



UNIVERSIDAD  
DE GRANADA



M Á S T E R E N  
Avances en **Biología**  
AGRARIA Y ACUICULTURA

# **Análisis de marcadores de bienestar en ortiguilla de mar (*Anemonia sulcata*) ante variaciones de su entorno de cultivo**

Alberto Coll Fernández

Trabajo de Fin de Máster

Curso 2022-2023

**1. Introducción**

**2. Objetivos**

**3. Materiales y métodos**

**4. Resultados**

**5. Discusión**

**6. Conclusiones**

# **1. Introducción**

2. Objetivos

3. Materiales y métodos

4. Resultados

5. Discusión

6. Conclusiones

# 1. Introducción

## Desarrollo sostenible en acuicultura

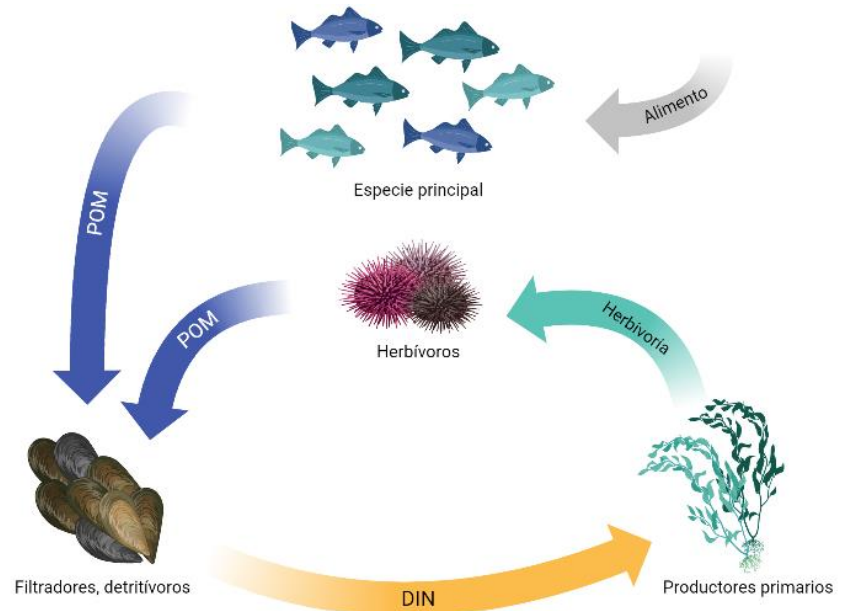


### AQUACULTURE

**Objective:** Sustainable aquaculture intensification and expansion satisfies global demand for aquatic food and distributes benefits equitably.

Sistemas de producción integrada:

### Acuicultura Multi-Trófica Integrada (IMTA)





# 1. Introducción



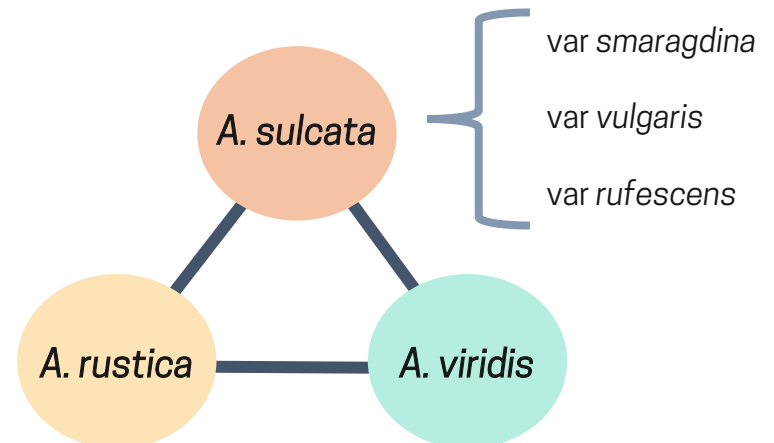
"Anemonia viridis" by sarsifa is licensed under CC BY-NC-SA 2.0.

*Anemonia sulcata*

(Cnidaria: Anthozoa)

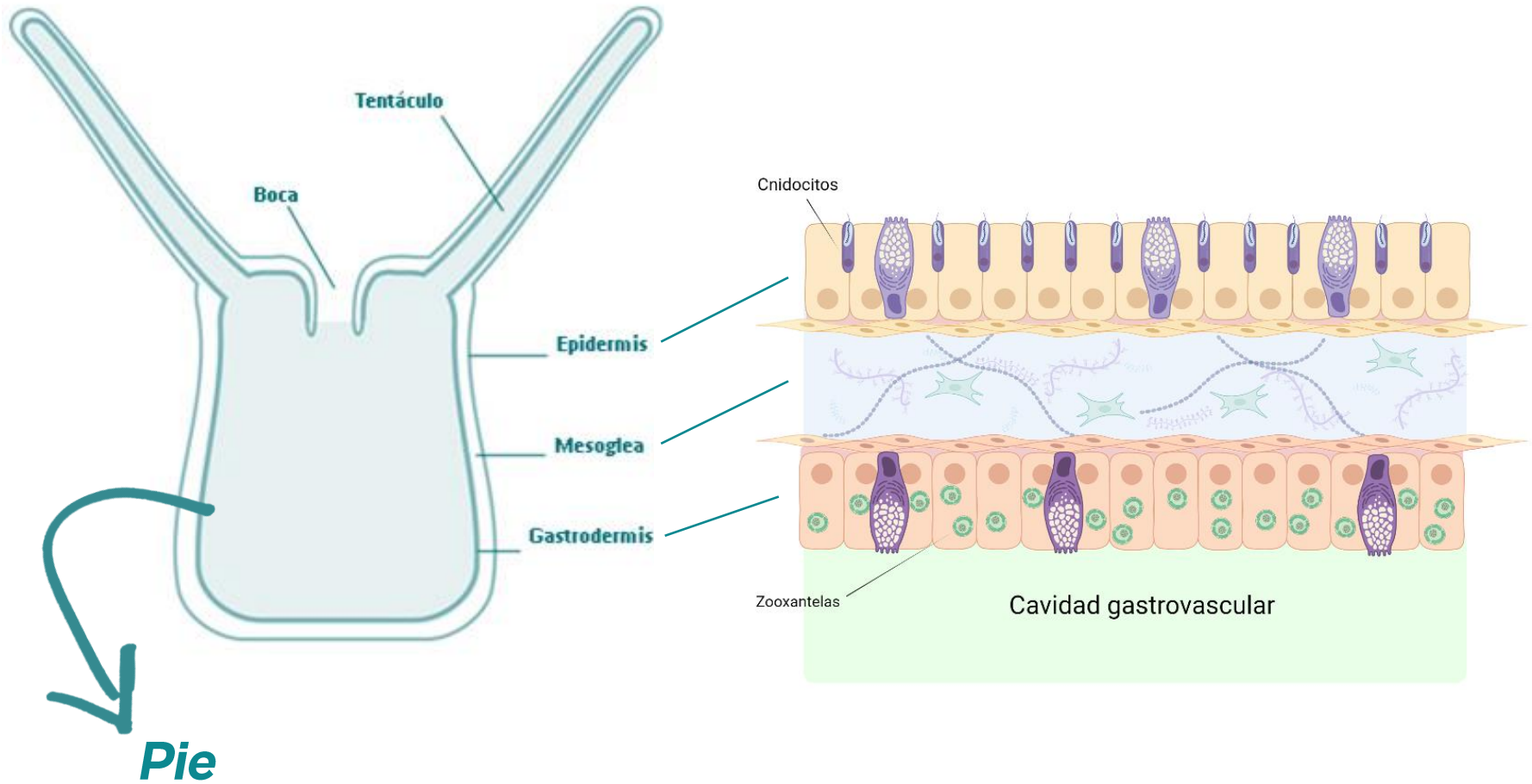
¿Por qué *Anemonia sulcata*?

- Interés gastronómico
- Interés biotecnológico
- Interés científico
- Interés de conservación
- Potencial en IMTA



# 1. Introducción

*Anemonia sulcata*



Anatomía y estructura de la  
pared corporal

# 1. Introducción

## Bienestar animal y estrés oxidativo



*“Estado de un animal en relación a su capacidad para adaptarse a su entorno”*

APROMAR, Guía del bienestar de los peces en la acuicultura española (2022)

### **Aproximación funcional**



1. Introducción

**2. Objetivos**

3. Materiales y métodos

4. Resultados

5. Discusión

6. Conclusiones



## 2. Objetivos

### Objetivo general

Evaluar condiciones del entorno que favorezcan la **optimización del cultivo** de la ortiguilla de mar (*Anemonia sulcata*), a través de la mejora del crecimiento y **estado de bienestar** de la especie.

## 2. Objetivos

### Objetivos específicos

- I Analizar el **crecimiento** y **reproducción** de *Anemonia sulcata* bajo diferentes condiciones de cultivo.
- II Evaluar la influencia de las **condiciones de cultivo** sobre el **estado oxidativo** de ejemplares de *Anemonia sulcata*.
- III Caracterizar la **organización tisular** de *Anemonia sulcata*, evaluando posibles alteraciones de la misma asociada al efecto de las condiciones de cultivo sobre su estado de bienestar.
- IV Identificar qué parámetros pueden resultar de interés como **marcadores de bienestar** en *Anemonia sulcata* bajo condiciones de cultivo.

1. Introducción

2. Objetivos

**3. Materiales y métodos**

4. Resultados

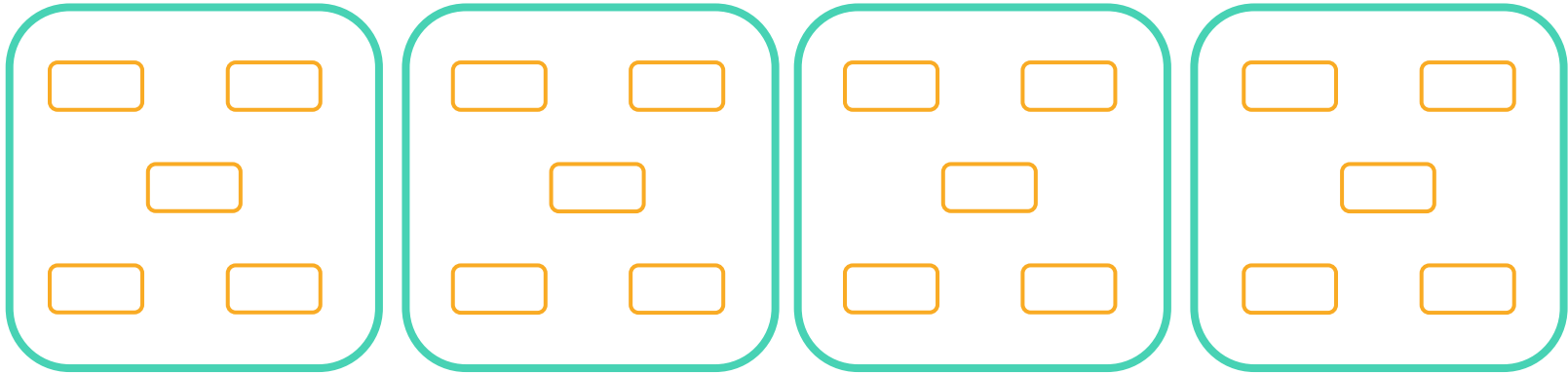
5. Discusión

6. Conclusiones

# 3. Materiales y métodos

## Diseño experimental

4 semanas, n = 5



Control

Oscuridad

(Cubierto con  
malla densa)

Agua salobre

(27-30 g/L)

IMTA

(Holoturias, erizos  
de mar,  
macroalgas,  
mejillones)

## ¿Qué se midió?

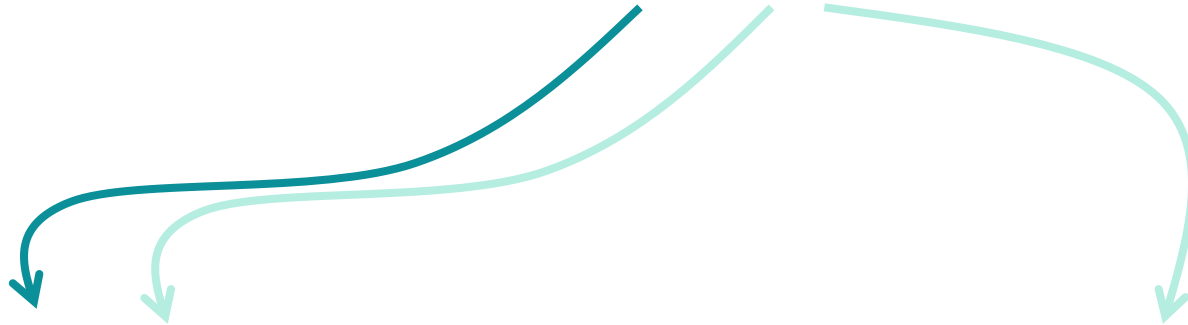
- Conteo y datos de peso
- Estado oxidativo y determinación de clorofila
- Evaluación histológica
- Análisis de Componentes Principales (PCA)



# 3. Materiales y métodos

## Estado oxidativo y clorofila

Separación de **pie** y **tentáculo**



### Medidas de estado oxidativo

- Superóxido dismutasa (**SOD**) McCord y Fridovich (1969)
- Catalasa (**CAT**) Aebi (1984)
- Glutación-S-transferasa (**GST**) Frasco y Guilhermino (2002)
- DT-diaforasa (**DTD**) Lemaire et al. (1996)
- Capacidad antioxidante total (**TEAC**) Erel (2004)
- Peroxidación lipídica (**MDA**) Buege y Aust (1978)

### Determinación de **clorofila total**

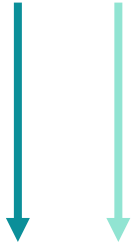
Jeffrey y Humphrey (1975)



# 3. Materiales y métodos

## Tratamiento histológico

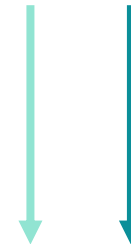
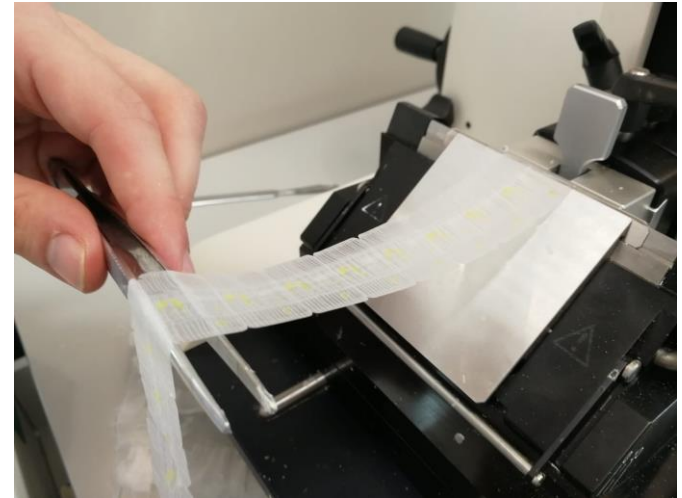
Separación de **pie** y **tentáculo**



Fijación (Paraformaldehído 4 %)  
Inclusión en parafina



Secciones de 7  $\mu\text{m}$



Tinción diferencial

- PAS-hematoxilina
- Tricrómica de Masson-Goldner

1. Introducción

2. Objetivos

3. Materiales y métodos

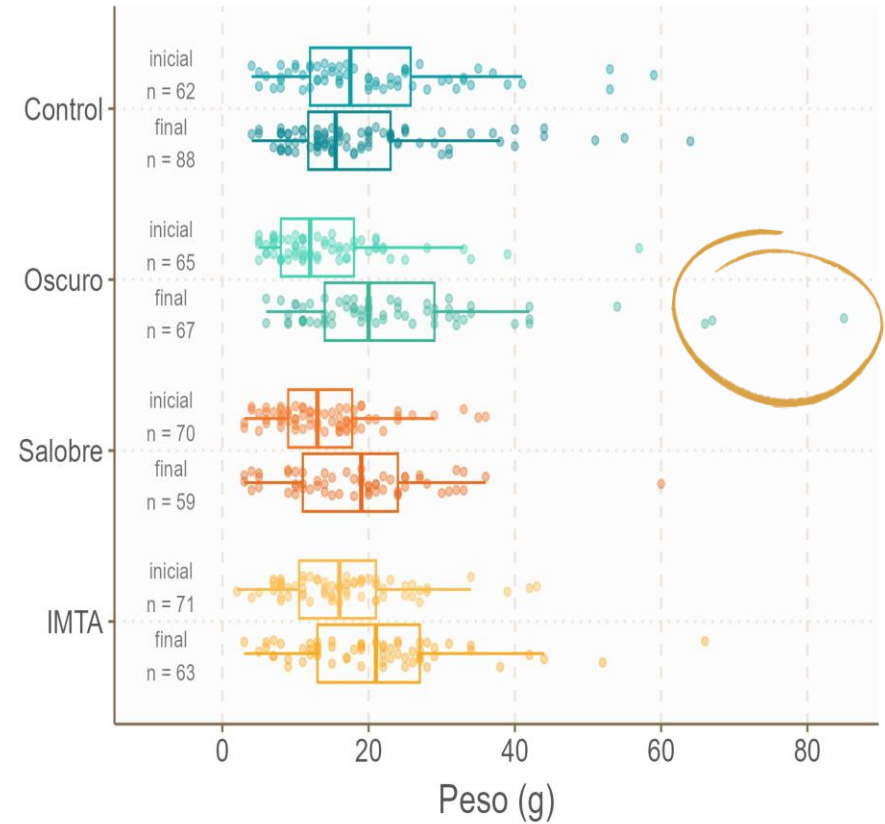
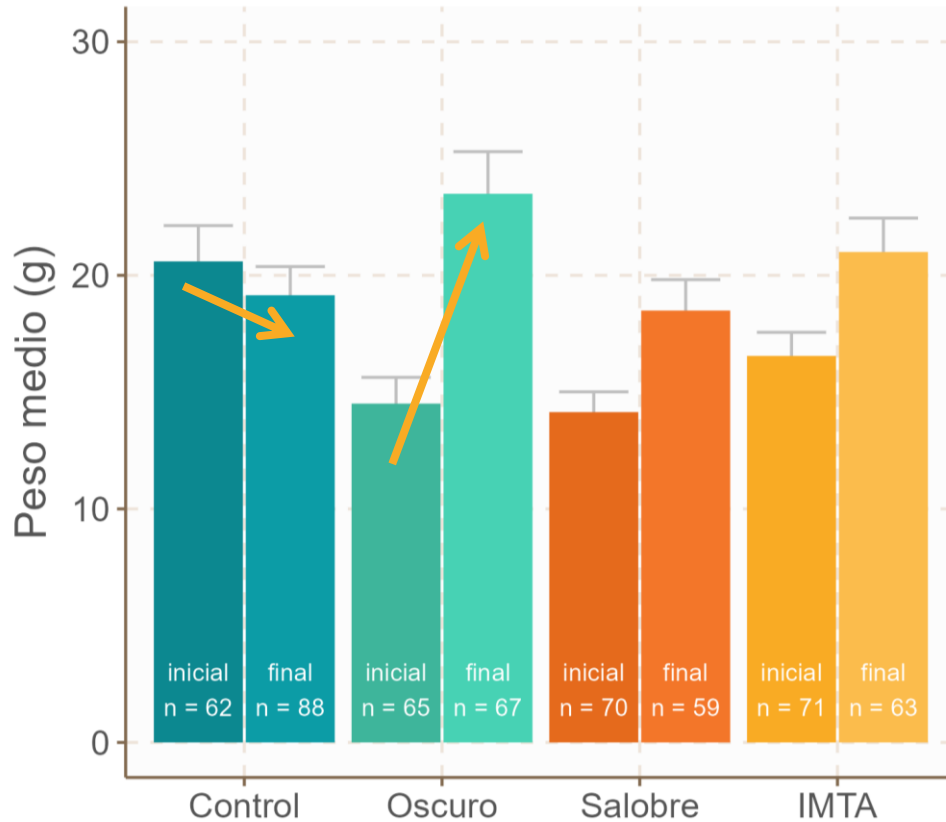
**4. Resultados**

5. Discusión

6. Conclusiones

# 4. Resultados

## Crecimiento y reproducción



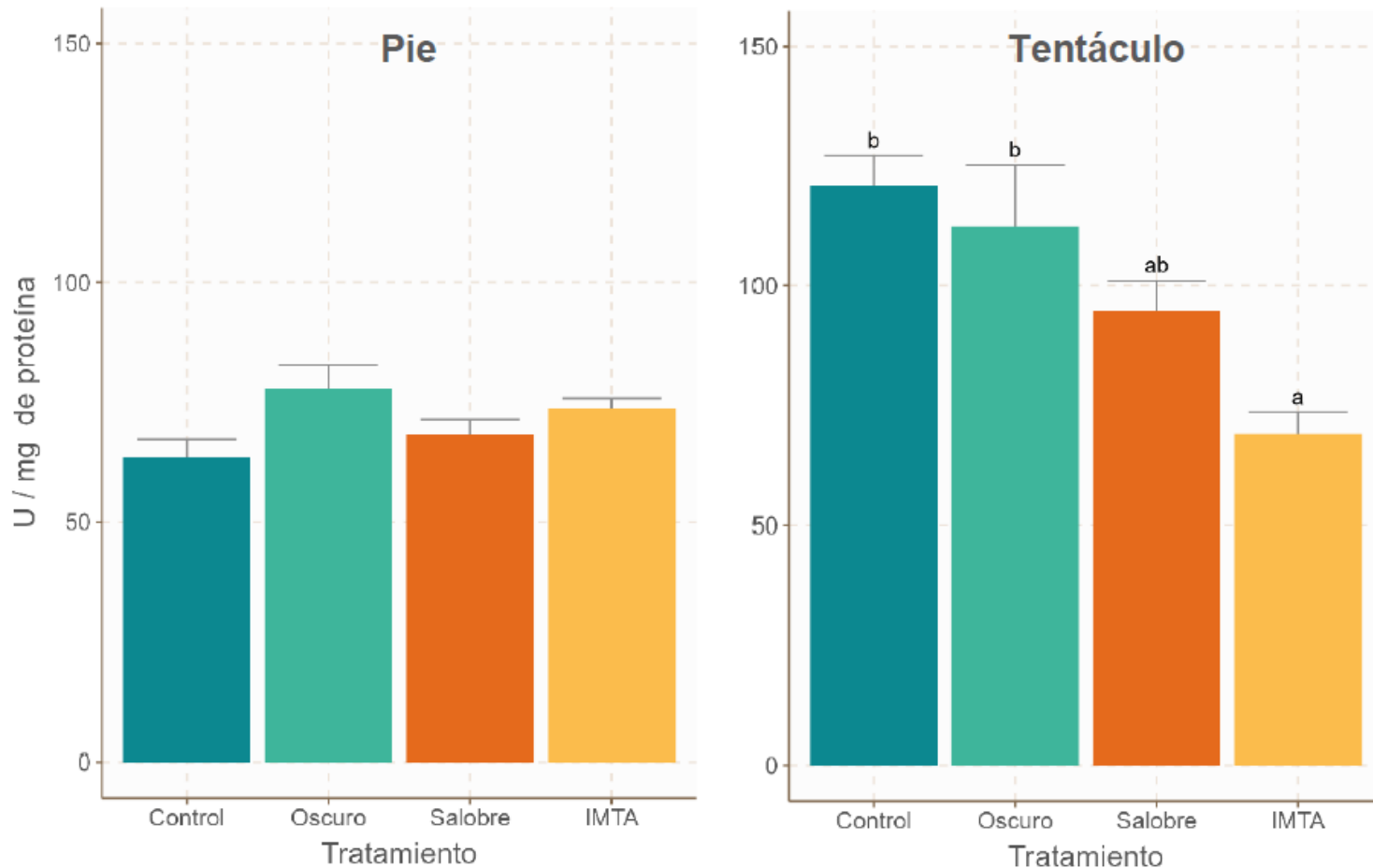
Reproducción asexual en Control

Maduración sexual en Oscuro

# 4. Resultados

## Estado oxidativo

### Actividad SOD

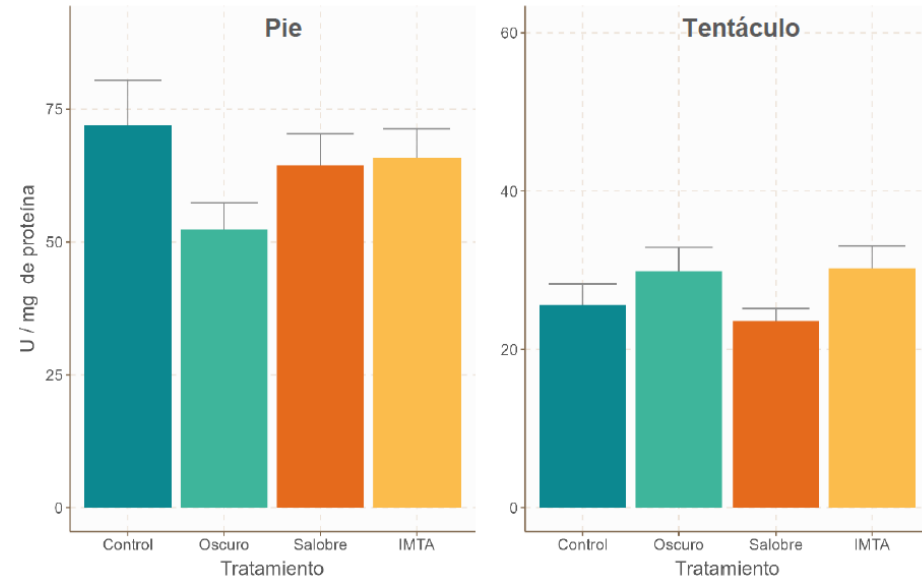


a,b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental

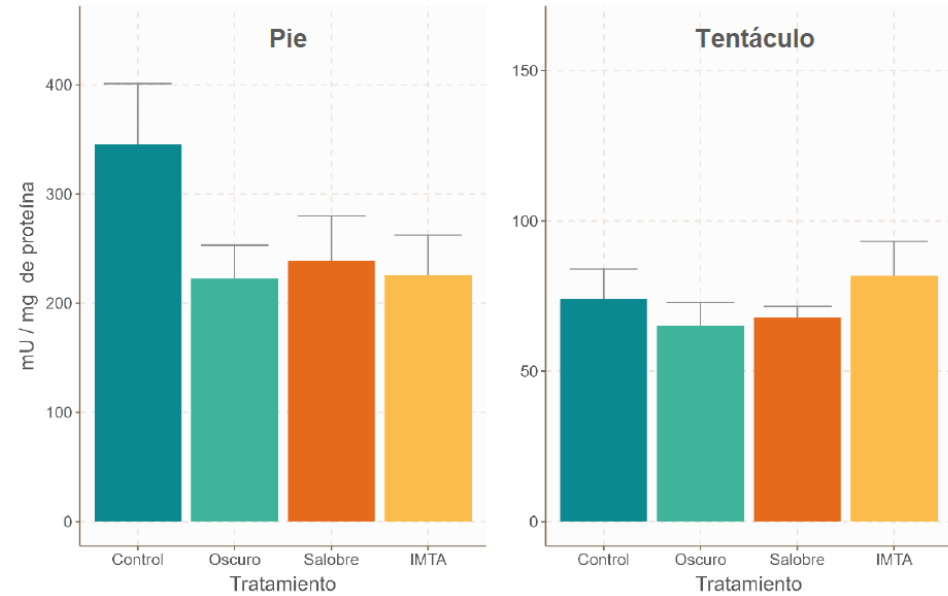
# 4. Resultados

## Estado oxidativo

Actividad CAT



Actividad GST



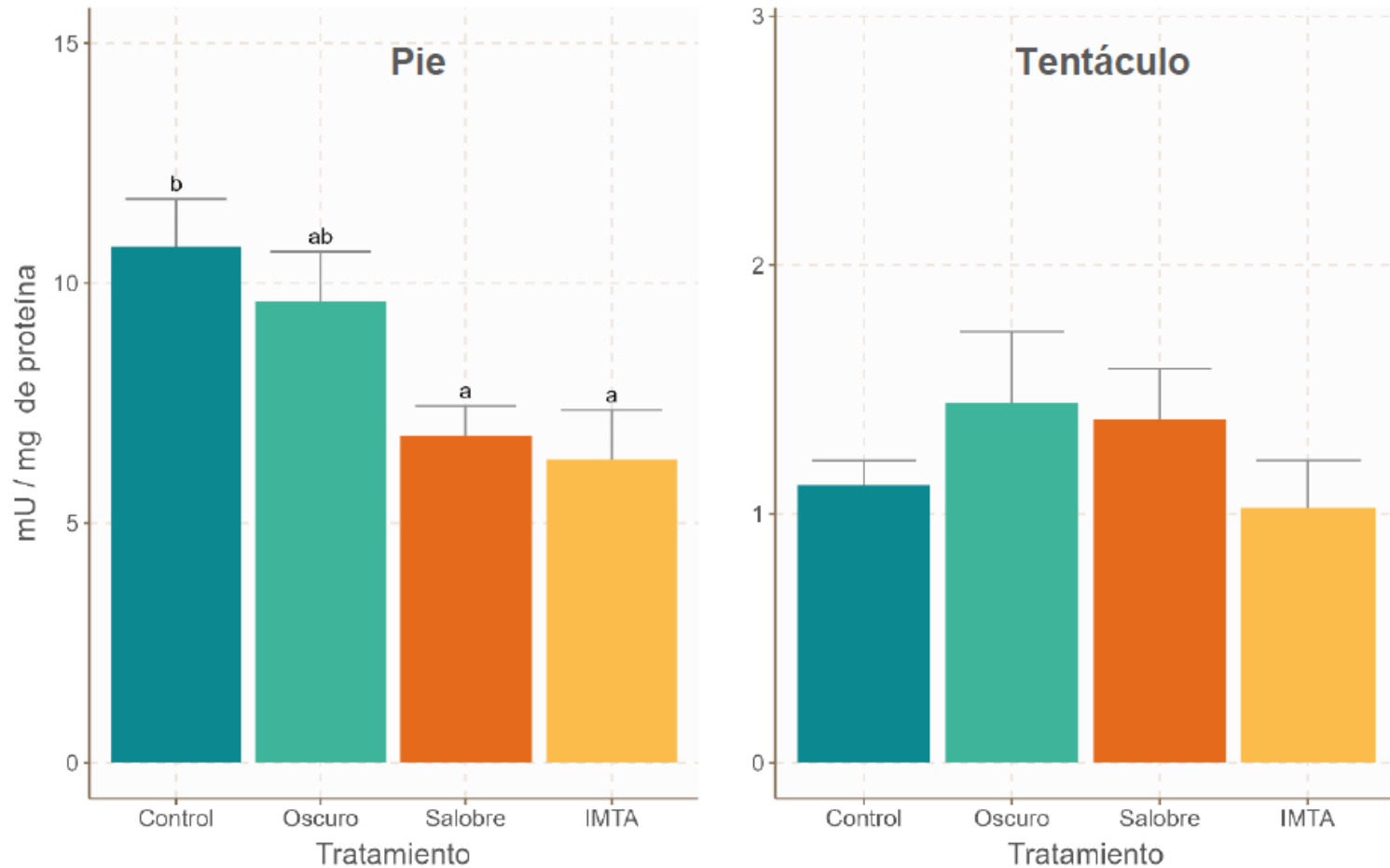
No hay diferencias significativas asociadas al grupo experimental



# 4. Resultados

## Estado oxidativo

### Actividad DTD

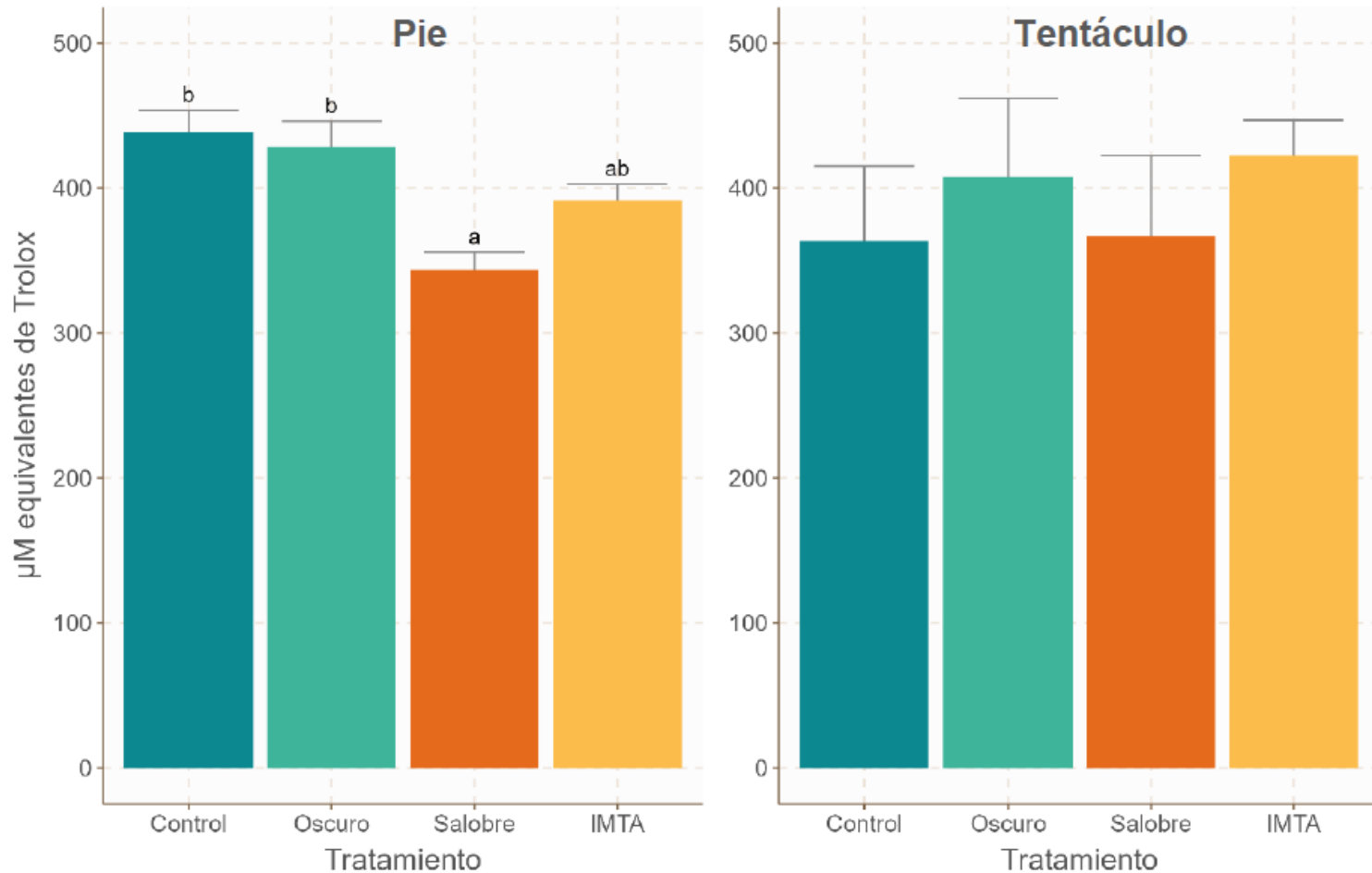


a,b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental

# 4. Resultados

## Estado oxidativo

### Capacidad antioxidante total (TEAC)

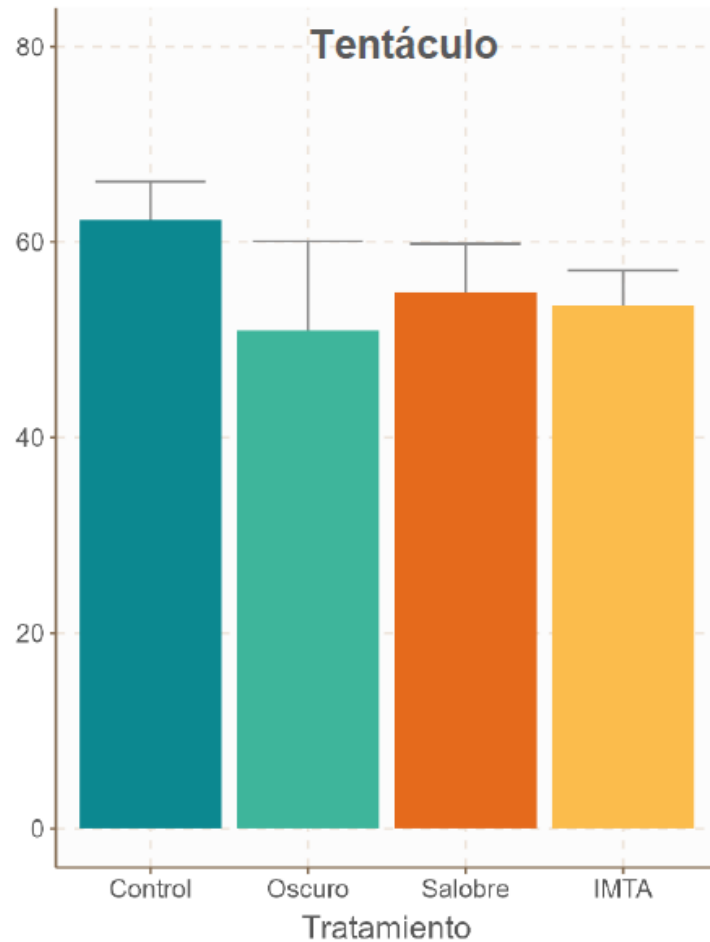
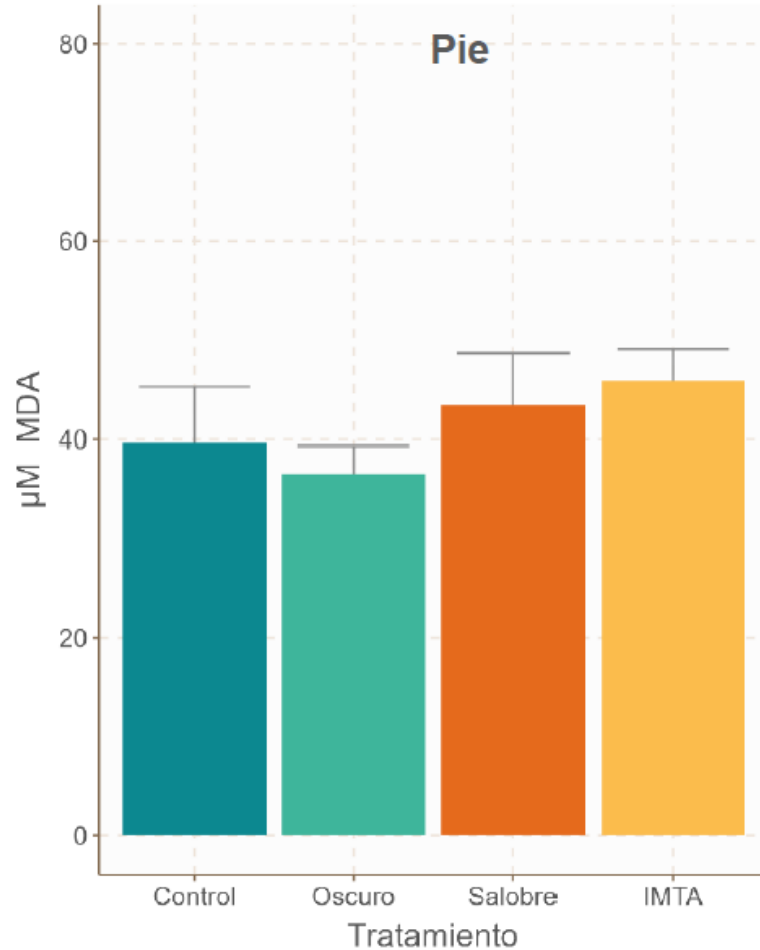


a,b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental

# 4. Resultados

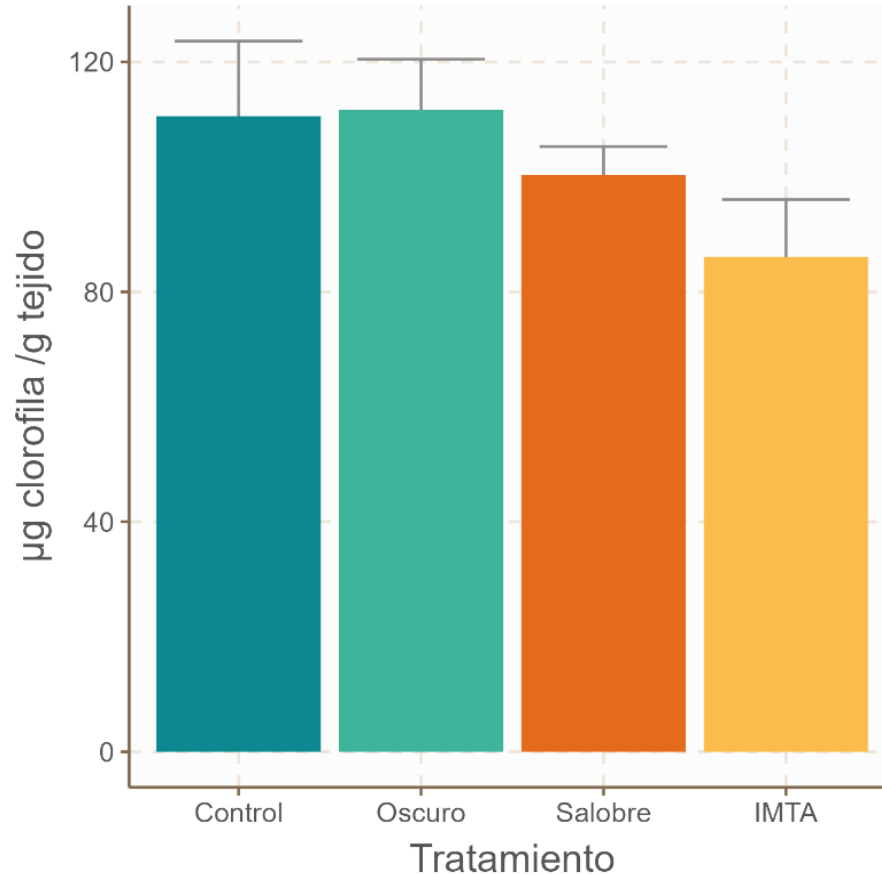
## Estado oxidativo

### Peroxidación lipídica (MDA)



## 4. Resultados

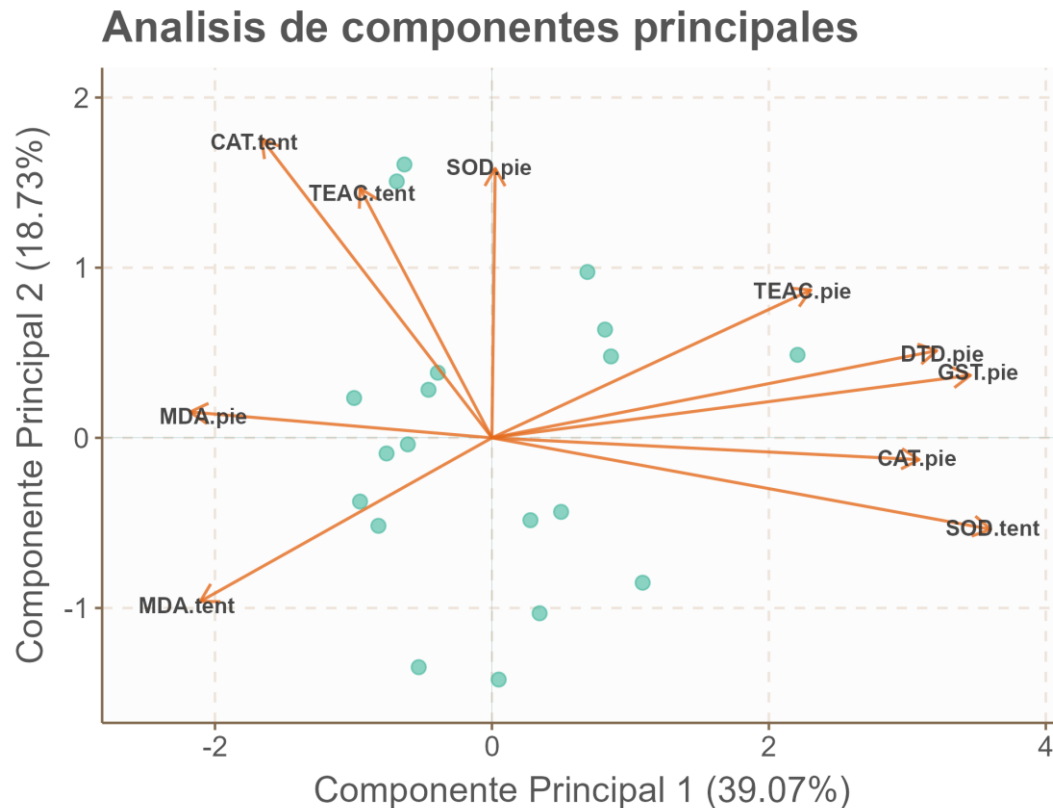
### Clorofila total



No hay diferencias significativas asociadas al grupo experimental

# 4. Resultados

## Análisis de Componentes Principales (PCA)



	PC1	PC2	PC3	PC4
Valor propio	3,907	1,873	1,608	0,873
% varianza explicada	39,1%	18,7%	16,1%	8,7%
% cumulativo	39,1%	57,8%	73,9%	82,6%
SOD.pie	0,003	0,497	0,497	0,072
SOD.tent	<b>0,454*</b>	-0,169	-0,061	-0,116
CAT.pie	0,389	-0,040	0,281	-0,074
CAT.tent	-0,210	<b>0,551*</b>	0,248	-0,233
GST.pie	0,436	0,115	0,004	0,011
DTD.pie	0,405	0,161	-0,166	0,131
MDA.pie	-0,265	-0,302	0,401	-0,369
MDA.tent	-0,275	0,048	<b>-0,511*</b>	-0,426
TEAC.pie	0,290	0,273	-0,152	<b>-0,696*</b>
TEAC.tent	-0,120	0,460	-0,369	0,319

\*: Variable más contribuyente a cada componente principal.

**Variables más influyentes:**

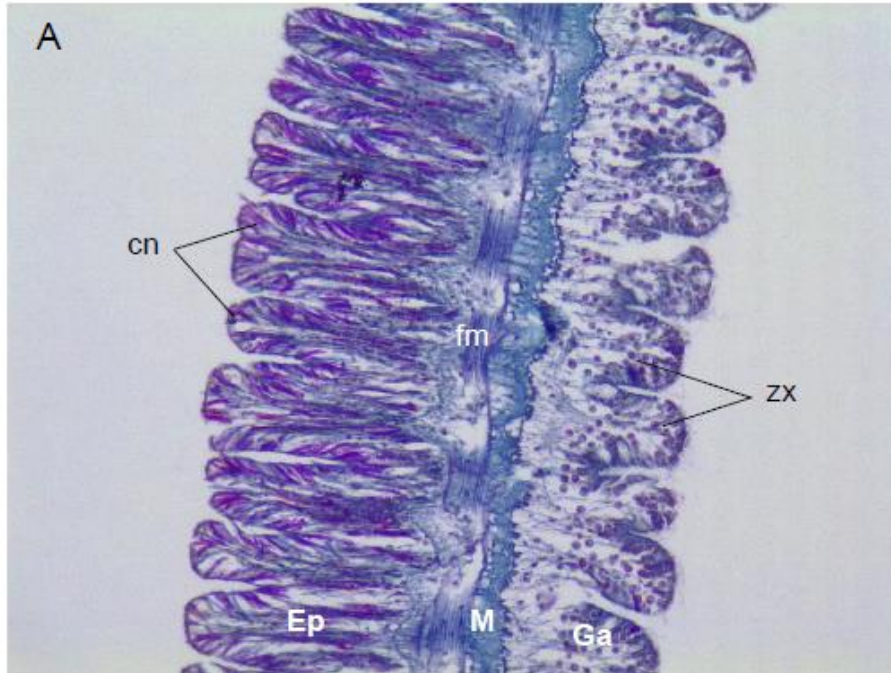
- SOD tentacular
- CAT tentacular
- MDA tentacular
- TEAC pedio



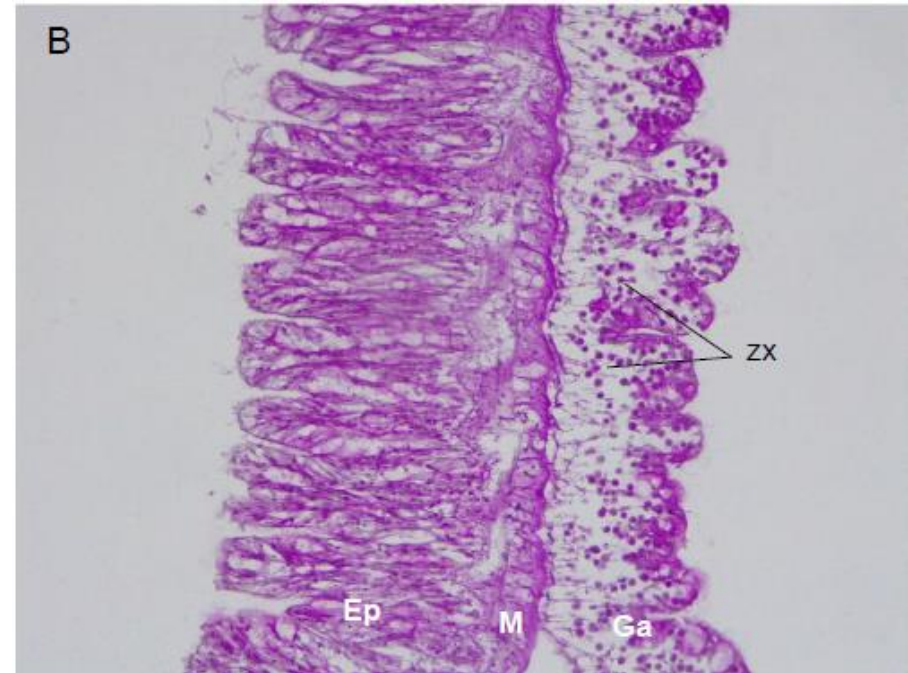
# 4. Resultados

## Evaluación histológica

### Tentáculo



Tricrómica



PAS

Ep: epidermis, M: mesoglea, Ga: gastrodermis, cn: cnidocitos, zx: zooxantelas, fm: fibras musculares

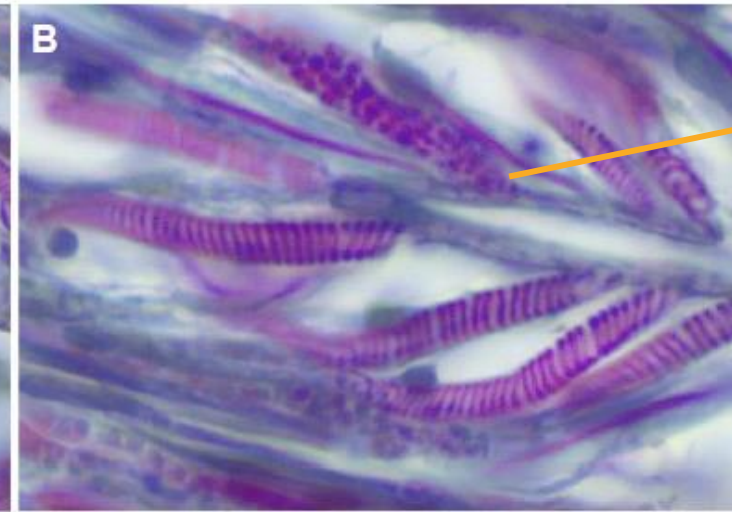
# 4. Resultados

## Evaluación histológica

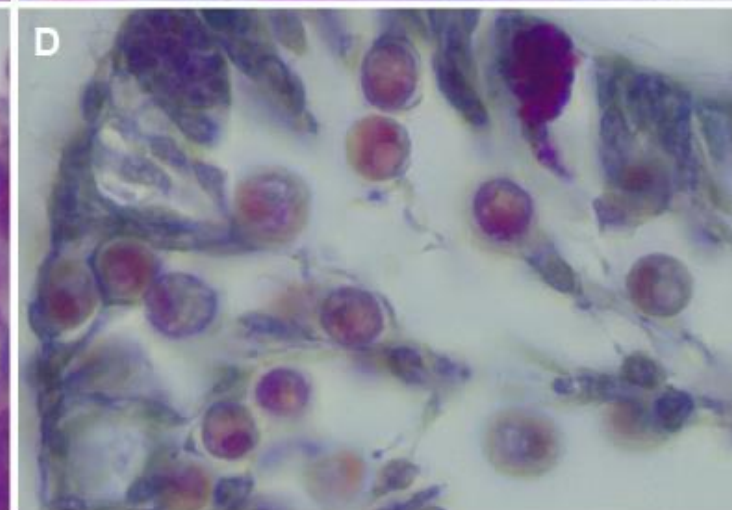
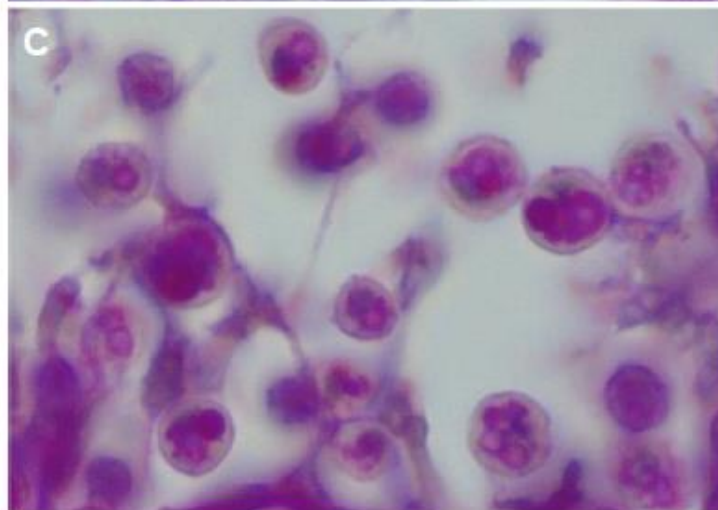
Tentáculo (100 x)



Nematocistos



Espirocistos



# 4. Resultados

## Evaluación histológica

Pie

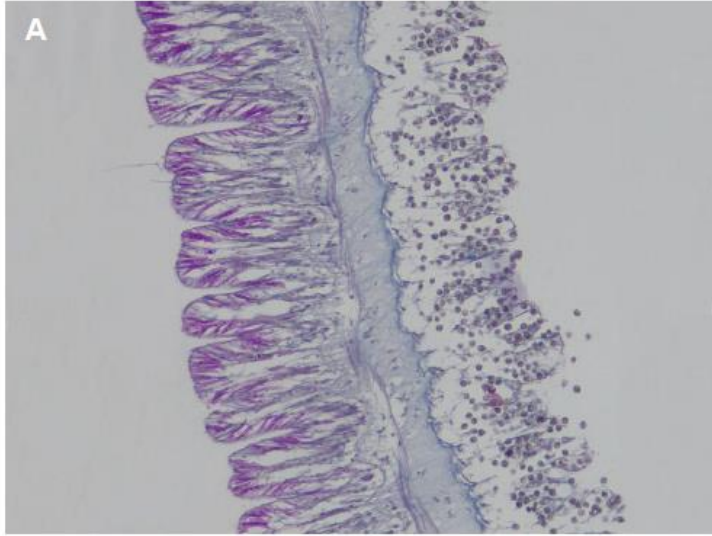


Me: mesenterios

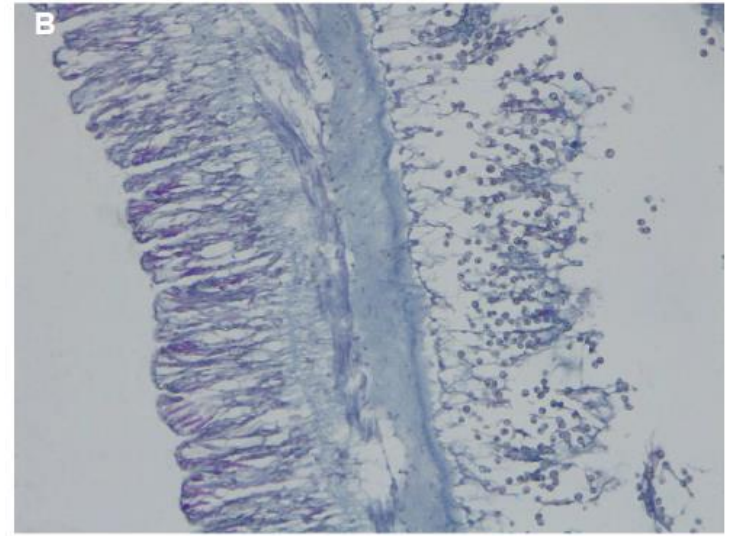


# 4. Resultados

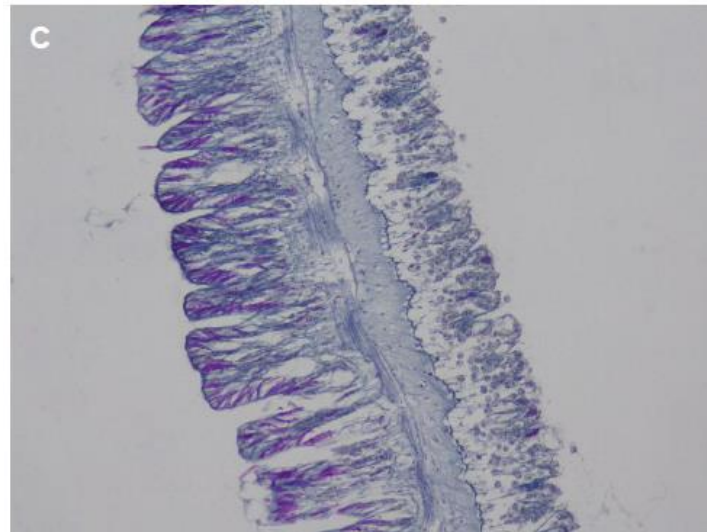
## Comparación entre tratamientos



Oscuridad



Salobre



IMTA

**1. Introducción**

**2. Objetivos**

**3. Materiales y métodos**

**4. Resultados**

**5. Discusión**

**6. Conclusiones**



# 5. Discusión

## Mejor estado de bienestar

### Control

- Reproducción asexual (**Control**)
- Mayor crecimiento (**Oscuridad**)
- Indicios de maduración sexual (**Oscuridad**)
- Estado oxidativo favorable

### Oscuridad

## Peor estado de bienestar

### IMTA

- Crecimiento moderado
- No hay evidencias de reproducción
- Peor estado oxidativo
- Deterioro histológico (**Salobre**)

### Salobre

¿Relación entre  
intensidad lumínica y  
estrategia de  
reproducción?



**1. Introducción**

**2. Objetivos**

**3. Materiales y métodos**

**4. Resultados**

**5. Discusión**

**6. Conclusiones**

## 6. Conclusiones

- I La **intensidad lumínica** en el cultivo parecer ser un factor clave en el crecimiento y **estrategia reproductora** de *Anemonia sulcata*, sin que esto implique una pérdida de bienestar
- II El descenso de la **salinidad** persistente afecta negativamente a la capacidad antioxidante de *Anemonia sulcata*, así como a su **citoarquitectura**, posiblemente asociado a un **desequilibrio osmótico**.
- III El sistema de acuicultura multitrófica integrada (**IMTA**) no resultó en una mejora notable de las condiciones de cultivo de *Anemonia sulcata*, posiblemente por la necesidad de un periodo de tiempo mayor para el establecimiento del **equilibrio ecológico**
- IV El **tentáculo** de *Anemonia sulcata* mostró una mayor sensibilidad a las variaciones del estado oxidativo y a alteraciones tisulares, lo que lo propone como un **marcador de bienestar de interés**.



UNIVERSIDAD  
DE GRANADA



M Á S T E R E N  
Avances en **Biología**  
AGRARIA Y ACUICULTURA

# **Análisis de marcadores de bienestar en ortiguilla de mar (*Anemonia sulcata*) ante variaciones de su entorno de cultivo**

Alberto Coll Fernández

Trabajo de Fin de Máster

Curso 2022-2023