

Evaluación de la calidad y descripción de parámetros de interés en el esperma de *Chelon labrosus* adaptado a la cautividad

I. Martín^{1*}, D. G. Valcarce^{1,2}, I. Rasines¹, F. Aguado-Jiménez¹

¹ Centro Nacional Instituto Español de Oceanografía (IEO-CSIC). Plantan de Cultivos Marinos "EL Bocal", Monte-Corbanera s/n, C.P. 39012, Cantabria.

² Área de Biología Celular, Dpt. de Biología Molecular, Universidad de León. Campus de Vegazana s/n, C.P. 24071, León, España.

*E-mail: nacho.martin@ieo.csic.es

Introducción

El cultivo de especies de bajo nivel trófico supone un avance en el desarrollo de una acuicultura sostenible. En este sentido, el cultivo de mugílidos representa una opción para la diversificación de especies de acuicultura que permitiría eliminar el uso de harinas y aceites de pescado. Tradicionalmente, el cultivo de mugílidos, se ha realizado en países mediterráneos, mediante el engorde de alevines recogidos del medio natural, en estanques, lo que hace la disponibilidad de ejemplares irregular y dependiente de aspectos como la sobrepesca y/o el reclutamiento (Crosetti, 2015). Por este motivo, el control total de la reproducción de esta especie y otras similares es esencial para sentar las bases de un cultivo industrial sostenible. El presente trabajo muestra resultados relativos a la calidad y el manejo del esperma de *Chelon labrosus* adaptado a la cautividad.

Materiales y métodos

Ejemplares y cultivo

A finales de mayo de 2022, se muestrearon 38 ejemplares de *Chelon labrosus* adaptados a la cautividad entre 2021 y 2022, 14 de ellos de sexo sin determinar, y otros 24 sexados mediante ratio hormonal 11-ketotestosterona/estradiol (Martos-Sitcha, datos sin publicar) y con un peso medio \pm EE de 656.80 \pm 47.97gramos.



Figura 1. Pesca de ejemplares salvajes en las costas del cántabrico (43°23'21.1"N 4°23'35.3"W) y tanques de cultivo (Volumen: 14 m³) para acondicionamiento de reproductores.

Perdida de movilidad

El volumen de esperma fue valorado con micropipeta y cuando el volumen total lo permitió, se conservaron 10 μ l en Ringer200 y otros 10 μ l en Formol 4% tamponado para el posterior análisis de la movilidad y densidad respectivamente. Estos análisis se llevaron a cabo mediante un sistema de análisis de esperma asistido por ordenador (CASA) de Proiser S.L. Posteriormente se evaluó la pérdida de movilidad de las muestras tras la activación, realizando medidas del porcentaje de células móviles a intervalos de 15 s.

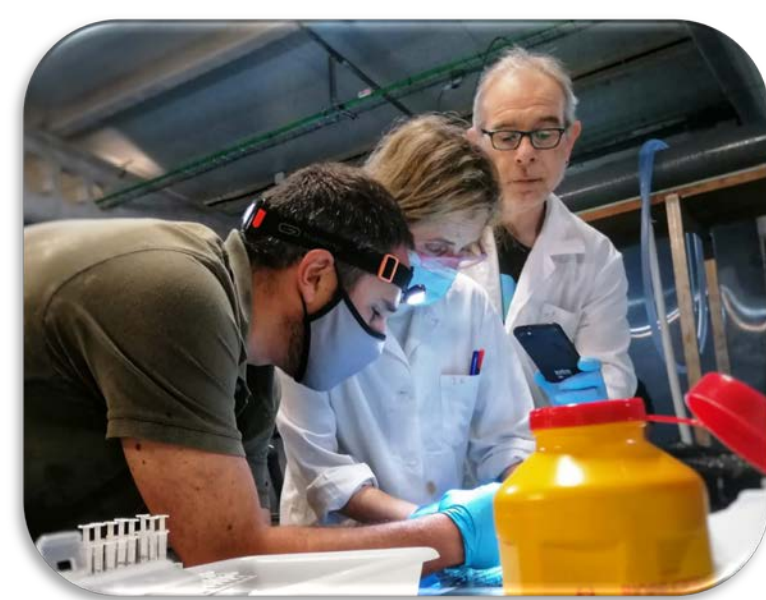


Figura 2. Muestreo para la obtención de muestras seminales por masaje abdominal (stripping) e imagen representativa de un campo de espermatozoides de *Chelon labrosus* con las trayectorias de los espermatozoides obtenidas mediante sistema CASA (Proiser S.L.). Rojos: espermatozoides rápidos; Verdes: células con velocidad intermedia; Azules: células lentas; Amarillos: células inmóviles.

Salinidad de activación

Se realizó una prueba de activación a diferentes salinidades, donde se testó agua de mar (estéril, autoclavada) mezclada en diferentes proporciones con agua de laboratorio ultrapura (filtrada 0,4 μ m e irradiada con UV), al 25, 50, 75% de volumen, así como el agua ultrapura propiamente dicha (Tabla 1.) a 4 °C.

Tabla 1. pH, salinidad y osmolaridad de las distintas aguas utilizadas para activación de esperma.

	MAR100%	MAR75%	MAR50%	MAR25%	MAR0%
pH	8,64	8,67	8,65	8,36	8,51
Salinidad	35	27	18	8	0
Osmolaridad	946,95	736,74	497,5	232,24	0

Viabilidad y apoptosis

Se realizó un estudio de viabilidad y apoptosis celular mediante microscopía de fluorescencia usando una triple tinción con DAPI (300 nM), yoduro de propidio (1 μ g/ml) y YO-PRO1 (150 nM) en todas las muestras (figura 3.).

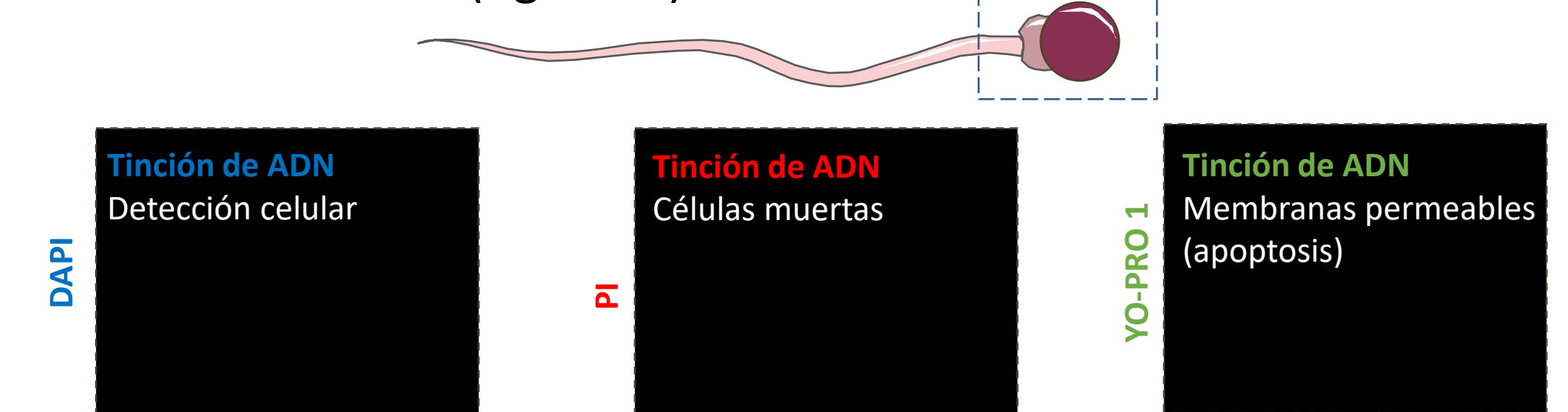


Figura 3. Esquema representativo de las tinciones utilizadas en la evaluación microscópica de las poblaciones celulares.

Resultados y discusión

Del total de los machos muestreados, 5 resultaron fluyentes. La media \pm EE del **volumen**, **movilidad** y **densidad**, resultó de **38 \pm 11,58 μ l**, **33,40 \pm 5,51%** de células móviles y **11,25 \pm 8,55 10⁹ células/ml** respectivamente. La figura 1 muestra los datos individuales y medios de pérdida de movilidad. Como puede observarse a partir de 60 s hubo una reducción del 50% de la movilidad inicial, y transcurridos 3 min, todavía se registraba movilidad residual del 15,9% respecto de la movilidad inicial. El estudio de la salinidad del agua de activación mostró diferencias significativas entre las aguas de mar al 100, 75 y 5% con las aguas de menor proporción marina. Además, a pesar de que el análisis estadístico no evidenció significación en la movilidad entre las aguas de mar 100% y 75%, los valores con agua de mar al 75% fueron mayores en 4 de las 5 muestras, superando 2 muestras el 30% de incremento (Figura 4). Los resultados de viabilidad y apoptosis mediante microscopía de fluorescencia correlacionaron con los valores obtenidos en movilidad, registrando un 45,42 \pm 3,17% de células viables y un 29,46 \pm 7,22% de células apoptóticas (Figura 5).

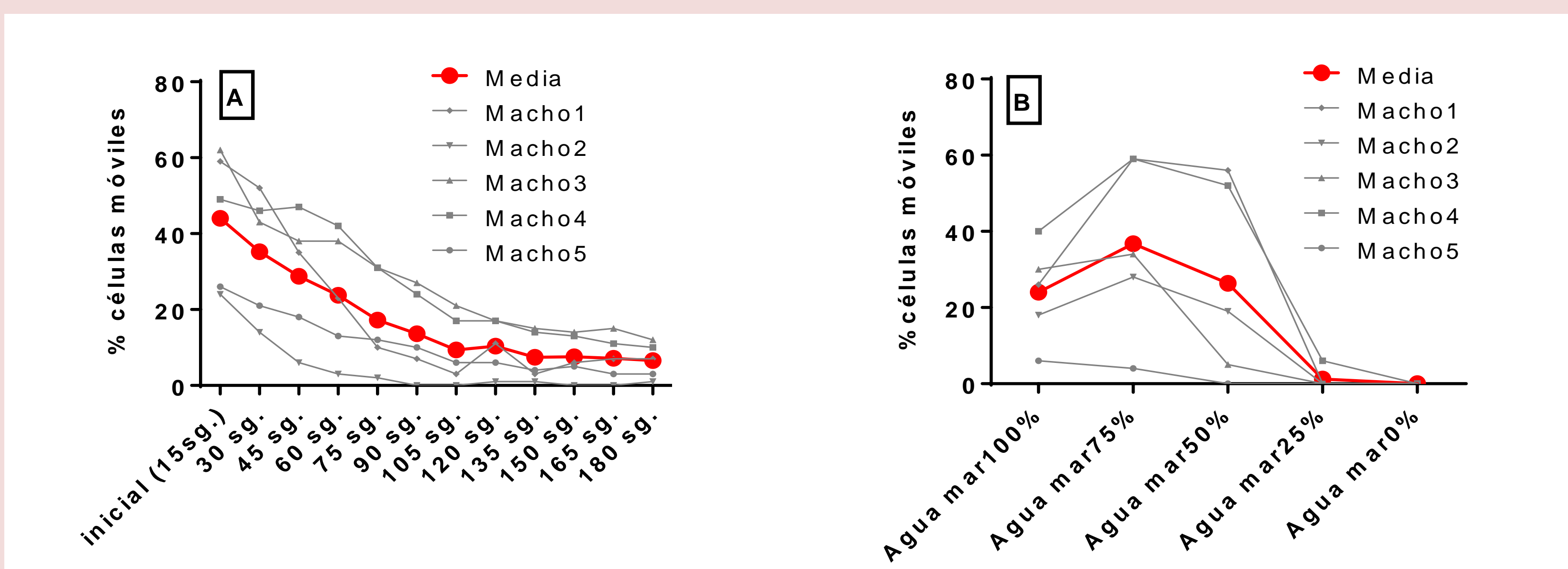


Figura 4. Evolución de la movilidad total del esperma individual y media de machos de *C. labrosus* en el tiempo (A) y movilidad de muestras de esperma individual y media de *C. labrosus* activada con agua de mar mezclada con agua ultra pura a distintas proporciones (B).

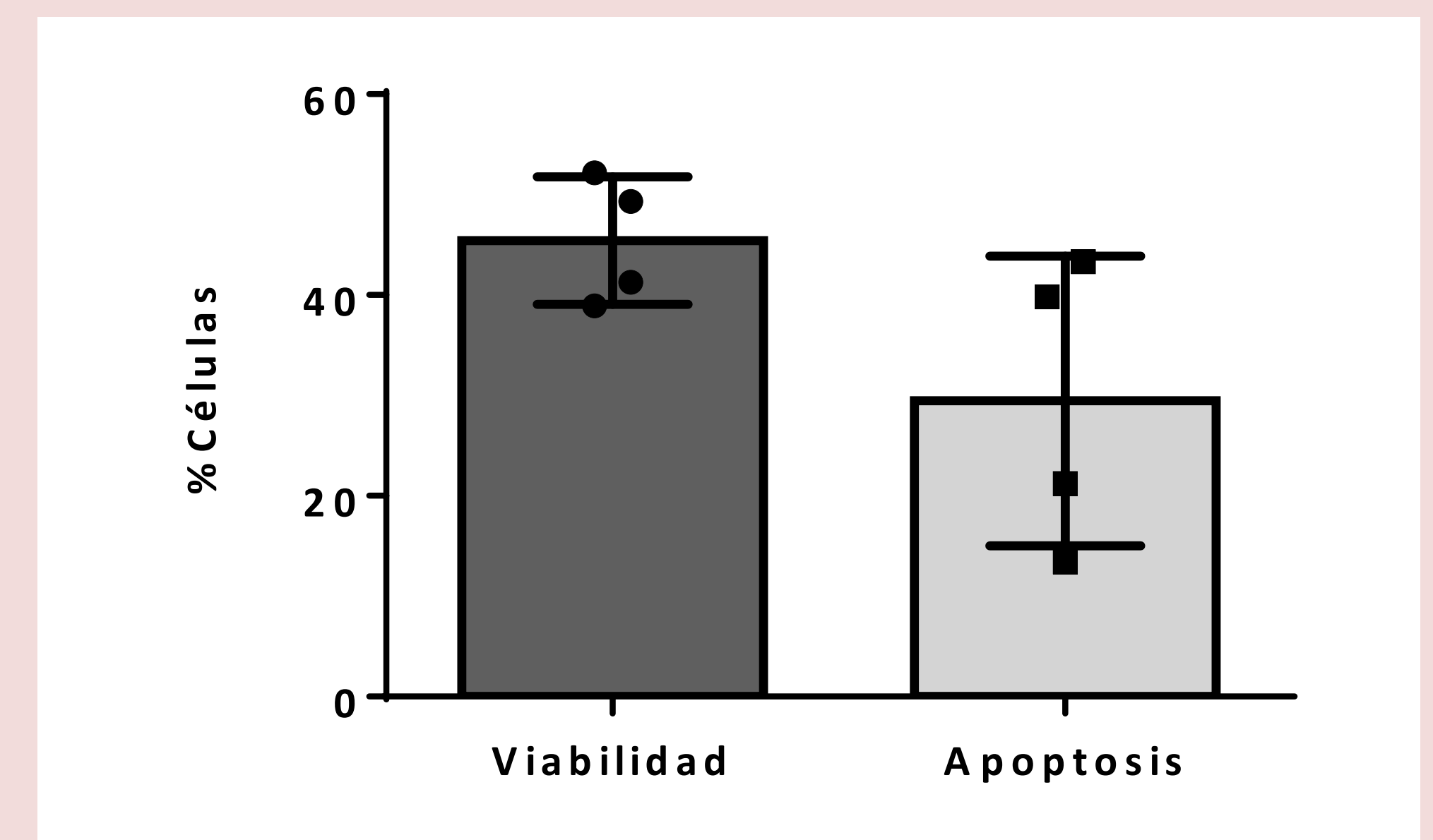


Figura 5. Viabilidad y apoptosis de muestras de esperma de *C. labrosus*.

Conclusión

Es posible que los resultados obtenidos estén sesgados por el escaso tiempo de adaptación a la cautividad (Besbes *et al.*, 2020), así como por la época de muestreo, ya que según la literatura, esta especie se reproduce entre Febrero y Abril (Lozano-Rey, 1947). No obstante, los resultados aportan información que puede resultar útil en el desarrollo de protocolos para el control reproductivo y/o manejo experimental del esperma.

Bibliografía

- Crosetti, D. 2015. Current state of grey mullet fisheries and culture. Biol. Ecol. Cult. Grey Mulletts 398–450.
- Lozano-Rey, L. 1947. Peces ganoideos y fisostomos. Memorias de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Madrid, 11,839 p.
- Besbes, R., Benseddik, A. B., Kokokiris, L., Changeux, T., Hamza, A., Kammoun, F., & Missaoui, H. 2020. Thicklip (*Chelon labrosus*) and flathead (*Mugil cephalus*) grey mullets fry production in Tunisian aquaculture. Aquaculture Reports, 17, 100380.