



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 y discusión

5. Conclusiones

1. Introducción

2. Objetivos

3. Materiales y métodos

4. Resultados y discusión

5. Conclusiones

1. Introducción

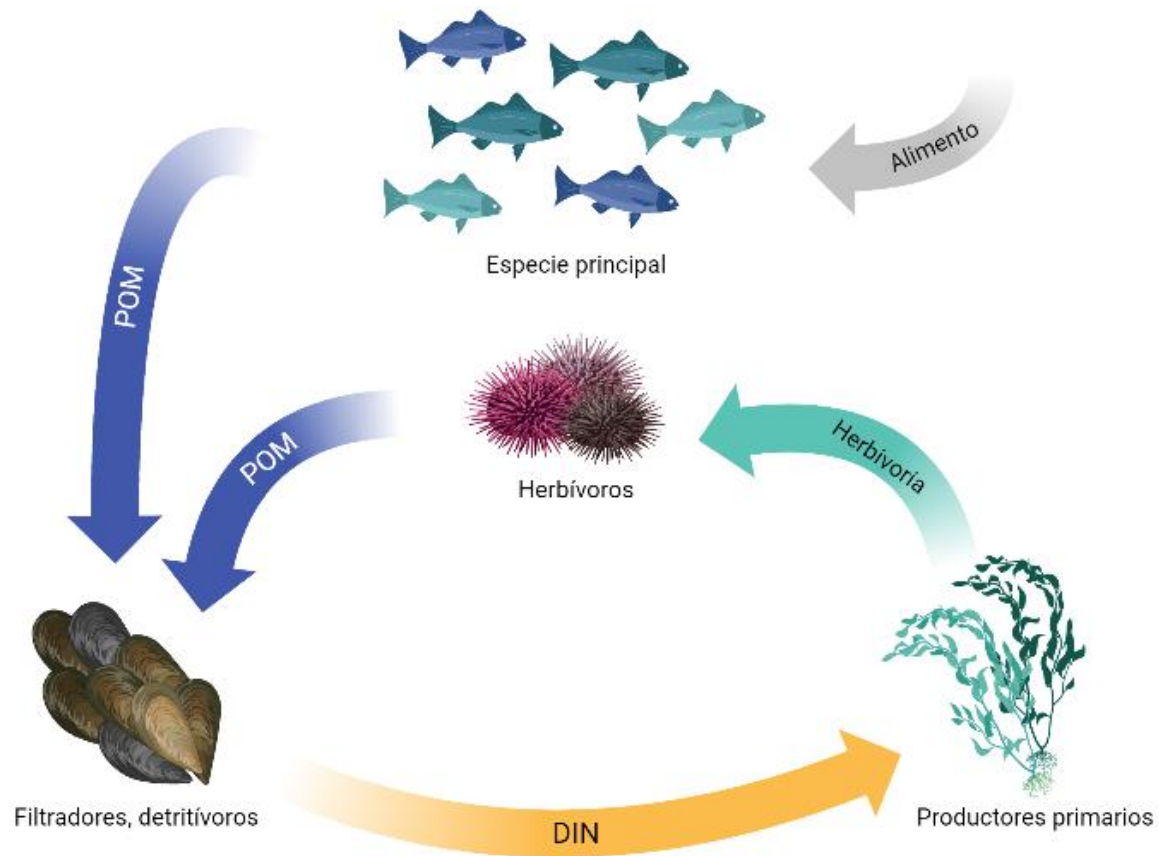
Desarrollo sostenible en acuicultura



“Expansión e intensificación de la acuicultura sostenible, que satisfaga la demanda global de alimentos acuáticos y distribuya los beneficios equitativamente”

FAO, 2022

Acuicultura Multi-Trófica Integrada (IMTA)



1. Introducción

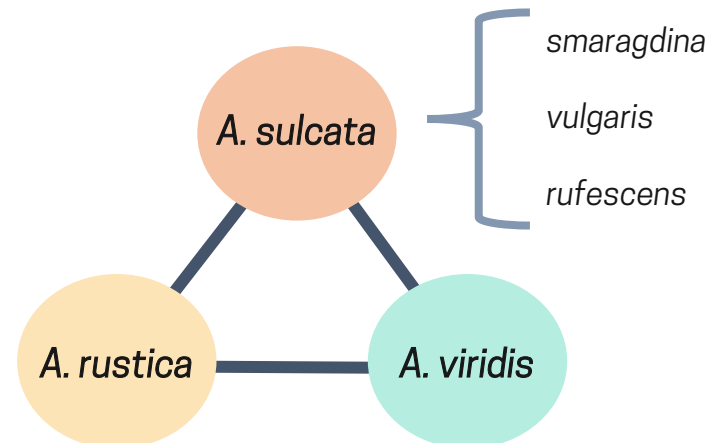


Anemonia sulcata

(Cnidaria: Anthozoa)

¿Por qué *Anemonia sulcata*?

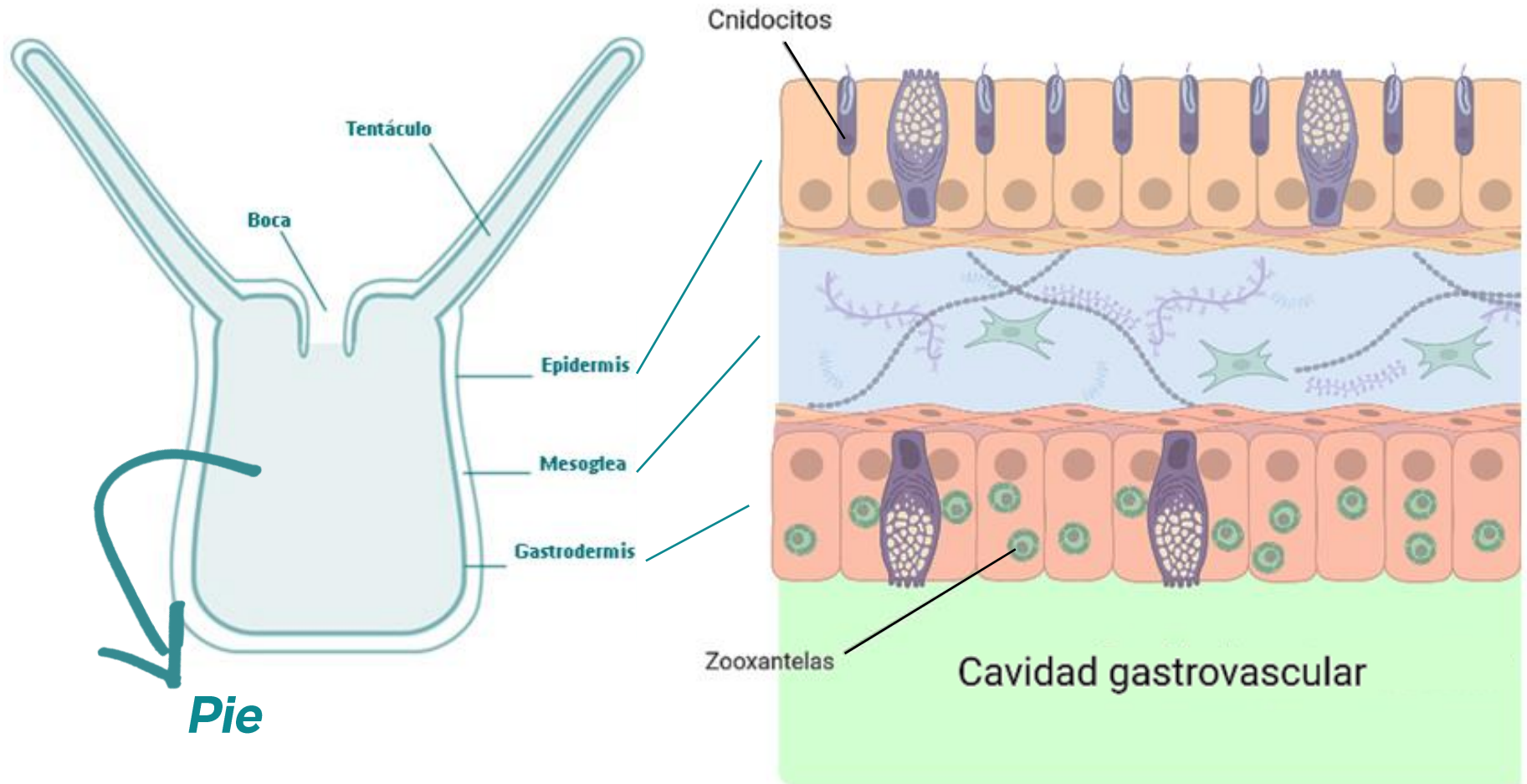
- Interés gastronómico
- Interés biotecnológico
- Interés científico
- Interés de conservación
- Potencial en IMTA



1. Introducción

Anemonia sulcata

Anatomía y estructura de la pared corporal

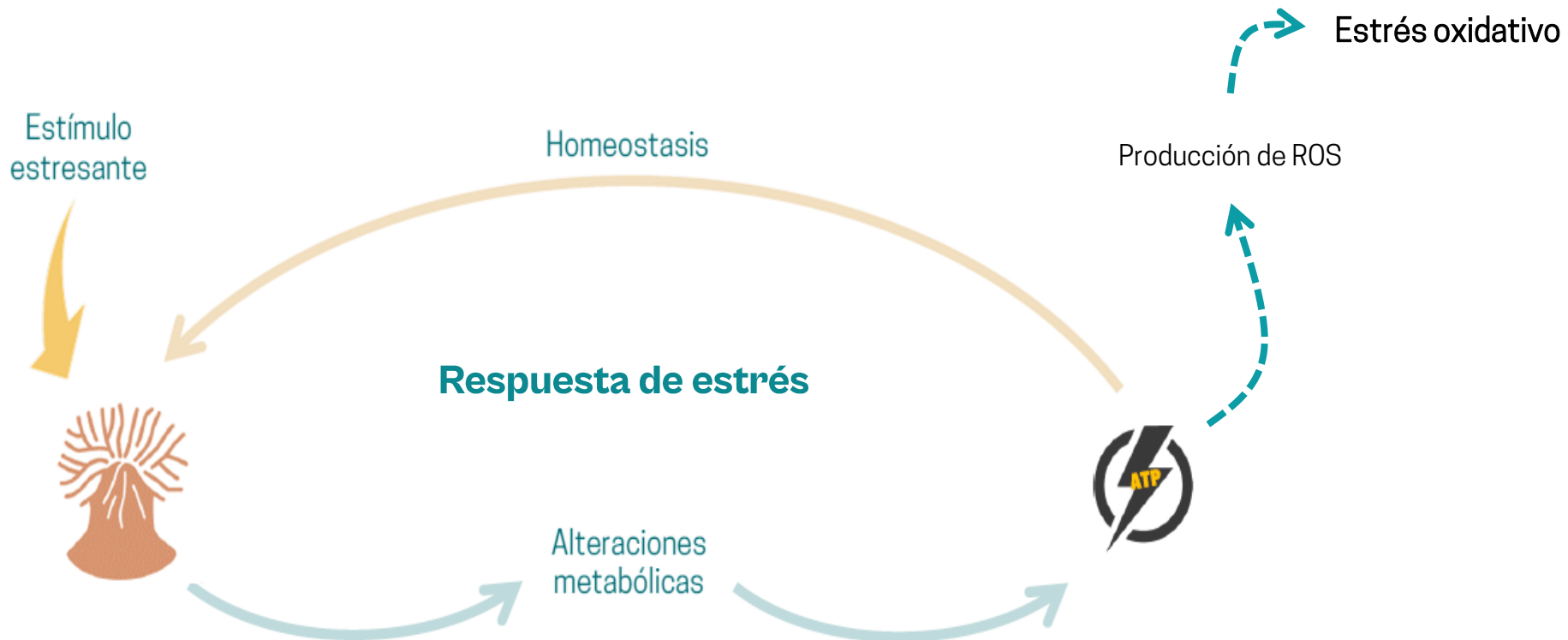


1. Introducción

Bienestar animal y estrés oxidativo

APROMAR (2022): “Estado de un animal en relación a su capacidad para adaptarse a su entorno”

Aproximación funcional



1. Introducción

2. Objetivos

3. Materiales y métodos

4. Resultados y discusión

5. 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

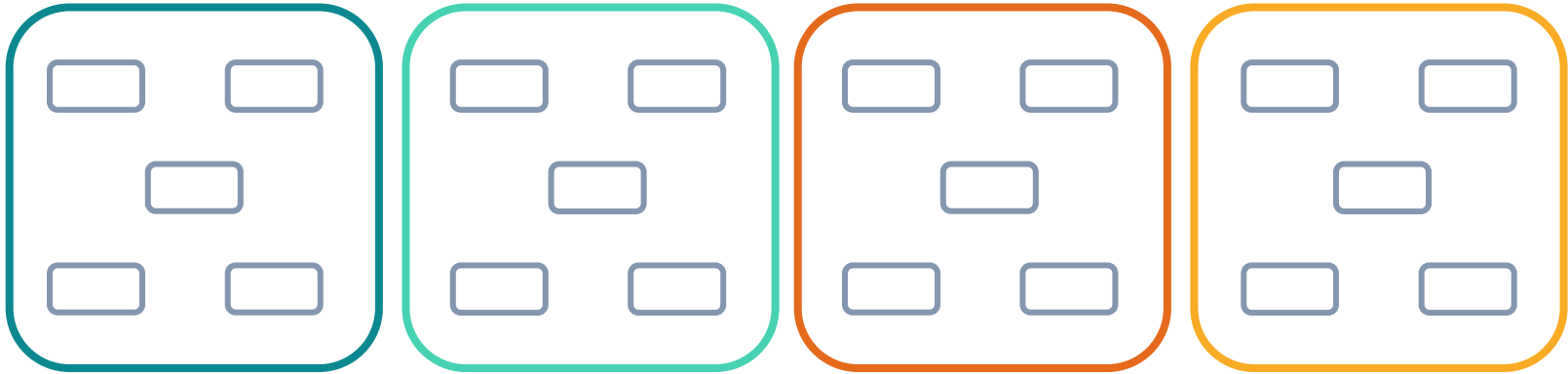
4. Resultados y discusión

5. 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?

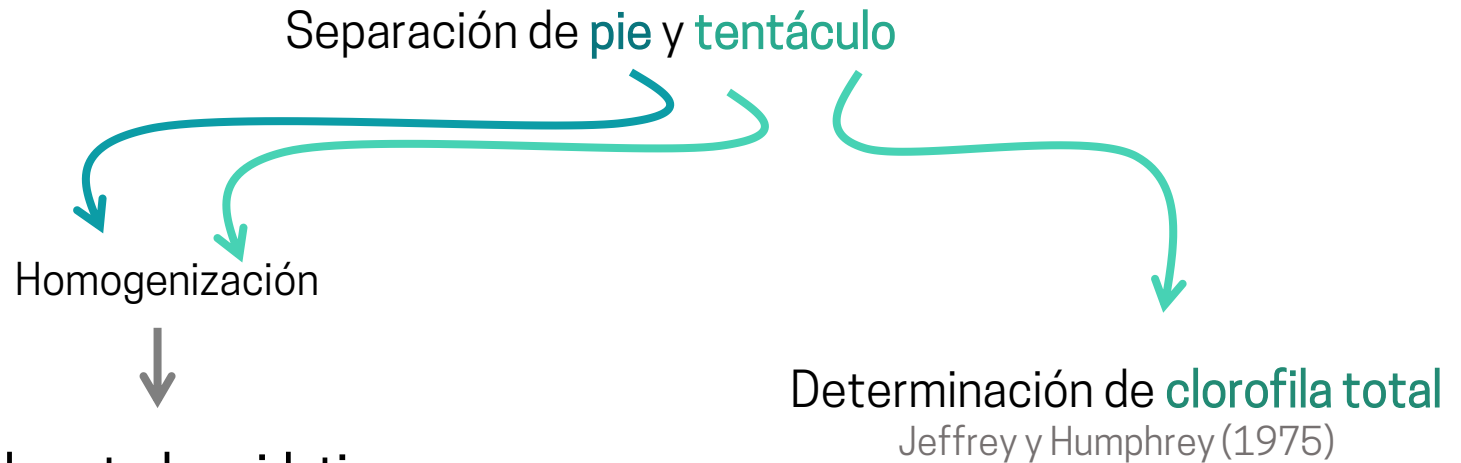
- Conteo y datos de peso
- Estado oxidativo
- Clorofila total
- Evaluación histológica



Andalmar Biotech, S.L

3. Materiales y métodos

Estado oxidativo y clorofila



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)

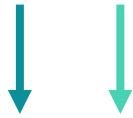
Análisis de Componentes
Principales (PCA)



3. Materiales y métodos

Tratamiento histológico

Separación de **pie** y **tentáculo**



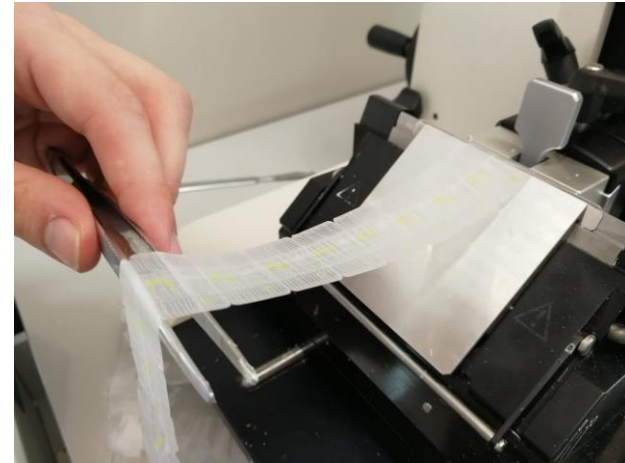
Fijación (Paraformaldehído 4 %)



Confección de bloques



Secciones de 7 μm



Tinción diferencial

- **PAS - hematoxilina**
- **Tricrómica de Masson-Goldner**

1. Introducción

2. Objetivos

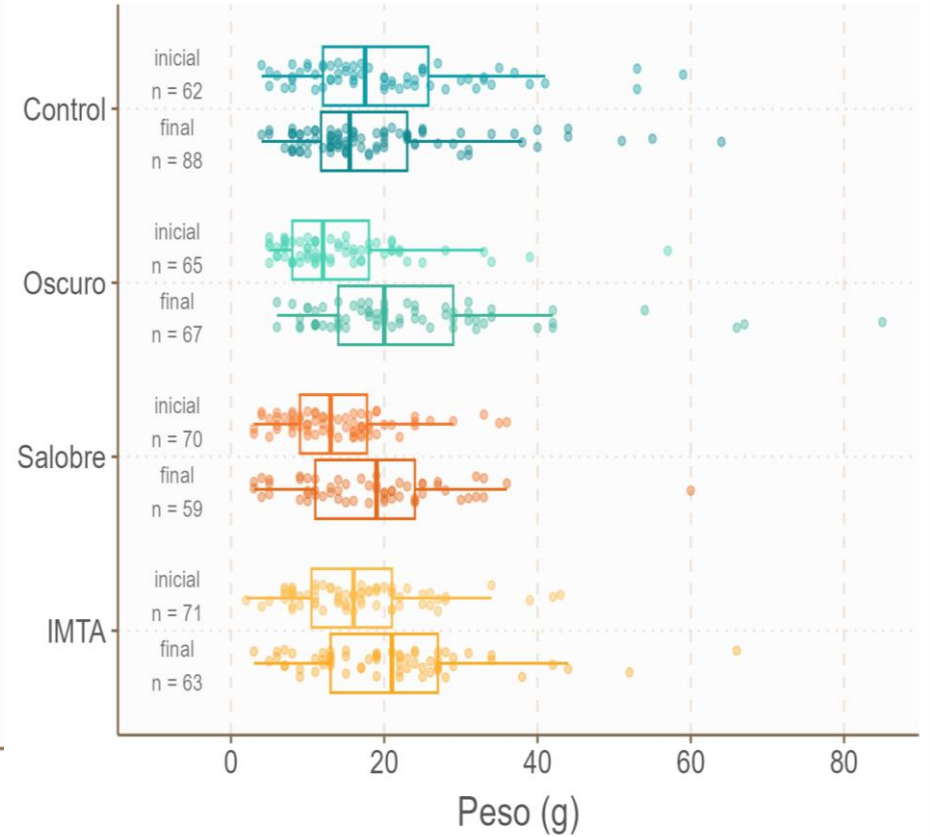
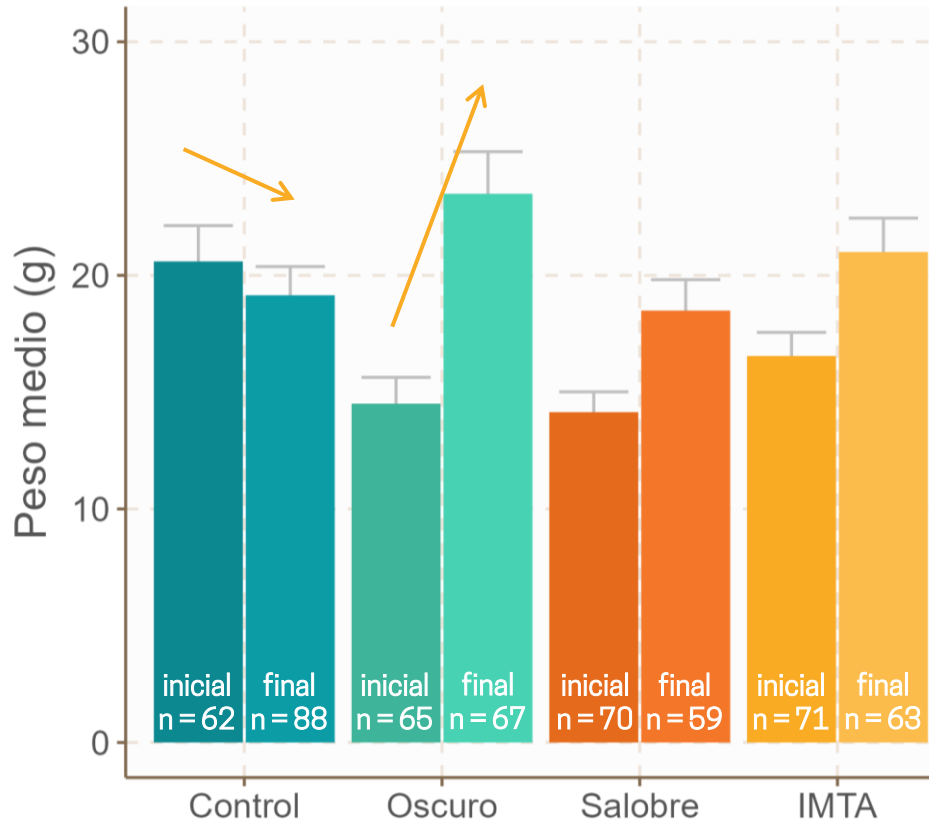
3. Materiales y métodos

4. Resultados y discusión

5. Conclusiones

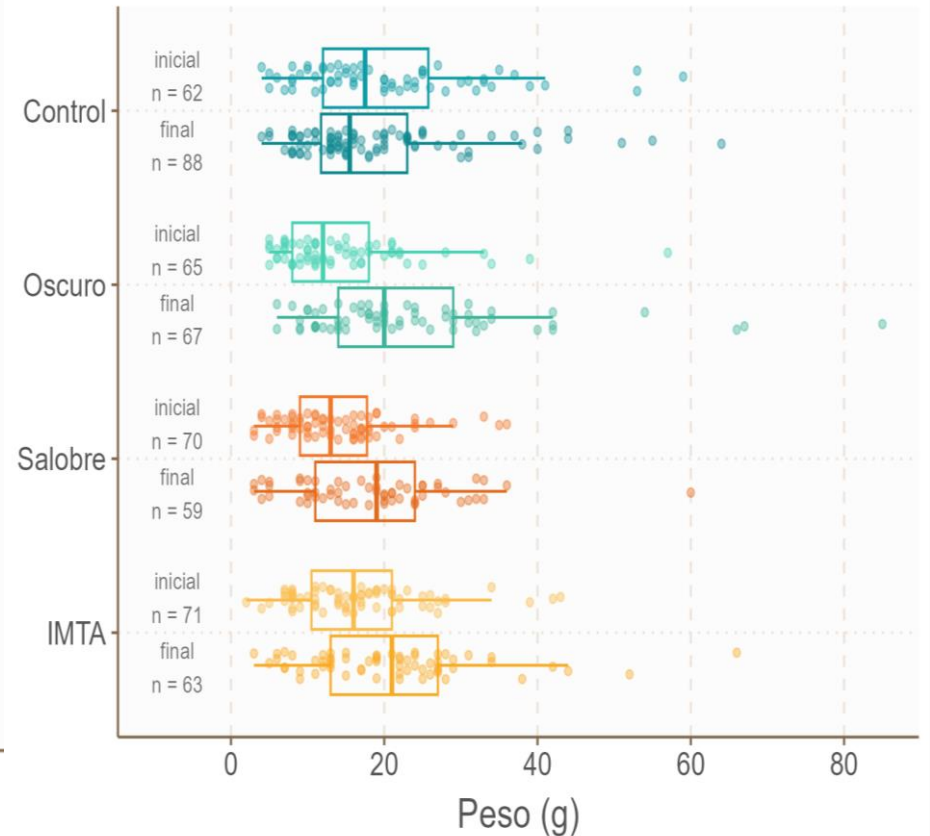
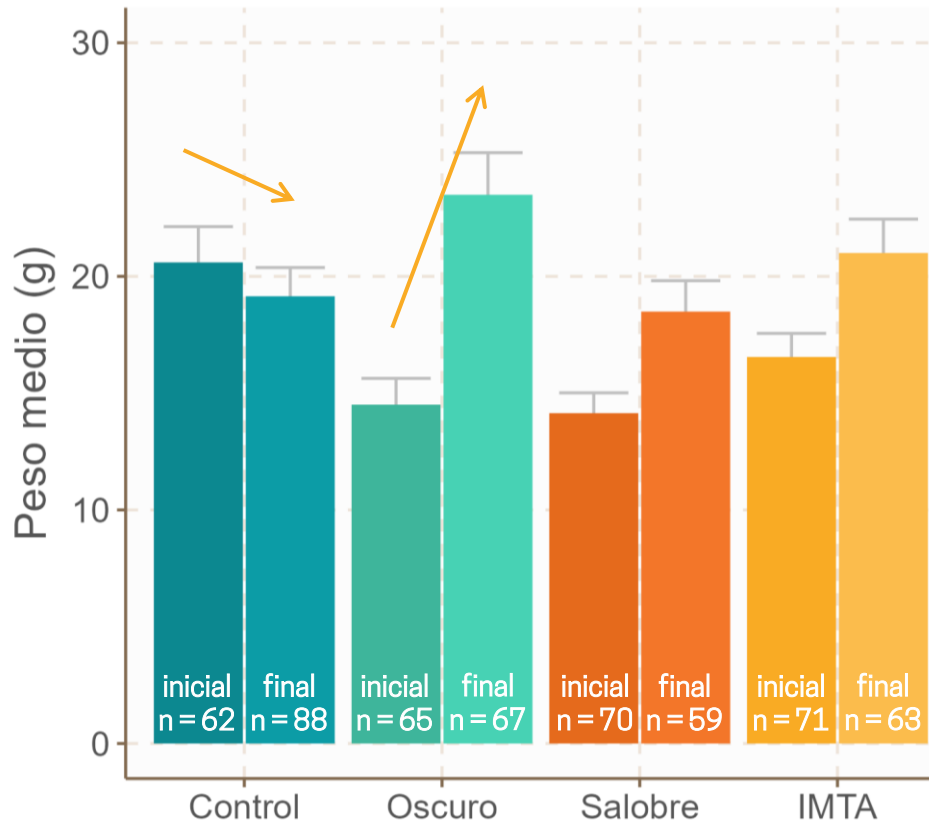
4. Resultados y discusión

Crecimiento y reproducción



4. Resultados y discusión

Crecimiento y reproducción



Control:

↓ Peso medio

↑ Número individuos

→ Reproducción asexual

Oscuro:

↑ Peso medio

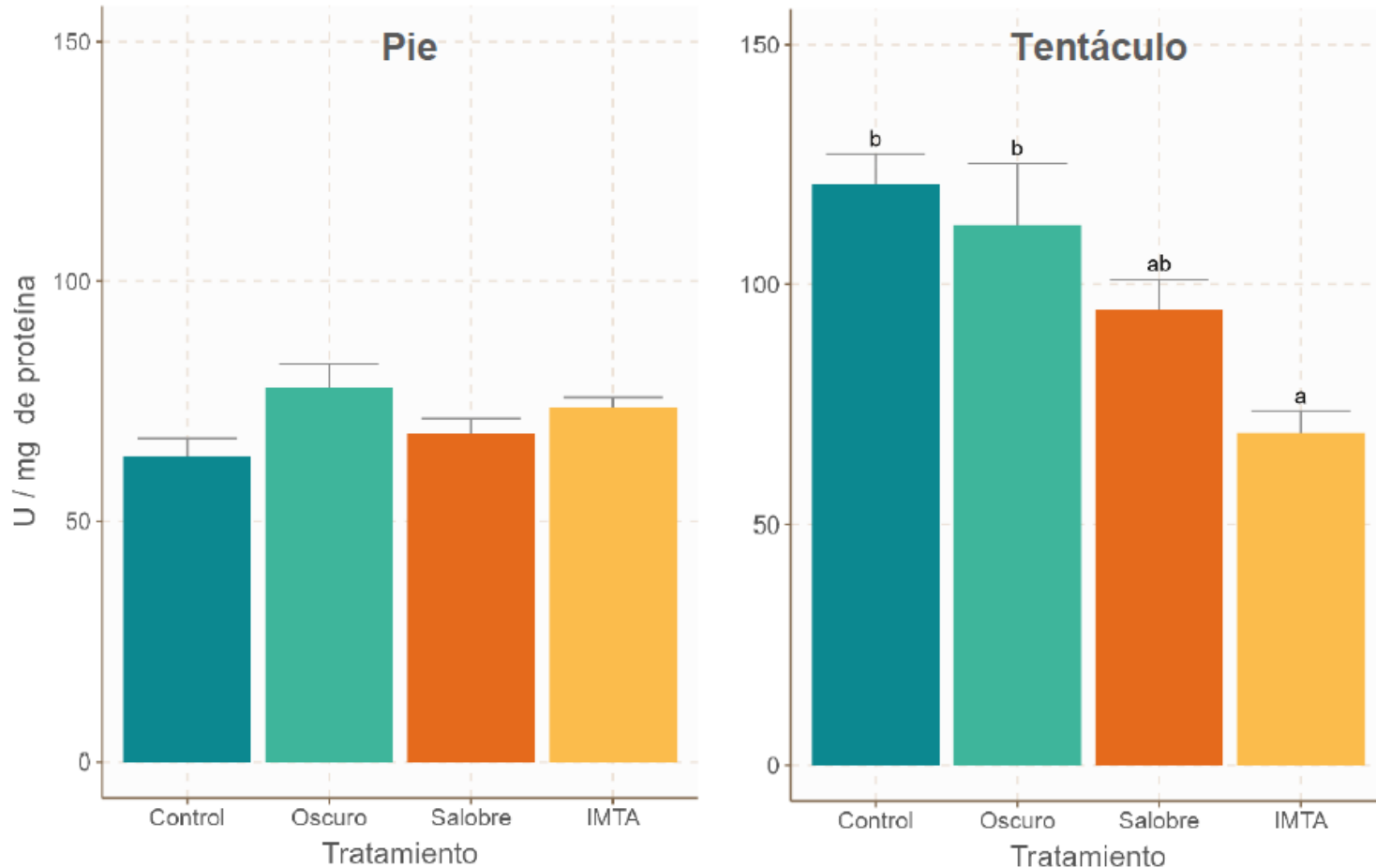
↑ Individuos grandes

→ Reproducción sexual

4. Resultados y discusión

Estado oxidativo

Actividad SOD



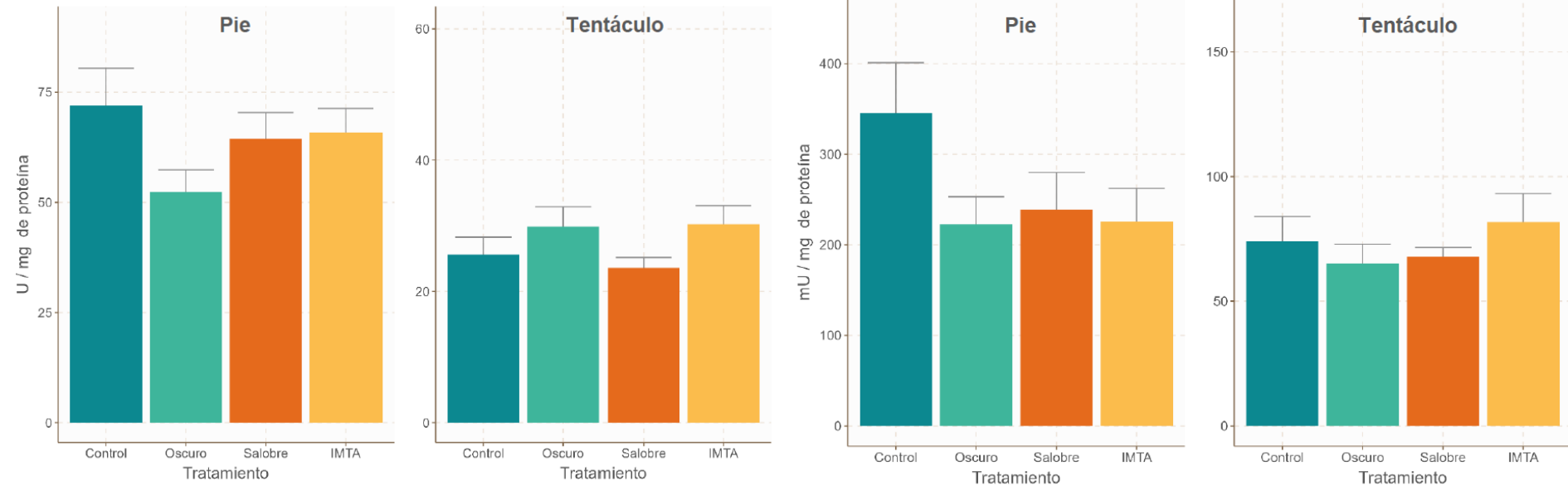
a, b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental ($p < 0.05$)

4. Resultados y discusión

Estado oxidativo

Actividad CAT

Actividad GST

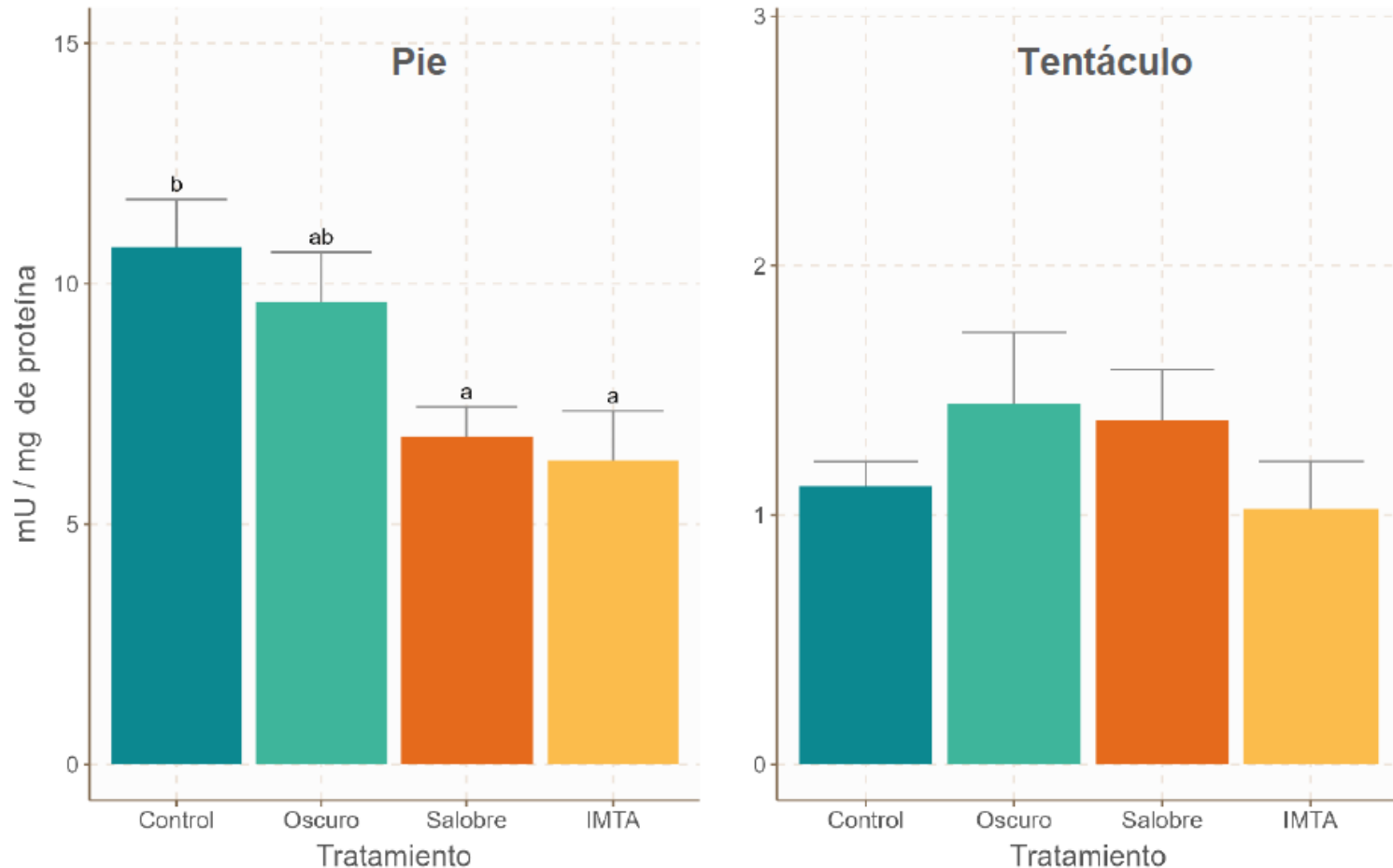


No hay diferencias significativas asociadas al grupo experimental

4. Resultados y discusión

Estado oxidativo

Actividad DTD

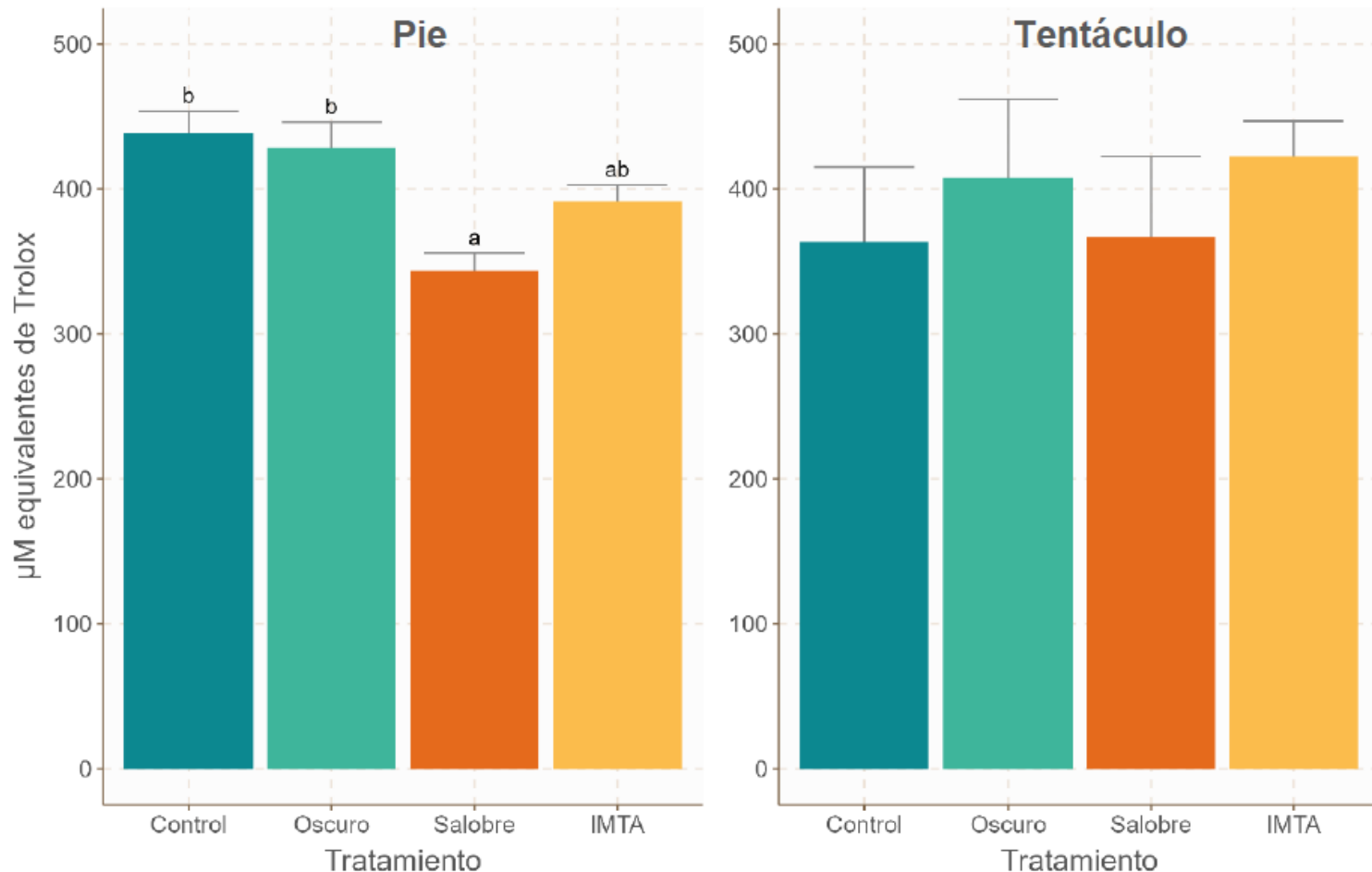


a,b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental ($p < 0.05$)

4. Resultados y discusión

Estado oxidativo

Capacidad antioxidante total (TEAC)

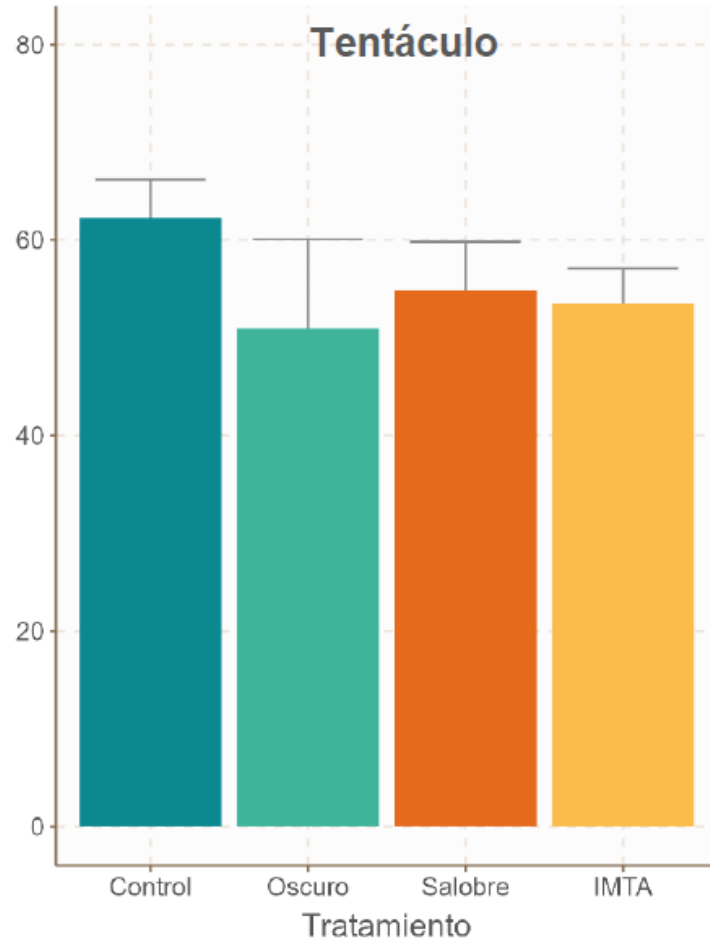
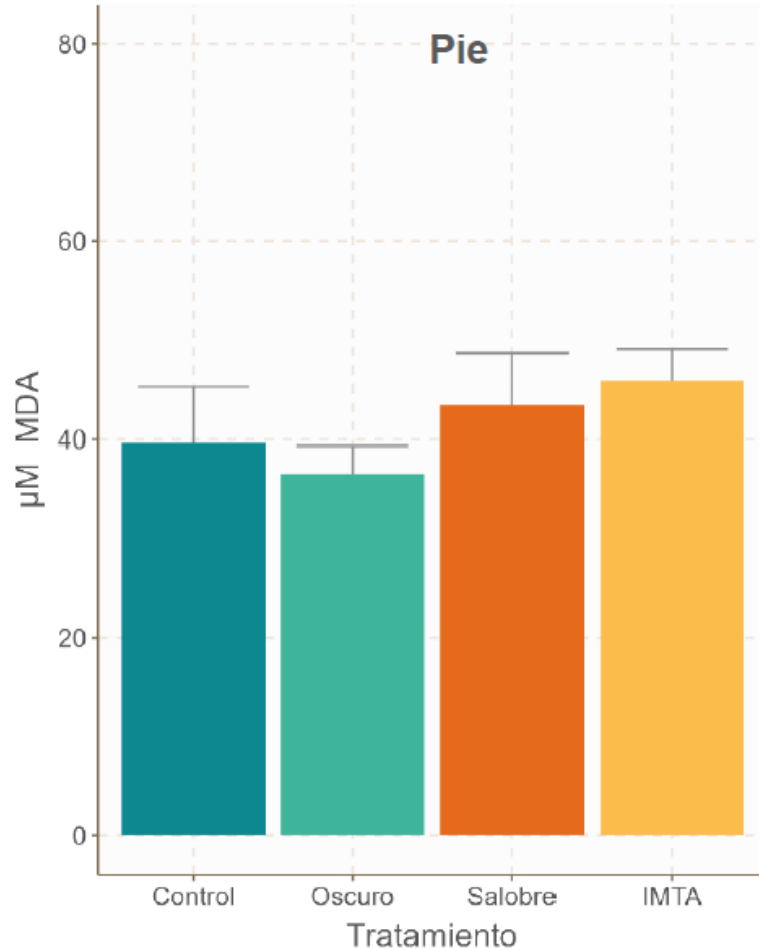


a, b : diferencias entre puntos de muestreo dentro de un mismo grupo experimental ($p < 0.05$)

4. Resultados y discusión

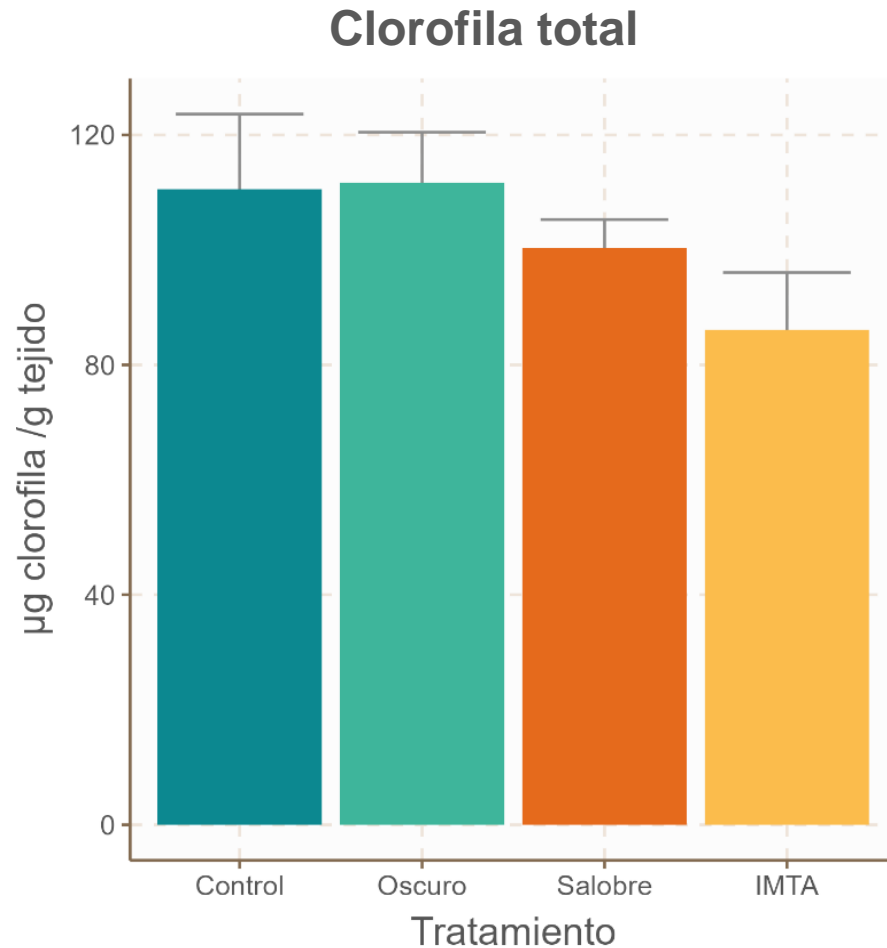
Estado oxidativo

Peroxidación lipídica (MDA)



4. Resultados y discusión

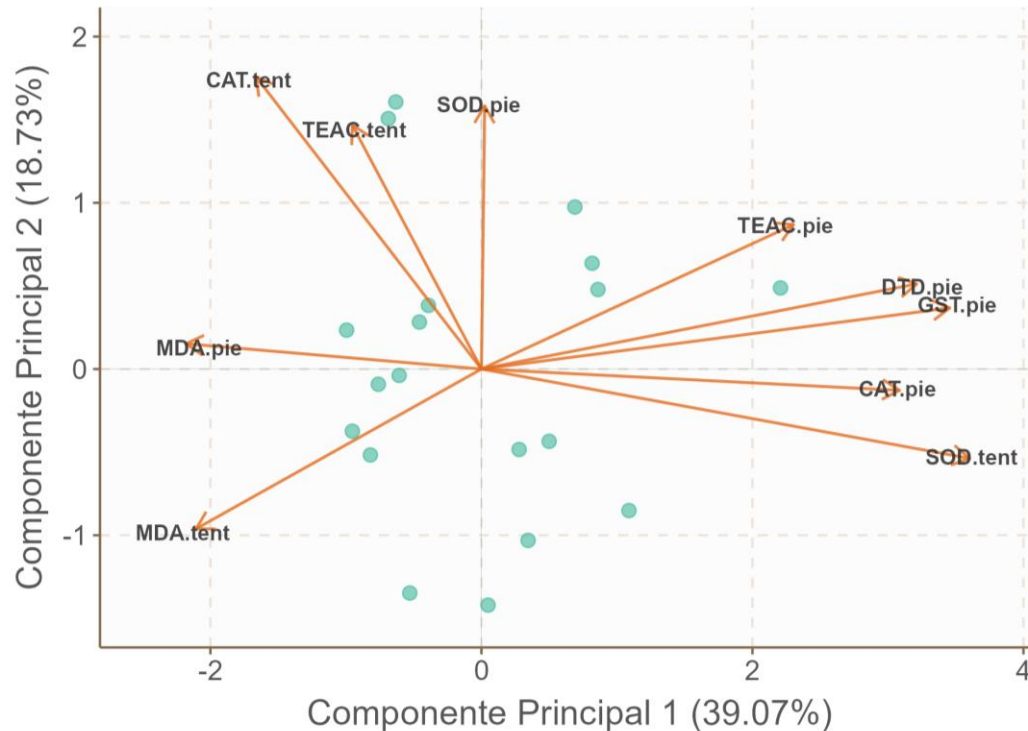
Clorofila total



No hay diferencias significativas asociadas al grupo experimental

4. Resultados y discusión

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	0,454*	-0,169	-0,061	-0,116
CAT.pie	0,389	-0,040	0,281	-0,074
CAT.tent	-0,210	0,551*	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	-0,511*	-0,426
TEAC.pie	0,290	0,273	-0,152	-0,696*
TEAC.tent	-0,120	0,460	-0,369	0,319

*: Variable más contribuyente a cada componente principal.

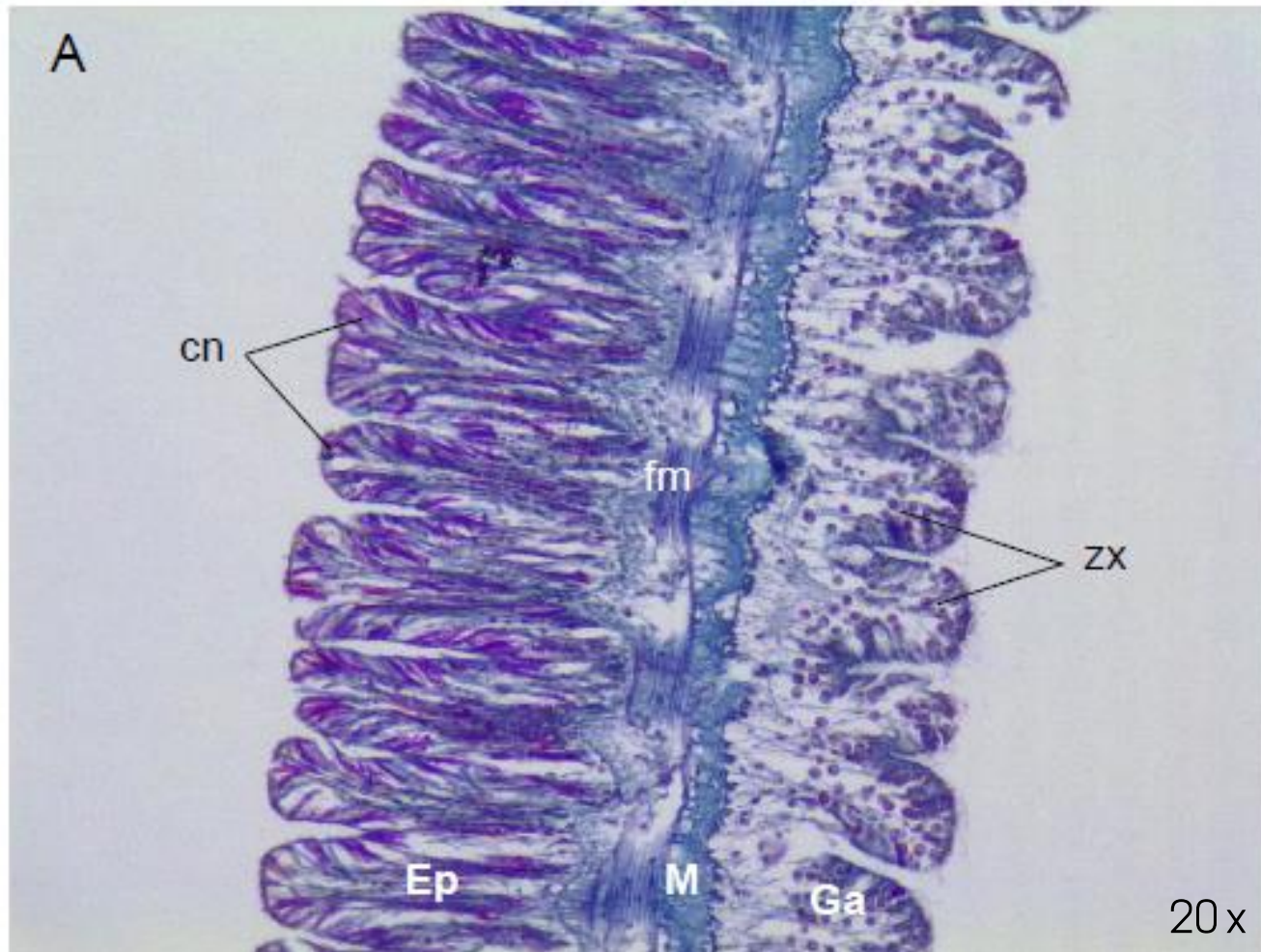
Variables más influyentes:

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

4. Resultados y discusión

Evaluación histológica

Tentáculo (Tricrómica)

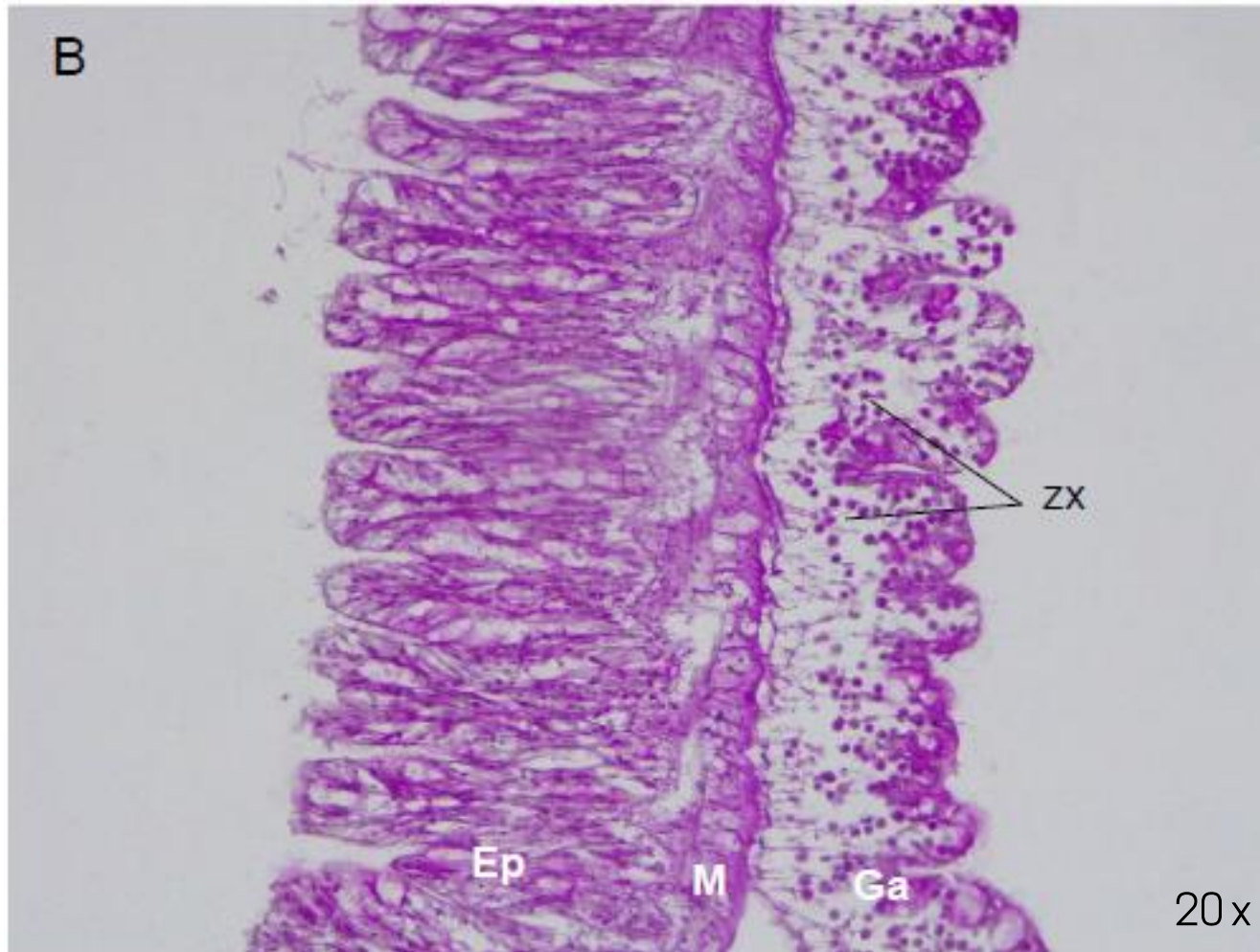


Ep: epidermis, M: mesoglea, Ga: gastrodermis, cn: cnidocitos, zx: zooxantelas, fm: fibras musculares

4. Resultados y discusión

Evaluación histológica

Tentáculo (PAS)



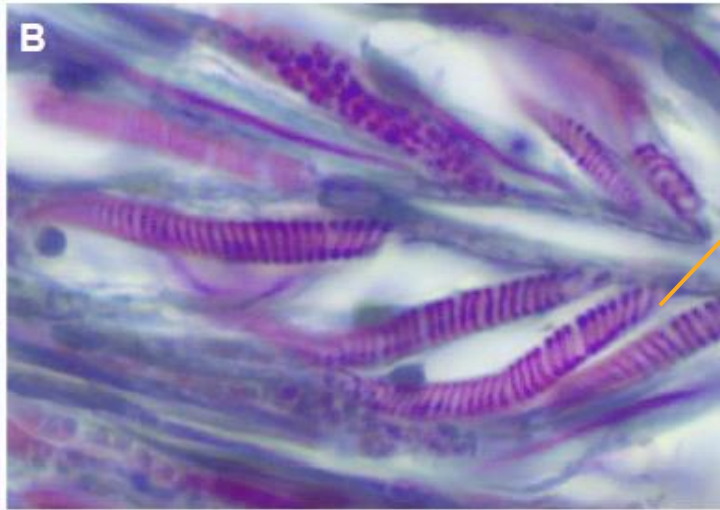
Ep: epidermis, M: mesoglea, Ga: gastrodermis, zx: zooxantelas

4. Resultados y discusión

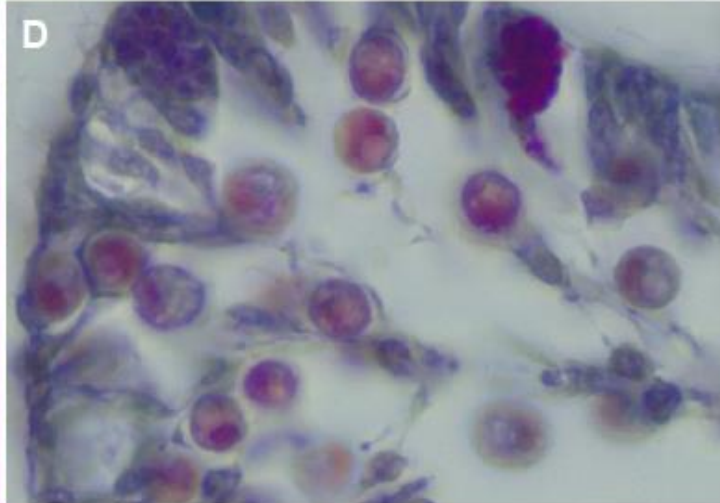
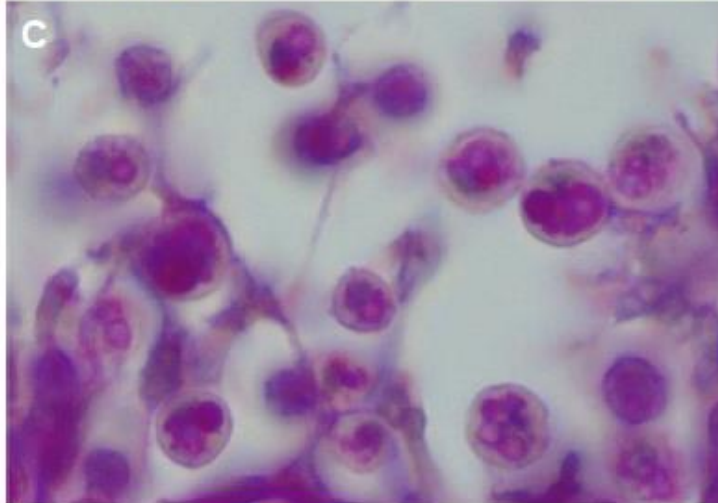
Evaluación histológica

Tentáculo (detalle)

Nematocistos



Espirocistos

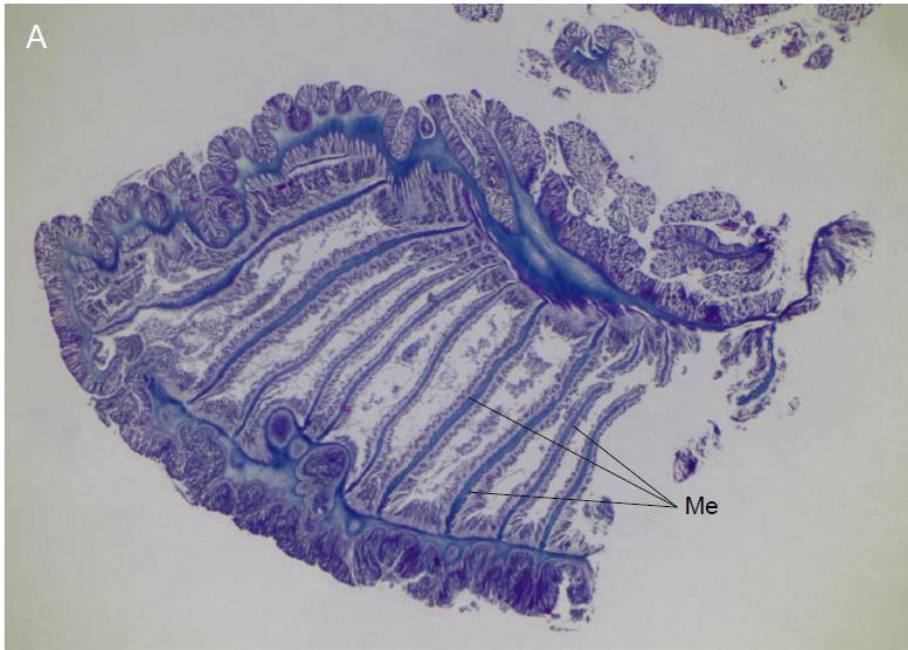
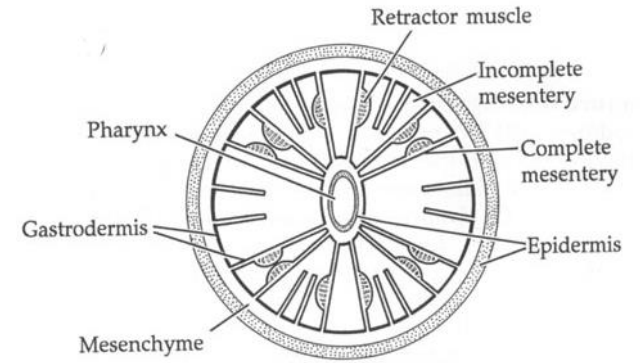


100x

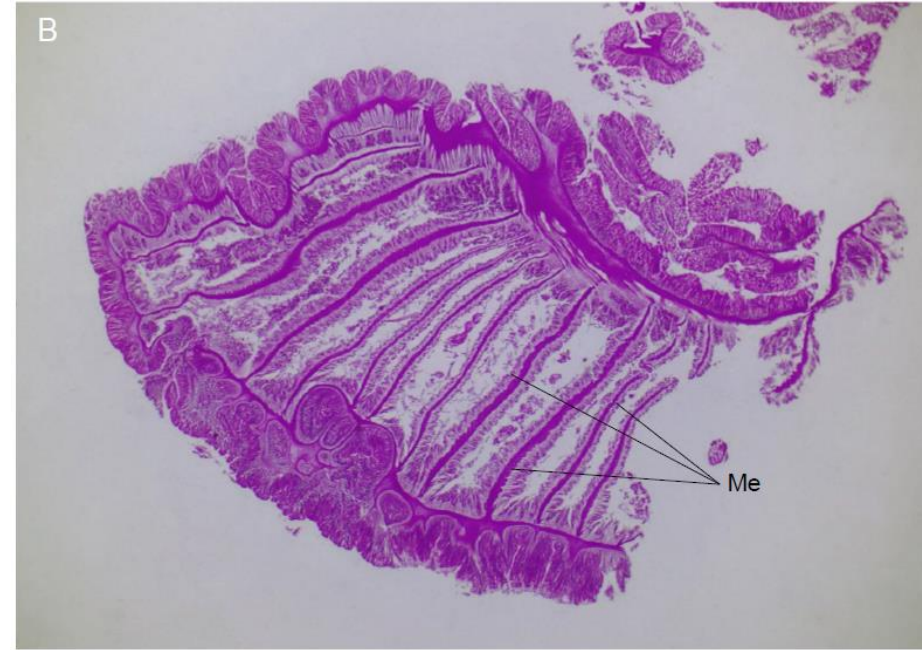
4. Resultados y discusión

Evaluación histológica

Pie



Tricrómica



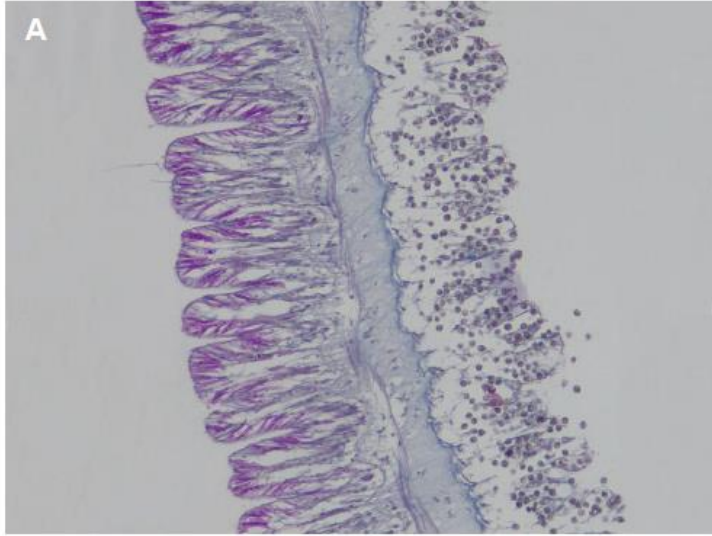
PAS

2.5x

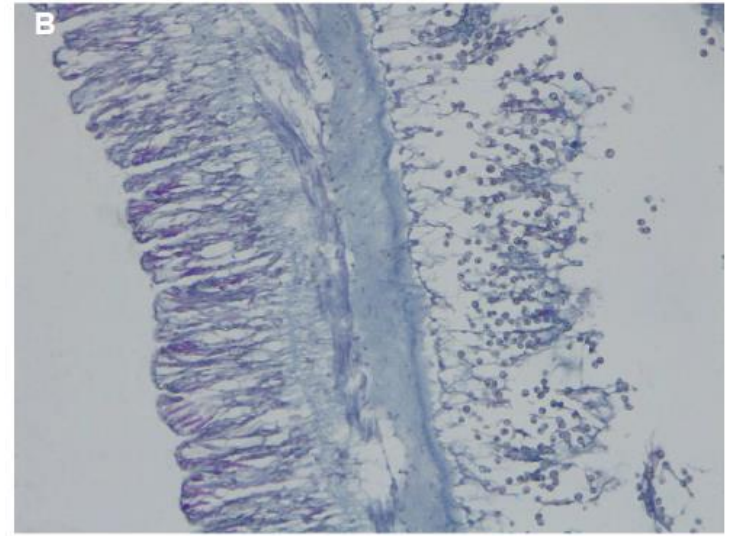
Me: mesenterios

4. Resultados y discusión

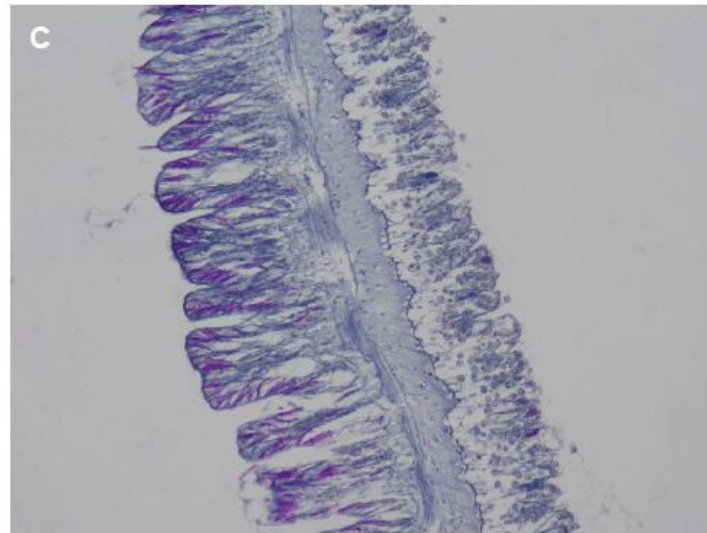
Comparación entre tratamientos



Oscuridad



Salobre



IMTA

4. Resultados y discusión

Mejor estado de bienestar

Control

Oscuridad

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

Peor estado de bienestar

IMTA

Salobre

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

¿Relación entre
intensidad lumínica y
estrategia de
reproducción?



1. Introducción

2. Objetivos

3. Materiales y métodos

4. Resultados y discusión

5. Conclusiones

5. 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