

Resumen de tesis

Sperm quality and cryopreservation in teleost: effect of seminal plasma component and climate change

La selección de gametos de alta calidad es un requisito indispensable a tener en cuenta en los programas de reproducción asistida. El desarrollo de herramientas biotecnológicas como la criopreservación de gametos, juega un papel importante en la producción acuícola y en la formación de bancos de germoplasma, que contribuirán luego en la mejora genética de las poblaciones de peces, principalmente aquellas en peligro y que pudieran estar más afectadas ante futuros cambios climáticos. Esta tesis está siendo implementada bajo un convenio de cotutela entre la Unesp y UPV. En la primera fase de esta tesis realizada en la Unesp, se trabajó con una especie neotropical de elevada importancia económica para la región. La Segunda fase realizada en la UPV se trabajó con la Anguila europea, una especie clasificada en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) como especie "en peligro crítico de extinción". En la primera fase se buscó caracterizar la composición bioquímica del plasma y las características seminales de la especie. Evaluar las posibles relaciones entre estos parámetros. En la composición del plasma seminal se observó principalmente iones de sodio (Na^{2+}) y dentro de los componentes orgánicos sobresalieron las proteínas totales y la glucosa. A través del análisis de componentes principales (PCA) se observó que la motilidad tenía una fuerte correlación positiva con el tiempo de motilidad, la concentración de espermatozoides y las proteínas totales. Estos análisis sirvieron de base para la creación de una solución diluyente utilizada posteriormente en la sustancia crioprotectora. Luego se determinó la influencia del plasma seminal como constituyente de la solución crioprotectora en la criopreservación de semen de *P. reticulatum*. Se utilizaron tres tratamientos: glucosa 5% + Metanol 10% (T1), a este crioprotector se le agregó 30% de plasma seminal natural (T2) y 30% de plasma seminal artificial en base a los resultados de los componentes bioquímicos del plasma determinados para la especie en el experimento anterior (T3). Se evaluaron parámetros de motilidad espermática, capacidad fecundante del semen criopreservado, así como fragmentación del ADN. El tratamiento T1 resultó con los mejores valores de motilidad seguido del T2, y la capacidad fertilizante de estos dos tratamientos fue similar al control, sin embargo, el tratamiento T2 mostró menos daño en el ADN. Mediante la PCA se demostró que T1 tenía

una mejor asociación con la fertilidad y la motilidad total y progresiva. Finalmente, evaluamos las estructuras de las subpoblaciones espermáticas en cada uno de los tratamientos utilizados. Mediante análisis multivariado en dos etapas, fue posible determinar tres subpoblaciones espermáticas en el semen crioconservado de la especie, SP1 (rápido-lineal), SP2 (rápido-no lineal) y SP3 (lento-lineal). T1 presentó el mayor porcentaje de SP1, siendo confirmado por la efectividad en la protección de las células de este tratamiento en el proceso de criopreservación de la especie. En la segunda fase que se está llevó a cabo en la UPV, el objetivo general fue determinar el efecto de la temperatura y el pH del agua de mar sobre la motilidad de los espermatozoides en la anguila europea. Se determinó que el bajo pH del agua de mar (6.5-7.4) disminuyó la motilidad de los espermatozoides de anguila en comparación con el control (pH= 8.2). Cuando estudiamos el efecto combinado del pH del plasma seminal artificial y el pH de ASW (7.8 y 8.2), no encontramos diferencias estadísticas en la motilidad y cinética de los espermatozoides en relación con el pH del plasma seminal artificial, pero sí el pH del agua de mar. Se encontraron valores más altos de motilidad total (MOT), FA y ME con un pH de 8.2 que con un pH de 7.8. En contraste, la temperatura del agua de mar no afectó los parámetros de motilidad de los espermatozoides o la longevidad de los espermatozoides. Para estudiar el efecto de la interacción entre la temperatura del agua de mar y el pH sobre la motilidad de los espermatozoides, se probaron dos temperaturas: 4 y 24 °C, y dos pH: 7.8 y 8.2. Hubo diferencias significativas entre la temperatura y el pH en varios parámetros cinéticos, como MP, VCL, VSL, VAP, ME y SL, donde los valores más bajos para MP, VCL, VSL y VAP se observaron en las muestras activadas a baja temperatura y pH bajo (4 °C, pH 7.8). Nuestros resultados sugieren que la acidificación del agua de mar, pero no las temperaturas más altas, pueden afectar la motilidad de los espermatozoides en el contexto del cambio climático.