

RESUMEN

Los tiburones y rayas aparecieron hace 420 millones de años, conformando el antiguo y ecológicamente diverso, grupo de vertebrados acuáticos conocido como elasmobranquios. Este variado grupo posee unas estrategias vitales que los hace muy vulnerables a los cambios rápidos del entorno, como los derivados de la acción antrópica. Pese a ser elementos clave en la regulación de los ecosistemas en los que habitan, en la actualidad, se trata de uno de los grupos vertebrados más amenazados del planeta.

Paralelamente a la conservación *in situ*, los programas de conservación *ex situ* se pueden utilizar para mejorar la situación de algunas especies sensibles. Entre estos programas, los planes de cría en cautividad aumentarían la sostenibilidad de acuarios públicos y centros de investigación, además de permitir el desarrollo de estrategias de conservación en estado salvaje. Sin embargo, para que sean efectivos, estos planes deberían incluir el uso de técnicas de reproducción asistida. Desafortunadamente, estas técnicas apenas se han desarrollado en el pasado, por lo que su utilidad no se ha demostrado adecuadamente.

Ante esta situación, la presente tesis pretende llenar ciertas lagunas en el conocimiento acerca del uso de estas técnicas en diversas especies de elasmobranquios, centrándose especialmente en la obtención, manipulación, mantenimiento y preservación del esperma.

Si bien nuestra investigación comenzó centrándose especialmente en dos especies modelo, la pintarroja *Scyliorhinus canicula* y la raya áspera *Raja radula*, a lo largo del estudio se logró tener acceso a otras especies de tiburones, rayas e incluso de una especie de quimera. Este acceso nos permitió ser conscientes de la gran variabilidad en la disposición de las estructuras del sistema reproductor. Esta diversidad puede dificultar la aplicación de técnicas de reproducción asistida, bien reduciendo la eficacia de los procedimientos, la calidad de las muestras, o dañando a los animales. Si bien en la literatura hay descripciones generales y, en ocasiones, en detalle de los sistemas reproductores de ciertas especies, dichas descripciones no se han centrado nunca en la aplicación práctica de las técnicas de reproducción asistida. Por este motivo, los capítulos 1 y 2 se centraron en la catalogación y descripción de las distintas estructuras de especies cubriendo un amplio espectro taxonómico, centrándose en las mejores técnicas de obtención de gametos y de inseminación artificial.

La conservación del esperma a corto, medio y largo plazo juega un papel clave para poder desarrollar planes de conservación eficientes en condiciones *ex situ*. Disponer de esperma de calidad permite limitar el transporte de machos entre instituciones, minimizar problemas derivados de la falta de sincronización entre adultos reproductores, reducir conflictos durante épocas de cortejo y reducir la endogamia. Por otra parte, permite disponer de muestras para desarrollar proyectos de investigación sin necesidad de tener que extraer continuamente esperma de machos mantenidos en medio controlado. El tercer capítulo se centra en cómo se desarrollaron y probaron diferentes fórmulas para lograr el mantenimiento en fresco del esperma, hasta lograr obtener un médium en el que diluir el esperma capaz de mantenerlo con vida durante más de 30 días. Posteriormente, mediante la adición de varios crioprotectores (Yema de huevo, DMSO y Metanol) en diversas concentraciones, explica cómo se logró la criopreservación del esperma de varias especies de raya y, por primera vez, la criopreservación del esperma de varias especies de tiburones.

Uno de los primeros obstáculos que se detectaron a la hora de trabajar con los espermatozoides durante las técnicas planteadas en el capítulo 3 se debió a la particular morfología de estas células comparada con la de otras especies acuáticas. La cabeza de los espermatozoides de condriktios, y de elasmobranquios en particular, presentan una forma helicoidal, con un número variable de giros en función de la especie. Además, en muchas ocasiones las células no aparecen libres en el fluido seminal, formando en su lugar agregaciones estructuradas denominadas espermatozeugma. A lo largo del capítulo 4 se explora cómo estas dos características surgen como resultado de la fecundación interna y las características mecánicas del medio en el que han de realizar su función. Por primera vez, se puede observar cómo las células reaccionan ante medios con diferentes propiedades, poniendo de relevancia la importancia de la viscosidad a la hora de aplicar técnicas de reproducción asistida.