

<b>Acrónimo</b>	<b>REPROMOL AGL2015-68330</b>
<b>Título</b>	Mecanismos moleculares subyacentes al fallo reproductivo en <i>Solea senegalensis</i> : desarrollo de nuevas estrategias y tratamientos para solventar la disfunción reproductiva en F1
<b>Entidades participantes</b>	IEO, Universidad de Salamanca
<b>Entidad financiadora</b>	MINECO, SUBDIRECCIÓN GENERAL DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
<b>Financiación externa</b>	MINECO, SUBDIRECCIÓN GENERAL DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
<b>Investigador principal</b>	Vanesa Robles (IEO Santander)
<b>Periodo</b>	2016-2018

## **RESUMEN**

El lenguado senegalés es una de las principales especies de peces con gran interés económico que puede diversificar la acuicultura. Al no obtenerse puestas de individuos nacidos en cautividad, es necesaria la captura de adultos reproductores salvajes. Se ha observado que estos individuos no realizan el ritual de cortejo, presentan niveles hormonales más bajos, baja calidad espermática y bajos niveles de esperma.

El sistema dopaminérgico mesolímbico es clave para la activación del sistema de recompensa, tanto por estímulos naturales como por drogas de abuso. Por tanto, es posible que alteraciones en el sistema de recompensa sean las causantes de la disfunción reproductiva en los individuos de lenguado senegalés criados en cautividad.

Puesto que el genoma del lenguado no ha sido secuenciado, y no existen herramientas genéticas para esta especie, es necesario el uso de otro modelo de pez, como el pez cebra, para abordar esta problemática bajo un enfoque totalmente novedoso.

### **Hipótesis de trabajo:**

- 1) Las disfunciones reproductivas de los individuos F1 de *Solea senegalensis* pueden ser causadas por alteraciones en el sistema dopaminérgico.
- 2) El análisis de las diferencias neurobiológicas en la señalización dopaminérgica, en el desempeño reproductivo y en la calidad seminal del lenguado senegalés y en el pez cebra contribuirán a la mejora del éxito reproductivo y al descubrimiento de la causa de la disfunción reproductora en lenguados machos.
- 3) Alteraciones del sistema dopaminérgico pueden tener un efecto directo en la calidad seminal.

- 4) El desarrollo de marcadores moleculares para la identificación de buenos reproductores junto con el desarrollo de métodos para la selección de subpoblaciones espermáticas óptimas serán herramientas de gran valor en el manejo reproductivo
- 5) El tratamiento de machos de lenguado senegalés con agentes farmacológicos puede modificar el ritual de cortejo y la calidad seminal, pudiendo suponer un posible tratamiento para la disfunción reproductora.

**Objetivo principal:**

Implementar nuevas técnicas relevantes para la gestión del stock reproductor del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) y descubrir los mecanismos causantes del fracaso reproductor de machos de la F1, con el fin de resolver los obstáculos que frenan el cultivo sostenible de esta especie.

**Objetivos específicos:**

- 1) Establecer marcadores moleculares para seleccionar buenos reproductores
- 2) Obtener subpoblaciones espermáticas óptimas por “magnetic activated cell sorting”
- 3) Determinar diferencias neurobiológicas en la señalización dopaminérgica en el pez cebra, e intentar extrapolar el resultado experimental al lenguado senegalés.
- 4) Correlacionar el efecto de ciertas drogas de abuso con los cambios observados entre buenos y malos reproductores.
- 5) Analizar los mecanismos moleculares responsables de las alteraciones neurobiológicas en el pez cebra relacionadas con el fracaso reproductivo.
- 6) Correlacionar las diferencias neurobiológicas con la calidad espermática
- 7) Desarrollar tratamientos para la mejora reproductiva en cautividad.

**Reto:** 2) Seguridad, calidad alimentaria; actividad agraria productiva y sostenible; sostenibilidad de recursos naturales, investigación marina y marítima.

La consecución de los objetivos de la presente propuesta tendrá un impacto muy positivo en el desarrollo de cultivos sostenibles de esta valiosa especie, estando en consonancia con los objetivos del H2020

## **ABSTRACT**

The Senegalese sole is considered as a flatfish species of high commercial value that can diversify Aquaculture. Successfully spawning has not been obtained from captivity breed broodstock, making necessary the permanent capture of wild breeders. Evidence of lack of courtship, lower hormone levels, low male gamete quality and low and variable sperm have been found in cultured individuals.

The mesolimbic dopaminergic signalling plays a key role in the activation of the reward pathway, either by natural or by maladaptive rewards. Therefore, it can be possible that a dysfunction in the reward pathway in the Senegalese sole is responsible for reproductive failure in F1 reared in captivity.

Since the genome of *Solea senegalensis* is not sequenced and no genetic techniques are available for this species, it is necessary to use a well-known fish model, such as the zebrafish, to use an alternative approach to address this problem.

### **Working hypotheses:**

- 1) Reproductive dysfunctions in *Solea senegalensis* F1 individuals could be due to alterations in the dopaminergic system, sharing common mechanisms with natural and artificial stimuli that affect to the brain reward system by mesencephalic dopamine.
- 2) The analysis of the neurobiological differences in dopaminergic signalling, reproductive performance and sperm quality in the Senegalese sole and zebrafish will help to improve reproductive success and to discover the underlying cause of reproductive dysfunction in sole males.
- 3) The alterations in the dopaminergic system would have a direct effect on male sperm quality, including molecular markers.
- 4) The development of molecular markers for good breeder selection will help in the reproductive management and the employment of techniques for optimal subpopulation selection will improve fertility rates and the quality of the samples that should be cryopreserved
- 5) The treatment of *Solea senegalensis* males with pharmacological agents would affect their courtship and their sperm quality being a possible treatment for their reproductive disfunction

### **Main objective:**

To implement new techniques that improve reproductive management in *Solea senegalensis* and to discover the mechanisms underlying reproductive failure of F1 males in order to provide clues for solving the problems that hinders the sustainable culture of this promising species in European Aquaculture.

**Specific objectives:**

- 1) To find molecular markers for good breeder selection
- 2) To obtain optimal sperm subpopulation selection by magnetic activated cell sorting
- 3) To determine neurobiological differences in dopaminergic signalling in the zebrafish and trying to extrapolate the experimental outcome to the Senegalese sole
- 4) To correlate the effect of several drugs of abuse with the changes observed between good and bad breeders
- 5) To analyze the molecular mechanisms that are responsible for the neurobiological alterations in the zebrafish related to reproductive failure
- 6) To correlate neurobiological molecular differences with sperm quality
- 7) To develop treatments to improve reproductive performance in captivity

This project would have an important impact in the development of sustainable culture of this valuable species being in accordance with H2020 objectives.