

G. Sostenibilidad y Medio Ambiente I, II

## Impacto de la acidificación oceánica sobre el crecimiento y la mineralización ósea de la dorada (*Sparus aurata*)

**Rodríguez I.<sup>1\*</sup>, Sadeghi N.<sup>2</sup>, García-Pérez I.<sup>1</sup>, Mahmoudi K.<sup>2</sup>, Montblanch M.<sup>1</sup>, Rosell-Moll E.<sup>1</sup>, Navarro I.<sup>1</sup>, Gutiérrez J.<sup>1</sup>, Capilla E.<sup>1</sup>, Garcia de la serrana D.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España; <sup>2</sup>Departamento de Pesquerías, Facultad de Agricultura y Recursos Naturales, Universidad de Teherán, Karaj, Irán

### Resumen

La acidificación oceánica supone un riesgo para la acuicultura actual, ya que puede afectar negativamente al crecimiento y desarrollo de los organismos acuáticos y aumentar su mortalidad. La bajada del pH oceánico reduce la calcificación en invertebrados marinos; sin embargo, su efecto en la mineralización ósea de peces no ha sido lo suficientemente estudiada. Para mejorar el conocimiento existente, en el presente estudio, juveniles de dorada fueron expuestos a un pH de 7.3 (inducido por inyección de CO<sub>2</sub> en el agua), frente a un segundo grupo mantenido a un pH control de 7.9 durante 68 días. Posteriormente, se tomaron muestras de sangre y de diferentes tejidos. Se realizaron análisis de hematocrito y composición electrolítica del plasma, así como radiografías óseas, y además, se evaluó la expresión de genes implicados en el crecimiento óseo y la mineralización en hueso, y de canales de intercambio iónico en branquias. En hueso, la expresión de los genes *tnap* y *mmp9* incrementó en el grupo sometido a un pH de 7.3, lo que sugiere una mayor tasa de recambio óseo en dicho grupo, pero no se encontraron diferencias en los genes analizados en branquias. Los resultados procedentes del análisis de electrolitos plasmáticos y las radiografías de vértebras indican que la acidificación oceánica afecta al balance iónico del plasma a la vez que induce una disminución de la mineralización ósea en la dorada.

### Introducción

El aumento de temperatura y la acidificación oceánica a causa del cambio climático suponen un riesgo para la acuicultura actual. La acidificación oceánica puede inhibir el crecimiento y aumentar la mortalidad en peces, así como reducir la osmolaridad y el cloro iónico plasmático (Fivelstad *et al.*, 2015). Además, disminuye la calcificación de exoesqueletos y conchas en invertebrados marinos (Martins Medeiros & Souza, 2023), produce un aumento de la mineralización en elasmobranquios (Di Santo, 2019), pero no afecta significativamente a los salmónidos (Drábiková *et al.*, 2023). En el caso de peces marinos como la dorada (*Sparus aurata*), un estudio demostró un incremento en el tamaño de los otolitos tanto de larvas como de juveniles (Coll-Lladó *et al.*, 2018), sin embargo, el efecto de la acidificación oceánica en la mineralización ósea de esta especie, y otras especies de peces marinos, aún no ha sido estudiada. Así pues, el objetivo de este trabajo fue determinar si una bajada del pH del agua, una situación que puede ser producida por el cambio climático, modifica la composición electrolítica del plasma, el crecimiento y la mineralización de las vértebras, y/o el intercambio iónico en las branquias en la dorada, una especie importante en la acuicultura mediterránea.

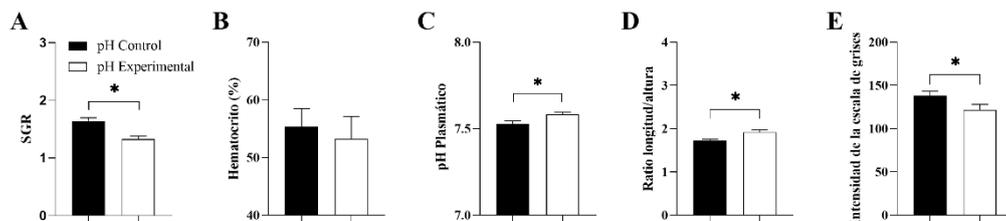
### Material y métodos

Juveniles de dorada (Piscimar, Burriana, Castellón) fueron aclimatados y mantenidos en las instalaciones de la Universidad de Barcelona. Los animales fueron pesados y distribuidos de forma aleatoria en 4 tanques de 200 L (25 peces por tanque) y 2 tanques de 400 L (50 peces por tanque) manteniendo biomásas equivalentes (tres tanques por condición). El peso medio inicial de los animales fue de  $23.43 \pm 0.37$  g. Las doradas fueron alimentadas con un 2.6% de su peso corporal distribuido en dos tomas. Durante el experimento el grupo control fue mantenido a un pH de 7.9, mientras que el grupo experimental se mantuvo a un pH de 7.3, conseguido mediante inyección de CO<sub>2</sub> en el agua del sistema. Después de 68 días, los peces fueron anestesiados, pesados, medidos y se calcularon los índices biométricos de crecimiento, y se muestrearon 15 animales por grupo (5 por tanque). Se extrajo sangre con agujas heparinizadas y se determinó el hematocrito. Posteriormente, se centrifugó la sangre y se obtuvo el plasma para analizar la composición electrolítica mediante un analizador de electrolitos ISElyte-X9 (Horron, China). A partir de las muestras de hueso, se realizaron radiografías de las vértebras, se midió su longitud y altura, se calculó la ratio longitud/altura y se determinó el grado de mineralización mediante la cuantificación de la intensidad de la escala de grises usando el programa de procesamiento de imágenes ImageJ 1.54 (National Institutes

of Health, Bethesda, MD, USA). Además, se analizó la expresión de genes implicados en el crecimiento y la mineralización ósea en las vértebras y de intercambio iónico en las branquias mediante PCR cuantitativa.

### Resultados y Discusión

La exposición a un pH bajo no afectó al peso, longitud o factor de condición de los peces, pero redujo la tasa específica de crecimiento (SGR, por sus siglas en inglés) (Figura 1A). El hematocrito tampoco se vio afectado por el cambio de pH (Figura 1B). El pH plasmático fue más elevado en el grupo experimental a pH ácido (Figura 1C), probablemente debido a una respuesta compensatoria del organismo frente a la acidosis, tal y como se había propuesto anteriormente en el salmón atlántico (*Salmo salar*) (Drábiková *et al.*, 2023). Con respecto al calcio plasmático, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos pero se observó una tendencia al incremento en el grupo expuesto a pH 7.3, en línea con los hallazgos del estudio mencionado (Drábiková *et al.*, 2023). Por el contrario, los niveles de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$  aumentaron significativamente en el grupo experimental. La relación longitud/altura de las vértebras fue mayor en los animales expuestos a un pH más bajo (Figura 1D). Además, las radiografías mostraron una menor mineralización en dicho grupo experimental, indicado por los valores más bajos de la escala de grises (Figura 1E). Por otro lado, con respecto a la expresión génica en hueso, se observó un aumento de la expresión de los genes *tnap* y *mmp9* en el grupo sometido a un pH de 7.3, lo que sugiere una mayor tasa de recambio óseo en dicho grupo. Con respecto a la expresión de genes de intercambio iónico en branquia, no se encontraron diferencias significativas. En conclusión, este estudio demuestra que la acidificación oceánica puede afectar el balance electrolítico del plasma y disminuir la mineralización ósea en la dorada.



**Figura 1.** (A) Tasa específica de crecimiento (SGR), (B) hematocrito, (C) pH plasmático, (D) ratio longitud/altura, e (E) intensidad de la escala de grises de las vértebras de doradas expuestas a un pH control (7.9) y un pH experimental (7.3) durante 68 días. Los datos se muestran como la media + error estándar ( $n=24$  para el SGR y los iones plasmáticos,  $n=9$  para el hematocrito, y  $n=15$  para las medidas vertebrales). Las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos fueron determinadas mediante *T-test* y se indican con asteriscos ( $p < 0.05$ ).

### Palabras clave

pH,  $\text{CO}_2$ , cambio climático, vértebra, electrolitos, mineralización, branquia

### Bibliografía

- Coll-Lladó, C., Giebichenstein, J., Webb, P. B., Bridges, C. R., & Garcia de la serrana, D. 2018. Ocean acidification promotes otolith growth and calcite deposition in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Scientific Reports*, 8(1), 1-10.
- Di Santo, V. 2019. Ocean acidification and warming affect skeletal mineralization in a marine fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1894).
- Drábiková, L., Fjellidal, P. G., Yousaf, M. N., Morken, T., De Clercq, A., McGurk, C., & Witten, P. E. 2023. Elevated Water  $\text{CO}_2$  Can Prevent Dietary-Induced Osteomalacia in Post-Smolt Atlantic Salmon (*Salmo salar*, L.). *Biomolecules*, 13(4).
- Fivelstad, S., Kvamme, K., Handeland, S., Fivelstad, M., Olsen, A. B., & Hosfeld, C. D. 2015. Growth and physiological models for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr exposed to elevated carbon dioxide concentrations at high temperature. *Aquaculture*, 436, 90–94.
- Martins Medeiros, I. P., & Souza, M. M. 2023. Acid times in physiology: A systematic review of the effects of ocean acidification on calcifying invertebrates. *Environmental Research*, 231(P1), 116019.

### Agradecimientos

Estudio realizado con la ayuda del proyecto ACUISOST financiado por el MAPA y por la Unión Europea Next Generation EU/PRTR y el proyecto PID2020-116172RB-I00 del MICIU/AEI/10.13039/501100011033. IR disfruta de una beca predoctoral (PRE2021-100391) del MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por el FSE+. DGdls es Agregado Serra Hünter.

**Correo del Autor:** inmaculada.rodriguez@ub.edu