RESUMEN DE TESIS DOCTORAL

Caracterización de las anomalías vertebrales en distintas fases de producción del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*): estudio estereoscópico, radiográfico e histológico

Ana Manuela de Azevedo Gomes

Directores:

Dra. María Isabel Quiroga Berdeal

Dra. Sonia Vázquez Rodríguez

Dr. Andrés Barreiro Lois

Defendida el 31 de mayo de 2017 en la Universidade de Santiago de Compostela

Realizada en la Facultad de Veterinaria (USC), en el Hospital Veterinario Universitario Rof Codina (USC) y en el Laboratorio di Ecologia Sperimentale ed Acquacoltura - Dipartimento di Biologia - Università degli Studi di Roma "Tor Vergata

Mención internacional y *cum laude*

Resumen

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es una de las especies más prometedoras de la acuicultura española. Esta Tesis Doctoral surge de la necesidad de encontrar soluciones para prevenir la alta frecuencia de anomalías esqueléticas detectadas en esta especie, llegando a afectar al 100% de los individuos, en algunos estudios experimentales. Las anomalías vertebrales pueden afectar el crecimiento, el bienestar de los animales y aumentar la susceptibilidad a las enfermedades en diferentes especies de teleosteos. Además, estas deformaciones repercuten en la calidad del producto y algunas en la morfología externa del pez, provocando rechazo por parte del consumidor y dificultando el procesado de las piezas. Esto supone un aumento de los gastos de producción a nivel industrial, porque muchas veces sólo se consiguen diagnosticar en etapas muy avanzadas del desarrollo. Para contrarrestar esta situación, las empresas se ven obligadas a disminuir el precio de mercado y a establecer un sistema exhaustivo de monitorización de las anomalías vertebrales, lo que implica un aumento de la carga de trabajo y de la tasa de sacrificio de los individuos afectados, y por lo tanto, una considerable merma económica en las empresas. Actualmente, en la literatura se dispone de escasa información sobre las anomalías que afectan al lenguado producido a nivel industrial, especialmente en las etapas más avanzadas del ciclo productivo. La magnitud del problema nos lleva a buscar herramientas de diagnóstico para evaluar detalladamente las alteraciones de la columna vertebral en distintas fases del cultivo de esta especie.

En este trabajo se estudiaron las anomalías esqueléticas en diferentes etapas del desarrollo del lenguado senegalés de cultivo, con el propósito de establecer y comparar

el perfil de las alteraciones más comunes en cada fase del crecimiento. Para monitorizar los lotes en distintas etapas de la producción industrial, es necesario contar con técnicas diagnósticas adecuadas y precisas, adaptadas para cada fase de cultivo. Hasta el momento, el control rutinario de las malformaciones en las granjas de esta especie se ha basado en la palpación y la observación macroscópica de los peces. Los resultados de este trabajo demostraron que esta técnica tradicional no detectó la presencia de alteraciones esqueléticas en alrededor del 72-75% de los individuos considerados como "normales". A pesar de que la evaluación externa y la radiografía mostraron estar altamente relacionadas, algunas anomalías, principalmente "menores", no fueron detectadas con la primera técnica, como se ha descrito en otras especies de peces. Además, alrededor del 46% de los especímenes "normales" presentaron anomalías del cuerpo vertebral (ACV) y/o desviaciones de la columna vertebral (DCV). Por lo tanto, el porcentaje notable de deformidades subestimadas en la inspección externa, asociado con la alta incidencia de anomalías esqueléticas registradas radiográficamente en etapas posteriores, puede traducirse en una tasa importante de lenguados de calidad subóptima. La aplicación de métodos más sensibles, como la radiografía, para detectar anomalías en la columna vertebral en lotes de cultivo de lenguado senegalés, mejoraría la calidad de los peces que llegan al mercado.

El empleo de la estereomicroscopía en larvas y de la radiografía, en juveniles, permitió la caracterización exhaustiva de las alteraciones esqueléticas en cada fase del desarrollo. Además, por lo que sabemos hasta el momento, esta Tesis ha contribuido con el primer estudio estereomicroscópico de las anomalías vertebrales en juveniles de lenguado senegalés de 105 dde, utilizando una técnica de análisis multivariante. Los resultados generales mostraron un porcentaje de anomalías superior al 75% en larvas y juveniles en etapas tempranas y tardías. Las principales diferencias detectadas en los perfiles de anomalías a distintas edades radicarón en la incidencia de deformaciones en los elementos del complejo caudal o en las espinas neurales/hemales, que claramente disminuyeron en fases más avanzadas del desarrollo. Las ACV y las DCV obtuvieron frecuencias similares en las tres edades estudiadas. Por otra parte, estas alteraciones fueron más representativas en los juveniles, ya que presentaron un mayor porcentaje de ACV y/o DCV con respecto al número total de anomalías. Las ACV se concentraron principalmente en las vértebras preurales en las tres etapas, aunque también afectaron frecuentemente a los cuerpos vertebrales caudales. Las DCV no mostraron una incidencia marcada en todos los estudios, aunque, la frecuencia de individuos con escoliosis caudal se incrementó considerablemente en etapas más tardías respecto a las larvas. El agravamiento de lesiones escolióticas incipientes en las primeras fases del desarrollo y/o la aparición de nuevas anomalías con el tiempo podrían explicar este aumento del porcentaje de escoliosis caudal en los lenguados juveniles.

Posteriormente, se utilizó la misma sistemática para evaluar la influencia de la nutrición en la esqueletogénesis de larvas y juveniles en fases tempranas de cultivo. En este sentido, se aplicó un análisis multivariante que evidenció algunas diferencias en el perfil de anomalías entre edades, más que un efecto claro de los enriquecedores comerciales para presas vivas en el desarrollo de anomalías vertebrales. La existencia de algunas anomalías comunes a todas las dietas en ambas edades puede indicar que las oscilaciones en la composición de las presas vivas no fueron suficientes para producir un efecto directo a nivel esquelético y/o que otras causas pudieran intervenir en la aparición de esas alteraciones, enmascarando una posible influencia de los enriquecedores.

Por último, se caracterizaron los principales cambios histopatológicos que contribuyeron a elucidar la patogénesis de diferentes tipos de anomalías vertebrales. Las técnicas histológicas complementaron considerablemente los estudios radiográficos y permitieron profundizar en el conocimiento de la respuesta del hueso anosteocítico durante el

desarrollo de las anomalías en lenguado senegalés. La proliferación ectópica de cartílago en las superficies articulares y dentro del espacio intervertebral (EIV) fue notable y parece ser un mecanismo común en diferentes tipos de anomalías que afectan a diversas especies de teleósteos con hueso osteocítico o anosteocítico. Además, algunos de los cambios histopatológicos en vértebras deformadas, como las caras articulares aplanadas, EIV estrechos y/o abundante tejido cartilaginoso en dicho espacio podrían estar relacionados con etapas iniciales de fusión y, en un caso, con el agravamiento de una fusión previa.

Como se desprende de esta Tesis, la radiografía es un procedimiento práctico para la visualización integral de las anomalías esqueléticas y se podrá emplear en su diagnóstico en juveniles, así como para identificar, al menos, las ACV y DCV en las regiones abdominales y caudales de especímenes más pequeños. Por lo tanto, en fases cercanas a los 105 dde, se pueden elegir dos técnicas diferentes (estereomicroscopía y radiografía) para el control de la calidad de los lotes, de acuerdo con el nivel de precisión deseado. Las dos proyecciones radiográficas ortogonales ofrecieron una perspectiva tridimensional del esqueleto, ya que la proyección dorso-ventral complementó en gran medida la latero-lateral y permitió detectar malas alineaciones del raquis en el plano entre las caras ocular y ciega de los peces. Por ello, se recomienda la integración de estas dos proyecciones ortogonales en la evaluación radiográfica rutinaria de las anomalías esqueléticas en el lenguado senegalés y otras especies de teleósteos. A nivel industrial, la radiografía se está empleando para certificar la calidad de los juveniles de espáridos, en el proceso de comercialización para las granjas de engorde. La aplicabilidad de esta técnica en el cultivo industrial de lenguado senegalés como método de clasificación, es en cierto modo relativa, requiriendo un análisis coste-beneficio, considerando el precio del equipo radiográfico. A partir de los resultados de esta Tesis y teniendo en cuenta el perfil de algunos tipos de anomalías en las etapas más tardías, se sugiere que las granjas productoras de lenguado senegalés enfoquen sus esfuerzos en prevenir principalmente las anomalías que afectan a los cuerpos vertebrales (ACV) y a la alineación de la columna (DCV). Por ello, el método sencillo de clasificación propuesto representa una herramienta práctica y útil para la detección de anomalías vertebrales con diversos grados de gravedad y aplicable en el contexto de la acuicultura. Sin embargo, se requiere más investigación para determinar la correlación entre el desarrollo esquelético y la morfología externa de los peces al final de las fases larvarias y en etapas más tardías.

Este trabajo constituye una base valiosa para futuras investigaciones y para el desarrollo de herramientas diagnósticas más sofisticadas con aplicación a nivel industrial, basadas en el empleo de redes neuronales e inteligencia artificial. Esta Tesis Doctoral destaca la importancia de un enfoque interdisciplinario para hacer frente a un problema multifactorial en el sector de la acuicultura. Por ello, en futuras investigaciones sería interesante estudiar los mecanismos patogénicos asociados a las causas que producen las anomalías esqueléticas, integrando los nuevos recursos genómicos disponibles para la especie.

Palabras clave: lenguado senegalés (*Solea senegalensis*), anomalías esqueléticas, esqueletogénesis, radiografía, histopatología.

Publicaciones de la Tesis

Enlace al documento completo: <http://hdl.handle.net/10347/15476>

- Losada A. P., de Azevedo A. M., Barreiro A., Barreiro J. D., Ferreiro I., Riaza A., Quiroga M. I., Vázquez S. (2014). Skeletal malformations in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858): gross morphology and radiographic correlation. *Journal of Applied Ichthyology*, 30: 804-808.
- de Azevedo A. M., Losada A. P., Ferreiro I., Riaza A., Vázquez S., Quiroga M. I. (2017). New insight on vertebral anomalies in cultured Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup) at early stages of development. *Journal of Fish Diseases*, 40: 987-1000.
- de Azevedo A. M., Losada A. P., Barreiro A., Barreiro J. D., Ferreiro I., Riaza A., Vázquez S., Quiroga M. I. (2017). Skeletal anomalies in reared Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) juveniles: a radiographic approach. *Diseases of Aquatic Organisms*, 124: 117-29.