

RESUMEN DE TESIS DOCTORAL

La piel de los peces. Aplicación de técnicas de imagen

Diana Cecilia Ceballos Francisco

Directores:

Dra. María Ángeles Esteban Abad

Dr. Alberto Cuesta Peñafiel

Defendida el 22 de noviembre de 2019 en la Universidad de Murcia (UM)

Realizada en la Facultad de Biología, Departamento de Biología Celular e Histología (UM)

Mención internacional y *cum laude*

Resumen

La acuicultura es probablemente el sector de más rápido crecimiento en la industria alimentaria, produciendo más del 50% del pescado destinado a la alimentación humana en todo el mundo. Sin embargo, para satisfacer esta demanda, los peces son criados en sistemas intensivos, donde están expuestos a situaciones de estrés, favoreciendo la aparición de enfermedades que se manifiestan principalmente en la piel.

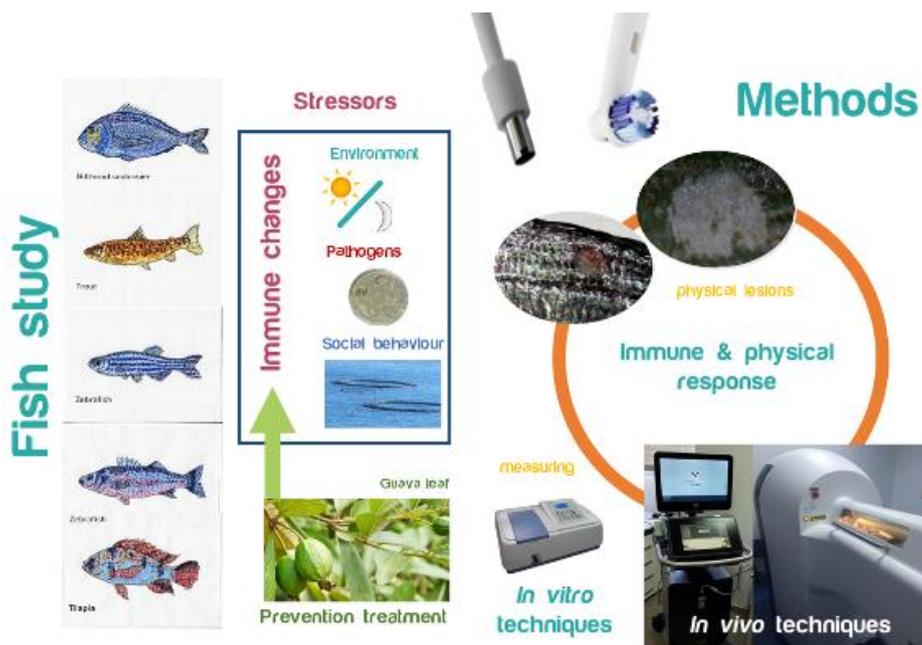
En esta Tesis Doctoral se ha estudiado el efecto de diferentes factores externos sobre la piel y el moco asociado a ella en varias especies de peces. En primer lugar, se analizaron diferentes parámetros inmunitarios en el moco de la piel de la dorada (*Sparus aurata*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*) bajo un fotoperiodo constante de luz-oscuridad (L:O). En este ensayo, se observó que los niveles de IgM y la actividad de diferentes enzimas (proteasa, antiproteasa, peroxidasa y lisozima), así como la actividad bactericida, variaban notablemente durante el ciclo diario de L:O. Dado que la protección de la piel es necesaria para la salud de los peces, se estudió el efecto de la suplementación dietética con hoja de guayaba (*Psidium guajava* L.) a diferentes porcentajes (1,5% y 3%) en el moco de la piel de la tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). Los parámetros inmunitarios analizados aumentaron significativamente en el moco cutáneo de los peces alimentados con el menor porcentaje de la hoja de guayaba, en comparación con los peces alimentados con dieta control. Además, la suplementación de hoja de guayaba en las dietas experimentales redujo significativamente la carga bacteriana en la piel después de una infección con *Vibrio harveyi*, posiblemente debido a las propiedades bactericidas de la hoja de guayaba.

Debido a que cualquier daño en la piel facilita la entrada de patógenos, se analizó la respuesta física e inmunitaria en la piel de la dorada después de realizar heridas (por encima o por debajo de la línea lateral) o úlceras experimentales. Los resultados demostraron que el proceso de curación fue más rápido por debajo de la línea lateral que por encima de ella. Además, los parámetros inmunitarios analizados en el moco de la piel y en el suero mostraron variaciones dependiendo del sitio de la herida. Así mismo, se evaluó la expresión de varios genes relevantes para el sistema inmunitario y la

regeneración de la piel (*il1b, il6, tgfb, ight, grhl, krt1*) mostrando destacadas variaciones en función de la localización de las heridas. En cuanto a las úlceras experimentales, la abundancia de carbohidratos terminales y algunos parámetros inmunitarios evaluados en el moco de la piel mostraron variaciones en la piel ulcerada en comparación con la piel no ulcerada. Además, se realizó el análisis de la microbiota de la piel y se observó que las úlceras cutáneas proporcionan microambientes que alteran la composición del moco y la biodiversidad microbiana de la piel. En otro ensayo, se utilizó la prueba de fluoresceína como una herramienta fácil y económica para detectar lesiones cutáneas iniciales en la piel dañada experimentalmente en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y pez cebra (*Danio rerio*).

Además, se aplicó la ultrasonografía y la microtomografía computarizada de rayos X (micro-TC) para el estudio de la dorada y la lubina demostrando que el grosor de la piel varía en función de la zona del cuerpo. Además, se realizó una segmentación completa de la dorada mediante micro-TC obteniéndose valores de densidad de todo el pez en el rango de -1000 a +2500 UH (unidades Hounsfield), mientras que los valores para la piel y la grasa subcutánea se situaron entre -400 y -50 UH. Así mismo, el rango de densidad de la grasa se estableció entre -115 a +50 UH lo que permitió identificar áreas segmentadas que coincidían topográficamente con los depósitos de grasa presentes en la dorada.

Este estudio demuestra que la piel y la capa de moco asociada a ella pueden verse afectadas por varios factores externos relacionados con las actuales prácticas acuícolas. Por otro lado, se ha demostrado la predisposición de la piel a la colonización por patógenos, el efecto de la dieta en la mejora de la respuesta inmunitaria y la influencia del daño físico sobre la piel y su moco. Por todo ello, pensamos que es necesario mejorar las condiciones de cría y manejo, así como la implantación de herramientas preventivas para asegurar y evaluar el estado de bienestar de los peces de acuicultura. Finalmente, la aplicación de técnicas de diagnóstico por imagen en el estudio de la morfometría de los peces proporcionó resultados novedosos que permiten evaluar cambios corporales in situ, aportando información valiosa que puede ser usada para futuras investigaciones in vivo, buscando así aplicar el principio de las 3Rs sobre ética animal.



Palabras clave: acuicultura, piel, heridas, ultrasonografía, tomografía computarizada.

Publicaciones de la Tesis

Enlace al documento completo: <http://hdl.handle.net/10201/77462>

- Ceballos-Francisco, D., Cuesta, A., Esteban, M. Á. (2020). Effect of Light–Dark Cycle on Skin Mucosal Immune Activities of Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fishes*, 5(1): 10. DOI: DOI: 10.3390/fishes5010010
- Ceballos-Francisco, D., Castillo Y., De la Rosa, F., Vásquez, W., Reyes-Santiago, R., Cuello, A., Cuesta, A., Esteban, M. Á. (2020). Bactericidal effect on skin mucosa of dietary guava (*Psidium guajava* L.) leaves in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 259: 112838. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112838
- Ceballos-Francisco, D., Guardiola, F. A., Cordero, H., Cuesta, A., Esteban, M. Á. (2018). Humoral immune parameters in serum of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) after induced skin injury. *Fish and Shellfish Immunology*, 75: 291–294 . DOI: 10.1016/j.fsi.2018.02.017
- Tapia-Paniagua, S. T., Ceballos-Francisco, D., Balebona, M. C., Esteban, M. Á., Moriñigo, M. Á. (2018). Mucus glycosylation, immunity and bacterial microbiota associated to the skin of experimentally ulcerated gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish and Shellfish Immunology*, 75: 381–390. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.02.006
- Ceballos-Francisco, D., Cordero, H., Guardiola, F. A., Cuesta, A., Esteban, M. Á. (2017). Healing and mucosal immunity in the skin of experimentally wounded gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 71: 210–219. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.10.017