

A reprodução sexuada em espécies de águas-
vivas (Scyphozoa, Cnidaria) do litoral sudeste
brasileiro

Sexual reproduction in jellyfish species
(Scyphozoa, Cnidaria) from the southeastern
Brazilian coast

Gisele Rodrigues Tiseo

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutora em Ciências na área da
Zoologia.

São Paulo

Orientador: Prof. Dr. André Carrara Morandini

Março 2022

Tiseo Rodrigues, Gisele

A reprodução sexuada em espécies de águas-vivas
(Scyphozoa, Cnidaria) do litoral sudeste brasileiro
/ Gisele Tiseo, Rodrigues; orientador Prof. Dr.
André Carrara Morandini -- São Paulo, 2022.
257 p.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação
em Zoologia.

1. Cnidaria. 2. Águas-vivas. 3. Gametogênese. 4.
Histologia. 5. Microscopia eletrônica. I. Carrara
Morandini, Prof. Dr. André, orient. II. Título.

Comissão Julgadora

Prof.(a) Dr. (a)

Prof.(a) Dr. (a)

Prof.(a) Dr. (a)

Prof. Dr. André Carrara Morandini

Orientador

Agradecimentos

Agradeço à CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- Proc. DR 2017/12970-5) pelo auxílio financeiro concedido para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Departamento de Zoologia/ Departamento de Genética do Instituto de Biociências, Centro de Biologia Marinha (CEBIMar) e Universidade de São Paulo pela infraestrutura utilizada ao longo destes cinco anos de doutorado.

Ao meu orientador Prof. Dr. André Carrara Morandini pela amizade, apoio e compreensão ao longo desses dez anos trabalhando aqui no Laboratório. É incontável o tanto que eu aprendi contigo ao longo desses anos. Obrigada por ser um exemplo de profissional e parceria de sempre.

Ao Prof. Dr. Fernando José Zara que continua sendo um exemplo de profissional sempre presente me auxiliando nas descobertas acadêmicas. Obrigada Zara e pessoal do Laboratório de Biologia Celular da UNESP de Jaboticabal por me acolherem sempre que eu preciso.

Agradeço à Comissão de Pós Graduação, a qual fui representante discente por um ano (Prof. Dr. Fernando Marques, Profa. Dra. Renta Pardini, Prof. Dr Daniel Lahr, Prof. Dr. Eduardo Santos, Prof. Dr. José Eduardo Marian, Prof. Dr. Taran Grant, Profa. Dra. Mônica de Toledo Pizza e Bruna Trevisan). Agradeço pela amizade, discussões e projetos realizados em conjunto. Aprendi demais com vocês!

Ao Prof. Dr. Alberto Ribeiro responsável pelo Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências que abriu as portas do seu laboratório para eu fazer todas as análises de ultraestrutura apresentadas nesta tese.

Aos técnicos Márcio Valentim Cruz, Sheila Carmo pelos cafés e amizade e Waldir Caldeira pela amizade e auxílio nas preparações de microscopia eletrônica de transmissão.

Aos técnicos do Laboratório de Histologia e Biologia Molecular do Departamento de Zoologia, Enio Mattos, Phillip Lenktaitis, Manuel Antunes Jr. E Beatriz Vieira Freire obrigada pela amizade e auxílio nas preparações de histologia e reagentes.

Agradeço demais às secretarias do Departamento de Zoologia, Fran e Lúcia, e secretários da Pós-Graduação, Érika, Lilian, Helder e Luiz, pela amizade e ajuda de sempre. Vocês são demais!

Aos técnicos, auxiliares e Professores do Centro de Biologia Marinha por todo o suporte durante os dois anos e meio de coletas mensais.

Aos pescadores Rogério (pai), Rogério (Filho) e Patrick por toda a ajuda nas coletas e por terem aceitado a empreitada de ir procurar águas-vivas “todo santo” mês em duas

localidades diferentes. Foi incrível compartilhar e aprender tanto com vocês e suas famílias.

Aos integrantes do Laboratório de Cultivo e Estudos em Cnidaria – Clarissa Garbi Molinari, Max Maronna, Mylena Santander, Mayara Jordano, Edgar Gamero, Jonathan Lawley, Anabelle Klozvrá, Arthur Cavalcante e Gabriel Cassoni – pela convivência, amizade, trocas e ajudas nas coletas mensais. Valeu por tudo galera. Já estou com saudades!

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Marques pelo uso dos equipamentos do seu laboratório e colegas do Laboratório de Evolução Marinha Adrian, Adriana e Jimena pela amizade e convivência.

Aos amigos do Departamento de Zoologia e do Curso de Verão em Zoologia – pela amizade e convivência: vocês são demais. Em especial à Prof. Dra. Alessandra Bizerra, coordenadora do CVZoo, Nilmaris e todos da CCEX, secretaria e copa que tanto nos auxiliaram durante os cursos.

As minhas amigas da UNESP São Vicente e da República SóFadinhas de Jaboticabal pela amizade e cumplicidade de anos. Obrigada por tanto, vocês são demais!

Agradeço ao meu noivo Lucas e à minha família – Marcos, Marli e Jessica – pelo eterno apoio e suporte diário. Amo vocês incondicionalmente e agradeço por tudo!

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. Introdução Geral | 6 |
| 1.1. Ciclo de Vida, Reprodução sexuada, descrição da gônada e gametogênese | 7 |
| 2. Estrutura da Tese | 10 |
| 3. Referências | 11 |
| Resumo Geral | 23 |
| Abstract | 24 |

1. Introdução Geral

O filo Cnidaria é formado por um grupo diverso de animais relativamente simples definidos pela presença da cnida (Odorico and Miller 1997; Collins 2002; Daly et al. 2007; Reft and Daly 2012; Morandini et al. 2016a). O filo é composto por dois grandes clados monofiléticos: Anthozoa e Medusozoa (Collins 2002; Collins et al. 2006) e tem cerca de 11.000 espécies descritas (Appeltans et al. 2012; Zapata et al. 2015) não se considerando os Myxozoa. Dentro de Medusozoa, a classe Scyphozoa é uma das quatro que compõem o subfilo (Collins 2002; Marques and Collins 2004; Collins et al. 2006) possuindo 241 morfoespécies descritas (Mianzan and Cornelius 1999; Daly et al. 2007; Jarms & Morandini, 2019). Seus representantes são comumente chamados de “águas-vivas verdadeiras” (Mianzan and Cornelius 1999) e encontram-se divididos em duas subclasses: Coronamedusae e Discomedusae (Dawson 2004; Collins et al. 2006; Calder 2009).

Coronatae é a única ordem da subclasse Coronamedusae (para detalhes ver Tabela 1). Seus representantes encontram-se divididos em seis famílias (Morandini 1999; Daly et al. 2007) que compartilham três sinapomorfias: tubo peridérmico envolvendo o corpo do cífstoma, a presença do sulco coronal nas medusas (Kramp 1961; Jarms 1991; Morandini 1999; Morandini and Silveira 2001) e ovócitos que se desenvolvem sem células acessórias (Eckelbarger 1994; Marques & Collins, 2004).

A subclasse Discomedusae é dividida em duas ordens: Semaestomeae e Rhizostomeae (Calder 2009). A ordem Semaestomeae possui cinco famílias (Dawson 2004; Daly et al. 2007) e seus representantes distinguem-se por uma única abertura oral central (Kramp 1961), quatro braços orais não fusionados e a presença de tentáculos, em geral, na margem da umbrela (Cornelius 1997). Já a ordem Rhizostomeae possui 10 famílias divididas em duas subordens (Subordens Kolpophorae e Dactylophorae, Tabela

1) sendo as espécies caracterizadas pela presença de oito braços orais fusionados com microbocas e ausência de tentáculos marginais na umbrela (Kramp 1961; Cornelius 1997; Mianzan and Cornelius 1999; Daly et al. 2007).

Tabela 1: Organização hierárquica da classe Scyphozoa.

| Classe Scyphozoa | | | |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Subclasse Coronamedusae | | Subclasse Discomedusae | |
| Ordem Coronatae | Ordem Semaestomeae | Ordem Rhizostomeae | |
| | | Subordem Kolpophorae | Subordem Dactylophorae |
| Família Atollidae | Família Cyaneidae | | |
| Família Atorellidae | Família Drymonematidae | Família Cassiopeidae | Família Lychnorhizidae |
| Família Linuchidae | Família Pelagiidae | Família Cepheidae | Família Catostylidae |
| Família Nausithoidae | Família Phacellophoridae | Família Mastigiidae | Família Lobonemidae |
| Família Paraphyllinidae | Família Ulmaridae | Família Thysanostomatidae | Família Rhizostomatidae |
| Família Periphyllidae | | Família Versurigidae | Família Stomolophidae |

1.1.Ciclo de Vida, Reprodução sexuada, descrição da gônada e gametogênese

O ciclo de vida metagenético é característico de todas as classes de Medusozoa (Bridge et al. 1995; Odorico and Miller 1997; Marques and Collins 2004; Morandini et al. 2016b). Em Scyphozoa o pólipó (cifístoma) pode reproduzir-se assexuadamente originando outros pólipós (brotamento ou formação de cistos) ou originar uma ou mais medusas jovens através de um mecanismo de reprodução assexuado chamado estrobilização. A estrobilização pode ser polidisco – com a formação de várias medusas –, oligodisco – com a formação de poucas éfiras (2-10) (Fuentes et al. 2011) – ou monodisco – somente uma éfira formada por vez (Bigelow 1900; Holst et al. 2007; Schiariti et al. 2008). As ordens Coronatae e Semaestomeae apresentam um padrão

polidisco e Rhizostomeae padrão oligodisco ou monodisco (Werner 1973; Fuentes et al. 2011). Uma vez que a éfira é liberada na coluna d'água, ela cresce em tamanho até chegar à fase adulta. É na fase adulta que ocorre o desenvolvimento e crescimento da gônada. Os gametas podem ser liberados na água – fecundação externa – ou mantidos na cavidade gastrovascular da fêmea – fecundação interna – (Widersten 1965; Morandini et al. 2004; Tiemann and Jarms 2010; Ikeda et al. 2011; Schiariti et al. 2012; Tiseo 2016). Os ovos fertilizados se desenvolvem em uma larva plânula que assenta em substrato e diferencia-se em pólipos (Kikinger 1992; Morandini et al. 2004; Calder 2009; Jarms 2010; Schiariti et al. 2012).

Das 241 espécies de cifozoários descritas, 49 tem seu ciclo de vida conhecido e destes, 47 são metagenéticos (Jarms 2010). O ciclo de vida de *Nausithoe maculata* (Da Silveira and Morandini 1997), *Chrysaora lactea* (Morandini et al. 2004), *Aurelia coerulea* (Scorrano et al. 2016), *Lychnorhiza lucerna* (Schiariti et al. 2008), *Cassiopea andromeda* - espécime do Rio de Janeiro (Bigelow 1900) e *Stomolophus cf. meleagris* (Calder 1982) seguem o padrão para Scyphozoa (Morandini et al. 2016b). A estrobilização polidisco produz até 89 éfiras em *N. maculata*, 10 éfiras em *C. lactea* e 17 éfiras em *A. coerulea*. A espécie *Cassiopea andromeda* – espécime do Rio de Janeiro – apresenta estrobilização monodisco e a estrobilização oligodisco produz 3 éfiras em *L. lucerna* e de 2 a 3 éfiras em *Stomolophus cf. meleagris* (Bigelow 1900; Calder 1982; Da Silveira and Morandini 1997; Lucas 2001; Morandini et al. 2004; Schiariti et al. 2008; Gambill and Jarms 2014). Werner (1973, 1974) descreve o ciclo de vida de *Nausithoe eumedusoides* evidenciando que, nesta espécie, o pólipos passa pelas fases iniciais comuns de estrobilização, porém os medusóides (de 5 a 8) permanecem conectados ao estróbilo, sofrendo a maturação e se reproduzindo junto à cadeia de estrobilização. Por fim, para a espécie *C. plocamia* não há registro de trabalhos descrevendo o ciclo de vida, mas Riascos

et al. (2013) apresenta experimentos com os pólipos e isso é indicativo de ciclo metagenético. De maneira complementar Morandini (comunicação pessoal) afirma que a espécie apresenta estrobilização polidisco produzindo de 7 a 10 éfiras. As espécies *Periphylla periphylla* e *Pelagia noctiluca* são exceções ao padrão de ciclo de vida metagenético tendo um ciclo de vida holopelágico (Jarms et al., 1999; Delap, 1907).

Em sua maioria, os cifozoários apresentam gonocorismo (Berrill 1949). No entanto, existem espécies de cifomedusas como *Chrysaora hysoscella* que apresentam claramente hermafroditismo, e há relatos de que exemplares do gênero *Cassiopea* também possam ser hermafroditas (Berrill 1949; Hofmann and Hadfield 2002). Para Scyphozoa, a gônada é descrita como um espaço preenchido com células germinativas em desenvolvimento que migraram da endoderme para a mesogléia (Miller 1983). De modo geral, a estrutura gonadal (Figura 1) apresenta um formato circular (Morandini and Silveira 2001) ou alongado (Tiemann and Jarms 2010) em Coronatae, semicírculo em Semaestomeae (Morandini and Marques 2010) e em forma de cruz em Rhizostomae (Kikinger 1992; Schiariti et al. 2012). Histologicamente, a gônada é dividida em três camadas de tecido: uma externa – camada endodermal cilíndrica, ciliada – uma interna (epitélio genital) e entre elas encontram-se as células germinativas imersas na mesogléia (Widersten 1965; Miller 1983; Tiseo 2016). Para os representantes de Scyphozoa, a ovogênese e a espermatogênese são relativamente bem documentadas (Smith 1936; Widersten 1965; Eckelbarger and Larson 1988; Kikinger 1992; Morandini and Silveira 2001; Ikeda et al. 2011; Tiseo 2016), porém são poucos os trabalhos descrevendo o processo de formação (Widersten 1965), a morfologia macroscópica da gônada, sua conformação e organização dentro da cavidade gastrovascular (Hyman 1940; Eckelbarger and Larson 1988; Kikinger 1992; Ohtsu et al. 2007; Schiariti et al. 2012).

Cronologicamente, os dados sobre a reprodução sexuada em Scyphozoa se resumem a descobertas sobre a origem das células germinativas (Widersten 1965; Campbell 1974; Miller 1983), conformação e organização epitelial da gônada quando maduras (Haeckel 1882; Hyman 1940; Werner 1973; Lesh-Laurie and Suchy 1991; Arai 1997; Tiseo 2016), e descrição da gametogênese de algumas espécies (Gohar and Eisawy 1960; Beams and Kessel 1983; Eckelbarger and Larson 1988; Kikinger 1992; Morandini and Silveira 2001; Tiemann and Jarms 2010; Schiariti et al. 2012; Tiseo 2016). Dentro deste contexto, alguns trabalhos descrevem a morfologia gonadal macroscópica, mas não em uma abordagem evolutiva sendo ainda poucos os trabalhos que abordam temas como a organização histológica da gônada, estratégias de liberação de gametas, comportamento de corte, tipos de fecundação (se externa e interna), incubação de gametas e semelparidade.

2. Estrutura da Tese

Esta tese encontra-se dividida em 5 capítulos independentes (no formato de artigos) para serem submetidos para publicação. Optamos por esse estilo para que os resultados já fossem apresentados e discutidos em seu formato final. No **Capítulo 1: “The evolution of gonads in coronate medusae (Scyphozoa, Coronatae)”** reviso todo o conteúdo relacionado a reprodução sexuada de Coronatae e descrevo de forma comparada a morfologia gonadal macroscópica e histológica para os representantes da ordem dentro de um recorte evolutivo. No **Capítulo 2: “Seminiferous tubule in lower metazoans, insights from scyphozoan Discomedusae (Cnidaria)”** descrevo de forma comparada a conformação da gônada, espermatogênese e ultraestrutura do espermatozoide das espécies *Chrysaora lactea*, *Lychnorhiza lucerna* e *Cassiopea maremetens*. Adicionalmente, discutimos sobre a semelhança da organização da gônada masculina em

cifozoários e as estratégias de liberação de gametas em um enfoque morfológico-evolutivo. No **Capítulo 3: “The role of trophocytes in the vitellogenesis of true jellyfishes (Scyphozoa, Cnidaria)”** abordo o tema do papel dos trofócitos nos processos de vitelogênese e coriogênese de *Chrysaora lactea* e discutimos a presença de uma membrana vitelínica semelhante à zona pelúcida de mamíferos produzida pelo próprio ovócito. No **Capítulo 4: “Sexual reproduction in three upside-down jellyfish (*Cassiopea* spp.): gonochorism, hermaphroditism and internal fertilization”** faço o detalhamento com análises histológicas e ultraestruturais. do processo de gametogênese comparado para três espécies do gênero *Cassiopea* e registro a fertilização interna e hermafroditismo sequencial para *Cassiopea frondosa*. No **Capítulo 5: “A evolução da estrutura gonadal em Scyphozoa”** é apresentada uma revisão bibliográfica da morfologia gonadal macroscópica e histológica da gônada dos representantes de Scyphozoa abordando a conformação e organização da gônada, gametogênese, estratégias de liberação de gametas, comportamento de corte, tipos de fecundação, incubação e semelparidade juntamente com novos dados. Ao final o **Capítulo 6** apresenta as considerações finais desta tese e faz uma síntese dos resultados obtidos nos capítulos anteriores.

3. Referências

Appeltans W, Ahyong ST, Anderson G, Angel M V., Artois T, Bailly N, Bamber R, Barber A, Bartsch I, Berta A, Błazewicz-Paszkowycz M, Bock P, Boxshall G, Boyko CB, Brandão SN, Bray RA, Bruce NL, Cairns SD, Chan T-Y, Cheng L, Collins AG, Cribb T, Curini-Galletti M, Dahdouh-Guebas F, Davie PJF, Dawson MN, De Clerck O, Decock W, De Grave S, de Voogd NJ, Domning DP, Emig CC, Erséus C, Eschmeyer W, Fauchald K, Fautin DG, Feist SW, Franssen CHJM, Furuya H, Garcia-

Alvarez O, Gerken S, Gibson D, Gittenberger A, Gofas S, Gómez-Daglio L, Gordon DP, Guiry MD, Hernandez F, Hoeksema BW, Hopcroft RR, Jaume D, Kirk P, Koedam N, Koenemann S, Kolb JB, Kristensen RM, Kroh A, Lambert G, Lazarus DB, Lemaitre R, Longshaw M, Lowry J, Macpherson E, Madin LP, Mah C, Mapstone G, McLaughlin PA, Mees J, Meland K, Messing CG, Mills CE, Molodtsova TN, Mooi R, Neuhaus B, Ng PKL, Nielsen C, Norenburg J, Opresko DM, Osawa M, Paulay G, Perrin W, Pilger JF, Poore GCB, Pugh P, Read GB, Reimer JD, Rius M, Rocha RM, Saiz-Salinas JI, Scarabino V, Schierwater B, Schmidt-Rhaesa A, Schnabel KE, Schotte M, Schuchert P, Schwabe E, Segers H, Self-Sullivan C, Shenkar N, Siegel V, Sterrer W, Stöhr S, Swalla B, Tasker ML, Thuesen E V., Timm T, Todaro MA, Turon X, Tyler S, Uetz P, van der Land J, Vanhoorne B, van Ofwegen LP, van Soest RWM, Vanaverbeke J, Walker-Smith G, Walter TC, Warren A, Williams GC, Wilson SP, Costello MJ (2012) The Magnitude of Global Marine Species Diversity. *Curr Biol* 22:2189–2202. doi: 10.1016/j.cub.2012.09.036

Arai MN (1997) *A Functional Biology of Scyphozoa*. Chapman & Hall, London

Beams HW, Kessel RG (1983) Cnidaria. In: Adiyodi KG, Adiyodi RG (eds) *Reproductive Biology of Invertebrates. Volume I: Oogenesis, Oviposition and Oosorption*. John Wiley & Sons, LTD, New York, pp 31–66

Berrill NJ (1949) Developmental analysis of scyphomedusae. *Biol Rev* 24:393–409.

Bigelow RP (1900) The anatomy and development of *Cassiopea xamachana*. *Mem Bost Soc Nat Hist* 5:192–254.

Bridge D, Cunningham CW, DeSalle R, Buss LW (1995) Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence. *Mol Biol Evol* 12:679–689.

Calder DR (1982) Life History of the cannoball jellyfish, *Stomolophus meleagris* L.

- Agassiz, 1860 (Scyphozoa, Rhizostomida). Biol Bull 162:149–162. doi: 10.2307/1540810
- Calder DR (2009) Cubozoan and Scyphozoan jellyfishes of the Carolinian biogeographic province, southeastern USA. Royal Ontario Museum Contributions in Science, Toronto
- Campbell RD (1974) Cnidaria. In: Giese AC, Pearse JS (eds) Reproduction of Marine Invertebrates, Volume 1: Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoonas. Academic Press, pp 133–199
- 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 Data and an Assessment of the Utility of Phylogenetic Mixture Models. Syst Biol 55:97–115. doi: 10.1080/10635150500433615
- Collins AG (2002) Phylogeny of Medusozoa and the evolution of the cnidarian life cycles. J Evol Biol 15:418–432.
- Cornelius P (1997) Class Scyphozoa - Jellyfish. In: Richmond MD (ed) A guide to the seashores of the Eastern Africa and the Western Indian Ocean Islands. pp 122–125
- Da Silveira FL, Morandini AC (1997) *Nausithoe aurea* n. sp. (Scyphozoa: Coronatae: Nausithoidae), a species with two pathways of reproduction after strobilation: sexual and asexual. Contrib to Zool 66:235–246.
- Daly M, Brugler MR, Cartwright P, Collins AG, Dawson MN, Fautin DG, France SC, McFadden CS, Opresko DM, Rodriguez E, Romano SL, Stake JL (2007) The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. Zootaxa 1668:127–182.
- Delap, M. J. (1906) Notes on the rearing, in aquarium, of *Aurelia aurita* L., and *Pelagia noctiluca* (Slabber). *Fisheries, Ireland, Sci. Invest.*, 7: 22-26.
- Dawson MN (2004) Some implications of molecular phylogenetics for understanding biodiversity in jellyfishes, with emphasis on Scyphozoa. Hydrobiologia 530–531:249–260. doi: 10.1007/s10750-004-2659-3
- Eckelbarger KJ (1994) Oocyte nutrition in the lower Metazoa: The Scyphozoa. In: Wilson

- WH, Stricker SA, Shinn GL (eds) Reproduction and development of marine invertebrates. John Hopkins University Press, Baltimore, pp 15–28
- Eckelbarger KJ, Larson RL (1988) Ovarian morphology and oogenesis in *Aurelia aurita* (Scyphozoa: Semaestomae) ultrastructural evidence of heterosynthetic yolk formation in a primitive metazoan. *Mar Biol* 100:103–115.
- Fuentes V, Straehler-Pohl I, Atienza D, Franco I, Tilves U, Gentile M, Acevedo M, Olariaga A, Gili J-M (2011) 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). *Mar Biol* 158:2247–2266. doi: 10.1007/s00227-011-1730-7
- Gambill M, Jarms G (2014) Can *Aurelia* (Cnidaria, Scyphozoa) species be differentiated by comparing their scyphistomae and ephyrae? *Eur J Taxon* 107:1–23. doi: 10.5852/ejt.2014.107
- Gohar HAF, Eisawy AM (1960) The biology of *Cassiopea andromeda* (from the Red sea) (with a note on the Species Problem). *Publ Mar Biol Station Ghardaqa* 11:3–42.
- Haeckel E (1882) Report on the deep-sea Medusae dredged by H.M.S. Challenger in the years 1873-1876. *Zoology* 4:1–154.
- Hofmann DK, Hadfield MG (2002) Hermaphroditism, gonochorism, and asexual reproduction in *Cassiopea* sp.—an immigrant in the islands of Hawai'i. *Invertebr Reprod Dev* 41:215–221. doi: 10.1080/07924259.2002.9652754
- Holst S, Sötje I, Tiemann H, Jarms G (2007) Life cycle of the rhizostome jellyfish *Rhizostoma octopus* (L.) (Scyphozoa, Rhizostomeae), with studies on cnidocysts and statoliths. *Mar Biol* 151:1695–1710. doi: 10.1007/s00227-006-0594-8
- Hyman LH (1940) The invertebrates: Protozoa through Ctenophora. McGraw-Hill Book Company, Inc, New York
- Ikeda H, Ohtsu K, Uye S (2011) Structural changes of gonads during artificially induced gametogenesis and spawning in the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae). *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 91:215–227. doi:

10.1017/S0025315410001244

- Jarms G (1991) Taxonomic characters from the polyp tubes of coronate medusae (Scyphozoa, Coronatae). *Hydrobiologia* 216–217:463–470. doi: 10.1007/BF00026500.
- Jarms G (2010) The early life history of Scyphozoa with emphasis on Coronatae: a review with a list of described life cycles. *Verh Naturwiss Ver Hambg* 45:17–31.
- Jarms, G., & Morandini, A. C. (2019). *World Atlas of Jellyfish*. Hamburg: Dölling und Galitz Verlag.
- Kikinger R (1992) *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria: Scyphozoa) - Life History of a stationary population. *Mar Ecol* 13:333–362. doi: 10.1111/j.1439-0485.1992.tb00359.x
- Kramp PL (1961) Synopsis of the medusae of the world. *J Mar Biol Assoc UK* 40:7–469. doi: <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315400007347>
- Lesh-Laurie GE, Suchy PE (1991) Cnidaria: Scyphozoa and Cubozoa. In: Harrison F, Westfall J (eds) *Microscopy anatomy of invertebrates, Volume 1: Placozoa, Porifera, Cnidaria e Ctenophora*. Wiley-Liss, Inc, New York, pp 185–266
- Lucas CH (2001) Reproduction and life history strategies of the common jellyfish, *Aurelia aurita*, in relation to its ambient environment. *Hydrobiologia* 451:229–246. doi: 10.1023/A:1011836326717
- Marques AC, Collins AG (2004) Cladistic analysis of Medusozoa and cnidarian evolution. *Invertebr Biol* 123:23–42. doi: 10.1111/j.1744-7410.2004.tb00139.x
- Mianzan HW, Cornelius PFS (1999) Cubomedusae and Scyphomedusae. In: Boltovskoy D (ed) *South Atlantic Zooplankton Vol 1*. Backhuys Publishers, Leiden, pp 513–559
- Miller RL (1983) Cnidaria. In: Adiyodi KG, Adiyodi RG (eds) *Reproductive Biology of Invertebrates. Vol II Spermatogenesis and Sperm Function*. Wiley & Sons, New York, pp 23–69
- Morandini AC (1999) Gametogênese e desenvolvimento embrionário de *Nausithoe aurea* (Scyphozoa, Coronatae) do Canal de São Sebastião - SP. Universidade de São Paulo

- Morandini AC, Marques AC (2010) Revision of the genus *Chrysaora* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Scyphozoa). *Zootaxa* 2464:1–97.
- Morandini AC, Silveira FL Da (2001) Sexual reproduction of *Nausithoe aurea* (Scyphozoa, Coronatae). Gametogenesis, egg release, embryonic development, and gastrulation. *Sci Mar* 65:139–149. doi: 10.3989/scimar.2001.65n2139
- Morandini AC, Silveira FL da, Jarms G (2004) The life cycle of *Chrysaora lactea* Eschscholtz, 1829 (Cnidaria, Scyphozoa) with notes on the scyphistoma stage of three other species. *Hydrobiologia* 530–531:347–354. doi: 10.1007/s10750-004-2694-0
- Morandini AC, Custódio MR, Marques AC (2016a) Phylum Porifera and Cnidaria. In: Gopalakrishnakone P, Haddad V, Tubaro A, Kim E, Kem WR (eds) *Marine and Freshwater Toxins*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 287–316
- Morandini AC, Schiariti A, Stampar SN, Maronna MM, Straehler-Pohl I, Marques AC (2016b) Succession of generations is still the general paradigm for scyphozoan life cycles. *Bull Mar Sci* 92:343–351. doi: 10.5343/bms.2016.1018
- Odorico DM, Miller DJ (1997) Internal and external relationships of the Cnidaria: implications of primary and predicted secondary structure of the 5' –end of the 23S-like rDNA. *Proc R Soc B Biol Sci* 264:77–82. doi: 10.1098/rspb.1997.0011
- Ohtsu K, Kawahara M, Ikeda H, Uye S (2007) Experimental induction of gonadal maturation and spawning in the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* (Scyphozoa: Rhizostomeae). *Mar Biol* 152:667–676. doi: 10.1007/s00227-007-0722-0
- Reft AJ, Daly M (2012) Morphology, distribution, and evolution of apical structure of nematocysts in Hexacorallia. *J Morphol* 273:121–136. doi: 10.1002/jmor.11014
- Riascos JM, Paredes L, González K, Cereces I, Pacheco AS (2013) The larval and benthic stages of the scyphozoan medusa *Chrysaora plocamia* under El Niño/La Niña thermal regimes. *J Exp Mar Bio Ecol* 446:95–101. doi: 10.1016/j.jembe.2013.05.006
- Schiariti A, Kawahara M, Uye S, Mianzan HW (2008) Life cycle of the jellyfish *Lychnorhiza lucerna* (Scyphozoa: Rhizostomeae). *Mar Biol* 156:1–12. doi: 10.1007/s00227-008-1050-8

- Schiariti A, Christiansen E, Morandini AC, da Silveira FL, Giberto DA, Mianzan HW (2012) Reproductive biology of *Lychnorhiza lucerna* (Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomeae): Individual traits related to sexual reproduction. *Mar Biol Res* 8:255–264. doi: 10.1080/17451000.2011.616897
- Scorrano S, Aglieri G, Boero F, Dawson MN, Piraino S (2016) Unmasking *Aurelia* species in the Mediterranean Sea: an integrative morphometric and molecular approach. *Zool J Linn Soc.* doi: 10.1111/zoj.12494
- Smith HG (1936) Contribution to the anatomy and physiology of *Cassiopea frondosa*. *Carnegie Inst Washington Tortugas Lab Pap* 31:18–52.
- Tiemann H, Jarms G (2010) Organ-like gonads, complex oocyte formation, and long-term spawning in *Periphylla periphylla* (Cnidaria, Scyphozoa, Coronatae). *Mar Biol* 157:527–535. doi: 10.1007/s00227-009-1338-3
- Tiseo GR (2016) Conformação gonadal, caracterização histoquímica e ultraestrutural da gônada masculina e espermatozoides em espécies de águas-vivas (Cubozoa e Scyphozoa, Medusozoa, Cnidaria). Universidade de São Paulo
- Werner B (1973) New Investigations on Systematics and Evolution of the Class Scyphozoa and the Phylum Cnidaria. *Publ Seto Mar Biol Lab* 20:35–61. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004
- Werner B (1974) *Stephanoscyphus eumedusoides* n. spec. (Scyphozoa, Coronatae), ein Höhlenpolyp mit einem neuen Entwicklungsmodus. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 26:434–463. doi: 10.1007/BF01627626
- Widersten B (1965) Genital organs and Fertilization in some Scyphozoa. *Zool Bidr Uppsala* 37:45–58.
- Zapata F, Goetz FE, Smith SA, Howison M, Siebert S, Church SH, Sanders SM, Ames CL, McFadden CS, France SC, Daly M, Collins AG, Haddock SHD, Dunn CW, Cartwright P (2015) Phylogenomic Analyses Support Traditional Relationships within Cnidaria. *PLoS One* 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0139068.

Considerações Finais

Mesmo com a reprodução sexuada sendo descrita para vários representantes das três ordens de cifozoários, frente a grande diversidade do grupo (241 espécies sensu Jarms and Morandini, 2019) podemos dizer que ainda são poucos os trabalhos que descrevem, em detalhes, a conformação gonadal, histologia da gônada e gametogênese do grupo (Maas 1897; Vanhöffen 1902; Bigelow 1909; Eckelbarger and Larson 1988, 1992; Avian and Rottini-Sandrini 1991; Morandini and Silveira 2001; Ohtsu et al. 2007; Sötje and Jarms 2009; Lucas and Reed 2010; Tiemann and Jarms 2010; Ikeda et al. 2011; Schiariti et al. 2012). A primeira descrição de um cifozoário foi há 264 anos atrás, e desde então nenhuma revisão sobre a reprodução sexuada do grupo, dentro de um contexto comparativo e filogenético, foi feita. Desta forma, esta tese detalha não somente os processos microscópicos e tipos celulares dentro do grande tema da reprodução sexuada de scyphozoa – como nos capítulos dois, três e quatro – mas também estuda e discute a morfologia gonadal macroscópica, histológica e várias das estratégias reprodutivas de seus representantes – capítulos um e cinco – dentro do cenário filogenético e evolutivo mais recente do grupo (Collins et al. 2006; Straehler-Pohl 2009; Bayha et al. 2010; Kayal et al. 2018).

Nossos resultados evidenciaram uma alta diversidade de morfologias macroscópicas de gônadas, com Coronatae apresentado a maior variedade (15 no total), seguida por Semaestomeae (6 morfologias gonadais) e Rhizostomeae com apenas uma. Para a gônada de todos os representantes, um padrão histológico foi encontrado com a gônada sendo uma evaginação da região da gastroderme, tendo um epitélio colunar externo, um cuboidal interno e por entre eles a mesogléia com as células germinativas. A

presença de trofócitos exclusiva de Discomedusae e aqui descrevemos dois tipos diferentes relacionados com o tipo de liberação de gametas e fecundação, se interna ou externa. Adicionalmente ao proposto por Adonin & Podgornaya (2012), aqui descrevemos a presença da mesogleína nos ovócitos de várias espécies de scyphozoa e acreditamos que esta proteína – produzida pelo próprio ovócito – esteja presente nos ovócito dos demais representantes de cifozoários, comprovando a existência de uma membrana vitelínica para os Scyphozoa.

Utilizando uma das filogenias mais recentes de Scyphozoa – Bayah et al. (2010) – para discutir sobre a localização das gônadas nos representantes das diferentes ordens de cifozoários, coronados possuem gônadas adradiais enquanto que discomedusas possuem gônadas interradiais (Fig. 1). A presença de células acessórias dentro da classe separa os discomedusae dos coronados (Fig. 2) porém a diferenciação dos trofócitos em tipo um ou dois parece estar mais relacionada com a biologia reprodutiva do grupo não mostrando ser um caráter acurado para resgatar aspectos evolutivos do grupo. Em um contexto mais abrangente, ao reconstruir a ancestralidade da presença de células acessórias em Acraspeda (grupo formado pelas classes Scyphozoa, Cubozoa e Staurozoa, recentemente resgatado por Kayal et al. 2018), tal característica parece ser informativa em um contexto evolutivo a nível de classes (Fig. 3).

Mesmo esta tese aumentando significativamente a quantidade de descrições e estudos sobre a reprodução sexuada em cifozoários (a nível de microscopia de luz e de transmissão), são muitas ainda, as lacunas a serem preenchidas para que possamos ter um entendimento mais conclusivo e acurado do cenário reprodutivo evolutivo do grupo. Desta forma, encorajamos fortemente o cultivo de espécies de medusas, coletas de espécimes e de materiais para a microscopia de luz e transmissão para que possamos dar continuidade às análises aqui iniciadas.

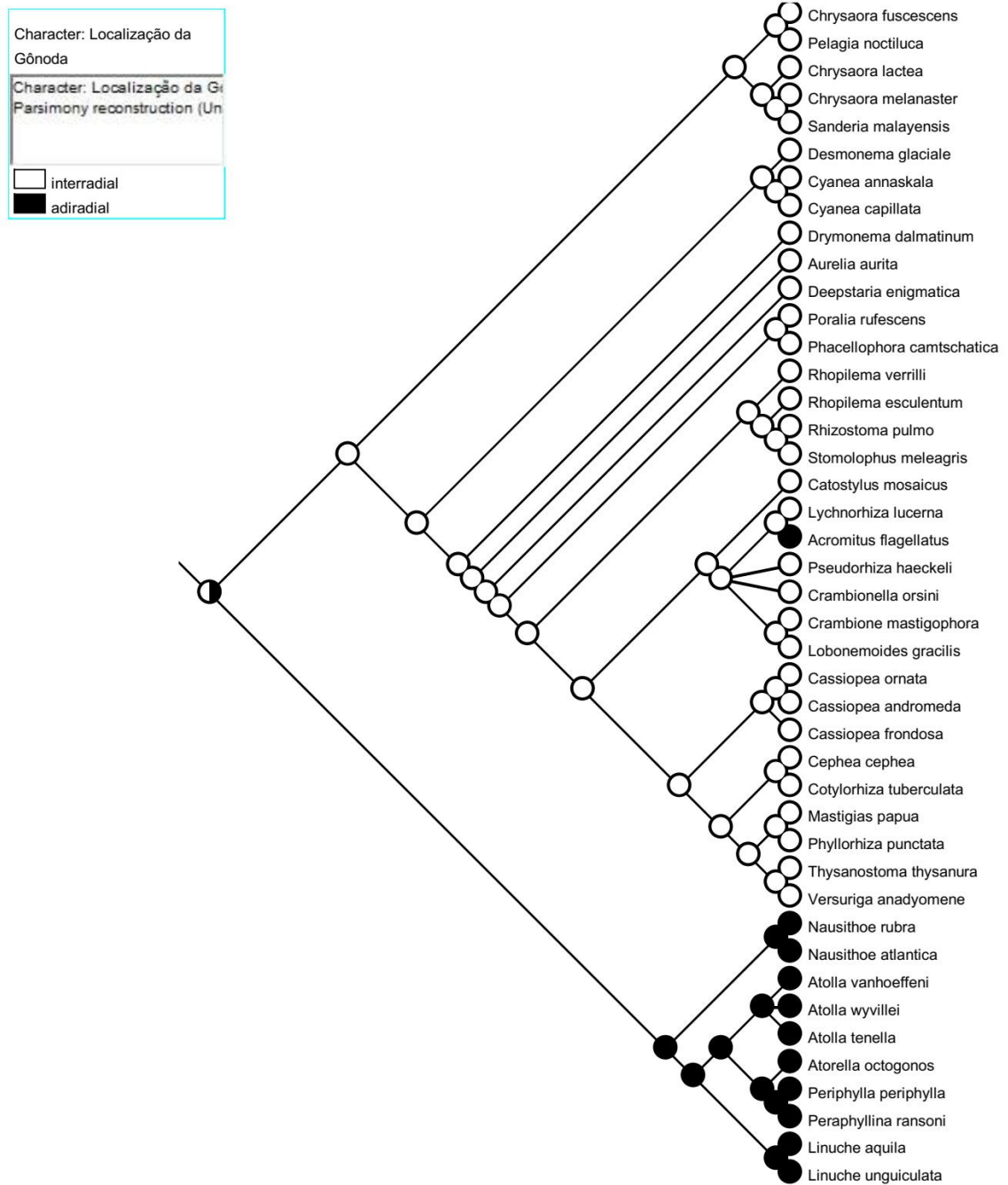


Figura 1: Reconstrução ancestral da localização da gônada dos diferentes representantes de Scyphozoa. Diagrama construído com base na filogenia proposta por Bayha et al. (2010).

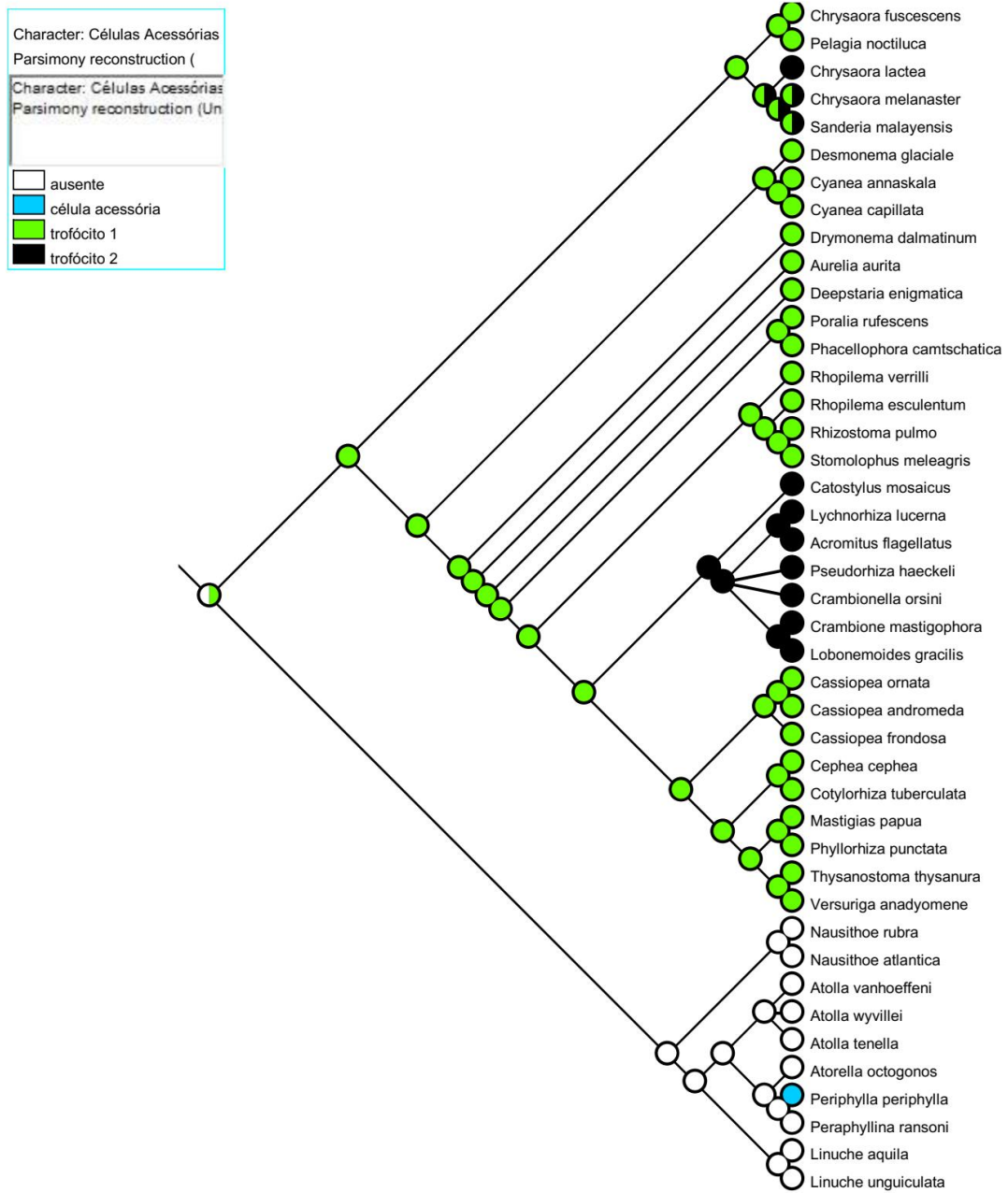


Figura 2: Reconstrução ancestral da presença de células acessórias dos diferentes representantes de Scyphozoa. Diagrama construído com base na filogenia proposta por Bayha et al. (2010).

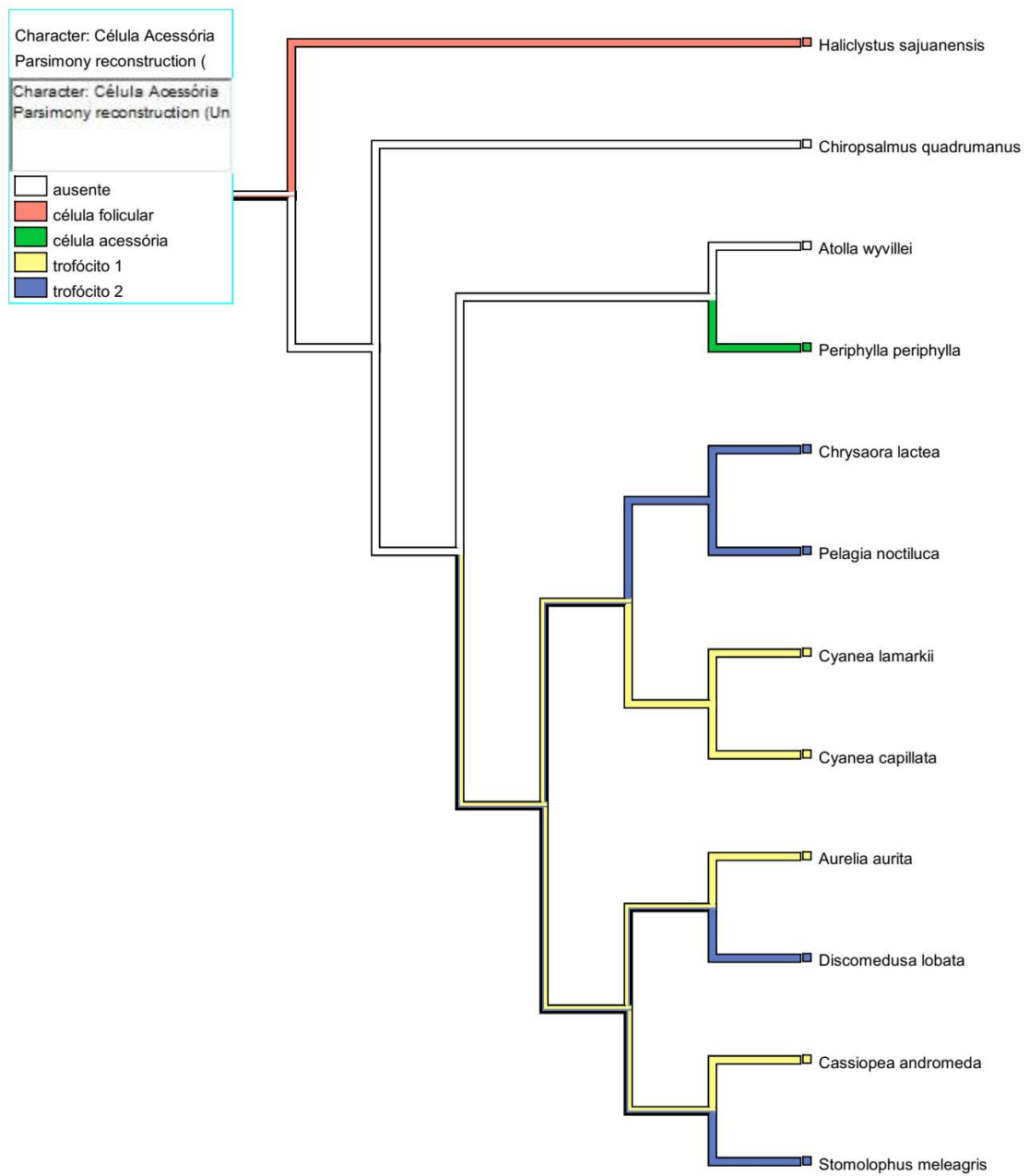


Figura 3: Reconstrução ancestral da presença de células acessórias em representantes de Acraspeda. Diagrama construído com base na filogenia proposta por Kayal et al. (2018).

Resumo Geral

Dentro de Medusozoa, a classe Scyphozoa é uma das quatro que compõem o subfilo possuindo 241 morfoespécies descritas. Seus representantes são comumente chamados de “águas-vivas verdadeiras” e, atualmente, encontram-se divididos em duas subclasses: Coronamedusae e Discomedusae. Coronamedusae é conhecida por possuir espécies de profundidade, porém a diversidade do grupo (57 espécies descritas) também engloba medusas coronadas de águas rasas. A subclasse Discomedusae possui 184 espécies divididas em duas ordens: Semaestomeae e Rhizostomeae, sendo seus representantes conhecidos por serem planctônicos com biomassa de até 96% de água. Apesar da reprodução sexuada em Scyphozoa ter recebido relativamente bastante atenção ao longo dos anos, são poucos os trabalhos relacionando as características das gônadas de águas-vivas em um contexto comparativo e filogenético. Esta tese traz dados morfológicos sobre a reprodução sexuada em cifozoários e, comparativamente, identifica padrões evolutivos relevantes para futuro suporte na classificação dos táxons que compõem tal classe. No capítulo 1 nós revisamos o estado da arte da reprodução sexuada em medusas coronadas trazendo novos dados microscópicos da gônada e discutindo as principais considerações evolutivas para o grupo. No capítulo 2 descrevemos a estrutura microscópica da gônada de Scyphozoa, a espermatogênese e ultraestrutura do espermatozoide para três espécies de discomedusas discutindo a similaridade da organização histológica da gônada masculina com o túbulo seminífero presentes em outros metazoários. No capítulo 3 apresentamos dados da ovogênese do Semaestomeae *Chysora lactea* discutindo sobre os importantes papéis realizados pelos trofócitos durante a vitelogênese, coriogênese e ovulação do gameta. No capítulo 4 revisamos a gametogênese para as medusas semi-sésseis do gênero *Cassiopea*, registrando um caso de hermafroditismo para *C. frondosa*. Por fim, no capítulo 5 revisamos e comparamos a organização macroscópica, histológica e celular da gônada de cifozoários discutindo os principais tópicos e novidades evolutivas relacionadas à reprodução sexuada da classe Scyphozoa.

Palavras-chave: Evolução gonadal, Gametogênese, histologia, MET.

Abstract

Among Medusozoa, the class Scyphozoa is one of the four that composes the subphylum with 241 described morphospecies. Its representatives are commonly called “true jellyfishes” and are currently divided into two subclasses: Coronamedusae and Discomedusae. Coronamedusae is known to have deep-sea species, but the diversity of the group (57 described species) also includes shallow-water species. The subclass Discomedusae has 184 species divided into two orders: Semaestomeae and Rhizostomeae, and their representatives are known to be planktonic with a biomass of up to 96% of water. Although sexual reproduction in Scyphozoa has received relatively considerable attention over the years, there are few studies relating the characteristics related to jellyfish gonads in a comparative and phylogenetic context. This thesis brings new morphological data on sexual reproduction of scyphozoans and, comparatively, identifies relevant evolutionary patterns for future support in the classification of the taxa. In chapter 1 we review the state of the knowledge of sexual reproduction in coronate medusae, bringing new microscopic data from the gonads and discussing the main evolutionary trends for the group. In chapter 2 we describe the microscopic structure of the gonad in Scyphozoa, spermatogenesis and sperm ultrastructure in three species of discomedusae and discuss the similarity of the histological organization of the male gonad with the seminiferous tubule found in other metazoans. In chapter 3 we present data on the oogenesis of the semaeostomeae *Chysaora lactea* discussing the important roles played by trophocytes during vitellogenesis, choriogenesis and spawning. In chapter 4 we review gametogenesis for semi-sessile jellyfish of the genus *Cassiopea*, reporting a case of hermaphroditism in *C. frondosa*. Finally, in chapter 5 we review and compare the macroscopic, histological and cellular organization of the scyphozoan gonads, discussing the main topics and evolutionary novelties related to the sexual reproduction of the class Scyphozoa.

Key-words: Gonadal evolution, gametogenesis, histology, TEM.