

MODELO PARA LOS TRABAJOS CIENTÍFICOS EN EL XIX CNA GRANCANARIA 2024

Reproducción y Mejora Genética

La exposición a una ola de calor provoca consecuencias inmediatas en la reproducción de los peces, disminuyendo la sostenibilidad de la acuicultura continental.

**Ignacio Fernández¹, Laura Calvo-Rodríguez², Juan Bosco Ortiz-Delgado³,
Paulino de Paz² y Marta F. Riesco²**

¹ Centro Oceanográfico de Vigo (IEO-CSIC), 36390 Vigo, España

² Campus de Vegazana, s/n, Universidad de León (ULE), 24071 León, España

³ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía-ICMAN/CSIC, 11510 Puerto Real, España

Introducción

La acuicultura está considerada como el sistema de producción más viable y sostenible para un suministro continuo de proteína animal que permita hacer frente al aumento de la población mundial, con el fin de garantizar la seguridad alimentaria y la nutrición (FAO, 2022). Sin embargo, el cambio climático podría hacer peligrar la sostenibilidad de este sector, siendo una amenaza inmediata y futura a la seguridad alimentaria. De hecho, los impactos más severos de estos cambios los sufrirán las poblaciones acuáticas sometidas a circunstancias restrictivas como son los emplazamientos actuales de la acuicultura, sujetas a continuos cambios en las propiedades físicas del agua como la temperatura. La mayoría de los estudios se han centrado en la cuantificación del impacto del calentamiento global, obviando la capacidad de adaptación de las especies a través de las distintas generaciones, y son escasos los que estudian los efectos de las olas de calor, un fenómeno actual con efectos directos sobre los organismos contemporáneos cuya capacidad de adaptación se ve limitada. Más aún, la temperatura es un factor ambiental crucial en la regulación de todos los eventos reproductivos y, por lo tanto, las olas de calor podrían limitar la producción y domesticación de nuevas especies. En este estudio, se demuestra a través de un enfoque multidisciplinar, como una ola de calor, replicando las registradas actualmente en los ríos de la península Ibérica, reduce la capacidad reproductiva de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

Objetivo

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el posible efecto del cambio climático sobre el rendimiento reproductivo de los machos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo eventos extremos de olas de calor, donde los individuos tienen una capacidad limitada de adaptación.

Material y Métodos

Se utilizaron machos reproductores de trucha arcoíris (16 neomachos) obtenidos previamente de Mundova (Albacete, España) con un peso medio de aproximadamente 2 kg y se mantuvieron en dos sistemas de recirculación de agua a 14 °C bajo un fotoperiodo de 12:12 h (luz: oscuridad). Los peces fueron alimentados dos veces al día con una dieta comercial (Skretting, España). Se compararon dos condiciones de cultivo: i) grupo control, donde los machos se mantuvieron a una temperatura constante de 14 °C; y ii) grupo sometido a estrés térmico (H-W), donde se recreó un único evento de ola de calor, similar a los que ocurren de forma natural en las cuencas de la Península Ibérica. Los especímenes del grupo H-W fueron expuestos a un aumento progresivo de la temperatura del agua (1 °C por día), utilizando un calentador 900 EVO (Acuitec), y mantenidos a niveles elevados (aprox. 20 °C) durante ocho días. Posteriormente, se restableció progresivamente la temperatura inicial (14 °C). La temperatura de cultivo se monitorizó cada 5 minutos durante todo el ensayo experimental en los dos grupos experimentales. Se establecieron dos puntos de muestreo: muestreo 1 (S1), clímax de la oleada (mayor tiempo de exposición a altas temperaturas), en el que se recogieron datos biométricos y muestras de plasma sanguíneo de 8 machos por grupo experimental; y muestreo 2 (S2), una vez restablecida la temperatura inicial, en el que se recogieron datos biométricos (peso y longitud furcal) y muestras de plasma sanguíneo para el análisis de hormonas (cortisol y testosterona por ELISA) y balance redox (capacidad antioxidante total, actividad de la glutatión peroxidasa (GPX), y de la superóxido dismutasa (SOD)). Además, se recogieron muestras seminales para realizar un análisis multiparamétrico empleando la tecnología SCA para la medida de la motilidad y parámetros cinéticos, y la citometría de flujo para analizar la integridad de la membrana espermática y la apoptosis. Se analizaron las gónadas de 6 machos de cada grupo experimental a nivel histológico para el análisis de la proliferación de las diferentes células germinales (tinción con el antígeno nuclear de células en proliferación, PCNA) y la apoptosis (ensayo TUNEL) por inmunohistoquímica. Finalmente se realizó un análisis transcriptómico (mRNAseq) de los testículos de ambos grupos experimentales.

Resultados y Discusión

La ola de calor recreada experimentalmente indujo en los machos de trucha arcoíris una disminución del peso corporal y de la capacidad antioxidante total del organismo, y aumentó los niveles de cortisol en el plasma sanguíneo y las actividades de las enzimas redox en diferentes puntos de muestreo. Los resultados observados confirmaron una activación de las vías de señalización de estrés en el grupo H-W, induciendo posiblemente una mayor producción de ROS, lo que desembocó en un estrés oxidativo. Dichos resultados están en línea con la activación del eje hipotalámico-hipofisario-interrenal (HPI) en respuesta a este estrés térmico, liberando cortisol al plasma sanguíneo (Schumann et al., 2023). El cortisol también puede estimular la producción de ROS, estableciendo un mecanismo de control de retroalimentación positiva capaz de activar rápidamente el sistema de defensa antioxidante para limitar la presencia de ROS y el daño por estrés (Vinagre y Narciso, 2012). Tras analizar el estado general de los machos sometidos a la ola de calor, se evaluó la concentración de la principal hormona sexual que actúa a nivel central y periférico en los machos regulando la espermatogénesis: la testosterona (Killinger, 1970). La ola de calor inducida en los machos de trucha arcoíris disminuyó los niveles plasmáticos de testosterona y la calidad del esperma. Los espermatozoides son células particularmente susceptibles al estrés oxidativo debido a sus inadecuados sistemas de reparación celular y/o insuficientes defensas antioxidantes (Aitken et al., 2016). De hecho, nuestro estudio previo llevado a cabo en machos de tenca (*Tinca tinca*), una especie euriterma que habita en lagos españoles, mostró como una única ola de calor de 6 °C de incremento (de 24 a 30 °C) durante 10 días redujo su calidad espermática en términos de motilidad (Fernández et al., 2024). Sin embargo, el efecto potencial del estrés térmico no se limita necesariamente a la calidad seminal, sino que podría afectar a otros tipos celulares implicados en el proceso de espermatogénesis (Lema et al., 2024). Por ello, se realizó un análisis inmunohistoquímico de los testículos de los individuos sometidos a la ola de calor, y se comparó con el de los machos control. El análisis de proliferación realizado mostró que en los individuos expuestos se detuvo la diferenciación de algunos tipos de células germinales en la gónada, y aumentó la apoptosis de la población espermática probablemente debido al estrés térmico inducido por la ola de calor. Para indagar en los mecanismos moleculares implicados en el fallo en la espermatogénesis se realizó un estudio transcriptómico de las gónadas de los individuos H-W y control. Se obtuvo una expresión diferencial de 1156 genes (116 genes que mostraron una mayor expresión y 1040 que mostraron una expresión menor) en los peces expuestos en comparación con los peces control. Entre las distintas rutas moleculares sobre-representadas, se identificaron alteraciones relacionadas con el ensamblaje de cilios y flagelos y apoptosis espermática, en consonancia con los resultados de motilidad y apoptosis celular observados por SCA e inmunohistoquímica. El presente trabajo es pionero revelando los efectos directos y contemporáneos del cambio climático tras recrear una ola de calor ya registrada en la naturaleza. Los resultados obtenidos, no sólo instan a aumentar la preocupación por los actuales episodios de olas de calor, sino que desvelan, por primera vez, los mecanismos moleculares implicados en la interrupción de la espermatogénesis producida por este fenómeno extremo, abriendo nuevas vías para el diseño de estrategias necesarias para mitigar los efectos del cambio climático.

Palabras clave

Cambio climático, balance redox, espermatogénesis, transcriptómica.

Bibliografía

- Aitken, R.J., Gibb, Z., Baker, M.A., Devret, J., Gharagozloo, P. 2016. Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, fertility and development* 28, 1–10.
- FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Sustainability in action. <https://www.fao.org/3/cc0463es/cc0463es.pdf> (accessed 13 February 2024).
- Fernández, I., Larrán, A.M., de Paz, P., Riesco, M.F. 2024. The direct effects of climate change on tench (*Tinca tinca*) sperm quality under a real heatwave event scenario. *Animals* 14(5), 778.
- Killinger, D.W. 1970. Testosterone. *Canadian medical association journal* 103(7), 733-735.
- Lema, S.C., Luckenbach, J.A., Yamamoto, Y., Housh, M.J. 2024. Fish reproduction in a warming world: vulnerable points in hormone regulation from sex determination to spawning. *Philosophical transactions of the royal society b* 379(1898):20220516.
- Schumann, S., Mozzi, G., Piva, E., Devigili, A., Negrato, E., Marion, A., Bertotto, D., Santovito, G. 2023. Social buffering of oxidative stress and cortisol in an endemic cyprinid fish. *Scientific Reports* 13(1):20579.
- Vinagre, C., Narciso, L. 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological indicators* 23, 274–279.

Agradecimientos

Financiado por el proyecto REPHEAT (PID2021-127782OA-I00) del MCIN/AEI/10.13039/501100011033, FEDER “Una manera de hacer Europa” y por el proyecto TED2021-131893B-I00 de la AEI/10.13039/501100011033/ Unión Europea NextGenerationEU/PRTR.