

# Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

## Institut für Biowissenschaften

**Fachgebiet:** Marine Biology

Betreuer: Prof. Dr. Inna Sokolova

Ihr Name: Hui Kong

(e-mail: hui.kong@uni-rostock.de)

### Titel Ihrer Arbeit

Impacts of multiple stressors on reproductive performance and gamete metabolism of the blue mussels *Mytilus edulis*: Physiological mechanisms and ecological implications

### Deutsche Zusammenfassung

Meeres-Küstengebiete im Anthropozän werden zunehmend durch abiotische Stressfaktoren wie Erwärmung des Meerwassers, Hypoxie und Schwankungen des Salzgehalts beeinflusst, die sowohl durch natürliche Schwankungen als auch durch den Klimawandel verursacht werden und erhebliche Herausforderungen für marine Ökosysteme darstellen. Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) sind als weit verbreitete Ökosystemingenieure entlang der gemäßigten Küsten direkt den Umweltveränderungen im Meerwasser ausgesetzt. Als Freisetzungslaicher geben Miesmuscheln während der Fortpflanzungszeit ihre Gameten zur Befruchtung ins Meerwasser ab. Die Kollision von Spermium und Eizelle ist ein notwendiger Schritt für die Befruchtung und erfordert, dass die beweglichen Spermien die Eizellen in der natürlichen Meeresumgebung finden. Mitochondrien sind die essenziellen Organellen in Spermien, die durch aerobe oxidative Phosphorylierung (OXPHOS) eine hocheffiziente ATP-Produktion durchführen. Das Verständnis, wie sich die Veränderungen der Meeresumwelt auf die Fortpflanzungsfähigkeit von *Mytilus* spp. auswirken, ist entscheidend für die Bewertung der Nachhaltigkeit und Anpassungsfähigkeit ihrer Populationen. Ziel dieser Studie war es, die metabolischen Grundlagen und Umweltfaktoren der Fortpflanzungsleistung von Muscheln zu untersuchen, indem der primäre Weg der ATP-Produktion in Spermien (OXPHOS vs. Glykolyse) identifiziert, Veränderungen der Spermienbeweglichkeit und der Mitochondrienfunktion nach Exposition der Eltern gegenüber Hypoxie und Anoxie bewertet und die Auswirkungen von Salzgehalt und Temperatur auf die Spermienbeweglichkeit, die Mitochondrienfunktion, den Befruchtungserfolg und deren Wechselbeziehungen untersucht wurden. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die mitochondriale OXPHOS der primäre Stoffwechselweg für die ATP-Produktion in *M. edulis*-Spermien ist und die Spermienmotilität direkt unterstützt. Die Exposition der Eltern gegenüber 72 Stunden Anoxie verringerte die ATP-Synthesekapazität und die Kopplungseffizienz der Spermienmitochondrien, während sowohl Hypoxie als auch Anoxie die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) in den Spermienmitochondrien erhöhten. Hohe Temperaturen verringerten die Atmungseffizienz der Mitochondrien in den Spermien und verstärkten den ROS-Ausfluss, während die Osmolarität kein entscheidender Faktor war. Die Mitochondrien in den Spermien sind jedoch

widerstandsfähig und sorgen auch unter den nachteiligen Auswirkungen von Umweltstressoren wie Temperatur- und Salzgehaltsschwankungen für eine stabile ATP-Produktion. Unsere Studie lieferte neue mechanistische Einblicke in den Energiestoffwechsel in Muschel-Spermien und zeigte, dass Hypoxie und Anoxie zwar die Spermienleistung beeinträchtigen können, die Auswirkungen von Temperatur- und Salzgehaltsschwankungen auf die Fortpflanzung von Muscheln jedoch wahrscheinlich nicht auf Störungen des Spermienstoffwechsels zurückzuführen sind. Stattdessen werden sie eher durch Faktoren wie osmotische und temperaturempfindliche Auswirkungen auf die Integrität und Interaktion der Gameten oder die Embryonalentwicklung verursacht.

## Englisch Zusammenfassung

Marine coastal environments in the Anthropocene are increasingly influenced by abiotic stressors such as seawater warming, hypoxia, and salinity fluctuations, driven by both natural variability and climate change, and posing significant challenges to marine ecosystems. Blue mussels (*Mytilus edulis*), as widely distributed ecosystem engineers along temperate coasts, are directly exposed to environmental changes in seawater. As broadcast spawners, mussels release their gametes into seawater for fertilization during the reproductive season. Sperm-egg collision is a necessary step for fertilization and requires the motile sperm to find the eggs in the natural seawater environment. Mitochondria are the essential organelles in spermatozoa that carry out highly efficient ATP production through aerobic oxidative phosphorylation (OXPHOS). Understanding how the seawater environmental changes impact the reproductive capability of *Mytilus* spp. is crucial for assessing the sustainability and adaptation of their populations. This study aimed to explore the metabolic underpinnings and environmental determinants of reproductive performance in mussels by identifying the primary pathway of ATP production in sperm (OXPHOS vs. glycolysis), assessing changes in sperm motility and mitochondrial function following parental exposure to hypoxia and anoxia, and evaluating the effects of salinity and temperature on sperm motility, mitochondrial function, fertilization success, and their interrelationships. Our results demonstrated that mitochondrial OXPHOS is the primary metabolic pathway for ATP generation in *M. edulis* sperm, directly supporting sperm motility. Parental exposure to 72h of anoxia decreased the ATP synthesis capacity and coupling efficiency of sperm mitochondria, while both hypoxia and anoxia increased the production of reactive oxygen species (ROS) in sperm mitochondria. High temperature decreased the respiratory efficiency of mitochondria in sperm and enhanced ROS efflux, whereas osmolarity was not a crucial factor. However, the mitochondria in sperm are resilient and provide stable ATP production even under the adverse effects of environmental stressors, such as temperature and salinity variations. Our study provided new mechanistic insights into energy metabolism in mussel sperm and showed that, while hypoxia and anoxia can impair sperm performance, the effects of temperature and salinity variations on mussel reproduction are unlikely to stem from disruptions in sperm metabolism. Instead, they are more likely driven by factors such as osmotic and temperature impacts on gamete integrity and interactions, or embryonic development.