

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Estructuras relacionadas con el acoplamiento y la transferencia de espermatozoides en riacodrilíneos (Oligochaeta, Naididae)

Estruturas relacionadas co acoplamento e a transferencia de espermatozoides en riacodrilíneos (Oligochaeta, Naididae).

Structures related with mating and sperm transfer in rhyacodrilines (Oligochaeta, Naididae).

Alicia Mondelo García

Junio, 2021

Enrique Martínez Ansemil, director académico do Traballo Fin de Grao "Estruturas relacionadas co acoplamento e a transferencia de espermatozoides en riacodrilíneos (Oligochaeta, Naididae)" presentado por Alicia Mondelo García, autoriza a súa defensa ante o Tribunal cualificador.

A Coruña, a 25 de xuño de 2021

ÍNDICE

RESUMEN/RESUMO

ABSTRACT

PALABRAS CLAVE

1.INTRODUCCIÓN.....	1
2.OBJETIVOS.....	4
3.MATERIAL Y MÉTODOS	5
3.1.Rhyacodrilinae Hrabě, 1963	5
3.2.Muestras biológicas	5
3.3.Métodos de estudio.....	6
4.RESULTADOS.....	8
5.DIISCUSIÓN.....	18
6.CONCLUSIONES/ CONCLUSIÓN/CONCLUSIONS.....	21
7.BIBLIOGRAFÍA.....	23

RESUMEN

El nivel de conocimiento de las estructuras relacionadas con la unión y la transferencia de espermatozoides en los microdrilos resulta todavía muy escaso. Este trabajo pretende centrar la investigación en el estudio y conocimiento de las estructuras internas que participan activamente en este proceso. El estudio con microscopía óptica y diversas técnicas (sobre material fijado e *in vivo*) de la región genital de cinco especies de riacodrilíneos (*Rhyacodrilus coccineus*, *R. sp1*, *R. sp2* y *R. falciformis*, y *Peristodrilus montanus*) permite el reconocimiento de paquetes musculares dorsoventrales específicos para el anclaje y sujeción de los individuos durante el apareamiento. El número de paquetes implicados, así como su calibre, ponen de manifiesto diferencias a nivel específico.

RESUMO

O nivel de coñecemento das estruturas relacionadas coa unión e trasferencia de espermatozoides en microdilos é aínda moi baixo. Este traballo ten como obxectivo centrar a investigación no estudo e coñecemento das estruturas internas que participan activamente neste proceso. O estudo con microscopía óptica e varias técnicas (sobre material fixado e *in vivo*) da rexión xenital de cinco especies de riacodrilíneos (*Rhyacodrilus coccineus*, *R. sp1*, *R. sp2* e *R. falciformis*, e *Peristodrilus montanus*) permite o recoñecemento de paquetes musculares dorsoventrais específicos para ancorar e suxeitar os individuos durante o emparellamento. O número de paquetes implicados, así como o seu calibre, revelan diferenzas a nivel específico.

ABSTRACT

The knowledge of the structures related to mating and sperm transfer in microdriles is still very scarce. This work aims to focus research on the study and knowledge of the internal structures that actively participate in this process. The study with optical microscopy and various techniques (on fixed material and *in vivo*) of the genital region of five species of riacodriline (*Rhyacodrilus coccineus*, *R. sp1*, *R. sp2* and *R. falciformis*, and *Peristodrilus montanus*) leads to the discovery of

specific dorsoventral muscles for anchoring and holding individuals during mating. The number and thickness of muscles involved reveal differences at the specific level.

Palabras clave: Oligochaeta, Naididae, Rhyacodrilinae, musculatura de anclaje, sedas peneanas, apareamiento, anatomía funcional.

1. INTRODUCCIÓN

Los oligoquetos acuáticos son anélidos clitelados, generalmente de pequeño tamaño (microdrilos). Se conocen en torno a 1700 especies y están ampliamente distribuidos a nivel mundial, adaptados a un amplio rango de condiciones ambientales. Viven principalmente en aguas dulces (1100 especies aproximadamente), tanto superficiales como subterráneas, pero están también bien representados en el medio marino (en torno a 600 especies), desde el litoral hasta las profundidades abisales (Brinkhurst y Jamieson, 1971; Martin et al., 2008).

Son anélidos frecuentes tanto en ambientes lóticos como lénticos y en substratos muy diversos, y pueden llegar a convertirse en el grupo dominante entre las comunidades de invertebrados, especialmente entre el bentos profundo de medios lénticos de aguas continentales ricos en materia orgánica (Brinkhurst y Jamieson, 1971). Desempeñan importantes funciones ecológicas, constituyendo un importante eslabón en el transporte y reciclado de materia y energía, especialmente en los cuerpos de agua cerrados. Además, pueden tener importantes efectos directos o indirectos en relación con diversos problemas relacionados con la salud humana, ya sea como hospedadores intermediarios de parásitos, por su destacable papel en la evaluación de la contaminación o por su gran potencial para reducir los volúmenes de lodos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Martin et al., 2008).

Con más de 1000 especies descritas, los naídidos, entre los que se incluye actualmente la subfamilia Rhyacodrilinae, objeto de estudio, constituyen la familia más ampliamente diversificada de oligoquetos acuáticos (Martin et al., 2008). Erséus y Gustavsson (2002) fusionan los integrantes de los naídidos y los tubificidos bajo la denominación Tubificidae Vejdovský, 1876, pero la Comisión del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica otorga finalmente prioridad a la denominación Naididae Ehrenberg, 1828 (ver Erséus et al., 2008). Muy recientemente, se llega a modificar incluso la autoría y/o la fecha de la denominación de ambas familias: Tubificidae d'Udekem, 1855 en lugar de Tubificidae Vejdovský, 1876 y Naididae Ehrenberg, 1831 en lugar de Naididae Eherenberg, 1828 (Van Haaren et al., 2021).

Al igual que el resto de los clitelados, los naídidos son animales hermafroditas (monoicos). La paratomía, la arquiteomía y la partenogénesis son modos de reproducción frecuentes en el seno de esta familia, pero la reproducción sexual biparental por fecundación cruzada se presenta como el modo más generalizado, al menos entre los riacodrilíneos. Es precisamente sobre el conocimiento de los mecanismos internos que facilitan la unión entre los dos miembros de la pareja para la transferencia de espermatozoides sobre lo que se centra este estudio.

Los estudios con microscopía electrónica de barrido (MEB) de la anatomía externa de la región genital de diversas especies de microdrilos (Cuadrado y Martínez-Ansemil, 2001; Caramelo y Martínez-Ansemil, 2012), junto con los resultados de unas pocas observaciones realizadas con microscopía óptica – especialmente los estudios de Giani et al. (1990) sobre el género *Krenedrilus* Dumnicka, y Rodríguez y Fend (2013) sobre el género *Rhyacodrilus* Bretscher – están en el origen del estudio aquí propuesto. Tras la observación de diversos ejemplares pertenecientes a las principales familias de oligoquetos acuáticos y tomando en consideración los resultados ya publicados, Caramelo y Martínez-Ansemil (2012) proponen la clasificación de los diversos sistemas de emparejamiento utilizados por los oligoquetos acuáticos en tres categorías (sujeción por anclaje, acoplamiento y abrazo), que implican todas ellas la aposición de los poros genitales masculinos y los poros de las espermatecas entre los dos miembros de la pareja. Para facilitar la comprensión del texto, presentamos a continuación un esquema general básico del aparato genital de los naídidos (Fig. 1), así como una visión al MEB de los sistemas de anclaje y acoplamiento y el modo en que se produciría la aposición entre los poros genitales masculinos y los poros de las espermatecas en dos especies de riacodrilíneos (Fig. 2).

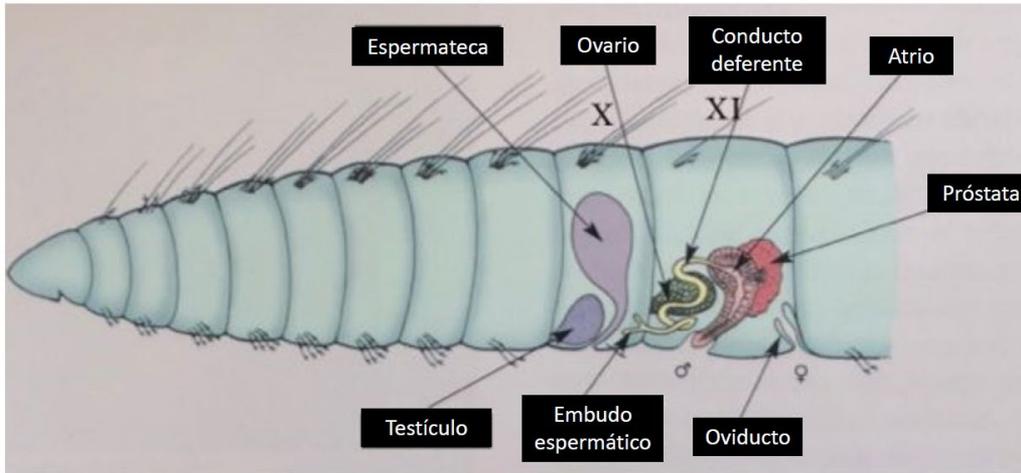


Figura 1. Vista esquemática del aparato reproductor de un naído.

Fuente: Martínez-Ansemil y Parapar (2002). Modificado de Brinkhurst (1982).

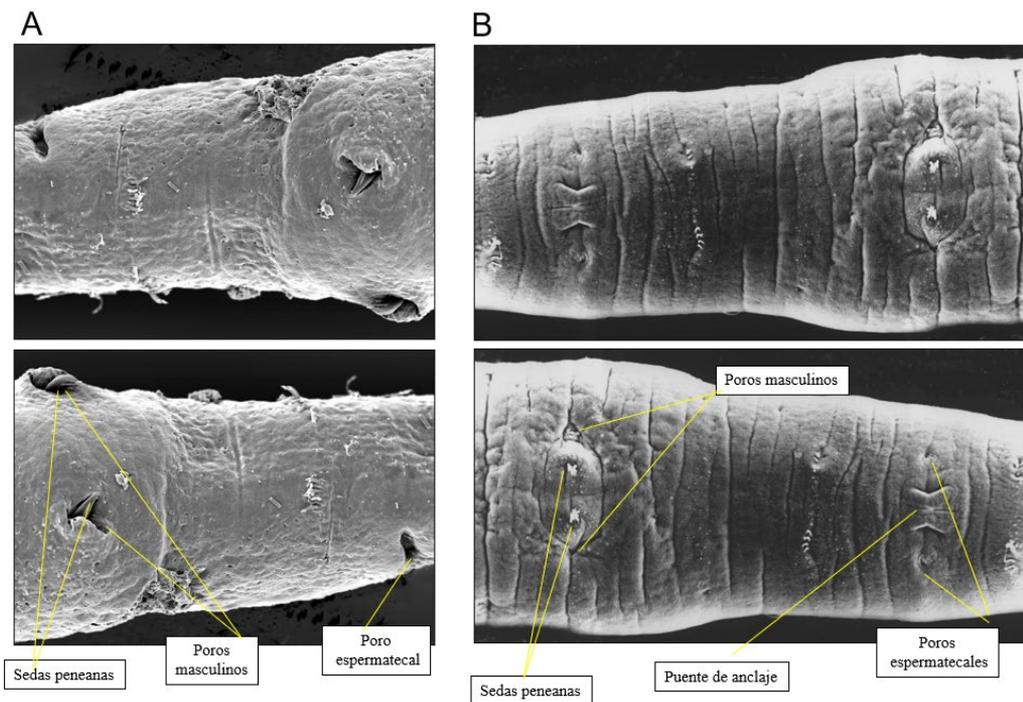


Figura 2. Vista al MEB de los sistemas de anclaje y aposición de poros en *Rhyacodrilus falciformis* (A) y *Peristodrilus montanus* (B). Fuente: Martínez-Ansemil y Parapar (2002).

Contrariamente a los microdrilos, el conocimiento de las estructuras externas y de los sistemas de unión y transferencia mútua de espermatozoides en los megadrilos – mayoritariamente terrestres – (ver Jamieson, 2006) se halla facilitado por su hábitat y el tamaño de los individuos, que, con frecuencia, facilitan su observación difrecta con una simple lupa binocular.

En este trabajo nos centramos en el estudio de la anatomía funcional interna, analizando las estructuras responsables del funcionamiento mecánico de los sistemas de sujeción por sedas peneanas en cinco especies de riacodrilíneos pertenecientes a tres géneros característicos de esta subfamilia.

Conviene tener presente que diversos estudios anatómicos y taxonómicos, y especialmente recientes estudios moleculares, ponen claramente de manifiesto que los riacodrilíneos, tal y como se conocen actualmente, no son en realidad más que una mera agrupación parafilética en el seno de los naídidos (Erséus, 1990; Pinder & Brinkhurst, 2010; Martin et al., 2010; Erséus et al., 2019).

2. OBJETIVOS

El objetivo principal y más inmediato de este trabajo es iniciar el conocimiento de las estructuras internas (músculatura) que participan activamente en la unión para la transferencia de espermatozoides en los oligoquetos acuáticos, centrándonos en los riacodrilíneos dotados de sedas peneanas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Rhyacodrilinae Hrabě, 1963

Según Rodríguez y Fend (2013), la agrupación parafilética de los riacodrilíneos responde a los siguientes caracteres diagnósticos: poros de las espermatecas cerca del borde anterior del segmento testicular (generalmente X), bombillas de las espermatecas con espermatozoides difusos o en masa; glándulas prostáticas difusas o formando numerosas agrupaciones diferenciadas (próstatas raramente ausentes); verdaderos penes generalmente ausentes, penes protusibles o eversibles frecuentemente presentes; sedas peneanas y espermatecales frecuentemente modificadas; sedas peneanas generalmente numerosas y dispuestas típicamente en abanico, con los extremos distales próximos; celomocitos casi siempre grandes y abundantes.

3.2. Muestras biológicas

El material biológico empleado en el presente estudio es, en su mayoría material fijado procedente de la Colección de Enrique Martínez Ansemil (ejemplares *in toto*, en disección y cortes al microtomo). El estudio de este material se ha visto complementado con la observación de ejemplares *in vivo* y la realización de cortes al microtomo complementarios, sobre material recogido específicamente para este trabajo en el arroyo de Porto do Cabo (Moeche).

Las especies consideradas en este estudio, pertenecen a los géneros *Rhyacodrilus* Bretscher, 1901 [*R. coccineus* (Vejdovský, 1875), *R. sp1* y *R. sp2* (especies en curso de descripción, E. Martínez-Ansemil com. pers.) y *R. falciformis* Bretscher, 1901,] y *Peristodrilus* Baker y Brinkhurst, 1981 [*P. montanus* (Hrabě, 1962)]. El género *Rhyacodrilus* se distingue fundamentalmente por la presencia de pequeños atrios ovales o tubulares y de conductos deferentes generalmente más largos que los atrios, que se unen a estos en posición apical o subapical (Rodríguez y Fend, 2013). El género *Peristodrilus* se caracteriza por la presencia de atrios tubulares muy largos recubiertos por células prostáticas, que se prolongan directamente por vasos deferentes, recubiertos por una capa de células planas (Baker y Brinkhurst, 1981).

En total se han observado 30 individuos (7 *Rhyacodrilus coccineus*, 1 *Rhyacodrilus* sp1, 4 *Rhyacodrilus* sp2, 9 *Rhyacodrilus falciformis* y 9 *Peristodrilus montanus*) cuya preparación, coloración, lugar y fecha de recolección y hábitat, se recogen en la Tabla 1 (Anexos).

3.3. Métodos de estudio

Todos los ejemplares de colección han sido cuidadosamente estudiados al microscopio óptico, utilizando para su observación y fotografiado un Microscopio Nikon Eclipse 90i, dotado de Óptica de Contraste Interferencial (Óptica Nomarski), objetivos Plan Apocromáticos, y una cámara digital DS-Fi1.

El material biológico de Porto do Cabo ha sido recogido con una red Surber de 200 µm de luz de malla, en fondos de cantos rodados, grava y arena y separado en el laboratorio bajo lupa binocular. Los ejemplares se han conservado en nevera a 8°C durante al menos 12 horas, en diferentes placas de Petri con agua del propio arroyo, asegurándose así el vaciado de su tubo digestivo para facilitar tanto su observación *in vivo* como la correcta preparación de cortes al microtomo.

Para el estudio y posterior fotografiado de este material (observación de ejemplares *in vivo* y cortes al microtomo), se ha utilizado el equipamiento descrito previamente. Los ejemplares a estudiar *in vivo* se situaban entre un portaobjetos y un cubreobjetos con una gota de agua del propio arroyo; el exceso de agua se iba eliminando progresivamente con la ayuda de papel secante para fijar la posición del individuo. Previa observación de los ejemplares *in vivo* y la realización de los cortes al microtomo, se anestesiaban los individuos añadiendo una solución de sulfato de Magnesio (MgSO₄ 7%) de manera progresiva en una placa de Petri con agua; se procedía a la fijación en formaldehído 4% durante 24 horas y a su conservación en etanol 70%.

Para la preparación de los cortes al microtomo se ha procedido al habitual proceso: deshidratación de los individuos en baños de etanol de concentración creciente (70%, 80%, 90% y absoluto) de 10 minutos cada uno, inmersión en un baño de xileno otros 10 minutos; inclusión en parafina/xileno 1:1 a 57°C en una estufa toda la noche y posteriormente bloque de parafina a 57°C durante 6 horas;

realización de cortes seriados de 8 μm con un microtomo Microm HM 340 E; colocación y pegado en portaobjetos gelatinizados humedecidos, que serán deshidratados en estufa a 37°C; desparafinado de los portaobjetos en placa calefactora; hidratación de los cortes tras un baño de xileno de 10 minutos para retirar restos de parafina, utilizando baños de etanol de concentración decreciente (absoluto, 90%, 80%, 70%) de 10 minutos cada uno y baño en agua destilada de 10 minutos; coloración de los cortes con Hematoxilina de Ehrlich (8 minutos), agua corriente (6 minutos), eosina (3 minutos) y lavado con agua destilada; deshidratación en baños de etanol de concentración creciente (70%, 80%, 90%, absoluto) de 10 minutos cada uno, y baño final en xileno el mismo tiempo. Por último, se procede al montaje de los cortes con Bálsamo de Canadá y colocación de cubreobjetos.

Sea cual fuere el modo de preparación de los ejemplares, lo que se pretende es centrar el estudio en el conocimiento de las estructuras anatómicas relacionadas con la genitalia a nivel del segmento XI (segmento atrial). Así pues, a lo largo del trabajo, se tomarán los siguientes datos: diámetro aproximado del individuo en XI; posición de los poros espermatecales; número, forma, dimensiones y ubicación de las sedas peneanas; presencia o ausencia de estructuras específicas para el acoplamiento; Número, grosor, y diámetro a nivel de la inserción ventral y de la ramificación dorsal (zona de inserción) de los paquetes musculares que intervienen en el proceso de anclaje y transferencia de espermatozoides (Tabla 1).

4. RESULTADOS

En la tabla 1, se recogen los resultados de las observaciones de las estructuras relacionadas con el anclaje y transferencia de espermatozoides en las 5 especies estudiadas. En las figuras (3-9) se presentan diversas imágenes obtenidas para cada una de estas especies, partiendo de una visión general que facilita la ubicación de las estructuras y entrando luego en el detalle. Al final de este apartado, se presenta un breve resumen de las características de cada una de las especies estudiadas.

Spp.	Ø XI (µm)	Posic. poros sperm.	Estructuras para el acoplamiento (sedas peneanas)			Otras estruct. especif. acoplam.	Paquetes musculares		
			Nº	Long. (µm)	Ø máx (sin nód. µm)		Nº	Grosor (µm)	Ø ramif. dorsal (µm)
<i>R. c</i>	350-500 (700)	Alinead. sedas som. ventr.	2-3	102-137 (95)	5-6	No ⁽¹⁾	2	Ant. 7-11(5) Post. 15-23	93-100
<i>R. sp1</i>	250	Alinead. sedas som. ventr.	2	70	3	No ⁽²⁾	2	Ant. 9 Post. 10	-
<i>R. sp2</i>	180-200	Alinead. sedas som. ventr.	1-2	66-68	3	Sí (papila)	2	Ant. 9 Post. 8-9(6)	-
<i>R. f</i> (1)	210-340 (160)	Lateral	1	118-140 (80)	11-14(6)	No ⁽³⁾	1	Ant. 22-45 (10)	124-184
<i>P. m</i> (1)	550-600	Alinead. sedas som. ventr.	4-5	175-233	7-9	Sí (puente anclaje)	1	Post. 38-45	275-375

Tabla 1. Datos relativos a las estructuras relacionadas con el anclaje y transferencia de espermatozoides en las diferentes especies estudiadas y diámetro de los ejemplares. ⁽¹⁾ No se aprecian, a falta de una observación detallada en cortes y al MEB; ⁽²⁾ No se observan estructuras tegumentarias específicas, pero el desarrollo del clítelos en la cara ventral del segmento XI, lleva a pensar en la posibilidad de secreciones para facilitar la unión durante el apareamiento; ⁽³⁾ No se aprecian; la ubicación lateral de los poros de las espermatecas y la potente musculatura de sus conductos, servirían como propio lugar de anclaje para las sedas peneanas.

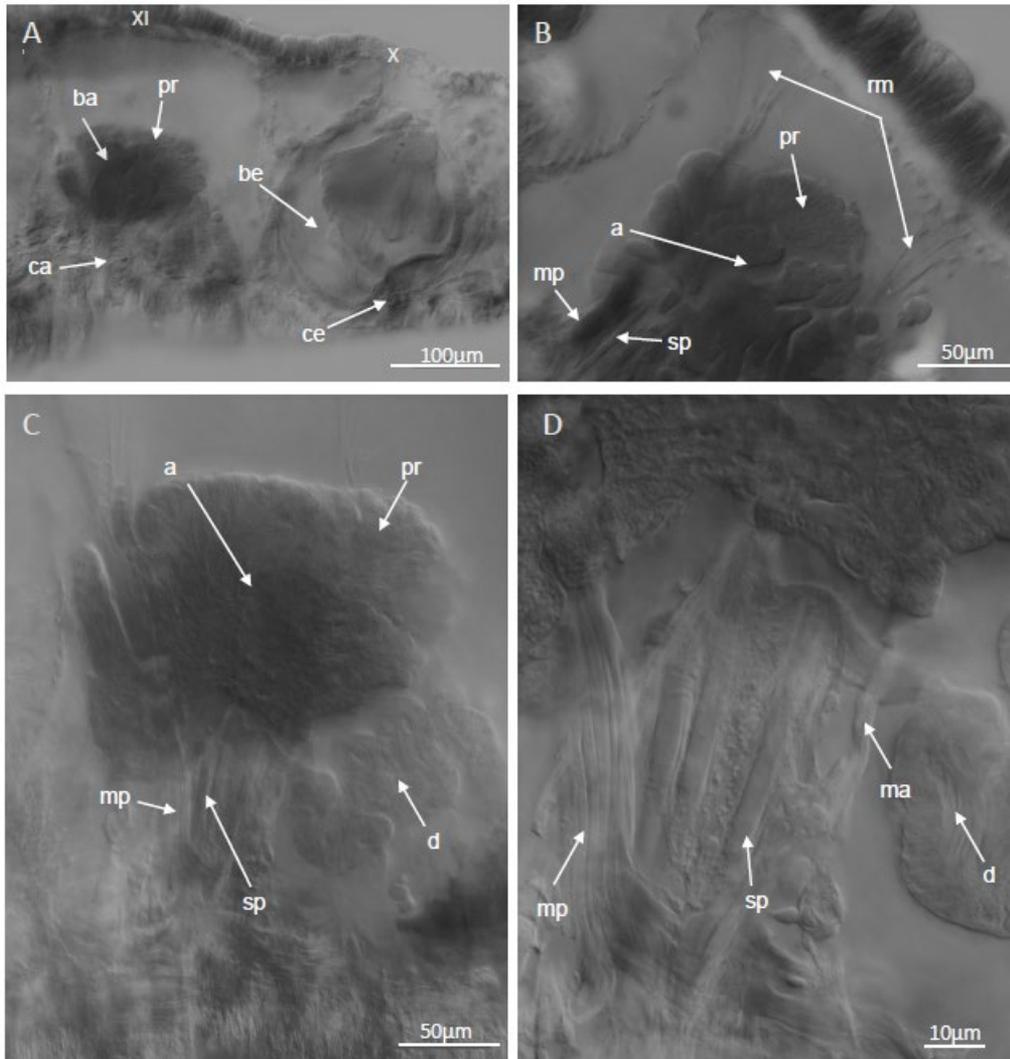


Figura 3. *Rhyacodrilus coccineus*. (A) Vista general de la región genital, segmentos X y XI, ejemplar en disección; (B, C y D) Detalle de la musculatura de anclaje. **a**, atrio; **ba**, bombilla del atrio; **be**, bombilla de la espermateca; **ca**, conducto atrial; **ce**, conducto de la espermateca; **d**, conducto deferente; **ma**, paquete muscular anterior de anclaje en la zona ventral; **mp**, paquete muscular posterior de anclaje en la zona ventral; **pr**, próstata; **rm**, ramificaciones dorsales de los paquetes musculares de anclaje; **sp**, sedas peneanas.

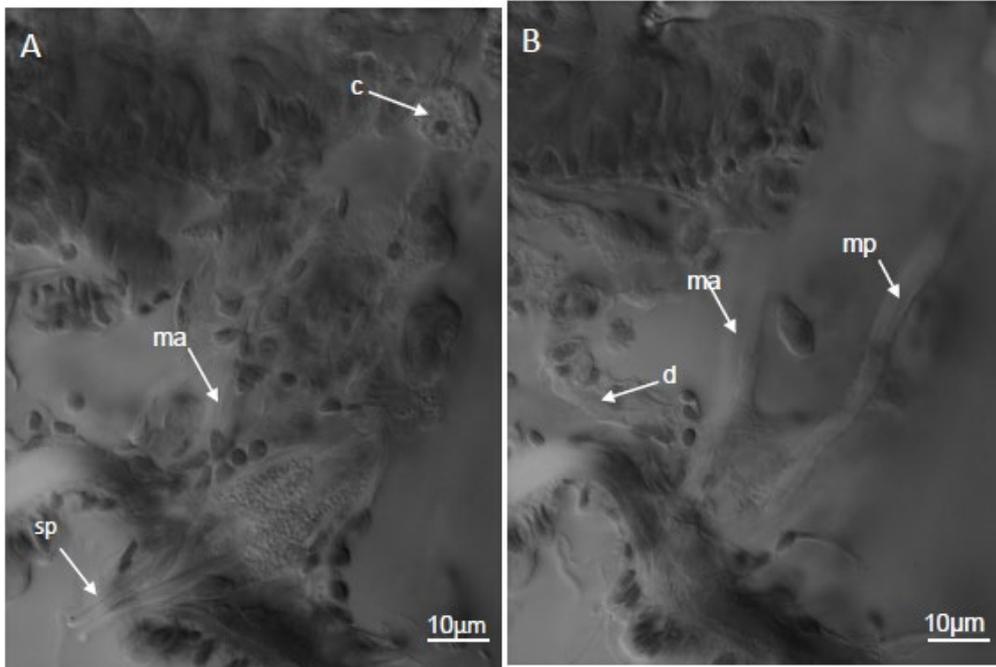


Figura 4. *Rhyacodrilus* sp1. Ejemplar en disección. (A) Sedas peneanas y paquete muscular anterior de anclaje; (B) Paquetes musculares de anclaje. **c**, celomocito; **d**, conducto deferente; **ma**, paquete muscular anterior de anclaje en la zona ventral; **mp**, parte ventral del paquete muscular posterior en anclaje; **sp**, sedas peneanas.

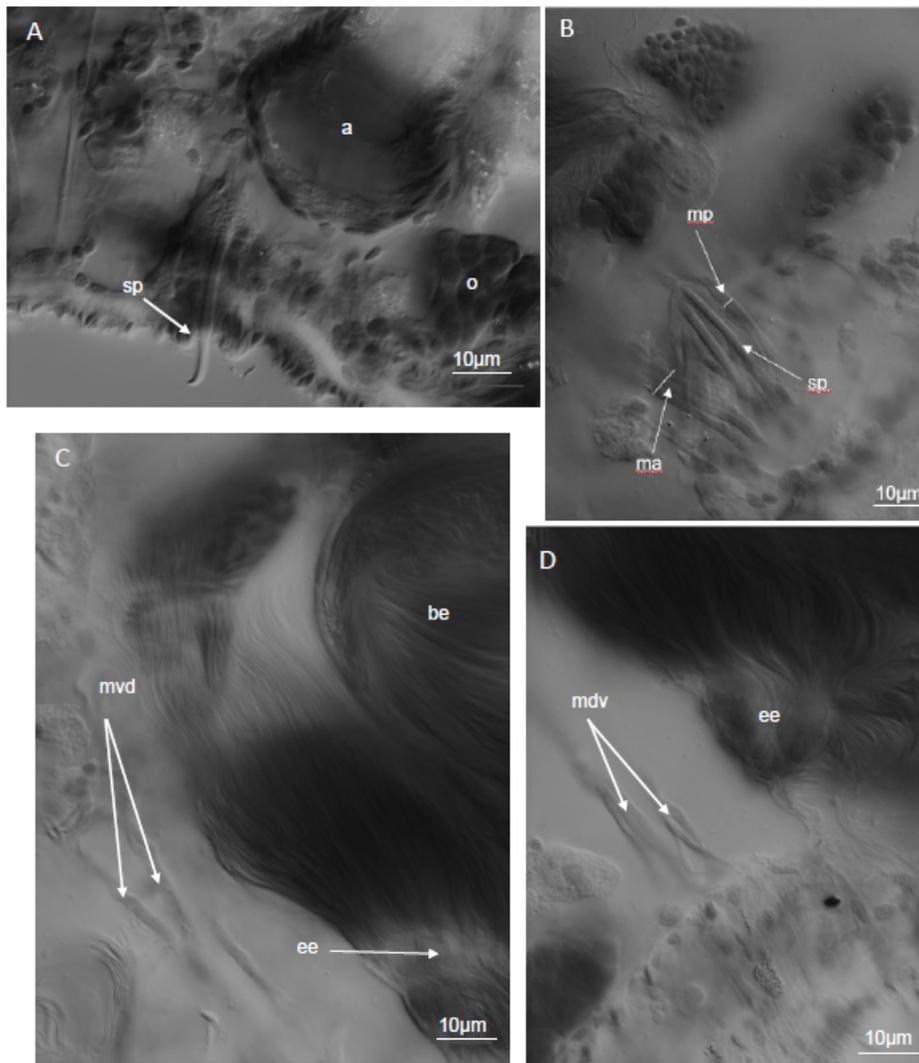


Figura 5. *Rhyacodrilus* sp2. Ejemplares en disección. (A) Vista general del segmento XI; (B) Detalle de la musculatura de anclaje en la zona ventral; (C y D) Paquetes musculares dorsoventrales. **a**, atrio; **be**, bombilla de la espermateca repleta de espermatozoides; **ee**, embudo de la espermateca; **ma**, paquete muscular anterior de anclaje; **mdv**, paquetes musculares dorsoventrales; **mp**, paquete muscular posterior de anclaje; **sp**, seda peneana.

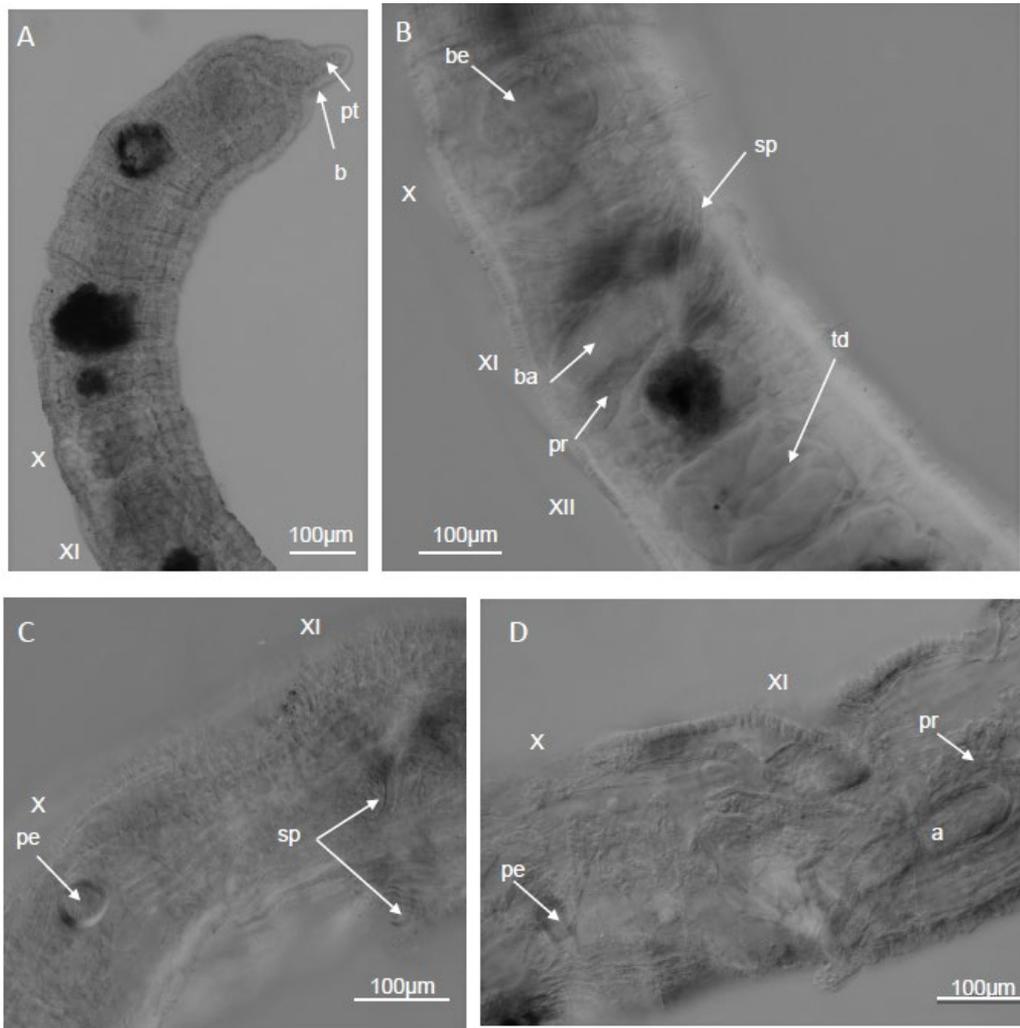


Figura 6. *Rhyacodrilus falciformis*. Ejemplares *in toto*. (A) Vista general de la región anterior; (B, C y D) Vista general de la región genital. **a**, atrio; **b**, boca; **ba**, bombilla del atrio; **be**, bombilla de la espermateca; **pe**, poro de la espermateca; **pr**, próstata; **pt**, prostomio; **sp**, sedas peneanas; **td**, tubo digestivo.

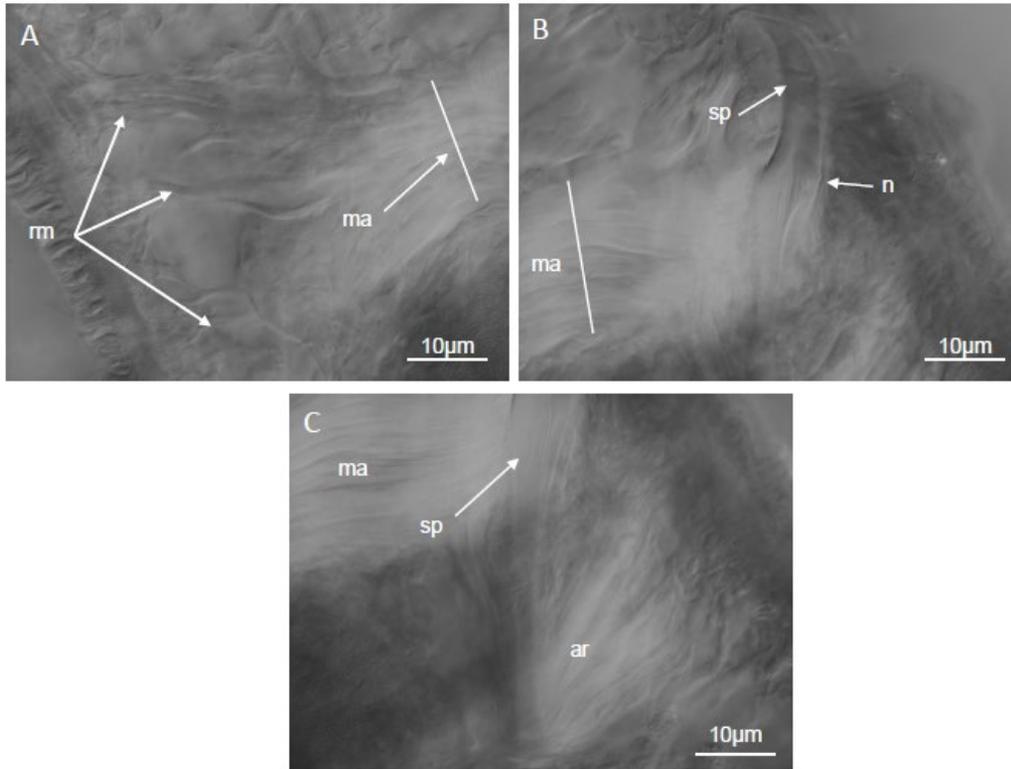


Figura 7. *Rhyacodrilus falciformis*. Ejemplar en disección. Detalles de las estructuras de anclaje. (A) Ramificación dorsal del paquete muscular de anclaje (B) Parte distal de la seda peneana e inserción ventral del paquete muscular de anclaje. (C) Parte proximal de la seda peneana, musculatura arciforme e inserción ventral del paquete muscular de anclaje. **ar**, musculatura arciforme; **ma**, paquete muscular anterior de anclaje en la zona ventral; **n**, nódulo; **rm**, ramificación dorsal del paquete muscular de anclaje; **sp**, seda peneana.

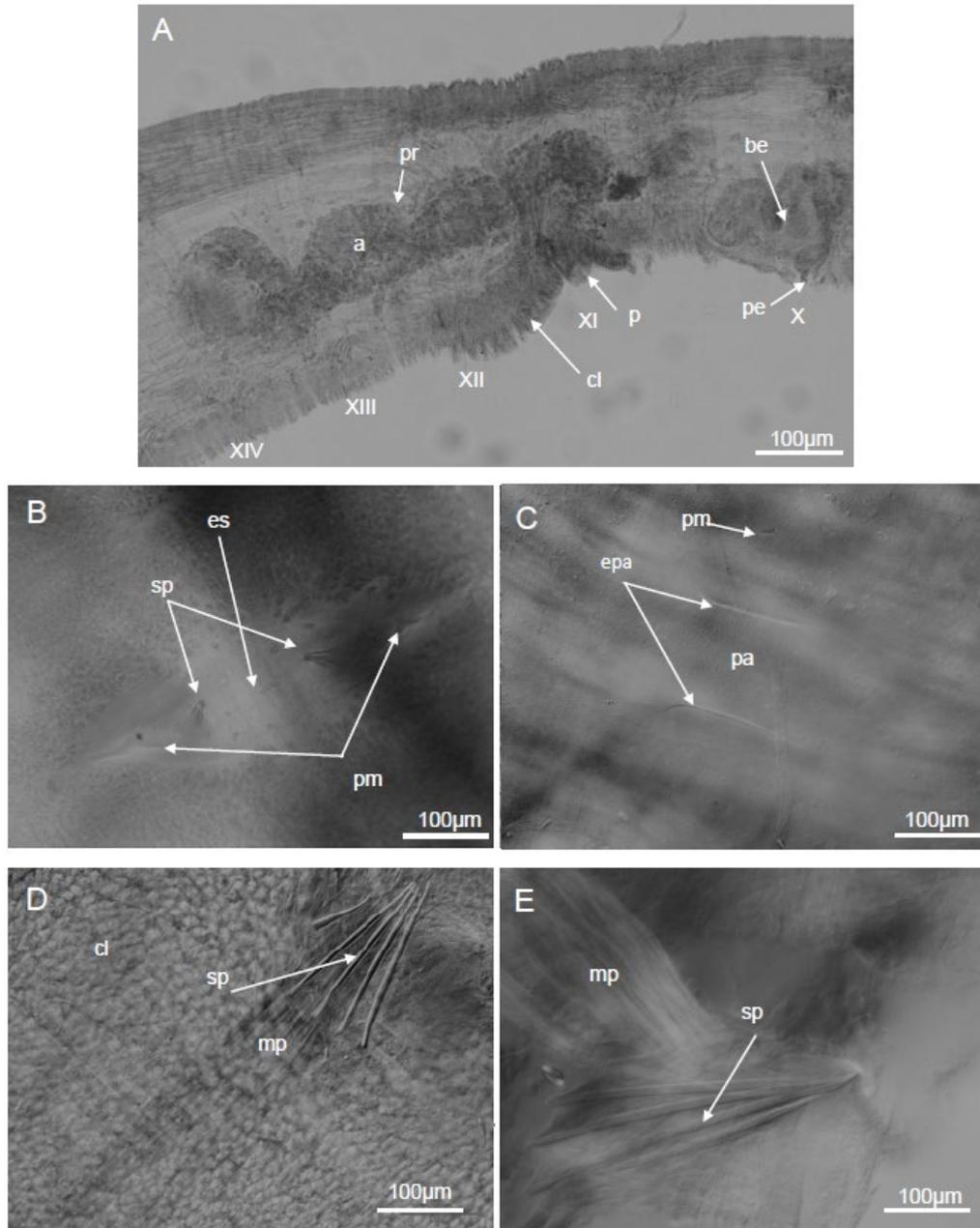


Figura 8. *Peristodrilus montanus*. (A) Visión general de la región genital de un ejemplar en disección; (B, C, D y E) Estructuras relacionadas con el anclaje y la transferencia de espermetatozoides, observación *in vivo*. **a**, atrio tubular; **be**, bombilla de la espermateca; **cl**, clitelo; **es**, escotadura trasnversal; **epa**, escotaduras laterales del puente de anclaje; **mp**, paquete muscular posterior de anclaje en la zona ventral; **pa**, puente de anclaje; **pe**, poro de la espermateca; **pm**, poros genitales masculinos; **pr**, próstata; **sp**, sedas peneanas.

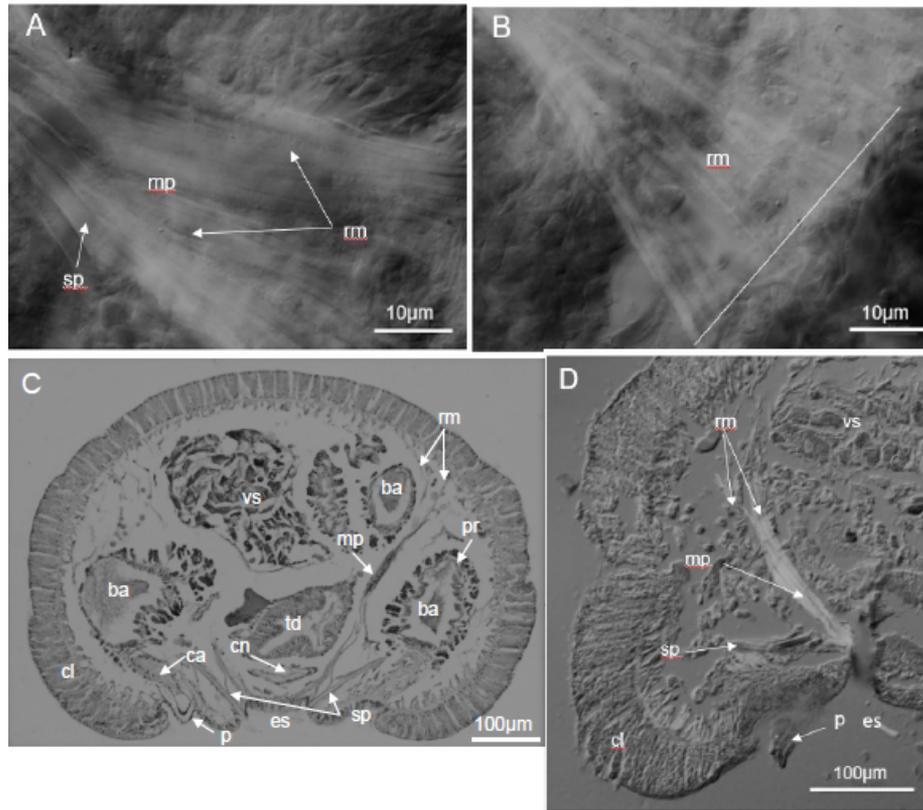


Figura 9. *Peristodrilus montanus*. (A y B) Musculatura de anclaje de un ejemplar en disección; (C y D) Estructuras implicadas en el anclaje y la transferencia de espermatozoides, en cortes al microtomo. **ba**, bombilla del atrio; **cl**, clitelo; **cn**, cadena nerviosa; **es**, escotadura para el puente de anclaje; **mp**, paquete muscular posterior de anclaje en la zona ventral; **p**, pene; **pr**, próstata, **sp**, sedas peneanas; **rm**, ramificación dorsal del paquete muscular de anclaje; **td**, tubo digestivo; **vs**, vesícula seminal.

Rhyacodrilus coccineus tiene un diámetro de 350-700 µm a nivel del segmento XI; poros espermatecales alineados con las sedas somáticas ventrales; 2-3 sedas peneanas a modo de estructuras para el acoplamiento con una longitud de 95-135 µm y un diámetro máximo (excluido el nódulo) de 5-6 µm.

Presenta 2 paquetes musculares dorsoventrales anclados por un lado en la pared corporal próxima a las sedas peneanas, y por el otro en un área relativamente amplia de la pared dorsolateral del cuerpo (hasta 100 µm de diámetro), tras una profusa ramificación. El paquete muscular posterior es más grueso (18-22 µm) que el anterior (5-11 µm).

Rhyacodrilus sp1 tiene un diámetro de 250 μm a nivel del segmento XI; poros espermatecales alineados con las sedas somáticas ventrales; 2 sedas peneanas a modo de estructuras para el acoplamiento con una longitud de 70 μm y un diámetro máximo (excluido el nódulo) de 3 μm .

Presenta 2 paquetes musculares dorsoventrales anclados en la pared corporal próxima a las sedas peneanas. El diámetro de ambos paquetes musculares es similar (10 μm el posterior y 9 μm el anterior).

Rhyacodrilus sp2 tiene un diámetro de 180-200 μm a nivel del segmento XI; poros espermatecales alineados con las sedas somáticas ventrales; 1 o 2 sedas peneanas a modo de estructuras para el acoplamiento con una longitud de 66-69 μm y un diámetro máximo (excluido el nódulo) de 2,5-3 μm .

Presenta 2 paquetes musculares dorsoventrales de igual diámetro (9 μm) anclados en la pared corporal próxima a las sedas peneanas.

Rhyacodrilus falcioformis tiene un diámetro de 160-340 μm a nivel del segmento XI; poros espermatecales laterales; seda peneana única a modo de estructura acanalada para el acoplamiento y la transferencia de espermatozoides, con una longitud de 77-135 μm y un diámetro máximo (excluido el nódulo) de 5-14 μm .

Presenta un potente paquete muscular dorsoventral único anclado por un lado en la pared corporal próxima a la seda peneana, y por el otro, en un área amplia de la pared dorsolateral del cuerpo (hasta 190 μm de diámetro), tras una profusa ramificación. El paquete muscular, de 20-45 μm de diámetro, está formado por un amplio conjunto de fibras.

Peristodrilus montanus, tiene un diámetro de 550-600 μm a nivel del segmento XI; poros espermatecales alineados con las sedas somáticas ventrales; 4-5 sedas peneanas a modo de estructuras para el acoplamiento con una longitud de 175-235 μm y un diámetro máximo (excluido el nódulo) de 7-9 μm . Dispone de un puente de anclaje para facilitar el acoplamiento.

Presenta un potente paquete muscular dorsoventral único anclado por un lado en la pared corporal próxima a las sedas peneanas, y por el otro, en un área muy amplia de la pared dorsolateral del cuerpo (275-375 μ m de diámetro), tras una profusa ramificación. El paquete muscular, de 45-110 μ m de diámetro, está formado por un amplio conjunto de fibras.

5. DISCUSIÓN

En el 2006, Jamieson publica una detallada revisión de la biología de la reproducción de los oligoquetos, analizando todo tipo de estructuras implicadas: clitelo, espermatecas, atrios, gonoductos, poros genitales, sedas genitales, quetóforos, etc... Este trabajo pone de manifiesto el nivel de conocimiento de las estructuras relacionadas con la unión y transferencia de espermatozoides, relativamente avanzado en los oligoquetos terrestres (mayoritariamente megadrilos), y muy escaso en los oligoquetos acuáticos (generalmente microdrilos). Así, en lo que se refiere a estos últimos, el trabajo de Jamieson, se ve prácticamente limitado a reproducir los resultados publicados al respecto por Cuadrado y Martínez-Ansemil (2001). El estudio de estos últimos autores se centra prácticamente en el conocimiento de la anatomía externa de la región genital de diversos naídidos, y se ha visto complementado posteriormente con observaciones relativas a diversos representantes de otras familias (Caramelo y Martínez-Ansemil, 2012).

Hasta la fecha, ninguno de estos trabajos, ni otros estudios parciales en los que se aportan algunos datos al conocimiento de las estructuras relacionadas con el acoplamiento y la transferencia de espermatozoides en los oligoquetos acuáticos, se han adentrado en el estudio de los mecanismos internos implicados en este proceso. El descubrimiento de un “puente de anclaje” en *Peristodrilus* (Cuadrado y Martínez-Ansemil, 2001), la presencia de una pequeña papila tegumentaria entre los poros espermatecales de *Krenedrilus Dumnicka* (Giani et al, 1990; Martínez-Ansemil y Collado, 1996), la presencia de papilas o puentes de anclaje en algunas especies de *Rhyacodrilus* (Rodríguez y Fend, 2013) y el acoplamiento directo que parece producirse en *R. falciformis* a través de potentes sedas peneanas falciformes y poros espermatecales laterales y musculosos (Cuadrado y Martínez-Ansemil, 2001), son los que han motivado el inicio del conocimiento de estructuras internas implicadas en el acoplamiento y transferencia de espermatozoides en los riacodrilíneos, objeto de este Trabajo Fin de Grado.

En los trabajos previamente citados, se pone claramente de manifiesto como, durante el apareamiento, los naídidos juntan sus cuerpos por su cara ventral, con los prostomios en direcciones opuestas, de tal manera que se produce la

aposición de poros masculinos y poros espermatecales entre ambos miembros de las parejas posibilitando así la transferencia mutua de esperma. En el caso de *Rhyacodrilus falciformis*, las sedas peneanas realizarían una doble función, por un lado, sirven para anclarse firmemente al cuerpo de su pareja, y por otro, por su forma acanalada y su penetración directa en los poros espermatecales, para vehicular los espermatozoides hacia la bombilla de la espermatecas. Las otras 3 especies de *Rhyacodrilus* aquí estudiadas y *Peristodrilus montanus*, tienen sus poros espermatecales alineados con las sedas ventrales somáticas, y, sus sedas peneanas (generalmente más de una) carecen de acanaladura, y servirían únicamente para el anclaje, bien enganándose al propio tegumento de la pareja o a estructuras especializadas (papilas y puentes de anclaje). El hecho de no haber detectado estructuras específicas para el anclaje entre los poros espermatecales (segmento X) de *R. coccineus* y *R. sp1*, no implica necesariamente su ausencia, pues se trata de dos especies de pequeño tamaño que no han sido todavía observadas al MEB. En cualquier caso, aún no cabe descartar que en estas y otras especies de riacodrilíneos el anclaje pudiera tener lugar directamente con perforación del tegumento por las sedas peneanas, produciéndose un apareamiento traumático *sensu lato*, de acuerdo con el amplio concepto del término establecido por Lange et al. (2013).

De nuestro estudio se desprende que los mecanismos internos que permiten el anclaje de las sedas peneanas y la firme sujeción entre los miembros de la pareja durante la transferencia mutua de espermatozoides podrían ser similares en el conjunto de los riacodrilíneos: paquetes musculares dorsoventrales compactos en la zona de unión próxima a las sedas peneanas y ramificados en el extremo opuesto, con pequeñas diferencias en lo que respecta al número y al calibre.

Los resultados obtenidos apuntan a que el diámetro de los individuos y el calibre de las sedas peneanas, están directamente relacionados con el grosor de los paquetes musculares, de manera que, aquellas especies que presentan paquetes musculares de mayor grosor, son las que tienen un mayor diámetro a nivel del segmento XI y unas sedas peneanas de mayor calibre. Este es el caso de *Rhyacodrilus falciformis* y *Peristodrilus montanus*. Curiosamente, son las especies de menor tamaño (*Rhyacodrilus coccineus*, *R. sp1* y *R. sp2*), las que presentan dos paquetes musculares, aunque de menor calibre, lo que podría

interpretarse como un mecanismo de sujeción más preciso. Obviamente, no debemos olvidar, que, en los anélidos, tanto las sedas peneanas como las somáticas, están provistas de la típica musculatura arciforme encargada de su movimiento.

La presencia de paquetes de sedas peneanas de anclaje, orientados uno frente a otro, no es exclusivo de los géneros aquí estudiados. Se encuentran también en algunos representantes de otros géneros: *Krenedrilus* (Giani et al, 1990), *Rhizodrilus* Smith (Baker y Brinkhurst, 1981), y *Limnodriloides* Pierantoni (Erséus, 1982) fundamentalmente. El estudio de la musculatura interna de la región genital en estos géneros, resultaría interesante de cara a complementar el conocimiento de los mecanismos internos implicados en el anclaje en los naídidos. Aunque cada vez más la filogenia se circunscribe a estudios moleculares, el estudio morfológico comparado de los sistemas de anclaje de los naídidos, podría igualmente desempeñar un papel importante en el conocimiento filogenético del grupo, ayudando a centrar los problemas a analizar.

6. CONCLUSIONES

Los riacodrilíneos provistos de sedas peneanas poseen un sistema muscular tractor específico propio para su anclaje y sujeción al cuerpo de la pareja durante la transferencia mutua de espermatozoides.

Por cada haz de sedas peneanas existe uno o dos paquetes musculares compactos en su base, firmemente unidos a la pared corporal próxima a las sedas peneanas. Cada paquete se ramifica profusamente para unirse a la cara dorsolateral de la pared corporal.

El número y grosor de los paquetes musculares, y la superficie de anclaje a la cara dorsolateral de la pared corporal podrían guardar relación con el tamaño de los individuos y de sus sedas peneanas.

CONCLUSIÓN

Os riacodrilíneos provistos de sedas peneanas posúen un sistema muscular tractor específico propio para a súa ancoraxe e suxeición ao corpo da parella durante a transferencia mutua de espermatozoides.

Por cada feixe de sedas peneanas existe un ou dous paquetes musculares compactos na súa base, firmemente unidos á parede corporal próxima ás sedas peneanas. Cada paquete ramifícase profusamente para unirse á cara dorsolateral da parede corporal.

O número e grosor dos paquetes musculares, e a superficie de ancoraxe á cara dorsolateral da parede corporal poderían gardar relación co tamaño dos individuos e das súas sedas peneanas.

CONCLUSIONS

The rhyacodrilines provided with penial chaetae have their own specific tractor muscular system for their anchorage and holding to the partner's body during the mutual sperm transfer.

Associated to each bundle of penial chaetae there are one or two compact muscles firmly attached to the body wall. Each muscle branches into numerous muscular strands that join the dorsolateral wall of the worm.

The number and thickness of the muscles, and the anchoring surface to the dorsolateral body wall could be related to the size of the individuals and their penial chaetae.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Baker, R. O. y Brinkhurst, H.R. (1981). A revision of the genus *Monopylephorus* and redefinition of the subfamilies Rhyacodrilinae and Branchiurinae (Tubificidae: Oligochaeta). *Canadian Journal of Zoology*, 59(6), 939-965.
- Brinkhurst, R.O. y Jamieson, B.G.M. (1971). *Aquatic Oligochaeta of the world*. Edinburgh: Oliver & Boild.
- Caramelo, C. y Martínez-Ansemil, E. (2012). Morphological investigations of microdrile oligochaetes (Anellida, Clitellata) using scanning electron microscopy. *Turkish Journal of Zoology*, 36(1), 1-14.
- Cuadrado, S. y Martínez-Ansemil, E. (2001). External structures used during attachment and sperm transfer in tubificids (Annelida, Oligochaeta). *Hydrobiologia*, 463, 107-113.
- Erséus, C. (1982). Taxonomic Revision of the Marine Genus *Limnodriloides* (Oligochaeta: Tubificidae). *Verh. naturwiss. Ver. Hamburg*, 25, 207-277
- Erséus, C. (1990). Cladistic analysis of the subfamilies within the Tubificidae (Oligochaeta). *Zoologica Scripta*, 19 (1), 57-63.
- Erséus, C. y Gustavsson, L. (2002). A proposal to regard the former family Naididae as a subfamily within Tubificidae (Annelida, Clitellata). *Hydrobiologia*, 485, 253-256.
- Erséus, C. Wetzel, M.J. y Gustavsson, L. (2008). ICZN rules – a farewell to Tubificidae (Annelida, Clitellata). *Zootaxa*, 1744(1), 66-68.
- Erséus, C. Williams, B.W., Horn, K.M., Halanynch, K.M., Santos, S.R., James, S.W., des Châtelliers, M.C. y Anderson, F.E. (2020). Phylogenomic analyses reveal a Paleozoic radiation and support a freshwater origin for clitellate annelids. *Zoologyca Scripta*, 49, 614-640.
- Giani, N., Erséus, C. y Martínez-Ansemil, E. (1990). Redefinition of the subterranean genus *Krenedrilus* Dumnicka (Oligochaeta, Tubificidae) with a redescription of *K. papillatus* Dumnicka, 1983 and the description of two new species. *Stygologia*, 5, 55-65.
- Jamieson, B.G.M. (2006). Non-leech Clitellata. En G. Rouse y F. Pleijel (Eds.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida* (pp. 235-392). Enfield (NH): Science Publishers.

- Lange, R., Reinhardt, K., Michiels, N.K. y Anthes, N. (2013). Functions, diversity, and evolution of traumatic mating. *Biological Reviews*, 88, 585-601.
- Martin, P., Martínez-Ansemil, E. y Sambugar, B. (2010). The Baikalian genus *Rhyacodriloides* in Europe: phylogenetic assessment of Rhyacodriloidinae subfam. n. within the Naididae (Annelida). *Zoologica Scripta*, 39(5), 462-482.
- Martin, P., Martínez-Ansemil, E., Pinder, A., Timm, T. y Wetzel, M.J. (2008). Global diversity of oligochaetous clitellates ("Oligochaeta" Clitellata) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 117-127.
- Martínez-Ansemil, E. y Collado, R. (1996). Two new species of freshwater Oligochaeta from the North-west Iberian Peninsula: *Krenedrilus realis* sp. nov. (Tubificidae) and *Cernosvitoviella bulboducta* sp. nov. (Enchytraeidae). *Journal of Zoology*, 240, 363–370.
- Martínez-Ansemil, E. y Parapar, J. (2002). Os Anélidos. En: *Proxecto Galicia: Natureza. Vol 38: Zooloxía II. Parte I: Os anélidos e outros Protóstomos* (pp. 24-137). A Coruña: Hércules de Ediciones.
- Rodríguez, P. y Fend, S.V. (2013). New species of *Rhyacodrilus* (Annelida: Clitellata: Rhyacodrilinae) of North America, with re-description of *R. sodalis* (Eisen, 1879). *Zootaxa*, 3664(1), 001-044.
- Pinder, A.M. y Brinkhurst, R. (2000). A review of the Tubificidae (Annelida: Oligochaeta) from Australian inland waters. *Memoirs of Museum Victoria*, 58 (1), 39-75.
- Van Haaren, T., Martin, P. y Dubois, A. (2021). Authorship and date of five family-series nomina in Oligochaeta (Annelida): Lumbricidae, Naididae, Enchytraeidae, Tubificidae and Lumbriculidae. *Bionomina*, 21, 140-145.

ANEXOS

Especie	Preparación	Coloración	Lugar de recolección	Fecha de recolección	Hábitat
<i>R. coccineus</i> (1)	Disección	Hematoxilina	Cantabria	2003	Freático
<i>R. coccineus</i> (2)	Disección	Hematoxilina	Cantabria	2003	Freático
<i>R. coccineus</i> (3)	Disección	Sin colorear	Serbia	1977	Manantial
<i>R. coccineus</i> (4)	Disección	Sin colorear	Serbia	1977	Manantial
<i>R. coccineus</i> (5)	<i>In toto</i>	Sin colorear	Serbia	1977	Manantial
<i>R. coccineus</i> (6)	Disección	Paracarmin	Serbia	1977	Manantial
<i>R. coccineus</i> (7)	Disección	Sin colorear	Serbia	1977	Manantial
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (1)	<i>In toto</i>	Hematoxilina	Galicia	2014	Arroyo
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (2)	<i>In toto</i>	Sin colorear	Galicia	2014	Arroyo
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (3)	Disección	Sin colorear	Galicia	2014	Arroyo
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (4)	<i>In toto</i>	Hematoxilina	Cantabria	2003	Freático
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (5)	<i>In toto</i>	Glicerina	Croacia	1984	Manantial
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (6)	<i>In toto</i>	Sin colorear	Croacia	1984	Manantial
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (7)	<i>In toto</i>	Sin colorear	Croacia	1984	Manantial
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (8)	Disección	Sin colorear	Italia	1986	Manantial
<i>Rhyacodrilus falciformis</i> (9)	Disección	Sin colorear	Italia	1997	Manantial
<i>R. sp1</i> (1)	Disección	Paracarmin	Cerdeña	2006	Cueva
<i>R. sp2</i> (1)	Disección	Paracarmin	Cerdeña	2005	Cueva

<i>R. sp2</i> (2)	Dissección	Paracarmín	Cerdeña	2005	Cueva
<i>R. sp2</i> (3)	Dissección	Paracarmín	Cerdeña	2006	Cueva
<i>R. sp2</i> (4)	Dissección	Paracarmín	Cerdeña	2008	Cueva
<i>Peristodrilus montanus</i> (1)	Dissección	Hematoxilina	Duero	1981	Río
<i>Peristodrilus montanus</i> (2)	<i>In toto</i>	Sin colorear	Duero	1981	Río
<i>Peristodrilus montanus</i> (3)	Dissección	Paracarmín	Duero	1981	Río
<i>Peristodrilus montanus</i> (4)	Cortes al microtomo	Hematoxilina	Galicia	1999	Arroyo
<i>Peristodrilus montanus</i> (5)	Cortes al microtomo	Hematoxilina	Galicia	1999	Arroyo
<i>Peristodrilus montanus</i> (6)	Cortes al microtomo	Hematoxilina	Galicia	1999	Arroyo
<i>Peristodrilus montanus</i> (7)	Observación <i>in vivo</i>	Sin colorear	Galicia	2021	Arroyo
<i>Peristodrilus montanus</i> (8)	Observación <i>in vivo</i>	Sin colorear	Galicia	2021	Arroyo
<i>Peristodrilus montanus</i> (9)	Cortes al microtomo	Hematoxilina y Eosina	Galicia	2021	Arroyo

Tabla 1. Material biológico y técnicas de preparación.