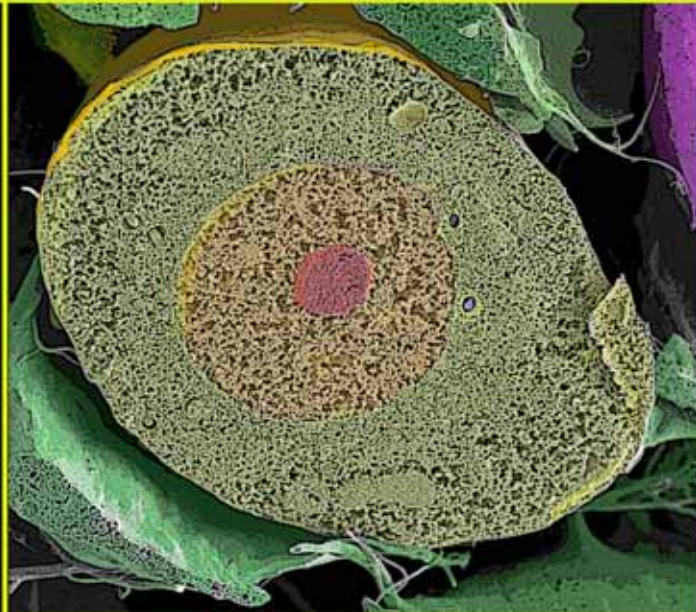


Departamento de Biología Celular  
Universidad de Barcelona

# Sexual reproduction in demosponges: ecological and evolutive implications

Reproducción sexual en demosponjas:  
implicaciones ecológicas y evolutivas



**Ana Riesgo Gil**

Barcelona 2007

# Agradecimientos

He esperado hasta el último momento para escribir los agradecimientos. En parte por el desenfreno intelectual que supone acabar la tesis, que no te deja tiempo para las emociones, y en parte por morriña tonta de retrasar el trance para no acabar. Es extraño, pero a pesar de querer terminar la tesis, no quería terminarla. No quería que se acabara esta etapa que empecé con tantas ganas. Y es que ha habido buenos momentos (muy buenos), y también malos y muy malos momentos. Ha habido crisis de vocación, crisis de identidad, ha habido fracasos, decepciones, cansancio, hartazgo, saturación...Pero, gracias a esos malos momentos, he descubierto el apoyo de mucha gente (y a veces hasta de desconocidos), gente que me ha dado ánimos, gente que me ha echado una y mil manos, que me ha encontrado cuando estaba perdida y que me ha hecho ver las posibilidades que yo tenía. Por esto (y por muchas otras razones) estoy en deuda con todos ellos, y necesitaba dejar constancia de toda la ayuda, el apoyo, el amor y la comprensión que he recibido en estos cuatro años.

No habría empezado la tesis si no me hubiera dado clase Lara en un curso de Biología Marina en Santander. Fue ella quien sembró en mi el germen del amor por los “bichos” marinos que me ha llevado a donde estoy. Gracias, Lara, por haberme mostrado (y ejemplificado) el sacrificio de esta profesión, que a pesar de todo, acogías con tanta dedicación y tanto cariño. Gracias por estar ahí y darme ánimos, por tus palabras para tranquilizarme y para darme coraje cuando me faltaba. Y por tantas risas en aquel laboratorio tan precario que tanto he echado de menos...Gracias también a Gerardo, que me dió la oportunidad de aprender, y enseñar, biología marina *in situ*.

Y aunque todo empezó, realmente, unos cinco años más tarde, la primera vez que pensé en hacer una tesis fue ese verano de 1999, observando a la lupa y al microscopio (a las tantas de la mañana) ácaros, copépodos y otros pequeños monstruitos

marinos, con Lara y Rocío, estampa que repetimos incansablemente durante casi dos años más en el departamento de Zoología de la “complu”. Allí compartí con Rocío los rigores de la falta de presupuesto de la universidad para investigar, y pasábamos las horas contando sin contador hasta 11000 bichos, lavando interminablemente los crubreobjetos mil veces con alcohol porque no podíamos derrochar nada, robando de los laboratorios de prácticas puntas de pipetas, portas y otras cosas básicas, y mendigando ácido láctico por toda la facultad. Gracias, Rocío, “güelis”, “zooide colonial”, en primer lugar por animarme a venir a Blanes y hacer la tesis, con esa ilusión y vocación por este trabajo que siempre has contagiado. Y gracias también por tantísimo apoyo, por tanta comprensión, por tantas horas de despellejamiento conjunto, por todos los días que viniste a Blanes a compartir frustraciones y alegrías, por tanta comunicación submarina y por *el cariño que TANTO te ha costado demostrar*. Y por estar, aunque lejos, tan cerca. Y sin que signifique un orden en los afectos, gracias también Henar, por tantísimas cosas que sería una lista inacabable. Gracias por no haberte olvidado de mi a pesar de “haberte dejado tirada en Madrid”, gracias por todo el presupuesto que te has dejado en móvil para que nuestra amistad (ese milagro que se obró delante de un “gallego” rodeado de avispas) no perdiera intensidad, por quererme y apoyarme aún cuando se hace difícil, por entender lo que me pasaba sólo por un matiz de mi voz o por una mueca de mis ojos, por compartir tan generosamente todo conmigo, y por comprenderme tanto y durante tantísimo tiempo!! Y gracias Esther, el otro zooide colonial, por tu apoyo, tu cariño, tu increíble sentido del humor y tu postura ante la vida. Gracias a las tres, que me habéis hecho aprender mucho de cómo sois. Que os quiero mucho, mucho, mucho. Gracias también Andrés, por tu ironía, que me ha hecho ver el lado “simpático” de todo lo malo (así es el mundial), por hacerme reír en todas las situaciones, por venir al pueblo a verme, y por estar ahí (siempre).

Y si mencionaba que dejé tirada en Madrid a Henar, no fue en realidad a ella sola. A todos mis amigos que dejé allí debo agradecerles todas las visitas, las llamadas, el calorcito madrileño y el apoyo incondicional que me habéis brindado: Ana, Marinieves, Pedro, Santi, Lara, Tamara, Amaya, Víctor, Carlos, Natalia V., Carmen, David, Natalia B, Juan, Alicia....

En Madrid (y luego en Santander...) también dejé a alguien sin cuyo aliento yo jamás podría haber dado el paso de solicitar la beca y mucho menos de aceptarla. Alguien que me infundió valor, que me hizo ver que sería capaz, que me ha apoyado hasta el último día, soportando historias soporíferas de acrosomas de esperma de

esponjas, que me dio su alegría para que me comiera la soledad, que me enseñó a cantar con larieroriero, que me hablaba por las noches para no dejara nunca en el empeño, que me acompañó a bucear, que me contagió su espíritu aventurero y no me soltó nunca la mano. Gracias David.

Casi en orden cronológico, después de pasar por la facultad, recalé en un zoo donde encontré a gente increíble que me sigue acompañando a día de hoy, y con quien compartí ese amor a los animales tan sacrificado y, la mayor parte de las veces, tan amargo. Allí muchos aprendimos a defender la justicia con uñas y dientes, y a no dejar que nadie nos pisara a nosotros ni a nuestros compañeros. Gracias Marisa, por considerarme tu amiga aún a pesar de haberte prometido mil veces que iría *yo también* a verte y no haberlo cumplido, por tu dulzura, por tu empatía y por tu ternura. Gracias Edu por ser mi “niño”, por haberme dado sustos de muerte con tu dedo cortado, por tu gracia getafeña y por tu inocencia impagable. Gracias Olguis, por tu alegría irreductible, por tu empeño, tus refranes, tu cariño...Y, redoble por favor, gracias al trío del año, Cristi, Alfon y Carol. Porque hemos estado juntos a las duras y a las maduras. Porque cada minuto con vosotros merece la pena, y te enriquece tanto que a veces soy incapaz de valorarlo. Sois geniales y sin vosotros esto hubiera sido bastante más difícil. Y, sobre todo, gracias a Miguel Ángel y Antonio Luis, por hacerme ver con su “actitud” que mi sitio no estaba en Faunia, y que debía poner rumbo a Blanes. Nunca se lo agradeceré lo suficiente.

Siguiendo con la cronología, llego a este párrafo que ocupará la mayor parte de los agradecimientos por el número de gente que engloba. Para empezar, gracias a todos los ERASMUS, mis amigos del CEAB. Gracias a Carmen, la Manolita original, que me enseñó a tomarme con filosofía muchas cosas. Gracias a Yolanda y Jara, a pesar de los pesares, por haberme apoyado y acompañado en un tramo del camino. Gracias a Edu, por todas las conversaciones “pseudo-transcendentales” (por mi culpa), por demostrarme tanta lealtad, por ese fino sentido del humor que hace que me quite el sombrero, por tu delicadeza en el trato y por ser tan original en tus posturas y tus convicciones. Gracias por ser mi amigo. Gracias a Romero, David, Marc, Mireia, Paula, Gil, Jorge, Johan, Javi, Guillermo, Alessandro, Valentín, Oriol (oropéndola), Michela, Ari, Virginia G., Bego O., Charlotte, JeanCris, Patricia L., Patricia P., Andrea, Sònia, Emma, Dani, Miquel, Xavi, y Xabi, por estar por todas partes con una palabra de aliento, y un ratito para echar juntos y desconectar de todo. Gracias, de verdad, porque muchas veces me hizo falta. Gracias Dani, por ser un terrorista mental y hacerme reír

tantísimo, y a ti Laura, por mostrarme la forma más loca e incansable de vivir. Gracias João por compartir el gusto musical “rarito”, por ser tan dulce, por tus masajes reparadores y por haberme dado tu confianza. Gracias Alba por ayudarme tanto ese verano, apretando esponjas, cogiendo larvas, cortando rodajitas, tiñendo y contagiándome toda la ilusión que traías. Y gracias a mis nenas, que han cambiado la fisonomía de Blanes para hacerla más amable, porque las he necesitado y necesito tantísimo durante este tiempo...gràcies Hierbas per la teva comprensió i el teu *cariny*, per la teva ternura i el teu *brillo* dels ulls quan parles d’algo que t’emociona, gràcies per la teva espontaneïtat i aquestes abraçades que et treuen tots els mals. Gracias Alis por devolverme una y otra vez la risa contagiosa mientras tratamos de imitar tus filigranas danzarinas, y por tus ganas de comerte el mundo. Gracias Bego E. y Bego M. por el cariño, el apoyo, las risas, el humor descarnado y esos rohiboos que quitaban las penas mejor que el tequila. Gracias Adri por tu sabiduría y tu compañerismo, por tu peculiar sentido del humor, por el cariño *que te mendigo* y que me das riéndote a carcajadas, por quitarle hierro a todo y ayudarme a relativizar, y por esos bailes con los que nos deleitas. Gracias Vir por tu tremenda dulzura y optimismo, por tus ruiditos, por tus abrazos sinceros, por estar siempre dispuesta a todo, y por compartir conmigo un poco de esa añoranza de las calles de Madrid que nos embarga a veces. Gracias Jenny por la sonrisa más bonita y abierta de toda Cataluña, por tu empuje y tu fuerza (que muchas veces me han servido de inspiración), por defenderme cuando lo considerabas justo, y por estar cuando se te necesita, gracias también por toda la ayuda que me has prestado, dentro y fuera del agua, porque sin ti habría muchas menos páginas en esta tesis. Gracias Carmen por tu sencillez y tu transparencia, por compartir juicios, penas y alegrías, por sacarme de casa cuando estaba en modo psicótico, por hacer que, con tu presencia, añorase un poco menos Madrid, y por esa bordería leonesa-jabareña que me hace sentirme tan cercana a ti. Gracias a todas, porque habéis creído en mi y me habéis apoyado hasta el final, con comités de crisis y de corrección, almuerzos, cenas, cervecitas, fiestas, cafés de las 11, de las 12, de la 1, cigarritos en masa, bailes imposibles, kebabs, fricandelas y mucha mucha comprensión de la buena ...Gracias, de verdad.

Agradezco también a mucha otra gente del CEAB el haberme facilitado mucho el trabajo ayudándome en todo lo que podían: Ángel, Maika, Gustavo, Susanna, Ramón, Patro, Dolores y Carmela. Y a Conxita y Rafa por haberme tratado como de su equipo, y haberme aconsejado siempre tan bien. También a Cristobo y Pilar, que no son del

CEAB, por haber estado pendientes de que todo fuera bien, con esa bondad increíble que les define.

Tengo mucho que agradecerle a la persona que, sin conocerme más que de referencias cruzadas que aún me hacen sonreír, me dio una oportunidad sin saber si iba a salir como el rosario de la aurora (aunque eso lo tendría que decir él). Gracias Manuel por haber salido siempre a muestrear conmigo (menos cuando muestreaba fuera del agua), por haberme enseñado el valor de la auto-corrección interminable, por haberme servido de ejemplo muchas veces en este “mundillo”, por tus “cocotazos” para hacerme despabilar, por haber hecho de jefe y amigo, por haberme enseñado las profundidades del Caribe, por haberme guiado en una línea científica que creo honesta y acertada, y por dejarme (aunque con un pelín de lucha) tirar por donde yo quería. Y por supuesto gracias a Isabel por haber tenido tanta paciencia. Gracias también a Mercè por haberme iniciado en el mundo de la histología, haberme dedicado su tiempo cuando casi no lo tenía, y haber sido tan amable conmigo siempre.

Aunque el cambio de Madrid a Blanes fue un poco brusco, hubo, hay y habrá, quien me ha dulcificado mucho el contraste, dándome una más que cálida acogida y haciendo que me divirtiera hasta la extenuación. Gracias Dani por todos los momentos que pasamos juntos en el cine, en Sitges, en el ancla, en el Sant Jordi, en la bodega, en tu casa, en la mía, en las barracas, en la playa, en cualquier parte, con esa personalidad arrolladora y ese fondo tan bueno que nos convirtió en buenos amigos casi de inmediato. Gracias a Xiskiu, Torio y Ester, por su fascinante buen corazón, por su simpatía, por su tremenda disposición a ayudar, por su manera de equilibrarlo todo y de comprenderlo todo. Y gracias a mi Anabé, por demostrarme tantísimo cariño, por compartir tu vida conmigo, por dejarme alentarte y guiarte a veces, por apoyarme, por enseñarme tantas cosas, por llevarme de la mano en los conciertos, y por estar disponible en cualquier momento para mí.

I'm also indebted to Sally, who made me feel so completely comfortable with her in her laboratory and in her house, for showing me the Rockies and the awesome experience of a hot-tub in the middle of the mountain, for treating me not as a student but as a colleague and even a relative, for all her kindness and empathy, which made me consider applying again for a post-doc in such cold a place! Thanks also to Nelson for all his good cooking, good stories, and sympathy; and Gabrielle, Glen, Angela, and Pam for their warm character and their valuable help in the lab. I'd like to thank all the time George spent with me in the SEM sessions, because he was the best teacher I would

ever had. De mi breve época en Canadá tengo que agradecerle sobre todo a Natalie y Ernesto el haberme hecho sentir como en casa, haberme considerado tan rápido como su “amigota”, y haberme dejado una melancolía montevideana de por vida. También a Sandra, Guadalupe, Mari, Mauricio, Carlos, al Latin-Chin, Carlomagno y Alí, por haberme acompañado en juerguecitas con sabor chino-turco-caribeño.

No me olvido de Nùria, Almudena y Eva de los Servicios Científico-Técnicos de la UB, que sufrieron casi tanto como yo las lindezas estructurales de mis “esponjitas” (sobre todo Almudena). Gracias por toda la paciencia y el buen hacer. Y les agradezco también su amabilidad a todos aquellos que me mandaron artículos desde el otro lado del mundo: Dr. Muricy, Dra. Scalera-Liaci, Dr. Hodgson, Dr. Eckelbarger, Dr. Gugel...Y a Chuck, por rechazarme con tanta gracia un artículo maldito.

Por supuesto, le debo muchísimo a mi familia. Muchísimo. A mis tíos Amparo y Ramón, por haberme tratado como a una hija y haberme acogido con tanto cariño y alegría cada domingo a comer. Gracias a mis primos Dani, Ramón, Oriol, Esther, y también a Marcos, que me han tratado como a una hermana y me han hecho sentirme relajada, cómoda y feliz entre ellos. Muchas, muchas, muchas gracias. A todos mis tíos y mis primos les debo sus cariñosas palabras de aliento, sus visitas y su constante preocupación por mi, que en la mayoría de los casos me trasladaba mi madre. A mi tía Nines le debo mucho. A lo largo de mi vida me ha aportado mucho apoyo en mis ataques de rebeldía (sólo cuando tenía razón) y en los de tristeza, me ha inculcado una sensibilidad revolucionaria e inconformista, me ha aguantado todas mis tonterías, me ha querido más que a una hija y se ha comportado como un verdadero ejemplo para mi. A mi hermano le debo la sinceridad con que siempre me lo dijo todo, la última frase que me dijo antes de que me viniera a Blanes (y que es de lo más bonito que han escuchado jamás mis oídos), todas sus visitas, toda su confianza, todo el amor que le cuesta demostrar pero que termina saliéndole, todo el sushi que comimos juntos y toda la música que le robaba cada vez que volvía a Madrid. Y a mis padres, a los que les dedico cada palabra de esta tesis, les debo casi todo. A mi padre le debo el sentido de la responsabilidad, del sacrificio (aunque lo use poco), de la honestidad, de la rectitud, y un apoyo, que en este caso particular sí fue siempre **incondicional**, una confianza absoluta en todo lo que le proponía, una, a veces desmesurada, carta blanca para hacer y deshacer, una total predisposición a ayudarme y un amor repleto de sinceridad y sin paños calientes. Aunque él aún no sepa para qué sirve lo que hago y si podré vivir alguna vez de esto. A mi madre le debo cómo soy (física y emocionalmente). Le debo

su amor a prueba de bombas y mi amor por los animales, que tejíó a base de darme de comer con el násico de la enciclopedia de los animales y a golpe de cazamariposas. Le debo una protección que me hizo rebelde pero que ahora aprecio tantísimo, le debo haber aprendido a demostrar lo que siento y no avergonzarme del dolor ni de la alegría, toda las clases de supervivencia y sobre todo de cocina que me han ayudado tanto, haberme enseñado la diferencia entre algo bien hecho y el “estilo” chapuzas que me caracteriza, haberme dado ánimos y haberme sacado materialmente de las tristezas a base de humor y de amor. A mi madre le debo la constancia que me obligó a tener siempre en todo (y que algunas veces no supe llevar a cabo), el amor por la música y por el ballet, la risa abierta y sincera, la capacidad de emborracharme con sólo oler la cerveza, la fragilidad eterna y la fortaleza titánica, la capacidad de autocrítica, de reflexión y de perdón. Gracias, Nando, Nines, mamá y papá, y sin ponerme excesivamente ñoña, os quiero mucho.

Y por último gracias a quien ha hecho de un piso, donde se escuchan interminablemente las campanas, un hogar con mayúsculas, a quien ha soportado con una sonrisa irreductible todas mis malas horas, y ha compartido con una alegría y una ilusión imbatibles todos mis buenos momentos. Gracias por haberme cuidado tanto, por haberte leído sin demostrar cansancio el resumen, la introducción y todo lo demás, corrigiendo concienzudamente, con esmero y detallismo hasta la última coma. Gracias por no haber perdido la paciencia cuando yo la perdía, por quererme por encima de todo y apoyar hasta el último de mis desvaríos. Gracias por aportarme equilibrio, por enseñarme tantas cosas que ahora me son tan necesarias, por deleitarme con tus habilidades culinarias y tus dotes de baile matutino. Gracias por la sonrisa al despertarte (que a mi me es tan imposible conseguir), por la paciencia infinita que tienes conmigo, por compartir tus libros y, sobre todo, por hacerme reír. Gracias por hacer, con tu dulzura, tu suavidad de trato y tu inmensa generosidad, que mi vida sea tan fácil. Gracias Sergio, mi Peck.

Pero sobre todo gracias a ellas, a mis esponjas, que se dejaron mutilar sin soltar un quejido. No sabéis cuánto os agradezco que fuérais sésiles ;)

Blanes, Junio de 2007

*Gracias también a Josh, Chris y Damien por acompañarme durante toda la tesis.*





*“I know somewhere there is a party going down, interesting people, conversation to be found. I’ve lived in cities where there is no solitude, I’ve made some friends there that I hope I’ll never lose, but, for now, I want to stay in a quiet town.*

*The neighbours on my block, they’ve got stories to tell, this is the grocery, but once was a hotel, and Mr. Driscoll, he just stands there with his smile, inviting everyone he sees to come inside.*

*This is the life I want to live in a quiet town.*

*Oh, sometimes I miss the show, but I learnt a long time ago.*

*Come Sunday morning, there is a market on the square, children are playing, bells are ringing in the air, old men are drinking, it’s a lazy afternoon, content with thinking that there is nothing to do. So, for now, I want to stay in a quiet town”.*

***Josh Rouse – Quiet town***



*“La única forma de coronar nuestra historia de amor hubiera sido alcanzarla con algún espermatozoide, pero la corriente siempre se los llevaba en la dirección opuesta, hacia mi mamá, mis hermanas, mis abuelas, creando todo tipo de embarazo familiar y de complicación genealógica. La situación se había hecho aún más equívoca a causa de los periódicos cambios de sexo que nosotras, las esponjas hermafroditas, nos teníamos que chupar. Para mí no era fácil aceptar el hecho de que mi padre fuese la mujer de su madre, que su hija, es decir, mi hermana, fuese su abuelo, y que su abuela fuese también su hermano, es decir, mi tío. Aquellas relaciones resultaban todavía más morbosas debido al amontonamiento de cuerpos: era difícil saber dónde acababas tú y empezaban los parientes cercanos. Y no era fácil desarrollar una personalidad sana cuando los divertículos de tus cámaras flageladas estaban compartidos con una madre invaginante, hermanas incestuosas y un padre bisexual. Cuando los únicos rasgos anatómicos sobre los que podías formarte una identidad eran la cavidad atrial y el orificio del ósculo”.*

*Alessandro Boffa - Eres una bestia, Viskovitz*

*“La naturaleza es una magnífica chapucera, no un divino artífice [...] Las rarezas de la naturaleza son algo más que buenas historias. Constituyen el material con que poner a prueba los límites de teorías interesantes acerca de la historia de la vida y su significado”.*

*Stephen Jay Gould*



## Contents

Agradecimientos.....	XI
----------------------	----

Index.....	XII
------------	-----

<b>General Introduction.....</b>	<b>3</b>
General body organization .....	3
Cytology of demosponges and the problem of germ cells .....	5
Reproductive biology of demosponges and its relationship to environmental factors. ....	7
Gametogenesis.....	8
Gamete release and fertilisation in seawater .....	11
Species studied .....	13
Objectives .....	18

### Chapter 1

---

<b>Revisiting the relationship between temperature and gametogenesis in sublittoral demosponges: a foresight of potential effects of climate change ...</b>	<b>25</b>
Introduction .....	25
Material and Methods.....	27
Results .....	28
Discussion.....	33

### Chapter 2

---

<b>Dynamics of gametogenesis, embryogenesis, and larval release in a Mediterranean homosclerophorid sponge.....</b>	<b>40</b>
Introduction .....	40
Material and Methods .....	42
Results .....	45
Discussion.....	63

### Chapter 3

---

<b>Dynamics of gametogenesis and gamete release in <i>Petrosia ficiformis</i> (Porifera, Demospongiae): absence of a free-swimming larva .....</b>	<b>76</b>
Introduction .....	76
Material and Methods.....	78
Results .....	80
Discussion.....	93

### Chapter 4

---

<b>Reproduction of a carnivorous sponge: what are the implications of the absence of an aquiferous system? .....</b>	<b>102</b>
Introduction .....	102
Material and Methods.....	104
Results .....	105
Discussion.....	112

## Chapter 5

---

<b>Spermatogenesis of the V-shaped sperm of <i>Crambe crambe</i> .....</b>	<b>124</b>
Introduction .....	124
Material and Methods .....	127
Results .....	128
Discussion.....	141

## Chapter 6

---

<b>Ultrastructure of the oocytes of two oviparous Mediterranean demosponges, <i>Axinella damicornis</i> and <i>Raspaciona aculeata</i> .....</b>	<b>148</b>
Introduction .....	148
Material and Methods .....	149
Results .....	150
Discussion.....	157

## Chapter 7

---

<b>Self-predation in sponges: the role of motile phagocytic cells in the spermatocysts of two demosponges, <i>Raspaciona aculeata</i> and <i>Petrosia ficiformis</i> .....</b>	<b>172</b>
Introduction .....	172
Material and Methods .....	174
Results .....	175
Discussion.....	180
<b>General discussion .....</b>	<b>188</b>
Reproductive biology of sponges and its relationship to environmental factors .....	188
The origin of gametes in demosponges .....	191
Oogenesis and oocytes .....	193
Spermatogenesis and sperm .....	195
Development in the studied sponges .....	198
<b>Reference list.....</b>	<b>203</b>
<b>Resumen general.....</b>	<b>243</b>