

WP2- Reproducción y Mejora genética – (SEASPERM)

Juan F. Asturiano

Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universitat Politècnica de València



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.11) and by *Generalitat Valenciana*



Descripción del Grupo de Trabajo



Juan F. Asturiano



Luz M. Pérez



Marina Morini



Thales França



Fátima Fernández



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

Tarea 2.1.2. Estudio de los mecanismos fisiológicos subyacentes en los efectos de la temperatura y del pH sobre la calidad del esperma de peces

UPV₄/CSIC₁, CSIC₂, ICRA-IEO (Murcia)

- Identificación de parálogos de TRPVs en anguila, lubina, dorada y lenguado (falta atún). **Identificación parálogos ostra del Pacífico. Screening TRPVs en anguila, dorada y lubina. Efecto temperatura en expresión TRPVs en lubina.**
- **Efecto de las nanopartículas de titanio en la reproducción de la ostra del Pacífico.**
- **Efecto de nanopartículas de plata y Ag+ en la calidad espermática de la ostra del Pacífico.**



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



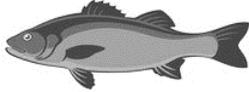
Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

Tarea 2.1.2.

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)

Identificación de parálogos de TRPVs.

						
Identificación TRPVs/TRPA	✓	✓	✓	✓	✗	✓
Puesta a punto <i>primers</i> TRPVs	✓	✓	✓	✗	✗	En proceso
Distribución tisular TRPVs	✓	✓	✓	✗	✗	En proceso
Puesta a punto <i>primers</i> TRPA	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Distribución tisular TRPA	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Efecto temperatura en TRPVs	✗	✗	✓	✗	✗	En proceso

Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

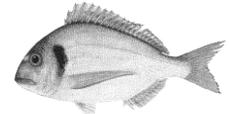
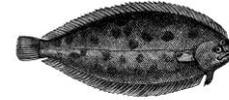
Tarea 2.1.2.

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)

Se probaron **8 inhibidores de TRPV** (4 de TRPV1, 3 de TRPV4, 1 de TRPV6) en esperma de **anguila**. Dos inhibieron el movimiento espermático: capsazepine, inhibidor general de los TRPV, y A784168, inhibidor de los TRPV1.

También inhibieron la motilidad del esperma de **lubina** y el de **dorada** (100 μ M, tras 1 h de incubación).

Efecto de los agonistas/antagonistas de TRPVs en la motilidad espermática

					
Efecto antagonistas TRPV1	✓	✓	✓	En proceso	✗
Efecto agonistas TRPV1	✗	✗	✗	✗	✗

Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

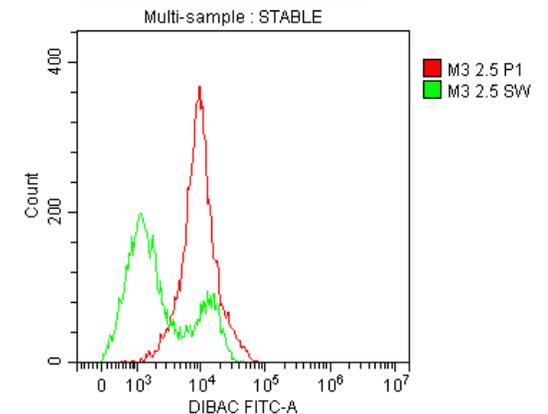
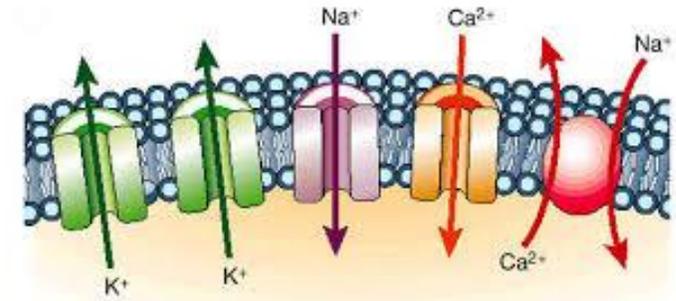
Tarea 2.1.2. Determinación de la relación entre el potencial de membrana del espermatozoide y las concentraciones de iones, y su relación con su capacidad de movimiento

UPV4/ CIPF



VALENCIA BIOMEDICAL
RESEARCH FOUNDATION
CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRÍNCIPE FELIPE

- Determinación de la densidad para realizar mediciones por citometría de flujo (100.000 spz/ml)
- Se han probado 2 fluorocromos (DIsC₃ y DiBAC) a distintas concentraciones, y determinado su concentración óptima
- Mejores resultados con DIBAC
- Los resultados preliminares indican que los espermatozoides se hiperpolarizan tras la activación con agua de mar
- El potencial de membrana tiene un papel en la activación del movimiento del espermatozoide



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by Generalitat Valenciana



Financiado por
la Unión Europea
NextGenerationEU



GOBIERNO
DE ESPAÑA
MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Plan de Recuperación,
Transformación
y Resiliencia



GENERALITAT
VALENCIANA
Conselleria de Educació,
Universitats i Empleo



Fondos Next Generation
en la Comunitat Valenciana

Grado de consecución de las tareas



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

Tarea 2.1.3. Estudio del efecto de la temperatura y del pH en la movilidad del esperma de distintas especies de peces marinos

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)

- Estudio del efecto del pH y de la temperatura del agua de mar sobre los parámetros de motilidad del esperma por medio de sistemas CASA.
- Determinación de la resiliencia del esperma frente a disminuciones del pH y aumentos de la temperatura en **las 5** especies de peces marinos objeto de este estudio (anguila, lubina, dorada, lenguado, **atún**).
- Desarrollo de *challenge tests*; valoración especie-específica; selección machos resilientes



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



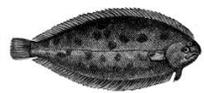
Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

Tarea 2.1.3. Estudio del efecto de la temperatura y del pH en la movilidad del esperma de distintas especies de peces marinos

UPV4/ CSIC1, CSIC2,

Estudio del efecto de la temperatura y del pH en la movilidad del esperma de distintas especies de peces marinos

				
Efecto del pH	✓	✓	✓	✓
Efecto de la temperatura	✓	✓	✓	✓
Efecto combinado pH y T ^a	✓	✓	✓	✓
Efecto combinado pH <i>extender</i> / pH agua de mar	✓	✓	✓	✓
Tests de fertilización	✗	✗	En proceso	✗



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



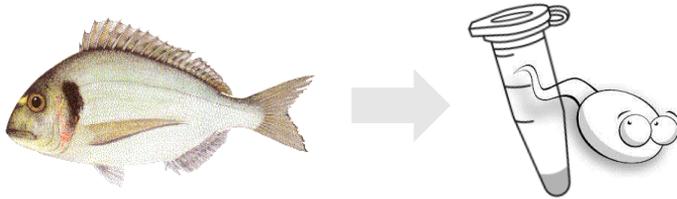
Resultados obtenidos

Objetivo 2.1

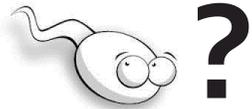
Tarea 2.1.3.

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)

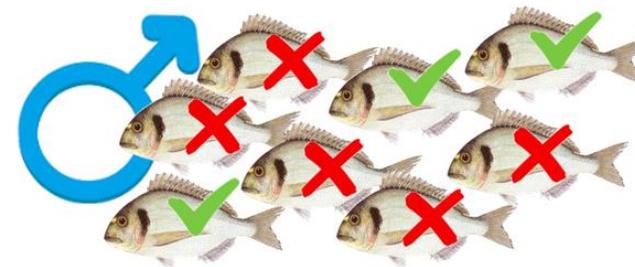
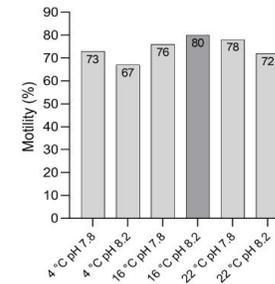
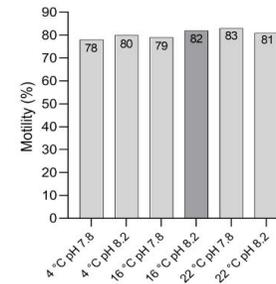
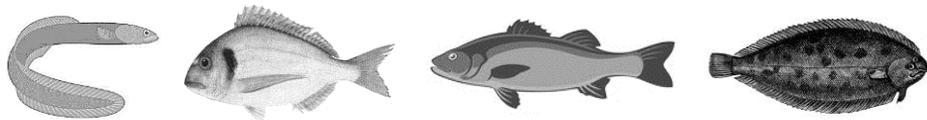
Determinación de la resiliencia del espermatozoides frente a disminuciones del pH y aumentos de la temperatura



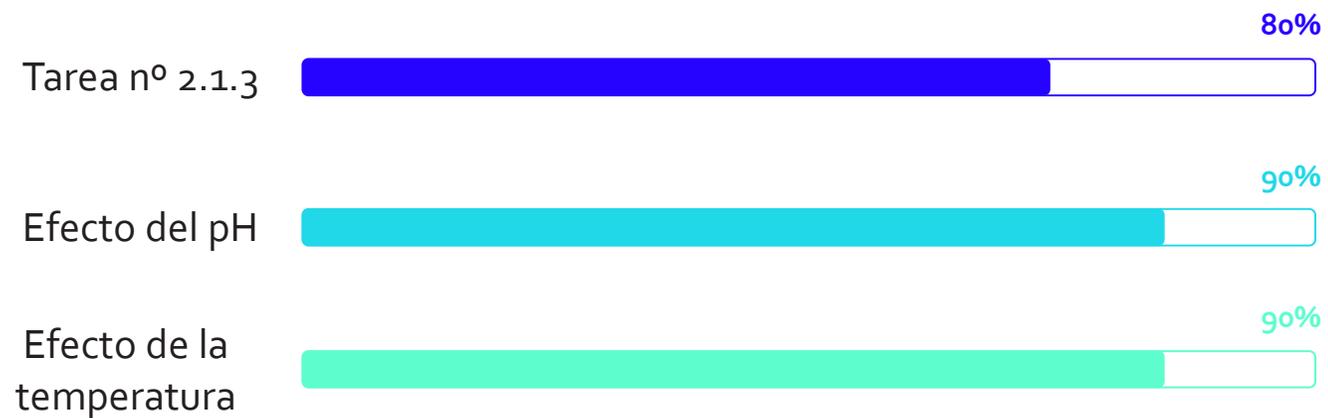
Challenge tests



1. Rango de pHs
2. Rango de temperaturas
3. Efecto pH x temperatura



Grado de consecución de las tareas



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Resultados obtenidos

Objetivo 2.3

Tarea 2.3.2. Identificación de ejemplares cuyo esperma demuestre una especial resiliencia a los cambios de temperatura y de pH, y criopreservación de sus recursos genéticos.

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)



- Puesta a punto de protocolos de congelación de esperma para 5 especies de peces objeto de estudio (anguila, atún rojo, dorada, lubina y lenguado).
- Creación de un criobanco de aquellos ejemplares más resistentes a temperaturas altas y/o valores de pH bajos.
- Análisis de la supervivencia espermática a largo plazo, de los recursos genéticos criopreservados.



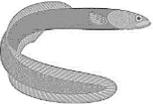
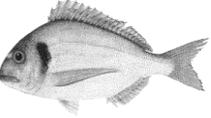
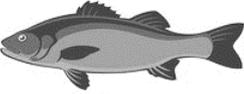
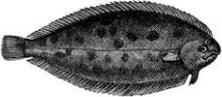
This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



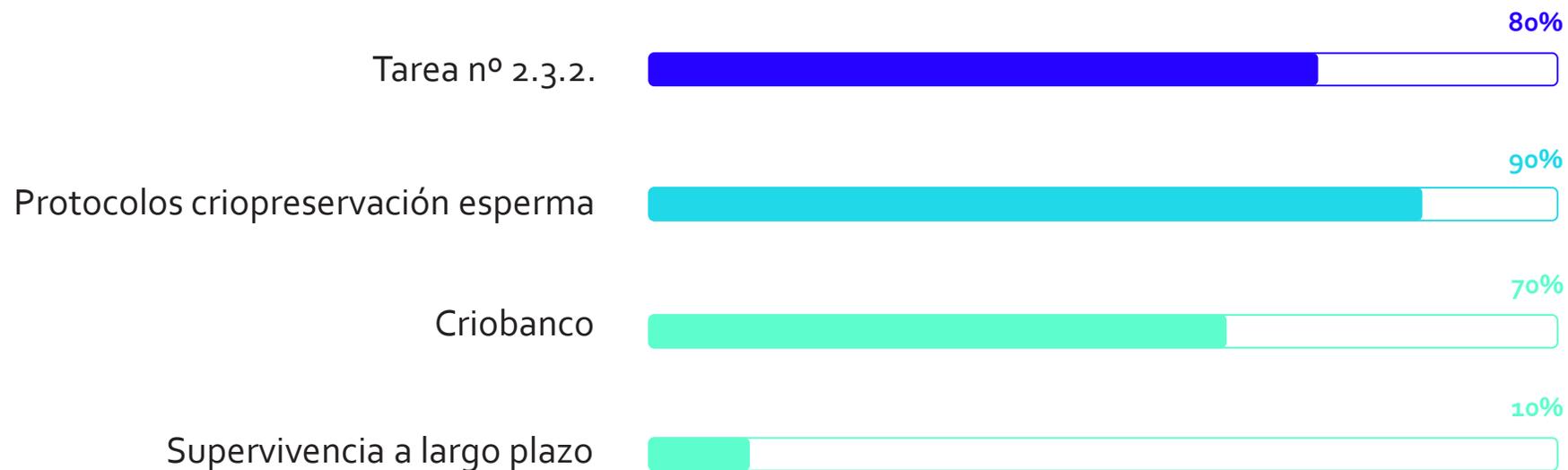
Resultados obtenidos

Tarea 2.3.2. Identificación de ejemplares cuyo esperma demuestre una especial resiliencia a los cambios de temperatura y de pH, y criopreservación de sus recursos genéticos.

UPV4/CSIC1, CSIC2, ICRA-IEO (Murcia)

					
Puesta a punto de protocolos de criopreservación de esperma	✓	✓	✓	✓	✗
Creación de un criobanco de esperma	✗	✓	✓	✓	✗
Análisis de supervivencia espermática a largo plazo	✗	✗	✗	✗	✗

Grado de consecución de las tareas



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Desviaciones del programa inicial

- Imposibilidad de obtener muestras de atún (tejidos, esperma)
- Limitación en muestras de esperma de lenguado (número y volumen)
- Genoma del lenguado ahora accesible en bases de datos (NCBI)
- Inclusión de trabajos con ostra: efectos de contaminantes emergentes (combinados con la temperatura)
- Dificultad y retraso en el tiempo en la puesta a punto de la medida del potencial de membrana del espermatozoide por citometría de flujo y los experimentos asociados.
- No se han realizado fecundaciones de dorada, ni lenguado. Las puestas de lubina este año fueron de mala calidad y se realizaron sólo pequeñas pruebas del efecto del pH y la temperatura en la fecundación de huevos.



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Colaboraciones con grupos GVA-ThinkInAzul

- Colaboración con el IATS (CSIC₁, CSIC₂): estudios TRPVs, motilidad espermática y establecimiento de challenge tests, revisión de protocolos de congelación de espermatozoides (dorada, lubina y lenguado)
- Colaboración con el IATS (CSIC₂): efecto de las temperaturas altas sobre la expresión de TRPs en reproductores de lubina – Tesis doctoral Fátima Fernández
- Colaboración con el IATS (CSIC₂): Desarrollo de herramientas biotecnológicas en anguila – Tesis doctoral César Cruz



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Financiado por
la Unión Europea
NextGenerationEU



GOBIERNO
DE ESPAÑA
MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Plan de Recuperación,
Transformación
y Resiliencia



GENERALITAT
VALENCIANA
Conselleria de Educació,
Universitats i Empreu



Colaboraciones con grupos ThinkInAzul Nacionales

No las ha habido

Con grupos nacionales / internacionales

- Colaboración con el Centro de Investigación Príncipe Felipe: estudios del potencial de membrana de espermatozoides por citometría de flujo
- Colaboración con la Universidade de Aveiro (Portugal): estudio de los mecanismos fisiológicos ligados a la reproducción de la ostra del Pacífico: aumento de la temperatura y contaminantes emergentes
- Colaboración con la Uppsala University (Suecia) y el Museo Nacional de Historia Natural (Francia): estudio de la historia evolutiva de los miembros de la familia TRP
- Tres tesis doctorales en cotutela con universidades brasileñas: Thales S. França, Malbelys Padilla, Laís Borges. Dos finalizadas.



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Financiado por
la Unión Europea
NextGenerationEU



GOBIERNO
DE ESPAÑA
MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Plan de Recuperación,
Transformación
y Resiliencia



GENERALITAT
VALENCIANA
Conselleria de Educació,
Universitats i Empreu



GVA NEXT
Fondos Next Generation
en la Comunitat Valenciana

Hoja de ruta 6 próximos meses

- Medida del potencial de membrana en esperma (de anguila) en distintas condiciones iónicas.
- Puesta a punto *primers* TRPVs y estudio de la distribución tisular de los TRPVs en lenguado.
- Estudios con los TRPA: acabar trabajos *in silico*, diseño de *primers*, distribución tisular.
- Incorporar nuevas muestras de esperma (varias spp) al criobanco.
- Redacción de trabajos:
 - Desarrollo y aplicación de los *challenge tests* (varias especies)
 - Efectos de la dilución post-congelación tras la criopreservación de esperma (varias especies)
 - Caracterización de TRPVs en lubina: distribución tisular y efecto de la temperatura en la expresión en gónada.
 - Efecto de las nanopartículas de titanio en la reproducción de la ostra del Pacífico



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



We're thinking in azul

Gracias | Gràcies

Project Coordinators

Jaume Pérez-Sánchez

jaime.perez.sanchez@csic.es

Carlos Valle Pérez

carlos.valle@ua.es

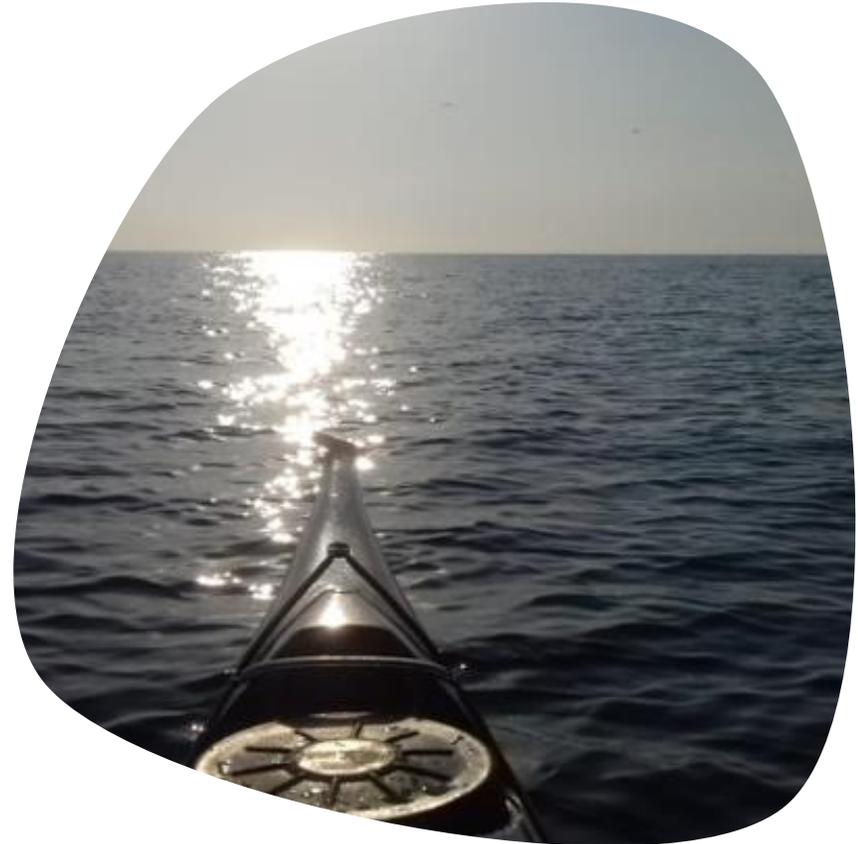
Project Manager

Leyre Rivero Álvarez

leyre.rivero@csic.es



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.11) and by *Generalitat Valenciana*



Juan F. Asturiano

Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universitat Politècnica de València

