

## Гермафродитизм и интерсексуальность у *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) (Cnidaria: Hydrozoa)

Ю.А. Бурмистрова<sup>1,2\*</sup>, И.А. Косевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кафедра зоологии беспозвоночных, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы 1/12, Москва, 119991 Россия.

<sup>2</sup> Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, ул. Вавилова 34, Москва, 119071 Россия.

\*Автор, ответственный за переписку: yuliya.burmistrova@yandex.ru

**РЕЗЮМЕ:** Происхождение разных вариантов размножения животных и растений остается актуальной проблемой эволюционных исследований. Особый интерес для понимания эволюции полового размножения представляют переходы между гермафродитизмом и раздельнополостью в пределах одной и той же группы организмов. Для Стрекающих (Cnidaria), базальной группы многоклеточных животных, характерно множество вариантов как бесполого, так и полового размножения, поэтому представители данного таксона являются перспективными объектами для решения упомянутой проблемы.

Впервые у литорального вида гидроидов *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) из Белого моря в естественных условиях обитания были обнаружены гермафродитные колонии. Данный вид гидроидов характеризуется формированием гонофоров (редуцированных медуз) на гидрантах в период полового размножения и традиционно считается раздельнополым. Различают колонии, гидранты которых формируют гонофоры только со сперматозоидами, и колонии, гидранты которых формируют гонофоры только с женскими гаметами. Такие колонии, а также самих гидрантов, называют мужскими и женскими соответственно. Обнаруженные нами гермафродитные колонии содержали гидрантов разного пола в одной колонии. Более того, в таких гермафродитных колониях присутствовали гидранты с интерсексуальными гонофорами, внутри такого гонофора заключены одновременно женские и мужские гаметы. Детали организации интерсексуальных гонофоров исследованы на световом и ультраструктурном уровнях. При экспериментальном сращивании гидрантов, взятых из мужских и женских колоний, с гонофорами на начальных стадиях развития, были получены химерные организмы, у которых один из гидрантов формировал гонофоры противоположного пола, а также интерсексуальные гонофоры. Это позволило высказать предположение, что появление гермафродитных колоний *C. multicornis* в природе обусловлено срастанием близко расположенных колоний разных полов. Как цитировать эту статью: Burmistrova Yu.A., Kosevich I.A. 2022. Hermaphroditism and intersexuality in *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) (Cnidaria: Hydrozoa) // Invert. Zool. Vol.19. No.2. P.99–119. doi: 10.15298/invertzool.19.2.01

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** Cnidaria, Hydrozoa, *Clava multicornis*, гермафродитизм, интерсексуальность.

## Hermaphroditism and intersexuality in *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) (Cnidaria: Hydrozoa)

Yu.A. Burmistrova<sup>1,2\*</sup>, I.A. Kosevich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Invertebrate Zoology Department, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119991 Russia.

<sup>2</sup> Laboratory of Marine Invertebrate Morphology and Ecology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Leninsky Prospekt 33, Moscow, 119071 Russia.

\* Corresponding author: yuliya.burmistrova@yandex.ru

Yuliya Burmistrova: ORCID 0000-0002-6976-1073

Igor Kosevich: ORCID 0000-0001-8604-2161

**ABSTRACT:** The origin of different variants of animal and plant reproduction remains an actual problem of evolutionary research. The transitions between hermaphroditism and dioecy within the same group of organisms are of particular interest in understanding the evolution of sexual reproduction. Representatives of Cnidaria, the basal group of multicellular animals, are characterized by variety of both asexual and sexual reproduction. Therefore, members of this taxon seem to be promising objects for solving the mentioned problem.

For the first time the hermaphroditic colonies of the littoral hydrozoan *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) from the White Sea were found in natural habitats. This species is characterized by development of gonophores (reduced medusae) upon the hydranths during the period of sexual reproduction and is traditionally considered to be dioecious. There are colonies which hydranths form only male gonophores and colonies which hydranths produce only female gonophores. Such colonies, as well as the hydranths themselves, are called male and female, respectively. We found hermaphroditic colonies with hydranths of different sexes within the same colony. Moreover, intersexual gonophores containing female and male gametes simultaneously were present in such hermaphroditic colonies. Details of the organization of intersexual gonophores were studied by methods of light and electron microscopy. Experimental fusion of hydranths taken from male and female colonies with gonophores at the initial stages of development resulted in emergence of chimeric organisms, in which one of the hydranths formed gonophores of the opposite sex, as well as intersex gonophores. This allowed suggesting that the development of hermaphroditic colonies of *C. multicornis* in nature occurs due to the fusion of closely growing colonies of different sexes.

How to cite this article: Burmistrova Yu.A., Kosevich I.A. 2022. Hermaphroditism and intersexuality in *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) (Cnidaria: Hydrozoa) // Invert. Zool. Vol.19. No.2. P.99–119. doi: 10.15298/invertzool.19.2.01

**KEY WORDS:** Cnidaria, Hydrozoa, *Clava multicornis*, hermaphroditism, intersexuality.

## Введение

Важной проблемой эволюционных исследований является вопрос о путях становления существующих вариантов полового размножения многоклеточных организмов, а также определение эволюционных процессов, ведущих от раздельнополости к одновременному гермафродитизму и наоборот (Leonard, 2018). Гермафродитизм очень распространен у растений, среди которых только 6% раздельнополоых (двудомных) видов. Среди животных гермафродитизм встречается значительно реже: гермафродитами являются около 5% видов животных, а если исключить насекомых, среди которых всего несколько гермафродитных представителей, то доля гермафродитных видов составляет одну треть от ныне существующих животных (Jarne, Auld, 2006).

Большой интерес для анализа возможных путей эволюции полового размножения у многоклеточных вызывают таксоны, для представителей которых характерно несколько вариантов размножения. Таких организмов много среди низших многоклеточных животных. К примеру, актиниям (Anthozoa, Cnidaria) свойственны раздельнополость и партеногенез, а бесполое размножение представлено такими вариантами, как лацерация, поперечное и продольное деление, автотомия щупалец (Bocharova, Kozevich, 2011). В большинстве таксонов Стрекающих (Cnidaria) преобладают раздельнополое виды, однако у склерактиниевых кораллов (Anthozoa: Scleractinia) наиболее распространен гермафродитизм с выметом половых продуктов в окружающую среду (Goffredo, Telo, 1998; Harrison, 2011). Более того, для кораллов известны самые редкие варианты полового размножения. Например, у коралла *Aiptasia diaphana* описана триоэция, при которой в популяции присутствуют женские, мужские и гермафродитные полипы (Armoza-Zvulonі *et al.*, 2014).

Варианты полового размножения у разных видов многоклеточных организмов оп-

ределяются генетическими или экологическими факторами либо совместным действием факторов из обеих категорий. Традиционно различают два основных типа механизмов определения пола: хромосомный (genotypic sex determination, GSD) и зависимый от окружающей среды (environmental sex determination, ESD) (Leonard, 2018). Для млекопитающих, птиц и большинства насекомых характерно хромосомное определение пола, в то время как пол многих рептилий и рыб зависит от температуры окружающей среды (temperature-dependent sex determination, TSD). Более того, показано, что пол некоторых видов животных контролируется совместным действием генетических факторов и температуры (GSD + TE) (Janzen, Phillips, 2006; Piferrer *et al.*, 2008; Gamble, Zarkower, 2012). Пол многих беспозвоночных определяется экологическими факторами, например изменением температуры, фотопериода или плотностью популяции (Tingley, Anderson, 1986; Carre, Carre, 2000; Toyota *et al.*, 2021).

Хромосомное определение пола широко распространено и хорошо изучено у представителей Bilateria, в то время как в сестринской группе Cnidaria участие хромосом в определении пола доказано только для единственного вида *Corallium rubrum* (Mittwoch, 2000; Gamble, Zarkower, 2012; Pratlong *et al.*, 2017). Исследования кариотипов у представителей рода *Hydra* не выявили наличия гетероморфных хромосом. Показано, что определение пола у *Hydra* происходит за счет автономной спецификации интерстициальных клеток (i-клеток) половой линии (germ cells, GCs) в предшественники женских или мужских гамет (Nishimiya-Fujisawa, Kobayashi, 2012; Siebert, Juliano, 2017; Anokhin, Kuznetsova, 2018). Вместе с тем, для Cnidaria показано участие в определении пола гормонов и генов, гомологичных таковым у Bilateria, что делает представителей Cnidaria перспективными объектами для изучения эволюции механизмов определения пола у Metazoa (Collins *et al.*, 2006; Traylor-Knowles *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016). В понимании

эволюции существующих вариантов полового размножения у многоклеточных организмов важную роль может сыграть изучение гермафродитных видов Cnidaria.

Широко распространенный гидроид *Clava multicornis* (Forsskål, 1775) известен как раздельнополый вид (Weissman, 1883; Harm, 1902; Goette, 1907; Schuchert, 2008). В период полового размножения в основании гастрального отдела гидрантов формируются гонофоры — прикрепленные редуцированные медузы. Созревание гамет и развитие личинок с момента оплодотворения ооцитов происходит внутри гонофоров (Piraino *et al.*, 2011). У *C. multicornis* различают мужские колонии, все гидранты которых несут гонофоры со сперматозоидами (мужские гидранты), и женские колонии — с гидрантами, содержащими ооциты во всех гонофорах (женские гидранты). Ключевым моментом в развитии медузоидных стадий у Hydrozoa является формирование медузоидного узелка, “glockenkern”. Узелок формирует выстилку субумбреллярной полости колокола медуз, представленную эпителиально-мышечными клетками с поперечно-полосатой исчерченностью сократительных отростков (Kühn, 1914; Frey, 1968; Ball *et al.*, 2004; Seipel, Schmid, 2005). У женских и мужских гонофоров *C. multicornis* развитие медузоидного узелка различается. Медузоидный узелок в мужском гонофоре формирует замкнутую субумбреллярную полость, внутри которой развиваются и созревают сперматозоиды, в то время как в женском гонофоре субумбреллярная полость отсутствует (Goette, 1907).

В колониях *C. multicornis* из Белого моря нами были обнаружены гермафродитные колонии, в которых имелись мужские и женские гидранты. Нами также были обнаружены гермафродитные колонии, которые помимо женских и мужских гидрантов содержали гермафродитных гидрантов. Гермафродитные гидранты одновременно несли женские и мужские гонофоры, а также содержали гермафродитные (интерсексуальные) гонофоры. Внутри интерсексуальных

гонофоров одновременно находились женские и мужские гаметы. В настоящей работе приведено описание интерсексуальных гонофоров, экспериментально подтверждено предположение о возможности развития гермафродитных колоний в результате срастания колоний разного пола, а также изучено влияние температуры на пол формирующих гонофоров.

## Материал и методы

**МАТЕРИАЛ.** *Clava multicornis* — широко распространенный в Северо-восточной Атлантике бореальный вид колониальных гидроидов, обитающий обычно на водорослях рода *Fucus* в зоне нижней литорали (Schuchert, 2008). В Белом море в районе ББС МГУ этот массовый вид формирует столонические колонии преимущественно на водорослях рода *Ascophyllum* в зоне нижней литорали (Naumov, 1960). *Clava multicornis* характеризуется компактными колониями, располагающимися в небольших углублениях или местах разветвления таллов водорослей.

В течение июля 2018 г., в сезон полового размножения вида (середина июня – середина августа), вблизи Беломорской биологической станции имени Н.А. Перцова (Еремевский порог), было собрано более 1000 колоний *C. multicornis*. После сбора колонии просматривали и фотографировали под стереомикроскопом Leica M165C.

**СВЕТОВАЯ И ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ.** Гонофоры фиксировали 2,5% глутаральдегидом на фосфатном буфере (pH = 7,4) в течение 12 часов при температуре 4 °C (Millonig, 1964) и отмывали этим же буфером. Затем гонофоры постфиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия (OsO<sub>4</sub>) на том же буфере при комнатной температуре в течение 1 часа. После отмывки буфером материал дегидратировали в серии восходящих концентраций этанола (10°, 20°, 30°, 40°, 50°, 60°, 70°), выдерживая на каждой ступени проводки два раза по 10 минут, после чего хранили в 70°-ном этано-

ле при температуре 4 °C до последующей обработки. Для заключения образцов в смолу материал, хранившийся в 70°-ном этаноле, подвергали дальнейшей дегидратации в этаноле и ацетоне. Весь процесс дегидратации производили при 4 °C, после чего материал заключали в смесь эпоксидных смол — эпона и аралдита (SPI-Pon<sup>TM</sup> 812 Kit, Spi-Chem, в соответствии с рекомендациями производителя).

Полутонкие срезы толщиной 1 мкм изготавливали на ультрамикротоме LKB III. Окрашивание срезов проводили раствором смеси толудинового и метиленового синего (Mironov *et al.*, 1994). Срезы изучали и фотографировали на микроскопе Leica DM 2500, оснащённом цифровой камерой Leica DMC 2900. Ультратонкие срезы толщиной 70 мкм изготавливали на ультратоме Leica. Контрастирование проводили уранил-ацетатом (Hall, 1995) и цитратом свинца (Reynolds, 1963), после чего образцы исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM-1011 (Japan) с цифровой фотокамерой ORIUS SC1000W (ускоряющее напряжение 80кВ; программа управления камерой: Digital Micrograph (GATAN)). Полученные изображения обрабатывали в программе Adobe Photoshop (Adobe Inc.). Коррекцию яркости, контраста осуществляли применительно ко всему изображению.

**ЭКСПЕРИМЕНТЫ.** При большой численности колоний *C. multicornis* на субстрате женские и мужские колонии гидроидов располагаются очень близко друг к другу, и в этом случае границу между отдельными колониями различить практически невозможно. Для экспериментов отбирали только явно различимые женские и мужские колонии, которые росли на отдельных ветвях талломов водорослей. В колониях, из которых были взяты гидранты для экспериментов, все гонофоры содержали либо только ооциты, либо только сперматозоиды.

Из разнополых колоний отсекали гидрантов с зачатками гонофоров. Женских и мужских гидрантов прижимали срезами друг

к другу и скрепляли попарно, нанизывая на стеклянные капилляры. Таким образом, мы сформировали 20 пар потенциальных химерных организмов, каждый из которых состоял из скрепленных вместе женского и мужского гидрантов. Женские гидранты метили кусочком нитки, продетым через гипостом, для идентификации после завершения эксперимента. После срастания гидрантов стеклянные капилляры удаляли, а сформированные организмы помещали на покровные стекла в отдельные чашки Петри и содержали при постоянной температуре 12 °C, то есть средней температуре воды Белого моря в июле (по данным автоматической метеорологической станции AWS 2700 за 2008–2016 гг.), с ежедневным кормлением науплиусами *Artemia salina*. Из места срастания гидрантов вырастали столоны, которые прирастали к покровным стеклам. Полученные в результате срастания организмы мы будем называть химерными.

Хауэншильд наблюдал интерсексуальные колонии *Hydractinia echinata* (Fleming, 1828), возникающие из одного первичного полипа (Hauenschild, 1954), поэтому было необходимо исключить вероятность возникновения гермафродитизма и интерсексуальности, обусловленных генетическими особенностями выбранных колоний. Для этого колонии, из которых отобрали гидрантов для эксперимента, были оставлены в аквариуме при температуре 12 °C для наблюдения за составом гамет в созревающих гонофорах.

Основываясь на данных о том, что изменение температуры влияет на соотношение полов в популяции или же вызывает реверсию пола у некоторых Hydrozoa (Carre, Carre, 2000), мы предположили, что причиной появления гермафродитных колоний у *C. multicornis* могут быть резкие и значительные колебания температуры, связанные с приливо-отливными явлениями в зоне обитания вида. С целью проверки влияния температуры на изменение пола у *C. multicornis*, колонии гидроидов с формирующимися гонофорами брали из естественной среды обитания и для наблюдения за развитием гоно-

форов помещали в аквариумы с температурой воды 8° либо 16 °С. Указанные значения были выбраны исходя из того, что они представляют собой минимальную и максимальную температуру воды вблизи места сбора колоний в Белом море в июле, в период полового размножения вида (по данным автоматической метеорологической станции AWS 2700 за 2008–2016 гг.). В каждом из аквариумов содержали по 40 колоний, среди которых было 20 мужских и 20 женских.

## Результаты

Женские и мужские колонии гидроидов достаточно хорошо различимы по цвету гонофоров у гидрантов. Мелкие ооциты окрашены в желтый или беловатый цвет и по мере роста приобретают серую окраску. Такую темную пигментацию созревающего ооцита, которую другие авторы описывали как голубоватую, связывают с присутствием желточных гранул, количество которых уменьшается по мере созревания эмбриона (Hargitt, 1906). Серую окраску сохраняют и развивающиеся эмбрионы, а зрелые личинки-планулы окрашены в желтый цвет. Молодые мужские гонофоры прозрачные, но по мере созревания сперматозоидов приобретают белесый цвет. В сезон полового размножения женские колонии гидроидов легко отличить от мужских по серой окраске содержимого гонофоров.

Женские колонии состоят из гидрантов, которые несут гонофоры с ооцитами (рис. 1А, В), гидранты мужских колоний несут

гонофоры со сперматозоидами (рис. 1С, D). Среди собранных и исследованных нами колоний *C. multicornis* были обнаружены несколько вариантов колоний, в которых одновременно присутствовали оба типа гамет. В первом варианте в одной и той же колонии имелись женские и мужские гидранты. Во втором варианте в колонии присутствовали женские, мужские и гермафродитные гидранты, причем последние несли одновременно женские, мужские и интерсексуальные гонофоры (рис. 1Е–G; 2А). В третьем варианте в колонии были мужские гидранты, а также гидранты с мужскими и интерсексуальными гонофорами. Все эти три типа колоний мы рассматривали как гермафродитные.

Частота встречаемости гермафродитных колоний с тремя типами гидрантов составила 5% от общего числа просмотренных колоний. Колонии с двумя типами гидрантов встречались реже — не более 1% от всех изученных колоний. Третий вариант колонии, включающий мужских гидрантов и гидрантов с мужскими и интерсексуальными гонофорами, был самым редким и был встречен только в 0,2% случаев.

Интерсексуальные гонофоры, как правило, содержали один, реже два ооцита, а в одном интерсексуальном гонофоре мы наблюдали три ооцита (рис. 2В). Ооциты, обнаруженные в интерсексуальных гонофорах *C. multicornis*, находились на разных стадиях развития. В одних гонофорах наряду со сперматозоидами были мелкие белесые или желтоватые ооциты, в то время как в других

Е рамками). Гидранты, несущие одновременно женские, мужские и интерсексуальные гонофоры, выделены рамками белого цвета. Женские гонофоры заключены в пунктирные белые рамки. Мужские гонофоры заключены в пунктирные черные рамки. Стрелками показаны интерсексуальные гонофоры, содержащие внутри как женские, так и мужские гаметы. Масштаб: А — 2 мм; В — 1 мм; С — 2 мм; D — 1,25 мм; Е — 0,5 мм; F — 1,3 мм; G — 1 мм.

Fig. 1. Colonies of *Clava multicornis* during reproductive period.

A — female colony; B — hydranths with female gonophores containing oocytes; C — male colony; D — hydranths with male gonophores containing spermatozooids; E — hermaphroditic colony; F, G — hydranths from hermaphroditic colony simultaneously containing male, female and intersexual gonophores on each hydranth (marked in E by frames). Hydranths simultaneously containing female, male, and intersexual gonophores are in white frames. Female gonophores are in dotted white frames. Male gonophores are in dotted black frames. Arrowheads point to intersexual gonophores containing male and female gametes. Scale bars: A — 2 mm; B — 1 mm; C — 2 mm; D — 1.25 mm; E — 0.5 mm; F — 1.3 mm; G — 1 mm.

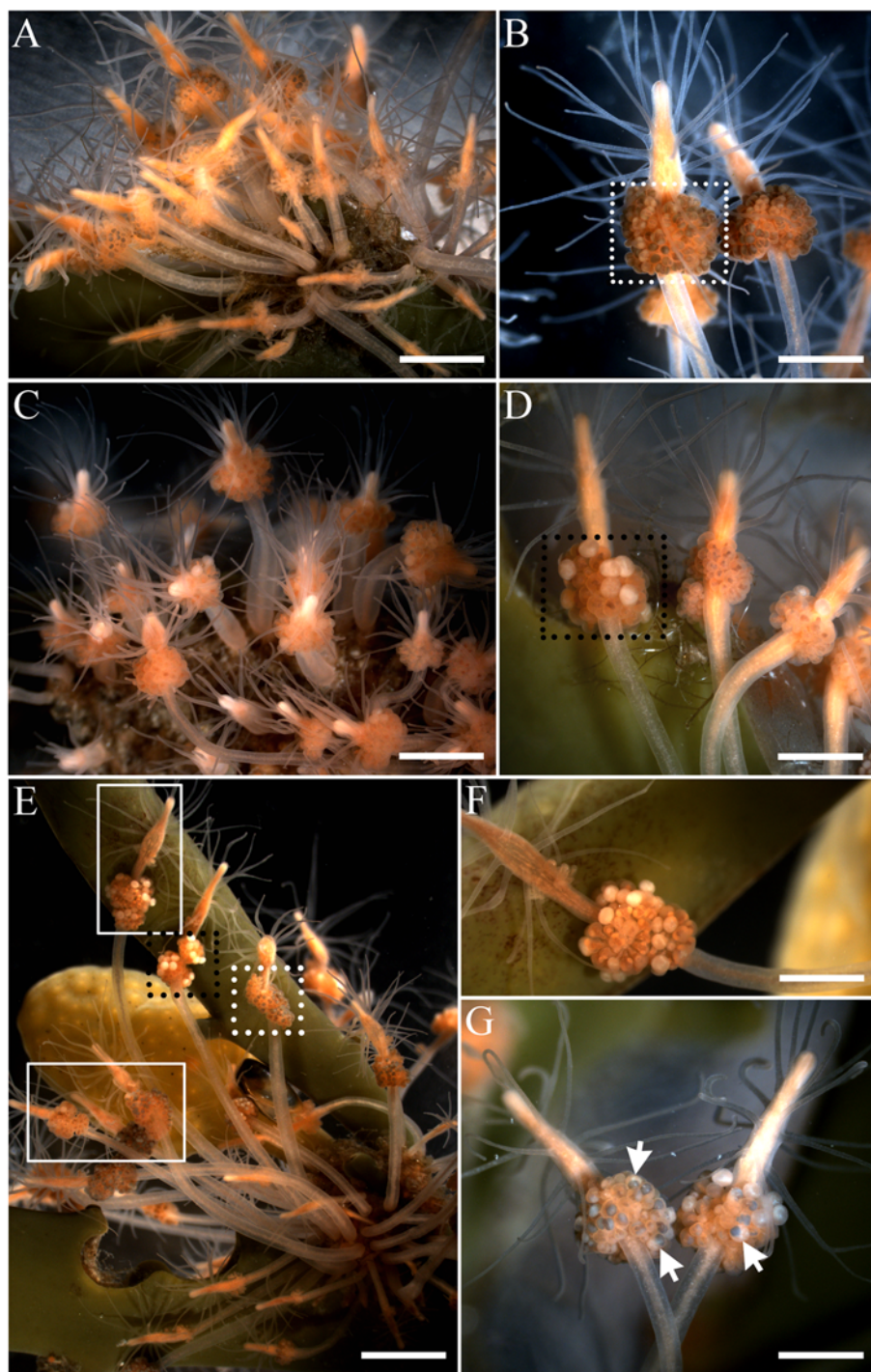


Рис. 1. Колонии *Clava multicornis* в период размножения.

A — женская колония; B — гидранты с женскими гонофорами, содержащими ооциты; C — мужская колония; D — гидранты с мужскими гонофорами, содержащими сперматозоиды; E — гермафродитная колония; F, G — гидранты из гермафродитной колонии, несущие женские, мужские и интерсексуальные гонофоры (показаны на

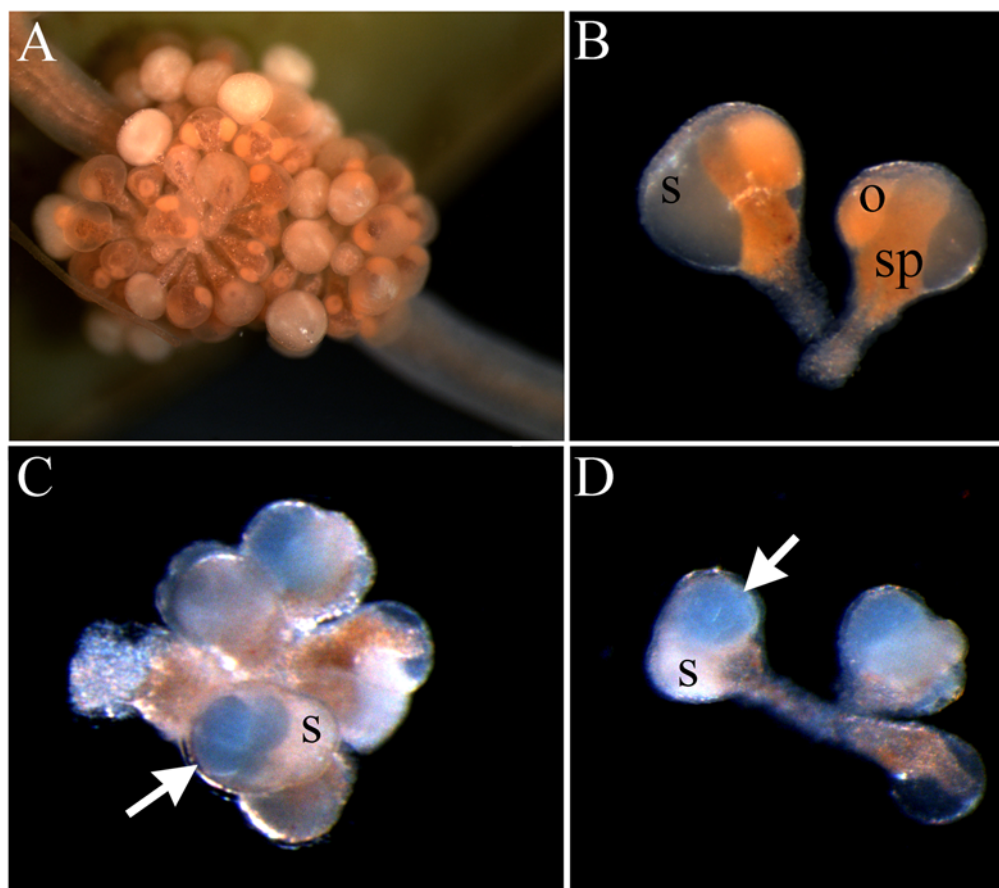


Рис. 2. Интерсексуальные гонофоры *Clava multicornis*.

A — гидрант с женскими, мужскими и интерсексуальными гонофорами; B — изолированные интерсексуальные гонофоры, содержащие ооциты и сперматозоиды. Ооциты прилегают к спадику (гастродермальному выросту); C — дробление эмбриона внутри интерсексуального гонофора. Белой стрелкой отмечен эмбрион на стадии четырех клеток; D — эмбрион на стадии морулы в интерсексуальном гонофоре (показан белой стрелкой). Обозначения: o — ооцит; s — сперматозоиды; sp — спадикс (вырост гастродермы). Масштаб: A — 1,3 мм; B — 0,2 мм; C — 0,1 мм; D — 0,3 мм.

Fig. 2. Intersexual gonophores of *Clava multicornis*.

A — hydranth with female, male and intersexual gonophores; B — isolated intersexual gonophores with oocytes and spermatozoid mass. Oocytes are adjoining spadix (gastroderm outgrowth); C — cleaving embryo within intersexual gonophore. White arrow points to the 4-cells embryo; D — embryo at the morula stage within intersexual gonophore (white arrow).

Abbreviations: o — oocyte; s — spermatozooids; sp — spadix. Scale bars: A — 1.3 mm; B — 0.2 mm; C — 0.1 mm; D — 0.3 mm.

гонофорах ооциты были крупными и окрашены в серый или серо-голубой цвет. В некоторых интерсексуальных гонофорах *C. multicornis* мы наблюдали дробление — как правило, один дробящийся эмбрион серо-голубого цвета среди белесой массы сперматозоидов (рис. 2C, D).

#### АНАТОМИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРА ИНТЕРСЕСУАЛЬНЫХ ГОНОФОРОВ.

Анатомия интерсексуальных гонофоров была изучена на гистологических препаратах. Стенка гонофора образована двумя слоями клеток. На продольном срезе через гонофор видно, что масса сперматозоидов отде-

лена от ооцита слоем клеток. Ооцит по объему занимает примерно половину гонофора. Цитоплазма ооцита заполнена желточными гранулами, округлое ядро смещено относительно центра к периферии ооцита и ближе к поверхности гонофора (рис. 3А). В зоне контакта со спадикусом (редуцированным ротовым хоботком) на поверхности ооцита хорошо заметны микроворсинки (рис. 3В, 4В). Вторую половину гонофора занимает масса сперматозоидов, среди которых обнаруживаются угловатые клетки с крупными ядрами (рис. 3С–Е); иногда на срезах такие клетки встречались в эпидерме гонофоров (рис. 3С, D). Цитоплазма этих клеток заполнена округлыми гранулами с электронно-плотным содержимым, вследствие чего внешне они напоминают ооциты мелкого размера (рис. 3F).

В основании каждого слоя клеток, образующих стенку гонофора, заметна базальная пластинка (рис. 4А, В). Общая масса сперматозоидов заключена в оболочку из клеток, имеющую базальную пластинку (рис. 4С). Головка сперматозоида имеет форму вытянутого конуса с закругленной вершиной. Практически весь объем головки занимает крупное ядро с гомогенным электронно-плотным хроматином. На вершине головки заметны округлые гранулы (рис. 4D). В основании головки сперматозоида расположены четыре митохондрии (рис. 4Е). Дистальную центриоль, от которой берет начало жгутик, окружают девять первичных перичентриольных отростков, каждый из которых разветвляется на три вторичных отростка (рис. 4F). Длинный жгутик имеет стандартно организованную аксонему (9 периферических дуплетов микротрубочек + 2 центральные микротрубочки). Несмотря на то, что вся масса сперматозоидов заключена в оболочку из клеток, жгутики отдельных сперматозоидов наблюдали между мезоглеей, выстилающей внутреннюю стенку гонофора, и внеклеточным матриксом, окружающим ооцит (рис. 4В).

**ЭКСПЕРИМЕНТ ПО СРАЩИВАНИЮ РАЗНОПОЛЫХ ГИДРАНТОВ.** Мы выдвинули предположение, что гермафродитные

колонии *C. multicornis* могут формироваться в результате срастания гистосовместимых женских и мужских колоний. Для проверки этого предположения провели попарное сращивание женских и мужских гидрантов (рис. 5А). Через четыре дня после начала эксперимента все пары гидранты начинали срастаться (рис. 5В). Спустя еще девять дней было отмечено, что состав половых клеток изменился у четырех из двадцати химер (рис. 5С–F), причём в гонофорах только одного из гидрантов химеры. Нами были зарегистрированы два варианта изменения гонофоров: первый – формирование мужских и интерсексуальных гонофоров на исходно женском гидранте (у двух химер) (рис. 5С, D; 6А), второй — формирование женских и интерсексуальных гонофоров на исходно мужском гидранте (у двух химер) (рис. 5Е, F; 6В). В гонофорах второго гидранта, участвовавшего в формировании химеры, половые продукты соответствовали исходному полу гидранта.

**ЭКСПЕРИМЕНТ ПО ВЛИЯНИЮ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СМЕНУ ПОЛА ГИДРАНТОВ.** Наблюдение за созреванием гонофоров в колониях *C. multicornis*, содержащихся в аквариумах с температурами воды 8° и 16 °С, не выявило изменений в исходном составе гамет. По окончании развития все гонофоры в колониях с мужскими гидрантами содержали только сперматозоиды, а все гонофоры в колониях с женскими гидрантами — личинок-планул.

## Обсуждение результатов

Важным шагом к пониманию эволюции существующих вариантов полового размножения у Metazoa является исследование механизмов определения пола у базальной группы Cnidaria. Стрекающие характеризуются самыми разными вариантами размножения, а также способами определения пола, которые включают дифференцировку стволовых i-клеток, влияние температуры, концентрацию половых гормонов, а также участие половых хромосом.

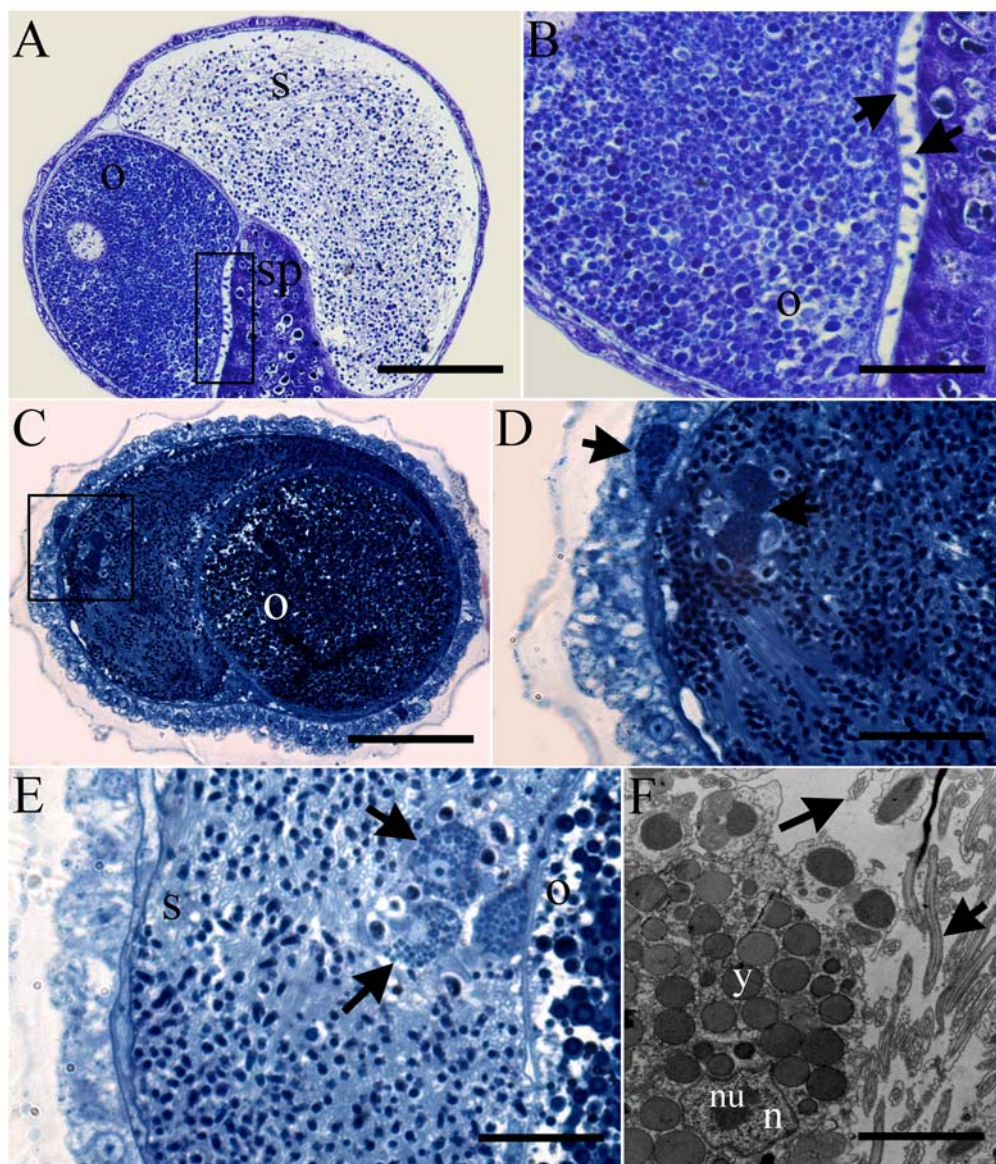


Рис. 3. Гистологическая организация интерсексуальных гонофоров *Clava multicornis*. А–Е — гистологические срезы через гонофор; F — ультраструктура клетки, предположительно являющейся прекратившим рост ооцитом.

А — продольный гистологический срез через интерсексуальный гонофор; В — область, показанная в рамке на А, включает участок гонофора между ооцитом и спадиксом. Стрелками показаны крупные микроворсинки ооцита, лежащие в пространстве между ооцитом и спадиксом; С — поперечный гистологический срез через интерсексуальный гонофор; D — область, показанная в рамке на С, содержит участок гонофора с клетками, напоминающими ооциты; Е — внешне схожие с ооцитами клетки внутри массы сперматозоидов и в эпидерме гонофора (отмечены стрелками); F — ультраструктура предположительно остановившегося в росте ооцита среди массы сперматозоидов (стрелками показаны жгутики сперматозоидов). Данная клетка содержит крупное ядро с ядрышком, а её цитоплазма заполнена многочисленными гранулами с электронно-плотным содержимым, что характерно для ооцитов Hydrozoa.

Обозначения: n — ядро; nu — ядрышко, o — ооцит; s — сперматозоиды; sp — спадикс; y — желточные гранулы. Масштаб: А — 50  $\mu\text{m}$ ; В —  $\mu\text{m}$ ; С — 50  $\mu\text{m}$ ; D — 20  $\mu\text{m}$ ; Е — 30  $\mu\text{m}$ ; F — 3,5  $\mu\text{m}$ .

В литературе существуют различные мнения относительно значения терминов «интерсексуальность» и «гермафродитизм» (Allen, 2009; Avise, Mank, 2009; Öcal, 2011; Grilo, Rosa, 2017; Adolphi *et al.*, 2019). В данной работе мы используем те значения данных терминов, которые наиболее точно описывают явления, наблюдаемые у *C. multicornis*.

Термины «интерсекс», «интерсексуальный», «интерсексуальность» были впервые предложены Гольдшмидтом (Goldshmidt, 1917). Интерсекс — состояние, при котором у гонохористов (особей разных полов) развиваются ооциты или сперматогонии внутри нормальных гонад противоположного пола, часто с изменением структуры гонад, половых путей или наружных половых органов (Grilo, Rosa, 2017).

Под гермафродитизмом понимают присутствие признаков обоих полов у одной особи одновременно или последовательно. Одновременный гермафродитизм встречается у видов, у которых взрослая особь обладает полностью функциональными мужской и женской репродуктивными системами. При последовательном типе гермафродитизма происходит переход от одного пола к другому в течение жизни взрослой особи (Adolphi *et al.*, 2019).

Гермафродитизм распространен среди склерактиниевых кораллов (Scleractinia, Anthozoa) (Goffredo, Telo, 1998; Waller *et al.*, 2005; Kerr *et al.*, 2010; Siebert, Juliano, 2017). В группе Medusozoa гермафродитизм встречается в основном у представителей Hydrozoa. Для Scyphozoa в литературе есть описание гермафродитизма у *Chrysaora hyso-*

*scella* (Linnaeus 1767) и *Stephanoscyphus eumedusoides* Werner 1974 (Westheide, Rieger, 1996; Siebert, Juliano, 2017). Среди представителей Hydrozoa случаи гермафродитизма были отмечены у представителей родов *Turritopsis*, *Eleutheria*, *Cladonema*, *Tubularia*, *Myriothele*, а также у видов *Aglaophenia helleri*, *Sertularella polyzonias*, *Plumularia pinnata*, *Diphasia fallax*, *Eudendrium simplex*, *Hydractinea humilis* (*Podocoryna humilis* (Schuchert, 2021)), *Distichopora violacea*, *Monocoryne gigantea*, *Laomedea conferta* (*Laomedea calceolifera* (Schuchert, 2021)), *Clava squamata* (*C. multicornis* (Schuchert, 2008)), *Clava leptostyla* (*C. multicornis* (Schuchert, 2008)), *Hydractinia echinata* (Hargitt, 1906; Föyn, 1927; Hauenschield, 1954; Müller, 1964). Случаи присутствия женских и мужских половых клеток внутри одной гонады у медуз, что характерно для *Turritopsis polycirrho* (Keferstein, 1862), рассматривали как случаи одновременного гермафродитизма (Schuchert, 2004). Примером последовательного гермафродитизма могут служить некоторые представители рода *Hydra*, у которых женские и мужские гаметы развиваются попеременно у одной особи (Siebert, Juliano, 2017).

Описания интерсексуальных гонофоров (рассмотренных как вариант гермафродитизма) для рода *Clava* приведены в работах Харгитта для вида *C. leptostyla* (*C. multicornis* (Schuchert, 2008)) из Вудс-Хола (США), Фойна для *C. squamata* (*C. multicornis*) (Hargitt, 1906; Föyn, 1927). Подробное описание гистологического строения гермафродитных гонофоров в данных работах отсутствует. В работах Вейсмана, Харма, Гёте

Fig. 3. Histology of *Clava multicornis* intersexual gonophores. A–E — histological sections of gonophores; F — ultrastructure of presumably non-developed oocyte.

A — longitudinal histological section of the intersexual gonophore; B — area framed in A presents gonophore's area between the oocyte and spadix. Arrows point to the oocyte's large microvilli in the space between the oocyte and spadix; C — transverse section of the intersexual gonophore; D — area framed in C presents gonophore's area with oocyte-like cells; E — oocyte-like cells within spermatozoid mass and gonophore's epiderm (arrows); F — ultrastructure of the presumable non-developed oocyte lying within the mass of developing spermatozooids (arrows point to the spermatozoid flagella). This cell contains a large nucleus with a nucleolus, and its cytoplasm is filled with numerous electron-dense granules, which is typical of Hydrozoa oocytes.

Abbreviations: n — nucleus; nu — nucleolus; o — oocyte; s — spermatozooids; sp — spadix; y — yolk granules. Scale bars: A — 50 µm; B — 20 µm; C — 50 µm; D — 20 µm; E — 30 µm; F — 3.5 µm.

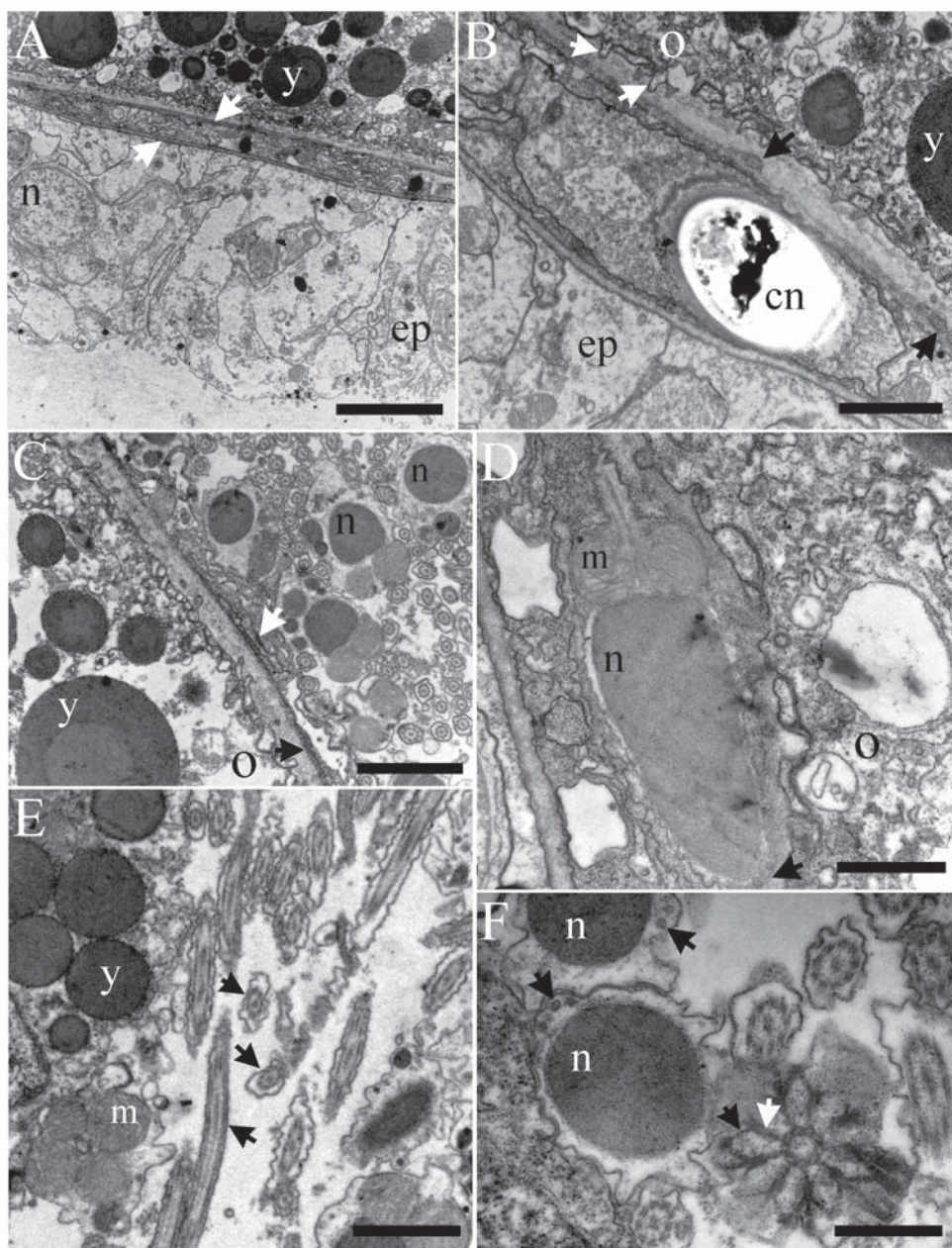


Рис. 4. Детали ультраструктуры интерсексуальных гонофоров *Clava multicornis*.

А — участок стенки гонофора, к которому прилегает ооцит. Стрелками показана базальная пластинка между эпидермой гонофора и эпителиальным слоем — производным медузоидного узелка. В эпидермальной клетке гонофора заметно округлое ядро; В — жгутики сперматозоидов (показаны черными стрелками) между эпителиальным слоем стенки гонофора — производным медузоидного узелка и ооцитом. В слое, сформированном медузоидным узелком, видна клетка, содержащая крупную стрекательную капсулу (книдоцисту). В эпидермальной клетке стенки гонофора заметны ядро и ядрышко. Белыми стрелками показаны микроворсинки ооцита; С — область гонофора на границе между ооцитом и массой сперматозоидов. Черной стрелкой показана базальная пластинка эпителиального слоя — производного медузоидного узелка, отделяющего массу сперматозоидов от ооцита. Белой стрелкой отмечен контакт между клетками эпителиального слоя — производного узелка; D —

для *C. multicornis* гермафродитизм не описан (Weissman, 1883; Harm, 1902; Goette, 1907). Современные работы не включают описание развития гонофоров *C. multicornis*, как и упоминание о гермафродитизме у данного вида (Rossi *et al.*, 2000; Pennati *et al.*, 2013; Piraino *et al.*, 2011). Единственное наблюдение женских и мужских гидрантов в одной колонии сделано Шухертом, который полагал, что причина данного явления заключена в срастании близко оседающих планул (Schuchert, 2008). Таким образом, вид *C. multicornis* долгое время считался исключительно раздельнополым.

Способность к формированию химерной колонии путем срастания генетически различающихся полипов обнаружена у *Ectopleura larynx* (Ellis et Solander 1786) (Nawrocki, Cartwright, 2012; Chang *et al.*, 2018). В экспериментах по трансплантации тканей гидрантов и самих гидрантов у *Hydractinia echinata* показано, что гидранты формировали гонофору пола трансплантата, а также интерсексуальные гонофору (Hauenschild, 1954; Müller, 1964; Lange *et al.*, 1989). Кроме того, в своих экспериментах

Мюллер показал, что разные по генотипу и фенотипу, но гистосовместимые колонии *H. echinata* способны срастаться, формируя химеры (Müller *et al.*, 2004). Полученные нами результаты подтверждают, что гидранты *C. multicornis* разного пола способны срастаться с образованием химерных колоний.

В литературе существует мнение, что процесс развития половых клеток колонизальных гидроидов включает этап миграции, когда в почки медуз или гонофоров мигрируют i-клетки, дифференцирующиеся в дальнейшем в половые клетки (Weismann, 1883; Brien, 1973; Campbell, 1974). Дифференцировка женских гамет из i-клеток, изначально локализованных в столонах, и дальнейшая миграция ооцитов в почки формирующихся гонангиев (половых зооидов, почкующих медуз и покрытых защитной текой из перисарка) описаны для *Obelia (Gonothyræa) loveni* и *Obelia (Laomedeya) flexuosa* (Aizenshtadt, Polteva, 1981). Кроме того, Мюллером была наглядно продемонстрирована миграция интерстициальных клеток в химерных колониях *H. echinata*. Если одну из

продольный срез через сперматозоид. Стрелкой показаны везикулы с электронно-плотным содержимым на вершине головки сперматозоида; E — участок гонофора со сперматозоидами, содержащий поперечно срезанный сперматозоид в области митохондрий. Между четырьмя митохондриями заметна центриоль; F — поперечный срез дистальной центриоли сперматозоида, белой стрелкой показан первичный перичентриольный отросток, черной — вторичный перичентриольный отросток. Рядом с ядрами сперматозоидов заметны округлые гранулы с электронно-плотным содержимым (обозначены черными стрелками).

Обозначения: cn — книдоциста; ep — эпидерма гонофора; f — жгутик сперматозоида; m — митохондрии; n — ядро; nu — ядрышко; o — ооцит; s — сперматозоиды; y — гранулы желтка. Масштаб: A — 4 µm; B — 1 µm; C — 1,5 µm; D — 2 µm; E — 0,75 µm; F — 0,4 µm.

Fig. 4. Ultrastructure details of *Clava multicornis* intersexual gonophores.

A — area of the gonophore's wall with adjacent oocyte. Arrows point to the basal lamina between the gonophore epiderm and epithelial-like layer formed by the medusary nodule. Nucleus is observed in epiderm cell; B — presence of spermatozooids flagella (black arrows) in the space between the epithelial-like layer, formed by medusary nodule, and the oocyte. The cell with cnidocyst is observed in the epithelial-like layer, formed by the medusary nodule. In the gonophore epiderm cell nucleus and nucleolus are observed. White arrows point to the oocyte outgrowths; C — part of the gonophore including the area between the oocyte with yolk granules and the spermatozoid mass. Black arrow points to the basal lamina under epithelial-like layer formed by the medusary nodule that separates spermatozoid mass from the oocyte. White arrow points to the junction between the cells of epithelial-like layer formed by the medusary nodule; D — longitudinal section of the spermatozoid head. Arrow points to the apical electron dense vesicles; E — part of a gonophore with spermatozoid mass: section through the spermatozoid's area with four mitochondria. Centriole is observed between mitochondria. Arrows point to spermatozoid flagella; F — cross-section of spermatozoid distal centriole, white arrow points to the primary pericentriolar process, black arrow points to the secondary pericentriolar process. Electron dense vesicles (black arrows) are observed nearby to spermatozoid nuclei.

Abbreviations: cn — cnidocyst; ep — gonophore epiderm; m — mitochondria; n — nucleus; nu — nucleolus; o — oocyte; s — spermatozooids; y — yolk granules. Scale bars: A — 4 µm; B — 1 µm; C — 1.5 µm; D — 2 µm; E — 0.75 µm; F — 0.4 µm.

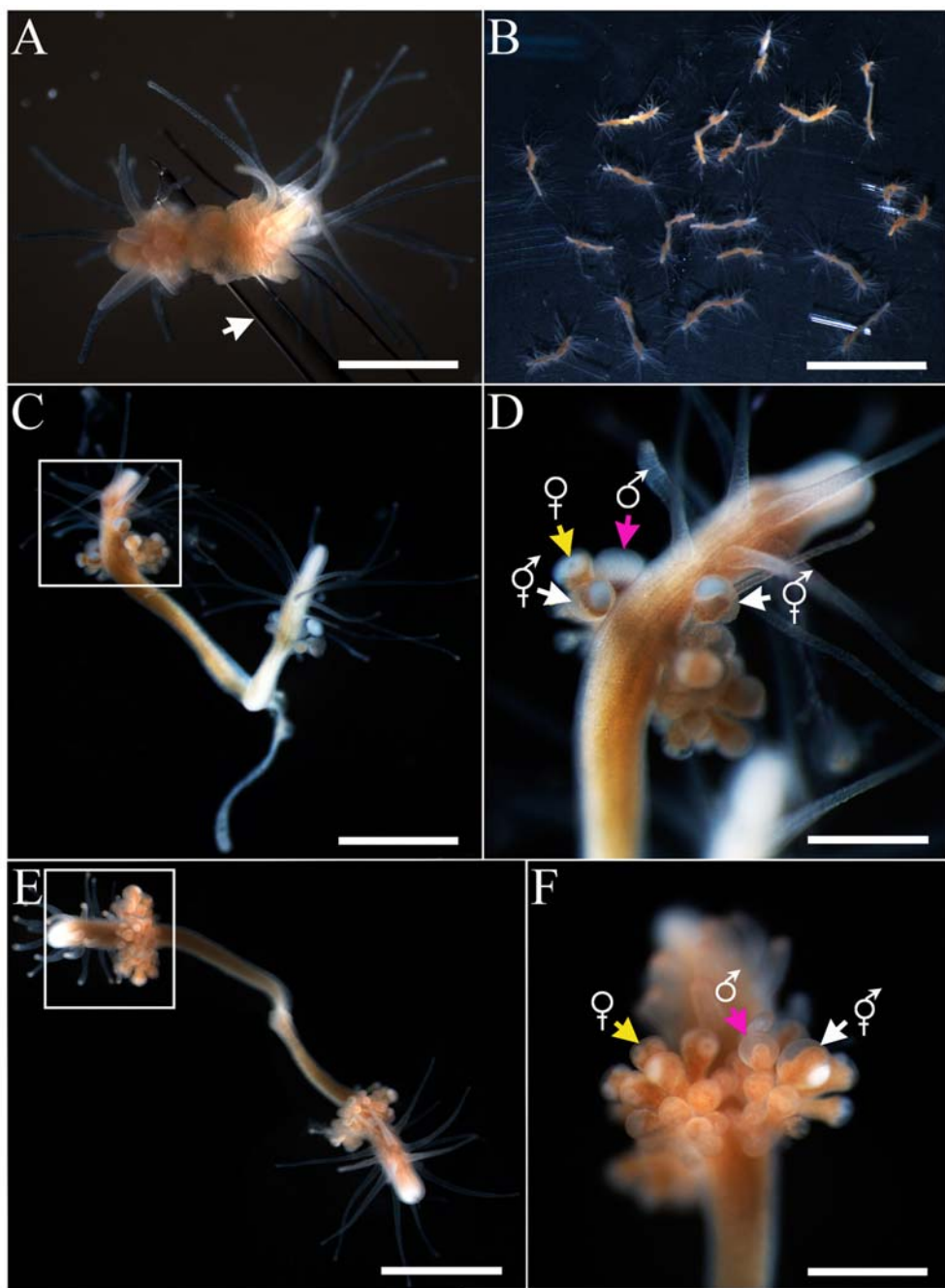


Рис. 5. Эксперименты по сращиванию гидрантов *Clava multicornis* из колоний противоположных полов.

A — женский и мужской гидранты, нанизанные на стеклянный капилляр (указан стрелкой) для сращивания; B — срастающиеся гидранты на стеклянных капиллярах; C — химера с измененным составом половых клеток в гонофорах исходно женского гидранта; D — область, показанная в рамке на C: измененные гонофоры на исходно женском гидранте; E — химера с измененным составом половых клеток в гонофорах исходно мужского гидранта; F — область, показанная в рамке на E: измененные гонофоры на исходно мужском гидранте. Масштаб: A — 1 мм; B — 5 мм; C, E — 1 мм; D, F — 0,4 мм.

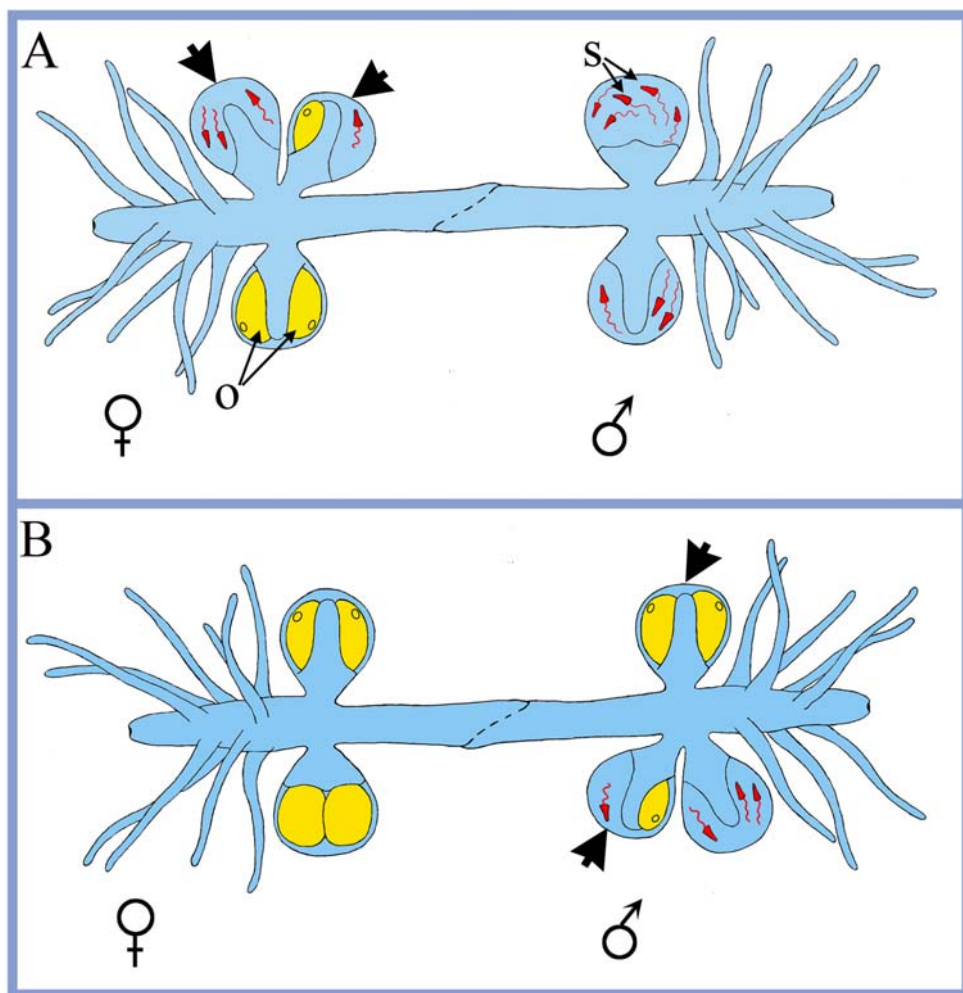


Рис. 6. Схематическое изображение химер *Clava multicornis*, полученных в экспериментах по сращиванию гидрантов из колоний противоположных полов.

А — химера, содержащая мужской и интерсексуальный гонофоры на исходно женском гидранте; В — химера, содержащая женский и интерсексуальный гонофоры на исходно мужском гидранте. Стрелками показаны гонофоры, в которых изменился состав гамет в результате эксперимента. Пунктирной линией обозначено место сращения женских и мужских гидрантов. Символы ♀ и ♂ обозначают исходный пол гидранта (до эксперимента). Обозначения: о — ооцит; s — сперматозоиды.

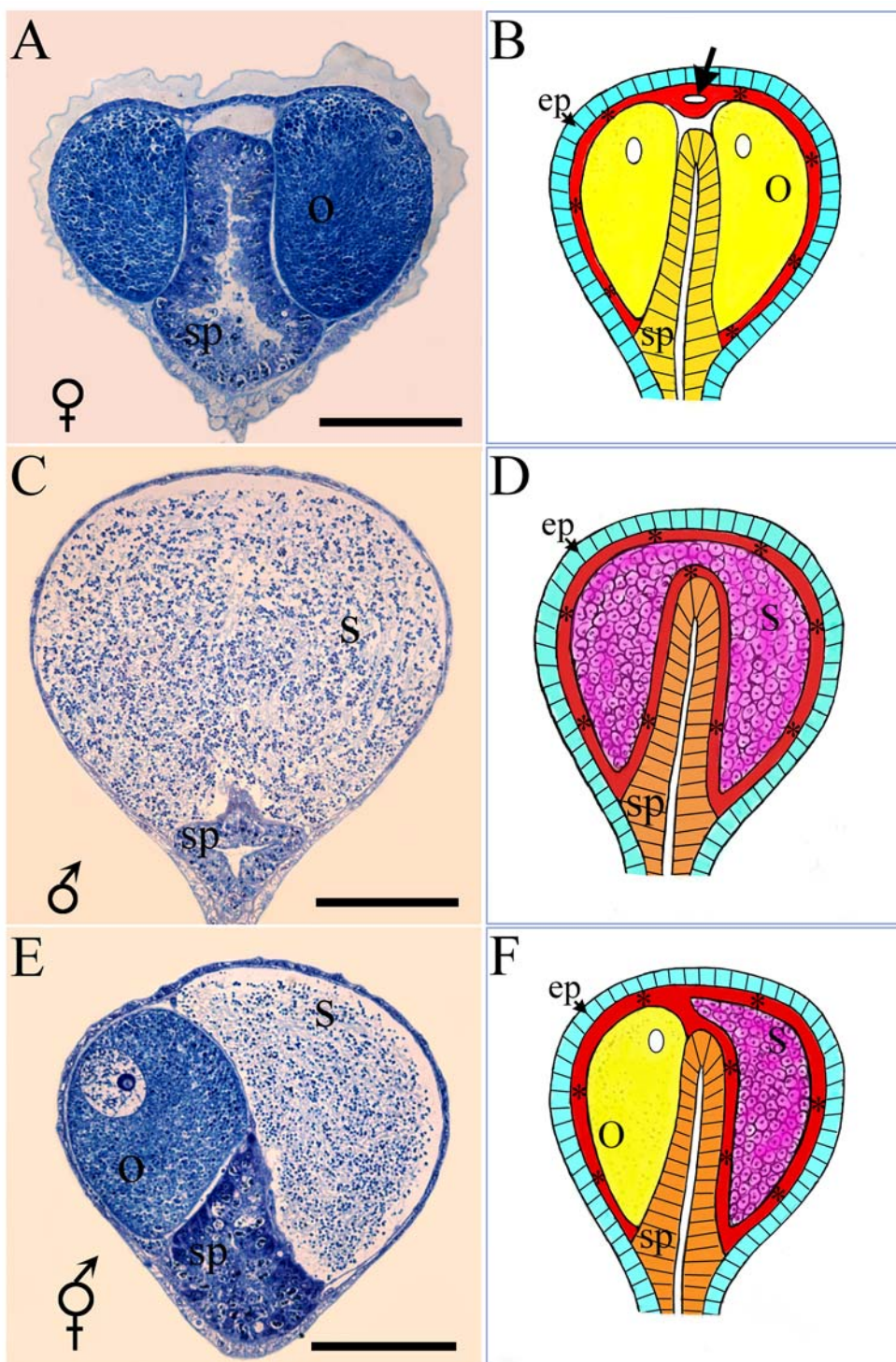
Fig. 6. Schematic representation of *Clava multicornis* chimeras obtained after experimental fusion of hydranths from colonies of opposite sexes.

А — chimera containing male and intersexual gonophores in the initially female hydranth; В — chimera containing female and intersexual gonophores in the initially male hydranth. Arrows point to gonophores with altered gametes content after the experiment. Dotted line corresponds to the region of fusion between male and female hydranths. Symbols ♀ and ♂ show initial sex of hydranths (before the experiment).

Abbreviations: o — oocyte; s — spermatozooids.

Fig. 5. Experimental fusion of hydranths from *Clava multicornis* colonies of opposite sexes.

А — male and female hydranths on glass capillary (arrow); В — fusing male and female hydranths on glass capillaries; С — chimera with altered gonophores in the initially female hydranth; D — area framed in C presenting altered gonophores in the initially female hydranth; E — chimera with altered gonophores in the initially male hydranth; F — area framed in E presents altered male gonophores in the initially male hydranth. Scale bars: А — 1 mm; В — 5 mm; С, E — 1 mm; D, F — 0.4 mm.



колоний перед сращиванием обрабатывали митомицином, лишаящим i-клетки способности к делению, то такая колония становилась реципиентом i-клеток, поступающих из второй колонии химеры. Более того, данные эксперименты позволили доказать тотипотентность i-клеток, которая выражалась в способности интерстициальных клеток к дифференцировке в эпителиальные клетки. В результате обработанная митомицином колония приобретала генотип и фенотип колонии-донора i-клеток (Müller *et al.*, 2004). Принимая во внимание вышеперечисленные факты, мы полагаем, что изменение состава половых клеток в гонофорах *C. multicornis* в нашем эксперименте обусловлено миграцией половых клеток или их предшественников из одних гидрантов в другие.

В литературе также описан феномен «маскулинизации» у *Hydra*: смена женского пола на мужской. Маскулинизация у *Hydra* может происходить при спонтанных мутациях, когда стволовые i-клетки половой линии у полипов исходно женского пола дифференцируются в стволовые клетки, развивающи-

еся только в сперматозоиды (sperm-restricted stem cells, SpSCs), что свидетельствует также о доминировании «мужского пола» над «женским» (Nishimiya-Fujisawa, Kobayashi, 2012). Ряд авторов рассматривают «маскулинизацию» как общее свойство доминирования «мужского пола» над «женским», характерное для всех гидроидов (Hauenchild, 1954; Tardent, 1968). Наши эксперименты по сращиванию гидрантов изначально противоположных полов не позволяют полностью исключить возможность генетических мутаций. Вместе с тем, полученные нами результаты показывают, что имевшая место в экспериментах «маскулинизация», скорее всего, не связана со спонтанными мутациями, так как изменение пола на противоположный наблюдали как в женских, так и в мужских гидрантах.

Учитывая различие в концентрациях половых гормонов между женскими и мужскими колониями, выявленное у некоторых кораллов, мы не исключаем влияние половых гормонов на смену пола у экспериментальных гидрантов *C. multicornis* (Pernet, Anctil,

Рис. 7. Анатомия гонофоров *Clava multicornis*. А, С, Е — гистологические срезы через гонофоры; В, D, F — схемы строения гонофоров.

А — гистологический продольный срез женского гонофора; В — схема строения женского гонофора. Стенка гонофора состоит из двух слоев: эпидермы гонофора и эпителиального слоя — производного медузоидного узелка, полость медузоидного узелка (субумбреллярная полость) редуцирована (показана стрелкой); развивающиеся ооциты контактируют со спадиксом; С — полутонкий продольный срез через мужской гонофор; D — схема строения мужского гонофора. В субумбреллярной полости, ограниченной эпителиальным слоем — производным медузоидного узелка, происходит развитие сперматозоидов; Е — продольный полутонкий срез через интерсексуальный гонофор; F — схема строения интерсексуального гонофора. Ооцит контактирует со спадиксом. Ооцит окружен эпителиальным слоем — производным медузоидного узелка. Развитие мужских гамет происходит внутри субумбреллярной полости, ограниченной эпителиальным слоем — производным медузоидного узелка.

Обозначения: ep — эпидерма гонофора; o — ооцит; s — сперматозоиды; sp — спадикс; символами «\*» показан эпителиальный слой — производное медузоидного узелка. Масштаб: А, С, Е — 0,1 мм.

Fig. 7. Anatomy of *Clava multicornis* gonophores. А, С, Е — histological section through gonophores; В, D, F — schemes of gonophores.

А — longitudinal histological section through the female gonophore with oocytes adjoining the spadix; В — scheme of the female gonophore. Gonophore's wall consist of two layers – the epiderm and the epithelial-like layer formed by the medusary nodule. Cavity of the medusary nodule (subumbrellar cavity) is reduced (arrow). Developing oocytes adjoin the spadix; С — longitudinal histological section through the male gonophore with mass of spermatozooids; D — scheme of male gonophores. Male gametes develop in the subumbrellar cavity which originated from the cavity of the medusary nodule. Subumbrellar cavity is surrounded by the epithelium-like layer which is formed by the medusary nodule; Е — longitudinal histological section through the intersexual gonophores; F — scheme of the intersexual gonophore. Oocyte adjoins spadix. Oocyte is surrounded by the epithelium-like layer. Male gametes develop within the subumbrellar cavity formed by the medusary nodule.

Abbreviations: ep — gonophore epiderm; o — oocyte; s — spermatozooids; sp — spadix; asterisk symbols “\*” indicate the epithelial-like layer formed by medusary nodule. Scale bar: А, С, Е — 0.1 mm.

2002). В этом случае под воздействием гормонов гидрантов-реципиентов мигрирующие i-клетки могли изменить дифференцировку в зависимости от пола реципиента, что может объяснять отсутствие изменений в гонофорах шестнадцати из двадцати химер. Тогда можно предположить, что изменение пола в остальных четырех химерах было связано с малыми концентрациями гормонов в гидрантах-реципиентах. Если гонофоры гидрантов-реципиентов были менее зрелыми, чем гонофоры гидрантов-доноров, то концентрации гормонов гидрантов-реципиентов могло быть недостаточно для изменения пути дифференцировки мигрировавших i-клеток.

Хауэншильд упоминает о возможности появления гидрантов с интерсексуальными гонофорами путем срастания генетически различающихся первичных полипов у *Hydractinia echinata* (Hauenschild, 1954). Тем не менее, в своих экспериментах Хауэншильд смог получить гермафродитные колонии от одного первичного полипа, назвав их «настоящими» интерсексами. При этом автор отмечает некорректность применения термина «гермафродиты» в связи с нефункциональностью ооцитов: созревания ооцитов в таких гонофорах исследователь не наблюдал. Гонофоры, содержащие оба типа половых клеток, были отмечены также у *H. echinata* (Mail *et al.*, 2011). Такие гонофоры также были названы «интерсексуальными». Ооциты в интерсексуальных гонофорах *H. echinata* не созревали, что объяснялось авторами как следствие ингибирующего влияния мужских стволовых клеток. Примечательно, что Фойн, описавший гонофоры *C. squamata* (*C. multicornis* (Schuchert, 2008)), заключающие одновременно ооциты и сперматозоиды, наблюдал различие в развитии ооцитов в таких гонофорах в зависимости от размеров ооцитов. Если ооциты в таких «гермафродитных» гонофорах были мелкого размера, то они не развивались. Однако если ооциты были крупного размера и занимали большую часть гонофора в сравнении с частью гонофора, занимаемой мужскими поло-

выми клетками, то такие ооциты развивались нормально (Föyn, 1927). Эти наблюдения согласуются с нашими результатами, поскольку мы наблюдали дробление только крупных яиц. Одновременное развитие эмбрионов и сперматозоидов внутри одного гонофора было описано также у другого вида гидроидов — *Distichopora violacea* (Pallas, 1766) Ингланом (England, 1926).

Анатомическая организация интерсексуальных гонофоров совмещает особенности организации женских и мужских гонофоров. Мы полагаем, что внутренняя стенка интерсексуальных гонофоров образована разросшимся эпителиальным слоем медузидного узелка. При этом масса сперматозоидов расположена внутри субумбреллярной полости, сформированной разросшимся узелком, что характерно для мужского гонофора. В то же время ооцит находится вне субумбреллярной полости, как и в женском гонофоре (рис. 7).

Созревающие ооциты имеют большое овальное ядро и крупные выросты, направленные к спадикусу, которые свидетельствуют о питании развивающихся половых клеток. В то же время среди массы сперматозоидов в интерсексуальных гонофорах обнаруживаются небольшие клетки, цитоплазма которых заполнена округлыми гранулами, внешне идентичными желточным гранулам ооцитов. Поскольку в интерсексуальных гонофорах мы наблюдали в основном по одному или два зрелых ооцита, мы полагаем, что клетки с гранулированной цитоплазмой, которые иногда присутствуют в массе сперматозоидов, могут быть остановившимися в развитии ооцитами. Возможно, наличие подобных ооцитов в интерсексуальных гонофорах является свидетельством ингибирующего воздействия мужских гамет на женские. Данное явление было отмечено в интерсексуальных гонофорах у *Hydractinia*, в которых женские и мужские гаметы развивались в непосредственном контакте друг с другом (Müller, 1964; Mail *et al.*, 2011). Также возможно, что ооциты могли не развиваться полноценно из-за отсутствия прямого кон-

такта со спадиксом, что делало невозможным получение необходимых веществ из клеток спадикса. Поскольку в интерсексуальных гонофорах развивается преимущественно только один ооцит, можно предположить, что сперматозоиды развиваются быстрее и заполняют пространство внутри гонофора, не оставляя места для развития большего количества ооцитов. Это может объяснять присутствие неразвившихся ооцитов в эпидермисе гонофоров, которые, возможно, не успели мигрировать в гонофор до его заполнения мужскими половыми клетками. Отдельные сперматозоиды интерсексуального гонофора были обнаружены рядом с ооцитом. Они могли мигрировать к ооциту как из общей массы сперматозоидов через эпителий медузоидного узелка, так и попасть в гонофор из внешней среды.

Для отдельных видов группы Hydrozoa известны случаи влияния температуры на становление пола. В эксперименте с *Clytia hemisphaerica* (Linnaeus, 1767) показано, что при содержании колоний и культивировании отпочковавшихся медуз при температуре 24 °C у 80% медуз формировались женские гонады, в то время как при культивировании колоний и отпочковавшихся от них медуз при 15 °C у 80% медуз развивались мужские гонады. Однако если медуз, отпочковавшихся при 24 °C, помещали на культивирование при температуре 15 °C, то до 80% медуз формировали мужские гонады. Интересно, что в экспериментах с женскими медузами *Clytia* sp. наблюдали изменение пола с женского на мужской при понижении температуры. Такая реверсия пола происходила через гермафродитные стадии, при которых в гонадах одновременно присутствовали и женские и мужские гаметы (Carre, Carre, 2000).

В наших экспериментах мы не обнаружили влияния изменения температуры на смену пола у молодых колоний *C. multicornis* с формирующимися гонофорами. Женские и мужские колонии, выращенные в лаборатории при 8° и 16 °C (нижнем и верхнем пределе температур воды Белого моря в июле, в период размножения вида), сохраня-

ли исходный состав гамет. Тем не менее, мы не можем полностью опровергать роль температуры в определении пола у данного вида. Не исключено влияние температуры на дифференцировку клеток половой линии до момента закладки гонофоров в колониях, живущих в условиях постоянных значительных колебаний температуры, обусловленных приливами и отливами в зоне обитания вида — нижней литорали.

Таким образом, в данном исследовании показано, что колониальный гидроид *C. multicornis*, характеризующийся относительно быстрым развитием половых продуктов, демонстрирует возможность одновременного присутствия в популяции двух вариантов полового размножения: гонохоризма и гермафродитизма. Кроме того, вид *C. multicornis* может стать удобным модельным объектом для работ, направленных на изучение эволюции размножения у многоклеточных организмов. Более детальный сравнительный анализ наблюдаемых вариантов размножения у *C. multicornis* позволит сделать заключение о преимуществах того или иного варианта. Интересно, что прослеживается сходство между модульными организмами, такими как колониальные гидроиды и растения, не только в организации, но и в вариантах полового размножения. Например, редкий случай тримоноэтии у *Phyllanthus acidus*, при которой на одном растении присутствуют мужские, женские и обоеполые цветки (Cardoso-Gustavson *et al.*, 2011), напоминает присутствие женских, мужских и гермафродитных гидрантов в одной колонии гидроидов.

### **Соблюдение этических стандартов**

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены.

### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова (МГУ) за предоставленную возможность сбора материала и проведение экспериментов. Электронно-микроскопические исследования были проведены в центре коллективного пользования «Электронная микроскопия в науках о жизни» МГУ им. М.В. Ломоносова (УНУ «Трехмерная электронная микроскопия и спектроскопия»). Авторы благодарны рецензентам и редактору за конструктивные замечания, которые помогли существенно улучшить рукопись.

## Список литературы

- Aizenshtadt T.B., Polteva D.G. 1981. [Origin of germ cells and early stages of oogenesis in the marine hydroid polyp *Obelia*] // Ontogenez. Vol.12. No.3. P.243–250 [in Russian].
- Adolfi M., Nakajima R., Nobrega R., Scharf M. 2019. Intersex, hermaphroditism, and gonadal plasticity in vertebrates: Evolution of the Mullerian duct and Amh/Amhr2 signaling // Annu. Rev. Anim. Biosci. Vol.15. No.7. P.149–172.
- Allen L. 2009. Disorders of sexual development // Obstet. Gynecol. Clin. North. Am. Vol.36. No.1. P.25–45.
- Anokhin B., Kuznetsova V. 2018. FISH-based karyotyping of *Pelmatohydraoligactis* (Pallas, 1766), *Hydraoxycnida* Schulze, 1914, and *H. magnipapillata* Itô, 1947 (Cnidaria, Hydrozoa) // Comp. Cytogenet. Vol.12. No.4. P.539–548.
- Armoza-Zvuloni R., Kramarsky-Winter E., Loya Y., Schlesinger A., Rosenfeld H. 2014. Trioecy, a unique breeding strategy in the sea anemone *Aiptasia diaphana* and its association with sex steroids // Biol. Reprod. Vol.90. No.6. 20 p.
- Avice J., Mank J. 2009. Evolutionary perspectives on hermaphroditism in fishes // Sex. Dev. Vol.3. P.152–163.
- Ball E., Hayward D., Saint R., Miller D. 2004. A simple plan – cnidarians and the origins of developmental mechanisms // Genetic. Vol.5. P.567–577.
- Bocharova E.S., Kozevich I.A. 2011. Modes of reproduction in sea anemones (Cnidaria, Anthozoa) // Biol. Bull. Russ. Acad. Sci. Vol.38. P.849–860. <https://doi.org/10.1134/S1062359011090020>.
- Brien O. 1973. Etude sur la regeneration et la renovation de l'appareil sexuel chez les hydroides (*Clava squamata* O. F. Muller) // Arch. Biol. Vol.54. P.409–475.
- Campbell R. 1974. Cnidaria // Reproduction of Marine Invertebrates. New York: Academic Press. Vol.1. P.133–199.
- Cardoso-Gustavson P., Demarco D., Carmello-Guerreiro S. 2011. Evidence of trimonoecy in Phyllanthaceae: *Phyllanthus acidus* // Plant. Syst. Evol. Vol.296. P.283–286.
- Carre D., Carre C. 2000. Origin of germ cells, sex determination, and sex inversion in medusae of the genus *Clytia* (Hydrozoa, Leptomedusae): The influence of temperature // J. Exp. Zool. Vol.287. P.233–242.
- Chang E., Orive M., Cartwright P. 2018. Nonclonal coloniality: Genetically chimeric colonies through fusion of sexually produced polyps in the hydrozoan *Ectopleura larynx* // Evol. Lett. Vol.2. No.4. P.442–454.
- Chen C., Shikina S., Chen W., Chung Yi. 2016. A novel female-specific and sexual reproduction-associated Dmrt gene discovered in the stony coral, *Euphyllia ancora* (Cnidaria, Anthozoa) // Biol. Reprod. Vol.94. No.2. 26 p.
- Collins A., Schuchert P., Marques A., Jankowski T., Medina M., Schierwater B. 2006. Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models // Syst. Biol. Vol.55. No.1. P.97–115.
- England H. 1926. Development of Gonophores of the *Stylasteridae* // Proc. Zool. Soc. London. Vol.96. No.1. P.265–283.
- Föyn B. 1927. Studien über Geschlecht und Geschlechtszellen bei Hydroiden // Wilhelm Roux Arch. Entwickl. Mech. Org. Bd.110. S.89–148.
- Frey J. 1968. Die Entwicklungsleistungen der Medusenknospen und Medusen von *Podocoryne carnea* M. Sars nach Isolation und Dissoziation // Wilhelm Roux' Archiv. Bd.160. H.4. S.428–464.
- Gamble T., Zarkower D. 2012. Sex determination // Curr. Biol. Vol.22. No.8. P.257–62.
- Goette A. 1907. Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Geschlechtsindividuen der Hydropolypen. Leipzig. 310 S.
- Goffredo S., Telo T. 1998. Hermaphroditism and brooding in the solitary coral *Balanophyllia europaea* (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia) // Ital. J. Zool. Vol.65. P.159–165.
- Goldschmidt R. 1917. Intersexuality and the endocrine aspect of sex // Endocrinology. Vol.1. No.4. P.433–456.
- Grilo T., Rosa R. 2017. Intersexuality in aquatic invertebrates: Prevalence and causes // Sci. Total Environ. Vol.592. P.714–728.
- Hall D. 1995. *Caenorhabditis elegans* modern biological analysis of an organism. Chapter 17. Electron microscopy and three-dimensional image reconstruction // Methods Cell Biol. Vol.48. P.395–436.
- Hargitt C. 1906. The organization and early development of the egg of *Clava leptostyla* Ag // Biol. Bull. Vol.10. No.5. P.207–232.
- Harm K. 1902. Die Entwicklungsgeschichte von *Clava squamata* // Z. wiss. Zool. Bd.73. S.115–165.
- Harrison P.L. 2011. Sexual reproduction of scleractinian corals // Dubinsky Z., Stambler N. (eds.). Coral Reefs: An Ecosystem in Transition. Berlin: Springer. P.59–85.
- Hauenchild C. 1954. Kelmbahn bei einer Hydromeduse // Naturwissenschaften. Bd.41. S.556–557.
- Janzen F., Phillips P. 2006. Exploring the evolution of environmental sex determination, especially in reptiles // Evol. Biol. Vol.19. No.6. P.1775–84.
- Jarne P., Auld J. 2006. Animals mix it up too: the distribution of self-fertilization among hermaphroditic animals // Evolution. Vol.60. No.9. P.1816–1824.

- Kerr A., Baird A., Hughes T. 2010. Correlated evolution of sex and reproductive mode in corals (Anthozoa: Scleractinia) // *Proc. Biol. Sci.* Vol.1702. P.75–81.
- Kühn A. 1914. Entwicklungsgeschichte und Verwandtschaftsbeziehungen der Hydrozoen // *Ergebn. Fortschr. Zool.* Vol.4. P.1–284.
- Lange R., Plickert G., Müller W. 1989. Histoincompatibility in a low invertebrate, *Hydractinia echinata*: Analysis of the mechanism of rejection // *J. Exp. Zool.* Vol.249. No.3. P.284–292.
- Leonard J. 2018. The evolution of sexual system in animals. Transitions between sexual systems. Cham: Springer. 363 p.
- Mail B., Millane R., Plickert G., Frohme M., Frank U. 2011. A polymorphic, thrombospondin domain-containing lectin is an oocyte marker in *Hydractinia*: implications for germ cell specification and sex determination // *Dev. Biol.* Vol.55. P.103–108.
- Millonig G. 1964. Histological Techniques for Electron Microscopy. Academic Press. New York. 40 p.
- Mironov A.A., Komisarich Ya.Yu., Mironov V.A. 1994. [Methods of electron microscopy in biology and medicine]. St. Petersburg: Nauka. 399 p. [In Russian]
- Mittwoch U. 2000. Three thousand years of questioning sex determination // *Cytogenet. Cell Genet.* Vol.91. P.186–191.
- Müller W. 1964. Experimentelle Untersuchungen über Stockentwicklung, Polypendifferenzierung und Sexualchimären bei *Hydractinia echinata* // *Wilhelm Roux' Arch.* Bd.155. S.181–268.
- Müller W., Teo R., Frank U. 2004. Totipotent migratory stem cells in a hydroid // *Dev. Biol.* Vol.275. No.1. P.215–224.
- Naumov D.V. 1960. [Hydroids and hydromedusae of sea, brackish and freshwater waters of USSR]. Moscow, Leningrad: AN SSSR Publ. 585 p. [In Russian]
- Nawrocki A., Cartwright P. 2012. A Novel mode of colony formation in a Hydrozoan through fusion of sexually generated Individuals // *Curr. Biol.* Vol. 22. No.9. P.825–829.
- Nishimiya-Fujisawa C., Kobayashi S. 2012. Germline stem cells and sex determination in *Hydra* // *Dev. Biol.* Vol.56. P.499–508.
- Öçal G. 2011. Current Concepts in Disorders of Sexual Development // *J. Clin. Res. Endocrinol.* Vol.3. No.3. P.105–114.
- Pennati R., Dell'Anna A., Pagliara P., Scari., Piraino S., Bernardi F. 2013. Neural system reorganization during metamorphosis in the planula larva of *Clava multicornis* (Hydrozoa, Cnidaria) // *Zoomorphology.* Vol.132. P.227–237.
- Pernet V., Anctil M. 2002. Annual variations and sex-related differences of estradiol-17 $\alpha$  levels in the anthozoan *Renilla koelikeri* // *Gen. Comp. Endocrinol.* Vol.129. No.1. P.63–68.
- Piferrer F., Blázquez M., Viñas J., Navarro-Martin L., Ospina-Álvarez N. 2008. Temperature-dependent sex determination in fish: molecular mechanisms, epigenetics, reaction norms and prevalence in fish // *Sex Determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. An International Symposium in Honor of Professor Yoshitaka Nagahama.* Vol.34. No.130. P.148–157.
- Piraino S., Zega G., Benedetto C., Leone A., Dell'Anna A., Pennati R., Carnevali D., Schmid V., Reichert H. 2011. Complex neural architecture in the Diploblastic larva of *Clava multicornis* (Hydrozoa, Cnidaria) // *J. Comp. Neurol.* Vol.519. P.1931–1951.
- Pratlong M., Haguénauer A., Chéneseau S., Brener K., Mitta G., Toulza E., Bonabaud M., Rialle S., Aurelle D., Pontarotti P. 2017. Evidence for a genetic sex determination in Cnidaria, the Mediterranean red coral (*Corallium rubrum*) // *R. Soc. Open Sci.* Vol.4. No.3. P.1–8.
- Reynolds E. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* Vol.17. No.1. P.208–212.
- Rossi S., Gili J., Hughes R. 2000. The effects of exposure to wave action on the distribution and morphology of the epiphytic hydrozoans *Clava multicornis* and *Dynamena pumila* // *Sci. Mar.* Vol.64. P.135–140.
- Schuchert P. 2004. Revision of the European athecate hydroids and their medusae (Hydrozoa, Cnidaria): families Oceanidae and Pachycordylidae // *Rev. suisse Zool.* T.111. Fasc.2. P.315–369.
- Schuchert P. 2008. The European athecate hydroids and their medusae (Hydrozoa, Cnidaria): Filifera Part 3 // *Rev. suisse Zool.* T.115. Fasc.2. P.221–302.
- Schuchert P. 2021. World Hydrozoa Database. <http://www.marinespecies.org/hydrozoa>
- Seipel K., Schmid V. 2005. Evolution of striated muscle: Jellyfish and the origin of triploblasty // *Dev. Biol.* Vol.282. No.1. P.14–26.
- Siebert S., Juliano C. 2017. Sex, polyps, and medusae: Determination and maintenance of sex in cnidarians // *Mol. Reprod. Dev.* Vol.84. No.2. P.105–119.
- Tardent P. 1968. Experiments about Sex Determination in *Hydra attenuata* Pall. // *Dev. Biol.* Vol.17. P.483–511.
- Tingley G., Anderson R. 1986. Environmental sex determination and density-dependent population regulation in the entomogenous nematode *Romanomermis culicivorax* // *Parasitology.* Vol.92. P.431–449.
- Toyota K., Sato T., Iguchi T., Ohira T. 2021. Methyl farnesoate regulatory mechanisms underlying photoperiod-dependent sex determination in the freshwater crustacean *Daphnia magna* // *J. Appl. Toxicol.* Vol.41. No.2. P.216–223.
- Traylor-Knowles N., Kane E., Sombatsaphay V., Finnerty J., Reitzel A. 2015. Sex-specific and developmental expression of Dmrt genes in the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis* // *EvoDevo.* Vol.6. No.13. P.1–6.
- Waller R., Tyler P., Gage J. 2005. Sexual reproduction in three hermaphroditic deep-sea *Caryophyllia* species (Anthozoa: Scleractinia) from the NE Atlantic Ocean // *Coral Reefs.* Vol.24. P.594–602.
- Weismann A. 1883. Die Entstehung der sexualzellen bei den Hydromedusen: zugleich ein Beitrag zur Kenntniss des Baues und der Lebenserscheinungen dieser Gruppe. Jena: Gustav Fischer. 295 S.
- Westheide W., Rieger R. (Hrsg.). 1996. Spezielle Zoologie. Erster Teil: Einzeller und Wirbellose Tiere. Stuttgart, Jena, New York: Gustav Fischer Verlag. 909 S.