

## RESUMEN

Las especies objeto de estudio de esta Tesis Doctoral (anguila europea y pez globo) se encuentran en un delicado estado de conservación, por lo que el objetivo principal de este trabajo fue el desarrollo, la mejora y la aplicación, de varias técnicas y protocolos para aumentar el conocimiento sobre la fisiología de su esperma, mejorando distintos aspectos reproductivos y ayudando a una futura cría en cautividad.

El rendimiento reproductivo de los machos suele evaluarse mediante la medida de parámetros de motilidad espermática usando sistemas CASA, por lo que el primer objetivo fue estandarizar esta técnica, tanto en parámetros técnicos como biológicos. De esta manera, se han establecido las bases para poder evaluar de una manera estandarizada y precisa los parámetros espermáticos, haciendo posible la comparación de los análisis tanto inter- como intra-laboratorios.

En segundo lugar, y con el objetivo de mejorar el proceso de inducción a la maduración de los machos de anguila europea, 3 regímenes térmicos (dos de ellos variables: T10 y T15, y uno de ellos constante: T20) y 3 tratamientos hormonales (hCG, hCG<sub>rec</sub> y PSMG) fueron evaluados en base a diferentes parámetros de calidad espermática. La aparición y progresión de la espermiación resultó fuertemente afectada por la temperatura del agua, y el tratamiento T20 generó los mejores resultados en todos los parámetros de calidad espermáticos. En el caso de los tratamientos hormonales, hCG<sub>rec</sub> generó los mejores resultados, pasando a ser una alternativa rentable y eficaz al tratamiento estándar de hCG utilizado habitualmente para la maduración de machos de anguila.

A continuación, y completando el estudio en machos de anguila europea, se llevó a cabo un estudio fisiológico sobre los cambios que se producen en las concentraciones intracelulares de los principales

iones implicados en la activación del esperma. Los resultados mostraron que, tal y como ocurre en otras especies marinas, las concentraciones intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  aumentaron tras la activación, mientras que el pH mostró una disminución gradual, sugiriendo un papel importante de estos iones durante el proceso de activación de los espermatozoides.

Durante la segunda parte de esta Tesis, centrada en el pez globo, se llevó a cabo un amplio estudio sobre diferentes aspectos del esperma de esta especie que permitió, en primer lugar, el desarrollo de un método capaz de preservar el esperma de esta especie durante un periodo relativamente largo de tiempo (7 días), sin diferencias significativas respecto a los parámetros de calidad de las muestras en fresco. Por otra parte, se evaluaron los efectos que la osmolaridad y la composición iónica del medio de activación tienen sobre los parámetros espermáticos, concluyendo que ambos factores juegan un papel esencial en la iniciación de la motilidad del esperma en pez globo y, probablemente, en el esperma de teleósteos marinos.

Por último, se realizaron distintos ensayos de fertilización *in vitro* con el objetivo de conocer el efecto que la cantidad y la calidad del esperma tienen en las tasas de fertilización y eclosión en esta especie. El ratio huevo:esperma y la calidad del esperma resultaron factores estrechamente relacionados, por lo que ambos deberían ser tenidos en cuenta como un único elemento multi-factorial en ensayos de fertilización. Además, los coeficientes de correlación entre todos los parámetros espermáticos obtenidos mediante un sistema CASA y las tasas de fertilización y eclosión fueron estimados por primera vez en una especie marina. Los parámetros de velocidad presentaron los coeficientes más elevados ( $\geq 0,80$ ), sugiriendo que la cinética de los espermatozoides es un factor clave en el proceso de fertilización.