

F. Reproducción y Mejora Genética I,II

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA E INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS GÓNADAS  
DE NEOMACHOS DE TRUCHA ARCOÍRIS

Pérez M.<sup>1</sup>, de Azevedo A.M.<sup>1</sup>, Pérez F.<sup>1</sup>, Bermúdez R.<sup>1</sup>, Quiroga M.I.,<sup>1</sup> Losada A.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Anatomía, Producción Animal y Ciencias Clínicas Veterinarias. Universidad de Santiago de Compostela.

**Resumen:**

Los mejores índices productivos de las hembras de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) despiertan el interés en su monocultivo. Mediante el uso de técnicas de reversión sexual se obtienen ejemplares XX con fenotipo masculino denominados neomachos. Estos ejemplares sólo podrán transmitir el cromosoma sexual X, obteniendo una descendencia formada exclusivamente por hembras. En la diferenciación sexual, además de los cromosomas sexuales, están implicadas otras moléculas como la enzima aromatasa, la hormona antimülleriana y la proteína Dmrt1, cuya presencia se ve alterada también por estos tratamientos. Este estudio pretende caracterizar histológicamente los testículos de neomachos juveniles de trucha arcoíris y evaluar la expresión de estas moléculas comparándolas con hembras y machos XY de trucha. Los resultados mostraron grandes similitudes en la arquitectura tisular y expresión de estas moléculas entre neomachos de trucha arcoíris y machos XY de trucha común.

**Introducción:**

Uno de los problemas asociados a la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es la madurez sexual prematura de los machos en relación con las hembras. Esta precocidad afecta al crecimiento y a la calidad de la carne de los machos, devaluando el producto a nivel comercial. Para enfrentar esta recurrente situación en acuicultura, se han desarrollado diversos métodos de reversión sexual que permiten obtener monocultivos de uno de los dos sexos de forma directa o indirecta. Durante el proceso de diferenciación sexual, además de los propios cromosomas sexuales de la especie, existen factores hormonales, enzimáticos y genéticos relevantes en el desarrollo de los testículos y los ovarios. Genes como el *dmrt1* u hormonas como la hormona antimülleriana, están implicados en la diferenciación de las espermatogonias, células germinales masculinas, y por tanto en la diferenciación sexual de los machos. Otras enzimas como la aromatasa están encargadas de la transformación de la testosterona en estradiol, hormona imprescindible para el desarrollo de los ovarios (Vizziano et al., 2007). Los monocultivos de hembras en trucha arcoíris se logran de forma indirecta. Mediante la administración de andrógenos se logra inhibir la enzima aromatasa y obtener ejemplares genéticamente hembras (XX) pero fenotípicamente machos, denominados neomachos. Los espermatozoides producidos por estos animales solo pueden contener el cromosoma X, dando lugar a una descendencia formada exclusivamente por hembras (Wootton & Smith, 2014).

La bibliografía existente sobre el efecto de los tratamientos de reversión en la arquitectura tisular y la presencia de moléculas relacionadas con la diferenciación de las gónadas de los neo machos es muy escasa. Histológicamente, el parénquima de los testículos de los machos XY de trucha arcoíris se compone de espermatoquistes formados por células de Sertoli rodeando espermatogonias tipo B, espermatoцитos o espermátidas, conformando la unidad funcional del testículo. A su vez, estos espermatoquistes se encuentran rodeados de células de sostén denominadas foliculares y espermatogonias tipo A, precursoras de los espermatoquistes (Patiño & Redding, 2000).

**Objetivo:**

El objetivo de este trabajo es realizar una caracterización histológica de los testículos de neomachos juveniles de trucha arcoíris y tratar de determinar la diferencia en la presencia y localización de hormonas, enzimas y proteínas implicadas en la diferenciación sexual en comparación con hembras y otros machos XY de trucha común mediante inmunohistoquímica.

**Material y métodos:**

Para elaborar este trabajo se utilizaron 15 neomachos juveniles de trucha arcoíris de 4, 5 y 6 meses tras la eclosión y un ejemplar de 1 año. A modo de ejemplares control se utilizaron hembras de las mismas edades y ejemplares XX y XY de trucha común (*Salmo trutta*). Todos los ejemplares fueron eutanasiados por sobredosis de anestésico (Metasulfonato de triclaína MS-222), con posterior sección de la médula espinal, y fijados en formol tamponado al 10%. En los ejemplares de 4 meses de edad, debido a su pequeño tamaño, se realizaron cortes transversales del tercio anterior de la cavidad abdominal para mantener las gónadas en su localización anatómica. En el resto de los animales se diseccionó cada gónada individualmente. Las muestras fueron incluidas en bloques de parafina de los que se obtuvieron cortes histológicos. Estos cortes fueron utilizados para la caracterización histológica de las gónadas mediante la tinción de rutina hematoxilina-eosina y para la determinación de la expresión de la hormona antimülleriana, proteína Dmrt1 y la enzima aromatasa mediante una técnica de inmunohistoquímica.

**Resultados y discusión:**

La evaluación histológica mostró que los testículos de los neomachos de trucha arcoíris, a partir de los 5 meses tras la eclosión, presentaban una arquitectura tisular coincidente con la de los ejemplares XY de trucha común. Estos hallazgos coinciden con los descritos para machos XY de trucha arcoíris y otras especies de salmónidos, tanto en el momento de diferenciación testicular como en las características microanatómicas (Dziewulska & Domagala, 2003). En cuanto al inmunomarcaje de la aromatasa, hormona antimülleriana y proteína Dmrt1, el citoplasma de los ovocitos en las hembras y las células foliculares del testículo de machos control y neomachos mostraron positividad al inmunomarcaje frente a las 3 moléculas. Sin embargo, las células germinales de las gónadas de machos control y neomachos fueron únicamente positivas frente a la hormona antimülleriana.

Este trabajo permitió profundizar en el conocimiento sobre la anatomía, histología y fisiología de la diferenciación y reversión sexual de la trucha arcoíris. Con una mayor comprensión de estos procesos se pretende alcanzar mejoras en los tratamientos de reversión sexual y contribuir al desarrollo de estrategias más efectivas para el manejo reproductivo en acuicultura.

**Palabras Clave:**

Reversión sexual, neomachos, aromatasa, Dmrt1, hormona antimülleriana.

**Bibliografía:**

- Dziewulska, K., & Domagala, J. (2003). Histology of salmonid testes during maturation. *Reproductive Biology*, 3(1), 47-61.
- Patiño, R. & Redding, J. M. (2000). Reproductive Systems. En G.K. Ostrander (Ed.), *The Laboratory Fish* (1ed., pp. 489-499). Academic Press.
- Vizziano, D., et al. (2007). Characterization of early molecular sex differentiation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 236(8), 2198-2206.
- Wootton, R. J., & Smith, C. (2014 a). Reproduction, fisheries and aquaculture. En R.J. Wootton & C. Smith (Eds.), *Reproductive Biology of Teleost Fishes* (pp. 357-388). Wiley-Blackwell.

**Correo del Autor:**

Martinperez.diaz@usc.es