

C. Bienestar animal I, II

EVALUACIÓN ELECTROENFALOGRAFICA DE LA CONTUSIÓN CRANEAL COMO MÉTODO DE ATURDIMIENTO DURANTE EL SACRIFICIO EN EL RODABALLO

C.A. Ramírez-Rodríguez¹, A. Verde¹, M. Chivite¹, O. González -Barreiro ², A. Riaza², J.M. Míguez¹

¹Centro de Investigaciones Marinas (CIM), Facultad de Biología, Universidad de Vigo.

²Stolt Sea Farm. España.

Trabajo Científico

El presente estudio analizó la eficacia de la contusión craneal para inducir la inconsciencia durante el sacrificio del rodaballo, siguiendo protocolos empleados de forma rutinaria en el sacrificio industrial. Para ello, se realizaron registros electroencefalográficos (EEG) antes y después de la contusión craneal y se analizaron las respuestas visuales evocadas (VERs) a estímulos lumínicos. Los resultados mostraron fuertes irregularidades en el EEG tras el aturdimiento, con alteración en el tipo de ondas predominante. El análisis espectral permitió determinar una fuerte caída de la potencia total de las ondas de alta frecuencia (alfa y beta), relacionadas con la consciencia, así como un aumento de las ondas delta y theta. Asimismo, se halló una falta total de VERs, indicando la pérdida de la percepción sensorial. Estos resultados sugieren que la contusión craneal en el rodaballo produce de forma inmediata insensibilidad e inconsciencia que permanece hasta la muerte del animal, validando su uso en el sacrificio.

Introducción

A pesar de no existir una legislación que regule de manera estricta los métodos de sacrificio en peces, predomina la recomendación de inducir la inconsciencia previa a fin de evitar que sufran o que padezcan estrés o miedo durante el proceso. El método empleado mayoritariamente en el cultivo de rodaballo es la inmersión en una mezcla agua-hielo (1-2 °C). Sin embargo, este método ha sido cuestionado ya que la disminución que provoca el frío en el metabolismo del animal atenúa la actividad cerebral sin que realmente se pueda concluir una anulación de esta (Lambooij *et al.*, 2015).

La necesidad de aturdir los peces durante el sacrificio hace necesaria la búsqueda de procedimientos alternativos apropiados a la especie y tamaño de los individuos, así como corroborar su eficacia para inducir la inconsciencia de forma inequívoca. En el rodaballo, una de las metodologías utilizadas de forma habitual para demostrar esta eficacia es la evaluación de respuestas a estímulos sensoriales tras el aturdimiento mediante el conocido como test de Morzel (Morzel *et al.*, 2003), aunque ello conlleva un alto nivel de subjetividad en la evaluación. De forma complementaria, la determinación de los cambios en la actividad cerebral se ha postulado como la metodología de uso preferente para validar los métodos de aturdimiento durante el sacrificio de los peces (Bowman *et al.*, 2020).

La contusión craneal es un método alternativo usado de forma industrial en el sacrificio del rodaballo en individuos de tamaños comerciales (1-2.5 kg), habiéndose desarrollado equipos de contusión automatizados que garantizan la repetitividad de la contusión. El presente estudio tuvo por objetivo evaluar la eficacia del aturdimiento por contusión craneal en rodaballo mediante el uso de técnicas electroencefalográficas que permitan estimar los cambios en la actividad cerebral en los peces durante su sacrificio.

Material y Métodos

Los experimentos se realizaron en una granja de la empresa Stolt Sea Farm (Lira, A Coruña) Se utilizaron rodaballos (*Scophthalmus maximus*) de 1-2.5 kg, mantenidos en tanques bajo condiciones naturales. Tras anestesia, se realizaron dos pequeñas perforaciones en el hueso craneal para implantar electrodos de acero inoxidable, uno en la zona del telencéfalo (electrodo de registro) y el otro en la zona del tallo cerebral (electrodo de referencia), siendo fijados al hueso con cianoacrilato. Un tercer electrodo implantado en la piel, en la proximidad de la aleta pectoral, sirvió para monitorizar la actividad cardíaca. Los registros del

EEG se realizaron con ayuda del sistema Neurolog (Digitimer) y una interfaz de adquisición de datos. Durante el periodo de pre-aturdimiento se aplicaron pulsos lumínicos programados (30 pulsos de 30 segundos, cada 3 min). Posteriormente, se retiraron los electrodos y se procedió a la contusión craneal por medio de un equipo semiautomático. Inmediatamente, se recolocaron los electrodos y, con apenas 1 minuto de retraso, se monitorizó el EEG durante al menos 15 minutos, aplicando pulsos lumínicos programados.

El análisis del EEG se llevó a cabo mediante el software Spike2 y la transformada rápida de Fourier. Tras el filtrado de artefactos se promediaron las fases de estimulación lumínica para obtener una onda promedio de la respuesta a estímulos visuales (VER) en ambos estados, pre- y post- aturdimiento. Igualmente, se realizó el análisis espectral entre 0.05 y 32 Hz para medir la potencia total, la de las ondas alfa (8-13 Hz) y beta (13-32 Hz), la mediana de la frecuencia y la frecuencia del borde espectral.

Resultados y Discusión

El análisis espectral de la actividad eléctrica cerebral mostro que tras la contusión craneal existe una fuerte caída de la potencia total de las ondas de alta frecuencia (alfa y beta). Dado que las ondas alfa y beta se relacionan con estados de activación cerebral, este dato sugiere la pérdida de consciencia, la cual ocurre desde el primer momento en que se pudo registrar el EEG (1 minuto tras la contusión). Además, los valores de mediana de la frecuencia y frecuencia de borde espectral disminuyeron drásticamente tras la contusión, indicando el aumento en la dominancia de las ondas de baja frecuencia (delta y theta) relacionadas con estados de baja actividad mental y de inconsciencia (Bowman *et al.*,2020).

La aplicación de los pulsos lumínicos en la fase de pre-aturdimiento produjo alteraciones inmediatas en la potencia del EEG, correspondiéndose con las conocidas como Respuestas Visuales Evocadas (VERs). Tras la contusión, se constató la ausencia total de VERs al aplicar estímulos de luz, sugiriendo que en esta fase ya no existe procesamiento de señales visuales en el cerebro, lo que se puede asociar a un estado de inconsciencia en los peces (Bowman *et al.*,2020).

En resumen, los datos obtenidos indican que la contusión craneal induce cambios en la actividad cerebral del rodaballo compatibles con la perdida inmediata de sensibilidad y consciencia hasta su muerte, probablemente por hemorragia cerebral. En este sentido, el estudio aporta datos que validan el uso de la contusión como alternativa para el aturdimiento durante el sacrificio industrial del rodaballo.

Palabras clave

Electroencefalografía, bienestar animal, sacrificio, rodaballo.

Bibliografía

- Bowman, J., N. van Nuland, P. Hjelmstedt, C. Berg, C. y A. Gräns. 2020. Evaluation of the reliability of indicators of consciousness during CO₂ stunning of rainbow trout and the effects of temperature. *Aquaculture Research*. 51(12): 5194-5202
- Lambooi, B., M. Bracke, H. Reimert, A. Foss, A. Imsland y H. van de Vis. 2015. Electrophysiological and behavioural responses of turbot (*Scophthalmus maximus*) cooled in ice water. *Physiology & Behavior* 149:23-28.
- Morzel, M., D. Sohier y H. van de Vis. 2003. Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(1): 19-28.

Agradecimientos

Estudio financiado por contrato ref. CO-0077-20022 (Stolt Sea Farm y Universidad de Vigo) y por Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia, Ministerio de Ciencia e Innovación (UE Next Generation); Xunta de Galicia (UE FEMP). Los autores agradecen expresamente la colaboración del equipo del Departamento de Producción de Rodaballo de Stolt Sea Farm.

Correo del Autor carlosandres.ramirez.rodriquez@uvigo.gal