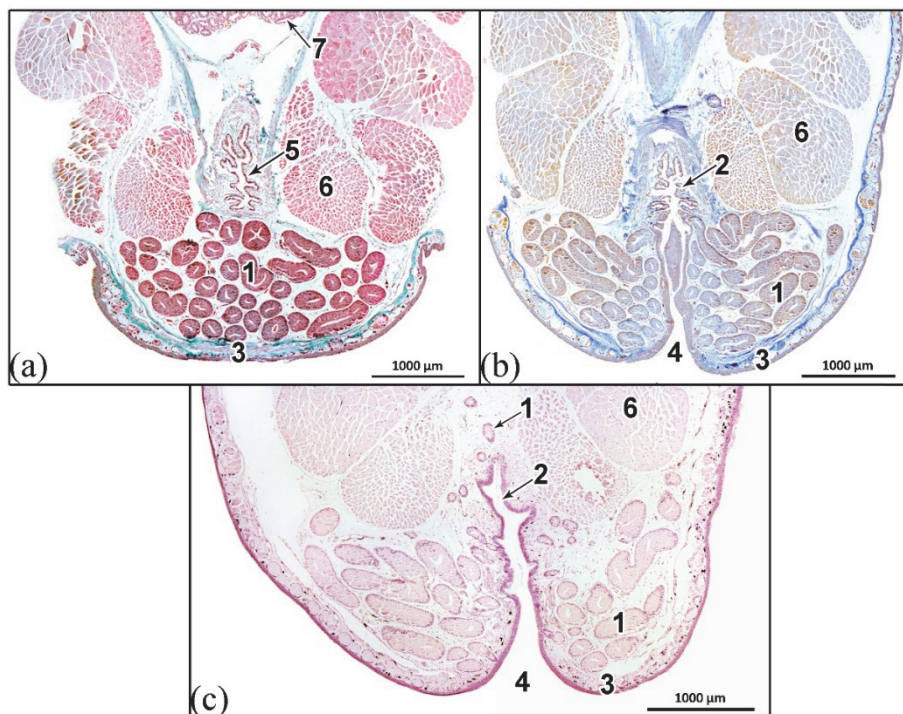


Рис. 2. Клоака самки *Salamandrella keyserlingii*: *a* – поперечный разрез в области клоакальной трубочки; *b* – поперечный разрез передней части клоакальной камеры; *c* – поперечный разрез задней части клоакальной камеры. 1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера; 3 – кожа; 4 – клоакальное отверстие; 5 – клоакальная трубочка; 6 – мускулатура; 7 – почка. Окрашивание: *a* – трихром по Массону–Гольднеру, *b* – модифицированный азан, *c* – гематоксилин Майера–эозин

[Fig. 2. The cloaca of a female *Salamandrella keyserlingii*. *a* – transverse section through the region with the cloacal tube; *b* – transverse section through the anterior part of the cloacal chamber; *c* – transverse section through the posterior part of the cloacal chamber. 1 – cloacal (ventral) glands, 2 – cloacal chamber, 3 – skin, 4 – cloacal orifice, 5 – cloacal tube, 6 – musculature, 7 – kidney. Staining: *a* – Masson-Goldner's trichrome, *b* – modified azan, *c* – Mayer's haematoxylin-eosin]

Форма клоакальной камеры варьирует в зависимости от пола и вида. У самцов *S. keyserlingii* она сильно расширена в вентролатеральной области (см. рис. 1), у самок *S. tridactyla* (см. рис. 2) – в дорсальной, у самок *S. keyserlingii* (см. рис. 4) и самцов *S. tridactyla* камера более узкая (рис. 3). У самцов обоих видов она достигает наибольшей высоты в передней и средней части клоаки, у

самок *S. tridactyla* – в передней, а у самок *S. keyserlingii* высота камеры существенно не изменяется от переднего до заднего отдела за исключением крайней передней части (рис. 5, 6).

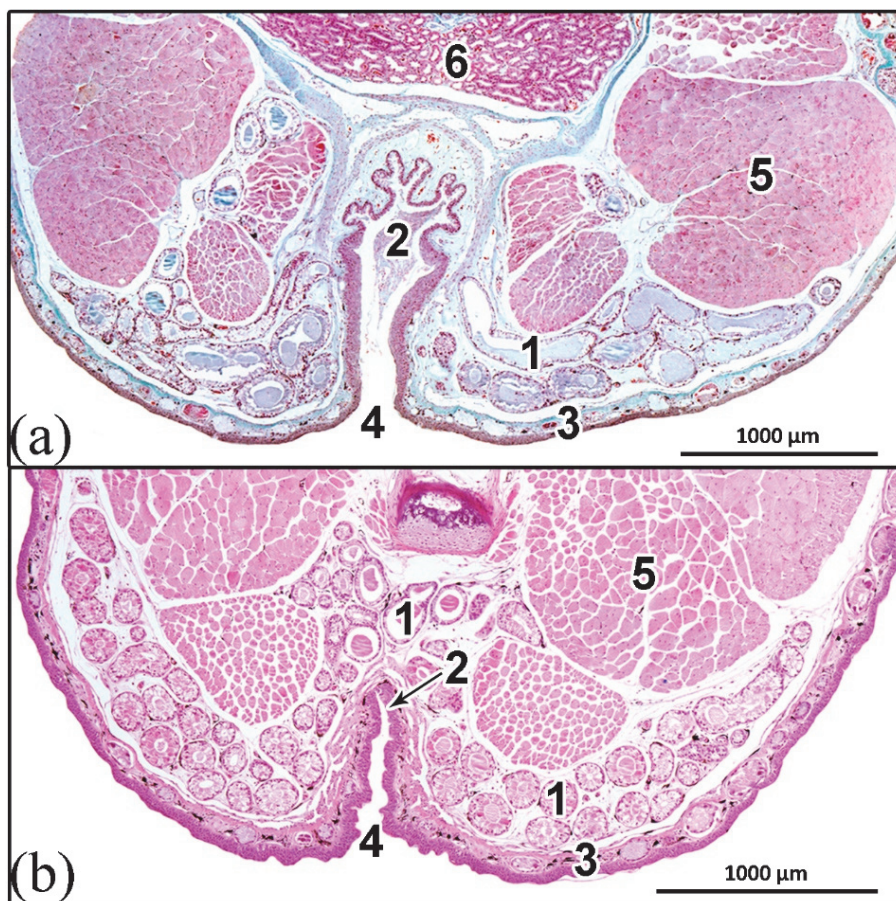


Рис. 3. Клоака самца *Salamandrella tridactyla*: *a* – поперечный разрез передней части клоакальной камеры; *b* – поперечный разрез задней части клоакальной камеры. 1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера; 3 – кожа; 4 – клоакальное отверстие; 5 – мускулатура; 6 – почка. Окрашивание: *a* – трихром по Массону–Гольднеру, *b* – гематоксилин Майера–эозин

[Fig. 2. The cloaca of a male of *Salamandrella tridactyla*. *a* - transverse section through the anterior part of the cloacal chamber; *b* - transverse section through the posterior part of the cloacal chamber. 1 - cloacal (ventral) glands, 2 - cloacal chamber, 3 - skin, 4 - cloacal orifice, 5 - musculature, 6 - kidney. Staining: *a* - Masson-Goldner's trichrome, *b* - Mayer's haematoxylin-eosin]

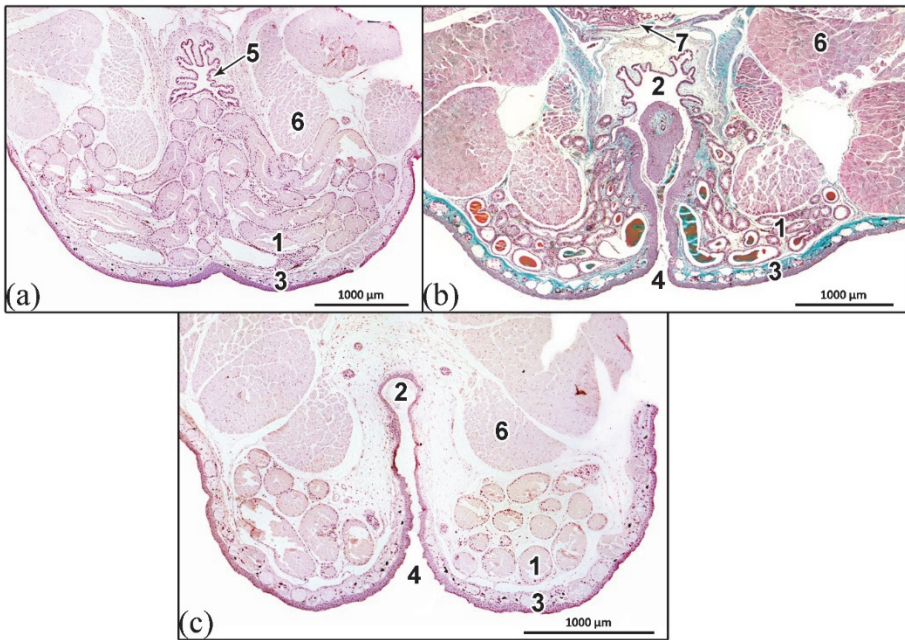


Рис. 4. Клоака самки *Salamandrella tridactyla*: *a* – поперечный разрез в области клоакальной трубочки; *b* – поперечный разрез передней части клоакальной камеры; *c* – поперечный разрез задней части клоакальной камеры. 1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера; 3 – кожа; 4 – клоакальное отверстие; 5 – клоакальная трубочка; 6 – мускулатура; 7 – почка. Окрашивание:

a, c – гематоксилин Майера–эозин, *b* – трихром по Массону–Гольднеру

[**Fig. 4.** The cloaca of a female of *Salamandrella tridactyla*. *a* - transverse section through the region with the cloacal tube; *b* - transverse section through the anterior part of the cloacal chamber; *c* - transverse section through the posterior part of the cloacal chamber. 1 - cloacal (ventral) glands, 2 - cloacal chamber, 3 - skin, 4 - cloacal orifice, 5 - cloacal tube, 6 - musculature, 7 - kidney. Staining: *a, c* - Mayer's haematoxylin-eosin, *b* - Masson-Goldner's trichrome]

Эпителиальная выстилка полости клоаки одинакова у самцов и самок обоих видов. Стенки переднего отдела клоакальной трубочки покрыты однослойным многорядным мерцательным эпителием. В нем хорошо различимы два типа клеток: реснитчатые и бокаловидные. Последние являются одноклеточными железами. Выявлена положительная реакция их секрета с реактивом Шиффа и альциановым синим, слабая положительная реакция с синим Кумасси. В задней части трубочки мерцательный эпителий покрывает дорсальную и дорсолатеральные стенки, а в вентральной области он замещается многослойным плоским неороговевающим эпителием. Стенки клоакальной камеры выстланы несколькими типами эпителия. В передней части камеры дорсальная стенка покрыта однослойным многорядным мерцательным эпителием, являющимся продолжением эпителия трубочки, вентролатеральные области стенок переднего отдела клоакальной камеры и все ее стенки в задней половине покрыты многослойным плоским неороговевающим эпителием, который вентральнее, в области клоакального отверстия,

переходит в типичный кожный эпителий. В самых задних отделах клоакальная камера выстлана неороговевающим эпителием, который по мере укорочения камеры постепенно замещается типичным кожным эпидермисом.

У самцов и самок обоих видов клоакальное отверстие в форме щели, его стенки покрыты многослойным плоским ороговевающим эпителием. Кожные железы располагаются снаружи от клоакального отверстия и не переходят во внутреннюю его часть.

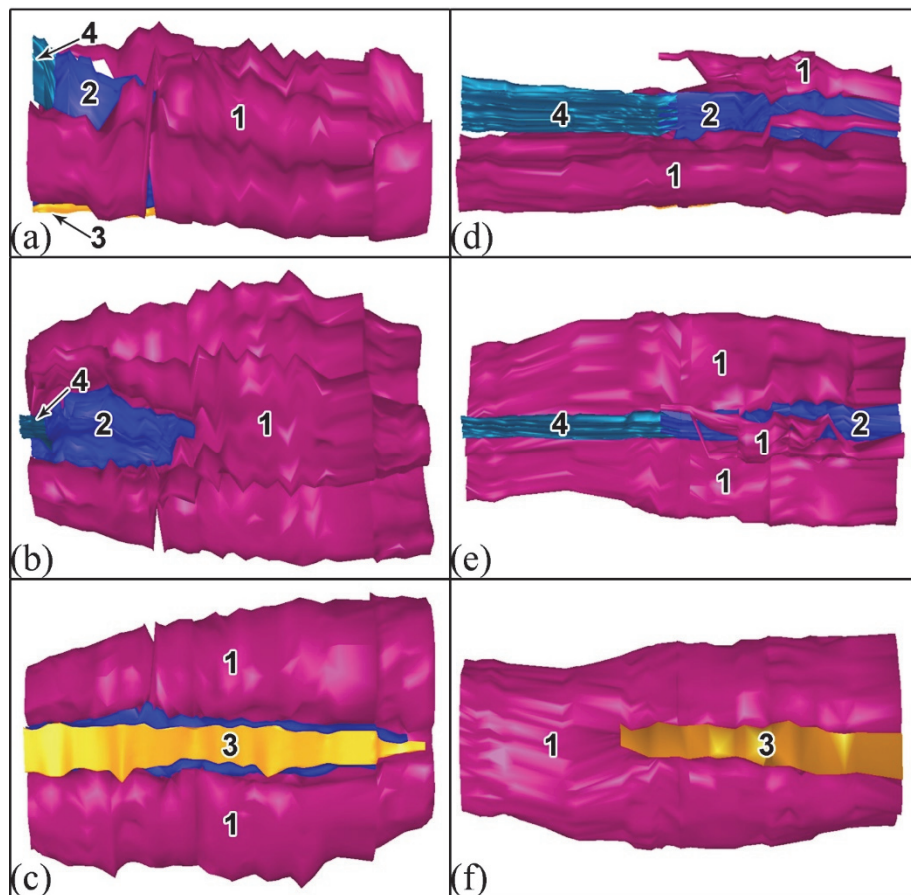


Рис. 5. Трехмерная реконструкция структуры клоаки самца (a, b, c) и самки (d, e, f) *Salamandrella keyserlingii*: a, d – вид сбоку; b, e – вид сверху; c, f – вид снизу.

1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера;

3 – клоакальное отверстие; 4 – клоакальная трубка

[Fig. 5. Three-dimensional reconstruction of the male (a, b, c) and female (d, e, f) cloacae of the *Salamandrella keyserlingii*. a, d – lateral view, b, e – dorsal view, and c, f – ventral view.

1 - cloacal (ventral) glands, 2 - cloacal chamber, 3 - cloacal orifice, 4 - cloacal tube]

Самцы и самки обоих видов имеют клоакальные железы одного типа. Они представляют собой систему трубочек, идущих в стенках клоаки параллельно щели. Общая топография клоакальных желез у самцов и самок обоих

видов следующая (рис. 5, 6). В передней части клоаки они расположены вентральнее клоакальной трубочки, в области начала клоакальной камеры железы располагаются вентролатерально. Далее вдоль нее железы могут располагаться вентролатерально, латерально и дорсально от полости. По мере продвижения назад и сужения камеры железы, постепенно уменьшаясь в размерах, могут занимать все пространство вокруг нее, свободное от мускулатуры.

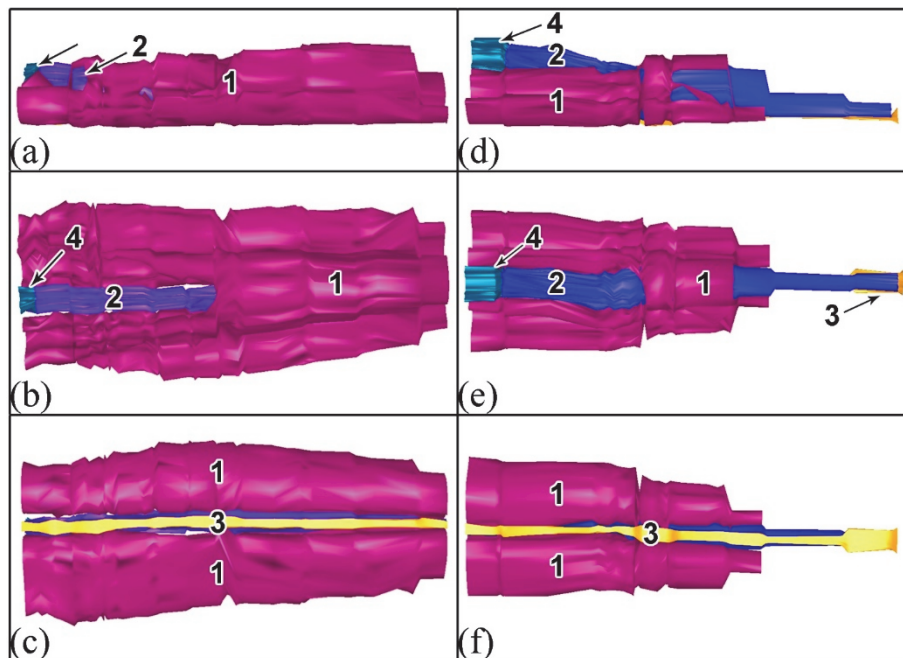


Рис. 6. Трехмерная реконструкция структуры клоаки самца (a, b, c) и самки (d, e, f)

Salamandrella tridactyla: a, d – вид сбоку; b, e – вид сверху; c, f – вид снизу.

1 – клоакальные (вентральные) железы; 2 – клоакальная камера;

3 – клоакальное отверстие; 4 – клоакальная трубка

[Fig. 6. Three-dimensional reconstruction of the male (a, b, c) and female (d, e, f)

cloacae of the *Salamandrella tridactyla*. a, d - lateral view, b, e - dorsal view,

and c, f - ventral view. 1 - cloacal (ventral) glands, 2 - cloacal chamber,

3 - cloacal orifice, 4 - cloacal tube]

У самцов *S. keyserlingii* и *S. tridactyla* в задней половине клоаки, где в клоакальной камере заканчивается мерцательный эпителий, железы распределяются вокруг клоакальной камеры, занимая свободное от мускулатуры пространство. При этом в каудальном направлении диаметр трубочек желёз постепенно уменьшается, но их количество увеличивается (см. рис. 5, 6). Тела желез, вероятно, тянутся гораздо дальше полости клоаки, так как после исчезновения камеры железы все еще присутствуют на срезах. У самок *S. keyserlingii* в задней половине клоаки железы также располагаются вентролатерально, латерально и дорсально от камеры, но их количество в дорсальной области значительно меньше, чем у самцов (см. рис. 5).

У самок *S. tridactyla* во второй половине клоакальной камеры железы распределяются вентролатерально от нее, но часть желез смещается дорсально вдоль стенок камеры, охватывая ее полукольцом (см. рис. 6). Затем железы располагаются преимущественно вентролатерально и дорсально, их количество резко уменьшается – в результате на срезах последней трети клоаки присутствует только клоакальная камера без желез вокруг.

У самцов и самок обоих видов секрет располагался как в glanduloцитах, так и в полостях желез. У всех исследованных самцов *S. keyserlingii* в большинстве клоакальных желез секрет уже выделился в просвет и частично – в клоакальную камеру. Морфология glanduloцитов варьировала в зависимости от стадии секреции. До активной секреции glanduloциты – высокие призматические клетки с базальным положением ядер и гранулами в хорошо развитой апикальной части. Участки желез, в которых секрет заполнял их полости, glanduloциты имели вид низких призматических клеток с центральным или базальным положением ядра. В цитоплазме glanduloцитов секрет имел зернистую структуру, а в просветах желез – зернистую, фибриллярную, или студенистую. Секрет клоакальных желез у самцов и самок обоих видов имеет одинаковые гистохимические характеристики: выявлена его положительная реакция с реагентом Шиффа и синим Кумасси, но отрицательная – с ализциановым синим. При этом гранулы в цитоплазме glanduloцитов по всем гистохимическим характеристикам соответствуют секрету в просвете клоакальных желез.

Обсуждение

Особенности структурной организации клоак самцов и самок видов рода *Salamandrella* указывают на отсутствие значимых анатомических отличий в зависимости от пола и вида. В качестве тенденций можно отметить следующее. Клоака самцов видов рода *Salamandrella* различается по форме клоакальной камеры: узкая – у самцов *S. tridactyla* и расширенная вентрально – у самцов *S. keyserlingii*. У самок изменчивость связана с расположением клоакальных желез и формой камеры: у *S. tridactyla* по сравнению с *S. keyserlingii* наблюдается большее количество клоакальных желез в дорсальной области, которые вытянуты до последней трети клоаки, и расширенная в дорсальном направлении камера. Вероятнее всего, наиболее существенными причинами, определяющими вариабельность параметров формы полостей клоаки, могут являться различия в объемах половых продуктов самцов и самок, проходящих через клоаку в текущий момент, а также в физиологическом состоянии животных. Икранные мешки самок значительно объемнее, чем семя самцов, транспортирующееся через клоаку. При прохождении икры по клоаке форма ее просвета может существенно изменяться в сравнении с таковой у самок до или после икрометания.

Сравнение гистохимических характеристик секрета клоакальных желез самцов и самок обоих видов позволяет заключить, что существенных различий в составе его компонентов нет – он имеет гликопротеиновую природу.

Поскольку данные железы углозубых являются источником половых феромонов [3, 19, 20], полученные результаты позволяют подтвердить точку зрения об отсутствии выраженных репродуктивных барьеров между видами рода *Salamandrella*. Сходство внешних морфологических признаков между сибирским и приморским углозубами [4], состава секрета клоакальных желез (наши данные), полового поведения [14], отсутствие различий в строении сперматозоидов [12] позволяют видам скрещиваться, что подтверждено опытами по лабораторной гибридизации [13], а также данными анализа маркеров яДНК, указывающего на возможность естественной гибридизации [8]. Аналогичные результаты получены при сравнении клоакальных желез близкородственных видов тритонов (семейство Salamandridae): карпатского – *Lissotriton motandoni* и обыкновенного – *L. vulgaris*, способных к межвидовой гибридизации [21].

При изучении клоаки сычуаньского, *Batrachuperus pinchonii*, тибетского, *B. tibetanus*, корейского, *Hynobius leechii*, янтарного, *H. stejnegeri*, и цусимского, *H. tsuensis*, углозубов обнаружено, что самки этих видов имеют схожую анатомию клоаки и один тип клоакальных желез – вентральные, которые также могут располагаться дорсально от камеры [20]. При этом видовые различия проявляются в протяженности вентральных желез в клоаке и месте их секреции. Железы открываются в передние три пятых камеры у *B. tibetanus*, две трети – у *H. stejnegeri* и переднюю половину – у *H. tsuensis*, в то время как у других видов углозубых они связаны с клоакальной камерой по всей её длине [20]. Самцы также обладают схожим строением клоаки и только вентральными железами, открывающимися в переднюю часть клоакальной камеры [20]. Реакции секрета клоакальных желез одинаковы у самцов и самок: положительная с реагентом Шиффа и нингидрин–Шифф, за исключением *H. tsuensis* и самцов *H. leechii*, отрицательная – с альциановым синим [20]. Аналогичная картина описана и для семиреченского лягушкозуба, *Ranodon sibiricus* [22]. Таким образом, клоакальные железы самцов и самок видов рода *Salamandrella* соответствуют таковым видов родов *Hynobius*, *Batrachuperus* и *Ranodon*. Особое положение в отношении строения клоаки и желез занимают когтистые тритоны, *Onychodactylus* [20, 23]. Для самок *O. japonicus* показано, что клоакальная камера представлена простой полостью, схожей с таковой у *H. tsuensis*, а присутствующие в клоаке железы одного типа – вентральные, обладающие положительной реакцией с реактивом Шиффа [20]. Однако у самцов *O. japonicus* обнаружены дорсальнолатеральные складки губ клоаки и три типа клоакальных желез: тип а – характеризуется положительной реакцией с реактивом Шиффа, отрицательной – с альциановым синим и нингидрин–Шифф; тип б – положительной реакцией с реактивом Шиффа и альциановым синим, слабой положительной реакцией с нингидрин–Шифф; тип с – положительной реакцией с реактивом Шиффа, слабой положительной реакцией с нингидрин–Шифф и отрицательной – с альциановым синим [20]. Аналогичная картина описана и для *O. fischeri*, самки которого имеют вентральные железы, выделяющие нейтральные гликопротеины и соответствующие клоакальным железам сам-

цов и самок других углозубых, а самцы – 3 разных типа желёз [23], соответствующих по структуре и гистохимическим характеристикам таковым у самцов *O. japonicus*.

Предполагается, что клоакальные (вентральные) железы углозубых необходимы для выработки феромонов самцами и самками, что важно для привлечения внимания полового партнёра в ходе размножения [3, 20, 24], в то время как два других типа клоакальных желёз самцов видов рода *Onychodactylus* могут принимать участие как в формировании более сложного и разнообразного запахового сигнала, так и в образовании стустка семени [23]. Оба предположения связываются с возможной адаптацией к размножению представителей данного рода в проточных водоёмах.

Данные особенности организации клоаки и клоакальных желёз согласуются с современными представлениями о филогенетических связях в семействе Нупобиidae [25]. При этом род *Onychodactylus* представляет собой специализированную форму, наиболее обособленную в семействе Нупобиidae [9, 25, 26] и рассматриваемую в настоящее время в ранге подсемейства [1].

Заключение

Для криптических видов рода *Salamandrella* характерно схожее строение клоаки и только один тип клоакальных желёз – вентральные. Половая и видовая вариация строения клоаки проявляется в форме клоакальных камеры, расположении и протяженности клоакальных желёз. Секрет клоакальных желёз у самцов и самок обоих видов имеет гликопротеиновую природу. Данные черты строения клоаки самцов и самок представителей рода *Salamandrella* сближают их с другими видами подсемейства Нупобиinae. Таким образом, наши и литературные данные [19, 20, 22] позволяют предполагать, что общность анатомии клоаки у исследованных представителей подсемейства Нупобиinae проявляется как на внутривидовом уровне, так и среди родов.

Список источников

1. Frost D.R. Amphibian Species of the World, an Online Reference. American Museum of Natural History. New York, USA. 1998–2024. URL: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php/Amphibia/Caudata> (дата обращения: 10.05.2024).
2. Vitt L.J., Caldwell J.P. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 4rd Edition: Academic Press, 2014. 630 p.
3. Sever D.M. Courtship and Mating Glands // Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela. Science Publishers, Inc. 2003. PP. 323–381.
4. Кузьмин С.Л. Земноводные бывшего СССР. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. 370 с.
5. Берман Д.И., Деренко М.В., Малярчук Б.А., Гржибовский Т., Крюков А.П., Мишчицка-Шливка Д. Внутривидовая генетическая дифференциация сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Caudata) и криптический вид *S. schrenckii* с юго-востока России // Зоологический журнал. 2005. Т. 84, № 11. С. 1374–1388.
6. Поярков 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) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2008. Vol. 48. PP. 84–93. doi: 10.1016/j.ympev.2008.04.010
8. 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. doi: 10.7868/S0016675815010075
9. Малярчук Б.А., Деренко М.В., Литвинов А.Н. Высокий уровень межвидовой дивергенции углозубов рода *Salamandrella* по данным об изменчивости гена RAG2 // Генетика. 2018. Т. 54, № 7. С. 825–831. doi: 10.1134/S0016675818070093
10. 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 Herpetological Research. 2004. Vol. 10. PP. 282–294.
11. Litvinchuk S.N., Borkin L.J. Variation in number of trunk vertebrae and in count of costal grooves in salamanders of the family Hynobiidae // Contributions to Zoology. 2003. Vol. 72, № 4. PP. 195–209. doi: <https://doi.org/10.1163/18759866-07204001>
12. Ярцев В.В., Куранова В.Н., Мартынова Г.С. Морфология сперматозоидов криптических видов углозубов рода *Salamandrella* (Caudata: Hynobiidae) // Вестник СПбГУ. Серия 3. Биология. 2016. Вып. 2. С. 18–30. doi: 10.21638/11701/spbu03.2016.202
13. Ярцев В.В., Куранова В.Н. О возможности гибридизации приморского, *Salamandrella tridactyla*, и сибирского, *S. keyserlingii*, углозубов (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 3 (23). С. 83–90.
14. Ярцев В.В. Репродуктивная биология хвостатых земноводных рода *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) : дис. ... канд. биол. наук. Томск : Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2014. 253 с.
15. Кузьмин С.Л. Питание симпатрических видов Hynobiidae в Приморском крае // Зоологический журнал. 1990. Т. 69, № 5. С. 71–75.
16. 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) // Зоологический журнал. 2009. Т. 88, № 5. С. 530–545.
17. Exbrayat J.M. Histochemical and cytochemical methods of visualization. Boca Raton, London ; New York : CRC Press Taylor and Francis Group, 2013. 367 p.
18. Andrey P., Maurin Y. Free-D: an integrated environment for three-dimensional reconstruction from serial sections // Journal of neuroscience methods. 2005. Vol. 145, № 1–2. PP. 233–244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.01.006>
19. Hasumi M., Iwasawa H., Nagahama Y. Seasonal dynamics of reproductive organs in male salamanders of the species *Hynobius nigrescens* // Copeia. 1990. Vol. 1990, № 2. PP. 367–377. doi: 10.2307/1446342
20. Sever D.M. Comparative anatomy and phylogeny of the cloacae of salamanders (Amphibia: Caudata). II. Cryptobranchidae, Hynobiidae, and Sirenidae // Journal of Morphology. 1991. Vol. 207, № 3. PP. 283–301. doi: <https://doi.org/10.1002/jmor.1052070306>
21. Osikowski A., Cierniak-Zuzia K. Cloacal anatomy of the male Carpathian newt, *Lissotriton montandoni* (Amphibia, Salamandridae), in the breeding season // Zoological Science. 2013. Vol. 30, № 9. PP. 748–753. doi: <https://doi.org/10.2108/zsj.30.74>
22. Yartsev V.V., Evseeva S.S. The male urogenital system of a salamander *Ranodon sibiricus* (Amphibia, Caudata) // Current herpetology. 2021. Vol. 40, № 1. PP. 10–21. doi: <https://doi.org/10.5358/hsj.40.10>
23. Yartsev V.V., Evseeva S.S., Maslova I.V., Rogashevskaya D.A. Male and female cloacal anatomy of the Fischer's Clawed Salamander, *Onychodactylus fischeri* (Caudata, Hynobiidae) // Russian Journal of Herpetology. 2021. Vol. 28, № 5. PP. 275–280. doi: 10.30906/1026-2296-2021-28-5-275-280

24. Hasumi M. Social interactions during the aquatic breeding phase of the family Hynobiidae (Amphibia: Caudata) // *Acta Ethologica*. 2015. Vol. 18. PP. 243–253. doi: <https://doi.org/10.1007/s10211-015-0214-z>
25. Поярков Н.А. Филогенетические связи и систематика хвостатых амфибий семейства углозубов (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) : дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 290 с.
26. Poyarkov N.A., Che J., Min M.S., Kuro-O M., Yan F., Li C., Iizuka K., Vieites D.R. Review of the systematics, morphology and distribution of Asian Clawed Salamanders, genus *Onychodactylus* (Amphibia, Caudata: Hynobiidae), with the description of four new // *Zootaxa*. 2012. Vol. 3465, № 1. PP. 1–106.

References

1. Frost DR. Amphibian Species of the World, an Online Reference. American Museum of Natural History. New York, USA; 1998-2020. [Electronic resource]. Available at: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php/Amphibia/Caudata> (accessed 17.09.2020).
2. Vitt L.J., Caldwell J.P. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 4rd Edition. Academic Press; 2014. 630 p.
3. Sever DM. Courtship and Mating Glands. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela*. Sever DM. editor. Science Publishers, In; 2003. pp. 323-381.
4. Kuzmin S.L. Zemnovodnye byvshego SSSR [Amphibians of the former USSR]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ.; 2012. 370 p. In Russian
5. Berman D.I., Derenko M.V., Malyarchuk B.A., Grzybowski T., Kryukov A.P., Miscicka-Sliwka D. Intraspecific genetic differentiation of Siberian newt (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Caudata) and cryptic species *S. schrenckii* from the russian south-east. *Zoological Journal*. 2005;84(11):1374-1388. In Russian, English summary
6. Poyarkov N.A., Kuzmin S.L. Phylogeography of the Siberian newt *Salamandrella keyserlingii* by mitochondrial dna sequence analysis. *Russian Journal of Genetics*. 2008;44(8):1089-1100. In Russian, English summary
7. Matsui M., Tominaga A., Liu W., Khonsue W., Grismer L., Diesmos AC, 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). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2008;(48):84-93. doi: 10.1016/j.ympev.2008.04.010
8. Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Denisova G.A. Phylogenetic relationships among asiatic salamanders of the genus *Salamandrella* based on variability of nuclear genes. *Russian Journal of Genetics*. 2015;51(1):91-97. In Russian, English summary. doi: 10.7868/S0016675815010075
9. Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Denisova G.A. High level of interspecific divergence in the *Salamandrella* genus based on variability of the RAG2 gene. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(7):825-831. In Russian, English summary. doi: 10.1134/S0016675818070093
10. Litvinchuk S.N., Borkin L.J., Rosanov J.M. Intraspecific and interspecific genome size variation in hynobiid salamanders of Russia and Kazakhstan: determination by low cytometry. *Asiatic Herpetological Research*. 2004;10:282-294.
11. Litvinchuk S.N., Borkin L.J. Variation in number of trunk vertebrae and in count of costal grooves in salamanders of the family Hynobiidae. *Contributions to Zoology*. 2003;72(4):195-209. doi: <https://doi.org/10.1163/18759866-07204001>
12. 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;2:18-30. In Russian, English summary. doi: 10.21638/11701/spbu03.2016.202
13. Kuranova V.N., Yartsev V.V. On the possibility of hybridization between the *Salamandrella tridactyla* and the *S. keyserlingii* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae). *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta, Biologiya*. 2013;3(23):83-90. In Russian, English summary

14. Yartsev VV. Reproktivnaya biologiya hvostatyh zemnovodnyh roda *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) [Reproductive biology of tailed amphibians of the genus *Salamandrella* (Amphibia: Caudata, Hynobiidae). CandSci. Dissertation, Biology]. Tomsk: National Research Tomsk State University; 2014. 253 p. In Russian
15. Kuzmin SL. Pitanie simpatricheskikh vidov *Hynobiidae* v Primorskom krae. *Zoological Journal*. 1990;69(5):71-75. In Russian, English summary
16. Berman DI, Derenko MV, Malyarchuk BA, Bulakhova NA, Grzybowski T, Kryukov AP, Leirikh AN. Range and genetic polymorphism of *Salamandrella schrenckii* (Amphibia, Caudata, Hynobiidae). *Zoological Journal*. 2009;88(5):530-545. In Russian, English summary
17. Exbrayat JM. Histochemical and cytochemical methods of visualization. Boca Raton, London, New York: CRC Press Taylor and Francis Group; 2013. 367 p.
18. Andrey P, Maurin Y. Free-D: an integrated environment for three-dimensional reconstruction from serial sections. *Journal of neuroscience methods*. 2005;145(1-2):233-244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.01.006>
19. Hasumi M, Iwasawa H, Nagahama Y. Seasonal dynamics of reproductive organs in male salamanders of the species *Hynobius nigrescens*. *Copeia*. 1990;1990(2):367-377. doi: 10.2307/1446342
20. Sever DM. Comparative anatomy and phylogeny of the cloacae of salamanders (Amphibia: Caudata). II. Cryptobranchidae, Hynobiidae, and Sirenidae. *Journal of Morphology*. 1991;207(3):283-301. doi: <https://doi.org/10.1002/jmor.1052070306>
21. Osikowski A, Cierniak-Zuzia K. Cloacal anatomy of the male Carpathian newt, *Lissotriton montandoni* (Amphibia, Salamandridae), in the breeding season. *Zoological Science*. 2013;30(9):748-753. doi: <https://doi.org/10.2108/zsj.30.74>
22. Yartsev VV, Evseeva SS. The male urogenital system of a salamander *Ranodon sibiricus* (Amphibia, Caudata). *Current herpetology*. 2021;40(1):10-21. doi: <https://doi.org/10.5358/hcj.40.10>
23. Yartsev VV, Evseeva SS, Maslova IV, Rogashevskaya DA. Male and female cloacal anatomy of the Fischer's Clawed Salamander, *Onychodactylus fischeri* (Caudata, Hynobiidae). *Russian Journal of Herpetology*. 2021;28(5):275-280. doi: 10.30906/1026-2296-2021-28-5-275-280
24. Hasumi M. Social interactions during the aquatic breeding phase of the family Hynobiidae (Amphibia: Caudata). *Acta ethologica*. 2015;18:243-253. doi: <https://doi.org/10.1007/s10211-015-0214-z>
25. Poyarkov NA. Filogeneticheskie svyazi i sistematika hvostatyh amfibij semejstva uglozubov (Amphibia: Caudata, Hynobiidae) [Phylogenetic relationships and systematics of tailed amphibians of the salamander family (Amphibia: Caudata, Hynobiidae). CandSci. Dissertation, Biology]: Moscow; 2010. 290 p. In Russian
26. Poyarkov NA, Che J, Min MS, Kuro-O, Yan FLi, Iizuka K, Vieites DR. Review of the systematics, morphology and distribution of Asian Clawed Salamanders, genus *Onychodactylus* (Amphibia, Caudata: Hynobiidae), with the description of four new. *Zootaxa*. 2012;3465(1):1-106.

Информация об авторах:

Ярцев Вадим Вадимович, канд. биол. наук, и. о. заведующего, доцент кафедры зоологии позвоночных и экологии Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета, заведующий Зоологическим музеем Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия); доцент кафедры биологии и генетики Сибирского государственного медицинского университета (Томск, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7789-7424>

E-mail: vadim_yartsev@mail.ru

Евсеева София Сергеевна, аспирант кафедры зоологии позвоночных и экологии Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7644-8501>

E-mail: sofiaewseewa@gmail.com

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Vadim V. Yartsev, Cand.Sci. (Biol.), Acting Head of the Department of Vertebrate Zoology and Ecology, Assistant Professor of the Department of Vertebrate Zoology and Ecology, Head of the Museum of Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation); Assistant Professor of the Department of Biology and Genetics, the Department of Biomedicine, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7789-7424>

E-mail: vadim_yartsev@mail.ru

Sofiya S. Evseeva, Postgraduate student, Department of Vertebrate Zoology and Ecology, Institute of Biology, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7644-8501>

E-mail: sofiaewseewa@gmail.com

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 30.07.2024;
одобрена после рецензирования 20.08.2024; принята к публикации 05.09.2024.*

*The article was submitted 30.07.2024;
approved after reviewing 20.08.2024; accepted for publication 05.09.2024.*