Análisis de marcadores de bienestar en ortiguilla de mar ante variaciones en su entorno de cultivo

**Índice:**

1. Introducción
   1. Situación actual de la acuicultura y sostenibilidad. Papel de la diversificación de especies y cultivos multitróficos
   2. *Anemonia sulcata* como cultivo emergente. Características de interés para la acuicultura
   3. Bienestar animal en sistemas de acuicultura
   4. Objetivos
2. Material y métodos
   1. Diseño experimental y toma de muestras
   2. Crecimiento y tasa de replicación de ejemplares
   3. Evaluación del estado oxidativo
      1. Enzimas antioxidantes
      2. Marcador de daño oxidativo
      3. Capacidad antioxidante total
      4. Determinación de clorofila
   4. Caracterización histológica
   5. Obtención de secciones histológicas
   6. Tinción hematoxilina-eosina
      1. Tincion PAS
      2. Tinción tricrómica de Masson
   7. Tratamiento estadístico
3. Resultados
4. Discusión
5. Conclusiones
6. **Introducción**

**1.1. Desarrollo sostenible en acuicultura**

Los alimentos de origen acuático desempeñan un papel fundamental en alimentación de muchas poblaciones en todo el mundo. Es por ello que la acuicultura y la pesca son actividades económicas clave en la constitución de sistemas de producción de alimentos que resulten sostenibles desde un punto de vista ecológico, social y económico . Sin embargo, la producción y distribución de estos alimentos no está exenta de problemas, sino que se enfrentan a graves repercusiones a largo plazo fruto de la sobreexplotación, degradación de hábitats naturales, y desigualdad en el acceso a los recursos producidos (FAO, 2022b)(FAO, 2022b).

En las últimas décadas, la producción acuícola ha experimentado un gran impulso a nivel mundial, de forma que en 2020 ya suponía el 49 % de la producción de organismos acuáticos, excluyendo la producción de algas (FAO, 2022b). En su hoja de ruta para la transformación azul la FAO (2022a) identifica como uno de los objetivos principales “*la expansión y la intensificación sostenible de la acuicultura con el fin de apoyar las metas mundiales de seguridad alimentaria y atender la demanda mundial de alimentos acuáticos nutritivos y la distribución equitativa de los beneficios*”.

Dos de los impactos negativos más relevantes de la acuicultura desde el punto de vista ecológico son las materias primas usadas para los piensos s, y la liberación de desechos metabólicos(heces, excretas y restos de pienso no ingerido) al medio natural. Todos estos desechos son susceptibles de contaminar el medio, y concretamente en aquellos sistemas de acuicultura desarrollados en el medio marino (Nissar et al., 2023).

En el ámbito de la acuicultura, existe, por tanto, una necesidad de utilizar de forma eficaz los recursos naturales evitando impactos severos sobre el ambiente (Buck et al., 2018). Es por ello que el desarrollo de sistemas integrados de producción se considera una de las herramientas con más potencial para contribuir al desarrollo sostenible en acuicultura, sobre todo en sistemas a pequeña y mediana escala (FAO, 2022b). Entre los tipos de producción integrada, suscita cada vez más interés la propuesta de los sistemas de acuicultura multitrófica integrada (IMTA).

El enfoque IMTA consiste en el co-cultivo integrado de especies con nichos tróficos diferentes, de modo que los desechos metabólicos de unas especies, en vez de considerarse un contaminante a tratar, se utilicen como recurso para otras especies del cultivo. Este sistema integrado consigue un ciclado de nutrientes más eficiente, reduciendo la liberación de contaminantes orgánicos al medio e incrementando la productividad (Buck et al., 2018; FAO, 2022b; Nissar et al., 2023). El concepto es además extremadamente flexible, de modo que tiene aplicaciones tanto en sistemas en tierra como en el medio natural, y puede involucrar una gran diversidad de organismos, como es el caso de las plantas terrestres en sistemas de acuaponía (Chopin et al., 2012; Lennard et al., 2019; Nissar et al., 2023).

(aquí poner esquema de sistema IMTA)

En general, un sistema IMTA estándar debería contar con una especie alimentada, y distintas especies extractivas. Las especies alimentadas, como su nombre indica, son las que se nutren a partir del pienso suministrado, y por tanto las que cargan con el mayor peso de la rentabilización de la explotación (Nissar et al., 2023). Es por ello que se suelen escoger especies de alto valor comercial como peces carnívoros o crustáceos, aunque ocasionalmente se utilizan también ciprínidos.

Las especies extractivas dependen de los desechos de la especie alimentada, bien sean extractivas de nutrientes inorgánicos (principalmente macroalgas), o extractivas de materia orgánica (invertebrados suspensívoros, filtradores y detritívoros) (Nissar et al., 2023). La flexibilidad del IMTA también radica en la diversidad de especies extractivas potenciales, que deberían cumplir distintos criterios: ser especies nativas, con un mercado ya establecido, y, o bien con una alta tasa de crecimiento, o bien con un alto valor comercial (Nissar et al., 2023).

**1.2. Ane*monia sulcata* como organismo emergente en acuicultura**

La ortiguilla de mar(*Anemonia sulcata*)(Pennant, 1777) es una especie de cnidario de la clase Anthozoa, ampliamente distribuido por el Mar Mediterráneo y el Atlántico septentrional (Rodríguez et al., 2023). Se trata de una anémona marina de carácter solitario, que habita en entornos intermareales y someros sobre sustratos rocosos.

La especie *A. sulcata* agrupa tres variedades (*vulgaris*, *smaragdina* y *rufescens)*, que se distinguen entre ellas por las proteínas fluorescentes que expresan en su epidermis. Todas ellas tienen en común la presencia de una cromoproteína no fluorescente rosa, que les da la coloración típica a los extremos del tentáculo y que las distingue de otras especies del género como *A. viridis* y *A. rustica*. No obstante, la taxonomía no está completamente consensuada y cada vez hay más evidencias de que las tres especies no son grupos monofiléticos, sino que conformarían una única especie (Mallien et al., 2017; Porro et al., 2019).

(aquí insertar fotos de las anemonas del cultivo, enseñando las distintas variedades)

Son organismos heterótrofos, que capturan partículas y pequeñas presas gracias a que los inmovilizan mediante las toxinas presentes en unas células conocidas como cnidocitos. No obstante, *A. sulcata* es una de las especies de antozoos que presentan una relación simbiótica con dinoflagelados del género *Symbiodinium*, (Casado-Amezúa et al., 2016). Estas microalgas, llamadas zooxantelas, complementan la nutrición heterótrofa de su hospedador animal con productos de su actividad fotosintética, en un complejo intercambio de nutrientes que aún no está completamente esclarecido (Davy et al., 2012).

(Aquí ver si puedo meter un esquema de las zooxantelas en la gastrodermis, hacerlo yo si no encuentro ninguno).

Esta relación mutualista es de una profunda importancia en ecosistemas oligotróficos, como el mar Mediterráneo (Casado-Amezúa et al., 2016; Davy et al., 2012). La evolución de esta relación simbiótica ha supuesto una gran ventaja competitiva en entornos pobres en nutrientes, pero también ha conllevado una gran diversidad de adaptaciones fisiológicas en los antozoos hospedadores, que están ausentes en antozoos no simbióticos. Estas adaptaciones incluyen, entre otras, mecanismos de captación y concentración de bicarbonato para la actividad Rubisco, síntesis de sustancias fotoprotectoras frente a radiación ultravioleta (UV), y un sistema antioxidante enzimático muy eficiente para hacer frente a las grandes fluctuaciones en la concentración de oxígeno que experimentan diariamente en consecuencia a la actividad fotosintética (Davy et al., 2012; Furla et al., 2005; Richier et al., 2005).

Habla algo de reproducción (para justificar las divisiones que hemos observado)

Con relación a su morfología y organización histológica, sS

Incluir esquema describiendo capas histológicas con el fin de justificar el estudio histológico

En España, la ortiguilla de mar es un producto consumido y muy apreciado localmente en zonas de Andalucía occidental, pero cuya popularidad se está extendiendo cada vez más en la gastronomía nacional (Daza Cordero et al., 2002). La Orden de 24 de abril de 2003 (BOJA) establece diferentes medidas de regulación de su explotación, entre las que destacan una talla mínima de 15 g, una cuota de 1 kg por recolector y día, y un periodo de veda que abarca los meses de enero y febrero. Pese a estas regulaciones, existe una elevada prevalencia de la recolección ilegal y/o no declarada, y con frecuencia los datos oficiales de capturas no aparecen publicados (Otero et al., 2017; Utrilla et al., 2019).

En el ámbito de la acuicultura, la ortiguilla de mar presenta un interés cada vez mayor, debido a diferentes aspectos. Además de ser un producto de interés gastronómico y muy valorada económicamente, tiene un gran potencial biotecnológico como fuente de distintos compuestos bioactivos (Cabeza et al., 2021; Ciccone et al., 2019; Piccialli et al., 2021). Es un organismo fácil de mantener y reproducir, lo que también promueve su utilización como modelo de estudio de distintos procesos biológicos, como el blanqueamiento o el metabolismo antioxidante (Merle et al., 2007; Pey et al., 2017; Richier et al., 2003, 2006). Adicionalmente, el alto valor económico y alimentación suspensívora de *A. sulcata* la convierten en un organismo con potencial como especie extractiva en sistemas IMTA (Guerrero & Cremades, 2012; Nissar et al., 2023).

La estandarización de técnicas para el cultivo de esta especie no solo sirve a los intereses ya descritos, sino que puede suponer una herramienta en la conservación de sus poblaciones naturales. Más allá de esto, puede servir como punto de partida para desarrollar el cultivo de otras especies de anémonas y corales de interés ornamental o con fines de conservación (Fraser et al., 2021; Watson & Younger, 2022). Todos estos factores han condicionado que se convierta en una especie emergente en acuicultura.

* 1. **Bienestar animal en sistemas de acuicultura**

El bienestar animal se define, según APROMAR (2022) de forma amplia como *“el estado de un animal en relación a su capacidad para relacionarse con su entorno”.* Es un concepto algo complejo que puede afrontarse según distintas aproximaciones: el bienestar funcional (basado en la capacidad del animal para adaptarse al entorno), el bienestar natural (basado en la capacidad del animal para expresar comportamientos naturales de su especie), y el bienestar emocional (basado en los estados subjetivos que experimenta el animal: que esté cómodo, seguro, en ausencia de miedo y dolor innecesarios). Con mucha frecuencia, las diferentes definiciones de bienestar animal integran estos tres enfoques (APROMAR, 2022).

En el caso de los invertebrados, se suelen emplear aproximaciones funcionales del bienestar, que engloban aspectos relativos a su capacidad de respuesta de estrés (Weil et al., 2019), la cual supone una respuesta adaptativa destinada a mantener la homeostasis frente a estímulos estresantes. Implica en una primera instancia una respuesta hormonal, que finalmente desemboca en una serie de alteraciones metabólicas dirigidas a generar energía y restablecer la homeostasis (Adamo, 2012; Stefano et al., 2002).

AQUÍ NUEVO APARTADO PARA JUSTIFICAR METODOLOGÍA

Estas alteraciones metabólicas generadas en una situación de estrés pueden conllevar un incremento en la producción de especies de oxígeno reactivo). Las ROS se producen habitualmente en cloroplastos y mitocondrias como consecuencia del metabolismo aerobio, y los animales están provistos de diferentes sistemas antioxidantes (enzimáticos y no enzimáticos) que mantienen un equilibrio entre los procesos de síntesis y degradación de ROS. en situaciones normales, evitan que generen daños a los componentes celulares (Lesser, 2006). Adicionalmente, en circunstancias fisiológicas las ROS y otras especies reactivas desempeñan un papel crítico de señalización celular, y son necesarias para el mantenimiento de la homeostasis celular (Lesser, 2006; Rosset et al., 2021).

Sin embargo, en una situación de estrés (activación metabólica), la producción de ROS puede llegar a sobrepasar la capacidad antioxidante del animal, desembocando entonces en daño oxidativo sobre lípidos, proteínas y ácidos nucleicos celulares. Las principales especies reactivas de oxígeno son el radical superóxido (), peróxido de hidrógeno (), radical hidroxilo () y oxígeno singlete (*1*) (Lesser, 2006). La primera línea de defensa de la mayoría de organismos frente a las ROS es la enzima superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la reducción del radical superóxido en y agua. El siguiente paso en la secuencia es la eliminación del producido, que puede ser llevada a cabo por la catalasa (CAT), o por la glutatión peroxidasa (GPx), que utiliza el glutatión como donador de electrones. El glutatión oxidado es entonces regenerado por la enzima glutatión reductasa (GR) (Lesser, 2006).

En el caso de los antozoos, a pesar de ser una ventaja competitiva, vivir en simbiosis con zooxantelas implicó exponerse a fluctuaciones diarias de los niveles de oxígeno, fruto de su actividad fotosintética. (Richier et al. (2003) demostraron que la concentración de oxígeno en los tejidos de *A. viridis* puede llegar a triplicar la normoxia en algunas horas del día, mientras que durante la noche la respiración del cnidario y sus simbiontes llevaría a una hipoxia intracelular. Para hacer frente a estas fluctuaciones diarias de hipoxia-hiperoxia y a otras condiciones estresantes derivadas del entorno intermareal, *A. viridis* y otros antozoos simbióticos presentan adaptaciones de sus sistemas enzimáticos antioxidante, (Casado-Amezúa et al., 2016; Davy et al., 2012; Furla et al., 2005).

En el caso de la SOD, los animales típicamente presentan las isoformas CuZn-SOD y Mn-SOD, esta última normalmente ligada a las mitocondrias. *A. viridis*, además presenta Fe-SOD en las zooxantelas y en sus tejidos, siendo esta isoforma típica de plantas y procariotas. Las distintas isoformas de SOD en este organismo se distribuyen diferencialmente en diferentes tejidos y compartimentos celulares. (Plantivaux et al., 2004; Richier et al., 2003) Esta diversidad de isoformas no se encuentra en otros antozoos no simbióticos, sugiriendo que es un rasgo originado por las presiones selectivas derivadas de esta relación mutualista (Casado-Amezúa et al., 2016; Furla et al., 2005).

El producido por la SOD tiene una elevada capacidad de difundir a través de las membranas biológicas, por lo que debe ser rápidamente eliminado por peroxiadasas, como la GPx, CAT o la ascorbato peroxidasa. Si la actividad SOD no está acoplada a un eficiente sistema de eliminación del peróxido de hdirógeno, se puede producir citotoxicidad por esta especie de oxígeno reactivo (Den Hartog et al., 2003). Estudios previos ya han evaluado la expresión y actividad GPx y CAT en distintos tejidos y compartimentos de *A. viridis*, encontrando de nuevo varias isoformas con diferente distribución (Merle et al., 2007; Pey et al., 2017), pero todavía existen lagunas en el conocimiento sobre esta especie en cuanto a su metabolismo oxidativo frente a diferentes condiciones de cultivo.

* 1. **Objetivos**

El presente trabajo se realizó con el siguiente objetivo principal:

* Evaluar la influencia de las características del entorno de cultivo en la mejora del crecimiento y estado de bienestar de la ortiguilla de mar (*Anemonia sulcata*)

A partir de este objetivo, se derivaron los siguientes objetivos secundarios:

1. Analizar el efecto de las características del entorno de cultivo en el crecimiento y generación de nuevos ejemplares de ortiguilla de mar.
2. Determinar qué parámetros relativos al estado oxidativo pueden resultar de interés como marcadores de bienestar en la ortiguilla de mar.
3. Evaluar el efecto de un entorno multitrófico sobre el estado de bienestar de la ortiguilla de mar (*A. sulcata*)
4. Evaluar en la ortiguilla de mar posibles alteraciones tisulares de derivadas de un incremento en los procesos oxidativos asociados a la respuesta de estrés.**Materiales y métodos**

**2.1. Diseño experimental**

Los ejemplares utilizados en el estudio se extrajeron del medio natural con la autorización de las autoridades competentes. Todos ellos proceden de la misma población en Salobreña (Granada), y tras su recogida fueron ubicados en las instalaciones de Andalmar Biotech S.L. en Carchuna (Granada). Losanimales se pesaron y se distribuyeron de forma homogénea en cuatro tanques de hormigón (decir volumen en litros), dotados cada uno de ellos de un circuito cerrado y un sistema de filtros físicos y bombas de recirculación independientes. Se establecieron cuatro tratamientos s: control, penumbra, eflujo periódico de agua dulce, y cultivo multitrófico (IMTA).

Para cada tratamiento, 50 ejemplares se distribuyeron en cinco contenedores diferentes (cestillos flotantes con 10 individuos cada uno) estableciéndose así cinco réplicas por situación experimental. Todos los tanques, salvo por sus distintos tratamientos, se mantuvieron las misma condiciones de t, y sistema de filtración durante el período experimental. La temperatura, nivel de oxígeno, nitritos, etc…(lo que te diga Ana) se controlaron diaria? Semanalmente? siendo en momento fueron óptimos.

Con relación a las condiciones experimentales, el tratamiento de penumbra consistió en una cobertura de malla negra densa, que bloqueaba la mayor parte de la luz solar incidente sobre los organismos. El tratamiento de agua salobre consistió en la reposición del agua de cultivo con agua dulce, dos veces a la semana, lo que conllevó una disminución inmediata de la salinidad a unos 27 g/L, recuperada lentamente hasta llegar a unos 30 g/L. La salinidad del resto de tratamientos se mantuvo en torno a los 34-35 g/L. Finalmente, el tratamiento de cultivo multitrófico consistió en el co-cultivo de las anémonas con mejillones, erizos de mar y holoturias.

Los animales se alimentaron…….permaneciendo así cuatro semanas. (preguntar a Ana por el alimento y frecuencia de alimentación). Al finalizar del periodo experimental srecolectaron 5 indivíduos por situación experimental (1 de cada cestillo) que fueron pesados y diseccionados separando pie y tentáculo. Una sección de cada uno de ellos fue inmediatamente congelada en nitrógeno líquido para posteriores análisis de estado oxidativo y cuantificación de clorofila, y otra sección de pie y tentáculo se fijó para su posterior tratamiento y evaluación histológica. Se tomaron también, en cada tratamiento, extensiones y muestras de mucus. (quitar luego si no se incluye). El resto de ejemplares presentes en cada sistema de cultivo fueron pesados y contados para la evaluación de crecimiento y grado de reproducción por bipartición (asexual).

**2.2. Análisis del estado oxidativo**

Las muestras se homogenizaron (Heidolph Instruments) en tampón Tris 100 mM, EDTA 0.1 mM, y Tritón 0.1%, pH 7.8, en proporción 1:4 (p/v). Los homogenados se centrifugaron a 16.000 rpm durante 25 a 4ºC (Sigma 3K30) y, finalmente, se recogió el sobrenadante que se distribuyó en alícuotas conservadas a -80 º C.

Se registró la actividad de las principales enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión transferasa (GST) DT-diaforasa (DTD). Asímismo, se determinaron los niveles de peroxidación lipídica como marcador de daño oxidativo, y se estimó la capacidad antioxidante total (TEAC) de cada extracto. Se cuantificó nivel de proteína soluble en las muestras (Bradford, 1976) con el fin de expresar la actividad específica de las enzimas. Todas las medidas se realizaron con un espectrofotómetro de microplacas PowerWave (Bio-Tek Instrument, Inc), a temperatura controlada de 25 ºC.

* **Actividad superóxido dismutasa (SOD)**
* **Actividad catalasa (CAT)**
* **GST**
* **DTD**
* **Peroxidación lipídica**
* **Capacidad antioxidante total (TEAC)**
* **Determinación de clorofila**

Para la determinación de clorofila a, clorofila c2 y clorofila total se incubaron las muestras en tampón de extracción (acetona 100%), a 4º C y en agitación durante la noche, y posteriormente se midió la absorbancia de los extractos a 663 nm y 630 nm. Se calculó el contenido en clorofila a, clorofila c2, y clorofila a + c2 siguiendo las fórmulas propuestas por (Jeffrey y Humphrey, 1975). Los resultados fueron expresados como μg de clorofila total/g de tentáculo.

**2.3. Tratamiento histológico**

**Fijación yt obtención de cortes histológicos**

Se recogieron tentáculos y secciones del pie en distintos fijadores (Fijador de Bouin y Paraformaldehído al 4%), y se preservaron en frío hasta su procesado. Las muestras se deshidrataron progresivamente en alcohol, se aclararon con benzol y finalmente se incluyeron en parafina. Se confeccionaron los bloques utilizando centro de inclusión Leica EG1150. Se realizaron secciónes en parafina de 7 micras utilizando un micrótomo de rotación Leyca (Ref) y se extendieron sobre portaobjetos (tratados previamente con gelatina al 0.5 %) en baño histolóogico a 38º C.( Las secciones se secaron y conservaron en estufa a 38º para su posterior tinción.

**Tinción de secciones histológicas**

Una vez teñidos las secciones se montaron en seco (Eukitt ®) y se visualizaron en microscopio óptico binocular con cámara acoplada (Leyca…..) para la toma de micrografías.

**2.4. Tratamiento estadístico y presentación de datos**

relativos al estado oxidativo y niveles de clorofila Para comparar el efecto de los distintos tratamientos sobre las variables de interés, se aplicó un ANOVA de una vía, comprobando las asunciones de normalidad de residuos y homocedasticidad. Incluir análisis de correlación… Todo el tratamiento de datos y análisis estadístico fue ejecutado usando R 4.3.0 Y RStudio 2023.03.1.

1. **Resultados**
2. **Discusión**
3. **Conclusiones**
4. **Bibliografía**

Adamo, S. A. (2012). The effects of the stress response on immune function in invertebrates: An evolutionary perspective on an ancient connection. En *Hormones and Behavior* (Vol. 62, Número 3). https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.02.012

APROMAR. (2022). *Guía sobre el bienestar de los peces en la acuicultura española – Volumen 1: Conceptos y Generalidades* (Vol. 1). APROMAR.

Barroso, F. G., Trenzado, C. E., Pérez-Jiménez, A., Rufino-Palomares, E. E., Fabrikov, D., & Sánchez-Muros, M. J. (2021). Innovative Protein Sources in Aquafeeds. En J. M. Lorenzo & J. Simal-Gandara (Eds.), *Sustainable Aquafeeds* (pp. 139-184). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780429331664-8

Bocharova, E. S., & Kozevich, I. A. (2011). Modes of reproduction in sea anemones (Cnidaria, Anthozoa). *Biology Bulletin*, *38*(9), 849-860. <https://doi.org/10.1134/S1062359011090020/METRICS>

Bradford 1976……

Buck, B. H., Troell, M. F., Krause, G., Angel, D. L., Grote, B., & Chopin, T. (2018). State of the art and challenges for offshore Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). En *Frontiers in Marine Science* (Vol. 5, Número MAY). https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00165

Cabeza, L., Peña, M., Martínez, R., Mesas, C., Galisteo, M., Perazzoli, G., Prados, J., Porres, J. M., & Melguizo, C. (2021). Anemonia sulcata and its symbiont symbiodinium as a source of anti-tumor and anti-oxoxidant compounds for colon cancer therapy: A preliminary in vitro study. *Biology*, *10*(2), 1-19. https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10020134

Calvín Calvo, J. C., & Eisman Valdés, C. (2020). *El ecosistema marino mediterráneo : guía de su flora, fauna y hábitats*. Juan Carlos Calvín.

Casado-Amezúa, P., Terrón-Sigler, A., Pinzón, J. H., Furla, P., Forcioli, D., Allemand, D., Ribes, M., & Coma, R. (2016). General ecological aspects of anthozoan- symbiodinium interactions in the mediterranean sea. En *The Cnidaria, past, present and Future: The World of Medusa and her Sisters*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4\_24

Chopin, T., Cooper, J. A., Reid, G., Cross, S., & Moore, C. (2012). Open-water integrated multi-trophic aquaculture: environmental biomitigation and economic diversification of fed aquaculture by extractive aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, *4*(4), 209-220. https://doi.org/10.1111/J.1753-5131.2012.01074.X

Ciccone, R., Piccialli, I., Grieco, P., Merlino, F., Annunziato, L., & Pannaccione, A. (2019). Synthesis and Pharmacological Evaluation of a Novel Peptide Based on Anemonia sulcata BDS-I Toxin as a New K V 3.4 Inhibitor Exerting a Neuroprotective Effect Against Amyloid-β Peptide. *Frontiers in chemistry*, *7*. https://doi.org/10.3389/FCHEM.2019.00479

Davy, S. K., Allemand, D., & Weis, V. M. (2012). Cell Biology of Cnidarian-Dinoflagellate Symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *76*(2). https://doi.org/10.1128/mmbr.05014-11

Daza Cordero, J. L., del Castillo y Rey, F., & Márquez Pascual, I. (2002). *La Pesquería del Erizo y Anémona de Mar en el Litoral de Cádiz y Málaga*. https://www.juntadeandalucia.es/servicios/publicaciones/detalle/43547.html

Den Hartog, G. J. M., Haenen, G. R. M. M., Vegt, E., Van der Vijgh, W. J. F., & Bast, A. (2003). Superoxide dismutase: the balance between prevention and induction of oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, *145*(1), 33-39. https://doi.org/10.1016/S0009-2797(02)00160-6

FAO. (2022a). *Blue Transformation - Roadmap 2022–2030: A vision for FAO’s work on aquatic food systems*. FAO. https://doi.org/10.4060/cc0459en

FAO. (2022b). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cc0461es

Fraser, N., Mangubhai, S., Hall, K., & Scott, A. (2021). Sea anemones in the marine aquarium trade: Market preferences indicate opportunities for mariculture and conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, *31*(12), 3594-3606. https://doi.org/10.1002/AQC.3733

Furla, P., Allemand, D., Shick, J. M., Ferrier-Pagès, C., Richier, S., Plantivaux, A., Merle, P. L., & Tambutté, S. (2005). The symbiotic anthozoan: A physiological chimera between alga and animal. *Integrative and Comparative Biology*, *45*(4). https://doi.org/10.1093/icb/45.4.595

Guerrero, S., & Cremades, J. (2012). *Integrated Multi-trophic Aquaculture (IMTA): A sustainable, pioneering alternative for marine cultures in Galicia.* (C. J. Guerrero S., Ed.). Regional Government of Galicia (Spain). https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00743395

Hodar, A. R., Vasava, R. J., Mahavadiya, D. R., & Joshi, N. H. (2020). Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: a review. *Journal of Experimental Zoology, India*, *23*(1), 13-21.

Jeffrey, S. W., & Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, *167*(2), 191-194. https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3

Lennard, W., Goddek, S., Lennard, W., & Goddek, S. (2019). Aquaponics: The Basics. En S. Goddek, A. Joyce, B. Kotzen, & G. M. Burnell (Eds.), *Aquaponics Food Production Systems* (pp. 113-143). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15943-6\_5

Lesser, M. P. (2006). Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and physiological ecology. En *Annual Review of Physiology* (Vol. 68). https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001

Mallien, C., Porro, B., Zamoum, T., Olivier, C., Wiedenmann, J., Furla, P., & Forcioli, D. (2017). Conspicuous morphological differentiation without speciation in Anemonia viridis (Cnidaria, Actiniaria). *https://doi.org/10.1080/14772000.2017.1383948*, *16*(3), 271-286. https://doi.org/10.1080/14772000.2017.1383948

Merle, P. L., Sabourault, C., Richier, S., Allemand, D., & Furla, P. (2007). Catalase characterization and implication in bleaching of a symbiotic sea anemone. *Free Radical Biology and Medicine*, *42*(2). https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.10.038

Nissar, S., Bakhtiyar, Y., Arafat, M. Y., Andrabi, S., Mir, Z. A., Khan, N. A., & Langer, S. (2023). The evolution of integrated multi-trophic aquaculture in context of its design and components paving way to valorization via optimization and diversification. *Aquaculture*, *565*, 739074. https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2022.739074

Otero, M. M. (María del M., Numa, C. (Catherine), Bo, M. (Marzia), Orejas, C. (Covadonga), Garrabou, J. (Joaquim), Cerrano, C. (Carlo), Kružić, P. (Petar), Antoniadou, C. (Chryssanthi), Aguilar, R. (Ricardo), Kipson, S. (Silvija), Linares, C. (Cristina), Terrón-Sigler, A. (Alejandro), Brossard, J. (Justine), Kersting, D. (Diego), Casado-Amezúa, P. (Pilar), García, S. (Silvia), Goffredo, S. (Stefano), Ocaña, Ó. (Óscar), Caroselli, E. (Erik), … Cattaneo-Vietti, R. (Riccardo). (2017). Overview of the conservation status of Mediterranean anthozoans. En *Overview of the conservation status of Mediterranean anthozoa*. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN). https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.RA.2.EN

Pey, A., Zamoum, T., Christen, R., Merle, P. L., & Furla, P. (2017). Characterization of glutathione peroxidase diversity in the symbiotic sea anemone Anemonia viridis. *Biochimie*, *132*. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.10.016

Piccialli, I., Tedeschi, V., Boscia, F., Ciccone, R., Casamassa, A., de Rosa, V., Grieco, P., Secondo, A., & Pannaccione, A. (2021). The anemonia sulcata toxin BDS-I protects astrocytes exposed to Aβ1–42 oligomers by restoring [Ca2+]i transients and ER Ca2+ signaling. *Toxins*, *13*(1). https://doi.org/10.3390/TOXINS13010020

Plantivaux, A., Furla, P., Zoccola, D., Garello, G., Forcioli, D., Richier, S., Merle, P. L., Tambutté, É., Tambutté, S., & Allemand, D. (2004). Molecular characterization of two CuZn-superoxide dismutases in a sea anemone. *Free Radical Biology and Medicine*, *37*(8). https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.043

Porro, B., Mallien, C., Hume, B. C. C., Pey, A., Aubin, E., Christen, R., Voolstra, C. R., Furla, P., & Forcioli, D. (2019). The many faced symbiotic snakelocks anemone (Anemonia viridis, Anthozoa): host and symbiont genetic differentiation among colour morphs. *Heredity 2019 124:2*, *124*(2), 351-366. https://doi.org/10.1038/s41437-019-0266-3

Richier, S., Furla, P., Plantivaux, A., Merle, P. L., & Allemand, D. (2005). Symbiosis-induced adaptation to oxidative stress. *Journal of Experimental Biology*, *208*(2). https://doi.org/10.1242/jeb.01368

Richier, S., Merle, P. L., Furla, P., Pigozzi, D., Sola, F., & Allemand, D. (2003). Characterization of superoxide dismutases in anoxia- and hyperoxia-tolerant symbiotic cnidarians. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, *1621*(1). https://doi.org/10.1016/S0304-4165(03)00049-7

Richier, S., Sabourault, C., Courtiade, J., Zucchini, N., Allemand, D., & Furla, P. (2006). Oxidative stress and apoptotic events during thermal stress in the symbiotic sea anemone, Anemonia viridis. *FEBS Journal*, *273*(18). https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05414.x

Rodríguez, E., Fautin, D., & Daly, M. (2023). *WoRMS - World Register of Marine Species - Anemonia sulcata (Pennant, 1777)*. https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=231858#sources

Rosset, S. L., Oakley, C. A., Ferrier-Pagès, C., Suggett, D. J., Weis, V. M., & Davy, S. K. (2021). The Molecular Language of the Cnidarian–Dinoflagellate Symbiosis. *Trends in Microbiology*, *29*(4), 320-333. https://doi.org/10.1016/J.TIM.2020.08.005

Stefano, G. B., Cadet, P., Zhu, W., Rialas, C. M., Mantione, K., Benz, D., Fuentes, R., Casares, F., Fricchione, G. L., Fulop, Z., & Slingsby, B. (2002). The blueprint for stress can be found in invertebrates. En *Neuroendocrinology Letters* (Vol. 23, Número 2).

Utrilla, O., Castro-Claros, J. D., Urra, J., Navas, F. D., & Salas, C. (2019). Reproduction of the anthozoan Anemonia sulcata (Pennant, 1777) in southern Spain: from asexual reproduction to putative maternal care. *Marine Biology*, *166*(8). https://doi.org/10.1007/s00227-019-3558-5

Watson, G. J., & Younger, J. (2022). Developing anemone aquaculture for the marine aquarium trade: A case study using the bubble-tip anemone Entacmaea quadricolor. *Aquaculture Research*, *53*(7), 2697-2707. https://doi.org/10.1111/ARE.15786

Weil, E., Weil-Allen, A., Weil, A., Weil, E., Weil-Allen, · A, & Weil, A. (2019). *Coral and Cnidarian Welfare in a Changing Sea*. 123-145. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13947-6\_6