



# XVIII Congreso Nacional de ACUICULTURA

2022 Del 21 al 24 de  
Noviembre

*Palacio de Congresos de Cádiz*  
*"Acuicultura: mares y ríos de oportunidades"*

## Libro de resúmenes

**SEA**  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
ACUICULTURA



# **Libro de resúmenes del**

XVIII Congreso Nacional de

# **ACUICULTURA**

“Acuicultura: mares y ríos de oportunidades”

CÁDIZ

Del 21 al 24 de Noviembre 2022

## Efecto de la dieta y de la temperatura en la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en el gamárido marino *Gammarus locusta*. Una aproximación transcriptómica

Alberto Ribes Navarro (Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC)), Hilke Alberts Hubatsch (Alfred Wegener Institute), André Machado (CIMAR/CIIMAR—Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research), Filipe Castro (CIMAR/CIIMAR—Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research), Francisco Hontoria Danés (Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC)), Óscar Monroig Marzá (Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC)), Juan Carlos Navarro Tárrega (Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC))

### Abstract

Gammarids are arising as promising candidates for feed formulation in aquaculture due to their capacity to be fed on a wide range of sidestreams while maintaining adequate levels of long-chain ( $\geq C_{20}$ ) polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). The main goal of this work was to elucidate how different conditions (temperature and diet) modulate the expression of LC-PUFA biosynthesis and energy metabolism related genes. Individuals of the marine gammarid *Gammarus locusta* were fed on different diets (3) and reared at several temperatures (4), their RNA was sequenced, and the raw data were used to build a reference transcriptome for differential gene expression (DGE) analysis. Genes related to LC-PUFA and energy metabolism were down-regulated in the gammarids fed low LC-PUFA diets and reared at suboptimal temperatures.

### Resumen

Los gamáridos son prometedores candidatos para la formulación de pienso en acuicultura debido a su capacidad para alimentarse de una amplia gama de subproductos mientras mantienen niveles adecuados de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ( $\geq C_{20}$ ) (LC-PUFA). El objetivo principal de este trabajo fue dilucidar cómo diferentes condiciones (temperatura y dieta) afectan a la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de LC-PUFA y el metabolismo energético. Ejemplares del gamárido marino *Gammarus locusta* se alimentaron con diferentes dietas (3), a distintas temperaturas (4), se secuenció su ARN y los datos se usaron para construir un transcriptoma de referencia para el análisis de la expresión génica diferencial (DGE). Los resultados indican que los genes relacionados con LC-PUFA y el metabolismo energético están subexpresados en los gamáridos alimentados con dietas pobres en LC-PUFA y cultivados a temperaturas subóptimas.

### Introducción

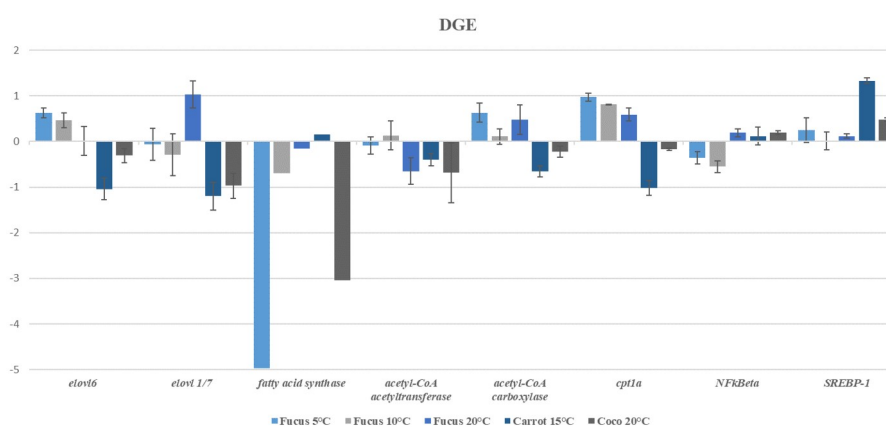
Estudios recientes han demostrado la capacidad de los gamáridos de alimentarse de una amplia gama de materiales de desecho de bioindustrias como la propia acuicultura y la agricultura, manteniendo niveles relativamente altos de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ( $\geq C_{20}$ ) (LC-PUFA de su acrónimo en inglés) y sin afectar drásticamente a su supervivencia y crecimiento (Alberts-Hubatsch, Slater y Beermann, 2019; Ribes-Navarro *et al.*, 2022). Esta característica permite aplicar principios de bioeconomía circular para así generar biomasas ricas en LC-PUFA que pueden ser utilizadas en acuicultura. En un trabajo reciente (Ribes-Navarro *et al.*, 2022) se han analizado los efectos de la temperatura y de dietas con distintos contenidos en LC-PUFA, sobre el crecimiento, supervivencia y los perfiles de ácidos grasos. Los resultados muestran que, a pesar de que la dieta es el factor más determinante en la composición final de ácidos grasos, no existe una correlación directa entre los perfiles de ácidos grasos de dicha dieta y el de los gamáridos, y menos si se considera su capacidad teórica de biosíntesis (Ribes-Navarro *et al.*, 2021). El objetivo de este trabajo es analizar la presencia y expresión diferencial (DGE) de genes implicados en la biosíntesis de ácidos grasos y el metabolismo energético, para poder esclarecer los mecanismos implicados en la respuesta de los ejemplares de *G. locusta* en el marco experimental antes mencionado.

### Material y métodos

Los datos derivados de RNAseq de las distintas muestras se analizaron construyendo y filtrando el transcriptoma de referencia de *G. locusta* mediante el procedimiento descrito en la metodología TRINITY (Haas *et al.*, 2013). Dicho transcriptoma de referencia se utilizó como control para analizar la DGE en los tratamientos: comparación de 3 dietas durante 21 días; hojas del alga *Fucus* (*Fucus*), hojas de zanahoria (*Carrot*), y pulpa de coco (*Coco*) a 15°C, y la comparación de los efectos de la dieta *Fucus* a 4 temperaturas (5, 10, 15, y 20 °C), utilizando las plataformas Degust (v.4.1.1) e iDEP.951. Los ejemplares de *G. locusta* cultivados a 15°C y alimentados con la dieta *Fucus* fueron seleccionados como control en ambos análisis (Neuparth, Costa, y Costa, 2002).

### Resultados y discusión

Los resultados preliminares de DGE muestran claras variaciones en la expresión de los genes estudiados, siendo la dieta Coco la que muestra un mayor número de genes regulados negativamente con respecto al resto. Además, los resultados de DGE de genes relacionados con la biosíntesis de ácidos grasos y metabolismo energético (*elovl6*, *elovl1/7*, *cpt1a*, *fatty acid synthase*, *acetyl-CoA acetyltransferase/carboxylase*) muestran una baja expresión en las dietas Coco y Carrot con respecto al control Fucus (Fig. 1). Por otro lado, los resultados de la DGE de factores de transcripción como el SREBP-1 y el NF- $\kappa$ B tienen una mayor expresión en las dietas Coco y Carrot. Este aumento en la expresión se explica por la capacidad de los LC-PUFA de modular negativamente la expresión de estos factores de transcripción, por lo que en aquellas dietas pobres en LC-PUFA la expresión ha de ser mayor (Jump, Tripathy, y Depner, 2013). Respecto al efecto de la temperatura, se observa una disminución de algunos de estos genes (*elovl6*, *cpt1a*, *fatty acid synthase*) a medida que ésta aumenta. Además, genes como *cpt1a* y *acetyl-CoA carboxylase* muestran una mayor expresión respecto a la temperatura control en cualquiera de las otras (5, 10, 20°C), lo que apunta a una sobreexpresión de genes relacionados directamente con el metabolismo energético. Por otro lado, se observa una disminución de la expresión de los factores de transcripción a medida que la temperatura aumenta, excepto en el caso del NF- $\kappa$ B en el que hay un aumento a 20°C, posiblemente vinculado a la aceleración del crecimiento a esta temperatura, ya que este factor de transcripción está directamente relacionado con las vías de señalización de factores de crecimiento (Neuparth, Costa, y Costa, 2002; Jump, Tripathy, y Depner, 2013).



**Figura 1.** Análisis de la expresión génica diferencial (DGE) (n=3) de genes relacionados con la biosíntesis de ácidos grasos y el metabolismo energético y los factores de transcripción SREBP-1 y NF- $\kappa$ B. La DGE relativa ha sido calculada respecto a *G. locusta* cultivados a 15°C y alimentados con la dieta Fucus.

### Bibliografía

- Alberts-Hubatsch, H., M.J. Slater y J. Beermann. 2019. Effect of Diet on Growth, Survival and Fatty Acid Profile of Marine Amphipods: Implications for Utilisation as a Feed Ingredient for Sustainable Aquaculture. *Aquaculture Environment Interactions*. 11:481–91.
- Haas, Brian J., A. Papanicolaou, M. Yassour, M. Grabherr, P.D. Blood, J. Bowden, M.B. Couger, D. Eccles, B. Li, M. Lieber, M.D. Macmanes, M. Ott, J. Orvis, N. Pochet, F. Strozzi, N. Weeks, R. Westerman, T. William, C.N. Dewey, R. Henschel, R.D. Leduc, N. Friedman y A. Regev. 2013. De Novo Transcript Sequence Reconstruction from RNA-Seq Using the Trinity Platform for Reference Generation and Analysis. *Nature Protocols*. 8(8):1494–1512.
- Jump, Donald B., S. Tripathy y C.M. Depner. 2013. Fatty Acid-Regulated Transcription Factors in the Liver. *Annual Review of Nutrition*. 33:249–69.
- Neuparth, T., F.O. Costa y M.H. Costa. 2002. Effects of Temperature and Salinity on Life History of the Marine Amphipod *Gammarus locusta*. Implications for Ecotoxicological Testing. *Ecotoxicology*. 11(1):61–73.
- Ribes-Navarro, A., J.C. Navarro, F. Hontoria, N. Kabeya, I.B. Standal, J.O. Evjemo y Ó. Monroig. 2021. Biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in marine gammarids: Molecular cloning and functional characterisation of three fatty acyl elongases. *Marine Drugs*. 19(4).
- Ribes-Navarro, A., H. Alberts-Hubatsch, Ó. Monroig, F. Hontoria y J.C. Navarro. 2022. Effects of Diet and Temperature on the Fatty Acid Composition of the Gammarid *Gammarus locusta* Fed Alternative Terrestrial Feeds. *Frontiers in Marine Science*.



**Agradecimientos**

Proyectos: SIDESTREAM (ERA-NET BlueBio, Grant ID 68), IMPROMEGA RTI2018-095119-B-100.