



BIOLED

FOTOPERIODO

Temperatura e
intensidad de luz
en la madurez
precoz del salmón
del Atlántico

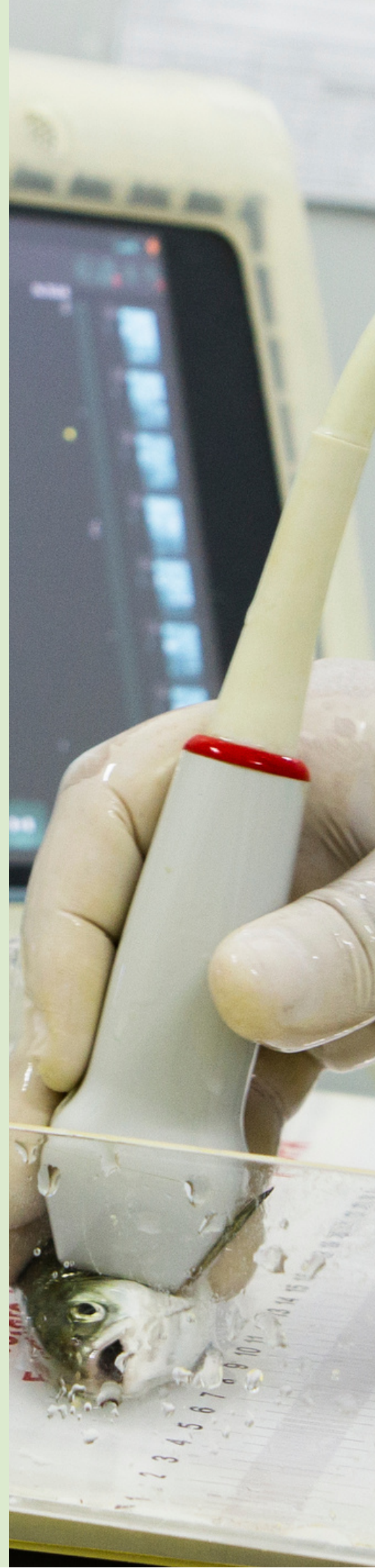
ELABORADO POR

A. Fernández*, X. Navarro y V. Mella
Bioled, Puerto Varas, Chile
*afernandez@bioled.cl

Introducción

El inicio de la madurez en el salmón es un proceso altamente flexible. El ciclo de vida depende de una interacción entre la composición genética y las condiciones ambientales. En la madurez precoz, las gónadas se desarrollan antes que los peces alcancen una condición corporal adecuada provocando un menor crecimiento y una menor calidad del producto (Porter *et al.* 2003).

La aplicación del fotoperiodo artificial ha permitido reducir la madurez precoz en la fase de engorda. Aunque el régimen de fotoperiodo es diferente en cada etapa de desarrollo, está demostrado que la intensidad y la composición espectral de la luz determinan la respuesta fisiológica del salmón (Bromage *et al.* 2001; Migaud *et al.* 2007; Vera *et al.* 2010). En el salmón del Atlántico, la irradiancia mínima que el pez percibe como luz es 0,016 W/m² (Migaud *et al.* 2006) y ese es el valor de irradiancia objetivo en un sistema de fotoperiodo artificial.





La temperatura, así como el fotoperiodo, juega un rol regulador en el cultivo del salmón (McCormick *et al.* 2002; Imsland *et al.* 2014) por lo tanto, es necesario considerar las temperaturas específicas para cada estado del desarrollo. Variaciones de temperatura en las unidades de cultivo pueden ser reconocidas como una señal de cambio de estación y alterar el balance hormonal (Imsland *et al.* 2014). Por otro lado, Fjellidal *et al.* (2011) y Melo *et al.*, (2014) observaron que altas temperaturas (16° C) en combinación con luz continua o con fotoperiodo de 12:12 modulan el desarrollo puberal en peces post-smolt antes de la transferencia al mar.

En Chile, una problemática necesaria a abordar en la producción de smolt es la alta temperatura de cultivo en los sistemas de flujo abierto, que se sospecha juega un rol en el incremento de las tasas de madurez en peces machos pre-smolt y smolt. Además, se han observado altas variaciones de temperatura durante los primeras etapas de cultivo, particularmente durante los meses de verano donde la temperatura puede alcanzar los 18°C a 23 °C. En algunos casos, coincidiendo con el invierno de esmoltificación.

En este estudio se hipotetizó que los cambios en la intensidad de luz y temperatura pueden ser reconocidos por el salmón como señales para iniciar la cascada de madurez. Basado en la hipótesis el objetivo del estudio fue evaluar si los cambios de la intensidad de la luz y las variaciones de temperatura pueden desencadenar la maduración sexual en el salmón Atlántico durante el cultivo del smolt.



Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el centro experimental ATC Patagonia en Puerto Montt, Chile (41° S, 72° O). *Salmo salar* de 5 g (n=80/grupo) de cepa Aquagen, se dividieron en cuatro grupos con diferentes regímenes de intensidad de luz y temperatura (Figura 1).

El grupo control se mantuvo con una intensidad de luz constante (0.48 W/m²) y una temperatura de 13°C. El grupo 1 se mantuvo con una temperatura constante de 13°C y una disminución gradual de la intensidad de la luz en dos pasos: desde 0.02 W/m² a 0.01 W/m² a los 46.9 g y luego a 0.0001 W/m² desde los 87.4 g a los 164g. El grupo 2 se mantuvo con una intensidad de luz decreciente del mismo modo que el Grupo 1 y con variaciones de temperatura desde los 15.6°C a 7.9°C a los 10.2 g y luego 18°C desde los 30.8 g hasta el término del estudio. El grupo 3 se mantuvo con intensidad de luz constante (0,48 W/m²) y variaciones de temperatura del mismo modo que el grupo 2.

El régimen de fotoperiodo fue similar en el grupo control y experimentales: 24:0 desde los 5 g a 75 g, luego un fotoperiodo de 8:16 por 6 semanas seguido de seis semanas a 24:0.

El desarrollo gonadal fue monitoreado a partir de los 30g y cada 15 días mediante ultrasonografía con una sonda de 12-22 Mhz, posterior al muestreo de peso y talla. La histología se realizó a un n=10 peces/grupo, donde previamente los peces fueron eutanasiados con una sobredosis de MS-22 (350 mg L⁻¹). Las gónadas fueron extraídas, pesadas (para análisis de Índice gonadosomático, IGS) y fijadas en formalina al 4%. Las células germinales fueron diferenciadas de acuerdo al criterio descrito por Fjedall *et al.* (2018). Para la cuantificación de testosterona, se tomaron muestras de sangre cuyo plasma recuperado fue almacenado a -80°C para análisis de radioinmunoanálisis.

Muestreos de branquias fueron realizados a n=10 peces/grupo cada 7 días a partir de la última semana de exposición a 12:12 hasta el fin del experimento. La actividad de Na⁺-K⁺-ATPasa fue determinado utilizando mediante lecturas con espectrómetro UV a 312 nm. La actividad de la enzima fue expresada en U/mg.

Resultados

Se observó una diferencia significativa en el número de individuos machos con madurez en los grupos 2 y 3 versus el control. Tabla 1 y Fig. 2-5

Una evidente progresión del desarrollo gonadal fue observada durante los muestreos en ambos grupos pero sólo en el grupo 3 se encontraron espermios, que representa individuos en estado 6 de madurez (Figura 2 y 3). El IGS fue significativamente mayor en los grupos 2 y 3 versus el control y este incremento se mantuvo en los sucesivos muestreos, donde no se observaron diferencias significativas en ambos grupos (Figura 4).

En relación a las concentraciones de testosterona se detectó un incremento en los niveles plasmáticos en el grupo 2 y 3. Los análisis estadísticos mostraron que los factores individuales y la interacción entre ambos fue significativo (Figura 5). Por lo tanto, la testosterona fue influenciado por la fecha de muestreo y el tratamiento.

La figura 6 representa la actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa en branquias durante los muestreos. Se observa un efecto en la irradiancia en la actividad de la enzima con una menor actividad de Na⁺-K⁺-ATPasa para el grupo 2 ($p = 0.0209$). Es decir, en el grupo de peces expuestos a una disminución sostenida de la irradiancia.

En relación a la dinámica de crecimiento entre los diferentes tratamientos, no se observaron diferencias entre el peso y las tasas de crecimiento.



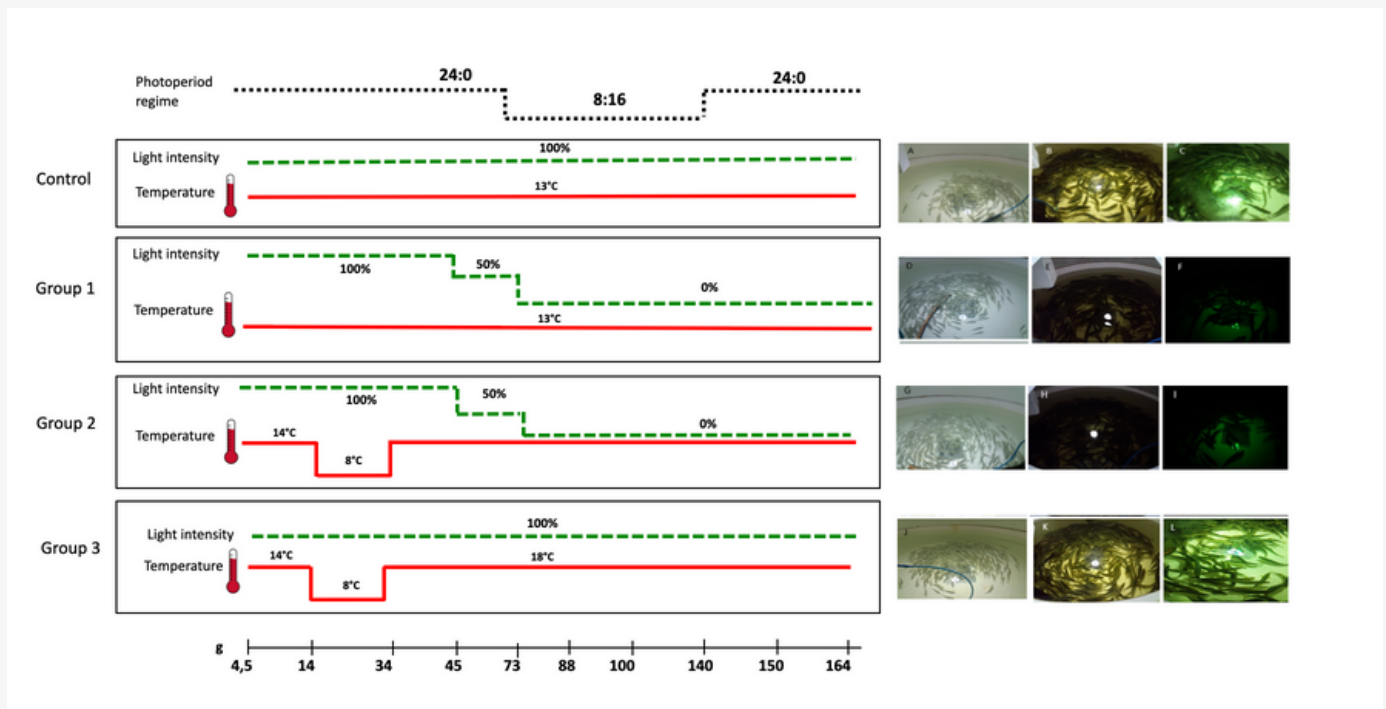


Figura 1. Diseño experimental

Estado	Control	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Total
Inmaduro	79	77 ns	57***	50***	263
Maduro	1	3 ns	23***	30***	57
Total	80	80	80	80	320

Tabla 1. Número de observaciones (n) de peces con o sin maduración sexual según análisis histológico en salmones Atlántico expuestos a diferentes intensidades de luz y temperaturas.

Asteriscos denotan diferencias significativas cuando se comparan con el grupo control (ns = $p > 0.05$, ***= $p > 0.001$).

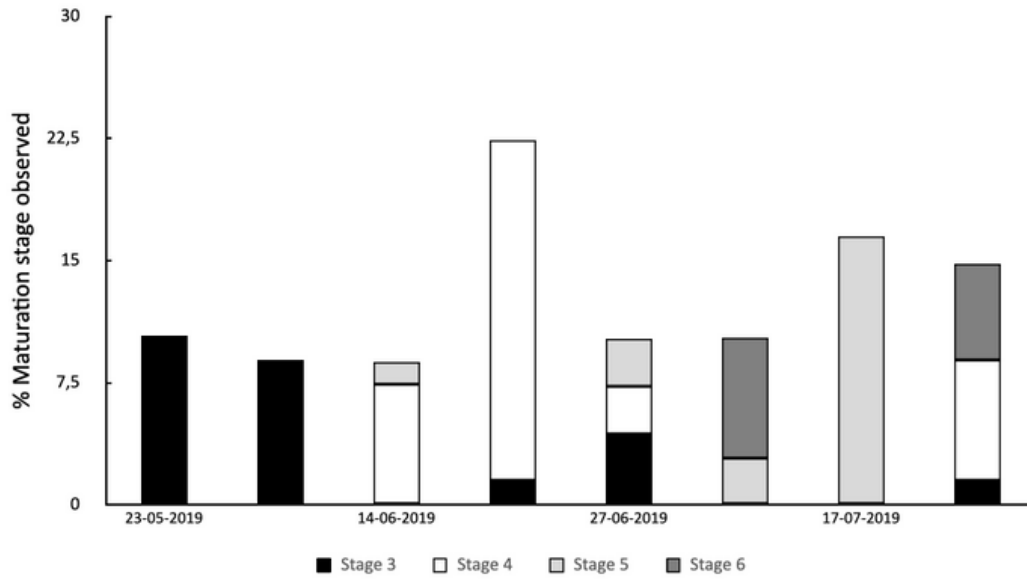


Figura 2. Representación del desarrollo gonadal por examen histológico en los grupos 2 y 3. Las barras muestran el porcentaje en cada etapa del desarrollo gonadal observado en los diferentes grupos de tratamiento.

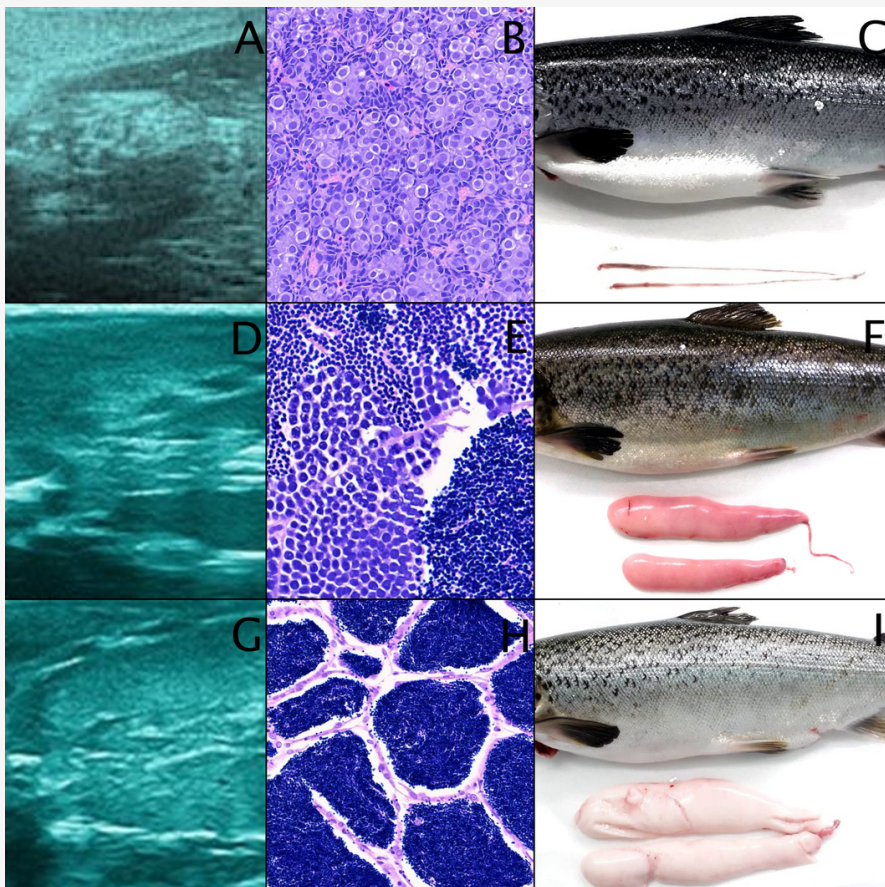


Figura 3. Ejemplos de desarrollo testicular en salmón del Atlántico observados en el estudio.

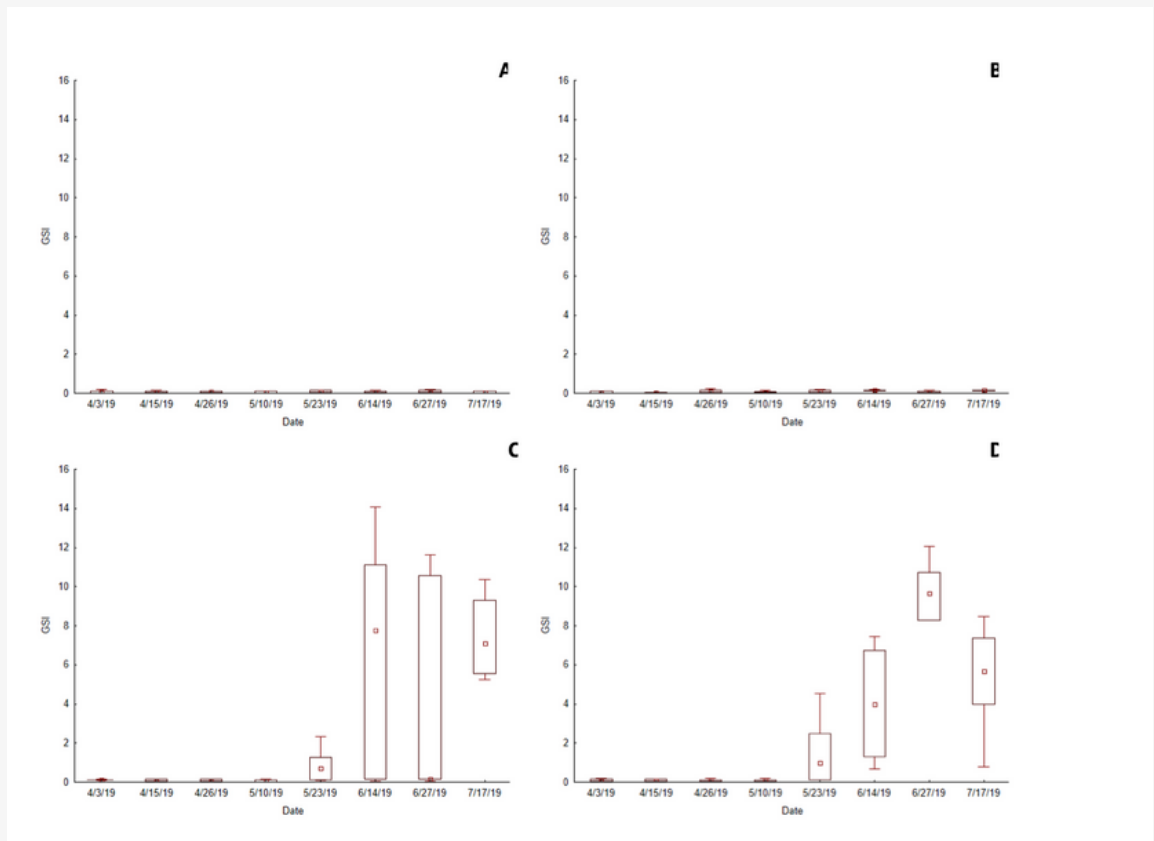


Figura 4. Índice gonadosomático (Gonadosomatic index, GSI) de machos pre-smolt del salmón del Atlántico durante la progresión de la espermatogénesis ($p < 0.05$; ANOVA de una vía seguido por test de Fisher Fisher). A: Control; B: Grupo 1; C: Grupo 2; D: Grupo 3.

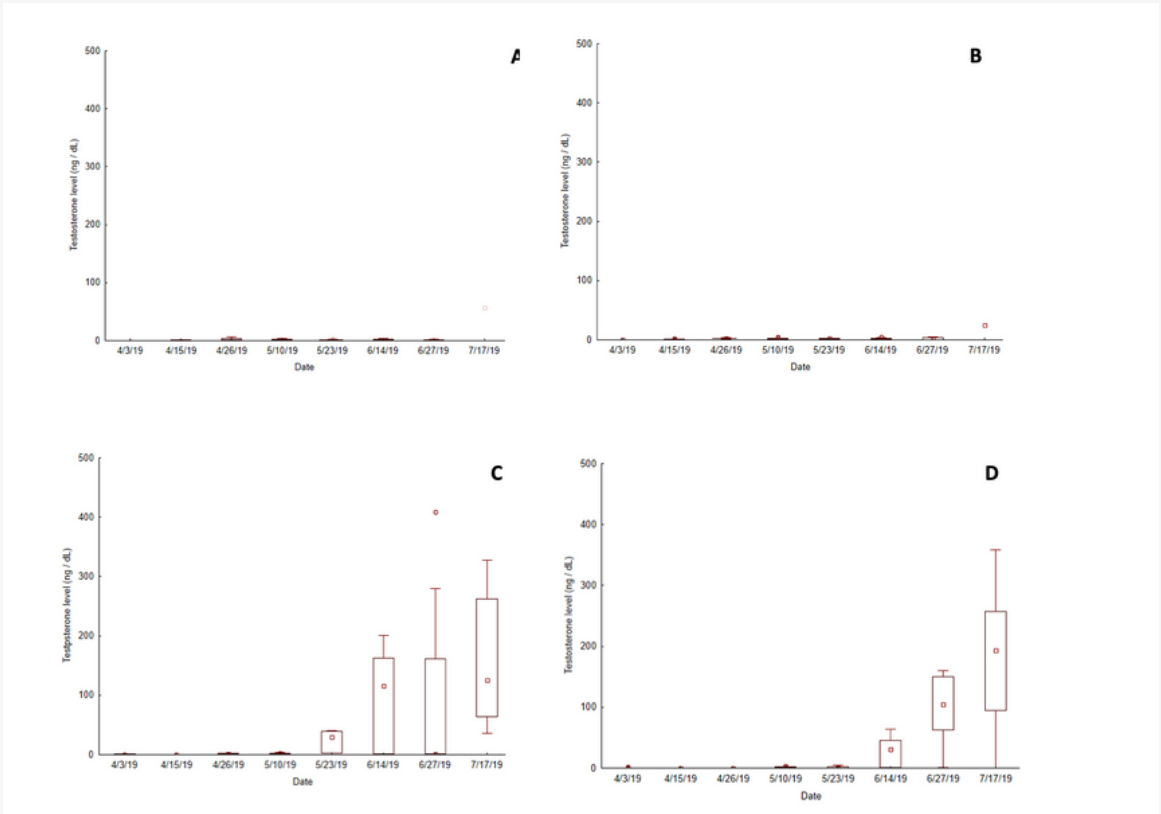


Figura 5. Niveles plasmáticos de testosterona en machos pre-smolt del salmón del Atlántico durante la progresión de la espermatogénesis ($p < 0.05$; ANOVA de una vía seguido del test de Fisher) A: Control; B: Grupo 1; C: Grupo 2; D: Grupo 3.

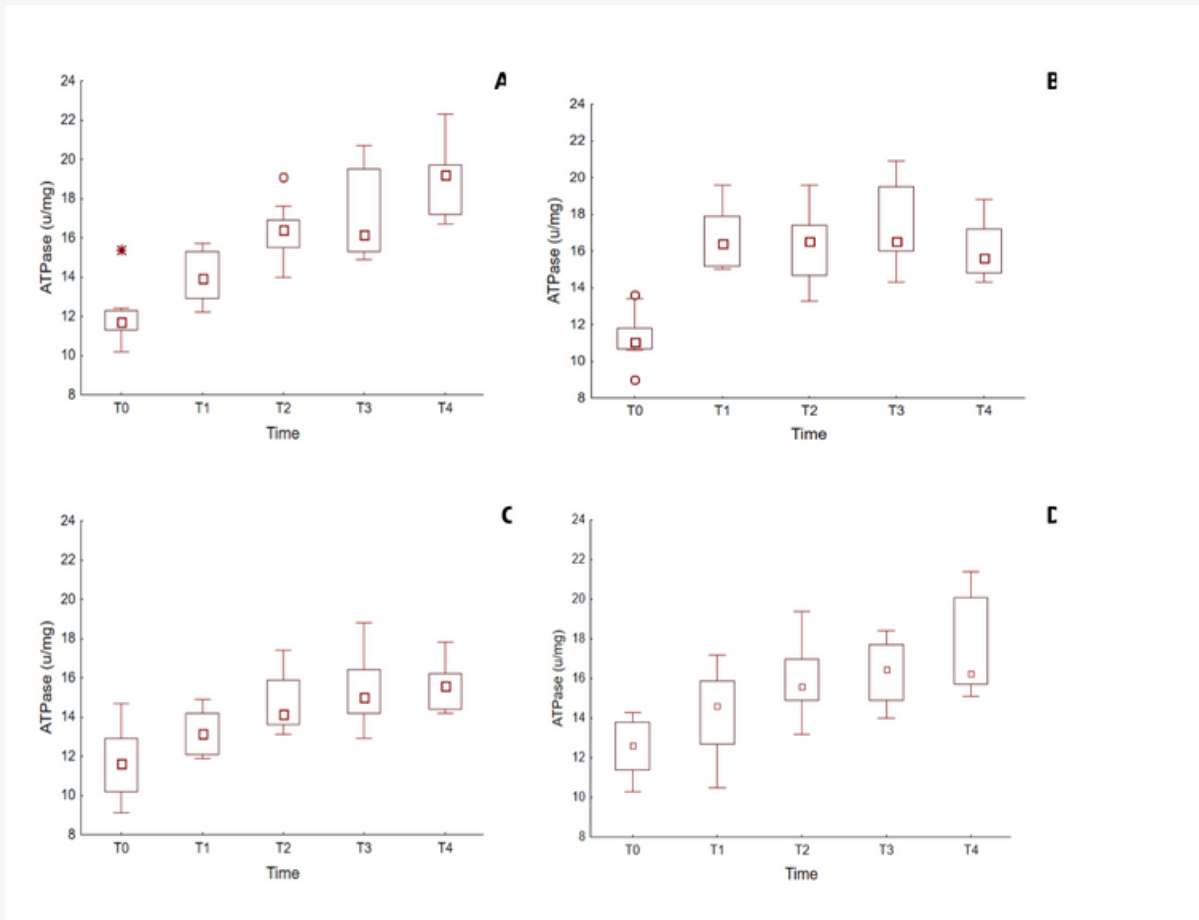
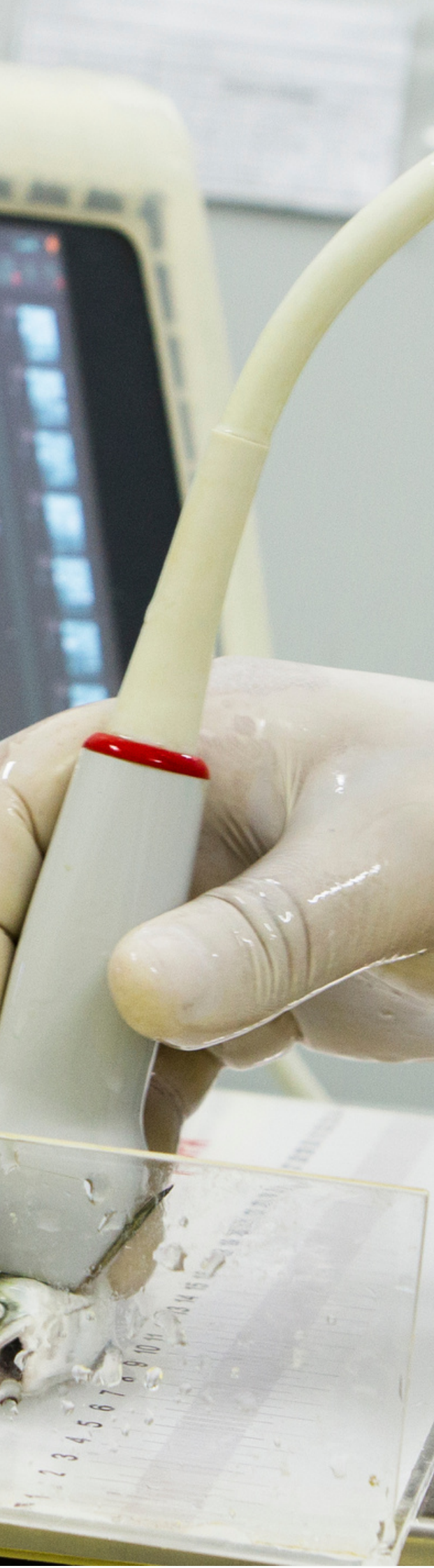


Figura 6. Actividad de la Na⁺-K⁺-ATPasa branquial en los diferentes grupos.

Discusión y conclusión

Este es el primer estudio que analiza el efecto de variaciones de temperatura e irradiancia en el salmón del Atlántico. Los resultados obtenidos indican que la temperatura puede actuar como un factor habilitador en los estadios tempranos de la madurez sexual en el salmón del Atlántico pre-smolt. Por otro lado, la intensidad de luz parece tener un rol menor como señal en esta etapa del desarrollo para gatillar madurez. Los resultados concuerdan con lo observado por Fjedall *et al.* (2011), reforzando la importancia del efecto de la temperatura en la aceleración de la madurez bajo condiciones específicas. Melo *et al.* (2014) observó que altas temperaturas combinadas con 24:0 en FW o SW estimula la espermatogénesis a través de una activación endocrina. Por otro lado, Adams y Thorpe (1989) demostraron que aumentando la temperatura natural en 5° C se incrementó la madurez sexual en machos juveniles. Esto significa que los peces perciben cambios de temperatura como un signo para madurar.



Contrario a lo que se esperaba, una menor irradiancia no jugó un rol gatillante de madurez. De acuerdo a los estudios de Migaud *et al.* (2006), es necesaria una irradiancia de 0.016 W/m^2 para suprimir la melatonina y Bui *et al.* (2013) observó que la mínima intensidad de luz detectada por el ojo se encuentra en un rango de $0.037 \text{ umol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (0.0078 W/m^2). Nuestros resultados sugieren que los peces presentan una adaptación a menores umbrales de luz que aquellos reportados por Migaud *et al.* (2006) y Bui *et al.* (2013) en esta etapa del ciclo del salmón o que las altas variaciones de temperatura tendieron a sobreponer el efecto de la irradiancia para gatillar madurez.

En este estudio observamos diferencias en la actividad de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ en el último muestreo con una mayor actividad en los grupos donde la irradiancia fue más alta. Esto sugiere un rol positivo de la intensidad de luz en la actividad de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ y consecuentemente en la tolerancia del salmón del Atlántico en su traspaso al agua de mar. Si bien estos resultados contrastan con lo reportado por Handeland *et al.* (2013), quien observó que la intensidad de la luz no afectó la actividad de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$, si se demostró un efecto favorable en la secreción de la hormona tiroidea y la morfología somática y espinal que claramente sugieren la importancia de la luz en el desarrollo óptimo del smolt.

En conclusión, las altas variaciones de temperatura promueve la aparición de madurez precoz en el cultivo del smolt del salmón del Atlántico y la irradiancia juega un rol favorable en la actividad de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ y consecuentemente en la adaptación al agua de mar. Esto puede ser de particular interés en los productores de smolt de flujo abierto y en regiones cálidas como en Chile y Tasmania y también para los sistemas de recirculación donde las altas temperaturas son observadas frecuentemente.



Referencias

- Adams, C.E., Thorpe, J.E., 1989. Photoperiod and temperature effects on early development and reproductive investment in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 79, 403-409.
- Bromage N., Porter M., Randall C. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*. 197, 63-98. [https://doi: 10.1016/s0044-8486\(01\)00583-x](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00583-x).
- Bui, S., Oppedal, F., Korsøyen, Ø.J., Sonny, D., Dempster, T., 2013. Group Behavioural Responses of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) to Light, Infrasound and Sound Stimuli. *PLoS ONE* 8(5): e63696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063696>
- Fjellidal P.G., Schulz R., Nilsen T.O., Andersson E., Norberg B., Hansen T.J., 2018. Sexual maturation and smoltification in domesticated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - is there a developmental conflict? *Physiol Rep.*6(17): e13809. [https// doi: 10.14814/phy2.13809](https://doi.org/10.14814/phy2.13809).
- Fjellidal, P. G., Hansen T.,, Huang, T.S., 2011. Continuous light and elevated temperature can trigger maturation both during and immediately after smoltification in male Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 321,93-100.
- Handeland, S.O., Imsland, A.K., Ebbeson, L.O.E., Nilsen, T.O., Hosfeld C., Baeverfjord G., Espmark A.,Rosten T., Skilbrei O., Hansen, T., Gunnarsson G., Breck O., Stefansson O., 2013. Low light intensity can reduce Atlantic salmon smolt quality. *Aquaculture* 384-387, 19-24
- Imsland, A.K., Handeland, S.O., Stefansson, S.O., 2014. Photoperiod and temperature effects on growth and maturation of pre- and post-smolt Atlantic salmon. *Aquacult. Int.* 22, 1331-1345 . <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9750-1>
- McCormick S.D., Shrimpton J.M., Moriyama S., Björnsson B.T, 2002. Effects of an advanced temperature cycle on smolt development and endocrinology indicate that temperature is not a zeitgeber for smolting in Atlantic salmon. *J. Exp. Biol.* 205,3553-3560.
- Melo, M. C., Andersson E., Fjellidal P.G., Bogerd J.,Franca L.R., Taranger G.T., 2014. Salinity and photoperiod modulate pubertal development in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Endocrinol.* 220,319-332.
- Migaud, H., Taylor, J.F., Taranger, G.L., Davie, A., Cerda-Reverter, J.M., Carrillo, M., Hansen, T., Bromage, N.R., 2006. A comparative ex vivo and in vivo study of day and night perception in teleosts species using the melatonin rhythm. *J. Pineal Res.* 41, 42-52.
- Migaud H., Cowan M., Taylor J., Ferguson HW. 2007. The effect of spectral composition and light intensity on melatonin, stress and retinal damage in post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*. 270, 390-404.
- Porter, M., Woolcott, H., Pankhurst, N. 2003. The use of additional lighting and artificial photoperiods to recondition early maturing Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 391-393.
- Vera L.M., Davie A., Taylor J.F., Migaud, H. 2010. Differential light intensity and spectral sensitivities of Atlantic salmon, European sea bass and Atlantic cod pineal glands ex vivo. *Gen Comp Endocrinol.*165, 25-33. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.05.021.