

Review

Malformaciones craneales en larvas y juveniles de peces cultivados

Wilfrido Argüello-Guevara¹, Milton Bohórquez-Cruz² & Alfonso Silva³

¹Doctorado en Acuicultura, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar
Universidad Católica del Norte, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

²Magister en Acuicultura, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar
Universidad Católica del Norte, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

³Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte
Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

RESUMEN. Las malformaciones óseas en peces cultivados representan un gran problema en acuicultura, no sólo por las pérdidas económicas que puede generar el mantenimiento de peces que no serán utilizados, sino también por las complicaciones a nivel fisiológico y morfológico que sufren los peces a lo largo de su ciclo de vida. Estas malformaciones pueden tener inicio desde los primeros estados de desarrollo y estar asociadas a una degeneración de las estructuras óseas con la edad, o a factores genéticos, nutricionales, ambientales, de manejo o una interacción entre éstas, haciéndose difícil la determinación de un solo agente causal. La presente revisión resume la información existente sobre la tipología, momento de aparición y posibles factores causales asociados a las malformaciones esqueléticas con particular énfasis en las malformaciones a nivel craneal.

Palabras clave: malformaciones craneales, genética, nutrición, factores abióticos, acuicultura.

Cranial malformations in larvae and juveniles of reared fish

ABSTRACT. Skeletal malformations in farmed fish are a major problem in aquaculture, not only for economic losses that can generate the maintenance of deformed fish, but also by the physiological and morphological implications in fish along life cycle. These malformations may be starting from the earliest stages of development and be associated with a degeneration of the bone structure with age, or genetic, nutritional, environmental factors and management, or relate to each other, making difficult to determine a single causative agent. The present critical review summarizes existing information on type, occurrence and possible causative factors associated with skeletal malformations with particular emphasis on cranial malformations.

Keyword: cranial malformations, genetics, nutrition, environmental factors, aquaculture.

Corresponding author: Wilfrido Argüello-Guevara (warguello7@outlook.com)

INTRODUCCIÓN

El principal objetivo de la acuicultura es obtener máximos rendimientos (tasas de crecimiento y supervivencia) mediante la aplicación de condiciones óptimas de cultivo durante los ciclos larvales y engorde de peces. Sin embargo, según Barahona-Fernandes (1982) estas condiciones óptimas reducen la selección natural y dan paso a la aparición de gran número de anomalías o malformaciones pocas veces observadas en la naturaleza, lo que conlleva a consecuencias negativas en el desarrollo, comportamiento biológico y bienestar del animal en cultivo y posteriormente, a pérdidas económicas por la reducción del valor del producto e imagen de comercialización de los

individuos deformados que alcanzan tallas comerciales. Las malformaciones esqueléticas, especialmente craneales y a nivel del eje vertebral, han sido reportadas en casi todas las especies de peces de cultivo con variada incidencia y severidad (Georgakopoulou *et al.*, 2007), desarrollándose, principalmente durante la ontogenia hasta la metamorfosis.

Entre las causas a las que se ha asociado la aparición de malformaciones esqueléticas se encuentra la intensificación de los cultivos, condiciones abióticas desfavorables, desbalances nutricionales, enfermedades y factores genéticos (Andrades *et al.*, 1996; Cahu *et al.*, 2003; Fraser & de Nys, 2005; Georgakopoulou *et al.*, 2007; Verhaegen *et al.*, 2007; Izquierdo *et al.*, 2010). El objetivo de la presente revisión bibliográfica, es

resumir la información existente sobre las características y las causas de las malformaciones craneales en larvas de peces cultivados.

Momento de aparición y frecuencia de malformaciones craneales en larvas de peces cultivados

En los peces cultivados a nivel comercial, e inclusive en las especies candidatas potenciales para acuicultura, las malformaciones esqueléticas craneales ocurren en diferentes estados de desarrollo de cada especie (Fraser & de Nys, 2005) y su detección durante los primeros estados de desarrollo larval, parece estar ligada al grado de severidad de dichas malformaciones (Barahona-Fernandes, 1982; Matsuoka, 2003) y a las técnicas de detección temprana que se apliquen (Morel *et al.*, 2010), siendo obvias en peces más grandes (Norcross *et al.*, 1996; Gjerde *et al.*, 2005) lo que se asocia a una degeneración de los huesos con la edad (Van Den Avyle *et al.*, 1989) sin que se descarte su presencia desde el inicio del periodo de cultivo (Haga *et al.*, 2003; Lewis-McCrea & Lall, 2006; Bardon *et al.*, 2009; Georgakopoulou *et al.*, 2010). Para Kadry (2012), la mayoría de las malformaciones esqueléticas presentes en peces marinos cultivados se desarrollan durante los estados larvales y juveniles. Mientras que, según Boglione *et al.* (2013a) las malformaciones esqueléticas severas pueden ocurrir a lo largo del ciclo de vida de los peces, pero su desarrollo a menudo comienza con leves aberraciones de los elementos internos.

Generalmente, las malformaciones morfológicas no son comunes en poblaciones naturales; sin embargo, la incidencia de malformaciones en larvas de peces, no sólo está relacionada con la domesticación de la especie en ambientes de cultivo controlados. Así, en poblaciones naturales de *Plecoglossus altivelis* se ha reportado una frecuencia de malformaciones (craneales y vertebrales) de 0,15%, aunque este valor es significativamente menor a los 70,1% encontrados en ambientes controlados (Komada, 1980). En juveniles silvestres de *Pagrus major* se registró un promedio de 0,2 huesos anormales por espécimen, mientras que los peces cultivados tuvieron un promedio de 2,01 a 2,14 huesos anormales (Matsuoka, 2003). Barahona-Fernandes (1982) por su parte, señaló que aproximadamente el 90% de los especímenes de *Dicentrarchus labrax* cultivados, presentaron malformaciones operculares. En el cultivo intensivo de *Latris lineata* se ha observado altos porcentajes de malformaciones mandibulares durante la post-flexión de las larvas y a una longitud estándar de 10 mm (Cobcroft *et al.*, 2001). Por su parte, en el cultivo de *Sparus aurata*, el momento más temprano de aparición no ha sido precisamente detectado, pero se piensa que puede ser durante la deshabitación y/o fase de pre-crecimiento (Koumoun-

douros *et al.*, 1997). En la Tabla 1 se presenta una revisión del momento de aparición y frecuencia de malformaciones craneales reportadas en larvas y juveniles de peces cultivados.

Tipos de malformaciones craneales

El término malformaciones morfo-anatómicas se utiliza para describir alguna desviación de la morfología externa, el cual usualmente está asociado a defectos en la anatomía interna (Koumoundouros, 2010). Estas malformaciones son desviaciones irreversibles naturales o inducidas de la morfología estándar y fisiología de los peces silvestres tomados como referencia (Beraldo *et al.*, 2003). Aunque se ha observado que a pesar de severas malformaciones, en algunos casos, se puede recuperar la integridad anatómica del complejo opercular (Beraldo & Canavese, 2011). De acuerdo a Divanach *et al.* (1996), las principales malformaciones morfológicas en peces se pueden agrupar en cinco categorías principales dependiendo del aspecto involucrado; forma, pigmentación, nivel, estructura y vejiga natatoria, pudiendo ser clasificadas como morfológicas y estructurales, que negativamente afectan las funciones biológicas. En este sentido por ejemplo, la respiración puede verse afectada por la reducida eficiencia del bombeo bucal y las branquias expuestas pueden ser más susceptibles a daños físicos (estrés) y a infección de hongos, bacterias y parásitos (Galeotti *et al.*, 2000).

Además, la supervivencia de larvas deformes se puede ver afectada directa o indirectamente por el reducido crecimiento y un subsecuente incremento del canibalismo por los individuos más grandes de la población (Georgakopoulou *et al.*, 2010). Las malformaciones a nivel cefálico, se desarrollan principalmente en la cubierta de las branquias (complejo opercular) –que pueden ocurrir a niveles superiores al 80%–, mandíbulas y arco hioideo, con una gran variabilidad e intensidad (Koumoundouros, 2010). La anomalía más frecuente es la reducción de la cubierta de las branquias, que es inducida principalmente por un doblamiento interior del opérculo y sub-opérculo durante el estado larval temprano (Koumoundouros, 2010).

Algunas características de las malformaciones del complejo opercular han sido descritas por Beraldo *et al.* (2003) de la siguiente forma: i) un plegamiento del opérculo dentro de la cámara branquial, iniciando en la esquina superior de la hendidura branquial y extendiéndose hacia abajo al tercio inferior; ii) depresión externa cóncava en el complejo opercular con una consecuente regresión del borde suelto del opérculo con un ensanchamiento de la hendidura branquial en el tercio medio superior y una posible exposi-

Tabla 1. Momento de aparición, tipo y frecuencia de malformaciones craneales reportadas en peces cultivados. dpe:días post-eclosión, nm: no menciona.

Especie	Tipo de malformación o parte afectada	Frecuencia (%)	Momento de detección	Referencia
<i>Lates calcarifer</i>	Mandíbula cortas y apretadas	4,24 - 35,71	18 dpe	Fraser & de Nys (2005)
<i>Cyprinus carpio</i>	Boca incapaz de cerrar	0,4 - 36,5	nm	Kocour <i>et al.</i> (2006)
<i>Pagrus major</i>	Mandíbulas acortadas	68,0	nm	Matsuoka (2003)
<i>Seriola lalandi</i>	Mandíbulas superior e inferior	nm	4 - 8 - 16 dpe	Cobcroft <i>et al.</i> (2004)
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	Boca abierta	13,2 - 25,0	145 UTA	Morrison & MacDonald (1995)
<i>Pagrus pagrus</i>	Complejo opercular y mandíbula	3,1 - 6,8	4,1 mm	Roo <i>et al.</i> (2010)
<i>Paralichthys olivaceus</i>	Mandíbulas superior e inferior	20	9 dpe	Haga <i>et al.</i> (2003)
<i>Latris lineata</i>	Mandíbulas superior e inferior arco hioideo	nm	post-flexión	Cobcroft <i>et al.</i> (2001)
		7,0 - 70	>15 dpe	Cobcroft <i>et al.</i> (2012)
		18,0 - 64,0	post-flexión	Cobcroft & Battaglene (2009)
<i>Sparus aurata</i>	Esqueleto hiobranquial complejo opercular	40 - 80	nm	Koumoundouros (2010)
		4,6 - 16,7	21 - 35 dpe	Koumoundouros <i>et al.</i> (1997)
		22,7 - 77,3	25 - 40 dpe	Beraldo <i>et al.</i> (2003)
		7,5 - 31,9	17 - 20 dpe	Galeotti <i>et al.</i> (2000)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Rayos branquioestegales complejo opercular	4,0 - 33,4	nm	Georgakopoulou <i>et al.</i> (2007)
		15,7 - 43,9	juveniles	Abdel <i>et al.</i> (2004)
<i>Chanos chanos</i>	Membrana branquioestegal complejo opercular	3,0 - 26,0	juveniles	Hilomen-García (1997)
		8,4 - 33,5	40 dpe	Gapasin <i>et al.</i> (1998)
		6,8 - 32,4	juveniles	Gapasin & Duray (2001)

ción de las branquias; iii) carencia parcial del opérculo con una regresión del borde suelto extendido hacia abajo al tercio inferior; y iv) una carencia parcial del opérculo o un pliegue de este hacia dentro como en (i), principalmente en el tercio inferior, junto con una hipogenesia o excesivo plegamiento de los rayos branquioestegales.

En un estudio con *Sparus aurata*, se señalaron cuatro tipos de huesos del complejo opercular comprometidos con malformaciones, rayos branquioestegales, opérculo, sub-opérculo y pre-opérculo. Estos huesos aparecen plegados hacia el interior o exterior del cuerpo, con talla normal o reducida y en algunas ocasiones con desplazamientos o fusiones (Koumoundouros *et al.*, 1997). Además, se han definido 13 distintos tipos de complejos operculares anormales (Koumoundouros *et al.*, 1997). Las malformaciones a nivel de la membrana branquioestegal también pueden inducir deformaciones a nivel del opérculo, puesto que sin la membrana, el complejo de huesos operculares puede ser fácilmente deformado mecánicamente durante el crecimiento y desarrollo (Hilomen-García, 1997; Galeotti *et al.*, 2000). En *Seriola lalandi* se han registrado reducciones del arco hioideo, rompimiento del cartílago de Meckel y posicionamiento anormal de la mandíbula inferior en larvas cultivadas de 4, 8 y 16 días de edad (Cobcroft *et al.*, 2004). Larvas con saco vitelino de *Hippoglossus hippoglossus* también mostraron una malformación similar, antes de la alimentación exógena (Morrison & MacDonald, 1995).

Las malformaciones mandibulares son comunes pero se manifiestan en diferentes formas (Cobcroft *et al.*, 2004). En el trabajo de Fraser & de Nys (2005) con larvas de *Lates calcarifer* se describió por primera vez una malformación a nivel mandibular no encontrada en otras especies, a la cual los autores denominaron “pinched” (mandíbula apretada). En *Latris lineata* las malformaciones mandibulares se han caracterizado por la apertura de la mandíbula y la alineación dorso-ventral de la maxila y pre-maxila, con el elemento anterior del arco hioideo posicionado en forma ventral (Cobcroft *et al.*, 2001). En *Pagrus major* la mandíbula superior acortada no es una malformación observada frecuentemente, mientras que son más comunes las malformaciones a nivel de los elementos de la mandíbula inferior (Matsuoka, 2003). Para Haga *et al.* (2003) existe un desarrollo diferencial entre la mandíbula superior y la inferior.

Varias formas de malformaciones a nivel bucal han sido reportadas en peces, incluyendo: mordida en cruz, boca en forma de ventosa, elongación y reducción de la mandíbula inferior (Barahona-Fernandes, 1982), síndrome de la deformidad de la mandíbula inferior (Sadler *et al.*, 2001) y síndrome de la boca abierta,

caracterizada porque en la mandíbula inferior, incluyendo el cartílago de Meckel, los huesos angulares y dentarios se doblan ventral-temporal-lateralmente quedando la boca permanentemente abierta con una estrecha abertura dorso-ventral (Morrison & MacDonald, 1995; Cobcroft *et al.*, 2001). Así mismo, la compresión antero-posterior de la región etmoidal y maxilar superior conocida como “pugheadness” ha sido reportada en varias especies (Barahona-Fernandes, 1982; Hilomen-García, 1997; Koumoundouros *et al.*, 2004). En poblaciones naturales y de cultivo de *Plecoglossus altivelis* se ha encontrado que las malformaciones de la forma de la boca y el síndrome de la boca abierta fueron las más frecuentes (Komada, 1980). Por otro lado, en la carpa común *Cyprinus carpio*, se codificaron las malformaciones según la capacidad para cerrar la boca cuando presentaron la deformidad (Kocour *et al.*, 2006). Este tipo de malformaciones afectó significativamente el crecimiento y peso corporal del pez, debido a la dificultad para ingerir alimento (Pittman *et al.*, 1989). Según Koumoundouros *et al.* (1997) se requiere un mejor entendimiento del desarrollo normal y la caracterización del desarrollo anormal como primer paso para solucionar la incidencia de malformaciones a nivel cefálico. En *Seriolella violacea*, especie candidata para acuicultura en la zona norte de Chile, se ha observado que existe incidencia de malformaciones a nivel cefálico (Fig. 1), sin que existan datos específicos al respecto. Actualmente, en el laboratorio de peces marinos de la Universidad Católica del Norte (Chile) se está trabajando para determinar la ocurrencia, tipo y causas de las malformaciones en esta especie.

Factores causales de malformaciones craneales en peces

La ontogenia de las malformaciones craneales puede tener numerosos orígenes. Sin embargo, según Boglione *et al.* (2013b) la determinación del factor causal es complicada por las siguientes observaciones: i) diferentes factores no genéticos pueden inducir la misma anomalía en diferentes especies; ii) el mismo factor puede inducir diferentes malformaciones en diferentes especies de peces; iii) las malformaciones son inducidas por diferentes factores en diferentes cohortes de la misma especie; iv) la sensibilidad del pez a un factor causal puede cambiar dramáticamente durante la ontogenia; v) la acción de un simple factor causal puede ser compensada por un factor diferente; vi) factores particulares muestran una alta correlación con malformaciones en una región particular del cuerpo en algunas especies, pero no en otras especies, y vii) el mismo factor causal puede provocar una alta incidencia de malformaciones en algunos elementos esqueléticos,

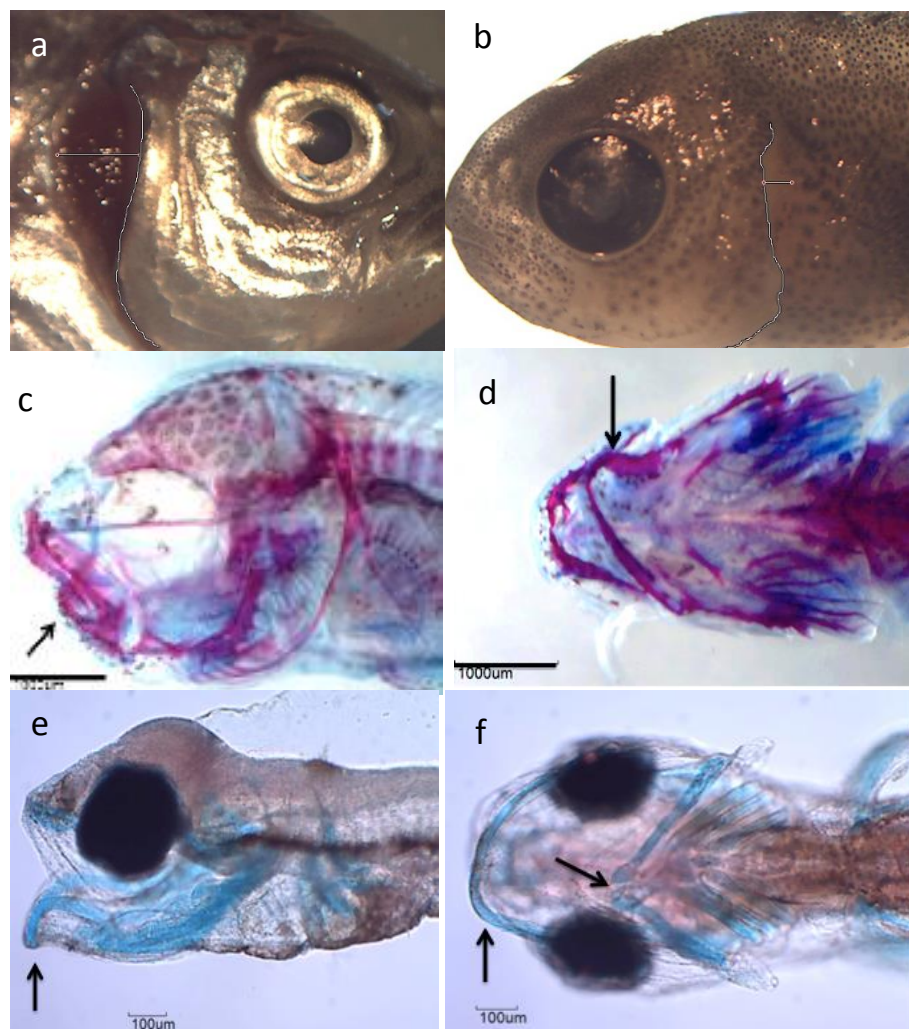


Figura 1. Ejemplares de *Seriolella violacea* cultivados en el Laboratorio de Peces Marinos de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. a) Juvenil de 105 días post-eclosión (dpe) con severo acortamiento de opérculo y branquias expuestas, b) juvenil de 94 dpe con opérculo acortado, c-d) juvenil de 60 dpe con mandíbula inferior corta y torcida, huesos dentarios dispuestos de forma asimétrica, e) larva de 8 dpe, cartílago de Meckel curvado hacia abajo formando un ángulo de 86 grados, f) larva de 8 dpe, con asimetría en los arcos branquiales, desplazados hacia un costado y cartílago de Meckel con forma irregular.

pero no en otros con el mismo tipo de hueso y osificación en el mismo individuo. En la Tabla 2 se indican algunos tipos de malformaciones craneales con el factor causal asociado.

Factores genéticos

Los factores genéticos pueden ser causales de aparición de malformaciones esqueléticas (Aluko *et al.*, 2001; Gjerde *et al.*, 2005; Bardon *et al.*, 2009), mientras que en algunos casos han sido considerados marginales (Afonso *et al.*, 2000; Kocour *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2011), en este último caso, el origen de las deformidades deberá correlacionarse como consecuencia de

factores externos (Matsuoka, 2003, Castro *et al.*, 2008). No obstante lo anterior, la literatura disponible en relación a los factores genéticos como causal de malformaciones esqueléticas, en su mayoría corresponde a deformidades y anomalías del eje vertebral o estructuras apendiculares, deformidades no incluidas en la presente revisión. En *Salmo salar* se ha determinado que la triploidía es propensa a una alta prevalencia de malformaciones a nivel de la cubierta de las branquias y de la mandíbula inferior, pudiendo ser letales (Sadler *et al.*, 2001). Mientras que, las mutaciones de genes pueden causar reducción en los elementos de los arcos branquiales anteriores en *Danio rerio* (Piotrowski *et al.*,

Tabla 2. Factores causales de malformaciones craneales evaluados en peces de cultivo.

Factor causal asociado	Especie	Estado ontogénico	Tipo de malformación craneal	Referencias
Factores genéticos				
Herencia	<i>Cyprinus carpio</i> <i>Salmo salar</i> <i>Salmo salar</i>	Juvenil	Malformaciones bucales Pugheadness Opérculo corto, ausencia de filamentos branquiales, malformaciones mandibulares	Kocour <i>et al.</i> (2006) Gjerde <i>et al.</i> (2005) Sadler <i>et al.</i> (2001)
Triploidía	<i>Danio rerio</i>	Larva	Malformaciones craneofaciales	Germanguz & Gitelman (2012)
Factores nutricionales				
Deficiencia de vitamina C	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Juvenil (8-10 mm)	Hocico corto	Wimberger (1993)
Desbalance de vitamina A	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Larva y juvenil	Malformaciones en maxilar, premaxilar, dentario, rayos branquioestegales y opérculo	Mazurais <i>et al.</i> (2009) Villeneuve <i>et al.</i> (2005)
Deficiencia de DHA	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Juvenil	Maxilar, premaxilar, dentario extremadamente deprimidos trabécula corta	Haga <i>et al.</i> (2003)
Deficiencia de fósforo	<i>Chanos chanos</i> <i>Paralichthys olivaceus</i>		Malformaciones operculares	Gapasin & Duray (2001)
Factores ambientales			Opérculo deformado	Uyan <i>et al.</i> (2007)
Temperatura	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Larva	Boca abierta, opérculos anormales. Forma y orientación de los rayos branquioestegales anormales	Koumoundouros <i>et al.</i> (2001) Abdel <i>et al.</i> (2004)
Temperatura y fotoperíodo	<i>Sparus aurata</i> <i>Solea senegalensis</i>	Larva y juvenil Larva	Opérculo y sub-opérculo plegado Malformación mandibular	Georgakopoulou <i>et al.</i> (2007) Georgakopoulou <i>et al.</i> (2010) Blanco-Vives <i>et al.</i> (2010) Dionisio <i>et al.</i> (2012) Okamoto <i>et al.</i> (2009)
Disminución de salinidad	<i>Anguilla japonica</i>	Larva	Mandíbula inferior curvada hacia abajo	
Otros factores				
Intensificación del cultivo	<i>Pagrus pagrus</i>	Larva	Torción de la trabécula	Roo <i>et al.</i> (2010)
	<i>Epinephelus marginatus</i>	Larva y juvenil	Cartilago de Meckel curvado hacia abajo	
	<i>Sebastiscus marmoratus</i> <i>Hippoglossus hippoglossus</i>	Larva	Malformaciones mandibulares, del complejo opercular y dentario reducido Mandíbula inferior corta	Bogliione <i>et al.</i> (2009) Zhang <i>et al.</i> (2012)
Contaminantes (TBT)	<i>Latris lineata</i>	Juvenil	Boca abierta, cartilago de Meckel plegado	Morrison & MacDonald (1995)
Abrasión de la cabeza e invasión de patógenos			Boca abierta	Cobcroft & Battaglione (2009)
Color de tanque y comportamiento larval			Mandíbula inferior reducida	Izquierdo <i>et al.</i> (2010)
Intensificación del cultivo y wall-nosing	<i>Pagrus pagrus</i>	Juvenil	Maxilar superior reducido. Boca tipo mordida en cruz	

1996). Además, en el trabajo de Beraldo *et al.* (2003), se determinó que las malformaciones presentes a nivel del complejo opercular encontrados en *Sparus aurata* no fueron producto de la herencia genética debido a la aleatoria e independiente posición de irregularidades operculares (en uno o ambos lados), variación de la incidencia, rareza de anomalías de los huesos en el opérculo y la variedad de formas presentes. Estudios en malformaciones operculares en *S. aurata* han concluido que la deformación unilateral es independiente del lado, mostrando un modelo de asimetría fluctuante (Galeotti *et al.*, 2000; Beraldo *et al.*, 2003). Verhaegen *et al.* (2007), sugieren un modelo de asimetría unidireccional en la misma especie, relacionado como un factor heredado, mientras que la asimetría fluctuante es atribuido a factores ambientales y su efecto en la inestabilidad del desarrollo durante los primeros estados de vida (Barahona-Fernandes, 1982). Así mismo, Kocour *et al.* (2006), estimaron la heredabilidad y correlación genética para deformidades de la boca, de progenies de carpa común (*C. carpio*) obtenidas de cruces de 147 machos con 8 hembras, y concluyeron que no existió un control genético de las malformaciones. Sin embargo, el peso del cuerpo y la longitud estándar de la progenie, se vio afectada significativamente por la severidad de la malformación bucal, indicando otras posibles causas como las condiciones del cultivo o la infestación por patógenos. Según Bardon *et al.* (2009), uno de los principales problemas para estimar los parámetros genéticos en peces, es la inhabilidad de etiquetar las larvas y consecuentemente la necesidad de cultivar por separado las familias hasta alcanzar tallas posibles de etiquetar, lo cual puede sesgar o parcializar la precisión de los parámetros estimados. Además, varios estudios parecen estar de acuerdo en una base genética para malformaciones esqueléticas, aunque esta predisposición es expresada solamente cuando ocurren condiciones ambientales excepcionales (fallas de energía, cambios de temperatura en el cultivo, etc., Boglione *et al.*, 2013a).

Factores nutricionales

La nutrición larval, particularmente ácidos grasos o niveles de ciertas vitaminas y minerales, también ha sido implicada en la ocurrencia de malformaciones craneales (Gapasin *et al.*, 1998). Malformaciones en larvas de *Latris lineata* pueden estar relacionadas a un alto requerimiento de una relación DHA: EPA (ácidos docosahexaenoico y eicosapentaenoico, respectivamente), mayor a 2:1 (Sargent *et al.*, 1999) especialmente alrededor de la etapa de flexión (Cobcroft *et al.*, 2001). Así mismo, la incidencia de ciertas malformaciones craneales en larvas de peces como por ejemplo la malformación de la mandíbula de

Plecoglossus altivelis ha sido relacionada a la insuficiente inclusión de fosfolípidos en la dieta (Kanazawa *et al.*, 1981) y la malformación del opérculo de *Chanos chanos* ha sido relacionada a la insuficiencia de ácidos grasos altamente insaturados o vitamina C (Gapasin *et al.*, 1998). Los ácidos grasos altamente insaturados, actúan en el genoma a través de receptores nucleares específicos, así como receptores de peroxisoma-proliferador activado que junto con el receptor X retinoide (RXR) están involucrados en el desarrollo esquelético durante la ontogénesis (Cahu *et al.*, 2003). Las vitaminas también juegan un rol importante en la aparición de malformaciones. En *Paralichthys olivaceus* las malformaciones encontradas han sido asociadas con niveles de deficiencia o exceso de vitamina A (VA) (Dedi *et al.*, 1995; Takeuchi *et al.*, 1998; Haga *et al.*, 2002). El ácido retinoico (AR; vitamina A) está involucrado en la diferenciación, crecimiento y desarrollo de las células y tejidos durante el desarrollo embrionario y post-embrionario (Mazurais *et al.*, 2009). El ácido retinoico, ejerce su efecto a través de la unión de los receptores RARs y RXRs que pueden ser modulados por niveles de inclusión de ácidos grasos poli-insaturados y VA en la dieta (Villeneuve *et al.*, 2005). Existe una correlación lineal entre los niveles dietéticos de la VA en tejidos larvales y la incidencia de desórdenes esqueléticos que han sido asociados a la modificación de varios receptores nucleares de AR así como modelos de expresión de RXR α , RAR α y RAR γ . Además, debido a las altas tasas de crecimiento de las larvas pueden tener altos e inusuales requerimientos de VA, siendo la relación VA e incidencias de malformaciones craneales muy común (Boglione *et al.*, 2013a). En el estudio de Mazurais *et al.* (2009), en lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), la inclusión de bajos niveles de ácido retinoico en la dieta (5-10 mg kg⁻¹) dieron como resultado la menor incidencia de malformaciones craneales en relación a otros niveles de inclusión (15-70 mg kg⁻¹). Así mismo, en *Sparus aurata* se ha encontrado que la mayor frecuencia de malformaciones mandibulares y opérculos anormales se registró cuando se incluyeron altas dosis de VA (188 y 723 ng VA total mg⁻¹ de peso seco) en la dieta (Fernández *et al.*, 2008). Sin embargo, estos autores indican que los niveles óptimos de AR para esta especie dependerá en gran medida de los elementos esqueléticos a considerar. El ácido ascórbico (vitamina C) en la dieta es ampliamente reconocido como un factor que influye en el desarrollo de las malformaciones esqueléticas en teleósteos juveniles y adultos (Dabrowski *et al.*, 1988; Chávez de Martínez, 1990; Gapasin *et al.*, 1998; Cahu *et al.*, 2003), siendo esencial para la producción de colágeno para la correcta formación de las estructuras óseas y cartílagos de soporte (Gapasin & Duray, 2001). Así mismo, la irregular mineralización por deficiencias

nutricionales y las alteraciones del metabolismo de sales de calcio/vitamina D que provocan debilidad y plegamiento del opérculo, pueden ser causas principales de estas malformaciones. Peces teleósteos marinos tienen grandes reservas de vitamina D₃ (1, 25-dihidroxi vitamina D), y existe evidencia de una posible interacción entre vitamina D con el metabolismo del calcio, ligados indirectamente al fósforo y metabolismo óseo. Así mismo, se ha demostrado una interacción de AR y calcitriol (metabolito polar formado por hidroxilación de la vitamina D₃, Boglione *et al.*, 2013a), mientras que el AR inhibe la formación de la matriz ósea, también parece activar a los genes involucrados en la mineralización de la matriz, y la supresión de niveles de calcitriol en el plasma puede explicar parcialmente los efectos de la VA en los huesos de *Salmo salar* (Ørnsrud *et al.*, 2009). Sin embargo, es necesario un mejor entendimiento del rol de la vitamina D en el metabolismo de tejidos esqueléticos y sitios de acción de los metabolitos (Lall & Lewis-McCrea, 2007; Darias *et al.*, 2011). Los minerales como calcio y fósforo también han sido evaluados como posibles causas de malformaciones craneales, por su importante rol dentro del crecimiento y la mineralización ósea. En este sentido, niveles deficientes de fósforo en dietas para *Paralichthys olivaceus* han dado como resultado el incremento de opérculos deformados, alteración en la ultra-estructura ósea y retardo en el crecimiento, excluyendo este último, la principal patogénesis de la deficiencia del fósforo dietario es la falla en la mineralización de tejidos duros como huesos y cartílagos (Uyan *et al.*, 2007). A pesar que las deficiencias de calcio no son comunes en peces, su rol es importante por su estrecha relación con el P en el desarrollo y el mantenimiento del sistema esquelético, una óptima relación de Ca y P dietarios ha sido reportado para *S. aurata* y *Anguilla japonica* en 1:2 y 1:1, respectivamente (Lall & Lewis-McCrea, 2007). En general, las funciones principales de los macro- y micronutrientes en vertebrados, involucran transducciones estructurales, catalíticas y de señalización (Lall & Lewis-McCrea, 2007). Por otro lado, Abdel *et al.* (2004) concluyeron *a priori* que factores nutricionales no son responsables para la aparición de malformaciones en *D. labrax*, debido a que las larvas fueron alimentadas *ad libitum* con dietas estándares capaces de suplir los requerimientos nutricionales de esta especie. No sólo la alimentación y nutrición durante el desarrollo larval debe ser considerada como factor causal de malformaciones en los peces cultivados. La presencia de deformaciones mandibulares en etapas tempranas de desarrollo (4 dpe: días post-eclosión) en *Seriola lalandi* sugiere que la nutrición de los reproductores y las reservas endógenas de la yema del huevo pueden estar involucrados en la malformación mandibular, sin descartar los factores

ambientales y nutrición de las larvas (Cobcroft *et al.*, 2004).

Factores ambientales

La influencia de componentes abióticos sobre las malformaciones craneales en peces también ha sido evaluada. Se acepta generalmente, que las malformaciones esqueléticas pueden ser medioambientalmente inducidas por dos vías; 1) alteración de procesos biológicos necesarios para mantener la integridad bioquímica de los huesos, y 2) efectos neuromusculares que lideran a malformaciones sin un cambio en la composición esquelética (Van Den Avyle *et al.*, 1989). Entre estos factores causales, la temperatura del agua de cultivo ha sido sugerida como uno de los más importantes, a causa de su rol crucial en la ontogenia, control del crecimiento, desarrollo y supervivencia de animales exotérmicos (Koumoundouros *et al.*, 2001; Georgakopoulou *et al.*, 2007). La temperatura del agua, especialmente en los estados de desarrollo temprano de las larvas, puede ser responsable de malformaciones morfológicas (Polo *et al.*, 1991) y afectar la ontogenia esquelética (Blaxter, 1992). Las temperaturas apropiadas de cultivo redujeron las malformaciones craneales en *Hippoglossus hippoglossus* (Lein *et al.*, 1997) y en *D. labrax* (Georgakopoulou *et al.*, 2007). Por otro lado, se ha reportado que la temperatura del agua durante las fases embrionarias y larvales tiene un efecto significativo en la deformación de los rayos branquioestegales, pero no de la boca y aletas. De acuerdo a esto, larvas de *D. labrax* mantenidas a 15°C mostraron entre el 27,2 y 33,4% de los rayos branquioestegales con forma y/u orientación anormal, mientras que a 20°C esta deformidad tuvo una frecuencia de 4-14% (Georgakopoulou *et al.*, 2007). El opérculo y sub-opérculo también han sido reportados como estructuras afectadas por la influencia de la temperatura en *S. aurata* durante la metamorfosis (Georgakopoulou *et al.*, 2010). La tipología de malformaciones esqueléticas y la forma en que cada estructura es afectada por la temperatura parece ser especie y estado-específica (Dionisio *et al.*, 2012). Baeverfjord *et al.* (1999), mencionaron que la etiología para las deformaciones parece ser más compleja que una simple relación con la temperatura del agua durante la incubación de huevos en *Salmo salar*, por lo que no se puede subestimar la influencia de otros factores. Así por ejemplo, bajas salinidades (<33), incrementaron la incidencia de malformaciones de la mandíbula en larvas de *A. japonica*, probablemente por la presencia de edemas pericárdicos que empujaron la mandíbula hacia abajo (Okamoto *et al.*, 2009) y de *Ophiodon elongatus* por la alta demanda de energía para la osmoregulación de los huevos incubados en condiciones sub-óptimas de

salinidad (Cook *et al.*, 2005). En estudios con *Solea senegalensis*, se ha registrado una mayor proporción de malformaciones mandibulares asociadas a diferentes condiciones de luz, que cambian el comportamiento de las larvas en respuesta a la luz y que generan daños en los tejidos de la mandíbula por el contacto con la pared del tanque, comportamiento que se explica en el siguiente apartado (Blanco-Vives *et al.*, 2010). Por su parte, Villamizar *et al.* (2009) reportaron que a pesar de obtener mejor supervivencia en larvas de *D. labrax* a los 40 dpe, también existió una mayor frecuencia (38%) de individuos con mandíbula elongada cuando se cultivó con un régimen de 24 h luz.

Otros factores

Algunos trabajos sostienen que las malformaciones operculares y mandibulares pueden ser resultado de las actividades de manejo de los cultivos en condiciones de laboratorio y su efecto indirecto sobre el comportamiento de los peces. Así, las malformaciones craneales pueden ser causadas por estrés mecánico, especialmente durante la colección de huevos, transporte u operaciones de rutina en los laboratorios (Hilomen-García, 1997). La intensificación de los sistemas de cultivo también parece influir en la incidencia de malformaciones esqueléticas craneales (Roo *et al.*, 2010). El comportamiento larval de acercarse a la pared, aparentemente buscando alimento y que es conocido como comportamiento “wall-nosing” (husmeando la pared), asociado con el color del tanque, tiene el potencial de herir a las larvas que nadan vigorosamente (Cobcroft *et al.*, 2004) y provocar una alta incidencia de malformaciones mandibulares en *L. lineata* a los 29 dpe (Cobcroft *et al.*, 2012). Según Cobcroft & Battaglione (2009), existe una correlación positiva de este comportamiento con las anomalías asociadas a la mandíbula, debido probablemente a la abrasión mecánica que se genera por chocar con la pared del tanque que pueden dañar los elementos esqueléticos que conforman la mandíbula y estos daños a su vez, asociarse con infección de agentes patógenos que no permiten el normal desarrollo de la mandíbula o que incrementan la severidad de las malformaciones. De esta forma, modificando las condiciones de luz junto con el uso de la técnica de cultivo de aguas verdes (adición de microalgas a los sistemas) puede reducir este comportamiento (Bristow & Summerfelt, 1994; Cobcroft & Battaglione, 2009). Sin embargo, en *Epinephelus marginatus* se ha demostrado, que ni la reducción de las densidades de cultivo o diferentes metodologías utilizadas (aguas verdes) parecen tener efecto sobre la incidencia y tipología de malformaciones, requiriéndose más estudios sobre las causas de las malformaciones en esta especie (Bogliione *et al.*, 2009). Los juveniles de *D. labrax* exhibieron un alto

nivel de malformación (81%) probablemente debido a la intensa actividad natatoria de los peces durante el crecimiento (Bardon *et al.*, 2009). Los contaminantes pueden ser otra de las causas de aparición de malformaciones. En reservorios naturales la contaminación ambiental es frecuentemente responsable de la incidencia de peces deformes debido a concentraciones de contaminantes. Sin embargo, la ausencia de contaminantes en los tejidos del cuerpo de especímenes deformes de *Micropterus dolomieu* descarta esta posibilidad (Van Den Avyle *et al.*, 1989). Se ha reportado que la presencia de tributiltina (TBT), un compuesto orgánico del estaño, puede inducir malformaciones esqueléticas craneales y mandíbulas inferiores cortas en el pez de roca (*Sebastes marmoratus*), mediante la alteración de la expresión de genes codificantes para RARs y RXRs (Zhang *et al.*, 2012). El incremento de fenotipos desviados del patrón normal bajo condiciones ambientales adversas se ha observado también por Graham *et al.* (1993), quienes encontraron una alta frecuencia de malformaciones en la mandíbula inferior en poblaciones de pez dorado en lagos contaminados mientras que en lagos no contaminados no se registró un patrón anormal de crecimiento.

Por último, no se debe subestimar la incidencia de malformaciones debido a la presencia de agentes patógenos. Así, un anormal desarrollo mandibular en *H. hippogossus* parece estar asociada al desgaste de la cabeza y la invasión por organismos extraños (Morrison & MacDonald, 1995). Es evidente que un enfoque multifactorial sería necesario para determinar si un simple parámetro de cultivo es el agente causal de las malformaciones o es el efecto de una interacción de los parámetros físicos y químicos de cultivo.

CONCLUSIONES

A pesar que en los últimos años, las investigaciones se han enfocado hacia los factores causales de malformaciones esqueléticas y se han mejorado las prácticas de cultivo, estas malformaciones aún están presentes. Las malformaciones craneales, dependiendo de su severidad, son externamente observadas en especímenes en etapa juvenil y adulto, pero es posible que estos rasgos estén presentes desde el inicio del desarrollo larval. Son varios los factores que se han asociado como causas de malformaciones, como factores genéticos, ambientales, nutricionales y de manejo. Sin embargo, las conclusiones no son precisas y deberán ser determinadas, considerando que algunos, sino todos estos factores podrían estar correlacionados entre sí, por lo que el uso de modelos multiparamétricos de evaluación podrían ser más adecuados para identificar las causas de su aparición.

AGRADECIMIENTOS

W. Argüello-Guevara, agradece a la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación de Ecuador (SENESCYT) por el financiamiento de la beca para cursar el programa de Doctorado en la Universidad Católica del Norte, Chile.

REFERENCIAS

- Abdel, I., E. Abellán, O. López-Albors, P. Valdés, M.J. Nortes & A. García-Alcázar. 2004. Abnormalities in the juvenile stage of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) reared at different temperature, types, prevalence and effect on growth. *Aquacult. Int.*, 12: 523-538.
- Afonso, J.M., D. Montero, L. Robaina, N. Astorga, M.S. Izquierdo & R. Ginés. 2000. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. *Fish Physiol. Biochem.*, 22: 159-163.
- Aluko, P.O., J.I. Awopetu & A.O. Adeola. 2001. Genetic basis of pectoral fin deformities in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) and their hybrids. *Aquacult. Res.*, 32: 21-27.
- Andrades, J.A., J. Becerra & P. Fernández-Llebrez. 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 141: 1-11.
- Baeverfjord, G., I. Lein, T. Åsgård, M. Rye, A. Storset & S. Siikavuopio. 1999. Vertebral deformations induced by high temperatures during embryogenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) towards predictable quality. *EAS Publications*, 27: 6-7.
- Barahona-Fernandes, M.H. 1982. Body deformation in hatchery reared European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L). Types, prevalence and effect on fish survival. *J. Fish Biol.*, 21: 239-249.
- Bardon, A., M. Vandeputte, M. Dupont-Nivet, H. Chavanne, P. Haffray, A. Vergnet & B. Chatain. 2009. What is the heritable component of spinal deformities in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Aquaculture*, 294: 194-201.
- Beraldo, P. & B. Canavese. 2011. Recovery of opercular anomalies in gilthead sea bream, *Sparus aurata* L.: morphological and morphometric analysis. *J. Fish Dis.*, 34: 21-30.
- Beraldo, P., M. Pinosa, E. Tibaldi & B. Canavese. 2003. Abnormalities of the operculum in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): morphological description. *Aquaculture*, 220: 89-99.
- Blanco-Vives, B., N. Villamizar, J. Ramos, M.J. Bayarri, O. Chereguini & F.J. Sánchez-Vásquez. 2010. Effect of daily thermo- and photo-cycles of different light spectrum on the development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*, 306: 137-145.
- Blaxter, J.H.S. 1992. The effect of temperature on larval fishes. *Neth. J. Zool.*, 42(2-3): 336-357.
- Boglione, C., G. Marino, M. Giganti, A. Longobardi, P. De Marzi & S. Cataudella. 2009. Skeletal anomalies in dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) juveniles reared with different methodologies and larval densities. *Aquaculture*, 291: 48-60.
- Boglione, C., E. Gisbert, P. Gavaia, P. Witten, M. Moren, S. Fontagné & G. Koumoundouros. 2013a. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Rev. Aquacult.*, 5(1): S121-S167.
- Boglione, C., P. Gavaia, G. Koumoundouros, E. Gisbert, M. Moren, S. Fontagné & P.E. Witten. 2013b. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 1: normal and anomalous skeletogenic processes. *Rev. Aquacult.*, 5(1): S99-S120.
- Bristow, B.T. & R.C. Summerfelt. 1994. Performance of larval walleye cultured intensively in clear and turbid water. *J. World Aquacult. Soc.*, 25(3): 454-464.
- Cahu, C., J. Zambonino-Infante & T. Takeuchi. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, 227: 245-258.
- Castro, J., A. Pino-Querido, M. Hermida, D. Chavarrías, R. Romero, L.A. García-Cortés, M.A. Toro & P. Martínez. 2008. Heritability of skeleton abnormalities (lordosis, lack of operculum) in gilthead seabream (*Sparus aurata*) supported by microsatellite family data. *Aquaculture*, 279: 18-22.
- Chávez de Martínez, M.C. 1990. Vitamin C requirement of the Mexican native cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Gunther). *Aquaculture*, 86: 409-416.
- Cobcroft, J.M. & S.C. Battaglione. 2009. Jaw malformation in striped trumpeter *Latris lineata* larvae linked to walling behavior and tank color. *Aquaculture*, 289: 274-282.
- Cobcroft, J.M., P.M. Pankhurst, J. Sadler & P.R. Hart. 2001. Jaw development and malformation in cultured striped trumpeter *Latris lineata*. *Aquaculture*, 199: 267-282.
- Cobcroft, J.M., P.M. Pankhurst, C. Poortenar, B. Hickman & M. Tait. 2004. Jaw malformation in cultured yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) larvae. *N.Z. J. Mar. Fresh.*, 38: 67-71.
- Cobcroft, J.M., A.C. Shu-Chien, M.K. Kuah, A. Jaya-Ram & S.C. Battaglione. 2012. The effect of tank color, live food enrichment and greenwater on the early onset of jaw malformation in striped trumpeter larvae. *Aquaculture*, 356-357: 61-72.

- Cook, M.A., K.M. Guthrie, M.B. Rust & P.D. Plesha. 2005. Effects of salinity and temperature during incubation on hatching and development of lingcod *Ophiodon elongatus* Girard, embryos. *Aquacult. Res.*, 36: 1298-1303.
- Dabrowski, K., S. Hinterleitner, C. Sturmbauer, N. El-Fiky & W. Wieser. 1988. Do carp larvae require vitamin C? *Aquaculture*, 72(3-4): 295-306.
- Darias, M.J., D. Mazurais, G. Koumoundouros, C.L. Cahu & J.L. Zambonino-Infante. 2011. Overview of vitamin D and C requirements in fish and their influence on the skeletal system. *Aquaculture*, 315: 49-60.
- Dedi, J., T. Takeuchi, T. Seikai & T. Watanabe. 1995. Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder *Paralichthys olivaceus* fed *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 133: 135-146.
- Dionisio, G., C. Campos, L.M.P. Valente, L.E.C. Conceição, M.L. Cancela & P.J. Gavaia. 2012. Effect of egg incubation temperature on the occurrence of skeletal deformities in *Solea senegalensis*. *J. Appl. Ichthyol.*, 28: 471-476.
- Divanach, P., C. Boglione, B. Menu, G. Koumoundouros, M. Kentouri & S. Cataudella. 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. In: B. Chatain, M. Saroglia, J. Sweetman & P. Lavens (eds.). *Proceedings of International Workshop on seabass and seabream culture: problems and prospects*. EAS Ostende, Verona, pp. 45-66.
- Fernández, I., F. Hontoria, J.B. Ortiz-Delgado, Y. Kotzamanis, A. Estévez, J.L. Zambonino-Infante & E. Gisbert. 2008. Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 283: 102-115.
- Fraser, M.R. & R. de Nys. 2005. The morphology and occurrence of jaw and operculum deformities in cultured barramundi (*Lates calcarifer*) larvae. *Aquaculture*, 250: 496-503.
- Galeotti, N., P. Beraldo, S. de Dominis, L. D'Angelo, R. Ballestrazzi, R. Musetti, S. Pizzolito & M. Pinosa. 2000. A preliminary histological and ultrastructural study of opercular anomalies in gilthead sea bream larvae (*Sparus aurata*). *Fish Physiol. Biochem.*, 22: 151-157.
- Gapasin, R.S.J. & M.N. Duray. 2001. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture*, 193: 49-63.
- Gapasin, R.S.J., R. Bombeo, P. Lavens, P. Sorgeloos & H. Nelis. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture*, 162: 269-286.
- Georgakopoulou, E., P. Katharios, P. Divanach & G. Koumoundouros. 2010. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 308: 13-19.
- Georgakopoulou, E., A. Angelopoulou, P. Kaspiris, P. Divanach & G. Koumoundouros. 2007. Temperature effects on cranial deformities in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *J. Appl. Ichthyol.*, 23: 99-103.
- Germanguz, I. & I. Gitelman. 2012. All four twist genes of zebrafish have partially redundant, but essential, roles in patterning the craniofacial skeleton. *J. Appl. Ichthyol.*, 28: 364-371.
- Gjerde, B., M.J.R. Pante & G. Baeverfjord. 2005. Genetic variation for a vertebral deformity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 244: 77-87.
- Graham, J.H., D.C. Freeman & J.M. Emlen. 1993. Developmental stability: a sensitive indicator of populations under stress. In: W.G. Landis, J.S. Hughes & M.A. Lewis (eds.). *Environmental toxicology and risk assessment*. ASTM STP. Vol. 1179. Society for testing and materials, Philadelphia, pp. 136-158.
- Haga, Y., T. Takeuchi & T. Seikai. 2002. Influence of all-trans retinoic acid on pigmentation and skeletal formation in larval Japanese flounder. *Fish. Sci.*, 68(3): 560-570.
- Haga, Y., T. Suzuki, H. Kagechika & T. Takeuchi. 2003. A retinoic acid receptor-selective agonist causes jaw deformity in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 221: 381-392.
- Hilomen-García, G.V. 1997. Morphological abnormalities in hatchery-bred milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) fry and juveniles. *Aquaculture*, 152: 155-166.
- Izquierdo, M.S., J. Socorro & J. Roo. 2010. Studies on the appearance of skeletal anomalies in red porgy: effect of culture intensiveness, feeding habits and nutritional quality of live preys. *J. Appl. Ichthyol.*, 26: 320-326.
- Kadry, R.M. 2012. Effect of dietary vitamin A in live feeds on performance and skeletal malformations of striped trumpeter *Latris lineata* larvae and post-larvae. Ph.D. Thesis. University of Tasmania, Tasmania, 243 pp.
- Kanazawa, A., S. Teshima, S. Inamori, T. Iwashita & A. Nagao. 1981. Effects of phospholipids on growth, survival rate, and incidence of malformation in the larval. *Ayu. Mem. Fac. Fish.*, 30: 301-309.
- Kocour, M., O. Linhart & M. Vandeputte. 2006. Mouth and fin deformities in common carp: is there a genetic basis? *Aquacult. Res.*, 37: 419-422.
- Komada, N. 1980. Incidence of gross malformations and vertebral anomalies of natural and hatchery *Plecoglossus altivelis*. *Copeia*, 1980(1): 29-35.

- Koumoundouros, G. 2010. Morpho-anatomical abnormalities in Mediterranean marine aquaculture. *Rec. Adv. Aquac. Res.*, 125: 148.
- Koumoundouros, G., P. Divanach, L. Anezaki & M. Kentouri. 2001. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Mar. Biol.*, 139: 817-830.
- Koumoundouros, G., J. Carrillo, P. Divanach & M. Kentouri. 2004. The rearing of common dentex *Dentex dentex* (L.) during the hatchery and growing phases. *Aquaculture*, 240: 165-173.
- Koumoundouros, G., G. Oran, P. Divanach, S. Stefanakis & M. Kentouri. 1997. The opercular complex deformity in intensive gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture*, 156: 165-177.
- Lall, S.P. & L.M. Lewis-McCrea. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - An overview. *Aquaculture*, 267: 3-19.
- Lein, I., I. Holmefjord & M. Rye. 1997. Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 157: 121-133.
- Lewis-McCrea, L.M. & S.P. Lall. 2006. Development of the axial skeleton and skeletal abnormalities of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) from first feeding through metamorphosis. *Aquaculture*, 257: 124-135.
- Matsuoka, M. 2003. Comparison of meristic variations and bone abnormalities between wild and laboratory-reared red sea bream. *JARQ*, 37(1): 21-30.
- Mazurais, D., N. Glynatsi, M.J. Darias, S. Christodouloupoulou, C.L. Cahu, J.L. Zambonino-Infante & G. Koumoundouros. 2009. Optimal levels of dietary vitamin A for reduced deformity incidence during development of European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) depend on malformation type. *Aquaculture*, 294: 262-270.
- Morel, C., D. Adriaens, M. Bone, T. De Wolf, L. Van Hoorebeke & P. Sorgeloos. 2010. Visualizing mineralization in deformed opercular bones of larval gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *J. Appl. Ichthyol.*, 26: 278-279.
- Morrison, C.M. & C.A. MacDonald. 1995. Normal and abnormal jaw development of the yolk-sac larva of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Dis. Aquat. Organ.*, 22: 173-184.
- Norcross, B.L., J.E. Hose, M. Frandsen & E.D. Brown. 1996. Distribution, abundance, morphological condition, and cytogenetic abnormalities of larval herring in Prince William Sound, Alaska, following the Exxon Valdez oil spill. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53(10): 2376-2387.
- Okamoto, T., T. Kurokawa, K. Gen, K. Murashita, K. Nomura, S.K. Kim, H. Matsubara, H. Ohta & H. Tanaka. 2009. Influence of salinity on morphological deformities in cultures larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. *Aquaculture*, 293: 113-118.
- Ørnsrud, R., E.J. Lock, C.N. Glover & F. Flik. 2009. Retinoic acid cross-talk with calcitriol activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Endocrinol.*, 202: 473-482.
- Piotrowski, T., T.F. Schilling, M. Brand, Y.-J. Jiang, C.-P. Heisenberg, D. Beuchle, H. Grandel, F.J.M. van Eeden, M. Furutani-Seiki, M. Granato, P. Haffter, M. Hammerschmidt, D.A. Kane, R.N. Kelsh, M.C. Mullins, J. Odenthal, R.M. Warga & C. Nüsslein-Volhard. 1996. Jaw and branchial arch mutants in zebrafish II: anterior arches and cartilage differentiation. *Development*, 123: 345-356.
- Pittman, K., A.B. Skiftesvik & T. Harboe. 1989. Effect of temperature on growth rates and organogenesis in the larvae of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Rapp. P.v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer.*, 191: 421-430.
- Polo, A., M. Yúfera & E. Pascual. 1991. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367-375.
- Roo, F.J., C.M. Hernández-Cruz, J.A. Socorro, H. Fernández-Palacios & M.S. Izquierdo. 2010. Occurrence of skeletal deformities and osteological development in red porgy *Pagrus pagrus* larvae cultured under different rearing techniques. *J. Fish Biol.*, 77: 1309-1324.
- Sadler, J., P.M. Pankhurst & H.R. King. 2001. High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 198(3-4): 369-386.
- Sargent, J., L. McEvoy, A. Estevez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson & D. Tocher. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, 179: 217-229.
- Takeuchi, T., J. Dedi, Y. Haga, T. Seikai & T. Watanabe. 1998. Effect of vitamin A compounds on bone deformity in larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 169: 155-165.
- Taylor, J.F., A.C. Preston, D. Guy & H. Migaud. 2011. Ploidy effects on hatchery survival, deformities and performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 315: 61-68.
- Uyan, O., S. Koshio, M. Ishikawa, S. Uyan, T. Ren, S. Yokoyama, C.F. Komilus & F.R. Michael. 2007.

- Effects of dietary phosphorus and phospholipid level on growth, and phosphorus deficiency signs in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 267: 44-54.
- Van Den Avyle, M.J., S.J. Garvick, V.S. Blazer, S.J. Hamilton & W.G. Brumbaugh. 1989. Skeletal deformities in smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*, from southern Appalachian reservoirs. *Arch. Environ. Con. Tox.*, 18: 688-696.
- Verhaegen, Y., D. Adriaens, T. De Wolf, P. Dhert & P. Sorgeloos. 2007. Deformities in larval gilthead sea bream (*Sparus aurata*): a qualitative and quantitative analysis using geometric morphometrics. *Aquaculture*, 268: 156-168.
- Villamizar, N., A. García-Alcázar & F.J. Sánchez-Vásquez. 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 292: 80-86.
- Villeneuve, L., E. Gisbert, C.L. Cahu & J.L. Zambonino-Infante. 2005. Dietary levels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *Brit. J. Nutr.*, 93: 791-801.
- Wimberger, P.H. 1993. Effects of vitamin C deficiency on body shape and skull osteology in *Geophagus brasiliensis*: implications for interpretations of morphological plasticity. *Copeia*, 1993(2): 343-351.
- Zhang, J., Z. Zuo, P. Sun, H. Wang, A. Yu & C. Wang. 2012. Tributyltin exposure results in craniofacial cartilage defects in rockfish (*Sebastes marmoratus*) embryos. *Mar. Environ. Res.*, 77: 6-11.

Received: 29 December 2013; Accepted: 16 October 2014