



universidad  
de león



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**

# **EL EFECTO DEL ESTRÉS EN LA REPRODUCCIÓN**

## **EFFECTS OF STRESS ON REPRODUCTION**

Soledad Gualdrás de la Cruz  
**GRADO EN BIOTECNOLOGÍA**

**Septiembre, 2021**

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. CONSECUENCIAS DEL ESTRÉS EN LA FISIOLOGÍA .....</b>	<b>3</b>
<b>3.1. Respuestas fisiológicas al estrés.....</b>	<b>5</b>
<b>3.2. Variabilidad en las respuestas al estrés.....</b>	<b>8</b>
<b>4. EFECTO DEL ESTRÉS EN LA DETERMINACIÓN SEXUAL Y/O CAMBIO DE SEXO .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1. Consecuencias del estrés en la determinación sexual .....</b>	<b>10</b>
<b>4.2. Papel del estrés en el cambio de sexo .....</b>	<b>13</b>
<b>5. IMPLICACIONES DEL ESTRÉS EN LA GAMETOGÉNESIS Y CALIDAD DE LOS GAMETOS. ....</b>	<b>14</b>
<b>5.1. Efectos del estrés sobre la calidad de los gametos.....</b>	<b>14</b>
<b>5.2. Marcadores de calidad de gametos asociados al estrés .....</b>	<b>15</b>
<b>6. TRANSMISIÓN A LA PROGENIE DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS .....</b>	<b>16</b>
<b>6.1. Modificaciones epigenéticas como vehículos de transmisión a la progenie .....</b>	<b>17</b>
<b>6.2. Papel del cortisol en la transmisión de los efectos del estrés a la descendencia .....</b>	<b>18</b>
<b>6.3. Mecanismos maternos de protección frente al estrés .....</b>	<b>20</b>
<b>7. IMPORTANCIA DEL CONTROL DEL ESTRÉS EN LA PRODUCCIÓN ACUICOLA. ....</b>	<b>21</b>
<b>7.1. Efectos del estrés provocados por la domesticación de especies en acuicultura .....</b>	<b>21</b>
<b>7.2. Estrategias de la acuicultura para controlar el estrés.....</b>	<b>22</b>
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>24</b>
<b>9.REFERENCIAS.....</b>	<b>25</b>

## **RESUMEN**

El estrés es uno de los posibles factores que afecta el proceso reproductivo y la determinación sexual, y su estudio en peces teleósteos puede aportar información sobre cómo llevar a cabo prácticas de cría más sostenibles en especies animales de interés comercial. Este trabajo reúne numerosos estudios, históricos y actuales, para debatir hasta qué punto el control del estrés en este tipo de especies resulta de interés a la hora de establecer unas estrategias o métodos que aseguren el bienestar de los teleósteos. Concretamente, se profundiza en los efectos que causa el estrés en la fisiología, desde cambios endocrinos hasta la modificación de la capacidad reproductiva, debido a su relación directa con el eje hipotalámico-pituitario-gonadal, inhibiendo la hormona liberadora de gonadotropinas. Además, sus consecuencias influyen en la determinación sexual por medio de procesos epigenéticos, e influye en el cambio de sexo de numerosas especies en teleósteos. Uno de los mayores problemas que causa el estrés en estas especies, es la alteración de la calidad de sus gametos y la reducción en la viabilidad de la descendencia. Sin lugar a dudas, los factores estresantes amenazan de manera general el éxito reproductivo, pese a sus beneficios en determinadas circunstancias que serán expuestas en la presente memoria.

**Palabras clave:** estrés, teleósteos, reproducción, cortisol, acuicultura, ambiente.

## **ABSTRACT**

Stress is one of the factors that affects reproductive process and sexual determination, and its study in teleost fish may help in developing more sustainable farming practices for commercially profitable species. This project compiles many studies, historical and recent, in order to explore possible strategies to improve fish welfare. Specifically, we will focus in the effects of stress on physiology, from endocrine changes to the reproductive ability. It is known the direct relation with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by inhibiting the GnRH hormone. Furthermore, stress affects sexual determination by epigenetic changes and it has an important role in the sex reversal processes of many species. However, one of the biggest problems causes by the stress is the modification of gametes' quality and the reduction in offspring's viability. Definitely, stress factors can hinder reproductive success however they can produce some benefits that will be presented in this report.

**Keywords:** stress, teleost, reproduction, cortisol, aquaculture, environment.

## 1. INTRODUCCIÓN

El estrés biológico, concepto acuñado por Selye (Selye, 1950), y cuya definición ha ido evolucionando con el paso de los años designa la respuesta inespecífica del organismo a las demandas impuestas por las condiciones externas y/o internas, generando una cascada fisiológica con el fin de resistir los posibles daños y reestablecer la homeostasis (Schreck y Tort, 2016). Puede afectar a todas las funciones vitales de los seres vivos entre las que se encuentran el crecimiento, el desarrollo, la resistencia enfermedades, el comportamiento o la reproducción. Entre todos los seres vivos en los que puede ser relevante el papel del estrés, la infraclase de los teleósteos es de especial interés por diversas razones. En primer lugar, son unos modelos de estudio de gran utilidad, pues presentan una alta plasticidad ante condiciones diversas, alto grado de similitud genética con vertebrados superiores y humanos, y facilidad de manejo y reproducción (Lescak y Milligan-Myhre, 2017). Segundo, es un grupo taxonómico amplísimo que llega a abarcar hasta 30.000 especies, lo cual representa a la mitad de vertebrados, por lo que la respuesta al estrés en este grupo es muy variable y puede resultar un factor interesante de estudio (Smith y Wootton, 2016). Tercero y a nivel más práctico, muchas de esas especies representan gran parte de la demanda alimenticia en países de todo el mundo, por lo que la preservación de su bienestar en la práctica de la acuicultura es fundamental para asegurar un abastecimiento sostenible.

La reproducción y las condiciones en las que esta se produce son cruciales para asegurar el éxito reproductivo y una descendencia viable (Schreck y Tort, 2016). Uniendo ambos cabos, las implicaciones del estrés sobre la reproducción de los teleósteos ha sido objeto de estudio para numerosos autores (Barton, 2002; Schreck, 2007, 2010; Sopinka *et al.*, 2016; Faught y Vijayan, 2018), pero aún no se tiene respuesta para todas las preguntas. En efecto, el conjunto de los teleósteos desafía su investigación por un principal motivo: el vasto rango de especies que aglutina supone una complicación a la hora de integrar los diferentes resultados en una misma línea cohesiva para toda la infraclase, pues a veces se dan contradicciones o incongruencias que impiden alcanzar una comprensión completa. Por otro lado, la propia naturaleza del estrés biológico alberga cierta complejidad: su desencadenamiento depende de numerosos factores, entre los que se encuentran la temperatura, el pH, la densidad, los niveles de oxígeno, etc., y sus consecuencias a nivel fisiológico se traduce en una respuesta de amplio espectro, pero con un eje central sustentado en los glucocorticoides, hormonas de la familia de los corticosteroides. En particular, los peces teleósteos comparten con los mamíferos una de dichas hormonas que juega un papel clave en procesos de estrés: el cortisol, razón por la que se

ha utilizado como hilo conductor en muchos estudios para establecer analogías entre ambos grupos taxonómicos. Este compuesto químico, ejerce una gran influencia sobre el eje HPG, eje hipotálamo-pituitaria-gonadal, y por tanto actúa directamente sobre la reproducción, en la mayoría de los casos de manera inhibitoria, aunque con participación positiva en algunas circunstancias.

Existen fenómenos globales que pueden inducir estrés en algunas especies animales, como sería el caso de la contaminación y el cambio climático. En el caso de las especies de teleósteos, el propio proceso de domesticación para su cultivo es una fuente de estrés que puede tener consecuencias a corto, medio y largo plazo. Es por ello que en este Trabajo de Fin de Grado se van a abordar los efectos que tiene el estrés sobre la fisiología de los individuos centrándonos en los teleósteos, es decir, como se desencadenan los mecanismos de respuesta al estrés y sus efectos más directos. Además, de su participación en la determinación sexual y/o cambio de sexo y cuáles son los mecanismos con más interés, ya que al ser sensibles a las condiciones ambientales podrían servir como modificadores del sexo. Otro aspecto que ha sido considerado es que el estrés no afecta exclusivamente al individuo que lo sufre, sino que puede tener consecuencias sobre la descendencia mediante diferentes mecanismos epigenéticos y alteraciones hormonales en los niveles de cortisol. Por lo tanto, el estudio de los efectos de todas estas alteraciones en la acuicultura, así como la posible transmisión de los efectos del estrés a la progenie resulta muy valioso para desarrollar técnicas que consigan mantener el bienestar animal y asegurar el éxito del proceso reproductivo. En definitiva, es relevante tratar de comprender los diversos efectos del estrés en la fisiología de los parentales, y profundizar en los mecanismos que conducen a la transmisión de sus efectos a la descendencia. Este conocimiento permitirá mejorar la práctica de la acuicultura, mejorando la producción y el bienestar animal.

Para desarrollar los objetivos se ha empleado una amplia revisión bibliográfica, utilizando siempre que ha sido posible fuentes actuales, para asegurar que la información sea reciente y actualizada, además de los más relevantes. Para ello se han empleado diferentes motores de búsqueda como son: NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y Google académico (<https://scholar.google.es/>). Además de bases de datos como Science Direct, también para apoyar la revisión bibliográfica se ha hecho uso de libros de Fisiología de los peces. Para la realización de las diferentes figuras se ha utilizado la plataforma (<https://biorender.com/>).

## 2. OBJETIVOS

El propósito de este Trabajo de Fin de Grado consiste en sintetizar los principales efectos del estrés en la biología reproductiva de peces teleósteos. Los objetivos específicos son:

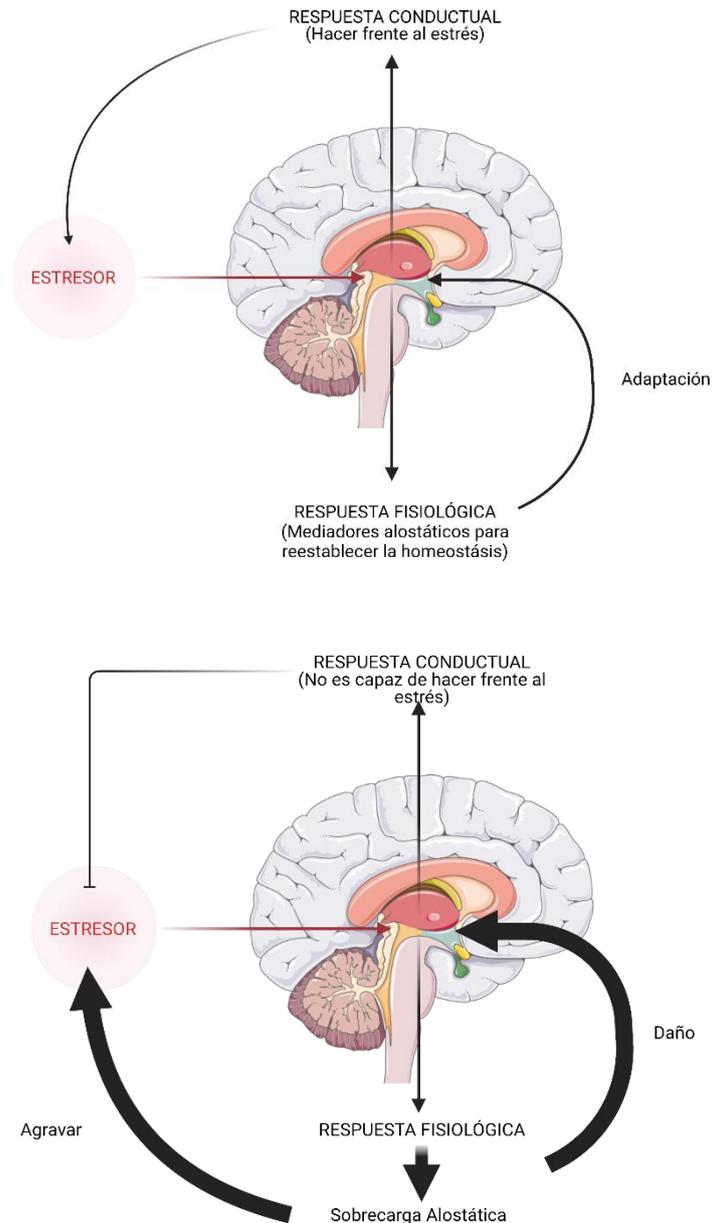
- 1- Conectar y comprender las respuestas generadas por el estrés sobre la fisiología de peces teleósteos.
- 2- Describir los mecanismos de determinación sexual y cambio de sexo y estudiar el efecto del estrés sobre los mismos.
- 3- Revisar los efectos del estrés sobre la calidad de los gametos y estudiar la transmisión de sus efectos a la progenie.
- 4- Determinar la implicación que puede tener el estrés en la producción en acuicultura y estudiar posibles estrategias para paliarlo con objeto de mejorar el bienestar de las especies acuícolas y mejorar el rendimiento económico de los cultivos.

## 3. CONSECUENCIAS DEL ESTRÉS EN LA FISIOLOGÍA

El estrés puede ser definido como una respuesta fisiológica del organismo a situaciones amenazadoras (Schreck y Tort, 2016). Dichas situaciones tienen consecuencias sobre el organismo produciendo ajustes bioquímicos y conductuales (Petitjean *et al.*, 2019). Este está causado por un agente denominado estresor, que puede ser químico (contaminantes, bajo oxígeno, acidificación), físico (captura, confinamiento, manejo, transporte) o de otra naturaleza, como sería el caso de estímulos percibidos, por ej. la presencia de depredadores (Barton, 2002).

El estrés puede provocar varios tipos de reacciones dependiendo de si puede ser soportado o no; este concepto es denominado alostasis (**Fig. 1**) y se puede definir como “el proceso para lograr la homeostasis o estabilidad, realizando cambios fisiológicos y de comportamiento”. Este término es importante ya que es necesario para interpretar como afectan los elementos del estrés a la reproducción de los peces (Schreck, 2010). Las respuestas de emergencia incluirían el tipo de mecanismo de lucha y huida, denominada sobrecarga alostática tipo 1, en este tipo de situación la cantidad de energía necesaria supera los ingresos, llegando a resultar en una pérdida de masa corporal y a la supresión de la reproducción, este tipo de sobrecarga empuja al animal a huir para recuperar la normalidad. En cuanto a las respuestas de afrontamiento, el consumo de energía es adecuado o incluso sobrante, produciéndose un exceso de glucocorticoides que actúan conjuntamente con otros desequilibrios conduciendo a una situación de anormalidad o

fisiopatología, los factores estresantes no son tan graves, pero si afectarían negativamente a trastornos inflamatorios, resistencia a la insulina o a la aptitud reproductiva entre otros, denominada sobrecarga alostática tipo 2 (McEwen y Wingfield, 2003; Schreck, 2010). Por otro lado, la hormesis puede ser definida como el suceso en el cual una baja proporción de estrés o un riesgo mayor de este estresante puede causar una respuesta completamente diferente en el mismo individuo, por lo que este tipo de respuesta al estrés a menudo no son uniformes (Schreck, 2010).



**Figura 1.** Esquema de la alteración de la respuesta al estrés cuando se produce una sobrecarga alostática. Arriba: los estresores generan repuestas al estrés conductuales (hacer frente al estrés) y respuestas fisiológicas (alostasis) para recobrar la homeostasis. Abajo: no se consigue hacer frente al estrés, se produce una sobrecarga alostática, generándose prejuicios sobre el individuo. Modificado de (Karatsoreos y McEwen, 2010).

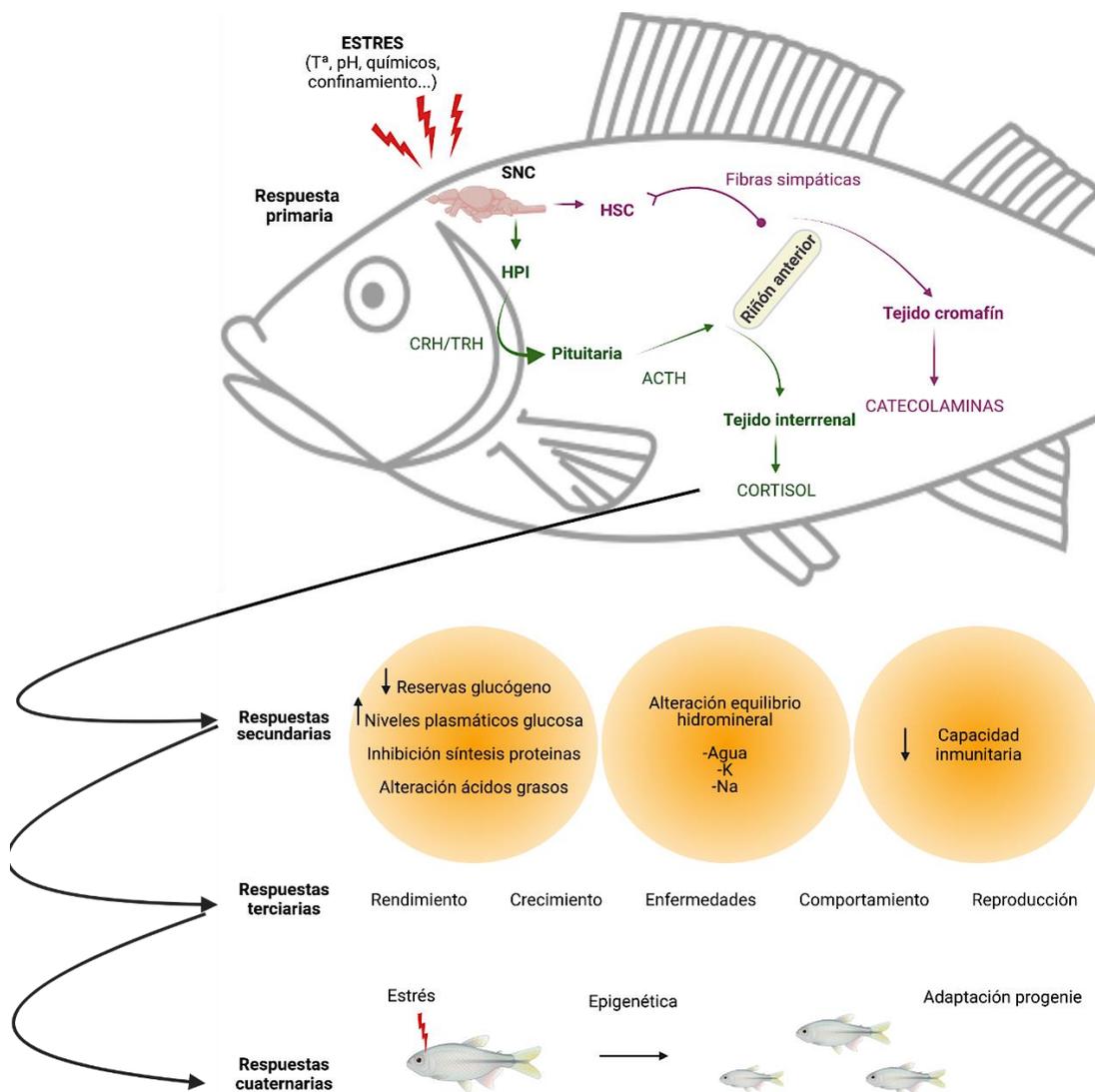
Profundizando en las respuestas al estrés, éstas surgen cuando la demanda estimulante excede la capacidad reguladora natural de un organismo, lo cual lleva a relacionar que las exposiciones a bajas dosis de estrés provocarían una respuesta estimulante, beneficiosa o compensatoria (eustrés), y, por el contrario, que una dosis alta generaría inhibición, alteración y supresión (distrés) (Balasch y Tort, 2019).

### **3.1. Respuestas fisiológicas al estrés**

Las respuestas fisiológicas que se producen al entrar en contacto con un estresor pueden ser de tres tipos diferentes (**Fig. 2**) según su cronología: una primaria, en la cual se producen cambios endocrinos, es decir, liberación de catecolaminas y corticosteroides; una respuesta secundaria, con elevación de glucosa, aumento del catabolismo, incremento del lactato, y mayor número de leucocitos; y por último, una respuesta terciaria que modifica de manera generalizada el metabolismo, la actividad cardíaca, el rendimiento, el comportamiento, e incluso la capacidad reproductiva (Schreck, 2007; Sopinka *et al.*, 2016). Hay autores que sugieren la existencia de una respuesta cuaternaria, la cual resulta en la adaptación de la progenie mediante mecanismos epigenéticos, al estrés generado sobre los progenitores (Faught *et al.*, 2020).

En cuanto a la respuesta primaria, a nivel fisiológico y de forma general, los animales responden a factores estresantes produciéndose un aumento en la secreción de glucocorticoides en sangre. Así pues, el cortisol es el indicador de estrés más utilizado debido a diferentes características que lo convierten en el candidato perfecto, entre ellas una medición técnicamente sencilla, y su tendencia al alza proporcional a la presencia del estresor (Barandica y Tort, 2008). El cortisol tiene un papel metabólico durante la respuesta al estrés, al ser utilizado para administrar energía a las funciones de huida o afrontamiento, bombeo de electrolitos y cumplir también como inmunosupresor (Schreck, 2007). Además, es el corticosteroide predominante en peces teleósteos, secretado por células interrenales de la cabeza del riñón al activarse el eje hipotalámico-pituitario-interrenal (HPI) (Kalamarz-Kubiak, 2018), equivalente a hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) en vertebrados superiores (Barandica y Tort, 2008). Además, la adrenalina ha sido descrita por diferentes autores como la catecolamina predominante durante el estrés junto con la noradrenalina, y la cantidad de estas hormonas que se libera depende de la naturaleza y la duración del estresor (Randall y Ferry, 1992). Cabe destacar también que las catecolaminas se liberan de manera rápida de la sangre, por lo que los niveles máximos ocurren minutos después del estímulo. Diferentes estudios señalan que los niveles de catecolaminas no aumentan hasta que el estrés se vuelve severo, momento en el cual su papel es importante

(Randall y Ferry, 1992). Existe otra liberación más lenta y prologada que la de las catecolaminas, la cual se inicia con la producción de la hormona liberadora de hormona corticotropina (CRH). Ésta CRH viaja a las células productoras de hormona adrenocorticotropica (ACTH) en la pituitaria anterior, y cuando la ACTH se secreta se dirige a las células interrenales, finalmente, este proceso desemboca en la secreción de cortisol a la circulación. Ambas hormonas regulan factores secundarios de respuesta al estrés, alterando la distribución de los recursos necesarios como las fuentes de energía (Schreck y Tort, 2016).

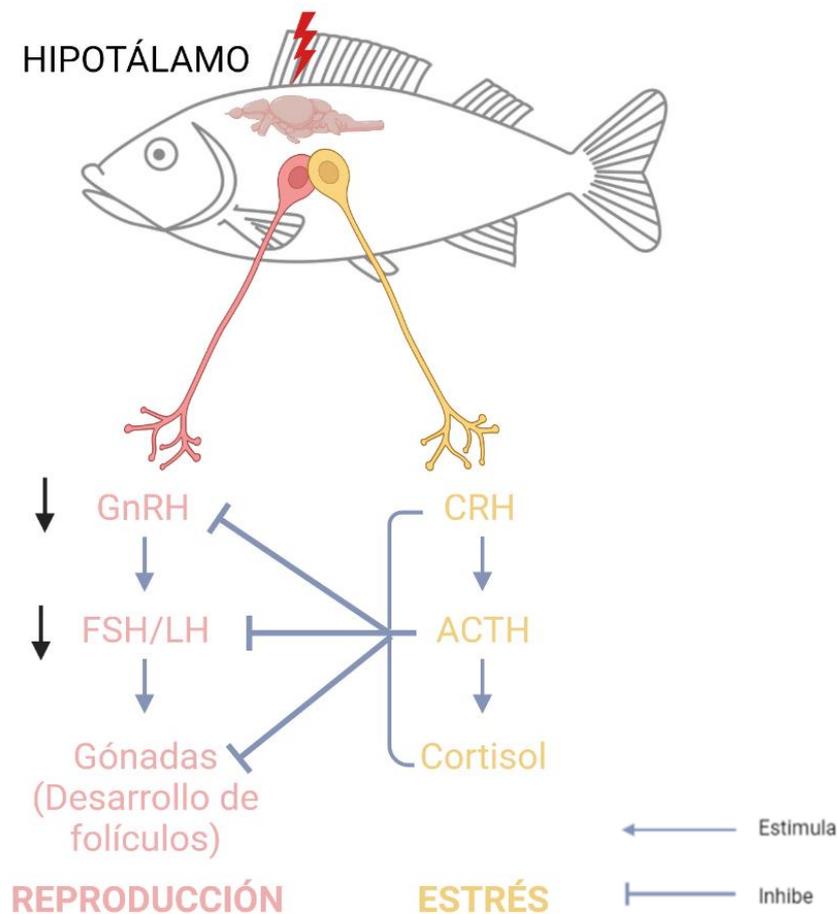


**Figura 2.** Respuesta primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria a diferentes estresores. SNC (sistema nervioso central), HPI (eje hipotálamo-hipófisis-tejido interrenal), HSC (hipotálamo simpático cromafín), CRH (hormona liberadora de la corticotropina), TRH (hormona liberadora de la tiroides) y ACTH (hormona adrenocorticotropa). Modificado de (Schreck y Tort, 2016).

Concretamente, las respuestas secundarias consisten en la movilización de sustratos ricos en energía mediante el agotamiento de reservas de glucógeno, incremento en los niveles plasmáticos de glucosa, efectos en los niveles de ácidos grasos y la inhibición de la síntesis de proteínas; por ello, el estrés puede interpretarse como un anti-anabólico. También podemos ver manifestado el estrés en el equilibrio hidromineral, que genera una carga de agua en peces de agua dulce y pérdida en los de agua salada, y por la cual las concentraciones de electrolitos pueden verse alteradas y puede producirse una disminución de la capacidad inmunitaria (Schreck *et al.*, 2001).

Por otro lado, las respuestas terciarias parecen apuntar a que el estrés genera efectos desfavorables en el rendimiento, crecimiento, resistencia a enfermedades, comportamiento e incluso llegando a anular la función reproductiva normal a través de diversos mecanismos (Harper y Wolf, 2009), siendo difusa aún la función del cortisol. Existen estudios (Zhang *et al.*, 2021) que evidencian los efectos de glucocorticoides del estrés sobre el eje reproductivo hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) (**Fig. 3**). Participando en este eje se encuentra la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). A pesar de las diferencias entre las estructuras hipotalámicas entre mamíferos y peces teleósteos, la GnRH es el péptido básico que controla la reproducción en vertebrados (Breen y Karsch, 2006). Esta hormona está regulada por diferentes factores entre los que se encuentra el estrés, la GnRH estimula las gonadotropinas como la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) (Ganesh, 2021).

La inhibición de la expresión de GnRH mediada por estrés se ha demostrado en aves, mamíferos, seres humanos y peces (Joseph y Whirledge, 2017). Esto presenta un problema importante, ya que la LH y FSH regulan la progresión de la gametogénesis y la síntesis de esteroides gonadales junto a otros mecanismos de la reproducción (Servili *et al.*, 2020). Se ha demostrado en ratones como los efectos del estrés en las hembras disminuyen la síntesis y secreción de LH por medio de la GnRH, comprobando como la reducción de LH afecta al desarrollo de folículos y a la calidad final de los ovocitos (Joseph y Whirledge, 2017). Asimismo, se ha encontrado que los receptores de glucocorticoides eran abundantes en las células reproductivas de machos de carpa común, *Cyprinus carpio* y donde la disminución de GnRH suprime la maduración gonadal y atenúa el comportamiento reproductivo. También en líneas celulares hipotalámicas de rata, se ha demostrado que los glucocorticoides reducen la actividad transcripcional del promotor de GnRH (Zhang *et al.*, 2021).



**Figura 3.** Interacción HPG (eje hipotálamo-pituitario-gonadal) y HPI (eje hipotálamo-pituitario-interrenal). Las neuronas del hipotálamo secretan GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) que estimula la liberación de FSH (hormona folículo estimulante) y LH (hormona luteinizante) encargadas de la progresión de la gametogénesis, esto se ve inhibido en presencia de un estresor que induce la liberación de CRH (hormona liberadora de la corticotropina) y cortisol perjudicando al proceso reproductivo. ACTH (hormona adrenocorticotropa).

Entre las características que se ven afectadas por el estrés están un menor nivel de gonadotropina, niveles menores de esteroides sexuales y vitelogenina en plasma y unas gónadas de menor tamaño, sin dejar de lado que la reproducción está ligada al tamaño corporal, por lo que puede también de esta manera verse indirectamente afectada (Ellis *et al.*, 2012).

### 3.2. Variabilidad en las respuestas al estrés

Las diferentes especies, o incluso los individuos pertenecientes a una misma especie, pueden mostrar distintas respuestas al estrés, aunque comparten características generales, produciéndose cambios en la función tanto de tejidos como de órganos (Schreck *et al.*, 2001; Schreck, 2007). Los patrones y la magnitud de las concentraciones de glucocorticoides varían

entre animales y especies, y la propia hormona en sí también puede diferir. Concretamente, el cortisol es la principal hormona glucocorticoide de respuesta al estrés en peces y en la mayoría de mamíferos, mientras que en anfibios, reptiles, aves y roedores es la corticosterona (Cockrem, 2013). La respuesta al estrés en peces es comparable con la de los mamíferos, ya que cuentan con un patrón común general, sin embargo, tiene particularidades propias debido principalmente a la relación directa con el agua. Las diferencias principales entre los mamíferos y los peces son las alteraciones hidrominerales que producen los estresores y la función del cortisol sobre el equilibrio hidromineral, entre otros (Wendelaar Bonga, 1997). En este sentido, los peces se encuentran sometidos a un mayor estrés osmótico, resultando en una liberación de catecolaminas de células cromafines y liberación de cortisol por parte de las células esteroidogénicas por parte de la glándula interrenal. La función de estas hormonas es incidir sobre las branquias regulando la actividad de las proteínas encargadas del transporte de iones, además, modifican la actividad de la circulación correspondiente a la derivación respiratoria y osmorreguladora, las cuales tienen un efecto importante sobre el equilibrio de los iones. Asimismo, inducen cambios en la glucosa plasmática que conduce al desequilibrio de las bombas de iones estimuladas por ATP en branquias y distintos órganos osmorreguladores. Concretamente, el cortisol reorganiza los órganos encargados de la osmorregulación (Takei y Hwang, 2016).

En particular, los teleósteos, al encontrarse frente a un factor de estrés, inician la respuesta desde las fibras nerviosas sinápticas que estimulan la liberación de catecolaminas, almacenadas en células cromafines (homólogo de la médula suprarrenal en mamíferos) localizadas en la región anterior del riñón, por lo que la liberación de estas catecolaminas es rápida (Barton, 2002).

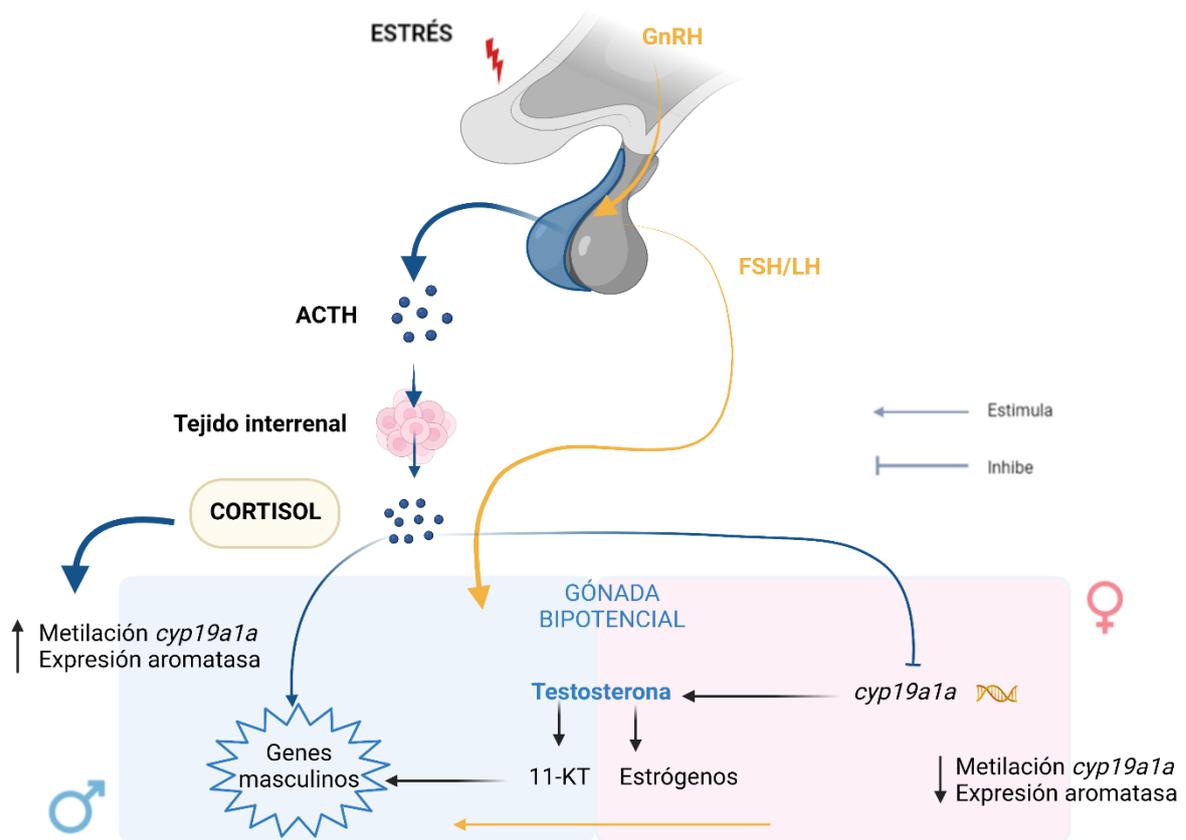
Existen diferencias intraespecíficas que justifican la divergencia en la capacidad de respuesta entre distintos organismos, como el sexo, tamaño, estatus social, diferencias en los parámetros fisiológicos del estrés o la domesticación (Sopinka *et al.*, 2016). De hecho, no solo existen diferencias, sino que se ha visto que los peces pueden exhibir una respuesta acumulativa a exposiciones repetidas a factores estresantes leves que pueden llegar a causar la desensibilización y atenuar las respuestas futuras al estrés (Barton, 2002).

## 4. EFECTO DEL ESTRÉS EN LA DETERMINACIÓN SEXUAL Y/O CAMBIO DE SEXO

### 4.1. Consecuencias del estrés en la determinación sexual

La determinación sexual guía la elección a diferenciarse como testículos u ovario, esta ocurre antes que la diferenciación sexual, participando los glucocorticoides en ambos procesos (Geffroy y Douhard, 2019). Para lograr la supervivencia de la especie es esencial la existencia de dos sexos, por tanto el proceso de determinación sexual es fundamental, pese a esto los mecanismos encargados varían mucho entre taxones (Kobayashi *et al.*, 2013). Concretamente, la determinación sexual está liderada por la enzima aromatasa, la cual es sensible a temperatura, y es la encargada de la síntesis de estrógenos, transformando andrógenos en estrógenos. Esta enzima se encuentra transcrita a partir de un gen denominado *cyp19* (*cyp19a* y *cyp19b*) (**Fig. 4**), el cual, a nivel molecular, dependiendo del grado de metilación del DNA (epigenética), si se encuentra poco metilado se transcribe generando una gran cantidad de estrógenos lo que conduce a la formación de ovarios, si por el contrario su nivel de metilación es alto, no se va a transcribir la enzima y por tanto la determinación conducirá a testículos (Hattori *et al.*, 2020).

La determinación sexual no se encuentra establecida genéticamente en todos los animales, sino que encontramos casos en los que la diferenciación a un sexo masculino o femenino está condicionada por el ambiente. En particular, en los teleósteos cuentan con una alta plasticidad tal que, a pesar de estar dotados con el sexo genotípico, diferentes factores ambientales o estresantes pueden causar cambios en los organismos, y el cortisol, juega un papel muy importante en ese ámbito, siendo uno de los principales causantes. Tal es así que, tanto factores de estrés abióticos como bióticos que pueden propiciar este cambio, y prueba de ello es un reciente estudio que recoge como afectan los diferentes factores y sus polifacéticas respuestas, dependiendo de la especie. Entre dichos factores podemos encontrar densidad, pH, luz, temperatura o hipoxia, los cuales se podrían considerar como estresores siempre y cuando alcancen unos niveles umbrales (García-Cruz *et al.*, 2020; Hattori *et al.*, 2020). Cuando la determinación sexual depende del ambiente, puede estar influida por el estrés cuando las condiciones ambientales son diferentes a la óptimas modulando el sexo final del sujeto. Por tanto, el rumbo de las gónadas puede ser modificado mediante la administración de esteroides sexuales o la regulación de estresores durante un tiempo en particular (Fernandino y Hattori, 2019).



**Figura 4.** Relación HPI y gónadas (HPG) durante la determinación sexual en presencia de un estresor. HPI está representado en azul y HPG en naranja. En condiciones estresantes el cortisol desplaza la determinación a una gónada masculina. ACTH (hormona adrenocorticotropa), 11-KT (11-cetotestosterona). Modificado de (Hattori *et al.*, 2020).

Las modificaciones en el ambiente, es decir los factores estresores, se encuentran relacionadas con la masculinización, lo que se sugiere que, el sexo femenino sea el predeterminado y el masculino el estimulado (Shen y Wang, 2019). Diversos estudios apoyan estas afirmaciones, por ejemplo, la densidad es, presumiblemente, el factor más influyente en el porcentaje de sexos en las anguilas, relacionándose con un mayor número de machos; la acidez del medio, induce a proporciones mayores de machos mientras que pH neutros o básicos generan hembras (Baroiller *et al.*, 2009). Otro factor estresante como son las especies reactivas del oxígeno, genera masculinización en teleósteos a través del estrés oxidativo (Corona-Herrera *et al.*, 2018). También las latitudes muestran una determinación sexual mediada por ambiente predominante en latitudes del sur con una mayor masculinización y un mayor porcentaje de hembras en latitudes del sur (Honeycutt *et al.*, 2019).

La temperatura, es el estresor que más atención ha recibido en la mayor parte de las especies. Existen estudios en pejerrey, *Odontesthes bonariensis*, donde las temperaturas bajas (17-19°C)

desencadenan una diferenciación sexual hacia un 100% de hembras, en cambio, las cálidas producen exclusivamente machos. Una posible hipótesis de esto sería por medio de la aromatasa, la cual se encuentra sobreexpresada en la producción de hembras, además mediante su inhibición se produce un equilibrio desplazado hacia los machos (Fernandino y Hattori, 2019).

Existen estudios que especulan con la presencia de un interruptor maestro del ambiente, que transduciría la señal en respuestas moleculares, hormonales y que guiaría a las gónadas a su destino sexual, masculino o femenino (Shen y Wang, 2019). Estos estudios propusieron una serie de posibles genes candidatos que actúan como interruptores como el *sf-1* (steroidogenic factor-1) y el *wt-1* (Wilms' tumor 1) genes estudiados en reptiles, además, de unos genes como *el dmrt1* (doublesex and mab-3 related transcription factor 1), *amh* (Anti-Mullerian hormone gene) y *sox9* (SRY-like HMG-box containing transcription factor 9 gene) para la formación de testículos y *foxl2* (Forkhead Box L2), *sf-1* (steroidogenic factor 1) y *cyp19a1a* (cytochrome P450, family 19 gene) para los ovarios (Shen y Wang, 2014). Estos genes han sido localizados en peces, reptiles y algunos incluso en pájaros y mamíferos como por ejemplo el *dmrt1* que ha sido descrito en diferentes especies de peces: medaka común, *Oryzias latipes*, trucha, *Oncorhynchus mykiss* y en la tilapia, *Oreochromis niloticus*. Asimismo, los genes *amh* y *sox9*, se han encontrado en distintos vertebrados y cuentan con una función diversa, aunque con una función conservada del desarrollo gonadal de no mamíferos (Shen y Wang, 2014). En este caso, la epigenética es el principal proceso para explicar este tipo de determinación, concepto que Arthur Riggs y sus compañeros definieron como “los cambios hereditarios en la función genética que no se pueden explicarse por cambios en la secuencia de ADN” (Martienssen *et al.*, 1996), entre los que se encuentran las metilaciones de ADN sobre los gametos de ambos sexos (Migaud *et al.*, 2013). Existen tres mecanismos epigenéticos que están relacionados con la determinación del sexo en peces, mamíferos y réptiles: metilación ADN, modificación de histonas y ARN no codificantes (Shen y Wang, 2019). Concretamente como ya hemos mencionado, las temperaturas que generen individuos masculinos causan metilación en genes responsables de las vías hacia el desarrollo de ovarios o desmetilación de genes de vías que general finalmente gónadas masculinas y lo contrario con las temperaturas que producen un mayor porcentaje de individuos femeninos (Shen y Wang, 2019).

Por otro lado, la acción del cortisol en la determinación sexual es esencial, los altos niveles de este glucocorticoide o de un agonista, generan andrógenos, los cuales presentan masculinización en algunos teleósteos (Fernandino y Hattori, 2019).

## 4.2. Papel del estrés en el cambio de sexo

Más allá de la determinación sexual, muchos teleósteos pueden cambiar de sexo llegada la edad adulta, es, por tanto, como ya habíamos mencionado que la reproducción sexual no está basada únicamente en especies dioicas. Podemos encontrarnos con hermafroditas secuenciales que exhiben una estrategia al comienzo de su vida y después cambian a otra, mientras que los simultáneos exhiben ambas al mismo tiempo (Schärer, 2017). Dentro del hermafroditismo secuencial, podemos encontrar, por un lado, la protandria, dicese cuando el individuo pasa de macho a hembra, y la protoginia, cuando pasa de hembra a macho (Warner *et al.*, 1975). Numerosos estudios han apoyado esta hipótesis hasta la actualidad, aunque algunos resultados confusos justifican seguir investigando (Kazancıoğlu y Alonzo, 2010; Erisman *et al.*, 2013).

En cuanto al cortisol, la hormona puede actuar como un factor clave que vincula los estímulos ambientales y sociales, con el inicio del cambio de sexo, al iniciar un cambio en la esteroidogénesis de estrógenos a andrógenos. El cortisol media el comportamiento agonista, refleja el estatus social, e involucra fuertemente al eje HPI en el cambio de sexo inducido socialmente. El aumento en los niveles de esta hormona viene provocado por altas temperaturas u otros factores de estrés ambiental como los que mencionamos anteriormente, y ello conlleva una regulación a la baja de aromatasa y la activación de las vías de andrógenos, con la consecuente la masculinización gonadal. Como el cortisol estimula la expresión de 11 $\beta$ -HSD (11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa) que lleva a la producción de 11-KT (11-cetotestosterona) y cortisona, sirve de indicativo de que finalmente se produce una masculinización (**Fig. 4**) (Nozu y Nakamura, 2015; Gemmell *et al.*, 2019). Así, el aumento de cortisol, también ayuda a inhibir la vía femenina al suprimir la producción de 17 $\beta$ -estradiol, propiciando de esta manera también el desarrollo masculino (Ortega-Recalde *et al.*, 2020).

Para analizar el papel potencial del cortisol podemos centrarnos en 3 vías que no son excluyentes entre sí: interferencia entre glucocorticoides y vías de andrógenos, inhibición de la expresión de la aromatasa y regulación positiva de *amh* gen que codifica la hormona antimulleriana. Aunque el papel exacto del cortisol se desconoce, son muchos los estudios que tratan de encontrar su función específica (Goikoetxea *et al.*, 2017). Con respecto a la segunda vía, el papel de la aromatasa está controlado por los esteroides sexuales y los componentes del eje de estrés, de ahí que el cortisol sea el principal encargado de promover el sexo masculino (Ortega-Recalde *et al.*, 2020). En cuanto a la regulación positiva de *amh*, niveles elevados de esta hormona se localizan especialmente en las gónadas masculinas, además, actúa como factor

de transcripción inhibiendo la expresión de *Cyp19a1a* en mamífero y se ha podido comprobar como existe una asociación inversa en peces de *Cyp19a1a* y *amh* (Goikoetxea *et al.*, 2017).

En definitiva, la gónada y el cerebro de los peces presentan una extraordinaria plasticidad, de ahí que estén involucrados en la respuesta a los estresores ambientales para dirigir el destino gonadal, induciendo cambio de sexo o inversión de sexo en peces hermafroditas y gonocorísticos (Hattori *et al.*, 2020).

## **5. IMPLICACIONES DEL ESTRÉS EN LA GAMETOGÉNESIS Y CALIDAD DE LOS GAMETOS.**

Los efectos del estrés no inciden exclusivamente sobre los parentales, sino que, mediante diferentes mecanismos que se detallarán a continuación, alteran la calidad y supervivencia también de sus gametos (Faught y Vijayan, 2018). La calidad de los gametos puede ser definida como “capacidad para fertilizar o ser fertilizado y, a continuación, poder desarrollarse un embrión normal” (Migaud *et al.*, 2013).

### **5.1. Efectos del estrés sobre la calidad de los gametos**

Los efectos que genera el estrés sobre la gametogénesis son de particular relevancia, debido a que como ya ha sido descrito, esta etapa de formación de los gametos se ve muy influenciada por los diferentes estresores (Alix *et al.*, 2020). Este hecho resulta de particular interés y pueden generar un problema reseñable, ya que, para afianzar una producción reproductiva adecuada, es necesario contar con una calidad de gametos aceptable y una descendencia viable (Servili *et al.*, 2020). Entre los diferentes efectos que pueden producir estos factores del estrés se encuentra atresia de ovocitos, generando una descendencia con una viabilidad disminuida (Valdebenito y Effer Roldán, 2015). Además, el estrés y consecuentemente los niveles al alza del cortisol reducen significativamente los niveles de testosterona en los machos y los esteroides sexuales y vitelogenina en hembras, razón por la que se produce una variación en el tiempo de ovulación y en el tamaño los gametos (Eriksen *et al.*, 2006). Además, existen multitud de estudios que afirman cómo la exposición a estrés tanto crónico como agudo en los parentales genera un retraso en la ovulación y una reducción del tamaño del huevo (Goos y Consten, 2002). De hecho, cuando las hembras reciben niveles de cortisol elevados y están expuestas a hipertermia leve, generan tasas de supervivencia menores, e igualmente se veía afectada la longitud y se incrementaron las malformaciones morfológicas (Eriksen *et al.*, 2006).

Encontramos diversos estresores que causan una disminución en la calidad de los gametos en peces, siendo alguno de ellos la temperatura, salinidad, hipoxia o acidificación (Servili *et al.*, 2020), sin embargo, la temperatura es el estresor con mayor relevancia, debido a que puede causar retrasos o llegando a paralizar el avance en el desove, puede verse asociado a la detención de la síntesis de  $17,20\beta$ -dihidroxi-4-pregnen-3-ona, la hormona inductora de la maduración (MIH), imprescindible para la maduración meiótica de los ovocitos y de los espermatozoides en teleósteos (Ogino *et al.*, 2016). La principal consecuencia de la exposición a altas temperaturas en hembras es la parada de la síntesis de estrógenos, ya que, al cesar la actividad de la aromatasa gonadal, provoca la detención del desarrollo de ovocitos. Esto trae consigo que se paralice la síntesis de vitelogenina hepática, alterando la calidad de los huevos (Servili *et al.*, 2020). Además, la temperatura elevada puede producir impactos en la ovogénesis perjudicando la calidad del huevo, y puede aumentarse la tasa de deformidad, reducirse la fertilidad, la eclosión o la longitud. Esto podría explicarse por el tiempo de exposición, pues a tiempos de exposición amplios puede aparecer atresia (Alix *et al.*, 2020), proceso normal que consiste en la reabsorción de ovocitos vitelogénicos (Kjesbu *et al.*, 2010). De hecho, la alta temperatura afecta de igual manera a los gametos masculinos: se ha podido observar una falta de capacidad para que se produzca el inicio de la espermatogénesis (Alix *et al.*, 2020) y un recuento de gametos masculinos menor (Goos y Consten, 2002).

Sin embargo, también se han documentado efectos positivos sobre la ovogénesis donde la temperatura puede acelerar la maduración y crecimiento de los ovocitos (Alix *et al.*, 2020). Por consiguiente, los efectos del cortisol no son exclusivamente negativos, varios estudios documentan los efectos positivos de este, ya que, colabora en la estimulación de la pubertad mejorando las gonadotropinas hipofisarias en la ovogénesis y está implicado en la regulación de mecanismos preovulatorios, estos efectos positivos son principalmente característicos de las hembras (Milla *et al.*, 2009). Asimismo, otros estudios sugieren que existe una concentración sustancial de cortisol necesaria para un desarrollo reproductivo adecuado. Por ejemplo, en la vitelogénesis, el cortisol juega un papel importante y en la maduración se necesita para la ovulación. A pesar de esto, los estudios no han logrado evaluar el papel del cortisol en la ovogénesis, por lo que, no son concluyentes (Faught y Vijayan, 2018).

## **5.2. Marcadores de calidad de gametos asociados al estrés**

Para lograr determinar la calidad de los gametos se pueden utilizar diferentes características como en el caso del gameto femenino: flotabilidad y apariencia (transparencia, fluido celómico,

morfología) o motilidad, viabilidad, morfología, concentración, apoptosis y contenido en ROS en el caso del gametos masculino (Migaud *et al.*, 2013; Valdebenito y Effer Roldán, 2015). Los niveles de cortisol no son el único indicativo para estudiar los efectos del estrés en la calidad de los gametos, sino que también existen unas proteínas denominadas HSP (proteínas de choque térmico) que tienen un papel fundamental estabilizando las proteínas que han sido desnaturalizadas mediante la acción del estrés por temperatura. Estas proteínas se encuentran en diferentes células, incluidas las células gonadales. Se ha visto como su expresión se eleva frente a condiciones estresantes, la disminución de estas es utilizado como un marcador de mala calidad de gametos. Además, se ha observado una disminución en la expresión tanto en ovario como en testículo de factores de transcripción necesarios para el mantenimiento adecuado de pluripotencia: *sox-2* (SRY-Box Transcription Factor 2) , *oct-4* (octamer-binding transcription factor 4 ) y *nanog* (Homeobox protein NANOG) (*P. sophore*) en presencia de estrés por calor, por lo que, también se pueden utilizar como marcadores de mala calidad en gametos, debido a que estos genes son necesarios para el futuro mantenimiento de los tejidos adultos y, en particular, de las gónadas (Mahanty *et al.*, 2019).

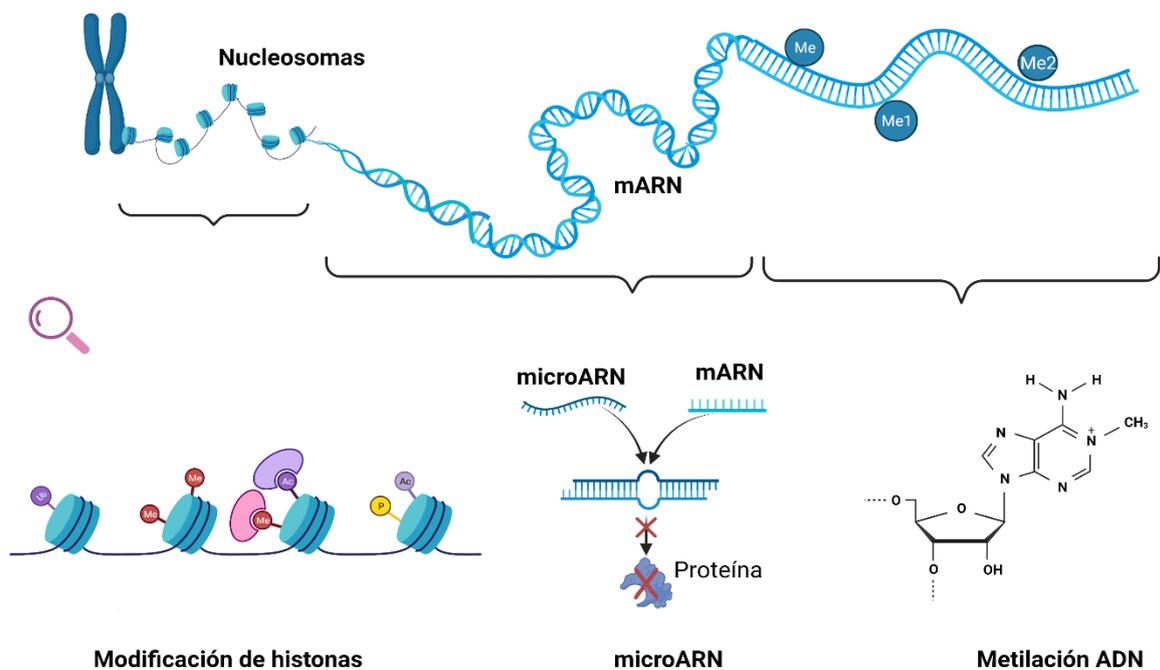
Por último y digno de mención, una de las grandes preocupaciones actuales es el cambio climático, que afecta directa o indirectamente a diversos parámetros del agua como la salinidad, la oxigenación, la luz o la temperatura; parámetros que inciden directamente sobre la gametogénesis y el rendimiento reproductivo (Servili *et al.*, 2020). La reproducción estacional de los peces junto a que la gametogénesis se encuentra guiada por la temperatura y otros estresores, deja patente cómo el cambio climático afecta a la calidad de los gametos.

## **6. TRANSMISIÓN A LA PROGENIE DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS**

El estrés no afecta exclusivamente a los individuos que lo reciben directamente o a los gametos, sino que también puede verse involucrado en el desarrollo de su descendencia (Sopinka *et al.*, 2014). Existen respuestas al estrés que pueden estar orquestadas por el estresante en sí, como cambios moleculares en las proteínas de choque térmico o mediante modificaciones epigenéticas (Petitjean *et al.*, 2019). También hay que tener en cuenta los transposones, secuencias de ADN que se desplazan de manera transversal por secuencias genéticas y amplifican sus copias, debido a que tanto los transposones como la epigenética son sensibles a los factores estresantes, y por ende puedan transmitirse la información a la descendencia (Rey *et al.*, 2016).

## 6.1. Modificaciones epigenéticas como vehículos de transmisión a la progenie

Recientes estudios evidencian que los factores estresantes producen importantes cambios mediante mecanismos epigenéticos, pudiendo modificar los fenotipos durante el desarrollo y este fenotipo ser transmitido a la progenie (Rey *et al.*, 2016). Entre estos mecanismos epigenéticos, como ya se había mencionado anteriormente, se encuentra la metilación del ADN, la modificación de histonas y los microARN (**Fig. 5**) (Jonsson y Jonsson, 2019). En particular, la metilación se basa en el enlace covalente de un grupo metilo a una base de ADN y esta produce un silenciamiento en la expresión de determinados genes, además, es transmitida a la descendencia por medio de la replicación del ADN (Labbé *et al.*, 2017). Por otro lado, las modificaciones de histonas se encargan de regular la expresión génica sobre la estructura de la cromatina y el ADN, las histonas envuelven la estructura de ADN, por tanto, alteraciones en la envoltura pueden cambiar la expresión génica. Las modificaciones más estudiadas son la acetilación y la metilación (Jonsson y Jonsson, 2019). Por último, los ARN no codificantes relacionan las señales ambientales y la modulación epigenética de la transcripción (Labbé *et al.*, 2017).



**Figura 5.** Representación esquemática de las principales modificaciones epigenéticas estudiadas en peces teleósteos: modificación de histonas, microARN y metilación ADN.

Las marcas epigenéticas tienden a ser eliminadas entre generaciones, por lo que la transmisión de estas indica un eliminado incompleto de las modificaciones (Stenz *et al.*, 2018). Consecuentemente, debido al estrés sufrido por los parentales, si estas marcas epigenéticas se transmiten a la descendencia repercutiendo en el fenotipo de generaciones que nunca han estado expuestas al estrés, se producen los denominados efectos transgeneracionales, esto quiere decir que los cambios se estabilizan en las células germinales y se continúan transmitiendo a la descendencia (Labbé *et al.*, 2017). Existen estudios que apuntan como los ratones machos sujetos a estrés presentan una huella epigenética alterada, concretamente un aumento de ciertos ARN no codificantes junto con cambios en la metilación del ADN, que producen huellas alteradas ligadas con cambios conductuales, fisiológicos y metabólicos en la progenie que se encuentran asociados al estrés (Chan *et al.*, 2018). En particular, el estrés materno en modelos de ratón puede resultar en alteraciones epigenéticas como las metilaciones (Mitchell *et al.*, 2016), que afectan a secuencias relacionadas con los esfingolípidos y la señalización de lípidos en las membranas neuronales, generándose un fenotipo inquieto en la descendencia (Stenz *et al.*, 2018). Por el contrario, el estrés paterno en ratas resultó en una descendencia con un retraso en el desarrollo de tareas, disminución de la reactividad ante el estrés y aumento en la metilación global del ADN modificando la expresión de ciertos genes del hipocampo relacionados con el desarrollo neurológico en los machos de la descendencia. Este mismo efecto fue observado en las hembras descendientes presentando en este caso una disminución de la metilación global de los genes relacionados también con el desarrollo neurológico localizados de la corteza frontal (Mychasiuk *et al.*, 2013). Estos estudios en teleósteos aún son escasos, aun así, se ha demostrado como la hipoxia en peces afecta a la metilación de ADN en los espermatozoides, siendo estas heredables por la descendencia que nunca ha estado expuesta a la hipoxia (Ho y Burggren, 2012; Wang *et al.*, 2016). Además, en la especie de teleósteos *Dicentrarchus labrax* aumentos de temperatura provocaron un cambio en la metilación del ADN, modificando la expresión de genes asociados con respuestas al estrés y formación tanto de músculos como de órganos (Jonsson y Jonsson, 2019).

## **6.2. Papel del cortisol en la transmisión de los efectos del estrés a la descendencia**

Aun así, no podemos olvidar que el cortisol juega un papel muy importante en toda la etapa reproductiva, incluida en la descendencia. El aumento a corto plazo, como se ha mencionado, es utilizado para redirigir la energía y vencer al factor estresante, pero si por el contrario el aumento es excesivo, puede afectar a la reproducción y por tanto a la descendencia (Eriksen *et al.*, 2006). El cortisol encontrado en los huevos que proviene de la madre es necesario para

el desarrollo adecuado, y es incorporado en la vitelogénesis (Sopinka *et al.*, 2016). Como podemos observar existe una fuerte variabilidad entre las posibles respuestas del cortisol, dependiendo del fenotipo materno, entre especies y diversas causas aún por estudiar (Sopinka *et al.*, 2016). La variabilidad en el tamaño de la progenie, se puede explicar por esta hormona, pues tal y como demuestran estudios, se ve reducido el crecimiento y la fecundidad a la vez que aumenta la mortalidad en peces que han sufrido factores estresantes. Para explicar este aumento en la mortalidad hay estudios (Gagliano y McCormick, 2009) que sugieren que un aumento en el cortisol genera una progenie con otolitos asimétricos, los cuales son utilizados como indicador de la estabilidad del desarrollo, y de ahí que esta asimetría muestre una probabilidad de mortalidad larvaria superior a los que estaban expuestos a unos niveles de cortisol menores. La descendencia procedente de parentales con un mayor grado de exposición al estrés y por tanto con niveles mayores de cortisol cuentan con tiempos de desarrollo elevados, que desembocan en una menor energía causante de una descendencia de menor tamaño (McCormick, 2009). Desde la perspectiva de la descendencia en desarrollo, el cortisol realiza funciones importantes durante el mismo interaccionando con hormonas como la tiroxina triyodotironina y la hormona del crecimiento (McCormick, 2009). La producción de crías más pequeñas puede ser negativa, porque los embriones pequeños tienen la posibilidad de morir de hambre y con un saco vitelino pequeño no obtendrían todos requerimientos necesarios, mientras que los grandes contarían con esta ventaja. Siguiendo esa línea, existen escasas dudas de que la producción de crías grandes con sacos vitelinos más voluminosos es lo ideal (Leggett y Deblois, 1994), y esto puede deberse a que cuentan con una mejor capacidad locomotora que les permite escapar de depredadores y capturar más fácilmente presas (McCormick, 1998).

A pesar de que la connotación que pueda tener el cortisol como estresante es negativa o desfavorable, puede resultar interesante la transferencia de información desde el entorno materno a la cría, y le proporcionará ventajas para subsanar situaciones en contra de las condiciones ambientales que surjan. Se ha demostrado que las crías originarias de ambientes con alta concentración de glucocorticoides buscaban más refugio y se dispersaban menos (Eriksen *et al.*, 2011). Desde este punto de vista, el estrés se puede tratar como un factor beneficioso para la descendencia, pues puede aumentar la probabilidad de supervivencia de la progenie adquiriendo ventajas gracias a las modificaciones epigenéticas heredables. Podemos ver estos efectos beneficiosos reflejados, por ejemplo, en una descendencia con altas tasas de natación explosiva producida por unos parentales expuestos a altos niveles de estrés, que los ha llevado a fortalecer su supervivencia. Sin embargo, tiene doble filo, pues esa misma

característica puede conducir a un gasto de energía mayor y en consecuencia estar expuestos a ser capturados con mayor facilidad (Sopinka *et al.*, 2014).

Bien es cierto que, a pesar de los diversos estudios sobre el mecanismo molecular y las vías de señalización por las que el cortisol afecta a la descendencia, aún se cuenta con información limitada. Aun así, se relaciona al cortisol con un comportamiento menos agresivo y más audaz, así como una respuesta disminuida al estrés, en la descendencia de hembras de lobina negra, *Micropterus salmoides*, tratadas con cortisol, los mecanismos del cortisol para generar estas respuestas en la descendencia, se presupone que tienen que ver con la acción que tiene esta hormona sobre la neurogénesis en regiones del cerebro. Esto, puede ser originado por una disminución en los receptores de glucocorticoides, los cuales son depositados por las hembras en los ovocitos junto con el cortisol, por lo que si se deposita un menor número de estos receptores puede verse alterada la señalización del cortisol, lo que genera cambios en el fenotipo del comportamiento y en el desarrollo (Redfern *et al.*, 2017).

### **6.3. Mecanismos maternos de protección frente al estrés**

Además, existen diferentes estrategias a las que las hembras pueden recurrir como mecanismo para proteger a los huevos del estrés, generándose así un equilibrio entre la fecundidad y la calidad del huevo. Este mecanismo consiste en la inducción de atresia del ovocito junto con su posterior reabsorción en tiempos de estrés nutricional, además del control de la cantidad de sustancias que transfieren al huevo, la regulación de la maduración y del momento de la ovulación (Schreck *et al.*, 2001). Otro mecanismo de protección de la descendencia se da atenuando la respuesta al estrés por cortisol, y se logra fomentando que el aumento de cortisol en sangre sea breve, mediante la presencia de proteínas de unión que mantienen la mayoría de esteroides en la circulación materna, y mediante enzimas que convierten el cortisol en cortisona, el metabolito inactivo (Schreck *et al.*, 2001).

Se puede apreciar la influencia y los cambios que genera la exposición de un estresor, cada vez más comunes por causa del cambio climático que está amenazando este tipo de sistemas, ya que cada vez los peces se encuentran con más contaminantes, con más cambios bruscos de temperatura y por tanto consecuencias nada desdeñables sobre la descendencia.

## **7. IMPORTANCIA DEL CONTROL DEL ESTRÉS EN LA PRODUCCIÓN ACUÍCOLA.**

Dada la demanda cada vez más masificada de pescado como recurso alimenticio, la pesca tradicional no es capaz de alcanzarla y suplirla, y, por tanto, con el paso de los años, resulta cada vez más necesaria la mejora de los procesos de acuicultura, buscando reducir los niveles de estrés sufridos por los peces, para abarcar esta problemática de manera sostenible. La intensificación de las prácticas de cría aumenta el nivel de estrés al cual están sometidos las especies acuícolas entre las que se encuentran los teleósteos, de ahí que la disminución del estrés sea una de las preocupaciones más importantes en el ámbito de la acuicultura, al poder afectar negativamente a diversos procesos de las especies entre los que se encuentra, en nuestro caso particular, la reproducción, afectando a la calidad o supervivencia de la progenie.

### **7.1. Efectos del estrés provocados por la domesticación de especies en acuicultura**

En las piscifactorías, el estrés puede ser generado por la manipulación, hacinamiento o las actividades que se realizan para el mantenimiento de los peces (Barton y Iwama, 1991). En este sentido, ciertos estudios sugieren que el estrés inducido periodo de tiempo reducido no supone efectos negativos sobre la reproducción, pero, por el contrario, prácticas más duraderas (estrés crónico) pueden conducir al perjuicio capacidad reproductiva (Bayunova *et al.*, 2002). Por ello, se debe tener minuciosamente controlados factores como la temperatura, fotoperiodo, pH, oxígeno (Barton y Iwama, 1991) o la alimentación, para lograr asegurar el máximo bienestar (Huntingford *et al.*, 2006). Por ejemplo, una calidad de agua inadecuada genera hipoxia, la cual produce alteraciones en genes involucrados en el metabolismo de los lípidos o en la síntesis de hormonas esteroideas en las gónadas, viéndose comprometida la reproducción en peces adultos (Ribas y Piferrer, 2014). Asimismo, otro problema de la cría intensiva se da cuando los peces están sujetos a densidades elevadas, ya que esta puede tener un impacto negativo en el bienestar de los peces (Sneddon *et al.*, 2016). Sin ir más lejos, existen revisiones recientes que reúnen diferentes efectos de la cautividad sobre la reproducción en peces teleósteos: retraso en la proliferación de células germinales (*Thunnus thynnus*), menor motilidad de gametos masculinos (*Tinca tinca*), tasas menores de fertilización (*Gadus morhua*, *Salminus hilarii*), calidad de gametos baja (*Perca fluviatilis*) (Milla *et al.*, 2021), mayor viscosidad seminal, que provoca un fracaso en la fertilización debido a la mezcla inadecuada con el agua (*Hippoglossus hippoglossus*) (Zohar y Mylonas, 2001). Entre estos efectos perjudiciales, un reciente estudio (Zupa *et al.*, 2017) evaluó los efectos de la cría en cautiverio sobre la maduración reproductiva, mediante el índice gonadosomático (IGS) que relaciona el peso del pez con el peso de la gónada

indicando la madurez sexual o capacidad reproductiva (Yoneda *et al.*, 2013). Este estudio se realizó en tres periodos diferentes: gametogénesis temprana, avanzada y desove. Las diferencias entre los IGS, histología y el análisis plasmático de esteroides sexuales evidencian el efecto deletéreo del cautiverio sobre la reproducción (Zupa *et al.*, 2017).

Además, un estudio realizado con jurel (*Trachurus japonicus*) (Imanaga *et al.*, 2014) determinó mediante análisis histológicos que la vitelogénesis no tuvo lugar en un 60% de peces en cautividad, siendo esto debido al estrés provocado por el cautiverio, ya que actúa desfavorablemente sobre la síntesis de GnRH. Por consiguiente, comparando las hembras salvajes y cautivas, las segundas cuentan con niveles de GnRH1 (una forma de péptido de GnRH) menores. El fracaso en la ovulación podría estar causada la ausencia de estimulación de LH debido a la escasa estimulación de GnRH sobre esta (Imanaga *et al.*, 2014). Asimismo, otro estudio sobre el efecto del cautiverio sobre el eje cerebro-pituitaria-gónada, el aumento de LH en plasma provoca la ovulación en condiciones no estresantes, mientras que en peces sometidos a cautividad permanecen inmóviles, sufriendo los ovocitos vitelogénicos un proceso de atresia; para controlarlo se utilizan preparaciones de GtH y de GnRH $\alpha$  (agonistas sintéticos) (Zohar y Mylonas, 2001). A pesar de esto, en ocasiones, también encontramos efectos positivos cuando el tiempo de cautividad es elevado y los peces se encuentran más domesticados como, por ejemplo: aumento de la tasa de ovulación (*Leuciscus idus*) y fertilización (*Perca fluviatilis*), aumentos calidad del esperma (*Salmo trutta*) o aumento número de desoves (*Leuciscus cephalus*) (Milla *et al.*, 2021). Por lo tanto, las alteraciones reproductivas generadas por las prácticas de acuicultura son muy diversas, aunque generalmente más perjudiciales que beneficiosas.

## **7.2. Estrategias de la acuicultura para controlar el estrés**

Los desajustes causados por el estrés deben ser minimizados por los acuicultores mediante estrategias para lograr un desarrollo óptimo de los reproductores y garantizar una producción adecuada. Con estos métodos se busca sistematizar la calidad del agua, temperatura, pH y oxígeno, densidad y nutrientes adecuados, limpieza, anestésicos y manejo adecuado (Gabriel y Akinrotimi, 2011). Además, la recogida de muestras en los experimentos presenta un problema ya que, puede alterar los resultados finales, debido a que estas pueden generar directamente estrés, por lo tanto, debe minimizarse la manipulación de estos peces (Zupa *et al.*, 2017). El estrés generado por el transporte, manipulación o diferentes procedimientos como la exposición al aire durante escasos minutos pueden aumentar los niveles de cortisol. Como ejemplo de

prácticas que pueden reducir el estrés asociado a la domesticación de los peces, se encuentra es importante mantener húmedos a los peces durante toda la manipulación y prestar especial atención a la capa mucosa de los peces cuya función protectora se encarga de la osmorregulación. Por tanto, las técnicas de manipulación deben ser delicadas, con especial interés al oxígeno (Ashley, 2007).

Encontramos diferentes estrategias para contrarrestar o suprimir los efectos del estrés; la suplementación con vitaminas C y E en la dieta, ayudan a disminuir las consecuencias del estrés, además de periodos de recuperación después del manejo de los peces (Ashley, 2007). También, la incorporación de aminoácidos en la dieta ayuda a reducir los efectos del estrés, por ejemplo el uso de triptófano (Trp) en el lenguado (*Solea senegalensis*) los ayuda a combatir los factores estresantes (Martos-Sitcha *et al.*, 2020). Otra estrategia relacionada con la dieta, consiste en la utilización de comederos automáticos para que los peces tengan disponible el alimento en todo momento, reduciendo así problemas en el comportamiento (Braithwaite y Ebbesson, 2014). Además, una complementación con inmunoestimulantes, vacunas y bacterias probióticas en la dieta o en el agua, resultan interesantes para paliar los efectos del estrés, resulta interesante mezclar estos probióticos con vitaminas y nutrientes (Dawood *et al.*, 2019).

Concretamente, los anestésicos pueden reducir el estrés generado por el transporte, manipulación o diferentes procedimientos como por ejemplo la recolección de gametos para los procesos de fertilización *in vitro* en acuicultura (Husen y Sharma, 2014). Los aceites esenciales se pueden utilizar como sedantes o anestésicos, reduciendo el estrés oxidativo o estimulando el sistema inmune (Martos-Sitcha *et al.*, 2020).

Actualmente, se cuentan con técnicas encargadas de controlar los niveles de estrés en los peces, mediante mecanismos menos invasivos con organismos centinela, que tiene un impacto mínimo y transitorio (Martos-Sitcha *et al.*, 2020). Además, estos sistemas también denominados de biotelemetría, son interesantes ya que registran diferentes variables fisiológicas en respuesta a los diferentes factores estresantes. Entre ellos, la frecuencia cardiaca podría indicar a los acuicultores si las técnicas de manipulación están suponiendo estrés a los peces. El funcionamiento en particular de esta técnica consiste en utilizar la elevación de la frecuencia cardiaca, respuesta secundaria producida debido a los factores estresantes, como indicadora de bienestar (Brijs *et al.*, 2018). Esto resulta interesante, ya que no sería necesario esperar a la generación de las respuestas terciarias, que son indicadoras de estrés visuales, pero, sin embargo, son tardíos. La utilización de estas respuestas secundarias como el flujo sanguíneo o

espasmos musculares, como marcadores de estrés contribuyen a la generación de información rápida y fiable para asegurar el bienestar en la acuicultura (Brijs *et al.*, 2018).

En conclusión, los efectos de la domesticación acuícola son, a día de hoy, contradictorios, pudiendo ser beneficiosa en unas especies y perjudicial en otras. Encontrar técnicas que logren minimizar al máximo los efectos del estrés y proporcionar estrategias que aseguren el éxito reproductivo es fundamental, atendiendo a la especie y las circunstancias en cuestión.

## **8. CONCLUSIONES**

- 1- A pesar de que existen diferencias entre especies se ha logrado comprender los mecanismos fisiológicos y establecer distintos niveles de respuesta al estrés (primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria) comunes en todos los organismos.
- 2- Los diferentes estresores son capaces de modificar el sexo final del individuo (masculinización) tanto en la etapa prenatal como en el adulto, mediante modificaciones epigenéticas y la acción del cortisol, incidiendo sobre interruptores maestros del ambiente que se encargan de guiar el destino de las gónadas.
- 3- Existen efectos perjudiciales del estrés sobre la calidad de los gametos mediante el papel directo del cortisol y los mecanismos epigenéticos provocando la alteración de la expresión de determinadas proteínas y factores de transcripción y generando modificaciones en el fenotipo de la descendencia.
- 4- Las consecuencias del estrés en la producción acuícola son manifiestas debido al mantenimiento en cautividad de los organismos por ello se deben establecer diferentes estrategias que puedan paliar estos efectos negativos que incluyen la suplementación con diferentes aditivos (probióticos y vitaminas), el uso de sedantes y técnicas novedosas como la biotelemedicina.

## 9.REFERENCIAS

- Alix, M., Kjesbu, O. S. y Anderson, K. C. (2020) "From gametogenesis to spawning: How climate-driven warming affects teleost reproductive biology", *Journal of Fish Biology*, 97(3), pp. 607-632.
- Ashley, P. J. (2007) "Fish welfare: Current issues in aquaculture", *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3-4), pp. 199-235.
- Balasch, J. C. y Tort, L. (2019) "Netting the stress responses in fish", *Frontiers in Endocrinology*, 10(62), pp. 1-12.
- Barandica, L. M. y Tort, L. (2008) "Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces", *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 32(123), pp. 267-285.
- Baroiller, J. F., D'Cotta, H. y Saillant, E. (2009) "Environmental effects on fish sex determination and differentiation", *Sexual Development*, 3(2-3), pp. 118-135.
- Barton, B. A. (2002) "Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids", *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), pp. 517-525.
- Barton, B. A. y Iwama, G. K. (1991) "Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids", *Annual Review of Fish Diseases*, 1, pp. 3-26.
- Bayunova, L., Barannikova, I. y Semenkova, T. (2002) "Sturgeon stress reactions in aquaculture", *Journal of Applied Ichthyology*, 18(4-6), pp. 397-404.
- Braithwaite, V. A. y Ebbesson, L. O. . E. (2014) "Pain and stress responses in farmed fish", *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*, 33(1), pp. 245-253.
- Breen, K. M. y Karsch, F. J. (2006) "New insights regarding glucocorticoids, stress and gonadotropin suppression", *Frontiers in Neuroendocrinology*, 27(2), pp. 233-245.
- Brijs, J., Sandblom, E., Axelsson, M., Sundell, K., Sundh, H., Huyben, D., Broström, R., Kiessling, A., Berg, C. y Gräns, A. (2018) "The final countdown: Continuous physiological welfare evaluation of farmed fish during common aquaculture practices before and during harvest", *Aquaculture*, 495, pp. 903-911.
- Chan, J. C., Nugent, B. M. y Bale, T. L. (2018) "Parental Advisory: Maternal and Paternal Stress Can Impact Offspring Neurodevelopment", *Biological Psychiatry*, 83(10), pp. 886-894.
- Cockrem, J. F. (2013) "Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals", *General and Comparative Endocrinology*, 181(1), pp. 45-58.
- Dawood, M. A. O., Koshio, S., Abdel-Daim, M. M. y Van Doan, H. (2019) "Probiotic application for sustainable aquaculture", *Reviews in Aquaculture*, 11(3), pp. 907-924.
- Ellis, T., Yildiz Yavuzcan, H., López-Olmeda, J., Spedicato, M. T., Tort, L., Øverli, Ø. y Martins, C. I. M. (2012) "Cortisol and finfish welfare", *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, pp. 163-188.
- Eriksen, M. S., Bakken, M., Espmark, Å., Braastad, B. O. y Salte, R. (2006) "Prespawning stress in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*: Maternal cortisol exposure and hyperthermia during embryonic development affect offspring survival, growth and incidence of malformations", *Journal of Fish Biology*, 69(1), pp. 114-129.
- Eriksen, M. S., Færevik, G., Kittilsen, S., McCormick, M. I., Damsgård, B., Braithwaite, V. A., Braastad, B. O. y Bakken, M. (2011) "Stressed mothers - troubled offspring: A study of behavioural maternal effects in farmed *Salmo salar*", *Journal of Fish Biology*, 79(3), pp. 575-586.
- Erisman, B. E., Petersen, C. W., Hastings, P. A. y Warner, R. R. (2013) "Phylogenetic perspectives on the evolution of functional hermaphroditism in teleost fishes", *Integrative and Comparative Biology*, 53(4), pp. 736-754.
- Faught, E., Hernandez-Perex, J., Wilson, J. M. y Vijayan, M. M. (2020) "Stress in Response to Environmental Changes", en Woo, P. T. K. y Iwama, G. K. (eds.) *Climate change and non-infectious fish disorders*. Ilustrada. Calgary, Canada: CABI, pp. 136-162.
- Faught, E. y Vijayan, M. M. (2018) "Maternal stress and fish reproduction: The role of cortisol revisited", *Fish and Fisheries*, 19(6), pp. 1016-1030.
- Fernandino, J. I. y Hattori, R. S. (2019) "Sex determination in Neotropical fish: Implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment", *General and Comparative Endocrinology*, 273, pp. 172-183.
- Gabriel, U. y Akinrotimi, A. (2011) "Management of Stress in Fish for Sustainable Aquaculture Development", *Marsland press*, 3(4), pp. 28-38.
- Gagliano, M. y McCormick, M. I. (2009) "Hormonally mediated maternal effects shape offspring survival potential in stressful environments", *Oecologia*, 160(4), pp. 657-665.

- Ganesh, C. B. (2021) "The stress – Reproductive axis in fish: The involvement of functional neuroanatomical systems in the brain", *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 112(101904), pp. 1-13.
- García-Cruz, E. L., Yamamoto, Y., Hattori, R. S., Monteiro de Vasconcelos, L., Yokota, M. y Strüssmann, C. A. (2020) "Crowding stress during the period of sex determination causes masculinization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*, a fish with temperature-dependent sex determination", *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A : Molecular and Integrative Physiology*, 245(110701), pp. 1-7.
- Geffroy, B. y Douhard, M. (2019) "The Adaptive Sex in Stressful Environments", *Trends in Ecology and Evolution*, 34(7), pp. 628-640.
- Gemmell, N. J., Todd, E. V., Goikoetxea, A., Ortega-Recalde, O. y Hore, T. A. (2019) "Natural sex change in fish", en Capel, B. (ed.) *Current Topics in Developmental Biology*. 1.<sup>a</sup> ed, pp. 71-117.
- Goikoetxea, A., Todd, E. V. y Gemmell, N. J. (2017) "Stress and sex: Does cortisol mediate sex change in fish?", *Reproduction*, 154(6), pp. R149-R160.
- Goos, H. J. T. y Consten, D. (2002) "Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*", *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197(1-2), pp. 105-116.
- Harper, C. y Wolf, J. C. (2009) "Morphologic effects of the stress response in fish", *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 50(4), pp. 387-396.
- Hattori, R. S., Castañeda-Cortés, D. C., Arias Padilla, L. F., Strobl-Mazzulla, P. H. y Fernandino, J. I. (2020) "Activation of stress response axis as a key process in environment-induced sex plasticity in fish", *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(21), pp. 4223-4236.
- Ho, D. H. y Burggren, W. W. (2012) "Parental hypoxic exposure confers offspring hypoxia resistance in zebrafish (*Danio rerio*)", *Journal of Experimental Biology*, 215(23), pp. 4208-4216.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P. y Turnbull, J. F. (2006) "Current issues in fish welfare", *Journal of Fish Biology*, 68(2), pp. 332-372.
- Husen, A. M. y Sharma, S. (2014) "Efficacy of anesthetics for reducing stress in fish during aquaculture practices-A Review", *Journal of Science, Engineering and Technology*, 10(I), pp. 104-123.
- Imanaga, Y., Nyuji, M., Amano, M., Takahashi, A., Kitano, H., Yamaguchi, A. y Matsuyama, M. (2014) "Characterization of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin in jack mackerel (*Trachurus japonicus*): Comparative gene expression analysis with respect to reproductive dysfunction in captive and wild fish", *Aquaculture*, 428-429, pp. 226-235.
- Jonsson, B. y Jonsson, N. (2019) "Phenotypic plasticity and epigenetics of fish: Embryo temperature affects later-developing life-history traits", *Aquatic Biology*, 28, pp. 21-32.
- Joseph, D. N. y Whirlledge, S. (2017) "Stress and the HPA axis: Balancing homeostasis and fertility", *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), p. 2224.
- Kalamarz-Kubiak, H. (2018) "Cortisol in Correlation to Other Indicators of Fish Welfare", en Gamal Al-kaf, A. (ed.) *Corticosteroids*. Sopot, Polonia: IntechOpen, pp. 156-183.
- Karatsoreos, I. N. y McEwen, B. S. (2010) "Stress and Allostasis", en Steptoe, A. (ed.) *Handbook of Behavioral Medicine*. 1.<sup>a</sup> ed. New York: Springer, pp. 649-658.
- Kazancıoğlu, E. y Alonzo, S. H. (2010) "A comparative analysis of sex change in labridae supports the size advantage hypothesis", *Evolution*, 64(8), pp. 2254-2264.
- Kjesbu, O. S., Fonn, M., Gonzáles, B. D. y Nilsen, T. (2010) "Stereological calibration of the profile method to quickly estimate atresia levels in fish", *Fisheries Research*, 104(1-3), pp. 8-18.
- Kobayashi, Y., Nagahama, Y. y Nakamura, M. (2013) "Diversity and Plasticity of Sex Determination and Differentiation in Fishes", *Sexual Development*, 7(1-3), pp. 115-125.
- Labbé, C., Robles, V. y Herraes, M. P. (2017) "Epigenetics in fish gametes and early embryo", *Aquaculture*, 472, pp. 93-106.
- Leggett, W. C. y Deblois, E. (1994) "Recruitment in marine fishes: Is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages?", *Netherlands Journal of Sea Research*, 32(2), pp. 119-134.
- Lescak, E. A. y Milligan-Myhre, K. C. (2017) "Teleosts as model organisms to understand host-microbe interactions", *Journal of Bacteriology*, 199(15), pp. 868-884.
- Mahanty, A., Purohit, G. K., Mohanty, S. y Mohanty, B. P. (2019) "Heat stress-induced alterations in the expression of genes associated with gonadal integrity of the teleost *Puntius sophore*", *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(4), pp. 1409-1417.
- Martienssen, R. A., Riggs, A. D. y Russo, V. E. A. (1996) *Epigenetic mechanisms of gene regulation*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Martos-Sitcha, J. A., Mancera, J. M., Prunet, P. y Magnoni, L. J. (2020) "Editorial: Welfare and Stressors in Fish: Challenges Facing Aquaculture", *Frontiers in Physiology*, 11(162), pp. 1-3.
- McCormick, M. I. (1998) "Behaviorally induced maternal stress in a fish influences progeny quality by a hormonal mechanism", *Ecology*, 79(6), p. 1873.
- McCormick, M. I. (2009) "Indirect effects of heterospecific interactions on progeny size through maternal

- stress", *Oikos*, 118(5), pp. 744-752.
- McEwen, B. S. y Wingfield, J. C. (2003) "The concept of allostasis in biology and biomedicine", *Hormones and Behavior*, 43(1), pp. 2-15.
  - Migaud, H., Bell, G., Cabrita, E., McAndrew, B., Davie, A., Bobe, J., Herráez, M. P. y Carrillo, M. (2013) "Gamete quality and broodstock management in temperate fish", *Reviews in Aquaculture*, 5(SUPPL.1), pp. S194-S223.
  - Milla, S., Pasquet, A., El Mohajer, L. y Fontaine, P. (2021) "How domestication alters fish phenotypes", *Reviews in Aquaculture*, 13(1), pp. 388-405.
  - Milla, S., Wang, N., Mandiki, S. N. M. y Kestemont, P. (2009) "Corticosteroids: Friends or foes of teleost fish reproduction?", *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology*, pp. 242-251.
  - Mitchell, E., Klein, S. L., Argyropoulos, K. V., Sharma, A., Chan, R. B., Toth, J. G., Barboza, L., Bavley, C., Bortolozzi, A., Chen, Q., Liu, B., Ingenito, J., Mark, W., Dudakov, J., Gross, S., Di Paolo, G., Artigas, F., Van Den Brink, M. y Toth, M. (2016) "Behavioural traits propagate across generations via segregated iterative-somatic and gametic epigenetic mechanisms", *Nature Communications*, 7(11492), pp. 1-16.
  - Mychasiuk, R., Harker, A., Ilnytsky, S. y Gibb, R. (2013) "Paternal stress prior to conception alters DNA methylation and behaviour of developing rat offspring", *Neuroscience*, 241, pp. 100-105.
  - Nozu, R. y Nakamura, M. (2015) "Cortisol administration induces sex change from ovary to testis in the protogynous wrasse, *Halichoeres trimaculatus*", *Sexual Development*, 9(2), pp. 118-124.
  - Ogino, Y., Miyagawa, S. y Iguchi, T. (2016) "17,20 $\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one", en Takei, Y., Ando, H., y Tsutsui, K. (eds.) *Handbook of Hormones*. Ilustrado. Japan: Academic Press, pp. 509-510.
  - Ortega-Recalde, O., Goikoetxea, A., Hore, T. A., Todd, E. V. y Gemmell, N. J. (2020) "The Genetics and Epigenetics of Sex Change in Fish", *Annual Review of Animal Biosciences*, 8, pp. 47-69.
  - Petitjean, Q., Jean, S., Gandar, A., Côte, J., Laffaille, P. y Jacquin, L. (2019) "Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes", *Science of the Total Environment*, 684, pp. 371-380.
  - Randall, D. J. y Ferry, S. F. (1992) "Catecholamines", *Fish Physiology*, 12, pp. 255-300.
  - Redfern, J. C., Cooke, S. J., Lennox, R. J., Nannini, M. A., Wahl, D. H. y Gilmour, K. M. (2017) "Effects of maternal cortisol treatment on offspring size, responses to stress, and anxiety-related behavior in wild largemouth bass (*Micropterus salmoides*)", *Physiology and Behavior*, 180, pp. 15-24.
  - Rey, O., Danchin, E., Mirouze, M., Loot, C. y Blanchet, S. (2016) "Adaptation to Global Change: A Transposable Element-Epigenetics Perspective", *Trends in Ecology and Evolution*, 31(7), pp. 514-526.
  - Ribas, L. y Piferrer, F. (2014) "The zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research", *Reviews in Aquaculture*, 6(4), pp. 209-240.
  - Schärer, L. (2017) "The varied ways of being male and female", *Molecular Reproduction and Development*, 84(2), pp. 94-104.
  - Schreck, C. B. (2007) "Fish, Stress in", en George, F. (ed.) *Encyclopedia of Stress*. 2.<sup>a</sup> ed. Melbourne: Academic Press, pp. 68-72.
  - Schreck, C. B. (2010) "Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis", *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), pp. 549-556.
  - Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W. y Fitzpatrick, M. S. (2001) "Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny", en Lee, C.-S. y Donaldson, E. M. (eds.) *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. 1.<sup>a</sup> ed. Honolulu: Elsevier Science, pp. 3-24.
  - Schreck, C. B. y Tort, L. (2016) "The Concept of Stress in Fish", en Schreck, C. B., Tort, L., Farrell, A., y Brauner, C. (eds.) *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology*. 1.<sup>a</sup> ed. Academic Press, pp. 1-34.
  - Selye, H. (1950) "Stress and the general adaptation syndrome", *British Medical Journal*, 1(4667), pp. 1383-1392.
  - Servili, A., Canario, A. V. M., Mouchel, O. y Muñoz-Cueto, J. A. (2020) "Climate change impacts on fish reproduction are mediated at multiple levels of the brain-pituitary-gonad axis", *General and Comparative Endocrinology*, 291(113439), pp. 1-15.
  - Shen, Z.-G. y Wang, H.-P. (2019) "Environmental Sex Determination and Sex Differentiation in Teleosts - How Sex Is Established", en Wang, H.-P., Piferrer, F., Chen, S.-L., y Shen, Z.-G. (eds.) *Sex Control in Aquaculture: Volume 1*. 1.<sup>a</sup> ed. John Wiley and Sons, pp. 85-115.
  - Shen, Z. G. y Wang, H. P. (2014) "Molecular players involved in temperature-dependent sex determination and sex differentiation in Teleost fish", *Genetics Selection Evolution*, 46(1), pp. 1-21.
  - Smith, C. y Wootton, R. J. (2016) "The remarkable reproductive diversity of teleost fishes", *Fish and Fisheries*, 17(4), pp. 1208-1215.
  - Sneddon, L. U., Wolfenden, D. C. C. y Thomson, J. S. (2016) "Stress Management and Welfare", en Schreck, C. B., Tort, L., Farrell, A. P., y Brauner, C. J. (eds.) *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology*. 1.<sup>a</sup> ed. Academic Press, pp. 463-539.

- Sopinka, N. M., Donaldson, M. R., O'connor, C. M., Suski, C. D. y Cooke, S. J. (2016) "Stress indicators in fish", en Schreck, C. B., Tort, L., Farrell, A. J., y Brauner, C. (eds.) *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology*. 1.<sup>a</sup> ed. Academic Press, pp. 405-462.
- Sopinka, N. M., Hinch, S. G., Middleton, C. T., Hills, J. A. y Patterson, D. A. (2014) "Mother knows best, even when stressed? Effects of maternal exposure to a stressor on offspring performance at different life stages in a wild semelparous fish", *Oecologia*, 175(2), pp. 493-500.
- Stenz, L., Schechter, D. S., Serpa, S. R. y Paoloni-Giacobino, A. (2018) "Intergenerational transmission of DNA methylation signatures associated with early life stress", *Current Genomics*, 19(8), pp. 665-675.
- Takei, Y. y Hwang, P. P. (2016) "Homeostatic responses to osmotic stress", *Fish Physiology*, 35, pp. 207-249.
- Valdebenito, I. y Effer Roldán, B. (2015) "Gamete quality in fish: Evaluation parameters and determining factors", *Cambridge University Press*, 23(2), pp. 177-197.
- Wang, S. Y., Lau, K., Lai, K. P., Zhang, J. W., Tse, A. C. K., Li, J. W., Tong, Y., Chan, T. F., Wong, C. K. C., Chiu, J. M. Y., Au, D. W. T., Wong, A. S. T., Kong, R. Y. C. y Wu, R. S. S. (2016) "Hypoxia causes transgenerational impairments in reproduction of fish", *Nature Communications*, 7(1), pp. 1-9.
- Warner, R. R., Ross Robertson, D. y Leigh, E. G. (1975) "Sex change and sexual selection", *Science*, 190(4215), pp. 633-638.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997) "The Stress Response in Fish", *Physiological Reviews*, 77(3), pp. 591-625.
- Yoneda, M., Kitano, H., Selvaraj, S., Matsuyama, M. y Shimizu, A. (2013) "Dynamics of gonadosomatic index of fish with indeterminate fecundity between subsequent egg batches: Application to Japanese anchovy *Engraulis japonicus* under captive conditions", *Marine Biology*, 160(10), pp. 2733-2741.
- Zhang, Z., Bai, Q., Xu, X. y Zhang, X. (2021) "Effects of the dominance hierarchy on social interactions, cortisol level, HPG-axis activities and reproductive success in the golden cuttlefish *Sepia esculenta*", *Aquaculture*, 533(736059), pp. 1-9.
- Zohar, Y. y Mylonas, C. C. (2001) "Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: From hormones to genes", *Aquaculture*, 197(1-4), pp. 99-136.
- Zupa, R., Rodriguez, C., Mylonas, C. C., Rosenfeld, H., Fakriadis, I., Papadaki, M., Perez, J. A., Pousis, C., Basilone, G. y Corriero, A. (2017) "Comparative study of reproductive development in wild and captive-reared greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso, 1810)", *Public Library of Science*, 12(1), pp. 1-28.