

Санкт-Петербургский Государственный Университет

На правах рукописи

Хабибулина Валерия Руслановна

СТРОЕНИЕ И РАЗВИТИЕ НЕРВНОЙ И МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ В ХОДЕ БЕСПОЛОГО
РАЗМНОЖЕНИЯ ПОЛИПОИДНОЙ СТАДИИ *CASSIOPEA HAMACHANA* (CNIDARIA:
SCYPHOZOA).

Научная специальность: 1.5.12. Зоология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
Старунов Виктор Вячеславович

Санкт-Петербург

2023

Оглавление

Введение	3
 Обзор литературы	
1. Особенности организации нервной и мышечной системы полипов в различных группах Cnidaria	8
2. Бесполое размножение у различных полипоидных стадий Cnidaria	13
 Материалы и методы	21
 Результаты	
1. Визуальные наблюдения за развитием планулоида <i>Cassiopea xamachana</i>	24
2. Мускулатура и нервная система взрослого полипа <i>Cassiopea xamachana</i>	26
3. Развитие мускулатуры и нервной системы планулоида <i>Cassiopea xamachana</i>	32
4. Включение метки EdU во время роста почки, развития и трансформации планулоида <i>Cassiopea xamachana</i>	36
5. Наследование планулоидом <i>Cassiopea xamachana</i> фотосимбионтов	37
 Обсуждение результатов	
1. Общая морфология мышечной и FMR-сенсибилизированной нервной системы полипов <i>Cassiopea xamachana</i>	40
2. Развитие мускулатуры и нервной системы планулоида <i>Cassiopea xamachana</i>	45
 Заключение	55
Выводы	56
Благодарности	57
Список литературы	58

Введение

Актуальность работы:

Одной из важных стадий эволюции Eumetazoa является появление функционально связанных нервной и мышечной системы (Daly et al., 2007 [49]; Lichtneckert, Reichert, 2009 [116]; Arendt, 2021 [10]). Начальные этапы дифференцировки этих систем прослеживаются у представителей группы Cnidaria. Эти животные обладают децентрализованной нервной системой диффузного типа, без выраженных ганглиев и нервных путей (Koizumi, 2007 [107]; Koizumi, 2016 [108]; Badhiwala et al., 2020 [16]). Их мускулатура, в большинстве случаев, представлена эпителиально-мышечными клетками, сохраняющими способность к передаче нервного импульса (Mackie, Passano, 1968 [120]; Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Наиболее ярко эти примитивные черты организации нервно-мышечных систем, вероятно отражающие ранние этапы эволюции, выражены у полипоидных стадий кишечнополостных (Bosch et al, 2017 [26]). При этом организация аналогичных систем у медузоидных стадий претерпевает существенное усложнение, по-видимому, связанное с переходом к активной локомоции и значительным развитием сенсорных органов вследствие этого (Satterlie, 2002 [165]; Seipel, Schmid, 2005 [170]; Satterlie, 2011 [164]; Katsuki, Greenspan, 2013 [99]; Lewis, 2018 [115]). Таким образом, исследование нервно-мышечных систем полипов кишечнополостных предоставляет важный материал для анализа первых этапов становления сократительной и сигнальной функции на уровне настоящих многоклеточных животных.

Спектр имеющейся исследований, описывающих строение нервно-мышечной системы кишечнополостных весьма ограничен. Наиболее детальные работы, включающие описание морфологии (как на гистологическом, так и на ультраструктурном уровне) и молекулярно-генетических особенностей функционирования и развития этих систем касаются модельных объектов таких как *Hydra* sp. (Hydrozoa) (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Grimmelikhuijzen, 1982 [69]; Koizumi, 2007 [107]) и *Nematostella vectensis* (Anthozoa) (Darling et al., 2005 [51]; Marlow et al, 2009 [122]). Работы по другим представителям кишечнополостных касаются, в основном, частных аспектов организации нервно-мышечной системы. Так, например, имеется довольно обширная информация об организации мышечных системах Anthozoa на гистологическом уровне, так как особенности устройства мускулатуры является важным таксономическим признаком внутри группы (Carlgren, 1949 [33]; Daly, Fautin, Cappola, 2003 [50]; Swain et al., 2015 [183]; Stampar et al., 2016 [178]). Данные об устройстве нервно-мышечной системы полипов Scyphozoa и Cubozoa сводятся к единичным работам на ультраструктурном и гистологическом уровне (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). Таким образом, устройство нервной системы и мускулатуры полипов этих классов Cnidaria наименее изучено.

Данные о формировании нервно-мышечных систем в онтогенезе полипоидных стадий книдарий еще более скудны. Большая часть эмбриологических, морфологических и молекулярно-генетических данных имеется лишь для *Hydra* spp. (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al., 1991 [90]; Hobmayer et al., 2012 [81]; Galliot, 2012 [58]), а также для некоторых колониальных гидроидных полипов (Mayorova, Kosevich, 2013 [128]; Pennati et al., 2013 [149]; Leclère et al., 2016 [112]). При этом важно отметить, что формирование нервно-мышечной системы у книдарий в онтогенезе может идти несколькими путями. Помимо первичной дифференцировки в ходе полового размножения при метаморфозе личинки-планулы, формирование нервно-мышечных элементов происходит и при бесполом размножении. Для полипов книдарий характерен широкий спектр типов бесполого размножения, включающий фрагментацию, продольное и поперечное деление, образование покоящихся подоцист и фрустул, а также различные виды почкования (Collins, 2002 [42]; Fautin, 2002 [53]). Среди перечисленного наибольшее внимание уделяется латеральному почкованию, которое наиболее подробно изучено у гидры (Galliot, 2012 [58]). В то же время практически ничего не известно об органогенезе в ходе иных, более специализированных типов почкования полипов.

Одним из таких малоизученных процессов является почкование, свойственное представителям группы *Kolpophorae* (Cnidaria: Scyphozoa). Впервые оно было описано у сцифополипов *Cassiopea* sp. (Bigelow, 1892 [20]). У *Cassiopea* sp. отпочковываются ресничные планулоподобные стадии, которые после короткого периода плавания оседают и трансформируются в полип нового поколения. Отдельные фазы образования таких почек были описаны с помощью методов гистологии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии (Hoffmann, Honegger, 1990 [82]; Van Lieshout, Martin, 1992 [194]), однако общая топология и динамика развития различных систем этих организмов остается неисследованной.

Все вышесказанное определяет выбор объекта исследования, который позволял бы (1) получить целостную картину топологии нервно-мышечной системы полипа Scyphozoa; (2) проследить формирование нервно-мышечной системы полипа от ранних онтогенетических этапов до дефинитивной стадии; (3) получить подробные данные об органогенезе в процессе специализированного бесполого размножения. Этим условиям полностью отвечает *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae). Полипы этого вида относительно небольшие, и тем самым хорошо подходят для различных современных морфологических исследований, которые могут опираться на уже имеющиеся гистологические и ультраструктурные описания. Кроме того, они легко содержатся в лабораторной культуре и регулярно образуют планулоподобные почки без дополнительной искусственной химической или температурной индукции, которая могла бы повлиять на нормальный процесс почкования.

Развитие методов конфокальной микроскопии в комбинации с иммуногистохимическим мечением позволило вывести исследования организации слабо дифференцированных нервно-

мышечных систем и процессов их формирования на качественно новый уровень. Данный метод позволяет визуализировать как общую локализацию мышечных и нервных элементов во всем организме, так и особенности их расположения в отдельных частях тела, что определило его использование в представленной работе. Для визуализации элементов нервной системы у кишечнополостных наиболее часто используется окраска антителами к нейропептиду FMRFамиду (Spencer, 1989 [176]; Takahashi, 2020 [185]). Это обусловило выбор для данного исследования именно FMRFамидергической части нервной системы, для лучшей сравнимости результатов. Важным аспектом в изучении развития нервно-мышечной системы в онтогенезе полипов *C. xamachana*, формирующихся из планулоподобной почки, является сопоставление особенностей этого типа почкования с другими, описанными у Cnidaria. Для этого необходимо проследить не только судьбу мышечных и нервных элементов, но также выявить клеточные источники для формирования новой ткани нового организма. Немногочисленные работы, посвященные проблеме поиска клеточных источников при почковании кишечнополостных, датируются, в основном, концом двадцатого века и касаются латерального почкования у гидры (Holstein, Hobmayer, David, 1991 [90]). Современные методы прижизненной детекции репликации ДНК с помощью включения метки 5-этинил-2'-дезоксифосфата (EdU) действуют с меньшим повреждением животного, но также позволяют выявить зоны активного синтеза ДНК и косвенно указать на локализацию клеточных источников формирования почки.

Теоретическая и практическая значимость работы:

Данная работа носит по большей части фундаментальный характер. Полученные данные могут быть использованы для анализа эволюционных трендов в развитии нервно-мышечной системы как внутри группы Cnidaria, так и в сравнении с другими низшими Bilateria. Полученные данные дают новые сведения для реконструкции процессов возникновения и эволюции полипоидной стадии у Cnidaria. Кроме того, данные об особенностях процесса почкования у Cassiopeidae имеют научную ценность в свете вопроса бесполого размножения у Cnidaria, а также формирования зон роста и клеточного деления у беспозвоночных.

Приведенные в данной работе схемы могут быть использованы в образовательных целях. Научно-практическую значимость потенциально могут иметь данные о развитии почки. Представители Cassiopeidae часто являются инвазивными видами, распространяясь, в том числе, с помощью подвижной почки. Полученные результаты могут быть использованы для разработки методов противодействия инвазии, осуществляемой данным путем.

Научная новизна работы:

В данной работе с помощью метода иммуногистохимии было выполнено полное описание строения мускулатуры и FMRFамидергического компонента нервной системы полипоидной стадии *Cassiopea xamachana*. Для полипов из группы Scyphozoa это первое исследование такого рода,

позволяющее охарактеризовать организацию мышечной системы и отчасти нервной системы во всем теле животного. Также впервые была прослежен процесс формирования мускулатуры полипа следующего поколения, образующегося при особом виде почкования с помощью планулоподобных почек. Кроме того, была проанализирована пролиферативная активность тканей во время роста планулоподобной почки, ее независимого развития и во время метаморфоза.

Основные положения, выносимые на защиту:

1) Строение мышечной системы и FMRFамидергического компонента нервной системы полипов *Cassiopea xamachana* соответствует типичной организации изученных сцифоидных полипов. Такой тип организации, вероятно, близок к анцестральному состоянию среди Cnidaria.

2) Планулоид *Cassiopea xamachana* является вставочной стадией в процессе бесполого размножения путем латерального почкования, обеспечивающей эффективное расселение и быстрый метаморфоз в полип нового поколения за счет раннего развития полипоидных черт организации.

Апробация и публикации:

По материалам диссертации было опубликовано 7 печатных работ. Из них 3 – статьи в научных журналах, индексируемых системами WoS и/или Scopus, 4 работы опубликовано в материалах международных и всероссийских конференций.

Материалы диссертации были представлены на следующих всероссийских и международных конференциях:

1. Хабибулина В. Р. «Развитие и метаморфоз планулоподобных почек *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa)», Юбилейная конференция в честь 160-летия кафедры зоологии беспозвоночных «Зоология беспозвоночных – новый век», Москва, 19-21 декабря 2018.

2. Хабибулина В. Р. Зайнуллина Б. Р. «Развитие мускулатуры планулоподобных почек при бесполом размножении полипоидного поколения *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa).» Международная научная конференция «Ломоносов 2018», МГУ имени М.В. Ломоносова, 9-13 апреля 2018.

3. Хабибулина В. Р. «О нервной системе сцифополипов и планулоидов *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa)» Международная научная конференция «Ломоносов 2020», МГУ имени М.В. Ломоносова, 10-27 ноября 2020.

4. Хабибулина В. Р. «Характер пролиферативной активности в тканях сцифистом *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae) в процессе формирования планулоидов.» Международная научная конференция «Ломоносов 2021», МГУ имени М.В. Ломоносова, 12-23 апреля 2021.

Публикации по материалам диссертации:

- 1) Khabibulina V., Starunov V. Musculature development in planuloids of *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Zoomorphology. – 2019. – Т. 138. – №. 3. – С. 297-306.
- 2) Khabibulina V., Starunov V. FMRFamide immunoreactive nervous system in the adult *Cassiopeia xamachana* scyphopolyp and at the early stages of planuloid formation //Invertebrate Zoology. – 2020. – Т. 17. – №. 4. – С. 371-384.
- 3) Khabibulina V., Starunov V. 2021 Proliferation activity in the polyps of *Cassiopeia xamachana*: where the planuloid buds grow //Biological Communications. – 2021. – Т. 66. -№ 4. – С. 333–340.

Личный вклад автора:

Автор данной работы принимал активное участие во всех этапах работы: постановке цели и конкретных задач, поиске и анализе научной литературы, планировании экспериментов, содержании культуры полипов, подготовке образцов, применении методов иммуногистохимии и мечения ДНК-синтезирующих клеток, оптической, флуоресцентной и конфокальной микроскопии, обработке полученных изображений, а также в интерпретации полученных данных, написании научных публикаций и их представлении на конференциях и в научных публикациях.

Цель работы:

Изучение организации мускулатуры и нервной системы у полипов *Cassiopeia xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae), а также особенностей развития этих систем в процессе бесполого размножения путем образования планулоподобных почек.

Задачи работы:

- 1) Изучить особенности строения нервной и мышечной систем взрослых полипов *Cassiopeia xamachana*;
- 2) Проанализировать процесс закладки и развития мускулатуры и FMRFамидергического компонента нервной системы планулоподобной почки *Cassiopeia xamachana*;
- 3) Выявить вероятные зоны пролиферативной активности при почковании и дальнейшем росте планулоподобной почки *Cassiopeia xamachana* при помощи мечения EdU.

Обзор литературы

1. Особенности организации нервной и мышечной системы полипов в различных группах Cnidaria

Особенности организации нервной и мышечной систем кишечнополостных являются объектом пристального научного интереса. Поскольку Cnidaria считается сестринской группой по отношению к Bilateria (Вагуиà et al., 2008 [17]; Collins, 2009 [43]), как нервная, так и мышечная система, с одной стороны, могут сохранять примитивные признаки, свойственные общему предку, а с другой стороны, обладают уникальными чертами, возникшими в ходе независимой эволюции (Bosch et al, 2017 [26]).

К таким уникальным чертам организации мышечной системы кишечнополостных можно отнести отсутствие, за редким исключением, настоящих мышечных клеток (Беклемишев, 1944 [1]). Мускулатура кишечнополостных представлена в подавляющем большинстве случаев эпителиально-мышечными клетками (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Апикальная часть такой клетки находится в эпителиальном слое, а от ее базальной части отходят отростки, содержащие, как правило, гладкие мышечные волокна (Charman, 1974 [35]). В отдельных случаях у кишечнополостных обособляются самостоятельные мышечные клетки, называемые миоцитами, залегающие субэпидермально в мезоглее, и не имеющие связи с эпителиальным слоем. Это, в частности, происходит в мышечных валиках у Anthozoa и мышечных лентах Scyphozoa (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). В редких случаях эпителиально-мышечные клетки могут полностью отсутствовать, как, например, у свободноживущих полипо-подобных стадий паразита *Polypodium hydriforme* (Raikova, Ibragimov, Raikova, 2007 [155]). У активно плавающих медуз имеются поперечно-полосатые мышечные клетки эктодермального происхождения, однако эти клетки, по-видимому, возникли независимо от Bilateria (Seipel, Schmid 2005 [170]; Steinmetz et al., 2012 [179]). Наличие подобных обособленных от эпителиального слоя мышечных клеток, и, в особенности, неясный путь их формирования, является предметом оживленной дискуссии о происхождении мезодермы в эволюции Metazoa. Важным свойством эпителиально-мышечных клеток кишечнополостных является способность передавать импульсы внутри клеточного слоя и, таким образом, осуществлять передачу сигнала без непосредственного участия нервных элементов (Mackie, Passano, 1968 [120]). Эта особенность способствует более координированной работе мышечных волокон (Westfall, 1973 [200]). Таким образом могут формироваться скопления однонаправленных мышечных фибрилл, работающие как одна функциональная единица. В этом случае такое образование принято для удобства обозначать как «мышцу»: как, например, кольцевой мускул купола медуз.

Характерной особенностью строения нервной системы кишечнополостных является ее диффузная организация. Фактически нервная система представлена отдельными нервными клетками и их

отростками, которые могут образовывать скопления, однако никогда не формируют настоящие ганглии и длинные проводящие пути (Беклемишев, 1944 [1]). Относительно слабая концентрация элементов нервной системы тесно связана с ярко выраженной радиальной симметрией тела стрекающих (Spencer, Arkett, 1984 [177]). Подобное отсутствие нервных скоплений, правда вторичное, наблюдается также у радиально-симметричных иглокожих (Arnone et al, 2015 [12]).

Несмотря на относительно простое общее устройство нервных систем книдарий, им присуще большое морфологическое разнообразие нейронов: униполярных, биполярных и мультиполярных. В нейронах не происходит дифференциации на аксон и дендрит, поэтому зачастую все нервные отростки называются «нейритами» (Koizumi, 2016 [108]). Передача сигнала в нервных клетках книдарий может быть как однонаправленной, так и двунаправленной. Кроме того, нервные клетки могут быть мультифункциональными: один нейрон может выполнять сенсорную функцию, осуществлять передачу сигнала и иннервировать эпителиально-мышечные клетки (Westfall, Kinnamon, 1978 [202]). Большую роль в функционировании нервной системы книдарий играют разнообразные нейромедиаторы (Grimmelikhuijzen et al, 2004 [71]; Takahashi, 2020 [185]). В их числе как низкомолекулярные соединения: ацетилхолин, серотонин, гамма-аминомасляная кислота (GABA), глицин, глутаминовая кислота и другие, так и нейропептиды, например, FMRFамид и GLWамид (Kass-Simon, Pierobon, 2007 [98]; Takahashi, Takeda, 2015 [186]). Эти нейромедиаторы представлены в нервных системах и других многоклеточных животных и, по-видимому, возникли еще у общего предка книдарий и билатеральных животных (Watanabe et al, 2009 [195]).

Значительная часть данных о разнообразии, устройстве и особенностях функционирования нервных и мышечных систем книдарий касается медузоидных стадий. В общем виде нервная система медуз представлена моторной и диффузной нервными сетями, а также нервным кольцом (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). Моторная или иначе двигательная нервная сеть иннервирует плавательную мускулатуру субумбреллы (нижней части «зонтика» медузы). Крупные нейроны в этой сети расположены по большей части неупорядоченно и обладают обычно двумя нейритами (Anderson, Schwab, 1981 [7]; Satterlie, 2002 [165]). Сигнал от нескольких активированных нейронов быстро и разнонаправленно распространяется по всей сети, обеспечивая синхронное сокращение мускулатуры (Satterlie, Eichinger, 2014 [166]; Pallasdies. et al, 2019 [148]). Диффузная нервная сеть участвует в регуляции активности локомоции медузы, хотя непосредственно плавательную мускулатуру не иннервирует (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). Нейроны этой сети, по-видимому, контролируют сокращение щупалец, кольцевого мускула, осуществляют сенсорную функцию и связь между эксумбреллой (внешней частью «зонтика» медузы) и субумбреллой (Arai, 1997 [8]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]; Pallasdies. et al, 2019 [148]). Нервные элементы этих двух нервных сетей, по-видимому, не контактируют между собой, хотя их функциональные нагрузки тесно связаны (Arai, 1997 [8], Pallasdies. et al, 2019 [148]). Координация работы моторной и диффузной нервных сетей и поведения медузы в целом осуществляется в нервном кольце и связанных с ним

сенсорных структурах (Mackie, 2004 [119]; Garm et al., 2007 [60]; Koizumi et al., 2015 [109]). Нервное кольцо представляет собой скопление нейронов и их отростков, расположенных по краю купола медузы. Непосредственно центры интеграции, вероятно, расположены в особых чувствительных органах на краю купола – ропалиях (Garm et al., 2006 [59]; Skogh et al., 2006 [173]). В них сгруппированы органы равновесия и фоторецепторные структуры, достигающие у некоторых видов большой сложности (Martin, 2002 [124]). На сегодняшний день все чаще предлагается рассматривать нервное кольцо и ропалии в качестве центральной части нервной системы медузы, в то время как ее периферические отделы представляют моторная и диффузная нервные сети (Garm et al., 2006 [59]; Satterlie, 2011 [164]).

В ряду медуз классов Scyphozoa – Hydrozoa – Cubozoa наблюдается усложнение организации нервного кольца и нервных кластеров ропалиев, которое выражается в повышении степени концентрации нервных элементов, их морфологической и функциональной дифференциации (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). То же можно сказать и о морфологическом ряде усложнения организации мускулатуры. У сцифоидных медуз, которые обычно достигают крупных размеров, мышечная система представлена мышцами щупалец, кольцевым мускулом и мощными мышцами субумбреллы (Anderson, Schwab, 1981 [7]; Zimmerman et al., 2019 [212]). У гидромедуз и кубомедуз обособляются функциональные группы мышц велюма, манубриума и оснований щупалец (Seipel, Schmid, 2005 [170]; Satterlie et al., 2005 [167]). Мускулатура медуз представлена по большей части гладкими мышцами, однако в составе плавательной мускулатуры присутствуют также и поперечнополосатые мышцы (Charman, 1968 [39]; Seipel, Schmid, 2005 [170]). В совокупности, усложнение строения нервной и мышечной системы в ряду медуз Scyphozoa – Hydrozoa – Cubozoa обеспечивает все более сложное поведение.

Данных о разнообразии и особенностях организации нервно-мышечных систем полипоидных стадий существенно меньше. Эти данные почти полностью исчерпываются работами по изучению классических модельных объектов. Большинство работ по исследованию мускулатуры и нейробиологии книдарий были выполнены на пресноводных гидроидных полипах *Hydra* spp. (Galliot, 2012 [58]) и актиниях *Nematostella vectensis* (Darling et al., 2005 [51]).

Нервная система гидры включает диффузно расположенные нервные элементы в гастродермисе и эпидермисе тела, щупальцах полипа, а также два нервных скопления (Burnett, Diehl, 1964 [28]; Sakaguchi, Mizusina, Kobayakawa, 1996 [161]; Gründer, Assmann, 2015 [72]). Меньшее из этих скоплений находится в подошве, в то время как другое, называемое нервным кольцом, приурочено к области гипостома. В нервном кольце происходит наибольшая концентрация нервных элементов. Оно состоит из чувствительных клеток, тел нейронов и их отростков, располагающихся как циркумгипостомально, так и радиально – по направлению от гипостома к основаниям щупалец (Grimmelikhuijzen et al., 1989 [70]). К нервному кольцу также подходят продольно ориентированные нейриты тела гидры (Davis et al., 1968 [52]; Koizumi et al.,

1992 [110]; Koizumi, 2007 [107]). Вероятно, нервное кольцо играет роль интегративного центра животного (Koizumi, 2007 [107]; Badhiwala et al., 2020 [16]). В зависимости от распределения различных нейромедиаторов, таких как FMRFамид, RГамид, LWамид, GABA (gamma-aminobutyric acid - гамма-аминомасляная кислота) и Нум (специфический нейропептид, обнаруженный у гидры) в нервной системе гидры выделяется несколько субпопуляций нейронов (Sakaguchi, Mizusina, Kobayakawa, 1996 [161]; Yum et al., 1998 [210]; Hansen, Williamson, Grimmelikhuijzen, 2002 [75]; Concas et al., 2016 [44]). Таким образом достигается регионализация и дифференциация различных функций в диффузной нервной сети (Noro et al., 2019 [140]). Например, субпопуляция нейронов, экспрессирующих нейропептид Нум-176, контролирует продольное сокращение тела, и не участвует в иных движениях гидры (Noro et al., 2021 [141]).

Мускулатура гидры представлена эпителиально-мышечными клетками в эпидермисе и гастродермисе (Mueller, 1950 [134]; Szymanski, Yuste, 2019 [184]). Мышечные отростки в этих слоях ориентированы ортогонально. В эпидермисе они располагаются продольно орально-аборальной оси тела, а в гастродермисе образуют кольцевую мускулатуру, выступая в качестве мышц-антагонистов (Беклемишев, 1944 [1]; Haynes, Burnett, Davis, 1968 [77]; Takahashi-Iwanaga, Koizumi, Fujita, 1994 [187]). Мускулатура щупалец гидры представлена, в основном, продольными эпителиально-мышечными клетками (Otto, 1977 [146]). В гипостоме мышечные отростки эпидермального слоя ориентированы радиально, а отдельные гастродермальные клетки формируют кольцевые мышечные отростки вокруг ротового отверстия (Wood, 1979 [207]). Подобный характер расположения нервно-мышечных элементов отмечен и у других полипоидных форм Hydrozoa: *Coryne* sp. (Golz, 1994 [66]), *Cladonema* sp. (Mayorova, Kosevich, 2013 [128]), *Gonothyraea loveni* (Mayorova, Kosevich, 2013 [130]).

Для полипов *Nematostella vectensis* характерен более сложный способ организации нервно-мышечной системы. Мускулатура актинии представлена мышцами тела и мышцами щупалец (Frank, Bleakney, 1976 [56]; Jahnel, Walzl, Technau, 2014 [96]). В теле располагаются продольные париетальные мышцы и мускулы-ретракторы, приуроченные к мезентериям (Williams, 2003 [206]). Париетальная мускулатура развита относительно слабо и локализована в местах прикрепления мезентериев к стенке тела. Мышцы-ретракторы развиты наиболее мощно, они прикрепляются к ветвящимся выростам мезоглеи мезентериев, что позволяет компактно расположить большее количество сократимых единиц. Подобный вариант организации мускулатуры иногда называется перьевидным (Беклемишев, 1944 [1]). Кольцевая мускулатура располагается в стенке тела, снаружы от продольных мышц. В отличие от гидры, все перечисленные мышечные образования имеют гастродермальное происхождение. Мускулатура щупалец также представлена продольными и кольцевыми мышцами. Кольцевая мускулатура образована мышечными отростками гастродермальных клеток, продольная – мышечными отростками эпидермальных клеток. По крайней мере, для части клеток (мышц-ретракторов и продольных мышц щупалец) характерно

обособление от эпителиального слоя и соответственно редукция эпителиальной части клетки. Такие клетки называются миоцитами и фактически становятся самостоятельными мышечными клетками, обладающими собственным ядерным аппаратом (Leclère, Röttinger, 2014 [113]). У других представителей Anthozoa общий план организации мышечной системы сохраняется, однако часто получает дополнительные модификации, связанные с особенностями биологии конкретных видов (Batham, Pantin, 1951 [19]; Swain et al., 2015 [183]). Такие модификации могут включать специализацию мускулатуры подошвы в связи с прикрепленным или роющим образом жизни. Расположение мышечных валиков на мезентериях также варьирует в различных группах Anthozoa, что зачастую является таксономическим признаком (Daly, Fautin, Cappola, 2003 [50]; Swain et al., 2015 [183]; Stampar et al., 2016 [178]).

Отчасти в соответствии с расположением мускулатуры организована нервная система *N. vectensis*. Как и у гидры, диффузная нервная сеть в теле актинии включает эпидермальную и гастродермальную части (Nakanishi et al., 2012 [137]). Однако у *N. vectensis* нервные элементы образуют скопления вдоль продольной мускулатуры мезентериев, на кончиках щупалец и в подошве (Kelava, Rentzsch, Technau, 2015 [101]). Наибольшей концентрации они достигают в двух нервных кольцах: оральном и фарингеальном. В нервной системе *N. vectensis* показано присутствие FMRFамида, GABA и серотонинергических субпопуляций нейронов, занимающих различное положение в теле (Marlow et al., 2009 [122]). Нейроны субпопуляции GABA приурочены к щупальцам и глотке, в то время как FMRFамидергические нейроны по большей части локализованы в стенке тела, сопровождают мезентериальную мускулатуру и входят в состав нервного кольца. Сходная картина расположения FMRFамидергических нервных элементов наблюдается у питающихся зооидов колониальных Anthozoa: морского пера *Renilla koellikeri* (Pernet, Anctil, Grimmelikhuijzen, 2004 [150]), восьмилучевого коралла *Eunicella cavolini* (Girosi et al., 2005 [64]) и шестилучевого коралла *Acropora millepora* (Attenborough et al., 2019 [13]).

Нервная система и мускулатура полипоидных стадий представителей других таксонов книдарий изучены в гораздо меньшей мере. Устройство нервно-мышечной системы кубополипов отчасти исследовано на ультраструктурном уровне у двух видов: *Tripedalia cystophora* и *Carybdea* sp. (Werner, Chapman, Cutress, 1976 [198]). Мускулатура кубополипа представлена эпидермальными эпителиально-мышечными клетками и миоцитами, вероятно, гастродермального происхождения, располагающимися в мезоглее. Мышечные отростки этих клеток в районе гастрального отдела тела проходят как в продольном, так и в кольцевом направлениях, что, в целом, напоминает организацию мускулатуры у гидроидных полипов. Продольные мышечные отростки также отмечены в стебельке и гипостоме, где им сопутствуют отдельные радиальные отростки. Нервные элементы располагаются параллельно мускулатуре, и, по-видимому, также не образуют каких-либо скоплений, за исключением двойного нервного кольца, располагающегося между основаниями щупалец и гипостома (Chapman, 1978 [37]). Тем не менее, с помощью методов трансмиссионной

электронной микроскопии сложно проследить общую топологию нервно-мышечных элементов, и этот аспект, а также особенности нейрхимической организации нервной системы кубополипов до сих пор остаются невыясненными.

Нервная и мышечная система сцифоидных полипов также исследована слабо. Работы, посвященные изучению организации этих систем практически исчерпываются изучением полипов вида *Aurelia aurita*. Мускулатура сцифистом *A. aurita* представлена продольными мышцами щупалец, радиальными мышцами гипостома, а также продольными мышцами ножки и тела. Мышцы, как правило, образованы эпителиально-мышечными клетками, за исключением продольной мускулатуры ножки и тела, сформированной миоцитами. Миоциты сгруппированы в мышечные ленты, проходящие в септах – четырех складках гастродермиса и мезоглеи, вдающихся в гастральную полость. Нервная система сцифополипов *A. aurita* представлена лишь эпидермальной нервной сетью в теле и щупальцах, и слабо-концентрированным нервным кольцом (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). По крайней мере, часть этих нервных элементов является FMRFамидергическими: они входят в состав нервного кольца, залегают в щупальцах и сопровождают продольную мускулатуру в септах (Sakaguchi, Imai, Nomoto, 1999 [160]). Наличие подобного нервного кольца показано также у коронатных полипов *Atorella japonica* (Matsuno, Kawaguti, 1991 [127]), а присутствие FMRFамидергических нервных элементов – у полипов *Cassiopea* spp. (Hofmann, Hellmann, 1995 [85]). Однако, как и в случае кубополипов, сведения о нервной системе и мускулатуре сцифополипов получены с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии, и не могут дать полной картины организации этих систем.

2. Бесполое размножение у различных полипоидных стадий Cnidaria

Жизненный цикл квидарий включает две чередующиеся стадии: прикрепленного полипа и свободноплавающей медузы (Collins, 2002 [42]). Медузы размножаются половым путем, продуцируя ресничные личинки – планулы, которые оседают на подходящий субстрат, после чего претерпевают метаморфоз, превращаясь в полип или колонию полипов. В свою очередь полипы формируют новые поколения медуз несколькими путями, варьирующими в разных группах. От этого сценария существуют разного рода отклонения: медузоидное поколение полностью отсутствует у представителей класса Anthozoa (Догель, 1981 [2]) и вторично редуцируется в нескольких семействах класса Hydrozoa (Cornelius, 1992 [46]). Возможна и обратная ситуация, при которой в жизненном цикле может не быть полипоидной стадии, как это происходит у сцифоидных медуз *Pelagia noctiluca* (Sandrini, Avian, 1983 [162]) и *Periphylla periphylla* (Jarms et al., 1999 [97]) или в группе гидроидных медуз Trachylina (Osadchenko, Kraus, 2018 [144]).

Важную роль в жизненных циклах книдарий играет бесполое размножение (Fautin, 2002 [53]). Оно широко распространено во всех группах и часто обеспечивает не только увеличение количества особей, но также расселение и длительное сохранение популяции в природе. Разнообразие способов бесполого размножения книдарий можно разделить на несколько типов.

В наиболее простом случае размножение может происходить в результате полного или частичного деления тела одиночного животного или колонии на отдельные фрагменты. Такое деление может происходить из-за случайного травматизма, или являться следствием недостаточного питания отдельных модулей колонии (Марфенин, Степаньянц, 1993 [3]). В роли отделяющихся фрагментов могут выступать участки тела, например, щупальца у представителей *Nehacorallia* (Vocharova, 2016 [22]) или ветви колонии (Coppari et al., 2019 [45]). Такой тип размножения более характерен для колониальных форм Anthozoa (Highsmith, 1982 [80]; Acosta et al., 2001 [5]). Роль, которую в действительности играет фрагментация в реализации жизненных циклов книдарий, а также облигатный характер этого процесса до сих пор являются предметом дискуссии (Fautin, 2002 [53]).

Среди одиночных полипов *Nehacorallia* (Anthozoa) встречается бесполое размножение путем продольного или поперечного деления (Reitzel et al, 2011 [158]). При таком делении один полип разделяется на две особи, которые достраивают недостающие структуры. Поперечное деление описано у представителей примитивных семейств Gonactiniidae и Aiptasiidae (Vocharova, Kosevich, 2011 [23]). Наиболее изучен этот процесс у модельного объекта *Nematostella vectensis*. Поперечное деление *N. vectensis* может протекать по двум сценариям. В первом случае ближе к аборальному полюсу полипа в результате сокращений образуется перетяжка, которая со временем полностью отделяет верхнюю часть тела от подошвы. Верхняя половина затем достраивает подошву, в то время как оставшаяся подошва формирует щупальца и рот. Во втором случае происходит смена орально-аборальной оси: на месте подошвы полипа образуется новый рот, тело полипа удлиняется, и на его середине формируются две новые подошвы (Reitzel et al, 2007 [157]). Процесс формирования структур орального и аборального полюсов при поперечном делении у *N. vectensis* контролируется консервативными генами *anthox1a*, *anthox7* *anthox8* и *anthoxб*. Эти же Нох-гены принимают участие в формировании орально-аборальной оси в эмбриогенезе *N. vectensis* (Burton, Finnerty, 2009 [29]). Продольное деление получило более широкое распространение в разных семействах *Nehacorallia* (Vocharova, 2016 [22]). Процесс деления может начинаться как с подошвы, так и с области рта. В обоих случаях ткани полипа начинают растягиваться в противоположные стороны. Одновременно с этим посередине образуется перетяжка, в тканях которой запускается апоптоз, что приводит к разделению новых особей. Ткани в месте разрыва быстро регенерируют и достраивают недостающие структуры (Geller et al., 2005 [61]). В других группах книдарий описаны лишь единичные примеры продольного деления, например, у сцифоидных полипов *Sanderia malayensis*

(Adler, Jarms, 2009 [6]), у кубополипов *Carybdea morandini* (Straehler-Pohl, Jarms, 2011 [180]) и в колониях гидроидных полипов *Hydrocoryne iemanja* (Morandini et al., 2009 [133]).

Наиболее изученным с точки зрения морфологии, цитологии и молекулярной биологии типом бесполого размножения Cnidaria является почкование. Этот термин охватывает широкий круг подчас сильно отличающихся процессов, объединяет которые длительное время сохраняющаяся морфологическая и физиологическая связь материнской и дочерней особей. Впервые процесс почкования был описан у гидроидного полипа *Hydra* sp. в классической работе Абраама Трембле (Trembley, 1744 [191]), хотя первые рисунки почкующейся гидры были сделаны еще А. В. Левенгуком в 1702 году (Leeuwenhoek, 1753 [114]). В дальнейшем гидра стала главным модельным объектом для исследований биологии книдарий и, в том числе, процесса почкования (Galliot, 2012 [58]).

Для *Hydra* sp. характерно так называемое латеральное почкование, при котором дочерние полипы образуются на стенке тела материнской особи. Инициация роста почки *Hydra* sp. происходит в небольшом кольцевом районе на теле полипа и затрагивает оба эпителиальных слоя (Webster, Hamilton, 1972 [196]). На гистологическом уровне место зачатка почки хорошо отличается от окружающих тканей по меньшей дистанции между клетками, которые к тому же утрачивают вакуоли и приобретают более столбчатую форму (Graf, Gierer, 1980 [67]). Клетки зачатка интенсивно делятся, образуя цилиндрическое выпячивание, в которое заходит гастральная полость материнской особи. Это сопровождается изменением ориентации мускульных отростков близлежащих эпителиально-мышечных клеток гидры, которые проникают в образующееся выпячивание. Таким образом закладывается будущая мускулатура растущего полипа (Otto, 1977 [146]). На ранних этапах клеточный материал зачатка в большей мере обеспечивается за счет миграции клеток материнского полипа (Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al, 1991 [90]). В дальнейшем этот процесс прекращается и рост почки происходит благодаря делениям собственных клеток (Shostak, Kankel, 1967 [171]). Регуляция клеточных делений и формирование орально-аборальной оси осуществляется в головном организаторе, который находится в области формирующегося гипостома (Browne, 1909 [27]; Vode, 2012 [24]). В этом процессе ключевую роль играют гены канонического и неканонического сигнального пути Wnt (Hobmayer et al., 2012 [81]). После того как у почки сформируются рот и первые щупальца в ее основании начинается образование подошвы. До ее окончательного формирования дочерний полип сохраняет связь с материнской особью, хотя уже, как правило, способен самостоятельно ловить добычу. Так как гастральные полости обоих полипов все еще остаются соединенными, то пища равномерно распределяется между ними. Механизм окончательного отделения дочернего полипа не ясен, хотя в недавних исследованиях было показано участие в нем генов сигнального пути Notch и FGFR (рецепторы фактора роста фибробластов). Эти гены, вероятно, инициируют перестройку

актинового цитоскелета в эпидермальных клетках подошвы и вызывают окончательное разделение тканей материнской и дочерней особи (Münder et al., 2010 [135]; Hasse et al., 2014 [76]).

Латеральное почкование отмечено у полипов *Tripedalia cystophora* (Werner et al., 1971 [199]), *Chironex flickeri* (Yamaguchi, 1980 [208]), *Carybdea marsupialis* (Fischer, Hofmann, 2004 [54]), *Carukia barnesi* (Courtney et al., 2016 [47]) и *Carybdea morandini* (Straehler-Pohl, Jarms, 2011 [180]) из класса Cubozoa. В случае *C. morandini* образующиеся полипы не прикрепляются поблизости от материнского организма, а способны к ползанию, что, по-видимому, обеспечивает их расселение. Необычным образом развивается латеральная почка у еще одного вида кубополипов – *Malo maxima* (Underwood et al., 2018 [192]). Начальные этапы роста почки типичны для латерального почкования, однако после формирования первичных щупалец, подошва растущего полипа закладывается в виде выпячивания стенки тела материнского полипа. Таким образом, почка оказывается присоединенной к родительскому организму боковой поверхностью. После отделения молодые полипы *M. maxima* способны к ресничной локомоции.

Широкое распространение латеральное почкование получило у представителей класса Scyphozoa (Schariti et al., 2014 [169]). Однако сведения о латеральном почковании, в основном, ограничиваются визуальными наблюдениями в рамках работ по описанию жизненных циклов. Общей чертой латерального почкования Hydrozoa и Scyphozoa, вероятно, можно считать локализацию зачатка почки на границе между чашечкой полипа и его ножкой. Отмечается, что, как и у *Hydra* sp., в образовании почки принимают участие оба эпителиальных слоя, а гастральные полости материнского и дочернего полипов некоторое время остаются соединенными (Gilchrist, 1937 [63]). У полипов *Aurelia aurita* была отмечена пролиферативная активность в области выпячивания латеральной почки (Balcer, Black, 1991 [18]), однако в отличие от гидры, у *A. aurita* количество делящихся ядер в области растущей почки было ниже, чем в прилежащих тканях полипа. Более детальные описания процесса развития латеральной почки у сцифистом, включая данные о клеточных источниках, а также особенностях дифференциации различных органов и тканей в почке в научной литературе отсутствуют.

Помимо латерального почкования у полипов класса Scyphozoa встречается еще несколько специализированных типов бесполого размножения. Один из них – это формирование подоцист, представляющих собой небольшие округлые скопления гомогенной клеточной массы, окруженной сложной оболочкой на основе хитина и структурных белков (Arai, 2008 [9]). Образование подоцист наблюдалось у многих видов Scyphozoa, за исключением представителей подотряда Kolpophorae (Holst et al., 2007 [89]). Процесс развития и морфология подоцист отчасти прослежены на гистологическом и ультраструктурном уровне у видов *Aurelia aurita* (Chapman, 1968 [39]; Chapman, 1970 [36]) и *Nemopilema nomurai* (Ikeda et al., 2011 [93]). Подоцисты образуются из эпидермальных клеток и мигрирующих клеток мезоглеи в области педального диска сцифополипа или в месте прикрепления столона (Chapman, 1970 [36]). При этом клетки утрачивают свою форму и

обогащаются запасными питательными веществами. Подоциста прочно прикрепляется к субстрату, а сформировавший ее полип, как правило, перемещается на новое место неподалеку. Формирование новой особи начинается еще под оболочкой с дифференциации гастродермы и эпидермы, в которой появляются стрекательные клетки. После окончания этого процесса благодаря растворению оболочки протеолитическим секретом эпидермиса и механическому разрыву стенок делящимися клетками происходит эксцистирование подоцисты. При этом до сих пор не ясно, какие факторы индуцируют этот процесс. После эксцистирования клеточная масса быстро растет и дифференцируется, формируя ротовое отверстие и первые четыре щупальца полипа (Ikeda et al., 2011 [93]). Вероятно, возникновение подоцист в эволюции сцифоидных было изначально обусловлено необходимостью переживать неблагоприятные условия или временный пресс хищников. Со временем подоцисты могли включаться в жизненный цикл как одна из стратегий бесполого размножения (Arai, 2008 [9]). Так, у некоторых видов, например у *Nemopilema nomurai* и *Rhopilema nomadica*, именно формирование подоцист стало основным путем увеличения популяции полипов (Lotan, 1992 [117]; Kawahara et al, 2006 [100]).

Еще одним способом бесполого размножения, характерным в большей мере для представителей Scyphozoa, является столониальное почкование. При этом способе почкования новые особи образуются на специальных выростах - столонах, с помощью которых сцифополип может прикрепляться к субстрату или медленно передвигаться (Gilchrist, 1937 [63]). Зачастую образование почек на столонах происходит параллельно процессу латерального почкования. Столониальное почкование слабо изучено, и до сих пор неясно, как именно образуются и развиваются почки при данном способе размножения. Основная часть работ, в которых упоминается столониальное почкование, касается изучения влияния различных экологических факторов на выбор типа почкования и его скорость (Hubot, 2017 [91]; Avian et al., 2021 [15]).

Трудно поддается классификации такой своеобразный тип бесполого размножения квидарий, как отделение пропагул. Как правило, под термином «пропагула» понимают слабо оформленные небольшие участки тканей полипа, которые после прикрепления к субстрату дают начало новым полипоидным особям. Источник тканей для образования пропагулы, а также ее способность к самостоятельному движению сильно варьируют у различных видов, для которых описан этот процесс. Так у *Aurelia aurita* отмечены пропагулы, образующиеся в гастральной полости сцифистомы из гастродермальных клеток и передвигающиеся с помощью ресничек (Vagelli, 2007 [193]). Напротив, у сцифополипов *Sanderia malayensis* пропагулы (обозначенные авторами как «почко-подобные частицы») формируются в виде скопления эпидермальных клеток на границе чашечки и ножки полипа, и к самостоятельной локомоции не способны (Adler, Jarms, 2009 [6]). К пропагулам иногда также относят фрустулы Hydrozoa. Фрустулы представляют собой небольшие отделяющиеся участки тканей колонии, в которых уже имеется разделение клеточной массы на два слоя (Slobodov, Marfenin, 2004 [175]; Gravier-Bonnet, Bourmaud, 2005 [68]). Они могут переноситься

током воды, а при попадании на субстрат некоторое время ползать. У морского анемона *Anthopleura* sp. описано развитие пропагул на мезентериальных нитях (Isomura et al, 2003 [95]). Эти пропагулы способны к ресничной локомоции и даже мышечным сокращениям тела. Как видно из приведенных примеров, термин «пропагула», в общем, не включает строгого описания морфологического типа почки или особенностей ее развития и используется для обозначения любых отделяющихся частей организма. Этот термин трактуется в современной литературе чрезвычайно расплывчато и, по сути, может использоваться лишь для первичных феноменологических описаний. В каждом случае требуется дальнейший анализ строения, происхождения и особенностей развития пропагул, после чего их, вероятно, можно будет классифицировать более точным образом.

Термином «пропагула» иногда обозначали и особый тип почки, характерный для сцифоидных полипов подотряда *Kolporhoreae* (Holst et al, 2007 [89]). В современной литературе для них, как правило, применяется иной термин: «планулоидная» или «планулоподобная» почка. Планулоидные почки описаны у таких видов как *Mastigias papua* (Sugiura, 1963 [181]), *Phyllorhiza punctata* (Rippingale, Kelly, 1995 [159]), *Cotylorhiza tuberculata* (Kikinger, 1992 [106]), *Cephea cephea* (Sugiura, 1966 [182]), *Cassiopea andromeda* (Gohar, 1960 [65]) *Cassiopea xamachana* (Bigelow, 1900 [21]). Планулоподобные почки также были описаны у представителей отряда *Coronata*: *Nausithoe aurea* и *Nausithoe planulophora* (Silveira, Morandini, 1997 [173]; Kawahara et al., 2006 [100]). Однако процесс формирования этих почек не был прослежен, поэтому на данный момент их трудно сопоставить с планулоподобными почками *Kolporhoreae*.

Формирование почки у представителей подотряда *Kolporhoreae* на первых этапах схоже с латеральным почкованием. На границе чашечки и ножки полипа образуется небольшое цилиндрическое выпячивание тканей, в которое вовлекаются и эпидермис, и гастродермис. Тем не менее, развития головного конца, как при типичном латеральном почковании, не происходит. Вместо этого выпячивание приобретает каплевидную форму, покрывается ресничками и затем отделяется от материнского организма. При этом бывший дистальный конец развивавшегося на полипе выпячивания становится функционально передним концом такой планулоподобной почки. После того, как почка находит подходящий субстрат, она прикрепляется передним концом, в то время как на ее заднем конце формируются щупальца и рот (Bigelow, 1900 [21]). Образующиеся почки представляют собой вполне четко оформленный организм со своими особенностями поведения. При этом такие детали их строения как наличие двух эпителиальных слоев ткани и ресничная локомоция напоминают устройство типичной личинки книдарий – планулы, что и дало название такому типу почек.

Наиболее детально исследован процесс почкования у видов семейства *Cassiopeidae* (*Rhizostomeae*, *Kolporhoreae*). У представителей этого семейства реализуется типичный для сцифоидных жизненный цикл с чередованием полипоидной и медузоидной стадий. Медузы кассиопеид необычны: они обитают не в планктоне, а лежат, перевернувшись, на дне, отчего в

англоязычной литературе получили название «upside-down jellyfish». При этом их ротовые лопасти сильно разрастаются, образуя обширную сеть вторичных ртов, с помощью которых медузы облавливают окружающее пространство. И у медуз, и у полипов в мезоглее находятся фотосимбионты – одноклеточные водоросли из рода *Symbiodinium* sp. (Lampert, 2016 [111]). В последние годы представители этого семейства становятся популярными объектами для экологических, нейробиологических и молекулярно-генетических исследований, которые, в том числе, касаются и особенностей их почкования (Nath et al., 2017 [139]; Ohdera et al., 2018 [143]; Ohdera et al., 2019 [144]). Такой интерес к кассиопеидам, отчасти обусловлен тем, что виды данного семейства осуществляют инвазию в различных морях, вдали от типичных местообитаний, и могут оказывать влияние на местные экосистемы (Holland et al., 2004 [87]; Thé et al., 2021 [188]). Вероятно, существенный вклад в обеспечение расселения вносят именно планулоподобные почки.

Первые подробные визуальные и гистологические наблюдения процесса развития планулоподобной почки у полипов Cassiopeidae были сделаны на рубеже XIX и XX веков (Bigelow, 1900 [21]). В этой работе было продемонстрировано наличие у почки двух эпителиальных слоев и гастральной полости, наследуемой от материнского полипа. В конце XX века были проведены исследования развития планулоподобных почек у двух видов: с помощью сканирующего электронного микроскопа у *C. xamachana* (Van Lieshout, Martin, 1992 [194]) и трансмиссионной микроскопии у *C. andromeda* (Hofmann, Honegger, 1990 [82]). В этих работах было прослежено последовательное развитие почки от момента ее закладки на материнском полипе до формирования нового полипа. Кроме того, было показано наличие стрекательных клеток в эпидермисе по всему телу почки, и железистых клеток на функционально переднем конце планулоподобной почки. Также было описано наличие отдельных нейронов, нервных отростков и четырех групп мышечных волокон у свободноплавающей почки. Тем не менее, общая организация нервной и мышечной систем и этапы их развития оставались неясными. Также была предпринята попытка проследить клеточные источники тканей почки. Была показана миграция клеток эпидермиса материнского полипа в район растущего выпячивания на ранних этапах роста почки, однако зон активной пролиферации обнаружено не было (Hofmann, Gottlieb, 1991 [84]).

Терминология, используемая для обозначения особенного типа почкования представителей *Colporhogaе*, также требует уточнения. Как видно из представленных в обзоре примеров, определения «почкования» и «почки» довольно расплывчаты. Тем не менее, важным признаком «почки» является сохраняющаяся в течение обычно непродолжительного промежутка времени морфологическая и физиологическая связь с материнским организмом. В случае *Colporhogaе*, и, в частности, более изученных *Cassiopeidae*, эта связь сохраняется лишь в короткий период формирования почки. После отделения от материнского полипа такая «почка» представляет собой самостоятельный организм с собственными поведенческими реакциями. Эти особенности, по-видимому, и обусловили обозначение некоторыми исследователями планулоидных почек

кассиопеид термином «пропагулы», что позволило подчеркнуть их самостоятельность и способность к самостоятельному передвижению. Однако, как было упомянуто выше, термин «пропагула» трактуется очень широко, поэтому в данной работе предлагается обозначать планулоподобную почку *Colpophorae* термином «планулоид». Это, с одной стороны, обозначает самостоятельность такой «почки» и утрату связи с материнским организмом, а с другой стороны указывает на её внешнее сходство с личинкой-планулой.

Таким образом, основные данные о бесполом размножении полипоидных стадий книдарий весьма разрознены. Они представляют собой либо информацию о модельных объектах из классов Hydrozoa и Anthozoa, либо фрагментарные исследования различных частных, по большей части, экологических аспектов бесполого размножения.

Материалы и методы

Культура сцифополипов *Cassiopea xamachana* Bigelow, 1982 [20] (Cnidaria, Rhizostomeae, Cassiopeidae) была предоставлена в 2015 году Кафедрой зоологии беспозвоночных (Биологический факультет, Московский Государственный Университет им. Ломоносова). Полипы содержались в пластиковых контейнерах размером 25x15x8 см в искусственной морской воде с соленостью около 28-30 ‰ при комнатной температуре. Культуру регулярно кормили личинками-науплиусами *Artemia* sp. В лабораторных условиях формирование и отделение планулоидов происходило постоянно и не требовало какой-либо специальной индукции. Для проведения экспериментальных процедур непосредственно из культуральных контейнеров отбирали взрослые полипы без визуальных признаков начала почкования, полипы с формирующимися планулоидами на разных стадиях, а также свободноплавающие планулоиды. Часть планулоидов отсаживали в чашки Петри с искусственной морской водой, чтобы проследить процесс оседания и метаморфоза. Прижизненные изображения были получены с помощью стереомикроскопа Leica 250M.

Для иммуногистохимического мечения все отобранные стадии были анестезированы с помощью 7,5 % раствора $MgCl_2$ на дистиллированной воде, который постепенно добавлялся в небольшие чашки с образцом до исчезновения заметной реакции (сокращение щупалец и стебелька) на раздражение. После анестезии все образцы фиксировались с помощью 4% охлажденного раствора параформальдегида (ПФА), приготовленного на морской воде, либо 0,1 М фосфатно-солевом буфере (PBS). Существенной разницы в получаемых результатах между двумя этими способами приготовления фиксатора замечено не было. Фиксация проводилась при комнатной температуре в течение 1 часа, или 3-4 часов при температуре +4°C. После фиксации образцы отмывали в растворе PBT (PBS + 5% Tween-20) 3-4 раза по 15 минут. Затем образцы инкубировали сначала в течение часа в 0,4 М растворе глицина в PBS, а после – в 1% растворе бычьего сывороточного альбумина на том же буфере. По окончании инкубации образцы вновь отмывали в PBT 3 раза по 10 минут. Все отмывки и инкубации проводили при комнатной температуре.

После отмывки образцы инкубировали с первичными антителами к FMRFамиду (20091, Immunostar, produced in rabbit, разведение 1:1000 в PBS) в течение 2 суток при +4°C. После инкубации образцы отмывали в растворе PBS 3 раза по полчаса при комнатной температуре. Затем образцы инкубировали с вторичными антителами Alexa Fluor 488 goat anti rabbit (A-11034, Invitrogen) или CF633 donkey anti rabbit (SAB4600132, Sigma) в разведении 1:1000 – 1:800 в PBS, а также с TRITC-конъюгированным фаллоидином (Sigma, P1951; 1 мкг/мл) в PBT в течение суток при +4°C. После инкубации образцы вновь отмывали в растворе PBS 3 раза по 15 минут. Подготовленные таким образом объекты монтировали на предметных стеклах и заключали под покровное стекло с использованием среды для заключения на основе поливинилового спирта

Mowiol 4-88. Изображения флуоресцентно-меченых препаратов были сделаны с помощью лазерного конфокального сканирующего микроскопа Leica TCS SP5.

Для проведения эксперимента с включением 5-этинил-2'-дезоксинуридина (EdU) отбирали почкующиеся полипы, планулоиды на разных стадиях развития и молодые полипы после метаморфоза. Все стадии инкубировали при комнатной температуре в растворе EdU в морской воде концентрацией 50 мкМоль. Для определения оптимального времени инкубации была проведена серия предварительных экспериментов, в результате которой был выбран промежуток времени в 1-1,5 часа. Меньшее время инкубации было недостаточно для развития устойчивого сигнала, большее приводило к развитию чрезмерного фонового шума. После инкубации все образцы отмывали чистой морской водой 3 раза по 10 минут и фиксировали описанным для методики иммуногистохимического окрашивания способом. После фиксации образцы отмывали в растворе ПВТ 3 раза по 15 минут. Визуализацию метки проводили посредством конъюгации встроившегося в ДНК EdU с азидом красителя Sulfo-Cyanine3 (A13330, Lumiprobe), Для этого образцы инкубировали в течение часа при комнатной температуре в 2 микромолярном водном растворе красителя с 1 Моль Трис-НСl (рН 8-8,5), 100 мМоль CuSO_4 , 500 мМоль аскорбиновой кислоты. Инкубацию проводили при комнатной температуре в темноте. После окрашивания образцы отмывали 3 раза по 15 минут в ПВТ. Во время последней отмывки в ПВТ также добавлялся флуоресцентный краситель DAPI для дополнительного тотального окрашивания ядер. Подготовленные таким образом образцы помещали на препараты с помощью среды для заключения Mowiol 4-88. Визуализацию препаратов и получение серий конфокальных изображений проводили с использованием лазерного конфокального сканирующего микроскопа Leica TCS SP5.

Дальнейшая обработка полученных изображений, включая измерения отдельных структур, проводилась с помощью программы Fiji. Подсчет меченых ядер проводился на четырех образцах для каждой стадии. Для подсчета использовался стек из снимков, полученных с помощью конфокального микроскопа в сагиттальной плоскости образца, суммарной толщиной 10-15 мкм в зависимости от величины объекта (более тонкие для планулоидов и молодых полипов, более толстые для взрослых полипов). Данная область стека была выбрана, поскольку такая толщина позволяла захватить в поле зрения только два верхних слоя тканей и, таким образом, избежать ошибочного подсчета метки по всей толщине животного. В случае полипов – животное было поделено на области площадью 100x100 мкм, в которых подсчитывались меченые ядра, в случае планулоидов – меченые ядра были посчитаны в целом животном, и затем их количество пересчитано для областей 100x100 мкм. Затем было найдено среднее значение для количества меченых ядер в этих областях. Для каждой стадии указан диапазон крайних значений с учетом стандартного отклонения. Все расчеты проводились в программе Microsoft Excel с помощью формул расчета среднего и стандартного отклонения величин.

Полипы и планулоиды *C. xamachana* несут в своих тканях многочисленные фотосимбионты, которые в образцах были также визуализированы благодаря автофлуоресценции хлорофилла в их клетках, с использованием стандартных настроек для красителя Alexa Fluor 633, поскольку длина волны испускания хлорофилла и этого красителя схожи. Обработка полученных изображений, включая измерения отдельных структур, проводилась с помощью программы Fiji и Adobe Photoshop. Схемы были выполнены в программе Inkscape 0.92.

Результаты

1. Визуальные наблюдения за развитием планулоида *Cassiopea xamachana*

Развитие планулоида *C. xamachana* начинается с формирования цилиндрического выпячивания на границе ножки и чашечки полипа (Рис. 1 А, Б). В образовании данного выпячивания принимают участие оба эпителиальных слоя стенки тела. Благодаря полупрозрачности покровов тела хорошо видно, что гастральная полость материнского организма, часто несущая оранжевые или бурые непереваренные остатки пищи, заходит в растущую почку. Иногда можно также заметить зеленовато-желтые клетки фотосимбионтов *Symbiodinium* sp., как в чашечке, так и в районе образующегося выпячивания. При последующем росте выпячивание сначала удлиняется, затем расширяется у основания и заостряется к дистальному концу, образуя каплевидную или лимоноподобную форму будущего планулоида (Рис. 1В). К этому моменту поверхность почки покрывается ресничками. Наконец, гастральная полость полностью обособляется, и сформировавшийся планулоид оказывается соединенным с материнским организмом только небольшим участком эпидермальных тканей. Вскоре этот участок разрушается, и планулоид отделяется. Вероятно, этому также способствует активное биение ресничек. От момента появления первых признаков формирования почки до полного отделения планулоида от материнского организма проходит до двух дней.

После отделения от материнского организма планулоид перемещается в толще воды с помощью ресничек и способен незначительно изменять форму своего тела от сглаженно-веретеновидной до слегка округлой (Рис. 1Г). При этом его дистальный заостренный конец становится функционально передним. Продолжительность свободного плавания может варьировать от одного до трех дней. В этот период у планулоида уже начинают формироваться зачатки гипостома и щупалец на функционально заднем конце (Рис. 1Д). Оседание и прикрепление к субстрату происходит с помощью переднего конца, который затем превращается в подошву и ножку полипа, в то время как средняя часть тела планулоида преобразуется в чашечку. На бывшем заднем конце тела образуется ротовое отверстие, оформляется гипостом и начинается активный рост щупалец. Таким образом, происходит метаморфоз и образование новой особи. Новый полип при регулярном питании быстро растет и в течение недели способен приступить к почкованию.

Как правило, полип формирует только одну почку, но иногда почкование у крупных полипов начинается с двух или даже трех сторон чашечки одновременно (Рис. 1Е). Кроме того, нередко образуется цепочка из планулоидов, которые остаются соединенными друг с другом небольшими эпителиальными перетяжками и развиваются последовательно. Обычно количество планулоидов в такой цепочке не превышает двух-трех, однако был отмечен случай, когда в составе цепочки находилось шесть планулоидов (Рис. 1Е). Изредка отмечаются также аномалии в развитии, при

которых у планулоида нарушается типичная каплевидная форма тела или образуется два дистальных конца. Такие планулоиды способны к самостоятельному плаванию, однако их дальнейшее развитие проследить не удалось.

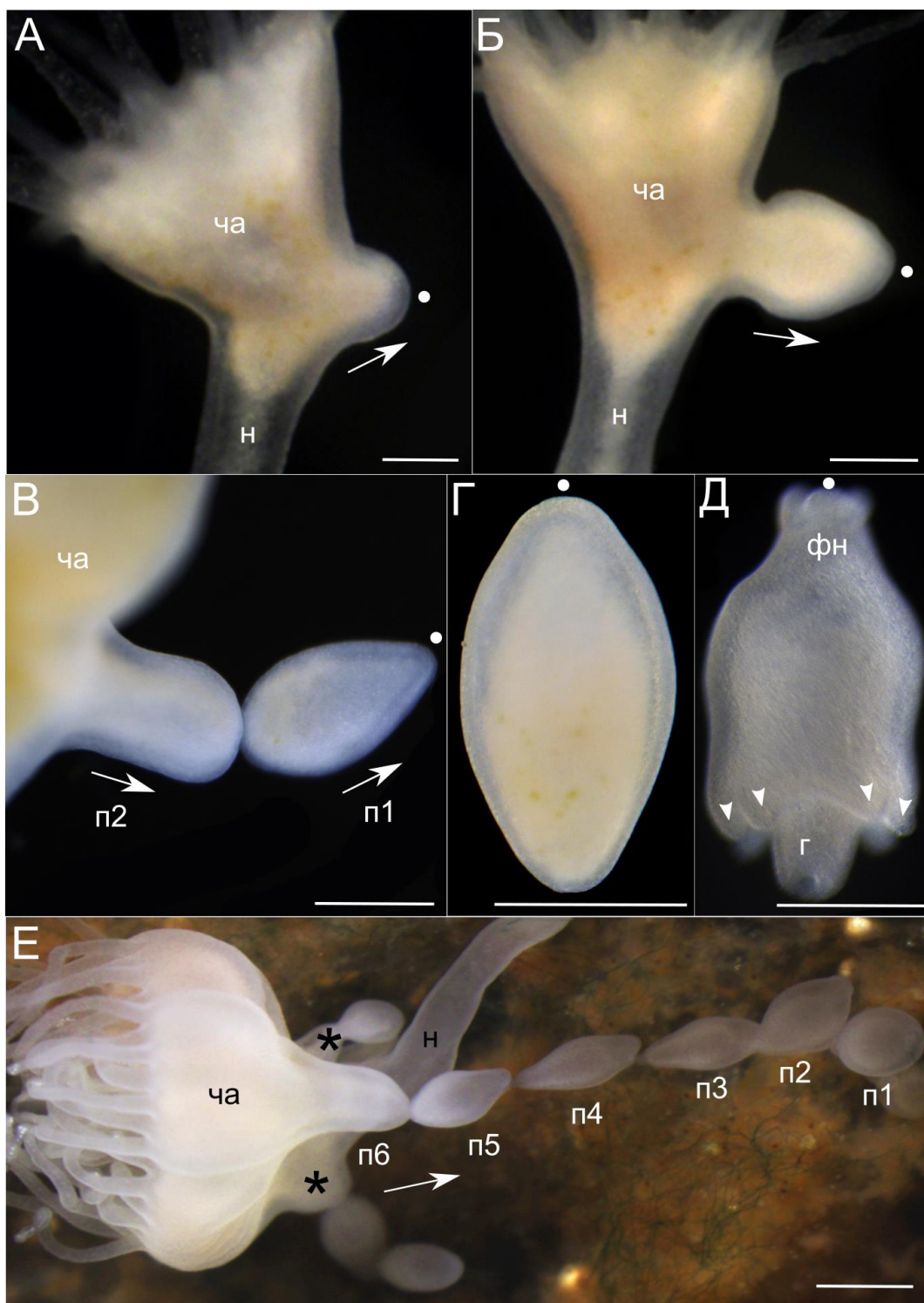


Рисунок 1. Формирование и развитие планулоида *C. xamachana*.

А, Б – появление выпячивания и рост почки в основании чашечки полипа, В – отделяющийся планулоид и образование следующей почки в цепи, Г – отделившийся планулоид, Д – поздний планулоид перед прикреплением, Е – полип с аномалиями в процессе почкования (несколько источников почкования, большое количество планулоидов в цепи). Направление роста почки показано белыми стрелками, белой точкой обозначен передний конец планулоида, черными звездочками указаны места одновременного почкования. Обозначения: г – гипостом, н – ножка полипа, п – почка, фн – формирующаяся ножка, ча – чашечка полипа. Длина масштабного штриха – 1 мм.

2. Мускулатура и нервная система взрослого полипа *Cassiopea xamachana*

С помощью окрашивания TRITC-конъюгированным фаллоидином у полипов *C. xamachana* было выявлено несколько групп мышечных элементов. Наиболее заметны четыре мощные ленты мышечных отростков, залегающие в области септ полипа (Рис. 2А, Рис. 3А, Б). Эти септальные мышцы начинаются у подошвы, проходят по всей ножке и чашечке и достигают орального диска полипа. У основания щупалец мускульные ленты веерообразно разветвляются и иногда переплетаются с мышцами щупалец (Рис. 2Б, В). На всем протяжении в каждой септальной мышце можно хорошо различить составляющие ее крупные мышечные отростки, однако место начала и окончания каждого отростка установить невозможно. Ширина септальной мышечной ленты практически не изменяется на всем ее протяжении, и составляет в среднем 25-30 мкм. В ножке полипа помимо септальных мышц прослеживаются очень тонкие длинные продольные мышечные волокна, располагающиеся чуть ближе к поверхности, по-видимому, сразу под слоем эпидермальных клеток (Рис. 2Г). Эти продольные мышечные отростки равномерно распределяются по всей площади ножки, образуя неплотный мышечный слой. Несколько глубже этого слоя находятся короткие кольцевые мышечные волокна (Рис. 2Д). Кольцевые волокна расположены рыхло и зачастую плохо прослеживаются. При этом в чашечке не было выявлено ни продольных, ни кольцевых одиночных мышечных отростков.

В щупальцах находятся короткие мышечные волокна (Рис. 3А). Длина каждого волокна в среднем составляет 15-19 мкм, ширина – 1,7-2,2 мкм. По всей длине щупальца регулярно чередуются участки с большим количеством волокон, и участки, где их значительно меньше. Скопления мускульных отростков соответствуют расположению крупных столбчатых гастродермальных клеток щупальца, а разреженные участки – границам между этими клетками. Кольцевых мышечных элементов в щупальце выявлено не было. С помощью окрашивания TRITC-конъюгированным фаллоидином были выявлены детали актинового цитоскелета столбчатых гастродермальных клеток щупальца (Рис. 3В). Актиновые филаменты окружают крупное ядро, располагающееся в центре клетки. От этой области к границам клетки расходятся отдельные отростки, образуя рыхлую сеть.

В оральном диске локализованы тонкие короткие мышечные волокна, расходящиеся радиально от основания гипостома к основаниям щупалец (Рис. 5А). Эти волокна не образуют скоплений, а распределены равномерно по всей площади орального диска, образуя слой радиальной мускулатуры. На краю орального диска у оснований щупалец залегают кольцевые мышечные волокна. Они образуют слабовыраженную циркуморальную кольцевую «мышцу» полипа. Ширина этой «мышцы» в среднем составляет 32-36 мкм, но в месте выхода к основаниям щупалец септальных мышечных лент ширина кольцевой «мышцы» увеличивается до 50-60 мкм. При этом

плотность расположения мышечных волокон в кольцевой мышце сравнима с таковой в щупальцах или в радиальной мускулатуре орального диска, и никогда не бывает настолько же высокой как в септальных мышцах. В гипостоме локализуются тонкие продольные мышечные волокна длиной в среднем 34-37 мкм, но плотность их расположения по сравнению с плотностью расположения мышечных элементов щупалец ниже (Рис. 5Г). Помимо продольных мышечных волокон в гипостоме окрашиваются очень короткие поперечные мышечные волокна. Они расположены очень редко, не образуют каких-либо скоплений и плохо различимы на фоне продольной мускулатуры.

При окрашивании антителами к FMRFамиду в полипах *C. xamachana* было выявлено три группы иммунореактивных элементов. Первая группа – это длинные FMRFамид-положительные неветвящиеся волокна с хорошо выраженными везикулами, сопровождающие септальные мышцы на всем их протяжении от основания ножки до орального диска (Рис. 4А-Г). Эти волокна плотно сгруппированы, так, что иногда невозможно проследить каждое отдельное волокно. В стенке чашечки полипа также располагаются одиночные продольные FMRFамид-положительные элементы (Рис. 4Д, Е). Они лежат более рыхло, не образуют заметных скоплений, никогда не ветвятся. Вторая группа FMRFамид-положительных иммунореактивных элементов располагается в щупальцах (Рис. 3Б). Это короткие отростки, хорошо заметные между отдельными мышечными волокнами. Некоторые из этих отростков ветвятся. Иммунореактивные элементы третьей группы, образуют так называемое нервное кольцо полипа. Они располагаются циркумгипостомально у оснований щупалец непосредственно над кольцевой мускулатурой орального диска (Рис. 5Б, В). Отростки иммунореактивных элементов, сопровождающие септальные мышцы, а также локализованные в щупальцах, входят в нервное кольцо, но в самом кольце их локализацию проследить не удастся. Кроме того, к нервному кольцу подходят отростки крупных иммунореактивных элементов, расположенных в оральном диске. Они равномерно располагаются в оральном диске от основания гипостома до нервного кольца, часто образуют ветвления и хорошо заметные везикулы. В гипостоме также обнаруживаются небольшие ветвящиеся иммунореактивные элементы, не образующие заметных скоплений.

Ни мышечные, ни нервные элементы не удалось проследить в области подошвы полипа, так это место покрыто перисарком. Хитин, входящий в состав перисарка сцифоидных полипов, обладает сильной автофлуоресценцией, что делает невозможным визуализацию необходимого сигнала.

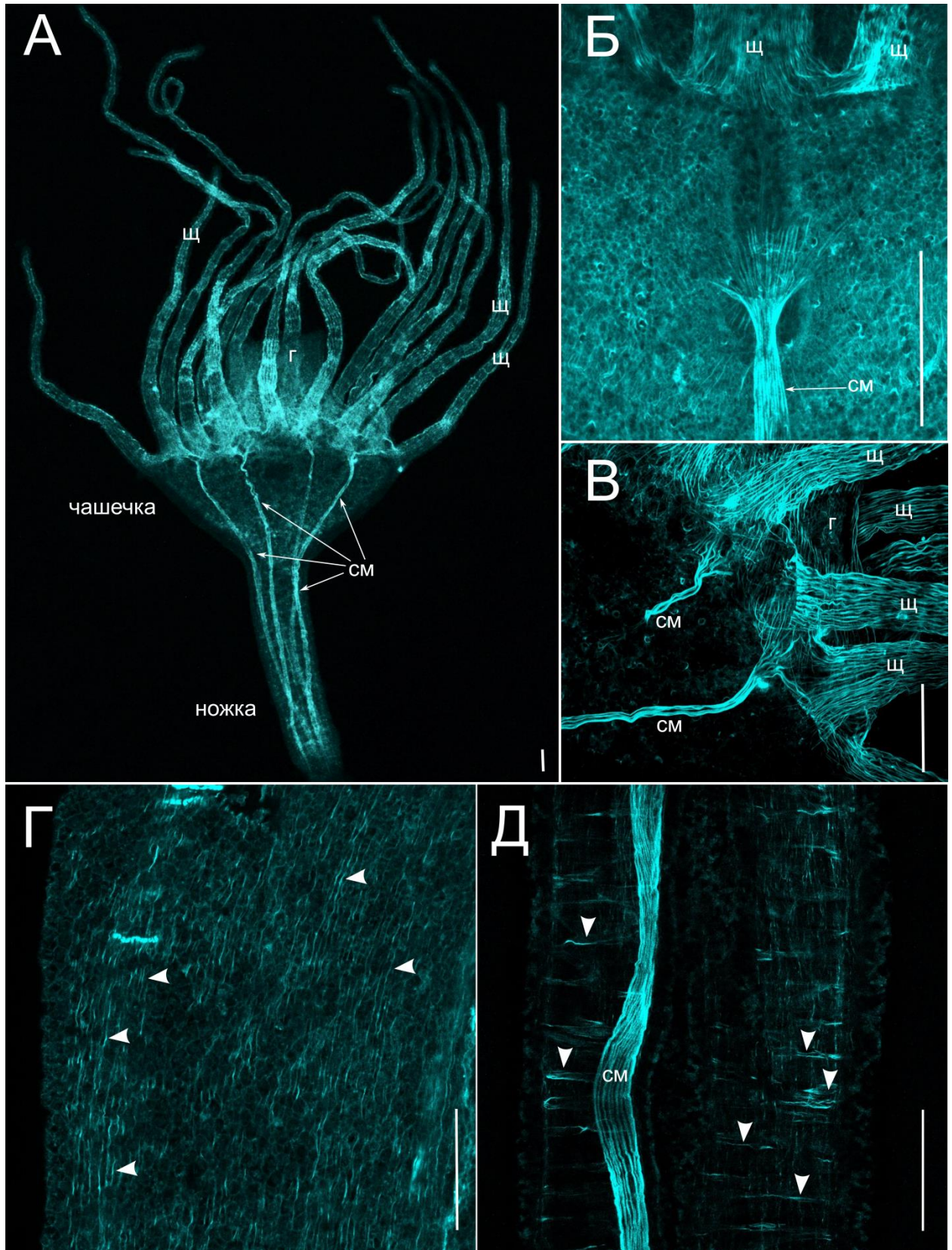


Рисунок 2. Взрослый полип *C. xamachana*, окрашивание мускулатуры TRITC-конъюгированным фаллоидином.

А – общий вид мускулатуры полипа, Б, В – окончание септальных мышц у основания щупалец в оральном диске полипа, Г – продольные мышечные волокна в ножке полипа, Д – кольцевые мышечные волокна в ножке полипа. Наконечниками стрелок указаны отдельные мышечные волокна. Обозначения: г – гипостом, см – септальные мышцы, щ – щупальце. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

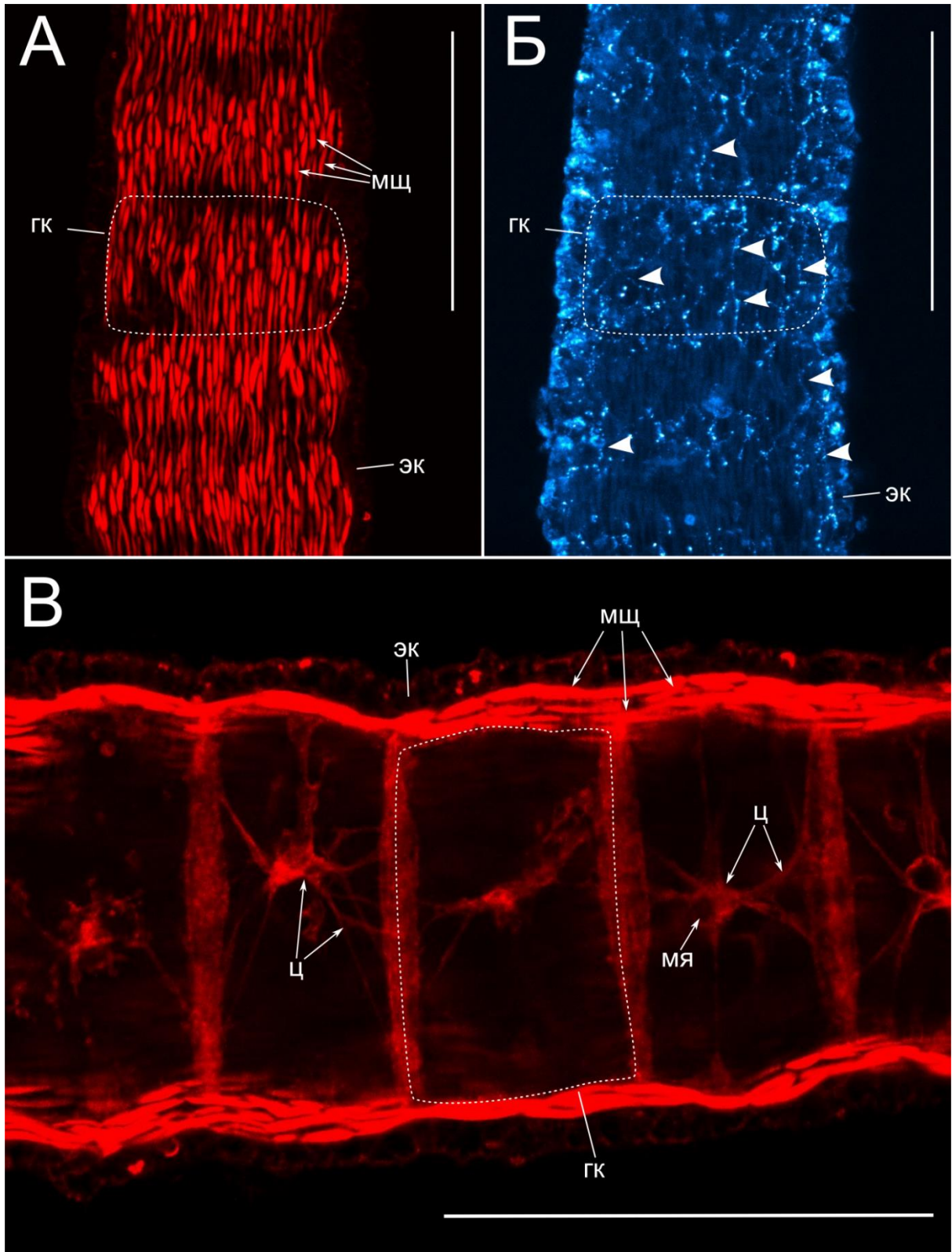


Рисунок 3. Мышечные и нервные элементы в щупальце полипа *C. xamachana*, окрашивание антителами к FMRFамиду (синий) и TRITC-конъюгированным фаллоидином (красный).

А – мышечные элементы щупальца, Б – FMRFамид-иммунореактивные элементы щупальца, В – гастродермальные клетки щупальца. Наконечники стрелок указывают на отдельные иммунореактивные элементы, пунктирной линией обозначена граница одной из гастродермальных клеток, гк – столбчатая гастродермальная клетка, мц – мышечные отростки в щупальце, мя – место расположения клеточного ядра, ц – элементы цитоскелета гастродермальной клетки, эк – эпидермальные клетки. Длина масштабного штриха – 50 мкм.

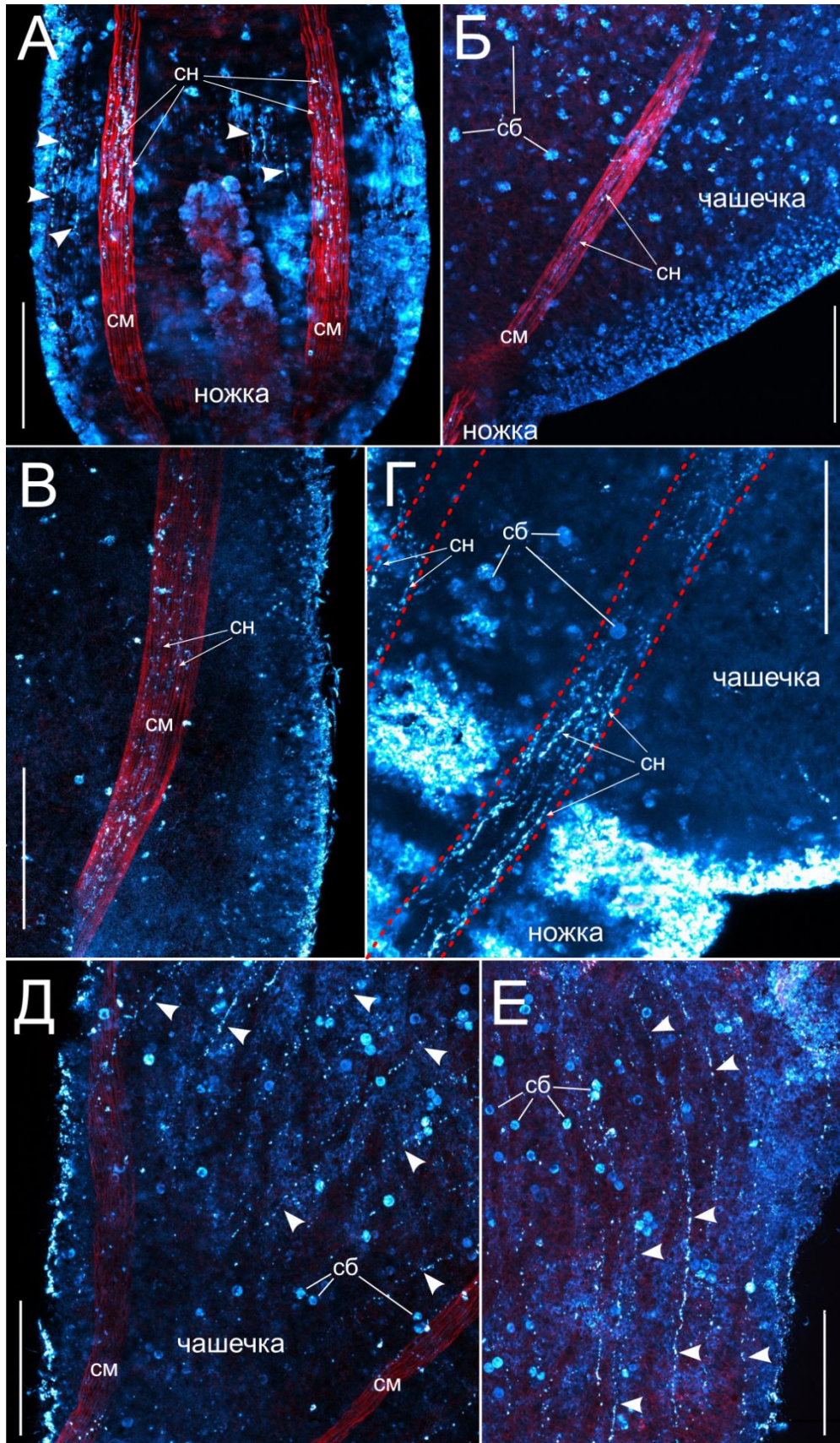


Рисунок 4. Взрослый полип *C. xamachana*, окрашивание антителами к FMRFамиду (синий) и TRITC-конъюгированным фаллоидином (красный).

А – ножка полипа, Б, В, Д, Е – участки чашечки полипа, Г – место перехода ножки в чашечку полипа. Наконечники стрелок указывают на отдельные иммунореактивные отростки, пунктирной линией обозначены границы септальной мышцы. Обозначения: сб – фотосимбионты, см – септальные мышцы, сн – септальные нервные элементы. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

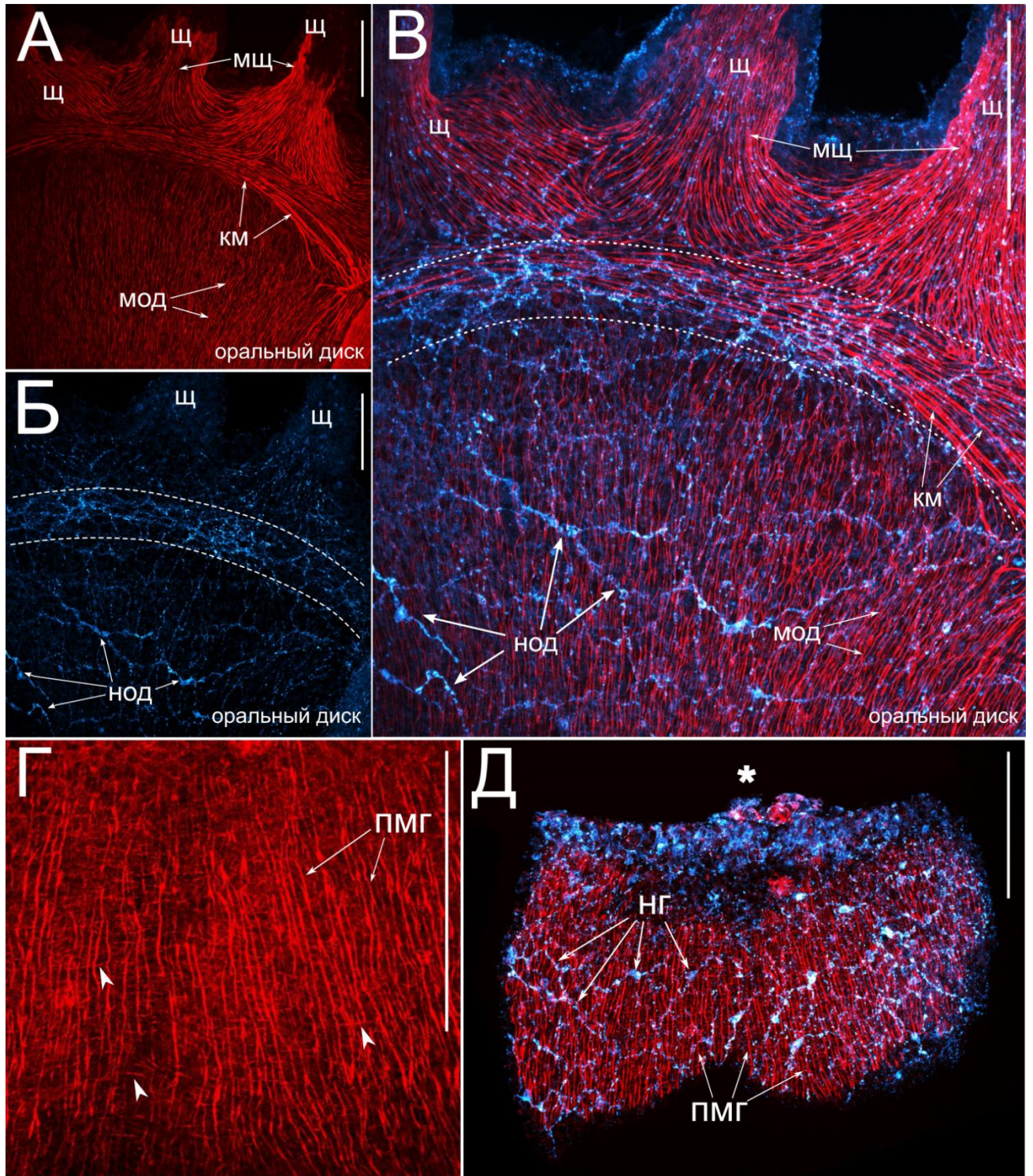


Рисунок 5. Фрагменты тела взрослого полипа *C. xamachana*, окрашивание антителами к FMRFамиду (синий) и TRITC-конъюгированным фаллоидином (красный).

А – мускулатура орального диска полипа, Б – нервные элементы орального диска полипа, В – совмещенное изображение мускулатуры и нервной системы орального диска полипа, Г, Д – гипостом полипа. Пунктирной линией обозначена граница нервного кольца, астериск указывает местонахождение ротового отверстия гипостома, наконечники стрелок указывают на отдельные поперечные мышечные волокна в гипостоме. Обозначения: км – кольцевая мускулатура орального диска, пмг – продольные мышечные элементы гипостома, мод – мышечные элементы орального диска, нг – нервные элементы гипостома, нод – нервные элементы орального диска, щ – щупальце. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

3. Развитие мускулатуры и нервной системы планулоида *Cassiopea xamachana*

Начальный этап формирования мускулатуры планулоида сопровождается частичной реорганизацией мускулатуры материнского полипа. На стадии цилиндрического выпячивания почки наблюдается ответвление части мускульных волокон от ближайшей септальной мышцы. Эти волокна достигают основания формирующейся почки (Рис. 6А). При этом ответвление от септальной мышцы может происходить одновременно как со стороны, ближней к гипостому, так и со стороны ножки. Непосредственно у места соединения растущей почки со стенкой тела материнского организма мышечные элементы полипа образуют рыхлую сеть (Рис. 6Б). Во время дальнейшего роста выпячивания некоторые одиночные мышечные волокна полипа проникают в образующуюся почку и могут доходить до ее дистального конца. Тем не менее, большинство мышечных элементов оканчивается у середины выпячивания. В сформированном и готовом к отделению планулоиде все еще наблюдаются эти отдельные разнонаправленные мускульные волокна (Рис. 6В), однако в только что отделившихся планулоидах мышечные элементы не обнаруживаются (Рис. 6Г).

Отделившийся от материнского полипа планулоид приступает к формированию собственной мышечной системы. Ближе к его переднему концу появляются четыре группы продольных мышечных волокон (Рис. 7А). Эти волокна тянутся до середины тела планулоида. В некоторых планулоидах они образуют ответвления U-образной формы, изгиб которых может быть обращен как к переднему, так и к заднему концу. Эти ответвления обычно оканчиваются на середине расстояния между двумя соседними группами мышечных волокон, но в некоторых случаях могут достигать соседней группы. На заднем конце планулоида обнаруживаются короткие разрозненные мышечные отростки, как правило, поперечно-направленные (Рис. 6Б).

По мере дальнейшего роста передний конец планулоида немного заостряется, отчего приобретает форму сглаженного треугольника. В это время мускульные отростки в группах концентрируются, формируя плотные мышечные ленты, и почти достигают переднего конца тела (Рис. 7В). Одновременно с этим начинают появляться короткие мышечные элементы в образующихся зачатках гипостома и щупалец (Рис. 7Г). После прикрепления планулоида к субстрату четыре мышечные ленты достигают оснований формирующихся щупалец (Рис. 7Д). В это же время становятся более заметны короткие мускульные отростки в гипостоме и растущих щупальцах, их количество увеличивается. Спустя 1–2 дня после прикрепления мускулатура новой особи, в целом, соответствует по строению мускулатуре взрослого полипа (Рис. 7Е).

Во время формирования планулоида FMRFамид-положительные иммунореактивные структуры не обнаруживаются (Рис. 8А). Вблизи места образования цилиндрического выпячивания почки хорошо прослеживаются отдельные иммунореактивные элементы, сопровождающие

септальную мышцу полипа, которая к этому моменту уже образует ответвления мышечных волокон в сторону растущей почки. Также заметны и одиночные FMRФамид-положительные волокна в чашечке. Однако, в отличие от мышечных элементов, ни септальные иммунореактивные элементы, ни эти одиночные волокна чашечки никогда не формируют ответвлений по направлению к растущей почке.

В отделившихся планулоидах FMRФамид-положительные элементы выражены слабо. Только единичные продольные иммунореактивные волокна выявляются в средней части тела (Рис. 8В). При этом их расположение не соответствует локализации развивающейся мускулатуры. Как во время формирования почки на материнском организме, так и в период свободного плавания планулоида, на переднем конце обнаруживается группа FMRФамид-положительных клеток (Рис. 8Б). Они имеют форму очень удлиненного треугольника, ориентированного своим основанием кнаружи. У этих клеток никогда не обнаруживается отростков или связей с иммунореактивными элементами в теле почки. Проследить развитие данных иммунореактивных элементов при дальнейшем метаморфозе планулоида не удастся. Распознавание FMRФамид-положительных структур сильно затрудняется неспецифическим окрашиванием поверхности планулоида, на фоне которого невозможно идентифицировать отдельные детали строения.

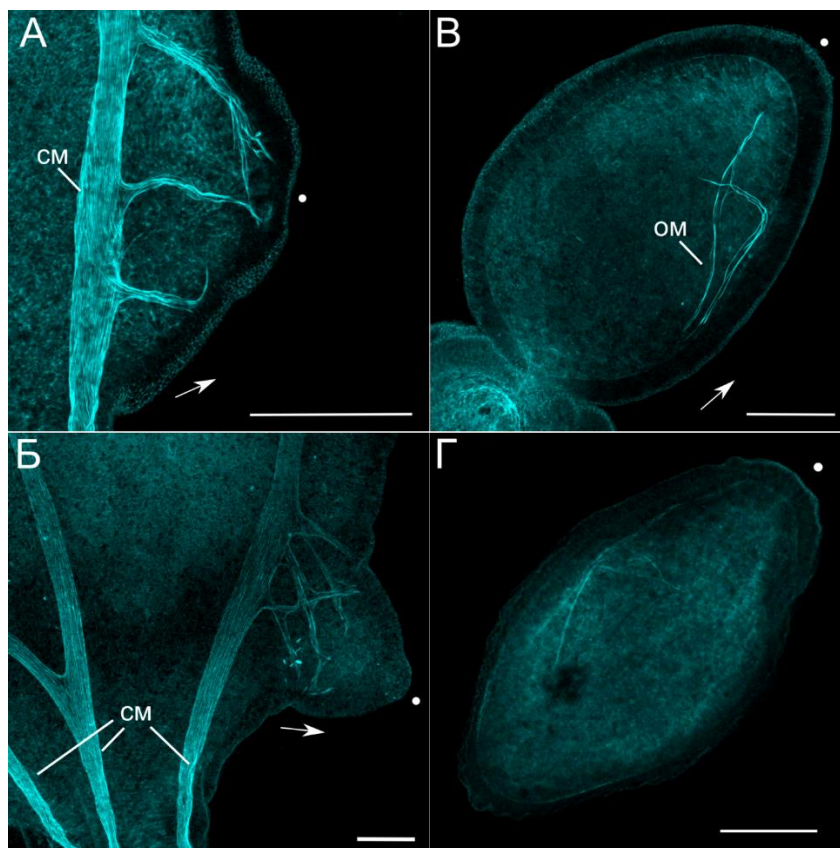


Рисунок 6. Рост почки *C. xamachana*, окрашивание TRITC-конъюгированным фаллоидином.

А, Б – формирование почки, В – планулоид, готовый к отделению, Г – только что отделившийся планулоид. Стрелки указывают направление роста почки, белой точкой обозначен передний конец почки. Обозначения: см – септальные мышцы, ом – остаточные мышечные отростки. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

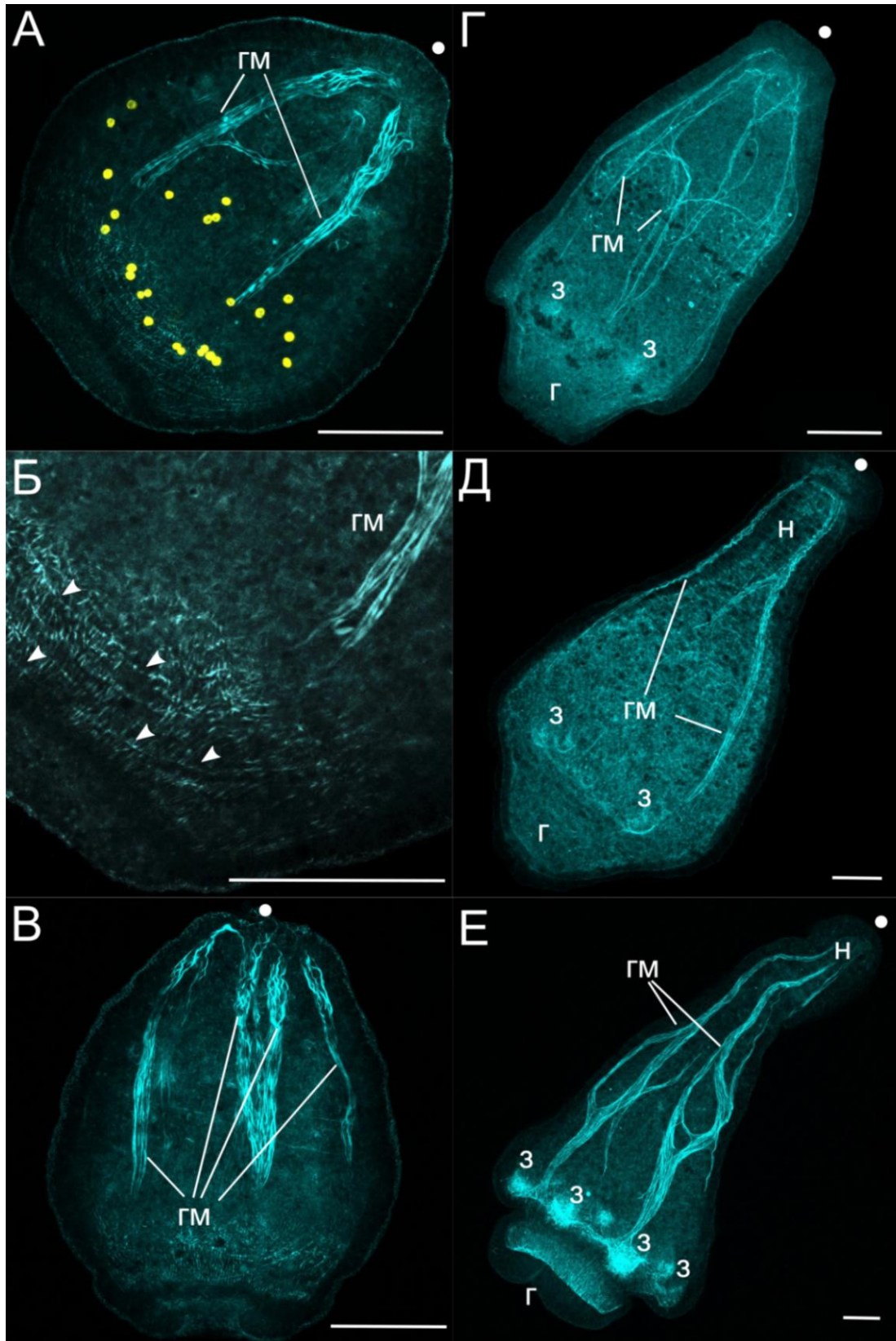


Рисунок 7. Развитие и метаморфоз планулоида *C. xamachana*, окрасивание мускулатуры TRITC-конъюгированным фаллоидином.

А – планулоид спустя день после отделения с формирующимися группами мышц и фотосимбионтами (желтый), Б – задний конец планулоида, наконечниками стрелок указаны короткие поперечные мышечные отростки, В – планулоид на второй день после отделения, Г – планулоид готовый к оседанию, Д – планулоид, спустя несколько часов после оседания, Е – молодой полип, начинающий формировать щупалеца. Белой точкой обозначен передний конец планулоида. Обозначения: г – гипостом, гм – группы мышц планулоида, з – зачатки щупалец, н – ножка. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

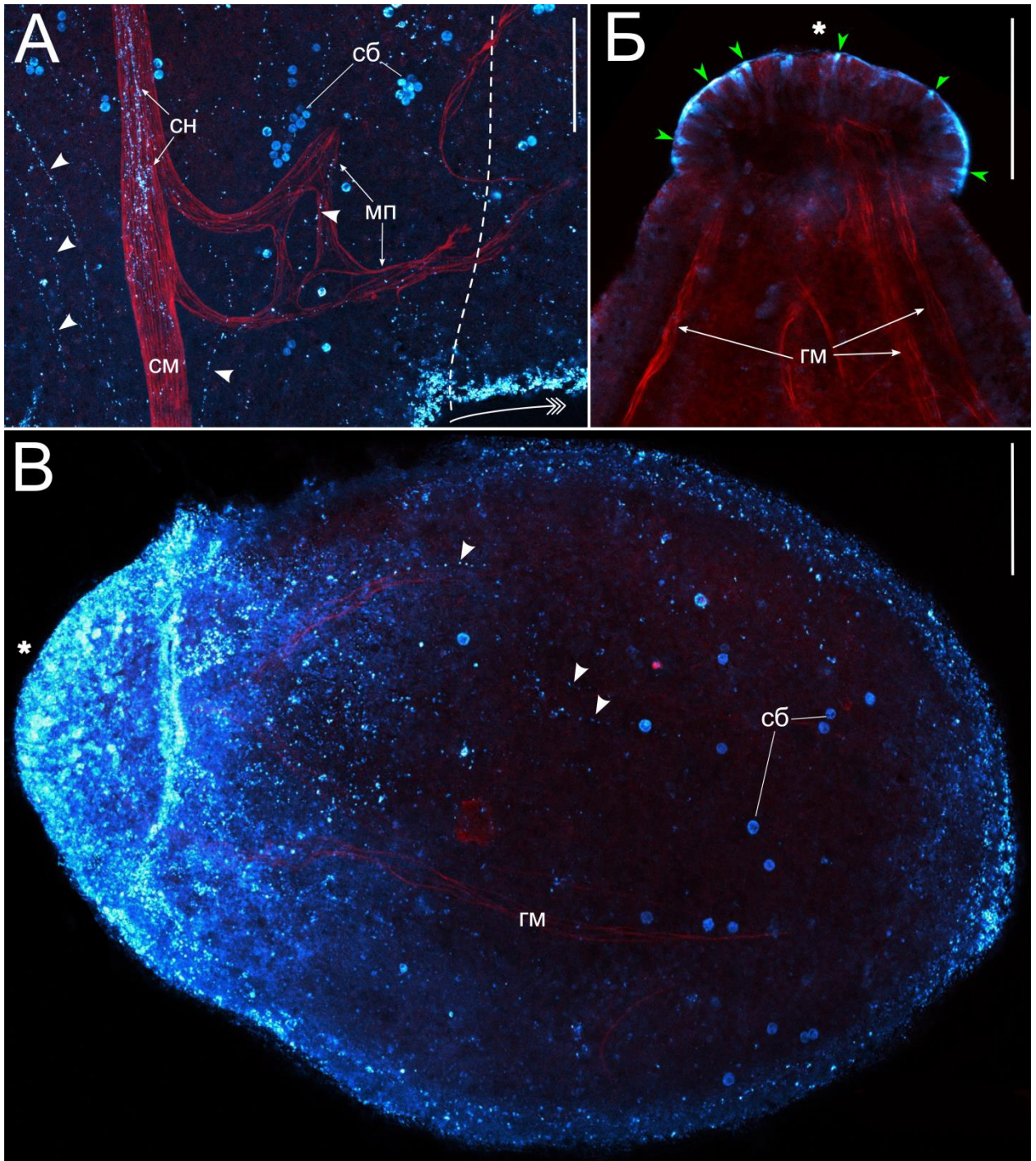


Рисунок 8. Развитие нервных элементов планулоида *C. xamachana*, мечение нервных элементов антителами к FMRFамиду (синий) и мускулатуры TRITC-конъюгированным фаллоидином (красный).

А – участок чашечки возле основания формирующейся почки, длинной стрелкой указано направление роста почки, Б – передний конец планулоида, зелеными стрелками указаны FMRFамид-положительные клетки, В – планулоид, спустя день после отделения. Белой точкой обозначен передний конец планулоида, наконечники стрелок указывают на отдельные FMRFамид-положительные отростки, пунктирной линией обозначена приблизительная граница основания растущего планулоида. Обозначения: гм – группы мышц планулоида, мп – мышцы, проникающие в почку, сб – симбионты, сн – септальные нервные отростки, см – септальная мышца. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

4. Включение метки EdU во время роста почки, развития и трансформации планулоида *Cassiopea xamachana*

С помощью экспериментов по включению метки EdU были выявлены зоны активного синтеза ДНК на различных стадиях роста почки и развития планулоида *C. xamachana*. У полипов с растущей почкой наблюдается две зоны включения метки (Рис. 9А). Первая из них находится в чашечке и занимает пространство от ножки до оснований щупалец. Меченые ядра в ней распределены часто и равномерно, их количество варьирует от 45 до 65 на 100 мкм². В щупальцах и ножке полипа возле чашечки встречаются лишь редкие одиночные ядра с меткой. Вторая зона располагается в выпячивании почки от ее основания до дистального конца, за исключением небольшого участка на самом конце выпячивания (Рис. 9Б). Сигнал метки в этой зоне настолько интенсивный, что отдельные ядра могут быть плохо различимы. Частота включения EdU в растущей почке заметно выше, чем в чашечке полипа. Количество меченых ядер в этой зоне достигает 120-140 на 100 мкм². При этом в частях полипа, прилежащих к основанию выпячивания почки, не наблюдается увеличения частоты включения метки.

В планулоиде, готовом к отделению, интенсивность включения метки уменьшается до 30-50 на 100 мкм². Это особенно хорошо заметно при формировании цепочек планулоидов (Рис. 9В). В этом случае наиболее частое включение метки все также происходит в месте выпячивания почки, в то время как в каждом последующем планулоиде цепочки количество меченых ядер существенно уменьшается. При этом место расположения зоны включения EdU остается неизменным. Наибольшее количество меченых ядер располагается ближе к основанию сформированного планулоида. По мере приближения к дистальному концу интенсивность включения метки снижается. Непосредственно на дистальном конце планулоида сигнал отсутствует.

У свободноплавающих планулоидов количество меченых ядер варьирует в разных исследованных образцах от 40 до 60 на 100 мкм². На ранних этапах сохраняется тот же паттерн распределения EdU, что и в планулоидах до отделения (Рис. 10А). Количество меченых ядер на функционально заднем конце планулоида в 3,2–3,4 раза выше, чем на переднем: около 31–41 и 8–14 на 100 мкм² соответственно. К моменту начала развития у планулоида зачатков щупалец, гипостома и ножки зона включения метки занимает все тело планулоида (Рис. 10 Б-Г). Большая часть меченых ядер располагается в зачатках щупалец – 38–42 на 100 мкм². В этот момент отдельные меченые ядра впервые появляются и на функционально переднем конце планулоида (бывшем дистальном конце растущей почки). Подобный характер распределения метки сохраняется до оседания планулоида на субстрат и превращения в новый полип.

У молодого полипа зона наиболее частого включения EdU-метки располагается в чашечке – около 30–40 меченых ядер на 100 мкм² (Рис. 10Д). По-прежнему, наибольшее количество меченых ядер наблюдается у основания щупалец – 42–52 на 100 мкм², хотя зона включения метки занимает

все пространство чашечки от щупалец до ножки. Непосредственно в щупальцах и ножке наблюдаются лишь единичные меченые ядра.

5. Наследование планулоидом *Cassiopea xamachana* фотосимбионтов

Симбиотические динофлагелляты *Symbiodinium* sp., типичные для представителей семейства Cassiopeidae, хорошо заметны при съемке на конфокальном микроскопе благодаря автофлуоресценции хлорофилла в их клетках. Во взрослых полипах фотосимбионты в обилии встречаются в чашечке (Рис. 4Д, Е). Во время роста почки некоторое количество клеток мигрирует в область образующегося выпячивания. В планулоиде они занимают обширную область от середины тела до заднего конца, но никогда не находятся в области переднего конца (Рис. 7А). Эта особенность помогает надежно определять переднезаднюю ориентацию планулоида, даже в тех случаях, когда он утрачивает свою изначальную форму в ходе изготовления препаратов.

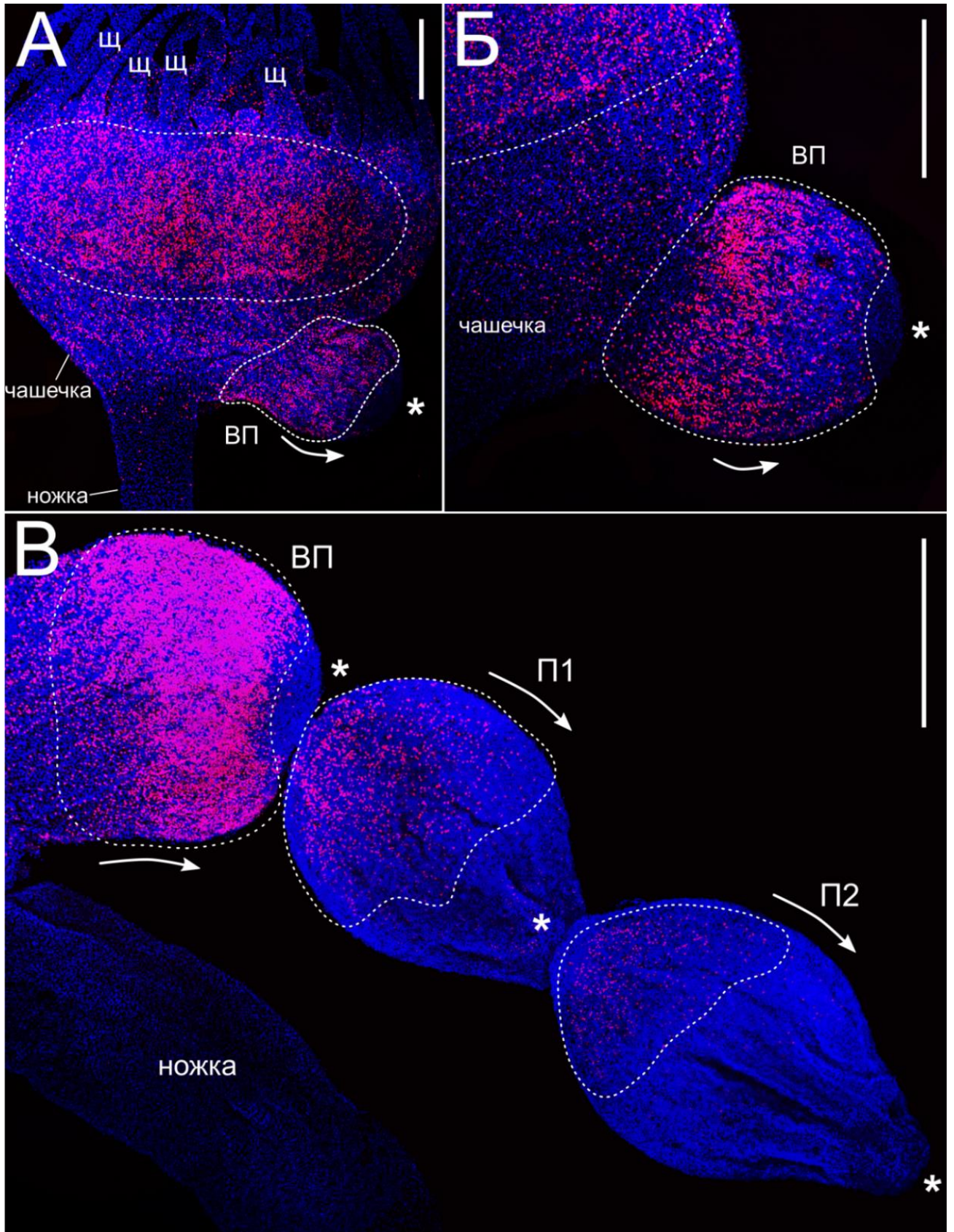


Рисунок 9. Включение метки EdU (розовый) на этапе формирования планулоида *C. xamachana*, окрашивание ядер DAPI (синий).

А – полип с растущей почкой, Б – выпячивания почки на чашечке полипа, В – выпячивания почки и цепочки планулоидов, готовых к отделению. Белой звездочкой обозначен передний конец формирующегося планулоида, стрелка указывает направление роста планулоида. Прерывистой линией обозначены границы зоны активного включения EdU. Сокращения: ВП – выпячивания почки, П1, П2 – первый и второй планулоид в цепочке, щ – щупальце. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

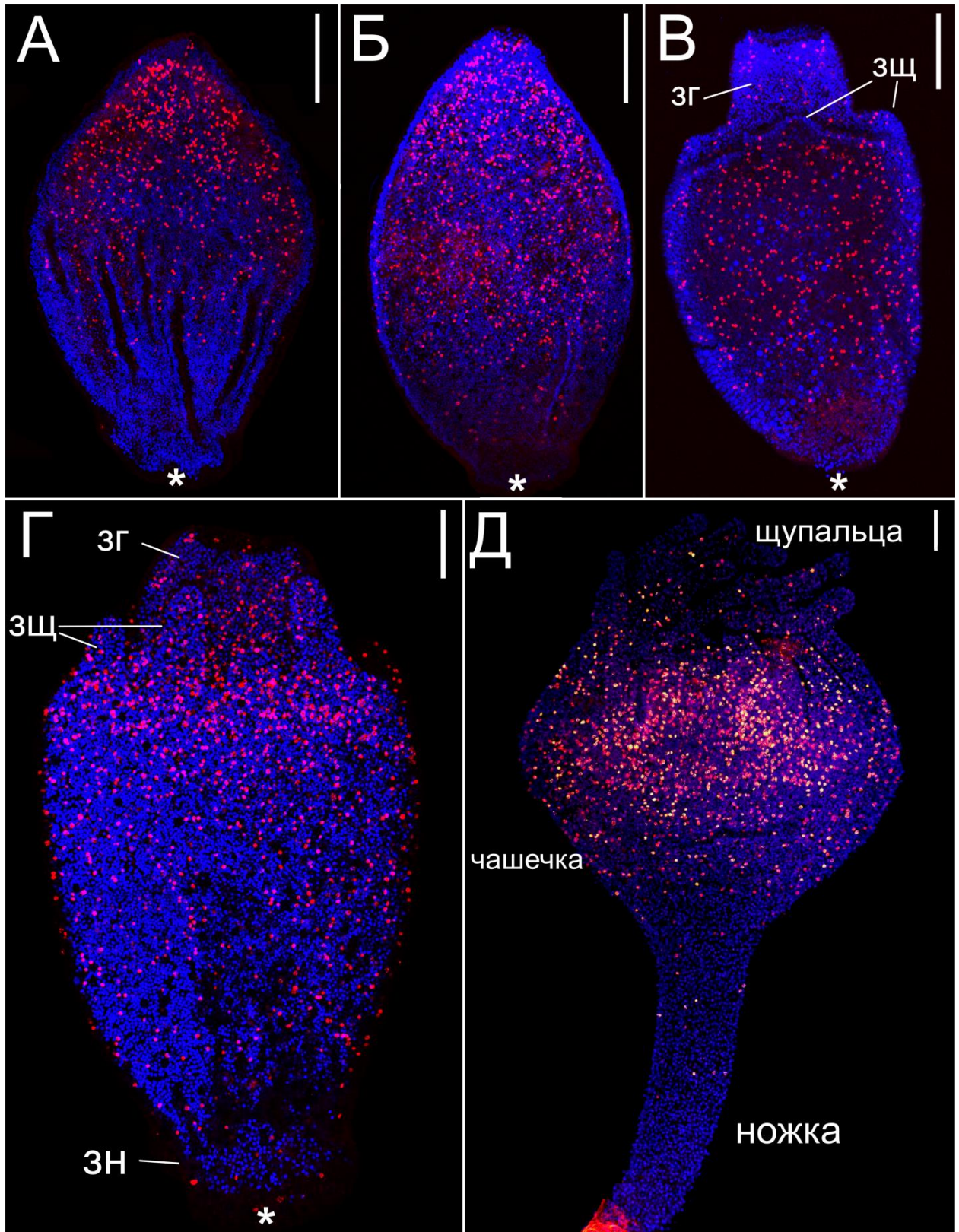


Рисунок 10. Включение метки EdU (розовый) на разных этапах развития планулоида *C. xamachana*, окрашивание ядер DAPI (синий).

А – только что отделившийся планулоид, Б – планулоид, спустя сутки после отделения, В, Г – планулоид с формирующимися зачатками гипостома и щупалец, Д – молодой полип. Белой звездочкой обозначен передний конец планулоида. Сокращения: зг – зачаток гипостома, зн – зачаток ножки, зщ – зачаток щупальца. Длина масштабного штриха – 100 мкм.

Обсуждение результатов

1. Общая морфология мышечной и FMRФамидергической нервной системы полипов

Cassiopea xamachana

Как было показано ранее в Обзоре литературы, данные об устройстве нервной и мышечной системы полипоидных стадий различных книдарий ограничены лишь единичными работами по отдельным видам, как правило, модельным объектам. Однако даже на основе этих сведений можно выявить несколько общих черт в организации этих систем. У всех изученных полипов хорошо выражена продольная мускулатура тела, мускулатура, сопряженная с оральным концом (мышцы гипостома или глотки, радиальная и кольцевая мускулатура орального поля), а также продольная мускулатура щупалец. В то же время кольцевая мускулатура тела, и в особенности щупалец, развита в меньшей степени. Нервная система представлена нервным кольцом в основании щупалец и отдельными нейронами в теле и нервными отростками, сопровождающими основную мускулатуру тела. Существенные отличия заключаются в степени концентрации мышечных и нервных элементов. Мышечные волокна могут быть разрозненными, или же объединяться в функциональные группы: валики или ленты. Нервные отростки в нервном кольце могут образовывать рыхлую сеть или концентрироваться, образуя некоторое подобие проводящих путей. Основные признаки строения нервно-мышечной системы изученных полипоидных стадий разных классов книдарий отражены в схеме на рисунке 11. При этом сведения об организации сцифоидных и кубоидных полипов получены из единичных работ, выполненных с помощью трансмиссионного электронного микроскопа, и могут не вполне точно отражать общую топологию нервно-мышечных элементов (Chapman, 1978 [37]; Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]).

Как было установлено в ходе данной работы (Khabibulina, Starunov, 2019 [104]; Khabibulina, Starunov, 2020 [103]), организация мускулатуры и FMRФамидергической нервной системы сцифополипов *C. xamachana* соответствует таковому у сцифополипов *A. aurita*. Общее расположение мышечных и FMRФамид-положительных нервных элементов в теле полипа отражено на рисунке 12.

У полипов *C. xamachana* можно выделить три группы мышц: 1) мускулатуру тела, 2) щупалец и 3) орального диска. Мускулатура тела представлена в основном четырьмя мощными продольными септальными мышечными лентами, проходящими от основания ножки до орального диска. Эти мышцы, вероятно, обеспечивают быстрое сильное сокращение тела в случае, если полип потревожен. Также за счет работы септальной мускулатуры, по-видимому, происходят изгибания ножки полипа и повороты чашечки при пищевом поведении (Bigelow, 1900 [21]). Помимо септальной мускулатуры в ножке имеются отдельные небольшие продольные и кольцевые

мышечные волокна. Они, вероятно, могут являться вспомогательными для септальных мышечных лент и способствовать более точным движениям.

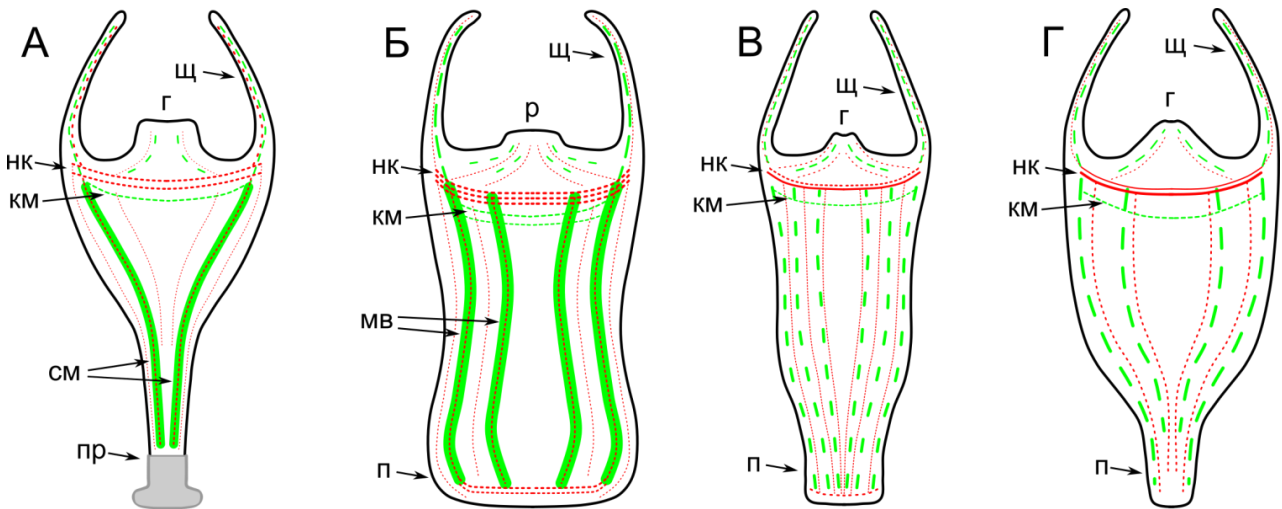


Рисунок 11. Схема организации нервной и мышечной системы у полипов основных классов Cnidaria

А – полип *Aurelia aurita* (Scyphozoa), по Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40], Б – полип *Nematostella vectensis* (Anthozoa), для упрощения схемы мускулатура глотки не показана, по Jahnel, Walzl, Technau, 2014 [96], В – полип *Hydra* sp. (Hydrozoa) по Grimmelhuijzen et al., 1989 [70] и Szymanski, Yuste, 2019 [184], Г – полип *Tripedalia cystophora* (Cubozoa) по Chapman, 1978 [37]. Красным цветом обозначены нервные элементы, зеленым цветом – мышечные элементы. Сокращения: г – гипостом, км – кольцевая мускулатура орального поля, мв – мышечные валики, нк – нервное кольцо, п – подошва, пр – перисарк, р – рот, щ – щупальце. Относительные размеры не соблюдены.

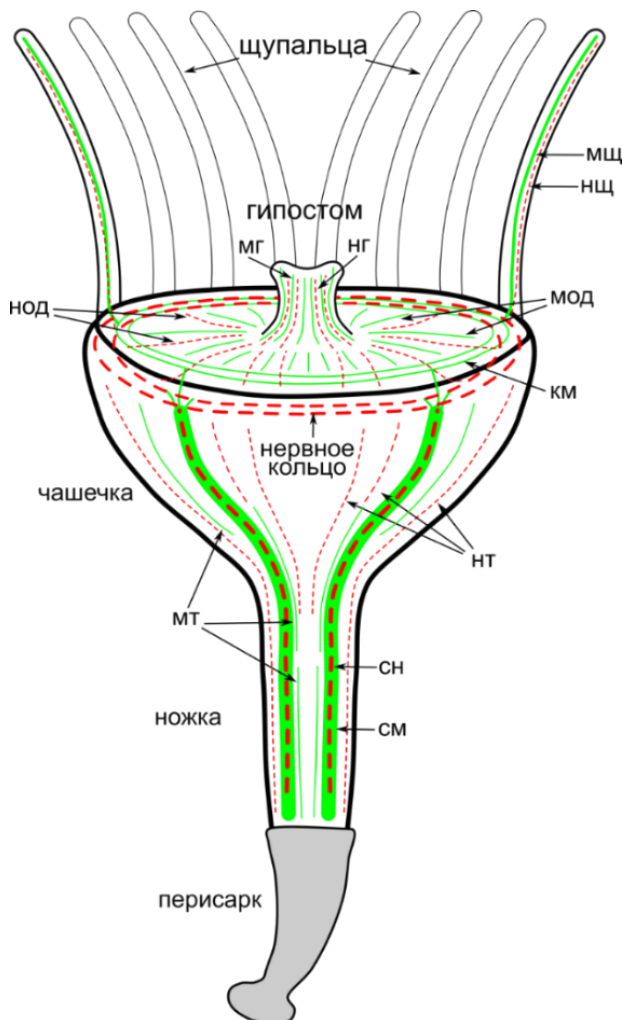


Рисунок 12. Схема организации мышечной и FMRFамидергической нервной системы полипа *C. xamachana*

Обозначения: км – кольцевая мышца орального диска, мг – мышцы гипостома, мод – мышцы орального диска, мт – отдельные мышечные элементы в теле, мщ – мышцы щупальца, нг – нервные элементы гипостома, нод – нервные элементы орального диска, нт – нервные элементы тела, нщ – нервные элементы щупальца, см – септальная мышца, сн – септальные нервные элементы. Нервные элементы показаны красным, мышечные элементы показаны зеленым.

Мускулатура щупалец состоит из коротких, толстых продольных мышечных волокон. Эти мышцы, вероятно, обеспечивают сокращение щупальца и его изгибание. Кольцевых мышечных элементов у полипов *C. xamachana* не обнаруживается, как и у исследованных ранее полипов *T. cystophora* (Charman, 1978 [37]) и *A. aurita* (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). Расправление щупальца в случае отсутствия кольцевых мышц-антагонистов, может осуществляться за счет упругих свойств сильно вакуолизованных гастродермальных клеток и коллагеновых волокон мезоглеи (Charman, 1970 [38]). Мускулатура орального диска включает в себя слой радиальных мышечных волокон, и кольцевую «мышцу», располагающуюся на оральном диске в основании щупалец. Термин «мышца» в данном случае используется в кавычках, так как у полипа не образуется настоящей, анатомически обособленной кольцевой мышцы. Кольцевые мышечные волокна в этом скоплении, по всей видимости, действуют согласованно и функционально выполняют работу одной «мышцы». К кольцевой «мышце» подходят мышечные отростки щупалец, радиальной мускулатуры орального диска, а также окончания септальных мышц. Сходное строение мускулатуры орального диска было обнаружено у полипов *A. aurita* (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). Функцией радиальной мускулатуры, по-видимому, является раскрытие лопастей гипостома и, как следствие, ротового отверстия для захвата пищевого объекта. Сцифополипы могут поглощать пищевые объекты, существенно превосходящие по размеру объем их гастральной полости и ротового отверстия в обычном состоянии (Östman, 1997 [145]; Schiariti et al., 2008 [168]; Ikeda, Mizota, Uye, 2017 [92]). Слой радиальной мускулатуры орального диска, по всей видимости, обеспечивает процесс поглощения достаточно крупных частиц. Растягивание стенок чашечки и, соответственно, гастральной полости становится возможным за счет отсутствия сплошного слоя продольной и кольцевой мускулатуры. Непосредственно захват пищи осуществляется гипостомом, в котором имеется собственная мускулатура, состоящая из множества длинных продольных мышечных волокон и редких поперечных волокон. Смыкание гастральной полости и ротового отверстия, вероятно, происходит за счет работы поперечной мускулатуры гипостома, а также сокращения кольцевой «мышцы» орального диска.

Исследование особенностей локализации элементов нервной системы было проведено с помощью мечения антителами к FMRFамиду. При этом удалось выявить лишь специфическое окрашивание отростков нейронов, в то время как ядродержащая часть клеток не обнаруживалась. Вероятно, это связано с тем, что нейромедиатор FMRFамид находится по большей части в крупных везикулах нервных отростков (Singla, Mackie, 1991 [172]; Westfall, Grimmelikhuijzen, 1993 [201]). У сцифополипов *Aurelia aurita* и у нескольких видов сцифоидных медуз FMRF-положительная иммунореактивность также отмечалась лишь в нервных волокнах (Sakaguchi et al, 1999 [160]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). Тем не менее, в ряде других работ, посвященных изучению нервной системы гидромедуз и свободноживущей стадии паразита *Polypodium hydriforme*, FMRFамид-положительное мечение наблюдалось также и в телах нейронов (Mackie et al, 1985 [121]; Marlow et

al, 2009 [122]; Nakanishi et al, 2009 [136]; Raikova, Raikova, 2016 [156]). Вероятно, локализация FMRFамида именно в нервных отростках может быть специфической чертой Scyphozoa.

Визуализация нервных элементов зачастую затрудняется сильным фоновым окрашиванием, обусловленным неспецифическим связыванием антител. Это неспецифическое мечение, вероятно, происходит из-за присутствия большого количества железистых клеток в составе тканей *C. xamachana*, в особенности, в области педального диска полипа и дистального конца планулоида (Hoffmann, Honegger, 1990 [82]). Такое фоновое окрашивание возможно отчасти убрать, увеличив время и количество отмывок образцов в фосфатном буфере, однако полностью от него избавиться не удастся.

FMRFамидергическая нервная система полипов *C. xamachana* состоит из трех групп нервных элементов. Первые две группы нервных отростков сопряжены с мышцами в теле полипа и мышцами щупалец. Третья группа образует циркумгипостомальное кольцо в оральном диске у основания щупалец. Наиболее четко выражены скопления продольных FMRFамид-положительных волокон, сопровождающих септальные мышцы взрослого сцифополипа. Подобные скопления также описаны у *Aurelia aurita* (Sakaguchi et al, 1999 [160]), и, вероятно, являются общей характерной чертой организации нервной системы у сцифополипов. У изученных представителей актиний и морских перьев FMRFамидергические нервные элементы сходным образом сопровождают мышцы-ретракторы в мезентериях (Girosi et al., 2005 [64]; Marlow et al., 2009 [122]). Сопряженная локализация FMRFамид-положительных нервных волокон и мышечных элементов может свидетельствовать об участии FMRFамидергических элементов в контроле мышечной активности. Это предположение подтверждается также и данными об участии FMRFамид-положительных нервных элементов в нейромоторных реакциях и регуляции плавательных движений у других книдарий (Plickert, Schneider, 2004 [153]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). По всей видимости, FMRFамидергические клетки тела и щупалец у полипов *C. xamachana*, могут осуществлять непосредственное управление мускулатурой в соответствующих участках тела. Так как септальные мышцы у сцифополипа являются наиболее развитыми, то и локализованные рядом с ними нервные отростки образуют более плотное скопление. Циркумгипостомальные FMRFамидергические нервные отростки образуют так называемое нервное кольцо. Это место наибольшей концентрации нервных элементов в теле полипа. Часть этих нервных элементов, вероятно, может осуществлять контроль работы кольцевой и радиальной мускулатуры орального диска. Кроме того, существуют данные, свидетельствующие о том, что помимо этой функции нервное кольцо может выступать в роли общего интегративного центра животного (Koizumi, 2007 [107]; Arendt, Tosches, Marlow, 2016 [11]). Нервные отростки орального диска, щупалец, тела, и в частности, септальные нервы входят в нервное кольцо. По-видимому, за счет регуляции в нервном кольце осуществляется взаимосвязь и слаженная работа мускулатуры полипа.

Нервное кольцо описано у полипов различных групп Cnidaria. Особенности организации нервных элементов в его составе могут сильно варьировать. У кубополипов и гидрополипов нервные элементы сконцентрированы очень плотно и образуют фактически два кольца – во внешнем и внутреннем клеточных слоях (Chapman, 1978 [37], Koizumi et al., 1992 [110]). Отдельными исследователями это нервное кольцо трактуется как очень примитивная центральная нервная система (Holland, 2003 [88]; Koizumi, 2007 [107]). У представителей Anthozoa также происходит разделение нервного кольца на две части – эпидермальную и гастродермальную, но нервные элементы расположены более рыхло, без образования плотных тяжей (Marlow et al., 2009 [122]; Kelava, Rentzsch, Technau, 2015 [101]). С нервным кольцом у представителей этого класса также тесно связаны нервные элементы хорошо развитой глотки. Наконец, как следует из данного исследования *C. xamachana* и предыдущих работ по полипам *A. aurita* (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]; Sakaguchi, Imai, Nomoto, 1999 [160]), у полипов Scyphozoa нервные элементы в нервном кольце расположены наименее плотно. Фактически, тела нейронов и их отростки образуют кольцевую нервную сеть у основания щупалец, при этом каких-то направленных нервных тяжей или трактов не обнаруживается. В отличие от полипов представителей других классов, нервные элементы у Scyphozoa располагаются только в эпидермальном слое (Helm, 2018 [78]).

В случае Cubozoa и Scyphozoa основные черты устройства нервного кольца, свойственные для полипов, сохраняются и у медуз (Garm et al, 2007 [60]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). В этих классах книдарий медузы формируются путем стробилиации – образования на полипе поперечных перегородок, которые отделяют участки тела, позднее трансформирующиеся в молодую медузу – эфиру (Наумов, 1961[4]; Toshino et al., 2015 [190]; Helm R. R, 2018 [78]). У многих сцифоидных полипов, например, *Aurelia aurita* (Наумов, 1961 [4]), *Lychnorhiza lucerna* (Schariti et al., 2008 [168]), *Stomolophus meleagnis* (Calder, 1982 [31]) и других (Helm, 2018 [78]) происходит полидискковая стробилиация. При этом на полипе почти одновременно образуется стопка из нескольких эфир. В случае монодискковой стробилиации на полипе развивается лишь одна эфира. Этот тип стробилиации характерен для кубополипов, и некоторых сцифополипов, в частности, представителей семейства Cassiopeidae (Bigelow, 1892 [20]; Hofmann, Neumann, Henne, 1978 [86]). При этом фактически большая часть тканей полипа либо непосредственно становится тканями медузы, либо является источником клеточных делений для ее роста. Развитие нервной и мышечной системы у эфир в процессе стробилиации прослежено слабо. Отдельные работы указывают на то, что, по крайней мере, часть нервных элементов медузы, занимающих эпидермальное положение, наследуется непосредственно от полипа (Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). В то же время мышечные элементы, вероятно, не принимают участия в формировании мускулатуры эфиры, так как у образующейся стадии совершается переход к совершенно иному способу локомоции (Helm et al., 2015 [79]). Таким образом, нервное кольцо медузы в классах Cubozoa и Scyphozoa может быть отчасти гомологично

нервному кольцу полипа, и поэтому общие черты его строения сохраняются при переходе от одной жизненной формы к другой.

В совокупности устройство мускулатуры и нервной системы сцифополипов *C. xamachana* сохраняет примитивные черты организации. Мышечные и сопровождающие их нервные элементы слабо дифференцированы: четко выделяется лишь комплекс септальных мышечных лент и локализованных FMRFамидергических нервных отростков, а также нервно-мышечный комплекс орального диска и гипостома. Элементы нервного кольца слабо сконцентрированы, и, в отличие от всех иных исследованных представителей кишечнополостных, занимают исключительно эпидермальное положение, иных мест скопления нервных клеток или отростков не имеется. Мышечные и нервные элементы по большей части разрознены, и не образуют четко выраженных функциональных групп, как это происходит, например, у одиночных полипов Anthozoa, обладающих сложно устроенной мускулатурой глотки и септальных валиков, а также связанными с ними нервными элементами. Сцифополипы обладают меньшим разнообразием поведенческих реакций и движений, что, вероятно, и связано с более простым устройством нервной и мышечной системы. У изученных гидрополипов и кубополипов также не наблюдается образования крупных «мышц» в теле полипа, однако это может обуславливаться, в целом, меньшими размерами исследуемых животных. Тем не менее, имеющихся данных пока недостаточно, чтобы можно было говорить о четких тенденциях в эволюции нервно-мышечных систем полипоидных стадий кишечнополостных. Дальнейшие работы по исследованию морфологии полипоидных стадий в совокупности с анализом молекулярных механизмов развития могут пролить свет на этот вопрос.

2. Развитие мускулатуры и нервной системы планулоида

Результаты анализа данных из литературных источников свидетельствуют о наличии широкого спектра разнообразия вариантов бесполого размножения полипоидных стадий кишечнополостных. Он включает различные способы деления тела или колонии на новых особей, образование покоящихся (подоцисты) или подвижных стадий (фрустулы, пропагулы) и, наконец, несколько типов почкования. Имеющиеся сведения в подавляющем большинстве случаев ограничены лишь визуальными наблюдениями и описаниями вариантов жизненных циклов. Кроме того, некоторые термины, в частности «пропагула», используются авторами слишком размыто и, фактически, могут обозначать разные по происхождению и сложности организации структуры. Таким образом, даже имеющиеся данные о разнообразии типов бесполого размножения кишечнополостных требуют более тщательной классификации и уточнения терминологии.

Классификация и изучение возможных путей эволюции бесполого размножения кишечнополостных на данном этапе осложняется отсутствием подробных морфологических и молекулярных данных об

особенностях процесса формирования новых особей. Частично исследованы генетические механизмы, регулирующие различные способы деления у морского анемона *Nematostella vectensis* (Reitzel et al, 2007 [157]; Burton, Finnerty, 2009 [29]). Наиболее детально изучено латеральное почкование у классического модельного объекта *Hydra* sp. В целом ряде работ рассматриваются морфологические особенности образования почки на гистологическом и ультраструктурном уровне, а также молекулярно-генетические аспекты ее развития (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Graf, Gierer, 1980 [67]; Otto, 1977 [147]; Bode, 2012 [24]; Hobmayer et al., 2012 [81]). Различные типы бесполого размножения, в том числе латеральное почкование, неоднократно отмечены у полипоидных форм Scyphozoa и, по-видимому, широко распространены в этом классе. Тем не менее, исследования процессов бесполого размножения в этой группе либо ограничиваются краткими сведениями о типе почкования и внешнем виде почки при описании жизненных циклов, либо посвящены изучению влияния различных экологических факторов на стратегию почкования (Schariti et al., 2014 [169]). Основные описанные способы бесполого размножения среди сцифополипов обобщены в схеме на рисунке 13. Данные о распространении этих способов размножения у различных видов Scyphozoa представлены в таблице 1.

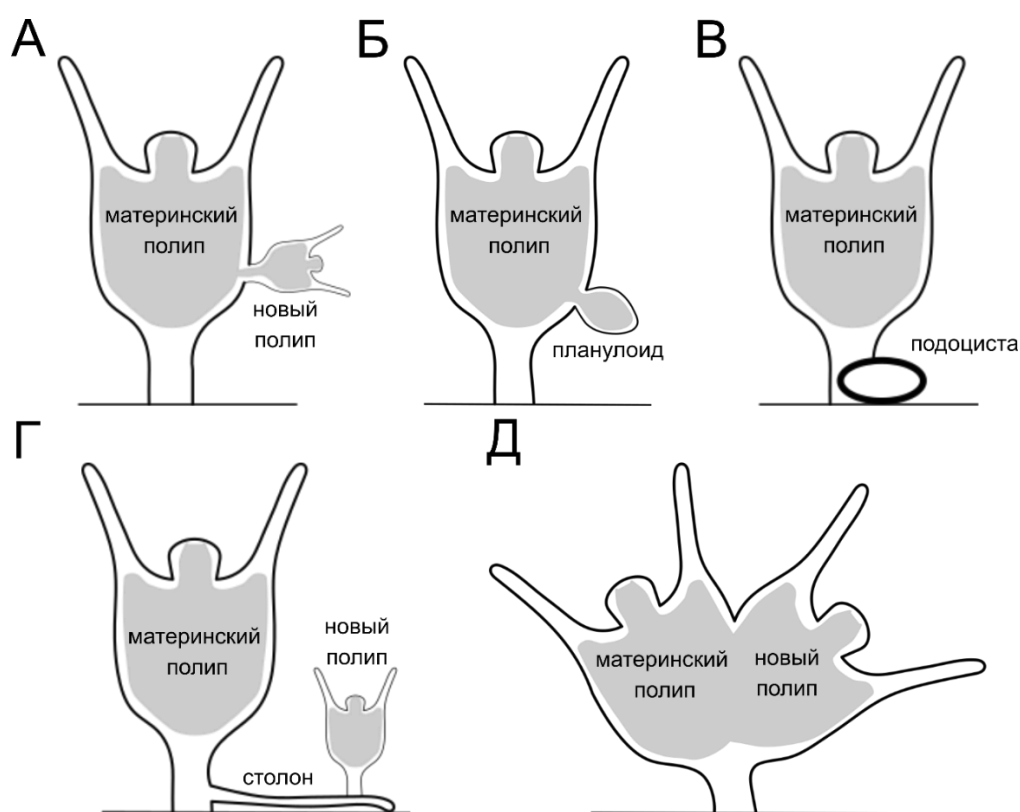


Рисунок 13. Типы бесполого размножения полипов Scyphozoa

А – латеральное почкование, Б – образование планулоидов, В – образование подоцист, Г – столонияльное почкование, Д – продольное деление полипа. Серым цветом обозначено место расположения гастральной полости. Относительные размеры не соблюдены.

Таблица 1. Распространение способов бесполого размножения у различных видов полипов Scyphozoa.

Отряд	Вид	Латеральное почкование	Столончатое почкование	Подоцисты	Продольное деление	Планулоид	Источник
Coronatae	<i>Nausithoe aurea</i>						Silveira, Morandini, 1997 [173]
	<i>Nausithoe planulophora</i>						Kawahara et al., 2006 [100]
Rhizostomeae	<i>Acromitus hardenbergi</i>						Miyake et al., 2021 [131]
	<i>Catostylus mosaicus</i>						Pitt, 2000 [151]
	<i>Catostylus tagi</i>						Gueroun et al., 2021 [73]
	<i>Cephea cephea</i>						Sugiura, 1966 [182]
	<i>Cotylorhiza tuberculata</i>						Kikinger, 1992 [106]
	<i>Lychnorhiza lucerna</i>						Schiariti et al., 2008 [168]
	<i>Mastigas papua</i>						Sugiura, 1963 [181]
	<i>Nemopilema nomurai</i>						Kawahara et al., 2006 [100]
	<i>Rhizostoma luteum</i>						Kienberger et al., 2018 [105]
	<i>Rhizostoma octopus</i>						Holst et al., 2007 [89]
	<i>Rhizostoma pulmo</i>						Fuentes et al., 2011 [57]
	<i>Stomolophus meleagris</i>						Calder, 1982 [31]
Semaestomeae	<i>Aurelia aurita</i>						Ishii, Watanabe, 2003 [94]
	<i>Chrysaora fuscescens</i>						Widmer, 2008. [203]
	<i>Chrysaora hysoscella</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Chrysaora lactea</i>						Morandini et al., 2004 [132]
	<i>Cyanea capillata</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Cyanea lamarkii</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Phacellophora camtschatica</i>						Widmer, 2006 [204]
	<i>Rhopilema nomadica</i>						Lotan et al., 1992 [117]
	<i>Rhopilema verrilli</i>						Calder, 1973 [30]
	<i>Sanderia malayensis</i>						Adler, Jarms, 2009 [6]

Несколько более подробно изучен особый тип почкования, путем образования отделяющихся ресничных стадий - планулоидов, получивший распространение у сцифоидных полипов из группы *Kolpophorae*. Основные исследования посвящены изучению процесса образования планулоида у полипов семейства *Cassiopeidae* (*Scyphozoa: Kolpophorae*) с помощью световой, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии (Bigelow, 1900 [21]; Hoffmann, Honegger, 1990 [82]; Van Lieshout, Martin, 1992 [194]), однако эти методы не позволяют проследить динамику формирования отдельных систем и структур во время развития.

В данной работе представлены новые сведения о формировании мышечной и нервной системы у планулоидов *C. xamachana* (Khabibulina, Starunov, 2019 [104]; Khabibulina, Starunov, 2020 [103]). Схема развития мускулатуры планулоида представлена на рисунке 14.

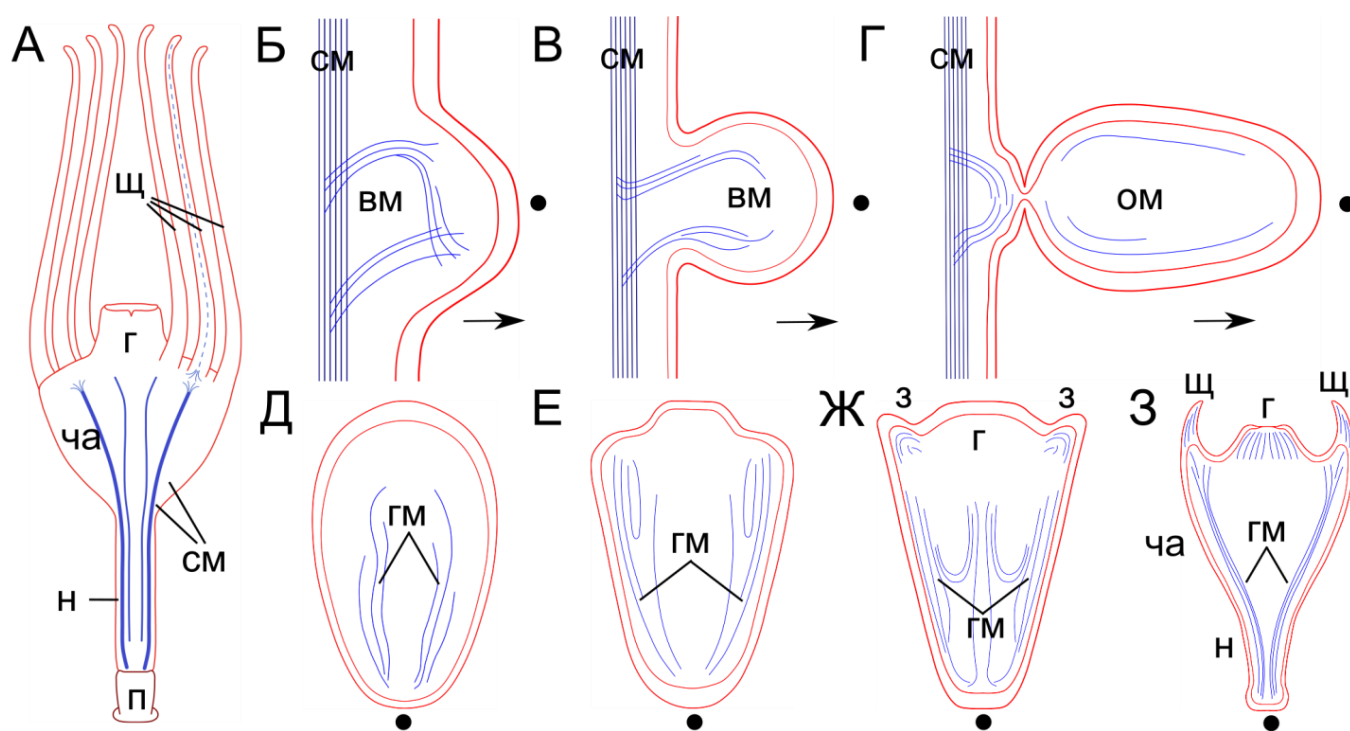


Рисунок 14. Схема развития мускулатуры планулоида *C. xamachana*

А - взрослый полип, Б, В - появление и рост выпячивания почки, Г - планулоид перед отделением, Д - отделившийся планулоид, Е-З - рост и развитие планулоида, включая формирования гипостома и щупалец. Стрелками показано направление роста почки, черной точкой обозначен передний конец планулоида. Обозначения: в м - ответвления мускульных отростков полипа, г - гипостом, г м - группы мышц планулоида, з - зачатки щупалец, н - ножка, ом - остаточные мышечные отростки, п - перисарк на подошве полипа, см - септальные мышцы, ча - чашечка, щ - щупальца. Относительные размеры не соблюдены.

Развитие планулоида сопровождается реорганизацией септальной мускулатуры материнского полипа вблизи места образования почки. Схожая картина отмечена и при латеральном почковании *Hydra* sp., у которой продольные и кольцевые мускульные отростки в стенке тела также меняют свое направление и заходят в растущую почку (Otto, 1977 [146]). Однако в отличие от гидры, у которой мускулатура дочернего полипа, по крайней мере, отчасти, образуется за счет материнских эпителиально-мышечных клеток, в случае *C. xamachana* мускулатура полипа вовлечена только в

ранние этапы роста почки. Во время роста выпячивания почки и формирования планулоида количество мышечных элементов, ответвляющихся от септальной мышцы материнского полипа, не увеличивается. При этом у большинства уже сформированных планулоидов, сохраняющих связь с материнским организмом, мышечных элементов, как правило, не обнаруживается. Лишь у некоторых особей, готовых к отделению, были обнаружены единичные мускульные отростки, унаследованные от материнского организма. Тот факт, что эти остаточные мускульные отростки были обнаружены лишь в нескольких исследованных образцах, указывает на случайный характер их наследования. Кроме того, подобные мышечные элементы никогда не обнаруживаются в только что отделившихся планулоидах. Это свидетельствует о том, что унаследованные от материнского полипа мускульные отростки, по всей видимости, резорбируются и не участвуют в дальнейшем формировании мускулатуры планулоида. Нельзя исключать также возможность трансдифференциации этих клеток, так как у кишечнополостных была ранее показана возможность этого процесса (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Таким образом, формирование мускулатуры планулоида, а соответственно и полипа нового поколения происходит *de novo*. У *Hydra* sp. наблюдается реорганизация мышечных отростков эпителиально-мышечных клеток материнской особи в месте образования почки при латеральном почковании (Aufschnaiter et al, 2017 [14]). Однако, в отличие от *C. xamachana*, эти клетки позднее входят в состав тела дочерней гидры и формируют ее дефинитивную мускулатуру. Таким образом, реорганизация септальных мышц материнского полипа, которая происходит при росте почки, по-видимому, является сохранившимся признаком типичного латерального почкования, которое происходило ранее, но было частично утрачено у представителей этого вида (Fautin, 2002 [53]; Schiariti et al., 2014 [169]).

Мышечная система более поздних стадий развития планулоида состоит из четырех групп продольных мышц в теле, а также коротких мышечных отростков в гипостоме и зачатках щупалец. Эта система по организации уже очень близка к мускулатуре взрослого полипа. После прикрепления планулоида мышечные отростки продолжают дальнейшую дифференцировку и рост, но все основные черты строения мускулатуры к этому моменту уже сформированы. Так как локомоция планулоида происходит благодаря работе ресничек, мускулатура, вероятно, в этот процесс не вовлечена. Единственные обеспечиваемые мышцами движения, наблюдающиеся у планулоида, это незначительные изменения формы тела с несколько веретеновидной на округлую. Такие изменения могут осуществляться за счет продольных групп мышц наряду с короткими разнонаправленными мышечными волокнами. Небольшие сокращения продольной мускулатуры приводят к округлению формы тела, а поперечные мышечные отростки обеспечивают вытягивание планулоида. В дальнейшем четыре группы продольных мышц развиваются в септальные мышечные ленты полипа. Мышцы функционально заднего конца планулоида входят в состав мускулатуры орального диска и оснований щупалец. Такое раннее развитие мускулатуры полипоидной организации в планулоиде,

по-видимому, обеспечивает быстрый метаморфоз и переход к прикрепленному образу жизни и, как следствие, увеличение скорости размножения популяции.

В отличие от мускулатуры, FMRФамид-иммунореактивная часть нервной системы полипа, по-видимому, не принимает участия в формировании почки. В ходе процесса реорганизации септальной мышцы сопровождающие эту мышцу нервные отростки не изменяют своего обычного направления, их количество не меняется. Единичные продольные нервные отростки, проходящие неподалеку от места образования почки, также не вовлекаются в процесс ее формирования. В растущем выпячивании и оформляющемся планулоиде также не удалось обнаружить FMRФамид-положительных нервных элементов. Первые нервные отростки в нем обнаруживаются уже после отделения от материнского организма. Они представляют собой единичные короткие продольные нервные волокна, располагающиеся в средней части тела полипа. При этом их локализация не приурочена к дифференцирующимся на этой стадии группам мышц. Ближе к переднему концу планулоида количество выявляемых нервных волокон несущественно возрастает. Наличие нервных элементов в планулоиде было отмечено ранее с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, однако этот метод не позволяет определить их точное количество, пространственную организацию и нейрхимическую специфичность (Hofmann, Honegger, 1990 [82]). Исходя из полученных результатов, можно заключить, что FMRФамид-положительные нервные элементы планулоида, как и мышечные, не наследуются от материнского организма и формируются независимо. При этом во время периода свободного плавания FMRФамидергическая часть нервной системы развита слабо и, вероятно, ее активная дифференцировка начинается уже после оседания планулоида на субстрат. Это хорошо согласуется с тем фактом, что имеющаяся у планулоида мускулатура практически не задействуется до метаморфоза.

Отдельной проблемой в исследованиях процесса почкования книдарий является выявление клеточных источников, из которых образуется почка и в дальнейшем новая особь. Основная часть работ, посвященная этому вопросу, сосредоточена на изучении почкования у *Hydra* sp. (Clarkson, Wolpert, 1967 [41]; Shostak, Kankel, 1967 [171]; Otto, 1977 [146]; Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al, 1991 [90]). В этих работах было показано, что на ранних этапах рост выпячивания почки происходит по большей мере за счет миграции эпителиально-мышечных клеток материнского организма, которое сопровождается изменением ориентации их мышечных отростков соответственно закладываемой орально-аборальной оси растущей почки. Лишь позднее формирование и рост тканей нового полипа осуществляется за счет деления собственных клеток почки. У отделившейся гидры зона пролиферации занимает все тело от подошвы до основания щупалец и функционирует на протяжении всей жизни полипа (Campbell, 1965 [32]).

У представителей Scyphozoa пролиферативная активность в зоне формирования почки была отмечена при латеральном почковании *A. aurita* (Balcer, Black, 1991 [18]). При этом количество делящихся в зоне выпячивания почки ядер было лишь незначительно выше, чем в окружающих

тканях полипа. У полипов *Cassiopea andromeda* с помощью витальных красителей была отмечена миграция эпидермальных и гастродермальных клеток в выпячивание растущей почки на ранних стадиях ее роста (Hofmann, Gottlieb, 1991 [84]; Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]). По-видимому, именно ткани материнского полипа являются первичным источником клеток для формирования планулоида.

В данной работе с помощью прижизненного мечения EdU было обнаружено несколько областей активного синтеза ДНК у почкующихся полипов и планулоидов на разных стадиях развития (Khabibulina, Starunov, 2021 [102]). Это может указывать на функционирующие пролиферативные зоны во время формирования почки и нового полипа. Схема расположения этих зон представлена на рисунке 15.

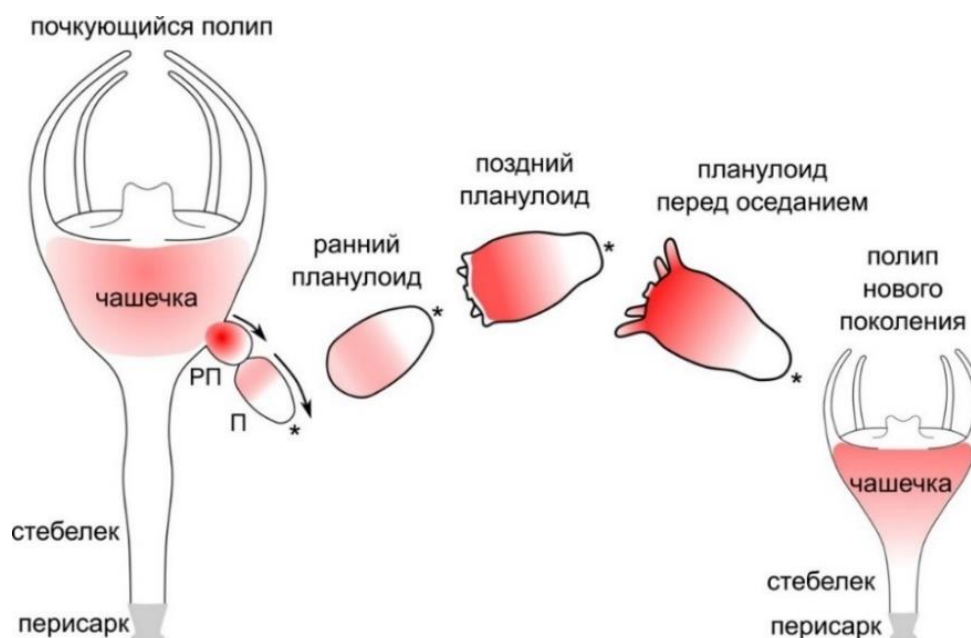


Рисунок 15. Схема расположения зон пролиферативной активности у полипов и на разных стадиях развития планулоида *C. xamachana*.

Обозначения: П – сформированный планулоид, РП – растущая почка, звездочкой указан функционально передний конец планулоида, стрелки указывают направление роста почки и планулоида. Относительные размеры не соблюдены.

В почкующемся полипе наблюдается две зоны пролиферации. Одна из них располагается в обширной области чашечки (от перехода ножки в чашечку до основания щупалец), вторая – в выпячивании растущей почки. Частота включения метки во второй зоне значительно выше, чем в каких-либо иных тканях полипа. При этом в области, окружающей выпячивание почки, увеличения частоты сигнала не отмечено. Вероятно, на этой стадии рост почки может обеспечиваться делениями клеток выпячивания, в то время как миграционная активность материнских клеток снижается (Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]). Таким образом, первые этапы роста планулоидной почки схожи с процессом латерального почкования гидры.

В сформированном планулоиде, готовом к отделению, пролиферативная активность снижается, что особенно хорошо прослеживается в случае образования цепочек планулоидов. В каждом последующем планулоиде цепочки частота включения метки уменьшается. Как упоминалось ранее, именно в этот момент у планулоида начинается образование собственной мускулатуры. После отделения планулоида активность синтеза ДНК вновь увеличивается. Наибольшая частота включения метки отмечается в месте закладки зачатков щупалец и гипостома на функционально заднем конце планулоида. Так как наличие зоны активного синтеза ДНК лишь косвенно указывает на возможные клеточные деления, то можно предположить, что часть или даже все клетки в этой зоне могут оставаться в фазе покоя и переходить непосредственно к делению позднее, во время роста соответствующих органов.

Интересно, что в функционально переднем конце планулоида включение метки почти отсутствует, начиная с первых этапов формирования почки и в течение длительного времени после отделения. На этом конце располагаются многочисленные железистые клетки, обеспечивающие прикрепление планулоида при оседании (Van Lieshout, Martin, 1992 [194]). Вероятно, железистые клетки дифференцируются очень рано, и в этой области не происходит активных процессов клеточной пролиферации. Пролиферативная активность в этой зоне появляется только во время формирования ножки и подошвы. Это хорошо согласуется с общими представлениями о ростовых процессах у данного вида.

После оседания зона активного синтеза ДНК продолжает функционировать в молодом полипе. При этом место расположения этой зоны фактически не меняется: это по-прежнему обширная область на бывшем функционально заднем конце планулоида, который теперь трансформируется в чашечку, гипостом и щупальца полипа. Границы пролиферативной зоны расширяются по мере роста полипа, однако так и не заходят непосредственно в щупальца и ножку. В этих частях тела полипа отмечаются лишь единичные случаи включения метки. Дальнейший рост ножки и щупалец, по-видимому, обеспечивается за счет клеточных источников в их основаниях, входящих в основную зону пролиферации. Зона пролиферации в чашечке сохраняется на протяжении всей жизни полипа, хотя активность синтеза ДНК в ней со временем снижается. По-видимому, ткани этой зоны служат клеточным источником не только для роста полипа и почкования, но также процессов регенерации (Curtis, Cowden, 1974 [48]) и стробилиации (Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]; Helm, 2018 [78]).

Таким образом, зона пролиферации у полипов *C. xamachana*, образованных путем планулоидного почкования, формируется единожды, во время формирования почки. Активность этой зоны изменяется от стадии к стадии, однако ее локализация в теле остается неизменной. Сходным образом, за исключением наличия свободноплавающих стадий, вероятно, формируется зона пролиферативной активности и при латеральном почковании, в частности, у гидры (Shostak, Kankel, 1967 [171]).

Еще первыми исследователями *C. xamachana* отмечалась схожесть планулоидов с типичными личинками-планулами книдарий, которая выражалась в аналогичной форме тела, наличии двух эпителиальных слоев и ресничной локомоции (Bigelow, 1900 [21]). Кроме того, планулоиды, как и планулы, претерпевают метаморфоз, давая начало новому полипоидному поколению (Fleck, Hofmann, 1990 [55]; Thieme, Hofmann, 2003 [189]). При этом, в обоих случаях происходит смена функциональной оси: передний конец организма после оседания становится подошвой и ногой формирующегося полипа. Поэтому необходимо сравнение этих двух схожих по морфологии и поведению, но разных по происхождению стадий жизненного цикла Scyphozoa.

Исследования планул представителей класса Scyphozoa фрагментарны. Во многих случаях они ограничиваются кратким описанием внешней морфологии на уровне световой микроскопии (Calder, 1982 [30]; Adler, Jarms, 2009 [6]). Отчасти, особенности эмбрионального развития и формирования нервной системы планул были изучены на примере *Aurelia aurita* (Yuan et al., 2008 [210]; Mayorova et al., 2012 [129]). У планулы *A. aurita* обнаружены FMRFамид-положительные нейроны, образующие скопления в эктодерме переднего конца тела, единичные отростки которых направлены к заднему концу тела личинки. Кроме того, в энтодерме было отмечено присутствие редких разбросанных мускульных отростков (Nakanishi et al., 2008 [138]). На ультраструктурном уровне были также описаны и планулы *C. xamachana* (Martin, Chia, 1982 [126]). У них было отмечено четыре типа клеток: основные ресничные клетки и нематоциты в эктодерме, столбчатые и интерстициальные клетки в энтодерме. При этом никаких секреторных и нервных клеток, а также мускульных отростков у планул данными авторами не было обнаружено. Детальные данные о развитии нервной и мышечной систем во время метаморфоза планулы в сцифополип на данный момент отсутствуют.

У планулоидов *C. xamachana* имеются все клеточные типы, присущие личинке, однако помимо этого они обладают хорошо выраженными мышечными элементами (Bigelow, 1900 [21]; Hofmann, Honegger, 1990 [82], данная работа). Интересно отметить, что лишь часть обнаруженных мышечных элементов вовлечена в обеспечение каких-либо движений, в то время как большая часть мышц планулоида на самом деле представляет собой мускулатуру будущего полипа. Дифференциация мышечной системы начинается до оседания планулоида, даже в тот период, когда он еще внешне напоминает планулу и не обладает признаками полипа. В то же время, развитие полипоидной мускулатуры у планулы начинается, по всей видимости, только после ее оседания, параллельно процессу метаморфоза. На это указывают ультраструктурные исследования планул, у которых не было найдено мускульных элементов (Martin, Chia, 1982 [126]). Анализ окрашивания TRITC-конъюгированным фаллоидином личинок других Scyphozoa поддерживает предположение о том, что мышечная система в эмбриональном развитии формируется поздно. У планул *A. aurita* расположение, структура и количество мышечных элементов, в общем, не соответствует таковому у планулоида и, соответственно, не несет признаков будущей мускулатуры полипа (Nakanishi et al.,

2008 [138]). Наконец, щупальца и гипостом формируются у планулы только после оседания, в то время как у планулоида эти структуры, как и их мышечные элементы, появляются еще в период свободного плавания.

И у планул, и у планулоидов обнаруживаются одиночные продольные FMRФамид-положительные нервные волокна, количество которых возрастает на переднем конце. Тем не менее, у планул этих нейритов больше, они образуют хорошо заметное скопление и могут ветвиться (Nakanishi et al., 2008 [138]). У планулоидов *C. xamachana* обнаружить подобные скопления нервных элементов не удалось. Помимо одиночных нейритов антителами к FMRФамиду выявляются одиночные продолговатые клетки в эпидермисе на переднем конце планулоида. Они впервые появляются еще на этапе формирования почки и прослеживаются в течение всего периода свободного плавания планулоида. С помощью методов иммуногистохимии не удалось выявить наличие у этих клеток отростков или связи с нейритами планулоида. Похожие FMRФамид-положительные клетки с локализацией на переднем конце тела обнаружены у личинок-планул нескольких видов кишечнополостных (Martin, 2000 [125]; Mayorova, Kosevich, 2013 [128]; Pennati et al., 2013 [149]), а ранее было показано участие FMRФамид-положительных нейронов в обеспечении сенсорной иннервации (Martin, 1992 [123]). Таким образом, можно предположить, что FMRФамид-положительные клетки, обнаруженные на переднем конце тела планулоида *C. xamachana* выполняют сенсорные функции.

В целом, планулоиды *C. xamachana* действительно схожи с личинками-планулами в некоторых морфологических аспектах, а также в функциональной нагрузке, так как обе эти стадии жизненного цикла обеспечивают расселение и размножение. Однако, это сходство лишь поверхностно и, вероятно, конвергентно. Особенности образования нового полипа из планулоида, такие как развитие щупалец и гипостома, и заблаговременное формирование мышечной системы, сильно отличаются от подобного процесса у планулы. Различается и происхождение этих двух стадий. В то время как планулы — это результат полового размножения медуз, формирование планулоида начинается так же, как формирование нового полипа при латеральном почковании. Тем не менее, при латеральном почковании голова новой особи с функционирующим ртом образуется на дистальном конце растущей почки. В случае планулоида наоборот: дистальный конец, хоть является некоторое время функционально передним, в итоге обеспечивает прикрепление и трансформируется в подошву и ножку. В этом отношении процесс метаморфоза у планулоида гораздо больше похож на метаморфоз планулы, так как в обоих случаях фактически происходит смена переднезадней оси. В случае личинок-планул основную роль в определении оси тела играют консервативные гены-гомологи BMP (костный морфогенетический белок) (Genikhovich et al, 2015 [62]), Нох-гены (Yanze et al, 2001 [209]), а также гены каскада Wnt (Plickert et al, 2006 [152]). Вероятно, формирование переднезадней оси у планулоидов может регулироваться теми же молекулярными каскадами, однако данная гипотеза требует дальнейшей проверки.

Заключение

Строение мускулатуры и FMR-амид-положительного компонента нервной системы полипов *C. xamachana* соответствует типичному плану организации сцифополипов. Для этих систем характерно разделение на несколько функциональных групп: комплекс продольных септальных мышц и ко-локализованных нервных отростков, короткие мышечные волокна орального диска, гипостома, щупалец и тела, сопровождаемые собственными редкими нервными элементами, а также слабо конденсированное эпидермальное нервное кольцо, являющееся интегративным центром животного. Такой тип организации нервной системы и мускулатуры является наиболее простым среди изученных на данный момент полипов Cnidaria и, вероятно, близок к анцестральному состоянию.

Исходя из результатов сравнения с другими типами почкования сцифоидных полипов, описанными в научной литературе, а также основываясь на полученных данных о формировании нервно-мышечной системы и характере пролиферативной активности, можно предположить, что планулоид *C. xamachana* является добавочным звеном в типичном жизненном цикле Scyphozoa, включающем латеральное почкование. С появлением этого звена формирование нового полипа было сдвинуто во времени, и его связь с материнским организмом была прервана. Наличие в жизненном цикле стадии, способной к активному передвижению, обеспечивает более широкие возможности для расселения. В то же время ранняя дифференцировка мускулатуры полипоидного типа, начало формирования нервной системы, наряду с появлением зачатков щупалец и гипостома еще на стадии неприкрепленного планулоида, а также раннее выделение постоянной зоны активного синтеза ДНК является, по-видимому, следствием отложенного развития полипа, которое ранее происходило полностью на материнском организме. Можно высказать предположение, что схожесть процессов метаморфоза планулоида и личинки-планулы является следствием реализации единых программ развития. Тем не менее, данная гипотеза требует дополнительной проверки с привлечением методов изучения паттернов экспрессии генов-регуляторов развития, что выходит далеко за рамки данной работы.

Термин «планулоподобная почка», используемый ранее для обозначения этой стадии жизненного цикла *C. xamachana* представляется не в полной мере корректным. После отделения от материнского полипа этот организм развивается независимо и проходит свой собственный онтогенез, в то время как настоящая почка сохраняет связь с материнским организмом в течение всего периода своего развития. Таким образом, почкой можно называть только прикрепленную стадию, но не плавающую. Поэтому был предложен термин «планулоид», который, с одной стороны, подчеркивает самостоятельность нового организма, а с другой – указывает на имеющееся сходство с планулой.

Выводы

1. Мускулатура полипов *Cassiopea xamachana* обладает типичным для сцифоидных полипов строением и представлена четырьмя септальными лентами и продольными мышечными отростками в ножке и чашечке, короткими мышечными отростками в щупальцах и гипостоме, радиальными мышечными отростками в области орального поля.

2. FMRФамид-положительные элементы нервной системы в теле полипов *Cassiopea xamachana* отчасти колокализированы с мускулатурой, что указывает на их участие в регуляции локомоторной активности полипа, а также входят в интегративный центр полипа в составе нервного кольца.

3. Планулоид *Cassiopea xamachana* является добавочным звеном в типичном жизненном цикле Scyphozoa, включающем латеральное почкование на полипоидной стадии. Формирование структур полипоидного типа на ранних стадиях развития планулоида является следствием отложенного развития полипа, которое ранее полностью происходило на материнском организме.

4. Зона пролиферативной активности полипа *Cassiopea xamachana* формируется на ранних этапах формирования почки, ее местоположение остается постоянным в течение развития и жизни полипа.

5. Термин «планулоподобная почка» не вполне корректен для обозначения данной стадии жизненного цикла *Cassiopea xamachana*, вместо него предлагается использовать термин «планулоид», подчеркивая самостоятельность нового организма.

Благодарности

Автор благодарит, в первую очередь, своего научного руководителя Старунова Виктора Вячеславовича за неоценимую помощь в подготовке данной работы. Кроме того, автор благодарит ведущего специалиста РЦ «Хромас» А. Радаева, а также сотрудников и аспирантов кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ, и, в особенности, профессоров Андрея Игоревича Грановича и Георгия Сергеевича Слюсарева, ассистента Крупенко Дарью Юрьевну, младшего научного сотрудника Мезенцева Елисея Сергеевича, за помощь в работе и ценные комментарии. Отдельную благодарность автор выражает Андрею Александровичу Добровольскому за научные консультации, помощь в интерпретации полученных результатов и полезные дискуссии о спорных терминах морфологии и жизненных циклов квидарий.

Данная работа выполнена с помощью оборудования Ресурсных центров СПбГУ «Культивирование микроорганизмов», «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Хромас», а также ЦКП «Таксон» ЗИН РАН (http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/?sphrase_id=8879024).

Список литературы

1. Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. М.: Сов //наука. – 1944. – Т. 492. – С. 1964.
2. Догель В. А. Зоология беспозвоночных. – Изд-во "Высшая школа", 1981.
3. Марфенин Н. Н., Степаньянц С. Д. Функциональная морфология колониальных гидроидов. – Российская академия наук, Зоологический ин-т, 1993.
4. Наумов Д. В. Сцифоидные медузы морей СССР //М., Ленинград: Изд-во АН СССР. – 1961.
5. Acosta A., Sammarco P. W., Duarte L. F. Asexual reproduction in a zoanthid by fragmentation: the role of exogenous factors //Bulletin of Marine Science. – 2001. – Т. 68. – №. 3. – С. 363-381.
6. Adler L., Jarms G. New insights into reproductive traits of scyphozoans: special methods of propagation in *Sanderia malayensis* Goette, 1886 (Pelagiidae, Semaestomeae) enable establishing a new classification of asexual reproduction in the class Scyphozoa //Marine Biology. – 2009. – Т. 156. – №. 7. – С. 1411-1420.
7. Anderson P. A. V., Schwab W. E. The organization and structure of nerve and muscle in the jellyfish *Cyanea capillata* (Coelenterata; Scyphozoa) //Journal of Morphology. – 1981. – Т. 170. – №. 3. – С. 383-399.
8. Arai M. N. A functional biology of Scyphozoa. – Springer Science & Business Media, 1997.
9. Arai M. N. The potential importance of podocysts to the formation of scyphozoan blooms: a review //Jellyfish blooms: causes, consequences, and recent advances. – Springer, Dordrecht, 2008. – С. 241-246.
10. Arendt D. Elementary nervous systems //Philosophical Transactions of the Royal Society B. – 2021. – Т. 376. – №. 1821. – С. 20200347.
11. Arendt D., Tosches M. A., Marlow H. From nerve net to nerve ring, nerve cord and brain— evolution of the nervous system //Nature Reviews Neuroscience. – 2016. – Т. 17. – №. 1. – С. 61.
12. Arnone M. I., Byrne M., Martinez P. Echinodermata //Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 6. – Springer, Vienna, 2015. – С. 1-58.
13. Attenborough R. M. F., Hayward D. C., Wiedemann U., Forêt S., Miller D. J., Ball E. E. Expression of the neuropeptides RFamide and LWamide during development of the coral *Acropora millepora* in relation to settlement and metamorphosis //Developmental biology. – 2019. – Т. 446. – №. 1. – С. 56-67.
14. Aufschnaiter R., Wedlich-Söldner R., Zhang X., Hobmayer B. Apical and basal epitheliomuscular F-actin dynamics during *Hydra* bud evagination //Biology open. – 2017. – Т. 6. – №. 8. – С. 1137-1148.
15. Avian M. et al. Asexual reproduction and strobilation of *Sanderia malayensis* (Scyphozoa, Pelagiidae) in relation to temperature: experimental evidence and implications //Diversity. – 2021. – Т. 13. – №. 2. – С. 37.

16. Badhiwala K. N., Primack A. S., Juliano C., Robinson J. T. Multiple nerve rings coordinate *Hydra* mechanosensory behavior //bioRxiv. – 2020. – C. 2020.10. 16.343384.
17. Baguñà J., Martínez P., Paps J., Riutort M. Back in time: a new systematic proposal for the Bilateria //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2008. – T. 363. – №. 1496. – C. 1481-1491.
18. Balcer L. J., Black R. E. Budding and strobilation in *Aurelia* (Scyphozoa, Cnidaria): Functional requirement and spatial patterns of nucleic acid synthesis //Roux's archives of developmental biology. – 1991. – T. 200. – №. 1. – C. 45-50.
19. Batham E. J., Pantin C. F. A. The organization of the muscular system of *Metridium senile* //Journal of Cell Science. – 1951. – T. 3. – №. 17. – C. 27-54.
20. Bigelow R. P. On a new species of *Cassiopea* from Jamaica. – 1892.
21. Bigelow R. P. The anatomy and development of *Cassiopea xamachana*. – Boston Society of natural history, 1900.
22. Bocharova E. Reproduction of sea anemones and other hexacorals //The Cnidaria, Past, Present and Future. – Springer, Cham, 2016. – C. 239-248.
23. Bocharova E. S., Kosevich I. A. Варианты размножения актиний (Cnidaria, Anthozoa) //Зоологический журнал. – 2011. – Т. 90. – №. 11. – C. 1283-1295.
24. Bode H. R. The head organizer in *Hydra* //International Journal of Developmental Biology. – 2012. – Т. 56. – №. 6-7-8. – C. 473-478.
25. Boero F., Bouillon J., Piraino S. The role of Cnidaria in evolution and ecology //Italian Journal of Zoology. – 2005. – Т. 72. – №. 1. – C. 65-71.
26. Bosch T. C. G. et al. Back to the basics: cnidarians start to fire //Trends in neurosciences. – 2017. – Т. 40. – №. 2. – C. 92-105.
27. Browne E. N. The production of new hydranths in hydra by the insertion of small grafts //Journal of Experimental Zoology. – 1909. – Т. 7. – №. 1. – C. 1-23.
28. Burnett A. L., Diehl N. A. The nervous system of *Hydra*. I. Types, distribution and origin of nerve elements //Journal of Experimental Zoology. – 1964. – Т. 157. – №. 2. – C. 217-226.
29. Burton P. M., Finnerty J. R. Conserved and novel gene expression between regeneration and asexual fission in *Nematostella vectensis* //Development genes and evolution. – 2009. – Т. 219. – №. 2. – C. 79-87.
30. Calder D. R. Laboratory observations on the life history of *Rhopilema verrilli* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 1973. – Т. 21. – №. 2. – C. 109-114.
31. Calder D. R. Life history of the cannonball jellyfish, *Stomolophus meleagris* L. Agassiz, 1860 (Scyphozoa, Rhizostomida) //The Biological Bulletin. – 1982. – Т. 162. – №. 2. – C. 149-162.
32. Campbell R. D. Cell proliferation in hydra: An autoradiographic approach //Science. – 1965. – Т. 148. – №. 3674. – C. 1231-1232.

33. Carlgren, O. A survey of the Ptychodactiaria, Corallimorpharia and Actiniaria / O. Carlgren // Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar. – 1949. – V. 1. – P. 1 – 121.
34. Chapman D. M. A new type of muscle cell from the subumbrella of *Obelia* //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1968. – T. 48. – №. 3. – C. 667-688.
35. Chapman D. M. Cnidarian histology. – Academic Press, New York, 1974. – C. 1-92.
36. Chapman D. M. Further observations on podocyst formation //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1970. – T. 50. – №. 1. – C. 107-111.
37. Chapman D. M. Microanatomy of the cubopolyp, *Tripedalia cystophora* (Class Cubozoa) //Helgolaender wissenschaftliche meeresuntersuchungen. – 1978. – T. 31. – №. 1. – C. 128.
38. Chapman D. M. Reextension mechanism of a scyphistoma's tentacle //Canadian Journal of Zoology. – 1970. – T. 48. – №. 5. – C. 931-943.
39. Chapman D. M. Structure, histochemistry and formation of the podocyst and cuticle of *Aurelia aurita* //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1968. – T. 48. – №. 1. – C. 187-208.
40. Chia F. S., Amerongen H. M., Peteya D. J. Ultrastructure of the neuromuscular system of the polyp of *Aurelia aurita* L., 1758 (Cnidaria, Scyphozoa) //Journal of morphology. – 1984. – T. 180. – №. 1. – C. 69-79.
41. Clarkson S. G., Wolpert L. Bud morphogenesis in *Hydra* //Nature. – 1967. – T. 214. – №. 5090. – C. 780-783.
42. Collins A. G. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles //Journal of Evolutionary Biology. – 2002. – T. 15. – №. 3. – C. 418-432.
43. Collins A. G. Recent insights into cnidarian phylogeny //Smithsonian contributions to the marine sciences. – 2009. – №. 38.
44. Concas A., Imperatore R., Santoru F., Locci A., Porcu P., Cristino L., Pierobon P. Immunochemical localization of GABA A receptor subunits in the freshwater polyp *Hydra vulgaris* (Cnidaria, Hydrozoa) //Neurochemical research. – 2016. – T. 41. – №. 11. – C. 2914-2922.
45. Coppari M., Mestice F., Betti F., Bavestrello G., Castellano L., Bo, M. Fragmentation, re-attachment ability and growth rate of the Mediterranean black coral *Antipathella subpinnata* //Coral Reefs. – 2019. – T. 38. – №. 1. – C. 1-14.
46. Cornelius P. F. S. Medusa loss in leptolid Hydrozoa (Cnidaria), hydroid rafting, and abbreviated life-cycles among their remote-island faunae: An interim review //Sci. mar. – 1992. – T. 56. – №. 2. – C. 245-261.
47. Courtney R., Browning S., Seymour J. Early life history of the 'Irukandji' jellyfish *Carukia barnesi* //PloS one. – 2016. – T. 11. – №. 3.

48. Curtis S. K., Cowden R. R. Some aspects of regeneration in the scyphistoma of *Cassiopea* (Class Scyphozoa) as revealed by the use of antimetabolites and microspectrophotometry //American Zoologist. – 1974. – T. 14. – №. 2. – C. 851-866.
49. Daly M. et al. The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. – 2007.
50. Daly M., Fautin D. G., Cappola V. A. Systematics of the hexacorallia (Cnidaria: Anthozoa) //Zoological Journal of the Linnean Society. – 2003. – T. 139. – №. 3. – C. 419-437.
51. Darling J. A. Reitzel A. R., Burton P. M., Mazza M. E., Ryan J. F., Sullivan J. C., Finnerty J. R. Rising starlet: the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis* //Bioessays. – 2005. – T. 27. – №. 2. – C. 211-221.
52. Davis L. E., Burnett A. L., Haynes J. F., Osborne D. G., Spear M. L. Histological and ultrastructural study of the muscular and nervous systems in *Hydra*. II. Nervous system //Journal of Experimental Zoology. – 1968. – T. 167. – №. 3. – C. 295-331.
53. Fautin D. G. Reproduction of cnidaria //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1735-1754.
54. Fischer A. B., Hofmann D. K. Budding, bud morphogenesis, and regeneration in *Carybdea marsupialis* Linnaeus, 1758 (Cnidaria: Cubozoa) //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1-3. – C. 331-337.
55. Fleck J., Hofmann D. K. The efficiency of metamorphosis inducing oligopeptides in *Cassiopea* species (Cnidaria: Scyphozoa) depends on both primary structure and amino- and carboxy terminal substituents //Verh Dtsch Zool Ges. – 1990. – T. 83. – C. 452-453.
56. Frank P., Bleakney J. S. Histology and sexual reproduction of the anemone *Nematostella vectensis* Stephenson 1935 //Journal of Natural History. – 1976. – T. 10. – №. 4. – C. 441-449.
57. Fuentes V. et al. Life cycle of the jellyfish *Rhizostoma pulmo* (Scyphozoa: Rhizostomeae) and its distribution, seasonality and inter-annual variability along the Catalan coast and the Mar Menor (Spain, NW Mediterranean) //Marine Biology. – 2011. – T. 158. – №. 10. – C. 2247-2266.
58. Galliot B. Hydra, a fruitful model system for 270 years //International Journal of Developmental Biology. – 2012. – T. 56. – №. 6-7-8. – C. 411-423.
59. Garm A., Ekström P., Boudes M., Nilsson D. E. Rhopalia are integrated parts of the central nervous system in box jellyfish //Cell and tissue research. – 2006. – T. 325. – №. 2. – C. 333-343.
60. Garm A., Poussart Y., Parkefelt L., Ekström P., Nilsson D. E. The ring nerve of the box jellyfish *Tripedalia cystophora* //Cell and tissue research. – 2007. – T. 329. – №. 1. – C. 147-157.
61. Geller J. B., Fitzgerald L. J., King C. E. Fission in sea anemones: integrative studies of life cycle evolution //Integrative and Comparative Biology. – 2005. – T. 45. – №. 4. – C. 615-622.
62. Genikhovich G. et al. Axis patterning by BMPs: cnidarian network reveals evolutionary constraints //Cell reports. – 2015. – T. 10. – №. 10. – C. 1646-1654.

63. Gilchrist F. G. Budding and locomotion in the scyphistomas of *Aurelia* //The Biological Bulletin. – 1937. – T. 72. – №. 1. – C. 99-124.
64. Girosi L., Ramoino P., Diaspro A., Gallus L., Ciarcia G., Tagliafierro G. FMRFamide-like immunoreactivity in the sea-fan *Eunicella cavolini* (Cnidaria: Octocorallia) //Cell and tissue research. – 2005. – T. 320. – №. 2. – C. 331-336.
65. Gohar H. A. F. The development of *Cassiopea andromeda* //Publication of the Marine Biological Station, Ghardaqa, Red Sea. – 1960. – T. 11. – C. 147-190.
66. Golz R. Occurrence and distribution of RFamide-positive neurons within the polyps of *Coryne* sp. (Hydrozoa, Corynidae) //The Biological Bulletin. – 1994. – T. 186. – №. 1. – C. 115-123.
67. Graf L., Gierer A. Size, shape and orientation of cells in budding hydra and regulation of regeneration in cell aggregates //Wilhelm Roux's archives of developmental biology. – 1980. – T. 188. – №. 2. – C. 141-151.
68. Gravier-Bonnet N., Bourmaud C. Cloning by releasing specialized frustules in a successful epiphytic zooxanthellate haleciid (Cnidaria, Hydrozoa, Haleciidae), with comments on stolonization and frustulation //Invertebrate Reproduction & Development. – 2005. – T. 48. – №. 1-3. – C. 63-69.
69. Grimmelikhuijzen C. J. P., Dockray G. J., Schot L. P. C. FMRFamide-like immunoreactivity in the nervous system of hydra //Histochemistry. – 1982. – T. 73. – №. 4. – C. 499-508.
70. Grimmelikhuijzen C. J. P., Graff D., Koizumi O., Westfall J. A., McFarlane, I. D. Neurons and their peptide transmitters in coelenterates //Evolution of the first nervous systems. – Springer, Boston, MA, 1989. – C. 95-109.
71. Grimmelikhuijzen C. J. P., Williamson M., Hansen G. N. Neuropeptides in cnidarians //Cell signalling in prokaryotes and lower Metazoa. – Springer, Dordrecht, 2004. – C. 115-139.
72. Gründer S., Assmann M. Peptide-gated ion channels and the simple nervous system of *Hydra* //Journal of Experimental Biology. – 2015. – T. 218. – №. 4. – C. 551-561.
73. Gueroun S. K. M., Torres T. M., Dos Santos A., Vasco-Rodrigues N., Canning-Clode J., Andrade C. *Catostylus tagi* (Class: Scyphozoa, Order: Discomedusae, Suborder: Rhizostomida, Family: Catostylidae) life cycle and first insight into its ecology //PeerJ. – 2021. – T. 9. – C. e12056.
74. Han C. H., Uye S. Combined effects of food supply and temperature on asexual reproduction and somatic growth of polyps of the common jellyfish *Aurelia aurita* sl //Plankton and Benthos Research. – 2010. – T. 5. – №. 3. – C. 98-105.
75. Hansen G. N., Williamson M., Grimmelikhuijzen C. J. A new case of neuropeptide coexpression (RFamide and LWamides) in *Hydra*, found by whole-mount, two-color double-labeling in situ hybridization //Cell and tissue research. – 2002. – T. 308. – №. 1. – C. 157-165.
76. Hasse C. et al. FGFR-ERK signaling is an essential component of tissue separation //Developmental biology. – 2014. – T. 395. – №. 1. – C. 154-166.

77. Haynes J. F., Burnett A. L., Davis L. E. Histological and ultrastructural study of the muscular and nervous systems in *Hydra*. I. The muscular system and the mesoglea //Journal of Experimental Zoology. – 1968. – T. 167. – №. 3. – C. 283-293.
78. Helm R. R. Evolution and development of scyphozoan jellyfish //Biological reviews. – 2018. – T. 93. – №. 2. – C. 1228-1250.
79. Helm R. R., Tiozzo S., Lilley M. K., Lombard F., Dunn, C. W. Comparative muscle development of scyphozoan jellyfish with simple and complex life cycles //EvoDevo. – 2015. – T. 6. – №. 1. – C. 1-10.
80. Highsmith R. C. Reproduction by fragmentation in corals //Marine ecology progress series. Oldendorf. – 1982. – T. 7. – №. 2. – C. 207-226.
81. Hobmayer B. et al. WNT signalling molecules act in axis formation in the diploblastic metazoan *Hydra* //Nature. – 2000. – T. 407. – №. 6801. – C. 186-189.
82. Hofmann D. K., Honegger T. G. Bud formation and metamorphosis in *Cassiopea andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa): a developmental and ultrastructural study //Marine biology (Berlin). – 1990. – T. 105. – №. 3. – C. 509-518.
83. Hofmann D. K., Fitt W. K., Fleck J. Checkpoints in the life-cycle of *Cassiopea* spp.: control of metagenesis and metamorphosis in a tropical jellyfish //International Journal of Developmental Biology. – 2003. – T. 40. – №. 1. – C. 331-338.
84. Hofmann D. K., Gottlieb M. Bud formation in the scyphozoan *Cassiopea andromeda*: epithelial dynamics and fate map //Coelenterate Biology: Recent Research on Cnidaria and Ctenophora. – Springer, Dordrecht, 1991. – C. 53-59.
85. Hofmann D. K., Hellmann M. Studies in the Reef-dwelling Cnidarian *Cassiopea* spp.: RF-amide positive elements of the nervous system at different stages of development //Beitr Paläont. – 1995. – T. 20. – C. 21-29.
86. Hofmann D. K., Neumann R., Henne K. Strobilation, budding and initiation of scyphistoma morphogenesis in the rhizostome *Cassiopea andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa) //Marine Biology. – 1978. – T. 47. – №. 2. – C. 161-176.
87. Holland B. S., Dawson M. N., Crow G. L., Hofmann D. K. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands //Marine Biology. – 2004. – T. 145. – №. 6. – C. 1119-1128.
88. Holland N. D. Early central nervous system evolution: an era of skin brains? //Nature Reviews Neuroscience. – 2003. – T. 4. – №. 8. – C. 617-627.
89. Holst S., Sötje I., Tiemann H., Jarms G. Life cycle of the rhizostome jellyfish *Rhizostoma octopus* (L.) (Scyphozoa, Rhizostomeae), with studies on cnidocysts and statoliths //Marine Biology. – 2007. – T. 151. – №. 5. – C. 1695-1710.
90. Holstein T. W., Hobmayer E., David C. N. Pattern of epithelial cell cycling in hydra //Developmental biology. – 1991. – T. 148. – №. 2. – C. 602-611.

91. Hubot N., Lucas C. H., Piraino S. Environmental control of asexual reproduction and somatic growth of *Aurelia* spp. (Cnidaria, Scyphozoa) polyps from the Adriatic Sea //PloS one. – 2017. – T. 12. – №. 6.
92. Ikeda H., Mizota C., Uye S. Bioenergetic characterization in *Aurelia aurita* (Cnidaria: Scyphozoa) polyps and application to natural polyp populations //Marine Ecology Progress Series. – 2017. – T. 568. – C. 87-100.
93. Ikeda H., Ohtsu K., Uye S. I. Fine structure, histochemistry, and morphogenesis during excystment of the podocysts of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa, Rhizostomeae) //The Biological Bulletin. – 2011. – T. 221. – №. 3. – C. 248-260.
94. Ishii H., Watanabe T. Experimental study of growth and asexual reproduction in *Aurelia aurita* polyps //Sessile Organisms. – 2003. – T. 20. – №. 2. – C. 69-73.
95. Isomura N., Hamada K., Nishihira M. Internal brooding of clonal propagules by a sea anemone, *Anthopleura* sp //Invertebrate Biology. – 2003. – T. 122. – №. 4. – C. 293-298.
96. Jahnel S. M., Walzl M., Technau U. Development and epithelial organization of muscle cells in the sea anemone *Nematostella vectensis* //Frontiers in zoology. – 2014. – T. 11. – №. 1. – C. 44.
97. Jarms G., Båmstedt U., Tiemann H., Martinussen M. B., Fosså J. H., Høisøter T. The holopelagic life cycle of the deep-sea medusa *Periphylla periphylla* (Scyphozoa, Coronatae) //Sarsia. – 1999. – T. 84. – №. 1. – C. 55-65.
98. Kass-Simon G., Pierobon P. Cnidarian chemical neurotransmission, an updated overview //Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2007. – T. 146. – №. 1. – C. 9-25.
99. Katsuki T., Greenspan R. J. Jellyfish nervous systems //Current Biology. – 2013. – T. 23. – №. 14. – C. R592-R594.
100. Kawahara M., Uye S. I., Ohtsu K., Iizumi H. Unusual population explosion of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae) in East Asian waters //Marine Ecology Progress Series. – 2006. – T. 307. – C. 161-173.
101. Kelava I., Rentzsch F., Technau U. Evolution of eumetazoan nervous systems: insights from cnidarians //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2015. – T. 370. – №. 1684. – C. 20150065.
102. Khabibulina V., Starunov V. 2021 Proliferation activity in the polyps of *Cassiopea xamachana*: where the planuloid buds grow //Biological Communications. – 2021. – T. 66. – №. 4. – C. 333–340.
103. Khabibulina V., Starunov V. FMRFamide immunoreactive nervous system in the adult *Cassiopeia xamachana* scyphopolyp and at the early stages of planuloid formation //Invertebrate Zoology. – 2020. – T. 17. – №. 4. – C. 371-384.
104. Khabibulina V., Starunov V. Musculature development in planuloids of *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Zoomorphology. – 2019. – T. 138. – №. 3. – C. 297-306.

105. Kienberger K., Riera-Buch M., Schönemann A. M., Bartsch V., Halbauer R., Prieto L. First description of the life cycle of the jellyfish *Rhizostoma luteum* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //PloS one. – 2018. – T. 13. – №. 8. – C. e0202093.
106. Kikinger R. *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria: Scyphozoa) - Life history of a stationary population //Marine Ecology. – 1992. – T. 13. – №. 4. – C. 333-362.
107. Koizumi O. Nerve ring of the hypostome in hydra: is it an origin of the central nervous system of bilaterian animals? //Brain, behavior and evolution. – 2007. – T. 69. – №. 2. – C. 151-159.
108. Koizumi O. Origin and evolution of the nervous system considered from the diffuse nervous system of cnidarians //The Cnidaria, past, present and future. – Springer, Cham, 2016. – C. 73-91.
109. Koizumi O., Hamada S., Minobe S., Hamaguchi-Hamada K., Kurumata-Shigeto M., Nakamura M., Namikawa H. The nerve ring in cnidarians: its presence and structure in hydrozoan medusae //Zoology. – 2015. – T. 118. – №. 2. – C. 79-88.
110. Koizumi O., Itazawa M., Mizumoto H., Minobe S., Javois L. C., Grimmelikhuijzen C. J., Bode H. R. Nerve ring of the hypostome in hydra. I. Its structure, development, and maintenance //Journal of Comparative Neurology. – 1992. – T. 326. – №. 1. – C. 7-21.
111. Lampert K. P. *Cassiopea* and its zooxanthellae //The Cnidaria, Past, Present and Future. – Springer, Cham, 2016. – C. 415-423.
112. Leclère L. et al. Hydrozoan insights in animal development and evolution //Current Opinion in Genetics & Development. – 2016. – T. 39. – C. 157-167.
113. Leclère L., Röttinger E. Diversity of cnidarian muscles: function, anatomy, development and regeneration //Frontiers in cell and developmental biology. – 2017. – T. 4. – C. 157.
114. Leeuwenhoek A. V. IV. Part of a letter from Mr Antony van Leeuwenhoek, FRS concerning green weeds growing in water, and some animalcula found about them //Philosophical transactions of the Royal Society of London. – 1753. – T. 23. – №. 283. – C. 1304-1311.
115. Lewis A. C. Medusa: a review of an ancient cnidarian body form //Marine organisms as model systems in biology and medicine. – 2018. – C. 105-136.
116. Lichtneckert R., Reichert H. Origin and evolution of the first nervous system //Evolutionary neuroscience. – 2009. – C. 51-78.
117. Lotan A., Ben-Hillel R., Loya Y. Life cycle of *Rhopilema nomadica*: a new immigrant scyphomedusan in the Mediterranean //Marine Biology. – 1992. – T. 112. – №. 2. – C. 237-242.
118. Lucas C. H., Graham W. M., Widmer C. Jellyfish life histories: role of polyps in forming and maintaining scyphomedusa populations //Advances in marine biology. – Academic Press, 2012. – T. 63. – C. 133-196.
119. Mackie G. O. Central neural circuitry in the jellyfish *Aglantha* //Neurosignals. – 2004. – T. 13. – №. 1-2. – C. 5-19.

120. Mackie G. O., Passano L. M. Epithelial conduction in hydromedusae //The Journal of general physiology. – 1968. – T. 52. – №. 4. – C. 600-621.
121. Mackie G. O., Singla C. L., Stell W. K. Distribution of nerve elements showing FMRFamide-like immunoreactivity in hydromedusae //Acta Zoologica. – 1985. – T. 66. – №. 4. – C. 199-210.
122. Marlow H. Q., Srivastava M., Matus D. Q., Rokhsar D., Martindale M. Q. Anatomy and development of the nervous system of *Nematostella vectensis*, an anthozoan //Developmental neurobiology. – 2009. – T. 69. – №. 4. – C. 235-254.
123. Martin V. J. Characterization of a RFamide-positive subset of ganglionic cells in the hydrozoan planular nerve net //Cell and tissue research. – 1992. – T. 269. – №. 3. – C. 431-438.
124. Martin V. J. Photoreceptors of cnidarians //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1703-1722.
125. Martin V. J. Reorganization of the nervous system during metamorphosis of a hydrozoan planula //Invertebrate Biology. – 2000. – T. 119. – №. 3. – C. 243-253.
126. Martin V. J., Chia F. S. Fine structure of a scyphozoan planula, *Cassiopeia xamachana* //The Biological Bulletin. – 1982. – T. 163. – №. 2. – C. 320-328.
127. Matsuno A., Kawaguti S. An ultrastructural study of the polyp and strobila of *Atorella japonica* (Cnidaria, Coronatae) with respect to muscles and nerves //Hydrobiologia. – Kluwer Academic Publishers, 1991. – T. 216. – №. 1. – C. 39-43.
128. Mayorova T. D., Kosevich I. A. Serotonin-immunoreactive neural system and contractile system in the hydroid *Cladonema* (Cnidaria, Hydrozoa) //Invertebrate Neuroscience. – 2013. – T. 13. – №. 2. – C. 99-106.
129. Mayorova T. D., Kosevich I. A., Melekhova O. P. On some features of embryonic development and metamorphosis of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) //Russian journal of developmental biology. – 2012. – T. 43. – №. 5. – C. 271-285.
130. Mayorova T., Kosevich I. FMRF-amide immunoreactivity pattern in the planula and colony of the hydroid *Gonothyrea loveni* //Zoology. – 2013. – T. 116. – №. 1. – C. 9-19.
131. Miyake H., Honda S., Nishikawa J., Yusoff F. M. Life Cycle of Edible Jellyfish *Acromitus hardenbergi* Stiasny, 1934 (Scyphozoa: Rhizostomeae) Inhabiting a Brackish-Water Environment //Animals. – 2021. – T. 11. – №. 7. – C. 2138.
132. Morandini A. C., Da Silveira F. L., Jarms G. The life cycle of *Chrysaora lactea* Eschscholtz, 1829 (Cnidaria, Scyphozoa) with notes on the scyphistoma stage of three other species //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1. – C. 347-354.
133. Morandini A. C., Stampar S. N., Migotto A. E., Marques A. C. *Hydrocoryne iemanja* (Cnidaria), a new species of Hydrozoa with unusual mode of asexual reproduction //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2009. – T. 89. – №. 1. – C. 67-76.

134. Mueller J. F. Some observations on the structure of hydra, with particular reference to the muscular system //Transactions of the American Microscopical Society. – 1950. – T. 69. – №. 2. – C. 133-147.
135. Münder S., Käsbauer T., Prexl A., Aufschnaiter R., Zhang X., Towb P., Böttger A. Notch signalling defines critical boundary during budding in *Hydra* //Developmental biology. – 2010. – T. 344. – №. 1. – C. 331-345.
136. Nakanishi N., Hartenstein V., Jacobs D. K. Development of the rhopial nervous system in *Aurelia* sp. 1 (Cnidaria, Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2009. – T. 219. – №. 6. – C. 301-317.
137. Nakanishi N., Renfer E., Technau U., Rentzsch F. Nervous systems of the sea anemone *Nematostella vectensis* are generated by ectoderm and endoderm and shaped by distinct mechanisms //Development. – 2012. – T. 139. – №. 2. – C. 347-357.
138. Nakanishi N., Yuan D., Jacobs D. K., Hartenstein V. Early development, pattern, and reorganization of the planula nervous system in *Aurelia* (Cnidaria, Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2008. – T. 218. – №. 10. – C. 511-524.
139. Nath R. D. et al. The jellyfish *Cassiopea* exhibits a sleep-like state //Current Biology. – 2017. – T. 27. – №. 19. – C. 2984-2990. e3.
140. Noro Y. et al. Regionalized nervous system in *Hydra* and the mechanism of its development //Gene Expression Patterns. – 2019. – T. 31. – C. 42-59.
141. Noro Y., Shimizu H., Mineta K., Gojobori T. A single neuron subset governs a single coactive neuron circuit in *Hydra vulgaris*, representing a possible ancestral feature of neural evolution //Scientific reports. – 2021. – T. 11. – №. 1. – C. 1-12.
142. Ohdera A. et al. Box, stalked, and upside-down? Draft genomes from diverse jellyfish (Cnidaria, Acraspeda) lineages: *Alatina alata* (Cubozoa), *Calvadosia cruxmelitensis* (Staurozoa), and *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa) //GigaScience. – 2019. – T. 8. – №. 7. – C. giz069
143. Ohdera A. H. et al. Upside-down but headed in the right direction: review of the highly versatile *Cassiopea xamachana* system //Frontiers in Ecology and Evolution. – 2018. – T. 6. – C. 35.
144. Osadchenko B. V., Kraus Y. A. Trachylina: The Group That Remains Enigmatic Despite 150 Years of Investigations //Russian Journal of Developmental Biology. – 2018. – T. 49. – №. 3. – C. 134-145.
145. Östman C. Abundance, feeding behaviour and nematocysts of scyphopolyps (Cnidaria) and nematocysts in their predator, the nudibranch *Coryphella verrucosa* (Mollusca) //Interactions and Adaptation Strategies of Marine Organisms. – Springer, Dordrecht, 1997. – C. 21-28.
146. Otto J. J. Orientation and behavior of epithelial cell muscle processes during *Hydra budding* //Journal of Experimental Zoology. – 1977. – T. 202. – №. 3. – C. 307-321.

147. Otto J. J., Campbell R. D. Budding in *Hydra attenuata*: bud stages and fate map //Journal of Experimental Zoology. – 1977. – T. 200. – №. 3. – C. 417-428.
148. Pallasdies F., Goedeke S., Braun W., Memmesheimer R. M. From single neurons to behavior in the jellyfish *Aurelia aurita* //Elife. – 2019. – T. 8. – C. e50084.
149. Pennati R., Dell'Anna A., Pagliara P., Scari G., Piraino S., De Bernardi F. Neural system reorganization during metamorphosis in the planula larva of *Clava multicornis* (Hydrozoa, Cnidaria) //Zoomorphology. – 2013. – T. 132. – №. 3. – C. 227-237.
150. Pernet V., Anctil M., Grimmelikhuijzen C. J. P. Antho-RFamide-containing neurons in the primitive nervous system of the anthozoan *Renilla koellikeri* //Journal of Comparative Neurology. – 2004. – T. 472. – №. 2. – C. 208-220.
151. Pitt K. A. Life history and settlement preferences of the edible jellyfish *Catostylus mosaicus* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 2000. – T. 136. – №. 2. – C. 269-279.
152. Plickert G., Jacoby V., Frank U., Müller W. A., Mokady O. Wnt signaling in hydroid development: formation of the primary body axis in embryogenesis and its subsequent patterning //Developmental biology. – 2006. – T. 298. – №. 2. – C. 368-378.
153. Plickert G., Schneider B. Neuropeptides and photic behavior in Cnidaria //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1-3. – C. 49-57.
154. Purcell J. E. Climate effects on formation of jellyfish and ctenophore blooms: a review //Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2005. – T. 85. – №. 3. – C. 461.
155. Raikova E. V., Ibragimov A. Y., Raikova O. I. Muscular system of a peculiar parasitic cnidarian *Polypodium hydriforme*: a phalloidin fluorescence study //Tissue and Cell. – 2007. – T. 39. – №. 2. – C. 79-87.
156. Raikova E. V., Raikova O. I. Nervous system immunohistochemistry of the parasitic cnidarian *Polypodium hydriforme* at its free-living stage //Zoology. – 2016. – T. 119. – №. 2. – C. 143-152.
157. Reitzel A. M., Burto P. M., Krone C., Finnerty J. R. Comparison of developmental trajectories in the starlet sea anemone *Nematostella vectensis*: embryogenesis, regeneration, and two forms of asexual fission //Invertebrate Biology. – 2007. – T. 126. – №. 2. – C. 99-112.
158. Reitzel A. M., Stefanik D., Finnerty J. R. Asexual reproduction in cnidarian: Comparative developmental processes and candidate mechanisms //Mechanisms of life history evolution: The genetics and physiology of life history traits and trade--offs. – 2011. – C. 101-113.
159. Rippingale R. J., Kelly S. J. Reproduction and survival of *Phyllorhiza punctata* (Cnidaria: Rhizostomeae) in a seasonally fluctuating salinity regime in Western Australia //Marine and Freshwater Research. – 1995. – T. 46. – №. 8. – C. 1145-1151.

160. Sakaguchi M., Imai Y., Nomoto S. The presence and distribution of RFamide-like immunoreactive nerve fibers in scyphistomae of *Aurelia aurita* //Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 1999. – T. 122. – №. 2. – C. 261-266.
161. Sakaguchi M., Mizusina A., Kobayakawa Y. Structure, development, and maintenance of the nerve net of the body column in *Hydra* //Journal of Comparative Neurology. – 1996. – T. 373. – №. 1. – C. 41-54.
162. Sandrini L. R., Avian M. Biological cycle of *Pelagia noctiluca*: morphological aspects of the development from planula to ephyra //Marine Biology. – 1983. – T. 74. – №. 2. – C. 169-174.
163. Santhanam R. Biology and ecology of venomous marine Cnidarians. – Thoothukudi : Springer, 2020. – C. 7-27.
164. Satterlie R. A. Do jellyfish have central nervous systems? //Journal of Experimental Biology. – 2011. – T. 214. – №. 8. – C. 1215-1223.
165. Satterlie R. A. Neuronal control of swimming in jellyfish: a comparative story //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1654-1669.
166. Satterlie R. A., Eichinger J. M. Organization of the ectodermal nervous structures in jellyfish: scyphomedusae //The Biological Bulletin. – 2014. – T. 226. – №. 1. – C. 29-40.
167. Satterlie R. A., Thomas K. S., Gray G. C. Muscle organization of the cubozoan jellyfish *Tripedalia cystophora* Conant 1897 //The Biological Bulletin. – 2005. – T. 209. – №. 2. – C. 154-163.
168. Schiariti A., Kawahara M., Uye S., Mianzan H. W. Life cycle of the jellyfish *Lychnorhiza lucerna* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 2008. – T. 156. – №. 1. – C. 1-12.
169. Schiariti A., Morandini A. C., Jarms G., von Glehn Paes R., Franke S., Mianzan H. Asexual reproduction strategies and blooming potential in Scyphozoa //Marine Ecology Progress Series. – 2014. – T. 510. – C. 241-253.
170. Seipel K., Schmid V. Evolution of striated muscle: jellyfish and the origin of triploblasty //Developmental biology. – 2005. – T. 282. – №. 1. – C. 14-26.
171. Shostak S., Kankel D. R. Morphogenetic movements during budding in *Hydra* //Developmental biology. – 1967. – T. 15. – №. 5. – C. 451-463.
172. Singla C. L., Mackie G. O. Immunogold labelling of FMRamide-like neuropeptide in neurons of *Aglantha digitale* (Hydromedusae: Trachylina) //Canadian journal of zoology. – 1991. – T. 69. – №. 3. – C. 800-802.
173. Silveira da F. L., Morandini A. C. *Nausithoe aurea* n. sp. (Scyphozoa: Coronatae: Nausithoidae), a species with two pathways of reproduction after strobilation: sexual and asexual //Bijdragen tot de Dierkunde. – 1997. – T. 66. – №. 4. – C. 235-246.
174. Skogh C., Garm A., Nilsson D. E., Ekström P. Bilaterally symmetrical rhopalial nervous system of the box jellyfish *Tripedalia cystophora* //Journal of morphology. – 2006. – T. 267. – №. 12. – C. 1391-1405.

175. Slobodov S. A., Marfenin N. N. Reproduction of the colonial hydroid *Obelia geniculata* (L., 1758) (Cnidaria, Hydrozoa) in the White Sea //Coelenterate Biology 2003. – Springer, Dordrecht, 2004. – C. 383-388.
176. Spencer A. N. Neuropeptides in the Cnidaria //American Zoologist. – 1989. – T. 29. – №. 4. – C. 1213-1225.
177. Spencer A. N., Arkett S. A. Radial symmetry and the organization of central neurones in a hydrozoan jellyfish //Journal of Experimental Biology. – 1984. – T. 110. – №. 1. – C. 69-90.
178. Stampar S. N., Maronna M. M., Kitahara M. V., Reimer J. D., Beneti J. S., Morandini A. C. Ceriantharia in current systematics: life cycles, morphology and genetics //The Cnidaria, past, present and future. – Springer, Cham, 2016. – C. 61-72.
179. Steinmetz P. R. H. et al. Independent evolution of striated muscles in cnidarians and bilaterians //Nature. – 2012. – T. 487. – №. 7406. – C. 231-234.
180. Straehler-Pohl I., Jarms G. Morphology and life cycle of *Carybdea morandinii*, sp. nov. (Cnidaria), a cubozoan with zooxanthellae and peculiar polyp anatomy //Zootaxa. – 2011. – T. 2755. – №. 2. – C. 36-56.
181. Sugiura Y. On the life-history of rhizostome medusae I. *Mastigias papua*. Anotationes zoologicae japonensis. – 1963. – T. 36. – №. 4. – C. 194-202.
182. Sugiura Y. On the life-history of Rhizostome medusae IV. *Cephea cephea* //Embryologia. – 1966. – T. 9. – №. 2. – C. 105-122.
183. Swain T. D., Schellinger J. L., Strimaitis A. M., Reuter K. E. Evolution of anthozoan polyp retraction mechanisms: convergent functional morphology and evolutionary allometry of the marginal musculature in order Zoanthidea (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia) //BMC evolutionary biology. – 2015. – T. 15. – №. 1. – C. 123.
184. Szymanski J. R., Yuste R. Mapping the whole-body muscle activity of *Hydra vulgaris* //Current Biology. – 2019. – T. 29. – №. 11. – C. 1807-1817. e3.
185. Takahashi T. Comparative Aspects of Structure and Function of Cnidarian Neuropeptides //Frontiers in Endocrinology. – 2020. – T. 11. – C. 339.
186. Takahashi T., Takeda N. Insight into the molecular and functional diversity of cnidarian neuropeptides //International journal of molecular sciences. – 2015. – T. 16. – №. 2. – C. 2610-2625.
187. Takahashi-Iwanaga H., Koizumi O., Fujita T. Scanning electron microscopy of the muscle system of *Hydra magnipapillata* //Cell and tissue research. – 1994. – T. 277. – №. 1. – C. 79-86.
188. Thé J., Gamero-Mora E., da Silva M. V. C., Morandini A. C., Rossi S., de Oliveira Soares M. Non-indigenous upside-down jellyfish *Cassiopea andromeda* in shrimp farms (Brazil) //Aquaculture. – 2021. – T. 532. – C. 735999.

189. Thieme C., Hofmann D. K. Control of head morphogenesis in an invertebrate asexually produced larva-like bud (*Cassiopea andromeda*; Cnidaria: Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2003. – T. 213. – №. 3. – C. 127-133.
190. Toshino S. et al. Monodisc strobilation in Japanese giant box jellyfish *Morbakka virulenta* (Kishinouye, 1910): a strong implication of phylogenetic similarity between Cubozoa and Scyphozoa //Evolution & development. – 2015. – T. 17. – №. 4. – C. 231-239.
191. Trembley A. Mémoires pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce, à bras en forme de cornes. – Chez Jean & Herman Verbeek, 1744. – T. 1.
192. Underwood A. H., Straehler-Pohl I., Carrette T. J., Sleeman J., Seymour J. E. Early life history and metamorphosis in *Malo maxima* Gershwin, 2005 (Carukiidae, Cubozoa, Cnidaria) //Plankton and Benthos Research. – 2018. – T. 13. – №. 4. – C. 143-153.
193. Vagelli A. A. New observations on the asexual reproduction of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) with comments on its life cycle and adaptive significance //Invertebr Zool. – 2007. – T. 4. – №. 2. – C. 111-27.
194. Van Lieshout J. S., Martin V. J. Development of planuloid buds of *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Transactions of the American Microscopical Society. – 1992. – C. 89-110.
195. Watanabe H., Fujisawa T., Holstein T. W. Cnidarians and the evolutionary origin of the nervous system //Development, growth & differentiation. – 2009. – T. 51. – №. 3. – C. 167-183.
196. Webster G., Hamilton S. Budding in Hydra: the role of cell multiplication and cell movement in bud initiation //Development. – 1972. – T. 27. – №. 2. – C. 301-316.
197. Werner B. *Stephanoscyphus planulophorus* n. spec., ein neuer Scyphopolyp mit einem neuen Entwicklungsmodus //Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen. – 1971. – T. 22. – №. 1. – C. 120-140.
198. Werner B., Chapman D. M., Cutress C. E. Muscular and nervous systems of the cubopolyp (Cnidaria) //Experientia. – 1976. – T. 32. – №. 8. – C. 1047-1049.
199. Werner B., Cutress C. E., Studebaker J. P. Life cycle of *Tripedalia cystophora* Conant (cubomedusae) //Nature. – 1971. – T. 232. – №. 5312. – C. 582-583.
200. Westfall J. A. Ultrastructural evidence for neuromuscular systems in coelenterates //American Zoologist. – 1973. – T. 13. – №. 2. – C. 237-246.
201. Westfall J. A., Grimmelikhuijzen C. J. P. Antho-RFamide immunoreactivity in neuronal synaptic and nonsynaptic vesicles of sea anemones //The Biological Bulletin. – 1993. – T. 185. – №. 1. – C. 109-114.
202. Westfall J. A., Kinnamon J. C. A second sensory—motor—interneuron with neurosecretory granules in *Hydra* //Journal of neurocytology. – 1978. – T. 7. – №. 3. – C. 365-379.
203. Widmer C. L. Life Cycle of *Chrysaora fuscescens* (Cnidaria: Scyphozoa) and a Key to Sympatric Ephyrae1 //Pacific Science. – 2008. – T. 62. – №. 1. – C. 71-82.

204. Widmer C. L. Life cycle of *Phacellophora camtschatica* (Cnidaria: Scyphozoa) //Invertebrate Biology. – 2006. – T. 125. – №. 2. – C. 83-90.
205. Widmer C. L., Fox C. J., Brierley A. S. Effects of temperature and salinity on four species of northeastern Atlantic scyphistomae (Cnidaria: Scyphozoa) //Marine Ecology Progress Series. – 2016. – T. 559. – C. 73-88.
206. Williams R. B. Locomotory behaviour and functional morphology of *Nemalostella vectensis* (Anthozoa: Actiniaria: Edwardsiidae): a contribution to a comparative study of burrowing behaviour in athenarian sea anemones //Zoologische Verhandelingen. – 2003. – C. 437-484.
207. Wood R. L. The fine structure of the hypostome and mouth of hydra //Cell and tissue research. – 1979. – T. 199. – №. 2. – C. 319-338.
208. Yamaguchi M. Early life history of the sea wasp, *Chironex fleckeri* (Class Cubozoa) //Development and cellular biology of coelenterates. – 1980. – C. 11-16.
209. Yanze N., Spring J., Schmidli C., Schmid V. Conservation of Hox/ParaHox-related genes in the early development of a cnidarian //Developmental biology. – 2001. – T. 236. – №. 1. – C. 89-98.
210. Yuan D., Nakanishi N., Jacobs D. K., Hartenstein V. Embryonic development and metamorphosis of the scyphozoan *Aurelia* //Development genes and evolution. – 2008. – T. 218. – №. 10. – C. 525-539.
211. Yum S., Takahashi T., Hatta M., Fujisawa T. The structure and expression of a preprohormone of a neuropeptide, Hym-176 in *Hydra magnipapillata* //FEBS letters. – 1998. – T. 439. – №. 1-2. – C. 31-34.
212. Zimmerman K. L., Jamshidi A. D., Buckenberger A., Satterlie R. A. Organization of the subumbrellar musculature in the ephyra, juvenile, and adult stages of *Aurelia aurita* Medusae //Invertebrate Biology. – 2019. – T. 138. – №. 3. – C. e12260.
213. Zrzavý J., Mihulka S., Kepka P., Bezděk A., Tietz D. Phylogeny of the Metazoa based on morphological and 18S ribosomal DNA evidence //Cladistics. – 1998. – T. 14. – №. 3. – C. 249-285.

Saint-Petersburg University

As manuscript

Khabibulina Valeriia Ruslanovna

ORGANIZATION AND DEVELOPMENT OF THE NERVOUS AND MUSCULAR SYSTEM
DURING ASEXUAL REPRODUCTION OF THE POLYPOID STAGE OF CASSIOPEA
XAMACHANA (CNIDARIA: SCYPHOZOA)

Scientific specialization: 1.5.12. Zoology

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences

Translation from Russian

Scientific supervisor:
Candidate of Biological Science,
Starunov V. V.

Saint-Petersburg

2023

Contents

Introduction	75
Literature review	
1. Special features of the polyps' muscular and nervous systems organization in different Cnidaria groups	80
2. Asexual reproduction at the polyp stage in different groups of Cnidaria	84
Material and methods	90
Results	
1. Visual observations of the <i>Cassiopea xamachana</i> planuloid development	92
2. Musculature and nervous system of the adult <i>Cassiopea xamachana</i> polyp	94
3. Musculature and nervous system development in planuloids of <i>Cassiopea xamachana</i>	99
4. The EdU labeling during the bud growth, development and transformation of <i>Cassiopea xamachana</i> planuloid	103
5. The inheritance of photosymbionts by planuloids of <i>Cassiopea xamachana</i>	106
Discussion	
1. General morphology of the muscular and FMRFamidergic nervous system in polyps of <i>Cassiopea xamachana</i>	107
2. The development of musculature and nervous system in planuloid	111
Main results obtained	120
Conclusions	121
Acknowledgments	122
List of literature	123

Introduction

Relevance of work:

One of the important stages in Eumetazoa evolution is appearance of functionally connected muscle and nervous system (Daly et al., 2007 [49]; Lichtneckert, Reichert, 2009 [116]; Arendt, 2021 [10]). First phases of these systems differentiation are followed in Cnidaria. These animals have decentralized diffuse nervous system, without distinguished ganglions or nerve chords (Koizumi, 2007 [107]; Koizumi, 2016 [108]; Badhiwala et al., 2020 [16]). Their musculature in most cases is presented by myoepithelial cells, which possess the ability to transmit nerve impulse (Mackie, Passano, 1968 [120]; Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Such special features of neuromuscular system organization, which possibly resemble early evolutionary state, are most well-noticeable in polypoid stages of Cnidaria (Bosch et al, 2017 [26]). Wherein the organization of this system in medusoid cnidarian stages is getting more complicated, that is apparently connected with the transition to active locomotion and due to this – significant development of sensory organs (Satterlie, 2002 [165]; Seipel, Schmid, 2005 [170]; Satterlie, 2011 [164]; Katsuki, Greenspan, 2013 [99]; Lewis, 2018 [115]). Therefore, the investigation of neuromuscular systems of cnidarian polyps gives important information for first stages of contractile and signal function analysis at the level of true multicellular animals.

The spectra of studies, describing the structure of cnidarian neuromuscular system, is notably limited. The most detailed works, including descriptions of morphology (both histological and ultrastructural level) and molecular features of functioning and development are dedicated to model objects: *Hydra* sp. (Hydrozoa) (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Grimmelikhuijzen, 1982 [69]; Koizumi, 2007 [107]) and *Nematostella vectensis* (Anthozoa) (Darling et al., 2005 [51]; Marlow et al, 2009 [122]). Works on other cnidarians are concerned mainly some particular aspects of neuromuscular system organization. For example, there is extensive information of anthozoans muscle system at histological level, since special features of musculature are important for taxonomy inside the class (Carlgren, 1949 [33]; Daly, Fautin, Cappola, 2003 [50]; Swain et al., 2015 [183]; Stampar et al., 2016 [178]). Data of polyp's neuromuscular system structure in Scyphozoa and Cubozoa are limited by single studies of histology and ultrastructure (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). Thus, structure of nervous system and musculature of polyps in these cnidarian classes is least explored.

Data on formation of neuromuscular systems in ontogenesis of cnidarian polypoid stages are even scarcer. Most embryological, morphological and molecular studies are made only for *Hydra* spp. (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al, 1991 [90]; Hobmayer et al., 2012 [81]; Galliot, 2012 [58]) and some colonial hydrozoan polyps (Mayorova, Kosevich, 2013 [128]; Pennati et al., 2013 [149]; Leclère et al., 2016 [112]). Wherein it is important to note, that formation of the neuromuscular system in cnidarian ontogenesis may occur in several ways. Besides the primary differentiation after sexual

reproduction during metamorphosis in planula-larva, formation of neuromuscular elements takes place in asexual reproduction. Cnidarian polyps have a wide spectra of asexual reproduction types, including fragmentation, longitudinal and transversal division, formation of resting podocysts and frustules and various types of budding (Collins, 2002 [42]; Fautin, 2002 [53]). Among others the greatest attention is paid for lateral budding, which is particularly well-studied in hydra (Galliot, 2012 [58]). At the same time almost nothing is known about organogenesis during another, more specialized types of polyps budding.

One of these poorly-studied processes is budding, characteristic for species of Kolpophorae order (Cnidaria: Scyphozoa). It was firstly described in scyphopolyps of *Cassiopea* sp. (Bigelow, 1892 [20]). In *Cassiopea* sp. ciliary planula-like stages bud off, then after short period of swimming they settle and transform into polyps of new generation. Several phases of these bud formation were described with methods of histology, transmission and scanning electron microscopy (Hoffmann, Honegger, 1990 [82]; Van Lieshout, Martin, 1992 [194]). However general topology and development of different systems in these organisms are still not-studied.

All of the above determines the choice of investigation object, which allows (1) to get the whole picture of neuromuscular system topology in Scyphozoa polyps; (2) to follow the formation of neuromuscular system in polyp from early ontogenetic stages to definitive one; (3) to get detailed data on organogenesis during specialized asexual reproduction. *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae) fits these conditions perfectly. Polyps of this species are relatively small and thereby are convenient for different modern morphological investigations, which may base on previous histological and ultrastructural descriptions. Besides they are easy to culture and regularly from planuloid buds without any additional artificial induction by temperature or chemicals, which may influence the normal development of the bud.

Investigation of mentioned actual evolutionary questions of morphofunctional organization of weakly-differentiated neuromuscular systems and their formation in ontogenesis of polypoid stages now have a new possibility with routine use of confocal microscopy and immunohistochemical labeling. This method allows to visualize both general localization of nerve and muscular elements in the whole organism and special features of their localization in body parts. That fact determined the use of this method in our work. For nervous system visualization the labeling with antibodies against FMRFamide neuropeptide is used more often (Spencer, 1989 [176]; Takahashi, 2020 [185]). This led to the choice for this study the FMRFamidergic part of nervous system for better comparison of results. The important aspect in neuromuscular system development during ontogenesis of *C. xamachana* polyps, formed from planuloid bud, is comparison of these budding type with other ones, described in cnidaria. Not only following the fate of muscle and nerve elements is required for this, but also the detection of cell source for formation of new organism tissues. A few information of cell source search problem is dated mainly to the end of twentieth century and are dedicated to lateral budding in hydra (Holstein, Hobmayer, David, 1991 [90]). Modern methods of vital DNA replication detection with the help of 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) act with lesser

damage of animal, but still allow to reveal zones of active DNA synthesis and indirectly indicate localization of cell source for bud formation.

The theoretical and practical significance of the work:

This work is mainly fundamental. Received data might be useful for analysis of evolutionary trends on neuromuscular system development both inside the Cnidaria group and comparing to other basal Bilateria. Our data give new information for reconstruction of origin and evolution of polypoid stage in Cnidaria. Besides, data on special feature of budding process in Cassiopeidae have scientific value in light of question of cnidarian asexual reproduction and growth and cell divisions zone formation in invertebrate animals.

The schemes presented in this work might be used for educational purpose. Data on bud development potentially have practical meaning. Cassiopeidae species are often invasive and distribute with the help on motile bud. Our results might be applied for design of countermeasures to invasion, provided by this way.

The scientific novelty of work:

In this study the complete description of musculature and FMRFamide component of the nervous system organization in *Cassiopea xamachana* polyps was made with immunohistochemistry methods. It is a first work of this kind, which allows to characterize the structure of muscle and partly nervous system in the whole body, for polyps from Scyphozoa group. Also, at first time we followed the process of musculature formation in new generation polyps, which form due to special type of budding with planuloid buds. Besides we analyzed the tissue proliferative activity during the growth of planuloid bud, its independent development and metamorphosis.

Principal findings to be considered

1) The structure of muscle and FMRFamide component of the nervous system in polyps of *Cassiopea xamachana* corresponds to those in studied scyphozoan polyps. Such type of organization is, possibly, close to the ancestral state in Cnidaria.

2) Planuloid of *Cassiopea xamachana* is an intercalary stage in process of asexual reproduction by lateral budding, which provides effective distribution and fast metamorphosis into new generation polyp due to early development of polypoid type structures.

Publications and approbation of work:

On the materials of the thesis 3 scientific articles were published in the journals indexed by WoS and/or Scopus, and 4 publications in the proceedings of international and Russian conferences.

The main points and scientific findings of the thesis have been presented in conference reports:

- 1) Khabibulina V. R. “Development and metamorphosis of *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) planuloid buds”, Anniversary conference of 160 year of Invertebrate Zoology Department “Invertebrate Zoology – new century”, Moscow, 19-21 of December, 2018.
- 2) Khabibulina V. R., Zainullina B. R. “Development of musculature of planuloid buds during the asexual reproduction of *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) polypoid generation”, International Scientific Conference for Undergraduate and Graduate Students and Young Scientists "Lomonosov 2018", Moscow, 9-13 of April, 2018.
- 3) Khabibulina V. R. “On nervous system of scyphopolyps and planuloids of *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa)”, International Scientific Conference for Undergraduate and Graduate Students and Young Scientists "Lomonosov 2020", Moscow, 10-27 of November, 2020.
- 4) Khabibulina V. R. “The character of proliferative activity in *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae) scyphistomes during the process of planuloid formation” International Scientific Conference for Undergraduate and Graduate Students and Young Scientists "Lomonosov 2020”, Moscow, 12-23 of April, 2021.

Publications based on dissertation materials:

- 1) Khabibulina V., Starunov V. Musculature development in planuloids of *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Zoomorphology. – 2019. – T. 138. – №. 3. – C. 297-306.
- 2) Khabibulina V., Starunov V. FMRFamide immunoreactive nervous system in the adult *Cassiopeia xamachana* scyphopolyp and at the early stages of planuloid formation //Invertebrate Zoology. – 2020. – T. 17. – №. 4. – C. 371-384.
- 3) Khabibulina V., Starunov V. 2021 Proliferation activity in the polyps of *Cassiopea xamachana*: where the planuloid buds grow //Biological Communications. – 2021. – T. 66. -№ 4. – C. 333–340.

Author's personal contribution:

The author of this work took an active part in all phases of study: goal and particular tasks setting, literature search and analysis, planning of experiments, maintaining of the polyp culture, specimens preparation, application of immunohistochemistry and DNA-synthesizing cells labeling methods, optical, fluorescent and confocal microscopy, images processing, and also in received data interpretation, writing of scientific manuscripts and its presentation at conferences and in scientific publications.

Goal and tasks:**Goal:**

Study of organization of musculature and nervous system in polyps of *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa: Rhizostomeae), along with special features of these systems development during the asexual reproduction by formation of planuloid buds.

Tasks:

- 1) To study special features of nervous and muscle system structure in adult polyps of *Cassiopea xamachana*;
- 2) To analyze the process of FMRFamide component of the nervous system and musculature formation and development in planuloid bud of *Cassiopea xamachana*;
- 3) To reveal possible zones of proliferative activity during budding and further growth of planuloid bud of *Cassiopea xamachana* using vital labeling by EdU.

Literature review

1. Special features of the polyps' muscular and nervous systems organization in different Cnidaria groups

Special traits of the cnidarian neuromuscular system organization are the object of the intent scientific interest. Since Cnidaria is considered as a sister group to Bilateria (Baguña et al., 2008 [17]; Collins, 2009 [43]), their nervous and muscular systems, on the one hand, may keep primitive features of the common ancestor. On the other hand, cnidarians possess their own unique features, which have appeared due to independent evolution (Bosch et al, 2017 [26]).

Such unique feature of the cnidarian muscular system organization is the absence of true muscular cells (Beklemishev, 1944 [1]). As a rule, cnidarian musculature is presented by myoepithelial cells (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Apical part of this cell is located in epithelial layer and its' basal part bears processes with smooth muscle fibers (Chapman, 1974 [35]). In some cases, the independent muscle cells, also called myocytes, lose their connection with epithelium and emerge subepidermally in mesoglea. Such myocytes are found in longitudinal muscular bands of Anthozoa and Scyphozoa (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Rarely myoepithelial cells may be absent, as for example, in free-living polyp-like stages of the parasite *Polypodium hydriforme* (Raikova, Ibragimov, Raikova, 2007 [155]). Actively swimming jellyfish have striated myocytes of ectodermal origin, however these cells evolved independently of Bilateria (Seipel, Schmid 2005 [170]; Steinmetz et al., 2012 [179]). The presence of such separated from epithelial layer muscular cells and, in particularly, unclear way of its formation, is a subject of the active discussion about the origin of mesoderm in Metazoa evolution. The important characteristic of the myoepithelial cells is their ability to transfer electrical impulses in cell layer and, thereby, to provide the signal transduction without direct involvement of the nervous elements (Mackie, Passano, 1968 [120]). This feature promotes more coordinate work of the muscle fibers (Westfall, 1973 [200]). By this way clusters of unidirectional muscle fibers, which contract like one functional unit, are formed. In this case such muscular formation is sometime called “a muscle”, as, for example, “the ring muscle” in jellyfish bell.

The specific feature of cnidarian nervous system is its diffuse organization. Actually, the nervous system is presented by individual neurons, which may form clusters, but never form ganglions and long conductive ways (Beklemishev, 1944 [1]). Relatively weak concentration of the nervous elements is highly connected with the radial symmetry of cnidarians (Spencer, Arkett, 1984 [177]). The similar absence of the nervous concentrations, although secondary, is observed in radially-symmetric echinoderms (Arnone et al, 2015 [12]).

Despite the relatively simple organization of the cnidarian nervous systems, their neurons diverse morphologically as unipolar, bipolar and multipolar. There is no axon/dendrite differentiation, so often their processes are called “neurites” (Koizumi, 2016 [108]). The signal transduction in the cnidarian nerve cells

may be either unidirectional or bidirectional. Besides, the nerve cells might be multifunctional: one neuron can provide the sensory function, transmit a signal and innervate myoepithelial cells (Westfall, Kinnamon, 1978 [202]). Also, various neurotransmitters play a key role in the cnidarian nervous system functioning (Grimmelikhuijzen et al, 2004 [71]; Takahashi, 2020 [185]). They include small molecules like acetylcholine, serotonin, gamma-aminobutyric acid (GABA), glycine, glutamic acid and others, and neuropeptides, for example FMRFamide and GLWamide (Kass-Simon, Pierobon, 2007 [98]; Takahashi, Takeda, 2015 [186]). These neurotransmitters are found in nervous systems of other multicellular animals, and, apparently, appeared in common ancestor of cnidarians and bilaterians (Watanabe et al, 2009 [195]).

The substantial data of diversity, organization and functional features of cnidarian neuromuscular systems concern medusa stages. In common jellyfish nervous system is presented by motor and diffuse nerve nets and nerve ring (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). Motor net innervates the swimming musculature of subumbrella (inner part of the jellyfish bell). Large neurons of this net obviously have two neurites and are located mostly disorderly (Anderson, Schwab, 1981 [7]; Satterlie, 2002 [165]). The signal from several activated neurons runs fast in many directions through the whole net providing synchronous musculature contraction (Satterlie, Eichinger, 2014 [166]; Pallasdies. et al, 2019 [148]). Diffuse nerve net regulates the locomotion activity of medusa, although it doesn't directly innervate swimming musculature (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). Neurons of this net, apparently, control contractions of the tentacle, ring muscle, provide sensory function and connection between exumbrella (outer part of the bell) and subumbrella (Arai, 1997 [8]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]; Pallasdies. et al, 2019 [148]). Nervous elements of two nets presumably don't interconnect, although their functions are close (Arai, 1997 [8], Pallasdies. et al, 2019 [148]). Coordination of motor and diffuse net and jellyfish behavior occurs on nerve ring and other structures connected with it (Mackie, 2004 [119]; Garm et al., 2007 [60]; Koizumi et al., 2015 [109]). Nerve ring is a large aggregation of neurons and their neurites at the bell rim. Integration centers are, possibly, located in special sensory organs at the bell rim called "rhopalia" (Garm et al., 2006 [59]; Skogh et al., 2006 [173]). Rhopalium is a complex of photoreceptive and balance organs, which might be extremely well-developed in some species (Martin, 2002 [124]). Nowadays nerve ring and rhopalia are often considered as a central nervous system of medusae, whereas motor and diffuse nerve net represent peripheral part (Garm et al., 2006 [59]; Satterlie, 2011 [164]).

Gradual complication of the nerve ring and rhopalia organization is observed in a row of Scyphozoa – Hydrozoa – Cubozoa medusae classes. It includes the higher concentration of the nerve elements and also their morphological and functional differentiation (Katsuki, Greenspan, 2015 [99]). The same is true for morphological row of musculature complication. In scyphozoans, which usually reach large size, muscular system is presented by tentacle muscles, ring muscle and strong subumbrellar muscles (Anderson, Schwab, 1981 [7]; Zimmerman et al., 2019 [212]). In hydromedusae and cubomedusae functional groups of velum, manubrium and bulbs (tentacle bases) muscle emerge (Seipel, Schmid, 2005 [170]; Satterlie et al, 2005 [167]). Jellyfish musculature is presented mostly by smooth muscles, however there are striated

muscles in swimming musculature (Chapman, 1968 [39]; Seipel, Schmid, 2005 [170]). Generally, complication of neuromuscular system in a row Scyphozoa – Hydrozoa – Cubozoa provide more and more complicated behavior.

There is much less data on diversity and organization features of the polyp stage neuromuscular systems. These data are almost limited to classical model objects investigations like for hydroid polyps *Hydra* spp. (Galliot, 2012 [58]) and sea anemones *Nematostella vectensis* (Darling et al., 2005 [51]).

The nervous system of hydra includes diffuse nerve elements in gastrodermis and epidermis, in polyp tentacles, and also two nerve clusters (Burnett, Diehl, 1964 [28]; Sakaguchi, Mizusina, Kobayakawa, 1996 [161]; Gründer, Assmann, 2015 [72]). The lesser cluster is located in polyp foot, whereas another one with the highest concentration of the nerve elements, called the nerve ring, is situated on hypostome zone. The nerve ring consists of sensory cells, neurons with neurites, located either circumhypostomally (around the hypostome closer to the tentacle bases) or radially (from hypostome to the tentacle bases) (Grimmelikhuijzen et al., 1989 [70]). Also, the longitudinally oriented neurites of hydra's body run to the nerve ring (Davis et al., 1968 [52]; Koizumi et al., 1992 [110]; Koizumi, 2007 [107]). Possibly, the nerve ring plays role of integrative center of the animal (Koizumi, 2007 [107]; Badhiwala et al., 2020 [16]). Several subpopulations of neurons are distinguished in hydra, depending on the different neurotransmitters distribution, such as FMRFamide, RGFamide, LWamide, GABA and specific neuropeptide of hydra - Hym (Sakaguchi, Mizusina, Kobayakawa, 1996 [161]; Yum et al., 1998 [210]; Hansen, Williamson, Grimmelikhuijzen, 2002 [75]; Concas et al., 2016 [44]). By this way the regionalization and functional differentiation is provided in diffuse nerve net (Noro et al., 2019 [140]). For example, the subpopulation of neurons, expressing Hym-176 neuropeptide, control the longitudinal contraction of the body, but not the any other movements (Noro et al., 2019 [141]).

Hydra's musculature is presented by myoepithelial cells in epidermis and gastrodermis (Mueller, 1950 [134]; Szymanski, Yuste, 2019 [184]). Muscle processes in these cells are oriented orthogonally. In epidermis they located longitudinally to the oral-aboral axes, whereas in gastrodermis they form the ring musculature, functioning as antagonist muscles (Beklemishev, 1944 [1]; Haynes, Burnett, Davis, 1968 [77]; Takahashi-Iwanaga, Koizumi, Fujita, 1994 [187]). The tentacle musculature is presented mainly by longitudinal myoepithelial cells (Otto, 1977 [146]). In hypostome muscle fibers of epidermal layer are oriented radially, while individual gastrodermal cells form ring muscle processes around the mouth opening (Wood, 1979 [207]). Similar organization of neuro-muscular elements is noticed in other Hydrozoa polyps, like in *Coryne* sp. (Golz, 1994 [66]), *Cladonema* sp. (Mayorova, Kosevich, 2013 [128]), *Gonothyrea loveni* (Mayorova, Kosevich, 2013 [130]).

In the polyps of *Nematostella vectensis* neuromuscular system organization is more complex. Sea anemone musculature is presented by muscles of tentacles and body (Frank, Bleakney, 1976 [56]; Jahnel, Walzl, Technau, 2014 [96]). In the body there are longitudinal parietal muscles and retractor muscles, associated with mesenteries (Williams, 2003 [206]). Parietal musculature is relatively underdeveloped and

located at the mesenteria bases in the body wall. The retractor muscles are the most well developed. They attach to the branching mesogleal outgrowths in mesenteria, that allows to compactly arrange more contractile units. Such type of musculature organization is sometime considered as feather-like (Beklemishev, 1944 [1]). Ring musculature of actinia is located in the body wall, outward from the longitudinal muscles. Unlike the hydra all mentioned muscle formations are gastrodermal originated. Tentacles musculature is also presented by longitudinal and ring muscles. Ring musculature is formed by muscle fibers of gastrodermal cells, longitudinal one by fibers of epidermal cells. At least some cells (retractor and longitudinal body muscles) reduce the epithelial part, separate from epithelial layer and become independent myocytes with their own nuclei (Leclère, Röttinger, 2014 [113]). This common type of muscular system organization is observed in other species of Anthozoa, however additional modifications often appear, depending on biology of particular specimens (Batham, Pantin, 1951 [19]; Swain et al., 2015 [183]). These modifications include the specializations of the foot musculature due for attachment or burrowing. The location of muscle bands on mesenteria also vary in different groups of Anthozoa, and it is often used for taxonomic identification (Daly, Fautin, Cappola, 2003 [50]; Swain et al., 2015 [183]; Stampar et al., 2016 [178]).

The organization of the *N. vectensis* nervous system is partly associated with musculature location. Like in *Hydra* sp. diffuse nerve net of actinia includes epidermal and gastrodermal parts (Nakanishi et al., 2012 [137]). However, in *N. vectensis* nerve elements form clusters along the longitudinal mesenterial musculature, at the tips of tentacles and in the foot (Kelava, Rentzsch, Technau, 2015 [101]). The most concentrated nerve clusters are located in two nerve rings: oral and pharyngeal. In nervous system of *N. vectensis* there are FMRFamide-, GABA- and serotonergic neuron subpopulations, which occupy different positions on polyp body (Marlow et al., 2009 [122]). GABA subpopulation neurons are associated with tentacles and pharynx, whereas FMRFamidergic neurons are part of the nerve ring and also accompany mesenterial musculature. Similar picture of the nerve elements distribution is observed in feeding zooids of colonial anthozoans: sea pen *Renilla koellikeri* (Pernet, Anctil, Grimmelikhuijzen, 2004 [150]), soft octocoral *Eunicella cavolini* (Girosi et al., 2005 [64]) and stony coral *Acropora millepora* (Attenborough et al., 2019 [13]).

Neuromuscular system of polyp stages in other cnidarian groups is much less explored. In Cubozoa class the structure of nervous and muscular system is partly investigated at ultrastructural level in two species *Tripedalia cystophora* and *Carybdea* sp. (Werner, Chapman, Cutress, 1976 [198]). Cubopolyp's musculature is presented by epidermal myoepithelial cells and mesogleal myocytes, which, possibly, have gastrodermal origin and located. Muscle processes of these cells in gastral zone run either longitudinally or transversally, like in hydrozoan polyps. Longitudinal muscle processes are also found in the stalk and hypostome, where they are accompanied with radial muscle processes. Nerve elements are parallel to the musculature, and, apparently do not form any clusters, excluding double nerve ring, located between tentacle bases and hypostome (Chapman, 1978 [37]). Nevertheless, it is hard to explore general topology

of the neuromuscular elements using the method of transmission electron microscopy (TEM). Thus, this aspect as well as special features of neurochemical organization of the cubopolyps' nervous system are still unknown.

Nervous and muscular system of scyphozoan polyps is also poor investigated. Scientific works, devoted to the study of these systems organization, are practically limited to the study of *Aurelia aurita* polyps. The musculature of *A. aurita* scyphistomes is presented by longitudinal tentacle muscles, radial hypostomal muscles and longitudinal muscles of body and stalk. Muscles are generally formed by myoepithelial cells, excluding longitudinal body and stalk musculature, formed by myocytes. Myocytes are grouped in muscular bands, running in septs – four folds of gastrodermis and mesoglea, evaginating in gastral cavity. The nervous system of *A. aurita* scyphistomes is presented only by epidermal nerve net in the body and tentacles, and low-concentrated nerve ring (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). At least part of these nerve elements is FMRFamideergic: they are involved in the nerve ring, run in the tentacles and accompany septal musculature (Sakaguchi, Imai, Nomoto, 1999 [160]). Similar nervous ring is also shown in coronate polyps *Aorella japonica* (Matsuno, Kawaguti, 1991 [127]), and presence of FMRFamideergic nerve elements is observed in polyps of *Cassiopea* spp. (Hofmann, Hellmann, 1995 [85]). Though, like in case of cubozoans, data of scyphozoan neuromuscular system are obtained with TEM, and do not show the whole picture of these system organization.

2. Asexual reproduction at the polyp stage in different groups of Cnidaria

Typical cnidarian life cycle includes two stages: the attached polyp and free-swimming medusa (Collins, 2002 [42]). Medusae reproduce sexually and produce ciliated larvae – planulae, which settle on the suitable substrate, then transform into polyp or colony of polyps. In their turn polyps form new generation of medusae by several ways in different groups. This scenario has various deviations: jellyfish are absolutely absent in Anthozoa class (Dogiel, 1981 [2]), and secondary reduce in some families of Hydrozoa class (Cornelius, 1992 [46]). The opposite situation is also possible: in some life cycles the polyp stages are absent, like in case of scyphozoan jellyfish *Pelagia noctiluca* (Sandrini, Avian, 1983 [162]) and *Periphylla periphylla* (Jarms et al., 1999 [97]) or in hydroid medusae of Trachylina group (Osadchenko, Kraus, 2018 [144]).

The important role in life cycles of Cnidaria plays asexual reproduction (Fautin, 2002 [53]). It is widespread in all cnidarian groups and often provides not only the increase in the number of individuals, but also dissemination and long prolong maintenance of the population in nature. The diversity of cnidarian asexual reproduction can be divided in several types.

In a simple case the reproduction occurs as a result of the full or partial division of the body of solitary or colonial animal at the separate fragments. Such division may happen due to accidental traumatism or as a consequence of deficient feeding of the separate colony modules (Marfenin, Stepaniants, 1993 [3]). Different body parts can be those divided fragments, such as tentacles, like in *Hexacorallia* (Bocharova, 2016 [22]) or colony branches (Coppari et al., 2019 [45]). This reproduction type is characteristic of colonial anthozoans ((Highsmith, 1982 [80]; Acosta et al., 2001 [5]). It is still the subject of discussion, what role does fragmentation actually play in the realization of cnidarian life cycles as well as the obligation of this process (Fautin, 2002 [53]).

Among the solitary anthozoan polyps of *Hexacorallia* group the asexual reproduction by longitudinal or transversal body division is common (Reitzel et al, 2011 [158]). During this division polyp splits into two new individuals, which later complete the missing structures. Transversal division is described in primitive families *Gonactiniidae* и *Aiptasiidae* (Bocharova, Kosevich, 2011 [23]). This process is most thoroughly studied in model object *Nematostella vectensis*. Transversal division of *N. vectensis* may occur by two scenarios. In first case the constriction forms by tissue contraction near the aboral end, and eventually fully separates the upper part of the body from foot. Later the upper part grows a foot, whereas the remaining foot forms head and tentacles. In second case the change of oral-aboral axis occurs: at the foot place new mouth forms, the polyp body elongate and in the middle two new feet appear (Reitzel et al, 2007 [157]). The process of new oral and aboral structures formation during the transversal division is under control of conservative genes *anthox1a*, *anthox7* *anthox8* and *anthox6*. The same Hox-genes regulates formation of the oral-aboral axes in embryogenesis of *N. vectensis* (Burton, Finnerty, 2009 [29]). Longitudinal division is more common in different families of *Hexacorallia* (Bocharova, 2016 [22]). The division process may start from either from foot, or head. In both cases polyp tissues begin to stretch in opposite sides. Simultaneously the constriction, in which the apoptosis is triggered, forms in the middle of polyp. This leads to the split of new individuals. Tissues in the gap regenerate and grow missing structures (Geller et al., 2005 [61]). In other cnidarian groups only rare examples of longitudinal division are described: in scyphozoan polyps *Sanderia malayensis* (Adler, Jarms, 2009 [6]), in cubozoan polyps *Carybdea morandini* (Straehler-Pohl, Jarms, 2011 [180]) and in colonies of hydroid polyps *Hydrocoryne iemanja* (Morandini et al., 2009 [133]).

The most studied in terms of morphology, cytology and molecular biology type of cnidarian asexual reproduction is budding. This term covers wide range of quite unsimilar processes, united by long preserved morphological and physiological connection between mother and daughter individuals. Budding process was first described in *Hydra* sp. in classical work of Abraham Trembley (Trembley, 1744 [191]), although first drawings of the budding hydra was made by A. V. Leuwenhoek in 1702 (Leeuwenhoek, 1753 [114]). In further years hydra become the main model object for study of cnidarian biology and including the budding process (Galliot, 2012 [58]).

The *Hydra* sp. is characterized by so-called lateral budding. During lateral budding daughter polyps form at the body wall of the mother individual. Initiation of the bud growth in *Hydra* sp. occurs in small ring area at the polyp body and affects both epithelial layers (Webster, Hamilton, 1972 [196]). At the histological level the site of bud anlage is well-distinguishable of surrounding tissues by lesser distance between cells, which therewith lose vacuoles and become more columnar (Graf, Gierer, 1980 [67]). Anlage cells divide intensely, forming cylindrical protrusion, in which the gastral cavity of the mother polyp enters. This is accompanied by orientation changing of the nearest myoepithelial cells muscle fibers, which also enter into protrusion. Thus, the musculature of the future polyp emerges (Otto, 1977 [146]). At the early stages cell source of the anlage is mostly provided by mother's polyp cell migration (Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al, 1991 [90]). Further migration stops and bud growth is driven by division of bud's own cells (Shostak, Kankel, 1967 [171]). Regulation of the cell division and formation of the oral-aboral axes occur in the head organizer, located in the area of the forming hypostome (Browne, 1909 [27]; Bode, 2012 [24]). The key role in this process is played by genes of canonical and non-canonical Wnt-signaling (Hobmayer et al., 2012 [81]). After formation of mouth and first tentacles the foot development begins at the base of the bud. Before the complete foot formation daughter polyp keeps the connection with mother individual, although, as a rule, it is able to catch prey independently. Since the gastral cavities of both polyps are still connected food is evenly distributed between them. The mechanism of daughter polyp separation is still unclear. However, it was shown in recent studies, that genes of Notch-signaling and FGRF (fibroblasts receptors growth factors) take part in this process. These genes, possibly, initiate rearrangement of actin cytoskeleton in epidermal cells of the foot and cause the final split of mother and daughter polyp tissues особи (Münder et al., 2010 [135]; Hasse et al., 2014 [76]).

Lateral budding is noticed in cubozoan polyps of *Tripedalia cystophora* (Werner et al., 1971 [199]), *Chironex flickeri* (Yamaguchi, 1980 [208]), *Carybdea marsupialis* (Fischer, Hofmann, 2004 [54]), *Carukia barnesi* (Courtney et al., 2016 [47]) and *Carybdea morandini* (Straehler-Pohl, Jarms, 2011 [180]). In case of *C. morandini* new polyps don't attach near the mother polyp, but are able to crawl, which is, possibly, provides propagation. Lateral bud also develops by unusual way in another cubozoan species *Malo maxima* (Underwood et al., 2018 [192]). Early stages of bud growth are typical, but after the first tentacle formation the foot of growing polyp anlagen as evagination of the mother polyp body wall. Thus, the bud is joined to the parent polyp by lateral side. After the split young polyps of *M. maxima* are able to move with cilia.

Lateral budding is widespread in Scyphozoa (Schiariti et al., 2014 [169]). However, the data are mainly limited to visual observations as a part of the life cycle descriptions. The common feature of hydrozoans and scyphozoans, possibly, is the localization of bud anlage site at the border between polyp calyx and stalk. It is noticed, that, similar to *Hydra* sp. both epithelial layers are involved in the bud formation, and gastral cavities of mother and daughter polyps stay connected for a while (Gilchrist, 1937 [63]). In *Aurelia aurita* polyps the proliferation activity was observed in the lateral bud protrusion (Balcer, Black, 1991 [18]), but, unlike the hydra, in *A. aurita* the number of dividing nuclei in the growing bud zone

was lower, than in near polyp tissues. More detailed descriptions of lateral bud development, including data on cell source, as well as special features of organs and tissues differentiation are absent in literature.

Besides the lateral budding there are another several types of specialized asexual reproduction in scyphozoan polyps. One of them is the formation of podocysts, which are small roundish aggregations of homogeneous cell mass, surrounded by complex covering of chitin and structural proteins (Arai, 2008 [9]). Podocysts formation was observed in many species of Scyphozoa, excluding the Kolpophorae suborder (Holst et al., 2007 [89]). Morphology and development of podocysts are partly studied at histological and ultrastructural level in *Aurelia aurita* (Chapman, 1968 [39]; Chapman, 1970 [36]) and *Nemopilema nomurai* (Ikeda et al., 2011 [93]). Podocysts are formed of epidermal cells and migrating mesogleal cells at the area of scyphistoma's pedal disc or at the site of stolon's base (Chapman, 1970 [36]). Wherein cells lose their shape and accumulate nutrients. Podocyst firmly attaches to substrate, and polyp that formed it moves to the new place nearby. The new individual development begins under the podocyst's covering with the differentiation of gastrodermis and epidermis, in which first cnidocytes appear. After differentiation ends the excystation of podocyst occurs, due to dissolution of the covering by proteolytic enzymes of epidermis and mechanical tearing of the walls by dividing cells. It is still unclear, which factors induce this process. After the excystation cell mass grows quickly and continue to differentiate, forming mouth and first four tentacles of the polyp (Ikeda et al., 2011 [93]). Probably, the appearance of the podocysts in scyphozoan evolution was originally conditioned by necessity to survive unfavorable conditions or temporal pressure of predators. Afterwards podocysts may be included in the life cycle as one of the asexual reproduction strategies (Arai, 2008 [9]). Thus, in some species like *Nemopilema nomurai* and *Rhopilema nomadica* the podocysts formation is precisely the main way of polyp population increasing (Lotan, 1992 [117]; Kawahara et al, 2006 [100]).

Another way of asexual reproduction, which is mainly characteristic for Scyphozoa, is stolonial budding. In this budding type new individuals form on the special polyps' processes – stolons, providing the attachment of scyphopolyp to substrate or its slowly movement (Gilchrist, 1937 [63]). Often the bud formation on stolons occurs at the same time as the lateral budding. The stolonial budding is poorly studied, and it is still unclear, how exactly buds form and develop in this way of reproduction. The main part of studies, in which stolonial budding is mentioned, are dedicated to the influence of various ecological factors at the budding type preference and its rate (Hubot, 2017 [91]; Avian et al., 2021 [15]).

It is difficult to classify such peculiar type of cnidarian asexual reproduction as propagules separation. As a rule, the term “propagule” is used for weakly developed small pieces of polyp's tissues, which after the settlement give rise for new polyp individuals. The tissue source for propagules formation as well as its ability to the independent locomotion vary a lot in different species, for with this process was described. Thus, in *Aurelia aurita* the propagules, formed from gastrodermal cells and moving with the help of cilia, were noticed (Vagelli, 2007 [193]). Opposite to this example, in scyphopolyps of *Sanderia malayensis* propagules (called by authors as “bud-like particles”) form as aggregations of epidermal cells at the border

of polyp's calyx and stalk and can't swim on their own (Adler, Jarms, 2009) [6]. Also, frustules of hydrozoans are sometimes classified as propagules. Frustules are small separating pieces of colony tissues, in which the cell mass is already divided into two layers (Slobodov, Marfenin, 2004 [175]; Gravier-Bonnet, Bourmaud, 2005 [68]). They can swim with the water flow, and crawl for some time upon the contact with the substrate. In sea anemone *Anthopleura* sp. the development of propagules in mesenterial filaments is described (Isomura et al., 2003 [95]). These propagules are able to the ciliary locomotion and even to the muscular body contraction. As it seen from these examples, the term "propagule" doesn't include the strict description of the morphological bud type or special features of its development. It is used for any separating parts of the organism. In modern literature this term is interpreted very broadly, and in fact it can be used only for first phenomenological descriptions. In each case the further analysis of organization, origin and development features is needed. After that it will be possible to classify all "propagules" properly.

The term "propagule" was sometime used for special type of bud, characteristic for scyphozoan polyps of Kolpophorae suborder (Holst et al, 2007 [89]). In modern literature another term is used – "planuloid" or "planula-like" bud. Planuloid buds are described in such species as *Mastigias papua* (Sugiura, 1963 [181]), *Phyllorhiza punctata* (Rippingale, Kelly, 1995 [159]), *Cotylorhiza tuberculata* (Kikinger, 1992 [106]), *Cephea cephea* (Sugiura, 1966 [182]), *Cassiopea andromeda* (Gohar, 1960 [65]) *Cassiopea xamachana* (Bigelow, 1900 [21]). These buds are also described in Coronata order in species *Nausithoe aurea* and *Nausithoe planulophora* (Silveira, Morandini, 1997 [173]; Kawahara et al., 2006 [100]). However, the development of these buds wasn't observed, so it is hard to compare them with planuloid buds of Kolpophorae.

The formation of planuloid buds in Kolpophorae suborder is similar to the lateral budding at the first stages. Small cylindrical evagination of both epidermis and gastrodermis forms at the border or the polyp's calyx and stalk. But the head development, like in typical lateral budding, doesn't occur. Instead of this evagination becomes drop-shaped, covers by cilia and then separates from the mother organism. Wherein ex-distal end of evagination becomes functionally anterior of such planuloid bud. After the bud finds the suitable substrate, it attaches with the anterior end, whereas mouth and tentacles form at its posterior end (Bigelow, 1900 [21]). These buds represent quite formed organism with its own special behaviour. Wherein such structural details as presence of two epithelial tissue layers and ciliary locomotion resemble the organization of typical cnidarian planula larva, which was the reason of the term for this bud type.

The budding process is studied mainly in Cassiopeidae family (Rhizostomeae, Kolpophorae). In Cassiopeidae species life cycle is the typical for scyphozoan, with alternation of polyp and medusa stage. Cassiopeidae jellyfish are unusual: they don't live in plankton, but lie turning over at the sea bottom, that's why they are often called "upside-down jellyfish". Their mouth lobes grow a lot, forming a wide net of the secondary mouths for small prey capture. Either medusae or polyps have in mesoglea photosymbionts – unicellular algae *Symbiodinium* sp. (Lampert, 2016 [11]). In recent years cassiopeids become popular

objects for ecological, neurobiological and molecular research, including the peculiarities of their budding process (Nath et al., 2017 [139]; Ohdera et al., 2018 [143]; Ohdera et al., 2019 [144]). Such high interest for cassiopeids is partly conditioned by the fact, that species of this family provides the invasion in different seas far from typical areal and may influence local ecosystems (Holland et al., 2004 [87]; Thé et al., 2021 [188]). Possibly, the planuloid buds make the significant contribution in cassiopeids invasion.

First detailed visual and histological observations of the planuloid bud development in Cassiopeidae was made at the turn of XIX and XX centuries (Bigelow, 1900 [21]). In this study the presence in bud of two epithelial layers and gastral cavity, inherited from the mother polyp, was shown. In the end of XX century the investigation of planuloid bud development was made with the help of scanning electron microscope in *C. xamachana* (Van Lieshout, Martin, 1992 [194]) and transmission electron microscope in *C. andromeda* (Hofmann, Honegger, 1990 [82]). In these studies the consequent development of the bud from its anlage at the mother polyp to the new polyp formation was firstly followed. Besides the cnidocyte presence was shown in epidermis through the whole bud and gland cells was observed at the functionally anterior bud's end. Also, solitary neurons, neurites and four groups of muscle fibres were found in free-swimming bud. Nevertheless, the general organization on neuromuscular system and its development remain unknown. Either the attempt to find out the cell source of bud tissue was made. It was shown that epidermis cells of the mother polyp migrate into the area of growing bud evagination at the early stages, but zones of active proliferation weren't found (Hofmann, Gottlieb, 1991 [84]).

The terminology, used for special budding type of Kolpophorae, is also needed of clarification. As at seen from presented examples, the definitions of “budding” and “bud” are quite vague. Nevertheless, the important feature of the “bud” is usually short in time persisting morphological and physiological connection with mother organism. In case of Kolpophorae, and particularly more studied Cassiopeidae, this connection persists only very short period of the bud formation. After the separation from the mother polyp such “bud” represents the independent organism with own behavior. These special features, apparently, bring to mind some investigators to call planuloid buds of cassiopeids by the term “propagules”. It allows to resemble their independence and movement ability. However, as it was mentioned before, the term “propagule” is interpreted very widely. Thus, in this work we suggest to call planula-like bud of Kolpophorae by the term “planuloid”. On the one hand, it emphasizes the independence of this bud and its loss of connection with the mother organism, and to the other hand it implies on its external similarity with planula larva.

Material and methods

Culture of scyphopolyps *Cassiopea xamachana* Bigelow, 1982 [20] (Cnidaria, Rhizostomeae, Cassiopeidae) was provided in 2015 by Department of Invertebrate Zoology (Biology faculty, Lomonosov Moscow State University). Polyps were kept in plastic tanks 25x15x8 cm size in artificial sea water with the salinity about 28-30 ‰ at the room temperature. Polyp culture was regularly feed with *Artemia* sp. nauplii. In laboratory conditions formation and separation of planuloids was constant and didn't require any special induction. For experiments conduction adult polyps without visual signs of budding, polyps with forming planuloids at the different stages and also free-swimming planuloids were taken directly from cultural tanks. Part of the planuloids were deposited in Petri dishes with artificial sea water to observe process of their settlement and metamorphosis. All lifetime pictures were taken with stereomicroscope Leica 250M.

For immunohistochemical labeling all specimens were anesthetized with the solution of 7,5 % MgCl₂ in distilled water, which was added little by little into small dishes with animals until the absence of reaction to irritation (contraction of the stalk and tentacles). After the anesthetization all specimens were fixed with cooled 4% solution of paraformaldehyde (PFA), made with artificial sea water or 0,1 M phosphate buffer saline (PBS). We haven't noticed any significant differences between these two ways of the fixative preparation. Fixation was made in room temperature for 1 hour, or 3-4 hours with the temperature +4°C. After fixation specimens were washed in PBT solution (PBS + 5% Tween-20) 3-4 times for 15 minutes. Then specimens were incubated primarily for 1 hour in 0,4 M glycine in PBS solution, and after that in 1% solution of bovine albumin serum in same buffer. After incubation specimens were washed again in PBT 3 times for 10 minutes. All washing steps and incubations were made at the room temperature.

After washing specimens were incubated with FMRFamide primary antibodies (20091, Immunostar, produced in rabbit, dilution 1:1000 in PBS) for 48 hours at the +4°C. After incubation specimens were washed in PBS solution for 30 minutes at the room temperature. Then specimens were incubated with secondary antibodies Alexa Fluor 488 goat anti rabbit (A-11034, Invitrogen) or CF633 donkey anti rabbit (SAB4600132, Sigma) with dilution 1:1000 – 1:800 in PBS, and also with TRITS-conjugated phalloidin (Sigma, P1951; 1 µg/ml) in PBT for 24 hours at the +4°C. After incubation specimens were washed again in PBS solution for 15 minutes at the room temperature. Prepared specimens were mounted at slides with Mowiol 4-88. Images were taken with the help of laser confocal scanning microscope Leica TCS SP5.

For experiment with 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) labeling we used budding polyps, planuloids at the different developmental stages and young polyp after metamorphosis. All specimens were incubated at the room temperature in 50 µM EdU solution with artificial sea water. Series of preliminary experiments were made to determine the optimal incubation time. As a result of these experiments, we have chosen the 1-1,5 hours as an optimal time. Less incubation time was not enough for strong signal, whereas longer

incubation time led to the excessive background noise. After incubation all specimens were washed with sea water 3 times for 10 minutes, anesthetized with the solution of 7,5 % MgCl₂ in distilled water and fixed the same way as for immunohistochemical labeling. After fixation specimens were washed in 3 times for 15 minutes in PBT solution. The visualization of labeling was made by conjugation of DNA-associated EdU with fluorescent Cy3 dye (Sulfo-Cyanine3; A13330, Lumiprobe). Specimens were incubated for 1 hour at the room temperature in water solution of 2 µM Cy3 dye, 1M Tris-HCl (pH 8-8,5), 100 mM CuSO₄ and 500 mM ascorbic acid. Incubation was made in the dark at the room temperature. After dyeing specimens were washed in 3 times for 15 minutes in PBT solution. During the last washing step, the fluorescent DAPI dye were added for additional nuclei labeling. Prepared specimens were mounted at slides with Mowiol 4-88. Images were taken with the help of laser confocal scanning microscope Leica TCS SP5.

Counting of the labeled nuclei were made at four specimens for each stage. For counting we used the stack of images, made with confocal microscope at the sagittal plane of object with general thickness about 10-15 µm, depending on animal size. More subtle stacks were used for planuloids and young polyps, and thicker for adult polyps. This stack size was chosen, because it allowed to out unto view only two tissue layers, and, by this way, to avoid wrong counting of the label at the whole animal's thickness. In case of polyps the animal was divided into areas of 100x100 µm, in which labeled nuclei were counted. In case of planuloids labeled nuclei were counted in the whole animal and then their amount was recalculated for 100x100 µm areas. The value of labeled nuclei in these areas was averaged. In every case the range of extreme values is shown, taking into account the standard deviation, calculated in Microsoft Office Excel.

Either polyps or planuloids of *C. xamachana* possess numerous photosymbionts in their tissues. They were also visualized due to chlorophyll autofluorescence in their cells, using standard parameters for AlexaFluor 633 dye, since emission wavelength of this dye and chlorophyll are similar.

Image processing, including measurements of different structures, were made with Fiji software and Adobe Photoshop. All schemes were made in Inkscape 0.92

Results

1. Visual observations of the *Cassiopea xamachana* planuloid development

Development of the *C. xamachana* planuloid begins with the formation of the cylindrical evagination at the border of the stalk and calyx (Fig. 1 A, B). Both epithelial layers of the body wall are involved in this evagination. Due to body tissues translucency, it is clearly visible, that gastral cavity of the mother polyp, often with orange or brown undigested food debris, enter the growing bud. Sometime greenish-yellow cells of the photosymbionts *Symbiodinium* sp. may be noticed both in calyx and in the area of the forming evagination. During the further growth evagination at first elongates, and then widens at the base and sharpens at the distal end, forming the drop- or lemon-like shape of the future planuloid (Fig. 1C). To this moment the bud surface covers with cilia. Finally, the gastral cavity separates completely, and formed planuloid become connected with mother organism only by small circuit of epidermal tissue. Soon this circuit degenerates, and planuloid separates. Possibly, active cilia beating promotes the splitting. It takes about two days from the appearance of first signs of the bud formation to the complete separation of the planuloid.

After the separation from the mother organism planuloid moves in water with the help of cilia and can slightly change body shape from smooth-fusiform to roundish (Fig. 1D). Wherein its distal sharpened end become functionally anterior. Duration of the free-swimming may vary from one to three days. In this period planuloid already starts to form hypostome and tentacle anlagen at the functionally distal end (Fig. 1E). Settlement and attachment to the substrate occurs with the help of the anterior end, which later transform into foot and stalk. Whereas the middle part of the planuloid body becomes a calyx. At the ex-distal end of the planuloid the mouth opening emerges, the hypostome forms and active growth of the tentacles begins. Thus, the metamorphosis and the new individual formation occurs. New polyp with the regular feeding grows quickly and after a week is ready for budding.

Polyp, as a rule, forms only one bud at the time, but sometime in large polyps budding starts at the two or three sides of the calyx simultaneously (Fig. 1F). Besides, often the chain of planuloids forms. Planuloids in chain are connected with each other with small epithelial circuits and develop consequently. Usually, the amount of planuloids in chain doesn't exceed two or three. However, it was noted the chain with six planuloids (Fig. 1G). Occasionally, developmental anomalies are also observed. In planuloids typical drop-shaped body form disturbs, or two distal ends forms. Such planuloids are able to swim, however their further development was not observed.

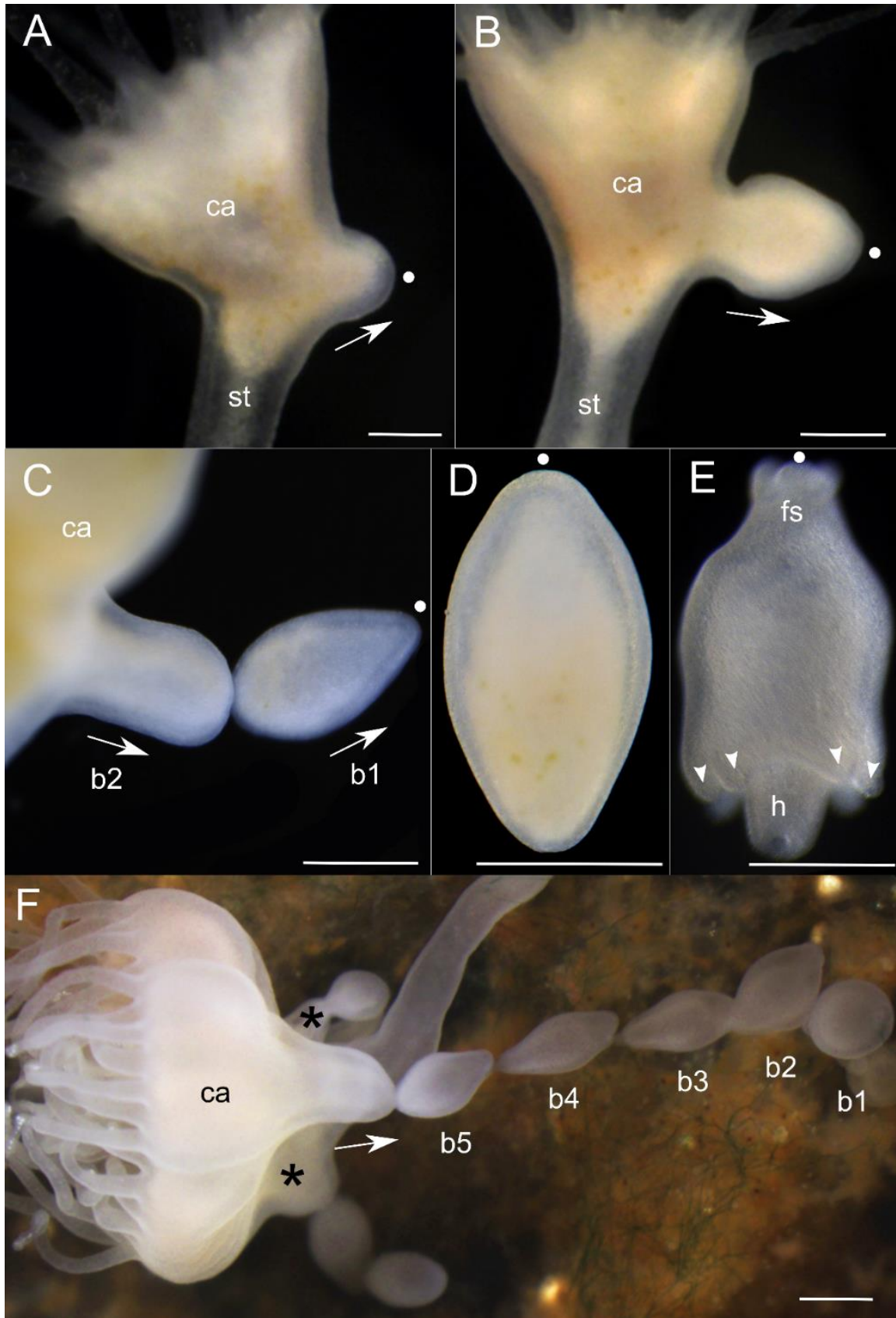


Figure 1. Formation and development of *C. xamachana* planuloid.

A, B – emergence and growth of evagination at the base of polyp calyx, C – separation of the planuloid and formation of a next one in chain, D – separated planuloid, E – planuloid before settlement, F- polyp with anomalies in budding process (several budding sites, planuloids in chain). Direction of the planuloid growth is shown with white arrow, anterior end of the planuloid is marked by white dot, budding sites are marked with black asterisk. Abbreviations: b1-b5 - planuloids, ca – calyx of polyp, fs – forming stalk, h – hypostome, st – stalk of polyp. Scale – 1 mm.

2. Musculature and nervous system of the adult *Cassiopea xamachana* polyp

With the help of TRITC-conjugated phalloidin labeling we revealed several groups of muscle elements in polyps of *C. xamachana*. The most noticeable are four strong bands of muscle fibers, laying in the polyps septums (Fig. 2A., Fig. 3A, B). In each septal muscle large muscle fibers are well-distinguishable along the entire length, but the beginning and the end of each fiber aren't seen. The width of the septal band is about 25-30 μm and doesn't change through the length. Besides septal muscles very thin longitudinal muscle fibers are found in the stalk closer to the surface, probably right under the epidermal layer (Fig. 2D). These fibers are evenly distributed in all stalk, forming loose muscular layer. A little deeper than this layer are short transversal muscle fibers (Fig. 2E). Transversal fibers are located very sparse and often hard to find. Whereas, no longitudinal neither transversal solitary muscle fibers were found in the calyx.

In tentacles short longitudinal muscle fibers are found (Fig. 3A). The length of each fiber is about 15-19 μm , and width – 1,7-2,2 μm . At the entire length of the tentacle zones with high amount of muscle fibers alternate with the zones with much lesser number of fibers. The concentrations of muscle fibers are associated with location of large columnar gastrodermal cells, whereas sparse zones – to the borders between these cells. No circular muscle elements were found in tentacles. Also, with the help of phalloidin labeling some details of actin cytoskeleton of gastrodermal tentacle cells were shown (Fig. 3C). Actin filaments surround large nucleus located in the center of the cell. From this area to the cell borders individual process run, forming the sparse net.

In the oral disc of the polyp short thin muscle fibers are located. They run radially from the hypostome base to the bases of the tentacles (Fig. 5A). These fibers don't form any aggregations, but disperse evenly at the entire space of the oral disc, forming the layer of radial musculature. At the edge of the oral disc near the tentacle bases circular muscle elements are located. They form feeble circumoral annular muscle of the polyp. The average width of this muscle is about 32-36 μm , but in sites near the tentacle bases it increases to 34-37 μm . Whereas the density of muscle elements in circumoral muscle is comparable to those in tentacles or radial musculature of the oral disc, and never as high as in septal muscle bands. In hypostome thin longitudinal muscle fibers 34-37 μm in length are located, but their density is lower, than in tentacles (Fig. 5D). Besides the longitudinal musculature very short transversal muscle fibers are also revealed in hypostome. They are located very rare, never form any concentrations and are poorly distinguishable against the longitudinal muscle fibers.

With the help of FMRFamide antibodies labeling were revealed three groups of the immunoreactive elements. The first group are long FMRFamide-positive non-branching fibers with well-distinguishable vesicles, accompanying septal muscle bands at their entire length from the stalk base to the oral disc (Fig. 4A-D). These fibers are such dense, that it is sometime hard to follow each individual fiber. In the calyx wall solitary longitudinal FMRFamide-positive elements are also located (Fig. 4E, F). They lay looser,

don't form noticeable aggregations and never branch. The second group of FMRFamide-positive elements are located in tentacles (Fig. 3B). They are short processes, well-noticeable among muscle fibers. Some of these process branch. Immunoreactive elements of the third group form so-called nerve ring of the polyp. They are located circumhypostomally near the tentacle bases, directly over the circular musculature of the oral disc (Fig. 5B, C). Processes of immunoreactive elements accompanying septal muscle bands and tentacles enter the nerve ring, but in the ring their localization is hard to see. Besides, processes of the large FMRFamide-positive elements form the oral disc are also enter the nerve ring. They lay evenly in oral disc from the hypostome base to the nerve ring, often form branching and well-distinguishable vesicles. Small branching immunoreactive elements are also found in hypostome, but they never form noticeable concentrations.

No muscular neither nervous element were found in the polyp foot, since this part is covered by perisarc. Chitin, included in perisarc of scyphozoan polyps, have strong autofluorescence, so the visualization of immunoreactive signal is not possible.

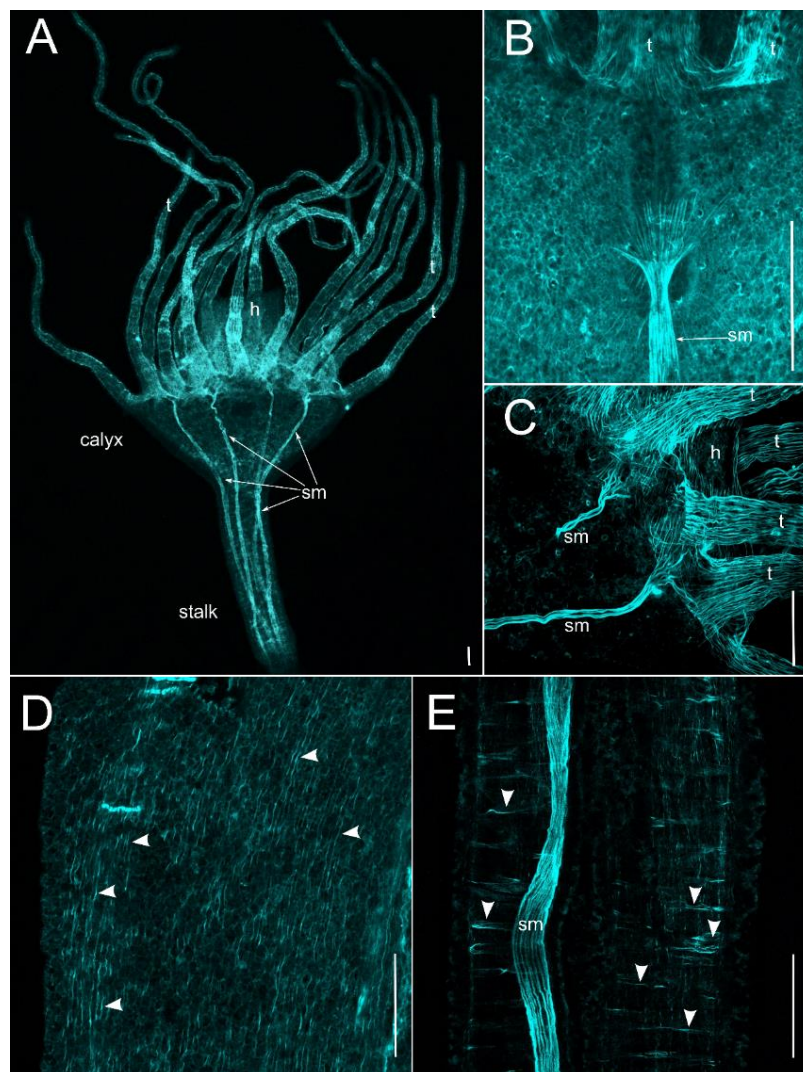


Figure 2. Adult polyp of *C. xamachana*, musculature labeling with TRITC-conjugated phalloidin.

A – general view of polyp musculature, B, C – endings of septal muscle bands near the tentacle bases in oral disc, D – longitudinal muscle fibers in polyp's stalk, E – transversal muscle fibers in polyp's stalk. Arrowheads indicate individual muscle fibers. Abbreviations: h – hypostome, sm – septal muscles, t – tentacle. Scale bar – 100 μ m.

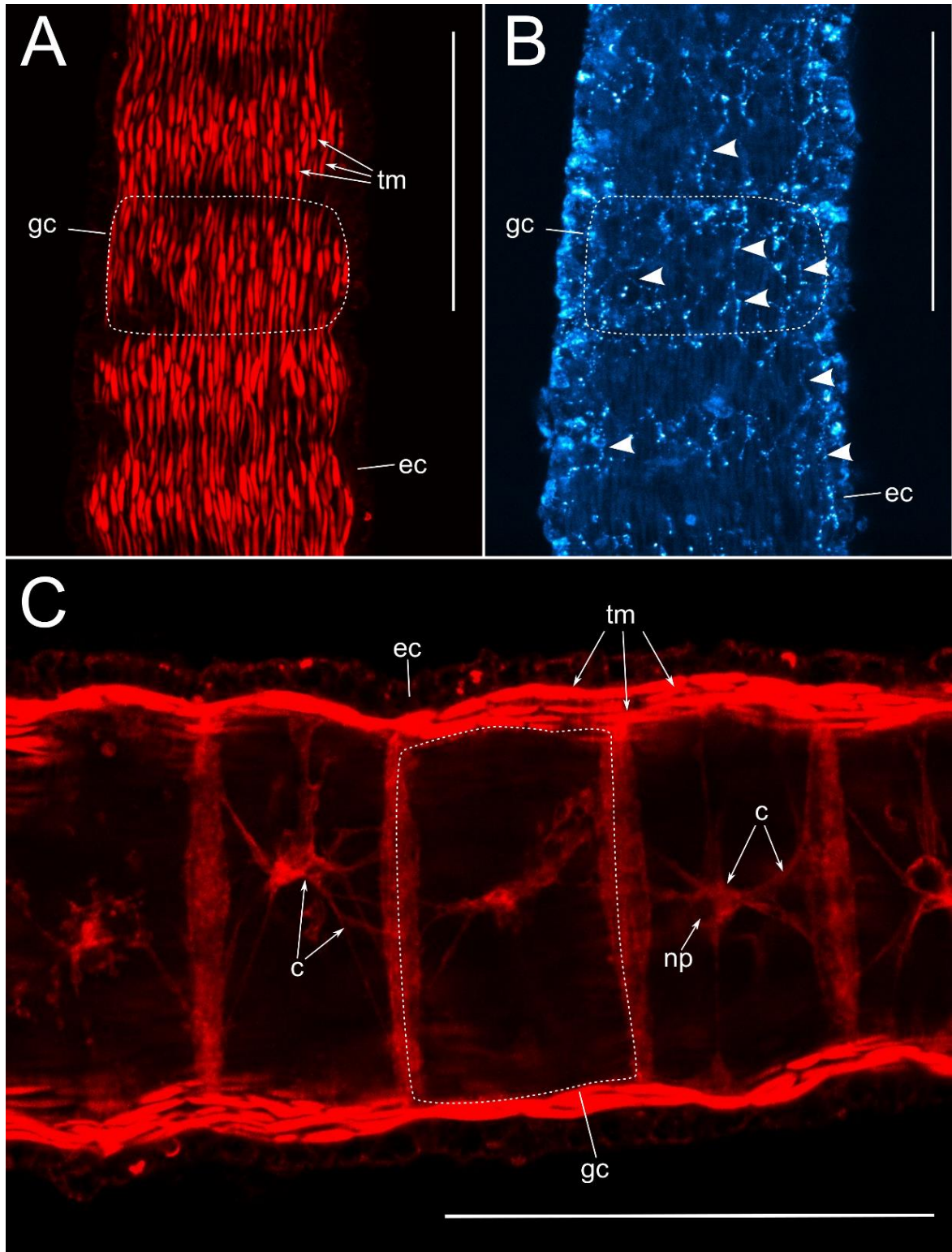


Figure 3. Muscle and nerve elements in tentacle of *C. xamachana* polyp, labeling with antibodies against FMRFamide (blue) and TRITC-conjugated phalloidin (red).

A – muscle elements of tentacle, B – FMRF-immunoreactive elements of tentacle, C – gastrodermal cells of tentacle. Arrowheads indicate individual immunoreactive elements, border of gastrodermal cell is shown with dotted line. Abbreviations: c – cytoskeleton elements of gastrodermal cell, ec – epidermal cells, gc – gastrodermal cell, np – place of nucleus, tm – tentacle muscles. Scale bar – 50 μ m

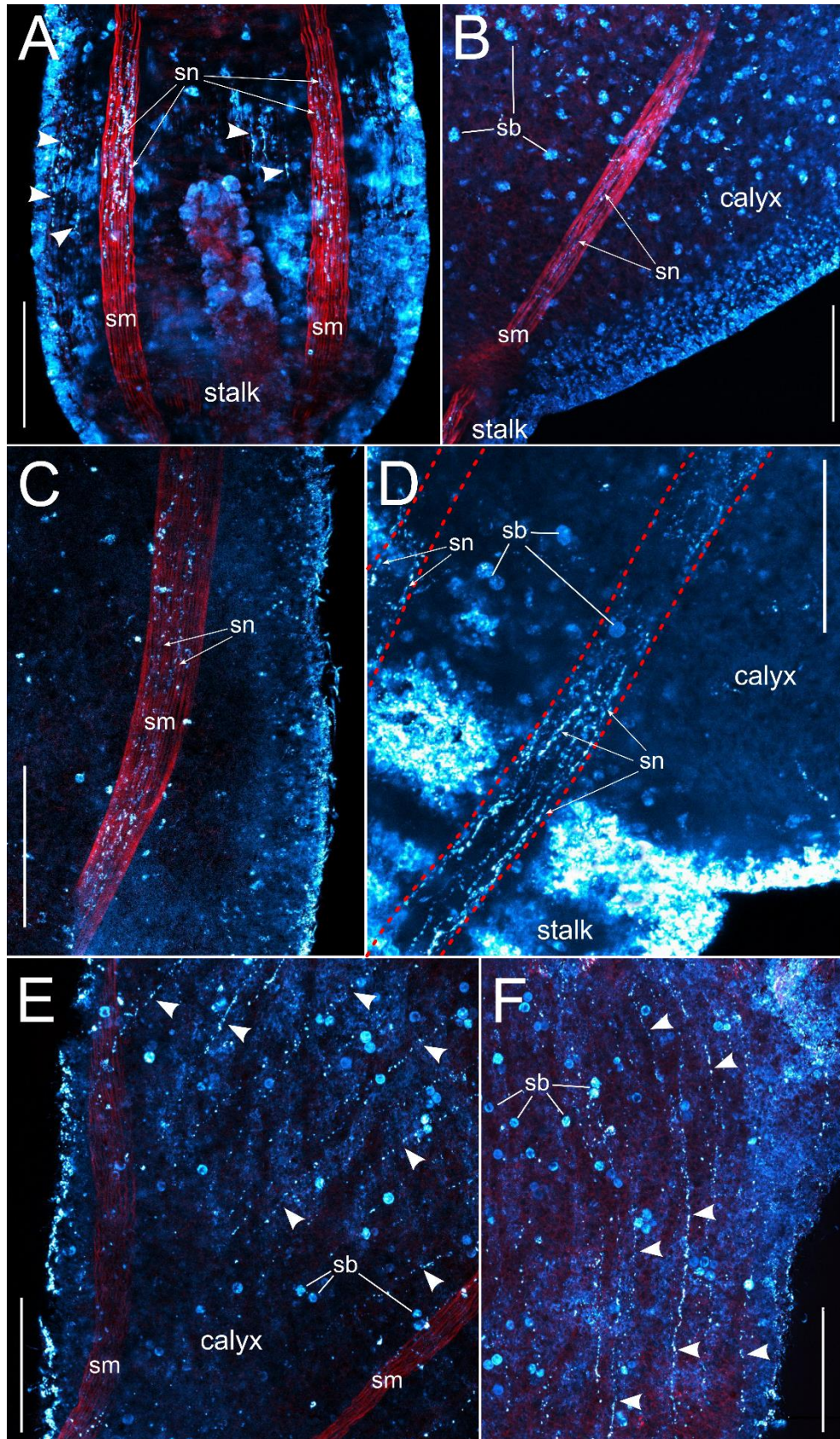


Figure 4. Adult polyp of *C. xamachana*, labeling with antibodies against FMRFamide (blue) and TRITC-conjugated phalloidin (red).

A – polyp stalk, B, C, E, F – part of the polyp’s calyx, D – transition from stalk to calyx of polyp. Arrowheads indicate individual immunoreactive elements, borders of septal muscle band are shown with dotted line. Abbreviations: sb – photosymbionts, sm – septal muscle band, sn – septal nerve elements. Scale bar – 100 μm.

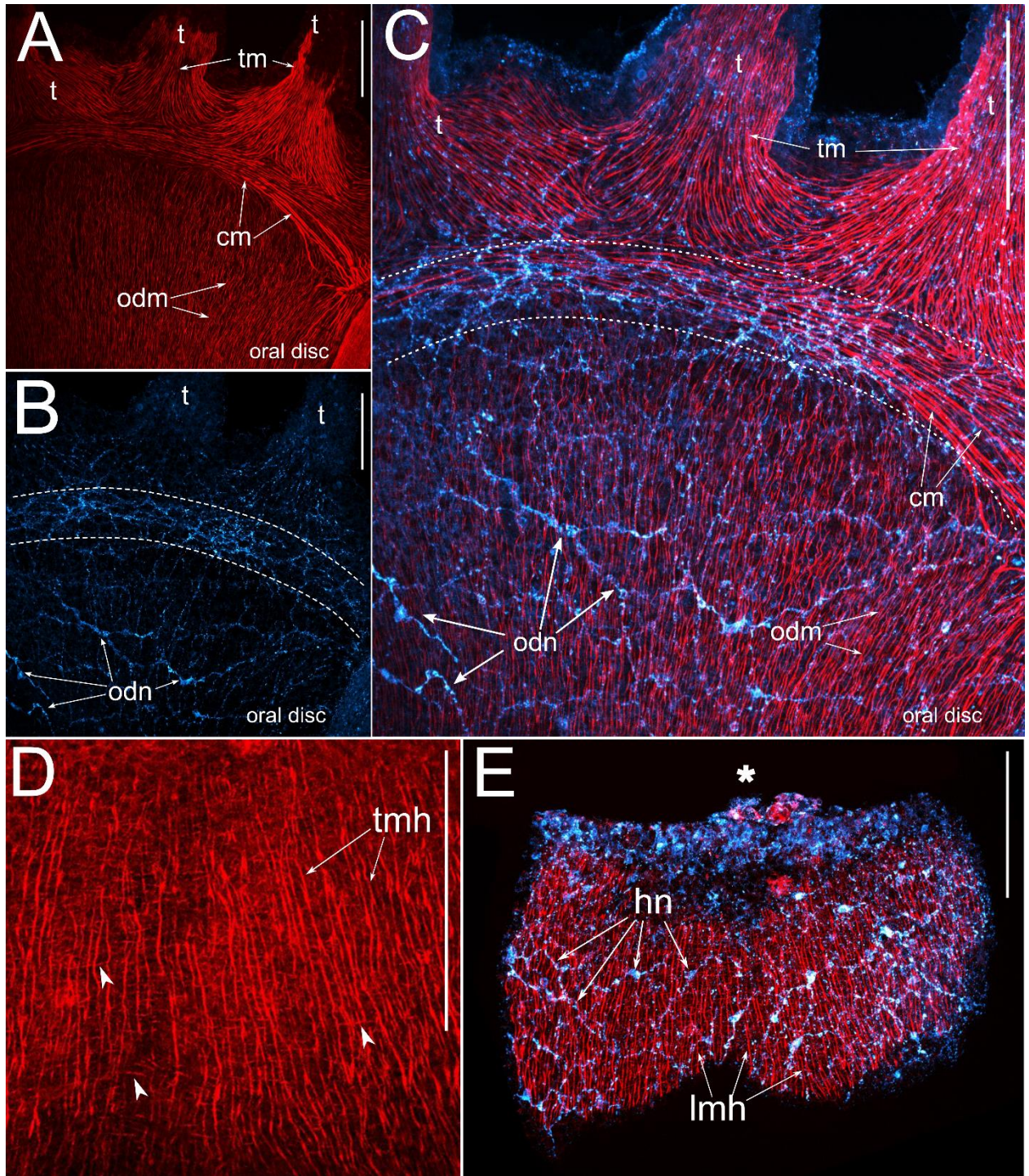


Figure 5. Body fragments of adult *C. xamachana* polyp, labeling with antibodies against FMRFamide (blue) and TRITC-conjugated phalloidin (red).

A – musculature of the oral disc, B – nerve elements of the oral disc, C – combined image of musculature and nerve elements in oral disc, D, E – polyp's hypostome. The border of nerve ring is shown with dotted line, asterisk indicates the place of mouth opening, arrowheads indicate individual transversal muscle fibers in hypostome. Abbreviations: cm – circular musculature, hn – hypostomal nerve elements, lmh – longitudinal muscle fibers in hypostome, odm – musculature of the oral disc, odn – nerve elements of the oral disc, t – tentacles, tmh – transversal muscle fibers in hypostome. Scale bar – 100 μ m.

3. Musculature and nervous system development in planuloids of *Cassiopea xamachana*

The first stage of the planuloid musculature formation is accompanied by partial reorganization of the mother polyp musculature. At the stage of cylindrical bud evagination the part of muscle fibers branches from the nearest septal muscle band. These fibers reach the base of forming bud (Fig. 6A). Whereas the branching from septal muscle band may occur from the side, which is closer to the hypostome, or from the side of the stalk. Directly near the place, where growing bud is connected to the body wall of the mother organism, muscle elements form sparse net (Fig. 6B). During the further growth of the evagination some solitary muscle fibers permeate in forming bud and may run to its distal end. Nevertheless, the most part of muscle elements end in the middle of evagination. In formed and ready-to-separate planuloid multidirectional muscle fibers are still observed (Fig. 6C). However, in just separated planuloid muscle elements are not found (Fig. 6D).

Free-swimming planuloid starts to form its own musculature. Near to the anterior end four groups of longitudinal muscle elements emerge (Fig. 7A). These elements run to the middle part of the planuloid body. In some specimens they form U-shape branching, which may bend both anterior and posterior ends. These branching usually end at the middle between two neighboring groups of longitudinal muscle fibers, but in some cases, they may reach the closest muscle group. Also, short scattered transversal muscle processes are found at the posterior end of planuloid (Fig. 6B).

During the further growth the anterior end of planuloid sharpens, so it takes a form of the smooth triangle. At this time muscle processes in groups concentrate, forming dense muscle bands and almost reach the anterior end of the body (Fig. 7B). Simultaneously short muscle elements emerge in forming anlagen of hypostome and tentacles (Fig. 7D). After the planuloid attachment to the substrate four muscle bands reach the bases of forming tentacles (Fig. 7E). At the same time short muscle fibers in hypostome and growing tentacles become more distinguishable, and their amount increases. In 1-2 days after settlement musculature of the new individual corresponds to the organization of the adult polyp at the whole (Fig. 7F).

During the planuloid formation FMRamide-positive structures are not found (Fig. 8A). Near the site of cylindric bud evagination several immunoreactive elements are well observed. They accompany septal muscle band, which already form branching of the muscle processes to the growing bud to this moment. Solitary FMRamide-positive fibers in calyx are also well-observed. However, unlike the muscle elements, no septal immunoreactive elements neither these solitary fibers form branching to the growing bud.

In separated planuloids FMRamide-positive elements are weak. Only several solitary immunoreactive fibers are found in the middle part of the body (Fig. 8C). Whereas their location doesn't correspond to the localization of developing musculature. During bud formation as well as in period of the planuloid free-swimming the group of FMRamide-positive cells is observed at the anterior end (Fig. 8B).

They have a shape of the very elongated triangle with the base oriented to the body surface. We never found any processes or connections of these cells with the immunoreactive elements in the bud or planuloid.

We failed to follow the development of FMRamide-immunoreactive elements during the further metamorphosis of planuloid. The recognition of such structures is very complicated due to non-specific labeling of the planuloid surface.

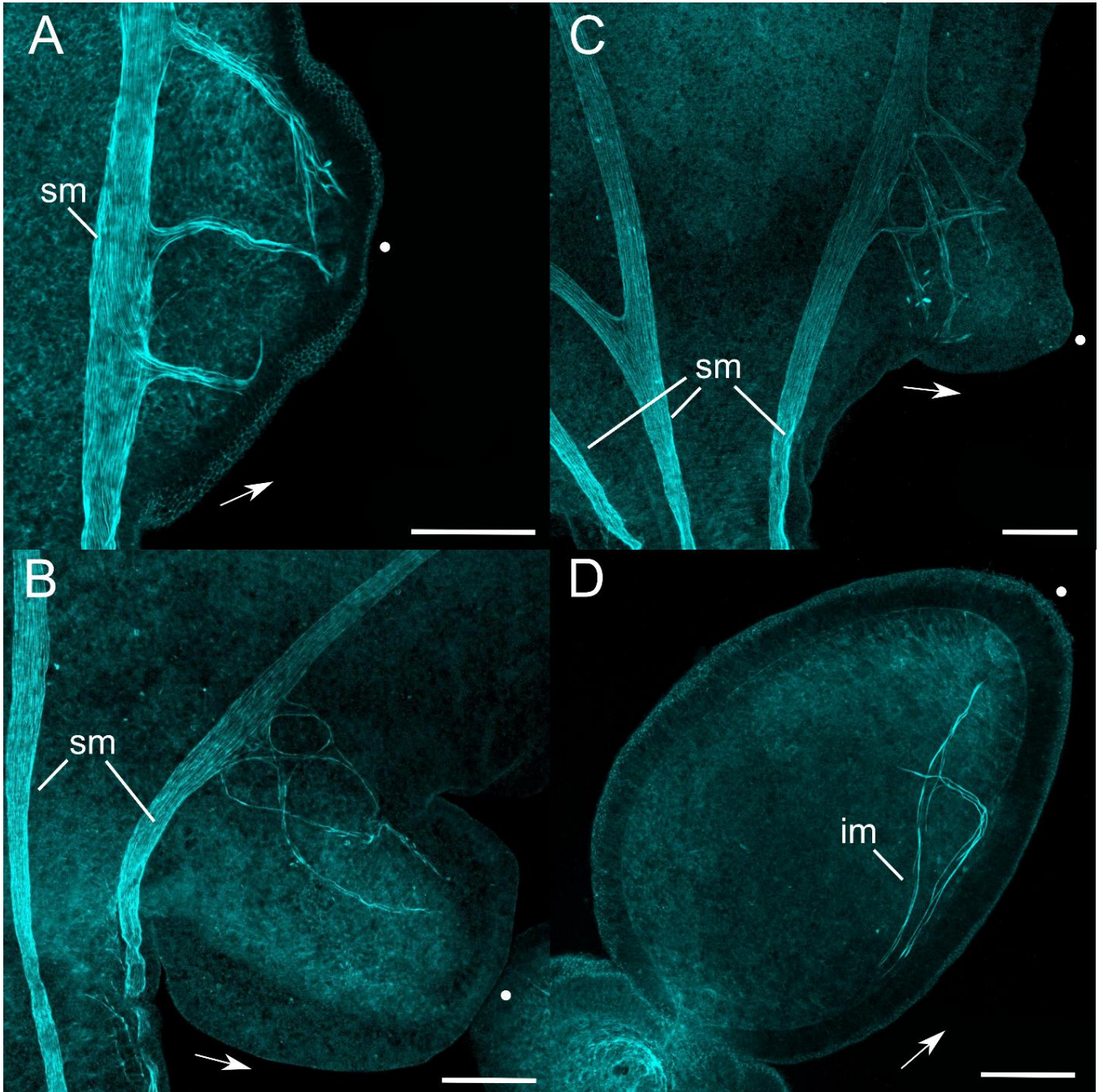


Figure 6. Growth of *C. xamachana* planuloid, musculature labeling with TRITC-conjugated phalloidin.

A-C – planuloid forming in polyps, D – planuloid just before separation with the muscles inherited from the mother polyp. Direction of the planuloid growth is shown with white arrow, anterior end of the planuloid is marked by white dot, sm – septal muscle, im – inherited muscle elements. Scale – 100 μ m.

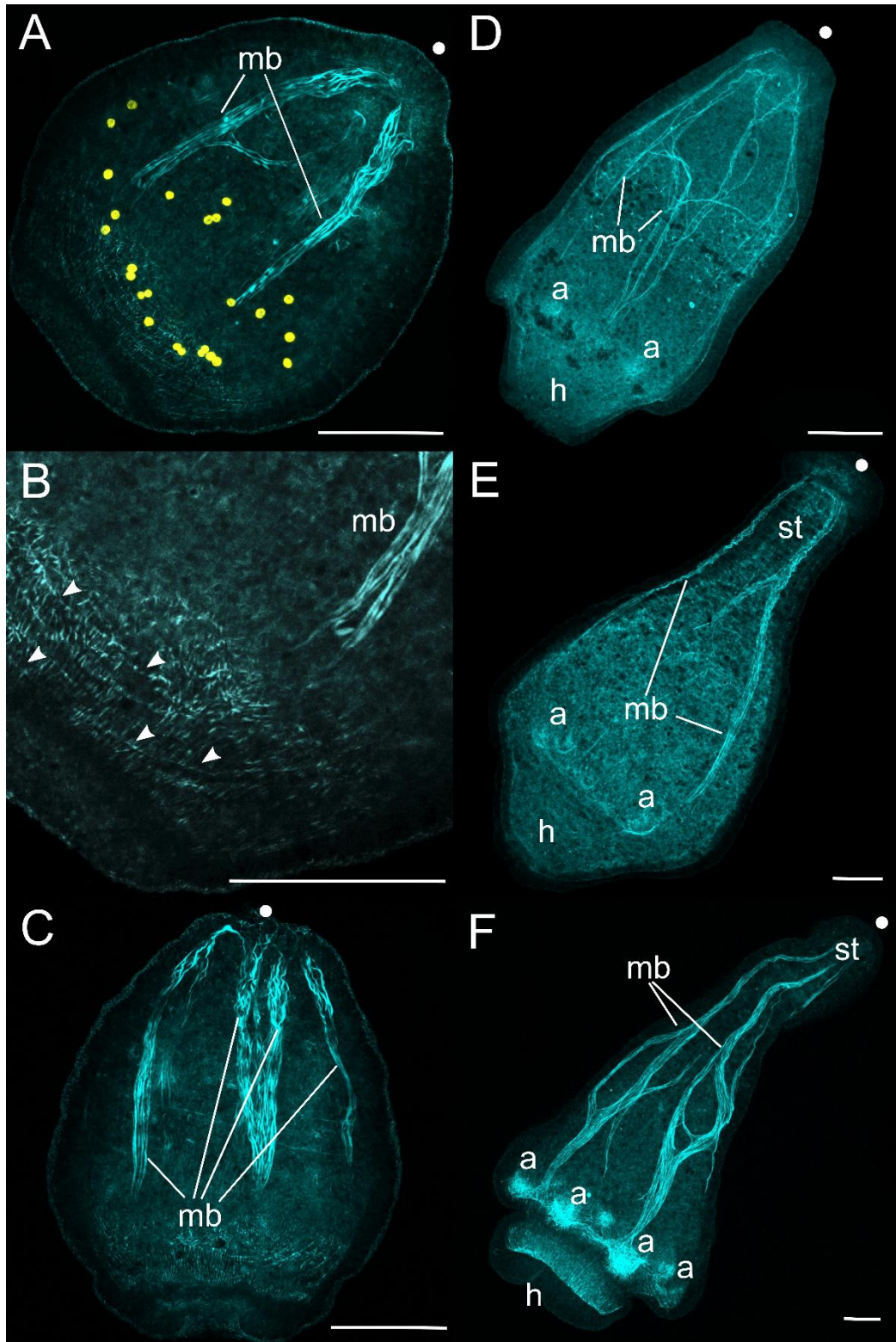


Figure 7. Development of the muscular system in *C. xamachana* planuloid, musculature labeling with TRITC-conjugated phalloidin.

A – 1 day planuloid with the forming groups of muscular elements and autofluorescent photosymbionts *Symbiodinium* sp. (yellow), B – posterior end of the planuloid with transversal muscles (small white arrows), C – 2 day planuloid continuing muscle differentiation and concentration of muscle elements into bands, D – planuloid before the settlement with forming stalk, hypostome and tentacles anlagen, E – planuloid several hours after the settlement with the formed stalk and muscle bands, proceeding tentacles and hypostome growth, F – planuloid finishing metamorphosis into the polyp with almost formed septal muscles, stalk, calyx, concentrating short muscle elements in hypostome and tentacles. Anterior end of the planuloid is marked by white dot, a – tentacles anlagen, h – hypostome, mb – muscle bands, sb – photosymbionts, st – stalk of polyp. Scale – 100 μ m.

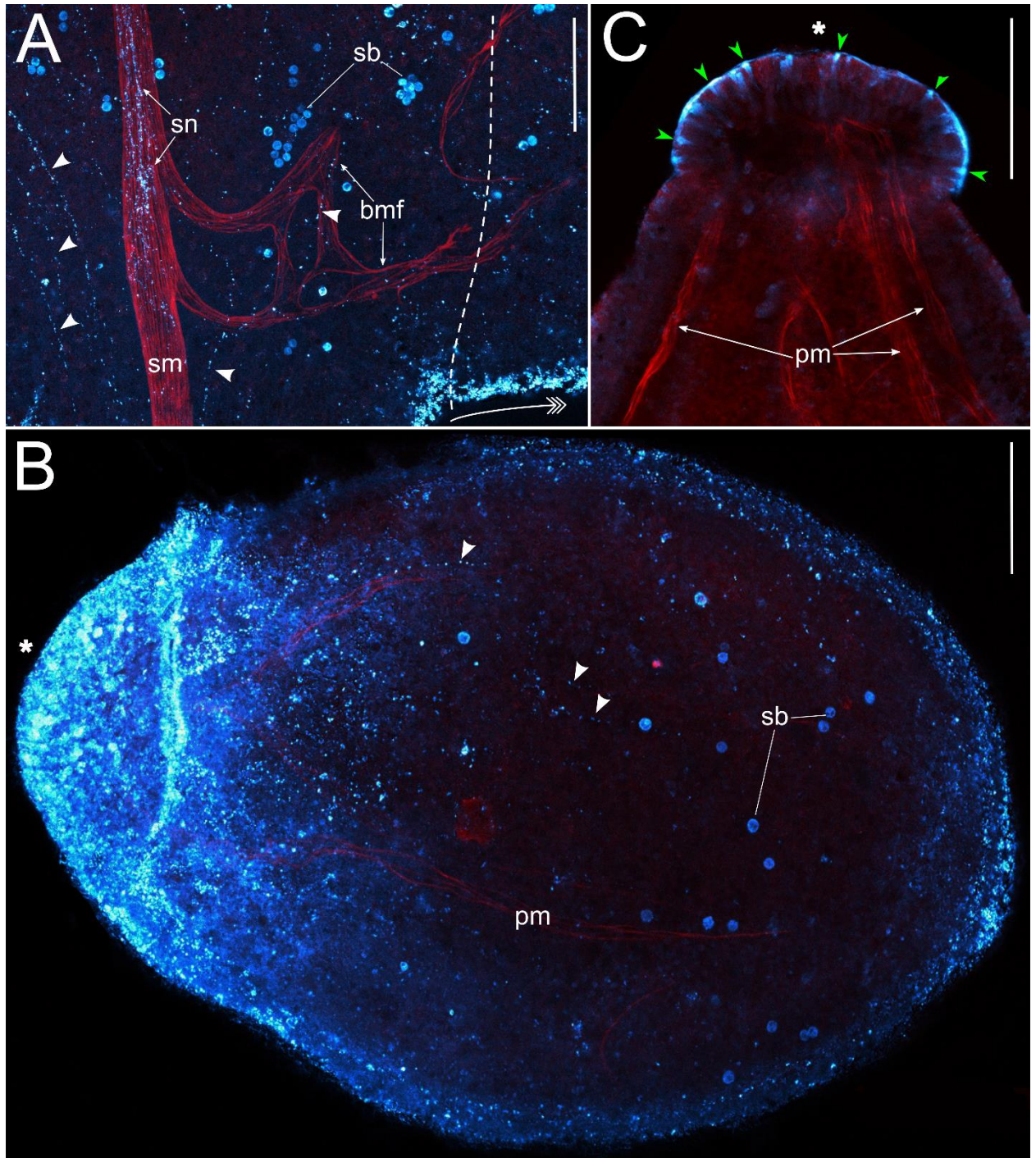


Figure 8. Forming and separated planuloids of *C. xamachana* labeled with FMRFamide antibodies (blue) and TRITC-conjugated phalloidin (red).

A – the base of growing planuloid protrusion near the septal muscle band of polyp, the approximate border between calyx and protrusion is marked with the intermittent line, scale bar: 100 μm , B – separated planuloid, scale bar: 50 μm , C – the anterior end of the planuloid, green arrowheads point the possible sensory cells, scale bar: 50 μm . The anterior end of the planuloid marked with asterisk, the direction of planuloid growth is shown with arrow, single FMRFamide positive neurites are pointed with white arrow heads, bmf – branched off septal muscle fibers entering the growing planuloid, pm – planuloid muscles, sb – photosymbionts cells, sm – septal muscle band, sn – septal neurites,

4. The EdU labeling during the bud growth, development and transformation of *Cassiopea xamachana* planuloid

With the experiments of EdU labeling we determined zones of the active DNA synthesis at the different growth stages in buds and planuloids of *C. xamachana*. In budding polyps two zones of active labeling are observed (Fig. 9A). The first one is located in polyp calyx in the space from stalk to the tentacle bases. Labeled nuclei in this zone are distributed evenly and frequently. Their amount varies from 45 to 65 per 100 μm^2 . Only rare solitary nuclei with the signal are found in tentacles and stalk. The second zone is located in the bud evagination from its base to the distal end, excluding the small region at the very end of the bud (Fig. 9B). EdU signal in this zone is so intense, that separate nuclei are poorly-distinguishable. The number of labeled nuclei in growing bud is noticeably higher, than in polyp calyx. Their number reaches 120-140 per 100 μm^2 in bud evagination zone. Whereas there is no increasing of labeling in polyp tissues near the evagination base.

In ready-to-separate planuloid the intensity of labeling decreases to 30-50 per 100 μm^2 . It is especially well-noticeable in case of planuloid chains formation (Fig. 9C). The highest level of labeling is still observed in the bud evagination, whereas in each subsequent forming planuloid in chain the number of labeled nuclei decreases. Wherein the location of EdU labeling doesn't change. The biggest number of labeled nuclei is near the formed planuloid base, but to the distal end the intensity of labeling become lower. Directly on the distal end planuloid there is no any signs of EdU signaling.

In free-swimming planuloids the number of labeled nuclei varies in different studied specimens from 40 to 60 per 100 μm^2 . At the early stages the same pattern of EdU signal distribution as in planuloids before separation is observed (Fig. 10A). The amount of the labeled nuclei at the functionally posterior end of planuloid is 3,2-3,4 times higher, than at the anterior end: about 31-41 and 8-14 per 100 μm^2 respectively. To the moment of tentacles, hypostome and stalk anlagen development zone of EdU labeling occupies the whole body of planuloid (Fig. 10 B-D). Most labeled nuclei are situated in tentacles anlagen – 38-43 per 100 μm^2 . In this moment solitary labeled nuclei emerge at the functionally anterior end of planuloid (ex-distal end of the growing bud). Such pattern of labeling persists until the planuloid settlement and transformation.

In young polyp zone of the most intense EdU labeling is located in calyx – about 30-34 labeled nuclei per 100 μm^2 (Fig. 10E). As before, the biggest number of labeled nuclei is observed near the tentacle bases – 42-52 per 100 μm^2 , thus, the labeling zone is situated all space of calyx from the stalk to the tentacles. Directly in stalk and tentacles only solitary labeled nuclei are found.

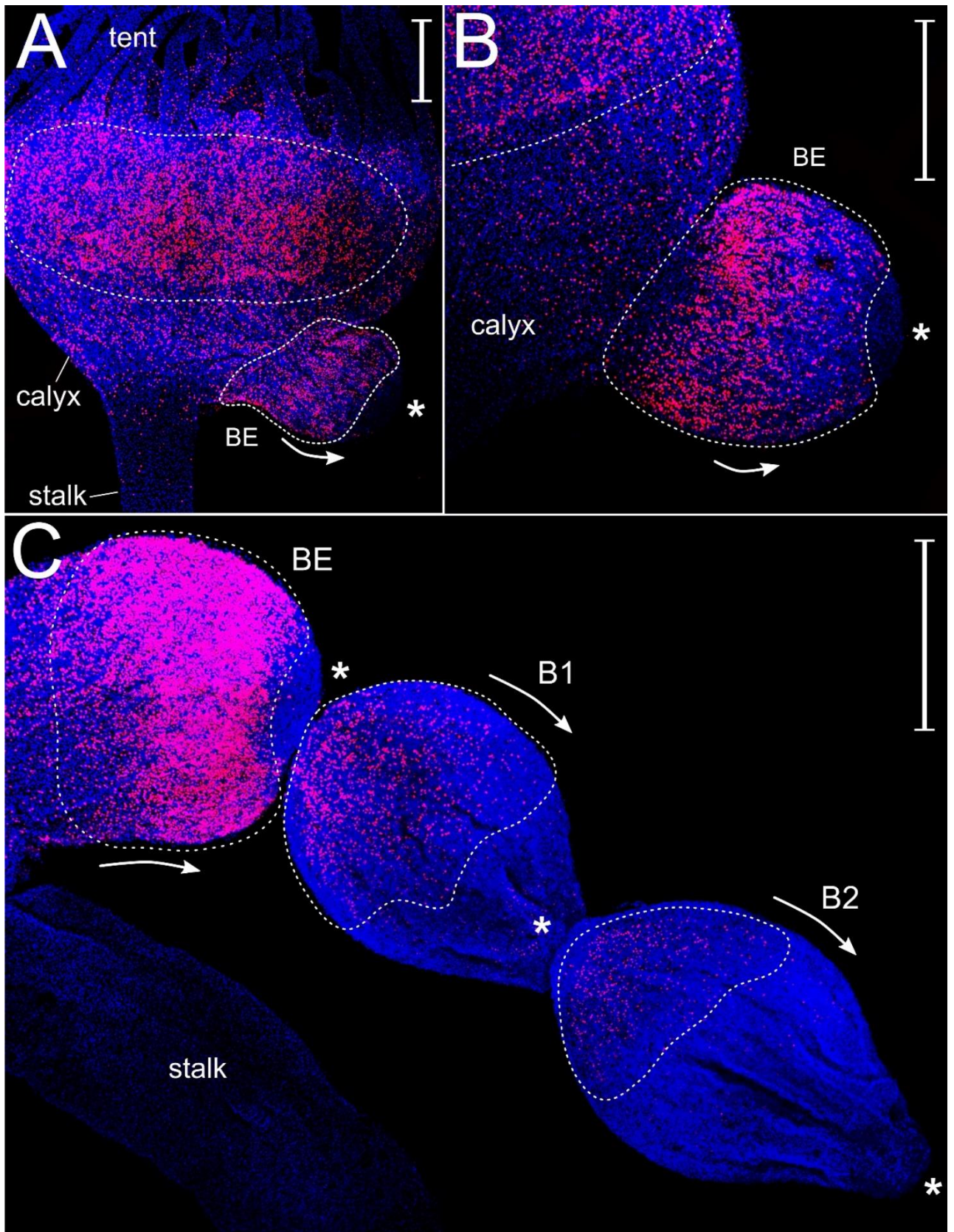


Figure 9. Polyp and growing buds of *C. xamachana*, labeled with EdU (pink) and DAPI (blue).

A – polyp with growing bud evagination, B – bud evagination, C – bud evagination and two planuloid buds in chain. Abbreviations: B1, B2 – planuloid buds, BE – bud evagination, tent – tentacles. The functionally anterior end of the planuloid is labeled with asterisk, arrows show the direction of bud growth, the dotted line marks the border of labeling zone. Scale bar – 100 μm .

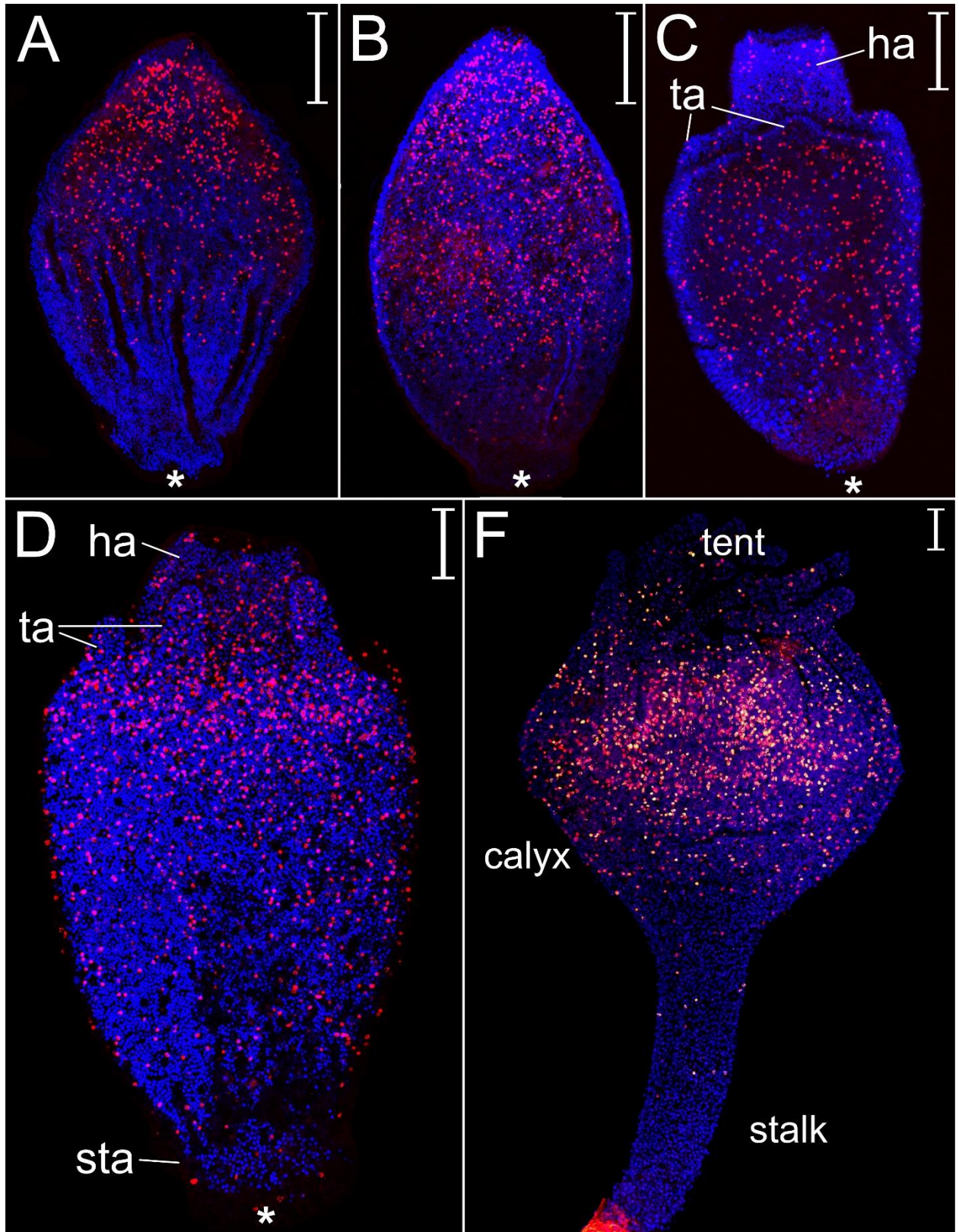


Figure 10. Planuloid development stages and young polyp of *C. xamachana*, labeled with EdU (pink and red) and DAPI (blue).

A – planuloid, just after separation, B – planuloid, one day after separation, C – late planuloid, D – planuloid before settlement, F – young polyp. Abbreviations: ha – hypostome anlage, sta – stalk anlage, ta – tentacle anlage, tent - tentacles. The functionally anterior end of the planuloid is labeled with asterisk. Scale bar – 100 μ m.

5. The inheritance of photosymbionts by planuloids of *Cassiopea xamachana*

Symbiotic dinoflagellate algae *Symbiodinium* sp., typical for Cassiopeidae family, are well-distinguishable during the confocal microscopy imaging due to autofluorescent chlorophyll molecules in their cells. In adult polyps photosymbionts are abundant in calyx (Fig. 4 E, F). During the bud growth some cells migrate to the area of forming evagination. In planuloid they occupy large region from the middle of the body to the posterior end, but never on the area of the anterior end (Fig. 7A). This special feature allows to surely identify antero-posterior orientation of planuloid, even in cases, when it loses its shape during slides preparation.

Discussion

1. General morphology of the muscular and FMRFamidergic nervous system in polyps of *Cassiopea xamachana*

As it was shown earlier in Literature review data on neuromuscular system organization of different cnidarian polyps are limited to the several studies of some species, which are, as a rule, model objects. However, even basing on this knowledge one can reveal several common features in this system organization. In all studied polyps the most developed is longitudinal body musculature, musculature associated with oral end (hypostome or pharynx muscles, radial or circular musculature of the oral disc) and longitudinal musculature of the tentacles. At the same time circular musculature of the body, and especially of the tentacles, is developed much lesser. The nervous system is presented by the nerve ring at the tentacle bases, individual neurons in the body and nerve processes, accompanying main body musculature. The significant differences lie in the level of nerve and muscle elements concentration. Muscle fibers may be scattered or united in functional groups, like bands. Nerve processes in the nerve ring may form sparse net or concentrate, forming some sort of transduction ways. The main features of neuromuscular system organization of studied polyps in different Cnidaria classes are shown on scheme at Figure 11. Wherein the data of scyphozoan and cubozoan polyps are taken from studies, made with transmission electron microscope, and may resemble the general topology not in all details (Chapman, 1978 [37]; Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]).

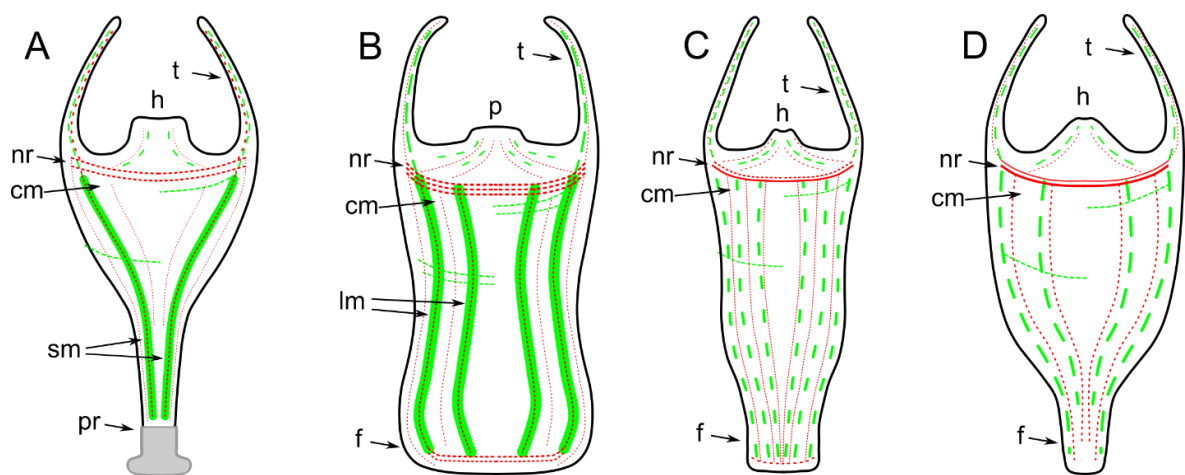


Figure 11. Scheme of muscle and nervous system organization in polyps of main Cnidaria classes.

A – polyp of *Aurelia aurita* (Scyphozoa), by Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40], B – polyp of *Nematostella vectensis* (Anthozoa), pharynx musculature is not shown for simplification, by Jahnel, Walzl, Technau, 2014 [96], C – polyp of *Hydra* sp. (Hydrozoa) by Grimmelikhuijzen et al., 1989 и Szymanski, Yuste, 2019 [184], D – polyp of *Tripedalia cystophora* (Cubozoa) by Chapman, 1978 [37]. Nerve elements are shown in red; muscle elements are shown in green. Abbreviations: cm – circular musculature of oral pole, f – foot, h – hypostome, nr – nerve ring, lm – longitudinal muscles, p – pharynx, pr – perisarc, sm – septal musculature. Relative dimensions are not kept.

As it was revealed in this study (Khabibulina, Starunov, 2019 [104]; Khabibulina, Starunov, 2020 [103]), organization of the musculature and FMRamide-positive nervous system of *C. xamachana* scyphopolyps on the whole corresponds to those in *Aurelia aurita* scyphopolyps. General location of the muscle and FMRamide-positive nerve elements in the polyp body is shown at Figure 12.

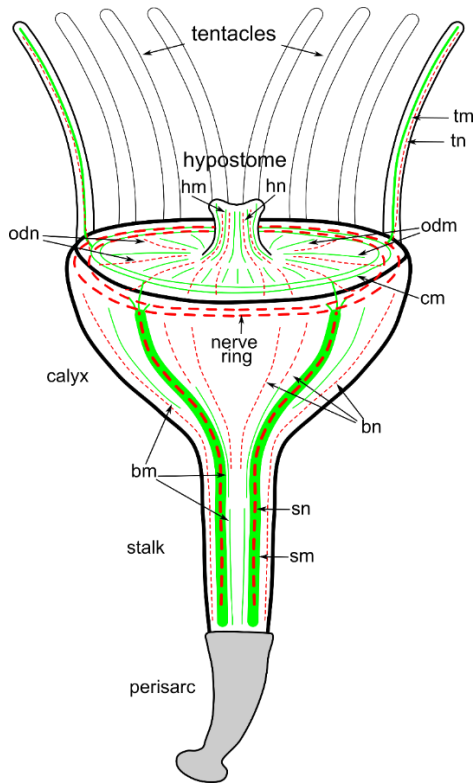


Figure 12. Scheme of neuromuscular system organization in polyp of *C. xamachana*.

Abbreviations: bm – body musculature, bn – body nerve elements, cm – circular muscle, h – hypostomal muscles, hn – hypostomal nerve elements, odm – oral disc musculature, odn – oral disc nerve elements, sm – septal muscle bands, sn – septal nerve elements, tm – tentacle muscles, tn – tentacle nerve elements. Nerve elements are shown in green, muscle elements are shown in red.

In *C. xamachana* polyps three groups of the muscles may be distinguished: 1) body musculature, 2) tentacle musculature and 3) oral disc musculature. Body musculature is mainly presented by four mighty longitudinal septal muscle bands, running from the stalk base to the oral disc. These muscles, possibly, provide fast strong contraction of the body in the case, when polyp is disturbed. Also, these muscles, apparently, ensure the stalk bending and calyx turning during the feeding behavior (Bigelow, 1900 [21]). Besides the septal musculature there solitary small longitudinal and transversal muscle fibers in the stalk. They, possibly, might be engaged for more accurate movements.

Tentacle musculature includes short, thick longitudinal muscle fibers. These muscle, possibly, provide the tentacle contraction and its bending. No circular muscle elements were found in *C. xamachana* tentacles, as well as in previously studied polyps *Tripedalia cystophora* (Chapman, 1978 [37]) and *A. aurita* (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). In case of absence of antagonist muscles tentacles elongation and spreading may occur due to tension of highly vacuolized columnar gastrodermal cells and collagen fibers of mesoglea (Chapman, 1970 [38]).

Oral disc musculature includes the layer of radial muscle fibers and circular muscle, located near the tentacle bases. It must be emphasized, that circular muscle doesn't form real anatomically separated ring

muscle. Circular muscle processes in this aggregation, apparently, act in concert and function as one “muscle”. Muscle processes of tentacles, radial musculature of the oral disc and endings of the septal muscle bends run to the circular muscle. Similar structure of the oral disc musculature was described in *A. aurita* polyps (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]). Function of the radial musculature is, possibly, the expansion of hypostome’s lobes, and consequently the mouth opening for food capture. Scyphopolyps can swallow prey, that is significantly larger, than the volume of their gastral cavity and mouth in normal conditions (Östman, 1997 [145]; Schiariti et al., 2008 [168]; Ikeda, Mizota, Uye, 2017 [92]). Apparently, the layer of the oral disc radial musculature provides the process of big particles swallowing. Such stretching of the calyx walls and, respectively, the gastral cavity is possible due to the absence of the massive layer of longitudinal and circular musculature. Directly the food capture is provided by hypostome, in which its own musculature is presented. It includes a plenty of long longitudinal muscle processes and rare transversal fibers. The gastral cavity and mouth closure, probably, occurs due to acting of transversal musculature of hypostome and contraction of the oral disc circular muscle.

The investigation of the nervous system elements localization special features was made with the labeling of antibodies against FMRFamide. We revealed only specific labeling of neuron processes, whereas the nucleated parts of the cells weren’t observed. It is likely connected to the fact, that FMRFamide neurotransmitter is distributed mainly in large vesicles of the nerve processes (Singla, Mackie, 1991 [172]; Westfall, Grimmelikhuijzen, 1993 [201]). In *A. aurita* scyphopolyps and in some other species of scyphozoan jellies FMRFamide-positive immunoreactivity was also described only on nerve fibers (Sakaguchi et al, 1999 [160]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). Nevertheless, in a row of other studies, dedicated to investigation of the nervous system of hydromedusae and free-living stage of parasite *Polypodium hydriforme*, FMRFamide-positive labeling was observed in neurons’ bodies (Mackie et al, 1985 [121]; Marlow et al, 2009 [122]; Nakanishi et al, 2009 [136]; Raikova, Raikova, 2016 [156]). Probably, the localization of FMRFamide exactly in neurites might be a special feature of Scyphozoa.

Visualization of the nervous elements is often complicated by strong background noise, caused by non-specific antibodies binding. This non-specific labeling possibly occurs due to presence of the big amount of glandular cell in *C. xamachana* tissues, especially in foot and at the distal end of planuloid (Hoffmann, Honegger, 1990 [82]). It is possible to reduce background noise by increasing washing time and number of the washing steps, but it is impossible to dispose of it completely.

FMRFamidergic nervous system of *C. xamachana* polyps includes three groups of nerve elements. First two groups of nerve processes are associated with muscles in body and tentacles of the polyp. Third group forms circumhypostomal ring in oral disc near the tentacle bases. Aggregations of longitudinal FMRFamide-positive nerve fibers, accompanying septal muscle bands of the scyphopolyp, are the most noticeable. Such aggregations are also described in *Aurelia aurita* (Sakaguchi et al, 1999 [160]), and, probably, are the common feature of the nervous system organization in scyphozoan polyps. In studied sea anemones and sea pens FMRFamidergic nerve elements similarly accompany mesenterial retractor muscles

(Girosi et al., 2005 [64]; Marlow et al., 2009 [122]). Linked localization of FMRFamide-positive nerve fibers and muscle elements may indicate the involvement of FMRFamidergic elements in the control of muscular activity. This assumption is confirmed by data on other cnidarians, in which FMRFamidergic nerve elements regulate neuromotor reactions and swimming movements (Plickert, Schneider, 2004 [153]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). Apparently, FMRFamidergic cells of the body and tentacles in polyps of *C. xamachana* may provide the musculature control in corresponding body parts. Since the septal muscle bands are the most developed, so nerve elements nearby them form the densest concentration.

Circumhypostomal FMRFamidergic nerve processes form so-called nerve ring. That is the site of the most concentrated nerve elements in the polyp body. Part of these nerve elements, probably, may control circular and radial musculature of the oral disc. However, besides this function nerve ring may act as general integrative center of the animal (Koizumi, 2007 [107]; Arendt, Tosches, Marlow, 2016 [11]). Nerve processes of the oral disc, tentacles, body (and, particularly, septal nerves) enter the nerve ring. So, interconnection and coordination of the polyp musculature might be provided due to regulation of the nerve ring.

Nerve ring is described in polyps of the different cnidarian groups. Special organization features of its' nervous elements may vary a lot. In cubopolyps and hydro-polyps nerve elements are highly concentrated and form actually two rings – in outer and inner cell layers (Chapman, 1978 [37], Koizumi et al., 1992 [110]). Some investigators interpret this nerve ring as a very primitive central nervous system (Holland, 2003 [88]; Koizumi, 2007 [107]). In Anthozoa there is also nerve ring division into epidermal and gastrodermal part, but nerve elements are located looser, without formation of dense circuits (Marlow et al., 2009 [122]; Kelava, Rentzsch, Technau, 2015 [101]). Nerve elements of the well-developed pharynx are also strongly connected with nerve ring in anthozoans. Finally, as follows from this study and previous works with *A. aurita* polyps (Chia, Amerongen, Peteya, 1984 [40]; Sakaguchi, Imai, Nomoto, 1999 [160]), in scyphozoans nerve elements in nerve ring are least densely located among all cnidarian polyps. Actually, neurons and neurites form circular net near the tentacle bases. Wherein, no directed nerve circuits are observed. Besides, unlike the other cnidarian polyps, nerve elements in Scyphozoa are present only in epidermal layer (Helm, 2018 [78]).

In case of Cubozoa and Scyphozoa main features of the nerve ring structure persist in medusae (Garm et al, 2007 [60]; Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). In these cnidarian classes jellyfish are formed by strobilation – formation of transversal constrictions in polyp, each of those transforming into young medusa – ephyra (Naumov, 1961; Toshino et al., 2015; Helm R. R, 2018). Many scyphozoan polyps, for example *Aurelia aurita* (Haymov, 1961 [4]), *Lychnorhiza lucerna* (Schiariti et al., 2008 [168]), *Stomolophus meleagnis* (Calder, 1982 [31]) and others (Helm, 2018 [78]) possess poldisc strobilation. In this case the set of ephyrae almost simultaneously develops at one polyp. During the monodisc strobilation only one ephyra forms at the polyp. This type of strobilation is typical for cubopolyps and some scyphopolyps, particularly, for Cassiopeidae family (Bigelow, 1892 [20]; Hofmann, Neumann, Henne, 1978 [86]).

Herewith, the most part of the polyp tissues directly become medusa's tissues, or is the cell source for its growth. Development of the neuromuscular system of ephyrae during the strobilation is poorly described. Several studies show that, at least, part of jellyfish's nerve elements in epidermis is inherited directly from the polyp (Satterlie, Eichinger, 2014 [166]). At the same time muscle elements are, probable, not involved in ephyra musculature formation, since in forming jellyfish occurs the transition to completely different way of locomotion (Helm et al., 2015 [79]). Thus, nerve ring of medusa in Cubozoa and Scyphozoa might be partly homologous to the nerve ring of polyp, that's why its general features persist during transition from one life form to another.

In total, structure of musculature and nervous system of *C. xamachana* scyphopolyps retains the primitive organization features. Muscle and nerve elements, which accompany them, are low-differentiated: only complex of septal muscle bands with co-localized FMRFamideergic processes and neuromuscular complex of oral disc and hypostome clearly stand out. Nerve ring elements are weakly concentrated and, unlike in other cnidarians, are situated only in epidermis. There is no nerve cells or nerve processes concentrations. Muscle and nerve elements are mostly scattered. They don't form clear functional groups, like in case of solitary anthozoan polyps, which have complex musculature of pharynx and retractor muscles, and nerve elements, associated with them. Scyphopolyps have less variety of behavioral reactions and movements, that is possibly connected with more primitive organization of the neuromuscular system. In studied polyps of Hydrozoa and Cubozoa formation of complex musculature also wasn't observed. However, it might be conditioned by relatively small body size. Besides, in case of hydropolyps and cubopolyps the absence of differentiated musculature is, probably, compensated by development and specialization of the nervous system, especially the nerve ring. It leads to better coordination of scattered muscle elements. Nevertheless, available data are not enough to reveal specific tendency in neuromuscular system evolution of cnidarian polyp stages. Further studies of polyps' morphology as well as molecular mechanisms of their development will shed a light on this question.

2. The development of musculature and nervous system in planuloid

The result of literature data analysis shows the wide diversity of asexual reproduction in cnidarian polyp stages. There are different ways of body or colony splitting into new individuals, formation of resting (podocysts) or moving (frustules, propagules) stages, and, finally, several types of budding. Available information in most cases are limited by visual observations and life cycle variants descriptions. Besides, some term, and particularly "propagule", are used in too blurry meaning, and, in fact, may denote organisms, which differ in origin and structure complexity. Thus, data on types of cnidarian asexual reproduction require more rigorous and clear classification.

Wherein, classification and investigation of possible evolutionary ways of asexual reproduction in Cnidaria is complicated by lack of detailed morphological and molecular data on special features of new individual formation. Genetic mechanisms, regulating different types of body division, are partly described for sea anemone *Nematostella vectensis* (Reitzel et al, 2007 [157]; Burton, Finnerty, 2009 [29]). In most details the lateral budding is investigated in classical model object – *Hydra* sp. Molecular genetic aspects of hydras' bud development, as well as morphological special features at histological and ultrastructural level are considered in a row of studies (Webster, Hamilton, 1972 [196]; Graf, Gierer, 1980 [67]; Otto, 1977 [147]; Bode, 2012 [24]; Hobmayer et al., 2012 [81]). Various types of asexual reproduction, including lateral budding, are noticed in polypoid stages of Scyphozoa, and, apparently, are widespread in this class. Nevertheless, studies of asexual reproduction processes in this class are limited to short information about budding type and appearance in life cycle descriptions, or they are dedicated to influence of different ecological factors on budding strategy (Schariti et al., 2014 [169]). Main described types of asexual reproduction in scyphopolyps are summarized at scheme on Figure 13. Data on distribution of this reproduction types in different species of Scyphozoa are presented in Table 1.

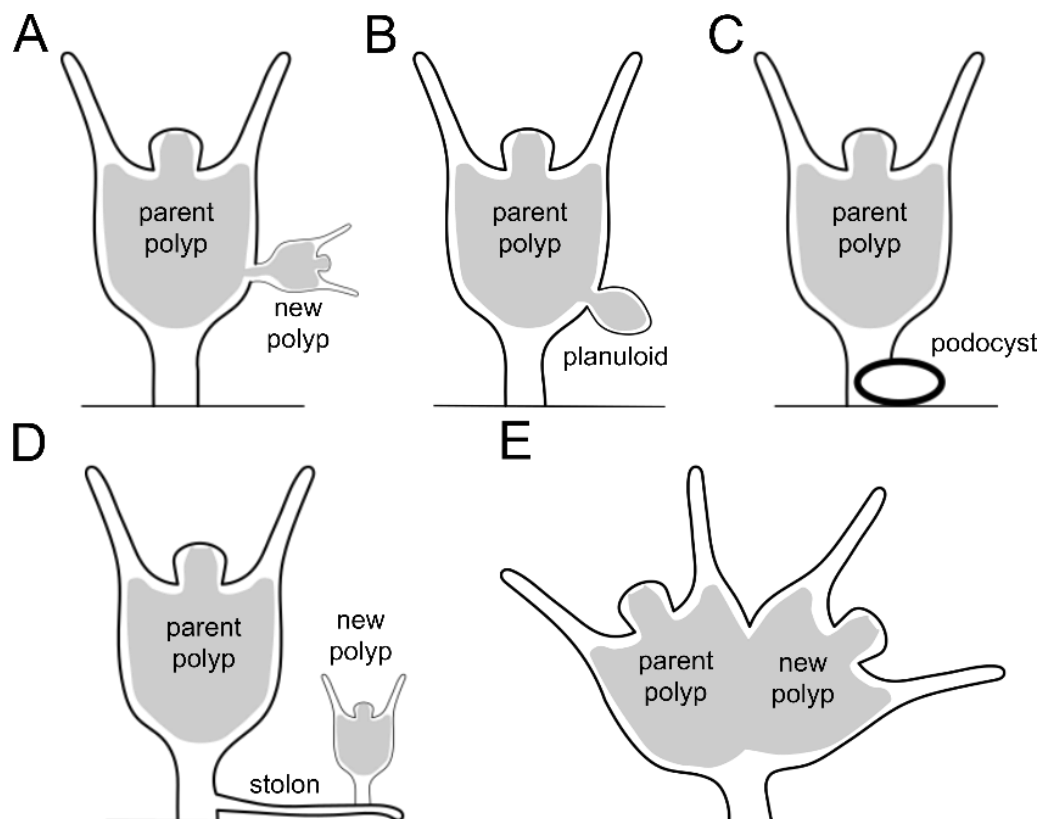


Figure 13. Types of asexual reproduction in polyps of Scyphozoa.

A - lateral budding, B – planuloid formation, C – podocysts formation, D – stolonial budding, E – longitudinal division of the polyp. Gastral cavity is shown in grey. Relative dimensions are not kept.

Table 1. Distribution of asexual reproduction types in polyps of different Scyphozoa species.

Order	Species	Lateral budding	Stolonial budding	Podocysts	Longitudinal division	Planuloids	Source
Coronatae	<i>Nausithoe aurea</i>						Silveira, Morandini, 1997 [173]
	<i>Nausithoe planulophora</i>						Kawahara et al., 2006 [100]
Rhizostomeae	<i>Acromitus hardenbergi</i>						Miyake et al., 2021 [131]
	<i>Catostylus mosaicus</i>						Pitt, 2000 [151]
	<i>Catostylus tagi</i>						Gueroun et al., 2021 [73]
	<i>Cephea cephea</i>						Sugiura, 1966 [182]
	<i>Cotylorhiza tuberculata</i>						Kikinger, 1992 [106]
	<i>Lychnorhiza lucerna</i>						Schiariti et al., 2008 [168]
	<i>Mastigas papua</i>						Sugiura, 1963 [181]
	<i>Nemopilema nomurai</i>						Kawahara et al., 2006 [100]
	<i>Rhizostoma luteum</i>						Kienberger et al., 2018 [105]
	<i>Rhizostoma octopus</i>						Holst et al., 2007 [89]
	<i>Rhizostoma pulmo</i>						Fuentes et al., 2011 [57]
	<i>Stomolophus meleagris</i>						Calder, 1982 [31]
Semaestomeae	<i>Aurelia aurita</i>						Ishii, Watanabe, 2003 [94]
	<i>Chrysaora fuscescens</i>						Widmer, 2008. [203]
	<i>Chrysaora hysoscella</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Chrysaora lactea</i>						Morandini et al., 2004 [132]
	<i>Cyanea capillata</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Cyanea lamarkii</i>						Widmer et al., 2016 [205]
	<i>Phacellophora camtschatica</i>						Widmer, 2006 [204]
	<i>Rhopilema nomadica</i>						Lotan et al., 1992 [117]
	<i>Rhopilema verrilli</i>						Calder, 1973 [30]
	<i>Sanderia malayensis</i>						Adler, Jarms, 2009 [6]

One special type of budding – by formation of separating ciliated stages – planuloids is described in some more details. It is peculiar for scyphozoan polyps of Kolpophorae group. Main studies dedicated to planuloid formation process were made with polyps of Cassiopeidae family (Scyphozoa: Kolpophorae) with the help of light, scanning and transmission microscopy (Bigelow, 1900 [21]; Hoffmann, Honegger, 1990 [82]; Van Lieshout, Martin, 1992 [194]). However, these methods don't allow to follow the formation dynamics of different systems and structures during the development.

In this study we present new data on muscle and nervous system formation in planuloids of *C. xamachana* (Khabibulina, Starunov, 2019 [104]; Khabibulina, Starunov, 2020 [103]). General scheme of musculature development is shown at Figure 14.

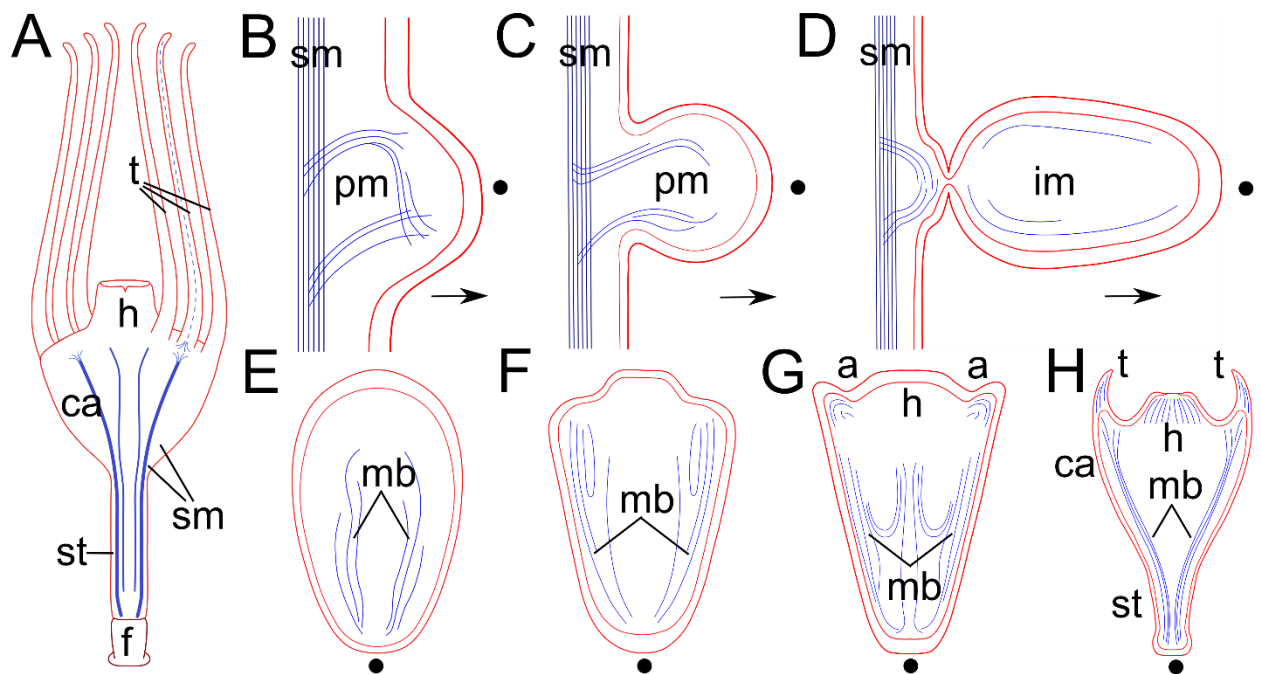


Figure 14. Scheme of the musculature development in *C. xamachana* planuloid.

A – adult polyp, B-C – emergence and growth of evagination, D – planuloid just before the separation, E – separated planuloid, F-H – growth and development of the planuloid, including the formation of hypostome and tentacles. Direction of the planuloid growth is shown with black arrow, anterior end is marked by black dot. Abbreviations: a – tentacles anlagen, ca – calyx of polyp, f – foot of polyp, h – hypostome, im – inherited muscle elements, mb – muscle bands of bud, pm – polyp muscle fibers, sm – septal muscle, st – stalk of polyp. Relative dimensions are not kept.

Planuloid development is accompanied by reorganization of mother polyp musculature near the site of bud formation. Similar process is observed during lateral budding of *Hydra* sp. Its longitudinal and circular muscle processes in the body wall also change their direction and enter the growing bud (Otto, 1977 [146]). But unlike the hydra, in which musculature of the daughter polyps at least partially forms by mother's myoepithelial cells, in case of *C. xamachana* polyp musculature only at the early stages is involved in bud growth. During the growth of bud evagination the number of muscle elements, branching from the septal muscle band of mother polyp, don't increase. As a rule, in most already formed planuloids,

still connected to the mother organism, muscle elements are not observed. Only in some ready-to-separate individuals solitary muscle fibers, inherited from mother organism, were found. The fact, that these residual muscle fibers were found only in several studied specimens, implies on accidental cases of its inheritance. Also, such muscle elements are never observed in just separated planuloids. It confirms, that muscle fibers, inherited from the mother polyp, resorb and don't participate in further planuloid's musculature formation. Also, one can exclude the possibility of transdifferentiation of these cells, since this process was shown in cnidarians earlier (Leclère, Röttinger, 2017 [113]). Thus, formation of the planuloid musculature and, accordingly, the musculature of new generation polyp occurs *de novo*. In *Hydra* sp. the reorganization of muscle processes of mother polyp myoepithelial cells near the budding site is also described (Aufschnaiter et al, 2017 [14]). But, unlike in *C. xamachana*, these cells are later included in body of daughter hydra and form its definitive musculature. Thus, reorganization of septal muscle bands of mother polyp, which occurs during the bud growth, is, apparently, a preserved feature of typical lateral budding, which have been taken place before, but was partly lost in this species (Fautin, 2002 [53]; Schiariti et al., 2014 [169]).

Muscle system of later developmental staged of planuloid includes four groups of longitudinal muscle fibers and short muscle processes in anlagen of hypostome and tentacles. This organization type is already close to the musculature of the grown polyp. After planuloid attachment muscle fibers continue to differentiate and grow, but all main features of musculature structure are formed to this moment. Since planuloid locomotion is provided by cilia, the musculature is probably not involved in it. The only planuloid movements, provided by muscles contraction, are insignificant changes in body shape from fusiform to roundish. Such changes might be carried out by longitudinal muscles along with short multidirectional fibers. Minor changes of longitudinal musculature led to the rounding of the body, and transversal fibers provide planuloid elongation. Further four groups of planuloid muscle fibers develop into septal muscle bands of polyp. Apparently, such early development of polypoid type musculature in planuloid provides fast metamorphosis and transition to the settlement, and, consequently, to increasing of reproduction rate in population.

Unlike the musculature FMRFamide-ergic part of the nervous system, apparently, is not involved in bud formation. During the reorganization of septal muscle band nerve processes, which accompany this muscle, don't change their usual direction and their number doesn't change. Solitary longitudinal nerve processes, laying near the budding site, also don't participate in bud formation. In growing evagination and forming planuloid we never observed FMRFamide-positive elements. Firstly, nerve processes are found in planuloid already after its separation from the mother organism. They are present by solitary short longitudinal nerve fibers at the middle of planuloid body. Wherein their localization is not associated with differentiating muscles. Closer to the anterior end of planuloid the number of observed nerve fibers insignificantly increases. The presence of nerve elements in planuloid was described previously with transmission electron microscopy (Hofmann, Honegger, 1990 [82]). However, this method doesn't allow to determine their accurate number, space organization and neurochemical specificity. Based on our results,

we can conclude, that FMRFamidergic nerve elements of planuloid, as well as muscle elements, are not inherited from the mother organism and form independently. Herewith, during the free-swimming period FMRFamidergic part of the nervous system is poorly-developed. Possibly, its active differentiation begins after planuloid settlement. It agrees with the fact, that planuloid musculature is almost not involved in movements before metamorphosis.

The special problem in cnidarian budding research is detection of the cell source, which gives rise to a bud and further – a new individual. The main part of studies, dedicated to this question, are focused on *Hydra* sp. (Clarkson, Wolpert, 1967 [41]; Shostak, Kankel, 1967 [171]; Otto, 1977 [146]; Otto, Campbell, 1977 [147]; Holstein et al, 1991 [90]). It was shown in these works, that at the early stages the growth of bud evagination occurs mainly because of mother organism myoepithelial cells migration. This migration is also accompanied by change of muscle processes direction in accordance with forming oral-aboral axes of the growing bud. Only later formation and growth of the new polyp tissues is provided by division of bud's own cells. In separated hydra proliferation zone occupies the whole body from foot to the tentacle bases and function through the whole life of polyp (Campbell, 1965 [32]).

In polyps of Scyphozoa proliferative activity in budding zone was noted in lateral budding of *A. aurita* (Balcer, Black, 1991 [18]). Wherein the number of dividing nuclei in bud evagination was only insignificantly higher, than in surrounding polyp's tissue. In *C. xamachana* polyps the migration of epidermal and gastrodermal cells to the growing bud evagination at the early stages was described with the help of vital dyes (Hofmann, Gottlieb, 1991 [84]; Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]). Apparently, mother polyp tissues are primary cell source for planuloid formation.

In this study we discovered several zones of active DNA synthesis in budding polyps and planuloids at the different developmental stages using lifetime labeling by EdU (Khabibulina, Starunov, 2021 [102]). It may imply on functioning proliferation zones during formation of bud and new polyp. Scheme of these zones' localization is shown at Figure 15.

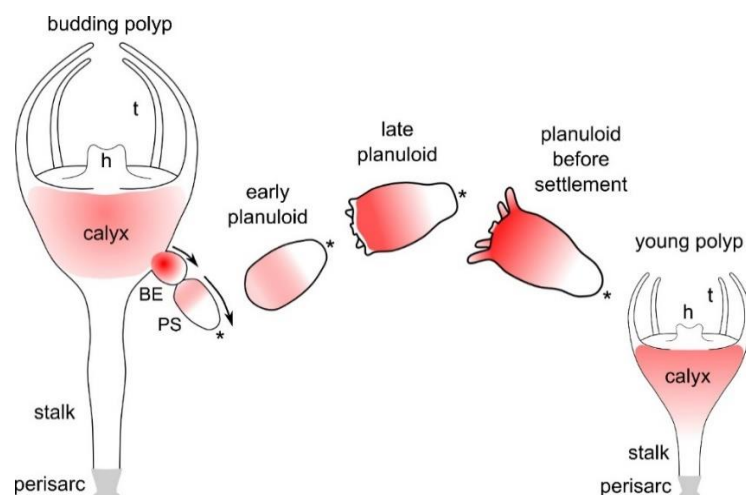


Figure 15. Scheme of proliferation zone activity at the different stages of planuloid budding in *C. xamachana*.

Abbreviations: BE – bud evagination, h – hypostome, PS – planuloid before separation, t – tentacles. The functionally anterior end of the planuloid is labeled with asterisk, the narrow shows the direction of bud growth. Relative dimensions are not kept.

In budding polyp two proliferation zones are observed. One of them is located in large area of calyx (from transition of stalk to the calyx to tentacle bases), the second one – in growing bud evagination. The labeling rate in the second zone is significantly higher, than in any other polyp tissues. Wherein in area, which surrounds the body evagination, we haven't found the increasing of labeling. At this stage the bud growth might be provided by division of bud evagination cells, whereas the migration activity of mother cells decreases (Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]). Thus, the planuloid bud growth is similar to the lateral budding of hydra at early stages.

In formed planuloid, which is ready to separate, proliferation activity decreases. That is especially clearly visible in case of planuloid chains formation. In each consequent planuloid in chain the labeling rate decreases. As it was mentioned before, the own musculature formation begins in planuloid right at this moment. After planuloid separation DNA synthesis activity increases again. The highest level of labeling is observed in tentacles and hypostome anlagen at functionally posterior end of the planuloid. Since the presence of active DNA synthesis zone only indirectly indicates on possible cell divisions, it might be supposed, that part or even all cells in this zone may be in resting stage and transit directly to development later, during the growth of corresponding body parts.

Interestingly, that at functionally anterior end of planuloid the labeling is almost absent starting from first stages of bud development and during the long time after separation. At this end numerous glandular cells are located. They provide planuloid attachment during settlement (Van Lieshout, Martin, 1992 [194]). Probably, glandular cells differentiate very early, so there is no process of active proliferation in this area. Proliferation activity in this zone emerges only at the time of stalk and foot formation. This is consistent with general idea of growth process in this species.

After settlement zone of active DNA synthesis functions in young polyp. Wherein the place of this zone doesn't change: it is still large area at the functionally posterior end of planuloid, which transforms into calyx, hypostome and tentacles. The borders of proliferative zone expand as polyp grows, but never reach directly the stalk and tentacles. Only solitary labeled nuclei are found in these body parts. Further growth of stalk and tentacles is, apparently, provided by cell sources at their bases, which are included in main proliferation zone. Proliferation zone in calyx persists during the whole life of the polyp, though the DNA synthesis activity in it decreases with time. Apparently, tissues of this zone are the cell source not only for polyp growth and budding, but also for regeneration (Curtis, Cowden, 1974 [48]) and strobilation (Hofmann, Fitt, Fleck, 2003 [83]; Helm, 2018 [78]).

Thereby, the proliferation zone in *C. xamachana* polyps, which are formed by planuloid budding, forms once during the bud development. The activity of this zone changes from stage to stage, but its localization is constant. During lateral budding, particularly in hydra, proliferation activity zone forms the same way, excluding the presence of free-swimming stage (Shostak, Kankel, 1967 [171]).

Even the first researchers of *C. xamachana* noted the similarity of planuloids and typical planulae larvae of cnidarians. Both have same body form, two tissue layers and ciliary locomotion (Bigelow, 1900

[21]). Besides, planuloids as well as planulae undergo metamorphosis, giving rise to a new polyp generation (Fleck, Hofmann, 1990 [55]; Thieme, Hofmann, 2003 [189]). Wherein in both cases the change of functional axis occurs: anterior end of the organism become the foot and stalk of the forming polyp after settlement. Therefore, we need to compare these two scyphozoan life cycle stages, which are similar in morphology and behavior, but different in origin.

The investigations of scyphozoan planulae are fragmentary. In most cases they are limited to short description of external morphology at the light microscopy level (Calder, 1982 [30]; Adler, Jarms, 2009 [6]). Special features of embryonal development and nervous system formation were studied in *Aurelia aurita* (Yuan et al., 2008 [210]; Mayorova et al, 2012 [129]). Planulae of *A. aurita* have FMRFamide neurons, which form aggregations in ectoderm of the anterior end. Their solitary neurites run to the posterior end of larva. Besides, rare scattered muscle fibers are also noted in ectoderm (Nakanishi et al., 2008 [138]). Planulae of *C. xamachana* were described at ultrastructural level (Martin, Chia, 1982 [126]). They have four types of cells: basic ciliary cells and cnidocytes in ectoderm, columnar and interstitial cells in endoderm. Interestingly, no secretory or nerve cells, as well as muscle fibers were found by these authors. Detailed data on neuromuscular system development during metamorphosis from planula to polyp are absent at this moment.

Planuloids of *C. xamachana* have all cell types, characteristic for larva, however they also possess well developed muscle elements (Bigelow, 1900 [21]; Hofmann, Honegger, 1990 [82], this study). It is important to notice, that only small part of observed muscle elements is involved in movement activity, whereas the main part of planuloid muscles actually presents the musculature of the future polyp. Differentiation of muscle system begins before planuloid settlement, in period, when it resembles planula externally and doesn't have any polyp's features. At the same time, development of polypoid musculature in planula, apparently, begins only after its settlement, simultaneously with metamorphosis. It is confirmed by ultrastructural investigations, in which no muscle elements were found in planula (Martin, Chia, 1982 [126]). Analysis of TRITC-conjugated phalloidin labeling of different scyphozoan larva supports the suggestion, that muscle system forms lately in embryonal development. In planulae of *A. aurita* location, structure and number of muscle elements doesn't correspond to those in planuloid. Accordingly, it has no signs of future polyp musculature (Nakanishi et al., 2008 [138]). Finally, tentacles and hypostome in planula form only after settlement, whereas in planuloid these structures and their muscle elements emerge already during the free-swimming period.

Both planulae and planuloids possess solitary longitudinal FMRFamide-positive nerve fibers, which number increases to the anterior end. Nevertheless, planulae have more these neurites, they form well-noticeable aggregation and can branch (Nakanishi et al., 2008 [138]). In *C. xamachana* planuloids we haven't found such nerve elements aggregations. Besides solitary neurites, only solitary oblong cells are labeled by antibodies against FMRFamide in epidermis at the anterior end of planuloid. They emerge first at the bud forming stage and are followed during the whole free-swimming period. We didn't reveal any

processes of connections with planuloid's neurites with the help of immunohistochemistry method. Same FMRFamide-positive cells with localization at the anterior end were found in planulae of several cnidarian species (Martin, 2000 [125]; Mayorova, Kosevich, 2013 [128]; Pennati et al., 2013 [149]). Also, the involvement of FMRFamide-positive neurons in sensory innervation was shown previously (Martin, 1992 [123]). Therefore, we may conclude, that FMRFamide-positive cells at the anterior end of *C. xamachana* planuloid perform a sensory function.

Generally, *C. xamachana* planuloids are indeed similar to planulae larvae in some morphological aspects and functional purpose, since both these stages provide reproduction and distribution. However, this similarity is only superficial, and, possibly, convergent. Special features of polyp development from planuloid, such as advanced formation of hypostome and tentacles, and especially muscle system, differs a lot from same process in planula. Origin of these two stages is different too. Whereas planulae – are the result of sexual reproduction of medusae, formation of planuloid begins in the same way as formation of new polyp during lateral budding. Nevertheless, in lateral budding the head of new individual with functioning mouth forms at the distal end of growing bud. In case of planuloid vice versa: distal end, though it functions for some time as anterior one, finally provides attachment and transforms into foot and stalk. At that point the metamorphosis process is more similar to those in planula, since in both cases in fact the change of antero-posterior axes occurs. In planulae the key role in body axes determination play conservative homologous genes of BMP (bone morphogenetic proteins) (Genikhovich et al, 2015 [62]), Hox-genes (Yanze et al, 2001 [209]), and also Wnt cascade genes (Plickert et al, 2006 [152]). Probably, formation of antero-posterior axes in planuloids may be regulated by same molecular mechanisms, but this hypothesis requires further confirmation.

Main results obtained

The organization of musculature and FMRFamide-positive component of nervous system of *C. xamachana* corresponds to typical plan of scyphozoan polyp. For these systems division into several functional groups is characteristic: complex of longitudinal septal muscle bands and co-localized nerve processes, short muscle fibers of oral disc, hypostome, tentacles and body, accompanied by their own sparse nerve elements, and also poorly-concentrated nerve ring, which present the integrative center of polyp. Such organization type of neuromuscular system is the simplest among studied cnidarians and, possibly, is close to ancestral state.

Based on comparison with other budding types of scyphozoan polyps, described in literature, and our own findings of neuromuscular system formation and proliferative activity, we can assume that planuloid of *Cassiopea xamachana* is additional step in typical life cycle of Scyphozoa, which includes lateral budding. With the appearance of this stage formation of the new polyp was shifted in time, and his connection with mother organism were lost. The presence of the stage, which is able for active locomotion, in life cycle provides wide possibilities for distribution. At the same time early differentiation of polyp-type musculature, beginning of nervous system formation along with emerge of tentacle and hypostome anlagen still in stage of un-attached planuloid, as well as assignment of constant active DNA synthesis zone is, apparently, the consequence of delayed polyp development, which previously occurred completely at the mother organism. It is possible to speculate, the similarity of metamorphosis processes of planuloids and planulae is conditioned by realization of same developmental programs. Nevertheless, this hypothesis requires further confirmation with gene expression patterns investigations, which is far beyond the scope of this study.

The term “planuloid bud”, which was used previously for this stage of *C. xamachana* life cycle, is not quite correct. After the separation from the mother polyp this organism develops independently and goes through its own ontogenies, whereas the true bud is connected to mother organism during the whole period of its development. Therefore, only attached stage might be called “bud”, not swimming. That’s why we suggest term “planuloid”, which on the one hand emphasizes the independence of new organism, and to the other hand implies on similarity with planula.

Conclusions

1. Musculature of *Cassiopea xamachana* polyps is typical for scyphozoan polyp organization. It is presented by four septal bands and longitudinal muscle processes in stalk and calyx, short muscle processes in tentacles and hypostome, radial muscle processes at the oral disc.

2. FMRFamide-positive nerve elements in the body of *Cassiopea xamachana* polyps are partly co-localized with musculature, which indicates their involvement in regulation of locomotor activity of polyp, and also are included in integrative center of polyp in the nerve ring.

3. Planuloid of *Cassiopea xamachana* is an additional link in typical life cycle of Scyphozoa, including lateral budding at the polyp stage. Formation of polypoid-type structures at the early stages of planuloid development is a consequence of the delayed polyp development, which previously occurred completely on mother organism.

4. Proliferative activity zone in *Cassiopea xamachana* polyps forms at early stages of bud formation, its localization remains constant during development and life of the polyp.

5. The term “planuloid bud” is not quite correct for this stage of life cycle of *Cassiopea xamachana*. Instead of it we suggest to use the term “planuloid”, emphasizing the independence of new organism.

Acknowledgments

The author would like to express his sincere gratitude to his supervisor Starunov V. V. for his invaluable help in preparation of this work. Author also thanks leading specialist of Research Center “Chromas” Anton Radaev, and also employers and graduate students of Department of invertebrate zoology SPSU, especially professors A. I. Granovich and G. S. Slyusarev, assistant Krupenko D. Y., junior researcher Mezentsev Y. S. for help in work and essential comments. Author is especially grateful to Dobrovolsky A. A. for scientific consultations, help with interpretation of results and useful discussions about debatable questions of morphology and cnidarian life cycles terms.

The scientific research was performed at the Centre “Chromas” and “Centre for Culture Collection of Microorganisms” of Research Park of St. Petersburg State University as well as the Core Facilities Centre “Taxon” of the Zoological Institute Russian Academy of Sciences (St Petersburg, Russia).

List of literature

1. Beklemishev V. N. Osnovy sravnitel'noy anatomii bespozvonochnykh, (Fundamentals of comparative invertebrate anatomy). – 1944. – T. 492. – C. 1964.
2. Dogiel V. A. Zoologia bespozvonochnykh (Invertebrate Zoology). 1981.
3. Marfenin, N.N., Funktsional'naya morfologiya kolonial'nykh gidroidov (Functional Morphology of Colonial Hydroids), St. Petersburg: Zool. Inst., Ross. Akad. Nauk, 1993.
4. Naumov D. V. Scyphozoa jellyfish of the seas of the USSR //Keys to the fauna of the USSR. – 1961. – T. 75.
5. Acosta A., Sammarco P. W., Duarte L. F. Asexual reproduction in a zoanthid by fragmentation: the role of exogenous factors //Bulletin of Marine Science. – 2001. – T. 68. – №. 3. – C. 363-381.
6. Adler L., Jarms G. New insights into reproductive traits of scyphozoans: special methods of propagation in *Sanderia malayensis* Goette, 1886 (Pelagiidae, Semaestomeae) enable establishing a new classification of asexual reproduction in the class Scyphozoa //Marine Biology. – 2009. – T. 156. – №. 7. – C. 1411-1420.
7. Anderson P. A. V., Schwab W. E. The organization and structure of nerve and muscle in the jellyfish *Cyanea capillata* (Coelenterata; Scyphozoa) //Journal of Morphology. – 1981. – T. 170. – №. 3. – C. 383-399.
8. Arai M. N. A functional biology of Scyphozoa. – Springer Science & Business Media, 1997.
9. Arai M. N. The potential importance of podocysts to the formation of scyphozoan blooms: a review //Jellyfish blooms: causes, consequences, and recent advances. – Springer, Dordrecht, 2008. – C. 241-246.
10. Arendt D. Elementary nervous systems //Philosophical Transactions of the Royal Society B. – 2021. – T. 376. – №. 1821. – C. 20200347.
11. Arendt D., Tosches M. A., Marlow H. From nerve net to nerve ring, nerve cord and brain— evolution of the nervous system //Nature Reviews Neuroscience. – 2016. – T. 17. – №. 1. – C. 61.
12. Arnone M. I., Byrne M., Martinez P. Echinodermata //Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 6. – Springer, Vienna, 2015. – C. 1-58.
13. Attenborough R. M. F., Hayward D. C., Wiedemann U., Forêt S., Miller D. J., Ball E. E. Expression of the neuropeptides RFamide and LWamide during development of the coral *Acropora millepora* in relation to settlement and metamorphosis //Developmental biology. – 2019. – T. 446. – №. 1. – C. 56-67.
14. Aufschnaiter R., Wedlich-Söldner R., Zhang X., Hobmayer B. Apical and basal epitheliomuscular F-actin dynamics during *Hydra* bud evagination //Biology open. – 2017. – T. 6. – №. 8. – C. 1137-1148.

15. Avian M. et al. Asexual reproduction and strobilation of *Sanderia malayensis* (Scyphozoa, Pelagiidae) in relation to temperature: experimental evidence and implications //Diversity. – 2021. – T. 13. – №. 2. – C. 37.
16. Badhiwala K. N., Primack A. S., Juliano C., Robinson J. T. Multiple nerve rings coordinate *Hydra* mechanosensory behavior //bioRxiv. – 2020. – C. 2020.10. 16.343384.
17. Bagnà J., Martínez P., Paps J., Riutort M. Back in time: a new systematic proposal for the Bilateria //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2008. – T. 363. – №. 1496. – C. 1481-1491.
18. Balcer L. J., Black R. E. Budding and strobilation in *Aurelia* (Scyphozoa, Cnidaria): Functional requirement and spatial patterns of nucleic acid synthesis //Roux's archives of developmental biology. – 1991. – T. 200. – №. 1. – C. 45-50.
19. Batham E. J., Pantin C. F. A. The organization of the muscular system of *Metridium senile* //Journal of Cell Science. – 1951. – T. 3. – №. 17. – C. 27-54.
20. Bigelow R. P. On a new species of *Cassiopea* from Jamaica. – 1892.
21. Bigelow R. P. The anatomy and development of *Cassiopea xamachana*. – Boston Society of natural history, 1900.
22. Bocharova E. Reproduction of sea anemones and other hexacorals //The Cnidaria, Past, Present and Future. – Springer, Cham, 2016. – C. 239-248.
23. Bocharova E. S., Kozevich I. A. Modes of reproduction in sea anemones (Cnidaria, Anthozoa) //Biology bulletin. – 2011. – T. 38. – C. 849-860.
24. Bode H. R. The head organizer in *Hydra* //International Journal of Developmental Biology. – 2012. – T. 56. – №. 6-7-8. – C. 473-478.
25. Boero F., Bouillon J., Piraino S. The role of Cnidaria in evolution and ecology //Italian Journal of Zoology. – 2005. – T. 72. – №. 1. – C. 65-71.
26. Bosch T. C. G. et al. Back to the basics: cnidarians start to fire //Trends in neurosciences. – 2017. – T. 40. – №. 2. – C. 92-105.
27. Browne E. N. The production of new hydranths in hydra by the insertion of small grafts //Journal of Experimental Zoology. – 1909. – T. 7. – №. 1. – C. 1-23.
28. Burnett A. L., Diehl N. A. The nervous system of *Hydra*. I. Types, distribution and origin of nerve elements //Journal of Experimental Zoology. – 1964. – T. 157. – №. 2. – C. 217-226.
29. Burton P. M., Finnerty J. R. Conserved and novel gene expression between regeneration and asexual fission in *Nematostella vectensis* //Development genes and evolution. – 2009. – T. 219. – №. 2. – C. 79-87.
30. Calder D. R. Laboratory observations on the life history of *Rhopilema verrilli* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 1973. – T. 21. – №. 2. – C. 109-114.

31. Calder D. R. Life history of the cannonball jellyfish, *Stomolophus meleagris* L. Agassiz, 1860 (Scyphozoa, Rhizostomida) //The Biological Bulletin. – 1982. – T. 162. – №. 2. – C. 149-162.
32. Campbell R. D. Cell proliferation in hydra: An autoradiographic approach //Science. – 1965. – T. 148. – №. 3674. – C. 1231-1232.
33. Carlgren, O. A survey of the Ptychodactiaria, Corallimorpharia and Actiniaria / O. Carlgren // Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar. – 1949. – V. 1. – P. 1 – 121.
34. Chapman D. M. A new type of muscle cell from the subumbrella of *Obelia* //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1968. – T. 48. – №. 3. – C. 667-688.
35. Chapman D. M. Cnidarian histology. – Academic Press, New York, 1974. – C. 1-92.
36. Chapman D. M. Further observations on podocyst formation //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1970. – T. 50. – №. 1. – C. 107-111.
37. Chapman D. M. Microanatomy of the cubopolyp, *Tripedalia cystophora* (Class Cubozoa) //Helgolaender wissenschaftliche meeresuntersuchungen. – 1978. – T. 31. – №. 1. – C. 128.
38. Chapman D. M. Reextension mechanism of a scyphistoma's tentacle //Canadian Journal of Zoology. – 1970. – T. 48. – №. 5. – C. 931-943.
39. Chapman D. M. Structure, histochemistry and formation of the podocyst and cuticle of *Aurelia aurita* //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1968. – T. 48. – №. 1. – C. 187-208.
40. Chia F. S., Amerongen H. M., Peteya D. J. Ultrastructure of the neuromuscular system of the polyp of *Aurelia aurita* L., 1758 (Cnidaria, Scyphozoa) //Journal of morphology. – 1984. – T. 180. – №. 1. – C. 69-79.
41. Clarkson S. G., Wolpert L. Bud morphogenesis in *Hydra* //Nature. – 1967. – T. 214. – №. 5090. – C. 780-783.
42. Collins A. G. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles //Journal of Evolutionary Biology. – 2002. – T. 15. – №. 3. – C. 418-432.
43. Collins A. G. Recent insights into cnidarian phylogeny //Smithsonian contributions to the marine sciences. – 2009. – №. 38.
44. Concas A., Imperatore R., Santoru F., Locci A., Porcu P., Cristino L., Pierobon P. Immunochemical localization of GABA A receptor subunits in the freshwater polyp *Hydra vulgaris* (Cnidaria, Hydrozoa) //Neurochemical research. – 2016. – T. 41. – №. 11. – C. 2914-2922.
45. Coppari M., Mestice F., Betti F., Bavestrello G., Castellano L., Bo, M. Fragmentation, re-attachment ability and growth rate of the Mediterranean black coral *Antipathella subpinnata* //Coral Reefs. – 2019. – T. 38. – №. 1. – C. 1-14.
46. Cornelius P. F. S. Medusa loss in leptolid Hydrozoa (Cnidaria), hydroid rafting, and abbreviated life-cycles among their remote-island faunae: An interim review //Sci. mar. – 1992. – T. 56. – №. 2. – C. 245-261.

47. Courtney R., Browning S., Seymour J. Early life history of the 'Irukandji' jellyfish *Carukia barnesi* //PloS one. – 2016. – T. 11. – №. 3.
48. Curtis S. K., Cowden R. R. Some aspects of regeneration in the scyphistoma of *Cassiopea* (Class Scyphozoa) as revealed by the use of antimetabolites and microspectrophotometry //American Zoologist. – 1974. – T. 14. – №. 2. – C. 851-866.
49. Daly M. et al. The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. – 2007.
50. Daly M., Fautin D. G., Cappola V. A. Systematics of the hexacorallia (Cnidaria: Anthozoa) //Zoological Journal of the Linnean Society. – 2003. – T. 139. – №. 3. – C. 419-437.
51. Darling J. A. Reitzel A. R., Burton P. M., Mazza M. E., Ryan J. F., Sullivan J. C., Finnerty J. R. Rising starlet: the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis* //Bioessays. – 2005. – T. 27. – №. 2. – C. 211-221.
52. Davis L. E., Burnett A. L., Haynes J. F., Osborne D. G., Spear M. L. Histological and ultrastructural study of the muscular and nervous systems in *Hydra*. II. Nervous system //Journal of Experimental Zoology. – 1968. – T. 167. – №. 3. – C. 295-331.
53. Fautin D. G. Reproduction of cnidaria //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1735-1754.
54. Fischer A. B., Hofmann D. K. Budding, bud morphogenesis, and regeneration in *Carybdea marsupialis* Linnaeus, 1758 (Cnidaria: Cubozoa) //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1-3. – C. 331-337.
55. Fleck J., Hofmann D. K. The efficiency of metamorphosis inducing oligopeptides in *Cassiopea* species (Cnidaria: Scyphozoa) depends on both primary structure and amino- and carboxy terminal substituents //Verh Dtsch Zool Ges. – 1990. – T. 83. – C. 452-453.
56. Frank P., Bleakney J. S. Histology and sexual reproduction of the anemone *Nematostella vectensis* Stephenson 1935 //Journal of Natural History. – 1976. – T. 10. – №. 4. – C. 441-449.
57. Fuentes V. et al. Life cycle of the jellyfish *Rhizostoma pulmo* (Scyphozoa: Rhizostomeae) and its distribution, seasonality and inter-annual variability along the Catalan coast and the Mar Menor (Spain, NW Mediterranean) //Marine Biology. – 2011. – T. 158. – №. 10. – C. 2247-2266.
58. Galliot B. *Hydra*, a fruitful model system for 270 years //International Journal of Developmental Biology. – 2012. – T. 56. – №. 6-7-8. – C. 411-423.
59. Garm A., Ekström P., Boudes M., Nilsson D. E. Rhopalia are integrated parts of the central nervous system in box jellyfish //Cell and tissue research. – 2006. – T. 325. – №. 2. – C. 333-343.
60. Garm A., Poussart Y., Parkefelt L., Ekström P., Nilsson D. E. The ring nerve of the box jellyfish *Tripedalia cystophora* //Cell and tissue research. – 2007. – T. 329. – №. 1. – C. 147-157.
61. Geller J. B., Fitzgerald L. J., King C. E. Fission in sea anemones: integrative studies of life cycle evolution //Integrative and Comparative Biology. – 2005. – T. 45. – №. 4. – C. 615-622.

62. Genikhovich G. et al. Axis patterning by BMPs: cnidarian network reveals evolutionary constraints //Cell reports. – 2015. – T. 10. – №. 10. – C. 1646-1654.
63. Gilchrist F. G. Budding and locomotion in the scyphistomas of *Aurelia* //The Biological Bulletin. – 1937. – T. 72. – №. 1. – C. 99-124.
64. Girosi L., Ramoino P., Diaspro A., Gallus L., Ciarcia G., Tagliafierro G. FMRFamide-like immunoreactivity in the sea-fan *Eunicella cavolini* (Cnidaria: Octocorallia) //Cell and tissue research. – 2005. – T. 320. – №. 2. – C. 331-336.
65. Gohar H. A. F. The development of *Cassiopea andromeda* //Publication of the Marine Biological Station, Ghardaqa, Red Sea. – 1960. – T. 11. – C. 147-190.
66. Golz R. Occurrence and distribution of RFamide-positive neurons within the polyps of *Coryne* sp. (Hydrozoa, Corynidae) //The Biological Bulletin. – 1994. – T. 186. – №. 1. – C. 115-123.
67. Graf L., Gierer A. Size, shape and orientation of cells in budding hydra and regulation of regeneration in cell aggregates //Wilhelm Roux's archives of developmental biology. – 1980. – T. 188. – №. 2. – C. 141-151.
68. Gravier-Bonnet N., Bourmaud C. Cloning by releasing specialized frustules in a successful epiphytic zooxanthellate haleciid (Cnidaria, Hydrozoa, Haleciidae), with comments on stolonization and frustulation //Invertebrate Reproduction & Development. – 2005. – T. 48. – №. 1-3. – C. 63-69.
69. Grimmelikhuijzen C. J. P., Dockray G. J., Schot L. P. C. FMRFamide-like immunoreactivity in the nervous system of hydra //Histochemistry. – 1982. – T. 73. – №. 4. – C. 499-508.
70. Grimmelikhuijzen C. J. P., Graff D., Koizumi O., Westfall J. A., McFarlane, I. D. Neurons and their peptide transmitters in coelenterates //Evolution of the first nervous systems. – Springer, Boston, MA, 1989. – C. 95-109.
71. Grimmelikhuijzen C. J. P., Williamson M., Hansen G. N. Neuropeptides in cnidarians //Cell signalling in prokaryotes and lower Metazoa. – Springer, Dordrecht, 2004. – C. 115-139.
72. Gründer S., Assmann M. Peptide-gated ion channels and the simple nervous system of *Hydra* //Journal of Experimental Biology. – 2015. – T. 218. – №. 4. – C. 551-561.
73. Gueroun S. K. M., Torres T. M., Dos Santos A., Vasco-Rodrigues N., Canning-Clode J., Andrade C. *Catostylus tagi* (Class: Scyphozoa, Order: Discomedusae, Suborder: Rhizostomida, Family: Catostylidae) life cycle and first insight into its ecology //PeerJ. – 2021. – T. 9. – C. e12056.
74. Han C. H., Uye S. Combined effects of food supply and temperature on asexual reproduction and somatic growth of polyps of the common jellyfish *Aurelia aurita* sl //Plankton and Benthos Research. – 2010. – T. 5. – №. 3. – C. 98-105.
75. Hansen G. N., Williamson M., Grimmelikhuijzen C. J. A new case of neuropeptide coexpression (RGamide and LWamides) in *Hydra*, found by whole-mount, two-color double-labeling in situ hybridization //Cell and tissue research. – 2002. – T. 308. – №. 1. – C. 157-165.

76. Hasse C. et al. FGFR-ERK signaling is an essential component of tissue separation //Developmental biology. – 2014. – T. 395. – №. 1. – C. 154-166.
77. Haynes J. F., Burnett A. L., Davis L. E. Histological and ultrastructural study of the muscular and nervous systems in *Hydra*. I. The muscular system and the mesoglea //Journal of Experimental Zoology. – 1968. – T. 167. – №. 3. – C. 283-293.
78. Helm R. R. Evolution and development of scyphozoan jellyfish //Biological reviews. – 2018. – T. 93. – №. 2. – C. 1228-1250.
79. Helm R. R., Tiozzo S., Lilley M. K., Lombard F., Dunn, C. W. Comparative muscle development of scyphozoan jellyfish with simple and complex life cycles //EvoDevo. – 2015. – T. 6. – №. 1. – C. 1-10.
80. Highsmith R. C. Reproduction by fragmentation in corals //Marine ecology progress series. Oldendorf. – 1982. – T. 7. – №. 2. – C. 207-226.
81. Hobmayer B. et al. WNT signalling molecules act in axis formation in the diploblastic metazoan *Hydra* //Nature. – 2000. – T. 407. – №. 6801. – C. 186-189.
82. Hofmann D. K., Honegger T. G. Bud formation and metamorphosis in *Cassiopea andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa): a developmental and ultrastructural study //Marine biology (Berlin). – 1990. – T. 105. – №. 3. – C. 509-518.
83. Hofmann D. K., Fitt W. K., Fleck J. Checkpoints in the life-cycle of *Cassiopea* spp.: control of metagenesis and metamorphosis in a tropical jellyfish //International Journal of Developmental Biology. – 2003. – T. 40. – №. 1. – C. 331-338.
84. Hofmann D. K., Gottlieb M. Bud formation in the scyphozoan *Cassiopea andromeda*: epithelial dynamics and fate map //Coelenterate Biology: Recent Research on Cnidaria and Ctenophora. – Springer, Dordrecht, 1991. – C. 53-59.
85. Hofmann D. K., Hellmann M. Studies in the Reef-dwelling Cnidarian *Cassiopea* spp.: RF-amide positive elements of the nervous system at different stages of development //Beitr Paläont. – 1995. – T. 20. – C. 21-29.
86. Hofmann D. K., Neumann R., Henne K. Strobilation, budding and initiation of scyphistoma morphogenesis in the rhizostome *Cassiopea andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa) //Marine Biology. – 1978. – T. 47. – №. 2. – C. 161-176.
87. Holland B. S., Dawson M. N., Crow G. L., Hofmann D. K. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands //Marine Biology. – 2004. – T. 145. – №. 6. – C. 1119-1128.
88. Holland N. D. Early central nervous system evolution: an era of skin brains? //Nature Reviews Neuroscience. – 2003. – T. 4. – №. 8. – C. 617-627.

89. Holst S., Sötje I., Tiemann H., Jarms G. Life cycle of the rhizostome jellyfish *Rhizostoma octopus* (L.) (Scyphozoa, Rhizostomeae), with studies on cnidocysts and statoliths //Marine Biology. – 2007. – T. 151. – №. 5. – C. 1695-1710.
90. Holstein T. W., Hobmayer E., David C. N. Pattern of epithelial cell cycling in hydra //Developmental biology. – 1991. – T. 148. – №. 2. – C. 602-611.
91. Hubot N., Lucas C. H., Piraino S. Environmental control of asexual reproduction and somatic growth of *Aurelia* spp. (Cnidaria, Scyphozoa) polyps from the Adriatic Sea //PloS one. – 2017. – T. 12. – №. 6.
92. Ikeda H., Mizota C., Uye S. Bioenergetic characterization in *Aurelia aurita* (Cnidaria: Scyphozoa) polyps and application to natural polyp populations //Marine Ecology Progress Series. – 2017. – T. 568. – C. 87-100.
93. Ikeda H., Ohtsu K., Uye S. I. Fine structure, histochemistry, and morphogenesis during excystment of the podocysts of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa, Rhizostomeae) //The Biological Bulletin. – 2011. – T. 221. – №. 3. – C. 248-260.
94. Ishii H., Watanabe T. Experimental study of growth and asexual reproduction in *Aurelia aurita* polyps //Sessile Organisms. – 2003. – T. 20. – №. 2. – C. 69-73.
95. Isomura N., Hamada K., Nishihira M. Internal brooding of clonal propagules by a sea anemone, *Anthopleura* sp //Invertebrate Biology. – 2003. – T. 122. – №. 4. – C. 293-298.
96. Jähnel S. M., Walz M., Technau U. Development and epithelial organisation of muscle cells in the sea anemone *Nematostella vectensis* //Frontiers in zoology. – 2014. – T. 11. – №. 1. – C. 44.
97. Jarms G., Båmstedt U., Tiemann H., Martinussen M. B., Fosså J. H., Høisæter T. The holopelagic life cycle of the deep-sea medusa *Periphylla periphylla* (Scyphozoa, Coronatae) //Sarsia. – 1999. – T. 84. – №. 1. – C. 55-65.
98. Kass-Simon G., Pierobon P. Cnidarian chemical neurotransmission, an updated overview //Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2007. – T. 146. – №. 1. – C. 9-25.
99. Katsuki T., Greenspan R. J. Jellyfish nervous systems //Current Biology. – 2013. – T. 23. – №. 14. – C. R592-R594.
100. Kawahara M., Uye S. I., Ohtsu K., Iizumi H. Unusual population explosion of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae) in East Asian waters //Marine Ecology Progress Series. – 2006. – T. 307. – C. 161-173.
101. Kelava I., Rentzsch F., Technau U. Evolution of eumetazoan nervous systems: insights from cnidarians //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2015. – T. 370. – №. 1684. – C. 20150065.
102. Khabibulina V., Starunov V. 2021 Proliferation activity in the polyps of *Cassiopea xamachana*: where the planuloid buds grow //Biological Communications. – 2021. – T. 66. – №. 4. – C. 333-340.

103. Khabibulina V., Starunov V. FMRamide immunoreactive nervous system in the adult *Cassiopeia xamachana* scyphopolyp and at the early stages of planuloid formation //Invertebrate Zoology. – 2020. – T. 17. – №. 4. – C. 371-384.
104. Khabibulina V., Starunov V. Musculature development in planuloids of *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Zoomorphology. – 2019. – T. 138. – №. 3. – C. 297-306.
105. Kienberger K., Riera-Buch M., Schönemann A. M., Bartsch V., Halbauer R., Prieto L. First description of the life cycle of the jellyfish *Rhizostoma luteum* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //PloS one. – 2018. – T. 13. – №. 8. – C. e0202093.
106. Kikinger R. *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria: Scyphozoa) - Life history of a stationary population //Marine Ecology. – 1992. – T. 13. – №. 4. – C. 333-362.
107. Koizumi O. Nerve ring of the hypostome in hydra: is it an origin of the central nervous system of bilaterian animals? //Brain, behavior and evolution. – 2007. – T. 69. – №. 2. – C. 151-159.
108. Koizumi O. Origin and evolution of the nervous system considered from the diffuse nervous system of cnidarians //The Cnidaria, past, present and future. – Springer, Cham, 2016. – C. 73-91.
109. Koizumi O., Hamada S., Minobe S., Hamaguchi-Hamada K., Kurumata-Shigeto M., Nakamura M., Namikawa H. The nerve ring in cnidarians: its presence and structure in hydrozoan medusae //Zoology. – 2015. – T. 118. – №. 2. – C. 79-88.
110. Koizumi O., Itazawa M., Mizumoto H., Minobe S., Javois L. C., Grimmelikhuijzen C. J., Bode H. R. Nerve ring of the hypostome in hydra. I. Its structure, development, and maintenance //Journal of Comparative Neurology. – 1992. – T. 326. – №. 1. – C. 7-21.
111. Lampert K. P. *Cassiopea* and its zooxanthellae //The Cnidaria, Past, Present and Future. – Springer, Cham, 2016. – C. 415-423.
112. Leclère L. et al. Hydrozoan insights in animal development and evolution //Current Opinion in Genetics & Development. – 2016. – T. 39. – C. 157-167.
113. Leclère L., Röttinger E. Diversity of cnidarian muscles: function, anatomy, development and regeneration //Frontiers in cell and developmental biology. – 2017. – T. 4. – C. 157.
114. Leeuwenhoek A. V. IV. Part of a letter from Mr Antony van Leeuwenhoek, FRS concerning green weeds growing in water, and some animalcula found about them //Philosophical transactions of the Royal Society of London. – 1753. – T. 23. – №. 283. – C. 1304-1311.
115. Lewis A. C. Medusa: a review of an ancient cnidarian body form //Marine organisms as model systems in biology and medicine. – 2018. – C. 105-136.
116. Lichtneckert R., Reichert H. Origin and evolution of the first nervous system //Evolutionary neuroscience. – 2009. – C. 51-78.
117. Lotan A., Ben-Hillel R., Loya Y. Life cycle of *Rhopilema nomadica*: a new immigrant scyphomedusan in the Mediterranean //Marine Biology. – 1992. – T. 112. – №. 2. – C. 237-242.

118. Lucas C. H., Graham W. M., Widmer C. Jellyfish life histories: role of polyps in forming and maintaining scyphomedusa populations //Advances in marine biology. – Academic Press, 2012. – T. 63. – C. 133-196.
119. Mackie G. O. Central neural circuitry in the jellyfish *Aglantha* //Neurosignals. – 2004. – T. 13. – №. 1-2. – C. 5-19.
120. Mackie G. O., Passano L. M. Epithelial conduction in hydromedusae //The Journal of general physiology. – 1968. – T. 52. – №. 4. – C. 600-621.
121. Mackie G. O., Singla C. L., Stell W. K. Distribution of nerve elements showing FMRFamide-like immunoreactivity in hydromedusae //Acta Zoologica. – 1985. – T. 66. – №. 4. – C. 199-210.
122. Marlow H. Q., Srivastava M., Matus D. Q., Rokhsar D., Martindale M. Q. Anatomy and development of the nervous system of *Nematostella vectensis*, an anthozoan //Developmental neurobiology. – 2009. – T. 69. – №. 4. – C. 235-254.
123. Martin V. J. Characterization of a RFamide-positive subset of ganglionic cells in the hydrozoan planular nerve net //Cell and tissue research. – 1992. – T. 269. – №. 3. – C. 431-438.
124. Martin V. J. Photoreceptors of cnidarians //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1703-1722.
125. Martin V. J. Reorganization of the nervous system during metamorphosis of a hydrozoan planula //Invertebrate Biology. – 2000. – T. 119. – №. 3. – C. 243-253.
126. Martin V. J., Chia F. S. Fine structure of a scyphozoan planula, *Cassiopeia xamachana* //The Biological Bulletin. – 1982. – T. 163. – №. 2. – C. 320-328.
127. Matsuno A., Kawaguti S. An ultrastructural study of the polyp and strobila of *Atorella japonica* (Cnidaria, Coronatae) with respect to muscles and nerves //Hydrobiologia. – Kluwer Academic Publishers, 1991. – T. 216. – №. 1. – C. 39-43.
128. Mayorova T. D., Kosevich I. A. Serotonin-immunoreactive neural system and contractile system in the hydroid *Cladonema* (Cnidaria, Hydrozoa) //Invertebrate Neuroscience. – 2013. – T. 13. – №. 2. – C. 99-106.
129. Mayorova T. D., Kosevich I. A., Melekhova O. P. On some features of embryonic development and metamorphosis of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) //Russian journal of developmental biology. – 2012. – T. 43. – №. 5. – C. 271-285.
130. Mayorova T., Kosevich I. FMRF-amide immunoreactivity pattern in the planula and colony of the hydroid *Gonothyrea loveni* //Zoology. – 2013. – T. 116. – №. 1. – C. 9-19.
131. Miyake H., Honda S., Nishikawa J., Yusoff F. M. Life Cycle of Edible Jellyfish *Acromitus hardenbergi* Stiasny, 1934 (Scyphozoa: Rhizostomeae) Inhabiting a Brackish-Water Environment //Animals. – 2021. – T. 11. – №. 7. – C. 2138.

132. Morandini A. C., Da Silveira F. L., Jarms G. The life cycle of *Chrysaora lactea* Eschscholtz, 1829 (Cnidaria, Scyphozoa) with notes on the scyphistoma stage of three other species //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1. – C. 347-354.
133. Morandini A. C., Stampar S. N., Migotto A. E., Marques A. C. *Hydrocoryne iemanja* (Cnidaria), a new species of Hydrozoa with unusual mode of asexual reproduction //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2009. – T. 89. – №. 1. – C. 67-76.
134. Mueller J. F. Some observations on the structure of hydra, with particular reference to the muscular system //Transactions of the American Microscopical Society. – 1950. – T. 69. – №. 2. – C. 133-147.
135. Münder S., Käsbauer T., Prexl A., Aufschnaiter R., Zhang X., Towb P., Böttger A. Notch signalling defines critical boundary during budding in *Hydra* //Developmental biology. – 2010. – T. 344. – №. 1. – C. 331-345.
136. Nakanishi N., Hartenstein V., Jacobs D. K. Development of the rhopalial nervous system in *Aurelia* sp. 1 (Cnidaria, Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2009. – T. 219. – №. 6. – C. 301-317.
137. Nakanishi N., Renfer E., Technau U., Rentzsch F. Nervous systems of the sea anemone *Nematostella vectensis* are generated by ectoderm and endoderm and shaped by distinct mechanisms //Development. – 2012. – T. 139. – №. 2. – C. 347-357.
138. Nakanishi N., Yuan D., Jacobs D. K., Hartenstein V. Early development, pattern, and reorganization of the planula nervous system in *Aurelia* (Cnidaria, Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2008. – T. 218. – №. 10. – C. 511-524.
139. Nath R. D. et al. The jellyfish *Cassiopea* exhibits a sleep-like state //Current Biology. – 2017. – T. 27. – №. 19. – C. 2984-2990. e3.
140. Noro Y. et al. Regionalized nervous system in *Hydra* and the mechanism of its development //Gene Expression Patterns. – 2019. – T. 31. – C. 42-59.
141. Noro Y., Shimizu H., Mineta K., Gojobori T. A single neuron subset governs a single coactive neuron circuit in *Hydra vulgaris*, representing a possible ancestral feature of neural evolution //Scientific reports. – 2021. – T. 11. – №. 1. – C. 1-12.
142. Ohdera A. et al. Box, stalked, and upside-down? Draft genomes from diverse jellyfish (Cnidaria, Acraspeda) lineages: *Alatina alata* (Cubozoa), *Calvadosia cruxmelitensis* (Staurozoa), and *Cassiopea xamachana* (Scyphozoa) //GigaScience. – 2019. – T. 8. – №. 7. – C. giz069
143. Ohdera A. H. et al. Upside-down but headed in the right direction: review of the highly versatile *Cassiopea xamachana* system //Frontiers in Ecology and Evolution. – 2018. – T. 6. – C. 35.
144. Osadchenko B. V., Kraus Y. A. Trachylina: The Group That Remains Enigmatic Despite 150 Years of Investigations //Russian Journal of Developmental Biology. – 2018. – T. 49. – №. 3. – C. 134-145.

145. Östman C. Abundance, feeding behaviour and nematocysts of scyphopolyps (Cnidaria) and nematocysts in their predator, the nudibranch *Coryphella verrucosa* (Mollusca) //Interactions and Adaptation Strategies of Marine Organisms. – Springer, Dordrecht, 1997. – C. 21-28.
146. Otto J. J. Orientation and behavior of epithelial cell muscle processes during *Hydra* budding //Journal of Experimental Zoology. – 1977. – T. 202. – №. 3. – C. 307-321.
147. Otto J. J., Campbell R. D. Budding in *Hydra attenuata*: bud stages and fate map //Journal of Experimental Zoology. – 1977. – T. 200. – №. 3. – C. 417-428.
148. Pallasdies F., Goedeke S., Braun W., Memmesheimer R. M. From single neurons to behavior in the jellyfish *Aurelia aurita* //Elife. – 2019. – T. 8. – C. e50084.
149. Pennati R., Dell'Anna A., Pagliara P., Scari G., Piraino S., De Bernardi F. Neural system reorganization during metamorphosis in the planula larva of *Clava multicornis* (Hydrozoa, Cnidaria) //Zoomorphology. – 2013. – T. 132. – №. 3. – C. 227-237.
150. Pernet V., Anctil M., Grimmelikhuijzen C. J. P. Antho-RFamide-containing neurons in the primitive nervous system of the anthozoan *Renilla koellikeri* //Journal of Comparative Neurology. – 2004. – T. 472. – №. 2. – C. 208-220.
151. Pitt K. A. Life history and settlement preferences of the edible jellyfish *Catostylus mosaicus* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 2000. – T. 136. – №. 2. – C. 269-279.
152. Plickert G., Jacoby V., Frank U., Müller W. A., Mokady O. Wnt signaling in hydroid development: formation of the primary body axis in embryogenesis and its subsequent patterning //Developmental biology. – 2006. – T. 298. – №. 2. – C. 368-378.
153. Plickert G., Schneider B. Neuropeptides and photic behavior in Cnidaria //Hydrobiologia. – 2004. – T. 530. – №. 1-3. – C. 49-57.
154. Purcell J. E. Climate effects on formation of jellyfish and ctenophore blooms: a review //Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2005. – T. 85. – №. 3. – C. 461.
155. Raikova E. V., Ibragimov A. Y., Raikova O. I. Muscular system of a peculiar parasitic cnidarian *Polypodium hydriforme*: a phalloidin fluorescence study //Tissue and Cell. – 2007. – T. 39. – №. 2. – C. 79-87.
156. Raikova E. V., Raikova O. I. Nervous system immunohistochemistry of the parasitic cnidarian *Polypodium hydriforme* at its free-living stage //Zoology. – 2016. – T. 119. – №. 2. – C. 143-152.
157. Reitzel A. M., Burto P. M., Krone C., Finnerty J. R. Comparison of developmental trajectories in the starlet sea anemone *Nematostella vectensis*: embryogenesis, regeneration, and two forms of asexual fission //Invertebrate Biology. – 2007. – T. 126. – №. 2. – C. 99-112.
158. Reitzel A. M., Stefanik D., Finnerty J. R. Asexual reproduction in cnidarian: Comparative developmental processes and candidate mechanisms //Mechanisms of life history evolution: The genetics and physiology of life history traits and trade-offs. – 2011. – C. 101-113.

159. Ripplingale R. J., Kelly S. J. Reproduction and survival of *Phyllorhiza punctata* (Cnidaria: Rhizostomeae) in a seasonally fluctuating salinity regime in Western Australia //Marine and Freshwater Research. – 1995. – T. 46. – №. 8. – C. 1145-1151.
160. Sakaguchi M., Imai Y., Nomoto S. The presence and distribution of RFamide-like immunoreactive nerve fibers in scyphistomae of *Aurelia aurita* //Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 1999. – T. 122. – №. 2. – C. 261-266.
161. Sakaguchi M., Mizusina A., Kobayakawa Y. Structure, development, and maintenance of the nerve net of the body column in *Hydra* //Journal of Comparative Neurology. – 1996. – T. 373. – №. 1. – C. 41-54.
162. Sandrini L. R., Avian M. Biological cycle of *Pelagia noctiluca*: morphological aspects of the development from planula to ephyra //Marine Biology. – 1983. – T. 74. – №. 2. – C. 169-174.
163. Santhanam R. Biology and ecology of venomous marine Cnidarians. – Thoothukudi: Springer, 2020. – C. 7-27.
164. Satterlie R. A. Do jellyfish have central nervous systems? //Journal of Experimental Biology. – 2011. – T. 214. – №. 8. – C. 1215-1223.
165. Satterlie R. A. Neuronal control of swimming in jellyfish: a comparative story //Canadian Journal of Zoology. – 2002. – T. 80. – №. 10. – C. 1654-1669.
166. Satterlie R. A., Eichinger J. M. Organization of the ectodermal nervous structures in jellyfish: scyphomedusae //The Biological Bulletin. – 2014. – T. 226. – №. 1. – C. 29-40.
167. Satterlie R. A., Thomas K. S., Gray G. C. Muscle organization of the cubozoan jellyfish *Tripedalia cystophora* Conant 1897 //The Biological Bulletin. – 2005. – T. 209. – №. 2. – C. 154-163.
168. Schiariti A., Kawahara M., Uye S., Mianzan H. W. Life cycle of the jellyfish *Lychnorhiza lucerna* (Scyphozoa: Rhizostomeae) //Marine Biology. – 2008. – T. 156. – №. 1. – C. 1-12.
169. Schiariti A., Morandini A. C., Jarms G., von Glehn Paes R., Franke S., Mianzan H. Asexual reproduction strategies and blooming potential in Scyphozoa //Marine Ecology Progress Series. – 2014. – T. 510. – C. 241-253.
170. Seipel K., Schmid V. Evolution of striated muscle: jellyfish and the origin of triploblasty //Developmental biology. – 2005. – T. 282. – №. 1. – C. 14-26.
171. Shostak S., Kankel D. R. Morphogenetic movements during budding in *Hydra* //Developmental biology. – 1967. – T. 15. – №. 5. – C. 451-463.
172. Singla C. L., Mackie G. O. Immunogold labelling of FMRamide-like neuropeptide in neurons of *Aglantha digitale* (Hydromedusae: Trachylina) //Canadian journal of zoology. – 1991. – T. 69. – №. 3. – C. 800-802.
173. Silveira da F. L., Morandini A. C. *Nausithoe aurea* n. sp. (Scyphozoa: Coronatae: Nausithoidae), a species with two pathways of reproduction after strobilation: sexual and asexual //Bijdragen tot de Dierkunde. – 1997. – T. 66. – №. 4. – C. 235-246.

174. Skogh C., Garm A., Nilsson D. E., Ekström P. Bilaterally symmetrical rhopalial nervous system of the box jellyfish *Tripedalia cystophora* //Journal of morphology. – 2006. – T. 267. – №. 12. – C. 1391-1405.
175. Slobodov S. A., Marfenin N. N. Reproduction of the colonial hydroid *Obelia geniculata* (L., 1758) (Cnidaria, Hydrozoa) in the White Sea //Coelenterate Biology 2003. – Springer, Dordrecht, 2004. – C. 383-388.
176. Spencer A. N. Neuropeptides in the Cnidaria //American Zoologist. – 1989. – T. 29. – №. 4. – C. 1213-1225.
177. Spencer A. N., Arkett S. A. Radial symmetry and the organization of central neurones in a hydrozoan jellyfish //Journal of Experimental Biology. – 1984. – T. 110. – №. 1. – C. 69-90.
178. Stampar S. N., Maronna M. M., Kitahara M. V., Reimer J. D., Beneti J. S., Morandini A. C. Ceriantharia in current systematics: life cycles, morphology and genetics //The Cnidaria, past, present and future. – Springer, Cham, 2016. – C. 61-72.
179. Steinmetz P. R. H. et al. Independent evolution of striated muscles in cnidarians and bilaterians //Nature. – 2012. – T. 487. – №. 7406. – C. 231-234.
180. Straehler-Pohl I., Jarms G. Morphology and life cycle of *Carybdea morandinii*, sp. nov. (Cnidaria), a cubozoan with zooxanthellae and peculiar polyp anatomy //Zootaxa. – 2011. – T. 2755. – №. 2. – C. 36-56.
181. Sugiura Y. On the life-history of rhizostome medusae I. *Mastigias papua*. Anotationes zoologicae japonensis. – 1963. – T. 36. – №. 4. – C. 194-202.
182. Sugiura Y. On the life-history of Rhizostome medusae IV. *Cephea cephea* //Embryologia. – 1966. – T. 9. – №. 2. – C. 105-122.
183. Swain T. D., Schellinger J. L., Strimaitis A. M., Reuter K. E. Evolution of anthozoan polyp retraction mechanisms: convergent functional morphology and evolutionary allometry of the marginal musculature in order Zoanthidea (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia) //BMC evolutionary biology. – 2015. – T. 15. – №. 1. – C. 123.
184. Szymanski J. R., Yuste R. Mapping the whole-body muscle activity of *Hydra vulgaris* //Current Biology. – 2019. – T. 29. – №. 11. – C. 1807-1817. e3.
185. Takahashi T. Comparative Aspects of Structure and Function of Cnidarian Neuropeptides //Frontiers in Endocrinology. – 2020. – T. 11. – C. 339.
186. Takahashi T., Takeda N. Insight into the molecular and functional diversity of cnidarian neuropeptides //International journal of molecular sciences. – 2015. – T. 16. – №. 2. – C. 2610-2625.
187. Takahashi-Iwanaga H., Koizumi O., Fujita T. Scanning electron microscopy of the muscle system of *Hydra magnipapillata* //Cell and tissue research. – 1994. – T. 277. – №. 1. – C. 79-86.

188. Thé J., Gamero-Mora E., da Silva M. V. C., Morandini A. C., Rossi S., de Oliveira Soares M. Non-indigenous upside-down jellyfish *Cassiopea andromeda* in shrimp farms (Brazil) //Aquaculture. – 2021. – T. 532. – C. 735999.
189. Thieme C., Hofmann D. K. Control of head morphogenesis in an invertebrate asexually produced larva-like bud (*Cassiopea andromeda*; Cnidaria: Scyphozoa) //Development genes and evolution. – 2003. – T. 213. – №. 3. – C. 127-133.
190. Toshino S. et al. Monodisc strobilation in Japanese giant box jellyfish *Morbakka virulenta* (Kishinouye, 1910): a strong implication of phylogenetic similarity between Cubozoa and Scyphozoa //Evolution & development. – 2015. – T. 17. – №. 4. – C. 231-239.
191. Trembley A. Mémoires pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce, à bras en forme de cornes. – Chez Jean & Herman Verbeek, 1744. – T. 1.
192. Underwood A. H., Straehler-Pohl I., Carrette T. J., Sleeman J., Seymour J. E. Early life history and metamorphosis in *Malo maxima* Gershwin, 2005 (Carukiidae, Cubozoa, Cnidaria) //Plankton and Benthos Research. – 2018. – T. 13. – №. 4. – C. 143-153.
193. Vagelli A. A. New observations on the asexual reproduction of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa) with comments on its life cycle and adaptive significance //Invertebr Zool. – 2007. – T. 4. – №. 2. – C. 111-27.
194. Van Lieshout J. S., Martin V. J. Development of planuloid buds of *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) //Transactions of the American Microscopical Society. – 1992. – C. 89-110.
195. Watanabe H., Fujisawa T., Holstein T. W. Cnidarians and the evolutionary origin of the nervous system //Development, growth & differentiation. – 2009. – T. 51. – №. 3. – C. 167-183.
196. Webster G., Hamilton S. Budding in *Hydra*: the role of cell multiplication and cell movement in bud initiation //Development. – 1972. – T. 27. – №. 2. – C. 301-316.
197. Werner B. *Stephanoscyphus planulophorus* n. spec., ein neuer Scyphopolyp mit einem neuen Entwicklungsmodus //Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen. – 1971. – T. 22. – №. 1. – C. 120-140.
198. Werner B., Chapman D. M., Cutress C. E. Muscular and nervous systems of the cubopolyp (Cnidaria) //Experientia. – 1976. – T. 32. – №. 8. – C. 1047-1049.
199. Werner B., Cutress C. E., Studebaker J. P. Life cycle of *Tripedalia cystophora* Conant (cubomedusae) //Nature. – 1971. – T. 232. – №. 5312. – C. 582-583.
200. Westfall J. A. Ultrastructural evidence for neuromuscular systems in coelenterates //American Zoologist. – 1973. – T. 13. – №. 2. – C. 237-246.
201. Westfall J. A., Grimmelikhuijzen C. J. P. Antho-RFamide immunoreactivity in neuronal synaptic and nonsynaptic vesicles of sea anemones //The Biological Bulletin. – 1993. – T. 185. – №. 1. – C. 109-114.

202. Westfall J. A., Kinnamon J. C. A second sensory—motor—interneuron with neurosecretory granules in *Hydra* //Journal of neurocytology. – 1978. – T. 7. – №. 3. – C. 365-379.
203. Widmer C. L. Life Cycle of *Chrysaora fuscescens* (Cnidaria: Scyphozoa) and a Key to Sympatric Ephyrae1 //Pacific Science. – 2008. – T. 62. – №. 1. – C. 71-82.
204. Widmer C. L. Life cycle of *Phacellophora camtschatica* (Cnidaria: Scyphozoa) //Invertebrate Biology. – 2006. – T. 125. – №. 2. – C. 83-90.
205. Widmer C. L., Fox C. J., Brierley A. S. Effects of temperature and salinity on four species of northeastern Atlantic scyphistomae (Cnidaria: Scyphozoa) //Marine Ecology Progress Series. – 2016. – T. 559. – C. 73-88.
206. Williams R. B. Locomotory behaviour and functional morphology of *Nemalostella vectensis* (Anthozoa: Actiniaria: Edwardsiidae): a contribution to a comparative study of burrowing behaviour in athenarian sea anemones //Zoologische Verhandelingen. – 2003. – C. 437-484.
207. Wood R. L. The fine structure of the hypostome and mouth of hydra //Cell and tissue research. – 1979. – T. 199. – №. 2. – C. 319-338.
208. Yamaguchi M. Early life history of the sea wasp, *Chironex fleckeri* (Class Cubozoa) //Development and cellular biology of coelenterates. – 1980. – C. 11-16.
209. Yanze N., Spring J., Schmidli C., Schmid V. Conservation of Hox/ParaHox-related genes in the early development of a cnidarian //Developmental biology. – 2001. – T. 236. – №. 1. – C. 89-98.
210. Yuan D., Nakanishi N., Jacobs D. K., Hartenstein V. Embryonic development and metamorphosis of the scyphozoan *Aurelia* //Development genes and evolution. – 2008. – T. 218. – №. 10. – C. 525-539.
211. Yum S., Takahashi T., Hatta M., Fujisawa T. The structure and expression of a preprohormone of a neuropeptide, Hym-176 in *Hydra magnipapillata* //FEBS letters. – 1998. – T. 439. – №. 1-2. – C. 31-34.
212. Zimmerman K. L., Jamshidi A. D., Buckenberger A., Satterlie R. A. Organization of the subumbrellar musculature in the ephyra, juvenile, and adult stages of *Aurelia aurita* Medusae //Invertebrate Biology. – 2019. – T. 138. – №. 3. – C. e12260.
213. Zrzavý J., Mihulka S., Kepka P., Bezděk A., Tietz D. Phylogeny of the Metazoa based on morphological and 18S ribosomal DNA evidence //Cladistics. – 1998. – T. 14. – №. 3. – C. 249-285.