

PRÓLOGO

M. Carrillo

La primera revisión en español de la reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura (S. Zanuy y M. Carrillo) apareció en 1987 como un capítulo del libro «Reproducción en Acuicultura» que también incluía la reproducción de moluscos, crustáceos y algas. Este libro, financiado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT) y editado por J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta, permitió recoger y actualizar la información proporcionada, por una serie de especialistas, en un curso para formación de Técnicos Superiores en Acuicultura impartido en el Pazo de Mariñán (Galicia) en 1986. Durante ese período, la acuicultura era una actividad a impulsar dado que los conocimientos fundamentales estaban en sus inicios y eran escasos. El lanzamiento de programas especiales de investigación y desarrollo (I+D) por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT), pioneros en España, ayudó a solventar estas graves deficiencias que la situaban en franca desventaja frente a otros países cuya investigación se iba adecuando al interés creciente de la actividad acuícola. Desde los años 70 hasta el presente, la acuicultura ha experimentado un avance imparable con un crecimiento aproximado de un 8,8% anual (Estadísticas de la FAO). En España, desde finales de la década de los 80 y durante el transcurso de dos décadas más, los avances en investigación y desarrollo, incluyendo personal, número de publicaciones e infraestructuras han sido considerables. Ello ha ido en paralelo con la producción acuícola mundial que en el 2004 alcanzó 45,5 millones de toneladas, frente a los 95 millones obtenidos por las pesquerías. Además, se vislumbra un balance positivo en favor de la acuicultura para la cual, en el 2010, se espera una producción de 53 millones de toneladas frente a los 93 millones esperados en las pesquerías. Han pasado ya 21 años desde la publicación de la pri-



mera revisión en el año 1987 y los avances en los conocimientos en reproducción de peces, hasta la actualidad, han sido muy importantes. Uno de los aspectos que ha cambiado notablemente es el número de especies de peces cultivadas, con claras tendencias a aumentar. A diferencia de los sistemas terrestres de producción animal, basados en un número limitado de especies animales y vegetales, en la producción acuícola figuran más de 240 especies de animales y plantas cultivadas, que representan a un total de 94 familias. De esta producción mundial por acuicultura el grupo de los peces es el que ocupa el primer lugar. Las estadísticas de la FAO indican que en el 2004 se produjeron 27 millones de toneladas de peces, 14 millones de plantas acuáticas, otro tanto de moluscos y 4 millones de crustáceos. La investigación científica ha ido en paralelo a la producción acuícola y en particular, en el caso de los peces, esta se ha beneficiado, de manera importante, de los estudios en biotecnología y biología molecular de las dos últimas décadas. Estos, en particular, han permitido profundizar, aun más, en el conocimiento e implementar nuevas aplicaciones en reproducción de peces. Todos estos hechos justifican, y en consideración de la enorme información acumulada al respecto, que el presente libro haya concentrado su temática solo a la reproducción de los peces. Así mismo, la diversidad de los temas se ha incrementado de manera muy notable por lo que ha sido necesario solicitar la colaboración de distintos especialistas para llevar a cabo revisiones actualizadas de los avances más importantes en materia de reproducción de peces. Esto ha dado lugar al desarrollo de 10 tópicos diferentes que aparecen reflejados en los capítulos que componen el presente libro.

Uno de los aspectos más importantes y menos conocidos de la reproducción es saber cómo se integra la información ambiental en el cerebro de los peces y cómo se realiza su transducción en señales neuronales y neuroendócrinas, capaces de modificar otras estructuras y hormonas implicadas en el proceso reproductor. En este sentido los avances han sido espectaculares. Por poner un ejemplo, se han descrito hasta 6 isoformas de GnRH específicas de los teleósteos. Esta es una neurohormona clave para la síntesis y liberación de las gonadotropinas hipofisarias y por tanto, esencial para la iniciación y mantenimiento del eje reproductor. Se conocen algunas de las funciones de sus diferen-



tes isoformas, pero muchas están aún por definir. Ante tal avalancha de nuevos conocimientos en neuroendocrinología, era necesario dedicar un capítulo al tema: «**Cerebro y reproducción de peces: bases neuronales y neuro-endócrinas**» que ha sido desarrollado por el Dr. José Antonio Muñoz Cueto del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales de la Universidad de Cádiz.

Incursionando un poco más en la ruta del eje cerebro-hipófisis-gónadas, también era precisa una actualización, en profundidad, de las hormonas que rigen la función reproductora, a nivel de la hipófisis y de las gónadas, por su entronque directo con un aspecto más aplicado de esta función en cautividad. En estos últimos años se han clonado la FSH y la LH y sus respectivos receptores en varias especies de teleósteos y entre otros avances, se han desarrollado inmunoensayos específicos que han permitido estudiar la función reproductora de una manera más adecuada y precisa. Además, muchos de los mecanismos que regulan la gametogénesis de los teleósteos han sido desvelados gracias a resultados, muy exactos, obtenidos a través de la aplicación de las técnicas de biología molecular. En consecuencia, los conocimientos e interrogantes que se tenía de todos estos procesos en la década de los 80, en la actualidad, han alcanzado niveles óptimos de comprensión generando respuestas y soluciones prácticas a las preguntas planteadas desde entonces. Por ello se ha dedicado otro capítulo a este importante aspecto. La Dra. Silvia Zanuy y sus colaboradores del Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal-CSIC en Castellón, han desarrollado el capítulo titulado: «**La regulación y control hormonal del proceso reproductor de los teleosteos**», con la finalidad de presentar una visión más actualizada de este tema.

El proceso reproductor, básicamente, está compuesto por ritmicidades hormonales diarias y estacionales que están estrechamente acopladas con variaciones periódicas ambientales como la luz y la temperatura. Los científicos, desde hace mucho tiempo, se plantean preguntas tales como: ¿Cuáles son los mecanismos de acción de los parámetros ambientales sobre los ritmos endógenos de reproducción?, ¿Cómo actúan los factores ambientales sobre la periodicidad de los ciclos sexuales de los peces?, ¿Se puede inhibir o retrasar el inicio de la pubertad o del proceso reproductor de los peces por manipulación de la luz?, ¿Que im-



plicaciones tiene toda esta manipulación ambiental sobre la acuicultura? El Dr. M. Carrillo y sus colaboradores del Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal-CSIC en Castellón, han intentado responder a todos estos interrogantes desarrollando el capítulo: **«El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precocidad»**.

Uno de los aspectos largo tiempo ignorado en Acuicultura, a pesar de su importancia teórica y aplicada, ha sido la determinación y diferenciación sexual en los peces. Estos parámetros, de naturaleza demográfica, han sido los responsables de la proporción de sexos en las poblaciones condicionando su estructura y su capacidad reproductora. En consecuencia éstos, por derecho propio, estarían implicados en la supervivencia de las especies. El estudio de la determinación y diferenciación sexual se ha convertido en un área muy activa de investigación y el Dr. Francesc Piferrer del Instituto de Ciencias del Mar del CSIC de Barcelona en el capítulo: **«Determinación y diferenciación sexual en los peces»**, presenta una visión de conjunto, de este importante tema. Este capítulo busca respuestas a numerosos interrogantes entre los cuales podríamos citar: ¿Como influye el medio ambiente en la proporción de sexos?, ¿Que genes están implicados en ello?, ¿Cómo se aprovecha la acuicultura de la ventaja del dimorfismo sexual de las especies?.

Una adecuada alimentación, administrada a los reproductores, influye directamente sobre la fisiología y regulación hormonal del animal e interviene, de manera directa, sobre la calidad y cantidad de huevos y larvas producidos. Además, por su aplicación práctica, es muy importante determinar el tiempo necesario para que la dieta influya sobre la calidad de las puestas. Esta área de conocimiento, ubicada en la interfase nutrición-reproducción, requería de una visión conjunta, acerca de la influencia de los componentes nutricionales de las dietas, la tasa de ingesta y la duración del período de alimentación sobre etapas tempranas de desarrollo de huevos y larvas de los peces. Los Drs. Hernández Palacios y Marisol Izquierdo del Grupo de Investigación de Acuicultura del Instituto Canario de Ciencias Marinas y de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria (ICCM-ULPGC) en Gran Canaria, abordan este reto con un capítulo sobre: **«Efectos de la dieta de los reproductores sobre la puesta»** en el que desarrollan todos estos aspectos.



Los estudios de los mecanismos endocrinos que controlan la reproducción de los peces, han generado la información necesaria para desarrollar protocolos de manipulación ambiental y hormonal para inducir la puesta en cautividad. Un mecanismo directamente implicado en la supervivencia de huevos y embriones es el de la maduración, hidratación y ovulación del oocito. A pesar de su potencial importancia para la acuicultura, en aspectos tales como la evaluación de la viabilidad de los huevos o la criopreservación de huevos y embriones, se conoce poco acerca de las bases moleculares de este mecanismo. El Dr. Joan Cerdá, del laboratorio IRTA-Instituto de Ciencias del Mar de Barcelona presenta una revisión actual en el capítulo titulado: «**Mecanismos moleculares durante la maduración y ovulación del oocito de teleosteos: avances recientes y su aplicación en acuicultura**».

La capacidad de suspender la actividad celular del germoplasma durante un tiempo indefinido aplicando temperaturas bajas y lograr una posterior reanimación, es una técnica de extraordinario interés para el manejo de la reproducción, la conservación de la biodiversidad y el mantenimiento de variedades de especial valor biotecnológico en peces. La Dra. M.^a Paz Herráez del Departamento de Biología Molecular de la Universidad de León en el capítulo: «**Criopreservación de gametos y embriones**», plantea los fundamentos de la criopreservación celular y sus aplicaciones a la reproducción de peces. Este capítulo proporciona protocolos de inseminación artificial, así como los avances conseguidos en la congelación de embriones, ovocitos y blastómeros. Todo ello enmarcado en un área de un enorme potencial biotecnológico.

El desarrollo imparable de las actividades humanas ha llevado parejo problemas de contaminación ambiental y acumulación de sustancias químicas que, junto con las producidas por la naturaleza, son capaces de interactuar con los sistemas endocrinos de los peces. Ello altera su homeostasis corporal e incide negativamente sobre el crecimiento, el desarrollo sexual y el comportamiento reproductor. El Dr. José María Navas, del Departamento de Medio Ambiente del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) presenta un capítulo sobre: «**Los perturbadores endocrinos y sus posibles efectos en la reproducción de peces cultivados**». Esta revisión profundiza



en las alteraciones fisiológicas que subyacen en el fenómeno de la disrupción endocrina, centrándose en los mecanismos de actuación de los diferentes disruptores endocrinos y su posible incidencia sobre las explotaciones acuícolas.

Uno de los grandes retos a los que se ha tenido que enfrentar la investigación acuícola es el de la diversificación, con el consiguiente incremento de nuevas especies cultivadas de las que prácticamente, se desconocía su biología reproductiva. Para ser eficaz, todo sistema de producción debe disponer de unos conocimientos previos acerca de los patrones y mecanismos reproductores de las nuevas especies que se pretenden cultivar. Por otro lado, era preciso el punto de vista del profesional de los cultivos, tanto sobre la importancia de esta diversificación sobre los mismos, como a que problemas prácticos se enfrenta. Estas han sido algunas de las razones por las que se ha incluido el capítulo: «**Relevancia de la reproducción en la diversificación de la piscicultura marina en España**» escrito por el Dr. José Pedro Cañabate del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) del centro El Toruño (Junta de Andalucía).

El desarrollo actual de la acuicultura Española y los vínculos históricos establecidos con los países iberoamericanos, permiten establecer relaciones científicas estratégicas de colaboración internacional con todos ellos. Latinoamérica presenta unas condiciones únicas y privilegiadas para desarrollar cultivos de peces que, además al ser muy diversos, tienen estrategias reproductoras muy diferentes a las de las especies que se cultivan en España. Así por ejemplo, el crecimiento de la producción acuícola en peces, crustáceos y moluscos, en los países en vías de desarrollo, ha sido superior al registrado en los desarrollados, con un incremento del 10,2% desde 1970 frente al 3,9 de los países desarrollados. Además, la mayor producción acuícola de los países en desarrollo es en peces omnívoros/herbívoros y en especies que se alimentan por filtración. En cambio, en los países desarrollados, casi las $\frac{3}{4}$ partes de la producción piscícola es de especies carnívoras. A pesar de estas enormes diferencias entre las especies cultivadas en España y en Latinoamérica, seguramente es factible aplicar conocimientos desarrollados en especies modelo en España a especies nativas de Latinoamérica. Esto puede dar como resultado el desarrollo de estudios de

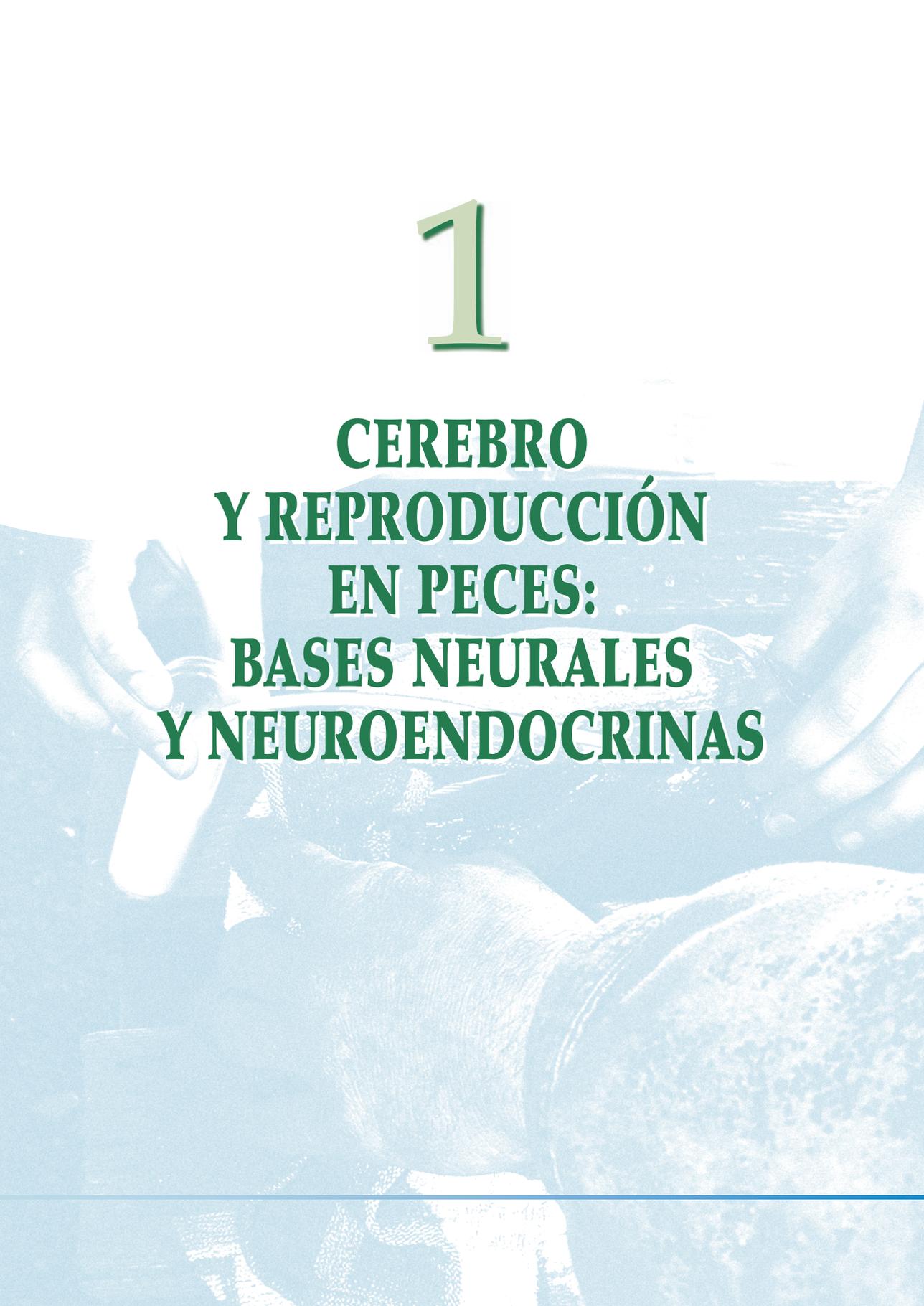


fisiología y endocrinología comparada que previsiblemente tendrán un fuerte impacto en acuicultura. Por ello, previamente, es importante conocer cual es la situación actual de la reproducción de peces en Latinoamérica y en cierta manera, disponer de un inventario de especies potenciales para los cultivos. Los Doctores Vicente Gracia López, del Centro de Investigaciones del Noroeste, S.C. (CIBNOR) de Baja California (México) e Ivan Valdebenito Isler, de la Escuela de Acuicultura, Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Católica de Temuco (Chile), han respondido a esta demanda con un capítulo sobre: **«Reproducción de peces marinos y de agua dulce en Latinoamérica»**. Estos autores señalan una producción escasa y fluctuante de peces marinos y a pesar de disponer de información científica sobre la reproducción de, al menos ocho familias de peces, ésta todavía no se ha traducido en producción industrial. Esta situación contrasta con las especies de agua dulce, en particular en los salmónidos, con una producción de más de 600.000 toneladas, en los que se han implementado prácticamente todas las tecnologías de la reproducción, desde la inducción a la puesta a la crio-preservación de gametos.



1

CEREBRO Y REPRODUCCIÓN EN PECES: BASES NEURALES Y NEUROENDOCRINAS





1

CEREBRO Y REPRODUCCIÓN EN PECES: BASES NEURALES Y NEUROENDOCRINAS

José Antonio Muñoz Cueto

Departamento de Biología.
Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.
Universidad de Cádiz

Resumen

La reproducción en peces es un proceso de enorme interés, tanto básico como aplicado, dada la posición filogenética que ocupan los peces en la escala de vertebrados y la relevancia de este evento para la acuicultura. Este proceso fisiológico, de marcado carácter estacional, es el resultado de la integración de la información ambiental por sistemas sensoriales específicos y su transducción en una cascada hormonal que tiene lugar a lo largo del eje pineal-cerebro-hipófisis-gónada, y que tiene por objeto que la reproducción tenga lugar en el momento más favorable para la supervivencia de la progenie. El órgano pineal y el cerebro desempeñan un papel relevante en la actividad del eje reproductivo ya que desarrollan funciones receptoras, integradoras y efectoras. En este capítulo abordaremos el papel desempeñado por el órgano pineal y el cerebro en la integración de la información ambiental y en su transducción en una serie de señales neurales y neuroendocrinas que modulan la actividad y secreción de otras estructuras y hormonas implicadas en el proceso reproductivo.

Abstract

Fish reproduction is a physiologically relevant process with both basic and practical interest given the high number of fish species, their key position



in vertebrate phylogeny and their increasing importance for Aquaculture. Seasonal reproduction in fish is the consequence of the adequate integration of environmental cues by specific sensory systems and their transduction into a hormonal cascade throughout the pineal-brain-pituitary-gonadal axis. As a result, this event occurs in the moment of the year being most favorable for the survival of the progeny. The pineal organ and the brain play a crucial role within the reproductive axis since they exhibit receptor, integrating and effectors functions. In this chapter, we will review the role played by the pineal organ and the brain in the integration of the environmental information and its transduction into neural and neuroendocrine signals that modulate the activity and secretion of other structures and hormones involved in the reproductive process.

1.1. INTRODUCCIÓN

Un reto de la acuicultura es la diversificación y la reproducción controlada de nuevas especies de interés comercial. Sin embargo, en la mayoría de los casos la reproducción en cautividad de estas nuevas especies sigue siendo un proceso poco controlado y aleatorio en gran parte de las instalaciones piscícolas. Estos problemas son, en parte, la consecuencia de alteraciones en las condiciones ambientales (ciclos de luz y temperatura, etc) a las que se hallan sometidos los animales en cultivo, y que en muchos casos difieren sensiblemente de las condiciones que encuentran en el medio natural. Si a esto le unimos los problemas asociados al desarrollo (viabilidad, malformaciones), el manejo (estrés, patologías) y la alimentación (en muchos casos los piensos no están del todo equilibrados para la especie en cuestión), resulta fácil comprender la dificultad que supone incorporar nuevas especies para su explotación en acuicultura. Todas estas alteraciones afectan la evolución normal del proceso reproductivo porque perturban el sistema endocrino a distintos niveles del eje pineal-cerebro-hipófisis-gónada (Figura 1). Por ello, el esclarecimiento de los mecanismos de integración de la información ambiental y el conocimiento de los eventos endocrinos y neuroendocrinos que regulan la reproducción representan aspectos cruciales para la Acuicultura de estas especies, ya

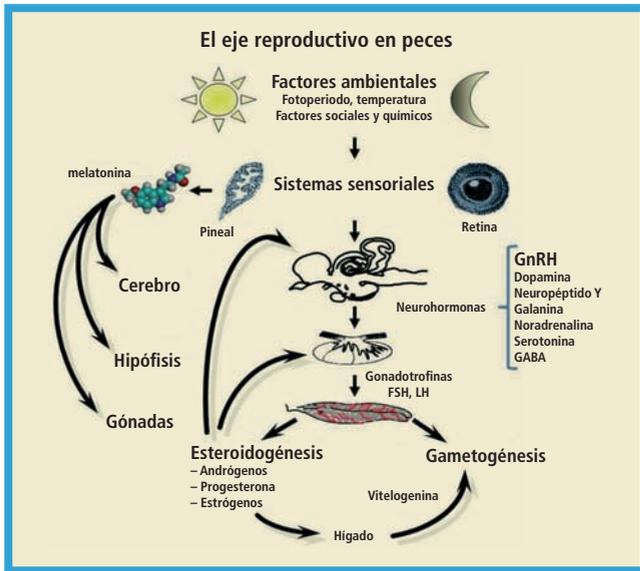


FIGURA 1. Esquema representativo del eje pineal-cerebro-hipófisis-gónada que gobierna el proceso reproductivo en peces.

que pueden favorecer notablemente el control de su ciclo reproductivo y permitir resolver problemas cotidianos que se presentan en la práctica acuícola.

El órgano pineal y el cerebro desempeñan un papel relevante en la actividad del eje reproductivo ya que poseen funciones receptoras, integradoras y efectoras. En este capítulo abordaremos el papel que desempeñan el órgano pineal y el cerebro en la integración de la información ambiental y en su transducción en una serie de señales neurales y neuroendocrinas que modulan la actividad y secreción de otras estructuras y hormonas implicadas en el proceso reproductivo.

1.2. EL ÓRGANO PINEAL: INTEGRACIÓN NEURAL Y NEUROENDOCRINA DE LA INFORMACIÓN AMBIENTAL

La reproducción de los peces es un proceso de marcado carácter rítmico, que se encuentra regulado por factores ambientales cíclicos como el fotoperiodo y la temperatura. Así, en nuestras latitudes los animales están expuestos en el medio natural a los cambios diarios y



estacionales de los ciclos de luz-oscuridad (días más largos en verano, días más cortos en inviernos, y días de duración intermedia en primavera y otoño) y a los cambios progresivos en la temperatura del agua (aguas más cálidas en verano, aguas más frías en invierno, temperaturas intermedias en primavera y otoño). Estas variaciones en la duración de los días y en la temperatura del agua son periódicas y repetitivas de un año a otro y representan señales muy fiables para los peces. En respuesta a estas variaciones cíclicas, y de forma adaptativa, los animales han seleccionado la época del año que resulta más favorable para la reproducción y la supervivencia de su progenie. Esto hace que algunas especies como la dorada o la lubina se reproduzcan en invierno y que otras como el lenguado se reproduzcan en primavera y, en menor medida, en el otoño.

El conocimiento de los mecanismos que subyacen en el control ambiental de la reproducción tiene no sólo un interés básico sino también un interés aplicado para controlar el proceso reproductivo de peces. Los primeros resultados claros de manipulación fotoperiódica en peces, fueron obtenidos por Hoover (1937). En estos primeros ensayos se comprobó que la exposición de truchas a ciclos comprimidos, más cortos de un año, producía un adelanto del tiempo de las puestas en 3-4 meses con respecto a los animales mantenidos en fotoperiodo natural. Posteriormente estudios realizados por otros autores en varias especies de peces, tales como la dorada (Zohar *et al.*, 1995), la lubina (Carrillo *et al.*, 1995) y el lenguado (Devauchelle *et al.*, 1987; Ramos, 1985), demostraron que las puestas se adelantaban cuando se utilizaban ciclos naturales de luz comprimidos y se atrasaban si los fotoperiodos estacionales se extendían a periodos superiores a un año. Esta modificación estacional del fotoperiodo ha sido una práctica muy habitual desde hace tiempo para adelantar o retrasar las puestas en algunas especies como la trucha (Bromage *et al.*, 2001) y la lubina (Carrillo *et al.*, 1993; Zanuy *et al.*, 1995). Una revisión detallada de estos estudios se puede encontrar en el capítulo dedicado al control ambiental de la pubertad y de los ciclos reproductores elaborado por Manuel Carrillo en este libro.

Pero para que la reproducción tenga éxito, los individuos no sólo deben sincronizarse con las variaciones de los factores ambientales sino que es preciso que se produzca también una sincronización de los repro-



ductores entre sí, de forma que maduren simultáneamente. El desarrollo adecuado de todos estos procesos requiere múltiples y complejas interacciones que tienen lugar a lo largo del **eje pineal-cerebro-hipófisis-gónada** (Figura 1). Para ello, los individuos disponen de sistemas sensoriales y receptores específicos que perciben los estímulos ambientales (fotoperíodo, temperatura, etc.) y sociales (presencia de otros individuos, densidad de población, proporción de sexos, etc.). Como veremos en este capítulo, el órgano pineal, una estructura neural con capacidad secretora, desempeña en peces un papel muy importante en la percepción de la información del fotoperíodo y la temperatura y en la codificación de esta información en señales nerviosas (neurotransmisores) y neuroendocrinas (melatonina) que permiten la sincronización ambiental de numerosos procesos rítmicos, entre ellos la reproducción. Esta información suministrada por el órgano pineal debe alcanzar de forma directa o indirecta el hipotálamo y la hipófisis, para modular la síntesis de factores reguladores hipotalámicos y gonadotrofinas hipofisiarias, las cuales dirigen los ritmos de desarrollo gonadal y la reproducción.

En vertebrados como los agnatos, los peces y los anfibios, la glándula pineal es un órgano fotosensible que posee verdaderos pinealocitos fotorreceptores y, en el curso de la evolución, estos pinealocitos han perdido progresivamente sus propiedades fotorreceptoras (Falcón, 1999; Ekström y Meissl, 2003). Así, en mamíferos la captación de la información luminosa reside exclusivamente en la retina, ya que es la estructura que presenta células fotorreceptoras (conos y bastones). Esta información de la retina llega al cerebro a través de un tracto retino-hipotalámico y alcanza diversos núcleos nerviosos, entre ellos el núcleo supraquiasmático, donde se localiza el marcapasos central que controla los ritmos biológicos. A través de una serie de relevos neuronales que implican a poblaciones celulares de la medula espinal, esta información de la luz llega a la glándula pineal, que responde secretando melatonina de forma rítmica (secreción nocturna) para sincronizar numerosos ritmos biológicos (Collin *et al.*, 1989). Los reptiles y aves presentan una organización intermedia, en los cuales tanto la ruta intracraneal como el tracto retino-hipotalámico median en el acceso de la información sobre el fotoperíodo hasta la glándula pineal (Collin *et al.*, 1989; Falcón, 1999).