

J. Diversificación de especies

Caracterización de biomarcadores fisiológicos para peces marinos de los programas de diversificación acuícola de Chile

Claudio Álvarez^{1,2}, Claudia Carcamo², Belinda Vega², Marcia Oliva¹, Teresa Toro², Félix Acosta³, Edison Serrano¹, Héctor Flores¹, Fanny Guzman⁴

¹Laboratorio de Cultivo de Peces, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile

²Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (FIGEMA), Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), Coquimbo, Chile

³Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA), Instituto Universitario Ecoaqua, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Islas Canarias, España

⁴Núcleo Biotecnología Curauma (NBC), Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

Resumen

Chile ha impulsado el desarrollo de tecnología de cultivo para los peces marinos nativos *Seriola lalandi*, *Cilus gilberti* y *Seriolella violacea*, a través del programa de diversificación de la Acuicultura de Chile. En este trabajo, se describen los principales avances en la comprensión de las respuestas fisiológicas de juveniles de estas nuevas especies, en particular su respuesta frente a baja disponibilidad de oxígeno, utilizando para ello indicadores plasmáticos, así como también la caracterización de reguladores neuroendocrinos (Grelina y Leptina) que controlan la ingesta de alimentos. Nuestros resultados muestran que *S. lalandi* es la especie que presenta una mayor capacidad de crecimiento, debido a que posee un metabolismo acelerado. Así mismo, *C. gilberti* y *S. violacea* poseen mecanismos conductuales y fisiológicos para enfrentar de mejor manera los eventos de hipoxia. Ambas especies presentan una menor activación de su metabolismo anaerobio, evitando incrementar de sobre manera los niveles de lactato en sangre, a diferencia de *S. lalandi*. Por último, los análisis de expresión génica de grelina y leptina en *C. gilberti* indican que luego de un evento de hipoxia, estos peces vuelven rápidamente a incrementar sus señales de apetito. Nuestros resultados muestran que es promisorio el cultivo de *S. lalandi* en sistemas RAS, aprovechando su mejor capacidad de crecimiento. Mientras que *S. violacea* y *C. gilberti*, podrían ser cultivadas en las bahías de las regiones del norte Chile, debido a que presentan mejores características adaptativas a las bajas de oxígeno.

Introducción

Diversificar la producción acuícola en Chile es un reto científico y tecnológico. Dentro de las especies candidatas, se han elegido peces marinos nativos del norte del país, destacando a *Seriola lalandi*, *Seriolella violacea* y *Cilus gilberti*. El plan estratégico para sus cultivos es trasladar a los juveniles hacia el mar, en bahías de las regiones del norte. Sin embargo, en dichas zonas existen grandes variaciones en la concentración de oxígeno disuelto (DO), incluso con valores inferiores a 2,5 mg L⁻¹. Algunas de las razones de estos cambios bruscos pueden ser la oscilación oceanográfica de El Niño, la proximidad de zonas mínimas de oxígeno (OMZ; <0.64 mg/L) y el fenómeno de "surgencia costera" que son masas de agua profundas ricas en nutrientes, pero con bajo DO que afloran a la superficie (Ramajo et al 2020). Por esta razón, es necesario comprender los efectos de estos ambientes hipóxicos sobre las respuestas fisiológicas de dichas especies en condiciones de cultivo.

La evidencia científica muestra que la supervivencia a la hipoxia depende de la capacidad del pez para mantener el equilibrio energético, mediante la formación de ATP en los tejidos, tanto por su metabolismo aerobio como anaerobio (Speers-Roesch et al., 2013). Además, la baja de oxígeno puede provocar la supresión del apetito, como una respuesta común al fenómeno de hipoxia en peces, cuyos efectos pueden ser de carácter crónico, posiblemente mediante la modulación de la expresión de señales anorexigénicas, tales como la expresión hepática de leptina (Bernier et al., 2012). Así, es evidente que entender la fisiología de estas nuevas especies generará el conocimiento adecuado para maximizar su producción, adecuando las tecnologías de cultivo existentes. Por esta razón, el presente trabajo tiene como objetivo principal, comprender las respuestas fisiológicas de juveniles de estas nuevas especies frente a baja disponibilidad de oxígeno, utilizando para ello biomarcadores plasmáticos, así como también la caracterización de reguladores neuroendocrinos (Grelina y Leptina) que controlan la ingesta de alimentos.

Material y métodos

Experiencia hipoxia aguda en juveniles de *S. lalandi* y *S. violacea*

Se utilizaron peces de 8 meses de edad de ambas especies, los cuales fueron producidos en el Laboratorio de Cultivo de Peces de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. Los peces fueron distribuidos en estanques de 1 m³ a 12 Kg/m³ con fotoperiodo 12L/12D, DO 7,8 mgO₂/L y 17,5 °C. Luego de dos semanas, se sometieron a experiencia de hipoxia aguda, disminuyendo la cantidad de DO en el estanque a través de inyección de nitrógeno gaseoso hasta los 2,0 mgO₂/L. El DO fue monitoreado utilizando un

equipo multiparametro YSI. Al finalizar el bioensayo, se calculó el porcentaje de peces declarados como susceptible a hipoxia (time-out-of-equilibrium strategy, LOEhyp) (Álvarez et al., 2023).

Se tomó muestras de sangre vía punción caudal de juveniles de ambas especies para análisis de metabolitos sanguíneos glucosa, triglicéridos y lactato utilizando kits comerciales (Spinreact)

Estudios de tasa metabólica en juveniles de *S. lalandi* y *S. violacea*

Para cada especie de pez, se eligieron 20 juveniles para analizar sus tasas de consumo de oxígeno individualmente. Para ello se utilizó un Canal de Nado de 11 L (LolygoSystem) equipado con una microsonda de oxígeno de fibra óptica y un sensor de temperatura (Microsensor, Presens, Alemania). Una vez colocado el pez en el túnel de nado, este fue parcialmente cubierto por plástico negro para reducir la luz ambiental y así evitar que los peces se estresaran. Los protocolos de nado y consumo de oxígeno, así como la obtención de sus tasas metabólicas fueron realizados de acuerdo a lo descrito por Allen et al., (2021) y Messina et al., (2022).

Experiencia hipoxia aguda y crónica en juveniles de *C. gilberti*

Peces juveniles de 8 meses de edad fueron suministrados por Fundación Chile y transferidos hasta el Laboratorio de Cultivo de Peces de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. Los peces fueron distribuidos en estanques de 1 m³ en condiciones similares a las descritas para *S. lalandi* y *S. violacea* (Álvarez et al., 2020). Además, utilizando un segundo lote de peces, se realizó una experiencia de hipoxia intermitente, que consistió en distribuirlos en 8 estanques de 300 L. Cuatro de esos estanques fueron sometidos a un régimen diario de hipoxia (2,0 mgO₂/L) por 3 horas, durante 6 semanas.

Se tomó muestras de sangre vía punción caudal de juveniles en hipoxia y normoxia para análisis de metabolitos sanguíneos glucosa, triglicéridos y lactato utilizando kits comerciales (Spinreact). Además, se tomó muestras de tejidos hepático y estomago para el análisis de expresión génica de leptina y grelina mediante RT-qPCR

Resultados y discusión

Los experimentos de pérdida de equilibrio (LOE) revelaron que los juveniles de *S. violacea* son significativamente más tolerantes a la hipoxia que los de *S. lalandi*. De manera similar a Messina-Henríquez et al. (2022), los juveniles de *S. violacea* comenzaron a perder el equilibrio como signo de estrés hipóxico a una concentración de oxígeno de 3 mg/L (35% de saturación de O₂). Por el contrario, los primeros signos de comportamiento de estrés por hipoxia de *S. lalandi*, a partir de 6 mg O₂/L (85% de saturación de O₂). Los análisis de la tasa metabólica de rutina revelaron que los juveniles de *S. lalandi* tienen dos veces más consumo de oxígeno (457,71 ± 54,9 mg O₂/kg/h) que los de *S. violacea* (205,8 ± 13,3 mg O₂/kg/h). Además, los juveniles de *S. lalandi* exhibieron niveles de glucosa en sangre significativamente más altos (197,5 ± 100,2 mg/dL) en comparación con *S. violacea* (74,7 ± 35,5 mg/dL, en promedio), pero estos últimos poseen niveles de triglicéridos cerca de tres veces más (386,3 ± 282,8 mg/dL) que *S. lalandi* (101,3 ± 62,0 mg/dL). De acuerdo a investigaciones con peces adaptados a hipoxia, se sugiere que son capaces de suprimir la glucólisis, potenciando la descomposición de los lípidos para obtener energía durante dichos ambientes (Li et al., 2018). Esto sugiere que *S. violacea* en condiciones hipoxia podría utilizar como, la principal la degradación de los lípidos, lo cual explicaría su mejor respuesta al compararlos con juveniles de *S. lalandi* (Álvarez et al., 2023).

Respecto a estudios con juveniles de corvina, se observó que presentan una respuesta similar a *S. violacea*, alterando su conducta en el estanque cuando se ven sometidos a baja disponibilidad de oxígeno ya sea aguda como crónica, con niveles de lactato y glucosa similares a *S. violacea* (Álvarez et al 2020). Además, los análisis de expresión génica, revelan un incremento significativo de leptina hepática en las primeras 2 horas de exposición a la baja disponibilidad de oxígeno, volviendo a las 6 h a un nivel de expresión similar a los peces que estuvieron en normoxia. Mientras que peces sometidos a un ciclo de hipoxia diaria durante 6 semanas días, no mostraron diferencias significativas en los niveles de leptina y grelina al compararlos con aquellos que se mantuvieron en normoxia. Estos resultados muestran una alta resiliencia de *C. gilberti* a ambientes hipóxicos (Álvarez et al 2020).

Si bien nuestros resultados actuales son prometedores, se necesita mayor investigación para continuar estandarizando tecnologías de cultivo especie-específico, lo que permitirá mejorar el manejo y brindar el mejor rendimiento productivo de estas nuevas especies para la acuicultura chilena.

Palabras Clave:

Cilus gilberti, Seriola lalandi, Seriolella violacea, hipoxia

Bibliografía

- Allen, et al. 2021. Aquaculture, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735968
Álvarez, et al., 2023. Aquaculture, doi:10.1016/j.aquaculture.2023.739468
Álvarez, et al., 2020. Aquaculture, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735316
Bernier, et al., 2012. Journal of Experimental Biology, doi: 10.1242/jeb.066183
Li, et al. 2018. Aquaculture, doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.05.031
Messina-Henríquez, et al., 2022. Aquaculture, doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737560
Ramajo, et al., 2020. Sci. Total Environ., doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140949
Speers-Roesch, et al., 2013. Exp. Mar. Bio. Ecol. doi: 10.1016/j.jembe.2013.10.006

Agradecimientos

Proyectos ANID-Chile: FOVI230160, FONDECYT 1230712 y FONDEF D21I10052