

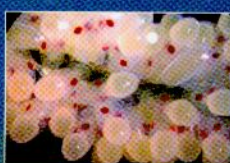


XII CONGRESO NACIONAL DE ACUICULTURA

MADRID 24-26 DE NOVIEMBRE DE 2009

**Con la acuicultura
alimentamos tu salud**

Libro de resúmenes



MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

SECRETARÍA GENERAL
DEL MAR



Sociedad
Española de
Acuicultura

Organiza

Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Secretaría General del Mar
Sociedad Española de Acuicultura
Fundación Observatorio Español de Acuicultura

Editores:

Fundación Observatorio Español de Acuicultura
Daniel Beaz Paleo
Morris Villaroel Robinson
Salvador Cárdenas Rojas

Edición

Isabel López López

Imprime: Cicegraf Artes Gráficas

Depósito Legal: M-47.768-2009

ISBN Obra Completa: 978-84-937611-0-3

PRESENTACION

¡Bienvenidos a Madrid todos los amigos de la acuicultura! De nuevo la Sociedad Española de Acuicultura os da una calurosa bienvenida al Congreso Nacional de Acuicultura, esta vez en su edición número XII, auspiciado por la Universidad Politécnica de Madrid en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Tomamos el relevo del XI CNA celebrado en Vigo con algunas novedades en estructura y contenido, destacando la importancia de la investigación aplicada (¡dentro de una escuela de ingenieros!) y las sesiones técnicas, en combinación con una de las más nutridas ofertas de comunicaciones y carteles de los últimos años, en total más de 300.

Es un honor para nosotros haber contado con la colaboración de científicos y empresarios de todos los ámbitos de la acuicultura nacional (e internacional) durante la preparación del congreso, como demuestra la lista de colaboradores en los Comités de Honor, Científico y Organizador, así como los vocales que han ayudado tanto en la evaluación de los resúmenes científicos enviados.

Una de las metas principales de los Congresos Nacionales de Acuicultura es proporcionar un foro abierto para presentar los resultados de investigación y discutir sobre los últimos avances en diferentes líneas. Hemos querido hacer énfasis sobre las aplicaciones técnicas del conocimiento; así, esperamos que las ideas surgidas en las diferentes sesiones del congreso puedan ayudar a fomentar la investigación aplicada y el contacto entre científicos, empresarios y de la administración.

El lema del XII CNA es «*Con la acuicultura alimentamos tu salud*», un mensaje muy positivo que queremos transmitir a la sociedad ya que los productos de la acuicultura son fuentes muy valiosas para la salud humana, producidos con un manejo muy cuidado y vigilados durante todo el proceso de producción.

El Comité Ejecutivo de Congreso

COMITÉ DE HONOR

S.A.R. El Príncipe de Asturias

Excma. Sr. Ministra de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino

Excmo. Sr. Rector Magfco. de la UPM

Ilmo. Sr. Secretario General del Mar

Excmo. Director de la ETSI Agrónomos

Excmo. Ilmo. Director General de Ordenación Pesquera

Ilmo. Sr. Representante permanente adjunto de España ante la F.A.O. y P.M.A.

COMITÉ ORGANIZADOR

Co-Presidentes:

Jesús Vázquez Minguela, Director de la ETSI Agrónomos
Daniel Beaz Paleo, Presidente Sociedad Española Acuicultura

Co-Vicepresidentes:

Morris Villarroel Robinson, Vice-presidente SEA
Fernando Torrent, Universidad Politécnica de Madrid

Secretario general:

Salvador Cárdenas Rojas, IFAPA

Secretaría técnica:

Esther Plaza, Fundación Premio Arce
Isabel López

Vocales:

Paloma Carballo, Secretaría del Mar
Ignacio Arnal, IEO
Antonio Cerviño, CIMA
Juana Delgado, Secretaría del Mar
María Jesús Delgado, Universidad Complutense Madrid
Clive Dove, INNOVAMAR
Fernando de la Gándara, SEA
José García, Universidad Complutense de Madrid
Miguel Jover, Universidad Politécnica de Valencia
Miguel Miranda, Biomar
José María Navas, INIA
Javier Ojeda, APROMAR
Javier Remiro, FOESA
Raúl Rodríguez, AQUAPISCIS
Fernando Sanz, SKRETTING
Margarita Tejada, CSIC
José Luis Tejedor, DIBAQ

COMITÉ CIENTÍFICO

Co-Presidentes:	Morris Villarroel, Vice-presidente SEA Eladio Santaella, IEO
Vicepresidentes:	Fernando de la Gándara, IEO
Coordinador general:	Salvador Cárdenas Rojas, IFAPA
Coordinadores de área:	Fernando Torrent, Universidad Politécnica de Madrid (Ingeniería e instalaciones) Miguel Jover, Universidad Politécnica de Valencia (Nutrición) Ignacio de Blas, Universidad de Zaragoza (Sanidad animal) Nuria de Pedro, Universidad Complutense (Fisiología y reproducción) Miguel Ángel Toro, Universidad Politécnica de Madrid (Genética) José María Navas, INIA (Medioambiente) Mercedes Careche, CSIC (Calidad alimentaria) Montserrat Cruz, Universidad de Vigo (Economía)
Vocales:	Fernando de la Gándara, IEO Marina Albentosa, IEO Silvia Martínez, Universidad Politécnica de Valencia Ana Tomás, Universidad Politécnica de Valencia Juan Luis Barja, Universidad de Santiago de Compostela Francesc Padrós, Universitat Autònoma de Barcelona Jesús Manuel Míguez Universidad de Vigo José Miguel Cerdá, Carpeix Pollença SAT Paulino Martínez, Universidad de Santiago de Compostela Jesús Fernández , Universidad de Vigo Inmaculada Varó, CSIC Juan Francisco Asturiano, Universidad Politécnica de Valencia Iciar Martínez, CSIC

Nutrición

Comunicación oral

Preferencias alimentarias de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en la Bahía de Alfacos (Delta del Ebro). <i>E. Galimany et al.</i>	32
Crecimiento compensatorio en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> (Parastacidae): I. Protocolo de alimentación-inanición. <i>L. Stumpf et al.</i>	34
Crecimiento en batea de erizo de mar (<i>Paracentrotus lividus</i> Lamarck, 1816) nacidos en criadero y alimentados con algas. <i>M. Rey-Méndez et al.</i>	36
Efecto de dietas artificiales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común, <i>Octopus vulgaris</i> . <i>S. García et al.</i>	38
Composición en aminoácidos e índices de calidad proteica de dietas naturales e ingredientes alternativos para el desarrollo de piensos en el pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>). <i>J. Cerezo Valverde et al.</i>	40
Efecto del origen y presentación de la boga en el engorde de pulpo común <i>Octopus vulgaris</i> . <i>J. Estefanell et al.</i>	42
Cultivo exterior para la repoblación de <i>Paracentrotus lividus</i> en las islas Canarias. <i>N. González-Henríquez et al.</i>	44
Requerimientos nutricionales y dietas artificiales en el cultivo de la oreja de mar <i>Haliotis</i> spp.: Revisión. <i>M. P. Vieira et al.</i>	46
Comparación de dietas microalgales tri-específicas como promotores del crecimiento de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en criadero. <i>M. Miñambres et al.</i>	48
Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de macroalgas (<i>Gracilaria</i> sp. y <i>Ulva rigida</i>) sobre el crecimiento y parámetros metabólicos en la dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>S. I. Mendes et al.</i>	50
Autoselección de dietas completas encapsuladas con distinta fuente de grasa en el sargo picudo (<i>Diplodus puntazo</i>). <i>P. F. Almada-Pagán et al.</i>	52
Engorde de besugo, <i>Pagellus bogaraveo</i> , en jaulas con diferentes tasas de alimentación. <i>M. Olmedo et al.</i>	54
Sustitución parcial de la harina de pescado en dietas con distintos niveles de proteína y lípido. Efectos sobre la actividad proteolítica y la capacidad de absorción intestinal en dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>I. García-Meillán et al.</i>	56
Efectos del ayuno-realimentación y tamaño de la ración en aspectos morfométricos y de composición en la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>A. Rodríguez-Rúa et al.</i>	58
Un gran consumo de carbohidratos en actividad sostenida conlleva un ahorro de la proteína de la dieta en doradas. <i>M. Martín-Pérez et al.</i>	60
Efecto de la relación proteína-lípido en el pienso sobre el crecimiento y parámetros metabólicos de juveniles de lenguado senegalés (<i>S. senegalensis</i>). <i>A. Rodiles et al.</i>	62

Paneles

Efecto de los niveles de n-3 HUFA y relación DHA/EPA en la dieta sobre crecimiento y supervivencia larvaria en dentón <i>Dentex dentex</i> . <i>E. Abellán et al.</i>	64
Influencia de la fuente de lípido de la dieta sobre la composición de diferentes tejidos del sargo picudo (<i>Diplodus puntazo</i>). <i>P. F. Alamida-Pagán et al.</i>	66
Mejora de la viabilidad de las paralarvas de pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>) mediante modelización y optimización de la dieta empleada. <i>E. Almansa et al.</i>	68
Efecto de dietas con diferente contenido en proteínas y lípidos en el preengorde de liseta (<i>Chelon labrosus</i>). <i>O. Amezcua et al.</i>	70
Incidencia del síndrome de muerte en la muda en larvas de centollo, <i>Maja brachydactyla</i> , alimentadas con dietas artificiales. <i>M. Andrés et al.</i>	72
Evaluación de harinas de origen animal como aditivos atrayentes en piensos para juveniles de lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i>). <i>F. G. Barroso et al.</i>	74
Efectos diferenciales de la sustitución conjunta de harinas y aceites de pescado sobre los perfiles tisulares de ácidos grasos de dorada. <i>L. Benedito-Palos et al.</i>	76
Estudio comparativo del comportamiento de larvas de dorada (<i>Sparusaurata</i>) bajo diferentes sistemas de cultivos y enriquecedores de rotíferos. <i>T. Benítez-Santana et al.</i>	78
Uso de oligo-microarrays para el análisis de la expresión génica en juveniles de dorada alimentados con dietas de sustitución basadas en proteínas y aceites vegetales. <i>J. A. Caladuc-Giner et al.</i>	80
Estimación del punto de saturación de reserva en juveniles de la langosta de pinzas rojas <i>Cherax quadricarinatus</i> . <i>N. S. Calvo et al.</i>	82
Determinación del punto de no retorno en juveniles de la langosta de pinzas rojas <i>Cherax quadricarinatus</i> . <i>N. S. Calvo et al.</i>	84
Composición en minerales de dietas naturales y harinas para el desarrollo de piensos para el pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>). <i>J. Cerezo Valverde et al.</i>	86
Composición en minerales de los distintos tejidos del pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>) en distintas estaciones del año. <i>J. Cerezo Valverde et al.</i>	88
Es necesario alimentar las larvas de <i>Solen marginatus</i> ? <i>F. da Costa et al.</i>	90
La vitamina D3 de la dieta influye en la ontogénesis del sistema digestivo y la osificación de la lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>M. J. Darias et al.</i>	92
Primeros resultados de la caracterización del contenido estomacal de juveniles 0+ de atún rojo <i>Thunnus thynnus</i> . <i>F. de la Gándara et al.</i>	94
Captura y acondicionamiento de juveniles 0+ de atún rojo <i>Thunnus thynnus</i> en jaulas flotantes. <i>F. de la Gándara et al.</i>	96
Ritmos diarios de actividad locomotora y alimentación a demanda en pez cebra (<i>Danio rerio</i>). <i>A. del Pozo et al.</i>	98

Engorde de pulpo común <i>Octopus vulgaris</i> en jaulas en la comunidad Canaria: efecto de la dieta y la densidad inicial. <i>J. Estefanell et al.</i>	100
Evaluación de 2 sistemas de cultivo en pulpo común <i>Octopus vulgaris</i> en jaulas en la comunidad Canaria. <i>J. Estefanell et al.</i>	102
Pre-engorde de pulpo común <i>Octopus vulgaris</i> con 3 dietas basadas en descartes de acuicultura en la comunidad Canaria. <i>J. Estefanell et al.</i>	104
Utilización de congreiro y harinas en un pienso para pulpo común <i>Octopus vulgaris</i> . <i>J. Estefanell et al.</i>	106
Evaluación de 2 sistemas de cultivo en pulpos macho <i>Octopus vulgaris</i> : efecto de la talla inicial y de la dieta. <i>J. Estefanell et al.</i>	108
Beneficios del ejercicio sostenido sobre el uso y destino de los carbohidratos de la dieta en la dorada. <i>O. Felip et al.</i>	110
Sensibilidad a diferentes dosis de vitamina A en la dieta en larvas de lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i>) según su estadio de desarrollo. <i>I. Fernández et al.</i>	112
Efecto de la fitasa en la selección de dietas por la lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>R. Fortes-Silva et al.</i>	114
Selección de dietas de distintas fuentes de lípidos utilizando comederos a demanda en la tilapia del Nilo. <i>R. Fortes-Silva et al.</i>	116
Selección de macronutrientes utilizando capsulas de gelatina en la tilapia del Nilo. <i>R. Fortes-Silva et al.</i>	118
Selección dietaria, actividad locomotora y ritmo de alimentación en la tilapia del Nilo alimentadas con dieta vegetal suplementada con fitasa. <i>R. Fortes-Silva et al.</i>	120
Utilización de zooplancton (congelado y deshidratado) y de artemia (pequeña y grande) para el cultivo de paralarvas de pulpo <i>Octopus vulgaris</i> . <i>L. Fuentes et al.</i>	122
Influencia de la composición de la dieta sobre la actividad enzimática digestiva del esturión <i>Acipenser naccarii</i> y de la trucha <i>Oncorhynchus mykiss</i> . <i>M. Furné et al.</i>	124
Influencia de la composición de la dieta sobre el estado oxidativo del esturión <i>Acipenser naccarii</i> y de la trucha <i>Oncorhynchus mykiss</i> . <i>M. Furné et al.</i>	126
Influencia de la composición de la dieta sobre la actividad de diferentes enzimas del metabolismo intermediario en el esturión <i>Acipenser naccarii</i> y en la trucha <i>Oncorhynchus mykiss</i> . Estudio comparado. <i>M. Furné et al.</i>	128
Estudio preliminar de la secreción biliar en el esturión <i>Acipenser naccarii</i> : aspectos comparados con la trucha arco iris (<i>O. mykiss</i>) y efectos de la composición de la dieta. <i>M. Furné et al.</i>	130
Efecto del ayuno sobre el contenido en lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos del manto y glándula digestiva de <i>Octopus vulgaris</i> . <i>S. García et al.</i>	132
Afectación del metabolismo hepático debida a la alimentación con una dieta altamente sustituida en aceite y harina de pescado en dorada . <i>I. García-Meilán et al.</i>	134

Efectos de dietas de doble sustitución y lavado sobre la capacidad hepática de metabolización de PUFAs C18 en dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>I. García-Meilán et al.</i>	136
Efectos de ayuno-realimentación y tamaño de la ración en aspectos metabólicos en la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>S. García-Mesa et al.</i>	138
Efectos del ayuno-realimentación y del tamaño de la ración sobre el estatus oxidativo de la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>S. García-Mesa et al.</i>	140
Harina de erizo de mar (<i>Diadema antillarum</i>) como ingrediente alternativo en piensos para bocinegro (<i>Pagrus pagrus</i>): efecto sobre el crecimiento y utilización de la dieta. <i>J. García Romero et al.</i>	142
Efecto de la inclusión de harinas de cangrejo de diferente origen en piensos para bocinegro (<i>Pagrus pagrus</i>) sobre la textura, oxidación y composición del filete. <i>J. García Romero et al.</i>	144
Administración de dos probióticos relacionados (Pdp11 y Pdp13) en preengorde de lenguado senegalés <i>Solea senegalensis</i> (Kaup 1858). <i>I. García de la Banda et al.</i>	146
Optimización del protocolo de cultivo larvario y destete del lenguado senegalés <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858). <i>I. García de la Banda et al.</i>	148
Atlas histológico del tracto digestivo de la corvina de cría, <i>Argyrosomus regius</i> . <i>M. M. Gil et al.</i>	150
Evaluación del efecto de distintos ratios DHA:EPA de la dieta en la morfogénesis larvaria del lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i>) prestando especial atención a la esqueletogénesis y la pigmentación. <i>A. Goglino et al.</i>	152
Efecto de la temperatura en el consumo de lípidos de las larvas de parracho, <i>Scophthalmus rhombus</i> L. <i>I. Hachero-Cruzado et al.</i>	154
Consumo de lípidos y proteínas a lo largo de la embriogénesis y alimentación endógena de las larvas de Parracho (<i>Scophthalmus rhombus</i>). <i>I. Hachero-Cruzado et al.</i>	156
Estudio de la digestibilidad de los piensos comerciales disponibles para dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>M. D. Hernández et al.</i>	158
Celularidad y capilarización en músculo blanco de dorada (<i>Sparus aurata</i>): beneficios del ejercicio con una dieta rica en carbohidratos. <i>A. Ibarz et al.</i>	160
Efectos de la estrategia de alimentación en la hematología y bioquímica sanguínea del medregal (<i>Seriola dumerilii</i>) en condiciones de cultivo. <i>S. Jerez et al.</i>	162
Efecto de la estrategia de alimentación en el crecimiento del medregal (<i>Seriola dumerilii</i>) en condiciones de cultivo. <i>S. Jerez et al.</i>	164
Ensayo de alimentación con la bacteria probiótica Pdp11: estudio de la supervivencia en el tracto gastrointestinal de <i>Solea senegalensis</i> . <i>J. M. León-Rubio et al.</i>	166
Influencia del probiótico Pdp11 (<i>Shewanella putrefaciens</i>) en el cultivo larvario y destete del lenguado senegalés <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858). <i>C. Lobo et al.</i>	168

Engorde de juveniles de pulpo (<i>Octopus vulgaris</i> Cuvier, 1797) con distintas dietas naturales y artificiales. <i>M.ª López et al.</i>	170
Composición de ácidos grasos de dos especies de peces de distinta longevidad. <i>A. Lucas et al.</i>	172
Crecimiento y supervivencia de larvas de <i>Donax trunculus</i> (<i>Mollusca: Bivalvia</i>) cultivadas a distintas temperaturas. <i>L. Márquez et al.</i>	174
Perfil de ácidos grasos de las hembras de <i>Donax trunculus</i> (<i>Mollusca, Bivalvia</i>). Diferencias en la composición entre medio exterior y criadero. <i>I. Martínez-Pita et al.</i>	176
Efectos de la exposición a nitritos sobre procesos osmorreguladores, metabólicos y de estrés en el lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i>). <i>J. A. Martos-Sitcha et al.</i>	178
Evaluación in vitro de la hidrólisis de ingredientes proteicos por extractos intestinales de lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i>). <i>E. Medina et al.</i>	180
Comparación de dietas microalgales tri-específicas como promotores del crecimiento de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en criadero. <i>M. Miñambres et al.</i>	182
Efecto del tipo de proteína vegetal en el pienso sobre el crecimiento, calidad de agua, composición corporal y estrés en tilapia del Nilo en un sistema de recirculación intensiva. <i>M. Molina et al.</i>	184
Selección de grasas con diferente grado de oxidación en doradas (<i>Sparus aurata</i> L., 1758) alimentadas mediante comederos a demanda. <i>A. Montoya et al.</i>	186
Aplicación del sistema de digestión de celda abierta para la determinación in vitro del fósforo disponible en piensos para trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). <i>G. A. Morales et al.</i>	188
Evaluación del uso de determinadas especies de macroalgas del litoral andaluz como componente de posibles dietas artificiales en el cultivo del erizo común (<i>Paracentrotus lividus</i> Lam.). <i>R. M.ª Murillo et al.</i>	190
Análisis sensorial y composición en ácidos grasos en <i>D. puntazzo</i> alimentados con sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de soja y grasa de cerdo. <i>S. Nogales et al.</i>	192
Efecto de la sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de soja en juveniles de sargo picudo (<i>Diplodus puntazzo</i>) en el perfil de ácidos grasos esenciales del hígado y del filete. <i>S. Nogales et al.</i>	194
Estado Nutricional de reproductores de <i>Solea senegalensis</i> <i>F. Norambuena et al.</i>	196
Efecto de diferentes esquemas de alimentación sobre crecimiento y supervivencia de larvas de Bonito Atlántico, <i>Sarda sarda</i> . <i>A. Ortega et al.</i>	198
Efecto de los mysidáceos en la calidad de la puesta en el caballito de mar, <i>Hippocampus hippocampus</i> (Linnaeus, 1758). <i>F. Otero et al.</i>	200
Influencia de una dieta artificial suplementada con arginina sobre el crecimiento, la eficacia alimentaria y la composición corporal en el pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>). <i>S. Pérez Pacheco et al.</i>	202
Balance redox en músculo blanco, corazón y eritrocitos de dentones (<i>Dentex dentex</i>) sometidos a ayuno y posterior realimentación. <i>A. Pérez-Jiménez et al.</i>	204

Influencia de la fuente y nivel de carbohidratos dietarios en el metabolismo intermediario hepático y muscular de <i>Dentex dentex</i> . <i>A. Pérez-Jiménez et al.</i>	206
Influencia de la fuente y nivel de carbohidratos dietarios sobre la composición corporal y tisular de juveniles de <i>Dentex dentex</i> . <i>A. Pérez-Jiménez et al.</i>	208
Efecto de la dieta de los reproductores de pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>) sobre la composición de aminoácidos de huevos y paralarvas: Relación con la calidad de puesta. <i>D. Quintana et al.</i>	210
Evolución de la mortalidad y crecimiento de <i>Solea solea</i> destetado 30-35 días y 30-40 días tras la eclosión. <i>P. Riera-Fernández et al.</i>	212
Sustitución parcial de la harina de pescado por harinas vegetales en piensos para juveniles de <i>S. senegalensis</i> : efecto sobre el crecimiento y parámetros zootécnicos. <i>A. Rodiles et al.</i>	214
Composición lipídica y en ácidos grasos en ovarios maduros de ejemplares salvajes y cultivados de Medregal (<i>Seriola dumerilii</i>). <i>D. Rodríguez-Barreto et al.</i>	216
Efecto del contenido de DHA en el enriquecimiento de rotíferos sobre la aparición de deformidades esqueléticas en la dorada <i>Sparus aurata</i> (Linnaeus, 1758). <i>J. Roo et al.</i>	218
Efecto de la dieta sobre marcadores de estrés en juveniles de <i>Solea senegalensis</i> sometidos a cambios agudos y crónicos de temperatura. <i>E. Salas-Leiton et al.</i>	220
Influencia de los ciclos de alimentación en la expresión de genes reloj en cerebro de teleósteos. <i>J. A. Sánchez et al.</i>	222
Supervivencia de bacterias probióticas encapsuladas en alginato durante su exposición in vitro a condiciones digestivas de pez. <i>V. Sánchez et al.</i>	224
Sustitución de la harina de pescado por una mezcla de concentrados proteicos de guisante y arroz para la alimentación de dorada. <i>N. Sánchez-Lozano et al.</i>	226
Efectos sobre el crecimiento de paralarvas de pulpo (<i>Octopus vulgaris</i> Cuvier, 1797) alimentadas con juveniles de <i>Artemia</i> suplementados con aminoácidos libres. <i>P. Seixas et al.</i>	228
Crecimiento compensatorio en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> (Parastacidae): II. Protocolo de inanición-alimentación. <i>L. Stumpf et al.</i>	230
Resultados preliminares. Aceptación y crecimiento individual de <i>Octopus vulgaris</i> (Cuvier, 1797) alimentado con pienso extrusionado. <i>A. Tomás et al.</i>	232
Preengorde en suspensión de semilla de almeja fina (<i>R. decussatus</i>) en el Delta del Ebro. Efecto de la longitud inicial y densidad sobre el % de supervivencia y crecimiento. <i>O. Vallejo et al.</i>	234
Nuevos avances en el preengorde en suspensión de semilla de almeja japonesa (<i>R. philippinarum</i>) en el Delta del Ebro. <i>O. Vallejo</i>	236
Tasas óptimas para el crecimiento y mantenimiento de la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>J. Velazco et al.</i>	238
Efecto del ácido araquidónico (20:4 w6) el cultivo larvario del lenguado común (<i>Solea solea</i> L.). <i>F. Villoch et al.</i>	240

Descripción histológica del digestivo del mero <i>Epinephelus marginatus</i> . <i>M. P. Yamuza et al.</i>	242
--	-----

Sanidad Animal

Comunicación oral

Elaboración de listados de enfermedades relevantes en la acuicultura marina española. <i>D. Furones et al.</i>	246
Estado zoonosanitario de moluscos bivalvos en la Ría de Vigo. <i>C. Crespo et al.</i>	248
Aislamiento de <i>Enterovibrio nigricans</i> a partir de rodaballos (<i>Psetta maxima</i>) enfermos. <i>C. Fuentes-Edfuf et al.</i>	250
Análisis fenotípico y molecular de cepas de <i>Edwardsiella tarda</i> aisladas de rodaballo (<i>Psetta maxima</i> , L.) en cultivo. <i>N. García-Lamas et al.</i>	252
<i>Lernanthropus kroyeri</i> van Beneden, 1851 (Crustacea, Copepoda, Lernanthropidae) parásito de las branquias de la lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.) en Cataluña. <i>P. A. Maillo et al.</i>	254
Valoración de la presencia del isópodo <i>Ceratomyxa oestroides</i> en peces silvestres merodeadores en instalaciones de acuicultura del Levante. <i>E. María Dolores et al.</i>	256
Prevalencia de <i>Anguillicola crassus</i> (Nematoda, Dracunculoidea) en anguilas (<i>Anguilla anguilla</i> L.) silvestres procedentes de dos ecosistemas: la Albufera de Valencia y el Mar Menor (Murcia). <i>P. Muñoz et al.</i>	258
Nuevos métodos de control del protozoario ciliado de agua dulce <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> Fouquet, 1876. <i>S. M. Picón-Camacho et al.</i>	260
Desarrollo de un protocolo de PCR a tiempo real para la detección de betanodavirus pertenecientes a los genotipos SJNNV y RGNNV. <i>B. López-Jimena et al.</i>	262
Análisis comparativo de los segmentos genómicos de betanodavirus aislados a partir de epizootias en especies de cultivo. <i>J. G. Oliveira et al.</i>	264
Detección y cuantificación del virus de linfocistis (LCDV) en doradas (<i>Sparus aurata</i> L.) cultivadas mediante PCR a tiempo real. <i>I. Cano et al.</i>	266
Detección simultánea mediante PCR a tiempo real de <i>Renibacterium salmoninarum</i> y <i>Tetracapsuloides bryosalmonae</i> en salmónidos. <i>N. Halaihel et al.</i>	268
Construcción de un vector de expresión basado en la proteína verde fluorescente (GFP) en <i>Flavobacterium psychrophilum</i> . <i>E. Gómez et al.</i>	270
Resultados preliminares sobre adhesión y exclusión de posibles bacterias probióticas al mucus de dorada. <i>L. Sorroza et al.</i>	272
Estudio de la actividad antagonista frente a patógenos de peces de bacterias aisladas de lenguado (<i>Solea senegalensis</i> , Kaup). <i>C. Fuentes-Edfuf et al.</i>	274
Variabilidad intraespecífica de cepas de la especie <i>Flavobacterium psychrophilum</i> aisladas a partir de trucha arco iris (<i>Onchorynchus mykiss</i>) de cultivo. <i>A. del Cerro et al.</i>	276

Paneles

Toxicidad aguda y efecto bioacumulativo del fungicida Tebuconazol en el pez cebra (<i>Danio rerio</i>). <i>O. Andreu-Sánchez et al.</i>	278
Efecto de la inulina suministrada en dieta sobre la respuesta inmunitaria innata de la dorada (<i>Sparus aurata</i> L.). <i>R. Cerezuela et al.</i>	280
Efecto de dietas suplementadas con inmunoestimulantes sobre el sistema inmune de rodaballo (<i>Psetta máxima</i> L.) y eficacia frente a infecciones parasitarias. <i>N. Couso et al.</i>	282
Estudio de la evolución de la carga bacteriana asociada a reproductores de coquina (<i>Donax trunculus</i>) durante el acondicionamiento en criadero. <i>J. Dubert et al.</i>	284
Niveles séricos de cortisol y testosterona en trucha común, <i>Salmo trutta</i> L., en relación con la saprolegniosis. <i>J. M. Fregeneda-Grandes et al.</i>	286
Caracterización fenotípica de bacterias asociadas a un sistema cerrado de recirculación para el cultivo de lenguado (<i>Solea senegalensis</i> , Kaup). <i>P. García-González et al.</i>	288
Diseño y validación de un ensayo para la detección de betanodavirus en peces empleando la técnica RT-PCR cuantitativa. Aplicaciones en estudios de transmisión de la enfermedad. <i>R. García et al.</i>	290
¿Inmunodeprime la oxitetraciclina la respuesta inmunitaria innata de la dorada (<i>Sparus aurata</i> L.)? <i>F. A. Guardiola et al.</i>	292
Estudio de la parasitación en la tenca (<i>Tinca tinca</i> L., Cyprinidae) en una piscifactoría de Castilla y León: factores de riesgo, y comparación con la parasitación en ciprinidos salvajes en varios de la cuenca del Duero. <i>F. Illán</i>	294
Aislamiento y caracterización de bacterias potencialmente patógenas asociadas a nuevas especies de espáridos cultivados. <i>A. Labella et al.</i>	296
Efecto del reto con <i>Aeromonas hydrophila</i> sobre la respuesta inmunitaria de la dorada (<i>Sparus aurata</i> L.). <i>T. López-Medina et al.</i>	298
Mixosporidios del género <i>Myxobolus Bütschli</i> , 1882 (Myxozoa: Myxosporidia) parásitos de peces Mugílidos de las costas catalanas. <i>P. A. Maíllo et al.</i>	300
Desarrollo de anticuerpos monoclonales para el estudio de la respuesta inmune en el Rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i> Linnaeus, 1758). <i>L. Mantilla et al.</i>	302
Proyecto de caracterización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: diseño de red piloto de vigilancia epidemiológica. <i>E. María Dolores et al.</i>	304
Infestación por ácaros oribátidos del género <i>Trhypochthoniellus</i> en Tilapias [<i>Oreochromis niloticus</i> (L.)]. <i>S. A. Olmeda et al.</i>	306
Detección simultánea mediante PCR múltiple de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Pseudomonas anguilliseptica</i> y <i>Photobacterium damsela</i> . <i>L. Palacios et al.</i>	308
Estudio de la flora microbiana asociada a las fases de cultivo en criadero de la almeja fina (<i>Ruditapes decussatus</i>) en el Delta del Ebro. <i>J. Pérez-Larruscain et al.</i>	310

Actividad inhibitoria in vitro de bacterias aisladas en trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) frente a <i>Lactococcus garvieae</i> . <i>T. Pérez et al.</i>	312
Susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos de peces <i>Tenacibaculum discolor</i> , <i>T. gallaicum</i> y <i>T. soleae</i> . <i>M. Piñeiro-Vidal et al.</i>	314
Producción in vitro e in vivo de N-acil-l-homoserín lactonas (AHLs) por el patógeno <i>Tenacibaculum discolor</i> . <i>M. Piñeiro-Vidal et al.</i>	316
Influencia del uso de antibiótico en diferentes desarrollos larvarios de almeja japonesa (<i>Ruditapes philippinarum</i>). <i>S. Prado et al.</i>	318
Microbiota de cultivos larvarios de longueirón vello (<i>Solen marginatus</i>). <i>S. Prado et al.</i>	320
Mortalidad de <i>Solen marginatus</i> (Pulteney, 1799) en la bahía de Santander en 1998-99. <i>A. Remacha-Triviño</i>	322
Registro de esporocistos, redía y cercaria de Digenea en manto perirenal y aparato excretor de <i>Solen marginatus</i> (Pulteney, 1799). Caracterización como estadios parasitarios probables de <i>Gymnophallus fossarum</i> Bartoli, 1965 (Digenea: Gymnophallidae). <i>A. Remacha-Triviño</i>	324
Efecto simbiótico de la inclusión en la dieta de levaduras e inulina sobre el sistema inmunitario de la dorada. <i>M. Reyes-Becerril et al.</i>	326
Parásitos como potenciales patógenos del sargo picudo en la acuicultura española. <i>N. Sánchez-García et al.</i>	328
Aislamiento de cepas probióticas para su uso en acuicultura. <i>L. Sorroza et al.</i>	330
Nueva metodología para la detección en agua de <i>Lactococcus garvieae</i> . <i>J. L. Tejedor et al.</i>	332
Aislamiento y caracterización de flavobacterias en alevines de trucha arcoiris con sintomatología clínica compatible con RTFS. <i>L. Zamora et al.</i>	334

Genética y Mejora Genética

Comunicación oral

Aplicación de marcadores microsatélite para el apoyo de la cría en cautividad del caballito de mar <i>Hippocampus guttulatus</i> . <i>A. López et al.</i>	338
Búsqueda de variación genética en el rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>) relacionada con la adaptación a diferentes condiciones de salinidad. <i>R. Vilas et al.</i>	340
Precisión de la evaluación genómica para resistencia a enfermedades en programas de selección en acuicultura. <i>B. Villanueva et al.</i>	342
Polimorfismos en genes candidatos relacionados con el crecimiento y su asociación con caracteres cuantitativos en una población cultivada de dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>I. Sánchez-Ramos et al.</i>	344
Identificación de la región determinante del sexo en rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>). <i>P. Martínez et al.</i>	346

Clonación y distribución de la expresión de dos cryptocromos de lubina. <i>J. A. Sánchez et al.</i>	348
Creación y evaluación de lotes de reproductores de dorada (<i>Sparus aurata</i>) en base a la tasa de crecimiento de su descendencia y a la asignación de paternidades. <i>V. Gallego et al.</i>	350
Estimas de heredabilidades y correlaciones genéticas de caracteres de crecimiento y calidad e interacción GxA, en dorada (<i>Sparus aurata</i> L.). <i>A. Navarro et al.</i>	352
<i>Paneles</i>	
Desarrollo de un programa piloto de mejora genética en dorada (<i>Sparus aurata</i> L.) (PROGENSA). <i>J. M. Afonso et al.</i>	354
Consideraciones genéticas básicas en la implementación de programas de repoblación de peces en ambientes marinos. <i>E. Blanco González</i>	356
Aislamiento y caracterización de cinco loci microsatélites en <i>Pagellus acarne</i> procedente de las costas de Andalucía. <i>G. Catanese et al.</i>	358
Bases moleculares de las malformaciones pigmentarias en peces: implicación en el cultivo del rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i> L.). <i>R. M. Ceinos et al.</i>	360
Estimación de parámetros genéticos del crecimiento de tilapia del Nilo en condiciones naturales de baja temperatura. <i>R. Fortes-Silva et al.</i>	362
Estudio preliminar de la variación genética en <i>Venerupis pullastra</i> de Galicia usando el gen mitocondrial citocromo b. <i>R. Freire et al.</i>	364
Efecto del ayuno, la dieta y la hormona del crecimiento (GH) sobre la expresión génica de IGF-I e IGF-II en <i>Solea senegalensis</i> . <i>V. Funes et al.</i>	366
Expresión génica del receptor de IGF-I (IGF-IR) en tejidos y durante el desarrollo larvario de <i>Solea senegalensis</i> . Efecto de la administración de hormona del crecimiento (GH). <i>V. Funes et al.</i>	368
Identificación morfológica y molecular del Centollo Mediterráneo <i>Maja squinado</i> (Decapoda, Brachyura, Mejidae). <i>G. Guerao et al.</i>	370
Duplicación en teleósteos de los genes codificantes de caseína. Caracterización molecular y análisis de la expresión génica en el lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i> Kaup). <i>C. Infante et al.</i>	372
Incremento de la apoptosis durante el desarrollo embrionario en rodaballos (<i>Scophthalmus maximus</i> L.) triploides. <i>S. Magadán et al.</i>	374
Utilización de la región ITS-1 como marcador especie-específico de la familia Sparidae (Teleostei). <i>M. A. Merlo et al.</i>	376
Evaluación genética del impacto del asentamiento exógeno sobre cuerdas de batea inoculadas con mejilla seleccionada. <i>M. Miñambres et al.</i>	378
11 β -Hidroxilasa y Receptor de Glucocorticoides como potenciales marcadores moleculares de respuesta a estrés por confinamiento en juveniles de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>D. Negrín-Báez et al.</i>	380

Desarrollo y aplicación de marcadores moleculares tipo microsatélite en la corvina <i>Argyrosomus regius</i> . <i>D. Porta et al.</i>	382
Evidencia de múltiple paternidad en el pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i> Cuvier, 1797). <i>J. Quinteiro et al.</i>	384
Evaluación del sistema de marcaje PIT (<i>Passive Integrated Transponder</i>) en alevines de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>): efecto sobre el crecimiento, mortalidad y tasa de pérdida. <i>M. Soula et al.</i>	386

Ingeniería e Instalaciones

Comunicación oral

Aplicaciones del Sónar de Barrido Lateral en acuicultura en mar abierto: determinación de las posiciones de los elementos de fondeo. <i>J. Andrés et al.</i>	390
Difusores de elevado rendimiento para aplicaciones en acuicultura. <i>J. Dávila et al.</i>	392
Efecto de la implantación de dispositivos de identificación electrónica en diferentes especies de peces. Resultados parciales obtenidos en <i>Anguilla europea (Anguilla anguilla)</i> . <i>P. Bou et al.</i>	394
El Sistema de Información Geográfica (SIG) aplicado a la planificación y gestión de la acuicultura marina. <i>M. M. Lara et al.</i>	396
Investigación participativa para el desarrollo de una piscicultura indígena en la cuenca del río Pachitea (Perú). <i>P. Navarro Huercio et al.</i>	398
Metodologías para la definición de criterios de diseño de tanques para el cultivo de peces planos. <i>J. Oca et al.</i>	400
Nuevos datos sobre el cultivo del mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) en Andalucía. <i>P. León et al.</i>	402
Pautas de crecimiento y mortalidad del mejillón cultivado en mar abierto en el delta del Ebro. <i>M. Ramón et al.</i>	404
Paneles	
Crecimiento disjunto de clases fenotípicas de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en bolsas de cultivo suspendidas en long-line. <i>A. Aghzar et al.</i>	406
Ensayos con colectores piloto para la optimización del reclutamiento de semilla natural de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en el Mar de Alborán. <i>A. Aghzar et al.</i>	408
Seguimiento de poblaciones de atún rojo (<i>Thunnus thynnus</i> Linnaeus, 1758) en cultivo en jaulas flotantes en la costa mediterránea de Andalucía. <i>E. Aguirre et al.</i>	410
El diseño de la instalación influye en la rentabilidad de la producción de dorada en el Mediterráneo. <i>R. Baeza Ariño et al.</i>	412
Descripción del cultivo de mejillón <i>Perna perna</i> en longline (Fuerteventura, Islas Canarias). <i>A. Bilbao et al.</i>	414
Diseño hidrodinámico de tanques para acuicultura continental y litoral. <i>J. Dávila</i>	416

Crecimiento de <i>Ruditapes decussatus</i> y <i>Ruditapes philippinarum</i> en las bahías del Delta del Ebro: Influencia de la temperatura y el sistema de cultivo. <i>M. Delgado et al.</i>	418
Estudio sobre el marisqueo a pie de moluscos bivalvos en la Bahía de Cádiz. <i>M. Fernández et al.</i>	420
Estudio de barreras y propuestas de escalas de peces para las barreras transversales en el río Guadiamar, en el tramo comprendido entre el nacimiento hasta la confluencia con el río Agrío. <i>R. García Díaz et al.</i>	422
Patrones de fijación de semilla de mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) en colectores en la costa surmediterránea de Andalucía. <i>P. León et al.</i>	424
Acuicultura en mar abierto: del proyecto a la realidad. <i>J. Carlos Macías et al.</i>	426
Análisis del sector de la piscicultura marina en mar abierto en el Mediterráneo oriental. I. Parámetros descriptivos. <i>O. Vallejo et al.</i>	428
Análisis del sector de la piscicultura marina en mar abierto en el Mediterráneo Oriental. II. Correlaciones estadísticas. <i>O. Vallejo et al.</i>	430
Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón <i>Perna perna</i> en Fuerteventura. Fase inicial: Selección, diseño y montaje de sistemas en zonas expuestas (SmartFarm). <i>M. P. Viera et al.</i>	432
Economía y Sociología	
<i>Comunicación oral</i>	
Modelo explicativo de la rentabilidad de las empresas de cría de dorada y lubina. Aplicación empírica a las empresas españolas en el periodo 2005/20007. <i>L. Luna et al.</i>	436
Análisis de costes comparativo del engorde de diversas especies de espáridos en jaulas en mar abierto. <i>J. García García et al.</i>	438
Modelización de la competitividad en la acuicultura española. <i>F. J. Sánchez Sellero et al.</i>	440
Creencias de los consumidores españoles sobre el pescado de crianza en comparación con el de pesca extractiva. <i>L. Guerrero et al.</i>	442
Actitudes de los consumidores españoles hacia la acuicultura. Antecedentes y efectos. <i>J. Fernández Polanco et al.</i>	444
Demanda de las especies de pescado de acuicultura en España. <i>J. A. Millán et al.</i>	446
Importancia de la frescura, el país de origen, el método de obtención y el precio en la selección del pescado mediante Análisis conjunto. <i>A. Claret et al.</i>	448
<i>Paneles</i>	
Estudio socioeconómico sobre la potencialidad del cultivo del erizo de mar (<i>Paracentrotus lividus</i>) en Andalucía. <i>P. A. Álvarez et al.</i>	450

Ventajas e inconvenientes asociados al consumo de pescado desde una perspectiva cualitativa. <i>A. Claret et al.</i>	452
La acuicultura en la heráldica municipal española. <i>F. de Benito et al.</i>	454
Análisis de potencialidades para acuicultura en zonas dependientes de la pesca: Barbate y Costa da Morte. <i>M. Fernández et al.</i>	456
Modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad para el engorde de sargo picudo (<i>Diplodus puntazzo</i>) en jaulas en mar abierto. <i>J. García García et al.</i>	458
Determinación del riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque en la cría de dorada mediante técnicas PSO de Swarm Intelligence. <i>L. Luna et al.</i>	460
Modelos de cánones de saneamiento de las Comunidades Autónomas españolas en la acuicultura continental. <i>F. Martín Palmero et al.</i>	462
Liquidación del canon de saneamiento en la acuicultura continental. <i>F. Martín Palmero et al.</i>	464
Estructura financiera de las empresas españolas de acuicultura. <i>J. A. Millán et al.</i>	466
ARouSA. Una aplicación en Visual Basic para la evaluación de stocks de bancos marisqueros. <i>J. M. Parada et al.</i>	468

Fisiología y Reproducción

Comunicación oral

Efecto del espectro de luz y fotoperiodo en el crecimiento desarrollo y supervivencia en el lenguado <i>Solea senegalensis</i> . <i>B. Blanco-Vives et al.</i>	472
Efecto de la ración alimenticia y densidad de cultivo sobre el crecimiento y la expresión de genes del sistema inmune innato en lenguado. <i>E. Salas-Leiton et al.</i>	474
Preengorde de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) en diferentes salinidades ambientales. <i>A. B. Tinoco et al.</i>	476
Componentes estrogénicos y crecimiento en peces de cultivo. <i>S. Puchol et al.</i>	478
Efecto de dos dietas comerciales sobre la calidad de la puesta de dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>H. Fernández-Palacios et al.</i>	480
Calidad de las puestas inducidas hormonalmente en relación con la hora de ovulación y el momento del masaje abdominal en lenguado senegalés. <i>I. Rasines et al.</i>	482
Observaciones del cortejo del lenguado (<i>Solea senegalensis</i> , Kaup 1858) salvaje mantenido en cautividad. <i>I. Carazo et al.</i>	484
Crecimiento e índices de condición de mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) cultivado en Andalucía. <i>P. León et al.</i>	486
Concentraciones crítica y letal de oxígeno y capacidad de recuperación frente a la hipoxia en el centollo (<i>Maja brachydactyla</i>). <i>J. Cerezo Valverde et al.</i>	488

Efecto del confinamiento en espacios reducidos, sobre el crecimiento de juveniles de centollo (<i>Maja brachydactyla</i>). <i>J. Alaminos et al.</i>	490
Influencia del estrés por confinamiento y por ayuno sobre el metabolismo intermediario en el bocinegro <i>Pagrus pagrus</i> L. <i>R. Laiz-Carrión et al.</i>	492
Efecto de la exposición aguda al amoníaco sobre el metabolismo cerebral de la dopamina y serotonina en juveniles de <i>Solea senegalensis</i> . <i>R. A. Weber et al.</i>	494
Efecto de la dieta y de la salinidad sobre la expresión de IGF-I e IGF-II en juveniles de sargo (<i>D. sargus</i>). <i>L. Pérez et al.</i>	496
Influencia de la temperatura en el tiempo de evacuación gastrointestinal en dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>A. Álvarez et al.</i>	498
Variación del consumo de oxígeno y la frecuencia de ventilación de la dorada (<i>Sparus aurata</i>) como respuesta a una hipoxia progresiva. <i>A. Cocco et al.</i>	500
Ritmos diarios de pH gástrico y actividad enzimática digestiva en doradas (<i>Sarus aurata</i> L., 1758) alimentadas de día, de noche y aleatoriamente. <i>A. Montoya et al.</i>	502
<i>Paneles</i>	
Caracterización del ciclo reproductivo del mejillón <i>Perna perna</i> (Linné, 1758) en las Islas Canarias. <i>L. Aarab et al.</i>	504
Estudio comparativo de la actividad de enzimas antioxidantes en glándula digestiva y gónada de la vieira <i>Pecten maximus</i> L. <i>M. Abad et al.</i>	506
Efecto de la intensidad de la luz sobre el crecimiento y supervivencia larvaria en dentón (<i>Dentex dentex</i>). <i>E. Abellán et al.</i>	508
Nuevas aportaciones al estudio de la organogénesis en larvas de corvina (<i>Argyrosomus regius</i> Asso, 1801). <i>N. Abreu et al.</i>	510
Caracterización de linfocitos intraepidérmicos en trucha arco iris <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792). <i>M. E. Alonso-Naveiro et al.</i>	512
Estabulación, mantenimiento de stocks de reproductores de mugilidos en tanques (<i>Chelon labrosus</i> y <i>Mugil cephalus</i>) y primeros ensayos de inducción a la puesta. <i>O. Amezcua et al.</i>	514
Desarrollo embrionario y larvario de dos especies de moluscos bivalvos: <i>Donax trunculus</i> (Linné, 1758) y <i>Ruditapes decussatus</i> (Linné, 1758). <i>J. A. Aranda et al.</i>	516
Primeros resultados sobre reproducción y cultivo larvario de verrugato (<i>Umbrina cirrosa</i> L.). <i>M. Arizcun et al.</i>	518
Crecimiento muscular en doradas, <i>Sparus aurata</i> L., alimentadas con un suplemento de alginato sódico. <i>M.ª D. Ayala et al.</i>	520
Análisis metabólico del preengorde de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) bajo diferentes tasas alimenticias. <i>A. C. Bajandas et al.</i>	522

Efecto de la temperatura en el crecimiento y cambios fisiológicos durante la metamorfosis en el lenguado <i>Solea senegalensis</i> . <i>B. Blanco-Vives et al.</i>	524
Influencia del espectro de luz y el fotoperiodo en los ritmos de actividad de juveniles de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>B. Blanco-Vives et al.</i>	526
Dinámica del contenido en fosfolípidos y triglicéridos asociada a la temperatura, en el acondicionamiento de <i>Ruditapes decussatus</i> (L.). <i>M. J. Blanco et al.</i>	528
Ultraestructura del epitelio del pie de la oreja de mar (<i>Haliotis tuberculata</i>). <i>I. Bravo et al.</i>	530
Optimización del cultivo de camarón (<i>Palaemonetes varians</i> . Leach. 1814) a partir de la captación de hembras ovigeras. <i>C. Burgos et al.</i>	532
Formación y desarrollo de las diferentes aletas de <i>Acipenser naccarii</i> (Bonaparte, 1836), durante la morfogénesis. <i>R. Cabrera et al.</i>	534
Desarrollo embrionario y larvario de la almeja babosa <i>Venerupis pullastra</i> (Montagu, 1803) al microscopio electrónico de barrido. <i>A. Cerviño-Otero et al.</i>	536
Efecto del anestésico MS-222 en parámetros sanguíneos indicadores de estrés en trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) y su atenuación mediante oxigenación intensa del medio. <i>M. Conde-Sieira et al.</i>	538
Efecto del estadio gametogénico inicial en el acondicionamiento de tres especies de solénidos: <i>Ensis arcuatus</i> , <i>E. siliqua</i> y <i>Solen marginatus</i> . <i>F. da Costa et al.</i>	540
Reproducción del atún rojo <i>Thunnus thynnus</i> en jaulas flotantes. Obtención de puestas masivas mediante implantes hormonales. <i>F. de la Gándara et al.</i>	542
Influencia de distintas condiciones de cultivo sobre el crecimiento y la supervivencia de la acedía (<i>Dicologlossa cuneata</i> Moreau, 1881). <i>E. de la Roca et al.</i>	544
Cultivo larvario del erizo de mar (<i>Paracentrotus lividus</i>). Resultados obtenidos en el período 2006-2009. <i>S. de la Uz et al.</i>	546
Marcaje interno de juveniles del erizo de mar <i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck, 1816). <i>S. de la Uz et al.</i>	548
Crecimiento de <i>Octopus vulgaris</i> en tanques en el Delta del Ebro: efectos de la densidad de cultivo y de la salinidad. <i>M. Delgado et al.</i>	550
¿Funciona el hígado de <i>Carassius auratus</i> como un oscilador sincronizado a la hora de alimentación? <i>A. Feliciano et al.</i>	552
Efecto de distintas dosis de GnRH α sobre la calidad de la puesta de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>H. Fernández-Palacios et al.</i>	554
Eficacia de la inducción hormonal con distintas dosis de GnRH α en corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>H. Fernández-Palacios et al.</i>	556
Localización histoquímica de glicoconjugados en el epitelio del pie de <i>Haliotis tuberculata</i> mediante el uso de lectinas. <i>A. M. Garcés et al.</i>	558

Influencia de la fuente de lípidos del pienso sobre la respuesta de macrófagos renales en tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i> L.). <i>J. A. García et al.</i>	560
Cambios morfométricos y de composición durante el primer año de cultivo de la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>). <i>S. García-Mesa et al.</i>	562
Ciclo gametogénico, talla de primera madurez sexual y fecundidad en hembras de bocinegro, <i>Pagrus pagrus</i> (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz. <i>M. García-Pacheco et al.</i>	564
Organogénesis y morfometría de la fase lecitotrófica de larvas del medregal negro (<i>Seriola rivoliana</i> Valenciennes, 1883). <i>E. Grossi et al.</i>	566
Captura, aclimatación y maduración en cautividad de reproductores salvajes de <i>Pseudocaranx dentex</i> en Canarias. <i>R. Guirao et al.</i>	568
Evaluación de los efectos fisiológicos e histopatológicos de un polibromado sobre juveniles de rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>). <i>M. A. López-Patiño et al.</i>	570
Estudio del desarrollo larvario de una población de coquina <i>Donax trunculus</i> (Linné, 1758). <i>A. Louzán et al.</i>	572
Un modelo cuantil estacional del crecimiento de la dorada (<i>Sparus aurata</i>) en condiciones de producción. <i>P. Mayer et al.</i>	574
Modelo TGC mixto para el crecimiento estacional de la dorada (<i>Sparus aurata</i>) en condiciones de producción. <i>P. Mayer et al.</i>	576
Variaciones en la composición en ácidos grasos en tejidos de machos de anguila europea durante la maduración sexual inducida. <i>I. Mazzeo et al.</i>	578
Cortisol y movilización de lípidos como indicadores de estrés en bocinegros (<i>Pagrus pagrus</i> L.) sometidos a confinamiento y ayuno. <i>Ó. Monroig et al.</i>	580
Cultivo de erizo de mar en criadero: desoves y desarrollos larvarios. <i>J. Ojea et al.</i>	582
Resultados preliminares de los 30 primeros días de cultivo larvario de atún rojo <i>Thunnus thynnus</i> , en el IEO. <i>A. Ortega et al.</i>	584
Efectos del metilcolantreno en la migración ocular y en la aparición de fenotipos malformados en juveniles de lenguado (<i>Solea senegalensis</i> K.). <i>J. B. Ortiz-Delgado et al.</i>	586
Expresión de IGF-I e IGF-II en gónada masculina y femenina de <i>D. sargus</i> . Dependencia de GH y LH. <i>L. Pérez et al.</i>	588
Caracterización molecular y análisis de la expresión génica del receptor de la tirotrópina en el lenguado senegalés (<i>Solea senegalensis</i> Kaup). <i>M. Ponce et al.</i>	590
Optimización de la reproducción inducida del cacho (<i>Squalius pyrenaicus</i> , Günther 1868). <i>H. J. Pula et al.</i>	592
Obtención de puestas de lenguado senegalés por masaje abdominal con dos métodos de administración de terapia hormonal. <i>I. Rasines et al.</i>	594

Evolución de la maduración gonadal de ejemplares de <i>Seriola dumerilli</i> mantenidos en cautividad. <i>J. Roo et al.</i>	596
Maduración y obtención de puestas de <i>Seriola rivoliana</i> en Canarias. <i>J. Roo et al.</i>	598
Expresión de per1 en lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>J. A. Sánchez et al.</i>	600
Efecto de la temperatura en el crecimiento, supervivencia y desarrollo larvario del mejillón <i>Mytilus galloprovincialis</i> . <i>C. Sánchez-Lazo et al.</i>	602
Crecimiento y supervivencia del esturión <i>Acipenser naccarii</i> durante su permanencia en el agua de mar. <i>A. Sanz et al.</i>	604
Efecto del desplazamiento del fotoperiodo natural en la inducción y calidad de la puesta de la centolla, <i>Maja brachydactyla</i> . <i>C. G. Simeó et al.</i>	606
Localización de la expresión de leptina en <i>Carassius auratus</i> y su regulación por el fotoperiodo en el hígado. <i>A. B. Tinoco et al.</i>	608
Estudio de las defensas enzimáticas antioxidantes en tres especies del erizo de mar (<i>Arbacia lixula</i> , <i>Sphaerechinus granularis</i> y <i>Paracentrotus lívidus</i>). <i>C. E. Trenzado et al.</i>	610
Efecto de la salinidad sobre los perfiles de ácidos grasos y la actividad Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa de branquias de dorada, <i>Sparus aurata</i> . <i>R. Ureña et al.</i>	612
Efecto del fotoperiodo en el crecimiento y supervivencia de larvas de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) en cultivo intensivo. <i>R. Vallés et al.</i>	614
Modificaciones estacionales del metabolismo hepático de la corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) durante la fase de engorde en estero. <i>L. Vargas-Chacoff et al.</i>	616
Cronotoxicidad de anestésicos y comportamiento en peces. <i>L. M. Vera et al.</i>	618
Optimización del cultivo de las macroalgas <i>Ulva rigida</i> , <i>Hypnea spinella</i> y <i>Gracilaria cornea</i> en aguas efluentes de cultivos marinos. <i>M. P. Viera et al.</i>	620
Efectos de la leptina de <i>Takifugu rubripes</i> sobre la actividad locomotora, la ingesta y la glucemia en el carpín (<i>Carassius auratus</i>). <i>Y. Vivas et al.</i>	622

Calidad Alimentaria

Comunicación oral

Propiedades texturales del músculo de corvina. Influencia de la composición del pienso y el tiempo de almacenamiento. <i>A. Menchón Galera et al.</i>	626
Influencia de la restricción dietaria y el tiempo de almacenamiento sobre las proteínas musculares de la dorada (<i>Sparus aurata</i>). <i>M. D. Suárez et al.</i>	628
Conservación de filetes de tilapia (<i>Oreochromis</i> spp) en atmósfera modificada y vacío «skin». <i>L. Provincial et al.</i>	630

Estabilización y caracterización de pulpas de pescado procedentes de especies de acuicultura. <i>R. Llorente et al.</i>	632
Desarrollo de perfiles sensoriales para la caracterización de tres especies de crianza: dorada, lubina y besugo. <i>L. Rincón et al.</i>	634
Perfil descriptivo de dorada (<i>Sparus aurata</i>). Comparativa entre salvaje y cultivada por tres paneles de catadores entrenados. <i>M. D. Hernández et al.</i>	636
Programa de vigilancia sobre anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia. <i>J. Peñalver et al.</i>	638
 <i>Paneles</i>	
Influencia del ayuno previo al sacrificio sobre la vida útil de doradas (<i>Sparus aurata</i>) de tamaño comercial almacenadas en hielo. <i>A. Álvarez et al.</i>	640
Selección y entrenamiento de un panel de catadores para pescado. <i>A. Álvarez et al.</i>	642
Cambios musculares y texturales en dorada, <i>Sparus aurata</i> L. durante la degradación postmortem. Estudio I: Filetes mantenidos en refrigeración. <i>M.ª D. Ayala et al.</i>	644
Cambios musculares y texturales en dorada, <i>Sparus aurata</i> L., durante la degradación postmortem. Estudio II: Filetes envasados al vacío. <i>M.ª D. Ayala et al.</i>	646
Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes. Parámetros ambientales, fitoplancton tóxico y biotoxinas. <i>M. Fernández-Tejedor et al.</i>	648
Interrelación de laboratorios de control y laboratorios de investigación en España para la armonización de metodologías de determinación de toxinas paralizantes. <i>G. Giménez et al.</i>	650
Estudio del contenido de ácidos grasos en la carne de trucha común (<i>Salmo trutta fario</i>). Comparación de la trucha común salvaje y de piscifactoría. <i>A. M. Larrán et al.</i>	652
Influencia de la etapa de crecimiento sobre las proteínas musculares de la corvina (<i>Argirosomus regius</i>). <i>A. Menchón Galera et al.</i>	654
Presencia del coccidio <i>Aggregata octopiana</i> en pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>) procedente de acuicultura en el sureste peninsular. <i>J. Peñalver et al.</i>	656
Estudio del envasado y conservación de lubina (<i>dicentrarchus labrax</i>). Análisis del momento óptimo de procesado tras captura y presentación en el envasado. <i>L. Provincial et al.</i>	658
Diferencias sensoriales entre la lubina de crianza y la de pesca extractiva. <i>L. Rincón et al.</i>	660
Perfil descriptivo de besugo (<i>Pagellus bogaraveo</i>). Comparativa entre salvaje y cultivado por tres paneles de catadores entrenados. <i>M. D. Hernández et al.</i>	662

Medio Ambiente

Comunicación oral

Diferenciación genética de poblaciones de erizo de mar (<i>Paracentrotus lividus</i> Lamarck, 1816) basada en RAPDs. <i>M. Rey-Méndez et al.</i>	666
--	-----

Fitotoxicidad inducida por formaldehído, amonio cuaternario y peróxido de hidrógeno sobre la macroalga marina <i>Saccharina latissima</i> (Laminariales, Phaeophyta). <i>J. M. Salinas et al.</i>	668
Inducción de procesos de detoxificación en peces cultivados como indicativo de la existencia de una contaminación difusa. <i>A. Valdehita et al.</i>	670
Monitorización temporal de la calidad del agua de cultivo de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en la Ría de Vigo utilizando el test de mutagenicidad de <i>Vibrio harveyi</i> . <i>Y. Ruiz et al.</i>	672
Conectividad entre piscifactorías por la movilidad de peces salvajes agregados: consecuencias potenciales para el cultivo. <i>P. Arechavala-López et al.</i>	674
P.N. JACUMAR (2006-2008) Mitigación del impacto ambiental generado por los cultivos marinos en estructuras flotantes. Evaluación de la eficacia de la utilización de biofiltros artificiales de fondo para la mitigación del impacto ambiental derivado de la piscicultura marina en jaulas flotantes. Resultados finales. <i>F. Aguado-Giménez et al.</i>	676
Repoblación de rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i> , L.) en la Costa de Galicia. <i>J. C. Mariño et al.</i>	678
Acuicultura integrada: desarrollo de experiencias de cultivos multitróficos en la costa española. <i>J. C. Macías et al.</i>	680
<i>Paneles</i>	
Policultivo en esteros de ostión (<i>Crassostrea gigas</i>) y langostinos (<i>Pennaus japonicus</i>), asociado a un cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>M. M. Agraso et al.</i>	682
Evaluación del crecimiento de la ostra plana (<i>Ostrea edulis</i> L.) en cultivo integrado con un cultivo intensivo de peces en mar abierto. <i>F. Aguado Giménez et al.</i>	684
Procedimientos de maduración y cría en cautividad de ejemplares madurados en cautividad procedentes de poblaciones amenazadas: calandino (<i>Iberocypris alburnoides</i>) y pardilla (<i>Iberochondrostoma lemmingii</i>). <i>C. Alonso González et al.</i>	686
Guía para el desarrollo sostenible de la acuicultura mediterránea selección y gestión de emplazamientos para acuicultura. <i>P. Ávila et al.</i>	688
Impacto ambiental del cultivo de mejillón en longline (Fuerteventura, Islas Canarias). <i>A. Bilbao et al.</i>	690
Experiencia de cultivo integrado de macroalgas en jaulas de peces en la Ría de Muros y Noia (A Coruña). <i>J. Cremades et al.</i>	692
Cultivo larvario de la centolla mediterránea, Maja squinado, usando diferentes secuencias alimenticias. <i>J. Durán et al.</i>	694
Influencia del aporte de cobre y zinc en una piscifactoría de jaulas flotantes en los niveles de organismos y sedimentos del entorno. <i>Y. Favieres et al.</i>	696
Protocolo para la realización de los planes de vigilancia ambiental de las instalaciones de acuicultura marina en la región de Murcia . <i>J. M. Gutiérrez et al.</i>	698
Análisis de ictiofauna asociada a biofiltros fondeados en instalaciones de cultivos marinos en mar abierto. <i>A. Ibáñez et al.</i>	700

Cultivo suspendido en cuerdas, de mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) asociado a cultivo de dorada (<i>Sparus aurata</i>) y lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas en mar abierto. <i>A. Ibáñez et al.</i>	702
Ordenación y estima de la capacidad de carga de un polígono de acuicultura mediante el uso de modelos ecológicos. <i>F. López et al.</i>	704
Cultivo suspendido en long-line de ostión (<i>Crassostrea gigas</i>) asociado a cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas en mar abierto. <i>O. Mansilla et al.</i>	706
Cambios en la composición lipídica de tejidos de boga (<i>Boops boops</i>) asociada a jaulas de engorde de dorada y lubina en el SE Ibérico. <i>L. Martínez-Rubio et al.</i>	708
Respiración bentónica y flujos de nutrientes en piscifactorías marinas en jaulas flotantes. <i>T. Morata et al.</i>	710
Estudio de indicadores ambientales en granjas de acuicultura en tierra en la región Sur-Atlántica. <i>M. Peña et al.</i>	712
Sistema computacional para apoyar las buenas prácticas de gestión de la acuicultura en Brasil (AQUISYS) - énfasis en la tilapicultura. <i>Maria Conceição Peres Young Pessoa et al.</i>	714
Velocidad de sedimentación y lixiviado de nitrógeno amoniacal total en piensos y heces de dorada (<i>Sparus aurata</i>) y lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>). <i>M. A. Piedecausa et al.</i>	716
Procesos geoquímicos en fondos marinos blandos influenciados por la acuicultura: consumo de oxígeno, flujo de amoníaco y producción de sulfuros. <i>M. A. Piedecausa et al.</i>	718
Patrones temporales de los residuos producidos por el cultivo de dorada (<i>Sparus aurata</i>), lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) y atún rojo (<i>Thunnus thynnus</i>). <i>M. A. Piedecausa et al.</i>	720
Influencia de la fauna necto-bentónica salvaje en la mineralización de los residuos particulados derivados de los cultivos marinos: experimentos de exclusión. <i>M. A. Piedecausa et al.</i>	722
La oceanografía como herramienta de apoyo a la gestión de la acuicultura en mar abierto. <i>E. Reyes-Reyes et al.</i>	724
Comunidad macrozoobentónica asociada a estructuras flotantes en una granja de peces marinos en mar abierto. <i>R. Serra Llinares et al.</i>	726
Importancia del control del agua de cultivo de los polígonos mejilloneros: acumulación de contaminantes en <i>Mytilus galloprovincialis</i> de la Ría de Vigo. <i>P. Suárez et al.</i>	728
Caracterización de eventos de escape de <i>Sparus aurata</i> y <i>Dicentrarchus labrax</i> en Gran Canaria mediante entrevistas a pescadores deportivos. <i>D. Tavares et al.</i>	730
Efectos de diversas piscifactorías aragonesas de trucha arco iris <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) sobre las comunidades de macroinvertebrados bentónicos. <i>A. Torralba-Burrial et al.</i>	732

Preferencias alimentarias de *Mytilus galloprovincialis* en la Bahía de Alfacs (Delta del Ebro)

E. Galimany^{1,4}, M. Ramón^{2,3,4} y M. Delgado³

¹ IRTA, Crta. Poble Nou s/n, 43540 St. Carles de la Ràpita. eva.galimany@irta.cat

² Instituto Español de Oceanografía-Centre Oceanogràfic de les Balears, Moll de Ponent s/n, 07015 Palma

³ ICM-CSIC, Psg. Marítim de la Barceloneta 37-49, 08003 Barcelona

⁴ Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya, CRAq

Abstract

The feeding behavior of cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis*) was investigated in Alfacs Bay (Ebro Delta), a N.W. Mediterranean estuary. For this purpose, the phytoplankton species of the bay water, and stomach contents, feces and pseudofeces of mussels were identified and quantified at four different periods throughout a year. Despite the high abundances of diatoms in the natural water, it was mostly dinoflagellates that were positively selected and ingested.

Justificación

El fitoplancton constituye la alimentación principal de los moluscos bivalvos. Las partículas alimenticias se seleccionan, previas a la ingestión, a nivel de branquias y palpos (Kjørboe y Møhlenberg, 1981; Ward *et al.*, 1998) y el material rechazado se elimina como pseudoheces. El alimento ingerido puede ser digerido y absorbido en la glándula digestiva, eliminándose los restos en forma de heces glandulares, o bien eliminado en forma de heces intestinales, que contienen alimento poco digerido (Widdows *et al.*, 1979). La actividad filtradora de los bivalvos y su eficiencia de selección produce cambios en el ecosistema acuático (Petersen *et al.*, 2008), ejerciendo un control top-down sobre las comunidades de fitoplancton (Trottet *et al.*, 2008). Aun así, son escasos los estudios que analizan el comportamiento alimenticio en condiciones naturales (Sidari *et al.*, 1998; Rouillon *et al.*, 2005).

Material y Métodos

En una de las bateas de la bahía de Alfacs (Delta del Ebro) se realizaron 4 experimentos en 4 épocas del año (noviembre 2006, y febrero, abril y julio 2007). Diez mejillones se colocaron individualmente en vasos de precipitado con agua de la bahía en flujo continuo. Se tomaron muestras de agua y, transcurrido el tiempo de tránsito intestinal (calculado según Hawkins *et al.*, 1996), se recolectaron contenido estomacal, heces y pseudoheces. En todas las muestras se identificó y cuantificó el fitoplancton. Para evaluar la selección preingestiva se usó el índice SI, basado en Bayne *et al.* (1993):

$$SI = 1 - (PS / W)$$

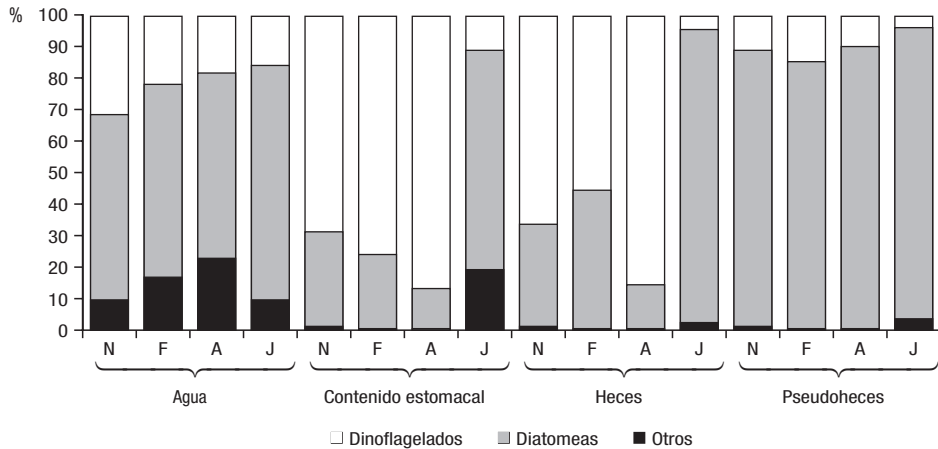
donde PS es el porcentaje de cada especie en las pseudoheces y W es el porcentaje de la misma especie en el agua. Valores significativos de SI positivos indican selección e ingestión y negativos indican rechazo vía pseudoheces. La existencia de diferencias entre muestras se determinó mediante MANOVA; el nivel de significación del SI se evaluó usando la prueba no paramétrica de Wilcoxon (Statgraphics Plus; Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA).

Resultados y Discusión

Las 62 especies de micro algas identificadas y los 6 grupos con especies no identificadas se categorizaron en dinoflagelados, diatomeas y «otros». Las diatomeas fueron más abundantes en el agua ($p < 0.05$) (Fig. 1). Aun así, los contenidos estomacales y heces presentaron mayor porcentaje de dinoflagelados durante noviembre, febrero y abril ($p < 0.05$), coincidiendo con otros estudios (Ren *et al.*, 2006; Trottet *et al.*, 2008). Las pseudoheces contenían principalmente diatomeas ($p < 0.01$).

El SI confirma estos resultados puesto que mostró valores significativamente positivos para dinoflagelados y «otros», y negativos para diatomeas, indicando selección preferencial e ingestión de dinoflagelados y «otros» y rechazo de diatomeas. En julio tuvo lugar una proliferación de la diatomea *Cyclotella meneghiniana* alterando la preferencia de selección de los mejillones puesto que, aunque en baja concentración es una de las pocas diatomeas que se seleccionan positivamente, en épocas de «bloom» se rechaza. Aun así, la concentración era tan elevada que los mejillones se vieron forzados a ingerir dicha especie, que rechazaron también en forma de heces intestinales.

Figura 1. Medias de los porcentajes del número de células de dinoflagelados, diatomeas y «otros» en el agua, contenido estomacal, heces y pseudoheces de los mejillones para cada periodo de estudio (N: noviembre 2006; F: febrero 2007; A: abril 2007; J: julio 2007).



Bibliografía

- Bayne B.L., Iglesias J.I.P., Hawkins A.J.S., Navarro E., Heral M., Deslous-Paoli J.M. 1993. Feeding behaviour of the mussel, *Mytilus edulis*: responses to variations in quantity and organic content of the seston. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 73, 813-829.
- Hawkins A.J.S., Smith R.F.M., Bayne B.L., Héral M. 1996. Novel observations underlying the fast growth of suspension-feeding shellfish in turbid environments: *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series* 131, 179-190.
- Kjørboe T., Møhlenberg F. 1981. Particle selection in suspension-feeding bivalves. *Marine Ecology Progress Series* 5, 291-296.
- Petersen J.K., Nielsen T.G., Van Duren L., Maar M. 2008. Depletion of plankton in a raft culture of *Mytilus galloprovincialis* in Ria de Vigo, NW Spain. I. *Phytoplankton. Aquatic Biology* 4, 113-125.
- Ren J.S., Ross A.H., Hayden B.J. 2006. Comparison of assimilation efficiency on diets of nine phytoplankton species of the greenshell mussel *Perna canaliculus*. *Journal of Shellfish Research* 25, 887-892.
- Rouillon G., Guerra Rivas J., Ochoa N., Navarro E. 2005. Phytoplankton composition of the stomach contents of the mussel *Mytilus edulis* L. from two populations: comparison with its food supply. *Journal of Shellfish Research* 24, 5-14.
- Sidari L., Nichetto P., Cok S., Sosa S., Tubaro A., Honsell G., Della Loggia R. 1998. Phytoplankton selection by mussels, and diarrhetic shellfish poisoning. *Marine Biology* 131, 103-111.
- Trottet A., Roy S., Tamigneaux E., Lovejoy C., Tremblay R., 2008. Impact of suspended mussels (*Mytilus edulis* L.) on plankton communities in a Magdalen Islands lagoon (Québec, Canada): A mesocosm approach. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 365, 103-115.
- Ward J.E., Levinton J.S., Shumway S.E., Cucci T.L. 1998. Particle sorting in bivalves: in vivo determination of the pallial organs of selection. *Marine Biology* 131, 283-292.
- Widdows J., Fieth P., Worrall C.M. 1979. Relationships between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 50, 195-207.

Crecimiento compensatorio en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Parastacidae):

I. Protocolo de alimentación-inanición

L. Stumpf, N. Calvo y L.S. López Greco

Laboratorio de Biología de la Reproducción y Crecimiento en Crustáceos, Dpto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Cdad. Univ. C1428EGA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: lia.stumpf@gmail.com, laura@bg.fcen.uba.ar

Abstract

One potential way of reducing feeding cost in aquaculture is to take advantage of the compensatory growth. In this study the effect of intermittent feeding on compensatory growth in juveniles stage III of *Cherax quadricarinatus* was evaluated. The protocol consisted of alternate periods of feeding and starvation until moulting to stage IV, followed by a refeeding period. Juveniles were divided into eight treatments of intermittent feeding and two controls. After the first moult, the growth increment (% GI) and specific growth rate (SGR) were significantly lower than CF (continuous feeding) only in AI1 (one day fed followed by one day starved). At 15 and 30 days, the GI and SGR showed no differences in relation to CF. Survival were significantly lower in CS (continuous starvation), AI1 and AI5 at the end of experiment. The juveniles compensate as a response to intermittent feeding when they receive food for at least two days.

Justificación

Para reducir costos en la acuicultura hay que desarrollar un adecuado manejo alimenticio (Eroldogan *et al.*, 2006) y un modo potencial es aprovechar el proceso de crecimiento compensatorio. El crecimiento compensatorio representa un incremento en la ganancia de peso como resultado de restricciones de crecimiento durante el período temprano por privación del alimento (Kim y Lovell, 1995). Un protocolo de alimentación intermitente fue utilizado para estimular el crecimiento compensatorio en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce, *Cherax quadricarinatus* con el objetivo de reducir costos de alimentación y mejorar la calidad de agua por reducción de residuos manteniendo una satisfactoria ganancia de peso.

Material y Métodos

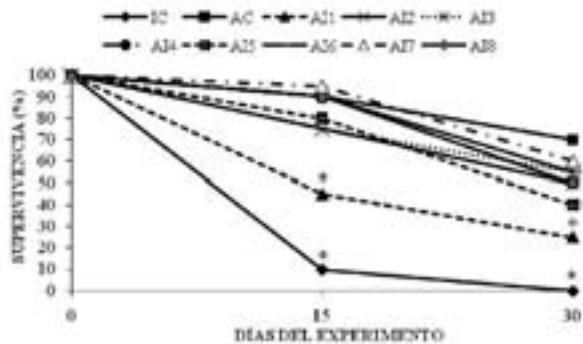
Doscientos juveniles fueron obtenidos bajo condiciones de laboratorio. El peso inicial varió entre 13,6 mg y 17,9 mg. Cada juvenil fue colocado en un recipiente plástico (250 cm³) con 200 ml de agua deionada (27 ± 1° C) y un trozo de red (3 × 3cm) como refugio. Estos juveniles (estadio III) fueron distribuidos aleatoriamente en 8 tratamientos y dos controles. El protocolo utilizado consistió de períodos alternados de restricción alimentaria (alimentación e inanición) y fue mantenido hasta que el juvenil mudara al estadio IV, en todos los tratamientos. Al mudar, los juveniles fueron alimentados *ad libitum* diariamente hasta el final del experimento. La ganancia de peso para los 15 y 30 días fue calculada a partir de la primera muda, mientras que los días totales de alimentación en cada tratamiento fueron calculados a partir del inicio del experimento. Los tratamientos fueron denominados de alimentación-inanición (AI) y los juveniles fueron expuestos a 1 día de alimentación y 1 día de inanición (AI1), 2 días de alimentación y 2 días de inanición (AI2), 3 días de alimentación y 3 días de inanición (AI3), 4 días de alimentación y 4 días de inanición (AI4), 5 días de alimentación y 5 días de inanición (AI5), 6 días de alimentación y 6 días de inanición (AI6), 7 días de alimentación y 7 días de inanición (AI7) y 8 días de alimentación y 8 días de inanición (AI8). Los tratamientos controles fueron: inanición continua (IC) y alimentación continua (AC).

Resultados y Discusión

En el período de la alimentación intermitente los juveniles mudaron más del 70% en todos los tratamientos excepto IC que no tuvo ninguna muda resultando ser el único que difirió de AC. Al finalizar este período de restricción, fue evaluada la ganancia de peso (%GP) donde el único tratamiento que difirió de AC con inferior ganancia fue el tratamiento AI1 (Figura 1). Para la tasa de crecimiento específico (TCE), AI1 ($p < 0,001$) también fue el único que creció menos que AC. Estos datos señalan que los juveniles de *C. quadricarinatus* son capaces de compensar si reciben al menos 2 días de alimentación, aún pasando por períodos de restricción. A los 15 días (período de realimentación) tanto para %GP como para TCE, ningún tratamiento difirió del AC y esto se mantuvo hasta el final del experimento, corroborando la capacidad del crecimiento compensatorio de esta especie (Tabla 1). Es interesante destacar que AC ingirió alimento por 30 días

Tabla 1. Ganancia de peso de los juveniles de *Cherax quadricarinatus* durante el período de restricción y realimentación. Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Tratamientos	AC	AI1	AI2	AI3	AI4	AI5	AI6	AI7	AI8
Primera muda									
Días de alimentación	7	4	4	6	5	5	6	6	7
Ganancia de peso (%)	52,40 ± 31,92 ^a	21,75 ± 6,42 ^b	42,28 ± 24,39 ^{a,d}	77,86 ± 42,31 ^{a,c}	53,62 ± 31,67 ^a	45,03 ± 17,80 ^{a,d}	58,22 ± 27,95 ^a	47,72 ± 25,18 ^a	56,49 ± 26,52 ^a
15 días									
Días de alimentación	15	12	12	10	14	14	14	15	15
Ganancia de peso (%)	77,98 ± 19,22 ^a	67,26 ± 17,95 ^a	73,36 ± 15,44 ^a	79,77 ± 16,76 ^a	67,51 ± 26,02 ^a	69,27 ± 9,92 ^a	55,47 ± 20,65 ^a	63,73 ± 18,54 ^a	57,98 ± 21,86 ^a
30 días									
Días de alimentación	30	27	26	25	27	29	29	30	29
Ganancia de peso	167,43 ± 78,38 ^a	136,28 ± 20,77 ^a	151,92 ± 77,34 ^a	119,87 ± 89,97 ^a	123,48 ± 74,58 ^a	179,43 ± 44,96 ^a	152,30 ± 58,21 ^a	208,72 ± 105,89 ^a	175,51 ± 73,16 ^a

Figura 2. Supervivencia de los juveniles de *Cherax quadricarinatus* durante el experimento. Las diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto de AC se indican con *.

consecutivos, mientras que el número total de días de alimentación para AI1 fue 27 días, AI2 de 26 días, AI3 de 25 días, AI4 de 27 días, AI5 y AI6 de 29 días, AI6 de 30 días y AI7 de 29 días (Tabla 1). La supervivencia a los 15 días del experimento fue significativamente baja para AI1 e IC. A los 30 días IC no presentó supervivientes y AI1 continuó bajando su supervivencia al igual que AI5, que también fue menor que AC (Figura 2).

Agradecimiento

PICT 2007-01187, PIP 00129, UBACYT X453. Carlos Anselmi, Granja Las Golondrinas S.A., Argentina.

Bibliografía

- Eroldogan O.T., Kumlu M., Kiris G.A., y Sezer B. 2006. Compensatory growth response of *Sparus aurata* following different starvation and refeeding protocols. *Aquaculture Nutrition*. 12: 203-210.
- Kim M.K., y Lovell R.T. 1995. Effect of restricted feeding regimens on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in ponds. *Aquaculture*. 135: 285-293

Crecimiento en batea de erizos de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) nacidos en criadero y alimentados con algas

M. Rey-Méndez¹, J. Quinteiro¹, J. Rodríguez-Castro¹, N. Tourón¹, A. Rama Villar¹, N. González²,
D. Martínez³, J. Ojea³ y J.L. Catoira⁴

¹ Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad asociada al CSIC). CIBUS, Campus Sur. 15782 Santiago de Compostela, A Coruña. e-mail: manuel.rey.mendez@usc.es

² Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Carretera de Taliarte s/n, 35200-Telde, Gran Canaria

³ Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Centro de Cultivos Mariños-CIMA. 27700-Ribadeo. Lugo

⁴ Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Delg. Territorial de A Coruña. Casa do Mar 5ºP, 15006-A Coruña

Abstract

The economic importance of the extraction of *Paracentrotus lividus* has led us to carry out diverse experiments related to the culture and rearing of this specie in rafts, in order to undertake programs of repopulation and sustainable operation of the resource. Therefore, production techniques with the aim of proposing protocols and suitable methods of management for their handling are being completed. In this work we show some of the results, corresponding to two years of the activity, from the experiments carried out with juvenile sea urchins obtained from Centro de Investigacións Mariñas de Ribadeo (CIMA) to different densities and fed with seaweed.

Justificación

De las distintas especies de equinoideos en nuestras costas *Paracentrotus lividus* es la más importante desde el punto de vista comercial. Su distribución es muy amplia, abarcando la totalidad del Atlántico Norte, desde las costas de Escocia hasta las de Marruecos, adentrándose en el Mediterráneo hasta el mar Adriático. En la C.A. de Galicia se mantiene una importante producción anual desde 1985, que oscila entre 400 y 750 t. constituyéndose en el mayor productor europeo, siendo su facturación en lonja de 1,7 millones de euros en el año 2007. El aumento constante de la demanda de países donde es considerada una exquisitez culinaria como Francia, Italia, Turquía, Bélgica o Japón, está provocando una disminución del recurso en las diferentes pesquerías. Los bajos niveles de captura unidos al aumento de la demanda dan como resultado un incremento del precio del kilogramo de gónada de erizo, que oscila entre los 200-400 dólares. Es evidente la necesidad de desarrollar una acuicultura orientada al cultivo y a la repoblación del erizo de mar, así como a una mejor gestión del recurso (Lozano *et al.*, 1995; Girard *et al.*, 2006). En este trabajo se exponen los resultados de dos años de engorde en batea de tres grupos de juveniles nacidos en criadero y alimentados con algas.

Materiales y métodos

Se realizó la medición de tres grupos de erizos, nacidos en el Centro de Investigaciones Marinas de Ribadeo, en una batea experimental de la Universidad de Santiago de Compostela, situada en el polígono A de la ría de Muros-Noia. Grupo A: 390 nacidos el 30 de septiembre de 2006, llevados a la batea el 12 de julio del año 2007, con un diámetro de 5-10 mm («pequeños primera tanda»). Grupo B: 203 nacidos el mismo día y trasladados a la batea en la misma fecha, con un diámetro de 10-15 mm («grandes primera tanda»). Grupo C: 180 nacidos en enero-mayo de 2007 y llevados el 2 de octubre de 2007 («segunda tanda»), con un diámetro de 15 mm. Con diferentes densidades los grupos A y B. Los erizos de la segunda tanda sin separación de densidades. Se introducen en cestas ostrícolas apilables divididas por cuarterones para realizar cuatro grupos de distinta densidad en el caso de los erizos de la primera tanda, estas cestas se suspenden de la batea a una profundidad de 5 m, alimentándose *ad libitum* con una mezcla a partes iguales de algas de las especies *Ulva* sp. y *Laminaria* sp., las algas se renuevan cada vez que se alimenta a los erizos, semanalmente. Mensualmente se determinó la mortalidad, el peso y el diámetro de los ejemplares. El periodo controlado en este trabajo va desde el mes de julio del año 2007 hasta el mes de junio de 2009 (veintitrés meses).

Resultados y discusión

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos de la evolución del peso y diámetro de los tres grupos de erizos, durante 23 meses en los de la primera tanda y 20 meses en los de la segunda. Los valores de supervivencia son bajos (tabla 1a) debido a escapes por accidente o mal cierre de las cestas, no a la mortalidad.

Figura 1. Evolución del diámetro de los erizos pequeños de la primera tanda (a), grandes de la primera tanda (b), de la segunda tanda (c) y evolución del peso y diámetro de los tres grupos

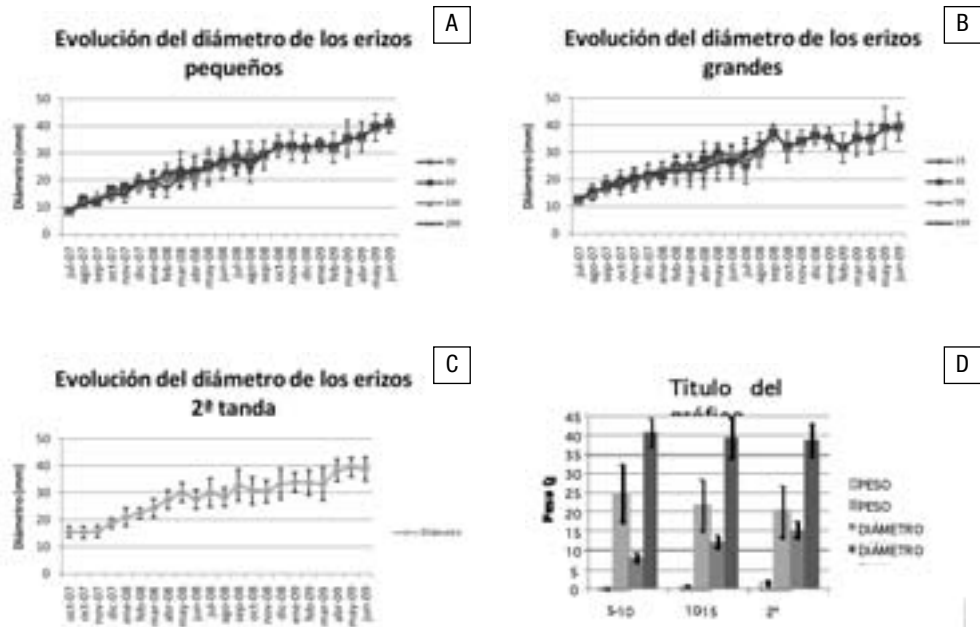


Tabla 1. Índice de supervivencia de los erizos

	Supervivencia
5-10 mm	29,49%
10-15 mm	54,19%
Segunda tanda	81,67%

Tabla 2. Porcentajes de incremento de peso y diámetro

	Peso	Diámetro
5-10 mm	8.572,91%	383,29%
10-15 mm	2.412,99%	218,12%
Segunda tanda	1.103,57%	149,89%

Las diferencias de crecimiento entre densidades, tanto en los erizos pequeños como en los grandes, son casi inexistentes. La Figura 1d muestra los resultados obtenidos de incremento de peso y tamaño de los erizos de los tres grupos, con porcentajes de incremento muy superior en los pequeños respecto a los grandes (tabla 1b).

Agradecimientos

Este trabajo está cofinanciado por JACUMAR-Secretaría General de Pesca Marítima.

Bibliografía

Girard D., Hernández J.C., Toledo K., Clemente S., Brito A. 2006. Aproximación a la biología reproductiva del equinoideo *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en Tenerife. XIV SIEBM, Barcelona.

Lozano J., Galera J., López S., Turon X., Palacín C., Morera G. 1995. Biological Cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 122: 179-191.

Efecto de dietas artificiales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común, *Octopus vulgaris*

S. García¹, P. Domingues¹, D. Garrido¹, C. J. Rodríguez² y C. Pascual²

¹ Centro IFAPA Agua del Pino. Carretera Cartaya-Punta Umbría, s/n. 21450 CARTAYA, ESPAÑA.

Email: sandra.garcia.garrido.ext@juntadeandalucia.es

² Tecnología de Productos Pesqueros, Facultad de Biología, Campus Sur, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña

Abstract

The inexistence of prepared diets is a major bottleneck that has prevented large-scale fattening of *Octopus vulgaris*. During the present experiments, the effects of two diets based on raw blue whiting with or without attractant (taurine), in experiment I, as well of other two diets based on mussel and blue whiting also with or without the same attractant in experiment II were tested on growth of *O. vulgaris*. Squid was used as the control diet in both experiments. None of the artificial diets promoted growth and feeding rates were higher for animals fed squid ($>4.5\%BW\ d^{-1}$) compared to the artificial diets ($<2\%BW\ d^{-1}$) in both experiments. No differences were found in growth and feeding rates between the artificial diets, which indicates that the inclusion of taurine as an attractant in the diet was not beneficial.

Justificación

El desarrollo de piensos preparados en sustitución del alimento natural es una prioridad para lograr el engorde de juveniles de pulpo (Domingues *et al.*, 2006). Su inexistencia en el actualidad (Domingues *et al.*, 2005; 2006) es el principal factor que impide la expansión de la industria del engorde de esta especie en el norte de España (Galicia). En la década de los 90, se inició el desarrollo de alimentos inertes para cefalópodos (Domingues *et al.*, 2005), con crecimiento negativo para *Sepia officinalis* o insuficiente en *O. vulgaris* (Quintana *et al.*, 2008). En este trabajo, juveniles de pulpo fueron alimentados con dietas basadas en bacaladilla cruda con o sin atrayentes (taurina, betaina, etc.), o basadas en una mezcla de mejillón y bacaladilla crudos, también con o sin los mismos atrayentes.

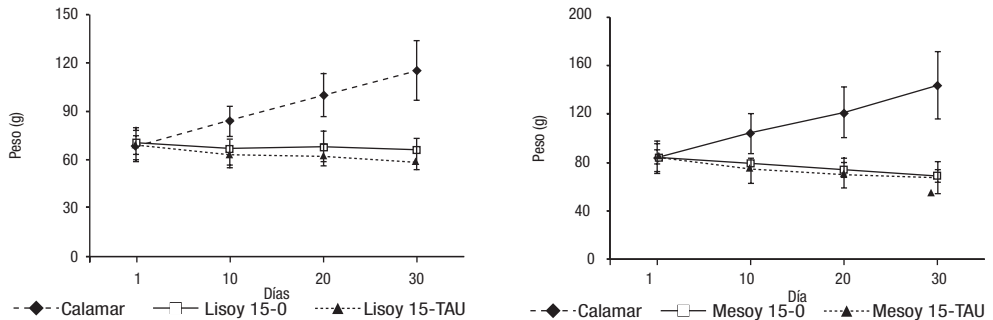
Material y métodos

Los 30 pulpos fueron capturados en las costas de Huelva con nasas, e individualizados en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de $25\ Lh^{-1}$. Los pulpos fueron alimentados una vez al día (09:00 h), con 7% de su peso d^{-1} . El alimento permanecía en el agua 4 horas y después era retirado y pesado. Cada experimento duró 30 días. Todos los pulpos fueron pesados individualmente cada 10 días. En el experimento I se utilizaron una dieta control, calamar congelado (*Loligo gahi*), y dos dietas artificiales basadas en bacaladilla cruda (*Micromesistius poutassou*), una sin atrayentes (Lisoy 15-0) y otra con atrayentes (1% mezcla de taurina, Lisoy 15-TAU). El peso inicial de los pulpos era de $687,3 \pm 88,1\ g$, $692,2 \pm 110,9\ g$ y $687,2 \pm 87,0\ g$ para animales alimentados con calamar, Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU, respectivamente, sin diferencias significativas ($p > 0,05$). En el experimento II, las 3 dietas fueron calamar como control, y dos dietas artificiales basadas en mejillón (*Mytilus edulis*) y bacaladilla crudos, siendo una sin atrayentes (Mesoy 15-0) y la otra con atrayentes (Mesoy 15-TAU). El peso inicial de los pulpos era de $843,5 \pm 129,6\ g$, $846,0 \pm 54,5\ g$ y $837,7 \pm 110,5\ g$ para animales alimentados con calamar, Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU, respectivamente, sin diferencias significativas ($p > 0,05$). Las dietas artificiales fueron elaboradas en la Universidad de Santiago de Compostela. La bacaladilla y mejillón fresco se picaron usando un tamiz de 0,5 cm de diámetro de poro. Los aditivos (proteína de soja) y productos químicos (taurina, betaina y colesterol) se incorporaron a esta masa, homogeneizándola posteriormente. La masa resultante se envasó al vacío, dejándola reposar 24 h a $2^\circ\ C$ para facilitar la cohesión de la materia prima con el estabilizante. Posteriormente se congelaron y se mantuvieron a $-24^\circ\ C$ hasta la alimentación de los pulpos.

Resultados

Durante el experimento I, los pulpos alimentados con el control apenas presentaron crecimiento positivo ($1.7 \pm 0.7\%$ peso d^{-1}), mientras los alimentados con Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU perdieron peso, aunque no significativamente ($-0.2 \pm 0.3\%$ peso d^{-1} y $-0.5 \pm 0.5\%$ peso d^{-1} , respectivamente) (Figura 1). Las tasas de ingestión fueron más elevadas con calamar ($4.6 \pm 0.8\%$ peso d^{-1}), mientras que no se encontraron diferencias entre tasas de ingestión con Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU (1.7 ± 0.5 y $1.6 \pm 0.4\%$ peso d^{-1} ,

Figura 1. Evolución del diámetro de los erizos pequeños de la primera tanda (a), grandes de la primera tanda (b), de la segunda tanda (c) y evolución del peso y diámetro de los tres grupos



respectivamente). Durante el experimento II, y al igual que en el caso anterior, sólo los pulpos alimentados con la dieta control presentaron crecimiento positivo ($1.8 \pm 0.4\%$ peso d^{-1}), mientras los alimentados con Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU perdieron peso, aunque no significativamente ($-0.7 \pm 0.3\%$ peso d^{-1} y $-0.7 \pm 0.2\%$ peso d^{-1} , respectivamente) (Figura 2). Las tasas de ingestión fueron más elevadas con calamar ($4.7 \pm 0.6\%$ peso d^{-1}) y similares a las obtenidas en el experimento I, mientras que no se encontraron diferencias entre tasas de ingestión de Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU (1.4 ± 0.2 y $1.4 \pm 0.3\%$ peso d^{-1} , respectivamente). La inclusión de taurina y otras sustancias como atrayentes en las dietas Lisoy 15-TAU y Mesoy 15-TAU de ambos experimentos, no incrementó la ingestión ni el crecimiento de los pulpos.

Discusión

La capacidad atrayente de las dietas usadas en estos experimentos fue bastante baja, incluso con el derivado del aminoácido cisteína, la taurina (normalmente utilizada como atrayente en dietas preparadas), que fue incorporada en una de las dietas artificiales de cada experimento. Estas tasas de crecimiento negativas son significativamente menores que las obtenidas por Quintana *et al.* (2008), cercanas al 1% peso $día^{-1}$. Es posible que una de las causas para las bajas tasas de ingestión obtenidas en este estudio sea debida al uso del aglutinante (proteína de soja) contrariamente a la gelatina (aglutinante de origen proteico animal) usada en los trabajos referidos anteriormente, pero en cualquier caso, los resultados nos reflejan que es posible una redefinición de los ingredientes de la dieta ya que los valores obtenidos con proteína de soja son más alentadores que los obtenidos con aglutinantes de origen glucídico (López *et al.*, 2008).

Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto JACUMAR «Optimización del engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*)» (2007/2009) por la financiación para este estudio. Sandra García agradece al «Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria» (INIA) por la beca pre-doctoral n.º 47 (BOE n.º 308 26/12/2006).

Bibliografía

- Domingues P., Bettencourt V., Guerra A. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Millieu* 56 (2): 109-120.
- Domingues P., DiMarco F., Andrade J., Lee P. 2005. The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 13 (5): 423-440.
- López M., Rodríguez C., Carrasco J.F., Brea M.D., Pais R., Rodríguez C. J., Guerrero C. 2008. Experiencias de engorde de juveniles de pulpo (*Octopus vulgaris*) con distintos tipos de cebos. 2008 Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. 11: 475-484.
- Quintana D., Domingues P., García S. 2008. Effects of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280: 161-164.

Composición en aminoácidos e índices de calidad proteica de dietas naturales e ingredientes alternativos para el desarrollo de piensos en el pulpo común (*Octopus vulgaris*)

J. Cerezo Valverde¹, A. Tomás², S. Martínez-Llorens², M. Jover², S. García³, C. Rodríguez⁴, I. Gairín⁵, J. Estefanell⁶, C. Pascual⁷ y B. García García¹

¹ I.M.I.D.A.-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Puerto de San Pedro del Pinatar, Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. E-mail: jesus.cerezo@carm.es

² UPV-Valencia.

³ IFAPA-Agua del Pino

⁴ CEP-Asturias

⁵ IRTA-Cataluña

⁶ ICCM-Canarias

⁷ USC-Galicia.

Abstract

Amino acid composition was analysed in octopus, in the natural diets of octopus that produce the best on-growing results and in different prime materials that could be used to optimise the content of these nutrients in artificial feeds. Arginine, leucine and lysine were the most abundant essential amino acids; glutamate, aspartate and glycine represented the main non-essential amino acids. In all the samples analysed, arginine was the limiting amino acid, with maximum Chemical Score values for mussel (81%) and squid (71%), medium for crustaceans (53-54%) and minimum for fish (27-44%). Furthermore, mussel, squid and crustaceans showed a greater essential amino acid index according to Oser (92-93%), suggesting a more suitable amino acid balance for octopus.

Justificación

La diferencia más aparente entre la nutrición de los vertebrados terrestres y los acuáticos es la relación entre los requerimientos de proteína y energía, observándose un patrón extremo en los cefalópodos (50 g/MJ para crecimientos óptimos). Este valor tan alto puede explicarse por el predominio del metabolismo de aminoácidos y su uso para energía (Lee, 1994). Puesto que los aminoácidos son utilizados como fuente energética no tiene sentido separarlos del resto de energía de la dieta. La estrategia adecuada sería tratar de mejorar la calidad de la proteína suministrada optimizando el balance de aminoácidos. La determinación del contenido en aminoácidos en el pulpo, de dietas naturales y de distintas materias primas serviría para optimizar el balance de aminoácidos en la formulación de piensos para el pulpo.

Material y Métodos

Se analizaron 33 muestras diferentes (Tabla 1) procedentes de las CCAA participantes en el Plan Nacional «Optimización del engorde de pulpo *Octopus vulgaris* 2007-2009» (Andalucía, Asturias, Cataluña, Canarias, Galicia, Murcia y Valencia), recogiendo tanto en verano como en invierno. Los aminoácidos se determinaron en la UPV por HPLC usando un detector de fluorescencia (Model 474, Waters) según Bosch *et al.* (2006) y empleando ácido amino butírico como patrón interno. Se empleó la cantidad de muestra liofilizada necesaria para contener 50 mg de proteína bruta. Se calcularon: Valor patrón = mgAAmuestra/mgAAPulpo*100;

Tabla 1. Especies y materias primas primas analizadas

Grupo	Especie
Crustáceos	Cangrejo (<i>Carcinus maenas</i>), Cangrejo de río (<i>Procambarus clarkii</i>), Cabezas langostino (<i>Pennaeus</i> sp.)
Harinas	Girasol, Gluten, Krill, Pescado, Soja, Trigo, Prot. Guisante 75
Moluscos	Calamar (<i>Loligo gahi</i>), Mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>), Pota (<i>Todarodes</i> sp.), Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)
Peces	Lirio (<i>Micromesistius poutassou</i>), Boga (<i>Boops boops</i>), Dorada (<i>Sparus aurata</i>), Jurel (<i>Trachurus trachurus</i>), Lisa (<i>Mugil</i> sp.), Mollera (<i>Trisopterus minutus</i>), Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)

Figura 1. Contenido en aminoácidos (mg AA/g Prot.) en el pulpo y en diferentes dietas naturales. Valores medios entre las muestras de verano e invierno. Aminoácidos sombreados considerados esenciales

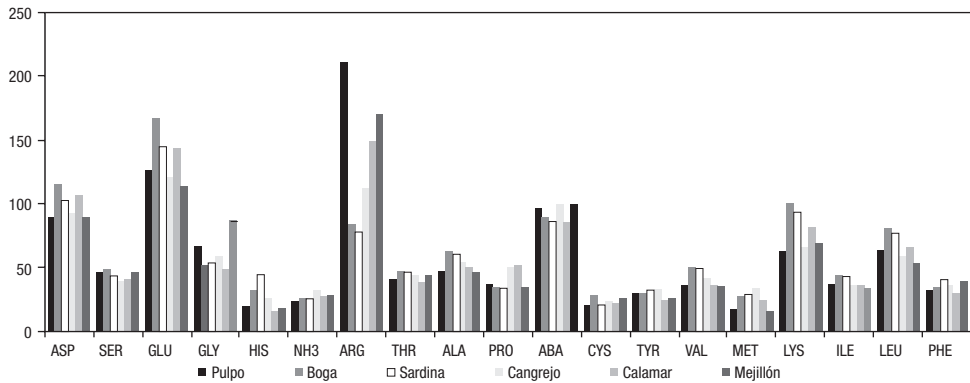
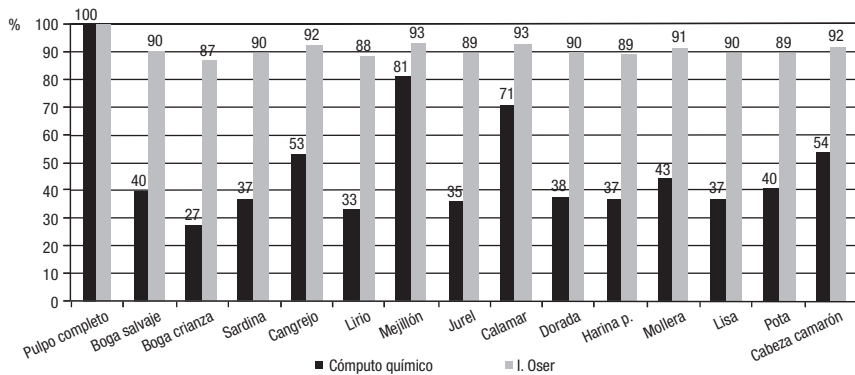


Figura 2. Índices de calidad proteica empleando como referencia la proteína del pulpo



Cómputo químico: Valor mínimo de los valores patrón de los AA esenciales; Índice de Oser: Media geométrica de los valores patrón de los AA esenciales.

Resultados y Discusión

Los aminoácidos esenciales más abundantes en el pulpo fueron la arginina, leucina y lisina (210, 64 y 62 mgAA/g Prot., respectivamente); y los no esenciales glutamato, aspartato y glicina (126, 89 y 66 mgAA/g Prot.) (Fig. 1), corroborando los resultados obtenidos previamente por Villanueva *et al.* (2004).

El aminoácido limitante en todas las muestras analizadas fue la arginina, con valores de Cómputo químico mínimos en peces, como la boga (27-40%), el lirio (33%), o la lisa (37%), intermedios para los crustáceos (53-54%) y máximos para moluscos como el calamar (71%) y el mejillón (81%), y sugiriendo que estos dos últimos podrían cubrir mejor los requerimientos de arginina que los restantes. El índice de Oser reflejó igualmente un balance global de aminoácidos esenciales más apropiado en el mejillón, el calamar y los crustáceos, con peores resultados para los peces y harina de pescado (Fig. 2).

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

Villanueva R., Riba J., Ruíz-Capillas C., González A. V., Baeta M. 2004. Aminoacid composition of early stages of cephalopods and effect of aminoacid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*: 455-478.

Efecto del origen y presentación de la boga en el engorde de pulpo común *Octopus vulgaris*

J. Estefanell¹, J. Roo¹, J. Socorro^{1,2}, R. Guirao³, H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200, Telde, Las Palmas

² IES Marítimo Pesquero de Las Palmas. Simón Bolívar, 15. E-35007, Las Palmas de Gran Canaria

³ CANEXMAR. Palangre s/n nave 1, Castillo del Romeral. San Bartolomé de Tirajana, Las Palmas

Abstract

The present work evaluates the effect of the bogue (*Boops boops*) origin «discarded» from local fish farms or wild provided by local fisheries, presented fresh or as a moist diet, over growth and survival in *Octopus vulgaris*. Five diets based on bogue were tested for 4 weeks in four male octopuses kept individually in PVC net cages in the same tank. Different parameters were calculated: absolute growth rate (AGR, g/day), standard feeding rate (SFR, %/day) and feed efficiency (FE). Besides, macronutrient composition of the assayed diets is presented. Discarded bogue moist diet generated the best AGR ever recorded in this species with a moist diet, 13.9 g/day, which was similar to the fresh and control diets supplied, all of them higher than wild bogue moist diet. SFR was similar among diets while FE was higher in both moist diets probably related with a higher disintegration of this type of food. In general, best growth observed in octopus fed discarded bogue may be related with the higher lipid content of this food item.

Justificación

El pulpo común es una de las especies con gran potencial para diversificar la acuicultura marina (Iglesias *et al.*, 2004). El engorde de individuos salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006). Sin embargo, las dietas naturales de esta especie están basadas en diferentes especies de crustáceos que son escasos en determinadas regiones, como ocurre en Canarias. El siguiente experimento parte de los resultados obtenidos por Socorro *et al.* (2005), que utilizó como dieta boga (*Boops boops*), proveniente de descartes de jaulas locales de engorde de dorada. Se pretende evaluar el efecto del origen de la boga, de descarte y salvaje, presentadas en forma troceada y en formato de pienso húmedo, sobre el crecimiento y la ingesta en *O. vulgaris*.

Material y Métodos

En la elaboración de las dietas se utilizó únicamente filete de boga. Las dietas utilizadas fueron: pienso elaborado con boga descarte (BD), pienso elaborado con boga salvaje (BS), boga de descarte troceada, boga salvaje troceada y una dieta control con una relación de 40-60% boga descarte-cangrejo *Portunus pelagicus*, troceados. Para la elaboración de los piensos se utilizó el aglomerante Pokel Merls y Pokel Cals (Productos del Sur, S. A., Murcia), adaptando el protocolo de Cerezo *et al.* (2008) a las características de las materias primas empleadas. La dosis diaria de pienso fue presentada en raciones de $6 \times 6 \times 6 \pm 1$ cm. Cada dieta fue evaluada durante 1 mes en 20 pulpos macho, mantenidos en 4 tanques compartimentados con red de PVC en 4 subunidades de 400 l (4 individuos por dieta/tanque). La temperatura y oxígeno medio fue $21.9 \pm 0.6^\circ$ C y 6.5 ± 0.2 ppm respectivamente. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario [IPD = $(P_f - P_i) / t$], ingesta diaria estándar {IDE = $AI \times 100 / [t \times (P_f - P_i)]$ }, índice de conversión [IC = $AI / (P_f - P_i)$], donde «P_f» es peso final, «P_i» es peso inicial, «t» es n.º de días y «AI» es alimento ingerido en g. Se realizó un análisis de macronutrientes de las dietas (AOAC, 1997).

Resultados y Discusión

La supervivencia fue del 100% en todas las dietas ensayadas. El crecimiento generado por el pienso BD fue superior al obtenido por otros autores como Quintana *et al.* (2008) o Cerezo Valverde *et al.* (2008), usando piensos experimentales y es comparable al obtenido en experiencias de engorde en tanques donde se suministró alimento fresco troceado (Estefanell *et al.*, 2008; García García y Cerezo Valverde, 2006). El IPD fue significativamente más bajo en los animales alimentados con pienso BS (Tabla 1).

Aunque la IDE fue similar en todos los tratamientos, el IC de los piensos fue significativamente peor que las dietas troceadas y se relaciona con una mayor disgregación de la mezcla, lo cual pone de manifiesto la necesidad de mejorar las características físicas de un pienso para pulpo común. El contenido proteico de cada presentación, en fresco y pienso, fue similar independientemente del origen de la boga, a diferencia

Tabla 1. *Peso inicial, IDE, IPD e IC durante 1 mes*

Dietas	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Control
Peso Inicial (g)	918 ± 241	882 ± 130	864 ± 185	889 ± 118	1228 ± 109
IDE (%/día)	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.5	3.9 ± 0.6	2.9 ± 0.6	2.9 ± 0.2
IPD (g/día)	13.9 ± 1.8 ^{bc}	7 ± 2.6 ^a	17.4 ± 3.0 ^{bc}	12.7 ± 2.7 ^{ab}	19.1 ± 2.5 ^c
IC	2.7 ± 0.0 ^b	4.1 ± 0.4 ^c	2.1 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.3 ^a	2.2 ± 0.3 ^{ab}

Tabla 2. *Resultados de macronutrientes (peso húmedo) de las dietas evaluadas*

	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Cangrejo
Proteínas (%)	12.8 ± 0.3 ^a	13.6 ± 0.9 ^a	20.7 ± 0.6 ^c	20.3 ± 1.0 ^c	16.2 ± 0.3 ^b
Lípidos (%)	6.3 ± 0.6 ^c	1.2 ± 0.4 ^a	4.0 ± 0.9 ^b	1.1 ± 0.2 ^a	1.0 ± 0.1 ^a
Humedad (%)	77.7 ± 0.6 ^b	83.2 ± 0.8 ^d	73.5 ± 0.8 ^a	78.2 ± 2.1 ^b	80.4 ± 0.1 ^c

del contenido lipídico (Tabla 2). Esto sugiere que el mayor contenido en lípidos de la boga de descarte podría estar relacionado con el mejor crecimiento generado por dichas dietas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Bibliografía

- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington
- Cerezo Valverde J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F., García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266-273.
- Estefanell J., Socorro J., Roo J., Montero D., Ait Chattou M., Fernández-Palacios H., Izquierdo M. S. 2008. Growth and fatty acid composition of *Octopus vulgaris* fed different diets based on bogue (*Boops boops*) in comparison to wild individuals. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, poster 27. June 1-5. Florianopolis, Brasil.
- García García B., Cerezo Valverde J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. *Aquaculture* 253, 502-511.
- Iglesias J., Otero J.J., Moxica C., Fuentes L., Sánchez F.J. 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481-487.
- Quintana D., Domingues P., García S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatine and feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280:161-164.
- Socorro J., Roo J., Fernández-López A., Guirao R., Reyes T., Izquierdo M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Cultivo exterior para la repoblación de *Paracentrotus lividus* en las islas Canarias

N. González-Henríquez¹, M. Grimón¹ y J. L. Catoira²

¹ Instituto Canario de Ciencias Marinas, Apdo. 56 35200 Telde, Las Palmas. Correo-e: ngonzalez@iccm.rcanaria.es

² Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos. Xunta de Galicia. Delegación Territorial de A Coruña. Casa do Mar 5.ª P, 15006 A Coruña

Abstract

Paracentrotus lividus is one of the more exploited sea urchin species to commercial level. On the other hand, the Canary Islands are situated in the meridional limit of the geographical distribution of this species, that live in the most sensitive border to the degradation of the coastline area. Within the framework of this project we expect to put ready techniques of sea urchin production (cultivation and growing), with a view to future programs of sustainable exploitation of this specie in Canary Islands.

Justificación

El erizo de mar *Paracentrotus lividus* destaca por su importancia como recurso pesquero en muchos países. Se trata de una especie comercializada por sus gónadas que son consideradas una exquisitez especialmente en Francia y Japón. Su intensa recolección en las costas francesas durante los años 70 provocó una caída drástica de su población tanto en la costa Mediterránea como Atlántica. En ese momento Irlanda suplió la demanda de mercado en Francia (Byrne, 1990) sufriendo durante 20 años una intensa recolección que repercutió en su stock. Esta demanda ha originado a su vez la puesta a punto de sistemas de cultivo de esta especie (Grosjean *et al.*, 1996; Grosjean, 2001; Spirlet *et al.*, 2001) como es también objetivo del presente proyecto. Como respuesta a la previsión de repoblar zonas afectadas por la presión antrópica en las poblaciones del erizo *Paracentrotus lividus*, se han realizado pruebas de engorde de juveniles con el objetivo de utilizarlo como referencia para futuros preengordes antes de la suelta de ejemplares obtenidos mediante cultivo al medio natural. Por otra parte, el desarrollo de las técnicas de cultivo, requiere encontrar el alimento adecuado a las distintas fases de crecimiento de los erizos de mar. Por este motivo se han realizado distintas experiencias con varios tipos de alimento tanto naturales como dietas artificiales.

Material y Métodos

Los ejemplares con los que se desarrollaron los experimentos procedieron de Galicia y Asturias respectivamente. Se recolectaron 450 erizos de la Ría de Muros e Noia y de la franja costera de Carnota y por otra se obtuvieron 350 erizos de cultivo, procedentes del Centro de Experimentación Pesquera de Castropol. Los erizos se trasladaron a las dependencias de la empresa de cultivos marinos, que nos cedió una parcela dentro de sus instalaciones donde realizamos la totalidad de los experimentos, colocándolos en 5 cajas, de 16 × 36 × 56 cm forradas de malla de plástico de 5 mm de luz para evitar los escapes de erizos al exterior, según su procedencia y éstas a su vez en 2 tanques con aireación controlada y circuito abierto.

El sistema de cultivo elegido para el engorde de estos individuos estaba formado por 2 tanques de fibra de vidrio de 2.700 litros con unas dimensiones de 3 m de largo, 1,5 m de ancho y 0,6 m de alto, con sistema abierto y renovación de 2.160 litros/hora/tanque y con un sombreado del 85%. Se parte de 8 grupos de 60 individuos (4 grupos del medio natural y 4 grupos procedentes de cultivo, alimentados con cuatro dietas diferentes), que según la superficie de las cestas suponen una densidad de 317 erizos/m², y 8 grupos de 30 individuos que según la superficie de las cestas suponen una densidad de 158 erizos/m². Las cuatro dietas utilizadas son: 3 dietas de algas (*Ulva rígida*, *Cystoseira abies-marina* y mezcla de 2 algas rojas: *Halophytis incurvus* y *Haliptilon virgatum*) y un pienso semi-húmedo con un alto contenido proteico.

Resultados y Discusión

Los mejores resultados en cuánto al tipo de alimentación para ambos experimentos (juveniles de cultivo y del medio natural) se han encontrado con *Ulva rígida*, sobre todo en los realizados con erizos procedentes de cultivo, mientras que con el pienso se dan los peores. Entre las causas para explicar este hecho podrían

Tabla 1. Crecimiento y supervivencia de erizos procedentes del medio natural y cultivo alimentados con: 1. *Ulva rígida*, 2. *Cystoseira abies-marina*, 3. *Halophytys incurvus* + *Haliptilon virgatum*, 4. Pienso húmedo preparado

Procedencia erizos	Medio natural				Cultivo			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Alimentación								
Diámetro inicial (mm)	28,44 ± 3,09	27,70 ± 3,38	27,92 ± 3,58	28,62 ± 3,60	20,37 ± 2,90	20,32 ± 2,38	19,53 ± 2,64	23,98 ± 3,48
Diámetro final (mm)	37,42 ± 3,09	34,54 ± 2,48	35,77 ± 3,68	32,29 ± 3,19	35,90 ± 2,87	32,92 ± 2,72	34,20 ± 3,12	31,39 ± 2,96
Crecimiento (mm/mes)	0,75	0,57	0,65	0,31	1,41	1,15	1,33	0,67
Peso húmedo inicio (g)	9,94 ± 2,60	8,58 ± 3,17	8,74 ± 3,11	9,90 ± 3,42	3,90 ± 1,37	3,87 ± 1,22	3,33 ± 1,32	6,64 ± 2,43
Peso húmedo fin (g)	21,15 ± 4,30	17,10 ± 3,37	18,01 ± 4,51	13,69 ± 3,35	18,65 ± 3,53	14,16 ± 2,94	14,39 ± 3,37	12,13 ± 2,85
Crecimiento (g/mes)	0,93	0,71	0,77	0,32	1,34	0,93	0,98	0,50
Supervivencia (%)	93,33	70	89,17	62,50	77,59	80,17	88,92	54,70

estar la estabilidad del pienso en el agua, que se disuelve con el tiempo disminuyendo su disponibilidad como alimento, favoreciendo además el rápido deterioro de la calidad del agua circundante.

Las mayores tasas de crecimiento se encontraron en los individuos procedentes de cultivo, con tallas y pesos de partida inferiores. La densidad no parece ser un parámetro influyente en el crecimiento de estos individuos en el intervalo de talla y peso elegido (19-29 mm y 3-10 g). En cambio, sí lo es para las tasas de mortalidad registradas (Tabla 1), especialmente para los del medio natural. Por otra parte, se ha estudiado las tasas de crecimiento obtenidas a lo largo del año, observándose una relación directa de la tasa de crecimiento con la temperatura.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura JACUMAR.

Bibliografía

- Byrne M. 1990. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Mar. Biol.* 104: 275-289.
- Grosjean Ph., Spirlet Ch., Jangoux M. 1996. Experimental study of Growth in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *J. exp. Mar. Biol. and Ecol.*, 201: 173-184.
- Grosjean Ph. 2001. Growth model of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Tesis doctoral. Université Libre de Bruxelles.
- Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M. 2001. Cultivation of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) on extruded feeds: digestive efficiency, somatic and gonadal growth. *Aquaculture Nutrition*, 7: 91-99.

Requerimientos nutricionales y dietas artificiales en el cultivo de la oreja de mar *Haliotis* spp.: Revisión

M. P. Viera, G. Courtois de Viçose, A. Bilbao, H. Fernández-Palacios, L. Robaina y M.S. Izquierdo

Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35214. Telde, Las Palmas. Islas Canarias.
mapi@iccm.rcanaria.es

Abstract

Abalone is an herbivorous gastropod that eats mainly seaweeds. Abalone growth is extremely low, diet is therefore very important and it has been shown that different diets produce different growth rates and often varies with size and age. A major limiting factor to expansion of abalone cultivation is the ready and economic availability of suitable food. The use of prepared feed can be practical since formulation can be manipulated to obtain an optimum nutritional value. In the frame of European SUDEVAB project, our current investigation is directed at developing a sustainable, ecobased, low-cost artificial diet based on vegetable sources which match abalone nutritional requirements. In order to achieve this objective, the aim of this study was to review abalone nutritional requirements and feeding practices

Justificación

La oreja de mar es un molusco gasterópodo que se alimenta de micro y microalgas. Se trata de un animal de lento crecimiento, siendo necesarios de 2-5 años para alcanzar la talla comercial (Hahn, 1989). Es por ello que una alimentación adecuada y un buen crecimiento son factores críticos en el éxito de su cultivo.

Uno de los factores limitantes para la expansión del cultivo de esta especie en Europa, es la disponibilidad de una dieta adecuada y económica. Incluso en aquellos países donde la accesibilidad a las algas frescas es posible, las posibilidades de mejorar el valor nutricional de éstas son prácticamente nulas. En el marco del proyecto europeo SUDEVAB (Sustainable Development of European SMEs engaged in Abalone Aquaculture), integrado por varios grupos de investigación europeos así como productores de abalón, la investigación que el GIA lleva a cabo tiene por objeto el desarrollo de una dieta sostenible, ecológica, económica y basada exclusivamente en fuentes vegetales. Para alcanzar dicho objetivo, se ha llevado a cabo previamente una amplia revisión tanto de los requerimientos nutricionales como de las dietas empleadas en el cultivo de oreja de mar.

Material y Métodos

Se revisaron más de 70 publicaciones relativas a la nutrición de oreja de mar publicadas entre 1985 y 2008, concernientes a 11 especies y 10 países.

Se realizaron tablas resumen referentes a la composición proximal de las dietas; fuentes proteicas, niveles óptimos de inclusión y suplementación de aminoácidos; fuentes lipídicas, niveles de inclusión y ácidos grasos esenciales; fuentes y niveles de energía, carbohidratos y aglutinantes; niveles y fuentes de vitaminas y minerales.

Resultados y Discusión

La composición proximal de las dietas es muy similar a la del abalón, con un alto contenido en proteínas y carbohidratos y bajo contenido en lípidos y fibra (Tabla 1).

El contenido en proteínas de las dietas revisadas varían entre un 20-50% con un porcentaje promedio de 30% (PS).

Las fuentes proteicas empleadas en las dietas de abalón son mayoritariamente de origen animal, harina de pescado y de soja, habiéndose testado de forma minoritaria algunas otras fuentes como harinas de algas o subproductos pesqueros (Viana *et al.*, 1996; Guzmán & Viana, 1998).

Los lípidos son un importante constituyente, no sólo por su aportación energética sino como fuente de ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles. Se han llevado a cabo estudios para evaluar la respuesta del abalón a distintos niveles de lípidos (Mai *et al.*, 1995a); fuentes lipídicas (Dunstan *et al.*, 1996); efecto de la relación proteína-energía sobre el crecimiento (Gómez-Montes *et al.*, 2003); el papel de los lípidos en la maduración gonadal (Nelson *et al.*, 2002); la composición de ácidos grasos en los tejidos (Dunstan *et al.*, 1996) o el efecto de la relación lípidos/carbohidratos y contenido energético en las dietas del abalón

Tabla 1. Composición proximal (% peso seco) y contenido calórico de las dietas artificiales testadas para la oreja de mar

	Referencias													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Proteína	30	31	35	38	32	40	35	35	28	35	27	36	37,6	35
Lípidos	5	5	10	6	6	5	7	4,5	3	6	5	3	1,3	5
Carbohidratos				48	33	39	40		44		42		48	45
Fibra							6						4,3	1
Cenizas			3				11	8					9	6
Humedad								5						10
EB (Kcal g ⁻¹)		4,5			3			4,7	3	4	2,9	4	4,5	
Proteína: energía		47							85					

1. Uki *et al.*, 1985b (Japón: *H. discus hannai*); 2. Mai *et al.*, 1995b (Irlanda: *H. tuberculata* & *H. discus hannai*); 3. Viana *et al.*, 1993 (México: *H. fulgens*); 4. Guzmán & Viana, 1998 (México: *H. fulgens*); 5. Bautista-Teruel *et al.*, 1999 (Filipinas: *H. asinina*); 6. Jackson *et al.*, 2001 (Australia: *H. asinina*); 7. Serviere-Zaragoza *et al.*, 2001 (México: *H. fulgens*); 8. Shipton & Britz, 2001 (Sudáfrica: *H. midae*); 9. Bautista-Teruel *et al.*, 2003 (Filipinas: *H. asinina*); 10. Gómez-Montes *et al.*, 2003 (México: *H. fulgens*); 11. Reyes & Fermin, 2003 (Filipinas: *H. a sinina*); 12. Sales *et al.*, 2003 (Sudáfrica: *H. midae*); 13. Thongrod *et al.*, 2003 (Tailandia: *H. asinina*); 14. Naidoo *et al.*, 2006 (Abfeed: dieta comercial; Sudáfrica: *H. midae*).

(Thongrod *et al.*, 2003). El contenido en lípidos de las dietas testadas varía entre un 1,2-19%, con un promedio del 3-5%. Las fuentes más utilizadas son aceite de pescado y/o de origen marino (Thongrod *et al.*, 2003), vegetales (Shipton y Britz, 2001) o una combinación de ambos (Reyes y Fermin, 2003)

La dieta natural de la oreja de mar contiene entre un 40-50% de carbohidratos. Consecuentemente, la energía en la dieta es aportada principalmente por los carbohidratos, componente mayoritario con un porcentaje promedio de 45% en peso seco. Las fuentes comúnmente empleadas son cereales de bajo precio tales como harina de maíz y trigo, harina de soja, maicenas o almidones. En las dietas comerciales revisadas, los almidones son utilizados tanto como fuente energética como aglutinantes

La estabilidad de las dietas es muy importante en animales marinos y especialmente en aquellos de lenta alimentación como es el caso del abalón. Los aglutinantes más comunes son almidones, gluten, alginatos o algas (Fleming *et al.*, 1996), con niveles de inclusión promedio de un 6%. El contenido en fibra es generalmente bajo (1-6%) ya que la capacidad de la oreja de mar para digerir la fibra es limitada. (Fleming *et al.*, 1996). El contenido calórico (energía bruta) se encuentra generalmente alrededor de 4 Kcal g⁻¹ y la humedad en torno al 10%. La inclusión de vitaminas es 1,5% y minerales alrededor de 3,5%.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto SUDEVAB (Sustainable Development of European SMEs engaged in Abalone Aquaculture).

Comparación de dietas microalgales tri-específicas como promotores del crecimiento de *Mytilus galloprovincialis* en criadero

M. Miñambres¹, P. Alvarez¹, A. Aghzar³, A. Pita¹, M. Pérez¹, D. Costas² y P. Presa¹

¹ Universidad de Vigo, Facultad de Ciencias del Mar, Campus Universitario de Vigo, 36310, Vigo.
E-mail: prensa@uvigo.es

² Universidade de Vigo, ECIMAT - Illa de Toralla, 36331 Coruxo, Vigo

³ Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Appliquée et Pathologie, BP. 2121, Mhannech 2, 93002 Tétouan, Morocco

Abstract

La optimización de la producción de mejilla en hatchery requiere la investigación sobre dietas multiespecíficas. En este estudio se evalúa el efecto de dos dietas tri-específicas compuestas con cuatro cepas microalgales, sobre el crecimiento de semilla de *M. galloprovincialis*. Los juveniles suplementados con ambas dietas crecieron 250% y 324% más que la dieta control. La longitud valvar final en la dieta basada en 26% de *Chaetoceros* fue un 21% mayor que bajo la dieta basada en 26% de *Phaeodactylum*, pero no hubo diferencias en la tasa de supervivencia (99.11%). Varias cepas del genero *Chaetoceros* se utilizan normalmente en dietas multialgales para moluscos, debido a su efecto sinérgico positivo con otras microalgas. Sin embargo el mayor crecimiento de semilla observado respecto a la dieta multiespecífica que incorpora *Phaeodactylum* en lugar de *Chaetoceros*, no compensa los gastos de producción de esta última, calculados en ese estudio en torno a 3,8 veces los de la primera.

Justificación

Con el advenimiento del cultivo masivo de bivalvos y el pre-engorde de juveniles en nurseries, el cultivo de microalgas se ha convertido en un requisito para la producción masiva de semilla (Page y Hubbard, 1987). Las larvas de bivalvos se suelen alimentar con dietas multiespecíficas debido a que exhiben un mejor balance de compuestos esenciales y aseguran un mayor crecimiento que las dietas monoespecíficas (De Pauw y Persoone, 1988). En este estudio se evalúa el crecimiento en longitud de juveniles de *M. galloprovincialis* alimentados con dietas tri-específicas de cuatro cepas microalgales comúnmente asequibles de cultivar en criadero.

Material y Métodos

En la Estación Marina de Toralla (Universidad de Vigo) se alimentaron replicas de una progenie de juveniles de *M. galloprovincialis* formada por hermanos completos, con dos dietas microalgales durante 119 días. Las larvas se fijaron en cuerdas (20 cm longitud, 850 individuos por cuerda) y se dispusieron en cajas de PVC a modo de minibateas. Las dietas consistieron en 39% *Isochrysis galbana*, 35% *Tetraselmis suecica*, y 26% *Phaeodactylum tricornutum* (Dieta A) o 26% *Chaetoceros gacilis* (Dieta B). La dieta Control recibió un flujo de 40 ml/s de agua marina microfiltrada (50 µm). La longitud valvar se midió con un calibre digital 0.01 cada 7-15 días sobre una muestra de 50 individuos por ensayo.

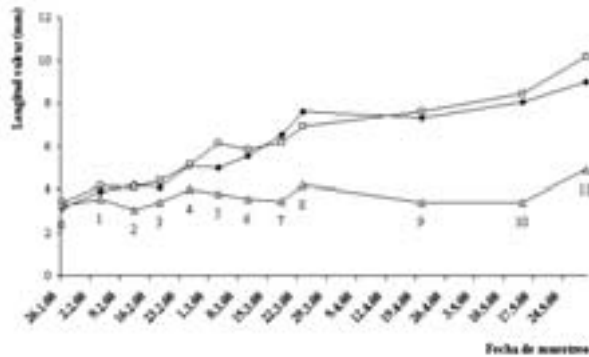
Resultados

Los lotes sometidos a las Dietas A y B crecieron a una tasa de 48 µm día⁻¹ y 58 µm día⁻¹, y alcanzaron respectivamente una longitud final de 179% y 200%. Los individuos de la Dieta C crecieron 13 µm día⁻¹ y alcanzaron un incremento final en longitud del 50%. Los individuos de la Dieta A crecieron al final del experimento un 250% más que bajo la Dieta C ($Z = -3.644$, $p = 0$) y bajo la Dieta B crecieron un 324% más que bajo la Dieta C ($Z = -3.776$, $p = 0$). La longitud media final bajo la Dieta B fue un 21% mayor que bajo la Dieta A ($Z = -0.427$, $p = 0.699$) (Figura 1).

Discusión

La semilla de mejillón alimentada con la Dieta B (26% *Chaetoceros*) alcanzó una media en longitud del 21% mayor que bajo la Dieta A (26% *Phaeodactylum*), lo que está de acuerdo con observaciones previas en juveniles de mejillón (e.g., Cordero y Voltolina, 1994). Esos resultados indican que *Chaetoceros* es una cepa superior en suplementos frescos, a pesar de su mayor contenido en cenizas. Sin embargo, hemos observado que el efecto sinérgico positivo de *Chaetoceros* en dietas multiespecíficas no compensa su coste de

Figura 1. Evolución de la longitud de una progenie de *M. galloprovincialis* de 3.5 meses. Triángulo: Dieta C (control); cuadrado: Dieta A (26% *Phaeodactylum*); rombo: Dieta B, (26% *Chaetoceros*)



Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de macroalgas (*Gracilaria sp.* y *Ulva rigida*) sobre el crecimiento y parámetros metabólicos en la dorada (*Sparus aurata*)

S. I. Mendes¹, J. L. Varela¹, I. Ruiz-Jarabo¹, V. Sánchez², R. Rico³, S. Arijó³, R. Abdala⁴,
M. A. Moriñigo³, F. L. Figueroa⁴, F. J. Alarcón² y J. M. Mancera¹

¹ Depto. de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Univ. Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz.

E-mail: juanmiguel.mancera@uca.es

² Depto. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior, Univ. Almería

³ Depto. Microbiología y ⁴Depto. Ecología, Facultad Ciencias, Univ. Málaga

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of replacement of fish meal with seaweed (*Gracilaria sp.* and *Ulva rigida*) meal on the growth and metabolic parameters in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Six experimental diets were tested with algae meal at different level of replacement: 5, 15 and 25% and one control diet without algal incorporation. Immature specimens of *S. aurata* were distributed in groups of 15 animals in 100 L tanks, and were fed with experimental diets twice a day at 3% of biomass, until duplication of body weight. Results indicated that growth of *S. aurata* fed on control or diet supplemented with macroalgae *Gracilaria sp.* (at 5, 15 and 25%) and *U. rigida* (at 5 and 15%) were similar. However incorporation of *U. rigida* at 25% in diet induced higher growth relatively to fish fed control diet. Lipid composition of carcass and hepatosomatic index reduced significantly as the proportion of seaweed meal in the diet increased. Plasma, liver and muscle metabolic parameters analysed were not affected by inclusion of algae in the feed. The same was observed in intestinal proteases activities as well as at histological level (liver and intestine). The results of this study indicate that partial replacement of fish meal with seaweed meal (*Gracilaria sp.* and *Ulva rigida*) is possible.

Justificación

Debido al incremento en los precios de la harina de pescado usada en la alimentación de peces, actualmente existe un enorme interés en sustituirla por otras fuentes proteicas de diversa procedencia. Se ha evaluado el efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de macroalgas (*Gracilaria sp.* y *Ulva rigida*) sobre el crecimiento y parámetros metabólicos en la dorada (*Sparus aurata*).

Material y Métodos

Las doradas procedentes de CUPIMAR, S. L. (San Fernando, Cádiz) fueron transferidas a la Planta de Cultivos Marinos (Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz). Los peces ($n = 220$) fueron mantenidos en un circuito abierto, en tanques de 100 L de capacidad, usando agua de mar (38-39‰ salinidad), temperatura constante ($18^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$) y fotoperiodo natural. Los especímenes fueron alimentados con un pienso control (L2 Active 1P, Skretting) o con pienso experimental (ambos con 45% de proteína y 12% de lípidos) con una ración del 3% en peso de cada tanque (excepto el día antes de cada muestreo que permanecieron en ayunas) hasta el momento en que duplicaron peso (45 días, abril-mayo, 2008). Para la elaboración de los piensos experimentales peletizados se redujo la proporción de harina de pescado incluyendo en su lugar diferentes proporciones (5, 15 y 25%) de las harinas de *Gracilaria sp.* (GR-5, GR-15 y GR-25) y *Ulva rigida* (UL-5, UL-15 y UL-25). Se determinaron los siguientes parámetros biométricos; WG, incremento peso (%); SGR, tasa crecimiento específico (% día⁻¹); FCR, tasa de conversión del alimento; PER, tasa de eficiencia proteica; CY-rendimiento de la canal (%); K, factor de condición (%); HSI, índice hepatosomático; VSI, índice viscerosomático. Para la toma de muestras, los animales fueron anestesiados con una dosis letal de 2-fenoxietanol (1 mL/L H₂O) y se obtuvo el siguiente material biológico: i) cuerpo eviscerado (composición corporal), ii) plasma (glucosa, lactato, proteínas, triglicéridos y ácidos grasos), iii) hígado [(glucosa, glucógeno, triglicérido, aminoácidos, histología e índice hepato-somático (IHS)], iv) músculo (glucosa, glucógeno, lactato, triglicéridos y aminoácidos), v) intestino (histología y actividad proteasa). Los datos fueron analizados mediante análisis de la varianza mediante un F-test seguido de un análisis de la media mediante una t-test. El nivel de significación utilizado para establecer diferencias entre grupos fue de $P < 0,05$ para un intervalo de confianza del 95%.

Resultados y Discusión

La Tabla 1 incluye los resultados de la evaluación nutritiva de los piensos experimentales. En general para el peso final, salvo en el caso de UL-15 y UL-25, no se encontraron diferencias entre los tratamientos. El

Tabla 1. Crecimiento e índices de utilización del alimento y somáticos de juveniles de dorada alimentados con las dietas experimentales. En la misma fila, los valores con distintos superíndice muestran diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$)

	Control	GR-5	GR-15	GR-25	UL-5	UL-15	UL-25
Peso ini	13,9 ± 0,2	13,3 ± 0,1	13,9 ± 0,3	14,9 ± 0,1	13,6 ± 0,5	13,9 ± 0,8	14,7 ± 0,3
Peso fin	28,7 ± 0,3 ^{ab}	26,6 ± 0,3 ^{ab}	27,7 ± 0,1 ^{ab}	27,8 ± 1,2 ^{ab}	26,6 ± 0,3 ^{ab}	25,6 ± 2,3 ^b	31,2 ± 1,1 ^a
WG (%)	106,2 ± 0,1	99,0 ± 20,1	99,2 ± 5,3	85,1 ± 8,1	95,9 ± 9,5	83,9 ± 6,4	112,3 ± 11,4
SGR (%)	1,13 ± 0,01	1,07 ± 0,16	1,08 ± 0,04	0,96 ± 0,07	1,05 ± 0,08	0,95 ± 0,05	1,17 ± 0,08
FCR	1,60 ± 0,06 ^{ab}	1,99 ± 0,51 ^{ab}	1,87 ± 0,10 ^{ab}	2,13 ± 0,18 ^a	1,73 ± 0,21 ^{ab}	1,90 ± 0,05 ^{ab}	1,81 ± 0,28 ^{ab}
PER	1,44 ± 0,01 ^a	1,28 ± 0,15 ^{ab}	1,20 ± 0,06 ^{ab}	1,08 ± 0,07 ^b	1,34 ± 0,08 ^{ab}	1,09 ± 0,12 ^b	1,35 ± 0,07 ^{ab}
CY (%)	88,55 ± 5,11	90,63 ± 1,15	90,03 ± 1,19	90,34 ± 1,09	90,70 ± 0,62	90,31 ± 1,0	90,64 ± 0,95
K	1,88 ± 0,06	1,83 ± 0,02	1,78 ± 0,07	1,83 ± 0,02	1,82 ± 0,03	1,83 ± 0,01	1,83 ± 0,03
HSI (%)	1,79 ± 0,24 ^a	1,55 ± 0,20 ^b	1,33 ± 0,17 ^c	1,16 ± 0,18 ^d	1,57 ± 0,18 ^b	1,34 ± 0,26 ^c	1,17 ± 0,17 ^d
VSI (%)	6,79 ± 0,94	6,72 ± 1,13	6,44 ± 0,78	6,13 ± 0,62	6,35 ± 1,21	6,34 ± 0,63	5,88 ± 0,83

tratamiento que mejor resultado determinó fue UL-25 (25% de *Ulva sp.*) ($p < 0,05$). La tasa de crecimiento específica (SGR) no muestra diferencias estadísticamente significativas, si bien se aprecia que los valores medios de UL-25 son mayores que en los demás tratamientos.

La composición química corporal de los peces alimentados con los piensos experimentales fue similar en todos los grupos (datos no mostrados). El contenido lipídico mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, presentando los piensos suplementados con *Ulva* una disminución del valor medio del contenido graso de la canal en comparación con el valor del pienso control, siendo ésta estadísticamente significativa para UL-25. Los análisis metabólicos a nivel plasmático, hepático y muscular no mostraron diferencias significativas entre las diferentes dietas (datos no mostrados). Respecto a las actividades enzimáticas digestivas (proteasas intestinales), los extractos de peces alimentados con dietas que incluyen preparados algales presentaron niveles más bajos de actividad que los peces del tratamiento control en el siguiente orden: control > piensos GR > piensos UL (datos no mostrados). El estudio histológico muestra patrones normales tanto en el intestino como en el parénquima hepático en todos los tratamientos (datos no mostrados). Por tanto, la inclusión de los preparados algales no altera el patrón histológico de los tejidos intestinales y hepáticos de dorada.

Los resultados indican que la incorporación de *U. rigida* en la dieta induce un mejor crecimiento respecto al control, sin originar efectos adversos a nivel plasmático, hepático o muscular. De este modo, la sustitución de harina de peces por harina de algas (*Gracilaria sp.* y *U. rigida*) podría reducir los costos de producción en la práctica acuícola al disminuir el costo del alimento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía AGR1842. Los autores agradecen a Dña. Rosa Vázquez y al personal de la instalación de la Planta de Cultivos Marinos del Centro Andaluz de Estudios Marinos (CASEM, Universidad de Cádiz) el apoyo técnico prestado.

Autoselección de dietas completas encapsuladas con distinta fuente de grasa en el sargo picudo (*Diplodus puntazo*)

P. F. Almaida-Pagán¹, M. D. Hernández², J. A. Madrid¹, J. de Costa¹ y P. Mendiola¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. almaida@um.es

² IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia

Abstract

Twelve sharpnose seabream were subjected to three consecutive experimental phases to determine the effect of masking the organoleptic properties of oil on the self-selection of encapsulated diets. In each phase, fish were fed two types of capsule (yellow or orange) so that they would associate the capsule color with its corresponding post-ingestive effect. During Phase 1, fish were adapted to the encapsulated diets by feeding the same standard complete diet presented in both colors. The fish were then challenged with two different diets: one comprising a complete diet containing fish oil and the other a fat-free diet, each of a different color (Phase 2). Finally, during Phase 3, the fish were divided into two experimental groups, one being fed two types of capsule containing the fish oil diet and a soybean oil diet, each in a different color, while the other group was given the same fish oil diet accompanied by a linseed oil diet (again, in different colors). When the olfactory information of the diets was masked, sharpnose seabream showed a preference for the fish oil capsules (3.8 g kg⁻¹ BW, 66.8% of total intake) over the fat-free diet, and were able to associate the color of capsule with their nutritional content, through post-ingestive signals. However, when capsules differed only in the lipid source they contained (fish or vegetable) no preference was observed, suggesting that the post-ingestive effect related to the fatty acid composition of the different oils was not sufficient to affect dietary selection within the timeframe of this experiment.

Justificación

Existen muy pocos datos acerca de las preferencias de los peces por los distintos aceites vegetales propuestos como candidatos para sustituir a los aceites de pescado tradicionales. Esta información sería de gran interés a la hora de afinar las estrategias nutricionales al comportamiento alimentario de los peces, lo cual tiene importantes repercusiones económicas y ambientales.

Se han realizado algunos estudios de auto-selección de dietas con diferente composición lipídica en peces, concretamente en la trucha arco iris (Geurden *et al.*, 2005) y la lubina (Luz *et al.*, 2004), que han puesto de manifiesto su capacidad para seleccionar una dieta con aceite de pescado como fuente de lípido sobre otras que contenían aceites vegetales. Sin embargo, la utilización de dietas granuladas en este tipo de experimentos, hace imposible discernir si las preferencias mostradas por los peces son motivadas por una consecuencia post-ingestiva de las dietas o por una respuesta de atracción-rechazo debida a alguna característica orosensorial inherente en los aceites.

En el presente trabajo se estudia si el sargo picudo es capaz de seleccionar entre dietas con distinta composición lipídica cuando las propiedades organolépticas de las mismas son enmascaradas mediante el uso de cápsulas de gelatina.

Material y Métodos

Se utilizaron 12 sargos picudos de 330,8 ± 45,0 g de peso inicial (Media ± SD). Los animales fueron mantenidos de forma individual en un circuito cerrado de agua salada bajo condiciones experimentales (salinidad: 37 g l⁻¹; NO₂ < 0,1 mg l⁻¹; NO₃ < 0,1 mg l⁻¹; NH₃ < 0,5 mg l⁻¹; pH: 7,7) durante 90 días (de octubre a enero) bajo fotoperiodo natural (37°50'N, 0°46'W) y alimentados con las dietas experimentales una vez al día, seis días a la semana.

Los animales fueron sometidos a tres fases experimentales en las que fueron alimentados con diferentes pares de dietas, cada una empaquetada en cápsulas de un color. En la Fase 1 (Control), los peces fueron alimentados con cápsulas que contenían la misma dieta estándar (aceite de hígado de bacalao más aceite de soja, 3:1) (E). En la Fase 2 los mismos doce peces fueron alimentados con cápsulas de un color que contenía una dieta de pescado (P) con el aceite de hígado de bacalao como única fuente de lípido y cápsulas de otro color con una dieta sin grasa (SG) donde el porcentaje correspondiente a la misma fue sustituido por celulosa. Por último, en la Fase 3, los peces fueron divididos en dos grupos. Siete peces fueron alimentados con cápsulas con la dieta P y cápsulas con una dieta con aceite de soja (S), mientras que los cinco restantes fueron alimentados con cápsulas con la dieta P y cápsulas con una dieta con aceite de linaza (L).

Tabla 1. Ingesta de cápsulas durante la última fase del experimento (Grupo 1: P vs. L, Grupo 2: P vs. S)

Grupo 1 (n = 7)		Fase 3			
Dieta	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	
Pescado	2,92 ± 0.81	2,45 ± 0.79	3,02 ± 1.04	2,41 ± 0.33	
Linaza	1,87 ± 0.55	2,93 ± 0.82	2,49 ± 1.40	2,05 ± 0.52	
Grupo 2 (n = 5)		Fase 3			
Dieta	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	
Pescado	1,98 ± 0.52	2,04 ± 0.76	2,10 ± 0.70	2,18 ± 0.23	
Soja	2,18 ± 0.37	2,81 ± 0.51	2,28 ± 0.93	1,82 ± 0.59	

* Valores expresados como media de ingesta en g Kg⁻¹ de peso corporal ± desviación estándar (media ± SD)

Resultados y Discusión

Los sargos picudos son capaces de distinguir entre cápsulas con una dieta completa con aceite de pescado (P) como única fuente de lípido y cápsulas con una dieta carente de grasa (SG). Cuando a los peces se les ofrecieron los dos tipos de cápsulas (Fase 2), éstos cambiaron su comportamiento alimentario previo y empezaron a seleccionar mayoritariamente las cápsulas P ($3,8 \pm 1,1$ g kg⁻¹ de peso corporal, 66,8% del total de su ingesta en gramos). Puesto que se trataba de dietas encapsuladas, con similares propiedades orosensoriales, aunque con diferente composición, esta selección solo se pudo llevar a cabo mediante un aprendizaje asociativo entre el color de las cápsulas y el efecto post-ingestivo de las dietas (Rubio *et al.*, 2003; Almáida-Pagán *et al.*, 2006). Acto seguido, cuando los peces fueron sometidos, durante 28 días, a la selección entre dietas encapsuladas que solo diferían en el tipo de aceite que contenían (pescado: P, linaza: L o soja: S) (Fase 3), no se observó ninguna preferencia entre las dietas, tal y como puede observarse en la Tabla 1.

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la información quimiosensorial del alimento en los procesos de selección a corto plazo en esta especie y va en línea con la buena aceptación de las dietas con aceites vegetales por parte de los peces, observada en estudios de no selección (Piedecausa *et al.*, 2007).

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con fondos del CICYT (AGL2004-08137-C04-02/ACU a JA Madrid) y del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (AP2002-1368 a PF Almáida-Pagán).

Bibliografía

- Almáida-Pagán P.F., Rubio V.C., Mendiola P., de Costa J., Madrid J.A. 2006. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpsnout seabream fed on gelatine capsules and challenged with protein dilution. *Physiology and Behavior*. 88: 550-558.
- Geurden I., Cuvier A., Gondouin E., Olsen R.E., Ruohonen K., Kaushik S.J., Boujard T. 2005. Rainbow trout can discriminate between feeds with different oil sources. *Physiology and Behavior*. 85: 107-114.
- Luz R.K., Boluda D., Sánchez-Vázquez F.J., Portella M.C., Zamora S., Madrid J.A. 2004. Selection of diets made of different plant oils in adult and juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, L. En: *Aquaculture Europe' 04-Biotechnologies for Quality*, Extended abstracts and short communications. Special publication N° 34, Barcelona.
- Piedecausa M.A., Mazón M.J., García García B., Hernández M.D. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*. 263: 211-219.
- Rubio V.C., Sánchez-Vázquez F.J., Madrid J.A. 2003. Macronutrient selection through postingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. *Physiology and Behavior*. 78: 795-803.

Engorde de besugo, *Pagellus bogaraveo*, en jaulas con diferentes tasas de alimentación

M. Olmedo¹, F. Linares², B. Álvarez-Blázquez¹, G. Pazos² y J.B. Peleteiro¹

¹ Instituto Español de Oceanografía, C.O. de Vigo. Cabo Estai-Canido. Apdo. 1552. 36280 Vigo, Pontevedra.
e-mail:mercedes.olmedo@vi.ieo.es

² Centro de Investigaciones Mariñas. Pedras de Corón s/n. Apdo. 13, Vilanova de Arousa. 36620 Pontevedra

Abstract

This work sets out to demonstrate if, in the case of Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) the amount of food ingested may influence the percentage of fat built up. To do so, three doses were established: 1%, 2% and 2.5% of a commercial feed – SKRETTING – in order to study the possible influence of the same on the growth and corporal composition of the individuals. The experiment was conducted in a cage, testing each dose of feed in duplicate, with six batches of 1300 individuals each, with an initial approximate weight of 100 g. The results show that there are no significant differences in the growth of individuals fed with different ingestion rates, which after six months, reach an approximate weight of 180 g. As far as biochemical composition is concerned, an increase is noted in the protein content of the muscle, reaching 78.48% dry weight in the individuals that have been fed with the 2.5 feeding rate, as opposed to 65.9% in the groups with 1% and 2% rates. Total lipids varied in the muscle from 8.38% to 10.28%, there being no significant differences between the individuals fed with different rates. In terms of the composition in fatty acids in the muscle of the individuals, slightly higher PUFA values were noted (23.55 ng/ug dry wt.) in the individuals with the 2.5% rate as opposed to those fed with 1% and 2% rates (19.95 and 20.22 ng/ug dry wt.).

Justificación

Ya que los resultados de experimentos anteriores, en los que se había substituido parte de los lípidos del pienso por carbohidratos, en cuanto a composición en lípidos en hígado fueron similares a los de peces alimentados con piensos más ricos en grasa (Olmedo et al, 2007), se prepara un nuevo ensayo de engorde para ver si la cantidad de pienso ingerida puede tener influencia en el porcentaje de grasa acumulado en los peces. Así se diseñó un experimento de engorde de besugo en jaulas, utilizando como alimento un pienso comercial (B-4: 50/10) y tres tasas de alimentación (1%, 2% y 2.5%), con el objetivo de comprobar si las diferentes tasas de alimentación tienen una influencia en el crecimiento y el contenido graso del hígado y músculo de los ejemplares.

Material y Métodos

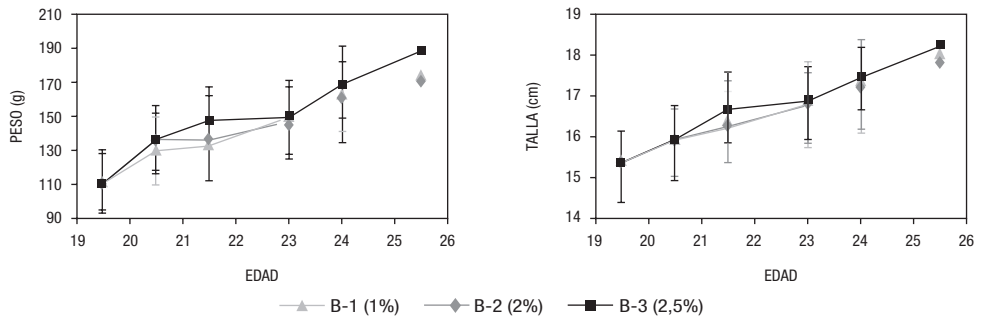
Se preparó un nuevo ensayo de engorde de besugo en jaulas utilizando como alimento un pienso comercial de la casa SKRETTING, B-4, de composición proteína/grasa: 50/10 y tres tasas de alimentación, 1%, 2% y 2.5% (suministro del pienso de forma manual, cinco veces por semana). El experimento se llevó a cabo probando cada dosis de pienso por duplicado, con seis lotes de 1300 peces cada uno, de peso medio inicial aproximado 110 g. Mensualmente se realizaron muestreos de talla y peso y tanto al comienzo como al final de experimento se tomaron muestras de peces para su posterior análisis bioquímico. Se realizaron análisis bioquímicos de proteínas, lípidos totales, clases de lípidos y ácidos grasos del hígado y músculo de los ejemplares por triplicado al principio y al final del experimento.

Resultados y Discusión

Los valores medios alcanzados después de 6 meses fueron para los grupos B-1 (tasa 1%): Peso medio 171.95 ± 25.66 g y talla media 17.97 ± 1.11 cm, B-2 (tasa 2%): Peso medio 170.20 ± 28.02 g y talla media 17.77 ± 1.07 cm y B-3 (tasa 2.5%): Peso medio 188.57 ± 20.77 g y talla media 18.16 ± 0.78 cm (Fig. 1).

Aunque los datos de los primeros muestreos muestran una ligera diferencia en el crecimiento de los diferentes grupos, sin embargo al final del ensayo no se observan diferencias significativas entre los grupos alimentados con las diferentes tasas de alimentación.

En cuanto a la composición bioquímica (Tabla 1), se observa un significativo incremento en el contenido proteico del músculo, desde 64.04% hasta un 78.48% del peso seco en los ejemplares que han sido alimentados con la tasa del 2.5%, similares a los obtenidos en esta misma especie por Linares et al. (2004) que oscilan entre el 74 y el 77%. Los lípidos totales varían en el músculo entre el 8.38 y el 10.28% no existiendo diferencias significativas entre los ejemplares alimentados con diferentes tasas. El % de TAG de los lípidos totales desciende de manera acusada en el hígado de los ejemplares a lo largo de los 6 meses de

Figura 1. Crecimiento de besugo con distintas tasas de alimentación**Tabla 1.** Composición bioquímica de ejemplares de besugo alimentados con diferentes tasas de alimentación

	Músculo				Hígado			
	Inicial	Final			Inicial	Final		
		1%	2%	2,5%		1%	2%	2,5%
Proteínas	64.04	65.87	65.90	78.48	26.81	23.13	26.72	21.51
Lípidos	10.74	9.68	8.38	10.28	40.15	34.21	28.99	37.46
Clases de lípidos (% del total de lípidos)								
E+C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TAG	51.54	51.47	54.94	58.97	73.27	56.27	50.81	58.61
Ácidos	0.00	0.32	0.56	0.00	3.37	3.44	2.92	2.97
Esteroles	0.90	1.78	2.41	1.53	1.31	1.78	1.36	1.18
Fosfolípidos	18.66	21.46	25.48	25.77	17.05	38.50	44.91	37.24
Ácidos grasos (ng/ug P. seco)								
PUFAs	18.01	20.22	19.95	23.55	45.05	42.75	40.93	41.08
SAFAs	13.80	13.26	11.81	14.33	67.78	46.95	38.37	57.91
MUFAs	10.57	10.19	8.87	11.57	79.93	54.98	39.49	69.39
Sum. W3	13.08	14.73	14.78	17.28	26.81	23.08	23.18	21.72
Sum. W6	4.79	5.34	5.05	6.07	17.65	19.12	17.34	18.86

engorde desde el 73% a valores comprendidos entre el 50 y el 59% con las diferentes tasas, mientras que los fosfolípidos se incrementan en el mismo período alcanzando valores entre el 37 y el 45% de los lípidos totales. No existen diferencias significativas en la composición de ácidos grasos al final del experimento en hígado y músculo entre las diferentes tasas de alimentación utilizadas. Los valores (ng/ug P. seco) de PUFA y Sum.W3 en el músculo de los ejemplares al inicio (18,01 y 13,08 ng/ug P. seco respectivamente) se incrementan significativamente al final del experimento con la tasa de alimentación del 2,5% alcanzando valores de 23,55 y 17,28 ng/ug P. seco respectivamente, ligeramente más altos que los obtenidos con las otras dos tasas. La evolución de estos ácidos grasos es similar a la encontrada por Olmedo et al. (2007) con incremento en PUFA W3 e DHA en el músculo en la fase de engorde del besugo.

Bibliografía

- Linares F., Olmedo M., Peleteiro J.B. 2004. Influence of feeding with feeds having a different fat content on the growth and composition of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) juveniles. Special Publication n° 34: 487-489. European Aquaculture Society.
- Olmedo M., Linares F., Álvarez-Blázquez B., Pazos G., Valente L. 2007. Crecimiento y composición corporal de juveniles de besugo, *Pagellus bogaraveo*, alimentados con diferentes niveles de proteína y carbohidratos. Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. Tomo II: 1383-1386.

Sustitución parcial de la harina de pescado en dietas con distintos niveles de proteína y lípido. Efectos sobre la actividad proteolítica y la capacidad de absorción intestinal en dorada (*Sparus aurata*)

I. García-Meilán¹, J. M. Valentín¹, R. Fontanillas² y M. A. Gallardo¹

¹ Departament de Fisiologia (Biologia), Universitat de Barcelona. Diagonal 645, 08028 Barcelona, España, mgallardo@ub.edu

² Skretting Aquaculture Research Center (ARC), Sjøhagen 3, Stavanger, Norway

Abstract

Sea bream juveniles were fed during a period of 12 weeks with 7 isoenergetic diets in which 50% of fish meal protein was replaced by a blend of vegetable ingredients, and that differ in the content of protein (from 35 to 53 %) and lipid (from 27 to 19 %). After the growth period, protease activity in proximal intestine and nutrient absorptive capacity was studied at the 5 h post-feeding. A progressive increase of the total protease activity (APT) was found as the content of protein increases. The highest APT activity was found for 41.23 animals, and diminished for those sea bream of the high protein content. Moreover, an up-regulation of nutrient absorptive capacity was found for D-glucose in fish fed with the highest protein content diets (50 and 53%) and for L-lysine in low protein content groups (35, 38, 41 and 44 %). In this sense, only animals fed with less protein diets shown an inferior growth.

Justificación

Dado el limitado suministro de harina de pescado, junto con el incremento de la acuicultura (SOFIA, 2008), y considerando que los ingredientes vegetales pueden ser una alternativa a la harina de pescado, se hace necesario testar dietas de sustitución con diferentes contenidos en proteína y lípido.

En juveniles de dorada se estudian los efectos de 7 dietas isoenergéticas, en las que el 50% de la proteína proviene de ingredientes vegetales y que difieren en los contenidos de proteína (de 35 a 53%) y de lípido (de 27 a 19%), sobre la actividad proteasa y la capacidad de absorción intestinal.

Material y Métodos

Se cultivaron durante 12 semanas (mayo-julio) juveniles de dorada (peso inicial de unos 60 g) con 7 dietas isoenergéticas en las que el 50% de la proteína provenía de ingredientes vegetales (concentrado de soja, gluten de trigo y trigo). Las dietas diferían en el nivel de proteína y lípido y se nombraron: 35.27, 38.24, 41.23, 44.22, 47.21, 50.20, 53.19, donde el primer valor indica el porcentaje de proteína del pienso y el segundo el porcentaje de lípido. Al final del período de crecimiento se realizó un muestreo 5 h post-ingesta. Se midió la actividad proteolítica alcalina total (APT) y se caracterizaron las actividades proteasa alcalina individuales en intestino proximal (Santigosa *et al.*, 2008). Se determinó también la capacidad de absorción de los aminoácidos (L-alanina, L-glutámico, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina y L-prolina) y D-glucosa en vesículas de membrana apical obtenidas del intestino (Sala-Rabanal *et al.*, 2004). Las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos se determinaron con un ANOVA de una vía y un test de Tuckey. El software utilizado fue el SPSS 16.0 (SPSS Inc., EUA).

Resultados y Discusión

La figura 1A muestra la actividad proteolítica total medida en el intestino proximal. Los animales alimentados con las dietas de menor contenido proteico (35 y 38%) presentaron una menor APT, indicando una inferior secreción de enzimas pancreáticos. En las doradas 41.23, 44.22 y 47.21 se midieron valores elevados y similares de actividad proteolítica. En cambio, los animales 50.20 y 53.19 presentaron una menor APT, que podría relacionarse con la presencia de factores antinutricionales en los ingredientes vegetales utilizados (Francis *et al.*, 2001). Los estudios zimográficos (Fig. 1B) corroboraron los resultados anteriores, y mostraron que bajos niveles de APT están relacionados con una menor actividad quimotripsina.

La captación de las vesículas de membrana apical intestinal (Fig. 2) incrementó para la D-glucosa en los animales 50.20 y 53.19 (Fig. 2A) y tendió a aumentar para la L-lisina en las doradas alimentadas con las dietas menos proteicas (Fig. 2B), sugiriendo en ambos casos una regulación al alza de la capacidad de absorción debida a un déficit del nutriente en el tubo digestivo, estos datos apoyan los resultados de crecimiento. El SGR sólo se vio afectado negativamente en las doradas 35.27 (-27.7%), 38.24 (-12.1%) y 41.23 (-15.1%).

Figura 1: Actividad proteolítica del intestino proximal: A) Total. Los resultados se expresan como la media \pm SEM ($n = 10$). Las diferencias significativas entre dietas se representan con diferentes letras. B) Zimograma modelo donde se muestran las diferentes actividades proteasa alcalinas: (1) Tripsina 90 KDa, (2) Tripsina 60 KDa, (3) Tripsina 55 KDa, (4) Quimotripsina 50 KDa, (5) Quimotripsina 30 KDa, (6) Quimotripsina 25KDa

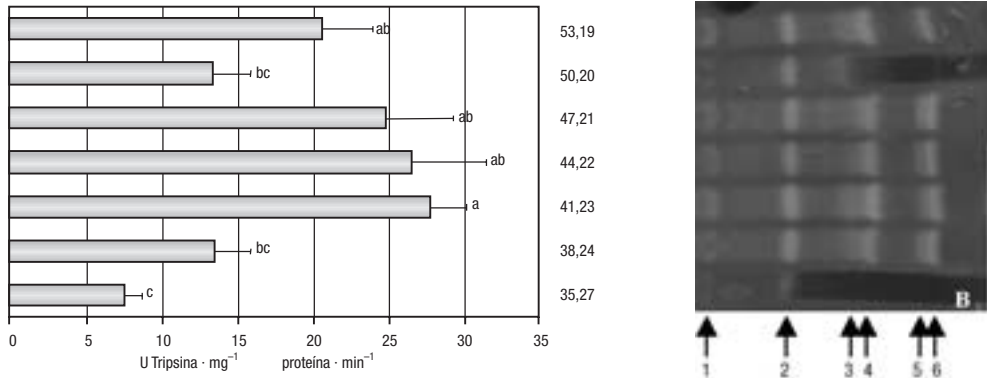
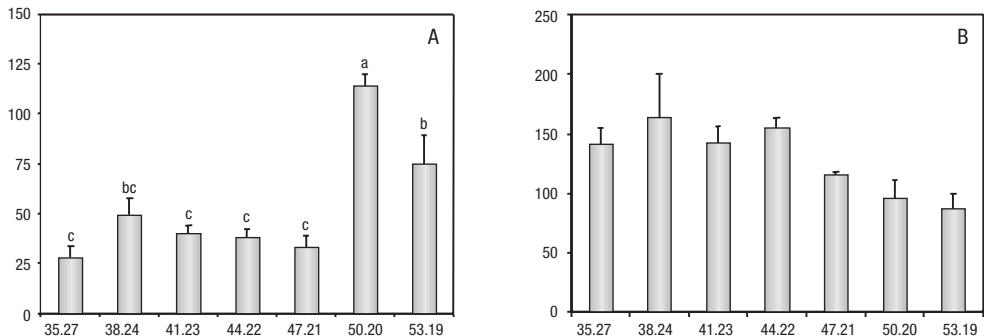


Figura 2: Capacidad de absorción medida en vesículas de membrana apical intestinal: A) de D-glucosa, B) de L-lisina. Los resultados se expresan como la media \pm SEM ($n=6$). Las diferencias significativas entre dietas se representan con diferentes letras



Bibliografía

- Francis G., Makkar H., Becker K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- Sala-Rabanal M., Gallardo M.A., Sánchez J., Planas J.M. 2004. Na-dependent D-glucose transport by intestinal brush border membrane vesicles from gilthead sea bream. (*Sparus aurata*). *Journal of Membrane Biology*. 201: 85-96.
- Santigosa E., Sánchez J., Médale F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J., Gallardo M.A. 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 282: 68-74.
- SOFIA. 2008. The state of World fisheries and aquaculture. FAO, pp 1-196.

Efectos del ayuno-realimentación y tamaño de la ración en aspectos morfométricos y de composición en la corvina (*Argyrosomus regius*)

A. Rodríguez-Rúa¹, S. García-Mesa², M. García-Gallego², M. D. Suárez³ y S. Cárdenas¹

¹ Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño, Apdo. 16, 11500 Puerto de Santa María, Cádiz.

E-mail: ana.r.franch.ext@juntadeandalucia.es

² Departamento de Biología Animal, Universidad de Granada

³ Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería

Abstract

This feeding trial evaluated the influences of different ration sizes, including a starvation period followed by re-feeding, on growth performance of the meagre. The better growth results were obtained for the groups fed on 1% b.w. daily ration. During the starvation period, the hepato-somatic index, the condition index and performance fillet got the lower values. The highest feed efficiency was detected in the previously starved groups during re-feeding period that allowed a certain degree of compensatory growth.

Justificación

Debido a situaciones de disponibilidad de alimento, procesos de migración, etc., muchas especies de peces están adaptadas a sobrevivir a dilatados periodos de tiempo, es por eso que no sean prácticas raras en el cultivo piscícola. Por otra parte, el tamaño de la ración y su aprovechamiento por los peces son aspectos muy importantes en estas prácticas piscícolas y, así, es frecuente encontrar diferencias entre ración máxima y ración óptima.

En esta comunicación se presentan algunos resultados de un experimento de alimentación con diversos tamaños de ración, incluida la ración cero, seguida de un periodo de realimentación, sobre algunos aspectos de la biometría y composición corporal de la corvina (*Argyrosomus regius*).

Material y Métodos

Cuatro lotes duplicados de corvinas procedentes del Centro IFAPA El Toruño (peso inicial en torno a 78 g), fueron sometidos, durante 60 días, a tres raciones diarias diferentes (0.6 a 1.8% del peso corporal; raciones B, M y A, respectivamente) en tanto otros dos lotes se sometieron a ayuno absoluto (ración 0). En un segundo periodo de 60 días, se mantuvieron las mismas raciones, salvo para el caso de los lotes privados de alimento que pasaron a consumir la ración media de 1.2% (realimentación). La alimentación se realizó utilizando comederos automáticos, que suministraban el pienso de forma regular durante seis horas al día (de 10:00 a 16:00). A intervalos predeterminados se hizo un seguimiento de peso y biometría externa de los distintos lotes. A partir del final de este periodo se realizó, en muestras extraídas de los diferentes lotes, una biometría más exhaustiva (peso de las fracciones hepática y digestiva, peso del pez eviscerado) calculándose diversos índices morfométricos. También se hizo un seguimiento de los cambios en la composición del músculo (principal fracción comestible) según AOAC (2000).

Resultados y Discusión

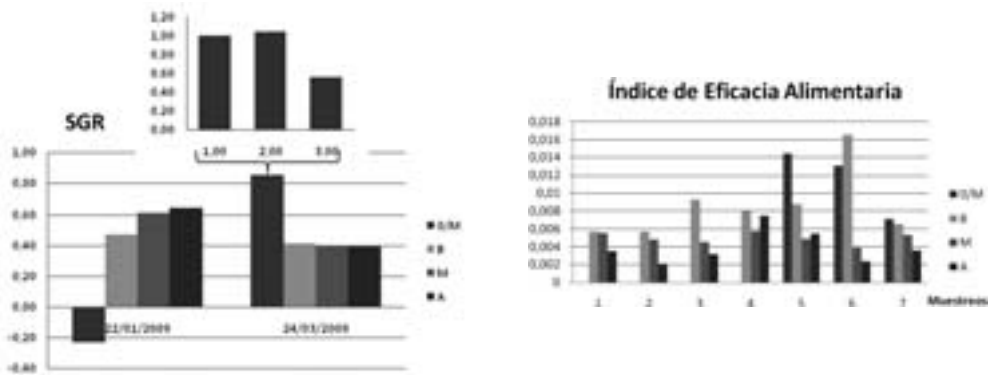
La ración intermedia, próxima al 1% del peso corporal, se muestra como la más favorable en cuanto a rendimiento por lo que podría considerarse óptima para corvinas de esta edad/tamaño (Tabla 1). El lote que recibió la ración alta presenta un SGR levemente mayor, considerando todo el periodo experimental, aunque esa mejora no es proporcional al aumento de la ración por lo que el índice de conversión es menor (figura 1).

El ayuno de larga duración supone una lógica pérdida de peso pero de sólo un 15% del inicial lo que puede ser reflejo de una tasa metabólica inicial reducida que aún se ha podido ver deprimida con el ayuno.

Durante la realimentación, los peces previamente ayunados crecen proporcionalmente más, no sólo que aquellos que reciben una ración similar sino, que los que ingieren una ración diaria mayor. Dada esta restricción en la ración, el crecimiento compensatorio debe atribuirse a un mejor aprovechamiento de la dieta consumida. Tras el final del ayuno, el hígado que había perdido más peso, proporcionalmente, que el resto del cuerpo, recupera rápidamente su peso relativo e incluso supera al de los otros lotes. El rendimiento del filete también se recupera durante el periodo de realimentación. La composición del músculo se ve poco afectada por el ayuno, excepto en lo que concierne al contenido proteico que cae (43.11 mg proteína/g

Tabla 1. Evolución biométrica

		25/11/08	12/01/09	24/03/09
Longitud Estándar (cm)	O/M	17,0 ^a	17,3 ^{ab}	20,3 ^d
	B	17,3 ^a	19,0 ^c	24,1 ^e
	M	17,1 ^a	19,8 ^c	22,1 ^d
	A	17,1 ^a	19,320 ^c	22,1 ^f
Peso (g)	O/M	77,1 ^{bc}	65,8 ^{ab}	114,0 ^e
	B	79,4 ^a	101,3 ^{bc}	135,1 ^d
	M	79,9 ^a	104,3 ^{cd}	146,9 ^f
	A	77,5 ^a	103,8 ^{bc}	144,8 ^f
Índice Condición	O/M	1,161 ^e	0,912 ^a	1,024 ^d
	B	1,146 ^{de}	1,088 ^{bc}	1,027 ^a
	M	1,174 ^e	1,082 ^{bc}	1,009 ^a
	A	1,153 ^e	1,072 ^{cd}	1,007 ^a
Índice Hepato-Somático	O/M		0,65	2,58
	B		2,44	1,87
	M		2,29	2,13
	A		2,43	1,76
Rendimiento del filete	O/M		39,21	43,13
	B		43,00	44,34
	M		43,89	44,17
	A		42,86	44,7

Figura 1. SGR (%) e IEA a lo largo del período experimental

tejido) para recuperarse e igualar al de los otros lotes durante la realimentación (en torno a 63 mg proteína/g tejido). Llama la atención que tal circunstancia no se produce ni para el contenido en glucógeno ni para el lipídico. El papel de reserva energética a largo plazo atribuible en otras especies a los lípidos, podría ponerse en duda en un pez magro como es la corvina.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas).

Bibliografía

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA, 1018 pp.

Un gran consumo de carbohidratos en actividad sostenida conlleva un ahorro de la proteína de la dieta en doradas

M. Martín-Pérez*, O. Felip, J. Fernández-Borràs, A. Ibarz y J. Blasco

Departament de Fisiologia (Biologia), Universitat de Barcelona. Xarxa de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya. Diagonal 645, 08028 Barcelona. e-mail: martinper@ub.edu

Abstract

Isotopic composition, nucleic acid concentration and enzymatic activity (cytochrome-c-oxidase, COX and citrate synthase, CS) of red and white muscle (RM, WM) were analysed in sea breams adapted to a diet rich in carbohydrates and subjected to two different swimming regimes (Exercise, E: 1.5 body length·s⁻¹, or Control, C: voluntary activity). After three weeks, the exercised fish grew significantly bigger without increasing food intake. RM did not show any differences in those parameters. In contrast, the protein synthesis capacity (RNA/DNA and RNA/protein) of WM increased significantly in group E. This, coupled with the similar rates of protein turnover ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) in WM of the two groups, indicates a higher retention of protein in exercised fish. Activity changed the aerobic capacity of WM (increasing COX and decreasing CS) and also glycogen and lipid turnover ($\Delta\delta^{13}\text{C}$), indicating a preferential use of these energy reserves. Finally, exercise produced lower deposition of lipids in WM, while in RM glycogen levels decreased. These results show that prolonged swimming improves the efficiency of dietary protein use in foods with high carbohydrate content.

Justificación

El crecimiento se relaciona directamente con la eficiencia de retención proteica, pero no existen métodos directos de medir la degradación y reciclaje proteicos en animales. Ahora bien, el fraccionamiento del ¹⁵N es un buen indicador (revisado Gannes *et al.*, 1998; en dorada: Beltrán *et al.*, 2009). Además, la composición isotópica del N y del C en los diferentes tejidos y en sus componentes refleja cómo se distribuyen los nutrientes. Interpretando los datos isotópicos podemos reconstruir la importancia relativa de los componentes mayoritarios de la dieta, tanto en su función energética como biosintética.

En este estudio se ha escogido un modelo de ejercicio con dieta carbohidratada en dorada porque: 1) el ejercicio sostenido modifica la capacidad aeróbica en peces mejorando la ganancia de peso, por un aumento de la conversión del alimento (revisado Davison, 1997); 2) recientes estudios nos demuestran que la dorada posee una elevada capacidad de asimilación y uso de carbohidratos (Beltrán *et al.*, 2009). Hemos analizado los fraccionamientos isotópicos del ¹⁵N y del ¹³C en músculo blanco y rojo y sus componentes, como indicadores del balance proteico y del uso de nutrientes, validando su relación con la capacidad de crecimiento proteico mediante parámetros bien establecidos indicativos de crecimiento (RNA, DNA, retención proteica) y de actividad metabólica (enzimas como CS y COX de tejidos). El objetivo del presente trabajo es determinar los mecanismos para optimizar la eficiencia de la dorada en el uso de la proteína de dietas ricas en carbohidratos mediante el ejercicio.

Material y Métodos

Juveniles de dorada procedentes de la piscifactoría Cripesa (L'Ametlla de Mar, Tarragona), se adaptaron a las condiciones de estabulación de la Facultad de Biología (circuito cerrado, 22° C, fotoperiodo 12 L/12 D), y se alimentaron manualmente a saciedad (2 tomas diarias) con un pienso rico en hidratos de carbono digeribles (37% proteína, 40% CHO, 13% lípidos) durante 15 días. Al final del período se repartieron aleatoriamente lotes de 12 peces (85,6 ± 1,2 g) en 6 tanques (200 L). Tres de los tanques se mantuvieron en condiciones normales de cultivo sin actividad forzada (grupo Control, C), y a los otros tres se les indujo una natación moderada y sostenida mediante un flujo de 1,5 longitud corporal·s⁻¹ (grupo Ejercicio, E). Se registró la ingesta (mismo régimen) y el crecimiento durante tres semanas, y posteriormente se sacrificaron 12 peces de cada grupo. Se obtuvieron distintos parámetros biométricos (índices hepatosomático y musculosomático) y se extrajeron muestras de músculos blanco y rojo. Se determinó el contenido de RNA y DNA y la abundancia natural de los isótopos estables ¹⁵N y ¹³C (EA-IRMS) en los tejidos y en sus componentes (proteínas, lípidos y glucógeno). Se valoró la actividad de CS y de COX de músculo rojo y blanco.

Resultados y Discusión

El ejercicio realizado durante tres semanas indujo un mayor crecimiento (peso final, C: 98,2 ± 2,3; E: 107,1 ± 2,2 g; p < 0,05) sin afectar significativamente al nivel de ingesta (C: 2.7 ± 0.1;

Tabla 1. Contenido de ácidos nucleicos, composición isotópica y actividades enzimáticas en músculo blanco de dorada

	Control	Ejercicio
µgRNA·mg prot ⁻¹	2,85 ± 0,14	3,32 ± 0,10*
RNA:DNA	2,58 ± 0,11	2,96 ± 0,10*
Δδ ¹⁵ N ^a	0,96 ± 0,04	0,96 ± 0,04
δ ¹⁵ N tejido total	12,31 ± 0,04	12,31 ± 0,04
δ ¹⁵ N proteína	13,10 ± 0,04	13,09 ± 0,04
δ ¹³ C proteína	-18,16 ± 0,06	-18,04 ± 0,06
δ ¹³ C lípido	-25,80 ± 0,05	-25,65 ± 0,04*
δ ¹³ C glucógeno	-22,31 ± 0,17	-21,51 ± 0,25*
CS (UI · g ⁻¹)	2,66 ± 0,12	1,98 ± 0,12*
COX (UI · g ⁻¹)	1,27 ± 0,10	1,88 ± 0,10*
COX/CS	0,48 ± 0,04	0,97 ± 0,06*

Valores: media ± e.s.m. (n = 12).

* Diferencias significativas (p < 0,05; t-Student).

^a Fraccionamiento isotópico = Δδ¹⁵N = δ¹⁵N_{tejido} - δ¹⁵N_{dieta}; (valor δ¹⁵N_{dieta} = 11,35 ± 0,28).

E: 2.6 ± 0.2 %p.c·día⁻¹). El músculo blanco presentó mayores cambios que el músculo rojo, a pesar de tratarse de un ejercicio moderado y sostenido. La capacidad de síntesis proteica del músculo blanco incrementó con el ejercicio, como lo refleja el aumento significativo de RNA y de la relación RNA/DNA de este grupo (Tabla 1), no así la del músculo rojo. La tasa de reciclaje o degradación proteica no cambia con el ejercicio, puesto que el δ¹⁵N de la proteína de ambos músculos no se modificó y, por tanto, el fraccionamiento isotópico (Δδ¹⁵N = δ¹⁵N_{tejido} - δ¹⁵N_{dieta}) no varía. Dado que la entrada de aminoácidos y la tasa de recambio proteico son similares en ambos grupos, la mayor capacidad de síntesis de proteína en músculo blanco con el ejercicio determina una mayor retención de proteína neta en este tejido. Por otro lado, el ejercicio promueve una menor deposición de lípidos en el músculo blanco (C: 2,2 ± 0,4; E: 1,7 ± 0,5% p.f. p < 0,05), preservando el nivel de glucógeno (C: 0,53 ± 0,02; E: 0,46 ± 0,04% p.f.). No se observaron diferencias en el total de grasa perivisceral (C: 0,99 ± 0,11; E: 0,96 ± 0,08% p.c), ni en los índices IMS e IHS. El mayor δ¹³C en animales más activos, tanto de la fracción lipídica como de la reserva de glucógeno del músculo blanco, indica un mayor uso energético de estas reservas. En el músculo rojo, sólo la reserva de glucógeno disminuyó significativamente (C: 0,9 ± 0,2; E: 0,6 ± 0,3% p.f. p < 0,05) pero no varió su recambio (δ¹³C-glucógeno similares). Finalmente, el descenso significativo de la actividad CS del músculo blanco con el ejercicio, concomitante con el incremento de la actividad COX, indican un cambio del metabolismo energético de este tejido. Estos cambios no se observaron en el músculo rojo.

Concluimos que hay un claro efecto de ahorro de la proteína en condiciones de ejercicio en la dorada, mediado por un elevado uso energético de los hidratos de carbono de la dieta. La actividad también preservó a la dorada de un engrosamiento no deseado.

Bibliografía

- Beltrán M., Fernández-Borrás J., Medale F., Pérez-Sánchez J, Kaushik S., Blasco J. 2009. *Aquaculture Nutrition*, 15: 9-18.
- Davison W. 1997. *Comp. Biochem. Physiol.*, 117A: 67-75.
- Gannes L.Z., Del Rio C.M., Koch P. 1998. *Comp. Biochem. Physiol.*, 119A: 725-737.

Efecto de la relación proteína-lípido en el pienso sobre el crecimiento y parámetros metabólicos de juveniles de lenguado senegalés (*S. senegalensis*)

A. Rodiles¹, M. Herrera¹, I. Hachero-Cruzado¹, I. Ruíz-Jarabo², J.M. Mancera² y F. J. Alarcón³

¹ IFAPA «Agua del Pino». Ctra. Cartaya-Punta Umbría, s/n. 21459. Huelva.

E-mail: ana.rodiles@juntadeandalucia.es

² Departamento de Biología, Universidad de Cádiz. República Saharaui s/n, 11519 Puerto Real

³ Universidad de Almería. Ctra. Sacramento s/n. La Cañada de San Urbano. 04120. Almería

Abstract

Physiological response to different dietary protein-lipid levels were tested in *S. senegalensis* juveniles. Six experimental diets with 3 protein (45, 50, 55%) and 3 lipid (12, 17, 22%) levels were formulated. Fish were fed during 65 days. Growth performance showed significant variations influenced by lipid level in terms of SGR, but not in final fish weight. Plasma glucose, triglycerides and lactate showed significant differences while lipid percentage was increased in the diet, mainly at low protein dietary level. Tissue metabolites were only different for triglycerides and protein retention in the muscle, but differences were no detected in liver. To conclude, the use of up to 17% of dietary lipid may improve amino acid retention in muscle of *S. senegalensis* juveniles.

Justificación

En este estudio se trata de comprobar cómo afecta un ahorro de las proteínas dietarias, mediante la inclusión de lípidos, en el crecimiento y metabolitos plasmáticos y tisulares de *S. senegalensis*.

Material y Métodos

Un total de 240 lenguados, con peso y longitud inicial de $25,0 \pm 0,2$ g y $11,9 \pm 0,1$ cm (media \pm SD), se dispusieron en 12 tanques experimentales de 100 L con sistema abierto. Se formularon seis piensos isocalóricos ($28,6$ MJ kg^{-1}) que incluían distintos porcentajes de proteína (45, 50 ó 55%) y lípidos (12, 17 ó 22%). Los piensos experimentales fueron suministrados manualmente durante 65 días, a razón de 3% de la biomasa del tanque en dos tomas diarias, hasta que los peces duplicaron su peso inicial. Al final de este periodo se determinó el peso y se estimó la tasa de crecimiento específica, SGR (% día^{-1}), y se obtuvieron muestras de plasma, hígado y músculo, que fueron congeladas a -80° C hasta su análisis. Se determinaron parámetros a nivel plasmático [glucosa, triglicéridos (TAG), lactato, cortisol y proteínas], así como hepático y muscular (glucosa, glucógeno, TAG y aminoácidos). Los metabolitos plasmáticos y tisulares fueron determinados con kits comerciales (Spinreact y Pierce) adaptados a microplaca de 96 pocillos.

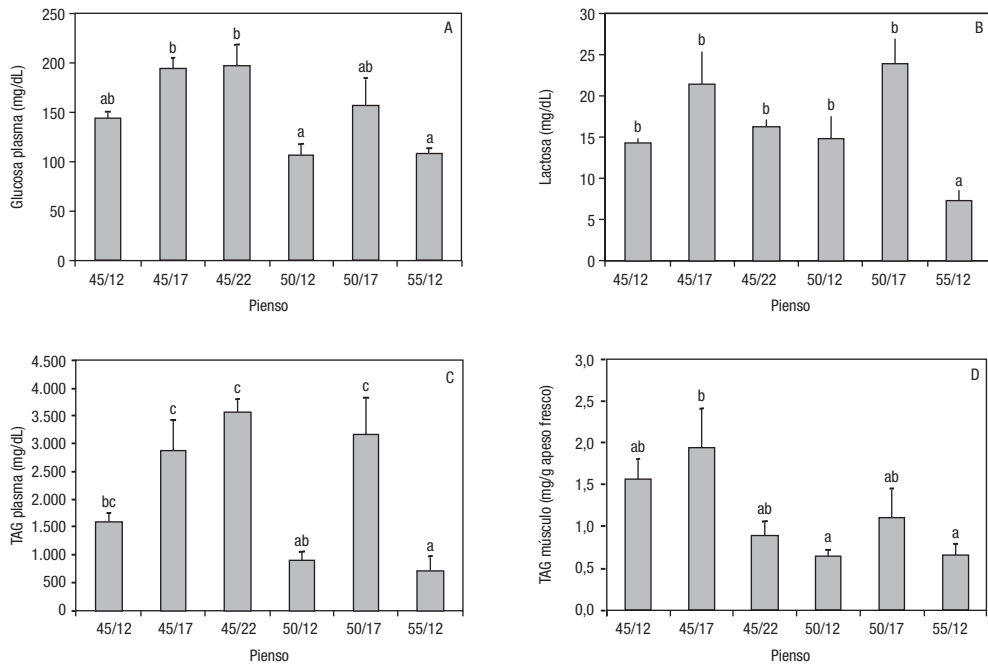
Resultados y Discusión

Los piensos fueron bien aceptados, no registrándose mortalidad a lo largo del experimento. El peso final de los peces no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 1). El valor de SGR presentó medias significativamente menores con el pienso 45/22 que con 45/2, 50/17 y 55/12. El efecto del lípido dietario fue significativo en este parámetro, maximizándose con porcentajes moderados (12 y 17%), pero disminuyendo con altos porcentajes de lípido dietario (22%) (Tabla 1). Los piensos influyeron significativamente en el contenido plasmático de glucosa, lactato y TAG (Figura 1). Los valores de glucosa no parecen comprometer el crecimiento de esta especie, aunque su alta concentración en algunos tratamientos podría estar relacionada con una intensificación de la gluconeogénesis o la glucógenolisis inducida, a su vez, por la elevada concentración plasmática de cortisol encontrada en los peces que ingirieron piensos con menos proteína (45%) (datos no mostrados). Con respecto al lactato, los lenguados que ingirieron el pienso 55/12 mostraron niveles significativamente inferiores que los de individuos alimentados con los otros piensos (Figura 1B). Este hecho probablemente se deba a que el exceso de proteína dietaria determinó que los animales utilizaran preferentemente los aminoácidos como fuente de energía. El contenido medio de TAG en plasma fue superior en los peces alimentados con piensos de mayor contenido graso, aunque solo se encontraron diferencias significativas para los piensos con un 45% de proteína (Figura 1C). El contenido de TAG musculares no se vio afectado por el nivel de lípidos del pienso si se comparan considerando el mismo porcentaje de proteína, aunque en el tratamiento 45/22 se encontró un valor medio inferior al de los peces alimentados con los piensos de menor contenido lipídico (45/12 y 45/17) (Figura 1D). En este

Tabla 1. *Parámetros de crecimiento obtenidos con los piensos experimentales*

	Piensos experimentales (relación proteína-lípido en porcentaje)						Efecto Proteína <i>P</i>	Efecto Lípido <i>p</i>
	45/12	45/17	45/22	50/12	50/17	55/12		
PF _{final} ¹	53,8 ± 9,4	52,1 ± 9,6	48,5 ± 8,4	51,5 ± 8,9	54,7 ± 11,9	53,2 ± 10,1	ns	ns
SGR ³	1,2 ± 0,2 ^b	1,1 ± 0,2 ^{ab}	1,0 ± 0,3 ^a	1,1 ± 0,2 ^{ab}	1,2 ± 0,3 ^b	1,2 ± 0,2 ^b	**	**

Los valores son la media ± sd (n = 20-40). En cada fila, los valores con distinto superíndice muestran diferencias significativas (**: p < 0,01; ns: no significativo). 1 PF_{final}: peso fresco final (g). 2 SGR: (LN PF_{final} - LN PF_{inicial}) × 100 / días

Figura 1. *Metabolitos plasmáticos (A-C) y tisulares (D) en ejemplares de S. senegalensis alimentados con los piensos experimentales (valor medio ± SEM, n = 4). Los superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0,05)*

caso, se ha descrito que en lubina y rodaballo el exceso de lípidos dietarios puede ser usado como fuente de energía y no llegar a depositarse en los tejidos del animal. El contenido en aminoácidos del músculo aumentó significativamente conforme lo hacía el porcentaje de lípidos en el pienso hasta el 17% (datos no mostrados). Los metabolitos hepáticos no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados (datos no mostrados).

Agradecimientos

Ana Rodiles agradece al IFAPA (Junta de Andalucía) la concesión de la beca «Tecnología en el cultivo de nuevas especies de peces» y a Sílvia Martínez Llorens por la provisión de materias primas para la elaboración de los piensos experimentales. La investigación ha sido financiada por los proyectos RTA-2007-00026-C02-01 y 02 del INIA y los fondos FEDER.

Efecto de los niveles de n-3 HUFA y relación DHA/EPA en la dieta sobre crecimiento y supervivencia larvaria en dentón *Dentex dentex*

E. Abellán, M. Arizcun y A. García-Alcázar

Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Murcia. Carretera de la Azohía s/n.
30860 Puerto de Mazarrón. Murcia. España. Email: emilia.abellan@mu.ieo.es

Abstract

The effect of different levels of n-3 HUFA and DHA/EPA ratios in diet on growth and survival in *Dentex dentex* larvae was investigated. From day 30 to 44 dph, the larvae were fed with Artemia enriched with five different experimental emulsions: three with different n-3 HUFA levels (0, 30 and 50%) and three with different DHA/EPA ratio (0.6, 1.7 and 4). The experiments were carried out in 1 m³ tanks for 2 weeks. The best larval growth and survival results were obtained when we used the emulsion 30/1.7.

Justificación

Los peces, para su normal crecimiento y desarrollo, necesitan tres clases de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (HUFA): docosahexanoico (DHA, 22:6-n3), eicosapentanoico (EPA, 20:5-n3) y araquidónico (AA, 20:4n-6) (Sargent *et al.*, 1999). La Artemia que se comercializa es de baja calidad nutritiva, pobre en EPA y DHA especialmente, por lo que es necesario enriquecer las presas con emulsiones de aceites marinos (Sorgeloos *et al.*, 2001). Se considera necesaria la mejora de la calidad nutritiva de las presas vivas por diferentes métodos de enriquecimiento y la determinación de las necesidades de estos ácidos y de la relación óptima de DHA/EPA. Con el fin de contribuir a un mejor conocimiento de las necesidades nutritivas del dentón, en este estudio se investigó la influencia de los niveles de ácidos grasos y relación DHA/EPA sobre supervivencia y crecimiento larvario.

Material y Métodos

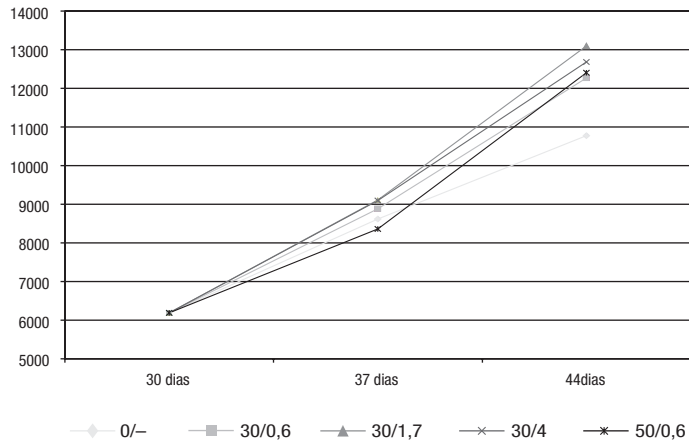
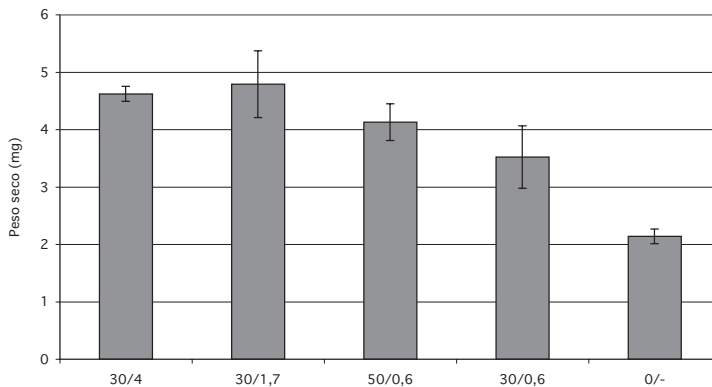
Las larvas se alimentaron con metanauplios de Artemia enriquecidos con diferentes tipos de emulsiones experimentales recomendadas por el ICES y suministradas por el A.R.C. (Artemia Reference Center) con distintos niveles de n-3 HUFA y diferentes relaciones DHA/EPA (0.6, 1.7 y 4). Se utilizaron 5 emulsiones (0/-; 30/0.6; 50/0.6; 30/1.7; 30/4): tres con diferentes concentraciones de n-3 HUFA con respecto al total de ácidos grasos (0, 30 y 50%) y con una relación constante DHA/EPA (0.6) y tres que contenían una concentración constante de n-3 HUFA (30%) y diferentes relaciones DHA/EPA (0.6, 1.7 y 4). Además el enriquecedor 0/- se utilizó como control.

Se inició el cultivo partiendo de 40 larvas/l en tanques de 1 m³ y hasta los 30 días las larvas se alimentaron con rotífero. A partir de esta edad, se les suministró Artemia EG enriquecida (5 Artemias/ml en dos tomas diarias) con las 5 emulsiones obtenidas. Los ensayos se hicieron por triplicado en tanques de 1 m³ en circuito abierto. La temperatura durante el periodo de alimentación con Artemia varió entre 17.5 y 20°C. Se controló talla y peso seco al principio, mitad y final del experimento. Se registró supervivencia final de las larvas y composición bioquímica de Artemia y larvas.

Resultados y Discusión

Con respecto al crecimiento en talla (Fig. 1), a los 37 días de edad los mejores resultados corresponden a las larvas alimentadas con Artemia enriquecida con la emulsión 30/1.7. Estos resultados son significativamente diferentes ($p < 0.05$) a los encontrados en los tratamientos 0/- y 50/0.6 y similares a los del 30/4. A los 44 días, prácticamente se mantiene el mismo comportamiento y el mejor resultado se consigue con el tratamiento 30/1.7, siendo la talla final significativamente superior ($p < 0.05$) a la obtenida con el resto de los tratamientos.

En cuanto al peso seco (Fig. 2), los mejores datos de crecimiento final también corresponden a las larvas alimentadas con Artemia enriquecida con la emulsión 30/1.7. Las mayores supervivencias finales se consiguen con el tratamiento 30/1.7, aunque estos resultados son sólo significativamente diferentes a los peores obtenidos con la emulsión 0/-. El perfil de ácidos grasos, tanto en Artemia como en larvas, refleja la composición en ácidos grasos de las emulsiones enriquecedoras.

Figura 1. Evolución de la talla de las larvas en los diferentes tratamientos**Figura 3.** Crecimiento expresado como peso seco final (media \pm SD) en larvas sometidas a diferentes tratamientos

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto ACU03-009-C4-1 del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

- Sargent, J., L. McEvoy, A. Estevez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson and D. Tocher. 1999. K., N. El-Fiky, G. Köck, M. Frigg, and W. Wisser. 1990. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179: 217-229.
- Sorgeloos, P., P. Dhert and P. Candrea. 2001. Use of brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 200: 147-149

Influencia de la fuente de lípido de la dieta sobre la composición de diferentes tejidos del sargo picudo (*Diplodus puntazo*)

P. F. Almada-Pagán¹, V. Seco-Rovira¹, M. D. Hernández², P. Mendiola¹ y J. de Costa¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. almada@um.es

² IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia

Abstract

Sharpsnout seabream from three experimental groups each of them fed an isoenergetic and isonitrogenous diet with a different lipid source (fish, linseed or soybean) were sacrificed and samples from muscle, gills and brain taken to obtain the fatty acids profiles. The fish muscle and gills clearly reflected the diet composition in a typically marine fish pattern. In sharpsnout seabream fed the fish oil diet, muscle and gills had a higher proportion of n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA), especially eicosapentaenoic (20:5n-3, EPA) and docosahexaenoic (22:6n-3, DHA) acids whereas the percentages of 18 carbons polyunsaturated fatty acids (C18 PUFA) linolenic (18:3n-3) and linoleic (18:2n-6) acids were lower to those from fish fed with the vegetable oils diets. However, the fish brain showed a different pattern: the n-3 HUFA proportions, particularly the DHA percentage, remained constant among the three experimental groups and the C₁₈ PUFA were less affected than in the other tissues, showing a fatty acid profile more independent from the diet composition.

Justificación

La modificación de la dieta de los peces de cultivo desde un aceite con un perfil de ácidos grasos marino, rico en ácidos grasos multiinsaturados de cadena larga de la serie n-3 (HUFA n-3), a uno vegetal, pobre en HUFA n-3 y rico en ácidos grasos poliinsaturados de 18 carbonos (PUFA C₁₈), puede tener importantes repercusiones sobre numerosos procesos metabólicos en los peces, lo cual puede afectar no solo a la calidad de la porción comestible de los animales sino también a su bienestar. En mamíferos se sabe que la composición de ácidos grasos de la dieta afecta a procesos tales como la lipogénesis, la deposición y acumulación de lípidos, el transporte de lípidos por las lipoproteínas y la incorporación de ácidos grasos en los tejidos (Kjaer *et al.*, 2008). En peces todo apunta a que estos mecanismos funcionarían de forma similar que en mamíferos (Richard *et al.*, 2006) pero se hace necesario realizar estudios que garanticen el uso adecuado de los aceites de origen vegetal.

El objetivo fundamental de este trabajo fue analizar el impacto de la sustitución total del aceite de pescado por aceites vegetales (linaza y soja) durante un tiempo prolongado (268 días) sobre el perfil lipídico de diferentes tejidos del sargo picudo, una especie de interés para la acuicultura mediterránea.

Material y Métodos

Un grupo de sargos picudos, de 14,3 g peso inicial, fueron distribuidos en nueve tanques cilindro-cónicos de 360 l de capacidad a razón de 30 peces por tanque y tres tanques por dieta experimental. Estos tanques formaban parte de un circuito cerrado de agua marina (salinidad: 37g l⁻¹; NO₂⁻ < 0,1mg l⁻¹; NO₃⁻ < 0,1 mg l⁻¹; NH₃ < 0,5mg l⁻¹; pH: 7,7) equipado con filtración biológica y termostato para mantener una temperatura constante de 24,6±1,1 °C. Los peces fueron mantenidos bajo fotoperiodo natural (37°50'N, 0°46'W) y alimentados a saciedad tres veces al día, los siete días de la semana. Se diseñaron tres dietas isoenergéticas e isonitrogenadas con un porcentaje de grasa de alrededor del 20% que solo diferían entre sí en el origen del aceite utilizado (aceite de hígado de bacalao: P; aceite de linaza: L y aceite de soja: S).

El periodo de alimentación se prolongó durante 268 días (desde Junio a Febrero). Transcurrido ese tiempo, 12 sargos de peso medio igual a 201,9±28,9 g (media±SD) fueron sacrificados y tomadas muestras de músculo, branquias y cerebro; procediendo a la extracción y transmetilación de la grasa total así como a la separación e identificación de los distintos ácidos grasos (mediante cromatografía de gases).

Resultados y Discusión

El músculo y las branquias del sargo picudo reflejaron el perfil lipídico de las dietas experimentales, mostrando variaciones paralelas a las de la composición de los distintos aceites utilizados. El músculo de los sargos picudos alimentados con la dieta P presentó una mayor proporción de ácidos grasos multiinsaturados (HUFA), especialmente de ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) y ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA) y más baja de ácido linolénico (18:3n-3, LNA) y ácido linoleico (18:2n-6, LA) que el de los

Tabla 1. Perfil de los principales ácidos grasos de músculo, branquias y cerebro de sargos picudos alimentados con las tres dietas experimentales (Pescado: P, Soja: S y L: Linaza)

	Músculo			Branquias			Cerebro		
	P	S	L	P	S	L	P	S	L
18:2n-6	6,0±2,9 ^a	34,2±1,2 ^c	14,8±0,3 ^b	3,9±3,7 ^a	30,5±1,3 ^c	13,7±0,9 ^b	4,0±1,5 ^a	11,8±4,3 ^b	5,0±0,9 ^a
18:3n-3	1,0±0,9 ^a	4,1±0,1 ^b	21,3±0,6 ^c	0,5±0,7 ^a	3,6±0,3 ^b	21,5±3,0 ^c	1,1±0,6 ^a	1,5±0,6 ^a	6,1±0,9 ^b
C20:5n-3	6,6±0,7 ^c	2,3±0,3 ^a	4,1±0,2 ^b	6,8±1,4 ^b	2,3±0,2 ^a	3,7±0,6 ^a	6,0±1,4 ^b	3,1±0,2 ^a	4,0±0,3 ^a
C22:6n-3	30,4±6,2 ^b	8,9±1,7 ^a	10,4±1,3 ^a	28,5±3,0 ^b	9,4±1,1 ^a	10,8±2,3 ^a	23,5±3,0	25,3±3,0	25,5±4,0

* Los valores están expresados como el porcentaje medio±desviación estándar de cada ácido graso sobre el total de los ácidos grasos analizados (en la tabla solo se representan cuatro de esos ácidos grasos).

*1 Los diferentes superíndices representan los grupos entre los que se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$).

sargos picudos alimentados con las dietas con aceites vegetales (Tabla 1). Se obtuvo un porcentaje significativamente mayor de LA en el músculo de peces alimentados con la dieta L y especialmente, en el de aquéllos que consumieron la dieta S. Con respecto al porcentaje de LNA, también se obtuvieron proporciones significativamente más altas en músculos de peces alimentados con las dietas con aceites vegetales, aunque en este caso, las diferencias más altas fueron para los sargos picudos alimentados con la dieta L. Las branquias de sargos picudos alimentados con dietas con aceites vegetales, de modo muy similar a lo observado en músculo, sufrieron un aumento de los porcentajes de los PUFA C₁₈ y un descenso de los HUFA con respecto a los animales alimentados con la dieta P. Los niveles de LA fueron especialmente elevados en los sargos alimentados con la dieta S y los de LNA en aquéllos que ingirieron la dieta L.

Este comportamiento apoya los trabajos realizados con el sargo picudo que ponen de manifiesto su incapacidad para la desaturación/elongación del LNA y el LA hacia los correspondientes HUFA requiriendo que estos últimos le sean incorporados a través de la dieta (Almáida-Pagán *et al.*, 2007).

En cuanto al cerebro, los resultados fueron sustancialmente distintos. Si bien hubo diferencias significativas entre los tres grupos experimentales (P, S y L), el cerebro se mostró menos susceptible a la composición de la dieta, apreciándose una fuerte tendencia a conservar los HUFA en este tejido, particularmente el DHA, para el cual no se obtuvieron diferencias significativas en ninguno de los tres grupos. A su vez, los porcentajes correspondientes a los PUFA C18 (LNA y LA), si bien manifestaron un aumento en los peces alimentados con las dietas con aceites vegetales, éste fue menor que el observado en músculo y branquias.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con fondos del CICYT (AGL2004-08137-CO4-02/ACU a JA Madrid) y del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (AP2002-1368 a PF Almáida-Pagán).

Bibliografía

- Almáida-Pagán, P.F., M.D. Hernández, B. García García, J.A. Madrid, J. de Costa y P. Mendiola. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils on n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid desaturation and elongation in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) hepatocytes and enterocytes. *Aquaculture*. 272: 589–598.
- Kjaer, M.A., A. Vegusdal, T. Gjøen, A.C. Rustan, M. Todorčević y B. Ruyter. 2008. Effect of rapeseed oil and dietary n-3 fatty acids on triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1781: 112–122.
- Richard, N., G. Mourente, S. Kaushik y G. Corraze. 2006. Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*. 261: 1077–1087.

Mejora de la viabilidad de las paralarvas de pulpo común (*Octopus vulgaris*) mediante modelización y optimización de la dieta empleada

E. Almansa¹, A. Skalli¹, A. V. Sykes², J. A. Hormiga³ y N. V. Torres³

¹ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias, Avd. Tres de Mayo, nº 73, Apdo. 1373. 38005 Sta. Cruz de Tenerife. eduardo.almansa@ca.ieo.es

² CCMar - Universidade do Algarve. Campus de Gambelas 8005-139, Faro, Portugal

³ Grupo de Tecnología Bioquímica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de La Laguna. 38206 San Cristóbal de La Laguna. Tenerife

Abstract

Common octopus (*Octopus vulgaris*) is one of the main candidates to aquaculture diversification, but the culture of this species presents significant difficulties, mainly related to an inadequate first stages diet. With the aim of analyse and predict optimal diet composition that ensures maximal survival, we have developed a model which integrates data from the different growth phases of *Octopus vulgaris*, its and other cephalopod first stage body composition and the nutritional composition of the supplied diet in captivity.

Justificación

El Pulpo común (*Octopus vulgaris*) es una especie que se adapta bien a las condiciones de cultivo y que presenta rápido crecimiento, altos índices de fecundidad y una elevada demanda en el mercado. Sin embargo, la supervivencia de las paralarvas, durante las primeras semanas de vida continúa representando el principal escollo para su cultivo a nivel comercial. Villanueva y Norman 2008 han propuesto que las carencias nutricionales pueden ser una de las principales razones que explican la alta mortalidad observada. El objetivo de este trabajo es profundizar en los requerimientos nutricionales de las paralarvas de pulpo común que permitan la mejora de la tasa de viabilidad de las paralarvas mediante el desarrollo de un modelo fenomenológico basado en las variaciones de los principales nutrientes (Proteína total, Lípido polar y Lípido neutro).

Material y Métodos

Con el fin de estudiar el comportamiento dinámico del sistema, se planteó un modelo GMA (Voit *et al.*, 2000) que describe la transformación entre las variables seleccionadas (Proteína total, Lípido polar y Lípido neutro, que representan el 90% de la masa en todas las etapas de desarrollo) y los intercambios con el medio de cultivo. Este modelo depende de una serie de parámetros que se obtienen ajustando las soluciones numéricas a las series de datos experimentales (Vera *et al.*, 2006; Hormiga *et al.*, 2008), para lo que usamos un algoritmo genético (Holland, 1975). Por otra parte, la alta mortalidad de las paralarvas en pulpo impide la obtención de datos útiles, así que usamos datos de otra especie de cultivo, como es el choco (*Sepia officinalis*) para calibrar el modelo. Los flujos desde el medio de cultivo al organismo se consideran cero en la fase huevo, mientras que en la fase de paralarvas se corresponden con el intercambio con el medio, incluyendo la composición de la dieta suministrada. El modelo está basado en datos de pulpo (Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Quintana *et al.*, 2005) y choco (Sykes *et al.*, 2009) en distintos estadios de desarrollo (huevos, paralarva y juveniles), de las diferentes dietas suministradas a los reproductores (pota, cangrejo, sardina), así como a las paralarvas (Artemia y zoea de centolla).

Resultados y Discusión

La validación del modelo se llevó a cabo comparando las predicciones del mismo (composición de proteína y lípido del pulpo, desde el huevo hasta la etapa de juvenil, con diferentes dietas para los reproductores y paralarvas) con los datos de composición de un juvenil real (Navarro y Villanueva, 2003). Se observó que la mejor concordancia entre los resultados del modelo y los del sistema real (Villanueva y Norman 2008; Quintana *et al.*, 2005) se dieron cuando las paralarvas fueron alimentadas con zoea de centolla y los reproductores con cangrejo.

A partir del modelo así definido, el siguiente paso consistió en determinar la composición óptima de la dieta suministrada a las paralarvas para que la composición del juvenil obtenido y el real coincidan (alimentando con cangrejo a los reproductores). Los resultados (Tabla 1) muestran el grado de desviación de dos presas habituales (Artemia y zoea de centolla) respecto a la dieta óptima propuesta por el modelo. Estos indican

Tabla 1. Desviación de la composición de la artemia y zoea de centolla respecto a la dieta óptima propuesta por el modelo

	Artemia	Zoea de centolla
Proteína Total	-7,60	-19,0
Lípido polar	-42,30	-8,0
Lípido Neutro	23,90	12,70

que la centolla se haya más próxima a la dieta óptima que la artemia (excepto en el caso de la proteína), lo que implicaría una mayor supervivencia larvaria, tal como se ha observado previamente (Villanueva y Norman, 2008).

En conclusión, este trabajo demuestra en primer lugar que la aproximación sistémica al estudio de fenómenos complejos y multifactoriales como es que nos ocupa es útil para afrontar de manera racional problemas que se resisten a una aproximación meramente reduccionista. Los resultados de este trabajo sugieren además unas proporciones de proteína y lípido sobre las que diseñar una dieta inerte o seleccionar una presa adecuada que mejore la supervivencia de las paralarvas, confirmando también la influencia de la dieta de los reproductores.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto del MICINN, Ref BIO2008-04500-C02-C2 así como de una ayuda a la investigación otorgada por el IEO.

Bibliografía

- Holland, J. 1975. *Adaptation in Natural and Artificial Systems*. University of Michigan Press, Ann Arbor, University of Michigan Press, p. 211.
- Hormiga, J.A., J. Vera, I. Frías y N.V. Torres Darias. 2008. Growth and ligninolytic system production dynamics of the *Phanerochaete chrysosporium* fungus: A modelling and optimization approach. *Journal of Biotechnology*. 137(1):50-58.
- Vera, J., J. Bachmann, A.C. Pfeifer, J.A. Hormiga, N.V. Torres Darias, U. Klingmüller y O. Wolkenhauer. 2006. *Understanding and Exploiting Systems Biology*. CajaMurcia (Eds.)
- Voit, E.O. 2000. *Computational analysis of biochemical systems. A practical guide for biochemists and molecular biologists*. Cambridge University Press; Cambridge. UK.
- Navarro, J.C. y R. Villanueva. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219: 613-631.
- Navarro, J.C. y R. Villanueva. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183: 161-177.
- Quintana, D., L. Márquez, E. Almansa, E. Rodríguez y A. Lorenzo. 2005. Efecto de la dieta suministrada a reproductores de pulpo común (*Octopus vulgaris*) sobre la calidad de puesta y la composición bioquímica de huevos y paralarvas. X Congreso nacional de Acuicultura. Gandía (Spain). October .
- Sykes, A.V., E. Almansa, A. Lorenzo y J.P. Andrade. 2009. Lipid characterization of both wild and culture eggs of cuttlefish (*Sepia officinalis* L.) throughout the embryonic development. *Aquaculture Nutrition*. 15: 38-53.
- Villanueva, R. y M.D. Norman. 2008. Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography Marine Biology: An Annual Review*. 46: 105-202.

Efecto de dietas con diferente contenido en proteína y lípidos en el preengorde de liseta (*Chelon labrosus*)

O. Amezcua¹, I. Ruiz-Jarabo², J. M. Mancera² y J. M. Naranjo¹

¹ Centro IFAPA El Toruño, 11500 El Pto. Sta. María, Cádiz. E-mail: oscar.amezcua@uca.es

² Dpto. Biología, Facultad CC Mar y Ambientales, Univ. Cádiz, Pto. Real 11510, Cádiz

Abstract

A four month experiment was carried out to evaluate the effects of different diets on growth, body composition and physiology of fingerling thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). Weight gain and SGR were significantly affected by the dietary source. However, there are other parameters like the condition factor K or the PER that don't show differences among the experimental groups. The lower growth observed in fish fed a vegetable diet may be related to their natural food habits at this ages. It changes from carnivorous to an herbivorous and detritivorous as reached adulthood. Further similar studies at other stages are necessary to see if this behavior is maintained throughout its life.

Justificación

La parte de la harina y el aceite de pescado destinada en 2006 a la industria acuícola absorbió el 56,0% y el 87%, respectivamente, de los suministros mundiales (FAO, 2008), y la proyección para 2010 estima un incremento de hasta el 79% de la producción mundial (Tacon, 2004). Las fuentes de origen vegetal parecen ser la alternativa más viable, debido a su disponibilidad y coste asumible. Una alternativa, dentro de este marco de sostenibilidad, es la acuicultura de especies herbívoras u omnívoras en los que estos porcentajes se pueden incrementar hasta sustituciones totales utilizando también algas como fuente vegetal (Waseff *et al.*, 2001). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de distintas fuentes de alimentación en el crecimiento de juveniles de una especie con hábitos alimenticios muy variados como es la liseta (*Chelon labrosus*).

Material y Métodos

El experimento se realizó en las instalaciones del IFAPA El Toruño con juveniles de liseta (187 DDE) procedentes de puestas obtenidas del stock de reproductores del Centro. El peso y longitud furcal media inicial de los ejemplares fue de 15,4±2,1 g y 10,2±0,4 cm Respectivamente. Se estabularon en tanques de PRVF, de 125 L, y se alimentaron con distintos tipos de dietas (Tabla 1) (seis replicas con 30 animales por cada condición experimental) durante 120 días (octubre 2008-enero2009). Se trabajó en circuito abierto (180 L h⁻¹), salinidad media de 33,2±2,9 g L⁻¹ y temperatura de 19,2±1,9°C. Los animales fueron alimentados diariamente a saciedad con distintas dietas comerciales (aprox. 3-5% en peso). Se realizaron muestreos cada 15 días en los que se determinaron variables biométricas (peso, longitud total, furcal y estándar) para calcular diversos parámetros de crecimiento (K, factor de condición; SGR, tasa específica de crecimiento y PER, eficiencia proteica). Al final de la experiencia, se tomaron muestras biológicas para la determinación de diversos parámetros fisiológicos en plasma (glucosa, triglicéridos, lactato, y proteínas totales) e hígado (glucógeno, glucosa, triglicéridos y aminoácidos totales). Los grupos de datos fueron comparados mediante un ANOVA de una vía para poblaciones normales y varianzas homogéneas con test a posteriori HSD Tuckey para comparar entre los distintos grupos.

Resultados y Discusión

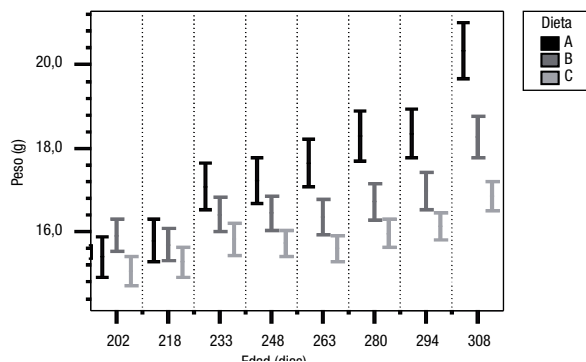
El análisis de las variables biométricas muestra un crecimiento para las tres dietas durante el periodo de estudio. Las diferencias entre los tres grupos experimentales se ven reflejadas en una mayor SGR en los ejemplares alimentados con dieta A, aunque no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros analizados (Tabla 1).

La evolución del peso mostró diferencias significativas a partir del 5º muestreo, es decir a los 76 días de experimentación y estas diferencias incrementaron progresivamente (Figura 1). En *C. labrosus* existe una modificación de hábitos alimentarios, de modo que en fase juvenil consumen presas de origen animal que cambian hacia presas vegetales y detritus en peces de mayor edad (Drake *et al.*, 1984). El mejor crecimiento encontrado en animales alimentados con dieta A (alto contenido en pescado) puede significar una respuesta a hábitos nutritivos típicos de esta fase del ciclo de vida, en los que a partir de una determinada edad utilizan

Tabla 1. Composición básica de las dietas comerciales y parámetros biométricos (media+SD) en juveniles de *C. labrosus* alimentados con esas dietas. Diferentes índices indican grupos significativamente diferentes para cada parámetro ($P < 0,05$)

Dieta	Constituyentes analíticos		Composición materias primas	K	SGR (%/día)	PER
	Proteínas	Grasas	Harinas y aceites pescado			
A	50%	20%	75%	1,13±0,04 ^a	0,228±0,052 ^a	16,63±8,85 ^a
B	40%	8%	25%	1,12±0,04 ^a	0,111±0,030 ^b	8,59±4,40 ^a
C	32%	9%	0%	1,09±0,03 ^a	0,110±0,025 ^b	9,62±5,83 ^a

Figura 1. Evolución del crecimiento para cada dieta



como base de su dieta otras presas, coincidiendo con resultados otras especies de mugílidos en los que la dieta óptima debe ir cambiando con la edad del animal (Brusle, 1981).

El glucógeno hepático y la glucosa plasmática mostraron niveles significativamente superiores en individuos alimentados con dieta B. De la dieta de origen vegetal (C) se obtuvieron los mayores valores de triglicéridos (TGA) hepáticos. El resto de parámetros plasmáticos y hepáticos no mostraron diferencias que apunten a una relación directa con la alimentación. Sería interesante realizar la continuación de este experimento en una etapa posterior para confirmar nuestros resultados, y en los que una dieta vegetal no implicara una disminución del crecimiento.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto TRANSFORMA (TRP-2008-1) «Proyecto de innovación y transferencia tecnológica para el desarrollo de la acuicultura de aguas salobre en las marismas del bajo Guadalquivir» concedido a J.M. Naranjo.

Bibliografía

- Drake, P., Arias, A.M., Gallego, L. 1984. Biología de los Mugílidos (Osteichthyes, Mugilidae) en los esteros de las salinas de San Fernando (Cádiz). III. Hábitos alimentarios y su relación con la morfometría del aparato digestivo. *Investigación Pesquera* 48(2): 337-367.
- FAO 2009. Estado mundial de la Pesca y la Acuicultura 2008. FAO documentaries. Roma:218 pp.
- Oren, O. H. e. 1981. *Aquaculture of Grey Mullet*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Tacon, A.G.J. 2004. Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources. Culture and Development*. 1,3-14.
- Wassef, E. A., El Masry M H Mikhail, F R 2001. «Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings by feeding algal meal-based diets.» *Aquaculture Research* 32(s1): 315-322.

Incidencia del síndrome de muerte en la muda en larvas de centollo, *Maja brachydactyla*, alimentadas con dietas artificiales

M. Andrés¹, A. Estévez¹ y G. Rotllant¹

¹ IRTA. Ctra. Poble Nou, Km 5.5, 43540, Sant Carles de la Ràpita (Tarragona). e-mail: mireia.andres@irta.cat

Abstract

Recent studies on larval rearing of the spider crab, *M. brachydactyla* have revealed cases of molt death syndrome (MDS) associated with the introduction of artificial microbound diets (AMD). In order to assess the MDS prevalence, ten different food treatments, including 8 AMD formulated with diverse lecithin (lec): cholesterol (col) ratios, and both, an *Artemia* fed and starved controls, were tested during individual culture of the second larval stage (zoea II) of the spider crab. Artificial diets were formulated as follows: BASE4LEC= 4lec: 1col; BASE3COL= 2lec: 3col; HUEVO2LEC= 2lec: 3col with egg yolk; BASE= 2lec: 1col; BASE6LEC= 6lec: 1col; BASE5COL= 2lec: 5col; BASBASEECD= BASE + ecdysone; BASE0LEC= 0lec: 1col. The diet containing the highest amount of lecithin (BASE4LEC) achieved the highest survival rate to M (29.2%) whereas the diet with no lecithin (BASE0LEC) the lowest (1.4%) among all the AMD tested. In general, a high MDS prevalence (>40%) was observed in all AMD, despite the differences in lec/col ratios used. Results confirm that the lack of lecithin produces serious molt problems in *M. brachydactyla* larvae; however, more research is needed to reduce MDS prevalence during AMD feeding.

Justificación

Ensayos recientes de cultivo individual en larvas de centollo, *Maja brachydactyla*, relacionadas con el estudio de requerimientos nutricionales a través de la introducción de microdietas artificiales, han sacado a la luz problemas de síndrome de muerte en la muda (molt death syndrome, MDS) en el paso del segundo estadio larvario (zoea II, ZII) al tercero (megalopa, M) de larvas alimentadas con dietas inertes. El MDS fue definido por primera vez como tal por Conklin *et al.* (1980) como el fenómeno por el cual los juveniles de bogavante, *Homarus gammarus*, fracasaban en el intento de lograr separarse de su anterior exoesqueleto en el momento de la muda, de manera que parte del exoesqueleto viejo permanecía adherido al nuevo, dificultando así el movimiento y alimentación de los individuos afectados, llevándolos finalmente a la muerte. Dicho síndrome, fue asociado a déficits nutricionales en las dietas de los juveniles, con especial atención a la falta de lecitina, fuente de fosfolípidos esenciales. Posteriormente, el MDS ha sido documentado en otras especies de decápodos (*Scylla serrata* en Hamasaki, Suprayudi y Takeuchi, 2002; *Portunus pelagicus* en Romano y Zeng, 2006).

Material y Métodos

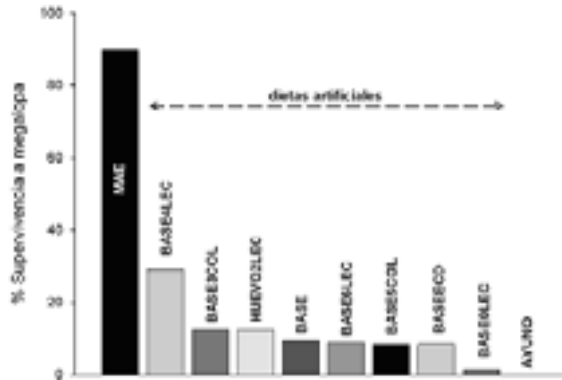
Larvas recién eclosionadas de *M. brachydactyla* se cultivaron de forma comunitaria a 18°C y 36‰ (según Andrés *et al.*, 2008) hasta día 5±1 después de la eclosión (día de muda a ZII). Las ZII recién mudadas, fueron transferidas a las bandejas de cultivo individual (una larva por vaso, 200 mL, 18°C y 36‰) donde se mantuvieron en condiciones experimentales hasta su muda a M o su muerte. Se formuló y ofreció a las larvas ocho tipos de microdietas artificiales, con distintas composiciones (ratios) de colesterol (col) y lecitina (lec) (BASE4LEC= 4lec: 1col; BASE3COL= 2lec: 3col; HUEVO2LEC= 2lec: 3col con huevo; BASE= 2lec: 1col; BASE6LEC= 6lec: 1col; BASE5COL= 2lec: 5col; BASBASEECD= BASE + ecdisona; BASE0LEC= 0lec: 1col; unidades en % sobre peso seco de dieta, i.e. 4lec: 1col= 4% lec y 1%col) en distintos experimentos en los que cada día se observaba la supervivencia e incidencia de MDS. En todos los experimentos se introdujo un tratamiento control alimentado con *Artemia* (MAE=metanauplios de *Artemia* sp. enriquecidos) y otro en ayunas. A diario, cada larva era supervisada, el agua de cultivo renovada y nueva alimentación introducida (*ad libitum*). Las larvas afectadas de MDS fueron observadas debajo de la lupa binocular y fotografiadas.

Resultados y Discusión

En todos los experimentos realizados se observó una alta mortalidad asociada a MDS en larvas de *M. brachydactyla* alimentadas con dietas inertes (Fig 1a y b). El MDS afectó en distintos grados a las larvas, que empezaron el proceso de muda pero no fueron capaces de desprenderse por completo de su exoesqueleto viejo. Dicho síndrome, provocó malformaciones comunes en todos los tratamientos (larvas con rasgos morfológicos intermedios entre ZII y M) que dificultaron el movimiento de los individuos, comprometiendo así su alimentación.

En la dieta a base de presa viva (MAE) se obtuvo un 89.6% de supervivencia y una incidencia baja de MDS (Fig 1b). La mejor dieta artificial en términos de supervivencia fue la que contenía mayor cantidad de lecitina

Figura 1. Supervivencia e incidencia de MDS en larvas de *M. brachydactyla* alimentadas con diferentes dietas (ver explicación de las abreviaciones en el texto)



(BASE4LEC= 29.2%) (Fig 1a). En este tratamiento, las larvas que no sobrevivieron murieron en su mayoría por MDS (58%), demostrando que la mayoría de los individuos iniciaron la muda. Ninguna larva mantenida en ayuno sobrevivió a megalopa, aunque se observó un 3.3% de incidencia de MDS (Fig 1b), probablemente debido a la reserva mínima de energías que algunos individuos conservarían desde el periodo de cultivo masivo y que les permitió iniciar la muda, pero no finalizarla con éxito. En la dieta sin lecitina (BASE0LEC) la supervivencia fue mínima (1.4%) y el 55.6% de los individuos murieron sin iniciar la muda. El incremento de colesterol hasta un 3% (BASE3COL) en dietas con baja cantidad de lecitina (BASE) produjo un incremento de la supervivencia respecto a estas (Fig 1a), pero no mayor que el producido por el aumento en la cantidad de lecitina (BASE4LEC).

Los resultados confirman que el déficit de lecitina (fuente de fosfolípidos esenciales) provoca problemas de muda en las larvas de centolla. El futuro debería dirigirse hacia el estudio de la importancia del colesterol por sí mismo o en combinación con la lecitina en la reducción de la incidencia de MDS, con el fin de minimizar las mortalidades asociadas y facilitar la introducción de microdietas en futuras técnicas de cultivo larvario en masa a gran escala.

Bibliografía

- Andrés, M., A. Estévez, K. Anger y G. Rotllant. 2008. Developmental patterns of larval growth in the edible spider crab, *Maja brachydactyla* (Decapoda: Majidae). *J Exp Mar Biol Ecol.* 357: 35-40.
- Conklin, D.E., L.R. D'Abramo, C.E. Bordner y N.A. Baum. 1980. A successful purified diet for the culture of juvenile lobsters: The effect of lecithin. *Aquaculture.* 21:243-249.
- Hamasaki, K., M.A. Suprayudi y T. Takeuchi. 2002. Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Fish Sci.* 68:1226-1232.
- Romano, N. y C. Zeng. 2006. The effects of salinity on the survival, growth and haemolymph osmolality of early juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus*. *Aquaculture.* 260:151-162.

Evaluación de harinas de origen animal como aditivos atrayentes en piensos para juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*)

F. G. Barroso¹, M. Gil¹, V. Sánchez¹, T. F. Martínez¹, A. Rodiles² y F. J. Alarcón¹

¹ Departamento de Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería,

La Cañada de San Urbano, 04120 Almería. E-mail: fbarroso@ual.es

² IFAPA «Agua del Pino». Ctra. Cartaya-Punta Umbría, s/n. 21459. Huelva

Abstract

The aim of this work was to assess on the attractant capacity of four protein ingredients (squid meal, mussel meal, polychaete meal, and fish meal hydrolysate) in Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Four experimental diets were formulated including 10% of each protein ingredient. A control diet without potential attractant was also included. 150 fish were randomly distributed into ten 40-l tanks and tank duplicates were assigned to the experimental diets in a 5 x 5 Latin square design to give ten observations per diet. Fish were feed 2% of their body mass twice a day during 5 weeks. Each experimental period lasted seven days. The feeding behaviour was evaluated following the methodology described by Reig *et al.* (2003). A three-phase behavioural sequence was evaluated: distant orientation (OL), near orientation (OC) and continuation of intake (CI). The feed intake was recorded daily by siphoning and weighting the remaining uneaten pellets. Results showed that feed containing fish meal hydrolysate were significantly more attractant than those including other protein ingredients. Moreover, it was confirmed that feed intake was higher in fish fed on fish meal hydrolysate-supplemented diets.

Justificación

Hoy día, garantizar una óptima ingesta de alimento es necesario para asegurar tanto la producción, como la rentabilidad de las empresas (Reig *et al.*, 2003). La inapetencia natural que muestra el lenguado senegalés, cuando ha sido alimentado en cautividad, ha motivado la búsqueda de sustancias que incrementen el apetito de esta especie. Sin embargo, aunque es un tema de interés general en todas las especies acuicultivadas (Nunes *et al.*, 2006), son escasos los trabajos en la literatura científica que aborden los hábitos alimentarios, atrayentes y estimulantes del apetito en el lenguado senegalés. Los piensos usuales originan un bajo consumo de alimento debido, entre otros, a la baja palatabilidad de los ingredientes incluidos en éstos. En este contexto, el objetivo planteado en este trabajo fue comparar cuatro piensos compuestos por una base común, pero cada uno con un potencial atrayente proteico diferente, y determinar la capacidad de atracción que éstos ejercen sobre el lenguado senegalés.

Material y Métodos

Los ensayos de comportamiento de atracción de alimentos se llevaron a cabo con lenguados de 15 g de peso corporal. Un total de 150 peces se dispusieron en 10 tanques experimentales a razón de 15 peces por tanque. Como sustancias atrayentes se utilizaron cuatro fuentes proteicas de origen animal: harina calamar (Rieber & Son) (HCA), harina de mejillón (elaboración propia) (HME), hidrolizado de pescado (CPSP-90, Sopropêche) (HPE) y harina de poliqueto (elaboración propia) (HPO). Con estos atrayentes se elaboraron cuatro piensos experimentales que incluían una base común de harina y aceite de pescado y, para cada uno de ellos, un 10% de una de las harinas animales. Igualmente se elaboró un pienso control que no incluyó ninguna de estas harinas (CON). Todos los piensos formulados fueron isoenergéticos (15-16 mJ/kg pienso), isoproteicos (54-55%) e isolipídicos (11-12%).

Durante un período de acondicionamiento de 4 semanas, los animales fueron alimentados *ad libitum* con un pienso comercial. A continuación, cada pienso se administró al 2% de la biomasa y por duplicado durante siete días a las 9:00 y 17:00 horas. Después de alimentar se realizó un periodo de observación de conducta de 5 minutos de duración en cada tanque. Al final de cada periodo de observación de 7 días, durante 5 semanas, se rotó el tratamiento entre tanques de manera que todos los tanques fuesen sometidos a todos los tratamientos y obtener 10 puntuaciones semanales por pienso. En todos los casos también se registró el consumo diario de pienso, cuantificando el pienso no ingerido tras su sifonado, para complementar la información obtenida a través del análisis de comportamiento. El experimento de comportamiento se diseñó aplicando la metodología descrita por Reig *et al.* (2003). La secuencia de conducta que se ha utilizado se compone de tres fases: (1) *Orientación lejana*, OL: el lenguado reacciona desplazándose hacia el lugar donde se encuentran las partículas de alimento; (2) *Orientación próxima e iniciación de la ingesta*, OP: cuando llega al origen del estímulo y la engulle de una sola vez o bien ignora la partícula; (3) *Continuación de la ingesta*, CI: si es de su agrado, el pez sigue ingiriendo otras partículas de pienso, si no es de su agrado,

Tabla 1. Comportamiento de *Solea senegalensis* frente a los piensos experimentales (CON pienso control, HCA harina calamar, HME harina de mejillón, HPE hidrolizado de pescado, HPO harina de poliqueto). Cada valor representa la media±SD de la suma de puntuaciones semanales obtenidas para cada pienso en cada secuencia de conducta (OL orientación lejana, OC orientación cercana, y CI continuación de la ingesta) (ANOVA)

	CON	HCA	HME	HPE	HPO	F	p
OL	10,9±2,9 ^a	10,9±3,6 ^a	10,8±3,6 ^a	13,8±3,9 ^b	10,6±2,4 ^a	F(4,95)=3,40	0,0121
OC	11,1±3,1 ^a	11,0±3,6 ^a	11,1±3,5 ^a	13,9±3,9 ^b	10,4±2,4 ^a	F(4,95)=3,45	0,0112
CI	11,0±3,1 ^a	11,0±3,5 ^a	11,1±3,5 ^a	14,0±3,9 ^b	10,3±2,4 ^a	F(4,95)=3,67	0,0080

Tabla 2. Ingesta media diaria (g/g biomasa y día) de los piensos experimentales por parte de *Solea senegalensis*. Cada valor representa la media±SD de la ingesta diaria durante cada semana determinada para cada pienso en cada secuencia de conducta

	CON	HCA	HME	HPE	HPO	F	p
Ingesta	0,022±0,002 ^b	0,020±0,003 ^c	0,020±0,004 ^c	0,024±0,001 ^a	0,022±0,002 ^b	F(4,327)=13,43	0,000

los peces pueden expulsar las partículas ingeridas. Cada comportamiento se puntuó, según su respuesta, con 1 (negativa), 2 (moderada) o 3 (positiva).

Resultados y Discusión

Los resultados de la Tabla 1 indican que, para el lenguado, el pienso con hidrolizado de pescado (HPE) presenta mayor palatabilidad que el resto de piensos formulados ($p < 0,05$), no existiendo diferencias significativas entre estos últimos (HPO, HME y HCA, CON). En la misma tabla se observa como la preferencia por el pienso HPE se refleja en los tres comportamientos analizados (OL, OC y CI).

Al analizar la ingesta de los diferentes piensos por los peces (Tabla 2), se comprueba que el pienso con hidrolizado de pescado (HPE) es significativamente también el más consumido. Sin embargo, a diferencia de lo observado en el análisis del comportamiento, existe un segundo grupo de piensos más apetecidos, estos son el pienso con harina de poliqueto (HPO) y el control (CON). Por último, parece claro que los piensos con harina de calamar (HCA) y harina de mejillón (HME) son menos aceptados que el pienso control.

A partir de estos resultados se puede concluir que el lenguado posee capacidad para discriminar entre diferentes piensos. Por otra parte, esta especie muestra una mayor preferencia por los alimentos que contienen hidrolizado de pescado (HPE) que por piensos que incluyen los otros aditivos proteicos. Este hidrolizado podría convertirse en un componente a añadir en los piensos para estimular el consumo de alimento inerte en esta especie.

Agradecimientos

La investigación ha sido financiada por los proyectos RTA-2007-00026-C02-02 del INIA y los fondos FEDER.

Bibliografía

- Nunes, A.J.P., M.V.C. Sá, F.F. Andriola-Neto y D. Lemos 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 260(1-4): 244-254.
- Reig, L., M. Ginovart y R. Flos 2003. Modification of the feeding behaviour of sole (*Solea solea*) through the addition of a commercial flavour as an alternative to betaine. *Aquat. Living Resour.* 16: 370-379.

Efectos diferenciales de la sustitución conjunta de harinas y aceites de pescado sobre los perfiles tisulares de ácidos grasos de dorada

L. Benedito-Palos¹, J. C. Navarro¹, S. Kaushik² y J. Pérez-Sánchez¹

¹ Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS-CSIC), 12595 Castellón. e-mail: laura@iats.csic.es

² Unidad mixta INRA-IFREMER-Univ. Bordeaux I, 64310 Saint Pée-sur Nivelle, Francia

Abstract

Tissue fatty acid signatures were analyzed in fish grown-out with plant protein-based diets with fish oil or vegetable oils as the most important source of dietary lipids. The composition of neutral (TG) and polar lipids (PL) was monitored in skeletal muscle, liver, perivisceral adipose tissue and brain. The FA composition of TG highly reflected the composition of diet regardless of tissue. By contrast, the PL fraction showed a high robustness and was more dependent on tissue rather than dietary treatment. This was especially relevant in the brain, which is indicative that EFA requirements are met by the maximized fish meal and fish oil replacement in tissues with different signatures in n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids.

Justificación

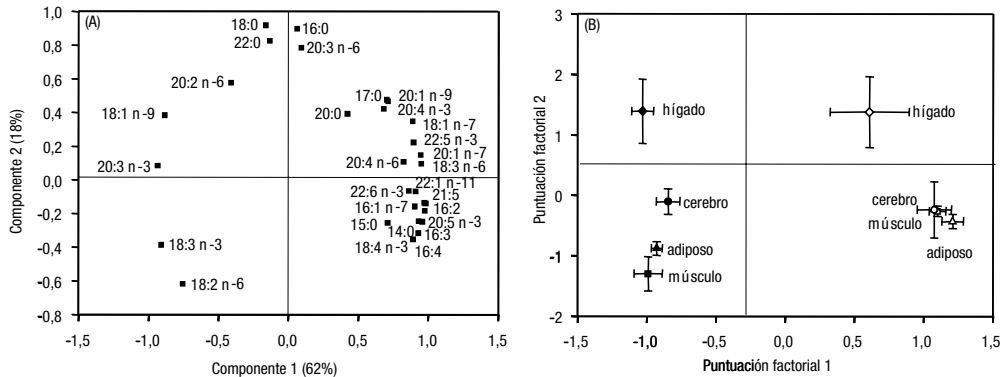
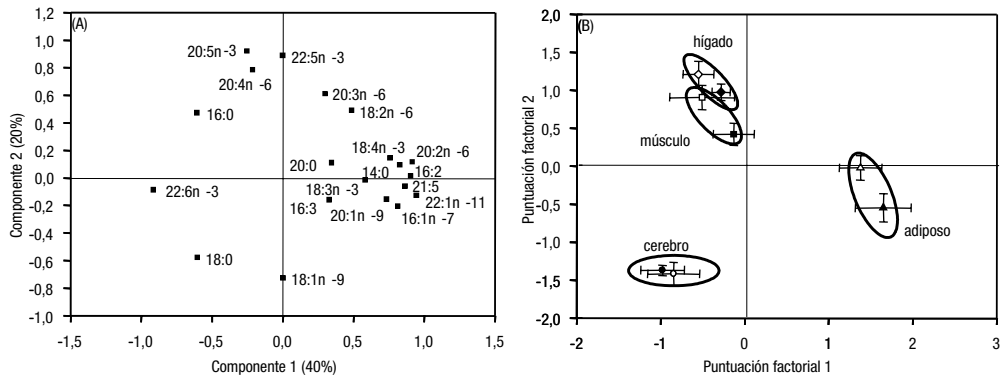
En la actualidad, la piscicultura y la acuicultura en general están haciendo especial hincapié en la mejora de la calidad del producto final mediante el control de la deposición grasa intramuscular y su composición en ácidos grasos (FA). La edad, la estación, el sexo y el estado reproductor modifican el perfil de FA de los peces silvestres. Sin embargo, este fenómeno acaba siendo enmascarado por altos niveles de ingesta en sistemas de producción intensiva, por lo que la dieta es básicamente el factor determinante de la composición en FA del filete de peces cultivados con un cierto grado de adiposidad intramuscular. Es más, la dinámica de los cambios acontecidos en el perfil de FA del filete sigue un modelo de dilución simple que es especialmente evidente en el caso de la dorada (Benedito-Palos *et al.*, 2009). Ello es así porque más del 65% de los lípidos musculares son lípidos de reserva (fracción neutra; triglicéridos, TG), frente a un 5-10% de lípidos polares (fosfolípidos, PL) que incorporan selectivamente FA poli-insaturados omega-3 de cadena larga (n-3 HUFA). Esta incorporación selectiva confiere a la fracción polar una notable robustez una vez cubiertos los requerimientos en ácidos grasos esenciales (EFA). Este ha sido uno de los criterios utilizados para establecer el grado máximo de sustitución conjunta de harinas y aceites de pescado por ingredientes de origen vegetal en piensos de engorde de dorada. No obstante, los requerimientos en EFA varían de un tejido a otro, por lo que el objetivo de este trabajo ha sido determinar en qué medida dietas basadas en fuentes alternativas de materias primas alteran los perfiles en FA de la fracción polar y de reserva de tejidos tan variados como tejido adiposo perivisceral, músculo esquelético, hígado y cerebro.

Material y Métodos

Se emplearon dos dietas basadas en ingredientes vegetales en las que se sustituyó el 75% de las harinas de pescado por harinas vegetales. En la dieta de referencia (dieta PP-FO), el aceite de pescado fue la única fuente lipídica; mientras que en la dieta de sustitución (PP-66VO) el 66% del aceite de pescado fue sustituido por una mezcla de aceites vegetales (colza, linaza y palma). Juveniles de dorada (18 g) fueron distribuidos en 6 tanques de 3000 L a razón de 150 peces por tanque y alimentados a saciedad visual (3 tanques/dieta) durante 14 meses. Al final del engorde, se tomaron muestras de tejidos de 8 animales por tratamiento (cerebro, músculo blanco, hígado y tejido adiposo) que fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas al vacío a -80 °C. La grasa de los tejidos se extrajo por el método de Folch. Los PL y TG se purificaron a partir de los extractos de lípidos por cromatografía de capa fina. Estos extractos se transmitieron según Christie y los ésteres metílicos de los FA se analizaron en un cromatógrafo de gases (Fisons Instruments GC 8000 Series, Italia). Los resultados de los cromatogramas se analizaron mediante análisis multivariante de componentes principales (PCA).

Resultados y Discusión

El PCA mostró que el perfil de FA de los TG es claramente dependiente de la dieta con independencia del tejido considerado, por lo que el primer componente identificó dos grandes grupos correspondientes a los animales alimentados con las dietas PP-FO y PP-66VO (Figura 1). En menor medida, el segundo componente diferenció el hígado del resto de tejidos por su alto contenido en FA saturados, indicativo de una mayor capacidad lipogénica.

Figura 1. Representación gráfica del PCA del perfil de TG (símbolos blancos, PP-F0; negros, PP-66V0)**Figura 2.** Representación gráfica del PCA del perfil de PL (símbolos blancos, PP-F0; negros, PP-66V0)

A diferencia de los TG, la composición de la fracción polar fue más dependiente del tejido que de la dieta (Figura 2). Es más, el cerebro se mostró especialmente conservativo (Figura 2B), por lo que se puede concluir que la dieta de alta sustitución (PP-66V0) cubre los requerimientos en EFA tanto del filete como de tejidos con un alto contenido en n-3 HUFA.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Proyecto Aquamax del 6º Programa Marco de la UE.

Bibliografía

- Benedito-Palos, L., J.C. Navarro, A. Sitjà-Bobadilla, J.G. Bell, S., Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2008. High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead sea bream: growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. *Br. J. Nutr.* 100: 992-1003.
- Benedito-Palos, L., J.C. Navarro, A. Bermejo-Nogales, A. Saera-Vila, S., Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2009. The time course of fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream fed graded levels of vegetable oils. *Aquaculture* 288: 98-105.

Estudio comparativo del comportamiento de larvas de dorada (*Sparusaurata*) bajo diferentes sistemas de cultivos y enriquecedores de rotíferos

T. Benítez-Santana¹, J. Roo, C. M. Hernández-Cruz y M. S. Izquierdo

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM& IUSA. P.O. Box 35200 Telde, Canary Islands, Spain
e-mail: tibi.benitez.santana@gmail.com

Abstract

Essential fatty acids are of great importance for the normal development of marine fish larvae. Among them, docosahexaenoic acid is known to have a higher efficiency as an essential fatty acid in larvae, being particularly accumulated in the retina, olfactory nerve and other neurons. Therefore, it is particularly important in the nervous system of larvae and hence, be related with behaviour. Establishing the behaviour pattern in healthy fish would constitute a potent non invasive tool to determine fish welfare and health. Sparusauratalarvae were fed with rotifers enriched with DHA Protein Selco (DPH) and rotifers enriched with and emulsion with elevated levels of DHA based on DHA Protein Selco mix with purified fish oil capsules (HDHA). Swimming speed of larvae from all groups was measured on 13, 22 and 35 days after hatching. The burst swimming speed significantly higher obtained in larvae fed with HDHA, suggesting the important role of n3-HUFA, especially DHA.

Justificación

La producción larvaria y la obtención de alevines de buena calidad siguen representando el cuello de botella para el desarrollo de la acuicultura marina. En este sentido, los estudios del comportamiento larvario se presentan como un excelente indicador del estado de bienestar de las larvas, y por lo tanto de gran utilidad para el éxito del cultivo larvario. Tanto la presencia de algunos nutrientes como los ácidos grasos esenciales (AGE) importantes para el desarrollo del sistema neural (Izquierdo et al., 2000; Sargent, 2000), como las situaciones estresantes derivadas de la intensificación del cultivo, pueden ser determinantes del comportamiento de las larvas de peces marinos. Por ello, este trabajo tiene como objetivo principal aportar nuevos conocimientos sobre las respuestas del comportamiento de larvas de dorada comparando los sistemas intensivo y semi-intensivo (mesocosmos) y el efecto de la alimentación con diferentes niveles de ácido docosahexaenoico (DHA) sobre dichas pautas.

Material y Métodos

El cultivo de las larvas se realizó empleando el protocolo estándar para el cultivo de dorada en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) y descrito por Roo et al. (2009). Evaluando el efecto del sistema de cultivo (Intensivo vs. Mesocosmos) y en el caso del sistema intensivo se determinó el efecto de dos enriquecedores de rotíferos: un enriquecedor comercial Protein Selco (INVE Aquaculture, Dendermonde, Belgium) (DPS) y este mismo enriquecedor suplementado con DHA a través de la inclusión de cápsulas de DHA purificado (MordHA IQ, First Vitality Int. Ltd.; United Kingdom) (HDHA). Se analizó el contenido de AGE de larvas los 20 días descrito por Roo et al. (2009b). En los estudios de comportamiento, se evaluó la velocidad de crucero y de huida, y la tasa de respuesta los días 13, 22 y 35 de vida siguiendo la metodología desarrollada por Benítez-Santana et al. (2007). Estos días se midió la longitud total de las larvas.

Resultados y Discusión

Los resultados de este estudio indican que las larvas criadas en sistema mesocosmos obtuvieron una longitud total significativamente mayor que las del sistema intensivo, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Roo et al., 2009 en larvas de bocinero (*Pagrus pagrus*) sin que hubiera efecto de la dieta. Respecto a la composición de AGE en las muestras de rotíferos enriquecidos con HDHA presentan valores significativamente mayores que los rotíferos enriquecidos con DPS, reflejándose en el contenido de AGE de las larvas (Tabla 1). Este hecho revela la importancia del enriquecedor HDHA para el desarrollo de la larva, ya que cuando se suministran rotíferos o microdietas deficientes en n-3 HUFA se produce una mayor sensibilidad al estrés para algunas especies marinas (Izquierdo, 1996).

En cuanto a los resultados de comportamiento, no se obtuvieron diferencias por la alimentación o el sistema de cultivo en la tasa de velocidad y velocidad de crucero. Sin embargo, la velocidad de huida al día 35 fue significativamente superior utilizando el enriquecedor HDHA en sistema intensivo (Figura 1), no habien-

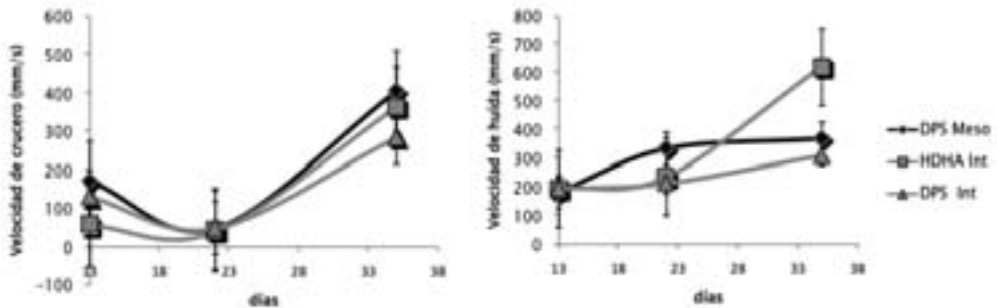
Tabla 1. Composición de ácidos grasos (% AGT) de rotíferos y larvas de dorada de 20 dpe

FAMES	Rot DPS	Rot HDHA	Larvas DPS Meso	Larvas DPS Intensivo	Larvas HDHA Intensivo
ARA	0,89±0,18 ^A	1,38±0,10 ^B	2,55± 0,04	2,13±0,07	2,36±0,17
EPA	6,27±0,54 ^A	7,64±0,73 ^B	5,90±0,02	5,70±0,41	4,96±0,59
DHA	10,56±1,91 ^A	25,26±1,87 ^B	8,21± 0,01 ^a	8,94±0,99 ^a	18,07±1,8 ^b

Superíndice en mayúscula compara rotíferos DPS con rotíferos HDHA

Superíndice en minúscula compara larvas alimentadas con DPS y HDHA en sistema intensivo y mesocosmos

Media±Desviación estándar



do efectos del sistema de cultivo. Estos resultados parecen estar relacionados con el efecto beneficioso del DHA en el desarrollo del sistema visual en larvas de dorada y la aparición de conos y bastones del ojo (Roet al., 1999), así como en el desarrollo del sistema neural y denotan su importancia para la eficacia del comportamiento de huida.

Bibliografía

- Benítez-Santana, T., R. Masuda, E. Juárez-Carrillo, E. Ganuza, A. Valencia, CM. Hernández-Cruz, MS.
- Izquierdo, MS. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *AquacultNutr* 2:183–191.
- Izquierdo, MS., J. Socorro, L. Arantzamendi, CM. Hernández-Cruz. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish PhysiolBiochem* 22:97–107.
- Sargent, JR. 2000. Functions and metabolism of lipids in marine organisms: an overview. IfremerPlouzane, France.
- Roo, F., J. Socorro, MS. Izquierdo, MJ. Caballero, CM. Hernández Cruz, A. Fernández, H. Fernández Palacios. 1999. Development of the red porgy *Pagruspagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture* 179, 499–512.
- Roo, F.J., Hernández-Cruz C.M., Socorro, J.A., Fernández-Palacios & Izquierdo, M. S. 2009b. Advances in rearing techniques of *Pagruspagrus*, (Linnaeus, 1758): comparison between intensive and semi-intensive larval rearing systems. *Aquaculture Research*; DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02244.x.

Uso de oligo-microarrays para el análisis de la expresión génica en juveniles de dorada alimentados con dietas de sustitución basadas en proteínas y aceites vegetales

J. A. Calduch-Giner¹, A. Saera-Vila¹, L. Benedito-Palos¹, S. Kaushik² y J. Pérez-Sánchez¹

¹ Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS-CSIC), 12595 Castellón. e-mail: jperez@iats.csic.es

² Unidad mixta INRA-IFREMER-Univ. Bordeaux I, 64310 Saint Pée-sur Nivelle, Francia

Abstract

A microarray analysis was conducted in juveniles of gilthead sea bream to assess the hepatic expression profile in fish fed plant-protein based diets with a total (PP-V0) or partial replacement (PP-66V0) of fish oil. When data were compared to reference diet with fish oil as the unique dietary lipid source, 89 genes were differentially expressed in fish fed the PP-V0 diet. Among them, 17 were also differentially expressed in fish fed the PP-66V0 diet and they become the more sensitive markers of nutritional deficiencies in essential fatty acids. This gene set also included sensitive markers of xenobiotics that are mostly found in raw materials of marine origin. The set of genes that exclusively changed in fish fed the PP-66V0 diet reflected adjustments in the metabolism of lipoproteins. Overall, these expression data contribute to better understand the sequence of events related to progressive replacement of fish oil with vegetal oils and will contribute to the successful development of new marine fish aquafeeds.

Justificación

Las harinas y aceites de pescado son materias primas de disponibilidad limitada, por lo que uno de los objetivos básicos de la acuicultura marina nacional y europea ha sido el desarrollo de dietas de sustitución basadas en fuentes alternativas de materias primas. En el marco del Proyecto Europeo AQUAMAX, la estrategia de sustitución ha contemplado los efectos sobre el crecimiento y sistema endocrino (Benedito-Palos *et al.*, 2007), bienestar y salud animal (Saera-Vila *et al.*, 2009), seguridad alimentaria (Nácher-Mestre *et al.*, 2009) y calidad del producto final (Benedito-Palos *et al.*, 2008; 2009). En este trabajo se hace especial hincapié en las alteraciones del metabolismo lipídico y de xenobióticos relacionadas con el uso de dietas de sustitución, habiéndose utilizado un oligo-microarray específico para el análisis transcripcional del hígado de juveniles de dorada.

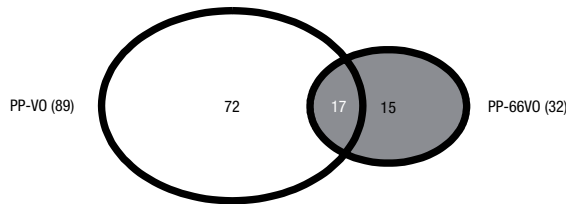
Material y Métodos

Juveniles de dorada (16 g) fueron distribuidos en 9 tanques de 50 L a razón de 60 peces por tanque. Los animales fueron alimentados a saciedad visual (3 tanques/dieta) durante cuatro meses con tres dietas experimentales, basadas en harinas vegetales en las que el aceite de pescado se sustituyó de forma parcial (66%, PP-66V0) o total (PP-V0) por una mezcla de aceites vegetales (colza:linaza:palma). En la dieta de referencia (PP-F0), el aceite de pescado fue la única fuente lipídica de la dieta. Al final del engorde, se tomaron muestras de hígado de 6 animales por tratamiento que fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80° C.

Para el análisis de la expresión génica se validó un microarray (8 x 15K) de oligonucleótidos de dorada diseñado con la aplicación eArray (Agilent Technologies). Dicho microarray contiene 2-3 sondas de 60 oligonucleótidos que hibridan con 6.871 secuencias anotadas de dorada, generadas tras el ensamblaje de más de 40.000 secuencias procedentes de bases públicas de nucleótidos (NCBI) y de librerías de hibridación sustractiva (SSH) de hígado y tejido adiposo. El ARN hepático (ARN total) se extrajo de forma semiautomática con un equipo ABI PRISM 6100 Nucleic Acid PrepStation de Applied Biosystems. La integridad y pureza del ARN se analizó mediante electroforesis en un Bioanalyzer 2100 de Agilent. El ARN extraído (300 ng) se marcó con Cyanine 3-CTP usando el kit comercial Quick Amp Labeling Kit One-Color de Agilent. Tras las hibridaciones, los microarrays de muestras individuales se escanearon para cuantificar la intensidad de cada *spot*. La normalización y análisis estadístico de los datos (filtrado por *fold-change* (1.5); ANOVA de una vía con el P-valor corregido mediante el test de Benjamini-Hochberg) se llevó a cabo con el programa Genespring GX 10.0 (Agilent). La herramienta informática Blast2GO se empleó para la identificación de las ontologías asociadas a los genes diferencialmente expresados.

Resultados y Discusión

Como se muestra en la figura adjunta, el número de genes expresados diferencialmente aumentó con la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales. Así pues, de los 89 genes expresados de forma

Figura 1. Diagrama de Venn del perfil de expresión hepática en juveniles de dorada

diferencial en los animales alimentados con la dieta PP-V0, 72 lo hicieron de forma exclusiva mientras que 17 también lo hicieron en el grupo PP-66V0. El primero y más abundante grupo de genes está enriquecido en genes relacionados con el metabolismo de ácidos grasos y carbohidratos, procesos catabólicos, respuesta inmune y señalización intracelular, lo que es indicativo de las alteraciones y cambios metabólicos que comporta una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales (PP-V0). Los genes expresados diferencialmente en las dos dietas de sustitución son marcadores de los primeros signos de deficiencias. A su vez, son indicadores de una menor exposición a xenobióticos de carácter estrógeno que están especialmente presentes en los aceites de origen marino. En este grupo de genes también están representados marcadores de xenobióticos de origen natural (alcoholes vegetales). En el grupo de genes, expresados diferencialmente y de forma exclusiva en los animales alimentados con la dieta PP-66V0, cabe destacar los relacionados con el metabolismo de las lipoproteínas. De modo que, como hipótesis de trabajo, se han establecido una serie de eventos que favorecen el acúmulo de grasa hepática como resultado de una deficiencia en ácidos grasos esenciales, pero cuando ello degenera en esteatosis (PP-V0) se prima como mal menor el empaquetamiento y exportación de lipoproteínas hepáticas. Esta nueva visión del metabolismo lipídico es de gran ayuda a la hora de diseñar dietas de sustitución de última generación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto Aquamax del 6º Programa Marco de la UE.

Bibliografía

- Benedito-Palos, L., A. Saera-Vila, J.A. Calduch-Giner, S. Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2007. Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast growing juveniles of gilthead sea bream: Networking of systemic and local components of GH/IGF axis. *Aquaculture* 267: 199-212.
- Benedito-Palos, L., J.C. Navarro, A. Sitjà-Bobadilla, J.G. Bell, S., Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2008. High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead sea bream: growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. *Br. J. Nutr.* 100: 992-1003.
- Benedito-Palos, L., J.C. Navarro, A. Bermejo-Nogales, A. Saera-Vila, S., Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2009. The time course of fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream fed graded levels of vegetable oils. *Aquaculture* 288: 98-105.
- Nácher-Mestre, J., R. Serrano, L. Benedito-Palos, J.C. Navarro, F.J. López, J. Pérez-Sánchez. 2009. Effects of fish oil replacement and re-feeding on the bioaccumulation of organochlorine compounds during the productive cycle of gilthead sea bream. *Chemosphere* 76: 811-817.
- Saera-Vila, A., L. Benedito-Palos, A. Sitjà-Bobadilla, J. Nácher-Mestre, R. Serrano, S. Kaushik y J. Pérez-Sánchez. 2009. Assessment of the health and antioxidant trade-off in gilthead sea bream fed alternative diets with low levels of contaminants. *Aquaculture* (en prensa).

Estimación del punto de saturación de reserva en juveniles de la langosta de pinzas rojas *Cherax quadricarinatus*

N. S. Calvo, L. Stumpf y L. S. López Greco

Laboratorio de Biología de la Reproducción y Crecimiento en Crustáceos, Dpto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Cdad. Univ. C1428EHA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: naticsalvo@bg.fcen.uba.ar - laura@bg.fcen.uba.ar

Abstract

Cherax quadricarinatus is a freshwater crayfish of great interest in aquaculture. This study estimated the point of reserve saturation (PRS) in two juvenile stages of different size with the purpose of reducing production cost and improving survival during early development. Stage III and 1-gram juveniles (J1g) were assigned to different feeding periods and 2 controls: continuous starvation and continuous feeding. The experiment finished when all juveniles molted or died. The relationship between the percentage of molts per treatment and feeding period was estimated by sigmoid regression. PRS₅₀ for juvenile stage III was 4.83 ± 0.58 days. According to this, juveniles must be fed for a period equal to 50% of the stage duration to obtain 50% of molting. PRS₅₀ obtained for J1g was 11.30 ± 1.01 days, representing 70% of the stage duration. This information is useful to improve growth and survival of *C. quadricarinatus*, thereby increasing culture profitability.

Justificación

Cherax quadricarinatus es una langosta australiana de agua dulce de gran interés para la acuicultura de la que la aún se desconocen numerosos aspectos de la nutrición y en particular de los primeros estadios juveniles que pueden alcanzar una significativa mortalidad en cultivo. Un estimador de la capacidad de tolerancia a la inanición es el punto de saturación de reserva (PSR). Se define como el PSR₅₀ a la cantidad de días que los juveniles (o larvas) de un determinado estadio deben ser alimentados para que el 50% de ellos tenga las reservas nutricionales suficientes para mudar al estadio siguiente. La información sobre el punto de saturación de reserva no solo permite evaluar la resistencia a la inanición sino que también es útil para diseñar nuevos regímenes de alimentación e incluso nuevos alimentos (Zhang *et al.*, 2008). Con el objetivo de reducir los costos de alimentación sin afectar la calidad del cultivo, el presente trabajo estimó el PSR₅₀ de juveniles recién independizados de la madre (JIII) y juveniles de aproximadamente 1 gramo (J1g) en *C. quadricarinatus*.

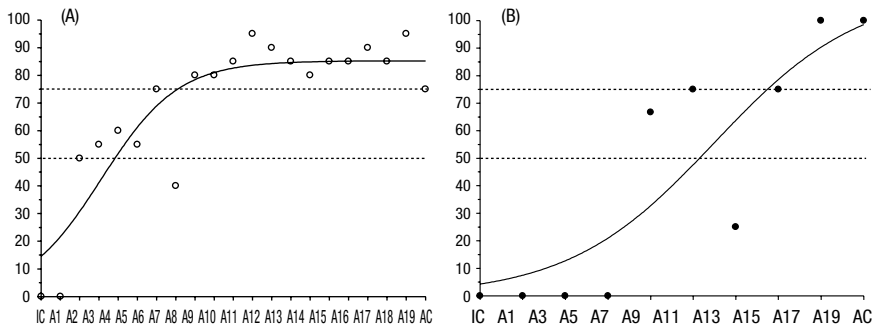
Material y Métodos

Para determinar el PSR₅₀ de juveniles JIII se asignaron 420 individuos ($17,23 \pm 1,18$ mg) a los siguientes tratamientos: alimentación continua (AC), inanición continua (IC) y 19 tratamientos de alimentación con números crecientes de días de alimentación. Estos tratamientos fueron denominados: A1 (significa que recibieron un día de alimentación y luego no fueron alimentados), A2 (significa que recibieron dos días de alimentación y luego no fueron alimentados) hasta A19. Paralelamente 46 juveniles J1g ($1,07 \pm 0,23$ mg) se asignaron a los siguientes tratamientos: AC, IC y 8 tratamientos de alimentación con números crecientes de días de alimentación (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 y A8).

El experimento finalizó cuando todos los individuos mudaron o murieron. Se registró el peso luego de mudar, la cantidad de días de duración del estadio y el porcentaje de mudas por tratamiento. El crecimiento fue evaluado a través del incremento porcentual de peso ($GI = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$, donde W_t y W_0 son el peso final e inicial respectivamente). La duración del estadio y el GI entre tratamientos fueron analizados mediante ANOVA y el test *post-hoc* Fisher LSD. La relación entre el porcentaje de mudas por tratamiento y la cantidad días que recibieron alimentación fue estimada por la curva sigmoidea ($f = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$) y la regresión fue testeada por ANOVA. El PSR₅₀ se obtuvo a partir de la extrapolación en la curva obtenida.

Resultados y Discusión

Los resultados indicaron que los juveniles JIII solo consiguen mudar si son alimentados al menos 2 días. La duración media del estadio en los juveniles de AC fue de $9,8 \pm 4,6$ días y fue similar entre tratamientos ($p > 0,05$). Solo el GI de A2 ($14,13 \pm 3,53\%$) fue menor ($p < 0,05$) que AC ($49,79 \pm 36,76\%$). Los promedios de los pesos finales para los tratamientos fueron de un rango de 19,60 a 25,76mg. La regresión fue significativa ($p < 0,0001$) y el PSR₅₀ obtenido fue de $4,83 \pm 0,58$ (Figura 1a), por lo tanto los JIII necesitan ser alimentados

Figura 1. Porcentaje de mudas obtenidas en los diferentes tratamientos. (a) JIII. (b) J1g

aproximadamente la mitad de la duración del estadio (49,29%) para que el 50 % de los juveniles consiga mudar exitosamente. Este valor es mayor a los obtenidos por Paschke *et al.* (2004) para las zoea 1 del camarón *Crangon crangon* las cuales deben ser alimentadas durante el 22,73% y 32% de la duración del estadio. El PSR₅₀ del presente trabajo también fue mayor al hallado por Liddy *et al.* (2003) para la larva *phyllosoma* de la langosta *Panulirus cygnus* (PSR₅₀=3,6 días).

En relación a los juveniles J1g los resultados indicaron que solo consiguen mudar si son alimentados al menos durante 5 días. Dada la gran variabilidad en los resultados de GI estos no pudieron ser analizados. Los promedios de los pesos finales para los tratamientos fueron de un rango de 0,91 y 1,39mg.

La regresión fue significativa ($p < 0,007$). El tiempo medio de duración del estadio para el tratamiento AC fue de $16,20 \pm 2,17$ días y el PSR₅₀ obtenido de $11,30 \pm 1,01$ días (Figura 1b) lo que implicaría que los J1g deben ser alimentados aproximadamente el 70% de la duración del estadio para conseguir mudar. Un valor próximo (PSR₅₀=11,75 días) fue hallado por Zhang *et al.* (2008) en juveniles del camarón *Fenneropenaeus chinensis* de peso similar ($0,753 \pm 0,041$ g).

La información obtenida en este trabajo permitirá determinar un protocolo adecuado de alimentación que maximice el crecimiento y la sobrevivencia de juveniles tempranos de *C. quadricarinatus* y minimice el alimento no consumido aumentando así la rentabilidad de su cultivo.

Agradecimientos

PICT 2007-01187, PIP 00129, UBACYT X458. Carlos Anselmi, Granja Las Golondrinas S.A., Argentina

Bibliografía

- Liddy G.C., B.F. Phillips y G.B. Maguire 2003. Survival and growth of instar 1 phyllosoma of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*, starved before or after periods of feeding. *Aquaculture International*, 11(1-2): 53-67.
- Paschke, K.A., P. Gebauer, F. Buchholz, F. y K. Anger. 2004. Seasonal variation in starvation resistance of early larval North Sea shrimp *Crangon crangon* (Decapoda: Crangonidae). *Marine Ecology Progress Series* 279: 183-191.
- Zhang, P., X. Zhang, J. Li y T. Gao. 2009. Starvation resistance and metabolic response to food deprivation and recovery feeding in *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture International*. 17 (2): 159- 172.

Determinación del punto de no retorno en juveniles de la langosta de pinzas rojas *Cherax quadricarinatus*

N. S. Calvo, L. Stumpf y L. S. López Greco

Laboratorio de Biología de la Reproducción y Crecimiento en Crustáceos, Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Cdad. Univ. C1428EHA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: naticsalvo@bg.fcen.uba.ar-laura@bg.fcen.uba.ar

Abstract

Cherax quadricarinatus is a crayfish of great interest in freshwater aquaculture. This study was the first to estimate the point of no return (PNR) in early juveniles of *C. quadricarinatus* and the first in a species of direct development. Stage III juveniles were assigned to 19 protocols with different periods of starvation and 2 controls: continuous starvation and continuous feeding. The experiment finished when all juveniles molted or died. The relationship between percentage of molts per treatment and the starvation period was estimated by sigmoid regression. PNR₅₀ was 5.48±0.28 days. According to this, only 50% of the juveniles could molt if they were fed during the half of stage duration. This value was similar to the obtained by Anger y Dawirs (1981) for marine crab larvae. The study provides information for the evaluation of broodstock quality and to improve growth and survival increasing the profitability of the culture.

Justificación

Cherax quadricarinatus es una langosta australiana de agua dulce de gran interés para la acuicultura de la que se desconocen numerosos aspectos de la nutrición y en particular de los primeros estadios juveniles que pueden alcanzar una significativa mortalidad en cultivo. Un estimador de la capacidad de tolerancia a la inanición es el punto de no retorno (PNR). El PNR₅₀ se define como el tiempo (en días) que los animales deben pasar sin alimento para que el 50% de estos pierda la capacidad de recuperarse aún luego de que se les suministre alimento. La información sobre el PNR no solo permite evaluar la resistencia a la inanición sino que también es útil para diseñar nuevos protocolos de alimentación e incluso nuevos alimentos (Zhang *et al.*, 2008). Con el objetivo de reducir los costos de alimentación sin afectar la calidad del cultivo, el presente trabajo estimó el PNR₅₀ de juveniles recién independizados de la madre (JIII) en *C. quadricarinatus*. Es importante también destacar que el PNR₅₀ ha sido estimado para larvas de camarones (Paschke *et al.*, 2004 y Zhang *et al.*, 2008) y cangrejos (Anger y Dawirs, 1981) siendo esta la primera determinación en langostas con desarrollo directo.

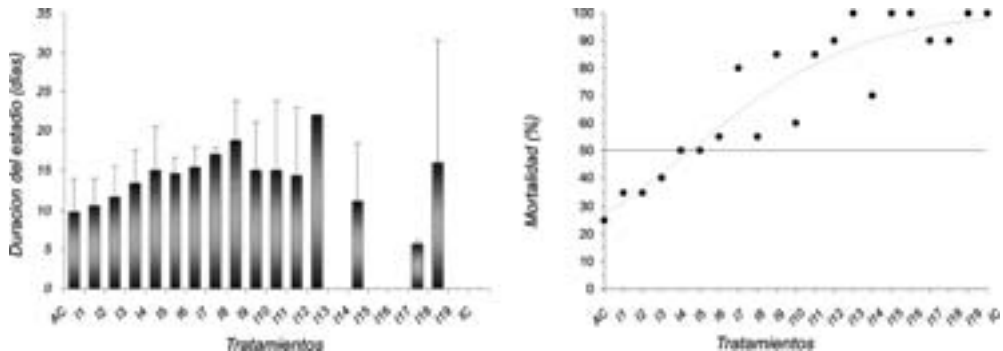
Material y Métodos

Para determinar el PNR₅₀ de juveniles JIII se asignaron 420 individuos (17,23±1,18mg) a los siguientes tratamientos: alimentación continua (AC), inanición continua (IC) y 19 tratamientos de alimentación con periodos iniciales crecientes de inanición. Estos tratamientos fueron denominados: I1 (significa que no recibieron alimento el primer día y luego fueron alimentados), I2 (significa que no recibieron alimento los dos primeros días y luego fueron alimentados) hasta I19.

El experimento finalizó cuando todos los individuos mudaron o murieron. Se registró la cantidad de días de duración del estadio y el peso luego de la muda. La dependencia entre la sobrevida y los tratamientos fue analizada mediante una tabla de contingencia (Test de homogeneidad, Chi-cuadrado de Pearson) y Test de Fisher para detectar que tratamientos diferían de AC. El crecimiento fue evaluado a través del incremento porcentual de peso ($GI = 100 \times (W_i - W_0) / W_0$, donde W_i y W_0 son el peso después de la muda y al iniciar el experimento respectivamente). La duración del estadio y el GI entre tratamientos fueron analizados mediante ANOVA y el test *post-hoc* Fisher LSD. La relación entre la mortalidad y la cantidad días de inanición fue estimada mediante una curva sigmoidea ($f = a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b))$) y la regresión fue testeada por ANOVA. El PNR₅₀ se obtuvo a partir de la extrapolación en la curva obtenida.

Resultados y Discusión

Los resultados indicaron que la supervivencia fue dependiente de la cantidad de días de inanición ($p < 0,0001$) siendo menor que AC ($p < 0,05$) en los tratamientos IC, I19, I18, I17, I16, I15, I14, I13, I12, I11, I9 e I7. Con

Figura 1. (a) Duración media del estadio juvenil III y (b) mortalidad para los distintos tratamientos

el aumento de los días de inanición se observó una tendencia a retrasar la muda. La duración del estadio varió significativamente entre tratamientos ($p < 0,0001$) siendo en I3, I4, I5, I6 e I8 significativamente más larga que AC, para el cual se obtuvo un valor de $9,8 \pm 4,6$ días (Fig. 1a). La misma tendencia fue observada en otros crustáceos (Anger *et al.*, 1981; 1985; Paschke *et al.*, 2004). No se encontraron diferencias significativas en el GI entre tratamientos ($p > 0,05$) siendo el GI obtenido en AC de $30,27 \pm 13,36\%$. Los promedios de los pesos finales para los tratamientos fueron de un rango de 19,75 a 29,53mg. La relación entre la mortalidad y los tiempos de inanición se ajustaron a una regresión sigmoidea ($p = 0,000$) $f = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$; $R^2 = 0,87$; $a = 101,12 \pm 7,37$; $b = 4,51 \pm 1,08$; $X_0 = 5,58 \pm 0,96$. El valor estimado para PNR_{50} fue de $5,48 \pm 0,28$ días, lo cual representa el 55,92% de la duración del estadio (Fig. 1b). Este valor fue similar al obtenido en zoeas del cangrejo *Hyas araneus* (Anger y Dawirs 1981) y menor a los registrados por Paschke *et al.* (2004) en zoeas de *Crangon crangon* las cuales debían ser sometidas a inanición del 70% al 100% de la duración del estadio para alcanzar el PNR_{50} . Dado que estos resultados son los primeros obtenidos en una especie subtropical de desarrollo directo y de agua dulce, tal diferencia podría estar vinculada con el tipo de ambiente, su patrón de desarrollo y/o de la cantidad y tipo de reservas energéticas. La información obtenida en este trabajo podría transformarse en una herramienta para determinar la calidad de progenie bajo diferentes condiciones de manejo que permita corregir y/o modificar protocolos de alimentación.

Agradecimientos

PICT 2007-01187, PIP 00129, UBACYT X458. Carlos Anselmi, Granja Las Golondrinas S.A., Argentina

Bibliografía

- Anger K. y R.R. Dawirs 1981. Influence of starvation on the larval development of *Hyas araneus* (Decapoda, Majidae). *Helgolander Meeresuntersuchungen* 34: 287-311.
- Anger K., R.R. Dawirs, V. Anger y J.D. Costlow. 1981. Effect of early starvation periods on zoeal development of brachyuran crabs. *Biological Bulletin* 161:199-212.
- Anger K., V. Storch, V. Anger y J.M. Capuzzo. 1985. Effect of starvation on moult cycle and hepatopancreas of stage I lobster (*Homarus americanus*) larvae. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 39:107-116.
- Paschke, K.A., Gebauer, P., Buchholz, F. y Anger, K. 2004. Seasonal variation in starvation resistance of early larval North Sea shrimp *Crangon crangon* (Decapoda: Crangonidae). *Marine Ecology Progress Series* 279: 183-191
- Zhang, P., X. Zhang, J. Li, y T. Gao. 2009. Starvation resistance and metabolic response to food deprivation and recovery feeding in *Fenneropenaeus chilensis*. *Aquaculture International* 17(2):159-172.

Composición en minerales de dietas naturales y harinas para el desarrollo de piensos para el pulpo común (*Octopus vulgaris*)

J. Cerezo Valverde¹, M. D. Hernández¹, F. Aguado-Giménez¹, S. García², C. Rodríguez³, I. Gairín⁴, J. Estefanell⁵, C. Pascual⁶, A. Tomás⁷ y B. García García¹

¹ IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Puerto de San Pedro del Pinatar, Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. E-mail: jesus.cerezo@carm.es

² IFAPA-Agua del Pino. ³ CEP-Asturias. ⁴ IRTA-Cataluña.

⁵ ICCM-Canarias. ⁶ USC-Galicia. ⁷ UPV-Valencia

Abstract

The major (Ca, K, Mg, Na, P) and minor (B, Cu, Fe, Mn y Zn) essential elements were determined in octopus and in the natural diets of octopus that produce the best on-growing results and in different prime materials that could be used to optimise the content of these nutrients in artificial feeds. Extreme values were observed for sodium in crustaceans and molluscs and potassium in fish and soy meals. Calcium and phosphorus predominated in crustaceans and fish and krill meals. Magnesium showed extreme values in crustaceans and sunflower, soy and krill meals, followed by molluscs and fishes. Copper was especially high in octopus, squid, crustaceans and krill meal. Zinc was high in bivalves, squid, crustaceans and fish and pea meals, while iron was abundant in crustaceans, bivalves, mullet and fish meal.

Justificación

Los análisis de composición nutritiva pueden emplearse como aproximación a los requerimientos nutricionales de una especie. Igualmente, la determinación del contenido en minerales específicos en el pulpo, de las dietas naturales que actualmente proporcionan mejores resultados para su engorde, así como de distintas materias primas puede servir para optimizar el contenido de estos nutrientes en la formulación de piensos artificiales para el pulpo. Además, las determinaciones analíticas propuestas quedarían justificadas debido a que las tablas de composición de alimentos y otras publicaciones sobre nutrientes específicos en especies marinas suelen estar destinadas a nutrición humana y con frecuencia no se indican los nombres científicos de las especies o épocas de captura (Zdzislaw *et al.*, 1994), así como a la ausencia de datos sobre especies de bajo valor comercial que sí son empleadas para el engorde del pulpo.

Material y Métodos

Se analizaron 33 muestras diferentes, incluyendo peces, crustáceos, moluscos y materias primas susceptibles de ser empleadas en la elaboración de piensos (Tabla 1). Las muestras procedían de distintas CCAA participantes en el Plan Nacional «Optimización del engorde de pulpo *Octopus vulgaris* 2007-2009» (Andalucía, Asturias, Cataluña, Canarias, Galicia, Murcia y Valencia), recogiendo tanto en verano como en invierno. Se ha determinado el contenido en macrominerales (Ca, K, Mg, Na, P) y microminerales (B, Cu, Fe, Mn y Zn), empleando 5 o 2 g de muestra húmeda o liofilizada, respectivamente. Las muestras se incineraron en horno Mufla a 600 °C durante 16 h, solubilizando los minerales en HCl 2N. La detección se llevó a cabo por espectrometría de emisión atómica-ICP.

Resultados y Discusión

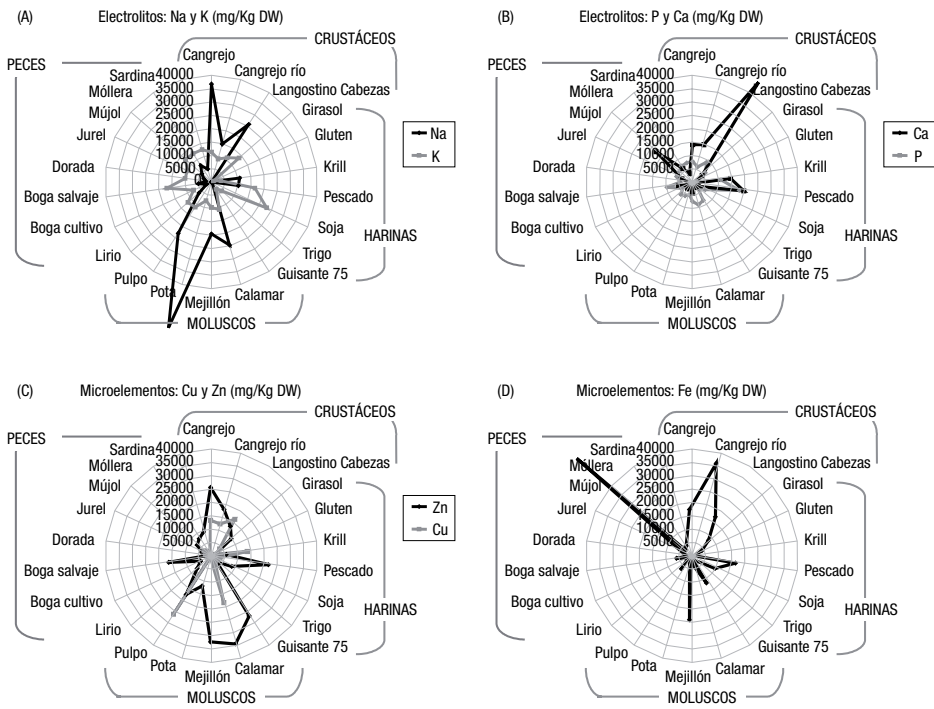
Se observaron valores extremos de sodio en crustáceos y moluscos, y de potasio en harinas de pescado y soja (Fig. 1A). Calcio y fósforo predominaron en crustáceos y harinas de pescado y de krill (Fig. 1B). El magnesio alcanzó valores extremos en crustáceos y harinas de girasol, soja y krill (4000-5000 mg/Kg DW), seguido por los moluscos (3000-4000 mg/Kg DW) y por los peces (<2500 mg/Kg DW). Microelementos como el cobre fueron especialmente elevados en pulpo, calamar, crustáceos y harina de krill. El zinc destacó en bivalvos, calamar, crustáceos y harinas de pescado y guisante (Fig. 1C); el hierro abundó en crustáceos, bivalvos, mójol y harina de pescado (Fig. 1D).

Según los resultados obtenidos, los electrolitos jugarían un papel mayoritario en el pulpo así como en sus dietas naturales preferentes. En general los crustáceos cubrirían el rango de concentraciones observado en el pulpo para la mayoría de los minerales analizados, con excepción del cobre. No obstante, los elevados niveles de este mineral en cefalópodos serían atribuibles a la glándula digestiva (Napoleao *et al.*, 2005), de forma que en el tejido muscular sería similar al observado en distintas especies de peces.

Tabla 1. Especies y materias primas primas analizadas

Grupo	Especie
Crustáceos	Cangrejo (<i>Carcinus maenas</i>), Cangrejo de río (<i>Procambarus clarkii</i>), Cabezas langostino (<i>Pennaeus</i> sp.)
Harinas	Girasol, Gluten, Krill, Pescado, Soja, Trigo, Prot. Guisante 75
Moluscos	Calamar (<i>Loligo gahi</i>), Mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>), Ostra (<i>Ostrea edulis</i>), Pota (<i>Todarodes</i> sp.), Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)
Peces	Bacaladilla (<i>Micromesistius poutassou</i>), Boga (<i>Boops boops</i>), Dorada (<i>Sparus aurata</i>), Jurel (<i>Trachurus trachurus</i>), Lisa (<i>Mugil</i> sp.), Mollera (<i>Trisopterus minutus</i>), Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)

Figura 1. (A-D) Contenido en minerales en las distintas muestras analizadas. Valores expresados como promedio de las muestras de verano e invierno y en peso seco (mg/Kg DW).



Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

Napoleao, P., T. Pinheiro y C. Sousa Reis. 2005. Elemental characterization of tissues of *Octopus vulgaris* along the Portuguese coast. *Science of the Total Environment*. 345: 41-49.

Zdzislaw, E., A. Kolakowska, B. Sun Pan. 1994. Composición nutritiva de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. En : *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación*. Zdzislaw, E. (Ed.): 41-72.

Composición en minerales de los distintos tejidos del pulpo común (*Octopus vulgaris*) en distintas estaciones del año

J. Cerezo Valverde, M.D. Hernández, F. Aguado-Giménez y B. García García

IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Puerto de San Pedro del Pinatar, Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. E-mail: jesus.cerezo@carm.es

Abstract

The macromineral (Ca, K, Mg, Na and P), micromineral (B, Cu, Fe, Mn and Zn) and heavy metal (Cd, Hg and Pb) contents were determined by ICP in whole octopus, muscle, digestive gland and gonads both in summer and winter. The electrolytes, Na and K, played an important role in all the tissues analysed, especially muscle. Subsequently, the order of importance was phosphorus, magnesium and calcium. Among the micronutrients, the high level of copper was of note, although only in the digestive gland. The results underline the capacity of most of the microminerals to accumulate in the digestive gland – copper, iron and zinc – besides the heavy metals cadmium and lead. Equally high levels of zinc were recorded in the gonad. In winter samples, the concentrations of copper and iron were higher in muscle and digestive gland, while the highest levels of the electrolytes and zinc were detected in the gonad. Feeding and gonad maturity were seen to be key factors affecting mineral concentrations in cephalopods.

Justificación

Los minerales juegan un papel fundamental en la formación de estructuras esqueléticas, mantenimiento del equilibrio osmótico, múltiples procesos metabólicos o incluso como componentes de proteínas estructurales y funcionales como enzimas, hormonas y transportadores de oxígeno. No obstante, sus requerimientos en cefalópodos son mal conocidos, en gran parte debido a la ausencia de dietas artificiales que sean aceptadas y que permitan variar las concentraciones de los nutrientes sometidos a estudio. En el presente trabajo se hace una aproximación a la importancia relativa de cada mineral en el pulpo a través de los análisis de su contenido en distintos tejidos.

Material y Métodos

Se ha determinado el contenido en macrominerales (Ca, K, Mg, Na, P, S) y microminerales esenciales (B, Cu, Fe, Mn y Zn) y metales pesados (Cd, Hg y Pb) en muestras de pulpo completo (N = 6), músculo (N = 6), glándula digestiva (N = 36) y gónada (N = 36). Los ejemplares se capturaron mediante pesca de arrastre en verano (julio-07; 652-1957 g) e invierno (marzo-08; 484-2106 g). Se emplearon entre 5 y 6 g de muestra en peso húmedo y se incineraron en horno Mufla a 600°C durante 16 h, solubilizando los minerales en HCl 2N. La detección se llevó a cabo por espectrometría de emisión atómica (ICP).

Resultados y Discusión

Según nuestros resultados, los electrolitos (Na y K) jugaron un papel mayoritario en los tejidos del pulpo, especialmente en el músculo. Por orden de importancia le siguieron el fósforo, el magnesio y el calcio. Entre los microminerales esenciales destacó el elevado contenido en cobre, sin embargo, éste fue exclusivo de la glándula digestiva. Estos resultados muestran la capacidad de concentración de la mayoría de los microminerales analizados en la glándula digestiva del pulpo, incluyendo además del cobre, el hierro, zinc y metales pesados como cadmio y plomo. El zinc mostró valores elevados en la gónada, sugiriendo su intervención en los procesos reproductivos. Las variaciones estacionales más destacables fueron las mayores concentraciones de cobre y hierro observadas en músculo y glándula digestiva, y de electrolitos y zinc en la gónada durante el invierno. Tanto la alimentación como la maduración gonadal son factores clave que podrían afectar a las concentraciones de minerales en cefalópodos.

En base a otros estudios, el calcio se ha resaltado como elemento importante para la formación de la concha en la sepia, el estroncio como esencial en la formación del estatolito y el cobre como componente de la hemocianina. Villanueva y Bustamente (2006) aportan datos que apoyan la importancia del cobre y el azufre en la dieta de los cefalópodos. Seguramente, al igual que en peces, los cefalópodos puedan extraer algunos minerales del agua, en cuyo proceso estaría implicado el apéndice de la glándula digestiva o páncreas (Wells y Wells, 1989), no obstante la mayoría debería ser aportado por la dieta debido a sus bajas concentraciones en el agua.

De todos los minerales obtenidos, los resultados en cuanto al mercurio y al azufre (datos no mostrados) no se consideran definitivos y requieren de la revisión de la técnica.

Tabla 1. *Composición en minerales (mg/Kg peso seco) en el pulpo completo y en distintos tejidos en muestras recogidas en verano (V) e invierno (I)*

Elemento	Estación	Completo	Músculo	G. digestiva	Gónada
B	V	14.52	16.81	4.83	4.04
	I	7.81	13.25	6.41	2.22
Ca	V	2098.40	1743.73	1504.96	614.48
	I	4269.89	2410.77	1565.30	994.29
Cd	V	3.08	0.65	32.82	0.37
	I	2.03	0.15	29.92	0.20
Cu	V	222.62	12.32	1415.94	27.79
	I	98.17	18.83	1877.25	16.21
Fe	V	71.34	14.73	502.51	38.70
	I	146.23	59.27	844.89	18.27
Hg	V	<0.69	<0.30	0.06	1.01
	I	<1.05	2.42	2.39	3.10
K	V	12014.56	12535.11	6711.85	8924.74
	I	10597.75	12286.24	8325.33	14753.84
Mg	V	3525.12	4389.40	1992.17	1780.36
	I	3508.71	3657.80	2284.92	2723.14
Mn	V	0.04	<0.02	0.28	0.50
	I	0.22	<0.02	0.63	0.39
Na	V	23122.07	32313.35	10863.80	13138.00
	I	22732.33	24388.41	11839.04	18922.87
P	V	7505.64	6862.88	6243.04	10980.29
	I	6980.62	6680.83	7357.83	11437.39
Pb	V	3.72	3.40	11.24	2.94
	I	1.12	1.25	9.76	1.38
Zn	V	113.20	57.01	596.94	183.33
	I	98.31	51.41	1025.02	324.01

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- Villanueva, R. y P. Bustamante. 2006. Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* 261: 225-240.
- Wells, M.J. y J. Wells. 1989. Water uptake in a cephalopod and the function of the so-called «pancreas». *Journa of Experimenta Biology*. 145: 215-226.

Es necesario alimentar las larvas de *Solen marginatus*?

F. da Costa^{1,2}, S. Nóvoa², J. Ojea² y D. Martínez-Patiño²

¹ Centro de Investigaciones Mariñas, Consellería do Mar, Xunta de Galicia, 27700 Ribadeo, Lugo

² Dpto. de Biología Celular y Molecular, Universidade da Coruña, A Zapateira s/n, 15071 A Coruña
fdacosta@udc.es, mptea@cimacoron.org

Abstract

The aim of this study was to investigate the need of external larval feeding of *Solen marginatus* larvae and the evolution of fatty acids in neutral and polar lipids during larval development. Larvae were fed on three different diets: 1. 10 equivalent cells (*I. galbana*, *P. lutheri* and *C. calcitrans*) plus 20 equivalent cells of *T. suecica*; 2. 80 equivalent cells of *I. galbana*; and 3. starvation during eight days until settlement, and from this onwards individuals were fed on diet 1. Best results for growth were observed in larvae fed on diet 1. Starved larvae reached the best survivorship on day 8 (66%). However, after three more days of culture after starting feeding all died. In spite of the large size of *S. marginatus* eggs and the great amount of stored reserves their larvae need to feed on microalgae to undergo metamorphosis.

Justificación

El longueirón (*Solen marginatus*) es la especie de la Familia Solenidae más importante en España. Presenta un tamaño de ovocito muy grande con respecto a otros bivalvos (150 µm) una envuelta coriónica traslúcida y un gran acumulo de reservas energéticas que le permiten un desarrollo larvario corto. Según Ockelman (1965) los ovocitos de talla superior a 90 µm de diámetro, con gran cantidad de reservas lipídicas, serían de tipo lecitotrófico, por lo que no necesitarían alimentarse del medio para superar la metamorfosis. Para comprobar si es necesario alimentar las larvas de *S. marginatus* durante el desarrollo larvario y ver la evolución del contenido de ácidos grasos en los lípidos neutros y polares se diseñó una experiencia con dos dietas microalgales y otro grupo en ayuno durante la duración del desarrollo larvario.

Material y Métodos

Se cultivaron larvas D (1 día) en tanques de 150 litros por duplicado, a 19±1°C. El agua se cambió cada dos días con agua filtrada por filtro de arena y esterilizada con ultravioleta. Se ensayaron las siguientes dietas: 1. 10 células equivalentes (*I. galbana*, *P. lutheri* y *C. calcitrans*) y 20 equiv. de *T. suecica*; 2. 80 células equiv. de *I. galbana*; y 3. ayuno de 8 días, hasta la fijación, y a partir de ahí se da la dieta 1. Se midieron y contaron, para determinar la supervivencia. Además, se tomaron muestras para el análisis de ácidos grasos de las dietas microalgales y larvas al inicio de la experiencia (larva D) y a los 8 días. Las muestras de ácidos grasos se purificaron según el método de Soudant (1995) modificado en nuestro laboratorio (da Costa, 2009) y se cuantificaron y determinaron por el método de Marty *et al.* (1992).

Resultados y Discusión

La dieta 1 es más rica en los ácidos grasos esenciales 18:2n6 y EPA que la dieta 2. La dieta 1 es la que permite un mayor crecimiento al final de la experiencia, fijando a una talla de 287,5 µm. Las larvas sometidas a la dieta 1 almacenan más lípidos polares y sin embargo, con la dieta 2 se almacenan más lípidos neutros (Tabla 1 y 2). Las larvas mantenidas en ayuno experimentaron un crecimiento mínimo, sin alcanzar la fijación, muriendo el día 11 (a los tres días de comenzar a alimentarlas). Aunque en experiencias anteriores se consiguió que fijasen el día 10 tras estar 5 días de ayuno (datos sin publicar). Se podía observar como las larvas iban perdiendo reservas en la glándula digestiva. Las larvas perdieron demasiadas reservas, lo que produjo que al volver a alimentarse no pudiesen recuperarse, por lo que se produjo la muerte de las larvas a los 3 días de comenzar la alimentación. Sin embargo, a los 8 días las larvas sometidas a ayuno lograron la supervivencia más elevada de las tres dietas (66%), seguida por la dieta 1 (49%). Esto puede ser debido a que las altas reservas energéticas almacenadas en el ovocito de *S. marginatus* permiten que se mantengan hasta 8 días sin alimentarse (tiempo normal que tardan en alcanzar la fijación en condiciones de alimentación). En las larvas sometidas a ayuno el contenido de lípidos de reserva descendió bruscamente con respecto a los valores de las larvas D y en los lípidos polares descendieron ligeramente con respecto a los valores iniciales. Las larvas alimentadas con la dieta 2 almacenaron en los lípidos neutros más ácidos grasos esenciales 18:2n6, 18:3n3 y DHA que los de la dieta 1, aunque la supervivencia de las larvas de la dieta 2 fue menor. La mejor dieta consistió en una mezcla de 4 microalgas. Se ha demostrado que a pesar

Tabla 1. Composición de ácidos grasos totales en las dietas microalgales (expresado en porcentaje±desviación estándar)

	Microalgas (%)	
	Dieta 1	Dieta 2
18:2n6	8.0±2.4	7.18±0.14
18:3n3	5.9±0.6	14.96±0.44
EPA	2.3±0.2	0.44±0.02
DHA	5.4±1.2	8.44±0.25

Tabla 2. Composición de ácidos grasos en los lípidos neutros y polares en las larvas al inicio y final de la experiencia (expresado en ng/individuo±desviación estándar)

		Larvas (ng/individuo)			
		Inicio	Fin Dieta 1	Fin Dieta 2	Fin Ayuno
Lípidos neutros	18:2n6	0.10±0.01	0.81±0.16	2.06±0.00	0.03±0.00
	18:3n3	0.25±0.02	0.67±0.00	1.44±0.27	0.03±0.00
	EPA	1.41±0.13	0.51±0.09	0.25±0.03	0.18±0.02
	DHA	1.01±0.11	0.60±0.11	1.66±0.27	0.19±0.02
	TOTAL	16.05±1.21	16.84±0.53	20.42±4.88	2.84±0.08
Lípidos polares	18:2n6	0.01±0.00	0.29±0.08	0.43±0.13	0.01±0.00
	18:3n3	0.02±0.00	0.49±0.16	0.35±0.14	0.01±0.00
	EPA	0.21±0.04	0.74±0.13	0.24±0.09	0.10±0.01
	DHA	0.19±0.04	1.32±0.06	1.60±0.54	0.15±0.01
	TOTAL	1.61±0.11	16.44±3.00	9.84±4.38	1.30±0.17

de que los ovocitos de *S. marginatus* presentan un gran tamaño y muchas reservas, las larvas necesitan alimentarse para superar la metamorfosis.

Agradecimientos

Este estudio ha sido cofinanciado con el proyecto «Cultivo de nuevas especies de moluscos bivalvos de interés en hatcheries» por la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) y la Secretaría General de Pesca Marítima. Se agradece asimismo la colaboración del personal del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo-CIMA.

Bibliografía

- da Costa, F. 2009. Optimización del cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865), longueirón (*E. siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennant, 1777): composición bioquímica y de ácidos grasos en los desarrollos larvarios. Tesis doctoral. Univ. de Santiago de Compostela. 309 pp.
- Marty, Y., F. Delaunay, J. Moal y J.F. Samain. 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 163: 221-234.
- Ockelmann, K.W. 1965. Developmental types in marine bivalves and their distribution along the Atlantic coasts of Europe. En: Proc. First European Malacological Congress: 25-35
- Soudant, P. 1995. Les phospholipides et les sterols des geniteurs et des larves de coquille Saint Jacques *Pecten maximus* (L.). Relations avec la nutrition. Thèse de doctoral. Univ. de Brest. 277 pp.

La vitamina D3 de la dieta influye en la ontogénesis del sistema digestivo y la osificación de la lubina (*Dicentrarchus labrax*)

M. J. Darias¹, D. Mazurais², G. Koumoundouros², N. Glynatsi², S. Christodouloupoulou², E. Gisbert¹, C. L. Cahu² y J. L. Zambonino-Infante²

¹ IRTA Sant Carles de la Ràpita, Ctra. De Poble Nou s/n, km. 5.5, 43540 Sant Carles de la Ràpita, Tarragona
maria.darias@irta.cat

² Ifremer Marine Fish Nutrition Team, Nutrition Aquaculture and Genomics Research Unit, UMR 1067 Ifremer, Technopole Brest-Iroise, BP 70, 29280 Plouzané, France
University of Patras, Biology Department, 26500 Patras, Rio, Greece

Abstract

The influence of dietary vitamin D3 (VD3) on survival, growth and morphogenesis during the larval development of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) was evaluated until 45 days post hatching (dph). Diets contained 4 % of the standard vitamin mix (VM) recommended by the National Research Council (NRC) and incorporated 0, 19.2, 38.4, and 140 IU of VD3 g⁻¹ diet to give VD-0, VD-1, VD-2 and VD-3 dietary treatments, respectively. The present study showed that European sea bass larvae are very sensitive to the dietary VD₃ level and revealed for the first time an impact of dietary VD₃ on the digestive system ontogenesis that consequently conditioned the ossification process and morphogenesis, resulting in the appearance of skeletal malformations.

Justificación

La vitamina D es crucial para mantener la homeostasis del calcio y del fosfato y para proteger la integridad del esqueleto. Esta hormona funciona a través del receptor de la vitamina D (*vdr*) induciendo la expresión de varias proteínas de unión y transporte del calcio en el intestino para estimular su absorción activa y así preservar la normocalcemia e, indirectamente, mantener la mineralización ósea. Además, la vitamina D actúa directamente sobre los osteoblastos, formadoras del hueso, para inhibir la proliferación, modular la diferenciación y regular la mineralización de la matriz extracelular. El presente estudio tuvo como objetivo principal estudiar la influencia de la Vitamina D sobre la ontogénesis de lubina prestando especial atención a los mecanismos moleculares implicados en el proceso de osificación.

Material y Métodos

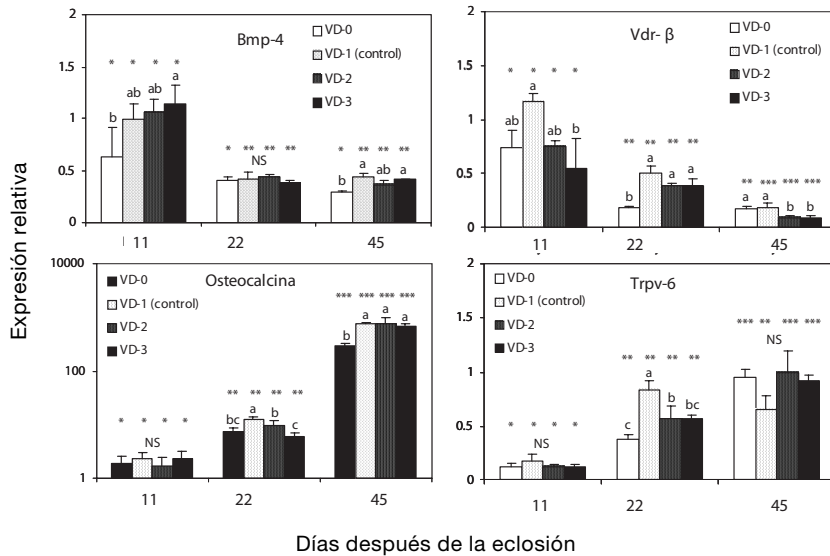
Las larvas de lubina se incubaron a 20 °C, 35 de salinidad y 24h de luz y se alimentaron desde los 9 a los 45 dde con 6 dietas experimentales (4 replicados/grupo) que incorporaron 0 (VD-0), 19.2 (VD-1, dieta control), 38.4 (VD-2), and 140 (VD-3) UI de vitamina D₃ (VD₃, ROVIMIX® D3-500) por gramo de dieta. Los análisis bioquímicos de la dieta una vez elaborada indicaron los siguientes contenidos de VD₃ (colecalciferol, 1 α ,25-(OH)₂D₃): 11.2 (VD-0), 27.6 (VD-1), 42 (VD-2) and 120 (VD-3) UI VD₃/g dieta. Se muestrearon larvas a diferentes edades para determinar el peso fresco, el nivel de osificación, la tasa de malformaciones, la actividad enzimática y la expresión de genes implicados en el proceso de osificación.

Resultados y Discusión

Todas las dietas experimentales fueron eficientemente ingeridas por las larvas y los niveles de VD3 probados se encontraron en el «rango adecuado» desde el punto de vista de la supervivencia. Sin embargo, tanto el crecimiento como la maduración intestinal y la osificación al final de la etapa larvaria fueron afectados por la dosis mínima de VD₃, lo que dio lugar a la aparición de malformaciones esqueléticas. Los grupos VD-2 y VD-3 mostraron niveles de crecimiento y osificación satisfactorios al final del periodo larvario. Sin embargo, los resultados de actividad enzimática y de expresión de genes involucrados en la vía de señalización de la VD3 (*bmp-4*, *osteocalcina*, *vdrs* y *trpv6*) mostraron evidencias de problemas acontecidos durante el proceso de osificación, hecho que fue ratificado por el elevado porcentaje de larvas malformadas detectadas. Dichas deformaciones fueron principalmente kifosis, escoliosis, pugheadness y ligeras deformaciones de branchiostegal rays y de los elementos soporte de la aleta caudal. Un nivel de 19.2 UI VD3/g de dieta resultó ser el necesario para obtener una morfogénesis larvaria de lubina armoniosa.

Los resultados obtenidos sugieren que el nivel adecuado de VD3 para un óptimo desarrollo larvario se encuentra dentro de un rango restringido y variaciones sutiles pueden desencadenar disrupciones fisiológicas severas en cascada, (1) disrupción de la vía de señalización del *bmp-4*, (2) retraso de la maduración de las

Figura 1. Expresión relativa de *bmp-4*, *vdr-β*, osteocalcina y *trpv-6* (*ef-1*, gen de control interno) durante el desarrollo larvario de la lubina alimentada con diferentes niveles de VD₃. ANOVA de dos vías seguido del test Neman-Keuls cuando se encontraron diferencias significativas a $P < 0.05$. Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos de una misma edad y diferente número de asteriscos indica diferencias entre edades para un mismo tratamiento.



funciones intestinales, (3) generando consecuencias negativas sobre la absorción del calcio y mineralización ósea, (4) dando lugar a la aparición de malformaciones esqueléticas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado, en parte, por FINEFISH (Proyecto de Investigación Coordinado del VI Programa Marco de la UE, Contrato 012451) y realizado en IFREMER de Brest (Francia). M.J. Darias disfrutó de una beca post-doctoral de la Fundación Ramón Areces.

Bibliografía

- Villeneuve, L.A.N., E. Gisbert, J. Moriceau, C.L. Cahu y J.L. Zambonino-Infante. 2006. Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *British Journal of Nutrition*. 95(4): 677-687.
- Mazurais, D., M.J. Darias, M.F. Gouillou-Coustans, M.M. Le Gall, C. Huelvan, E. Desbruyeres, P. Quazuguel, C. Cahu y J.L. Zambonino-Infante. 2008. Dietary vitamin mix levels influence the ossification process in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*. 294: R520-R527.

Primeros resultados de la caracterización del contenido estomacal de juveniles 0+ de atún rojo *Thunnus thynnus*

F. de la Gándara¹, A. Ortega¹, A. Belmonte², J. L. Varela³, A. Medina³,
F. Esteban¹, M. Pérez¹ y N. Morató¹

¹ Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía (IEO), Ctra. de la Azohía s/n, 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia) e-mail: fernando@mu.ieo.es

² Tuna Graso, S.A., Carretera de la Palma Km 7, Paraje la Estrella, Cartagena (Murcia)

³ Universidad de Cádiz, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Avda República Saharaui, 11510, Puerto Real, Cádiz

Abstract

Stomach contents from 19 dead young bluefin tuna were analyzed in the framework of the SELFDOTT project (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). The fish were captured close to Cartagena (Murcia-Spain) between the 3rd and the 16th of October 2008, using the «curricán» method (a Spanish term meaning to fish by trailing a baited line along behind a boat). The first stomach analyses show that cephalopods are the main prey (53% in weight 49% in number), followed by fishes (28%, 24%) and crustaceans (2%, 27%). The main prey species is the squid *Illex coindetti*.

Justificación

Uno de los objetivos del proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) financiado por el 7º PM de la UE, es el establecimiento de las bases necesarias para el desarrollo de alimentos adecuados desde el punto de vista de la eficacia, como del respeto al medio ambiente. Para avanzar en el conocimiento de los requerimientos nutritivos de una especie resulta de gran interés el caracterizar el contenido estomacal de individuos capturados del medio natural. Dado que los juveniles de atún rojo consumen presas de un tamaño importante, su clasificación en grupos taxonómicos resulta relativamente sencilla (Sinopoli et al, 2004)

Material y Métodos

Entre el 3 y el 16 de Octubre de 2008 se capturaron 19 juveniles 0+ de atún rojo mediante el método del curricán cerca de las costas de Cartagena (Murcia). Fueron inmediatamente sacrificados y una vez en tierra se procedió a tomar sus medidas, su peso y fueron congelados a -20 °C para su posterior análisis. Posteriormente en el laboratorio, y una vez descongelados, se procedió a la extracción de las vísceras, del contenido estomacal, a la obtención de diferentes medidas, como tamaño y peso del estómago e intestino, el peso y el volumen de su contenido y a la determinación de los grupos taxonómicos presentes en los estómagos.

Resultados y Discusión

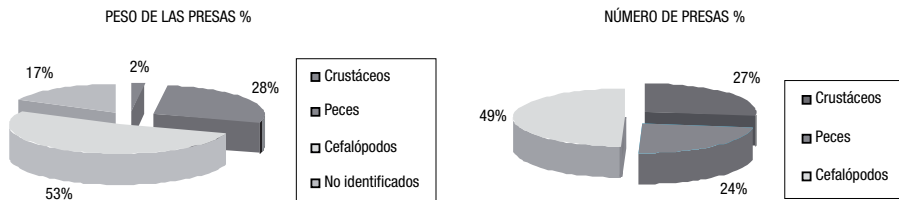
El peso de los 19 juveniles de atún rojo capturados osciló entre 546 y 1002 g con una media de 778,2 g (CV = 16,6%) y una talla a la horquilla entre 30,5 y 37,5 cm con una media de 34,2 cm (CV = 5,7).

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos de tamaño del estómago y del intestino (vacíos) así como de su repleción. Ningún estómago apareció totalmente vacío. Los análisis estomacales muestran (Figura 1) que los cefalópodos constituyen la principal presa de los juveniles de atún rojo examinados (53% en peso y 49% en número), seguidos por los peces (28% en peso y 24% en número) y los crustáceos (2% en peso y 27% en número). La presa que aparece más frecuentemente es la pota *Illex coindetti*. No se observaron diferencias en el contenido estomacal, entre atunes de distintos tamaños.

Estos resultados son coincidentes con los obtenidos en otros trabajos sobre contenido estomacal de juveniles 0+ de atún rojo (Sinopoli *et al.*, 2004). En lo sucesivo, está previsto en el proyecto SELFDOTT continuar capturando juveniles de esta especie a fin de aumentar el conocimiento sobre este aspecto con el objetivo de formular una dieta artificial que satisfaga sus requerimientos nutritivos. Esto redundará en una reducción de la alimentación a base de pescado (pequeños pelágicos) y por tanto será más eficaz desde el punto de vista del respeto al medio ambiente.

Tabla 1. Medidas de tamaño (pesos vacíos) y repleción del estómago y del intestino de los juveniles de atún rojo analizados

	Estómago				Intestino			
	Peso (g)	Talla (cm)	Contenido (g)	Contenido (ml)	Peso (g)	Talla (cm)	Contenido (g)	Contenido (ml)
Min	12,7	10,0	2,5	1,5	1,0	13,0	0,3	0,6
Max	33,8	23,0	24,1	22,0	2,2	27,0	2,2	1,6
Media	22,0	12,0	11,5	9,4	1,6	23,0	1,3	1,2
CV%	26,6	22,2	53,2	61,3	21,2	17,4	37,4	26,6

Figura 1. Composición del contenido estomacal de los juveniles de atún rojo en % de número de presas y del peso de las mismas

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la tripulación del Sol de Levante, especialmente a Manolo Amat y a Vicente Iglesias por su inestimable ayuda en la captura, transporte y procesado de los juveniles de atún rojo. Este trabajo ha sido llevado a cabo con el soporte financiero del 7º Programa Marco de la Unión Europea, «Food, Agriculture, Fisheries and Biotechnology» del Proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). No refleja necesariamente el punto de vista de la Comisión Europea, ni anticipa de ninguna manera su futura política en este área.

Bibliografía

Sinopoli, M., C. Pipitone, S. Campagnuolo, D. Campo, L. Castriota, E. Mostarda y F. Andaloro 2004. Diet of young-of-the-year bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), in the southern Tyrrhenian (Mediterranean) Sea. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 310-313.

Captura y acondicionamiento de juveniles 0+ de atún rojo *Thunnus thynnus* en jaulas flotantes

F. de la Gándara¹, A. Ortega¹, A. Belmonte² y J. R. Prieto²

¹ Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía (IEO), Ctra. de la Azohía s/n, 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia) e-mail: fernando@mu.ieo.es

² Tuna Graso, S.A., Carretera de la Palma Km 7, Paraje la Estrella, Cartagena (Murcia)

Abstract

In the frame of the SELFDOTT project (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) 25 Young BFT 0+ were captured alive on the shore of Murcia (SE Spain) with the «curricán» method (a Spanish term meaning to fish by trailing a baited line along behind a boat). They were placed on board in cylindrical plastic tanks (1.45 - 1.65 m Ø, 1.20 m height, containing 1 200 litres of sea water), transported to the project facilities in El Gorguel (Cartagena, SE Spain) and then released in a circular 25 m-diameter floating cage which was 20 m deep. Whilst close to 50% of the captured fish arrived alive to the cage, the survival rate after one month in the cage was high (75%). The main mortality in this process was due to difficulties in freeing fish from the hooks, although the hooks were barbless. No Young BFT grouping was observed in any case, so it was impossible to use the purse seine method for massive capture as planned.

Justificación

Uno de los objetivos del proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) financiado por el 7º PM de la UE, es el establecimiento de las bases necesarias para el desarrollo de alimentos adecuados desde el punto de vista de la eficacia, como del respeto al medio ambiente. Para la consecución de este objetivo se tiene previsto en el Anexo Técnico del Proyecto, la captura de juveniles 0+ de esta especie en el medio natural y su ubicación en jaulas flotantes ubicadas en El Gorguel (Cartagena) y gestionadas por la empresa «Tuna Graso», participante en el proyecto. Estos juveniles serán adaptados a la alimentación con pescado crudo y posteriormente a la alimentación artificial con piensos formulados.

Material y Métodos

Para la captura de juveniles de atún rojo se planeó el uso de dos artes de pesca: el cerco y el curricán. Para el primero de ellos se contó con la participación de cerqueros comerciales. El plan trazado fue el de detectar cardúmenes de juveniles de esta especie, bien al amanecer tras la captura de cardúmenes de pelágicos (*Sardina pilchardus* y *Trachurus* sp.), bien navegando en las zonas en las que se preveía su existencia, y usando el sonar para su detección. Una vez fueran capturados, se contó con realizar la transferencia de los mismos a una jaula de transporte y el posterior remolque de la misma hasta las instalaciones del proyecto SELFDOTT en El Gorguel (Cartagena).

Para el segundo método (el curricán) se contó con la participación de barcos capaces de pescar con este arte consistente en arrastrar una o varias líneas provistas de anzuelos con señuelos plásticos a una velocidad de 6 nudos. Para no dañar a los ejemplares se utilizaron anzuelos sin muerte. Una vez capturados, se contó con ubicar a los atunes en cubas de plástico de 1200 litros de capacidad (1,45-1,65 m Ø, 1,20 m altura), según el método descrito en De la Gándara *et al.* (2007, 2008)

Resultados y Discusión

Debido a que no se detectaron cardúmenes de juveniles de atún rojo, el método de captura mediante arte de cerco y posterior transferencia resultó completamente ineficaz.

Con el arte de curricán se capturaron a lo largo del mes Octubre de 2009, 25 juveniles 0+ de atún rojo a unas 6 millas de distancia de la costa de Cartagena (Murcia). La temperatura del agua osciló entre 17-19°C. Los juveniles fueron transportados en los tanques de plástico descritos, desde las zonas de captura hasta las instalaciones del proyecto en El Gorguel (Cartagena). La duración del transporte osciló entre 1 y 6 horas. Los atunes fueron ubicados en una jaula flotante de 25 m de diámetro y 20 metros de profundidad, provista de un bolsillo de red de 2 cm de luz de malla. Para pasarlos del tanque a la jaula, se utilizó un salabre con red de caucho, ya que se ha constatado que este material produce un menor daño a los individuos. Los atunes se habituaron inmediatamente a la alimentación inerte, compuesta fundamentalmente

por sardina, *Sardina pilchardus*, caballa *Scomber scombrus* y estornino, *Scomber japonicus*, cortados en pedazos y distribuida a saciedad una vez al día.

Aunque sólo el 50% de los atunes capturados llegaron vivos a la jaula, la tasa de supervivencia tras un mes de cautividad en la misma fue alta (75%). La principal causa de mortalidad en el proceso fue la dificultad en liberar a los peces de los anzuelos, tras su captura, aunque estos no tuvieran «muerte». Se ha constatado así mismo que la mortalidad es prácticamente total si se sujeta a los juveniles para liberarlos del anzuelo, aunque sea ligeramente.

En estudios previos (de la Gándara *et al.*, 2007; 2008) en los que los juveniles de atún se transportaron a tanques en tierra, la mortalidad fue del 100% a las 72 horas de su ubicación en los mismos. Por tanto, el método descrito en el presente trabajo supone un avance importante en la puesta en cautividad de juveniles de esta especie.

Tal y como está previsto en el proyecto SELFDOTT, se procederá posteriormente a la adaptación a la alimentación con piensos formulados de los individuos ubicados en las jaulas, así como se realizarán pruebas para transportar algunos individuos adaptados a la cautividad, desde las jaulas hasta tanques en tierra ubicados en las instalaciones del IEO en Mazarrón.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la tripulación del Sol de Levante, especialmente a Manolo Amat y a Vicente Iglesias por su inestimable ayuda en la captura, transporte y procesado de los juveniles de atún rojo.

Este trabajo ha sido llevado a cabo con el soporte financiero del 7º Programa Marco de la Unión Europea, «Food, Agriculture, Fisheries and Biotechnology» del Proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). No refleja necesariamente el punto de vista de la Comisión Europea, ni anticipa de ninguna manera su futura política en este área.

Bibliografía

- De la Gándara, F., A. Ortega, A. Belmonte, E. Mariadolores y L. Bermúdez. 2007. Primeras experiencias en la adaptación de juveniles de atún rojo *Thunnus thynnus* (L. 1758) a la cautividad en instalaciones en tierra. En: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, Vigo: 823-826.
- De la Gándara, F., A. Ortega, A. Belmonte, E. Mariadolores y L. Bermúdez. 2008. Preliminary results of capture, transport and adaptation to captivity of young of the year bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). En: Proceedings of the EAS 2007, Estambul (Turquía):139-140.

Ritmos diarios de actividad locomotora y alimentación a demanda en pez cebra (*Danio rerio*)

A. del Pozo¹, J. A. Sánchez¹ y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia. España. E-mail: adelpozo@um.es

Abstract

A new demand-feeder has been successfully proved to be suitable to feed zebrafish. In this way, using this self-feeding device, we observed that this species fed mainly in the last four hours of the dark phase, and their locomotor activity was principally diurnal, but lower than when they were fed at a fixed time at midday. Both locomotor and feeding rhythms resulted endogenous when fish were able to self-feed. This study presents a new self-feeding system which can be used by small size fishes or larvae and juveniles of aquaculture species.

Justificación

El horario de comidas es un factor importante para la mejora de la acuicultura, ya que puede proporcionar beneficios en la adquisición y utilización de nutrientes (Sánchez-Vázquez y Madrid, 2001). Para su estudio es fundamental el desarrollo de sistemas de alimentación a demanda desde los estadios juveniles. Aquí se presenta un nuevo sistema diseñado para peces de pequeño tamaño, utilizando uno de los modelos animales más ampliamente estudiados, el pez cebra. Existe un profundo conocimiento en la cronobiología de esta especie, se ha investigado sobre los ritmos de locomoción diarios bajo alimentación automática y en ayuno (Hurd *et al.*, 1998; López-Olmeda y Sánchez-Vázquez, 2009), sin embargo no había sido posible estudiar la libre demanda del pez cebra, debido a que no existía ningún comedero a demanda con un diseño adecuado para peces que no disponen de mucha fuerza.

Material y Métodos

Ocho grupos de 20 peces se mantuvieron a 28°C en acuarios de 60 L, bajo condiciones de Luz:Oscuridad (LD) 12:12 h e intensidad de 400 lux. Fueron alimentados durante 10 días con un comedero automático 6h tras el encendido de las luces, y después 15 días mediante un nuevo sistema de alimentación a demanda empleando como sensor un haz infrarrojo con sensibilidad muy baja, el cual se activa cuando el pez interrumpe el haz, haciendo girar un comedero comercial (Figura 1). Los datos fueron registrados cada 10 min en un ordenador, y analizados posteriormente con un software de cronobiología *El Temps*®. Posteriormente se sometieron a pulsos de luz de LD 45:45 min para dilucidar el carácter endógeno de los ritmos.

Figura 1. Esquema del acuario con el sistema de comederos a demanda diseñado para este experimento y detección de la actividad alimenticia y locomotora

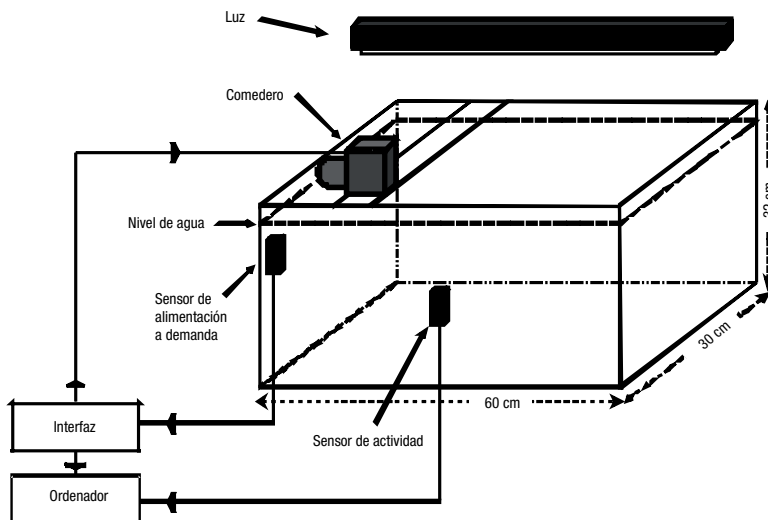
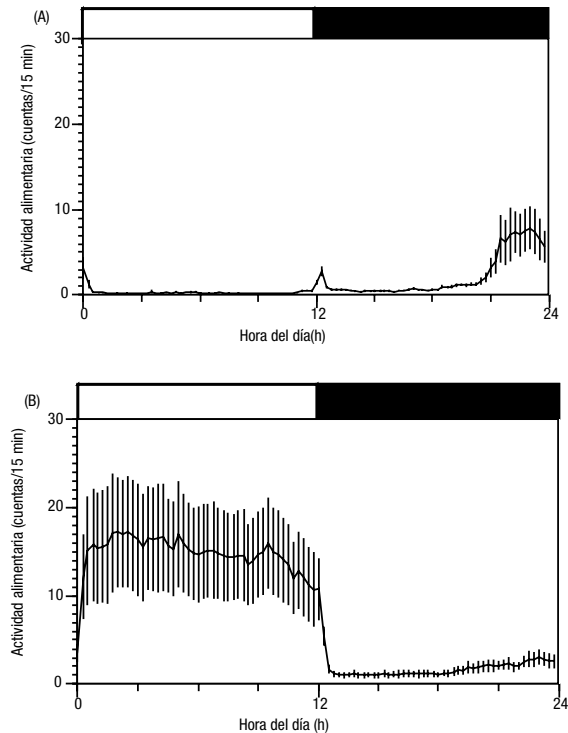


Figura 2. Ondas medias promedio de actividad de todos los acuarios bajo alimentación a demanda. Las barras superiores blancas y negras indican las horas de luz y oscuridad, respectivamente.
(A) Actividad alimentaria. (B) Actividad locomotora



Resultados y Discusión

El sistema de alimentación a demanda funcionó adecuadamente para la demanda de alimento de peces de pequeño tamaño. Bajo alimentación automática el pez cebra presentó un ritmo de locomoción diurno ($88,9\% \pm 9,1\%$, media \pm SEM), como ya había observado Hurd *et al.* (1998), sin embargo cuando se activó la demanda libre de alimento los peces mostraron un patrón menos diurno ($76,0\% \pm 20,6\%$, media \pm SEM) (Figura 2), dos acuarios tuvieron un patrón caótico e incluso uno resultó nocturno, apoyando el carácter dual de esta especie (López-Olmeda y Sánchez-Vázquez, 2009). El ritmo de alimentación cuando se les permitió comer libremente se manifestó nocturno ($86,0\% \pm 5,8\%$, media \pm SEM) centrado básicamente en las 4 últimas horas de la noche. La demanda libre de alimento fue mayor (5,61% de la biomasa del acuario) que la administrada en la alimentación automática (1,46% de la biomasa del acuario). Ambos ritmos se evidenciaron como endógenos, lo cual indican que son originados por factores internos de estos organismos.

Bibliografía

- Hurd M.W., Debruyne J., Straume M. and Cahill G.M. 1998. Circadian Rhythms of Locomotor Activity in Zebrafish. *Physiology & Behavior*. 65 (3): 465-472.
- López-Olmeda J.F. & Sánchez-Vázquez F.J. 2009. Zebrafish temperature selection and synchronization of locomotor activity circadian rhythm to ahemeral cycles of light and temperature. *Chronobiology International*. 26 (2): 200-218.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A. 2001. Feeding anticipatory activity in fish. En: Food Intake in Fish. Houlihan, D.F., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), Blackwell Science, Oxford: 216-232.

Engorde de pulpo común *Octopus vulgaris* en jaulas en la comunidad Canaria: efecto de la dieta y la densidad inicial

J. Estefanell¹, J. Socorro^{1,2}, J. Roo¹, M. Betancor¹, D. Negrín¹, T. Benítez-Santana¹, L. Rincón¹, R. Guirao³, H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde, Las Palmas

² IES Marítimo Pesquero de Las Palmas. Simón Bolívar, 15. E-35007 Las Palmas de Gran Canaria

³ CANEXMAR. Palangre s/n nave 1, Castillo del Romeral. San Bartolomé de Tirajana, Las Palmas

Abstract

Octopus vulgaris on-growing in floating cages is a promising activity implemented in Spain at industrial level, with productions of 16-32 tons/year from 1998. Nevertheless, some aspects of the culture system need to be evaluated to warrant its profitability. In the present work absolute growth rate (AGR, g./day) and mortality (%) under two initial rearing densities, 10 and 17 kg/m³, are compared under two feeding regimes over 4 months. One diet is composed by bogue, supplied as «discarded» species from local fish farms. The other diet is based on a 40-60% discarded bogue-crab *Portunus pelagicus*. 50% of octopuses were PIT-tagged and animals were sampled twice throughout the experimental period. Up to 3 months, growth was 19 and 13 g./day for the low and high rearing density regardless of dietary treatment. On the other hand, 7-12% mortality was found up to the 2nd month, increasing after then regardless of dietary treatment or rearing density, which suggest nutritional imbalance of the diets tested.

Justificación

El engorde de pulpos salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) y es una actividad en desarrollo a nivel industrial en Galicia. Sin embargo, para aumentar la rentabilidad de esta especie es necesario optimizar las condiciones de cultivo para maximizar el incremento de biomasa. Demostrada la viabilidad del cultivo de pulpo en Canarias mediante el uso de boga (*Boops boops*), proveniente de descartes de empresas locales de acuicultura (Socorro *et al.*, 2005), el presente trabajo evalúa el efecto de 2 dietas basadas en descartes y la densidad inicial de cultivo sobre el crecimiento y la mortalidad de esta especie.

Material y Métodos

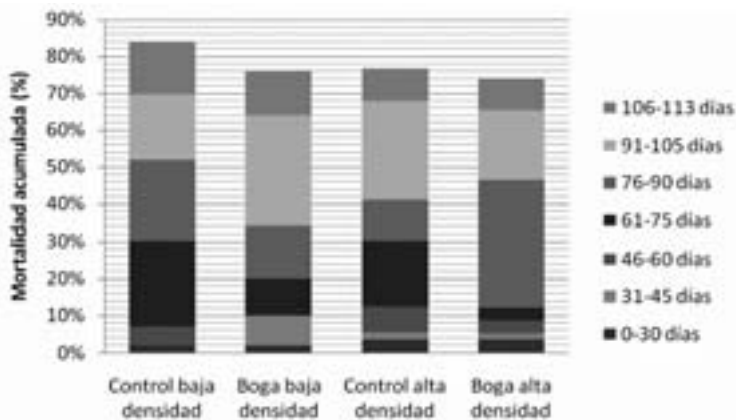
Se realizó un ciclo de engorde en 4 jaulas flotantes de 5 m³ (Socorro *et al.*, 2005). Se evaluaron 2 densidades iniciales de cultivo y 2 dietas, una a base de boga de descarte troceada y otra control (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte) (Tabla 1). La duración del ciclo de engorde fue de 15 semanas, aunque el 1er mes correspondió a la siembra escalonada de pulpos proporcionalmente en cada jaula, relación machos:hembras de 4:1. Se realizaron 2 muestreos intermedios de 20 ejemplares a las 7 y 11 semanas desde el inicio del acopio de pulpos. El 50% de los animales fueron marcados con un microchip subcutáneo (Estefanell *et al.*, 2007). La tasa de alimentación inicial fue el 6% para la boga y 10% para el cangrejo, ajustándose posteriormente según demanda. La temperatura y oxígeno disuelto medio fue de 19.4±1.5°C y 6.9±0.5 ppm respectivamente. Se calculó el incremento de peso diario hasta cada punto de muestreo (IPD=(P_t-P_i)/t), donde «P_t» es peso final, «P_i» es peso inicial y «t» es n° de días. La mortalidad se evaluó diariamente. La talla y densidad inicial al finalizar la siembra se calculó a partir de los datos de IPD en el 1er muestreo de los ejemplares marcados y teniendo en cuenta la mortalidad hasta ese día. Los datos de IPD de los ejemplares marcados se analizaron hasta el 2º muestreo.

Resultados y Discusión

La densidad de cultivo más baja en esta especie genera un IPD mayor (Rodríguez *et al.*, 2006). En nuestro caso, se observó una tendencia similar independientemente de la dieta, aunque no se encontraron diferencias estadísticas (Tabla I). Por otro lado, ni la dieta ni la densidad inicial de cultivo tuvieron un efecto sobre la mortalidad (Fig. 1), que se mantiene entre el 7 y el 12% hasta los 2 meses de cultivo, lo que concuerda con Socorro *et al.* (2005). A los 3 meses la mortalidad en ambas dietas ascendió al 34-52%, resultados similares a los tratamientos de alta densidad en Rodríguez *et al.* (2006) pero peores que los de baja densidad de dicho trabajo. Esto sugiere que la elevada mortalidad del presente estudio a partir de los 2 meses podría estar relacionada con un balance inapropiado de las dietas suministradas. En cualquier caso, los resultados ponen de manifiesto la alta rentabilidad de la dieta de descartes durante ciclos de engorde de dos meses.

Tabla 1. Condiciones iniciales de cada jaula y datos de IPD de pulpos marcados con PIT

Jaulas	Baja densidad		Alta densidad	
	Control	Boga desc.	Control	Boga desc.
N (1 oct.-1 nov.)	51	50	61	59
Peso (1 oct.-1 nov.) (g)	777±113a	769±156a	1220±174b	1249±252b
Peso (1 nov.) (g)	1068±180a	1054±205a	1444±235b	1581±284c
Densidad (1 nov.) (kg/m ³)	10.7	10.3	17.0	17.8
IPD 1. ^{er} muestreo (g/día)	19.7±7.7	20.1±8.0	21.4±7.5	18.5±5.0
IPD 2. ^o muestreo (g/día)	19.0±16.0	19.6±9.4	12.9±9.3	13.0±11.5

Figura 1. Mortalidad acumulada durante el cultivo

El marcaje individual permitió identificar individuos con crecimientos de 1600 g./mes, lo cual pone de manifiesto el elevado potencial del cultivo de esta especie. Sin embargo, la eficacia de este engorde debe partir de un acopio previo de ejemplares que permita sembrar tallas similares.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Bibliografía

- Estefanell J., Roo J., Socorro J., Alonso J. M., Suárez M., Fernández- Palacios H., Izquierdo M. S. 2007. Evaluación de dos anestésicos y metodología de marcaje individual con microchip subcutáneo (PIT) en *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). In: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658
- Rodríguez C., Carrasco J.F., Arronte J.C. y Rodríguez M. 2006. «Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juveniles ongrowing in floating cages». *Aquaculture*, 254 (2006): 293-300.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Evaluación de 2 sistemas de cultivo en pulpo común *Octopus vulgaris* en jaulas en la comunidad Canaria

J. Estefanell¹, J. Socorro^{1,2}, J. Roo¹, B. Ramírez¹, A. Makol¹, S. Torrecillas¹, D. Naranjo¹, R. Guirao³, H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde, Las Palmas

² IES Marítimo Pesquero de Las Palmas. Simón Bolívar, 15. E-35007 Las Palmas de Gran Canaria

³ CANEXMAR. Palangre s/n nave 1, Castillo del Romeral. San Bartolomé de Tirajana, Las Palmas

Abstract

Octopus vulgaris on-growing in floating cages is a promising activity implemented in Spain at industrial level, with productions of 16-32 tons/year from 1998. Nevertheless, some aspects of the culture system need to be evaluated to warrant its profitability. In the present work 2 rearing systems and 2 dietary treatments are evaluated. Individual and group rearing, in PVC net compartments and floating cages respectively, are compared under two dietary treatments. One diet is composed by bogue, supplied as «discarded» species from local fish farms, and the other is based on a 40-60% discarded bogue-crab *Portunus pelagicus*. All octopuses were PIT-tagged and the experiment lasted 2 months. Animals were sampled once throughout the experimental period and absolute growth rate (AGR, g/day) and mortality (%) were calculated. AGR of group rearing was above 30 g/day, however individual rearing showed 100% survival so biomass increment was higher. On the other hand, males grew more than females regardless of dietary treatment.

Justificación

A pesar de los prometedores resultados en el engorde de pulpos salvajes en jaulas flotantes (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) la elevada mortalidad es un factor determinante para aumentar la rentabilidad del cultivo de esta especie. El siguiente experimento parte de los resultados obtenidos por Socorro *et al.* (2005), que utilizó como dieta boga (*Boops boops*), procedente de descartes de empresas locales de acuicultura. Se pretende evaluar el efecto del sistema de cultivo, individual y grupal, sobre la mortalidad y el crecimiento, utilizando como alimento 2 dietas basadas en descartes.

Material y Métodos

Se realizó un ciclo de engorde en 2 jaulas flotantes (Socorro *et al.*, 2005) donde se evaluaron 2 sistemas de cultivo, individual y grupal. Para la prueba individual se aislaron 8 machos en compartimentos de malla de PVC (110 l) situados en los extremos superiores de cada jaula. Paralelamente, en cada jaula se introdujeron 32 pulpos, sex ratio machos:hembras de 1.5:1 y densidad inicial de 9.5 k/m³. Las condiciones iniciales se resumen en la tabla I. Se suministraron 2 dietas, una a base de boga de descarte troceada y otra control (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte). El stock de pulpos se agrupó en tanques rectangulares y todos los ejemplares fueron marcados con chip subcutáneo (Estefanell *et al.*, 2007). La duración del ciclo de engorde fue de 2 meses realizándose un muestreo intermedio de 15 ejemplares del cultivo grupal y los 8 compartimentos. La tasa de alimentación inicial fue el 6% para la boga y 10% para el cangrejo, ajustándose posteriormente según demanda. La temperatura y oxígeno disuelto medio fueron 18.3±0.3°C y 7.0±0.2 ppm respectivamente. Se calculó el incremento de peso diario (IPD=(P_f-P_i)/t), donde «P_f» es peso final, «P_i» es peso inicial y «t» es n.º de días y el incremento de biomasa (%). La mortalidad se evaluó diariamente.

Resultados y Discusión

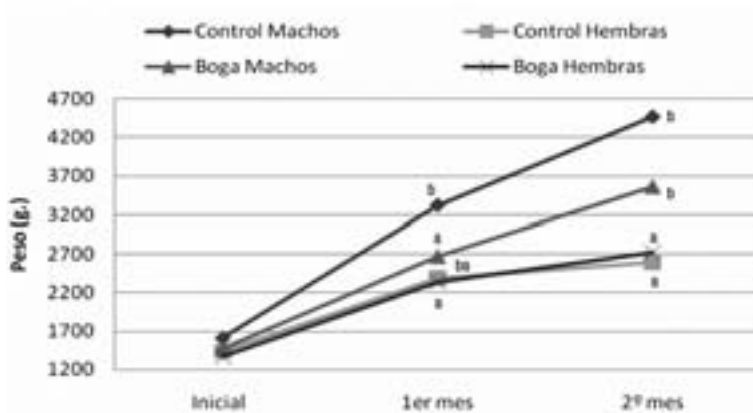
Ambos sistemas de cultivo dieron buenos resultados de IPD, superiores a Socorro *et al.* (2005) y Rodríguez *et al.* (2006), sin embargo la mortalidad registrada en el engorde grupal generó un menor incremento de biomasa (Tabla 1). En general el engorde grupal y la dieta control registraron mejores resultados de IPD, pero sin lograr diferencias estadísticas debido a la variabilidad en crecimiento de los ejemplares. Por otro lado, los machos mostraron un mejor crecimiento que las hembras (Fig. 1), lo que concuerda con Rey Méndez *et al.* (2003) siendo la mortalidad de ambos sexos similar. La supervivencia del 100 % en el engorde individual plantea nuevas opciones para mejorar la rentabilidad económica del cultivo de esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Tabla 1. Condiciones iniciales y datos de IPD, mortalidad e incremento de biomasa

Sistema de cultivo	Individual		Grupal	
Dieta	Control	Boga desc.	Control	Boga desc.
Peso inicial (g.)	1465±289	1451±247	1534±305	1432±220
Peso final (g.)	3329±580	2828±473	3716±1347	3257±795
IPD (g./día)	31.1±10.0	22.9±6.6	37.3±21.6	30.4±12.8
Mortalidad (%)	0	0	28.0	21.9
Incremento biomasa (%)	127.2	94.9	67.8	73.4

Figura 1. Comparación peso machos-hembras en cultivo grupal

Bibliografía

- Estefanell J., Roo J., Socorro J., Alonso J. M., Suárez M., Fernández- Palacios H., Izquierdo M. S. 2007. Evaluación de dos anestésicos y metodología de marcaje individual con microchip subcutáneo (PIT) en *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). In: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658
- Rey Méndez, M., Tuñón, E. y Luaces-Canosa, M. 2003. Estudio de los efectos de peso inicial y el sexo sobre comportamiento, la mortalidad y el crecimiento del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) en cultivo industrial. Actas IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz, mayo 2003.
- Rodríguez C., Carrasco J.F., Arronte J.C. y Rodríguez M. 2006. «Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juveniles ongrowing in floating cages». *Aquaculture*, 254 (2006): 293-300.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (Boops boops) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Pre-engorde de pulpo común *Octopus vulgaris* con 3 dietas basadas en descartes de acuicultura en la comunidad Canaria

J. Estefanell¹, J. Socorro^{1,2}, J. Roo¹, H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde, Las Palmas

² IES Marítimo Pesquero de Las Palmas. Simón Bolívar, 15. E-35007 Las Palmas de Gran Canaria

Abstract

On-growing of *Octopus vulgaris* fed different feeds has shown promising results. Nevertheless, in most trials initial culture size was above 800 g. and little research has been conducted in order to evaluate the effect of these diets on smaller individuals. The present work evaluates the effect of 3 diets based on bogue, obtained as «discarded» species from local fish farms, on ingestion and growth of *O. vulgaris* weighing 400 g. The 1st diet is composed by discarded bogue, the 2nd by a 40-60% discarded bogue-crab *Portunus pelagicus* and the 3rd is presented as a moist diet based on discarded bogue. A triplicate of four octopuses per treatments, male:female 1:1, were kept in circular 400 l tanks and fed each diet for 4 weeks. Absolute growth rate (AGR, g/day), standard feeding rate (SFR, %/day) and feed efficiency (FE) were calculated. The addition of crab to the diet increased SFR which underlines different feeding habits when compared with 0.8-1 kg octopuses. Worst growth and FE was recorded with the moist diet, probably due to high disintegration of this kind of feed.

Justificación

El pulpo común es una de las especies con gran potencial para diversificar la acuicultura marina (Iglesias *et al.*, 2004). El engorde de individuos salvajes en tanques y jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; García García y Cerezo Valverde, 2006; Estefanell *et al.*, 2008). Sin embargo, en estas experiencias la mayoría de los pulpos presentaron una talla inicial de cultivo superior a 800 g y hay muy poca información disponible sobre cultivo de tallas inferiores de pulpo común. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de 3 dietas basadas en boga (*Boops boops*), procedente de descartes de empresas locales de engorde de dorada, sobre ejemplares de pequeño tamaño previo a su engorde en artefactos flotantes. Una de las dietas será presentada en formato de pienso húmedo.

Material y Métodos

Las dietas ensayadas fueron boga de descarte troceada, una dieta control (40-60% boga descarte-cangrejo *Portunus pelagicus* troceado) y un pienso elaborado a partir de filetes de boga de descarte (Pienso BD). Para la elaboración de los piensos se utilizó el aglomerante Pokel Merly y Pokel Cals (Productos del Sur, S. A., Murcia), adaptando el protocolo establecido en Cerezo *et al.* (2008) a las características de las materias primas empleadas en nuestros ensayos. La dosis diaria de pienso fue presentada en raciones de 2x2x2±0.5 cm. Se emplearon tanques circulares, 3 tanques por dieta y 4 pulpos por tanque (machos:hembra 1:1). La experiencia se prolongó durante 4 semanas y la temperatura y oxígeno medio fue 21.5±0.7°C y 6.4±0.3 ppm respectivamente. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario (IPD=(P_f-P_i)/t), ingesta diaria estándar (IDE=Al*100/(t*(P_f-P_i))), índice de conversión (IC=Al/(P_f-P_i)), donde «P_f» es peso final, «P_i» es peso inicial, «t» es n.º de días y «Al» es alimento ingerido en g. La mortalidad se evaluó diariamente.

Resultados y Discusión

La inclusión de cangrejo se traduce en un mayor crecimiento de la dieta control, que sin embargo sólo presenta significación estadística respecto al pienso BD (Tabla I). El crecimiento generado por las dietas de boga de descarte es menor que el obtenido en pulpos de talla superior en engorde grupal (Estefanell *et al.*, 2008) e individual (Estefanell *et al.*, 2009), aunque en el caso del pienso BD fue similar al obtenido por otros autores (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008).

La ingesta en la dieta control fue del 46-54% boga de descarte-cangrejo. Sin embargo, la menor ingesta de las dietas basadas en boga de descarte respecto a la dieta control, a diferencia de lo observado en pulpos de mayor talla (Estefanell *et al.*, 2008; Estefanell *et al.*, 2009), pone de manifiesto que la presencia de cangrejo en la dieta de pulpos de menor talla estimula la ingesta (Tabla I). Los resultados sugieren diferentes requerimientos nutricionales en pulpos de 400 g.

El pienso BD presentó un mayor IC respecto a las otras dietas, y es consecuencia de la elevada disgregación de la mezcla tras las habituales disputas por el alimento en el engorde grupal, a diferencia de las experiencias

Tabla 1. *Peso inicial, IDE, IPD e IC durante 4 semanas*

	Boga descarte	Control	Pienso BD
Peso Inicial (g.)	403±128	422±122	411±114
IDE (%/día)	4,2±0,5 ^a	5,9±0,4 ^b	4,7±0,5 ^a
IPD (g./día)	10,8±3,7 ^{ab}	18,2±5,7 ^b	5,5±1,8 ^a
IC	2,1±0,3 ^a	2,0±0,3 ^a	4,0±0,6 ^b
Supervivencia (%)	75±25	92±14	92±14

realizadas en compartimentos individuales (Estefanell *et al.*, 2009). Este hecho pone de manifiesto la necesidad de mejorar las características físicas del pienso de esta especie para garantizar su ingesta total.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Bibliografía

- Cerezo Valverde, J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. y García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273
- Estefanell J., Socorro J., Roo J., Montero D., Ait Chattou M., Fernández-Palacios H. e Izquierdo M. S. 2008. Growth and fatty acid composition of *Octopus vulgaris* fed different diets based on bogue (*Boops boops*) in comparison to wild individuals. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, poster 27. June 1-5. Florianopolis, Brasil.
- J. Estefanell, J. Roo, J. Socorro, R. Guirao, H. Fernández-Palacios y M. Izquierdo. 2009. Efecto del origen y presentación de la boga en el engorde de pulpo común *Octopus vulgaris*. XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. *Aquaculture* 253, 502–511.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using Artemia and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481–487.
- Quintana, D., Domingues, P. y García S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatine and feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280:161-164.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Utilización de cangrejo y harinas en un pienso para pulpo común *Octopus vulgaris*

J. Estefanell¹, J. Socorro^{1,2}, J. Roo¹, D. Naranjo¹, A. Martín¹,
H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde, Las Palmas

² IES Marítimo Pesquero de Las Palmas. Simón Bolívar, 15. E-35007 Las Palmas de Gran Canaria

Abstract

From the promising results obtained in our research centre with an experimental moist diet based in discarded bogue (*Boops boops*), the present work evaluates whether the addition of 2 species of crab (*Portunus pelagicus* and *Grapsus grapsus*) as attractants (10%) may increase ingestion and growth in *O. vulgaris*, when confronted with a moist diet based on discarded bogue. Besides, another diet based on flour, made from discarded bogue and *G. grapsus*, was tested. Finally, a 40-60% discarded bogue-crab *P. pelagicus* was provided as a control diet. Four male octopuses, kept in PVC net cages in the same tank, were fed each diet for 8 weeks and several parameters were calculated: absolute growth rate (AGR, g./day), standard feeding rate (SFR, %/day) and feed efficiency (FE). The addition of crab to the diet under the conditions described did not improve ingestion, growth or feed efficiency in this species, while the flour based diet generated negative growth.

Justificación

El pulpo común es una de las especies con mayor potencial para diversificar la acuicultura marina (Iglesias *et al.*, 2004). El engorde de juveniles salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) y es una actividad implementada a nivel industrial en Galicia desde 1999, utilizando descartes de la pesca comercial como alimento. Sin embargo, la falta de un pienso específico para *Octopus vulgaris* limita la rentabilidad del cultivo de esta especie (García García y Cerezo Valverde, 2006). El presente trabajo, partiendo de un pienso experimental a base de boga (*Boops boops*) procedente de descartes de acuicultura, pretende evaluar si la inclusión de un 10% de cangrejo mejora la aceptación de la dieta, aumentando la ingesta y el crecimiento del pulpo común. Por otro lado, se evaluó la aceptación de una dieta fabricada a partir de harinas de las materias primas mencionadas, y su efecto sobre el crecimiento y la supervivencia.

Material y Métodos

En la elaboración de las dietas húmedas se utilizó únicamente filete de boga de descarte y partes blandas de cangrejo. Las harinas, por otro lado, se elaboraron a partir de materias primas enteras, desecadas a 40°C durante 24 horas y finalmente molidas. Se elaboraron 4 dietas: pienso BD (elaborado únicamente con boga descarte), pienso H (harina de boga descarte y harina de cangrejo *Grapsus grapsus*), Pienso BP (boga de descarte y cangrejo *Portunus pelagicus*) y Pienso BM (boga de descarte y cangrejo moro *G. grapsus*). Como control se utilizó una dieta con 40-60% boga descarte-cangrejo *P. pelagicus*, troceados. Cada dieta fue evaluada durante 8 semanas sobre 4 pulpos macho, mantenidos en tanques compartimentados (400 l por compartimento). La temperatura y oxígeno medio fue 18.4±0.4°C y 7.1±0.2 ppm respectivamente. Para la elaboración de los piensos se utilizó el aglomerante Pokel Merls y Pokel Cals (Productos del Sur, S. A., Murcia), adaptando el protocolo establecido en Cerezo *et al.* (2008) a las características de las materias primas empleadas en nuestros ensayos. La dosis diaria de pienso fue presentada en raciones de 6x6x6±1 cm. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario (IPD)=(P_f-P_i)/t), ingesta diaria estándar (IDE=Al*100/(t*(P_f-P_i))), índice de conversión (IC=Al/(P_f-P_i)), donde «Pf» es peso final, «Pi» es peso inicial, «t» es n.º de días y «Al» es alimento ingerido en g. La mortalidad se evaluó diariamente.

Resultados y Discusión

Bajo las condiciones descritas, la inclusión de un 10% de cangrejo respecto al pienso de boga de descarte no mejoró la aceptación del pienso, sin afectar significativamente la ingesta y el crecimiento de los ejemplares. El pienso fabricado a base de harinas generó un crecimiento negativo y fue el único que generó mortalidad durante el período de estudio. No hubo diferencias estadísticas entre las otras dietas experimentales y la dieta control en ningún parámetro evaluado (Tabla I). En el caso de los piensos fabricados

Tabla I. *Peso inicial, IDE, IPD e IC durante 8 semanas*

	Pienso BD	Pienso H	Pienso BP	Pienso BM	Control
Peso Inicial (g.)	1002±241	984±145	962±75	946±185	970±150
IDE (%/día)	2.9±0.4	3.1±0.6	2.5±0.2	3.0±0.7	2.3±0.8
IPD (g/día)	8.8±2.0b	-1.9±1.0a	6.8±1.6b	7.8±2.4b	8.2±1.5b
IC	3.5±0.7	—	3.7±0.5	4.0±1.2	2.8±0.5
Supervivencia (%)	100	75	100	100	100

con materias primas húmedas los crecimientos fueron similares a Cerezo Valverde *et al.* (2008) y Quintana *et al.* (2008). La dieta control generó un pobre crecimiento, quizás provocado por los valores de temperatura del agua anormalmente bajos durante el período de estudio, que podría haber afectado a los parámetros biológicos evaluados.

En base a estos resultados, las especies de cangrejo y las proporciones ensayadas no incrementaron la apetencia por del pienso del pulpo común, lo que plantea la necesidad de profundizar en la búsqueda de atrayentes para el desarrollo de piensos en esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Bibliografía

- Cerezo Valverde, J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. y García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273
- Estefanell J., Socorro J., Roo J., Montero D., Ait Chattou M., Fernández-Palacios H. e Izquierdo M. S. 2008. Growth and fatty acid composition of *Octopus vulgaris* fed different diets based on bogue (*Boops boops*) in comparison to wild individuals. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, poster 27. June 1-5. Florianopolis, Brasil.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing *Aquaculture* 253, 502–511.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using Artemia and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481–487.
- Quintana, D., Domingues, P. y García S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatine and feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280:161-164.
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C., Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile on growing in floating cages. *Aquaculture* 254, 293–300.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Evaluación de 2 sistemas de cultivo en pulpos macho *Octopus vulgaris*: efecto de la talla inicial y de la dieta

J. Estefanell¹, J. Socorro¹, J. Roo¹, R. Guirao², H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM & ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde, Las Palmas

² CANEXMAR. Palangre s/n nave 1, Castillo del Romeral. San Bartolomé de Tirajana, Las Palmas

Abstract

Octopus vulgaris on-growing in floating cages has shown promising results. Nevertheless, some aspects of the culture system need to be evaluated to warrant its profitability. In the present work individual and group rearing, in PVC net compartments and floating cages respectively, are compared under two dietary treatments. One diet is composed by bogue, supplied as «discarded» species from local fish farms, and the other is based on a 40-60% discarded bogue-crab *Portunus pelagicus*. Besides, the effect of initial size is also evaluated. All octopuses were PIT-tagged and the experiment lasted 2 months. Absolute growth rate (AGR, g./day) and mortality (%) were calculated. Control diet generated higher growth rates and lower mortality which suggests different crab requirements at higher rearing temperatures. High mortality recorded in individual rearing could be related with high initial rearing density.

Justificación

El engorde de pulpos salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) aunque el efecto de algunos parámetros sobre la rentabilidad del cultivo de esta especie aún están en fase de debate. El siguiente experimento parte de los resultados obtenidos por Socorro *et al.* (2005), que utilizó como dieta boga (*Boops boops*), proveniente de descartes de empresas locales de acuicultura. Se pretende evaluar 2 sistemas de cultivo, individual y grupal, alimentados con 2 dietas basadas en descartes, sobre el crecimiento y la mortalidad de pulpos machos. Asimismo, una de las dietas se ensayó con pulpos en 2 intervalos de tallas.

Material y Métodos

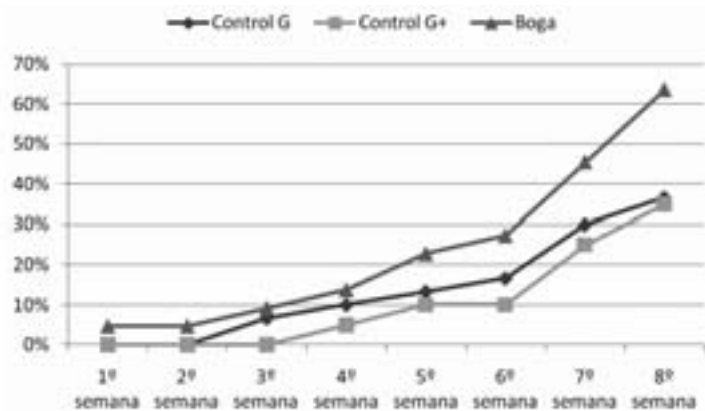
Se realizó un ciclo de engorde en 3 jaulas flotantes (Socorro *et al.*, 2005), donde se evaluaron 2 sistemas de cultivo, individual y grupal. Para la prueba individual se aislaron 8 machos en compartimentos de malla de PVC (110 l) situados en los extremos superiores de cada jaula. Paralelamente, en cada jaula se introdujeron un n.º de pulpos macho que ajustase la densidad inicial a 10 kg/m³. Se suministraron 2 dietas, una a base de boga de descarte troceada y otra control (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte) (Tabla I). Todos los ejemplares fueron marcados con chip subcutáneo (Estefanell *et al.*, 2007), seleccionándose individuos machos en 2 intervalos de talla, G y G+ (Tabla I). El stock de pulpos se agrupó en tanques rectangulares durante 1 mes para el tratamiento Control G y de 2-3 semanas para los otros 2 tratamientos. La duración del ciclo de engorde fue de 2 meses realizándose un muestreo intermedio del 60% del stock del cultivo grupal y los 8 compartimentos. La tasa de alimentación inicial fue el 6% para la boga y 10% para el cangrejo, ajustándose posteriormente según demanda. La temperatura y oxígeno se midieron diariamente. Se calculó el incremento de peso diario (IPD=(P_f-P_i)/t), donde «P_f» es peso final, «P_i» es peso inicial y «t» es n.º de días y el incremento de biomasa (%). La mortalidad se evaluó diariamente.

Resultados y Discusión

La dieta control generó un mayor crecimiento y una menor mortalidad que la dieta de boga a diferencia de experiencias previas realizadas a 18°C (Estefanell *et al.*, en preparación), sugiriendo un mayor requerimiento nutricional de crustáceos en pulpos de mayor talla cuando la temperatura de cultivo supera los 20°C. Los pulpos G+ presentaron un IPD y un incremento de biomasa superior a los individuos G (Tabla I), aunque el mayor tiempo de agrupación del stock del tratamiento G podría haber influido en el crecimiento así como en la mortalidad de este tratamiento. En general la elevada mortalidad registrada en los tratamientos con pulpos más grandes podría estar relacionada con la temperatura (Aguado and García García, 2002). La Fig. 1 muestra un aumento de la mortalidad en las últimas 2 semanas de cada tratamiento, que podría estar relacionado con una deficiencia nutricional de las dietas suministradas. Por otro lado, el engorde en compartimentos generó una elevada mortalidad, registrándose incremento de biomasa únicamente en el tratamiento control G. Esto sugiere que la densidad de cultivo superior a 20 kg/m³ en pequeños volúmenes

Tabla 1. Condiciones iniciales y datos de IPD, mortalidad e incremento de biomasa

Sistema de cultivo	Individual	Grupal	Individual	Grupal	Individual	Grupal
Dieta	Control G		Control G+		Boga	
Fecha siembra	16 abril		6 mayo		22 mayo	
N	8	30	8	20	8	22
Peso inicial	1608±231 ^a	1604±221 ^a	2341±245 ^b	2333±251 ^b	2153±294 ^b	2239±343 ^b
IPD (g/día)	17.4±5.2 ^a	24.6±17.7 ^a	—	47.0±18.9 ^b	16.8±5.1 ^a	16.2±12.4 ^a
Mortalidad (%)	25.0	36.7	100	35.0	75.0	63.6
Incremento biomasa (%)	20.7	9.7	negativo	27.5	negativo	negativo
Temperatura (°C)	19.3±0.8 ^a		20.5±1.3 ^{ab}		21.3±1.2 ^b	

Figura 1. Mortalidad a lo largo del ciclo de engorde

de confinamiento afecta a la supervivencia al compararlo con el cultivo grupal en jaulas (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR), 2007-2009.

Bibliografía

- Aguado F., García García B. 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquacult. Int.* 10, 361–377.
- Estefanell J., Roo J., Socorro J., Alonso J. M., Suárez M., Fernández- Palacios H., Izquierdo M. S. 2007. Evaluación de dos anestésicos y metodología de marcaje individual con microchip subcutáneo (PIT) en *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). In: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658
- Rodríguez C., Carrasco J.F., Arronte J.C. y Rodríguez M. 2006. «Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juveniles ongrowing in floating cages». *Aquaculture*, 254 (2006): 293-300.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Beneficios del ejercicio sostenido sobre el uso y destino de los carbohidratos de la dieta en la dorada

O. Felip¹, M. Martín-Pérez, A. Ibarz, J. Blasco, M. Jover² y J. Fernández-Borràs

¹ Departamento de Fisiología (Biología), Universidad de Barcelona, Diagonal 645, E-08028 Barcelona.

*E-mail: olga.felip@ub.edu

² Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022

Abstract

The objective of this study was to determine the benefit that moderate, sustained swimming produces on gilthead sea bream fed a diet rich in carbohydrates (40%). A group of fish forced to swim ($1.5 \text{ body length} \cdot \text{s}^{-1}$) for a month was compared with a control group (voluntary activity). By adding ^{13}C -starch and ^{15}N -protein to the diet, the fate and use of both nutrients in the main tissues and their components was analyzed. Glycaemia indicated that gilthead sea bream in both groups have a considerable capacity for carbohydrate absorption. However, ^{13}C in liver components showed higher retention levels in the exercised group. The isotope uptake also showed higher levels of dietary protein incorporation into white muscle during the entire post-prandial period. This indicates a protein sparing effect of carbohydrates under exercise. In conclusion, sustained swimming favoured a higher carbohydrate transformation, which resulted in higher protein deposition rates.

Justificación

La cantidad y composición de los carbohidratos de la dieta ha sido un motivo de controversia en la alimentación de los peces carnívoros. Recientemente, nuestros estudios en la dorada han puesto de manifiesto la elevada plasticidad de las reservas hepáticas (Ibarz *et al.*, 2007) y la importancia del glucógeno en ayuno, movilizándose en su totalidad y volviéndose a acumular en la realimentación. Por un lado, las fuentes de energía no proteicas pueden servir para ahorrar proteína de la dieta con finalidad energética («sparing effect»), destinándose mayor proporción al crecimiento que a la oxidación (Company *et al.*, 1999). Por otro lado, la actividad moderada y sostenida también se ha empleado en peces como otro método para mejorar, tanto el crecimiento, como las eficiencias de conversión del alimento (Jobling, 1993).

El objetivo del trabajo es determinar la mejora que una actividad natatoria sostenida tiene en la utilización de una dieta rica en carbohidratos digeribles en juveniles de dorada.

Material y Métodos

Doradas de 50 gramos, adaptadas durante un mes a las condiciones de estabulación del Servicio de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona, se distribuyeron en dos grupos (con 3 réplicas por grupo) con distinta actividad: el grupo control (C) sin actividad forzada, y el grupo de actividad sostenida (AS) nadando a 1,5 longitudes corporales/s. En estas condiciones se alimentó a los peces durante un mes a saciedad en dos tomas diarias con un pienso rico en hidratos de carbono altamente digeribles (CHO: 40,0%, Prot: 37,1%, Lip: 12,5%). Al final de este período se realizó un estudio post-prandial del destino de una ingesta de la dieta marcada mediante isótopos estables (C13 y N15).

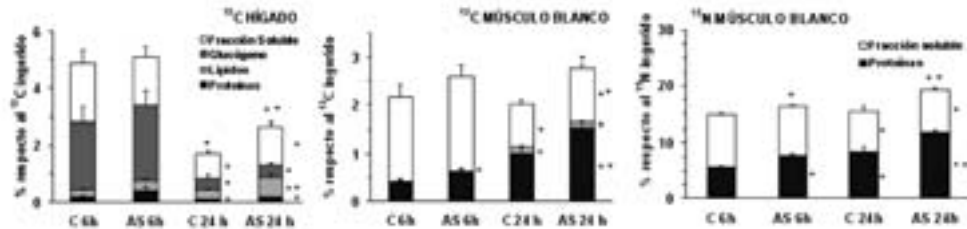
Protocolo experimental

Se administró un 1% de la ración marcada con 3% almidón- ^{13}C y 1% proteína- ^{15}N mediante una cánula gástrica y con los peces ligeramente anestesiados. Se sacrificaron 10 doradas de cada grupo a las 6 y 24 horas postingesta, y se obtuvieron muestras de sangre, hígado, músculo anterior, músculo posterior y paquete visceral. Se analizó la incorporación de ^{13}C en el total de cada tejido y en sus componentes principales, así como la de ^{15}N en el total y en la fracción proteica de cada tejido (por espectrometría de masas de relación isotópica, IRMS). También se analizó la glucosa plasmática y la composición tisular, glucógeno, lípidos y proteína).

Resultados y Discusión

El ejercicio sostenido durante un mes no produjo un aumento significativo en la ingesta (C: 3.56 ± 0.20 ; AS: 3.84 ± 0.033 peso corporal,), sin afectar a la tasa de crecimiento (C: 1.13 ± 0.19 ; AS: 1.32 ± 0.24 SGR%-día, NS). A las seis horas post-ingesta la glucosa plasmática presentaba un incremento transitorio igual para ambos grupos (C-6: 7.3 ± 0.58 (8); E-6: 7.2 ± 0.47 (9); C-24: 3.1 ± 0.21 (9); E-24: 3.4 ± 0.18 (7) mM),

Figura 1. Incorporación de ^{13}C -almidón y ^{15}N -proteína a los componentes tisulares de hígado y músculo blanco de doradas control (C) y en ejercicio (E) alimentados con dieta rica en carbohidratos (Valores son medias \pm e.s.m. de 10 animales)



evidenciando una elevada capacidad de absorción de los carbohidratos. La composición del hígado a las 6 horas post-ingesta fue muy similar en los dos grupos (control y ejercicio), pero a las 24 horas todas las reservas fueron significativamente mayores en el grupo de actividad sostenida. El músculo blanco presentó un contenido de proteínas muy similar en ambos grupos, pero los lípidos variaron acusadamente en el grupo de actividad sostenida (C-6: 3.68 ± 0.50 (9); E-6: 9.55 ± 1.24 (10); C-24: 6.9 ± 0.96 (10); E-24: 4.7 ± 0.42 (10) mg lípidos-100 mg m. f.)

Mediante el marcaje de isótopos estables se observó (Figura 1) que el hígado retiraba en ambos grupos una gran proporción de los carbohidratos ingeridos como glucógeno y también en la fracción soluble (metabolitos intermediarios), pero el ^{15}N de las proteínas ingeridas se incorporaba en una mayor proporción en los animales en actividad sostenida. En el músculo se observó una mayor incorporación de las proteínas de la dieta a las del animal en todo el periodo post-prandial, resultando una eficiencia proteica mayor en este grupo; en paralelo, se apreció menos incorporación del ^{13}C de los carbohidratos de la dieta, mayor grado de transformación de éstos a metabolitos libres y, sobre todo, mayor tasa de aminoácidos incorporados a proteínas en el grupo de ejercicio.

Todos estos datos revelan que el aprovechamiento de los carbohidratos de la dieta en la dorada es elevado, incluso en altos niveles de ingesta, pero la mayor transformación de los carbohidratos en actividad sostenida justifica la mayor deposición proteica.

Bibliografía

- Company, R., J.A. Calduch-Giner, J. Perez-Sanchez, y S. J. Kaushik, 1999. Protein sparing effect of dietary lipids in common dentex (*Dentex dentex*): a comparative study with sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources* 12:23-30.
- Jobling, M., 1993. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. *Fish and fisheries Series* 9, 1-44.
- Ibarz, A., J. Blasco, M. Sala-Rabanal, M. A. Gallardo, A. Redondo, J. Fernández-Borrás, 2007. Metabolic rate and tissue reserves in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) under thermal fluctuations and fasting, and their capacity for recovery. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64, 1034-1042.

Sensibilidad a diferentes dosis de vitamina A en la dieta en larvas de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) según su estadio de desarrollo

I. Fernández¹, F. Hontoria² y E. Gisbert¹

¹ IRTA, Centre de Sant Carles de la Ràpita, Unidad de Cultivos Experimentales, Crta. Del Poble Nou s/n, Apdo. Correos 200, 43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona-España). Tfno: 977 745 427. Fax: 977 744 138. E-mail: ignacio.fernandez@irta.es

² IATS, Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC) 12595 Torre de la Sal (Castellón-España)

Abstract

The sensitiveness of Senegal sole larvae to dietary vitamin A (VA) imbalance at different development stages was assayed by evaluating the growth (in length and weight), the survival rate and the typologies and incidences of skeletal deformities. Eight feeding regime groups were tested. Larvae were fed live preys enriched with experimental emulsions presenting different VA content at different age related development stages. Results showed that sole larvae presented a differential sensitiveness to VA dietary imbalance, affecting to growth, survival rate and the incidence of deformed fishes.

Justificación

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) viene siendo considerada desde los años 90 como una de las promesas para la diversificación de la acuicultura mediterránea (Dinis *et al.*, 1999), si bien diversos factores han impedido que su producción despegue de la centena de toneladas que hoy en día se comercializan en España (Informe APROMAR, 2008). Las deformaciones esqueléticas son uno de los factores más importantes que afectan a la rentabilidad y eficiencia económica en la producción acuícola, cuya incidencia en el lenguado puede ser de entre un 40 y 90% (Gavaia *et al.* 2002; Fernández *et al.*, 2009). La calidad de la producción larvaria viene determinada por diversos factores bióticos y abióticos (Lall y Mc Crea, 2007), entre los cuales la nutrición es uno de los más importantes. Pequeños desequilibrios nutricionales cuantitativos (cantidad de nutriente) y cualitativos (forma química del nutriente) durante el desarrollo larvario implican la aparición de malformaciones en el esqueleto.

La vitamina A (VA) es un nutriente que juega un papel crítico en los procesos de proliferación y diferenciación celular, crecimiento, desarrollo normal del esqueleto, etc (Ross *et al.*, 2000). El objetivo del presente trabajo es determinar la fase de desarrollo larvario de mayor sensibilidad a desequilibrios nutricionales de VA y determinar la frecuencia y tipología de deformación en base a la fase del desarrollo en la cual se ha producido dicho desequilibrio.

Materiales y métodos

Larvas procedentes de Stolt Sea Farm (Lira, Galicia) fueron aclimatadas y distribuidas a una densidad de $88,4 \pm 3,4$ larvas/litro en 24 tanques de 100 litros. Las condiciones de cultivo fueron: $18 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, pH 7,8-8,2, salinidad de $35,9 \pm 0,64\text{‰}$, fotoperiodo de 12L:12O, oxígeno disuelto $>6 \pm 0,85$ mg/litro, 500 lux de intensidad lumínica en superficie y renovación diaria del 20%.

La secuencia de alimentación fue la siguiente: Rotífero (3-10 días post eclosión, dpe), artemia (6-48 dpe) y pienso (Gemma Micro™ 42-55 dpe). Tanto el rotífero (*B. plicatilis*), como la artemia (EG, INVE-Bélgica) fueron enriquecidos con Easy Selco (ES), Easy Super Selco (ESS) o con ES suplementado con dos dosis de VA (10 y 50 veces el contenido de VA en ES), por medio de la adición de palmitato de retinol. Se evaluaron ocho regímenes nutricionales (Figura 1) por triplicado. A lo largo del cultivo larvario (10, 21, 41 y 55 dpe) se determinó el crecimiento en longitud estándar y peso seco, la supervivencia larvaria global, y la tipología y frecuencia de las malformaciones esqueléticas identificadas mediante la técnica de la doble tinción azul-alcáñ/rojo de alizarina. Los datos fueron comparados estadísticamente mediante un ANOVA.

Resultados y discusión

Al final del experimento, los individuos del T8 presentan una mayor longitud estándar y los del T5 son menores que el resto de tratamientos, si bien ésta no es significativamente diferente ($P > 0,05$). Sin embargo, en cuanto a peso seco, el T5 también presenta los individuos de menor peso a 55 dpe, siendo los del T3 los que presentan un peso superior al resto de grupos experimentales, detectándose diferencias significativas entre tratamientos. Ambos resultados de longitud y peso en el T5 se correlacionan con los obtenidos en

Figura 1. Esquema de los ocho regímenes nutricionales evaluados en el cual se indica la presa viva ofrecida, la emulsión utilizada en el enriquecimiento de esa presa viva y el periodo de desarrollo (dpe) durante el cual se ofreció en dicho régimen. R, rotífero; A, Artemia; P, pienso.

Tratamiento	Períodos de alimentación evaluados			
	3-10 dpe	11-21 dpe	22-40 dpe	41-55 dpe
T1	R-ES	A-ES	A-ES	A-ES + P
T2	R-ESS	A-ESS	A-ESS	A-ES + P
T3	R-ES10X	A-ES	A-ES	A-ES + P
T4	R-ES50X	A-ES	A-ES	A-ES + P
T5	R-ES	A-ES10X	A-ES	A-ES + P
T6	R-ES	A-ES50X	A-ES	A-ES + P
T7	R-ES	A-ES	A-ES10X	A-ES + P
T8	R-ES	A-ES	A-ES50X	A-ES + P

Nota, durante los periodos inicial (3-10 dpe) y final, la Artemia ofrecida fue enriquecida con ES

supervivencia, donde el T5 presentó la mayor supervivencia, influyendo por tanto en su menor crecimiento. Las tipologías de deformación esquelética identificadas son comunes a todos los tratamientos analizados, si bien las frecuencias de las mismas difieren entre los mismos.

En conclusión, se ha demostrado que las larvas de lenguado presentan sensibilidad diferencial a desequilibrios nutricionales de VA en función de su estado de desarrollo, siendo más sensibles a desequilibrios nutricionales de VA a etapas tempranas de desarrollo. Un incremento de VA en dieta de 10 veces, con respecto al contenido de ES, entre 11 y 21 dpe (T5) mejoró la supervivencia larvaria.

Agradecimientos

Los autores agradecen la ayuda técnica prestada por M. Monllaó, J. Canoura y M. Pimentel (IRTA) y a Ana Riaza (Stolt Sea Farm) por la cesión de las larvas. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MEC AGL2005-02478. I.F. ha disfrutado de una beca FPI - BES-2006-12650 del MEC.

Bibliografía

- Dinis, M.T., Ribeiro, L., Soares, F., Sarasquete, M.C., 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and Portugal. *Aquaculture* 176, 27–38.
- Lall, S.P., Lewis-McCrea, L., 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish, an overview. *Aquaculture* 267, 3-19.
- Fernández, I., Pimentel, M., Ortiz-Delgado, J.B., Hontoria, F., Sarasquete, C., Estévez, A., Zambonino-Infante, J.L., Gisbert, E. 2009. Effect of dietary vitamin A on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) skeletogenesis and larval quality. *Aquaculture* (in press).
- Gavaia, P.J., Dinis, M.T., Cancela, M.L., 2002. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 211, 305–323.

Efecto de la fitasa en la selección de dietas por la lubina (*Dicentrarchus labrax*)

R. Fortes-Silva, F. J. Martínez y F. J. Sánchez-Vázquez

Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 30100 Murcia.
E-mail:fortesrs@yahoo.com.br

Abstract

This study investigated the effect of phytase addition in selection food of Lubina. A total 114 lubinas with an average body weight of $30 \pm 0,2$ g were kept in six 150-l tanks equipped with two self-feeders containing two different diets each, so that they could select between them. The selection factors investigated were no phytase supplementation in diet plant vs fish meal diet (SM0 vs MF; T1), and phytase supplementation 1500 U/kg⁻¹ vs fish meal diet (SM1 vs MF; T2). No were observed difference in growth parameters of T1 and T2. However fish selected the MF rather than the no phytase added and no showed the selection patter between fish meal diet and diet with 1500 U/kg⁻¹. Adding phytase to the diets plant resulted in an increase acceptation for food. In short, Lubina fed using self-feeders appeared to adjust their feed demands of plant-based diets according to their composition in order to decrease antinutritional factors and/or improved digestibility.

Justificación

Las fuentes alternativas de proteína vegetal son las que más adecuan para la sustitución a la harina de pescado pues son más baratas Biswas *et al.*, (2007). Asimismo, las harinas vegetales presentan algunos factores antinutricionales, por ejemplo la utilización del fósforo que no puede ser totalmente absorbido por los peces ya que están en la forma de fitato, sustancia no digestible en el intestino de estos animales. Para que el fósforo esté disponible, es necesaria la presencia de fitasa, enzima no sintetizada por los animales monogástricos (Bock *et al.*, 2007). Otro problema del ácido fítico es la reducción de la digestibilidad de proteínas en peces formando complejo proteína-fitato resistente a digestión proteolítica Cheryan, (1980). Ese trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la enzima fitasa en el patrón de selección de dietas por la lubina utilizando dietas de alto contenido vegetal frente a dieta formulada con harina de pescado.

Material y métodos

Las tres dietas elaboradas para los tratamientos son: Dieta SM₀ y dieta SM₁, ambas las dietas con 70% de la proteína total proveniente de harina de soja. Se añadió fitasa en la cantidad de 1500 FTU/kg a la dieta SM₁. La otra dieta es la FM con 69% de la proteína proveniente de harina de pescado. Las dietas tenían el mismo contenido de proteína y energía. Así, 114 juveniles de lubina (*Dicentrarchus labrax*) con peso medio de $30 \pm 2,2$ g fueron distribuidas aleatoriamente en seis tanques de capacidad de 150 litros equipados con 2 comederos a demanda cada. Los peces fueron sometidos a dos tratamientos, en que el tratamiento T1 recibió pienso SM₀ mas FM y T2 recibió pienso SM₁ mas FM. Este estudio tubo un total de tres replicas por tratamiento, 19 peces por tanque y tres periodos (periodo 1; 0-15 días, periodo 2; 16-30 días y periodo 3 de 31-38 días). En cada periodo se han producidos los cambios de las dietas en los comederos I o II, de modo a cuantificar la real preferencia por las dietas. Los parámetros calculados para los tratamientos fueran: Tasa de crecimiento específico (TCE) = $100(\ln W_f - \ln W_i)/\Delta t$, donde W_f y W_i indican peso final y inicial (Kg) respectivamente y Δt el tiempo de experimentación. Conversión alimentaria (FCR) calculada como: $FCR = FD / (W_f - W_i)^{-1}$, donde FD es alimento total demandado en (Kg). Eficiencia alimentaria (AE) = GP/CA , donde GP = ganancia de peso total y CA = consumo de alimento total. Los datos son expresados como la media de los tratamientos y sus correspondientes errores estándar y fueron analizados utilizando test T Student ($P < 0,05$).

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra la cantidad de pienso demandado al diario de cada comedero de los dos tratamientos (T1 y T2) en los tres periodos del experimento. Se observa claramente que los peces han elegido al pienso FM en el T1 donde la dieta SMO es la menos demandada ($P < 0,05$) en todo el periodo experimental. Pero en el T2, no hubo una preferencia clara entre los piensos SM₁ y FM, de forma que no hay diferencia significativa ($P > 0,05$) entre el consumo de los piensos demandados en el segundo y tercer periodo experimental. Si comparamos la dieta SM₀ con la SM₁, la fitasa ha producido una mejor aceptabilidad de la dieta vegetal probablemente debido a alguna mejora de palatabilidad o mismo mejora en los valores nutricionales.

Estudios con la fitasa confirman que al añadir la enzima ocurre un efecto sinérgico entre la digestibilidad de los nutrientes y desarrollo del crecimiento (Baruah *et al.*, 2007). Esa habilidad de los peces en elegir un

Tabla 1. Efecto de las dietas experimentales de los tratamientos T1 y T2 en el consumo por periodos, expresado en alimento demandado al diario (g)/peso corporal

Periodos		Tratamientos			
		T1		T2	
		SM ₀	FM	SM ₁	FM
1	I	1,73±0,33 ^b	—	3,15±0,31 ^a	—
	II	—	3,7±0,33 ^a	—	1,38±0,31 ^b
2	I	—	3,33±0,39 ^a	—	2,12±0,64 ^a
	II	1,36±0,39 ^b	—	2,29±0,63 ^a	—
3	I	1,63±0,41 ^b	—	2,04±0,61 ^a	—
	II	—	2,50±0,42 ^a	—	1,75±0,60 ^a

Letras distintas en el mismo periodo difieren significativamente por el test Student ($P < 0,05$).

Tabla 2. Efecto de las dietas de los tratamientos T1 y T2 en el crecimiento de la Lubina. Valores de las medias ($\pm S.D.$, $n = 3$ [numero de tanques por tratamiento]) de la media individual de peso corporal inicial y final, coeficiente de la variación del peso corporal ($CV_{final}/CV_{inicial}$), conversión alimentaria relativa (FCR), tasa de crecimiento relativo (SGR), eficiencia alimentaria (AE) y supervivencia

Parámetros de crecimiento	Tratamientos	
	T1	T2
Peso inicial (g)	30.23±2.3	31.33±3.3
Peso final (g)	42.5±4,8 ^a	44.9±3.7 ^a
FCR (Kg)	2.66±0.8 ^a	2.88±0.9 ^a
SGR (% b.wt. day ⁻¹)	0.45±0.1 ^a	0.45±0.2 ^a
AE	0.38±0.03 ^a	0.35±0.02 ^a
Supervivencia (%)	100	100

Medias en la misma línea con letras iguales no difieren significativamente por el test de Student ($P < 0,05$).

alimento de mejor valor nutricional también fue cuantificada por Yamamoto et al, (2000), que trabajando con perfiles de aminoácidos para trucha (*Oncorhynchus mykiss*), observaron claramente a preferencia de esos peces por una dieta con aminoácidos balanceada rechazando la dieta no balanceada. En la Tabla 2, se muestra los resultados de los parámetros de crecimiento influenciados por la selección de dietas. Entre T1 y T2 no hubo diferencia significativa entre los parámetros analizados ($P > 0,05$).

Aunque el consumo de pienso añadido de fitasa se ha incrementado, no hubo diferencia significativa de los parámetros de crecimiento entre los tratamientos.

Concluyendo, las lubinas son capaces de detectar dietas de alto contenido vegetal añadidas de fitasa y aumentar su consumo posiblemente debido a mejora en los factores antinutricionales y/o la digestibilidad.

Agradecimientos

Proyecto financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (AGL2007-66507-C02/ACU) concedido a FJSV. Agradezco al programa ALBAN de la comunidad Europea por la beca doctoral concedida a RFS.

Bibliografía

- Baruah K, Sahu N P, Pal A K, Jain K K, Debnath D., Mukherjee S. C. 2007. Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of Labeo rohita (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. *Aquaculture Research*. 38: 109-120.
- Biswas A. K., Kaku H., Ji S. C., Seoka M., Takii K. 2007. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*. 267: 284-291.
- Cheryan, M.1980. Phytic acid interactions in food systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 13: 297-335.
- Yamamoto. T, Shima. T, Furuita. H, Shiraiishi M, Vazquez. F.J. S, Tabata. M. 2000. Self-selection of diets with different amino acid profiles by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture* 187. 375-386.
- Yoo G.Y., Wang X., Choi S., Han K., Chan Kang J, Bai S. C. 2005. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegelii* fed diets containing soybean meal. *Aquaculture* 243: 315-322.

Selección de dietas de distintas fuentes de lípidos utilizando comederos a demanda en la tilapia del Nilo

R. Fortes-Silva¹, F. J. Martínez¹, M. Villarroel² y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 30100 Murcia.
E-mail:fortesrs@yahoo.com.br

² Departamento de Producción Animal, ETSI Agronomía, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid

Abstract

The objective of this research was to evaluate if tilapia is able to discriminate between three hypocaloric diets elaborated with fish oil (P), soy oil (S) and linseed oil (L). Sixty males with an average body weight of 170,23±99,16g were kept in 150-l tanks equipped with three self-feeders containing three different diets, so that they could select between them. Two experimental phases were made. The fishes selected more ($p<0.05$) g/100g p. c. the diet L (2, 3) than the diet P (1, 8). A clear preference for the P and L diets than S (expressed as a percentage) became apparent after day 28 and increased gradually as the feeding trial progressed.

Justificación

Estudios utilizando el método de autoselección por comederos a demanda, permiten determinar las preferencias entre distintas fuentes de macro nutrientes (Rubio *et al.*, 2009) o mismo de lípidos (Geurden *et al.*, 2002), en que los peces diseñan sus propias dietas con base en sus exigencias nutricionales. El objetivo del presente trabajo ha sido el de evaluar se los peces son capaces de discriminar y seleccionar entre dietas de distintas fuentes de lípidos.

Material y Métodos

Noventa machos con peso de 170,23±99,16g fueron distribuidos en seis tanques de 150l cada. Tres comederos por tanque fueron instalados para medir el ritmo de alimentación. Tres dietas isocalórico y isoproteicas fueron formuladas con distintas fuentes de lípidos: aceite de pescado (P) aceite de soja (S) y aceite de linaza (L). Todas las dietas contenían 35% de proteína bruta, 21 MJ g⁻¹ de energía cruda y 12,1% de sus respectivos aceites. Cuando las demandas se produjeron estables, los piensos de cada comedero fueron cambiados para disminuir el efecto del comedero determinado así cada fase del periodo experimental. La selección de las dietas fue expresada en % (en gramos) de consumo. Los datos fueron analizados por el software estadístico SPSS.

Resultados y Discusión

Los peces han elegido L y P frente a S ($p<0,05$). Entre L y P hubo una preferencia por L ($p<0,05$). En un trabajo con trucha Geurden, *et al.*, 2009 observó que los peces eligieron aceite de linaza y girasol,

Figura 1. Efecto de las distintas fuentes de lípidos en el patrón de selección dietaria, para la tilapia del Nilo en dos fases, fase 1 (1 al 20 días) y fase 2 (21 al 45 días) expreso en % (en gramos) del consumo considerando en 100% la totalidad de las dietas

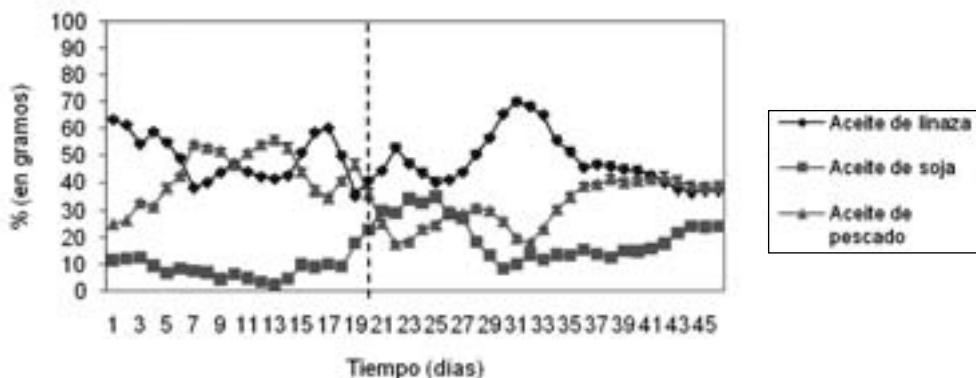
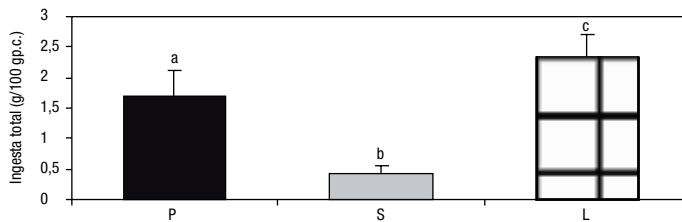


Figura 2. Ingesta total de las dietas de distintas fuentes de lípidos, pescado (P), soja (S) y linaza (L) en todo periodo experimental. Letras distintas indican diferencia estadística por el teste de Student ($p < 0,05$)



disminuyendo sus demandas en 30 y 25%, respectivamente, frente a una dieta elaborada con aceite de pescado (Geurden *et al.*, 2002). El patrón de selección de las dietas puede ser debido a que el aceite de linaza puede provocar un mejor tránsito intestinal y tener una mejor digestibilidad comparado a los demás aceites (Geurden *et al.*, 2009).

En resumen, los peces seleccionan elevadas cantidades de las dietas con aceite de linaza y pescado frente a la dieta elaborada con aceite de soja. Los resultados indicaron una valiosa información de preferencias de dietas elaboradas con distintas fuentes de aceites, lo que proporciona una nueva herramienta para elaboración de piensos. Sin embargo en trabajos futuros hay que comparar el patrón de preferencia con los parámetros de crecimiento para determinar la/las fuente(s) y el nivel adecuado de aceite para la especie.

Agradecimientos

Proyecto financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (AGL2007-66507-C02/ACU) concedido a FJSV. Agradezco al programa ALBAN de la comunidad Europea por la beca doctoral concedida a RFS.

Bibliografía

- Geurden, I; Cuvier, A; Gondouin, E; Boujard, T. 2002. Capacity of rainbow trout to discriminate between fish oil and vegetable oil based diets (Abstracts). Paper presented at the X International Symposium on Nutrition & Feeding in Fish. NCMR: 36.
- Geurden, I., Jutfelt, F., Olsen, R., Sundell, K. S. 2009. A vegetable oil feeding history affects digestibility and intestinal fatty acid uptake in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry and Physiology. 152 552–559.

Selección de macronutrientes utilizando capsulas de gelatina en la tilapia del Nilo

R. Fortes-Silva¹, F. J. Martínez¹, M. Villarroel² y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 30100 Murcia.
E-mail:fortesrs@yahoo.com.br

² Departamento de Producción Animal, ETSI Agronomía, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid

Abstract

Macronutrient selection in fishes has been extensively investigated in laboratory studies, in which animals were allowed to select freely from single sources of protein, fat, and carbohydrate. Four diets were formulated to contain macronutrient: protein (P), fat (F) and carbohydrate (CH). In the phases 1 and 1.1, each colour was randomly confined into a different floating container and in each phase the capsules were offered in different position of container. In the phase 2 was designed to analyse the fish ability to discriminate macronutrient capsules when they are all presented together in a single position. Fish were offered the three colour macronutrient capsules all mixed into the same container. In the phase 2.1 were changing the colour associated to each macronutrient, so that former P capsules now contained CH, F capsules were filled with P, and former CH capsules now contained F. Macronutrient proportions are expressed in percent intake % (in grams), omitting all other components that are normally found in a fish diet. Gross energy intake (GE) was estimated using the following energy coefficients: 23.6 kJ/g for protein, 38.9 kJ/g for fat and 16.7 kJ/g for carbohydrate, and was expressed as kJ/100 g BW/day. Tilapia is able to select between individual macronutrients to discriminated to compose its own balanced diet. Selecting a mainly proteic diet composed by the proportions: 66,47% P, 18,07% CH and 13,23%F.

Justificación

La tilapia es la especie de mayor importancia en la acuicultura de agua dulce (Lv *et al.*, 2007) y saber el comportamiento alimentario de esta especie es de gran importancia para el cultivo. Selección de macronutrientes en peces han sido extensivamente estudiadas por varios autores con el objetivo de verificar la capacidad de los peces en diseñar su dieta con base en la exigencia nutricional. (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998; Rubio *et al.*, 2003; Vivas *et al.*, 2006). El objetivo del presente trabajo ha sido lo de evaluar la capacidad de la tilapia en seleccionar una dieta encapsulada con base en sus requerimientos nutricionales.

Material y Métodos

Un total de 13 machos con peso corporal de 109.56 ± 41.60 g fueron distribuidos individualmente en tanques de 50L. Tres dietas fueron formuladas y encapsuladas con macronutrientes: Proteína (caseína y gelatina, 5:1)(P), Lípidos (aceite de pescado y aceite de soja, 3:1)(F), carbohidratos (desxtrina)(CH). Todas las dietas aportaron las necesidades nutricionales de minerales y vitaminas. La dieta de aceite fue mezclada con dióxido de silicona (aceite y dióxido de silicona 3:1) para obtener una consistencia y permitir la confección de las capsulas. Las capsulas fueron fornecidas según al dibujo en la figura 1.

Figura 1. En la fase 1 y 1.1 los macronutrientes fueron ofrecidos en contenedores distintos pero en la 1.1 hubo una rotación de posición de modo a disminuir el posible efecto de preferencia de contenedores. En las fases 2 y 2.2 los macronutrientes fueron ofrecidas juntos, pero en la 2.2 el contenido de cada capsula fue cambiado. Del tanque 1 al 13 los macronutrientes fueron ofrecidos en colores distintos en cada fase para disminuir el efecto de preferencia del color

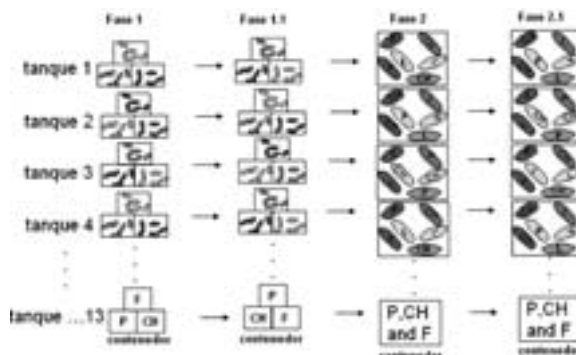


Figura 2. Selección de macronutrientes proteína (P, -◆-), lípidos (L, -■-) y carbohidratos (CH, -▲-) expresado en % (en gramos) en cuatro fases, fase 1 (1 a 10 días), fase 1.1 (11-20 días), fase 2 (21-30 días) y fase 2.1 (31-48 días)

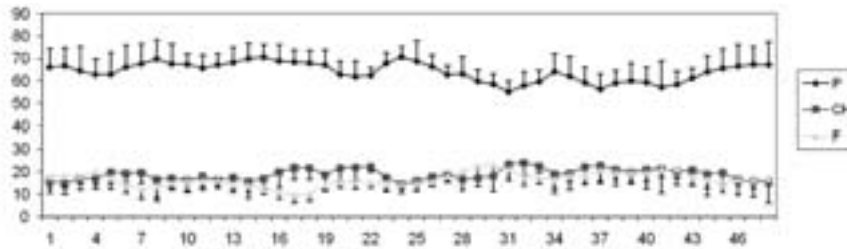
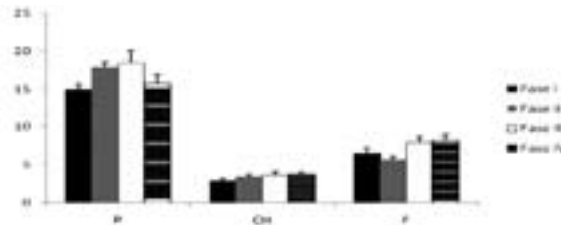


Figura 3. Media de energía seleccionada (% del total de macronutrientes). El cálculo de los coeficientes de energía han sido: 23,6kJ/g para P, 38,9kJ/g para L y 16,7kJ/g para CH. Letras distintas indica diferencia significativa entre los grupos de macronutrientes, $P < 0,05$ (ANOVA)



Resultados y Discusión

Los peces fueron capaces de diseñar una dieta de acuerdo con sus preferencias nutricionales (Fig. 2). El consumo de lípidos y carbohidratos si mantienen constante y parecido entre ellos. La fig. 3 expresa el consumo de energía en kJ/g.

Las porcentajes de macronutrientes seleccionados para la fase 2, donde el consumo fue mas estable, han sido de 66,47% P, 18,07% CH y 13,23% L respectivamente. Estos resultados fueron similares a los de (Almaida-Pagan, et al 2006) que trabajaron con una especie omnívora. Sin embargo estudios indican que la tilápia requiere entre 30-40% de proteína para la optimización del crecimiento y de la reproducción (Santiago *et al.*, 1985; De Silva y Radampola, 1990). Ese comportamiento de la regulación de la ingesta de proteínas cuando los peces tienen la posibilidad de seleccionar macronutrientes puros es complejo e independiente de receptores organolépticos (Almaida-Pagan, et al 2006), siendo necesario mas estudios en ese sentido.

La tilápia del Nilo es capaz de diseñar una dieta elaborada con macronutrientes encapsulados (sin tener contacto con las propiedades organolépticas del alimento) manteniendo la proporción de ingesta de energía proveniente de cada macronutriente y un patrón de ingesta de proteína.

Agradecimientos

Proyecto financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (AGL2007-66507-C02/ACU) concedido a FJSV. Agradezco al programa ALBAN de la comunidad Europea por la beca doctoral concedida a RFS.

Bibliografía

- Almaida-Pagan, P.F., Rubio, V.V., Mendiola, P., De Costa, Madrid, J.A. 2006. Macronutrient selection through post-ingestive signals in *sharp snout seabream* fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. *Physiology and behaviour*. 88:550-558.
- De Silva, S.S., Radampola, K., 1990. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of *Oreochromis niloticus*. In: Hirano, R., Hanyu, I. (Eds.), 2nd Asian Fish. Forum, Asian Fish. Society, Manila, Philippines. pp. 559- 563.
- El-Sayed, M., Kawann, M. 2008. Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture*. 280: 179-184.
- Santiago, C.B., Aldaba, M.B., Abuan, E.F., Laron, M.A., 1985. The effects of artificial diets on fry production and growth of *Oreochromis niloticus* breeders. *Aquaculture*. 47: 193- 203.

Selección dietaria, actividad locomotora y ritmo de alimentación en la tilapia del Nilo alimentadas con dieta vegetal suplementada con fitasa

R. Fortes-Silva¹, F. J. Martínez¹, M. Villarroel² y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 30100 Murcia.
E-mail:fortesrs@yahoo.com.br

² Departamento de Producción Animal, ETSI Agronomía, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid

Abstract

We explored the ability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to self-feed and make dietary selection using demand-feeders, and their daily feeding and locomotor activity patterns. Ten males with an average body weight of 163±50.2 g were individually kept in 50-l tanks equipped with two self-feeders containing two different diets, so that they could select between them. The selection factors investigated were the level of phytase supplementation (0 vs 1500 U/kg⁻¹; 1500 U/kg⁻¹ vs 4000 U/kg⁻¹) or sodium phytate (1% phytate vs 1% phytate + 1500 U/kg⁻¹ phytase). The results revealed a diurnal locomotor activity pattern with a peak around midday, while feeding occurred during the night with a peak after lights off. Nile tilapia fed using self-feeders appeared to adjust their feed demands of plant-based diets according to their composition in order to decrease antinutritional factors and/or improved digestibility.

Justificación

Las harinas vegetales contienen factores antinutricionales como el fitato que es una forma indisponible del fósforo. La fitasa es una enzima que actúa en la liberación del fósforo pero también influyó en la digestibilidad de proteínas y del alimento (Francis *et al.*, 2001). No solo las enzimas exógenas pueden afectar la digestibilidad e influir en el coste de producción en una piscifactoría, pero también es importante saber y cuantificar los ritmos de alimentación de los peces (Madrid *et al.*, 2001). El objetivo del presente estudio ha sido lo de investigar el ritmo locomotor la actividad alimentaria y analizar la capacidad de la Tilapia del Nilo en detectar la presencia de la enzima exógena fitasa suplementada en dieta con alto contenido vegetal.

Material y Métodos

Diez machos con peso de 163±50.2 g fueron distribuidos individualmente en tanques de 50l cada. Dos comederos y una fotocélula por tanque fueron puestos para medir el ritmo de alimentación y actividad locomotora en fotoperíodo de 12L: 12D. Una dieta basal D0 con 35%PB y 9,4 MJ/kg fue formulada y en seguida cuatro dietas más fueron formuladas con solo fitasa añadida (1500 U kg⁻¹; dieta D₁); (4000 U kg⁻¹; diet D₂); solo fitato añadido (1%; P₀) y fitasa mas fitato añadidos (1% fitato; 1500 U kg⁻¹; P₁). Los factores analizados fueron (D₀ vs D₁), (D₁ vs D₂) y (P₀ vs P₁). Cuando las demandas se produjeron estables, los contenedores de pienso fueron cambiados tras dos días de ayuno para disminuir el efecto del comedero determinado cada fase del periodo experimental. La selección de las dietas fue expresada en (% BW/day). Los datos de ritmo alimentario y actividad locomotora fueron analizados por el software (Temps, v.1, 179 by Dr. Díez Noguera, Barcelona) y el software estadístico SPSS.

Resultados y Discusión

Los actogramas indicaron un ritmo bastante marcado de ritmo alimentaria nocturna y actividad locomotora diurna (fig 1). Se observa un 93% de las demandas en el periodo nocturno en contraste con el patrón de actividad locomotora de 66,7% durante el día donde el pico de actividad se muestra en la mitad del periodo de luz. El patrón de actividad alimentaria nocturna no ha sido observado en tilapia por otros autores hasta ahora. Toguyeni *et al.*, 1997 observó una pequeña actividad de 20% en el periodo nocturno para la tilapia. Algunas especies pueden tener un comportamiento dual como la lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1994).

Los peces tuvieron una clara preferencia por las dietas que contenían fitasa. Incluso no teniendo diferencia significativa ($p < 0,05$) en la fase II, se observa un incremento en el consumo del pienso D1 en las fases I y III (tabla 2).

En la fase I el comedero A de los respectivos tratamientos (D₀ vs D₁), (D₁ vs D₂) y (P₀ vs P₁) contenían las dietas D₀, D₁ y P₀ y el comedero B contenía las dietas D₁, D₂ y P₁. En la fase II las dietas fueron cambiadas de sus respectivos comederos y en la fase III hubo un cambio más. Medias en la misma columna dentro de cada fase con letras distintas difieren estadísticamente por el T Student ($p < 0,05$).

Hubo una diferencia significativa ($p < 0,05$) por el consumo de D₁ frente a D₂ en las dos fases del experimento. Ese patrón de preferencia también se mantuvo cuando fue proporcionado a los peces seleccionar entre D₀ y

Figura 1. Actividad locomotora (A) y alimentaria (B). La barra negra representa el periodo nocturno y la barra blanca el periodo de luz

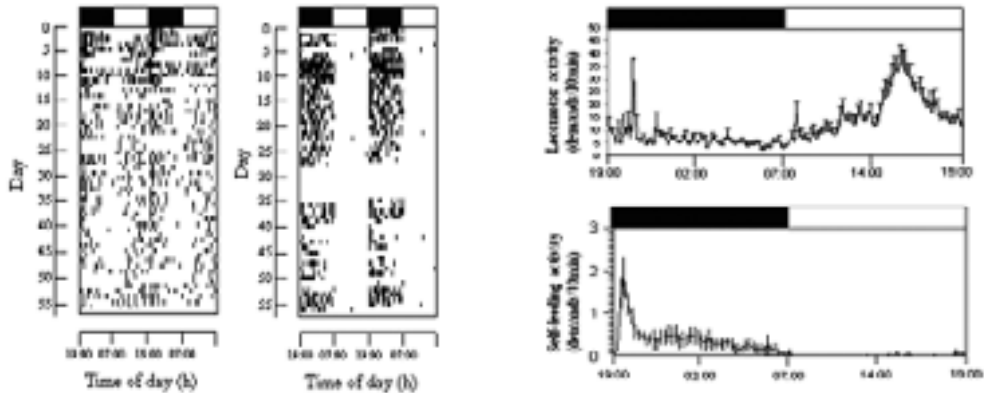


Tabla 2. Efecto de la fitasa en el consumo (g/100 g BW/day) en cada fase

Fases	Comed	Tratamiento		
		D ₀ vs D ₁	D ₁ vs D ₂	P ₀ vs P ₁
I	A	0,53a±0,01(D ₀)	0,73b±0,04(D ₁)	0,18a±0,01(P ₀)
	B	0,71b±0,05(D ₁)	0,26a±0,02(D ₂)	0,58b±0,05(P ₁)
II	A	0,99a±0,05(D ₁)	0,30a±0,04(D ₂)	0,54b±0,06(P ₁)
	B	0,73a±0,04(D ₀)	0,47b±0,05(D ₁)	0,39a±0,03(P ₀)
III	A	0,51a±0,05(D ₀)	—	—
	B	0,95b±0,07(D ₁)	—	—

D₂ con lo cual se produjo un efecto de rechazo del pienso añadido de fitato y un incremento de hasta 80% del consumo del pienso D₀. La preferencia por las dietas que contenían fitasa puede ser debido a la disminución de factores antinutricionales y/o mejora en la digestibilidad de las dietas. Según Bock *et al.*, (2006), la digestibilidad de la energía bruta mejora con la adición de fitasa (84.3% con 1500 U/kg⁻¹ y 80.3% con 4000 U/kg⁻¹). Furuya *et al.*, (2001) también observaron un incremento en la digestibilidad de proteína bruta para la tilapia del Nilo de 89,6% para 93,1% con 1500 U/kg⁻¹, y un pequeño incremento con 3000 U/kg⁻¹.

La tilapia del Nilo ha utilizado los comederos para ajustar las demandas alimentarias de acuerdo con la composición de las dietas probablemente debido a la disminución de factores antinutricionales y/o mejora en la digestibilidad provocada por la fitasa.

Bibliografía

- Bock, C. L., Pezzato, L. E., Cantelmo, O. Â., Barros, M. M., 2006. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-nilo. *Brazilian Journal of Animal Science* 35, 2197-2202.
- Francis, G., Makkar, H.P., Becker, K., 2001. Anti-nutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227.
- Furuya, W.M., Gonçalves, G.S., Rossetto, V., Furuya, B., Hayashi, C., 2001. Phytase as feeding for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): performance and digestibility. *Brazilian Journal of Animal Science* 30, 924-929.
- Madrid, J.A., Boujard, T., Sánchez-Vázquez, F.J., 2001. Feeding rhythms. In: Houlihan D, Jobling M, Boujard T, editors. *Food Intake in Fish*. Oxford7 Blackwell Science Ltd., pp. 189-215.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, M., Zamora, S., Madrid, J.A., 1994. Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behaviour in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology and Behaviour* 56, 789-794.
- Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fostier, A., Kuhn, E. R., Mol, K. A., Franc, J., Baroiller, O. 1997. Feeding Behaviour and Food utilisation in Tilapia, *Oreochromis niloticus*: Effect of Sex Ratio and Relationship with the Endocrine Status. *Physiology and Behavior* 62, 273-279.

Utilización de zooplancton (congelado y deshidratado) y de artemia (pequeña y grande) para el cultivo de paralarvas de pulpo *Octopus vulgaris*

L. Fuentes, F. J. Sánchez, J. J. Otero, M. J. Lago y J. Iglesias

Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Vigo. Cabo Estay.
Canido. Apartado 1.552. 36200 Vigo. lidia.fuentes@vi.ieo.es

Summary

Zooplankton was used as food for octopus paralarvae in 100 L tanks.

In a first trial dehydrated and frozen zooplankton were compared. Weights reached with frozen zooplankton (0.43 mg) were higher than those obtained with dehydrated (0.35 mg). Freezing at -80°C supplies a more suitable food.

In a second experiment 6 replicates using frozen zooplankton, 3 of them were provided with big artemia (AN, circa 1.5 mm TL) and the other 3 with smaller artemia (A1, circa 0.7 mm TL). There were no differences between both treatments at day 15; however dried weight at day 30 of paralarvae fed AN was significantly higher (1.12 versus 0.96 mg); consequently, A1 could be used until day 15, and then bigger preys are needed. Weights at day 30 are close to those reached by other authors in similar volumes.

Justificación

En esta experiencia se ha utilizado zooplancton (congelado y deshidratado) como alternativa a la utilización de zoeas vivas (probadas con éxito por Iglesias *et al.* 2004; Carrasco *et al.* 2003) para el cultivo de paralarvas de pulpo.

Material y Métodos

Captura de zooplancton. La captura fue realizada en la parte externa de la Ría de Vigo (NO de España), con una red de plancton de 2 m de diámetro de boca, 10 m de longitud y malla de 250 μm ; las pescas fueron horizontales de 10 min a una velocidad de 3 nudos. El zooplancton fue sometido a dos tratamientos: deshidratado a 35°C durante 24 h y congelado a -80°C .

Sistema de cultivo. Se utilizó un sistema de recirculación (10% de renovación día⁻¹) en tanques negros de 100 L cilindro-cónicos; un régimen de 12h luz (200 Lux en superficie); 12h oscuridad; entrada de agua por tubo perforado cada 3 cm colocado diametralmente en la superficie del tanque; temperatura de $22.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y 10 parlarvas L⁻¹.

Comparación zooplancton deshidratado versus zooplancton congelado. A cada uno de los tanques se le suministraron 30000 artemias día⁻¹, de 1.5 mm de LT, engordadas 4-6 días a 23°C con *Isochrysis galbana* y enriquecida 24h con *Nannochloropsis sp.* (AN). Seis réplicas se suplementaron con 400 mg diarios de zooplancton deshidratado y otras 6 con 3 mL de zooplancton congelado. Artemia y zooplancton fueron distribuidos en 4 dosis. Se determinó el peso seco de 15 paralarvas por tanque a día 0 y 11 de vida.

Utilización de zooplancton congelado y artemia (artemia 24 h, A1, versus artemia 1.5 mm enriquecida con Nannochloropsis sp., AN). Se realizó una experiencia con 6 tanques que recibieron un aporte diario de 3 mL de zooplancton congelado (aproximadamente 400 mg peso seco) repartido en 4 tomas; adicionalmente también se suministraron 30000 artemias en 4 tomas; en 3 de las réplicas se utilizó A1 y en las otras 3 AN. Se determinó el peso seco de 10 paralarvas de cada tanque a día 0, 15 y 30.

Los pesos obtenidos fueron comparados por medio de un análisis de varianza ($P < 0.05$).

Resultados y Discusión

Los resultados recogidos en la tabla I muestran que once días después de la eclosión, los pesos medios finales alcanzados con zooplancton congelado fueron significativamente más elevados ($P < 0.05$) que los de zooplancton deshidratado. Se concluye que el zooplancton congelado es más apropiado como complemento a la artemia utilizada en el cultivo de paralarvas de pulpo que el zooplancton deshidratado (resultado semejante fue obtenido por Domingues *et al.* (2009) para *Sepia officinalis*). El zooplancton congelado proporciona una dieta más asequible que las zoeas vivas de crustáceos y mantiene una composición nutricional semejante que cubre los requerimientos nutricionales de las paralarvas de pulpo.

Tabla I. Comparación de pesos secos de las paralarvas alimentadas con zooplancton deshidratado versus zooplancton congelado

	Peso seco (mg)	
	Día 0	Día 11
Zooplancton deshidratado	0.2996±0.0086	0.3485±0.0798
Zooplancton congelado		0.4318±0.0953

Tabla II. Comparación de pesos secos de las paralarvas alimentadas con zooplancton congelado y artemia A1 versus artemia AN

	Peso seco (mg)		
	Día 0	Día 15	Día 30
Artemia A1		0.5388±0.1076	0.9647±0.2584
Artemia AN	0.3367±0.0339	0.5802±0.1033	1.1168±0.2156

En todo caso, es necesario seguir afinando en aspectos tales como la flotabilidad de esta dieta inerte, la cantidad de alimento y el número de dosis suministradas.

La tabla II muestra los resultados referentes a la utilización de zooplancton congelado y artemia (A1 versus AN). El análisis estadístico no detecta diferencias significativas entre los pesos obtenidos a día 15 en ambos tratamientos, pero sí a día 30, a favor de las paralarvas alimentadas con AN. El uso de A1 durante los 15 primeros días de vida resulta más cómodo y rentable que usar artemia de engorde, sin embargo, a partir de ese momento las paralarvas necesitan presas de mayor tamaño. Sería interesante valorar las posibles diferencias a nivel bioquímico entre ambos grupos de paralarvas a día 15, así como su evolución en el tiempo (al mes de vida).

Los pesos a día 30 entran dentro de los márgenes de los valores aportados por otros autores al trabajar en volúmenes semejantes con otras dietas [Seixas (2009) con diferentes enriquecimientos para la artemia; Villanueva (1994) con zoeas vivas de crustáceos], pero son inferiores a los alcanzados en volúmenes mayores (ej. Moxica *et al.*, 2006).

Agradecimientos

Los autores desean dar las gracias a Mélanie Sahuquet, estudiante en prácticas de la EPHE (París) y de Concepto Azul (Ecuador), por su motivadora ilusión en el seguimiento de las experiencias.

Bibliografía

- Carrasco, J.F., C. Rodríguez y M. Rodríguez. 2005. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797), en tanques parabólicos de 30 l utilizando como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. En: *Libro de Actas IX Congreso Nacional de Acuicultura*, 191-194.
- Domingues, P., L. Márquez, N. López y C. Rosas. 2009. Effects of food thermal treatment on growth, absorption, and assimilation efficiency of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 17 (3): 283-299.
- Iglesias, J., J.J. Otero, C. Moxica, L. Fuentes y F.J. Sánchez. 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using Artemia and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquaculture International* 12: 481-487.
- Moxica C., L. Fuentes, J. Hernández, J. Iglesias, M.J. Lago, J.J. Otero y F.J. Sánchez. 2006. Efecto de *Nannochloropsis* sp. en la supervivencia y crecimiento de paralarvas de pulpo *Octopus vulgaris*. En: *IX Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. O Grove (Pontevedra).
- Seixas, P. 2009. Composición bioquímica y crecimiento de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) alimentadas con juveniles de Artemia enriquecidos con microalgas y otros suplementos nutricionales. Tesis Doctoral. Universidad Santiago de Compostela.
- Villanueva, R. 1994. Decapod crab zoeae as food for rearing cephalopod paralarvae. *Aquaculture* 128: 143-152.

Influencia de la composición de la dieta sobre la actividad enzimática digestiva del esturión *Acipenser naccarii* y de la trucha *Oncorhynchus mykiss*

M. Furné¹, M. C. Hidalgo¹, A. Domezain², M. García-Gallego¹, A. E. Morales¹ y A. Sanz¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada. anasanz@ugr.es

² Dpto. I+D Piscifactoría «Sierra Nevada», Riofrío (Granada)

Abstract

A study has been made of the possible adaptation of digestive secretions (amylase, lipase and protease activities) to the composition of the diet in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. We did not find in either species a relation between the protease secretion and the dietary-protein level. On the contrary, we did find a positive relationship between amylase secretion and the carbohydrate level in the diet for trout as well as lipase secretion and the lipid level in the sturgeon diet. It might be concluded that there was no adaptive response of the digestive secretions that correspond to the digestion of the nutrients having greater nutritive importance for the species: protein and carbohydrates for the sturgeon and protein and lipids for the trout. This could be because the physiology of the animal assures adequate digestion of the nutrients independently of the dietary level.

Justificación

Los peces pueden variar su tipo de alimentación en función de la disponibilidad de alimento en el medio natural (Chakrabarti *et al.* 1995). Estudios nutritivos realizados con diferentes especies de peces muestran una respuesta adaptativa de la actividad amilasa a los carbohidratos presentes de la dieta (De Almeida *et al.* 2006; Hidalgo *et al.* 1999; Ferro Corrêa *et al.* 2007). En referencia al carácter adaptativo de la actividad lipasa en relación a los lípidos suministrados existen estudios que muestran resultados contrarios en función de la especie de pez estudiada (De Almeida *et al.* 2006). Para la actividad proteasa, numerosos estudios muestra que no es inducible por un incremento de proteínas en la dieta.

La nutrición es uno de los principales problemas a solventar en el cultivo de una nueva especie. La trucha de la especie *Oncorhynchus mykiss* fue una de las primeras especies de peces cultivadas y por tanto la primera cuya nutrición fue extensamente estudiada. El esturión de la especie *Acipenser naccarii* está siendo objeto de nuestro estudio desde hace más de 15 años gracias a la estrecha colaboración que mantenemos con la empresa Piscifactoría Sierra Nevada (Riofrío, España). Entre ellos destacan aquellos que han dado lugar a la patente de dos fórmulas dietarias a dos edades diferentes (Sanz *et al.*, 2005). Continuando dentro de ésta línea de investigación encaminada a conocer mejor el esturión *A. naccarii* desde un punto de vista nutritivo, en este trabajo se pretende estudiar desde un punto de vista comparado con la trucha, si existe respuesta adaptativa de las secreciones digestivas en ambas especies de peces a la composición nutritiva de la dieta.

Material y Métodos

45 esturiones (*Acipenser naccarii*) y 45 truchas (*Oncorhynchus mykiss*) fueron alimentados con tres dietas experimentales en las que variaba la proporción de energía dietaria (%E) aportada por cada uno de los macronutrientes (%E total aportado por proteínas/grasas/carbohidratos; dieta CH: 37/29/24; dieta L: 37/44/19; dieta P: 46/28/25). Tras un ayuno de 48 h, fueron sacrificados y se les extrajo *in situ* el tracto digestivo completo, desde la boca hasta el ano, siendo sumergidos en nitrógeno líquido y conservados a -80 °C hasta posterior análisis. Tras el procesado del tejido se determinó la actividad de las enzimas digestivas amilasa, proteasa y lipasa. Los datos fueron analizados mediante el test estadístico de la varianza (ANOVA) y la dependencia entre dos variables determinada por el coeficiente de correlación de Pearson, ajustados mediante una regresión lineal.

Resultados y Discusión

Los resultados muestran una correlación lineal positiva entre el nivel de carbohidratos en la dieta y la actividad amilasa para la trucha, es decir, la mayor actividad amilasa se determinó para las dietas con mayores niveles de carbohidratos (CH y L), por lo que podría decirse que en esta especie existe una respuesta en las secreciones digestivas al nivel de hidratos de carbono en la dieta. Por el contrario, no se observó una adaptación a la mayor cantidad de carbohidratos en la dieta en el esturión, lo que podría deberse a

que el *pool* amilásico de esta especie de esturión sería suficiente para digerir el nivel de carbohidratos aportado por las tres dietas experimentales. En estudios anteriores y ante una misma composición de la dieta, hemos puesto de manifiesto el mayor *pool* amilásico digestivo del esturión en comparación con la trucha (Furné *et al.*, 2005) En cuanto a la actividad lipasa, es el esturión el que presenta una respuesta adaptativa, existiendo una correlación positiva entre el nivel de lípidos y la actividad, mientras que para la trucha el nivel de lipasas no muestra tal respuesta. La explicación para este hecho podría ser la misma que para la situación anterior en cuanto a que para la trucha puede que el nivel de lipasa secretado de manera constitutiva sea suficiente para digerir la grasa presente en los tres tipos de dietas suministradas. Ello vendría corroborado porque ante una misma dieta control el *pool* lipásico de las trucha es mayor que el del esturión (Furné *et al.*, 2005).

Con respecto al nivel de enzimas proteasas secretadas ante las diferentes dietas, no encontramos ninguna relación coherente que nos permita destacar la existencia de alguna tendencia. Podría asumirse que las proteasas son secretadas de manera constitutiva y que esté asegurada una buena utilización de la proteína por ambas especies independientemente del nivel de la misma aportada por la dieta.

En resumen, se podría pensar que no existe respuesta adaptativa en cuanto a la elevación de la actividad enzimática digestiva que corresponden con la digestión del nutriente con mayor importancia nutritiva para la especie ya que ante cualquier variación en la cantidad de ese nutriente en dieta no se impediría su correcta digestión debido a una necesaria y suficiente capacidad del equipamiento enzimático.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2001-2984 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- De Almeida, L.C., Lundstedt, L.M. & Moraes, G. (2006). Digestive enzyme response of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. *Aquaculture nutrition*, 12, 443-450.
- De la Herrán, R., Robles, F., Martínez-Espín, E., Lorente, J.A., Ruiz Rejón, C., Garrido-Ramos, M.A., Ruiz Rejón, M., 2004. Genetic identification of western Mediterranean sturgeons and its implications for conservation. *Conserv. Genet.* 5, 545-551.
- Ferro Corrêa, C., Aguiar, L.H., Lundstedt, L.M. & Moraes, G. (2007). Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 147, 857-862.
- Garrido-Ramos, M.A., Soriguer, M.C., de la Herrán, R., Jamilena, M., Ruiz Rejón, C., Domezain, A., Hernando, J.A., Ruiz Rejón, M., 1997. Morphogenetic and genetic analysis as proof for the existence of two sturgeon species in the Guadalquivir river. *Mar. Biol.* 129, 33-39.
- Hernando, J.A., Vasil'eva, E.D., Arlati, G., Vasiléva, Y.P., Santiago, J.A., Belysheva-Polyakova, L., Domezain, A., Soriguer, M.C., 1999. New evidence for a wider historical area of two species of European sturgeons: *Acipenser naccarii* and *Huso huso*. *J. Ichthyol.* 39, 803-806.
- Hidalgo, M.C., Urea, E., Sanz, A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170, 267-283.
- Sanz, A., García Gallego, M., de la Higuera, M., Domezain, J., Domezain, A., 2005. Pienso para la alimentación de esturión desde los seis meses de edad hasta tamaño comercial. Patente Universidad de Granada.

Influencia de la composición de la dieta sobre el estado oxidativo del esturión *Acipenser naccarii* y de la trucha *Oncorhynchus mykiss*

M. Furné¹, A. Domezain², M. García-Gallego¹, M.C. Hidalgo, A.E. Morales y A. Sanz¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada. anasanz@ugr.es

² Dpto. I+D Piscifactoría «Sierra Nevada», Riofrío (Granada)

Abstract

Enzymatic antioxidant activities (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase) and lipid peroxidation were determined in liver, red blood, white muscle and heart of trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sturgeon (*Acipenser naccarii*) feeding with three experimental diets, varying the proportion of dietary energy (%E) supplied by each of the macronutrients. In liver was found a variation in oxidative status in both species, with an increased in peroxidation lipid levels in diet rich in lipids and proteins. In red blood, heart and white muscle the parameters that determine lipid-peroxidation levels and antioxidant enzymes did not change in sturgeon and trout.

Justificación

El estrés oxidativo es una situación producida cuando existe un imbalance entre las defensas antioxidantes y los procesos oxidativos. La elevada cantidad de especies de oxígeno reactivas (ROS) presentes en situaciones de estrés oxidativo pueden provocar un daño tisular, afectando a las biomoléculas, que en el caso de los lípidos, podría cuantificarse por la formación de peróxidos (Halliwell y Gutteridge, 2000).

El esturión del Adriático (*Acipenser naccarii*) es una especie cuyo cultivo se está extendiendo por algunos países europeos como Italia y España. Esta especie migra estacionalmente desde los ríos Po, Ticino y Adige al mar Adriático (Clementi *et al.*, 1999). Estudios recientes han puesto de manifiesto que la distribución histórica de esta especie abarcaba también algunos ríos españoles (Garrido-Ramos *et al.*, 1997; Hernando *et al.*, 1999; De la Herrán *et al.*, 2004).

El objetivo principal de este trabajo es determinar los niveles de peroxidación lipídica y como se ven afectadas las actividades de enzimas antioxidantes en diferentes tejidos en esturiones alimentados con tres dietas experimentales con distintos niveles de macronutrientes. El estudio comparado en ambas especies ayudará a conocer mejor la fisiología de las mismas y en especial la de esta nueva especie introducida en la acuicultura.

Material y Métodos

45 esturiones (*Acipenser naccarii*) y 45 truchas (*Oncorhynchus mykiss*) fueron alimentados con tres dietas experimentales en las que variaba la proporción de energía dietaria (%E) aportada por cada uno de los macronutrientes. Tras un ayuno de 48 h, fueron sacrificados y se les extrajo sangre de la vena caudal mediante la utilización de jeringas heparinizadas. A continuación los distintos tejidos (hígado, corazón y músculo) fueron extraídos *in situ*, sumergidos en nitrógeno líquido y conservados a -80°C hasta posterior análisis. Tras el procesado de los tejidos se determinaron las actividades enzimáticas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR), junto con los niveles de peroxidación lipídica.

Los resultados se analizaron mediante el análisis de la varianza de una vía (ANOVA) y, en presencia de diferencias significativas ($P < 0.05$), las medias de los tratamientos se compararon mediante el test de Duncan

Resultados y Discusión

A nivel hepático es donde se aprecia una mayor influencia del estado oxidativo, siendo las dietas con mayor contenido en lípidos y proteínas las que presentan mayor peroxidación en ambas especies. Sin embargo, antes estas dietas, el comportamiento de las enzimas antioxidantes difiere entre especies, destacando un descenso de la actividad GPX y GR en la trucha y un incremento de la GPX en el esturión.

En glóbulos rojos, músculo blanco y músculo cardiaco, las diferentes dietas no producen una alteración destacable del estado oxidativo, ni en los niveles de peroxidación lipídica ni en las actividades enzimáticas determinadas.

Tabla I. Composición de las dietas experimentales

Composición aproximada	Dietas		
	CH	L	P
Proteína	39.22	40.90	46.58
Lípidos	25.10	29.66	17.50
Extracto libre de N	35.68	29.44	35.97
Energía total (MJ/kg)	25.58	26.72	24.42
Proteína/Energía (g/MJ)	15.33	15.31	19.08
% de energía total aportada por proteínas/lípidos/carbohidratos	37/29/24	37/44/19	46/28/25

En resumen, podemos decir que no existen alteraciones destacables del estado oxidativo en glóbulos rojos, músculo blanco, músculo cardíaco e hígado de la trucha y del esturión ante dietas con diferentes proporciones de macronutrientes. Posiblemente, se requieran alteraciones en la composición de la dieta más drásticas para que los resultados sean diferentes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2001-2984 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- De la Herrán, R., Robles, F., Martínez-Espín, E., Lorente, J.A., Ruiz Rejón, C., Garrido-Ramos, M.A., Ruiz Rejón, M., 2004. Genetic identification of western Mediterranean sturgeons and its implications for conservation. *Conserv. Genet.* 5, 545-551.
- Garrido-Ramos, M.A., Soriguer, M.C., de la Herrán, R., Jamilena, M., Ruiz Rejón, C., Domezain, A., Hernando, J.A., Ruiz Rejón, M., 1997. Morphogenetic and genetic analysis as proof. for the existence of two sturgeon species in the Guadalquivir river. *Mar. Biol.* 129, 33-39.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2000. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3ª ed. Oxford University Press, Oxford.
- Hernando, J.A., Vasil'eva, E.D., Arlati, G., Vasiléva, Y.P., Santiago, J.A., Belysheva-Polyakova, L., domezain, A., Soriguer, M.C., 1999. New evidence for a wider historical area of two species of European sturgeons: *Acipenser naccarii* and *Huso huso*. *J. Ichthyol.* 39, 803-806.

Influencia de la composición de la dieta sobre la actividad de diferentes enzimas del metabolismo intermediario en el esturión *Acipenser naccarii* y en la trucha *Oncorhynchus mykiss*. Estudio comparado

M. Furné¹, A. Domezain², A. E. Morales¹, M. C. Hidalgo¹, M. García-Gallego¹ y A. Sanz¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada. anasanz@ugr.es

² Dpto. I+D Piscifactoría «Sierra Nevada», Riofrío (Granada)

Abstract

The activity of key enzymes of the main metabolic pathways in the liver and white muscle, as well as the levels of plasma metabolites of sturgeon and trout feeding with three experimental diets have been evaluated. Only in trout, the diet produced a response of carbohydrates metabolism enzymatic activities in liver. Increase of carbohydrates in the diets produced an increase in hepatic lipids synthesis in trout. We corroborated that the liver is the main site for lipid storage in sturgeon which would be related to its lower capacity to transport metabolites involved in lipid metabolism. In resume, only enzymes involved in carbohydrates and lipids metabolism in liver as such as PK activity in white muscle are affected by diets carbohydrates level in trout.

Justificación

El cultivo del esturión *Acipenser naccarii* tiene un alto interés, tanto por aspectos biológicos debido a su posición evolutiva intermedia entre elasmobranchios y teleosteos, como por su valor comercial. El establecimiento de un régimen óptimo de alimentación es el principal aspecto a solventar para la producción exitosa de una nueva especie. En este trabajo se pretende evaluar la utilización metabólica de tres dietas experimentales mediante el estudio, de enzimas clave del metabolismo intermediario en el esturión *A. naccarii*, de manera comparada con la trucha *O. mykiss*.

Material y Métodos

45 esturiones (*Acipenser naccarii*) y 45 truchas (*Oncorhynchus mykiss*) fueron alimentados con tres dietas experimentales en las que variaba la proporción de energía dietaria (%E) aportada por cada uno de los macronutrientes. (%E total aportado por proteínas/grasas/carbohidratos; dieta CH: 37/29/24; dieta L: 37/44/19; dieta P: 46/28/25). Tras un ayuno de 48 horas, y previa anestesia y sacrificio de los animales, se procedió a la toma de muestras de sangre y tejidos. La determinación de la actividad de enzimas clave del metabolismo intermediario se realizó en muestras de hígado y músculo blanco, previamente procesadas para su análisis. Se determinaron las actividades enzimáticas siguientes: hexoquinasa (HK), fructosa 1,6-bisfosfatasa (FBPasa), 3-hidroxiacil CoA deshidrogenasa (HOAD), glicerol quinasa (GK), glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), enzima málico (EM), glutamato piruvato transaminasa (GPT), glutamato oxalacetato transaminasa (GOT), glutamato deshidrogenasa (GDH) y citrato sintasa (CS). Además de las actividades enzimáticas, se determinaron los niveles plasmáticos de proteínas, glucosa, lípidos totales, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL usando kits comerciales. Los resultados se analizaron mediante el análisis de la varianza de una vía (ANOVA) y, en presencia de diferencias significativas ($P < 0.05$), las medias de los tratamientos se compararon mediante el test de Duncan.

Resultados y Discusión

El hígado de truchas alimentadas con la dieta CH mostró una mayor actividad de la enzima gluconeogénica FBPasa, de las implicadas en el β -oxidación HOAD y de la GK, así como de las enzimas G6PDH y EM, junto con una menor actividad GOT y GPT. Así pues, el incremento de los hidratos de carbono en la dieta inducen un aumento de la actividad de las enzimas implicadas en el metabolismo de los lípidos e hidratos de carbono. Por el contrario, se aprecia un descenso de las enzimas implicadas en el metabolismo proteico GPT y GOT. El incremento de la actividad G6PDH con el aumento de los carbohidratos de la dieta indicaría una inducción de la lipogénesis hepática.

Estos resultados mostrarían que a nivel hepático en la trucha existiría una respuesta ante niveles de hidratos de carbono por encima de los considerados normales en su dieta. Por el contrario al no existir respuesta en la maquinaria metabólica del esturión antes estas circunstancias y habiendo demostrado en trabajos anteriores un mejor uso digestivo y metabólico de los hidratos de carbono por parte de esta última especie

(Furné *et al.*, 2005; 2008; 2009), nos hace pensar que la dieta considerada alta en hidratos de carbono para la trucha no es tal para el esturión.

En truchas encontramos una relación positiva entre la cantidad de lípidos aportados por la dieta y los niveles de triglicéridos plasmáticos. Asimismo, en la dieta con mayor nivel de lípidos, los lípidos totales, el colesterol total y el colesterol HDL fueron superiores en la trucha con respecto al esturión. Por otro lado, en esturión, dichos componentes plasmáticos no variaron con la dieta. El hecho de que el principal tejido de reserva lipídica en el esturión sea el hígado (Furné *et al.*, 2009), explicaría los menores niveles de lípidos circulantes en el esturión encontrados en ésta y en otras circunstancias. La mayor actividad HOAD y GK en el hígado del esturión alimentado con las diferentes dietas y puesta de manifiesto en trabajos anteriores indicaría el mayor uso de los lípidos hepáticos como combustible energético en esta última especie (Furné *et al.*, 2009).

A nivel muscular, la dieta CH indujo, en la trucha un incremento en la actividad glucolítica PK, lo que indicaría una mayor utilización de la glucosa por la trucha en estas circunstancias. Aunque no hay diferencias entre dietas, la actividad CS, fue superior en trucha, lo que estaría de acuerdo con una mayor actividad del animal (Furné *et al.*, 2009). No hubo diferencia entre especies en cuanto a la utilización de lípidos a nivel muscular, como lo muestra la semejante actividad HOAD.

En definitiva, sólo la dieta CH induce un aumento de actividad de las enzimas responsables de su utilización en el hígado y músculo de la trucha. Para el esturión, esta circunstancia no induce respuesta enzimática, probablemente debido a que en condiciones naturales la maquinaria metabólica esté capacitada para utilizar un mayor nivel de carbohidratos en la dieta.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2001-2984 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- Furné, M., Hidalgo, M.C., López, A., García Gallego, M., Morales, A.E., Domezain, A., Domezain, J., Sanz, A., 2005. Digestive enzyme activities in adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture* 250, 391-398.
- Furné, M., García-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Domezain, A., Domezain, J., Sanz, A., 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Physiology and Biochemistry* 149A, 420-425.
- Furné, M., Sanz, A., García-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Domezain, A., Domezain, J., Morales, A.E., 2009. Metabolic organization of the sturgeon *Acipenser naccarii*. A comparative study with rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 289, 161-166.

Estudio preliminar de la secreción biliar en el esturión *Acipenser naccarii*: aspectos comparados con la trucha arco iris (*O. mykiss*) y efectos de la composición de la dieta

M. Furné¹, C. Trenzado¹, M. J. Monte², J. J. G. Marín²,
A. Domezain³, A. Sanz¹, M. García-Gallego¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada. mfurne@ugr.es

² Dpto. Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca 3Dpto. I+D Piscifactoría «Sierra Nevada»

Abstract

This paper presents the first data never published about the gall bladder bile composition of the sturgeon *A. naccarii*, intensively cultured nowadays. Bile acids, cholesterol, phospholipids, pigments, and inorganic cations were determined. Bile from rainbow trout was used as a reference. Regarding organic components, sturgeon bile was less concentrated than trout one except for biliary pigments. Likewise, sturgeon bile seems to be less sensitive to dietary changes than trout one.

Justificación

Aunque recientemente el estudio de la secreción biliar en los peces se ha centrado en su papel como bioindicador de la presencia de agentes contaminantes en el medio o como vehículo de feromonas, es preciso considerar que junto a este papel excretor, la bilis tiene un importante papel digestivo centrado en los lípidos de la dieta (Sanz *et al.*, 1993; Ayree y Naa, 2006). La tendencia actual a incrementar el contenido graso de los piensos, obliga a considerar seriamente las capacidades digestivas de los peces para enfrentarse a dietas tan diferentes de las «naturales». El cultivo intensivo de esturiones, para producción y repoblación, se ha desarrollado en los últimos años de forma notable y así, nuestro país dispone del mayor stock mundial de *Acipenser naccarii* de cultivo. Por todo ello, y considerando las posibles mejoras de la alimentación en acuicultura, resulta de gran utilidad un conocimiento lo más completo posible de la fisiología digestiva de las especies en cuestión y su capacidad de adaptación a diferentes tipos de dietas. En la presente comunicación exponemos los resultados de un estudio comparado de la bilis vesicular de esturión, grupo con escasos estudios a este respecto (Tabada *et al.*, 1991), y trucha arco iris, referencia tradicional para cultivos de agua dulce de aguas templado-frías.

Material y Métodos

Para este estudio se usaron peces procedentes de Piscifactoría «Sierra Nevada» de los que se obtuvo una muestra de bilis vesicular por punción y succión con una jeringa. Las muestras de fueron rápidamente almacenadas, protegidas de la luz, a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta análisis. Para estudiar el efecto de la composición de la dieta sobre la de la bilis, se tomaron muestras de esturiones y truchas tras 90 días de alimentación con dietas diferentes (tabla 2). Métodos analíticos utilizados: Ácidos biliares (enzimático, 3α -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Talalay, 1960), Colesterol (Col) (kit comercial CHOD-PAP, Bradford), Fosfolípidos (PL) (kit comercial método Trinder, Kemia Científica), Cationes inorgánicas (espectrofotometría de absorción atómica), Bilirrubina (kit comercial, BLK), Biliverdina (colorimetría a 650 nm).

Resultados y Discusión

Llama la atención (Tabla 1) la menor concentración de ácidos biliares y los otros componentes principales de las micelas biliares mixtas (PL, Col) en el esturión lo que podría ser relevante pues se trata de los compuestos con función digestiva más clara. Ello coincide con una menor actividad lipásica intestinal en esta especie (Furné, 2005) lo que podría implicar diferencias interespecíficas en la capacidad de utilización de la grasa de la dieta, aunque ésta capacidad también depende de otros factores distintos de los comentados (tiempo de tránsito intestinal, volumen total de las secreciones digestivas, etc.).

En ambas especies, la bilirrubina es el pigmento predominante, aunque la relación BR/BV es mayor en la trucha, siendo también claramente mayor la concentración total de pigmentos en el esturión. Estos resultados apuntan, sin descartar posibles disparidades en la magnitud de los procesos de concentración vesical, a la existencia de diferencias en el catabolismo de la hemoglobina entre ambas especies. Por el contrario y, tal como ocurría con los ácidos biliares, los cationes inorgánicos predominantes, tanto en bilis como en otros líquidos extracelulares, estaban más concentrados en la bilis de trucha.

Tabla 1. Algunos componentes de la bilis vesicular de esturión y trucha (n = 6)

	Ác. Biliares (mM)	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Ca ⁺ (mEq/L)	Bilirrubina (BR) (mg/100mL)	Biliverdina (BV) (mg/100 mL)	Colesterol (mMol)	Fosfolípidos (mMol)
Esturión	251.9*±13.6	218.9*±11.0	4.5*±0.4	13.5*±1.1	28.0*±15.4	15.1*±0.9	0.4*±0.04	0.1*±0.02
Trucha	311.7±11.6	405.3±15.2	8.2±0.5	18.2±0.5	15.4±1.8	0.9±0.1	0.8±0.1	0.2±0.02

* Valores significativamente diferentes entre especies (P<0.05)

Tabla 2. Efecto de la composición de la dieta sobre la de la bilis vesicular de esturión (E) y trucha (T) Valores diferentes (P<0.05) entre especies (*) o entre dietas dentro de cada especie (a, b, c). (N=6).

Dieta (% prot/% lip/ % hidr. carbono)		Ác. biliares (mM)	Colesterol (mM)	Fosfolípidos (mM)	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Ca ²⁺ (mEq/L)
HC (39/25/36)	E	221.8±21.0	0.4*±0.04	0.1*±0.02	166.5*±15.0	2.4*±0.2	6.3*±0.8
	T	256.2a±18.4	0.7±0.1	0.3±0.03	402.9a±6.2	6.3a±0.2	10.6a±0.3
Dieta L (41/30/29)	E	212.8*±21.4	0.4*±0.1	0.1±0.04	174.0*±9.3	2.3*±0.1	6.4*±0.8
	T	289.5ab±16.5	0.8±0.06	0.2±0.01	476.2a±18.5	8.6b±0.3	12.5a±0.6
Dieta P (47/17/36)	E	207.05*±7.1	0.4*±0.04	0.08*±0.003	173.3*±5.3	2.5*±0.05	5.9*±0.6
	T	318.8b±12.9	0.8±0.1	0.23±0.02	610.4b±22.1	9.6c±0.5	17.6b±0.7

En términos generales (Tabla 2), la bilis del esturión no se vio afectada por los cambios de dieta, en cambio, en la trucha, los peces alimentados con la dieta más rica en proteínas muestran niveles mayores de ácidos biliares y cationes inorgánicas. Estos cambios no parecen relacionarse con un fenómeno concentrador general, puesto que las concentraciones de colesterol y fosfolípidos no se vieron afectadas. Son más marcadas las diferencias interespecíficas en línea con lo comentado antes: la bilis de trucha exhibe mayor presencia de todos los elementos, orgánicos e inorgánicos, considerados en este segundo experimento. El conjunto de estos datos preliminares y las diferencias encontradas nos estimulan a repetir y ampliar este tipo de estudios con estas y otras especies de peces cultivados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CGL2006-12193

Bibliografía

- Aryee, A. y Naa, A. 2006. Extraction, partial purification and characterization of the lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*). *Masters Abstracts International*, 45 (4), 109 p.
- Furné, M., Hidalgo, M.C., López, A., García-Gallego, M., Morales, A.E., Domezain, A., Domezain, J. y Sanz, A. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon, *A. naccarii*, and rainbow trout, *O. mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*, 250: 391-398,
- Sanz, A., Cardenete, G., Hidalgo, F. y García-Gallego, M. 1993. Study of biliary secretion in trout (*O. mykiss*) by cannulation of bile duct. *Comp. Biochem. Physiol.*, 104A: 525-529.
- Tabata, N., Sakai, T. y Fujii, K. 1991. Composition of bile pigments in the bile of sturgeon. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (3): 575.
- Talalay, P. 1960. Enzymatic analysis of steroid hormones. *Meth. Biochem. Ana.l.*, 8: 119-43.

Efecto del ayuno sobre el contenido en lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos del manto y glándula digestiva de *Octopus vulgaris*

S. García¹, I. Hachero-Cruzado¹, D. Garrido¹, C. Rosas², P. Domingues¹

¹ Centro IFAPA Agua del Pino. Carretera Cartaya-Punta Umbría, s/n. 21450 CARTAYA, ESPAÑA.
Email: sandra.garcia.garrido.ext@juntadeandalucia.es

² Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias – UNAM,
Puerto de abrigo s/n Sisal, Mpio. Hunucma, Yucatán, México

Abstract

The effects of starvation on lipids of mantle and digestive gland (DG) were determined. Composition in total lipids for the mantle was similar until day 21, decreasing afterwards. Composition in total lipids for the DG decreased significantly after three days, remained similar until day 21, and decreased until the end of the experiment. The main lipid classes in the DG were triglycerides and sterol esters. These two classes suffered strong reductions even after 3 days of starving. Cholesterol decreased gradually throughout the experimental period. Phosphatidyl choline and phosphatidyl ethanolamine increased during the first 3 days and then decreased throughout the experiment. For the mantle, only triglycerides and sterol esters decreased; no polar lipid classes decreased in this organ. It is noticeable the decrease in almost all fatty acids in the DG after 3 days of starvation, while in the mantle there were no differences in fatty acid concentrations throughout the experiment.

Justificación

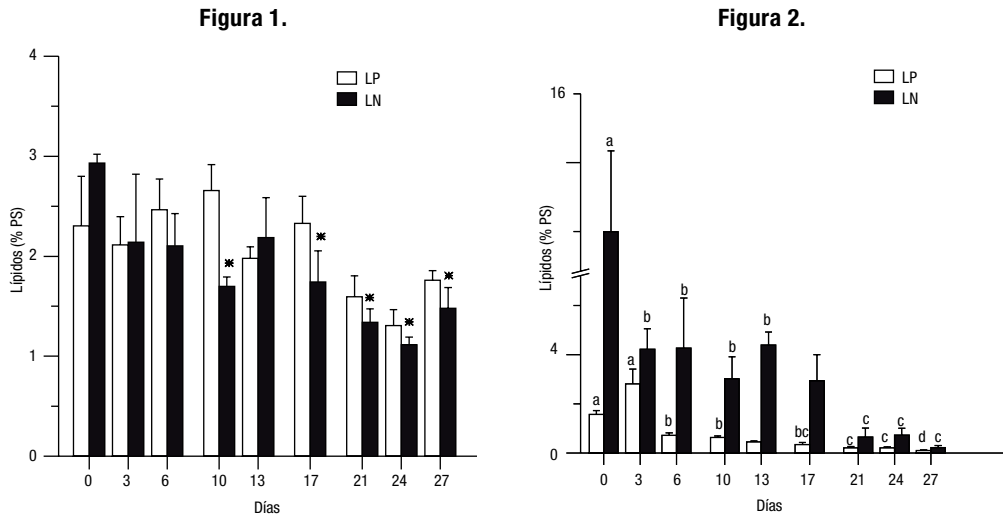
Uno de los principales factores que ha impedido el cultivo de cefalópodos a gran escala es la inexistencia de dietas artificiales que proporcionen buena aceptación y crecimiento (Domingues, 1999; Domingues *et al.*, 2005). La utilización de piensos preparados en sustitución de alimento natural (Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2006) aportaría una reducción de costes de hasta el 80%. En este trabajo, juveniles de pulpo fueron expuestos a un período prolongado de ayuno, para determinar como disminuyen las concentraciones de lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos en el manto y GD. De esta forma, la información obtenida podrá ser importante para determinar cuales son los componentes esenciales o limitantes, y desarrollar alimentos artificiales eficientes para esta especie.

Material y métodos

Los animales utilizados para el experimento (30 pulpos) fueron capturados en las costas de Huelva por medio de nasas y colocados individualmente en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de 25 L h⁻¹. Los animales se mantuvieron en ayuno hasta el final del experimento de 27 días. Los lípidos totales se extrajeron usando cloroformo:metanol (2:1 v/v) con 0,01% del antioxidante butil-hidroxitolueno (BHT) (Christie, 1982). Las clases lipídicas se cuantificaron por combustión incompleta con acetato de cobre (Olsen y Henderson, 1989). Los ácidos grasos se determinaron según Christie (1982).

Resultados y discusión

La composición en lípidos totales para el manto se mantuvo constante durante 21 días. Después la concentración bajó y se mantuvo constante hasta el final del experimento (Figura 1). Para la GD, los lípidos totales disminuyeron significativamente después de 3 días de ayuno, se mantuvo constante hasta 21 días y volvió a bajar hasta el final del experimento (Figura 2). Entre las clases lipídicas de la GD, las principales fueron triglicéridos (TG) y ésteres de esteroles (EE), que disminuyeron después de 3 días de ayuno, manteniéndose después constantes hasta los 17 días. A partir de aquí estas dos clases disminuyeron gradualmente hasta el final del experimento. También en este órgano la concentración de colesterol (CHO) disminuyó gradualmente durante el experimento. En relación con los lípidos polares (LP), las concentraciones de fosfatidil-colina y fosfatidil-etanolamina aumentaron en los primeros 3 días, y después disminuyeron gradualmente hasta el final del experimento. En el manto, las únicas clases lipídicas que sufrieron disminución en su concentración fueron los triglicéridos y ésteres de esteroles, mientras ninguna de las clases de lípidos polares sufrió disminución en este órgano. Es destacable que la gran mayoría de los ácidos grasos en la GD disminuyeron tras apenas 3 días de inanición, mientras en el manto éstos se mantuvieron constantes durante el experimento. Los valores se presentan en g GD⁻¹ para la GD y %peso seco⁻¹ para el manto.



El mantenimiento en el manto de LP y CHO podría deberse a su papel estructural. Por el contrario, los TG (que empiezan a disminuir a partir del día 21 de inanición) y los EE parecen tener una función de reserva energética. La estructura estable del manto a nivel lipídico es también corroborada por el mantenimiento de los ácidos grasos en este órgano durante los 27 días de inanición. En relación a la GD, se observa una considerable variabilidad lipídica incluso a corto plazo (3 días), principalmente en LT, TG, EE y todos los ácidos grasos, lo que indica su papel como órgano de reserva energética a corto plazo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto JACUMAR «Optimización del engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*)» (2007/2009) por la financiación para este estudio. Sandra García agradece al «Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria» (INIA) por la beca pre-doctoral nº 47 (BOE nº 308 26/12/2006).

Bibliografía

- Christie, W.W. 1982. Lipids analysis, 2nd edition. Oxford: Pergamon Press.
- Domingues, P. 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. PhD thesis, University of the Algarve, Portugal, 95 p.
- Domingues, P., V. Bettencourt y A. Guerra. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Millieu* 56(2): 109-120.
- Domingues, P., F. DiMarco, J. Andrade y P. Lee. 2005. The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 13 (5): 423-440.
- Lee, P.G. 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 25, 35-51.
- Olsen R.E. y R.J. Henderson. 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129(2):189-197.

Afectación del metabolismo hepático debida a la alimentación con una dieta altamente sustituida en aceite y harina de pescado en dorada

I. García-Meilán¹, J. M. Valentín¹, I. Navarro¹, J. Pérez-Sánchez² y M. A. Gallardo¹

¹ Departament de Fisiologia (Biologia), Universitat de Barcelona. Diagonal 645, 08028 Barcelona. España. mgallardo@ub.edu

² Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS, C.S.I.C.), Ribera de Cabanes. Castellón. España

Abstract

Sea bream juveniles were fed during 14 weeks with plant protein-rich diets that contained as lipid source or fish oil (FO) or vegetal oils (VO). After the growth trial, plasmatic ASAT, hepatic lipid and Na⁺/K⁺-ATPase were measured and hepatocytes metabolism was studied. VO fish versus FO fish showed a bigger liver that accumulate lipids and presented an up regulation of the ATPase activity, of 2-DG and 18:2n-6 uptake, and also in CO₂ and glycogen production from L-Ala. Beside the hepatocytes VO presented a smaller L-Phe uptake and a lower activity of the elongation/desaturation pathway from 18:3n-3. But not hepatic damage was found.

Justificación

El decremento de la disponibilidad de aceite y harina de pescado, junto con el incremento de la acuicultura (SOFIA, 2008), hace necesario buscar ingredientes alternativos como las harinas y aceites vegetales. El presente estudio determina si la sustitución total del aceite de pescado por ingredientes vegetales modifica la funcionalidad hepática cuando se utiliza una dieta rica en proteínas vegetales.

Material y Métodos

Se formularon 2 dietas isoproteicas e isoenergéticas con un 75% de sustitución de la harina de pescado por ingredientes vegetales (harina de gluten de maíz, soja y trigo extruido). En la dieta AP se utilizó aceite de pescado y en la dieta AV el aceite provenía de fuentes vegetales (aceites de colza, linaza y palma). Durante 14 semanas (mayo-septiembre) se alimentaron juveniles de dorada (peso inicial de unos 16 g) con uno de los dos piensos. Al final del periodo de crecimiento se tomaron muestras de sangre, para la determinación de la ASAT plasmática, y de hígado, para la determinación de los lípidos y de la actividad Na⁺-K⁺-ATPasa y para la realización de estudios histológicos. Se aislaron también los hepatocitos y se midió la captación de distintos nutrientes, así como la síntesis de proteína, la producción de CO₂ y glucógeno a partir de L-alanina (Santigosa *et al.*, 2005). También se determinó la actividad de la vía de elongación/desaturación a partir de linoléico (18:2n-6) o linolénico (18:3n-3) (Tocher *et al.*, 2004). Las diferencias (p<0.05) entre los dos grupos se determinaron mediante una t-Student. (SPSS 16.0).

Resultados y Discusión

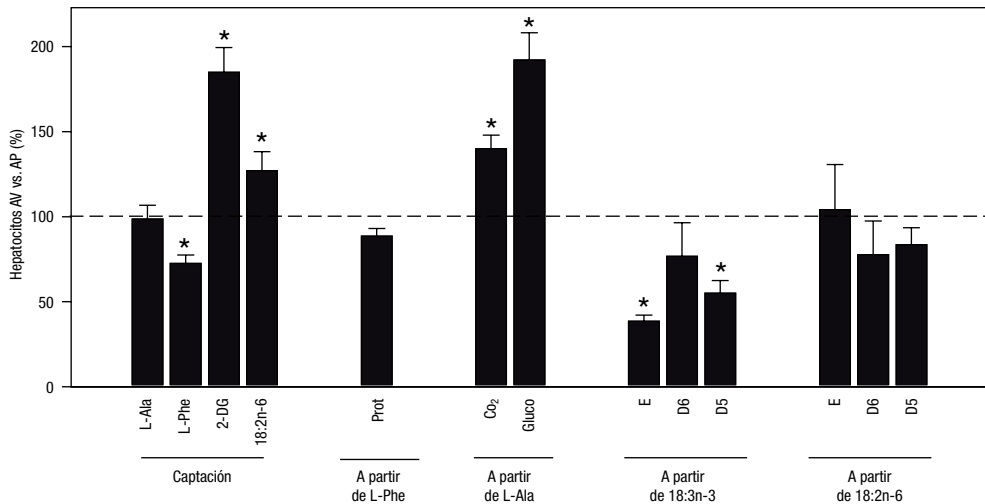
La Tabla 1 muestra que los animales AV presentaron, respecto a los AP, un menor crecimiento, que estuvo acompañado de un superior índice hepatosomático, una mayor actividad Na⁺/K⁺-ATPasa hepática, y una elevada cantidad de lípidos en el hígado. Este incremento de lípidos también se observó en cortes histológicos (fotos no mostradas) y no conllevó daño hepático, ya que los niveles de ASAT plasmáticos fueron bajos e iguales en las dos condiciones experimentales. Por otro lado, la figura 1 muestra que los hepatocitos AV presentaron, respecto a los AP, un decremento en la captación de L-Phe, concordante con la tendencia a disminuir que presentó la síntesis de proteína. A pesar de que los hepatocitos AV no modificaron su capacidad de captación de L-Ala, sí incrementaron el uso de este aminoácido, tanto con fines oxidativos como para la producción de glucógeno. En la figura 1 también puede observarse que los hepatocitos AV incrementaron

Tabla 1. Peso final, índice hepatosomático, lípidos en hígado y Na⁺/K⁺-ATPasa hepática

Parámetro	Peso final	Índice hepatosomático	Lípidos en el hígado	Actividad Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa
AV vs. AP (%)	88,8±1,4 *	123,1±4,3 *	147,6±11,6 *	123,7±7,7 *

Los resultados se expresan como la media±S.E.M. (n=45). Las diferencias significativas entre las dos condiciones experimentales se muestran con un *.

Figura 1. Comparativa de la funcionalidad de los hepatocitos AV respecto a los AP. Se ha medido la capacidad de captación de diversos nutrientes, la síntesis de proteína (Prot), la producción de CO₂ y glucógeno (Gluco), y la actividad de la vía de elongación/desaturación a partir de PUFAs de 18C. En este último caso, y para facilitar la interpretación de los resultados, los ácidos grasos se han agrupado en función de si han superado o no los enzimas limitantes de la vía, la $\Delta 6$ - y la $\Delta 5$ -desaturasas (Tocher, 2003). (E) sólo elongación, (D6) desaturación por la $\Delta 6$ y posible posterior elongación, y (D5) desaturación por la $\Delta 6$ y la $\Delta 5$ y posible posterior elongación. Los resultados se expresan como la media \pm S.E.M. (n=12). Las diferencias significativas entre los grupos AV y AP se muestran con un *



la captación de 2-DG y 18:2n-6. Finalmente, en la gráfica, se compara la actividad de la vía de elongación/desaturación a partir del 18:3n-3 y el 18:2n-6. La actividad de la $\Delta 6$ - y $\Delta 5$ -desaturasas tendieron a ser inferiores en los hepatocitos AV, encontrándose un cambio significativo en la actividad de la $\Delta 5$ cuando utiliza productos del 18:3n-3. La producción de ácidos grasos únicamente por elongación estuvo deprimida en los hepatocitos AV a partir del 18:3n-3.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por CICYT (AGL 2004-06319-C02/ACU). I. García-Meilán recibió una beca de la UB.

Bibliografía

- Santigosa, E., A. Ibarz, M. Villanueva, J. Blasco, J. Fernández-Borrás y M.A. Gallardo. 2005. Efectos del contenido lipídico de la dieta y del frío sobre el metabolismo hepático y la absorción intestinal de dorada (*Sparus aurata*). En: *X Congreso Nacional de Acuicultura*. Gandía.
- SOFIA. 2008. The state of World fisheries and aquaculture. FAO, pp 1-196.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 107-184.
- Tocher, D.R., J. Fonseca-Madrigal, J.R. Dick, JR., Ng Wing-Keong, J. G. Bell y P.J. Campbell. 2004. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Comparative *Biochemistry* 137: 49-63.

Efectos de dietas de doble sustitución y lavado sobre la capacidad hepática de metabolización de PUFAs C18 en dorada (*Sparus aurata*)

I. García-Meilán¹, J. M. Valentín¹, I. Navarro¹, J. Pérez-Sánchez² y M. A. Gallardo¹

¹ Departament de Fisiologia (Biologia), Universitat de Barcelona. Diagonal 645. 08028 Barcelona. España. mgallardo@ub.edu

² Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS, C.S.I.C.), Ribera de Cabanes. Castellón. España

Abstract

Sea bream juveniles were fed during a period of 14 months with plant protein-rich diets that contained as lipid source or only fish oil (FO) or vegetal and fish oils (66 and 33%, respectively) (66VO). Other experimental group was fed 11 months with 66VO diet and the last 3 months with FO diet (Wash-out). After the growth trial, hepatocytes were isolated and incubated with C₁₈ PUFAs (18:3n-3 or 18:2n-6) C₁₄ labelled, and oxidation and TLC analysis was done. Δ6- and Δ5- desaturase activities tended to be inferior in the 66VO animals in front the FO. Wash-out group showed a lower activity of the elongation/desaturation pathway from 18:3n-3. The activity of this pathway from 18:2n:6 was maintained, possibly due to the increase of the 18:2n-6 hepatocyte uptake (+72%).

Justificación

El decremento de la disponibilidad de harina y aceite de pescado, junto con el incremento de la acuicultura (SOFIA, 2008), hace necesario buscar ingredientes sostenibles que permitan crecimientos y calidad del producto final aceptables. Los ingredientes vegetales son una posible alternativa. El presente trabajo estudia en hepatocitos de dorada, los efectos de dietas de doble sustitución y lavado sobre la metabolización de linoléico y linoleico, abundantes en los aceites vegetales.

Material y Métodos

Se formularon 2 dietas isoproteicas e isoenergéticas con un 75% de sustitución de la harina de pescado por ingredientes vegetales (harina de gluten de maíz, soja y trigo extruido), en la dieta AP se utilizó aceite de pescado y en la dieta 66AV un 66% del aceite provenía de fuentes vegetales (aceites de colza, linaza y palma). Durante 14 meses (mayo-julio) se cultivaron juveniles de dorada (peso inicial de unos 18 g) en tres condiciones experimentales: 1) animales alimentados con la dieta AP (grupo AP), 2) animales alimentados con la dieta 66AV (grupo 66AV) y 3) animales alimentados los primeros 11 meses con la dieta 66AV y los tres últimos meses con la dieta AP (grupo lavado). Cada condición se realizó por triplicado. El crecimiento, la ingesta y los índices de conversión del alimento no se vieron afectados por el tratamiento dietario (Benedito-Palos *et al.*, 2009).

Al final del periodo de crecimiento, se aislaron los hepatocitos según Santigosa *et al.*, (2005), se incubaron con linoléico (18:3n-3) o linoleico (18:2n-6) marcados con C₁₄, y se determinó su metabolización mediante medidas de oxidación y TLC (adaptación de Tocher *et al.*, 2004).

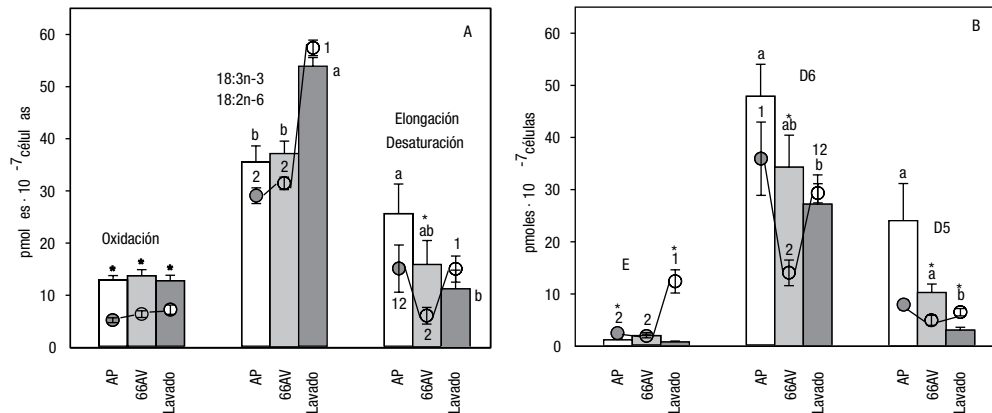
Las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos se determinaron con un ANOVA de una vía y un test de Tuckey. El software utilizado fue el SPSS 16.0 (SPSS Inc., EUA).

Resultados y Discusión

Por efecto del tratamiento dietario, no se observaron diferencias significativas en la oxidación, por parte del hepatocito, del 18:3n-3 ni del 18:2n-6 (Fig. 1A); pero esta célula oxidó mayor cantidad de 18:3n-3 que de 18:2n-6. La figura 1A también muestra que el grupo lavado capta, pero no transforma, mayor cantidad de los dos ácidos grasos estudiados que los grupos AP y 66AV.

Considerando que el proceso de elongación/desaturación tiene 2 puntos limitantes (la Δ6-desaturasa y la Δ5-desaturasa (Tocher, 2003)), y para facilitar la interpretación de los resultados, en la figura 1B los ácidos grasos se han agrupado en función de si han superado o no estos puntos. La Δ6-desaturasa (en el gráfico B representado por D6+D5) mostró una tendencia a una menor actividad en los animales 66AV a partir de los dos ácidos grasos y un descenso significativo de la vía en el grupo de lavado para el 18:3n-3 respecto al grupo AP. La Δ5-desaturasa (en el gráfico B representado por D5) mostró una inferior actividad desaturando productos de 18:3n-3 en los animales lavado. La Δ5-desaturasa prefirió, como sustrato, los productos de 18:3n-3 frente a los de 18:2n-6 en los grupos AP y 66AV. La formación de productos D5 a partir de 18:2n-6 no se modificó significativamente entre los grupos experimentales. Los ácidos grasos producidos

Figura 1. Metabolización del 18:3n-3 (barras) y 18:2n-6 (puntos) por hepatocitos de dorada. Los grupos experimentales se muestran: AP (barras blancas, puntos negros), 66AV (gris claro), lavado (gris oscuro). (E) sólo elongación, (D6) desaturación por la $\Delta 6$ -desaturasa y posible posterior elongación, y (D5) desaturación por la $\Delta 6$ - y la $\Delta 5$ -desaturasas y posible posterior elongación. Los resultados se expresan como la media \pm SEM ($n=6$). Las diferencias significativas entre las condiciones experimentales se muestran con distintas letras para el 18:3n-3 y con diferentes números para el 18:2n-6. Las diferencias entre los ácidos grasos en igual condición experimental se muestran con *



exclusivamente por elongación fueron minoritarios para los 2 ácidos grasos estudiados excepto a partir de 18:2n-6 en el grupo lavado, posiblemente debido a que el hepatocito de estos animales captó más cantidad de 18:2n-6 (+72% que los grupos AP y 66AV). Finalmente y como mecanismo compensatorio, los animales 66AV y lavado mostraron un incremento en el peso del hígado (+22,5 y 15,5% respectivamente respecto al grupo AP).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por CICYT (AGL 2004-06319-C02/ACU). I. García-Meilán recibió una beca de la UB.

Bibliografía

- Benedito-Palos, L., J.C. Navarro, A. Bermejo-Nogales, A. Saera-Vila, S. Kaushik y J. Pérez-Sanchez. 2009. The time course of fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 267: 199-212.
- Santigosa, E., A. Ibarz, M. Villanueva, J. Blasco, J. Fernández-Borrás y M.A. Gallardo. 2005. Efectos del contenido lipídico de la dieta y del frío sobre el metabolismo hepático y la absorción intestinal de dorada (*Sparus aurata*). En: *X Congreso Nacional de Acuicultura*. Gandía.
- SOFIA. 2008. The state of World fisheries and aquaculture. FAO, pp 1-196.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 107-184.
- Tocher, D.R., J. Fonseca-Madrigal, J.R. Dick, Jr., Ng Wing-Keong, J. G. Bell y P.J. Campbell. 2004. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry* 137: 49-63.

Efectos de ayuno-realimentación y tamaño de la ración en aspectos metabólicos en la corvina (*Argyrosomus regius*)

S. García-Mesa¹, A. Rodríguez-Rúa², S. Cárdenas², M. D. Suárez³ y M. García-Gallego¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada. E-mail: sgarciam@ugr.es

² Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño

³ Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería

Abstract

A long-lasting starvation (60 days) has deep effects on the main intermediary metabolic pathways in both, liver and white muscle, of meagre. In fact, the setting up of a reduced metabolism status seems to be in effect. When re-fed, these fish trends to recover the metabolic status of continuously fed specimens. In the later fish, daily ration sizes from 1 to 3 % body weight have only minor and no definite effects on the enzyme activities determined.

Justificación

Muchos peces, como otros ectotermos, parecen bien adaptados para sobrevivir a dilatados periodos de ayuno que no son infrecuentes en su ciclo vital (disponibilidad estacional de alimento, procesos de migración y/o reproducción, etc.). En las prácticas piscícolas, dichos periodos, aunque de menor intensidad, tampoco son raros y van asociados a prácticas como pre-comercialización, selección y traslado, tratamientos sanitarios, etc. Por otra parte, el tamaño de la ración y su aprovechamiento por los peces son aspectos muy importantes en estas prácticas piscícolas y así, es frecuente encontrar diferencias entre ración máxima y ración óptima. Consideramos interesante una aproximación a todos estos aspectos en cualquier especie íctica susceptible de incorporarse a la piscicultura cual es el caso de la corvina (*Argyrosomus regius*) con una, aún corta, historia en piscicultura y aunque los primeros resultados son prometedores, no está de más el procurar un conocimiento lo más exhaustivo posible de los aspectos arriba mencionados.

En esta comunicación se presentan algunos resultados de un experimento de alimentación con diversos tamaños de ración, incluida la privación total de alimento seguida de un periodo de realimentación, sobre algunos aspectos del metabolismo intermediario que, a priori, podrían considerarse afectados por las diferentes situaciones nutricionales planteadas.

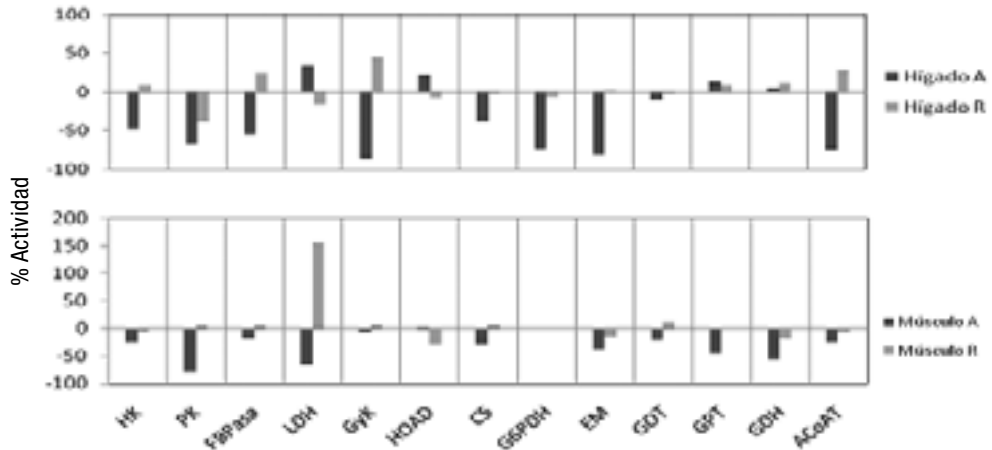
Material y Métodos

Cuatro lotes duplicados de corvinas procedentes del IFAPA «El Toruño» (peso inicial en torno a 78 g), fueron sometidos, durante 60 días, a tres raciones diarias diferentes (0.6 a 1.8 % del peso corporal; raciones B, M y A, respectivamente) en tanto otros dos lotes se sometieron a ayuno absoluto (ración 0). En un segundo periodo de 60 días, se mantuvieron las mismas raciones, salvo para el caso de los lotes privados de alimento que pasaron a consumir una ración del 2% (realimentación). Durante este periodo y a intervalos predeterminados se extrajo una muestra al azar (n=3) de individuos de cada lote que fueron rápidamente sacrificados para la extracción del hígado y de una muestra de músculo dorsal que se congelaron en nitrógeno líquido y se mantuvieron a -80 °C hasta el análisis. Tras la oportuna homogenización de muestras de ambos tejidos se procedió a la determinación de las siguientes actividades enzimáticas, comúnmente consideradas indicativas de las principales rutas del metabolismo intermediario: glucólisis (HK, PK), oxidación anaerobia (LDH), gluconeogénesis (FBPasa), oxidación ácidos grasos (GyK y HOAD), metabolismo oxidativo (CS), generadores de poder reductor para lipogénesis (G6PDH, EM), catabolismo aminoacídico (GOT, GPT y GDH), metabolismo de cuerpos cetónicos (AcoAT). Las técnicas analíticas usadas pueden consultarse en Furné (2008)

Resultados y Discusión

Tras el ayuno de 60 días, el metabolismo se encuentra afectado notablemente. En hígado, general órgano regulador del metabolismo, se observan unos efectos claros, como son un descenso de la actividad glucolítica, gluconeogénica, en la síntesis de cofactores reducidos para la lipogénesis; sin embargo no se observan cambios en el metabolismo proteico, también es de destacar un efecto no tan claro de las enzimas implicadas en la β -oxidación, pues la actividad de la GyK decae notablemente, mientras que la HOAD aumenta su actividad. En músculo también se produce un descenso de la actividad glucolítica,

Figura 1. Actividad de las enzimas clave del metabolismo intermediario en hígado y músculo, en situación de ayuno o realimentación. El valor 0 corresponde a las actividades enzimáticas promedio para los lotes que se alimentan, las barras representan las variaciones de la actividad enzimática para el lote O/M



gluconeogénica, lipogénesis y metabolismo proteico (de una forma no tan notable), en cambio los niveles de actividad de las enzimas presentes en la β -oxidación apenas sufren variación, lo cual está en línea con las pocas variaciones que se han obtenido en la composición del músculo. En hígado y músculo se produce una disminución del metabolismo oxidativo. En general en ambos tejidos se produce una depresión metabólica.

Al final del período experimental, cuando el lote O/M se ha mantenido comiendo durante 60 días, se observa que las actividades del metabolismo intermediario se restituyen. Sin embargo, junto a un notable aumento de la actividad de la LDH en músculo blanco es de destacar el de la actividad GyK hepática que podría estar implicada en una mayor tasa de síntesis de triglicéridos que, a su vez, estar en la base de la recuperación del índice hepato-somático observada durante este período (Rodríguez de la Rúa, 2009).

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas)

Bibliografía

- Furné Castillo, M. 2008. Diferentes aspectos fisiológicos en el esturión *Acipenser nacarii*. Estudio comparado con la trucha *Oncorhynchus mykiss*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- Rodríguez-Rúa, A., García-Mesa, S., García-Gallego, M., Suárez, M.D. y Cárdenas, S. 2009. Efectos del ayuno-realimentación y tamaño de la ración en aspectos morfométricos y de composición en la corvina (*Argyrosomus regius*) En: *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*. Madrid. España.

Efectos del ayuno-realimentación y del tamaño de la ración sobre el estatus oxidativo de la corvina (*Argyrosomus regius*)

S. García-Mesa¹, A. Rodríguez-Rúa², S. Cárdenas², M. D. Suárez³,
A. Sanz¹ y M. García-Gallego¹

¹ Dpto. Biología Animal, Universidad de Granada, Campus Fuentenueva, 18071. sgarciam@ugr.es

² Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño

³ Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería

Abstract

The effects of ration size, including starvation-refeeding, on some indices of the liver and muscle redox status were evaluated in meagre, by determining the activities of some anti-oxidant enzymes and lipid peroxidation level. Starvation altered this status in liver but no in muscle, re-feeding returned the enzyme activities to values similar to that of continuously fed fish. In these fish, ration size did not exert any clear effect on the redox status.

Justificación

Muchos peces, como otros ectotermos, parecen bien adaptados para sobrevivir a dilatados periodos de ayuno que no son infrecuentes en su ciclo vital (disponibilidad estacional de alimento, procesos de migración y/o reproducción, etc.). En las prácticas piscícolas, dichos periodos, aunque de menor intensidad, tampoco son raros y van asociados a prácticas como pre-comercialización, selección y traslado, tratamientos sanitarios, etc. Por otra parte, el tamaño de la ración y su aprovechamiento por los peces son aspectos muy importantes en estas prácticas piscícolas y así, es frecuente encontrar diferencias entre ración máxima y ración óptima. Consideramos interesante una aproximación a todos estos aspectos en cualquier especie íctica susceptible de incorporarse a la piscicultura cual es el caso de la corvina (*A. regius*) con una, aún corta pero prometedora, historia en piscicultura en la que resulta muy interesante un conocimiento lo más exhaustivo posible de los aspectos arriba mencionados.

En esta comunicación se presentan algunos resultados de un experimento de alimentación con diversos tamaños de ración, incluida la privación total de alimento seguida de un periodo de realimentación, sobre algunos aspectos del estatus oxidativo (defensas antioxidantes, grado de oxidación de elementos titulares) que podrían verse afectados como consecuencia de las alteraciones metabólicas que variaciones en el régimen alimentario podrían inducir.

Material y Métodos

Cuatro lotes duplicados de corvinas procedentes del IFAPA «El Toruño» (peso inicial en torno a 78 g), fueron sometidos, durante 60 días, a tres raciones diarias diferentes (0.6 a 1.8 % del peso corporal; raciones B, M y A, respectivamente) en tanto otros dos lotes se sometieron a ayuno absoluto (ración 0). En un segundo periodo de 60 días, se mantuvieron las mismas raciones, salvo para el caso de los lotes privados de alimento que pasaron a consumir una ración del 2%. Durante este periodo y a intervalos predeterminados (muestreros 1 a 4) se extrajeron 3 peces de cada tanque, a los que se extrajo el hígado y un trozo de músculo dorsal en los que se determinaron las siguientes actividades enzimáticas, comúnmente consideradas indicativas de la magnitud de las defensas antioxidantes: catalasa (CAT), superóxido-dismutasa (SOD), glutatión reductasa (GR) y glutatión peroxidasa (GPX), así como del valor TBARS como marcador de peroxidación lipídica y, por tanto, índice del estado redox de los animales. Metodología analítica según Furné (2008).

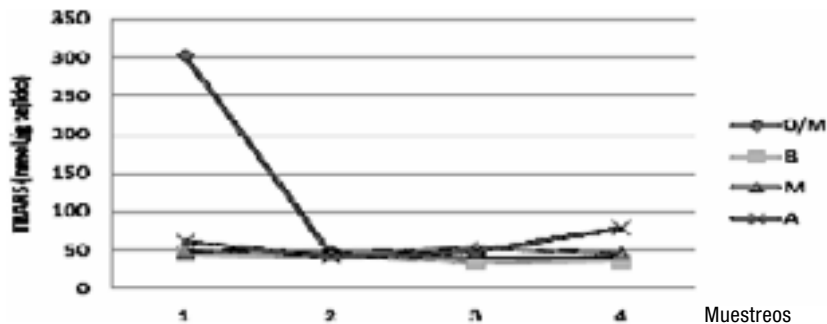
Resultados y Discusión

Al final del periodo de ayuno, el hígado de las corvinas mostraba un índice notable de peroxidación lipídica (figura 1), coincidiendo con una menor actividad de los enzimas antioxidantes (tabla 1), excepto para GR, posiblemente debido a la restricción de sustratos de síntesis enzimática (Furné, 2008), siempre en relación con las corvinas alimentadas con diferentes raciones. Ambas circunstancias ponen de manifiesto una cierta incapacidad de hacer frente al estrés oxidativo provocado por los ajustes metabólicos y de otro tipo que acompañan al ayuno. De hecho, la realimentación supuso una recuperación de todos los enzimas, siendo mayor para la CAT, con una vuelta a unos niveles de peroxidación lipídica parecidos a los de los peces alimentados.

Tabla 1. Actividades CAT, SOD (U/mg prot), GR y GPX (mU/mg prot) (M = muestreo). Los valores son media±EEM

Grupo	M	Hígado				Músculo			
		CAT	SOD	GR	GPX	SOD	GR	GPX	TBARs
O/M	1	36.9 ^{a.1}	49.5 ^b	5.6 ^b	64.1 ^b	21.2 ^{b.2}	0.5 ^b	19.0 ^{b.2}	2.9
	4	2.04	1.08	0.42	3.17	1.42	0.03	0.79	0.52
B	1	55.4 ^{b.2}	49.5 ^{ab.1-2}	4.0 ^{a.1}	64.2 ^{ab.1-2}	11.5 ^a	0.3 ^{a.1}	11.9 ^a	23.56
	4	4.90	1.08	0.12	4.54	0.98	0.02	0.45	2.15
M	1	48.8 ^{b.1-2}	60.9	5.2 ^b	90.3 ^{ab}	16.5 ¹	0.4 ^b	14.4 ^{a.1}	6.6
	4	4.11	5.20	0.49	7.36	0.99	0.02	0.65	0.26
A	1	44.3 ^{ab.1-2}	59.3 ²	3.8 ^{a.1-2}	79.0 ^{a.2}	15.5	0.4 ^{ab.1}	13.4 ^a	16.0
	4	4.05	3.48	0.24	5.60	1.25	0.03	0.56	1.05
M	1	53.7 ²	57.6	4.4	81.6	17.6 ^{b.1-2}	0.5 ^b	16.8 ^{a.1-2}	1.3
	4	4.03	5.03	0.35	6.27	0.96	0.04	1.39	0.28
A	1	48.9 ¹⁻²	52.2 ¹⁻²	4.0 ²	72.4 ²	12.6 ^a	0.3 ^{a.1}	12.2 ^a	19.0
	4	3.82	3.87	0.22	6.00	0.91	0.02	0.86	1.88
A	1	38.8 ¹	58.0 ^{ab}	5.3 ^b	91.0 ^b	18.7 ^{b.1-2}	0.4 ^{ab}	17.6 ^{a.1-2}	4.2
	4	2.62	3.88	0.40	2.91	0.88	0.04	0.62	0.18
A	1	36.6 ¹	46.1 ^{a.1-2}	3.1 ^{a.2}	52.3 ^{a.1}	14.8 ^a	0.5 ^{b.2}	13.5 ^b	18.9
	4	1.98	4.37	0.20	3.12	1.08	0.04	0.96	1.68

Figura 1. Niveles de TBARS en el hígado, desde el fin del ayuno hasta el final de la realimentación. En general no se observan cambios en el estatus oxidativo debido al tamaño de la ración



Aparentemente, el músculo blanco sí que es capaz de superar el posible estrés oxidativo debido el ayuno, según nos indican los niveles de peroxidación, coincidiendo con actividades mantenidas de la GPX, GR y SOD. Paradójicamente, la realimentación conllevó un descenso en la actividad antioxidante, sobre todo de la GR y SOD, y un consecuente incremento en la peroxidación. No olvidemos que estamos ante un músculo magro con poco sustrato por tanto para procesos de oxidación lipídica.

En general no se observan cambios en el estatus oxidativo debido al tamaño de la ración.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas)

Bibliografía

Furné, M. 2008. Diferentes aspectos fisiológicos en el esturión *Acipenser nacarii*. Estudio comparado con la trucha *Oncorhynchus mykiss*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Harina de erizo de mar (*Diadema antillarum*) como ingrediente alternativo en piensos para bocinegro (*Pagrus pagrus*): efecto sobre el crecimiento y utilización de la dieta

J. García Romero¹, M. S. Izquierdo¹, H. Fernández-Palacios¹, R. Haroun²,
R. Badilla¹, T. Kalinowski¹ y L. Robaina¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura, ICCM & ULPGC, C/ Taliarte s/n, 35200 Telde, Gran Canaria.
e-mail: josefagarciaromero@yahoo.es

² Bioges, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Campus de Tafira, 35017 Las Palmas de Gran Canaria

Abstract

The effect of dietary inclusion of sea urchin meal (*Diadema antillarum*) on growth and feed utilization was investigated in a growth trial with red porgy (*Pagrus pagrus*) of 208g initial body weight, during 6 month feeding period. High quality fish meal and fish oil diet was used as a control (Diet C); urchin meal was included at 8% and 16% dietary levels (EM8 and EM16). Compared to the control diet higher values for absolute and relative final weight and SGR were obtained either for fish fed EM8 and EM16 diets; for the latter diets values for FCR and final HSI were significantly smaller respect to those for the control diets. No differences were found among diets for the total feed intake, VSI and K factor. Obtained results indicate the suitability of the sea urchin meal as alternative ingredient in diets for the red porgy, improving fish growth and feed utilization. More studies are being done at the moment in red porgy and other fish species in order to better determine the optimum dietary levels taking into account other important culture and quality parameters.

Justificación

En los últimos años la mayoría de los trabajos realizados sobre la especie bocinegro (*Pagrus pagrus*) aparecen relacionados con la mejora de la coloración del animal cultivado (Cejas *et al.*, 2003; Kalinowski *et al.*, 2004; García Romero *et al.*, 2008; 2009). Desde el punto de vista nutritivo, únicamente se conocen los requerimientos de proteína y lípidos para esta especie (Schuchardt *et al.*, 2007).

El estancamiento en la producción de harinas y aceites de pescado ha centrado el interés en estudios de inclusión de ingredientes alternativos con similares rendimientos productivos. Pocos son los trabajos realizados sobre ingredientes alternativos en dietas para bocinegro, especie cuya dieta natural es rica en crustáceos. Así, buenos resultados han sido obtenidos con la inclusión de diferentes harinas de krill y de carcasa de langostino. García Romero *et al.* (2008) incluyeron harinas de cangrejos (*Procambarus clarkii* y *Chaceon affinis*) indicando que ambos tipos de harinas pueden ser utilizadas para reemplazar parcialmente por la harina de pescado en la dieta.

En el mar son muchos los productos y subproductos que están siendo valorados y que pueden abrir el campo de ingredientes alternativos de origen marino en alimentos para especies de acuicultura. El erizo de mar (*Diadema antillarum*) es una especie herbívora de aguas templadas del Atlántico Centro-Oriental con un fuerte «boom demográfico», debido a la sobre pesca litoral y que llega a provocar zonas desprovistas de cobertura de algas, los llamados blanquizaes (Sala *et al.*, 1998; Pinnegar *et al.*, 2000). Según estos últimos autores el restablecimiento natural de suelos productivos ricos en algas por el cese de la actividad pesquera es un proceso muy lento y aún inapreciable en muchas regiones.

Se propone el presente trabajo con el objetivo de evaluar la calidad y posibilidades de inclusión de una harina obtenida a partir de animales enteros de erizo de mar (*Diadema antillarum*) en dietas para acuicultura. En este primer trabajo se muestran los resultados de crecimiento y utilización del alimento obtenido utilizando el bocinegro como modelo y dos niveles de inclusión en dieta (8% y 16%).

Materiales y Métodos

Bocinegros de peso medio inicial 203g fueron distribuidos en tanques de 500 L a una densidad inicial de cultivo de 6,3 kg/m³. Los rangos de temperatura y oxígeno disuelto a lo largo del experimento fueron de 18-20°C y 5,7-6,5 ppm, respectivamente. Se probaron tres dietas experimentales (47%P/14%L) por triplicado: una dieta control (C) basada en harina y aceite de pescado de alta calidad; otras dos dietas basadas en la dieta control y con 8% y 16% de inclusión de la harina de erizo (EM8) y (EM16). Los animales fueron alimentados hasta saciedad aparente 2 veces al día, durante 6 meses con sus respectivas dietas.

Resultados

Ver Tabla 1.

Tabla 1. Crecimiento e índices de utilización del alimento de los bocinegros al final del experimento

	C	EM8	EM16
Peso inicial (g)	204,60±25,09	203,64±24,10	200,35±24,10
Peso final (g)	324,15±38,72 ^b	392,53±63,67 ^a	382,58±51,07 ^a
Crecimiento %	67,65±11,72 ^b	95,98±11,30 ^b	95,77±12,03 ^b
Ingesta (g/% biomasa)	117,16±1,05	117,12±9,13	113,02±7,07
K	2,58±0,31	2,61±0,45	2,60±0,24
SGR	0,23±0,02 ^b	0,30±0,03 ^a	0,30±0,03 ^a
FCR	3,08±0,22 ^a	2,62±0,39 ^b	2,50±0,26 ^b
HSI	1,34±0,36 ^a	1,01±0,25 ^b	1,09±0,25 ^b
VHI	6,08±1,49	6,05±1,06	5,68±0,90

* Valores en una misma fila con diferente letra difieren significativamente ($P < 0.05$).

SGR: tasa específica de crecimiento = $[100 \times (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{n.º días}]$. FCR: tasa de conversión alimenticia = $[\text{ingesta total (g)} / \text{peso ganado (g)}]$. K: factor de condición = $[(100 \times \text{peso}) / (\text{longitud})^3]$.

Discusión

El presente trabajo muestra una primera evaluación en relación a parámetros productivos de dietas para bocinegro conteniendo dos niveles de inclusión de harina de erizo de mar *Diadema antillarum*. De los resultados obtenidos se tiene que las dietas basadas en harina de erizo a los niveles de inclusión utilizados, 8% y 16%, han sido bien aceptadas por los animales con valores de ingesta total, en relación al % de biomasa final, iguales a la dieta control.

Por otro lado, tanto el crecimiento de los animales como el FCR, se vieron mejorados significativamente para los dos niveles de inclusión de erizo con respecto a la dieta control, indicativo de la idoneidad de calidad de la harina testada. Sin bien Toppe *et al.*, (2006) reveló un crecimiento de los animales lineal con el incremento de contenido en cenizas de las dietas con la que fueron alimentados, en la presente experiencia este hecho parece tener un límite según los resultados de crecimiento de los peces alimentados con E16%, indicando que estos tipos de ingredientes ricos en cenizas podrían interferir en la digestibilidad y asimilación de los nutrientes.

Los valores de HSI resultaron significativamente menor en los bocinegros alimentados con las dietas basadas en la harina de erizo de mar respecto a los del grupo control, revelando efectos de este tipo de ingredientes sobre la actividad metabólica del animal, efecto que está siendo evaluado junto a otros parámetros en la actualidad.

Los resultados que se muestran son un indicativo de la idoneidad de la harina de erizo de mar, *Diadema antillarum*, para su inclusión en piensos para acuicultura y son los primeros de una serie de ensayos que se vienen realizando en nuestro grupo con el fin de optimizar el procesado para la obtención de diferentes calidades de la harina y determinar los niveles de inclusión de este tipo de ingredientes en piensos para diferentes especies.

Bibliografía

- Cejas, J.R., E. Almansa, N. Tejera, S. Jerez, A. Bolaños y A. Lorenzo. 2003. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. *Aquaculture* 218(1-4): 457-469.
- García Romero, J., T. Kalinowski, M.S. Izquierdo y L. Robaina. 2009. Marine and freshwater crab meals in diets for the red porgy (*Pagrus pagrus*): effect on growth, skin colour and fish composition. *Aquaculture research* (bajo revisión).
- Goyortúa-Bore, E., R. Civera-Cerecedo, S. Rocha-Meza y A. Green-Yee. 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. *Aquaculture* 256(1-4):414-422.
- Kalinowski, T., L. Robaina, H. Fernández-Palacios, D. Schuchardt y M.S. Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture* 244(1-4): 223-231.
- Pinnegar, J.K., N.V.C. Polunin, P. Francour, F. Badalamenti, R. Chemello, M.L. Harmelin-Vivien, B. Hereu, M. Milazo, M. Zabala, G. D'Anna, G. y C. Pipitone. 2000. Trophic cascades in benthic marine ecosystems: lessons for fisheries and protected-area management. *Environmental Conservation* 27: 179-200.
- Sala, E., C.F. Boudouresque y M.L. Harmelin-Vivien. 1998. Fishing, trophic cascades, and the structure of algal assemblages: evaluation of an old but untested paradigm. *Oikos* 83: 425-439.
- Schuchardt D., J.M Vergara, H. Fernández-Palacios, T. Kalinowski, C.M Hernández-Cruz, M.S Izquierdo y L. Robaina. 2008. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition* 14: 1-9.
- Toppe, J., A. Aknes, B. Hope, y S. Albrektsen. 2006. Inclusion of fish bone and crab by-products in diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture* 253(1-4): 636-645.

Efecto de la inclusión de harinas de cangrejo de diferente origen en piensos para bocinegro (*Pagrus pagrus*) sobre la textura, oxidación y composición del filete

J. García Romero, L. Robaina, R. Ginés, P. Castro, H. Fernández-Palacios,
T. Kalinowski y M. S. Izquierdo

Grupo de Investigación en Acuicultura, ICCM & ULPGC, C/ Taliarte s/n, 35200 Telde, Gran Canaria.
e-mail: josefagarciaromero@yahoo.es

Abstract

The inclusion of two different crab meals in diets on fillet quality parameters was investigated in a six month growth trial with red porgy (*Pagrus pagrus*). A high quality fish meal and fish oil diet was used as a control (Diet C). Fish meal protein in the control diet was replaced by increasing levels of protein from a river crab meal (*Procamburus clarkii*) (CR) and a marine crab meal (*Chaceon affinis*) (CM) at 10% and 20% each of them. The inclusion of both crab meals in diets, either at 10% and 20% substitution levels, did not affect the texture quality parameters of flesh except for the adhesiveness, where animal fed on CR20 showed the smallest value respect to those fed the Diet C. Compared to the control fish, a reduction of the fillet lipid oxidation indicated by the Tbars index was observed for fish fed both crab meal based diets, at the higher inclusion level (20%). Increasing dietary levels of the marine crab meal showed an increment of the monoenoicos, n-9 and oleic fatty acid content in the fillets. Results indicate that both crab meals used in present study are suitable as alternative ingredients for red porgy diets in terms of fish flesh quality.

Justificación

El bocinegro, *Pagrus pagrus*, se caracteriza por un requerimiento medio-alto de proteína en dieta (Schuchardt *et al.*, 2008) por lo que los piensos para esta especie contienen gran cantidad de harina de pescado como fuente proteica. Existen muy pocos trabajos con ingredientes alternativos en dietas para bocinegro, encontrándose buenos resultados de crecimiento y coloración de la piel mediante la inclusión dietética de diferentes harinas de krill y carcasa de langostino (Chebakki, 2001; Kalinowski *et al.*, 2007). García Romero *et al.* (2008), obtuvieron igualmente elevadas tasas de crecimientos y mejor conversión del alimento y coloración de la piel con la utilización de harinas de cangrejo de río (*Procamburus clarkii*) y de mar (*Chaceon affinis*). Sin embargo no existen prácticamente datos sobre el efecto de la dieta y la calidad del producto final en esta especie. En el presente trabajo se evaluó la inclusión en dietas para bocinegro de dos harinas de cangrejo de diferente procedencia: agua dulce (*Procamburus Clarkii*) y agua de mar (*Chaceon affinis*), sobre diferentes parámetros de calidad del filete.

Materiales y Métodos

Bocinegros de peso medio inicial 233g fueron distribuidos en tanques de 500 L a una densidad inicial de cultivo de 6,5 kg/m³, y alimentados a saciedad aparente durante 6 meses con una de las siguientes 5 dietas isoenergéticas (50%P/15%L): (C) dieta control basada en harina y aceite de pescado de alta calidad; (CR10) y (CR20) con un 10% y 20% de sustitución de la proteína de pescado de la dieta control por la proveniente de harina de cangrejo rojo de río, *Procamburus clarkii*; (CM10) y (CM20) con un 10% y 20% de sustitución de la proteína de pescado de la dieta control por la de harina de cangrejo de mar, *Chaceon affinis*.

Al final de la experiencia se extrajeron muestras de filete de 3 peces por tanque para la determinación de la textura (Estable Microsystems, TA-XTE); igualmente se determinó la oxidación lipídica (TBARS) (Buege *et al.*, 1978) y se analizaron los lípidos totales y ácidos grasos (Folch *et al.*, 1957 e Izquierdo *et al.*, 1990).

Resultados y Discusión

Según los resultados la inclusión de ambos tipos de harinas a los niveles utilizados, 10% y 20%, no afecta a la textura del filete con respecto al pienso control excepto en la adhesividad, significativamente menor en los animales alimentados con CM20. Los cambios en adherencia podrían estar relacionados con la cantidad y calidad de grasa del filete que afectan de forma significativa a la textura en este sentido. Sin embargo y de forma general según la bibliografía parece que las mayores diferencias encontradas en textura son debidas a las modificaciones dietéticas de aceites y no de harinas.

Respecto a la oxidación del filete se observó que el incremento del nivel dietético en ambos tipos de harina de cangrejo produce una disminución de los valores de oxidación. En relación a los peces control las mayores diferencias se encontraron para el cangrejo de río, siendo significativamente menor en el caso de los

Tabla 1. *Parámetros de textura del filete en bocinegros alimentados con las diferentes dietas*

	C	CR10	CR20	CM10	CM20
Fractura	1874,65±600,19	1965,51±480,64	1604,10±383,35	1828,22±443,15	1796,14±545,83
Dureza	2805,19±765,66	3473,07±675,41	2958,52±753,78	3090,51±642,85	3002,13±563,57
Deformidad	0,43±0,08	0,42±0,07	0,44±0,08	0,42±0,05	0,47±0,09
Cohesividad	3,74±0,92	4,29±0,42	4,04±0,40	4,33±0,56	4,07±0,91
Gomosidad	11439,10±2981,95	14606,47±2697,78	12548,16±2787,14	12982,31±2653,95	12423,86±2585,62
Masticabilidad	5011,03±941,86	6437,73±931,85	4297,41±880,04	5723,54±906,26	5481,95±828,31
Adhesividad	-33,25±10,21 ^{ab}	34,22±12,57 ^a	-29,82±9,28 ^b	-28,05±10,52 ^{bc}	-27,86±10,05 ^c
Elasticidad	0,20±0,05	0,18±0,06	0,20±0,05	0,20±0,07	0,18±0,07

* Valores en una misma fila con diferente letra difieren significativamente (P<0.05).

Tabla 2. *Contenido en lípidos totales, ácidos grasos (g/100g filete) e índice de oxidación (Tbars) en filetes de bocinegros alimentados con las diferentes dietas*

	C	CR10	CR20	CM10	CM20
Lípidos (%)	3,67±0,39	3,96±0,85	3,45±0,14	3,15±0,05	4,09±0,93
Saturados	1,33±0,11	1,20±0,02	1,25±0,05	1,74±0,19	1,35±0,46
Monoenoicos	1,19±0,17 ^{bc}	1,00±0,06 ^c	1,06±0,04 ^{bc}	1,47±0,13 ^{ab}	1,62±0,00 ^a
ω-3	0,73±0,22	0,87±0,13	0,77±0,08	1,02±0,05	0,88±0,31
ω-6	0,70±0,04	0,35±0,10	0,28±0,02	0,33±0,09	0,29±0,16
√ω-9	0,70±0,11 ^{bc}	0,56±0,02 ^c	0,58±0,02 ^{bc}	0,82±0,07 ^{ab}	0,91±0,03 ^a
Oleico	0,67±0,10 ^{bc}	0,54±0,03 ^c	0,57±0,02 ^{bc}	0,79±0,06 ^{ab}	0,88±0,02 ^a
Tbars	23,85±2,34 ^b	34,31±9,58 ^a	19,95±3,03 ^c	29,60±6,21 ^{ab}	26,47±8,99 ^{bc}

* Valores en una misma fila con diferente letra difieren significativamente (P<0.05).

animales alimentados con CR20. Este hecho estaría relacionado con el mayor contenido en pigmentos, mayoritariamente astaxantina, en la dieta CR20 respecto a las demás y el papel que los carotenoides ejercen como antioxidante. Según Guerin *et al.* (2003), entre las numerosas funciones de la astaxantina este pigmento posee la capacidad de proteger de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) susceptibles a la oxidación en los tejidos.

El contenido en lípidos totales de filete no difirió entre tratamientos, lo mismo que en las proporciones de ácidos grasos saturados y poliinsaturados. Las diferencias encontradas en los ácidos grasos, expresados en porcentaje del filete, reflejan que la inclusión de harina de cangrejo de mar aumenta significativamente la deposición de ácidos grasos monoenoicos, n-9 y oleico, lo que pudiera estar relacionado con una mayor disponibilidad energética de estas dietas por los animales, pudiendo ser los carbohidratos procedentes de la harina de cangrejo de mar mejor utilizados con este fin.

En resumen, y considerando los parámetros de calidad determinados, los resultados muestran la idoneidad de la inclusión de las dos harinas de cangrejo a los dos niveles de sustitución ensayados.

Bibliografía

- Buege, J.A. y S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 52: 302–310.
- Chebbaki, K. 2001. Efecto de la nutrición sobre la coloración de la piel y la calidad del filete en bocinegro, *Pagrus pagrus*. Master Thesis. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. 93 pp.
- García Romero, J., T. Kalinowski, M.S. Izquierdo y L. Robaina. 2009. Marine and freshwater crab meals in diets for the red porgy (*Pagrus pagrus*): effect on growth, skin colour and fish composition. *Aquaculture research* (en revisión).
- Kalinowski, T., L. Robaina, H. Fernández-Palacios, D. Schuchardt y M.S. Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture* 244(1-4): 223-231.
- Folch, J., M.S. Lees y G.H.S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226: 479-509.

Administración de dos probióticos relacionados (Pdp11 y Pdp13) en preengorde de lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup 1858)

I. García de la Banda¹, C. Lobo¹, J. M. León-Rubio², S. Tapia-Paniagua², M. A. Moríñigo², I. García-Millán², S. Arijó², F. Arce³, M. Nicolás³, G. Pazos⁴ y X. Moreno-Ventas⁵

¹ Instituto Español de Oceanografía. C.O. Santander. Promontorio San Martín s/n. Ap. 240. 39080 Santander. España. E-mail: ines.gbanda@st.ieo.es

² Departamento de Microbiología. Universidad de Málaga. Campus de Teatinos. CP29071. Málaga

³ Dpto. Anatomía Patológica. Hospital Marqués Valdecilla. Avda Valdecilla s/n. CP39008. Santander

⁴ Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA). Apdo nº13. Vilanova de Arousa. CP36620. Pontevedra

⁵ Area Ecología. Dpto CYTAMA. Universidad Cantabria. Avda de los Castros s/n. CP39005. Santander

Abstract

Crude cells of Pdp11 and Pdp13 strains identified as *Shewanella* genus, and isolated from skin of gilthead seabream (*Sparus aurata* L), were incorporated in a fish feed at a concentration of 10^9 cells/g and supplied to *Solea senegalensis* juveniles for a period of two months. Growth was compared and samples were collected for determination of muscle and liver body composition (protein, lipids and fatty acid profile), tract digestive histology, digestive microbiota evolution (PCR-DGGE), specific immunological response (ELISAs) and antiprotease activity. Results showed an influence of both probiotics on muscle lipid levels and change in digestive microbiota. Pdp13 also increased antiprotease activity and conferred a better digestive condition. No differences were detected in growth, muscle and liver proteins or specific antibodies tittle for specimens fed on probiotics. .

Justificación

Gran parte de las investigaciones con probióticos en Acuicultura se orientan a establecer su eficacia frente a patógenos. Así, Pdp11 y Pdp13 han mostrado un efecto de protección frente a *Photobacterium damsela* subsp. piscicida, y han modulado la respuesta inmune de lenguado (*Solea senegalensis*) cuando se han administrado liofilizados en pienso, influyendo además en el crecimiento y funcionalidad intestinal de los ejemplares. En el presente trabajo se investiga su efecto cuando es adicionado en el pienso en crudo.

Material y métodos

Ejemplares de 15.0 ± 0.1 g de peso medio inicial fueron cultivados en tanques circulares de 150 l (174 alevines/m²) a una T^a de 18.9 ± 0.1 °C. Para su alimentación se empleó una dieta comercial (57% proteínas y 18% lípidos, Skretting) al 2%. Pdp11 y Pdp13 fueron incorporados al pienso (109 ufc/g) mediante una solución de alginato sódico (2g/Kg), según lo descrito en Díaz-Rosales *et al.* (2009), estableciéndose una dieta control con alginato. La experiencia se realizó por duplicado y tuvo una duración de dos meses.

El crecimiento fue determinado quincenalmente, analizándose posteriormente mediante ANOVA. Al finalizar el ensayo se tomaron muestras de hígado y músculo para análisis de proteínas, lípidos totales y perfil de ácidos grasos (Linares *et al.*, 2001), comparándose los resultados mediante ANOVA y test *posthoc* de Games-Howell. Asimismo se tomaron muestras de digestivo para estudios histológicos, que tras fijación en formol (10%) e inclusión en parafina (Tissue-Tek VIP), fueron teñidas con hematoxilina-eosina y PAS y examinadas al microscopio (Leyca DM400B). Paralelamente se extrajo sangre y tras coagulación se separó el suero mediante centrifugación (600xg 20 min), determinándose en éste la actividad antiproteasa (Thompson *et al.*, 1995) y la titulación de anticuerpos específicos (Arijó *et al.*, 2008). A lo largo de la experiencia se extrajo DNA del contenido intestinal mediante kit Fast DNA Spin y posterior amplificación mediante PCR. El producto resultante se analizó mediante DGGE, según Konstantinov *et al.* (2003) y el gel se analizó con el software FPQuest 4.5.

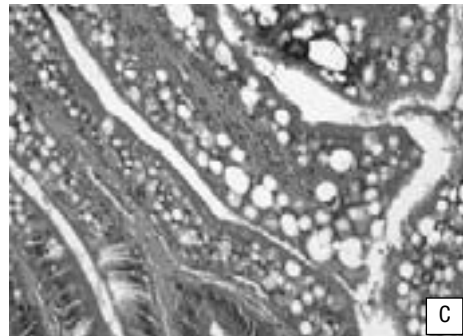
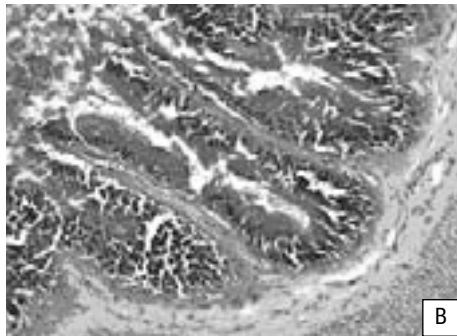
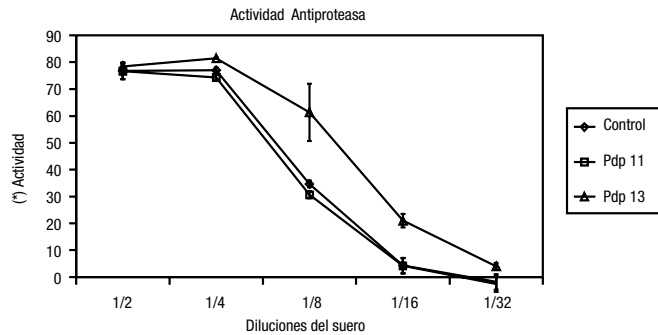
Resultados y discusión

La alimentación con Pdp13 produjo diferencias en la actividad antiproteasa frente al control, no encontrándose diferencias en el caso del Pdp11 (Fig 1a). No hubo diferencias significativas en el título de anticuerpos específicos (ELISA) en los ejemplares alimentados con las diferentes dietas suministradas ($p < 0.05$).

Los ejemplares alimentados con Pdp13 presentaron menor número de vacuolas grasas en digestivo (Fig1b) frente a los grupos control y Pdp11 (Fig 1c), si bien no se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en tasas de crecimiento ($1.2 \pm 0.1\%$ para control vs $1.2 \pm 0.1\%$ y $1.1 \pm 0.1\%$ para Pdp11 y Pdp13).

No se encontraron diferencias significativas en proteínas en músculo e hígado. El nivel de lípidos registrado en músculo fué significativamente mayor ($p < 0.05$) en el control ($7.4 \pm 0.8\%$) que en Pdp11 ($4.9 \pm 0.8\%$) y

Figura 1. Actividad antiproteasa en los tres grupos estudiados (a).
Vacuolas grasas en enterocitos Pdp13 (b) y control (c)



Pdp13 ($5.09 \pm 0.4\%$), existiendo una tendencia similar en hígado. En cuanto a los ácidos grasos se detectaron diferencias significativas en ambos órganos, no para PUFAs, W3, W6, DHA, EPA o ARA.

La microbiota intestinal analizada mediante el estudio del 16SrDNA (PCR-DGGE) mostró una sucesión a lo largo del tiempo, estableciéndose 3 clusters: el primero correspondiente al inicio (24-72h) con un índice de similitud del 10% frente al resto de muestras, el segundo relativo a las 2, 3 semanas con un índice de similitud del 35% y el tercero, referente al final de la experiencia, con un índice de 15%.

En conclusión, ambos probióticos, Pdp11 y Pdp13, modificaron el nivel de lípidos en músculo, siendo que además Pdp13 aumentó la actividad antiproteasa del suero y mejoró la condición digestiva de los ejemplares. No se observaron diferencias en crecimiento, nivel de proteínas y respuesta inmune específica, registrándose una sucesión en la microbiota digestiva de todos los grupos estudiados.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el PN de Lengado (JACUMAR 2006-2008).

Bibliografía

- Arijo S., Brunt J., M Chabrilón, P Diaz-Rosales y B Austin. 2008. Subcellular components of *Vibrio harveyi* and probiotics induce immune responses in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *V. harveyi*. *Journal of Fish Diseases* 31:579-590.
- Diaz-Rosales P., Arijo S., Chabrilón M., Alarcón F.J., Tapia-Paniagua S.T., Martínez-Manzanares E., Balebona M.C. y Morifiño M.A. 2009. Effects of two closely related probiotics on respiratory burst activity of *Senegalese sole* (*Solea senegalensis*, Kaup) phagocytes and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Aquaculture* 293: 16-21.
- Konstantinov, S.R., Zhu W.Y., Williams B.A., Tamminga S., De Vos W.M. y Akkermans A.D.L. 2003. Effect of fermentable carbohydrates on faecal bacterial communities as revealed by DGGE analysis of 16S rDNA. *FEMS Microbiol Ecol.* 43: 225-235.
- Linares, F., Olmedo, M., Peleteiro, J.B. y Arán Echabe, J. 2001. Ongrowing and biochemical composition of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) juveniles fed with different dry food. *European Aquaculture Society. Special publication* n° 30, 318-321. Eds. Hendry C.L., Van Stappen G., Wille M. & Sorgeloos P. Thompson I., Choubert G., Houlihan D.F. y Secombes C.J. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture* 133: 91-102.

Optimización del protocolo de cultivo larvario y destete del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)

I. García de la Banda¹, C. Lobo¹, C. Rodríguez¹, F. Linares², G. Pazos² y X. Moreno-Ventas³

¹ Instituto Español de Oceanografía. C.O. Santander. Promontorio San Martín s/n. Ap. 240. 39080 Santander. España.
E-mail: ines.gbanda@st.ieo.es

² Centro Invest. Mariñas (CIMA). Apdo nº13. Vilanova de Arousa CP36620. Pontevedra

³ Area Ecología. Dep.CYTAMA. Univ. Cantabria. Av. Castros s/n.CP39005. Santander

Abstract

A study to improve sole larvae and weaning was performed in the C.O.Santander. A new enrichment Artemia product (ORIGREEN, Skretting) was used and a selective syphon tool was designed for hygienic tank control. Co-feeding protocol was improved. Survival was increased to $86.5 \pm 1.4\%$ and significant higher length ($43.9 \pm 2.5\text{mm}$) and weight ($1.0 \pm 0.1\text{g}$) were reached at the end of the experience (119 DAH).. Body composition was also affected with significant higher protein and lower lipid levels at 88 and 120 DAH.

Justificación

A menudo se encuentran altas mortalidades en los primeros estadios larvarios y en el destete del lenguado senegalés relacionadas tanto con deficiencias nutritivas como con la presencia de patógenos como *Tenacibaculum maritimum*. El presente trabajo pretende optimizar los resultados obtenidos hasta el momento en nuestro centro respecto a supervivencia, crecimiento y composición corporal de lenguado senegalés en cultivo larvario y destete. Para ello se utilizó un nuevo enriquecedor de artemia (ORIGREEN, Skretting), se modificó el régimen de coalimentación anteriormente establecido y se diseñaron sifonadores selectivos para el mantenimiento de la higiene en los tanques de cultivo.

Material y Métodos

Se incubaron huevos procedentes de una puesta natural del C.O. de Santander y las larvas fueron distribuidas (40/l) en tanques circulares de 250 l. La temperatura de cultivo fue de $18.6 \pm 1.1^\circ\text{C}$. La iluminación (1000 lux en superficie) fue continua hasta día 10 y se estableció un ciclo 12:12 L/O hasta día 21. El régimen de alimentación se basó en Cañavate y Fernández Díaz (1999) con modificaciones. Inicialmente se adicionaron rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y fitoplancton: *Nannochloropsis gaditana* e *Isochrysis galbana* (3-10DAH) y posterior coalimentación con metanauplios de Artemia enriquecidos y microencapsulado (Gemma Diamond, Skretting). En la experiencia que se presenta se sustituyó el enriquecedor habitual de Artemia por ORIGREEN (Skretting), incrementándose además la frecuencia y cantidad de pienso adicionado. Los ejemplares al término del estudio eran alimentados al 10% de su peso. Asimismo se empleó un sifonador selectivo para la recogida diaria de restos alimenticios.

La supervivencia y crecimiento fueron valorados a lo largo del cultivo. Los datos de crecimiento fueron analizados mediante ANOVA y tests *posthoc* de Tukey y Games-Howell. Asimismo se tomaron muestras periódicamente para análisis de proteínas, lípidos y perfil de ácidos grasos que fueron analizadas según Linares *et al.* (2001).

Resultados y Discusión

El crecimiento en longitud y peso fue significativamente mayor ($p < 0.05$) para las larvas del ensayo frente al control (Fig 1a y b).

La composición corporal analizada se muestra en la Tabla I. El nivel de proteínas alcanzó valores significativamente mayores ($p < 0.05$) para el ensayo a días 88 y 120 DAH, en relación al enriquecedor y al nuevo protocolo de alimentación empleado.

La supervivencia final registrada mostró diferencias significativas con la obtenida en el protocolo habitual (86.5 ± 1.4 vs $62.5 \pm 1.4\%$), debido al empleo de un sifonador selectivo, que disminuyó el daño de los ejemplares ocurrido en anteriores experiencias y a una mejora en el protocolo de alimentación.

Figura 1. Crecimiento en (a) peso seco (mg) y (b) peso húmedo (g) a lo largo del cultivo larvario y destete de lenguado en el ensayo realizado frente al control habitual del centro.
Barras verticales: Desv. Típica

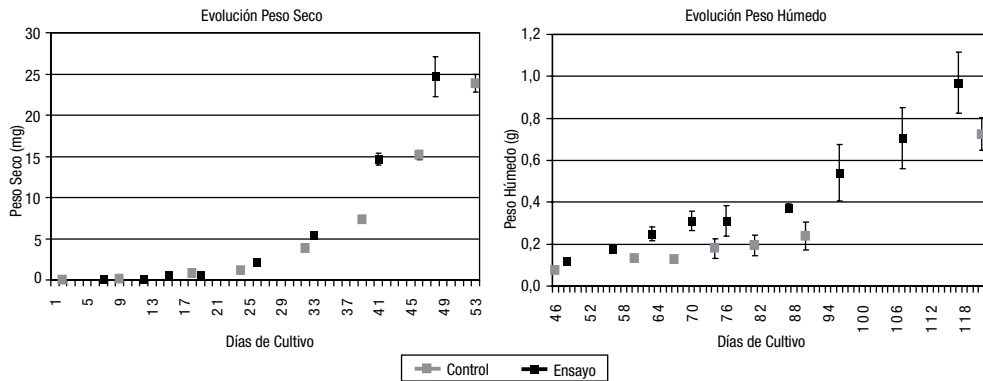


Tabla 1. Composición en proteínas, lípidos y perfil de ácidos grasos (%±Desviación Típica) de artemia enriquecida y postlarvas de lenguado (88 y 120 días de cultivo) alimentadas de forma habitual (control) y con el protocolo nuevo (ensayo). (* Diferencias significativas $p < 0.05$)

	88 DAH		120 DAH		Artemia	
	Control	Ensayo	Control	Ensayo	Control	Ensayo
Proteína (%)	47,7±1,7	53,7±3,4*	38,9±2,3	47,7±5,3*	25,6±9,5	36,4±0,5
Lípidos (%)	17,9±1,8	12,8±1,3*	19,7±2,6	18,5±1,3	31,3±0,8	17,3±0,3*
Poliinsaturado	46,6±6,4	36,0±10,4	48,3±11,6	36,1±9,1	27,4±0,6	44,1±0,1*
Monoinsaturado	29,4±0,6	32,8±5,5	28,4±0,8	31,9±4,4	49,7±2,0	26,5±0,5*
Saturado	24,0±6,2	31,2±5,0	23,3±12,4	32,1±4,8	22,9±2,6	29,5±0,3*
W3	34,1±5,7	23,9±8,7	36,0±10,5	24,9±8,0	15,5±5,9	33,4±0,1*
W6	11,8±0,7	10,7±1,6	11,7±1,4	9,7±1,3	6,6±1,3	9,7±0,1*
W3/W6	2,9±0,3	2,2±0,6	3,0±0,5	2,5±0,6	2,3±0,4	3,4±0,0*
DHA	16,5±3,4	10,5±4,4	17,1±5,0	10,9±3,8	5,2±2,3	6,5±0,3
EPA	6,0±0,9	3,9±1,3*	7,6±2,3	5,3±1,9	8,0±3,0	3,7±0,1*
ARA	2,3±0,4	2,7±0,8	1,8±0,2	1,6±0,5	2,1±0,7	2,5±0,1
DHA/EP	2,7±0,3	2,6±0,6	2,3±0,1	2,1±0,1	0,7±0,1	1,8±0,1*
EPA/AR	2,6±0,3	1,5±0,3*	4,1±0,8	3,3±0,4	3,7±0,1	1,5±0,1*
DHA/EPA/AR	1,2±0,2	1,0±0,2	1,2±0,1	1,6±1,0	0,3±0,1	0,7±0,0*

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el PN de Lenguado JACUMAR. Los autores expresan su agradecimiento a los ayudantes de El Bocal del C.O. de Santander, especialmente a Javier Revilla.

Bibliografía

- Cañavate J.P. y Fernández-Díaz C. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture* 174: 255-263.
- Linares F., Olmedo M., Peleteiro J.B. y Arán Echabe J. 2001. Ongrowing and biochemical composition of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) juveniles fed with different dry food. *European Aquaculture Society. Special publication* n° 30, 318-321. Eds. Hendry C.I., Van Stappen G., Wille M. y Sorgeloos P.

Atlas histológico del tracto digestivo de la corvina de cría, *Argyrosomus regius*

M. M. Gil¹, A. Grau¹ y I. Riera¹

¹ Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuicultura (LIMIA). Govern de les Illes Balears. Av. Ingeniero Gabriel Roca, .69 07158 Port d'Andratx, Mallorca. mmgil@dgpesca.caib.es

Abstract

A histological atlas of the digestive tract of the meagre, *Argyrosomus regius*, reared at laboratory conditions, is presented in this study. The meagre presents a relatively short digestive tract, typical of carnivorous species, which represents 70% of the total length. The oesophagus is short and wide, and is full of mucous goblet cells. The digestive tract continues in a muscular and saciform stomach which permits to ingest very large preys. At the end of the stomach there are 8-10 pyloric caeca (often 9) involved in the increase of intestine surface epithelium in order to make digestion. The anterior and posterior intestines are separated by the ileorectal valve. Very branched folds are presented at the anterior intestine, but the folds at the posterior intestine are less branched, Goblet cells are more abundant at the posterior intestine.

Justificación

La corvina, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) pertenece a la familia Sciaenidae y se distribuye a lo largo de la costa Atlántica incluyendo el Mar Mediterráneo (Chao, 1986). Es una especie costera que puede encontrarse tanto en los fondos de la plataforma continental como cerca de la superficie, en un rango de profundidad de 15 a 200 m (Quero, 1985; Chao, 1986).

Actualmente, el interés científico sobre la corvina ha aumentado considerablemente desde que se inició su producción como nueva especie de cría para la acuicultura mediterránea. Los primeros estudios sobre su potencial acuícola se iniciaron en Francia, Italia, y España en el año 1996 (Calderón *et al.* 1997). El LIMIA ha sido pionero en los estudios de crecimiento en engorde en jaulas (Pastor *et al.*, 2002), siendo también el primer centro español en conseguir su reproducción en cautividad (Pastor *et al.*, 2009).

La estructura anatómica e histológica del tubo digestivo revela numerosas particularidades dependientes de la diversidad de los regímenes alimenticios y modos de vida de cada especie en particular, y es un reflejo de la filogenia del grupo (Grau *et al.*, 1992). Se caracteriza, también, por ser un indicador eficaz de la condición de los ejemplares (Grau, 1992). Sin embargo, no existe ningún tratado anatomohistológico sobre el aparato digestivo de corvina de cría. En el presente trabajo pretendemos describir, de forma breve, las principales características del tracto digestivo de corvina en condiciones fisiológicas normales.

Material y Métodos

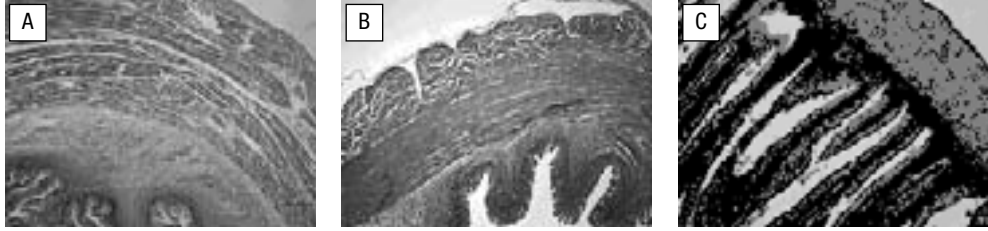
30 corvinas nacidas en cautividad en el LIMIA en el año 2006, a partir de reproductores salvajes provenientes de la Bahía de Cádiz, mantenidas en jaulas flotantes y alimentadas con piensos comerciales han sido utilizadas en el presente estudio. Las muestras fueron tomadas durante el periodo 2007-2009, en tres muestreos sucesivos donde se recogieron tejidos de 10 peces en cada uno de ellos. La talla media de los peces era 48.3 cm en el 2007, 55.9 cm en el 2008 y 59.2 cm en el 2009. Las muestras obtenidas fueron sometidas a la metodología rutinaria de fijación en formol 4% tamponado con fosfatos 0.1M, inclusión en parafina, sección de 4-5 µm, y tinción con Hematoxilina-Eosina y Azul alcian-PAS.

Resultados y Discusión

Argyrosomus regius presenta un tracto digestivo relativamente corto, que corresponde aproximadamente al 75% de la longitud corporal total, característico de las especies carnívoras.

Éste comienza en el *esófago*, corto y ancho, que presenta abundantes células mucosas en el epitelio y una amplia musculatura estriada que le permite alojar, e incluso regurgitar sus presas en caso necesario. El *estómago* presenta forma de saco, posee una espesa capa muscular que le permite distenderse para alojar grandes presas y en su epitelio presenta numerosas glándulas gástricas encargadas de las secreciones estomacales. A la salida del estómago se localizan los *ciegos pilóricos*, cuyo número oscila entre 8 y 10 pero frecuentemente presenta 9; y cuya función principal es almacenar parte del alimento durante su digestión. El *intestino anterior* presenta una estructura muy similar a la de los ciegos pilóricos con largas vellosidades muy ramificadas y células calciformes de gran tamaño. El *intestino posterior* (no se diferencia

Foto 1. Cortes histológicas del tracto digestivo de *Argyrosomus regius*. A. Esófago. HE, x4. B. Estómago. HE, x4. C. Intestino posterior. HE, x10



histológicamente un intestino medio como tal) se separa del anterior mediante la válvula ileorectal y se caracteriza por presentar largos pliegues con escasas ramificaciones y un gran número de células calciformes que recorren todo el epitelio hasta el ano.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA «Engorde experimental de Corvina en jaulas marinas. Estudio de las patologías del engorde» (REF. RTA-2007 00033-C02-01) y por el Plan Nacional de Cría de Corvina (PLANACOR, Planes Nacionales de Cultivos Marinos JACUMAR MAPA-CC.AA.).

Bibliografía

- Arellano, JM, Sarasquete, C. 2005. Atlas histológico del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). CSIC, Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. 183 pp.
- Chao, LN. 1986. Sciaenidae. En: Fishes of the Eastern Atlantic and Mediterranean. Ed. P.J.P. Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau and E. Tortonese. pp. 865-874. UNESCO, Paris, France.
- Calderón, J.A. et al. 1997. Estabulación y crecimiento en cautividad de un lote de n lote de reproductores de corvina (*Argyrosomus regius*). VI Congreso Nacional de Acuicultura. pp. 365-370. Cartagena, España.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M.C. y G. de Canales, M.L. 1992. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *J. Fish Biol.* 41 (2), 287-303.
- Grau, A. 1992. Aspectos histológicos, ciclo reproductor y principales procesos patológicos de *Seriola dumerili*, Risso 1810 (Carangidae). Tesis doctoral. Univ. Autónoma de Barcelona, 451 pp.
- Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology. Tokio. Ed. Kodansha. 147 pp.
- Pastor, E., Grau, A., Massutí-Pascual, E. y Sánchez de Lamadrid, A. 2002. Preliminary results on growth of meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) in sea cages and indoor tanks. EAS Special publication 32, 422-423.
- Pastor, E., Rodríguez-Rúa, A., Grau, A., Jiménez, M.T., Durán, J. y Cárdenas, S. 2009. Hormonal induction and larval rearing of meagre, *Argyrosomus regius* (Pisces, Sciaenidae). *Aquaculture Research* (En revisión).
- Quero, J.C. 1985. Le maigre, *Argyrosomus regius* (Pisces, Scianidae) en Mediterranee occidentale. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 144 (4), 81-89.

Evaluación del efecto de distintos ratios DHA:EPA de la dieta en la morfogénesis larvaria del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) prestando especial atención a la esquelotogénesis y la pigmentación

A. Boglino, F. Ozcan, A. Estévez, M. J. Darias y E. Gisbert

Centro de Acuicultura-IRTA, Ctra. Poble Nou km 5,5, 43540 Sant Carles de la Ràpita, Tarragona, maria.darias@irta.cat

Abstract

The influence of dietary DHA:EPA ratios on growth, survival and morphogenesis was evaluated from 8 to 45 days post hatching (dph) in Senegal sole larvae. Larvae were fed with *Artemia* nauplii previously enriched with different emulsions containing constant concentrations of PUFAS n-3 but graduated DHA:EPA ratios. Thus, Easy Selco 1/2 diluted with olive oil (ES/2), Easy Selco (ES), Aquagrow DHA (AGD) 1/3 diluted with olive oil, Red Pepper (RP) and Aquagrow Gold (AGG) 1/3 diluted with olive oil gave 0.65, 0.71, 1.28, 1.79 and 1.92 DHA:EPA ratios, respectively. The effects of such dietary treatments were evaluated on larval growth, survival, fatty acids composition, metamorphosis progress, intestinal maturation, skeletal development and pigmentation. Special attention was paid to the incidence of skeletal deformities and pigmentations disorders.

Justificación

Se ha demostrado que algunos nutrientes son responsables de la aparición de deformaciones esqueléticas y problemas pigmentarios debido a su inadecuada cantidad y/o forma de incorporación en el alimento, tales como las vitaminas y los lípidos (Cahu *et al.*, 2003). Los lípidos de la dieta constituyen la primera fuente de ácidos grasos necesarios para la formación de nuevas estructuras celulares requeridas para el crecimiento, el desarrollo del esqueleto y la pigmentación. Entre ellos, el docohexanoico (22:6n-3, DHA) y el eicosapentanoico (20:5n-3, EPA) son esenciales y sólo pueden obtenerse a través del alimento, ya que los peces marinos tienen muy limitada la capacidad de sintetizarlos (Sargent *et al.*, 2002). Existen muy pocos estudios nutricionales donde se evalúe el efecto de los ácidos grasos esenciales durante la ontogénesis del lenguado senegalés. Villalta (2007) analizó el efecto de niveles crecientes de DHA y EPA sobre el desarrollo larvario de dicha especie. Sin embargo, la interacción entre estos dos ácidos grasos debe ser tenida en cuenta ya que comparten la misma vía de biosíntesis. Por otro lado, hay que tener en cuenta que el metabolismo natural de los nauplios de *Artemia* modifica la composición original de las emulsiones de enriquecimiento formuladas para alimentar a las larvas de peces mediante la conversión del DHA en EPA. Por ello, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la proporción DHA:EPA en la esquelotogénesis y la metamorfosis del lenguado senegalés, prestando especial atención a la posible incidencia de malformaciones esqueléticas y problemas pigmentarios.

Material y Métodos

Se realizó un experimento previo de enriquecimiento de *Artemia* en el que se utilizaron diferentes ácidos grasos comerciales para formular cinco emulsiones que contuvieran similar cantidad de PUFAS n-3 pero diferente relación DHA:EPA: Easy Selco (ES), Easy Selco diluido a la mitad con aceite de oliva (ES/2), Red Pepper (RP), Aquagrow Gold (AGG) y Aquagrow DHA (AGD). Los nauplios de *Artemia* de 24h después de la eclosión se enriquecieron con dichas emulsiones durante 22h a 28 °C y posteriormente se analizó su composición lipídica (Tabla 1). Las larvas de lenguado senegalés se cultivaron desde el día 3 al 45 después de la eclosión (dde) en tanques de 100 L a una densidad de 75 larvas L⁻¹, 19 °C de temperatura y 35 de salinidad. En la Figura 1 se muestra el protocolo de alimentación utilizado. El suministro de los diferentes nauplios de *Artemia* enriquecidos (4 réplicas por tratamiento) se repartió en dos tomas diarias. Se realizaron muestreos a lo largo del desarrollo larvario para la determinación de la longitud total y peso seco. Como indicador de la progresión de la metamorfosis se calculará el porcentaje de larvas bentónicas a los 12 y 21 dde. Tanto la supervivencia como el patrón de pigmentación se determinarán al final del experimento. Se analizará la composición bioquímica de las presas vivas enriquecidas y de las larvas de lenguado senegalés a los 10, 15 y 45 dde. La maduración del sistema digestivo y el grado de osificación del esqueleto se evaluarán a los 10, 30 y 45 dde.

Resultados y Discusión

Las *Artemias* enriquecidas con ES, ES/2 y RP mostraron unos niveles de PUFAS n-3 en torno de 35-40% y las enriquecidas con AGG y AGD alcanzaron casi un 50%. Para obtener niveles similares de PUFAS n-3 estas

Figura 1. Secuencia de alimentación de larvas de lenguado senegalés utilizado en el experimento. rot, rotíferos; nA, nauplios de Artemia. Los días indicados marcan los puntos de muestreo

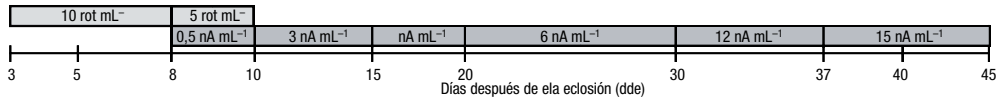
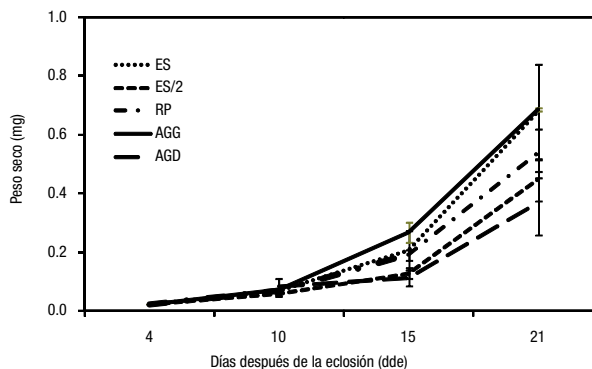


Tabla 1. Proporción de PUFAs n-3, EPA y DHA de las Artemias enriquecidas durante 22 h a 28° C

	ES	ES/2	RP	AGG	AGD
PUFAs n-3	37.9	33.5	39.58	47.56	47.60
EPA	11.22	7.86	4.92	8.45	8.65
DHA	7.96	5.13	8.83	16.22	11.11
DHA:EPA	0.71	0.65	1.79	1.92	1.28

Figura 2.



dos últimas emulsiones se diluyeron un tercio con aceite de oliva. Así, el rango de ratios de DHA:EPA obtenidos se encontró entre 0.65 (ES/2) y 1.92 (AGG). El experimento ha finalizado y actualmente se están procesando y analizando las muestras.

El Figura 2 se muestra la evolución preliminar del crecimiento de las larvas de lenguado en función de los diferentes tratamientos. A día 21 la tendencia observada indica que tanto el AAG como el ES inducen una mayor velocidad de crecimiento, alcanzando el doble del peso seco que aquellas larvas alimentadas con Artemia enriquecida con AGD (ANOVA de una vía, test PLSD de Fisher, $P=0.0027$).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (AGL2008-03897-C04-01). A. Boglino disfruta de una beca predoctoral del IRTA. M.J. Darias disfruta de un contrato post-doctoral Juan de la Cierva.

Bibliografía

- Cahu, C.L., J.L. Zambonino y T. Takeuchi. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*. 227: 245-258.
- Sargent, J.R., D.R. Tocher y J.G. Bell. 2002. The lipids. En: Fish Nutrition. J.E. Halver y R.W. Hardy (Eds.), Academia Press, San Diego, CA, USA: 181-257.
- Villalta, M., A. 2007. Requerimientos nutricionales en ácidos grasos esenciales y organogénesis de la larva del lenguado senegalés. Tesis de doctorado. IRTA-Universidad Autónoma de Barcelona.

Efecto de la temperatura en el consumo de lípidos de las larvas de parracho, *Scophthalmus rhombus* L.

I. Hachero-Cruzado¹, M. Herrera¹, J.M. López¹, P. Olmo¹ y C. Fernández-Díaz²

¹ IFAPA Centro Agua del Pino. Ctra. Cartaya – Punta Umbria. 21459 Cartaya (Huelva).
E-mail: ismael.hachero@juntadeandalucia.es

² IFAPA Centro El Toruño. Ctra. N.IV Km 654a. Camino Tiro Pichón. 11500. Puerto de Santa María (Cádiz)

Abstract

The lipid composition during the *Scophthalmus rhombus* larval rearing at 15 and 19 °C has been studied. Total and neutral lipid composition decreased in both treatments until 5 days after hatching (DAH), and increased from this time to 24 DAH. Polar lipid content (PL) remained constant between 0 and 5 DAH in 15 °C treatment, but decreased in 19 °C treatment. Saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids decreased in both groups until 5 DAH, and they after increased to 24 DAH. Most of fatty acid showed a similar trend including EPA and DHA. It is also remarkable that 16:1 n7, 18:0 y ARA content kept constant until 5 DAH in larvae cultured at 15 °C.

Justificación

Actualmente se dispone de una tecnología de reproducción del parracho (*Scophthalmus rhombus*) que permitiría realizar ensayos de cultivo larvario a escala industrial. Sin embargo, las tasas de supervivencia obtenidas hasta la fecha en los ensayos de cultivo larvario, inferiores siempre al 5%, aconsejan centrar el esfuerzo científico-técnico en esta fase. Con la metodología de cultivo que actualmente está aplicándose en el cultivo larvario, hemos observado que temperaturas superiores a 17 °C producen mortalidades masivas antes de 15 dde (días después de la eclosión). El objetivo de este trabajo es aportar información sobre el efecto de la temperatura en el metabolismo lipídico, así como sobre los requerimientos nutricionales de las larvas de parracho.

Material y Métodos

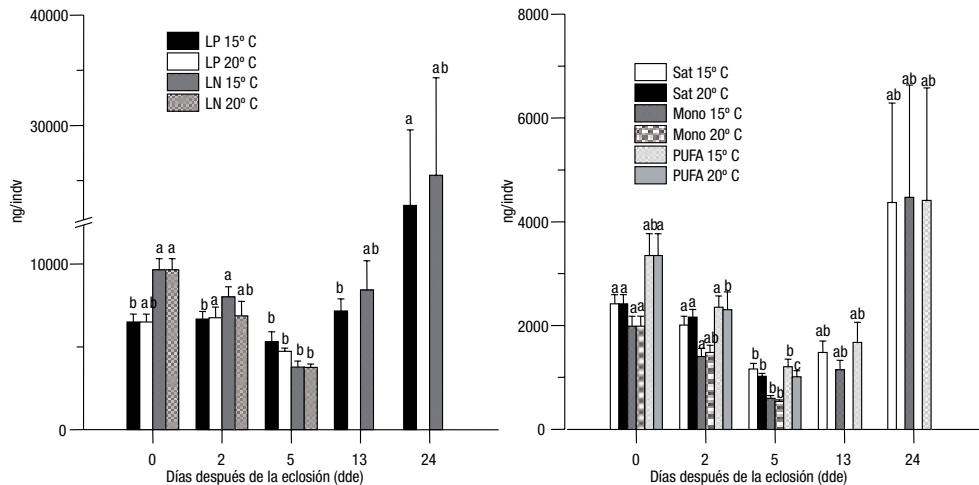
Los 5 lotes de larvas de *S. rhombus* se obtuvieron mediante fecundación artificial de los lotes de reproductores del IFAPA Centro Agua del Pino. Cada uno de los 5 lotes de larvas recién eclosionadas se separó en dos taques que se mantuvieron durante todo el periodo experimental a 15 y 19 °C. Las larvas se cultivaron en tanques de 500 L, circulares y de fondo plano, a una densidad de 30 larvas/L, con 12 horas luz/día. Las larvas se alimentaron con rotífero (*Brachionus plicatilis*) desde la apertura de la boca (2 dde) hasta 14 dde a una densidad de 15 presas / mL. *Artemia* sp. se introdujo 6 DDE a una densidad de 5 presa/mL. Junto con el alimento vivo se suministró alimento inerte entre 8 y 30 dde.

Se tomaron muestras de larvas en ambos tratamientos a 0, 2, 5, 13 y 24 dde, para determinar el peso seco y analizar los contenidos de lípido total (Christie, 1982), clases lipídicas (Olsen y Henderson, 1989) y ácidos grasos (Christie, 1982).

Resultados y Discusión

Las larvas cultivadas a 19 °C no alcanzaron en ningún caso los 13 dde en número suficiente para tomar una muestra para el análisis de lípidos. En cambio, en 3 de los 5 lotes cultivados a 15 °C pudieron tomarse muestras hasta el final del período experimental (24 dde). En ambos tratamientos se observó una disminución del contenido en lípidos totales (LT) y lípidos neutros (LN) entre 0 y 5 dde, muy acusado en el caso de los triglicéridos (TG) y ésteres de esteroles (EE), mientras que el contenido en colesterol (CHO) se mantuvo. Posteriormente, los LT y LN aumentaron de forma significativa en las larvas cultivadas a 15 °C, alcanzando 13 dde valores próximos a los iniciales, y superiores 24 dde (Figura 1A). Este aumento fue más importante en el caso del CHO. El contenido en lípidos polares (LP) de las larvas cultivadas a 15 °C se mantuvo constante entre 0 y 13 dde, y aumentó 24 dde. En cambio, en las larvas cultivadas a 19 °C los LP se mantuvieron sin cambios entre 0 y 2 dde, y bajaron de forma significativa 5 dde (Figura 1A). En ambos tratamientos el contenido en fosfatidilserina (PS) aumentó progresivamente entre 0 y 5 dde, y fosfatidiletanolamina (PE) se mantuvo. El contenido en fosfatidilinositol (PI) se redujo significativamente en ambos tratamientos, mientras fosfatilcolina (PC) sólo se consumió de forma significativa en las larvas cultivadas a 20 °C entre 0 y 5 dde. La síntesis de PE y su conservación en los primeros momentos de la etapa larvaria, así como el uso de la PC en el metabolismo energético de larvas se ha descrito también en otras especies de peces marinos (Rainuzzo *et al.*, 1992).

Figura 1. A) Contenido en lípidos polares (LP) y lípidos neutros (LN); y B) contenido en ácidos grasos saturados (Sat), Monoinsaturados (Mono) y Poliinsaturados (PUFA), durante el cultivo larvario de parracho a 15 y 19 °C. Los datos se presentan como media±S.E.M. Medias con diferente notación son significativamente diferentes (ANOVA y Duncan test; $P < 0.05$)



En cuanto a los ácidos grasos, hubo una disminución significativa de los contenidos de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados entre 0 y 5 dde, y posteriormente, en las larvas cultivadas a 15 °C, aumentaron hasta 24 dde, aunque este aumento no fue significativo (Figura 1B). La mayoría de ácidos grasos siguieron este patrón en ambos tratamientos, incluidos EPA y DHA, aunque hay que resaltar la conservación de 16:1 n7, 18:0 y ARA, en el cultivo a 15 °C. La conservación de ARA también se ha observado en los primeros estadios larvarios de *Solea senegalensis* (Vázquez *et al.*, 1994).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto de Cooperación Transfronteriza ECOAQUA.

Bibliografía

- Christie, W.W. 1982. Lipid Analysis. 2ª edn. Pergamon Press. Oxford.
- Olsen, R.E., Henderson, R.J., 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129, 189-197.
- Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I. y Jorgensen, L., 1992. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 103B, 21-26.
- Vázquez, R., González, S., Rodríguez, A. y Mourente, G., 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture* 119, 273-286.

Consumo de lípidos y proteínas a lo largo de la embriogénesis y alimentación endógena de las larvas de Parracho (*Scophthalmus rhombus*)

I. Hachero-Cruzado¹, M. Herrera¹, E. Rodríguez², E. Almansa³, A. Rodiles¹, A. Lorenzo⁴ y J. I. Navas¹

¹ IFAPA Centro Agua del Pino. Ctra. Cartaya – Punta Umbría. 21459 Cartaya (Huelva).
e-mail: ismael.hachero@juntadeandalucia.es

² Dept. Química Analítica, Fac. Química. Univ. La Laguna, 38206 S/C de Tenerife

³ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias. Apdo. 1373. S/C de Tenerife

⁴ Dept. Biología Animal, Fac. Biología. Univ. La Laguna, 38206 S/C de Tenerife

Abstract

Brill (*Scophthalmus rhombus* L., 1758) is a flatfish that inhabits coastal waters of the Mediterranean, Black and Baltic seas, and Atlantic ocean). It is considered a high market value species in the Southwest of Europe, so it may be an interesting species for aquaculture diversification. The objective of this work is to contribute to the knowledge of metabolic features and nutritional requirements of the early hatched larvae, characterizing the changes in the protein and lipid composition of eggs during the embryogenesis and the yolk sac larval stage.

Justificación

El parracho o rémol (*Scophthalmus rhombus* L., 1758) es un pez plano de hábitat litoral (5–50 m de profundidad). Se distribuye en el Atlántico Este, en el mar Mediterráneo y en el mar Negro (Bauchot, 1987). Es una especie de alto valor comercial en todo el suroeste de Europa, lo que le convierte en una especie de interés para la diversificación de la acuicultura. El objetivo de este trabajo es aportar información sobre el metabolismo y los requerimientos nutricionales de las larvas recién eclosionados a partir de la evolución en la composición lipídica y proteica del embrión y la larva endógena.

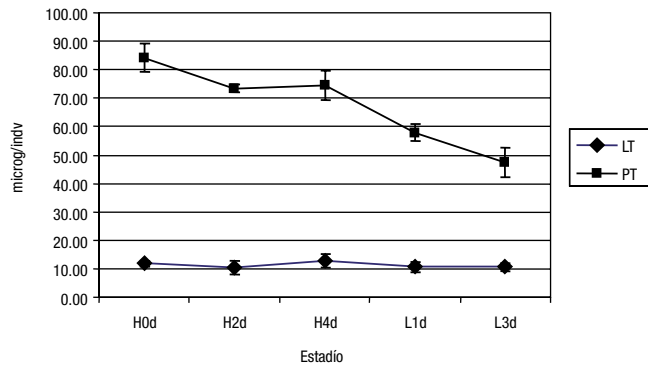
Material y Métodos

Los huevos y el esperma se obtuvieron de 6 reproductores (3 machos + 3 hembras) del IFAPA Centro *Agua del Pino*. Estos reproductores se estabularon en un tanque rectangular de 4,2 m² y de 5000 L de capacidad. El sistema de cultivo era en circuito abierto con una temperatura entre 10–23 °C, salinidad entre 37–39 ‰ y fotoperiodo natural. Los reproductores fueron capturados del medio natural y alimentados con una dieta natural congelada basada en: calamar (*Loligo* sp.) y bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (2 tomas / semana), así como mejillón (*Mytilus* sp.) y sardina (*Sardina pilchardus*) (1 toma / semana). La alimentación se completó con pienso comercial para reproductores (Skretting, España) (1 toma / semana). La ración diaria máxima ofrecida fue del 2 % de la biomasa de los peces. Óvulos y esperma fueron obtenidos mediante masaje abdominal y se llevó a cabo una fecundación artificial. La incubación se realizó en tanques cilíndricos de 225 L a una densidad de 400 huevos/L y una temperatura media de 15,7 °C. Se tomaron muestras de huevos de 0, 2 y 4 días y de larvas de 1 y 3 días (alimentación endógena) para determinar el peso seco y analizar los contenidos de lípido total (LT), proteína total (PT), clases lipídicas, ácidos grasos y composición en aminoácidos.

Resultados y Discusión

Los resultados muestran que el peso seco se mantuvo constante a lo largo del desarrollo embrionario (0,11±0,0 mg/individ.) y descendió tras la eclosión (0,07±0,0 mg/individ.). Este descenso, no se reflejó en el contenido de lípidos, que se mantuvo constante, pero sí en el contenido de proteína que se redujo en un 43 % en las larvas de 3 días (Figura 1), algo parecido a lo observado también en el bacalao (Finn *et al.*, 1995).

Cuando se analiza la evolución de la composición de aminoácidos totales a lo largo del desarrollo, la mayoría de los aminoácidos reducen su contenido tras la eclosión, mientras que otros como Lys, Pro, Thr, Glu y Ser comienzan a reducir sus contenidos antes de finalizar la embriogénesis. Por el contrario, la Gly es el único aminoácido que mantiene sus contenidos constantes durante todo el período analizado. Un comportamiento similar de la Gly ha sido observado en bacalao por Finn *et al.* (1995).

Figura 1. Contenidos de proteína y lípido total en diferentes estadios de huevos y larvas de parracho

Con respecto a la composición lipídica, no se observan variaciones importantes en ninguna clase lipídica. De hecho las únicas diferencias significativas se observan a nivel de la fosfatidiletanolamina, que incrementa sus contenidos en la fase de larva, lo cual también ha sido descrito en otras especies de peces (Rainuzzo *et al.*, 1997). Por último, al analizar los contenidos en ácidos grasos del LT tampoco se observan diferencias significativas a lo largo del desarrollo. En su conjunto, estos datos sugieren que el Parracho hace uso de su contenido proteico durante el desarrollo embrionario y alimentación endógena de la paralarvas, aunque el consumo varía entre los distintos aminoácidos. Por su parte los lípidos se reservan, posiblemente para ser usados al inicio de la alimentación exógena, lo cual puede estar asociado al consumo de la gota de grasa que ha sido descrito en esta especie (Hachero-Cruzado *et al.*, 2009).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto INIATRT2006-00011-C02-00

Bibliografía

- Finn, R.N., H.J. Fyhn y M.S. Evjen. 1995. Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). I. Respiration and nitrogen metabolism. *Marine Biology*. 124: 355-369.
- Bauchot, M.L. 1987. Poissons osseux. En: Fiches FAO d'identification pour les besoins de la pêche (révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume II. Commission des Communautés Européennes and FAO. W. Fischer, M.L. Bauchot y M. Schneider (Eds.): 891-1421.
- Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan y Y. Olsen. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*. 155: 103-115.

Estudio de la digestibilidad de los piensos comerciales disponibles para dorada (*Sparus aurata*)

M. D. Hernández, J. Cerezo Valverde, F. Aguado Giménez y B. García-García

IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo. 65.
30740 San Pedro del Pinatar. Murcia. mdolores.hernandez6@carm.es

Abstract

Currently, in fish feed, protein levels are adjusted adding high level of non protein energy, in form of lipids, mainly. One of the factors affecting the efficiency in the use of the diet protein is its digestibility. Digestive utilization of commercial feed has been studied in seabream with two different body weights. Higher digestibility for protein and dry matter was found in that diet with medium energy level. Regarding lipids digestibility, differences were found between the feeds with the highest and the lowest energy. Digestibility coefficients of phosphorus are lower than for the others diet components, with the same tendency for the dry matter. Regarding the effect of the body weight, the results shown a higher digestibility for protein/nitrogen and phosphorus in the animals with higher body weight (400 g) than in the smaller ones (100 g), being lower for lipids.

Justificación

La proteína es el componente más caro en los piensos para peces. Esta es la razón fundamental por lo que es importante optimizar la cantidad de proteína en los piensos para peces. Otros beneficios secundarios serían un crecimiento más rápido y eficiente, reducir el impacto medioambiental y una mejora de la calidad del agua. Hay muchos factores que afectan a la eficiencia con la que el pez utiliza la proteína de la dieta para mantenimiento y crecimiento. Estos factores incluyen: la cantidad y calidad de la proteína de la dieta (perfil de aminoácidos), la digestibilidad de la proteína, el peso corporal y la edad del animal, la ingesta y numerosas condiciones medioambientales (Halver y Hardy, 2002; Wilson, 2002). En la actualidad, los niveles de proteína se optimizan incorporando altos niveles de energía no proteica en forma de lípidos o carbohidratos. Estas fuentes se incorporan para reducir el catabolismo de proteínas para la obtención de energía y mejorar la eficiencia de la retención proteica (Halver y Hardy, 2002). Por todo ello, se ha estudiado la utilización digestiva de la gama de piensos comerciales (de alta, media y baja energía) disponibles actualmente para el engorde de dorada.

Material y Métodos

Se han llevado a cabo dos experimentos con ejemplares de dos pesos corporales: 100 y 400 g de peso inicial. Los ensayos se han realizado en 9 tanques cilíndricos (360 l) provistos de un sistema de recogida de heces mediante una válvula inferior, operando en circuito cerrado de agua de mar.

Los análisis de las dietas nos muestran un valor de energía bruta (MJ kg^{-1}) de 22.31, 21.62 y 20.64 para el pienso A, B y C, respectivamente. Los ingredientes comunes de los piensos son, harina de pescado, harina de soja, gluten de maíz, gluten de trigo, aceite de pescado, aceite de soja y aceite de lino, variando la formulación según el tipo de pienso. También se incluyen otros ingredientes minoritarios como habas, guisantes o trigo en algunos de los piensos. Las doradas fueron alimentadas con las diferentes dietas (por triplicado) en dos tomas al día a las 9:30 y a las 13 horas. A las 13:30 se recogían los posibles restos no ingeridos de pienso. Tras un período de adaptación se procedió a recoger las heces (a las 9:00 horas) diariamente que fueron centrifugadas, liofilizadas y almacenadas hasta su análisis. La determinación de las cenizas insolubles en ácido se llevó a cabo por el método de Atkinson *et al.* (1984). La determinación del nitrógeno y fósforo y del porcentaje de macronutrientes se realizaron según los métodos de la AOAC (1997). A partir de los resultados obtenidos en dietas y heces, se calculó el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de los componentes de la dieta.

Resultados y Discusión

Los resultados se presentan en la Tabla 1. Los CDAs para la materia seca y la proteína siguen una tendencia similar. La digestibilidad más alta para materia seca y proteína la presenta la dieta intermedia (Pienso B), siendo un poco más bajos para para la dieta A (significativo en el caso de la proteína) y más bajos aún para el pienso C. Con respecto a la digestibilidad de los lípidos el pienso B presenta un coeficiente intermedio, presentándose diferencias significativas entre el pienso A y el pienso C.

Tabla 1. Ganancia de peso de los juveniles de *Cherax quadricarinatus* durante el período de restricción y realimentación. Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Experimento	Duración	Peso inicial	Peso final	Nº indiv./tanque	Temperatura
I	34	104.11±9.03	144.17±14.50	20	24.50±0.36
II	43	434.08±17.04	518.08±31.82	8	24.69±0.15

Tabla 1. Resultados del ANOVA factorial con el efecto de la dieta y el del peso corporal sobre los Coeficientes de Digestibilidad Aparente para los distintos componentes de la dieta

	Pienso				Peso corporal		
	A	B	C	Significación	100 g	400 g	Significación
Materia seca	88.8 ^a	89.1 ^a	85.9 ^b	$p < 0.05$	—	—	n.s
Proteína	96.6 ^a	97.4 ^b	96.1 ^a	$p < 0.005$	96.4 ^a	97.1 ^b	$p < 0.05$
Lípidos	98.6 ^b	98.4 ^{ab}	97.9 ^a	$p < 0.05$	98.5 ^b	98.1 ^a	$p < 0.05$
MELN	68.3 ^a	73.4 ^{ab}	74.5 ^b	$p < 0.05$	—	—	n.s.
N	96.8 ^a	97.6 ^b	96.1 ^a	$p < 0.001$	96.4 ^a	97.3 ^b	$p < 0.005$
P	80.1 ^b	82.4 ^b	71.4 ^a	$p < 0.001$	75.5 ^a	80.5 ^b	$p < 0.01$

Los datos representan la media±la desviación estándar de la media.

La digestibilidad del nitrógeno muestra una tendencia paralela, lógicamente, a la de la proteína, siendo más alta para el pienso B. Los coeficientes de digestibilidad del fósforo son más bajos que para el resto de componentes comentados. La tendencia es la misma que para la materia seca, los CDAs del pienso B son los más altos, más bajos para el pienso A (diferencia no significativa estadísticamente) y más bajos para el pienso C.

El MELN presenta los coeficientes de digestibilidad más bajos de todos los macronutrientes de la dieta.

Con respecto al efecto del peso corporal, aunque las diferencias en todos los casos son cuantitativamente muy pequeñas, son estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos muestran mayor digestibilidad de proteína / nitrógeno y fósforo en los animales de mayor tamaño, siendo más baja para los lípidos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto RM-POI07-013-002.

Bibliografía

- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Atkinson, J.L., Hilton, J.W. y Slinger, S.J., 1984. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1384-1386.
- Halver, J.E. y Hardy, R.W. 2002. Nutrient flow and retention. In: Fish Nutrition (Chapter 14), 3rd edn. Ed. by John E. Halver & Ronald W. Hardy pp. 755-770. Academic Press, California, CA. USA.
- Wilson, R.P. 2002. Amino acids and proteins. In: Fish Nutrition (Chapter 3), 3rd edn. Ed. by John E. Halver & Ronald W. Hardy pp. 144-179. Academic Press, California, CA. USA.

Celularidad y capilarización en músculo blanco de dorada (*Sparus aurata*): beneficios del ejercicio con una dieta rica en carbohidratos

A. Ibarz*, O. Felip, M. Martín-Pérez, J. Blasco, J. Fernández-Borràs, D. Rizo, J. R. Torrella

Departament de Fisiologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.
Xarxa de Referència en Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya. Diagonal 645, 08029 Barcelona. * e-mail: tibarz@ub.edu

Abstract

The cellularity and capillarization of white muscle from two selected areas (cranial, Cr, dorsal fin; caudal, Cd, anal fin) of gilthead sea bream were studied. Two groups of fish (in triplicate) were adapted to an experimental diet rich in digestible carbohydrates and were submitted to two different swimming regimes (Exercise, E: 1.5 body length·s⁻¹ or Control, C: voluntary activity). After three weeks, the weight of group E rose significantly without an increment of their intake. In the E group, cross-section and perimeter fibres of cranial samples increased. Capillarization, extremely low in white muscle, did not show significant differences between condition or sampling areas. The results demonstrate muscle hypertrophy, linked to slight hyperplasia, induced by sustained swimming in gilthead sea bream fed a rich-carbohydrate diet.

Justificación

En la optimización de las dietas para peces marinos, el incremento de la proporción de carbohidratos de alta digestibilidad puede ser una solución para el ahorro proteico. El ejercicio moderado se ha demostrado que mejora no sólo la eficiencia de conversión del alimento sino también la tasa de crecimiento (Jobling 1993). En el crecimiento del músculo la contribución relativa de la hiperplasia y de la hipertrofia de las fibras musculares depende, entre otros factores, del ejercicio y de la dieta (revisado en Johnston, 1999). La plasticidad del crecimiento muscular en diferentes condiciones de producción determina la denominada «celularidad muscular» (conjunto de parámetros que indican el estado del tejido a partir de las características celulares), y que es el marcador principal de la calidad del músculo (Johnston 1999). En estudios previos hemos demostrado que la combinación de una dieta rica en carbohidratos digeribles combinada con una natación sostenida producía en la trucha arcoiris (*O. mykiss*) un efecto «sparing» de la proteína de la dieta (Blasco *et al.*, 2007). El objetivo principal del trabajo consiste en demostrar que el ejercicio sostenido en la dorada alimentada con una dieta rica en carbohidratos digeribles favorece el crecimiento muscular.

Material y Métodos

Juveniles de dorada de un peso inicial de 90 g aprox. se adaptaron a una dieta experimental rica en carbohidratos digeribles (40.4 % CHO digeribles, 37.2 % proteínas, 12.5 % lípidos) durante dos semanas. Al final de este período, se distribuyeron en 6 tanques. Tres de ellos fueron sometidos a una natación sostenida mediante un flujo circular de agua equivalente a 1.5 Long/s (grupo Ejercicio, E) frente a otros 3 grupos sin natación forzada (grupo Control, C). Al final de un período de 3 semanas se analizaron el crecimiento y la ingesta de cada tanque. Se determinaron los datos morfométricos de 12 animales de cada condición, empleándose 5 para el estudio de fibras musculares. Inmediatamente después del sacrificio, una sección de músculo blanco craneal (Cr, en la perpendicular del inicio de la aleta dorsal) y otra de la zona caudal (Cd, en la perpendicular de la aleta anal) se incluyeron en 3-metil-butano pre congelado. Para el estudio de la celularidad muscular de cada muestra se obtuvieron secciones seriadas transversales de 16-20 µm. Una vez fijadas, se determinó la capilarización por la detección de la actividad ATPasa y las características aeróbicas/anaeróbicas por la de succinato-DH. De cada sección de músculo se obtuvieron los parámetros relacionados con el tamaño, forma y número de fibras, así como su capilarización, analizando entre 100 y 300 fibras para cada muestra.

Resultados y Discusión

La ingesta no mostró cambios significativos (C: 2.8±0.1 vs E: 2.6±0.1 g pienso·100 g peso corporal⁻¹), pero crecieron significativamente mejor (peso final C: 98.22±2.34 vs E: 107.15±2.19 g; p<0.05). En la Tabla 1 se presentan los parámetros estudiados de las fibras. Igual que se ha descrito en otras especies (Abdel *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2009), el ejercicio favoreció el crecimiento de la fibra (celularidad) en la zona craneal, tanto en su sección como en su perímetro y sin modificar su forma, y esta modificación

Tabla 1. Celularidad y capilarización en el músculo blanco de las zonas craneal (Cr) y caudal (Cd) de doradas control (C) y sometidas a ejercicio (E)

	CCr	ECr	CCd	ECd
Celularidad				
Área fibrilar (μm^2)	3749 \pm 483	4399 \pm 272 +	4430 \pm 240 *	4333 \pm 339
Perímetro fibrilar (μm)	244 \pm 17	270 \pm 7 +	273 \pm 10 *	270 \pm 11
Factor de forma (circularidad) ^a	0.68 \pm 0.02	0.66 \pm 0.03	0.66 \pm 0.01	0.65 \pm 0.02
Densidad de fibras (fibras/mm ²)	243 \pm 41	201 \pm 11	198 \pm 20	215 \pm 38
Capilarización				
Capilares/mm ²	56 \pm 7	56 \pm 11	65 \pm 16	71 \pm 17
NCF ^b	0.73 \pm 0.17	0.84 \pm 0.28	0.98 \pm 0.20	1.03 \pm 0.14
CCA ^c	0.58 \pm 0.15	0.50 \pm 0.08	0.49 \pm 0.09	0.58 \pm 0.09
CCP ^d	0.58 \pm 0.05	0.53 \pm 0.04	0.56 \pm 0.06	0.60 \pm 0.04 *
Distancia máxima de difusión (μm)	42 \pm 4	48 \pm 4	46 \pm 2	45 \pm 2

Los valores son medias aritméticas \pm error estándar.

Las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos se indican según el siguiente código: +, Control versus Ejercicio y *, Craneal versus caudal.

a: $4\pi \cdot \text{Área} / \text{Perímetro}^2$.

b: número de capilares por fibra.

c: $CCA = \text{NCF} \cdot 10^3 / \text{Área}$, relación entre NCF y área fibrilar.

d: $CCP = \text{NCF} \cdot 10^2 / \text{Perímetro}$, relación entre NCF y perímetro fibrilar.

también se refleja en la función de distribución porcentual del tamaño de las fibras (fórmula propuesta por Johnston *et al.*, 1999). Por su parte, la baja capilarización del músculo blanco no mostró diferencias de zona o con el ejercicio. Todos estos datos ponen de manifiesto una hipertrofia muscular sin afectación de la calidad del músculo (los niveles de proteína en ambos casos eran del 20%). La disminución del contenido de ADN (C: 0.214 \pm 0.008 vs E: 0.201 \pm 0.003 mg·g⁻¹ p. f.; $p < 0.05$) fue proporcionalmente menor al crecimiento de las fibras, por lo que no puede descartarse que también haya hiperplasia muscular.

Bibliografía

- Jobling, M. 1993. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. En: Fish ecophysiology (J. C. Rankin & F. B. Jensen, eds.). Chapman & Hall. pags. 1-44. Londres.
- Johnston, I. A. 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture* 177, 99-115.
- Blasco, J., Ibarz, A., Beltrán, M., Felip, O., Martín-Pérez, M., Fernández-Borràs, J. 2007. Dietas ricas en carbohidratos para trucha: mejora del destino y uso en condiciones de ejercicio sostenido. En: *Actas XI Congreso Nacional de Acuicultura*, 19-23.
- Abdel, I., López-Albors, M., Ayala, D., García-Alcazar, A., Abellán, E., Latorre, R., Gil, F. 2005. Muscle Cellularity at Cranial and Caudal Levels of Trunk Musculature of Commercial Size Sea Bass, *D. labrax*. *Anat. Histol. Embryol.* 34, 280-285.
- Silva, P., Valente, L. M. P., Olmedo, M., Galante, M. H., Monteiro, R. A. F., Rocha, E. 2009. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in blacspot seabream *Pagellus bogaraveo* from hatching to juvenile. *Journal of Fish Biology* 74, 37-53.

Efectos de la estrategia de alimentación en la hematología y bioquímica sanguínea del medregal (*Seriola dumerili*) en condiciones de cultivo

S. Jerez, I. Hernández, J. R. Cejas, E. Almansa, M. Samper, J. E. Villamandos y B. C. Felipe

Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Avda. 3 de Mayo nº 73.
38005 Santa Cruz de Tenerife, España. e-mail: salvador.jerez@ca.ieo.es

Abstract

The effect of the feeding schedule, frequency (1, 2 or 3 times/day) and feed rations (1.5, 2.5, 3 or 4% of biomass) on several haematological parameters and plasma metabolites was investigated for *Seriola dumerili*. The lowest growth rates, obtained in fish fed once/day with higher feed rations (3-4 % biomass), were associated with increases in the plasma levels of glucose, triglycerides and aminotransferases, parameters that have been associated with a stress condition in fish. The results showed that an inadequate feeding schedule may produce stress and consequently lower growth rates in this species.

Justificación

Los rendimientos de la producción en acuicultura dependen de la buena adaptación de los animales a las condiciones de cultivo, por lo que todos los procesos deben minimizar las situaciones de estrés. En este sentido, una buena estrategia de alimentación es aquella que no solo logra los mayores crecimientos sino que consigue mantener la salud y el bienestar de los animales. Las rutinas de alimentación inapropiadas pueden afectar a la salud de los peces e incluso un exceso de alimento influye negativamente en la calidad del medio, reduce la ingesta y puede originar estrés y patologías (Ellis *et al.*, 2002). En este trabajo se probaron distintas estrategias de alimentación en *Seriola dumerili*, analizando diversos parámetros del plasma indicadores de estrés y varios parámetros sanguíneos indicativos del estado de salud de los peces.

Material y Métodos

220 ejemplares de *Seriola dumerili* de 4 meses de edad ($18,42 \pm 1,52$ cm y $128,24 \pm 31,39$ g), nacidos en las instalaciones del Centro Oceanográfico de Canarias, marcados con microchips, fueron repartidos en 12 tanques circulares de 1 m^3 , a razón de 18 peces por tanque y densidad de $2,34 \pm 0,24 \text{ kg/m}^3$. Durante 35 días, todos los grupos se alimentaron con pienso comercial para dorada, pero en cada uno de los 12 grupos se utilizó una estrategia de alimentación diferente, variando la cantidad de alimento suministrado diariamente (Ración: 4, 3, 2.5 y 1.5% de la biomasa/día) y el número de veces al día en que se repartió el alimento (Frecuencia: 1, 2 y 3 veces/día). Los tanques se mantuvieron en circuito abierto, con renovación continua de agua (15 l/min) y aire, en condiciones naturales de temperatura ($22,63 \pm 0,66^\circ\text{C}$) y salinidad (37,5‰). Al inicio y final del estudio se pesaron y midieron todos los peces para estimar el índice específico de crecimiento (SGR). En 3 ejemplares de cada tanque se extrajo una muestra de sangre para determinar hematocrito (Hct), hemoglobina (Hb), nº de eritrocitos e índices hematológicos. En el plasma se determinó: cortisol (Cort), glucosa (Glu), triglicéridos (Triglic), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). Las diferencias entre estrategias de alimentación se realizó un test de ANOVA seguido del test de comparación múltiple de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en el estudio se resumen en la Tabla 1. Mientras los mayores índices de crecimiento se obtuvieron en los grupos alimentados 2-3 veces/día con una ración igual al 3% biomasa, los menores se dieron en los peces alimentados 1 vez/día con las mayores raciones (3-4% biomasa). Estos últimos peces presentaron niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos más elevados y mostraron además valores más altos de AST. En general se observó que la actividad de la AST y la ALT tiende a aumentar al disminuir la frecuencia de alimentación. La presencia en plasma de altos niveles de glucosa, triglicéridos y aminotransferasas se ha relacionado en diversos trabajos con situaciones de estrés (Sandnes *et al.*, 1988; Boeuf, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Pottinger & Carrick, 1999) por lo que los resultados obtenidos en este estudio parecen indicar que el régimen alimenticio de una sola toma diaria, especialmente cuando se combina con cantidades elevadas de alimento, provocó en los alevines de *S. dumerili* un estado de estrés que se tradujo finalmente en menores índices de crecimiento.

Los cambios en los niveles plasmáticos de cortisol son comúnmente empleados como indicadores de estrés (Pottinger & Carrick, 1999; Wendelaar Bonga, 1997), pero si bien los valores se elevan en el estrés agudo,

Tabla 1. Valores medios (\pm Dm) de parámetros bioquímicos, hematológicos y de crecimiento en ejemplares de *Seriola dumerili* sometidos a diferentes estrategias de alimentación; a-b indican diferencias significativas entre raciones; x-y indican diferencias significativas entre frecuencias

F	R %	Glu (mg/dl)	Triglice (mg/dl)	Cort (μ g/ml)	AST U/137°	ALT U/137°	VCM (μ m ³)	HCM (pg)	CCMH (%)	SGR
1	1.5	50 \pm 13	189 \pm 30 ^b	<200	59 \pm 38	32 \pm 9	300 \pm 30 ^{xy}	53 \pm 6	18 \pm 1 ^c	0,66 \pm 0,3 ^{ab}
	2.5	54 \pm 19	246 \pm 110 ^b	<200	51 \pm 16 ^x	39 \pm 26	306 \pm 96	60 \pm 22	19 \pm 1 ^c	0,89 \pm 0,1 ^a
	3	62 \pm 9	1193 \pm 469 ^{ax}	261 \pm 306	72 \pm 22	14 \pm 6	431 \pm 46 ^x	105 \pm 12 ^x	24 \pm 1 ^{ax}	0,30 \pm 0,4 ^{xy}
	4	41 \pm 6	341 \pm 76 ^b	<200	63 \pm 50	24 \pm 140	442 \pm 51 ^x	98 \pm 15 ^x	22 \pm 1 ^b	0,27 \pm 0,4 ^b
2	1.5	36 \pm 8	195 \pm 42	<200	28 \pm 13	28 \pm 17	261 \pm 16 ^y	53 \pm 7	20 \pm 2	0,78 \pm 0,3 ^{ab}
	2.5	45 \pm 7	194 \pm 10	<200	51 \pm 7 ^t	35 \pm 36	318 \pm 5	61 \pm 5	19 \pm 1	0,94 \pm 0,2 ^{ab}
	3	34 \pm 10	171 \pm 48 ^y	237 \pm 22	27 \pm 20	15 \pm 4	300 \pm 24 ^y	61 \pm 7 ^y	20 \pm 2 ^y	1,22 \pm 0,2 ^{ax}
	4	35 \pm 8	290 \pm 162	294 \pm 247	28 \pm 8	34 \pm 17	259 \pm 44 ^y	51 \pm 11 ^y	19 \pm 2	0,57 \pm 0,4 ^b
3	1.5	33 \pm 11	112 \pm 9	485 \pm 235	12 \pm 2	12 \pm 6	362 \pm 19 ^x	69 \pm 6	19 \pm 1	0,97 \pm 0,4
	2.5	37 \pm 3	228 \pm 100	950 \pm 730	27 \pm 8 ^y	12 \pm 6	278 \pm 54	54 \pm 11	19 \pm 1	0,95 \pm 0,6
	3	37 \pm 5	125 \pm 10 ^y	270 \pm 1	21 \pm 4	14 \pm 3	330 \pm 30 ^{xy}	61 \pm 8 ^y	18 \pm 1 ^y	1,29 \pm 0,4 ^x
	4	36 \pm 4	317 \pm 130	925 \pm 635	45 \pm 16	37 \pm 13	289 \pm 44 ^{xy}	57 \pm 13 ^{xy}	19 \pm 2	0,68 \pm 0,4

retornan a la normalidad tras periodos variables aunque la causa del estrés persista (Pickering, 1981) y se asume que niveles bajos no significan ausencia de estrés (Hontela *et al.*, 1992). Esto podría explicar los valores de cortisol encontrados en este experimento, sin diferencias entre los distintos grupos.

Los valores de hematocrito, hemoglobina y nº de eritrocitos registrados en los peces alimentados 1 vez/día con el 3-4 % de la biomasa (datos no mostrados) apuntan hacia un estado anémico que se ve reflejado en los índices hematológicos estudiados: Volumen corpuscular medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM) y Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH) (Tabla 1). Estos parámetros sanguíneos se ven afectados por situaciones de estrés (Wendelaar Bonga, 1997) incluidas malas estrategias de alimentación (Lim y Klesius, 2003).

Bibliografía

- Boeuf, G. 1993. Salmonid smolting: A pre-adaptation to the oceanic environment. In: Cliff J & Jensen FB (Editors), Fish Ecophysiology. Chapman and Hall, London, UK, 105-135.
- Ellis T., North B., Scott A.P., Bromage N.R., Porter M. & Gadd D. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.*, 61 (3), 493-531.
- Hontela, A., Rasmussen, J., Audet, C., Chevalier, G. 1992. Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs and Mercury. *Arch. Environ. Contam. Toxicology*, 22: 278-283.
- Lim, C., Klesius, H. 2003. Influence of feed deprivation on haematology, macrophage chemotaxis, and resistance to *Edwardsiella ictaluri* challenge of channel catfish. *J. Aquatic Animal Health*, 15: 13-20.
- Pickering, A. 1981. The concept of biological stress. In Pickering, A. Ed. Stress and Fish. Academic Press, London: 1-9.
- Pottinger, T., Carrick, T. 1999. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*, 175: 351-363.
- Sandnes K., Ø. Lie 1 R. Waagb. 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* *Journal of Fish Biology*, 32, 1, 129-136.
- Wendelaar Bonga, S. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77, 3: 591-625.

Efecto de la estrategia de alimentación en el crecimiento del medregal (*Seriola dumerili*) en condiciones de cultivo

S. Jerez, I. Hernández, J. R. Cejas, E. Almansa, M. Samper y F. J. Santamaría

Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Avda. 3 de Mayo nº 73.
38005 Santa Cruz de Tenerife, España. e-mail: salvador.jerez@ca.ieo.es

Abstract

The aim of the investigation was to determine the effect of the feeding schedule, frequency (1, 2 or 3 times/day) and feed rations (1.5, 2.5, 3 or 4% of biomass) on the *Seriola dumerili* growth rate and condition factor. The best growth performance were observed with a feeding rate of 3% of biomass when fish were fed 2 or 3 times/day (SGR = $1,22 \pm 0,22$ and $1,29 \pm 0,3$ %day⁻¹, respectively). The lowest growth rate and condition factor were observed in fish fed 1 time/day with the highest feeding rations (3 and 4%).

Justificación

El desarrollo del cultivo comercial de cualquier especie requiere establecer la correcta estrategia de alimentación con el fin de optimizar los rendimientos biológicos y con ello también los económicos. El crecimiento de los peces no solo está condicionado por la ración del alimento, al variar la cantidad absoluta de nutrientes y energía que obtiene el pez (Shearer, 1994), sino también por la frecuencia de alimentación, la forma en la que esta se administra (manual o automática) y la hora del día (Johansen y Jobling, 1998). En este trabajo se han ensayado diferentes estrategias de alimentación para el engorde de *Seriola dumerili*, una nueva especie para la acuicultura de rápido crecimiento.

Material y Métodos

220 ejemplares de *Seriola dumerili* de 4 meses de edad ($18,42 \pm 1,52$ cm y $128,24 \pm 31,39$ g), nacidos en las instalaciones del Centro Oceanográfico de Canarias, marcados con microchips, fueron repartidos en 12 tanques circulares de 1 m³, a razón de 18 peces por tanque y densidad de $2,34 \pm 0,24$ kg/m³. Durante 35 días, todos los grupos se alimentaron con pienso comercial para dorada, pero en cada uno de los 12 grupos se utilizó una estrategia de alimentación diferente, variando la cantidad de alimento suministrado diariamente (Ración: 4, 3, 2.5 y 1.5% de la biomasa/día) y el número de veces al día en que se repartió el alimento (Frecuencia: 1 (8:00), 2 (8:00 y 17:00) y 3 veces/día (8:00, 12:00 y 17:00)). Los tanques se mantuvieron en circuito abierto, con renovación continua de agua (15 l/min) y aire, en condiciones naturales de temperatura ($22,63 \pm 0,66$ °C) y salinidad (37,5‰).

Todos los peces de cada tanque fueron muestreados al inicio y al final del periodo experimental registrando su peso y talla. Con los datos obtenidos se calcularon el Índice específico de crecimiento (IEC %/día = $100 (\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial})/\text{días}$) y el Factor de condición ($F_c = 100 (\text{Peso}/\text{Talla}^3)$). Para detectar las diferencias entre las distintas estrategias de alimentación se llevo a cabo un test de ANOVA seguido por el test de comparación múltiple de Tukey ($P < 0.05$).

Resultados y Discusión

La Tabla 1 muestra el efecto de la ración de alimento y la frecuencia de alimentación sobre los parámetros de crecimiento estudiados. Para todas las raciones ensayadas, el IEC aumentó al incrementar la frecuencia de alimentación, aunque las diferencias solo fueron significativas cuando se alimentó con una ración igual al 3% de la biomasa. Por otro lado, con la menor frecuencia de alimentación (1 vez/día) se observaron valores significativamente inferiores de IEC en las raciones más abundantes (3 y 4 % de la biomasa). Sin embargo, estas diferencias de IEC entre grupos alimentados con diferente ración, se aprecian menos con la frecuencia de 2 veces/día y no se dieron cuando se alimentó 3 veces/día.

En otras especies también se ha mostrado que una mayor frecuencia de alimentación influye de forma positiva en el crecimiento de los peces, dándoles la oportunidad de consumir y digerir mas alimento a lo largo del día, aumentando considerablemente el tiempo de digestión e incrementando la eficiencia y la asimilación de nutrientes. Sin embargo, este efecto positivo alcanza un valor optimo que se relaciona con la máxima cantidad de alimento que el pez es capaz de consumir (Groat, 2002). Una cantidad de alimento superior a la óptima origina tan solo una ganancia de peso insignificante (Tsevis *et al.*, 1992), mientras que una ración inferior puede aumentar la heterogeneidad del grupo, favoreciendo la competitividad por el

Tabla 1. Índice específico de crecimiento (IEC) (% día⁻¹) y Factor de condición (Fc) de los diferentes grupos en función de la frecuencia (F) y ración de alimentación (R). Valores medios±desviación media calculados al final del periodo experimental (35 días). Las letras a,b indican diferencias entre raciones, mientras que x,y indican diferencias entre frecuencias (P<0,05)

R (%)	IEC			Fc		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
1,5	0,66±0,29 ^{ab}	0,78±0,29 ^{ab}	0,97±0,37	1,87±0,10 ^a	1,89±0,13	1,84±0,19
2,5	0,89±0,15 ^a	0,94±0,19 ^{ab}	0,95±0,57	1,89±0,12 ^a	1,98±0,23	1,88±0,17
3,0	0,30±0,44 ^{by}	1,22±0,22 ^{ax}	1,29±0,36 ^x	1,69±0,15 ^{by}	1,99±0,10 ^x	1,85±0,15 ^{xy}
4,0	0,27±0,41 ^b	0,57±0,45 ^b	0,68±0,37	1,79±0,19 ^{ab}	1,80±0,16	1,84±0,14

alimento (Johansen y Jobling, 1998). Así, en el presente experimento, el empleo de la mayor ración de alimento (4 % de la biomasa) no se tradujo en valores superiores de IEC y combinado con bajas frecuencias dio lugar incluso a pérdidas de peso. Los mejores índices de crecimiento se obtuvieron para una ración correspondiente al 3 % de la biomasa y una frecuencia de alimentación de 3 veces/día. En especies como la tilapia, frecuencias de alimentación de 2-3 veces/día son suficiente para maximizar el crecimiento (Riche *et al.*, 2004).

El Factor de Condición (Fc) se vio menos afectado que el IEC por los parámetros ensayados. Al final del estudio, los peces alimentados con la ración del 3% y la frecuencia de 2 veces/día mostraron un Fc significativamente mayor que el resto de los grupos, lo que podría reflejar mejores condiciones de cultivo, tal como apunta Ellis *et al.* (2002) en trucha, donde el Fc refleja el grado de estrés asociado a la gestión del cultivo.

En resumen, los resultados de este trabajo indican que una estrategia de alimentación consistente en suministrar el alimento de 3 ó 2 veces al día, en una cantidad correspondiente al 3% de la biomasa, es la mejor opción para obtener un mayor crecimiento. En todo caso, si el alimento se suministra 1 sola vez al día, la cantidad del mismo no debe ser superior al 2,5% de la biomasa.

Bibliografía

- Ellis, T., B. North, A.P. Scott, N.R. Bromage, M. Porter y D. Gadd. 2002. The relationships between stocking density and the welfare of farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. 61: 493-531.
- Groat, D.R. 2002. Effects of feeding strategies on growth of Florida Pompano (*Trachinotus carolinus*) in closed recirculating systems. Master's Thesis, Louisiana State University. 96 p.
- Johansen, S.J.S. y M. Jobling. 1998. The influence of feeding regime on growth and slaughter traits of cage-reared Atlantic salmon. *Aquaculture International*. 6: 1-17.
- Riche, M., D.I. Haley, M. Oetker, S. Garbrecht y L. Garling. 2004. Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 234: 657-673.
- Shearer, K.D. 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*. 119: 63-88.
- Tsevis, N., S. Klaoudatos, A. Conides. 1992. Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns. *Aquaculture*. 101: 293-304.

Ensayo de alimentación con la bacteria probiótica Pdp11: estudio de la supervivencia en el tracto gastrointestinal de *Solea senegalensis*

J. M. León-Rubio, P. Rosas-Ledesma, S. Arijo, M.A. Morifiño y M. C. Balebona¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Sciences, University of Málaga, Spain. balebona@uma.es

Abstract

Bacterial diseases affect the culture of *Solea senegalensis*. Probiotics are an alternative to antibiotics, modulating immunity response and improving nutritional and microbial balance in the gastrointestinal tract (GIT). Probiotic strain Pdp11, labelled with the red fluorescent protein (RFP-Pdp11), was used to determine probiotic survival after stomach passage and GIT colonization in cultured sole. Four feeding treatments were evaluated: control feed, feed supplemented with RFP-Pdp11, calcium alginate capsules containing feed, and calcium alginate capsules containing feed and RFP-Pdp11. All fish were fed with control feed after 20 days. The weights of fish and GIT, and bacterial counts in GIT were recorded at days 7, 14, 21, 24 and 27. Marked cells were only detected in fish fed with capsules containing RFP-Pdp11, showing a gradual increase. Ratio GIT weight/Fish weight in fish fed with capsules decreased until 20th day. Capsules are a promising vehicle for probiotic administration.

Justificación

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es una especie de gran interés en la acuicultura europea, siendo las enfermedades de origen bacteriano, fundamentalmente aquellas causadas por *Vibrio harveyi* y *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, uno de los principales factores que afectan a su cultivo y que producen importantes pérdidas económicas. Tradicionalmente se han empleado los antibióticos como medida profiláctica, con el inconveniente de la aparición de resistencia adquirida. En este sentido, el uso de bacterias probióticas es una alternativa muy prometedora.

La cepa Pdp11, perteneciente al género *Shewanella* y originalmente aislada a partir de piel de dorada, ha mostrado excelentes resultados a nivel de respuesta inmunitaria así como mejorando la nutrición y el equilibrio microbiano en el tracto gastrointestinal (GIT) de *S. senegalensis* y *Sparus aurata* (Sáenz de Rodríguez *et al.*, 2009). En el presente trabajo, se ha utilizado una cepa de Pdp11 marcada con la proteína fluorescente roja (RFP-Pdp11) y resistente a cloranfenicol.

El objetivo de este estudio fue demostrar *in vivo* la capacidad del probiótico Pdp11 para adherirse y colonizar el tracto gastrointestinal del lenguado, así como comprobar su supervivencia y persistencia en el intestino tras su paso por el estómago, cuando es administrado en cápsulas de alginato cálcico o en el pienso.

Material y Métodos

Especímenes de lenguado senegalés (*S. senegalensis*) con un peso de 35-45g fueron distribuidos aleatoriamente, a razón de 30 peces por tanque, en 4 tanques de 50 litros. Tras un periodo de aclimatación, se evaluaron los siguientes tipos de alimentación: (1) pienso comercial, como dieta control; (2) pienso suplementado con RFP-Pdp11 (10^9 ufc g^{-1}) mediante aglutinación con alginato sódico y cloruro cálcico; (3) cápsulas de alginato cálcico con pienso molido, como control; (4) cápsulas de alginato cálcico conteniendo RFP-Pdp11 (10^8 ufc cápsula $^{-1}$) y pienso molido. Piensos y cápsulas fueron almacenados a 4 °C. Las distintas dietas fueron suministradas de forma continuada durante 20 días, para posteriormente ser modificada en todos los tratamientos por una alimentación con pienso comercial.

A lo largo del ensayo (días 7, 14, 21, 24 y 27), se registró el peso de los peces y del GIT. Con estos valores se calculó un ratio entre el peso del intestino y peso total del pez [$(P_{GIT}/P_{Pez}) \times 100$], a fin de estimar posibles diferencias entre los tratamientos. Al mismo tiempo, se obtuvo el título bacteriano del GIT previa homogenización de las muestras en solución salina (0,85% NaCl), mediante la técnica de titulación en placa. Los medios de cultivo utilizados fueron Agar Tripticasa de Soja suplementado con NaCl 1,5% (TSAs) y TSAs suplementado con cloranfenicol (20 μg ml^{-1}). Las placas se incubaron a 22 °C durante 24 h. La observación de colonias fluorescentes se hizo con ayuda de un estereomicroscopio Multizoom Nikon AZ100.

Resultados y Discusión

En peces alimentados con cápsulas se observó un aumento gradual en los recuentos de la bacteria probiótica en el tracto gastrointestinal, alcanzándose a día 21 una presencia del 100% en los peces muestreados. Por

el contrario, no se pudo aislar la bacteria marcada en peces alimentados con las dietas control ni con el pienso suplementado. Después de cambiar a una dieta con pienso control a día 20, la presencia de RFP-Pdp11 se prolongó de 5 a 6 días.

La relación $[(P_{GIT}/P_{Pez}) \times 100]$ se mantuvo estable en los peces alimentados con ambos piensos, mientras que en las dietas basadas en cápsulas hubo una regresión progresiva del índice hasta el día 20, momento en el que se observó una recuperación de los valores coincidiendo con el cambio de dieta.

La no detección de RFP-Pdp11 en el tracto gastrointestinal en peces alimentados con pienso suplementado, probablemente se deba a una reducción de la supervivencia causada por la deshidratación y la elevada presión osmótica en el pienso (Bucio *et al.*, 2005), sumado al estrés del paso por el estómago. Este hecho fue comprobado posteriormente en un ensayo a corto plazo, donde fue posible detectar la bacteria en los intestinos a días 1 y 4 (presencia del 57 y 100% respectivamente en peces muestreados) pero no a día 7. En cambio, la protección conferida por la cubierta de alginato cálcico y la hidratación en el interior de las cápsulas son factores que mejoran la viabilidad de RFP-Pdp11 durante el almacenaje y en la digestión. Por tanto, las cápsulas parecen ser un vehículo muy prometedor para la administración de probióticos al englobar una elevada concentración bacteriana y mejorar la tasa de supervivencia. Sin embargo, los coeficientes P_{GIT}/P_{Pez} calculados indican que una dieta prolongada con cápsulas de alginato no sería acertada, siendo una buena opción combinarla alternativamente con piensos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado con fondos REF. PET2006 0104-00

Bibliografía

- Bucio A., Hartemink R., Schrama J.W., Verreth J., and Rombouts F.M. 2005. Survival of *Lactobacillus plantarum* 44a after spraying and drying in feed and during exposure to gastrointestinal tract fluids *in vitro*. *Journal of General and Applied Microbiology* 51: 221–227.
- Sáenz de Rodríguez M.A., Díaz-Rosales P., Chabrilón M., Smidt H., Arijó S., León-Rubio J.M., Alarcón F.J., Balebona M.C., Moriño M.A., Cara J.B., and Moyano F.J. 2009. Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Aquaculture Nutrition* 15:177-185.

Influencia del probiótico Pdp11 (*Shewanella putrefaciens*) en el cultivo larvario y destete del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)

C. Lobo¹, I. García de la Banda¹, I. Martín¹, S. Tapia-Paniagua², M. A. Moriñigo², J. M. León-Rubio², M. Chabrilón², S. Arijo², G. Pazos³, J. C. Canteras⁴ y X. Moreno-Ventas⁴

¹ Instituto Español de Oceanografía. C.O. Santander. Promontorio San Martín s/n. Ap. 240. 39080 Santander. España. E-mail: Carmen.lobo@st.ieo.es

² Dpto Microbiología. Universidad Málaga. Campus Teatinos. CP29071. Málaga

³ Centro Invest Mariñas (CIMA). Apdo n°13. Vilanova de Arousa. CP36620. Pontevedra

⁴ Area Ecología. Dpto CYTAMA. Universidad de Cantabria. Avda los Castros s/n. CP39005. Santander

Abstract

A study to determine the influence of Pdp11 *Shewanella putrefaciens* as a probiotic on Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup) larval and weaning culture was carried out in the Spanish Institute of Oceanography (Santander, Spain). Pdp11 was bioencapsulated in Artemia (10^9 cfu ml⁻¹) and supplied to larvae from 10 to 30 DAH by triplicate. Results showed significant higher growth in length and weight and significant differences in proteins, lipids and fatty acids profile for larvae fed on Pdp11 diet and Differences in DGGE patterns corresponding to digestive microbiota were observed for the two groups along the culture and survival (117 DAH) was similar (82.3 ± 3.8 for Pdp11 and $86.5 \pm 1.4\%$ for control).

Justificación

El probiótico Pdp11 modula «in vivo» la respuesta inmune y mejora el crecimiento y funcionalidad intestinal de lenguado senegalés en engorde. Añadido bioencapsulado en artemia en cultivo larvario y destete (10-88 DAH) mejora el crecimiento y la composición corporal de los ejemplares. El objetivo del presente estudio fue determinar la influencia de este probiótico bioencapsulado en artemia durante un periodo corto (10-30 DAH) de adición.

Material y Métodos

Se incubaron huevos de una puesta natural del C.O. de Santander y las larvas fueron distribuidas (40/l) en tanques circulares de 250 l. La temperatura fue de $18.6 \pm 1.1^\circ\text{C}$. La iluminación (1000 lux en superficie) fue continua hasta día 10 y se estableció un ciclo 12:12 L/O hasta día 21. El régimen de alimentación se basó en Cañavate y Fernández-Díaz (1999). Se adicionaron rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y fitoplancton: *Nannochloropsis gaditana* e *Isochrysis galbana* (3-10DAH) con posterior coalimentación con metanauplios de Artemia enriquecidos (ORIGREEN, Skretting) y microencapsulado (Gemma Diamond, Skretting). El destete se inició a día 56, finalizándose a día 85. El probiótico Pdp11 fue diariamente incubado en placas de TSA (2% NaCl) a 22°C , recolectado y suspendido en una solución de PBS (pH 7.2) y finalmente añadido a la Artemia (10^9 ufc ml⁻¹) tres horas antes de la alimentación larvaria (10-30 DAH).

La supervivencia y crecimiento fueron determinados a lo largo del cultivo, analizándose los datos mediante ANOVA y tests posthoc de Tukey y Games-Howell. Se tomaron muestras para análisis de proteínas, lípidos y perfil de ácidos grasos según Linares *et al.* (2001) y para estudio de la microbiota digestiva mediante el análisis del 16SrDNA por PCR-DGGE, según Konstantinov *et al.* (2003), aplicando el coeficiente DICE-UPGMA y el programa STATGRAPHICS 4.5. (se representan medias \pm DT)

Resultados y Discusión

El crecimiento en longitud y peso fue significativamente mayor ($p < 0.05$) para las larvas que recibieron el suplemento probiótico Pdp11 (Fig 1a y b). La supervivencia final registrada no mostró diferencias significativas con la dieta empleada ($86.5 \pm 1.4\%$ para el control vs $82.3 \pm 3.8\%$ para el grupo Pdp11).

La composición mostró valores significativamente superiores ($p < 0.05$) en proteínas a día 23 y 56 para el grupo control y en lípidos a día 23 y 89 para el grupo Pdp11 (Fig 2a y b) en relación al mayor crecimiento de éste último. Asimismo se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el perfil de ácidos grasos (%) a día 23 y 89, que no afectaron a ácidos grasos esenciales.

La microbiota digestiva (PCR-DGGE) presenta una evolución a lo largo del cultivo para los ejemplares alimentados con ambas dietas. La aplicación del coeficiente de similitud DICE-UPGMA establece una

Figura 1. Crecimiento en (a) peso seco (mg) y (b) peso húmedo (g) en cultivo larvario y destete de lenguado alimentado con dieta control y Pdp11 bioencapsulado en artemia

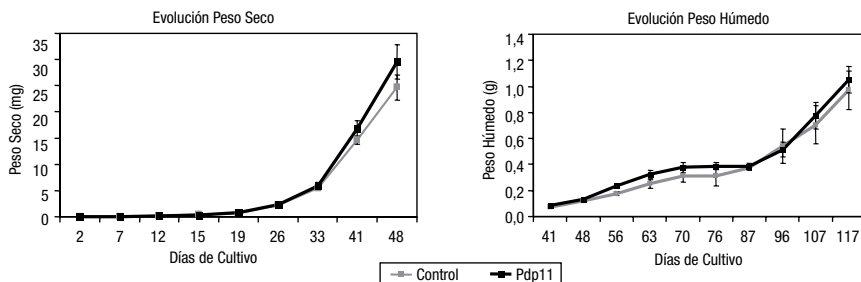
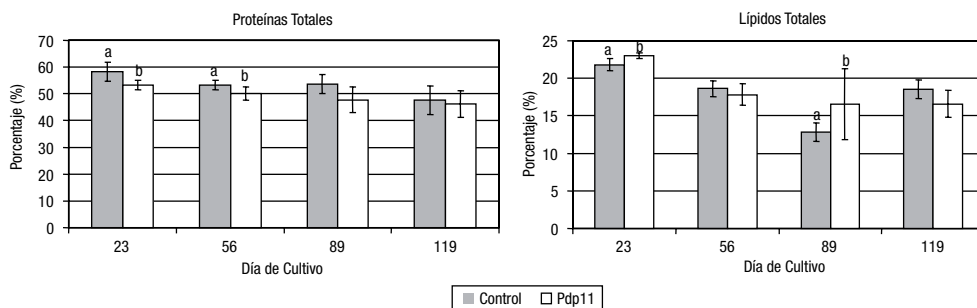


Figura 2. Evolución de proteínas y lípidos (%) en cultivo larvario y destete de lenguado senegalés alimentado con dieta control y Pdp11 bioencapsulado en artemia. a, b Diferencias significativas ($p < 0,05$).



diferencia de 25 a 44% entre el grupo control y probiótico a día 23, aumentando posteriormente a 49% a días 56 y 89 de cultivo. Los resultados estadísticos (STATGRAPHICS) no aportan diferencias significativas entre los grupos en relación a la diversidad (H) y riqueza (R) específicas. En conclusión la adición de Pdp11 bioencapsulado en artemia entre los días 10 y 30 de cultivo promueve un mayor crecimiento, diferente composición corporal y microbiota digestiva a lo largo del cultivo y mantiene una adecuada supervivencia final.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el PN de Lenguado JACUMAR. Los autores quieren expresar su agradecimiento a los técnicos y ayudantes de la P.C. El Bocal del C.O. de Santander.

Bibliografía

- Cañavate J.P. y Fernández-Díaz C. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture* 174: 255-263.
- Konstantinov S.R., Zhu W.Y., Williams B.A., Tamminga S., De Vos W.M. y Akkermans A.D.L. 2003. Effect of fermentable carbohydrates on faecal bacterial communities as revealed by DGGE analysis of 16S rDNA. *FEMS Microbiol Ecol.* 43: 225-235.
- Linares F., Olmedo M., Peleteiro J.B. & Arán Echabe J. 2001. Ongrowing and biochemical composition of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) juveniles fed with different dry food. *European Aquaculture Society. Special publication* n° 30: 318-321. Eds. Hendry C.I., Van Stappen G., Wille M. y Sorgeloos P.

Engorde de juveniles de pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) con distintas dietas naturales y artificiales

M.^a López¹, C. Rodríguez¹ y J. F. Carrasco²

¹ Centro de Experimentación Pesquera. El Muelle s/n, 33760, Castropol. Asturias

² Centro de Experimentación Pesquera. Avda. Príncipe de Asturias s/n, 33212, Gijón. Asturias

Abstract

During 2008 and 2009, several experiences of youthful octopus fattening were carried out. They were fed on monodiets of mussel (*Mytilus edulis*) and iris (*Micromesistius poutassou*), and fodder with alginates as binding-gelific substance. This fodder is formed by iris, Krill flour, calcium and cholesterol, and it was designed by the IMIDA of Murcia.

The results show that only with the monodiet of iris, the growth indexes are close to which are obtained with natural mixed diets, and that fodder, in spite of having good textural conditions, stability in the water and acceptance by octopus, does not have suitable nutritious conditions for an optimal development and growth of the octopus.

Justificación

El pulpo de roca (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) es una especie que presenta gran potencial en la acuicultura marina debido a sus características biológicas y elevado valor comercial (Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C y Rodríguez, M., 2006), no obstante, su desarrollo industrial se encuentra limitado por la imposibilidad de obtener juveniles en cautividad y por la ausencia de piensos artificiales de apropiada composición nutritiva, aspecto y textura, para que sea aceptado e ingerido completamente por el pulpo (García García y Cerezo Valverde, 2006).

Material y Métodos

La primera experiencia se realizó con monodietas de mejillón (*Mytilus edulis*) vivo y de lirio (*Micromesistius poutassou*) congelado; se estabularon 56 pulpos machos en una piscina de 24.000 litros compartimentada en 6 balsas, con 2 réplicas de 10 ejemplares por monodieta y una tercera réplica, con 7 pulpos para la dieta de mejillón y 9 pulpos para la dieta de lirio, por problemas con el suministro. Los valores de temperatura y de salinidad fueron de 16°C-20°C y 30‰-33‰, respectivamente. Los niveles de oxígeno siempre superiores al 80%.

La pauta de alimentación fue de mejillón o de lirio 6 días a la semana con retirada de los restos para el cálculo de la ingesta.

La segunda experiencia se realizó con piensos semi-húmedos diseñados por el IMIDA de Murcia a base de lirio, harina de krill, calcio, colesterol y alginatos como aglomerante-gelificante. Para ello se estabularon 36 pulpos en una piscina en 6 lotes de 6, a 1,5 pulpos/m³. Los valores de temperatura y de salinidad fueron de 15°C-20°C y 32‰-34‰, respectivamente. Los niveles de oxígeno siempre superiores al 80%.

El pienso control (PC) se elaboró a base de lirio fresco sin cabeza y sin espinas (60%), papilla de alginato (POKEL MERL) (29%), disolución de Calcio (POKEL CALS) (10%) y colesterol (1%). El pienso harina de krill (PK), con lirio (50%), papilla de alginato (29%), disolución de calcio (10%), colesterol (1%), agua destilada (7%) y harina de Krill (3%). Se repartió en bandejas de plástico que se introdujeron en la cámara frigorífica 24 horas. Posteriormente se congela hasta su uso.

La pauta de alimentación fue a demanda, tacos de 4 cm de lado con un peso aproximado de 30 gr, de pienso control y pienso con harina de krill. Diariamente se extraían los restos y se calculaba el alimento ingerido.

Resultados y Discusión

En la experiencia de monodietas naturales de lirio y de mejillón, que duró 52 días, los resultados muestran que los ejemplares alimentados con lirio presentan un mejor crecimiento con respecto a los de mejillón: un incremento de peso medio de 598,23 g/mes frente a 84,53 g/mes y una media en crecimiento específico de 1,29 frente a 0,25. Así mismo, podemos observar que con la monodieta del mejillón la baja tasa de crecimiento no llegó a compensar las pérdidas de biomasa debido a la mortalidad. La mortalidad, sin embargo, en ambos casos resultó ser muy similar.

Tabla 1. *Engorde de pulpo con monodietas naturales*

	Mejillón	Lirio
Alim.ing.(g)	24.792	58.111
Biom. inicial (g)	28.190	31.725
Biom. final (g)	23.665	44.660
P. medio inicial	1.040,07	1.089,67
P. medio final	1.186,65	2.126,67
Incr. P. mediog/mes	84,53	598,23
*TEC	0,25	1,29
Mortalidad (%)	25,92	27,58

*TEC = Tasa Específica de crecimiento $((Ln(Pf) - Ln(Pi)) * 100 / n^{\circ} \text{ días})$; Pf= peso final, Pi= peso inicial.

Tabla 2. *Engorde de pulpo con piensos*

	Pienso control	Pienso harina krill
Alim.ing.(g)	14.735	8.634
Biom. inicial (g)	16.815	16.3115
Biom. final (g)	16.740	11.285
P. medio inicial	934,50	906,39
P. medio final	1.053,78	861,00
Incr. P. [mediog/mes	83,17	-31,67
TEC	0,23	—
Mortalidad (%)	11,11	27,77

En la experiencia realizada con piensos semi-húmedos se observó buen resultado en cuanto a estabilidad y permanencia del pienso en el agua, sin embargo la aceptación por parte del pulpo fue diferente entre ambos piensos: la introducción de harina de krill provocaba rechazo, lo que motivó una reducción de la ingesta y ausencia de crecimiento en los 43 días que duró la experiencia. En el caso del pienso control, sin harina de krill, se obtuvieron crecimientos bajos, con una media de crecimiento específico de 0,23.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado conjuntamente por la Consejería Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias y la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR)

Bibliografía

- García García, B. Cerezo Valverde, J. 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture* 253: 502-511.
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C y Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile on-growing in floating cages. *Aquaculture*, 254: 293-300.

Composición de ácidos grasos de dos especies de peces de distinta longevidad

A. Lucas, P. F. Almada-Pagán, P. Mendiola, J. de Costa

Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. alucas@um.es

Abstract

Two fish species of similar size and with different lifespan: *Danio rerio* (a well characterized species, with a lifespan of 3-4 years) and *Nothobranchius korthausae* (proposed as a new model for aging studies, with a lifespan of 12-18 months) were used in a comparative study of the whole fish fatty acid profile along their life-cycle. Both *D. rerio* and *N. korthausae* showed a significant increase in docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) proportion, as well as a decrease in docosapentaenoic acid (22:5n-3) percentage over time, keeping the peroxidation index constant. The proportions of polyunsaturated fatty acids in *N. korthausae* were higher regarding *D. rerio*. These results were in agreement with the different lifespan of both species, according with the membrane pacemaker theory of aging, proposed by Hulbert *et al.*

Justificación

El conocimiento del ciclo vital completo de las especies de peces que comúnmente se cultivan puede ayudar a mejorar las fases productivas de las mismas. Sin embargo, debido a que los peces, una vez que alcanzan la talla comercial, son extraídos para su venta, las fases finales de su vida no han sido tan estudiadas. Otra de las causas de esta falta de información es la relativamente larga esperanza de vida y el tamaño que alcanzan las especies que se cultivan, lo cual hace necesario recurrir a la utilización de modelos con esperanzas de vida más cortas, menor tamaño y con cierta proximidad filogenética.

Recientes estudios han comprobado que existe una relación entre la composición lipídica de las membranas y la longevidad de distintas especies animales. Las membranas que portan fosfolípidos con ácidos grasos altamente insaturados desarrollan una alta actividad metabólica. Una tasa metabólica elevada produce una alta cantidad de Formas Reactivas del Oxígeno (ROS) lo que, a su vez, genera un incremento en el daño oxidativo y un envejecimiento acelerado, disminuyendo la esperanza de vida (Hulbert *et al* 2007).

Para este estudio se han seleccionado dos especies de peces de pequeño tamaño: *Danio rerio*, modelo muy bien caracterizado, con una esperanza de vida de entre 3 y 4 años (Gerhard 2007), y *Nothobranchius korthausae*, propuesto como nuevo modelo para estudios de envejecimiento, con una duración del ciclo vital de entre 12 y 18 meses (Lucas *et al.* 2009). Los objetivos de este estudio comparativo fueron observar las variaciones en los perfiles lipídicos de estas especies en su ciclo vital, así como examinar si la distinta longevidad que presentan puede verse reflejada en el perfil de ácidos grasos.

Material y Métodos

Se utilizaron ejemplares de *Nothobranchius korthausae* (Meinken 1973) y de *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan 1822) mantenidos en acuarios de 70 l en circuito cerrado, controlando la calidad del agua (dureza < 6° dKH; $\text{NO}_3^- < 0,1 \text{ mg l}^{-1}$; $\text{NO}_2^- < 0,1 \text{ mg l}^{-1}$; $\text{NH}_3 < 0,5 \text{ mg l}^{-1}$; pH: 7,4), temperatura (26-28°C), fotoperiodo (12L:12O) y alimentados a saciedad una vez al día: las larvas recién eclosionadas de *N. korthausae* fueron alimentadas con nauplios vivos de *Artemia salina* mientras que a las de *D. rerio* se les suministró polvo de *Artemia*. Posteriormente alevines y adultos de *N. korthausae* fueron alimentados con larvas de mosquito rojo congelado y los de *D. rerio* con alimento comercial laminado. En cada especie se muestrearon 4 grupos de edad: larva, alevín, adulto y senescente.

La extracción de ácidos grasos se realizó mediante el método de Folch (1957), a partir de animales completos. La proporción de ácidos grasos se determinó mediante cromatografía de gases. Se calcularon los índices de insaturación y peroxidación con las formulas descritas por Hulbert *et al* (2007).

Resultados y Discusión

En las fases larva y alevín de ambas especies se detectó ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA). Este hecho pone de manifiesto la capacidad de síntesis y acumulación de DHA, ya que la dieta suministrada era muy pobre en este ácido graso. Además, en estas primeras fases se obtuvo una cantidad importante de ácido docosapentaenoico (22:5n-3), que fue disminuyendo según avanzaba el ciclo vital (Tabla 1).

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos de *N. korthausae* y *D. rerio*, en los diferentes grupos de edad

	Larva		Alevín		Adulto		Senescente	
	<i>N. korthausae</i>	<i>D. rerio</i>	<i>N. korthausae</i>	<i>D. rerio</i>	<i>N. korthausae</i>	<i>D. rerio</i>	<i>N. korthausae</i>	<i>D. rerio</i>
C16:0	8,3±1,7 ^a	7,9±1,8	7,7±2,6 ^a	8,7±3,4	18,1±2,0 ^b	16,7±3,2	16,9±4,6 ^b	17,1±6,9
C22:5n-3	14,1±7,2 ^{a,b}	20,0±8,6 ^b	19,0±7,5 ^b	14,9±5,8 ^b	2,8±0,9 ^a	3,1±1,3 ^a	3,0±0,2 ^a	2,9±2,5 ^a
C22:6n-3	3,4±1,7 ^a	2,1±0,7 ^a	3,0±1,3 ^a	2,9±1,4 ^a	20,0±2,0 ^c	10,0±3,4 ^b	10,5±0,7 ^b	11,6±3,6 ^b
ΣSAT	42,6±2,1	48,2±23,1	45,1±9,0	51,7±13,3	38,7±5,6	39,7±11,0	34,8±10,6	38,5±14,6
ΣMONO	25,7±7,4 ^{a,b}	22,6±7,0	27,0±7,4 ^{a,b}	24,1±7,3	20,9±2,8 ^a	29,1±5,7	35,2±5,4 ^b	31,3±9,8
ΣPOLI	31,5±10,9	29,0±16,0	27,8±8,3	24,1±6,7	40,2±3,9	31,0±6,2	29,8±5,1	30,0±10,1

En la etapa adulta, con el inicio de la etapa reproductora, se observó un incremento en la proporción de DHA para las dos especies. Se ha visto en otros vertebrados que este ácido graso está presente en grandes cantidades en el tejido gonadal (Jaya-Ram *et al.* 2008).

Se observó un incremento en ácido palmítico (16:0), ya que es el primero que se forma en la lipogénesis y es la base para la formación de nuevos ácidos grasos, su acumulación podría indicar un aumento de la reserva energética en la etapa adulta o una pérdida de en la capacidad de la ruta de síntesis de otros ácidos grasos en la senescencia. En individuos senescentes de *N. korthausae* se observó un descenso de DHA.

El índice de insaturación se mantuvo más o menos constante a lo largo del ciclo vital de ambas especies. La proporción de DHA aumentó con el ciclo vital pero se compensó con el descenso de otros ácidos grasos poliinsaturados, lo que sugiere el mantenimiento de la fluidez y funcionalidad de las membranas.

En la etapa adulta se encontraron las mayores diferencias entre las dos especies. *D. rerio* mostró mayor proporción de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, mientras que en *N. korthausae* la proporción de ácidos grasos poliinsaturados fue mayor. Conociendo el ciclo vital de *N. korthausae*, acelerado y de corta duración, en comparación con *D. rerio*, los resultados obtenidos estarían en concordancia con lo propuesto por la teoría de envejecimiento del marcapasos de membrana.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la fundación Séneca (05700/PI/07).

Bibliografía

- Folch, J., M. Lees y G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226: 497-509.
- Gerhard, G. S. 2007. Small laboratory fish as models for aging research. *Ageing Research Reviews*. 6: 64-72.
- Hulbert, A. J., R. Pamplona, R. Buffenstein y W.A. Buttemer. 2007. Life and Death: Metabolic Rate, Membrane Composition, and Life Span of Animals. *Physiological Reviews*. 87: 1175-1213.
- Lucas, A., P.F. Almáida-Pagán, P. Mendiola y J. de Costa. 2009. Characterization of *Nothobranchius korthausae* as a model for studying aging physiology. En: Libro de resúmenes del XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Valencia 2009. *Acta Physiologica*. pp. 96-P40.
- Jaya-Ram, A., M.K. Kuah, P.S. Lim, S. Kolkovski y A.C. Shu-Chien. 2008. Influence of dietary HUFA levels on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs expression in female zebrafish *Danio rerio*. *Aquaculture*. 277: 275-281.

Crecimiento y supervivencia de larvas de *Donax trunculus* (*Mollusca: Bivalvia*) cultivadas a distintas temperaturas

L. Márquez, P. Ruiz-Azcona y O. Moreno

Centro IFAPA Agua del Pino. Ctra. Cartaya-Punta Umbría Km 4, Apdo. 104. Cartaya (Huelva).
E-mail: lorenzo.marquez@juntadeandalucia.es

Abstract

A small-scale experiment were design to test the effect of temperature (17, 20 and 24°C) on growth and survival of *Donax trunculus* veliger larvae. Culture were performed in 1 L flasks; flasks and seawater were renewed every 3-4 days. Seawater (aprox. 35.5 psu, 6.9 mg O₂/L) was filtered through a 0.2 mm mesh and subject to UV treatment. Culture were started with D-larvae (2 days after fertilization) 95 lm in length, and at a larval density of 8/mL. A mix made of *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana* T-Iso and *Chaetoceros calcitrans* was added every 3-4 days; algal density was 60/μL in the beginning and was gradually raised to 180/μL in the two last water changes. The main results were: i) survival was higher at 20°C, reaching a 27% at day 25, than at 24°C, ii) the larval length increased with temperature (2.5 to 5% per day, supposing age-independent mortality) and iii) the algal dynamics was also dependent on the temperature and algal density was reduced faster at 24°C.

Justificación

La coquina, *Donax trunculus*, es un recurso de interés comercial en el litoral onubense; los bancos naturales de la costa de Huelva suponen una fuente de ingresos para varios centenares de familias. El principal objetivo del presente experimento es la extensión del rango de temperaturas probado en experimentos anteriores de cultivo (Ruiz-Azcona *et al.*, 1996) con una dieta multi-algal y utilizando una escala experimental que permitiera el aumento el nivel de replicación.

Material y Métodos

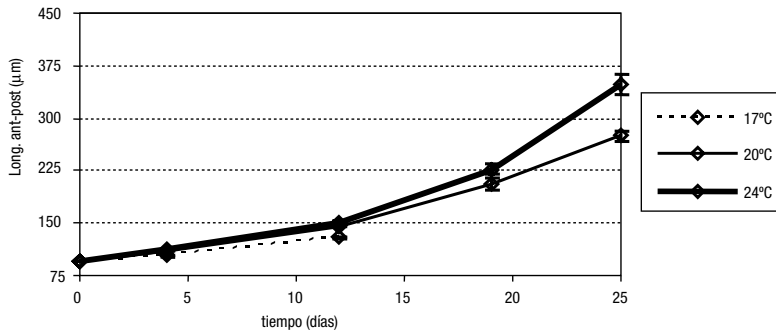
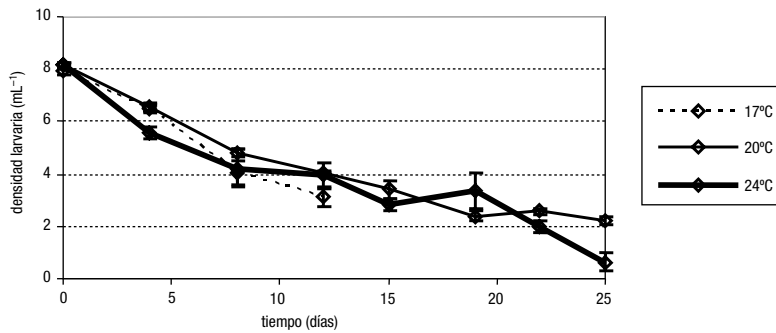
La puesta se llevo a cabo con adultos capturados en la costa del Algarve portugués, se les mantuvo en seco una hora a 20°C y, posteriormente, se les sometió a un choque térmico en agua a 25°C. Se evitó la poliespermia mediante extracción de los machos poco después de su entrada en emisión. Tras 48 horas de desarrollo en el propio tanque de puesta y sin adición de algas, se recolectaron las larvas mediante un filtro de 40 μm para iniciar el experimento. La longitud antero-posterior media inicial a las 48 horas fue de 95.5 μm.

Los cultivos se realizaron en matraces de 1L, con un volumen útil de 0.8 L, con cambios de agua de mar (Sal.: 35.5 psu; [O₂]: 6.9 mg/L) cada 3-4 días. La densidad larvaria inicial fue de 8 mL⁻¹. Las larvas se alimentaron con una mezcla de *Isochrysis galbana* T-Iso, *Tetraselmis suecica*, y *Chaetoceros calcitrans* (Ruiz-Azcona *et al.*, 1996) en proporciones 27.1:3.7:19.2 (para conseguir la igualdad en el peso seco suministrado). La densidad de algas fue incrementada desde 60 μL⁻¹, en el inicio, hasta 180 μL⁻¹. Todos los matraces se situaron bajo iluminación continua de 500-600 lx (luz blanca). Se probaron 3 temperaturas: 17, 20 y 24°C. Para cada una de ellas, se mantuvieron 3 matraces experimentales con larvas con algas y un matraz de control con algas pero sin larvas. Las variables medidas fueron: a) la densidad larvaria en cada muestreo, b) la longitud antero-posterior larvaria (Nikon Digital Sight DS-L1) y c) la densidad diaria de algas (Beckman Coulter Multisizer 3).

Resultados y Discusión

El rango de tolerancia para el crecimiento de las larvas veliger incluye al intervalo 17-24°C. Respecto a la longitud, antero-posterior, un ANOVA robusto bifactorial mostró diferencias significativas para la temperatura y para la edad, tanto en el intervalo 0 a 12 días (3 temperaturas), como en el intervalo 12-25 días (2 temperaturas) (Figura 1). Las tasas específicas de crecimiento (SGR), suponiendo mortalidad independiente de talla, son 2.5, 4.1 y 5.0 % por día para 17, 20 y 24°C respectivamente, demostrando el efecto positivo esperado en el rango de tolerancia de un organismo ectotermo.

Un ANOVA robusto de medidas repetidas (temperatura-tiempo) de la densidad larvaria, sólo mostró un efecto significativo de la temperatura en el intervalo 12 a 25 días. Esta diferencia es compatible con el hecho de que, a 24°C, se alcanza antes la talla de metamorfosis (200-250 μm, (Louzán, 2008)), fase caracterizada por un aumento de la mortalidad.

Figura 1. Talla semanal a distintas temperaturas (media y error estándar)**Figura 2.** Densidad larvaria en cada muestreo (media y error estándar)

Las supervivencias medias a día 12 fueron 39, 50 y 49% para 17, 20 y 24°C, y a día 25: 27 y 8% para 20 y 24°C. Por último, cabe reseñar que la densidad algal decrece más rápidamente a 24°C, aunque las densidades medias se mantienen por encima de las 60 células por µL.

Bibliografía

- Louzán, A. 2008. Ciclo reproductor, composición bioquímica y patología de los progenitores de *Donax trunculus* (Linné, 1758), de un banco natural de Valdoviño (NO Galicia), para la obtención de semilla en criadero. Universidad de Santiago de Compostela y CIMA de Ribadeo. Trabajo de DEA: 67 pp.
- Ruiz-Azcona, P., R. Rodríguez-Sierra, J.B. Martín. 1996. Culture of coquina clam, *Donax trunculus*, larvae. *Aquaculture*, 139: 151-155.

Perfil de ácidos grasos de las hembras de *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia). Diferencias en la composición entre medio exterior y criadero

I. Martínez-Pita¹, C. Sánchez-Lazo¹, I. Hachero Cruzado¹ y O. Moreno¹

¹ I.F.A.P.A. Centro «Agua del Pino». Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. Ctra. El Rompido - Punta Umbría, km. 3,8. E-mail: ines.martinez@juntadeandalucia.es

Abstract

Fatty acid composition of *Donax trunculus* females from the field and maintained in the hatchery were analysed during two months of the maturing and spawning season. The most abundant fatty acids were the saturates (SAT) 14:0, 16:0 and the polyunsaturated (PUFA) 20:5n3 and 22:6n3, the fatty acids monounsaturated (MUFA) with higher values were the 16:1n7 and 18:1n7. The dimetilacetil 18 (DMA 18) was detected with relative high levels. There are an opposite behaviour in both groups, the females from the field show an increase in SAT, MUFA and PUFA while in those from the hatchery, the three fatty acid groups descend. This is probably due to differences in the reproductive cycle since hatchery females spawned at the middle of the study period but those from the field were matured until the end of the experiment.

Justificación

Donax trunculus es un bivalvo de alto valor comercial en España y por ello ha sido incluido en el Plan Nacional de Nuevas Especies de Cultivo de Bivalvos en Hatcheries. Numerosos estudios relacionados con el cultivo de bivalvos han señalado la importancia de los lípidos en la reproducción. De hecho constituyen una reserva importante en los ovocitos que asegura la viabilidad de las larvas (Gallager *et al.*, 1986; Besnard *et al.*, 1989; Chu *et al.*, 1990; White *et al.*, 1992) El objetivo de este estudio es conocer el perfil de ácidos grasos de las hembras de *Donax trunculus* y determinar el efecto de la reproducción y de la dieta en el mismo.

Material y Métodos

Se llevaron al criadero 200 individuos de *Donax trunculus*, se diseccionaron 8 hembras y 8 machos. 15 animales se utilizaron para hallar el índice de condición. El resto se mantuvieron alimentados con una mezcla de especies de microalgas durante dos meses y se controló la emisión de gametos con colectores. Se realizaron dos muestreos además del inicial, uno 2 semanas después y otro tras la puesta. Coincidiendo con cada uno de ellos se trajeron individuos del medio exterior. La composición de ácidos grasos se obtuvo según el método de descrito por Christie (1982)

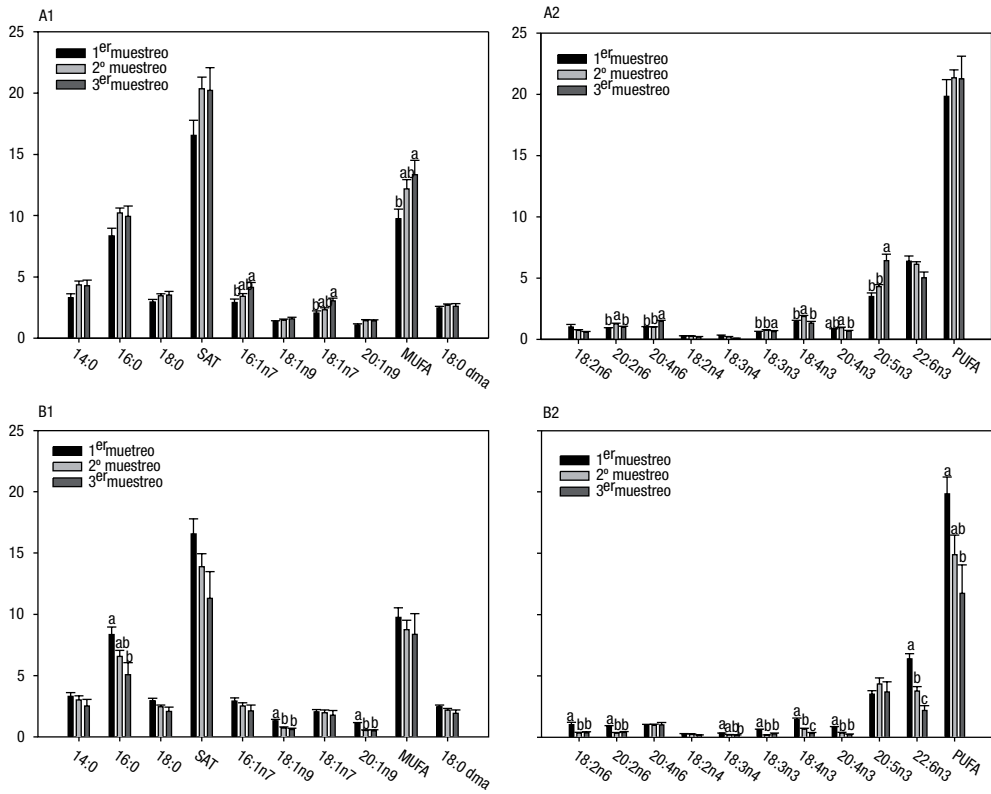
Resultados y Discusión

En la Figura 1 se muestran los valores de ácidos grasos encontrados en los dos grupos de hembras. En general se observa que tanto los ácidos grasos saturados como los monoinsaturados tienden a subir en las hembras de medio natural, significativamente el 16:1n7 y el 18:1n9. Mientras que en las hembras de cultivo ocurre lo contrario y tanto los saturados como los monoinsaturados disminuyen en el tiempo, siendo significativa la disminución del 18:1n9 y del 20:1n9. Con respecto a los ácidos grasos poliinsaturados se observa que en total se produce un aumento en los individuos del medio natural y una disminución significativa en los de cultivo. El ácido araquidónico y el EPA aumentan de forma significativa con el tiempo mientras que el 18:4n3, el 20:4n3 y el DHA disminuyen en las hembras del medio natural. En el criadero se mantienen los niveles del ácido araquidónico pero el 18:4n3, 20:4n3 y el DHA también bajan y de forma significativa; sin embargo el EPA desciende. Las diferencias encontradas en ambos grupos a lo largo del tiempo se deben probablemente a la dieta y al ciclo reproductivo. El índice de condición en los animales del medio natural subió mientras que en los de criadero ocurre al revés y baja, este descenso está relacionado con varias puestas de entre 2 y 4 millones que se obtuvieron un mes después de que llegaran al criadero por lo que los cambios en los ácidos grasos son probablemente debidos a la liberación de los gametos.

Bibliografía

Besnard, J.YU., Lunry, P. y A. Nouvelot. 1989. Seasonal variations of the fatty acid content of the neutral lipids and phospholipids in the female gonad of *Pecten maximus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 93B: 21-26.

Figura 1. Valores de los ácidos grasos a lo largo del tiempo en la hembras de *Donax trunculus* en medio natural (A) y en criadero (B). A1 y B1. Ácidos grasos saturados y monoinsaturados. A2 y B2. Ácidos grasos poliinsaturados



Christie, W. W. 1982. Lipid Analysis, 2nd edn. Oxford: Pergamon.

Chu, F.-L.E, Webb, K. L. y J. Chen. 1990. Seasonal changes of lipids and fatty acids in oyster tissues (*Crassostrea virginica*) and estuarine particulate matter. *Comparative Biochemistry and Physiology* 95A: 385-391.

Gallager, S. M., Mann, R. y G. C. Sasaki. 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture* 56: 81-103.

White, J.N.C., Bounre, N., Ginther, N.G. y C. A. Hodgson. 1992. Compositional changes in the larva to juvenile development of the scallop *Crassadoma gigantean* (Gray). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163: 13-29.

Efectos de la exposición a nitritos sobre procesos osmorreguladores, metabólicos y de estrés en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*)

J. A. Martos-Sitcha¹, C. López-Galindo², I. Ruiz-Jarabo¹, D. Rubio-Mihi²,
K. M. Geba¹, L. Vargas-Chacoff¹ y J.M. Mancera¹

¹ Depto. Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Univ. Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz.
E-mail: juanantonio.martossitcha@mail.uca.es

² Depto. de Tecnologías del Medio Ambiente. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Univ. Cádiz.
Puerto Real 11510, Cádiz

Abstract

Effects of four different concentrations of nitrite (0, 25, 50 and 100 mg/L) on osmoregulation, stress and metabolism of *Solea senegalensis* were assessed after a period of 10 days in a time course experiment. Juvenile sole (67.31±0.26 g mean initial body weight) were randomly distributed in eight tanks and supported under four concentrations of nitrite. Higher nitrite concentrations (50 and 100 mg/L) increased plasma osmolality and lactate, and decreased gill Na⁺,K⁺-ATPase activity, but these parameters recovered basal levels after 10 days of exposition. However, scarce changes were observed in plasma cortisol and metabolites at plasmatic and hepatic level at the lowest concentration, which suggest a rapid acclimation of the specimens to the nitrite concentrations tested.

Justificación

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es un teleosteo marino de alto valor comercial, cuyo cultivo está extendiéndose por la región suratlántica andaluza y por el mar Mediterráneo. En las instalaciones acuícolas es de suma importancia el control y el mantenimiento, dentro de unos límites biológicos y fisiológicos, de multitud de parámetros físico-químicos. En el caso de los nitritos (NO₂⁻), un desajuste en el balance de procesos de nitrificación bacteriana puede causar elevaciones de la concentración de los mismos en el agua, lo que produce graves efectos en los ejemplares mantenidos en sistemas de cultivo en recirculación o sometidos a altas densidades de carga. El objetivo de este estudio es analizar la influencia de varias concentraciones de NO₂⁻ sobre aspectos osmorreguladores, metabólicos y de estrés en *S. senegalensis* con vistas a la determinación de los niveles tolerables para esta especie, a partir de los cuales se podría originar problemas en el crecimiento y/o bienestar del ejemplar.

Material y Métodos

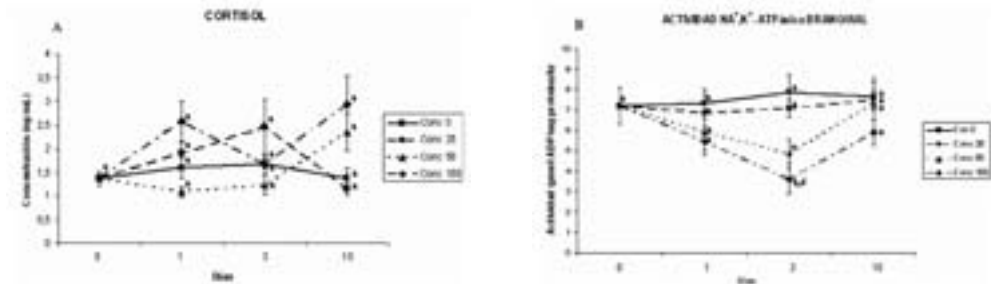
Los juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) (n=130, 67,31±0,26 g de peso) fueron suministrado por la Planta de Cultivos Marinos de la Universidad de Cádiz. Los ejemplares se distribuyeron aleatoriamente en 8 tanques de 54 litros, sometidos (en duplicado) a las siguientes concentraciones de NaNO₂: 0 (control), 25, 50 y 100 mg/L. Las concentraciones se mantuvieron constantes mediante un sistema de administración continua en circuito abierto con renovación de 60 L/hora controlado diariamente, y en condiciones naturales de temperatura (16°-17° C) y fotoperiodo (Noviembre, 2008). La alimentación se llevó a cabo diariamente antes del anochecer (excepto los días anteriores al sacrificio) mediante pellets comerciales para esta especie con una ración del 1% en peso vivo de cada tanque. Se determinaron diversos parámetros biométricos y realizaron muestreos biológicos a día 0, 1, 3 y 10. En el plasma se determinaron los siguientes parámetros: osmolalidad, glucosa, lactato, proteínas totales y cortisol. En el hígado se midieron glucógeno y glucosa, mientras en las biopsias branquiales se determinó la actividad Na⁺, K⁺ ATPásica. El análisis estadístico se llevo a cabo mediante ANOVA factorial para la eliminación de valores atípicos, y el test de Tukey para comparar entre los diferentes grupos.

Resultados y Discusión

La ausencia de mortalidad en las cuatro concentraciones de NaNO₂ analizadas en este estudio indica la buena aclimatación de los ejemplares de *S. senegalensis* a las condiciones del experimento.

El cortisol (Fig. 1A), así como la glucosa y el lactato, claros indicadores de estrés (Wendelaar Bonga, 1997), mostraron sus mayores valores en los grupos sometidos a las más altas concentraciones de NaNO₂, sugiriendo la existencia de una situación de estrés en estos grupos. También se aprecia una disminución de las proteínas plasmáticas y glucógeno hepático entre los día 1 y 3 del experimento, posiblemente como consecuencia del mayor gasto metabólico, recuperando estos valores al día 10 de exposición. Estos datos muestran la buena capacidad de regulación metabólica de esta especie frente a diferentes concentraciones

Figura 1. Evolución del cortisol plasmático (A) y de la actividad Na^+, K^+ -ATPasa branquial (B) ($\text{media} \pm \text{E.S.M.}$). Diferentes letras expresan diferencias significativas entre tiempos en un mismo tratamiento, y # indica diferencias significativas para un mismo día en diferentes tratamientos respecto del control



de NaNO_2 , y concuerdan con lo obtenido anteriormente en ejemplares de *S. senegalensis* sometidos a otros tipos de estrés (Arjona *et al.*, 2007). En la actividad Na^+, K^+ -ATPásica branquial se observó una disminución a los 3 días (que se correspondía con un aumento en los valores de osmolalidad plasmática) en los animales expuestos a las mayores concentraciones de NaNO_2 (50 y 100 mg/L), con una posterior recuperación hacia valores cercanos al control (Fig. 1B). Estos datos sugieren la existencia de una inhibición de esta actividad debido a la exposición al NaNO_2 , así como una rápida adaptación branquial posiblemente asociada a un cambio en el número y tamaño de las células de cloruro del epitelio branquial (Laiz-Carrión *et al.*, 2005). Estos resultados concuerdan con los obtenidos anteriormente en otras especies de teleosteos expuesta al mismo compuesto (Deane y Woo, 2007).

En base a los resultados obtenidos en este experimento, se podría sugerir que *S. senegalensis* es una especie que tolera sin problema los niveles de NaNO_2 testados en este experimento. Ello se debe a la gran capacidad de adaptación de sus mecanismos osmorreguladores y metabólicos frente a cambios en su medio externo. Sin embargo, sería necesario probar el comportamiento de estos procesos fisiológicos ante la exposición a mayores niveles de nitritos.

Bibliografía

- Arjona F.J., Vargas-Chacoff L.H., Ruiz-Jarabo I., Martín del Río M.P. and Mancera J.M., 2007. Osmoregulatory response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to changes in environmental salinity. *Comparative Biochemistry Physiology*, 148A, 413–421.
- Deane E.E., Woo Y.S.W., 2007. Impact of nitrite exposure on endocrine, osmoregulatory and cytoprotective functions in the marine teleost *Sparus sarba*. *Aquatic Toxicology* 82, 85–93.
- Laiz-Carrión R., Guerreiro P.M., Fuentes J., Canario A.V.M., Martín del Río M.P. and Mancera J.M., 2005. Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, *Sparus auratus*. *Journal of Experimental Zoology* 303A, 563–576.
- Wendelaar Bonga S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiological Review* 77, 591–625.

Evaluación *in vitro* de la hidrólisis de ingredientes proteicos por extractos intestinales de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*)

E. Medina¹, M. A. Sáenz de Rodríguez¹, M. Díaz¹, A. Rodiles² y F. J. Alarcón¹

¹ Dpto. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería, La Cañada de San Urbano. 04120 Almería. E-mail: falarcon@ual.es

² IFAPA «Agua del Pino». Ctra. Cartaya-Punta Umbria, s/n. 21459 Huelva

Abstract

The knowledge of the sole protease allows us to standardise an *in vitro* assay to assess on twelve animal and plant protein ingredients. Hydrolysis of proteins was studied under conditions simulating intestinal digestion. A sequential sampling was carried out to visualise and quantify the level of hydrolysis by different approaches. The CPD (coefficient of protein degradation) and CAL (coefficient of aminoacids liberation) indexes based on SDS-PAGE, densitometry and total amino acid analysis offer information about the global hydrolysis of protein by sole enzymes. CPD focuses on the action of endo-proteases, whereas CAL measures the contribution of exo-proteases. Results from both complementary indexes showed that animal protein were highly digestible in terms of enzymatic breakdown of the proteins. The findings also indicate that sole hydrolyses lupin, *Spirulina* and soybean proteins more efficiently compared to the other plant protein sources when considering the global action of proteases. The information obtained can be used to improve selection of protein ingredients for sole feeds.

Justificación

El lenguado senegalés está siendo objeto de estudio como especie alternativa en piscicultura marina. Una de las líneas de actuación se ha orientado en optimizar piensos que cubran sus necesidades nutricionales. En este contexto, se está realizando un importante esfuerzo de investigación en la búsqueda de fuentes proteicas alternativas que sustituyan a la harina de pescado en los piensos. Así, se plantea como necesidad fundamental realizar una evaluación de ingredientes proteicos fiable y razonablemente sencilla que permita obtener una información relevante sobre éstos y que pueda ser aplicada en el diseño y elaboración de piensos. Para esta evaluación, numerosos investigadores recomiendan el uso de técnicas *in vitro*, ya que son rápidas, de bajo coste económico y reproducibles. En el caso concreto de *S. senegalensis*, la modelización de su digestión requiere abordar estas etapas; 1) identificación en el tracto digestivo de los lugares de síntesis de las enzimas, 2) caracterización de las enzimas implicadas en la digestión y 3) puesta a punto del método de evaluación *in vitro* y evaluación de las materias primas con dicho sistema. Bajo este planteamiento, y considerando que las dos primeras etapas ya se han abordado, en el presente trabajo se evalúa la hidrólisis proteica de materias primas por las proteasas digestivas del lenguado senegalés.

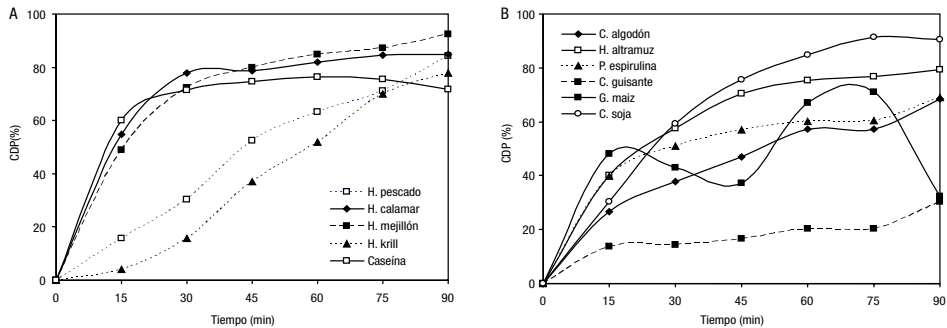
Material y Métodos

La simulación *in vitro* se realizó por triplicado en reactores de 10 mL a 37,5 °C y en agitación continua. En cada reactor se adicionaron: a) 80 mg de proteína de cada materia prima, b) 3,8 mL de agua destilada, y c) 4,2 mL de tampón Tris HCl 100 mM a pH 9.0. Tras 15 min de agitación, se añadieron 2 mL del extracto enzimático intestinal con 200 unidades de actividad proteolítica para iniciar la hidrólisis proteica. Durante la hidrólisis proteica y a distintos tiempos (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min) se tomaron dos tipos de muestras para realizar el seguimiento de la proteólisis. Una muestra se utilizó para su separación electroforética. Seguidamente, a partir de los proteinogramas se determinó la evolución de la densidad óptica de las fracciones proteicas contenidas en cada materia prima y se calculó el valor del Coeficiente de Degradación Proteica (CDP). En la segunda muestra se precipitó la proteína no hidrolizada y en los sobrenadantes se cuantificó la concentración de aminoácidos libres (aa). Seguidamente se estimó el coeficiente de liberación enzimática de aminoácidos; $CLEA (\%) = 100 - (aa \text{ libres } t_0 / aa \text{ libres } t_{90}) \times 100$.

Resultados y Discusión

La hidrólisis enzimática de la proteína se abordó desde dos perspectivas diferentes. Por un lado, la determinación del coeficiente de degradación proteica (CDP) que se obtuvo a partir del estudio densitométrico de los proteinogramas realizados a distintos tiempos del proceso de hidrólisis. Por otro, la determinación del coeficiente de liberación enzimática de aminoácidos (CLEA) que se obtuvo cuantificando los aminoácidos totales que aparecen en la mezcla de reacción a lo largo del tiempo.

La Figura 1 muestra la evolución del valor de CDP durante el ensayo *in vitro*. Las proteínas animales mostraron dos patrones de evolución claramente diferenciados (Fig. 1A). De un lado, las harinas de calamar y de mejillón, junto con la caseína se hidrolizaron casi en un 80 % tras los primeros 30 min. De otro, las harinas

Figura 1. Evolución del valor de CDP de las materias primas animales (A) y vegetales (B)**Tabla 1.** Coeficiente de liberación enzimática de aminoácidos (media±DS) tras 90 min de proteólisis

Materias primas de origen animal					
Artemia liofilizada	Harina de calamar	Caseína comercial	Harina de krill	Harina de mejillón	Harina de pescado
28,1±5,8 ^c	19,1±4,2 ^{bc}	25,6±5,2 ^c	12,1±7,1 ^{ab}	5,0±3,6 ^a	28,1±10,4 ^c
Materias primas de origen vegetal					
Concentrado de algodón	Harina de altramuz	Preparado de espirulina	Concentrado de guisante	Gluten maíz	Concentrado de Soja
4,5±0,1 ^a	21,1±3,7 ^b	14,1±4,1 ^a	6,3±0,7 ^a	1,5±0,5 ^a	39,3±16,3 ^c

de krill y de pescado que presentaron una hidrólisis gradual y constante durante el ensayo. La Figura 2B ilustra patrones más diversos en la evolución del CDP de las harinas vegetales. Así, la proteína del concentrado de guisante apenas se hidrolizó mientras que en el gluten de maíz se evidenciaron fases alternas de disolución de proteína con procesos de degradación de la misma (patrón característico de subidas y bajadas del valor de CDP). Finalmente, el resto de proteínas vegetales mostró un patrón similar al de la harina de calamar, aunque las curvas presentaron pendientes más suaves.

El coeficiente de liberación enzimática de aminoácidos, CLEA, que es indicativo de la cantidad de aminoácidos libres procedentes de las proteínas por la acción de las proteasas, osciló entre el 5 y 28% (Tabla 1). A excepción de la harina de mejillón, todas las fuentes proteicas mostraron valores superiores a un 10%. Los valores más altos correspondieron al liofilizado de Artemia, la harina de pescado y la caseína ($p < 0,05$). En las materias primas vegetales el valor de CLEA se situó entre el 1 y el 39%, si bien sólo dos de ellas, la harina de altramuz y el concentrado de soja, presentaron valores superiores a un 20%.

Finalmente al comparar los coeficientes obtenidos mediante SDS-PAGE y análisis de aminoácidos se comprobó que en algunas de las materias primas existía una relación directa entre ambos índices (datos no mostrados). Es decir, la correlación entre las hidrólisis de grandes cadenas polipeptídicas y la aparición de aminoácidos libres indica que el proceso de proteólisis está equilibrado en los dos sentidos. Desde un punto de vista aplicado, si se comparan las materias primas de origen vegetal con las de origen animal se puede concluir que estas últimas tienen mejor digestibilidad in vitro que las primeras, a excepción del concentrado de soja, el preparado de espirulina y la harina del altramuz que se pueden encuadrar dentro del grupo de fuentes proteicas vegetales con una hidrólisis proteica equilibrada.

Agradecimientos

Parte de este trabajo ha sido financiado por los proyectos RTA-2007-00026-C02-01 y 02 del INIA y los fondos FEDER.

Comparación de dietas microalgales tri-específicas como promotores del crecimiento de *Mytilus galloprovincialis* en criadero

M. Miñambres¹, P. Alvarez¹, A. Aghzar³, A. Pita¹, M. Pérez¹, D. Costas² y P. Presa¹

¹ Universidad de Vigo, Facultad de Ciencias del Mar, Campus Universitario de Vigo. 36310 Vigo.
E-mail: prensa@uvigo.es

² Universidade de Vigo, ECIMAT - Illa de Toralla, 36331 Coruxo, Vigo

³ Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Appliquée et Pathologie, BP. 2121, Mhannech 2, 93002 Tétouan, Morocco

Abstract

La optimización de la producción de mejilla en hatchery requiere la investigación sobre dietas multiespecíficas. En este estudio se evalúa el efecto de dos dietas tri-específicas compuestas con cuatro cepas microalgales, sobre el crecimiento de semilla de *M. galloprovincialis*. Los juveniles suplementados con ambas dietas crecieron 250% y 324% más que la dieta control. La longitud valvar final en la dieta basada en 26% de *Chaetoceros* fue un 21% mayor que bajo la dieta basada en 26% de *Phaeodactylum*, pero no hubo diferencias en la tasa de supervivencia (99.11%). Varias cepas del genero *Chaetoceros* se utilizan normalmente en dietas multialgales para moluscos, debido a su efecto sinérgico positivo con otras microalgas. Sin embargo el mayor crecimiento de semilla observado respecto a la dieta multiespecífica que incorpora *Phaeodactylum* en lugar de *Chaetoceros*, no compensa los gastos de producción de esta última, calculados en ese estudio en torno a 3,8 veces los de la primera.

Justificación

Con el advenimiento del cultivo masivo de bivalvos y el pre-engorde de juveniles en nurseries, el cultivo de microalgas se ha convertido en un requisito para la producción masiva de semilla (Page y Hubbard, 1987). Las larvas de bivalvos se suelen alimentar con dietas multiespecíficas debido a que exhiben un mejor balance de compuestos esenciales y aseguran un mayor crecimiento que las dietas monoespecíficas (De Pauw y Persoone, 1988). En este estudio se evalúa el crecimiento en longitud de juveniles de *M. galloprovincialis* alimentados con dietas tri-específicas de cuatro cepas microalgales comúnmente asequibles de cultivar en criadero.

Material y Métodos

En la Estación Marina de Toralla (Universidad de Vigo) se alimentaron replicas de una progenie de juveniles de *M. galloprovincialis* formada por hermanos completos, con dos dietas microalgales durante 119 días. Las larvas se fijaron en cuerdas (20 cm longitud, 850 individuos por cuerda) y se dispusieron en cajas de PVC a modo de minibateas. Las dietas consistieron en 39% *Isochrysis galbana*, 35% *Tetraselmis suecica*, y 26% *Phaeodactylum tricornutum* (Dieta A) o 26% *Chaetoceros gacilis* (Dieta B). La dieta Control recibió un flujo de 40 ml/s de agua marina microfiltrada (50 µm). La longitud valvar se midió con un calibre digital 0.01 cada 7-15 días sobre una muestra de 50 individuos por ensayo.

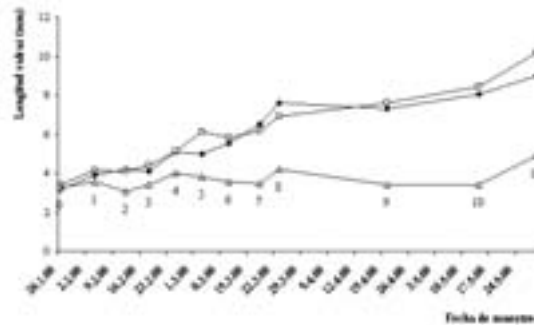
Resultados

Los lotes sometidos a las Dietas A y B crecieron a una tasa de 48 µm día⁻¹ y 58 µm día⁻¹, y alcanzaron respectivamente una longitud final de 179% y 200%. Los individuos de la Dieta C crecieron 13 µm día⁻¹ y alcanzaron un incremento final en longitud del 50%. Los individuos de la Dieta A crecieron al final del experimento un 250% más que bajo la Dieta C (Z = -3.644, p = 0) y bajo la Dieta B crecieron un 324% más que bajo la Dieta C (Z = -3.776, p = 0). La longitud media final bajo la Dieta B fue un 21% mayor que bajo la Dieta A (Z = -0.427, p = 0.699) (Figura 1).

Discusión

La semilla de mejillón alimentada con la Dieta B (26% *Chaetoceros*) alcanzó una media en longitud del 21% mayor que bajo la Dieta A (26% *Phaeodactylum*), lo que está de acuerdo con observaciones previas en juveniles de mejillón (e.g., Cordero y Voltolina, 1994). Esos resultados indican que *Chaetoceros* es una cepa superior en suplementos frescos, a pesar de su mayor contenido en cenizas. Sin embargo, hemos observado que el efecto sinérgico positivo de *Chaetoceros* en dietas multiespecíficas no compensa su coste de producción, calculado aquí como 4 veces mayor que el de producción de *Phaeodactylum*. A menos que se

Figura 1. Evolución de la longitud de una progenie de *M. galloprovincialis* de 3.5 meses. Triángulo: Dieta C (control); cuadrado: Dieta A (26% *Phaeodactylum*); rombo: Dieta B, (26% *Chaetoceros*)



optimice el coste de producción de *Chaetoceros*, no compensa su uso en comparación con otras cepas más baratas, viables y de mayor facilidad de cultivo tales como *Phaeodactylum*.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico de la Xunta de Galicia (Agrupación Estratégica ECIMAT-Oceanografía Ref#2008-080, y Ayudas para la Consolidación de Unidades Competitivas de Investigación 2007/08, Ref#V825 122P 64502) y de la Universidad de Vigo (Contrato Programa con Grupos de Investigación Consolidados, Ref#08VIB15).

Bibliografía

- Page, H. y D. M. Hubbard. 1987. Temporal and spatial patterns of growth in mussels *Mytilus edulis* on an offshore platform: relationships to water temperature and food availability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 111: 159-179.
- De Pauw, N. y G. Persoone. 1988. Micro-algae for aquaculture. En: *Micro-algal biotechnology*. M. A. Borowitzka y L. J. Borowitzka (Eds.): 197-221. New York: Cambridge U. Press.
- Cordero, B. y D. Voltolina. 1994. Growth of *Mytilus galloprovincialis* fed with four microalgae and two feeding regimes. *Journal of the World Aquaculture Society*. 25(3): 471-475.

Efecto del tipo de proteína vegetal en el pienso sobre el crecimiento, calidad de agua, composición corporal y estrés en tilapia del Nilo en un sistema de recirculación intensiva

M. Molina¹, J. López-Luna¹, L. Vásquez^{1,3}, J. M. Durán², M. Villarroel¹

¹ Departamento de Producción Animal.

² Departamento de Producción Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria. 28040, Madrid.

³ Universidad Nacional de Colombia. e-mail: javier.lopez@upm.es

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of four different sources of plant protein (pea concentrate, sunflower, gluten meal and soybean meal+fish meal) on growth, water quality, body composition and plasma cortisol in 96 male Nile tilapia (initial weight \pm sd: 37.5 \pm 5.6 g). Fish fed pea grew more than the other treatments, while no statistical differences were found regarding water quality (although there is a trend to have lower fluoride and magnesium levels with gluten meal), body composition and plasma cortisol. These results support the use of pea concentrate as replacement protein source for soybean and fish meal (commercial diets) without an apparent effect on other parameters.

Justificación

Actualmente la piscicultura practicada en los países desarrollados se basa en la utilización de especies carnívoras (trucha, salmón), teniendo una gran dependencia de harinas y aceites de pescado, cuyo alto coste encarece la producción (McCoy, 1990), y generando gran cantidad de efluentes eutrofizantes. En los últimos años se está investigando nuevas fuentes de proteína vegetal y el uso de especies omnívoras, tales como la tilapia por su gran adaptación a diversas condiciones. De igual modo, los consumidores demandan mayor trazabilidad de los productos alimenticios y medidas para controlar y mejorar el bienestar animal. En este sentido es fundamental análisis de calidad de agua para mejorar los actuales sistemas intensivos de producción así como encontrar indicadores plasmáticos de estrés que ayuden a evaluar las condiciones de producción (Gornati *et al.*, 2004) entre los actuales retos de la piscicultura.

Material y Métodos

La prueba se llevó a cabo en las instalaciones para acuicultura de los Campos de Prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (UPM, Madrid) durante un total de 56 días. Se dispuso de 96 machos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) de 37,5 \pm 5,6 g (\pm sd) de peso inicial distribuidos en 24 tanques (n=4 peces por tanque) de fibra de vidrio de 120 l de capacidad cada uno, unidos 2 a 2 mediante un biofiltro, generando de esta manera un sistema de recirculación entre ellos. Se utilizaron 4 piensos en pellet de 2 mm (35% proteína y 15% grasa sobre materia seca) con 4 fuentes distintas de proteína vegetal (harina de soja + harina de pescado, harina de guisante, gluten meal 64 y harina de girasol). Se aplicaron 3 tomas diarias mediante comederos automáticos. El nivel de alimentación fue el 3% del peso vivo. Diariamente se controlaron el oxígeno, temperatura y pH, manteniéndose en valores normales para producción de tilapia.

Con los datos de peso inicial y final, se calcularon ganancia de peso, tasa de crecimiento específico (TCE = ((In peso final-In peso inicial)*100/días), índice de conversión (IC = consumo pienso/ganancia peso) e índice de eficiencia proteica (PER = ganancia peso/consumo proteína). Además se recogieron muestras de agua (500 ml) cada 2 semanas de las cuales se analizaron (Compact. Metrohm, Ion Analysis) los principales parámetros de calidad de agua. A la finalización de la prueba se determinó la composición corporal de todos los peces (AOAC, 2000), así como el cortisol en plasma mediante la extracción de 0,5 ml de sangre, analizada con un test comercial ELISA (CAN-C-270, Diagnostics Biochem Canada, Inc.).

Resultados y Discusión

Los peces alimentados a base de la dieta de guisante mostraron claramente los mejores resultados productivos. Tanto el peso final como la TCE y PER fueron significativamente mayores en ese caso, no así el IC, que resultó estadísticamente igual entre tratamientos, aunque con una tendencia favorable hacia el guisante y gluten meal. Esta falta de diferencias en el IC puede indicar la gran adaptabilidad de la tilapia a

Tabla 1. Resultados productivos y cortisol en tilapia del Nilo (medias con diferentes letras son estadísticamente diferentes al 95%)

	Soja + pescado	Guisante	G. meal	Girasol	SEM (n=6)	P
Producción						
Peso final (g)	91,1 ^b	121,8 ^a	91,1 ^b	77,8 ^b	7,2	0,031
IC (g/g)	1,17	0,74	0,91	1,62	0,24	0,18
TCE (%/d)	1,57 ^b	2,09 ^a	1,55 ^b	1,29 ^b	0,15	0,036
PER (g/g)	0,74 ^b	1,10 ^a	0,76 ^b	0,53 ^b	0,11	0,033
Estrés						
Cortisol (ng/ml)	12,13	12,97	19,91	10,89	2,43	0,11

diferentes condiciones de alimentación. La eficacia de la proteína de origen vegetal en dietas para tilapia ha sido ampliamente demostrada (Wu *et al.*, 1995; Fontainhas *et al.*, 1999), viniendo a confirmar los resultados de este experimento. No se registraron diferencias en los parámetros de calidad de agua (aunque con una tendencia a valores más bajos de fluoruros y magnesio con el gluten meal, ($P < 0,10$)) ni en la composición corporal. Los análisis de cortisol en plasma tampoco ofrecen diferencias significativas, siendo los valores muy aproximados a valores basales normales (10-20 ng/ml) (Barcellos *et al.*, 1999).

Agradecimientos

Queremos agradecer a G. Desimone y P. Berdejo por su ayuda en la realización de la prueba. Este proyecto ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (proyecto AGL2005-07571-C02).

Bibliografía

- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. AOAC, Washington, DC.
- Barcellos L.J.G., S. Nicolalewsky, S.M.G. de Souza y F. Luhlir. 1999. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress. *Aquaculture Research* 30:437-444.
- Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A. y Coimbra, J. (1999) Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. *Aquaculture International* 7:57-67.
- Gornati R., E. Papis, S. Rimoldi, G. Terova, M. Saroglia y G. Bernardini. 2004. Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Gene* 341: 111-118.
- McCoy, H.D. 1990. Fishmeal-The critical ingredient in aquaculture feeds. *Aquaculture Magazine* 16 (21): 43-50.
- Wu, Y.V., Rosati, R., Sessa, D.J. y Brown, P. (1995) Evaluation of corn gluten meal as a protein source in tilapia diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:1585-1588.

Selección de grasas con diferente grado de oxidación en doradas (*Sparus aurata* L., 1758) alimentadas mediante comederos a demanda

A. Montoya y F. J. Sanchez-Vazquez

Departamento de Fisiología Animal.Facultad de Biología.Universidad de Murcia.30100 Espinardo, Murcia.
e-mail:andermontoya@um.es

Abstract

The aim of this study was to investigate the capacity of the Gilthead seabream to select between 2 complete (46,5 % P, 20 % F and 33,5% CH) and similar dyets, wich differed only in the oxidation grade of the lipid source (control:POV=6 meq/kg, oxidised:POV=100 meq/kg.). 6 groups of 4 Gilthead seabream with an initial mean bodyweight of 254 g were kept in 150-L Tanks supplied with a continuous aireated, filtered and esterilized water flow and equipped with 2 self-feeders per Tank. Since the sixth day of tryal, a clear preference for the non oxidised dyet could be observed in all the tanks both after the self-feeders inversion the half of the groups did not show a clear selection pattern for the control dyet.This 3 groups were subjected to starvation during 3 weeks, refusing since the sixth day of refeeding the oxidised dyet. In conclusion, our results show the capacity of a teleost fish to select between 2 fat sources with a different oxidation grade and suggests the dramatical consequences of starvation in a fish fed a oxidised dyet.

Justificación

La capacidad de autoselección dietaria en peces de interés en acuicultura ha sido puesta de manifiesto en numerosas especies como el sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) (Vivas *et al.*, 2006) la lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Aranda *et al* 2000) el lenguado senegalés (Rubio *et al* 2009) o la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Yamamoto *et al.*, 2001) mostrándose en todos los casos como una herramienta de gran utilidad para conocer las preferencias y los requerimientos nutricionales de estas especies.

Si bien ya se han llevado a cabo trabajos poniendo de relevancia el efecto nocivo de las dietas oxidadas sobre la especie objeto de estudio (Mourente *et al.*, 2002), aún no se han descrito estudios de autoselección dietaria en esta especie ni el efecto de una fuente lipídica oxidada sobre la selección dietaria. Por ello, este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de investigar la capacidad de la dorada para diferenciar fuentes lipídicas oxidadas.

Material y Métodos

Este experimento se llevó a cabo durante los meses de Septiembre, Octubre y Noviembre del 2008 en el laboratorio de acuicultura situado dentro de la Estación Naval de la Algameca (Cartagena).Un total de 24 doradas con un peso medio inicial de 254 g fueron divididas en 6 tanques de 150 litros suplementados con un flujo continuo de agua filtrada y esterilizada a una temperatura natural en torno a los 17°C .Los peces fueron mantenidos con un fotoperiodo de 12h:12h (luz:oscuridad) y cada tanque fué equipado con 2 comederos a demanda dispensando cada uno un tipo de dieta y cuantificándose diariamente el alimento demandado pero no consumido.

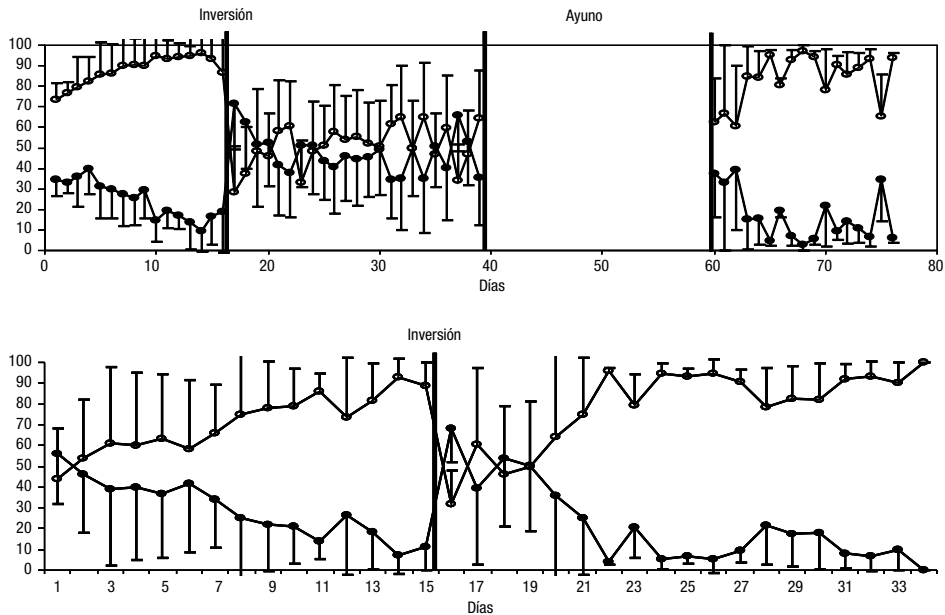
Las dietas experimentales eran nutricionalmente completas y similares, difiriendo en el grado de oxidación de la fuente lipídica (Control, POV = 6 meq/kg y oxidada, POV = 100 meq/kg). Como fuente de proteína se utilizaron gelatina y caseína láctica en proporciones 1:5 respectivamente, dextrina para proporcionar los carbohidratos y aceite de soja y de hígado de bacalao en proporción 1:3 respectivamente para los lípidos. Asimismo se añadieron celulosa y sodio alginato como compactantes y suplemento vitamínico-mineral. Ambas dietas estaban constituidas en un 46,5 % de proteína, 20 % de grasa y 33,5 % de carbohidratos.

La oxidación de la mezcla de aceites se llevó a cabo mediante continuo burbujeo de oxígeno y agitación a 50° C monitorizando el grado de oxidación cada 8 h.

Resultados y Discusión

A partir del sexto día de experimentación se pudo apreciar en todos los grupos una clara preferencia por la dieta control. Tras 2 semanas se invirtieron los comederos, produciéndose de nuevo una clara selección de la dieta no oxidada, aunque en este caso, solo en la mitad de los grupos. En los grupos en los que no se observó una clara preferencia dietaria, se prolongó el estudio 3 semanas más, tras este periodo de tiempo, y sin producirse todavía una selección dietaria clara, estos grupos fueron sometidos a ayuno durante tres semanas. A partir del sexto día de realimentación, se pudo apreciar claramente una selección en favor de

Figura 1. En la parte superior se muestra la evolución en la selección dietaria en los grupos sometidos a ayuno, mientras que en la parte inferior se muestra el desarrollo del estudio en los grupos que seleccionaron espontáneamente la dieta control. Los círculos blancos hacen referencia al porcentaje diario de selección de la dieta control, y los negros a la dieta oxidada



la dieta no oxidada en todos los grupos sometidos a ayuno. Durante todo el experimento se observó una relación entre la ingesta diaria y el tipo de pienso demandado, registrándose una ingesta media diaria del 0.92 ± 0.23 (Porcentaje con respecto a la biomasa) en los grupos sometidos a ayuno cuando los peces no seleccionaban una dieta claramente y de 1.18 ± 0.12 tras el periodo de ayuno, mientras que en los grupos donde se produjo una clara selección antes y después de la inversión la ingesta media diaria no varió tanto (2.02 ± 0.12 y 1.83 ± 0.4 para el periodo inicial y tras la inversión, respectivamente)

En conclusión, nuestros resultados ponen de manifiesto la capacidad de esta especie para seleccionar una fuente lipídica no oxidada frente a otra oxidada, y sugieren las drásticas consecuencias del ayuno sobre animales alimentados con dieta oxidada.

Bibliografía

- Aranda, A., Sanchez-Vazquez F.J., S. Zamora, y J.A. Madrid. 2000. Self –Design of fish diets by means of self-feeders: validation of procedures. *J. Physiol. Biochem.*, 56: 155-166.
- Mourente, G., Diez-Salvago E., J.G. Bell y D.R. Tocher. 2002. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile githhead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture* 214:343-361.
- Rubio V.C., Boluda. D., J.A. Madrid y F.J. Sanchez-Vazquez. 2009. doi:10.1016/j. *Aquaculture*. 2009.02.040.
- Vivas M., Rubio V.C., F.J Sanchez-Vazquez., Mena C., B. Garcia Garcia y J.A. Madrid. 2006. *Aquaculture* 251:430-437.
- Yamamoto T., Shima T., Fuguita H., Shiraishi M., F.J. Sanchez-Vazquez y M. Tabata. 2000. Self –selection of diets with different amino acid profiles by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) .*Aquaculture* 187: 375-386

Aplicación del sistema de digestión de celda abierta para la determinación *in vitro* del fósforo disponible en piensos para trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

G. A. Morales¹, F. J. Moyano², M. Hamdan² y M. Sáenz de Rodrigañez²

¹ Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 C1417DSE-Buenos Aires, Argentina. e-mail: moralesg@agro.uba.ar

² Departamento de Biología Aplicada, Edif. CITE II-B, Universidad de Almería, La Cañada de San Urbano. 04120 Almería, España

Abstract

Phosphorus (P) and nitrogen (N) availability of in two commercial diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), with high (AP) and low (BP) dietary P, and a standard raw ingredient (fish meal, HP) were assayed using the open *in vitro* digestion system. The digestive simulation was carried out in two steps: gastric digestion (pH 3.0; 60') and intestinal digestion (pH 9.0; 720'), using enzymes extracts from rainbow trout. Phosphorus availability (as % of total P in substrate) was 83%, 32% and 34%, for HP, AP and BP, respectively, while N availability was 44%, 42% and 39%. The open *in vitro* digestion system allowed differentiates, between the assayed substrates, both protein and P availabilities, a key aspect in the formulation of diets with low environmental impact.

Justificación

En los últimos años se han desarrollado varias metodologías *in vitro* para evaluar la calidad proteica en piensos como una alternativa a los ensayos *in vivo* (p.ej. Moyano y Savoie, 2001; Hamdan *et al.*, 2009). Sin embargo, hasta la fecha pocos estudios han utilizado dicha metodología para evaluar el P disponible en dietas para peces. El objetivo del presente trabajo fue calibrar la técnica de digestibilidad *in vitro* de celda abierta para la evaluación del P disponible en un ingrediente de referencia (harina de pescado) y dos piensos para trucha arco iris con diferente contenido de P total dietario.

Materiales y Métodos

Se obtuvieron extractos enzimáticos provenientes del estómago y ciegos pilóricos con intestino proximal de juveniles de trucha arco iris (n=10). Sobre éstos se cuantificó la concentración de proteína soluble, la actividad proteasa ácida total y proteasa alcalina total, 10,6 y 0,95 U mg⁻¹ de tejido, respectivamente. La simulación digestiva se realizó sobre harina de pescado LT (HP: 72,0% proteína; 2,0% P total), y dos piensos comerciales con alto (AP: 40,1% proteína; 2,0% P total) y bajo (BP: 39,0% proteína; 1,4% P total) P total dietario. Se utilizaron dos etapas de digestión: gástrica en celda cerrada (60'; pH 3,0) e intestinal en celda semipermeable. Durante el periodo de digestión intestinal se hizo circular solución tampón Ac. Bórico - Borato (0,1M; pH 9,0) mediante una bomba peristáltica, recogiendo el dializado a diferentes intervalos de tiempo hasta los 720'. Sobre las soluciones dializadas, se determinó la concentración de grupos α-amino (Church *et al.*, 1983) y P soluble (Engelen *et al.*, 1994).

Resultados y Discusión

El seguimiento de los productos de la digestión aportó información sobre el patrón de liberación de grupos amino y P soluble a través del tiempo (Figura 1.a. y 1.b.). Los valores acumulados de liberación para ambos productos mostraron diferencias entre los sustratos (HP>AP>BP). Se evidenció una baja degradación gástrica de la proteína, respecto a la digestión intestinal (Figura 2.a.). Este hecho podría ser explicado debido a la acción de las proteasas estomacales sobre las proteínas, que provocaría la formación de polipéptidos de diferente tamaño y no tanto la liberación de pequeños péptidos y aminoácidos valorables por la técnica utilizada. Sin embargo, las proteasas estomacales prepararían a las proteínas para su posterior hidrólisis por las exopeptidasas y endopeptidasas intestinales. Hecho que se confirmó en los valores de liberación de aminoácidos durante digestión intestinal.

Por otro lado, teniendo en cuenta las cantidad de P total ingresados en los digestores (HP: 1,1; AP: 2,0; BP:1,4 mg), era de esperar observar diferencias en la liberación de P entre los alimentos AP y BP (Figura 1.b.). Sin embargo, al observar el % de P liberado (Figura 2.b), la mayor liberación de P soluble de la HP en comparación con AP, no estaría dada por el contenido de P total en los sustratos, sino más bien por una diferencia en la disponibilidad de dicho nutriente. En los ingredientes vegetales, el 60-80% del P total se encuentra como fitato (Ravindran *et al.*, 1994). Debido a que los peces no poseen fitasa en su tracto digestivo,

Figura 1. Tasa de liberación (líneas grises) y acumulación (líneas negras) de productos de la digestión: a) grupos amino; b) P soluble. Letras diferentes entre sustratos indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

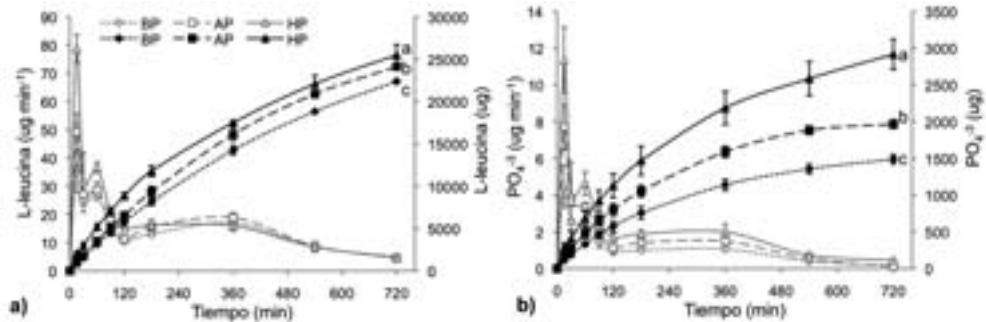
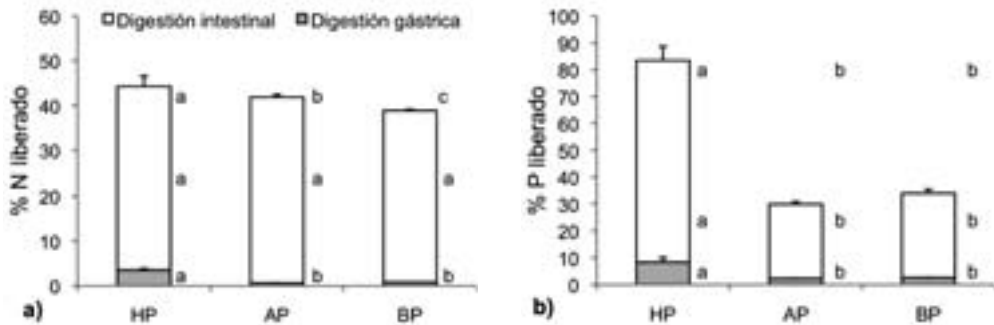


Figura 2. Liberación de N (a) y P (b), expresado como % del P y N total en el sustrato



la digestibilidad del P-fito es muy pobre. Ello explicaría las claras diferencias observadas entre el P liberado por la HP y los piensos, los cuales incluyen ingredientes vegetales en su formulación.

Agradecimientos

A la Asociación Universitaria Iberoamericana de Postgrado (AUIP) y a la Junta de Andalucía.

Bibliografía

- Church, F.C., H.E. Swaisgood, D.H. Porter y G. Catignani. 1983. Spectrophotometric assay using o-phthaldehyde for determination of proteolysis in milk proteins. *J. Dairy Sci.* 66: 1219-1227.
- Engelen, A.J., F.C. Van der Heeft, P.H.G. Randsdorp y E.L.C. Smit. 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *J. AOAC Int.* 77: 760-764.
- Hamdan, M., F.J. Moyano y D. Schuhardt. 2009. Optimization of a gastrointestinal model applicable to the evaluation of bioaccessibility in fish feeds. *J. Sci. Food Agric.* 89: 1195-1201.
- Moyano, F.J. y L. Savoie. 2001. Comparison of in vitro systems of protein digestion using either mammal or fish proteolytic enzymes. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.* 128: 359-368.
- Ravindran, V., G. Ravindran y S. Sivalogan. 1994. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. *Food Chem.* 50: 133-136.

Evaluación del uso de determinadas especies de macroalgas del litoral andaluz como componente de posibles dietas artificiales en el cultivo del erizo común (*Paracentrotus lividus* Lam.)

R. M.^a Murillo¹, D. J. Guirado¹, F. Hidalgo² y J. C. Norman³

¹ Dpto. de Zoología, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. Darwin, Plta. 3^a, 14071 Córdoba.
E-mail: b42munar@uco.es, ba1jigud@uco.es

² Dpto. de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Campus de Fuentenueva s/n, Universidad de Granada,
18071 Granada. E-mail: fhidalgo@ugr.es

³ Consejería de Agricultura y Pesca, Delegación Provincial de Granada. Avda. Joaquina Eguaras 2,
Complejo Almanjáyar, 18071 Granada. E-mail: josec.norman@juntadeandalucia.es

Abstract

A study of the alimentation of the sea urchin has been realized in the Salobreña area (Granada), as a preliminary step of the development and tuning of artificial diets of possible application in the culture of this species in the andalusian coast. On this basis the incorporation to the diet of certain amounts of natural food, with a high preference by the animal in the habitat, could be determining of the performance that could be obtained regarding the growing and fattening up of the sea urchin (Dworjanyn, Pirozzi y Liu, 2007) and although as regards gonadal quality (Shpigel *et al.*, 2005). A temporal analysis was performed of the presence of recognizable leftovers in the gastro-intestinal content of the species and, by other hand, it was evaluated in experimental conditions of laboratory the consumption of different selected species of seaweed. It has been tested with thallus and leaves dried up or preserved by freezing to evaluate and decide, in each species of seaweed, what is the method of preservation that could be preferential in the sea urchin alimentation, having in mind at the same time the availability of the resource and the economic cost of the procedure employed. A marked preference by determinate brown algae has been observed, as *Stypocaulon scoparium*, that results abundant in the indicate area, being besides a species to consider as perennial, so it could represent an important resource of possible use as fresh food. In identical situation is *Dictyota dichotoma* that as inconvenient presents a character more seasonal than *S. scoparium*. The use of the commercial mixtures of *Porphyra-Undaria-Palmaria* or those of *Laminaria* result be an alternative option with acceptable results, it has been observed that the use of binding substance favors significantly the consumption of this products.

Justificación

El análisis del contenido intestinal del erizo común, estudiado en su medio natural, indica que se trata de un animal fundamentalmente herbívoro, tal y como señalaron Boudouresque y Verlaque (2007). Littler y Littler (1984) apreciaron una mayor ingestión de algas filamentosas y foliáceas en comparación con otras especies más estructuradas o provistas de CO₃Ca y más propias de las fases terminales de la sucesión en las comunidades bentónicas. Esas diferencias en las tasas de consumo se deben a la capacidad de manipular e ingerir el alga o bien es una preferencia de acuerdo con su palatabilidad. En ocasiones, se ha observado una gran especificidad (Larson, Vadas y Keser, 1980). También se observó que las algas voluminosas son preferidas sobre las alargadas y de aspecto aplanado, lo cual resulta esencial en el uso de alimento preparado (Klinger, 1982). Para la puesta a punto de dietas artificiales para el cultivo de esta especie, se ha realizado un estudio de su alimentación en el área de Salobreña (Granada). Se parte de la base de que la incorporación a la dieta de determinadas cantidades de alimento natural, de elevada preferencia por el animal en el medio, puede ser determinante del rendimiento que se pueda obtener en cuanto a crecimiento y engorde (Dworjanyn, Pirozzi y Liu, 2007) o en cuanto a calidad gonadal (Shpigel *et al.*, 2005). Se efectúa aquí un estudio de restos identificables en el contenido gastro-intestinal así como un análisis en laboratorio del consumo de algunas especies de algas seleccionadas.

Material y Métodos

Los ejemplares han sido recolectados en un rango de 3 a 10 m de profundidad. Diez individuos con un diámetro de caparazón superior a 4 cm fueron diseccionados y su sistema digestivo extraído. El contenido gastro-intestinal fue homogeneizado en una placa de Petri y en cada uno de ellos se observaron bajo el microscopio estereoscópico diez cuadros de 7 x 9 mm a 40x. Los restantes fueron mantenidos en el laboratorio en diez tanques de 25 l, bajo condiciones controladas. Durante quince semanas se utilizaron tres lotes de diez ejemplares cada uno, dispuestos individualmente en los tanques. Se aplicaron un total de 23 aportes alimentarios seleccionados, mantenidos previamente en condiciones de congelación o desecación. Se evaluó la apetencia por el alimento contabilizando los días de consumo de cada aporte.

Resultados y Discusión

Durante el periodo estudiado los restos fecales pardos identificables fueron los más frecuentes en el contenido gastro-intestinal, con valores del 36-52%, seguido por los restos coralinos con un 21-34% y los de las clorofíceas (*Ulva-Enteromorpha-Cladophora*) con valores inferiores al 22%. Dentro de los primeros destacan los de *Stypocaulon scoparium* (11-14%) y los de *Dictyota-Dilophus* spp. (< 12%). Los segundos están constituidos fundamentalmente por fragmentos calcáreos de *Corallina elongata* (3-15%) y de *Lithophyllum incrustans* (3-5%); otras rodofíceas frecuentes fueron *Gelidium* sp. (2-9%) y *Asparagopsis armata* (2-4%). La especie perenne *S. scoparium* constituye un importante recurso alimenticio para el erizo aunque estos resultados discrepan en parte de los obtenidos por Niell y Pastor (1973), debido a que las poblaciones del área estudiada ocupan un hábitat diferente al analizado por estos autores. Por otro lado, son consistentes con el ensayo realizado en el laboratorio, en el que esta especie proporcionó consumos del 52% y del 32% en aportes congelados y desecados respectivamente. *Dictyota-Dilophus* spp. fueron muy bien aceptadas en aportes congelados (80%), pero fueron rechazadas totalmente en los sometidos a desecación. Se han utilizado otras especies de carácter estacional como *Cystoseira* sp., *Padina pavonica* y *Colpomenia sinuosa*, también con resultados negativos. Y en cuanto a las rodofíceas ensayadas se han observado resultados similares para los suministros congelados de *Rissoella verruculosa* (24%), *Gelidium* sp. (26%) y *Corallina elongata* (27%), siendo completamente negativos en el caso de *Asparagopsis armata*. El empleo de las mezclas comerciales desecadas de *Porphyra-Undaria-Palmaria* o las de *Laminaria* resultan ser una opción alternativa con resultados aceptables, habiéndose observado que el empleo de aglutinante favorece significativamente el consumo de estos productos, tanto para estas especies como para *S. scoparium*, obteniéndose en estos casos valores en torno al 80%.

Agradecimientos

Este estudio se enmarca dentro del proyecto 'Estudio del cultivo en ciclo completo y comercialización del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)', financiado por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

Bibliografía

- Boudouresque, C. F. y M. Verlaque. 2007. Ecology of *Paracentrotus lividus*. En: *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*. J. M. Lawrence (Ed.): 243-285.
- Dworjanyan, S. A., I. Pirozzi y W. Liu. 2007. The effect of the addition of algae feeding stimulants to artificial diets for the sea urchin *Tripneustes gratilla*. *Aquaculture*, 273: 624-633.
- Klinger, T. S. 1982. Feeding rates of *Lytechinus variegatus* Lamarck (Echinodermata: Echinoidea) on differing physiognomies of an artificial food of uniform composition. En: *Echinoderms: Proceedings of the International Conference, Tampa Bay*. J. M. Lawrence (Ed.): 29-32.
- Larson, B. R., R. L. Vadas y M. Keser. 1984. Feeding and nutritional ecology of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in Maine, USA. *Marine Biology*, 59: 49-62.
- Littler, M. M. y D. S. Littler. 1984. Relationships between macroalgal functional form and substrata stability in a subtropical rocky-intertidal system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 74: 13-34.
- Niell, F. X. y R. Pastor. 1973. Relaciones tróficas de *Paracentrotus lividus* (Lmk) en la zona litoral. *Investigación Pesquera*, 37: 1-7.
- Shpigel, M., S. C. MacBride, S. Marciano, S. Ron y A. Ben-Amotz. 2005. Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 245: 101-109.

Análisis sensorial y composición en ácidos grasos en *D. puntazzo* alimentados con sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de soja y grasa de cerdo

S. Nogales, A. Tomás, S. Martínez y M. Jover

Instituto de Ciencia Animal y Tecnología. Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46071- Valencia (España). atomasv@dca.upv.es. Tel: 96-3879385; Fax 96-3877439

Abstract

Fish oil substitution by alternative oils has been persuaded to achieve not only economical advantage but also to reduce wild fish extraction used in fish oil production. Nevertheless the nutritional quality as fatty acids profile and fish fillet palatability should be taken in consideration. As Sharpsnout sea bream is promising specie in our market. To determinate how fish oil replacement affected *D. puntazzo*'s fatty acids and fillet quality, a trial was conducted replacing fish oil by 50% soybean oil and another diet with 50% fat lard. Fish with initial weight (105g) were fed during 134 days. At the end of the trial fish filets and livers were collected to determinate fatty acids and sensorial analysis. There was found statistical differences in LA, LNA, EPA and n3/n6 relation. Even these statistical differences in essential fatty acids, fillet quality were not affected by fish oil substitution.

Justificación

En acuicultura se ha diversificado las materias primas alternativas (soja, palma, colza etc.) al aceite de pescado para poder sustituirlo parcialmente, buscando no sólo ventajas económicas sino también la sostenibilidad de este tipo de explotaciones que se conseguiría reduciendo la presión extractiva del pescado empleado como materia prima para el aceite de pescado. Por otro lado, el uso creciente de aceites alternativos empleados en los piensos para otros animales, suelen ser más ricos en ácidos grasos n6, lo cual podría alterar la relación n3/n6 y por ende la del cuerpo del pez, lo que podría significar un empobrecimiento de la calidad nutricional y de la palatabilidad del pescado producido. Por ello el objetivo de este trabajo fue constatar si la sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de soja y grasa de cerdo alteran la palatabilidad del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) y el perfil de ácidos grasos tanto en hígado como en filete.

Material y Métodos

Un número de 134 sargos picudos con un peso inicial de 105 g fueron alimentados durante 140 días con tres piensos experimentales 100% aceite de pescado (FO), 50% aceite de soja (SO) y 50% grasa de cerdo (FL). Al final del experimento 10 animales, con un peso medio final de 250 g., por tratamiento fueron colectados a los cuales se les extrajo los filetes de la parte próxima al abdomen e hígados para el análisis de los ácidos grasos y los filetes para el análisis sensorial. Los ácidos grasos fueron metilados siguiendo la metodología modificada de O'Fallon *et al.* (2007) y analizados por cromatografía de gases. Para el análisis sensorial se siguió la metodología estándar ISO-4120 (1983). Todos los datos fueron introducidos a Statgraphics, utilizando el ANOVA simple para observar si hubo diferencias estadísticas entre tratamientos.

Resultados y Discusión

En la fig. 1 se muestra los resultados del perfil de ácidos grasos tanto en el filete como en el hígado del sargo picudo, reportando los mayores valores en EPA y n3/n6 en peces alimentados con FO. Sin embargo, el porcentaje de LNA y LA fue mayor en peces alimentados con SO.

A pesar de las diferencias estadísticas observadas en los ácidos grasos esenciales y la relación n3/n6, esto no afectó la palatabilidad de los filetes de sargo sometidos a los tratamientos (SO y FL) y por lo tanto las diferencias sensoriales no resultaron significativas, como se muestra en la Tabla 1 ya que la proporción de aciertos no superó al 14%. De igual forma ningún parámetro de los valores colorimétricos, pérdidas por cocción, peso del filete en fresco además del rendimiento del filete (RF) fórmula (2) presentó diferencias estadísticas entre tratamientos.

Figura 1. Muestras porcentuales en filete (arriba) e hígado (abajo) del sargo picudo. Relación n3/n6; Acido Docohexanoico (DHA); Acido eicosopentanoico (EPA); Acido Araquidónico (ARA); Acido linoleico (LA); Acido Linolenico (LNA)

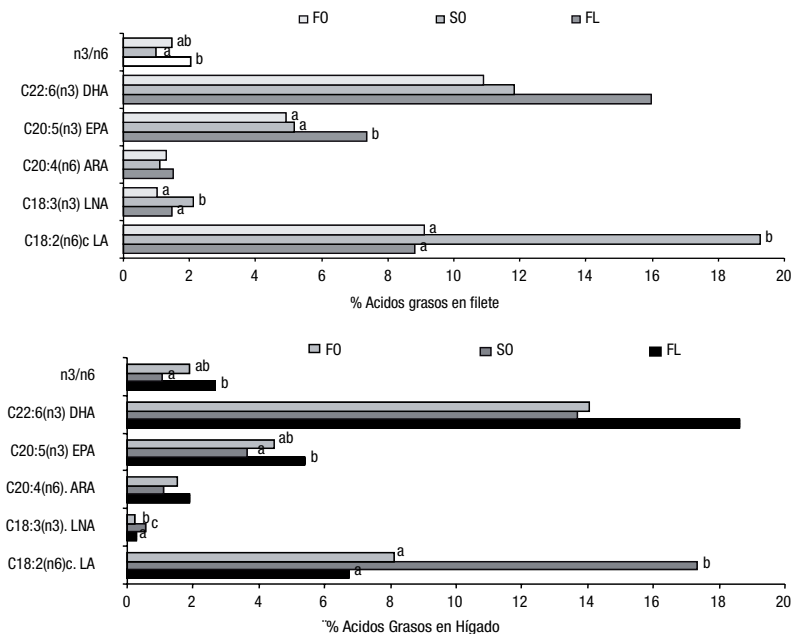


Figura 1. Datos del análisis sensorial de filetes de *D. puntazzo* alimentados con FO, SO y LF

Test triangular	FO vs SO	FO vs LF	
Proporción de aciertos ^x	13.59%	10.76%	
Valores Colorimetricos (CIELAB)	FO	SO	FL
L *	56.44±0.57	56.57±0.72	56.39±0.72
a *	0.82±0.21	1.44±0.27	3.15±0.27
b *	2.69±0.34	3.29±0.43	3.15±0.43
Peso del filete en fresco (g)	34.62±2.09	30.05±2.65	33.40±2.65
Perdida por cocción (g)	2.06±0.18	2.15±0.22	2.45±0.22
RF (%) ^y	13.65±0.89	13.16±1.13	14.73±1.13

^x Test triangular $P_{max} = 1.5\sqrt{c/n(1-c/n)}$. (99% de confianza) (Meilgaard *et al.*, 1999) (1).

^y Rendimiento del filete (RF) = $100 \times \text{peso del filete} / \text{peso total} - 1$ (2).

Bibilografía

Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. 1999. Sensory Evaluation Techniques (3er Ed.) CRC Press, Boca Raton - London - New York - Washington, D.C. 387 pp.

O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., & Gaskins, C.T. 2007. A direct method for fatty acids methylester síntesis: Application to wet meat tissue, oil and feedstuffs. *Journal of Animal Science* 85: 1511 – 1521.

Efecto de la sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de soja en juveniles de sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) en el perfil de ácidos grasos esenciales del hígado y del filete

S. Nogales, A. Tomás, S. Martínez, J. Velazco y M. Jover

Instituto de Ciencia Animal y Tecnología. Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46071- Valencia (España). atomasv@dca.upv.es. Tel: 96-3879385; Fax 96-3877439

Abstract

Juvenile Sharpnose sea bream, with initial weight of 35 g, were fed, during 84 days, with 4 experimental diets with partial substitution of fish oil by soybean oil (0, 25, 50 and 75%). The partial substitution did not alter any parameter of juvenile Sharpnose sea bream' body composition, although in fatty acids profile, there was observed statistical differences in almost all essential fatty acids (LA, LNA, ARA, DHA and EPA) in liver and fillet. This fact indicated that, even though *Diplodus puntazzo* is omnivorous specie, the requirement of essential fatty acids should be filled in order to maintain the fillet quality. Analysing DHA and EPA fatty acids, 25% of soybean oil substitution would be the maximum in order to not alter these essential fatty acids not only for fish health but also for human consumption.

Justificación

De acuerdo con Shearer (2001) el perfil de ácidos grasos de los peces refleja el perfil de la dieta que se les suministran, lo cual podría modificar las cualidades organolépticas de la carne de los peces y a su vez el contenido de lípidos a nivel corporal. *Diplodus puntazzo* es una especie promisoría para la cría en piscifactorías por ser omnívora y de crecimiento similar a la dorada, además de comercializarse ya en Italia y Grecia. Por ello, el objetivo de este trabajo fue el sustituir parcialmente el aceite de pescado por un 0, 25, 50 y 75% de aceite de soja, determinando los ácidos grasos esenciales presentes a nivel del filete e hígado de los peces experimentales.

Material y Métodos

Se emplearon 120 sargos picudos de 35 g. Los peces fueron alimentados con piensos experimentales a los cuales se les sustituyó un 0, 25, 50 y 75% el aceite de pescado por aceite de soja. Después de 84 días se analizaron 5 animales (peso promedio final de 105 g) por tratamiento para determinar el perfil de ácidos grasos en forma porcentual tanto del hígado como filete, además de la composición corporal inicial y final.

Los ácidos grasos fueron metilados siguiendo la metodología modificada de O'Fallon *et al.* (2007) y analizados por cromatógrafo de gases. Todos los datos fueron analizados empleando el programa estadístico Statgraphics, utilizando el ANOVA simple para observar si hubo diferencias estadísticas entre tratamientos.

Resultados y Discusión

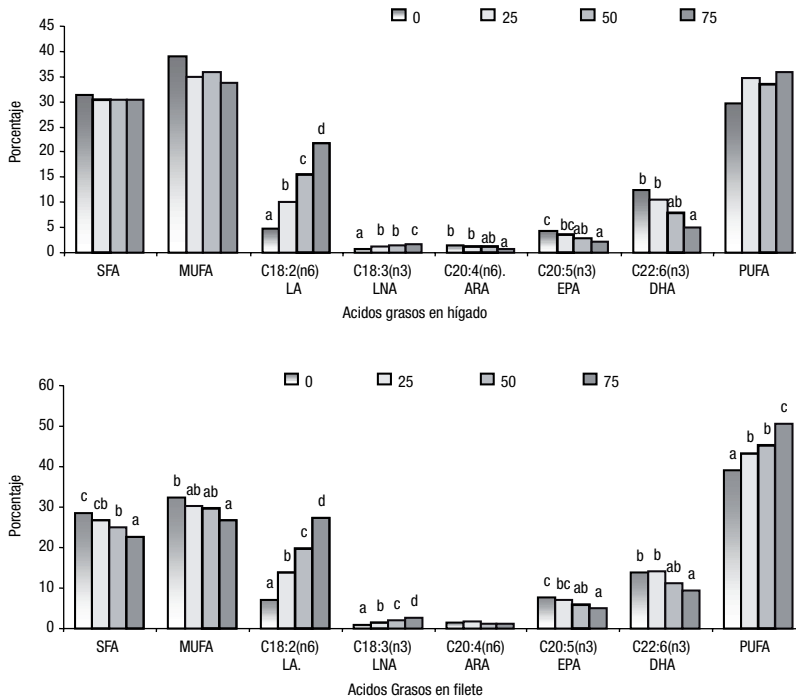
En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de la composición corporal del sargo picudo alimentado con los cuatro piensos experimentales. Podemos observar que no se obtuvieron diferencias en la composición de la carne al final de la prueba.

La sustitución parcial del aceite de pescado por aceite de soja afectó el perfil de ácidos grasos, mayoritariamente a nivel del filete, como se observa en la Fig. 1, disminuyendo el contenido de SAF y MUFA, EPA y DHA a medida que incrementaba la sustitución y aumentando el porcentaje de LA, LNA y PUFA a medida que se hacía mayor la sustitución, esto debido al mayor contenido de LA y LNA del aceite de soja en relación al aceite de pescado, coincidiendo con los resultados reportados por Piedecausa *et al.* (2007).

Tabla 1. Composición corporal del sargo picudo al inicio y al final del experimento

	Inicial	0%	25%	50%	75%	E.E.
Humedad	70.52	63.56	64.53	63.91	63.10	0.52
Proteína Bruta	15.83	16.99	16.60	16.94	16.87	0.31
Grasa Bruta	9.54	14.53	14.87	14.89	15.80	0.56
Cenizas	4.10	3.92	4.08	3.97	4.06	0.15

Figura 1. Muestras porcentuales en hígado (arriba) y filete (abajo) de sargo picudo. Ácidos grasos saturados (SAF); AG monoinsaturados (MUFA); AG poliinsaturados (PUFA); Acido linoleico (LA); Acido Linolenico (LNA); Acido Araquidónico (ARA); Acido eicosopentanoico (EPA); Acido Docohexanoico (DHA)



En el hígado se observó la misma tendencia que en el filete en los siguientes ácidos grasos: LA, LNA, DHA, EPA y ARA, similares resultados reportaron Almáida-Pagan *et al.* (2007), mostrando que a pesar de ser una especie omnívora, el sargo picudo sigue manteniendo las necesidades de los peces marinos por el requerimiento de DHA y EPA que son ácidos grasos esenciales para estas especies.

Bibliografía

- Almáida-Pagan, P.F., Hernández, M.D., García García, B., Madrid, J.A., De Costa, J. & Mendiola, P. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oil on n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids desaturation and elongation in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) hepatocytes and enterocytes. *Aquaculture*, 272: 589 – 598.
- O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., & Gaskins, C.T. 2007. A direct method for fatty acids methyl ester synthesis: Application to wet meat tissue, oil and feedstuffs. *Journal of Animal Science* 85: 1511 – 1521.
- Piedraza, M.A., Mazón, M.K., García, B., Hernández, M.D. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture* 263: 211-219.
- Shearer, K.D. 2001. The effect of Diet Composition and Feeding Regime on the Proximate Composition of Farmed Fishes. En: *Farmed Fish Quality*. S.C. Kestin & P.D. Warris (Eds). Bristol, UK. 430 pp.

Estado Nutricional de reproductores de *Solea senegalensis*

F. Norambuena, A. Estevez, I. Carazo y N. Duncan

IRTA San Carlos de la Rápita, Crta. Poble Nou Km 5.5, 43540 San Carlos de la Rápita, Tarragona.
Email: neil.duncan@irta.cat

Abstract

Wild Senegal sole fish kept in captivity are able to spawn and produce good quality fertilized eggs; however this is not possible in fish born in captivity (F1). Studies coordinated by IRTA have indicated that problems exist with the reproductive behaviour in culture F1 broodstock. Sole broodstock nutrition is one of the least studied aspects being important to determine the nutritional state of the fish. Twenty two wild fish and 25 F1 fish were sacrificed during spawning season and samples of muscle, liver and gonads were collected. Proximal analysis and fatty acids composition was carried out. Lipids were significantly accumulated in cultured fish compare to wild ones, the opposite occurred for protein. Fatty acid composition showed that arachidonic acid (ARA, 20:4n-6) was significantly accumulated in wild fish compared to F1 group whereas eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-6) accumulated significantly in the latter. These differences might be interfering in the prostaglandin activity, since high ratios of EPA/ARA could be triggering low prostaglandin production.

Justificación

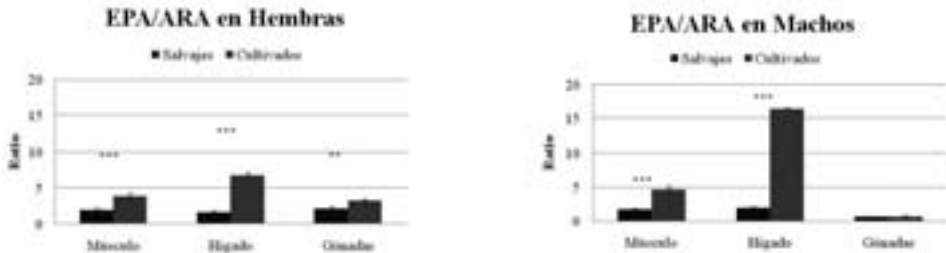
Solea senegalensis es una especie de gran interés para la acuicultura, con precios que van entre 8 y 19 €/Kg. Sin embargo la reproducción en peces cultivados no está resuelta. Peces salvajes mantenidos en cautividad son capaces de producir huevos fertilizados viables para su cultivo, no se obtienen los mismos resultados en peces que han nacido en cautividad (F1). Estos problemas en la reproducción podrían estar relacionados con la estableción de los peces y/o factores fisiológicos que afectarían al cortejo y sincronización en los desoves (Sorensen and Stacey, 2004). Estudios en IRTA y el IEO Santander indican que existen problemas en el comportamiento reproductivo en los peces F1, en tanto no existe mucha información de la calidad nutricional de los reproductores. De acuerdo a estudios previos, el esfuerzo reproductivo está condicionado por la correcta alimentación y nutrición de los reproductores (Izquierdo *et al.*, 2001; Mazorra *et al.*, 2003). El objetivo de este trabajo es evaluar y comparar la composición bioquímica (proteínas, carbohidratos, lípidos y cenizas) y los perfiles de ácidos grasos en tejidos de reproductores salvajes y de cultivo (hígados, gónadas y músculo).

Material y Métodos

Se utilizaron 22 peces salvajes (12 machos y 10 hembras, capturados en el Delta Ebro) y 25 peces cultivados en IRTA (13 machos y 12 hembras), con un peso promedio de 483 ± 287 g, sacrificados en época reproductiva durante los años 2007 y 2008. Los F1 fueron alimentados con pienso comercial y poliquetos, calamar y mejillón (0.6% peso corporal/diario). Se colectaron tejidos para bioquímica (músculo, hígado y gónada) almacenados a -80° C hasta su análisis. Se realizaron análisis de lípidos (Folch *et al.*, 1957), proteínas (Lowry *et al.*, 1951), carbohidratos (Dubois *et al.*, 1956) y ácidos grasos tras metilación (Christie, 1982) y posterior extracción y purificación para su análisis por cromatografía de gases.

Resultados y discusión

Las diferencias más significativas se observaron en el contenido de lípidos. En los hígados de hembras cultivadas se encontró un 55% lípido en peso seco (P.S), en el caso de las hembras salvajes este valor fue de 18.7% (P.S) ($p < 0.01$). Situación similar ocurrió en los hígados de los machos, 52.3% y 20.9% respectivamente ($p < 0.01$). En las gónadas las diferencias más significativas se observaron en los ovarios, donde las hembras cultivadas mostraron un alta acumulación de lípidos (20%) comparado con los ovarios de peces salvajes (12.9%). El contenido en proteína del hígado también mostró diferencias significativas entre los grupos salvajes y cultivados. Machos salvajes (46.3%) y hembras (33.3%) mostraron valores más altos comparados con machos (24.7%) y hembras (33.3%) cultivadas. Los carbohidratos mostraron tendencia acumulativa en los peces cultivados aunque no significativas ($p > 0.05$). El perfil de ácidos grasos mostró diferencias significativas entre los grupos salvajes y cultivados, especialmente en la concentración de ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6) y eicosapentanoico (EPA, 20:5n-6). La concentración de ARA fue significativamente más baja en peces cultivados ($p < 0.05$). Esto se observó en músculo, hígado y testículo. Además ARA tiende a acumularse especialmente en los machos. Las concentraciones más altas se observaron en testículos de peces salvajes (7.8% del total de ácidos grasos, TAG). En el hígado de peces salvajes fue del 3.2% en machos y 2.5% en hembras mientras que en peces cultivados del 0.7% y 1.0%

Figura 1. Ratios de EPA/ARA en tejidos de peces salvajes y cultivados

respectivamente ($p < 0.01$). El ácido eicosapentanoico mostró una acumulación significativa en los hígados de hembras cultivadas (7.5%) comparados con las salvajes (3.8%) ($p < 0.01$), similar tendencia se observó en machos. La concentración de EPA en músculo y testículo de machos fue significativamente más alta en peces salvajes ($p < 0.05$). De esta forma, los ratio de EPA/ARA fueron significativamente más altos en hígado, músculo y ovarios en peces cultivados (Fig. 1) lo que podría estar interfiriendo en la producción de prostaglandinas de alta intensidad, produciéndose interferencias en la sincronización de los desoves (Tocher, 2003).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por JACUMAR Plan Nacional Cultivo del Lenguado e INIA proyecto: RTA2005-00113-00-00, además ha sido posible, gracias a la beca pre-doctoral (FI) proporcionada por AGAUR (Cataluña). Se agradece la ayuda prestada por N. Gras y M. Sastre en la realización de los análisis bioquímicos.

Bibliografía

- Christie, W.W., 1982. *Lipid Analysis*, Pergamon, Oxford, UK, p. 207.
- Folch, J.M., Lees, M., Sloane Standley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.T., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folinphenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Mazorra, c., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J.F., Papanikos, N., Porter, M., Bromage, N., 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 227, 21-33.
- Sorensen, P.W., Stacey, N.E., 2004. Brief review of fish pheromones and discussion of their possible uses in the control of non-indigenous teleost fishes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 38, 399-417.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11, 107-184.

Efecto de diferentes esquemas de alimentación sobre crecimiento y supervivencia de larvas de Bonito Atlántico, *Sarda sarda*

A. Ortega, F. de la Gándara

Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía (IEO), Ctra. de la Azohía s/n, 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia) e-mail: aurelio.ortega@mu.ieo.es

Abstract

The Atlantic Bonito larvae, *Sarda sarda*, are able to feed on sea bream larvae (*Sparus aurata*) from an early age (9 days post hatching), showing from the beginning a better growth and survival rate than those that continue feeding on Artemia. When this larvae are submitted to discontinuous photoperiod of 16L:08D instead of a continuous photoperiod of 24L:00D, survival rates improve while growth rates remain unchanged..

Justificación

Las larvas de escómbridos en general y de bonito en particular presentan un marcado carácter piscívoro. De hecho, los primeros dientes se les pueden observar cuando tan solo tienen 6 DDE (días después de la eclosión). Algunas experiencias previas (Ortega y de la Gándara, 2007) han demostrado que la supervivencia larvaria mejora sensiblemente cuando se les adiciona larvas de otras especies, recién eclosionadas. Este trabajo pretende demostrar desde qué momento son capaces de alimentarse de larvas de dorada (*Sparus aurata*) recién eclosionadas y si esto se traduce en unos mejores resultados de cultivo.

Material y Métodos

El cultivo larvario se realizó en un tanque de 5000 litros (3 m de diámetro y 0,9 m de altura) dotado de limpiadores de superficie y aireación central. La renovación fue continua desde el primer día, con la entrada de agua por el fondo del tanque. La temperatura de cultivo osciló entre 19 y 20 °C, el fotoperiodo fue de 24 horas de luz y la intensidad luminosa de unos 500 lux en el centro del tanque. La alimentación consistió en rotíferos enriquecidos con DHA Selco a partir del día 2 y nauplios de Artemia desde el día 7 (DDE). También se añadió al tanque fitoplacton, *Nannochloropsis gaditana*. Para realizar la experiencia, un total de 600 larvas fueron sacadas del tanque el día 8 DDE y colocadas en 12 tanques de 150 litros de volumen a razón de 50 larvas por tanque. A cuatro de estos tanques se les ofreció larvas de dorada recién eclosionadas, a partir del DDE 9, a otros cuatro tanques a partir del día 12 y a los otros cuatro a partir del día 15. Además, todos los tanques fueron alimentados con rotífero y Artemia durante toda la experiencia. Dos tanques de cada tratamiento fueron expuestos a un fotoperiodo continuo de 24 horas de luz, y los otros dos a un fotoperiodo discontinuo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Las larvas fueron muestreadas cada dos días, y finalmente el DDE 16 fueron extraídas, contadas y medidas en su totalidad.

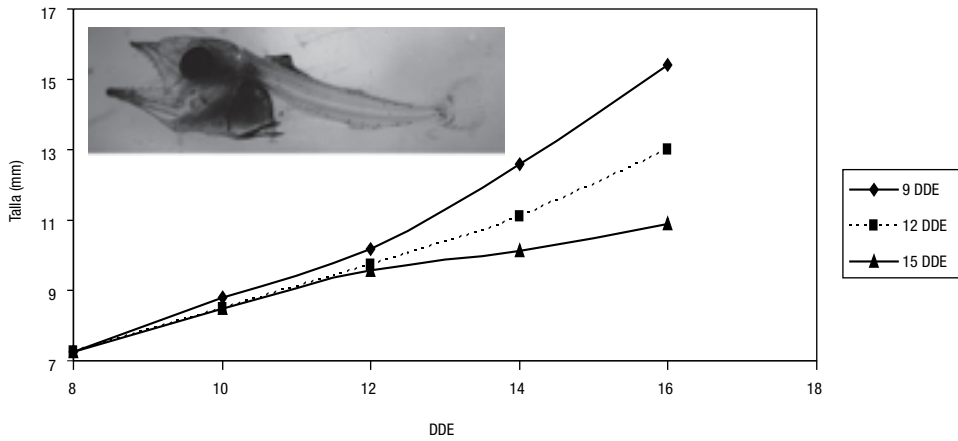
Resultados y Discusión

Los mejores resultados en cuanto a crecimiento y supervivencia fueron obtenidos en el lote de bonitos alimentados con larvas de dorada desde el principio (Figura 1 y Tabla 1), lo que indica que las larvas de bonito son capaces de alimentarse de larva de dorada tan pronto como DDE 9-10. Estas diferencias comienzan a hacerse patentes tan pronto como comienza la alimentación con larvas de dorada.

Tabla 1. Resultados de crecimiento y supervivencia de larvas de bonito según el DDE (días después de la eclosión) en que empezaron a añadirse larvas de dorada recién eclosionadas. Para evitar la distorsión ocasionada por la manipulación y transporte de las larvas, la supervivencia fue calculada a partir del segundo día (DE: Desviación estándar)

DDE	Longitud final (mm)		Supervivencia (%)	
	Media	DE	Media	DE
9	15,42	0,95	34,35	9,70
12	12,98	0,50	27,01	3,84
15	10,87	0,57	19,84	9,81

Figura 1. Crecimiento de larvas de bonito según el DDE en que empezaron a añadirse larvas de dorada recién eclosionadas. En la foto, larva de bonito 15 DDE



En cuanto al fotoperiodo, los resultados obtenidos en términos de crecimiento son similares: las larvas mantenidas a fotoperiodo discontinuo alcanzaron una talla final de 13,37mm (DE 2,21) mientras que las mantenidas en condiciones de iluminación continua alcanzaron 12,81 mm (DE 2,33). Sin embargo, si se observan diferencias en cuanto a supervivencia: las larvas de bonito tuvieron una supervivencia media del 31,79 % (DE 5,39) con el fotoperiodo discontinuo y del 22,35% (DE 9,80) con el fotoperiodo continuo. Parece existir una interacción entre el día de suministro de las larvas de dorada y las horas de luz: los fotoperiodos discontinuos atenúan las diferencias de supervivencia ocasionadas por la edad de inicio de suministro de las larvas (38.0% de supervivencia en los grupos alimentados con larvas desde el día 9 y 28.1% en los grupos alimentados desde el día 15 para fotoperiodos discontinuos ante un 30.7% y 11.6% respectivamente en fotoperiodos continuos), pero son necesarios mas experimentos para confirmarlo.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a Elena Martínez, Nuria Alcaraz y Montse Peñafiel por su apoyo técnico. Este trabajo ha sido llevado a cabo con el soporte financiero del 7º Programa Marco de la Unión Europea, «Food, Agriculture, Fisheries and Biotechnology» del Proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). No refleja necesariamente el punto de vista de la Comisión Europea, ni anticipa de ninguna manera su futura política en este área.

Bibliografía

Ortega, A. y F. de la Gándara. 2007. Desarrollo embrionario y crecimiento larvario de bonito atlántico (*Sarda sarda*) nacido en cautividad. En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*, Vigo, 815 - 818.

Efecto de los misidáceos en la calidad de la puesta en el caballito de mar, *Hippocampus hippocampus* (Linnaeus, 1758)

F. Otero¹, L. Molina¹, J. Socorro¹, R. Herrera², H. Fernández-Palacios¹ y M. Izquierdo¹

¹ Grupo de investigación en Acuicultura (ICCM & IUSA) Apdo. 56, 35200 Telde (Las Palmas).
Tfno: 928 132900; Fax: 928 132908. e mail: francesco_25@hotmail.com

² Dirección General de Ordenación del Territorio. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación Territorial.
Edif. Usos Múltiples II. Prof. Millares Carlo, 18, 35003. Las Palmas de Gran Canaria

Abstract

The importance of a suitable feeding in reproduction and spawning quality of teleost fish has been recognized as one of the major «bottlenecks» in new aquaculture species like seahorses. Mysidacea species has been described as one of the main food for temperate seahorse species (*Hippocampus hippocampus* and *H. guttulatus*) in the wild. On the other hand, *Artemia* has been employed usually as marine food for rearing fish, including seahorses. The aim of this work is to study the effect of two different live preys (*Artemia* vs *Mysis*) in spawning quality of *H. hippocampus* broodstock. The animals were fed two times per day, six times per week. Spawning episodes and larvae quality was recorded. Seahorse fed on *mysis* showed significantly better results ($p < 0.05$) than *Artemia* treatment, regarding spawning events, number of offspring's and size. This fact showed the high potential of *mysis* as live prey for seahorses or other ornamental species.

Justificación

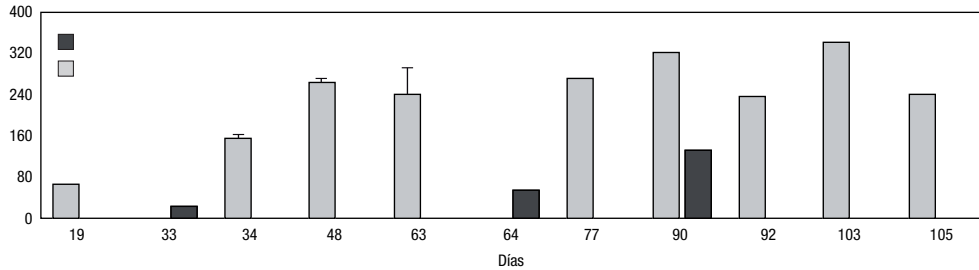
La importancia de una alimentación adecuada en la reproducción de los teleósteos, se manifiesta directamente en la calidad de la puesta (Luquet y Watanabe, 1986), siendo uno de los principales «cuellos de botella» en la mejora de la eficiencia y rentabilidad de los cultivos de nuevas especies como el caballito de mar (Lin *et al.*, 2006). Sin embargo, son pocos los estudios publicados acerca de los hábitos alimenticios de este grupo de singnátidos. Los misidáceos han sido descritos como parte de la dieta natural de las especies distribuidas en el litoral español, *Hippocampus guttulatus* e *H. hippocampus* (Kitsos *et al.*, 2008). Paralelamente, la *Artemia* adulta ha sido tradicionalmente empleada como alimento en el cultivo de diferentes especies de caballitos (Woods y Valentino, 2003). El presente trabajo analiza el efecto de misidáceos y *Artemia*, como alimento de reproductores de caballito de mar (*H. hippocampus*) en la calidad de la puesta.

Material y Métodos

Seis parejas de reproductores de caballitos de mar (*H. hippocampus*) nacidos en cautividad ($LS = 84,5 \pm 0,4$ mm, peso húmedo = $1,60 \pm 0,22$ g), fueron distribuidos en 6 acuarios de 90 l (2 triplicados por tratamiento) con aireación (125 ml/min) en circuito semicerrado con agua de mar filtrada y esterilizada (22°C $6,5-7$ mg/l O_2). Se estableció un fotoperíodo controlado (10 h luz). Dos protocolos experimentales de alimentación fueron aplicados. En el primero (tratamiento A), los caballitos se alimentaron con *Artemia* adulta ($3,80 \pm 1,1$ mm) enriquecida con Selco® (Easy -DHA) (200 ind/toma/pareja). En el segundo (tratamiento M), los reproductores se alimentaron con misidáceo salvaje (*Leptomysis* sp) ($6,52 \pm 0,8$ mm) recogido semanalmente y alimentado diariamente con nauplios de *Artemia* (1 metanauplio/ml), enriquecida con Selco® (Easy -DHA) 15 minutos antes de ser suministrados a los reproductores (50 *mysis*/toma/pareja). Las presas vivas se administraron en dos tomas diarias (9h y 14h), seis días a la semana, previa limpieza del fondo del tanque. Durante 108 días se registraron los episodios de puesta, número de crías, talla y peso (húmedo y seco), siguiendo el protocolo aplicado por Otero *et al.*, 2008. Se midió también la talla (Lourie *et al.*, 2004) y peso de los reproductores al final del experimento y se calculó la tasa específica de crecimiento (SGR%). Los datos fueron tratados mediante el paquete estadístico SPSS V.13.

Resultados y Discusión

Durante el experimento se obtuvieron 15 puestas (Fig. 1). En las crías de los caballitos del tratamiento A aparecieron animales prematuros con saco vitelino en dos de las 3 puestas. El número medio de crías por pareja en el tratamiento M ($233,33 \pm 78,98$ crías/puesta) fue significativamente mayor ($Z = -2,454$, $p < 0,05$) a los resultados obtenidos en el tratamiento A ($70,33 \pm 55,49$ crías/puesta). En cuanto al tamaño de las crías, los animales pertenecientes al tratamiento M presentaron medidas de longitud estándar ($10,61 \pm 0,64$ mm,) significativamente ($Z = -2,258$, $p < 0,05$) mayores que el tratamiento A ($8,75 \pm 1,32$ mm). En cuanto a los reproductores no existieron diferencias significativas entre los SGR de los animales alimentados con *Artemia* o misidáceos.

Figura 1. Promedio de puestas de ambos tratamientos (Artemia y misidáceos) por día

Los buenos resultados obtenidos mediante el uso del misidáceo como alimento potencial para reproductores de la especie *H. hippocampus*, corroboran los datos obtenidos por otros autores con otras especies de caballitos (Woods y Valentino, 2003) y muestran el interés de su cultivo integral en cautividad como presa viva.

Agradecimientos

Agradecemos a la Consejería de Medioambiente del Gobierno de Canarias y al Ministerio de Educación y Ciencia por la financiación del proyecto (CGL-2005-05927-C03-02).

Bibliografía

- Lin Q., Y. Gao, J. Sheng, Q. Chen, B. Zhang, J. Lu. 2006. The effects of food and the sum of effective temperature on the embryonic development of the seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture* 262, (1,2): 481-492.
- Lourie, S.A., Foster S., Cooper E.W.T., y Vincent A.C.J. 2004. *A guide to the identification of seahorses*. CITES/WWF North America. 118pp
- Luquet, P., y Watanabe, T. 1986. Interaction «nutrition-reproduction» in fish. *Fish Physiol. Biochem.*, 2(1-4): 121-129.
- Kitsos, M.-S., Tzomos, Th, Anagnostopoulou, L. Y Koukouras, A. 2008. Diet composition of the seahorses, *Hippocampus guttulatus* (Cuvier, 1829) and *Hippocampus hippocampus* (L., 1758) (Teleostei, Syngnathidae) in the Aegean Sea. *Journal of Fish Biology*. 72: 1259–1267
- Otero Ferrer F., Molina L., Socorro J., Herrera R., Fernández-Palacios H. y Izquierdo M. 2008. Effects of first feeding on survival and growth of Short-snouted seahorse juveniles, *Hippocampus hippocampus* (Linnaeus, 1758). En *Actas del Congreso Internacional Marine Ornamentals* (Orlando-EEUU).
- Woods, C.M.C. y Valentino, F. 2003. Frozen mysids as an alternative to live Artemia in culturing seahorses *Hippocampus abdominalis*. *Aquacult. Res.* 34:757-763.

Influencia de una dieta artificial suplementada con arginina sobre el crecimiento, la eficacia alimentaria y la composición corporal en el pulpo común (*Octopus vulgaris*)

S. Pérez Pacheco, A. Cocco, J. Cerezo Valverde y B. García García

IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Puerto de San Pedro del Pinatar, Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. E-mail: jesus.cerezo@carm.es

Abstract

We compared growth, feed efficiency and proximate composition of *Octopus vulgaris* fed formulated moist diets containing three levels of arginin: zero supplementation (ARG-0%), 1% (ARG-1%) and 3% (ARG-3%). The animals accepted all three diets and showed significant growth and 100 % survival. The relative feeding rates for the three groups (ARG-0%, ARG-1% and ARG 3%) were: 2.07 ± 0.32 , 2.11 ± 0.42 and 2.55 ± 0.43 % BW/day ($P > 0.05$), with specific growth rates of 0.31 ± 0.17 , 0.37 ± 0.15 and 0.39 ± 0.18 % BW/day ($p > 0.05$). The productive value of the protein was higher in ARG-0% (32.84 ± 10.30 %) and ARG-1% (30.85 ± 0.53 %) than in ARG-3% (15.95 ± 8.51 %) ($P < 0.05$), probable because the greater amount of protein ingested by the last group was used for energetic purposes. Arginin supplementation did not cause significant changes in the moisture or protein content, but was related with higher lipid levels in the digestive gland and nitrogen-free extractable material in the carcass.

Justificación

Recientemente varios grupos de investigación han obtenido formatos de pienso aceptados por el pulpo con resultados prometedores (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008). Debido al metabolismo preferentemente proteico de los cefalópodos, un punto de partida interesante sería la incorporación de aminoácidos esenciales puros a dichos piensos. Según resultados de Villanueva *et al.* (2004), Rosa *et al.* (2004) y del Plan Nacional «Optimización del engorde de pulpo» de JACUMAR (2007-2009), se ha puesto en evidencia la importancia de aminoácidos esenciales como la arginina, leucina y lisina, representando el primero de ellos el aminoácido limitante en las dietas naturales. El objetivo de este estudio es determinar la influencia de los piensos húmedos suplementados con arginina sobre el aprovechamiento nutritivo, crecimiento y composición corporal del pulpo de roca.

Material y Métodos

Se suministraron tres piensos (pellets cúbicos de 3 cm de lado) con diferentes grados de suplementación en arginina en forma cristalina (Tabla 1) a tres grupos experimentales durante 45 días: ARG-0% (N =4; 755 ± 88 g), ARG-1% (N =6; 756 ± 163 g) y ARG-3% (N=6; 739 ± 120 g). Los animales se mantuvieron individualmente en tanques circulares de 216 l y en un sistema de recirculación de agua con control de la temperatura ($18,2 \pm 0,6$ °C) y se alimentaron a saciedad 6 días a la semana. Al final del experimento los animales se pesaron y se realizó un análisis bioquímico de composición corporal (humedad, proteína, grasa y cenizas).

Resultados y Discusión

La dieta suplementada con arginina produjo mejores crecimientos que la dieta que no incorpora el aminoácido, aunque las diferencias entre los grupos no fueron significativas (tabla 2). El contenido en proteína de los piensos aumentó y el de material extraíble libre de nitrógeno disminuyó conforme lo hizo

Tabla 1. Composición porcentual de los ingredientes empleados en la formulación de los piensos

Pienso	Papilla Alg.*	Disol. Ca+2 **	Boga	Langostino	Arginina	Colesterol	Total (g)
ARG-0 %	34.00	10.00	45.00	10.00	0.00	1.00	100.00
ARG-1 %	33.00	10.00	45.00	10.00	1.00	1.00	100.00
ARG-3 %	31.00	10.00	45.00	10.00	3.00	1.00	100.00

* Papilla de Alginato: 65 g de POKEL MERL en 1 l de agua destilada (2,1, 2,0 y 1,9% de POKEL MERL por cada 100 g en los piensos ARG-0, ARG-1 y ARG-3). **Disolución de Calcio: 100 g de POKEL CALS en 1 l de agua destilada para los piensos ARG-0 y ARG-1, y 200 g/l para el pienso ARG-3 (0,9, 0,9 y 1,7% de POKEL CALS por cada 100g en los piensos ARG-0, ARG-1 y ARG-3).

Tabla 2. Resumen de los parámetros calculados en los tres grupos experimentales

	ARG-0	ARG-1	ARG-3	ANOVA
Pi (g)	756±163	755±89	739±121	ns
Pf (g)	874±228	892±74	877±113	ns
IP (g)	118±85	136±47	138±61	ns
TAA (g/día)	16,79±4,51	17,20±2,91	20,30±2,61	ns
TAAP (g/día)	1,96±0,52 ^a	2,42±0,41 ^a	3,62±0,47 ^b	(*)
TAAL (g/día)	0,73±0,20 ^a	1,10±0,19 ^b	1,07±0,14 ^b	(*)
TAR (%P/día)	2,07±0,32	2,11±0,42	2,55±0,43	ns
TCA (g/día)	2,62±1,89	3,02±1,04	3,08±1,35	ns
TEC (%P/día)	0,31±1,17	0,37±0,15	0,39±0,18	ns
IEA (%)	14,37±7,05	17,23±3,55	14,89±6,44	ns
IC	9,26±6,69	5,98±1,05	9,31±7,85	ns
PPV (%)	32,84±10,30 ^a	30,85±8,36 ^a	15,95±8,51 ^b	(*)
LPV (%)	5,63±6,07	5,43±1,36	3,93±4,45	ns
DGI (%)	2,62±0,89	3,30±0,53	3,04±0,55	ns

Pi = peso medio inicial; Pf = peso medio final; IP = incremento de peso; TAA = Tasa de Alimentación Absoluta; TAR = Tasa de Alimentación Relativa; TAAP = Tasa Absoluta de Alimentación de Proteína; TAAL = Tasa Absoluta de Alimentación de Lípidos; TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC = Tasa Específica de Crecimiento; IEA = Índice de Eficacia Alimentaria; IC = Índice de Conversión; PPV = Valor Productivo de la Proteína; LPV = Valor Productivo de la Grasa; P/E = relación energía/proteína; DGI = Índice de la glándula digestiva.

el grado de suplementación. Esto se tradujo en unas mayores TAAP en los piensos ARG-1 y ARG-3, aunque no se refleja en un mejor aprovechamiento de la dieta, con valores de PPV en el grupo ARG-3 significativamente menores respecto de los otros grupos. Los resultados sugieren que la arginina adicionada como aminoácido libre no es aprovechada por los pulpos para crecer, sino que la utilizarían más con fines energéticos, desempeñando un papel ahorrador sobre el resto de proteína ingerida.

La suplementación con arginina no provocó cambios significativos en la humedad o contenido en proteína, pero se relacionó con mayores niveles de lípidos en la glándula digestiva, así como de material extraíble libre de nitrógeno en la carcasa, y sugiriendo una influencia sobre los procesos metabólicos de los animales que podrían ser objeto de estudio en futuras investigaciones.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- Cerezo Valverde, J., M.D. Hernández, F. Aguado-Giménez y B. García García. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273.
- Quintana, D., P. M. Domínguez y S. García. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280: 161–164.

Balance redox en músculo blanco, corazón y eritrocitos de dentones (*Dentex dentex*) sometidos a ayuno y posterior realimentación

A. Pérez-Jiménez^{1*}, A. E. Morales¹, M. C. Hidalgo¹, A. García-Alcázar²,
E. Abellán² y G. Cardenete¹

¹ Dpto. Biología Animal, Univ. Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada, España

² IEO, Centro Oceanográfico de Murcia, Carretera de la Azohía s/n, Puerto de Mazarrón, Murcia, España

* email: calaya@ugr.es

Abstract

The aim of this work was to evaluate the effects of starvation and refeeding on antioxidant status in white muscle, heart and erythrocytes of dentex. Food deprivation (5 weeks) did not induce changes in white muscle antioxidant status. Heart of starved dentex showed decreased GPX and GR activities whereas CAT increased. A possible accumulation of H₂O₂ could have induced a decrease in SOD activity and overall to produce an increase in heart lipid peroxidation. All antioxidant enzymes, except GR, reduced their activity in erythrocytes of starved dentex but no oxidative damage was observed. Although SOD and CAT in cardiac tissue maintained the starvation effects after refeeding (3 weeks), in general, this period induced an increase in the enzymatic antioxidant defenses of white muscle and erythrocytes of refeeding fish regarding its control group. This fact could have been produced by an increased aerobic metabolic activity as it has been indicated in previous studies.

Justificación

Los peces, en general, se enfrentan a periodos de ayuno que forman parte de su ciclo de vida natural, o bien pueden ser debidos a procedimientos de rutina en la acuicultura. Estos acontecimientos implican reajustes metabólicos entre los que se encuentran cambios en la respuesta antioxidante del animal inducidos por cambios en la generación de agentes oxidantes como consecuencia de la alteración del metabolismo oxidativo. En general, una vez finalizado el periodo de ayuno, los peces realimentados suelen recuperar su estado fisiológico normal. Conocer el modo en que cada especie es capaz de superar estas situaciones es un importante reto para la investigación en acuicultura, ya que ayudaría a prevenir los posibles daños en la salud y bienestar de los peces y permitiría optimizar la producción.

Material y Métodos

Se distribuyeron al azar 64 ejemplares de *Dentex dentex* (323.9±2.1 g) en 4 lotes que fueron alojados en tanques cilíndricos de 1000 litros, abastecidos con agua de mar (37 ‰ de salinidad) con un flujo continuo de 30 l min⁻¹. El fotoperiodo fue 12L:12D, Tª 25±2 °C y O₂ disuelto > 88% saturación. La duración fue de 8 semanas divididas en dos fases: ayuno (5 semanas) durante el cual dos lotes fueron alimentados manualmente tres veces/día hasta saciedad aparente (C_A), mientras que los otros dos lotes estuvieron en ayuno (A); y realimentación (3 semanas) donde los animales control continuaron con la misma pauta de alimentación que en la fase anterior (C_R), y los animales en ayuno comenzaron a recibir alimento (R). Para la alimentación se usó una dieta comercial para dorada. Al final de cada fase se muestrearon cuatro peces por tanque, extrayendo muestras de sangre, corazón y músculo blanco para determinar la actividad de los enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR), así como el nivel de peroxidación lipídica y el contenido en grupos carbonilo. Para la estimación del posible efecto del ayuno o la realimentación se utilizó la prueba t-Student (P<0.05).

Resultados y Discusión

En el caso del músculo blanco el ayuno no indujo cambios ni en la actividad de las enzimas antioxidantes ni en el nivel de MDA. Esta ausencia de cambios fue probablemente consecuencia de una disminución en la tasa de generación de ROS debido al descenso generalizado del metabolismo muscular observado en estudios previos. En corazón el ayuno indujo una disminución de las actividades GPX y GR, mientras que la actividad CAT aumentó, hecho que puede sorprender si consideramos que el principal papel detoxificante de H₂O₂ en el tejido cardíaco es asumido por el enzima GPX y no por la catalasa. Futuros estudios son necesarios para aclarar este resultado. A pesar del incremento en la actividad CAT, ésta podría ser insuficiente, de modo que, junto con la reducción en la actividad GPX, se podría acumular H₂O₂ en el medio, inhibiendo, al menos parcialmente, la actividad SOD, como muestra la actividad ligeramente reducida observada en el corazón de los peces en ayuno. El aumento en los niveles de MDA observados en el tejido

Tabla 1. *Actividad específica de enzimas antioxidantes e indicadores de daño oxidativo en músculo blanco, corazón y eritrocitos de dentón sometido a ayuno y posterior realimentación*

Tejido	Grupo	SOD U mg proteína ⁻¹	CAT U mg proteína ⁻¹	GPX mU mg proteína ⁻¹	GR mU mg proteína ⁻¹	Peroxidación Lipídica ¹	Grupos Carbonilo ²
Músculo blanco	CA	6.1±0.5	No detectada	87.6±9.9	1.1±0.1	27.8±1.1	
	A	7.2±0.6	—	72.8±4.6	1.3±0.1	26.8±1.8	
	CR	9.8±0.9	—	75.1±7.2	0.7±0.1	38.5±1.1	
	R	12.3±0.5*	—	89.7±3.2	1.4±0.1*	30.4±1.4*	
Corazón	CA	232±18	9.4±0.5	92.3±4.1	3.6±0.1	27.9±1.5	4.1±0.7
	A	170±24	13.2±1.2*	78.6±4.5*	2.5±0.1*	58.9±7.3*	3.1±0.4
	CR	290±23	8.8±0.4	73.9±6.7	3.7±0.2	24.5±3.2	2.9±0.4
	R	138±17*	10.3±0.3*	70.5±1.7	3.7±0.2	23.1±2.4	1.9±0.3
Eritrocitos	CA	18.0±0.3	213±30	765±29	14.7±1.4	160±4	
	A	13.7±0.5*	142±6*	650±27*	19.8±0.7*	187±11	
	CR	10.4±0.9	105±1	590±32	25.3±2.3	201±13	
	R	15.5±0.7*	200±19*	423±31*	21.0±1.21	82±8	

Los resultados son media ± E.S. (n = 8). Los asteriscos indican diferencias significativas (P<0.05) del ayuno o la realimentación respecto a su control.

¹ Peroxidación lipídica expresada en nmol MDA g tejido⁻¹.

² Grupos carbonilo en nmol C=O mg proteína⁻¹.

cardíaco estaría de acuerdo con este razonamiento. No obstante, no se observaron daños a nivel proteico. Respecto a los eritrocitos, todos los enzimas antioxidantes, a excepción de la GR, experimentaron una reducción en su actividad como consecuencia del ayuno. Este decremento coincidiría con una disminución en la actividad física y metabólica del pez además de con una reducción del índice de concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). En este sentido y considerando que los eritrocitos son uno de los lugares más importantes en la producción de radicales libres, una reducción en la actividad del pez reduciría la necesidad de transporte de moléculas y en consecuencia la producción de de agentes oxidantes y, en respuesta, la de los mecanismos de defensa antioxidante. Además, los valores de MDA en eritrocitos no revelaron ningún daño oxidativo, por lo que estos resultados avalarían esta hipótesis.

La realimentación supuso un aumento significativo en la actividad SOD, GR y, en menor medida GPX en músculo blanco de los peces realimentados. Probablemente, estos resultados son la respuesta a la recuperación metabólica de este tejido que, como han indicado estudios previos, en algunos casos fue superior a la del grupo control. El aumento en las defensas antioxidantes en los peces realimentados produjo una disminución de los niveles de peroxidación lipídica en el músculo de estos animales. Por otro lado, en corazón, los enzimas GPX y GR así como los indicadores de daño oxidativo recuperaron los niveles normales pero no los enzimas SOD y CAT. Así, tres semanas de realimentación parecen no haber sido suficientes para eliminar la posible acumulación de H₂O₂ producida durante el ayuno y, por tanto, el enzima SOD aún podría continuar inhibido, mientras que la catalasa mantiene elevada su actividad ante el exceso de H₂O₂. Finalmente, la realimentación resultó en un incremento significativo de las defensas antioxidantes SOD y CAT en eritrocitos probablemente producido por el incremento de la actividad metabólica aerobia en los peces realimentados. Este incremento en la actividad CAT parece ser suficiente para eliminar el exceso de producción de H₂O₂ sin que fuera necesaria la intervención de un segundo enzima cuyo sustrato es común, la GPX, en la cual se observó una disminución tras la realimentación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ACU03-009-C4-2 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Influencia de la fuente y nivel de carbohidratos dietarios en el metabolismo intermediario hepático y muscular de *Dentex dentex*

A. Pérez-Jiménez^{1*}, M. C. Hidalgo¹, A. E. Morales¹, E. Abellán² y G. Cardenete¹

¹ Dpto. Biología Animal, Univ. Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada, España

² IEO, Centro Oceanográfico de Murcia, Carretera de la Azohía s/n, Puerto de Mazarrón, Murcia, España

* email: calaya@ugr.es

Abstract

Effects of dietary carbohydrates on intermediary metabolism were studied in common dentex. Nine experimental isoproteic (43%) and isoenergetic (22 MJ/kg) diets containing different type (starch, dextrin and maltodextrin) and levels (24%, 18% and 12%) of carbohydrates were formulated. Results indicate that only carbohydrate types seem to influence in the glycolytic pathway observing the highest HK and PK values for starch groups both in liver and white muscle. Regarding lipid generation, the maltodextrin groups showed the lower G6PDH and EM activities in both tissues. Only in white muscle, a possible protein sparing could be justified by the lower FBPase, GOT and GPT activities observed in maltodextrin groups. In general, any relationship was observed between the main pathways of the intermediary metabolism and the carbohydrate levels.

Justificación

Aunque no se han demostrado necesidades reales de carbohidratos en peces su inclusión dietaria conlleva beneficios. Así, su empleo supondría una reducción en los costes, al igual que una mejora en las propiedades físicas del alimento. Además, un nivel adecuado de este nutriente podría minimizar el catabolismo proteico con fines energéticos o proveer intermediarios metabólicos para la síntesis de otros compuestos importantes, aumentando la retención de proteína y favoreciendo el crecimiento y la minimización de la liberación de productos nitrogenados al medio. La eficiencia en la utilización de carbohidratos por peces está condicionada por diversos factores como la complejidad, el tratamiento físico y su nivel de inclusión. Conocer como el dentón es capaz de utilizar los carbohidratos para promover un mayor ahorro proteico, sin afectar negativamente su estado fisiológico es un importante reto para optimizar la alimentación de esta especie.

Material y Métodos

Dentones de un peso medio de 9.76 ± 0.05 g fueron distribuidos al azar en 9 lotes triplicados (25 individuos/lote) y alojados en tanques de 230 l de capacidad abastecidos con agua de mar (37 ‰ de salinidad) con un flujo continuo de 6.5 l min⁻¹. El fotoperiodo fue 12L:12D, T^a 25 ± 2 °C y O₂ disuelto > 88% saturación. Se formularon 9 dietas que combinaban tres tipos (almidón pregelatinizado, Al, dextrina, Dx, y maltodextrina, Mx) y tres niveles (12%, 18% y 24%) de carbohidratos. El contenido en proteína (43%) fue constante, mientras que la proporción de lípidos varió dependiendo del contenido en carbohidratos (% L / % H.C.: 25.1/12; 22.5/18; 19.9/24) para mantener constante la energía bruta de la dieta (22 M kg⁻¹). Cada dieta se suministró a tres lotes de animales 3 veces al día hasta saciedad, durante 9 semanas. Al final del experimento, se muestrearon 9 individuos por dieta experimental (3 por lote), extrayendo muestras de hígado y músculo blanco. Se determinaron las siguientes actividades de enzimas del metabolismo intermediario: hexoquinasa (HK), piruvato quinasa (PK), fructosa 1-6, bifosfatasa (FBPase), glutamato oxalacetato transaminasa (GOT), glutamato piruvato transaminasa (GPT), glucosa 6-fosfato dehidrogenasa (G6PDH) y enzima málico (EM). La concentración de proteína soluble se determinó mediante Bradford. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de dos vías. En los casos en los que se confirmó un efecto significativo ($P < 0.05$) se aplicó el test de Tukey HSD.

Resultados y Discusión

Mientras que niveles crecientes de carbohidratos parecen inducir un incremento en la vía glucolítica a nivel hepático en distintas especies, en dentón, tan sólo la actividad HK podría asumir dicha correlación. Sin embargo, esta relación no fue mantenida para la PK, cuya actividad más elevada se observó en el nivel del 12%. No obstante, si atendemos al tipo de carbohidratos empleados, la complejidad de los mismos sí parece influir en la regulación de la vía glucolítica, siendo el almidón el que generó una mayor actividad en HK y PK tanto en hígado como en músculo blanco, frente a los valores más bajos observados para la maltodextrina.

Por otra parte, la lipogénesis también se modifica por el contenido en carbohidratos dietarios. En el caso del dentón, el empleo de una fuente carbohidratada menos compleja, como es la maltodextrina, generó,

Tabla 1. Actividad específica de enzimas del metabolismo intermediario en hígado y músculo blanco de dentón alimentado con distintos tipos y niveles de carbohidratos

Dieta	Hígado							Músculo blanco						
	HK	PK	FBP	GOT	GPT	G6PDH	EM	HK	PK	FBP	GOT	GPT	G6PDH	EM
Al ₁₂	2.1 ±0.1	16.9 ±0.9	35.1 ±2.2	570 ±37	239 ±19	41.8 ±3.5	9.7 ±0.6	0.96 ±0.09	3532 ±192	14.7 ±0.9	336 ±14	18.7 ±1.9	0.66 ±0.06	9.2 ±0.4
Al ₁₈	3.4 ±0.3	23.3 ±1.5	55.0 ±3.5	579 ±43	280 ±19	51.8 ±2.4	12.9 ±1.6	1.09 ±0.10	2832 ±134	15.7 ±0.7	464 ±33	23.4 ±1.4	0.74 ±0.05	9.9 ±0.3
Al ₂₄	2.8 ±0.3	34.9 ±0.9	60.0 ±2.4	520 ±77	335 ±17	52.8 ±2.0	10.9 ±1.0	0.98 ±0.08	3597 ±336	16.6 ±1.8	302 ±15	20. ±1.6	0.66 ±0.05	9.8 ±0.5
Dx ₁₂	2.1 ±0.1	27.6 ±1.5	38.6 ±3.6	540 ±26	256 ±12	64.8 ±4.0	8.6 ±1.0	0.64 ±0.04	2504 ±245	11.3 ±0.9	197 ±12	11.4 ±0.8	0.32 ±0.03	6.3 ±0.2
Dx ₁₈	2.3 ±0.1	18.4 ±1.0	38.4 ±1.4	566 ±25	252 ±13	55.0 ±3.1	13.1 ±1.1	0.92 ±0.09	3896 ±233	14.5 ±0.7	303 ±23	11.8 ±0.5	0.70 ±0.06	6.9 ±0.2
Dx ₂₄	2.4 ±0.2	19.1 ±0.6	54.9 ±3.2	555 ±39	260 ±12	43.3 ±3.0	7.9 ±0.6	0.78 ±0.07	2822 ±193	12.4 ±0.7	354 ±33	19.8 ±1.9	0.78 ±0.05	9.4 ±0.4
Mx ₁₂	2.1 ±0.2	32.1 ±2.3	55.0 ±4.2	547 ±41	340 ±20	46.6 ±2.9	8.1 ±1.3	0.65 ±0.08	2268 ±239	8.8 ±0.7	233 ±13	16.8 ±1.2	0.52 ±0.04	8.0 ±0.5
Mx ₁₈	2.3 ±0.2	14.3 ±0.7	48.7 ±2.5	566 ±21	319 ±16	64.9 ±3.6	7.2 ±0.8	0.69 ±0.06	2438 ±171	10.3 ±0.5	249 ±4	15.3 ±0.8	0.40 ±0.03	7.0 ±0.2
Mx ₂₄	1.7 ±0.1	13.5 ±0.5	35.4 ±3.4	568 ±41	211 ±8	32.7 ±3.1	6.1 ±0.7	0.63 ±0.04	2433 ±214	10.5 ±0.7	247 ±13	14.0 ±1.0	0.40 ±0.02	6.1 ±0.3
Tipo (Al-Dx-Mx)	b-a-a	b-a-a	n.s.	n.s.	ab-a-b	ab-b-a	b-b-a	b-a-a	b-b-a	c-b-a	c-b-a	b-a-a	c-b-a	b-a-a
Nivel (12-18-24)	a-b-ab	c-a-b	a-ab-b	n.s.	n.s.	b-c-a	a-b-a	n.s.	n.s.	a-b-ab	a-b-b	n.s.	a-b-b	n.s.
Tipo×Nivel	*	*	*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*	*

Los resultados son media±E.S. (n = 9). En la mitad inferior de la tabla se indican resultados para ANOVA de dos vías. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos (* P<0.05). n.s.=diferencias no significativas. Datos en mU mg proteína⁻¹.

tanto en hígado como en músculo blanco, niveles de actividad más bajos para los enzimas G6PDH y EM, productores del NADPH usado en la síntesis lipídica. Por otro lado, al igual que ocurría con la glucólisis, la influencia del nivel de carbohidratos en las dietas sobre la regulación de la vía lipogénica no manifiesta un patrón tan evidente como el de la influencia de la fuente. Desde un punto de vista general, un nivel de inclusión del 18% podría promover una mayor actividad lipogénica a nivel hepático.

Finalmente, un posible ahorro proteico en los grupos alimentados con maltodextrina, podría estar justificado por la actividad de los enzimas implicados en la síntesis de glucosa y en la degradación proteica de los dentones alimentados con esta fuente. Así, aunque en el presente ensayo no hubo efectos a nivel hepático por el tipo de carbohidratos utilizados, a nivel muscular se corrobora esta hipótesis, es decir, menor actividad de los enzimas FBPa, GOT y GPT observados para los grupos con maltodextrina se corresponden con un aumento paralelo del contenido de proteína corporal observado en resultados adicionales del presente experimento para esta fuente. No obstante, al considerar el nivel de inclusión, una vez más no existe un patrón claro de actuación, aunque, desde un punto de vista global, el empleo del 12% de carbohidratos resultaría en los niveles más bajos de actividad gluconeogénica hepática y muscular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ACU03-009-C4-2 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Influencia de la fuente y nivel de carbohidratos dietarios sobre la composición corporal y tisular de juveniles de *Dentex dentex*

A. Pérez-Jiménez^{1*}, M. C. Hidalgo¹, A. E. Morales¹, E. Abellán², M. Arizcun² y G. Cardenete¹

¹ Dpto. Biología Animal, Univ. Granada, Campus Fuentenueva, 18071 Granada, España

² IEO, Centro Oceanográfico de Murcia, Carretera de la Azohía s/n, Puerto de Mazarrón, Murcia, España

* email: calaya@ugr.es

Abstract

Effects of dietary carbohydrates on body and tissue proximate composition were studied in common dentex. Nine experimental isoproteic (43%) and isoenergetic (22 MJ/kg) diets containing different type (starch, dextrin and maltodextrin) and levels (24%, 18% and 12%) of carbohydrates were formulated. The highest body protein level was observed in maltodextrin-fed groups what could indicate a protein sparing effect. The highest body lipid level was showed by groups fed on starch and dextrin. Neither type nor level of carbohydrates induced changes on white muscle lipid level, but in liver the highest lipid level was observed in dextrin-fed groups. Regarding the inclusion level, the most elevated liver lipid levels corresponded with the lower inclusion level carbohydrates. In white muscle, the lowest values of glycogen were observed for maltodextrin groups and the highest for 18% level.

Justificación

Debido a la rápida expansión de la acuicultura, y considerando la limitación y alto coste del uso de harina de pescado en el alimento de las especies cultivadas, es necesario encontrar fuentes alternativas de proteína y energía que mantengan la viabilidad de esta actividad. Así, aunque no se han demostrado necesidades reales de carbohidratos en peces, su utilización conlleva beneficios tales como una reducción en los costes o una mejora en las propiedades físicas del alimento. Además, un nivel adecuado de carbohidratos digestibles podría minimizar el catabolismo de las proteínas con fines energéticos o proveer intermediarios metabólicos para la síntesis de otros compuestos importantes, aumentando la retención proteica, favoreciendo el crecimiento y minimizando la liberación de productos nitrogenados al medio. La eficiencia en el uso de carbohidratos por peces está condicionada por factores como la complejidad, tratamiento físico y nivel de inclusión. Conocer como el dentón es capaz de responder fisiológicamente a la utilización de distintas fuentes y niveles de carbohidratos es, pues, un objetivo fundamental para optimizar la alimentación de esta especie.

Material y Métodos

Dentones de un peso medio de 9.76 ± 0.05 g fueron distribuidos al azar en 9 lotes triplicados (25 individuos/ lote) y alojados en tanques de 230 l de capacidad abastecidos con agua de mar (37 ‰ de salinidad) con un flujo continuo de 6.5 l min^{-1} . El fotoperiodo fue 12L:12D, T^a 25 ± 2 °C y O_2 disuelto > 88% saturación. Se formularon 9 dietas que combinaban de tres tipos (almidón pregelatinizado, AI, dextrina, Dx, y maltodextrina, Mx) y tres niveles (12%, 18% y 24%) de carbohidratos. El contenido en proteína (43%) fue constante, mientras que la proporción de lípidos varió dependiendo del contenido en carbohidratos (% L / % H.C.: 25.1/12; 22.5/18; 19.9/24) para mantener constante la energía bruta de la dieta (22 M kg^{-1}). Cada dieta se suministró a tres lotes de animales 3 veces al día hasta saciedad, durante 9 semanas. Al final del experimento, se muestrearon 9 individuos por dieta experimental (3 por lote) para composición corporal y otros tantos para obtención de muestras de hígado y músculo blanco donde se determinó el contenido en glucógeno y lípidos tisulares. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de dos vías. En los casos en los que se confirmó un efecto significativo ($P < 0.05$) se aplicó el test de Tukey HSD.

Resultados y Discusión

Tanto la fuente carbohidratada como la interacción entre el tipo y el nivel de carbohidratos utilizados influenciaron la composición corporal. Así, mientras que en los peces alimentados con la dieta que contenía almidón no se observaron diferencias respecto a las otras fuentes, situándose los valores en un nivel intermedio, la ingesta de maltodextrina dio lugar a los valores más altos de humedad, cenizas y proteína, y los más bajos de lípidos, frente a los resultados obtenidos para los animales que ingirieron la dieta con dextrina. Basándonos en estos resultados, se puede deducir un efecto de ahorro proteico en los dentones alimentados con maltodextrina como fuente de hidratos de carbono. En nuestro estudio son los carbohidratos

Tabla 1. Composición corporal y tisular (hígado y músculo blanco) de dentón alimentado con distintos tipos y niveles de carbohidratos

Dieta	Humedad (%)	Ceniza (% ss)	Lípidos (% ss)	Proteína (% ss)	Glucógeno (mg glucosa g tejido ⁻¹)		Lípidos (mg g tejido ⁻¹)	
					Hígado	Músculo	Hígado	Músculo
	Composición corporal				Hígado	Músculo	Hígado	Músculo
Al ₁₂	68.4±0.4	15.1±0.3	23.8±0.9	52.7±0.7	131.0±7.5	0.29±0.03	51.2±2.7	18.0±1.6
Al ₁₈	69.3±0.4	15.4±0.3	23.1±1.0	54.6±0.6	122.2±2.6	0.49±0.04	36.5±1.4	19.2±1.9
Al ₂₄	72.3±0.6	19.4±0.8	17.5±1.7	59.2±1.3	99.3±3.9	0.33±0.04	50.9±3.9	20.7±2.0
Dx ₁₂	69.0±0.4	15.6±0.5	21.7±0.7	53.2±0.7	131.2±4.8	0.29±0.02	56.2±2.9	15.5±0.7
Dx ₁₈	69.8±0.5	16.0±0.4	20.5±0.9	53.8±0.8	128.7±5.2	0.43±0.04	58.1±4.5	20.2±1.8
Dx ₂₄	68.5±0.8	15.5±0.9	24.6±2.3	53.5±1.4	111.0±4.3	0.31±0.03	57.9±1.6	14.9±0.5
Mx ₁₂	71.2±0.8	18.5±1.1	19.2±1.4	57.6±1.4	106.7±3.0	0.18±0.02	59.9±2.1	19.5±0.9
Mx ₁₈	70.2±0.7	16.9±0.8	19.2±1.0	55.8±1.4	116.2±4.6	0.20±0.01	42.3±3.1	13.8±0.4
Mx ₂₄	69.6±0.5	16.4±0.5	20.2±1.5	55.4±1.1	133.5±5.9	0.26±0.01	37.2±2.5	17.0±1.4
Tipo (Al-Dx-Mx)	ab-a-b	ab-a-b	ab-b-a	ab-a-b	n.s.	b-b-a	a-b-a	n.s.
Nivel (12-18-24)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	a-b-a	b-a-a	n.s.
Tipo×Nivel	*	*	*	*	*	*	*	*

Los resultados son media±E.S. (n = 9). En la mitad inferior de la tabla se indican resultados para ANOVA de dos vías. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos (* P<0.05). n.s.=diferencias no significativas. Datos en mU mg proteína⁻¹.

de menor complejidad los que promueven mayor concentración proteica corporal, contrastando con otras especies en las que son los más complejos los que producen este efecto.

En cuanto a los lípidos corporales, los mayores niveles observados en dentones alimentados con fuentes más complejas están en consonancia con los resultados obtenidos en otras especies. Además, considerando que en músculo blanco no existieron diferencias derivadas del tipo o el nivel de carbohidratos utilizados y aunque en el hígado, la tendencia observada fue similar a la encontrada para los lípidos corporales, se podría sugerir que el origen de las diferencias en los lípidos corporales entre tratamientos procedería de cambios producidos en el reservorio lipídico de la grasa perivisceral, ya que el aumento de lípidos hepáticos no sería proporcionalmente suficiente para producir tales diferencias. En cuanto al nivel de inclusión, al igual que fue observado en estudios previos realizados en otras especies, los mayores niveles de lípidos hepáticos correspondieron al nivel de inclusión más bajo de carbohidratos dietarios (12%) y, consecuentemente, al más elevado en lípidos de la dieta.

Respecto al glucógeno hepático, aunque en el presente estudio no se observaron efectos producidos independientemente por el tipo o el nivel de carbohidratos utilizados, en la mayoría de los trabajos relacionados con la utilización de hidratos de carbono en peces se ha indicado una relación lineal dosis-respuesta como consecuencia del incremento en la disponibilidad de glucosa. En este sentido, mayores niveles de inclusión y fuentes más complejas de carbohidratos en las dietas conllevan un aumento de glucógeno hepático. Por su parte, al contrario que en hígado, si se obtuvieron efectos inducidos por el tipo (menores para maltodextrina) y el nivel (mayores para un 18%) de carbohidratos sobre el contenido en glucógeno muscular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ACU03-009-C4-2 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Efecto de la dieta de los reproductores de pulpo común (*Octopus vulgaris*) sobre la composición de aminoácidos de huevos y paralarvas: relación con la calidad de puesta

D. Quintana¹, L. Marquez², M. H. Suarez³, E. Rodríguez³, S. Jeréz⁴ y E. Almansa⁴

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), Apartado Oficial, E-11510. Puerto Real, Cádiz

² IFAPA Centro Agua del Pino. Ctra. Cartaya – Punta Umbría. 21459 Cartaya (Huelva)

³ Dept. Química Analítica, Fac. Química. Univ. La Laguna, 38206 S/C de Tenerife

⁴ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias. Apdo. 1373. S/C de Tenerife.
e-mail: eduardo.almansa@ca.ieo.es

Abstract

The effect of three natural diets (sardine, crab and squid), used for feeding *Octopus vulgaris* broodstocks was studied in the spawning quality and total amino acid composition of eggs and hatchling. Multivariate techniques were used to reveal groups based on the diet and to relate the amino acid profile of the spawning with the parameters of quality. The analysis allowed us to discriminate the composition of eggs based on the total amino acid contents; however, hatchling showed a homogeneous amino acid composition between the three groups. Pearson's correlation analysis found that eggs composition showed a greater degree of relation to the spawn quality parameters than hatchling.

Justificación

Optimizar la dieta de los reproductores en peces ha demostrado ser una forma efectiva de mejorar la calidad de la puesta (Watanabe y Vasallo-Agius, 2003). En el caso del pulpo común, Quintana *et al.* (2007) han puesto de manifiesto la influencia de la dieta de los reproductores sobre la composición lipídica de huevos y paralarvas y su relación con la calidad de puesta. Dado la importancia de la proteína en el metabolismo de cefalópodos (Villanueva y Norman 2008), en el presente estudio se pretende completar esta línea analizando la influencia de la dieta de los reproductores en la composición de aminoácidos (AA) de huevos y paralarvas y sus efectos sobre la calidad de puesta.

Material y Métodos

Se alimentaron 3 grupos de reproductores de *Octopus vulgaris* con tres dietas naturales: cangrejo (*Carcinus maenas*), pota (*Illex* sp) y sardina (*Sardina pilchardus*) desde el mes de diciembre hasta la obtención de las puestas (entre abril y junio). Una vez obtenida la puesta se tomaron datos biométricos de huevos (estadio I-IV) y paralarvas recién eclosionadas y se comparó la supervivencia de estas paralarvas bajo condiciones de inanición. Se determinó la composición en aminoácidos (Bosh *et al.*, 2006) en los huevos y paralarvas provenientes de 3 hembras de cada grupo experimental. Los resultados se analizaron mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP) para cada tipo de muestra (huevos y paralarvas). Por último, las coordenadas de las muestras en los componentes I y II de cada análisis se correlacionaron mediante la correlación paramétrica de Pearson con parámetros de calidad de puesta, como datos biométricos (longitud, anchura y peso) de huevos y paralarvas y los índices de supervivencia de las paralarvas descritos en estudios previos (Quintana *et al.*, 2005). La significación de cada correlación fue corregida con la corrección de pruebas múltiples de Bonferroni.

Resultados y Discusión

Con el fin de estudiar la influencia de la dieta en la composición en AA del huevo y paralarvas se analizó esta composición mediante ACP. En el caso de la composición del huevo, los dos primeros componentes explicaron el 81,2 % de la variabilidad del sistema (eje I: 56,3% y eje II: 25,8%). Cys+Tyr, Phe y Gly son las variables originales con mayor peso en el componente I, mientras que Lis, Asp y Glu lo fueron en el componente II. Este último componente es el que más influencia tiene en la separación observada entre el grupo de sardina respecto a pota y cangrejo. En el caso de las paralarvas, los dos componentes obtenidos explican el 69,2% de la variabilidad del sistema (eje I: 45,1% y eje II: 24,1%) pero estos ejes no permitieron separar las paralarvas en función de la dieta suministrada a los reproductores. En el eje I ejercieron un mayor factor de carga Glu, Pro e Ile, mientras que en el eje II fueron Arg y Phe.

La influencia de la dieta sobre la calidad de puesta fue analizada previamente (Quintana *et al.*, 2005). El presente estudio se ha centrado en contrastar la posible relación entre esta calidad de puesta y la

Tabla 1. Principales correlaciones entre la composición del huevo y la calidad de puesta

	Huevo			Paralarva		
	PH	L20	PS	CO	LVM	S100
AA en Huevos (eje II)	-0.764*	-0.760*	-0.745*	-0.702*	-0.832**	-0.705*

* P<0.05; ** P<0.025

composición en aminoácidos de huevos y paralarvas, empleando las coordenadas obtenidas de los ejes del ACP. Las principales correlaciones se resumen en la tabla 1 y se relacionan con la composición de AA del huevo (aunque solo con el eje II). En el huevo se encontró relación con su peso húmedo (PH) y su longitud a día 20 (L20), mientras que en la paralarvas se relacionó con el peso seco (PS), contenido orgánico (CO), longitud ventral del manto (LVM) y el día en que se alcanzó el 100% de mortalidad en paralarvas sometidas a inanición (S100). Por último hay que señalar que el contenido de AA de las paralarvas (eje I) también se mostró correlacionado con el peso seco del huevo ($r=0.758^*$). No obstante, hay que resaltar que entre todas estas correlaciones, solo la LVM cumple con la corrección de Bonferroni.

En conclusión, nuestros datos sugieren que la dieta suministrada a los reproductores influye en los contenidos de AA de los huevos, pero no en las paralarvas. Este resultado difiere de lo observado para la composición lipídica (Quintana *et al.*, 2007), la cual mostró diferencias tanto en el huevo como en la paralarva. El mayor consumo de proteína respecto a lípidos observado por nuestro grupo durante el desarrollo embrionario del pulpo (datos sin publicar) podría explicar esta diferencia. Por otro lado, las correlaciones encontradas sugieren que la composición de aminoácidos de la puesta podría estar relacionada con las diferencias descritas en sus parámetros de calidad. Estos datos se complementan con una relación similar entre la dieta de los reproductores, la calidad de puesta y la composición lipídica de huevos y paralarvas descrita previamente por nuestro grupo (Quintana *et al.*, 2005, 2007).

Agradecimientos

Este experimento se enmarca dentro del proyecto RTA04-122-C2 subvencionado por el ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- Bosh L., A. Alegria y R. Farré. 2006. Application of the 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) reagent to the RP-HPLC determination of amino acids in infant foods. *Journal of Chromatography B*. 831: 176-183.
- Quintana, D., L. Márquez, E. Almansa, E. Rodríguez y A. Lorenzo. 2005. Efecto de la dieta suministrada a reproductores de pulpo común (*Octopus vulgaris*) sobre la calidad de puesta y la composición bioquímica de huevos y paralarvas. *X Congreso Nacional de Acuicultura*. (17-21 de octubre) Gandía (Valencia), España.
- Quintana, D., L. Márquez, J.R. Arévalo, E. Almansa y A. Lorenzo. 2007. Aplicación de análisis multivariante al estudio de la influencia de la dieta de los reproductores de *Octopus vulgaris* sobre la composición lipídica de huevos y paralarvas y su relación con la calidad de puesta. *XI Congreso nacional de acuicultura* (24-28 de Septiembre) Vigo, España.
- Villanueva, R. y M.D. Norman. 2008. Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography Marine Biology: An Annual Review*. 46: 105-202
- Watanabe, T. y R. Vassallo-Agius. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227(1-4): 35-61.

Evolución de la mortalidad y crecimiento de *Solea solea* destetado 30-35 días y 30-40 días tras la eclosión

P. Riera-Fernández, F. Villoch, L. Barreiro, R. Caamaño, A. Ojea, A. Paramá,
M. V. Ruiz de Ocenda, B. Fandiño, S. Pais y S. Cabaleiro

Centro Tecnológico Gallego de Acuicultura (CETGA), Punta de Couso s/n. Aguiño. 15965 Riveira
E-mail: riera@cetga.org

Abstract

Research on the rearing cycle of the common sole (*Solea solea*) is currently being done at the Centro Tecnológico Gallego de la Acuicultura (CETGA). The goal of this research is to develop rearing schedules that can be suitable for market production and to document some technical problems. One of them is the weaning of the larvae, due to the high mortality produced and the high cost of the artemia used. In order to know how affects the time of weaning over fish weaned by 30-35 days post hatch (dph) and 30-40 dph, we have recorded the growth (length) and the mortality from the day 23 up to the day 91 post hatch. The results suggest that there are no differences between both parameters and therefore the best period for weaning is 30-35 dph.

Justificación

El lenguado común (*Solea solea* L.) es una especie muy apreciada en el mercado europeo y por tanto candidata a ser cultivada a escala industrial. El destete es una de las fases en las que se observan mayores mortalidades. Entre otros Bromley (1977), Gatesoupe y Luquet (1982), Palazzi *et al.* (2006) han realizado estudios acerca del destete de esta especie. El objetivo del presente trabajo es conocer cómo evoluciona la mortalidad y crecimiento de peces destetados entre los días 30-35 y entre los días 30-40 tras la eclosión.

Material y Métodos

Se parte de larvas procedentes del stock de reproductores (peces originariamente salvajes) de *S. solea* que se mantiene en el CETGA. Las larvas se mantuvieron en la sala de cultivo larvario hasta el día 23 de vida. Durante este periodo se utilizó agua filtrada (50 micras) tratada con ultravioleta. La temperatura se mantuvo a 19 °C y el fotoperiodo fue continuo (24 h de luz), con una intensidad lumínica de 500 luxes. Durante el periodo de cultivo larvario se utilizó la técnica del agua verde, usando como microalgas *Isochrysis galbana* var. *Tahitiana* y *Tetraselmis suecica*. Las larvas fueron alimentadas con rotífero entre los días 2 y 9 y con artemia a partir del día 5. En ambos casos el enriquecimiento se realizó usando productos comerciales. A partir del día 12 se comienza a suministrar, de forma creciente, pienso.

El día 23 tras la eclosión se trasladan los peces de la sala de cultivo larvario a tanques de 1 m², con aporte de agua filtrada (50 micras) y tratada con ultravioleta. El fotoperiodo fue natural y la temperatura ambiente. En estas condiciones se realizó el destete, periodo que va desde que se comienza a reducir la cantidad de artemia suministrada hasta que elimina totalmente de la dieta. Los peces fueron repartidos entre los cuatro tanques y se eligieron al azar dos de ellos para ser destetados entre el día 30-35 y los otros dos entre los días 30-40 tras la eclosión. El pienso se suministró cada dos horas.

Se realizaron muestreos periódicos de la longitud, se registró diariamente la mortalidad y los datos se trataron estadísticamente, utilizando tablas de contingencia para comparar las mortalidades finales y análisis de varianza para comparar el crecimiento final (nivel de significación = 0,05)

Resultados y Discusión

Como podemos ver en la figura 1, ambos tratamientos mostraron un comportamiento similar. Aproximadamente 12-15 días después de haberse dejado de suministrar artemia los peces comienzan a morir con síntomas de desnutrición, alcanzándose al final unos porcentajes de mortalidad muy similares (69.94% los destetados el día 35 y 69.53% los destetados el día 40).

En cuanto al crecimiento, en la figura 2 podemos ver que el patrón es el mismo desde el momento en que se deja de suministrar artemia. En un principio el crecimiento se vuelve más lento, coincidiendo con la falta de artemia y el inicio de la alimentación exclusiva con pienso. Una vez el pez se adapta a éste (aproximadamente tras 15-20 días), el crecimiento aumenta, no observándose diferencias significativas entre los dos tratamientos.

Figura 1. Mortalidad acumulada (%) de peces destetados en distintos periodos (30-35 días y 30-40 días)

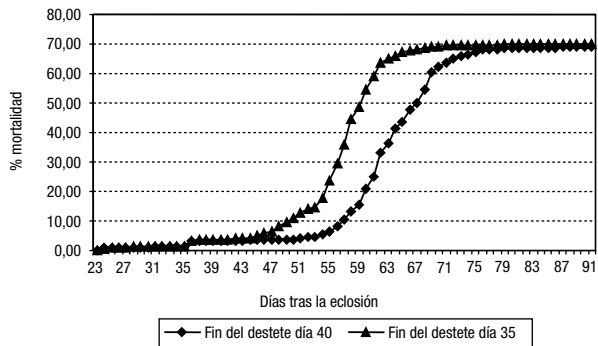
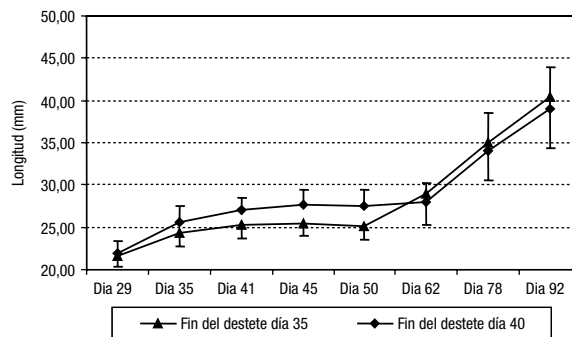


Figura 2. Crecimiento (mm) de peces destetados en distintos periodos (30-35 días y 30-40 días)



Podemos concluir que no hay diferencias significativas de mortalidad y crecimiento en los peces destetados en los periodos testados. Esta ausencia de diferencias podría ser debida a que, independientemente del momento de destete, los peces coalimentados con pienso sólo coman artemia y cuando ésta deja de ser suministrada no acepten bien el pienso o éste no cubra sus requerimientos nutricionales.

Tanto desde el punto de vista de la mortalidad como del crecimiento, el periodo de adaptación tras dejar de suministrar artemia es de 15-20 días aproximadamente.

Bibliografía

- Bromley, P.J. 1977. Methods of weaning juveniles hatchery reared sole (*Solea solea* L.) from live food to prepared diets. *Aquaculture* 12, 337-347.
- Gatesoupe, P.J. and Luquet, P. 1982. Weaning of the sole (*Solea solea*) before metamorphosis. *Aquaculture*, 26: 359-368.
- Palazzi, R., Richard, J., Bozzato, G., Zanella, L. Larval and juvenile rearing of common sole (*Solea solea* L.) in the Northern Adriatic (Italy) 2006. *Aquaculture* 255: 495-506.

Sustitución parcial de la harina de pescado por harinas vegetales en piensos para juveniles de *S. senegalensis*: efecto sobre el crecimiento y parámetros zootécnicos

A. Rodiles¹, I. Hachero-Cruzado¹, M. Herrera¹, S. P. Lall² y F. J. Alarcón³

¹ IFAPA «Agua del Pino». Ctra. Cartaya-Punta Umbria, s/n. 21459. Huelva.

E-mail: ana.rodiles@juntadeandalucia.es.

² NRC. Institute for Marine BioSciences. 1411. Oxford Street. Halifax (NS). Canada

³ Dept. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior, Univ. Almería

Abstract

The aim of this work was to determine the effect of partial substitution of fish meal by soy products, wheat and pea meals on growth performance and nutrient utilisation in Senegalese sole (*S. senegalensis*). Six isoproteic (55% CP), isolipidic (12% CL) and isocaloric diets (21.1 MJ/kg) were formulated containing 30% of soybean meal (SBM), soy protein concentrate (SPC), soy protein isolate (SPI), wheat gluten meal (WGM) or pea protein meal (PPM), and fish meal (FM) as control diet. Fish were fed at 3% body weight during 77 days. Growth performance and nutrient retention showed no significant differences among treatments, although SBM showed slight increased mean values in comparison with FM. To conclude, *S. senegalensis* tolerated a 30% of partial replacement of fish meal by plant protein sources, especially in the case of soybean products, without any reduction in growth rate. The results obtained will allow to assess on the more appropriate plant protein source and the maximum level of replacement of fish meal in sole aquafeeds.

Justificación

La harina de pescado sigue siendo la principal fuente de proteína de la industria acuícola, aunque al ser un recurso limitado, existe una gran preocupación por su disponibilidad a largo plazo. Debido a esto último, en el contexto europeo, se está realizando un importante esfuerzo de investigación para evaluar fuentes proteicas vegetales que puedan ser utilizadas en la formulación de piensos. No obstante, el uso de materias proteicas de origen vegetal puede tener ciertos inconvenientes como son la presencia de factores antinutritivos, el desequilibrio de aminoácidos y una menor digestibilidad en comparación con la harina de pescado. Además, los efectos producidos por una misma materia prima vegetal pueden variar entre las distintas especies de peces cultivados. El presente estudio tiene por objeto realizar la evaluación nutritiva de piensos experimentales en los que se ha sustituido parcialmente la harina de pescado por varias fuentes proteicas vegetales.

Material y Métodos

Se formularon 5 piensos isoproteicos (55%), isolipídicos (12%) e isocalóricos (21,1 MJ/kg) en los que un 30% de la proteína de la harina de pescado se sustituyó por proteína de origen vegetal procedente de harina de semilla de soja (SBM), concentrado proteico de soja (SPC), aislado de proteína de soja (SPI), harina de gluten de trigo (WGM) o concentrado proteico de guisante (PPC). Se incluyó un sexto pienso control formulado únicamente con harina de arenque (HM). Los piensos experimentales fueron elaborados en las instalaciones del National Research Council (Halifax. Canadá). 200 ejemplares juveniles de lenguado senegalés de peso medio $21,6 \pm 2,7$ g (media \pm SD) fueron marcados individualmente con tinta y distribuidos aleatoriamente en 12 tanques de 100 litros. Tras dos semanas de aclimatación, los peces fueron alimentados con los piensos experimentales dos veces al día, durante 77 días. Cada dos semanas, los animales fueron pesados, ajustándose la cantidad de pienso suministrado a la nueva biomasa, a razón de 3% del peso fresco. Al final del experimento se determinaron los siguientes parámetros biométricos; WG, incremento peso (%); SGR, tasa crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$); FER, tasa de conversión del alimento; PER, tasa de eficiencia proteica; IHS, índice hepato-somático; IVS, índice víscero-somático; RIL, longitud relativa del intestino.

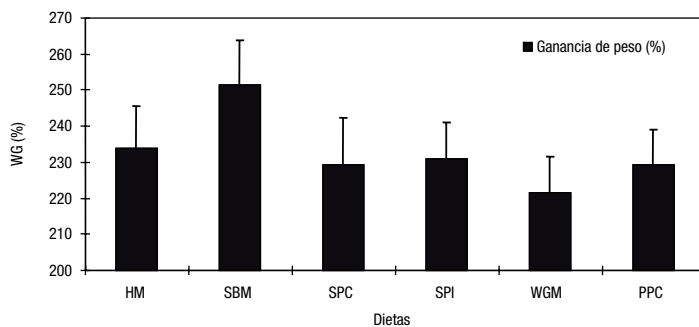
Resultados y Discusión

Los piensos tuvieron una buena aceptación y la supervivencia fue superior al 94%. En el punto final del experimento, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros zootécnicos analizados, a excepción del índice hepato-somático (IHS, Tabla 1) que mostró diferencias entre los piensos sustituidos con fuentes proteicas vegetales. Así, para SPI y WGM se obtuvieron valores significativamente superiores a los de SBM, SPC y PPC. En general, se pudo constatar para los distintos parámetros zootécnicos que el tratamiento SBM presentó valores medios superiores al resto de tratamientos, aunque sin mostrar

Tabla 1. Crecimiento e índices zootécnicos obtenidos para los distintos tratamientos

	HM	SBM	SPC	SPI	WGM	PPC	p
Peso inicial (g)	21,6±2,7	21,6±2,7	21,5±2,3	21,9±3,2	21,1±3,0	21,3±2,9	ns
Peso final (g)	51,6±14,2	54,6±11,7	49,5±11,8	50,3±11,4	46,6±10,8	49,0±12,6	ns
SGR ¹	1,07±0,29	1,17±0,26	1,05±0,29	1,06±0,25	1,01±0,23	1,05±0,24	ns
FER ²	0,39±0,12	0,44±0,12	0,43±0,16	0,40±0,11	0,37±0,11	0,44±0,13	ns
PER ³	0,70±0,22	0,79±0,21	0,78±0,29	0,72±0,19	0,66±0,20	0,79±0,24	ns
IHS ⁴	1,93±0,43	1,71±0,34	1,71±0,44	2,18±0,39	2,12±0,39	1,75±0,32	**
IVS ⁵	6,91±1,25	6,72±1,32	6,77±1,67	7,26±1,52	6,62±1,37	7,61±1,85	ns
RIL ⁶	2,50±0,43	2,51±0,30	2,41±0,28	2,42±0,24	2,22±0,57	2,44±0,33	ns
WG ⁷	233,8±49,1	251,5±50,7	229,4±50,2	230,8±41,2	221,4±37,8	229,2±45,1	ns

Los valores corresponden a la media±SD (n =32). Los valores con distinto superíndice muestran diferencias significativas (**: p < 0,01; ns: no significativo). ¹ SGR = $(LN P_{final} - LN P_{inicial}) \cdot 100 / \text{días}$. ² FER = $\Delta P / \text{alimento suministrado}$. ³ PER = $\Delta P / \text{proteína suministrada}$. ⁴ IHS = $P_{\text{hígado}} / P_{\text{final}}$. ⁵ IVS = $P_{\text{visceras}} / P_{\text{final}}$. ⁶ RIL = $L_{\text{intestino}} / L_{\text{total}}$. ⁷ WG (%) = $(P_{\text{final}} / P_{\text{inicial}}) \times 100$.

Figura 1. Ganancia de peso (WG) de juveniles de lenguado senegalés alimentados con los piensos experimentales. Media±SEM (n = 32)

diferencias significativas. La Figura 1 muestra la ganancia de peso (% sobre el valor inicial) al final del experimento para cada tratamiento. En este caso también se comprobó que los peces alimentados con piensos sustituidos por SBM presentan valores medios superiores. Resultados similares han sido descritos en el lenguado egipcio (*S. aegyptiaca*) cuando la harina de pescado se sustituyó por proteína procedente de soja. Los datos obtenidos indican que el lenguado senegalés tolera una sustitución parcial de la proteína harina de pescado por proteína vegetal del 30% sin afectar al crecimiento y aprovechamiento nutritivo del alimento.

Agradecimientos

Ana Rodiles agradece al IFAPA (Junta de Andalucía) la concesión de la beca «Tecnología en el cultivo larvario de nuevas especies de peces». La investigación ha sido financiada por los proyectos RTA- 2007-00026-C02-01 y 02 del INIA y los fondos FEDER.

Composición lipídica y en ácidos grasos en ovarios maduros de ejemplares salvajes y cultivados de Medregal (*Seriola dumerili*)

D. Rodríguez-Barreto², S. Jerez¹, J. R. Cejas¹, F. J. Santamaría¹, N. G. Acosta²,
A. Bolaños² y A. Lorenzo²

¹ Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Avda. 3 de Mayo nº 73,
38005 Santa Cruz de Tenerife, España (alorenhe@ull.es)

² Dpto. Biología Animal, Universidad de La Laguna, La Laguna, Santa Cruz de Tenerife

Abstract

The aim of the present study was to compare the contents of total lipid, and composition in lipid classes and fatty acids in mature ovaries of wild and cultivated greater amberjack or yellowtail (*Seriola dumerili*), in order to estimate the fatty acids requirements of this species. The total lipid (TL) content in wild fish ovaries was higher than in cultivated fishes. Differences in total monoenes, n-6, n-3 and n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) were found. These differences were due to the lower % of 18:1 n-9 and the higher % of 18:2 n-6 and eicosapentaenoic acid (20:5n-3, EPA) in cultivated fishes. On the other hand the proportion of docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) and arachidonic acid (20:4 n-6, AA) did not differ between the two groups. In consequence, cultivated fish presented a lower DHA/EPA ratio and a higher EPA/AA ratio. The present study suggests that essential fatty acid, specially the EPA of the diet supplied to the cultivated broodstocks, seems to be in an inappropriate proportion.

Justificación

La incorporación de nuevas especies de peces marinos a la acuicultura es fundamental para la diversificación y futuro desarrollo de dicha actividad. La excelente calidad de su carne, un elevado precio de mercado y una alta tasa de crecimiento hacen del medregal una especie con gran potencial. Sin embargo pese a presentar buena supervivencia y adaptación a la cautividad, el cultivo comercial de *Seriola dumerili* está actualmente limitado al engorde de ejemplares capturados del medio natural, debido a las dificultades encontradas en su reproducción en cautividad y cultivo larvario. Para cerrar el ciclo biológico y poder afrontar el desarrollo comercial del medregal es necesario profundizar en aspectos como la nutrición, centrándose especialmente en aquellos nutrientes, como los lípidos, que han mostrado tener una alta influencia sobre la reproducción. Así, varios estudios han puesto de manifiesto que la composición en ácidos grasos de los ovarios de ejemplares cultivados es reflejo de su dieta, y que dicha composición puede diferir de la de ovarios de ejemplares salvajes, repercutiendo esto en la calidad de la puesta (Sargent et al, 2002). Este trabajo es una primera aproximación a la valoración de los requerimientos en ácidos grasos que presenta esta especie.

Material y Métodos

De un grupo de medregales (*Seriola dumerili*) adultos (14056,29±4835,23 g) capturados del medio natural durante el periodo de puesta, se sacrificaron un total de 5 hembras para obtener sus ovarios. Asimismo, del stock de reproductores nacidos en cautividad en la planta de cultivos del Centro Oceanográfico de Canarias (I.E.O), y alimentados con pienso comercial de rodaballo, se sacrificaron 7 hembras (13664,67±3820,23) durante la época de puesta. De ambos grupos se tomaron muestras de cada uno de los ovarios, almacenándose a -80 °C para su posterior análisis de lípido total, clases lipídicas y ácidos grasos del lípido total según la metodología descrita en trabajos previos (Cejas et al, 2003).

Resultados y Discusión

El contenido lipídico total (LT) del ovario del medregal salvaje presenta valores más estables y ligeramente superiores a los obtenidos en los ejemplares cultivados. Respecto a las clases lipídicas, mientras el lípido polar (LP) no presenta diferencias significativas, salvo la esfingomielina (SM) que es ligeramente superior en el medregal cultivado, en el lípido neutro (LN) se observan algunas diferencias. Así el porcentaje de diacilglicéridos (DAG) y de ácidos grasos libres (Free fatty acids, FFA) es superior en ovarios de ejemplares cultivados respecto a los salvajes, mientras el porcentaje de ésteres de esteroles (EE) es inferior en ejemplares cultivados. Esto parece señalar una diferente actividad metabólica entre ambos grupos de peces.

Los porcentajes de monoenos, n-6, n-3 y n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acids) en el LT muestran diferencias significativas entre ejemplares cultivados y salvajes. La proporción de monoenos es menor en los cultivados, debido principalmente al menor valor de 18:1n-9. Por el contrario el porcentaje de n-6, n-

Tabla 1. Composición lípido total (% en peso seco), clases lipídicas (% lípido total) y principales ácidos grasos del lípido total (% en área) de ovarios de ejemplares maduros salvajes y cultivados de *Seriola dumerili*. Valores medios±desviación estándar. * indica diferencias significativas ($P<0,05$)

% Ácidos grasos	Cultivado	Salvaje		Cultivado	Salvaje
C14:0	2,5±0,3*	1,6±0,6	LT	10,2±3,8*	16,2±0,6
C16:0	21,8±1,4*	24,9±0,3			
C16:1	8,7±1,2*	4,5±0,7	SM	2,4±0,8*	1,6±0,3
C18:0	6,8±0,5	6,3±0,5	PC	14,0±3,3	17,2±4,5
C18:1n-9	13,5±2,2*	27,8±2,1	PS	1,4±0,6	1,4±0,0
C18:2n-6	5,9±0,8*	0,9±0,1	PI	2,9±0,5	3,1±0,4
C20:4n-6	2,4±0,4	2,2±0,2	PG	0,8±0,8	1,6±1,8
C20:5n-3	5,5±0,5*	1,5±0,2	PE	6,9±2,0	7,4±1,0
C22:6n-3	11,7±1,9	9,3±0,4			
SFA	34,6±2,1	35,6±1,6	DAG	1,4±1,4*	0,0±0,0
MUFA	32,0±1,9*	42,7±2,3	CHO	16,0±2,7	15,0±2,0
PUFA	29,8±2,4*	19,3±0,7	FFA	15,0±3,6*	2,7±2,0
HUFA	19,9±2,5*	15,2±0,4	TG	19,0±3,3	19,0±2,0
n-3	20,32±2,5*	13,7±1,0	EE	20,0±5,1*	30,0±3,0
n-6	9,2±0,5*	5,1±0,1			
n-9	14,6±2,1*	28,8±1,8	LNT	70,0±3,4	67,0±7,0
DHA/EPA	2,1	6,4	LPT	28,0±3,4	32,0±7,0
EPA/ARA	2,3	0,7			

3 y n-3 HUFA es mayor en los ejemplares cultivados, reflejo de una mayor proporción relativa de linoleico (18:2n-6) y ácido eicosapentanoico (20:5n-3, EPA). Teniendo en cuenta que las proporciones de ácido docosahecanoico (22:6n-3, DHA) y de ácido araquidónico (20:4n-6, AA) no presentan diferencias significativas entre ambos grupos, el ratio DHA/EPA es mayor y el ratio EPA/AA es menor en ejemplares cultivados que en salvajes (Tabla 1).

Dada la competitividad existente entre el EPA y el ARA por los sistemas enzimáticos implicados en la síntesis de eicosanoides y la implicación de estos últimos en los procesos reproductivos, diferentes estudios han puesto de manifiesto la importancia de mantener unas proporciones adecuadas de EPA, ARA y DHA (Sargent *et al.*, 2002) en la dieta de los reproductores. Así pues, los resultados obtenidos sugieren que la composición en ácidos grasos de la dieta suministrada a los ejemplares cultivados, especialmente en lo que respecta a la cantidad relativa de EPA, no parece ser la más adecuada para el cultivo de reproductores de dicha especie.

Agradecimientos

Este estudio se enmarca dentro del proyecto I+D AGL2008-05014-C02-01/ ACU subvencionado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

Bibliografía

- Cejas, J.R., Almansa, E., Villamandos, J.E., Badía, P., Bolaños, A., Lorenzo A., 2003. Lipid and fatty acid composition of ovaries from wild fish and ovaries and eggs from captive fish of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture* 216, 299-313.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipids. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, Third Edition. Academic Press, New York. pp. 181-257.

Efecto del contenido de DHA en el enriquecimiento de rotíferos sobre la aparición de deformidades esqueléticas en la dorada *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)

J. Roo, C. M. Hernández-Cruz, J. A. Socorro, H. Fernández-Palacios y M.S. Izquierdo

Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM&ULPGC), PO Box 56, E-35200 Telde, Las Palmas, Canary Islands, Spain, E-mail: Jroo@iccm.rcanaria.es

Abstract

Since sudden mortalities and increased skeletal deformities in gilthead seabream juveniles are currently found in production hatcheries, this study aimed to evaluate the contribution of essential fatty acids, particularly DHA over early feed quality, larval growth, survival and the apparition of skeleton abnormalities in highly commercial interest specie such as *Sparus aurata*. Sea bream larvae were reared under intensive conditions and fed rotifers enriched with two different enrichment emulsions differing in DHA content. Thus, essential fatty acid composition of rotifers, showed fatty acid profile of enrichment emulsions. The increase in rotifers DHA (13.0 to 20.4% TFA) were also reflected in a higher DHA content in the FA composition of larval fed this rotifers (13.0 to 20.4% TFA) when these preys were the main source of food (14dah). Survival at 50 days after hatching (13.9 ± 4.3) and growth evolution from 3dah until day 50, were similar in both treatments, whereas bone malformations, particularly opercula reduction, and jaw deformities were higher in higher DHA rotifers fed larvae.

Justificación

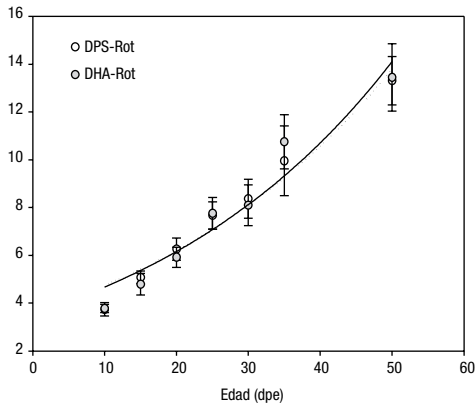
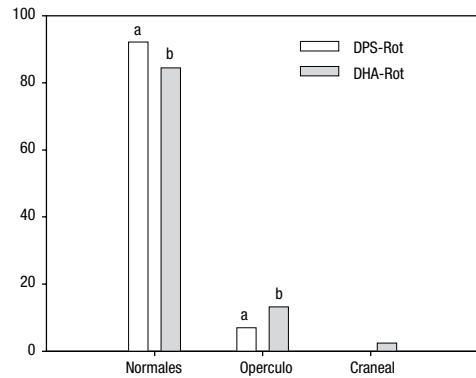
La producción de alevines de dorada (*Sparus aurata*) en Europa en el año 2008 superó los 495 millones de unidades (FEAP, 2008), siendo esta una de las especies marinas más importante para la acuicultura comercial en el Mediterráneo y las regiones Sur-Atlánticas, como Canarias. Sin embargo, la mejora de la supervivencia generalmente en torno a 10-15% y la reducción de los individuos deformes que suponen entre 15- 50% de la producción, (Bogliione *et al.*, 2001) siguen siendo unos de los principales retos de los criaderos de peces marinos. Se han identificado diferentes factores que contribuyen al desarrollo de deformidades esqueléticas, entre ellos factores nutricionales como los ácidos grasos esenciales y en particular el DHA (Lall and Lewis-McCrea, 2007; Roo *et al.*, 2009). A su vez, se ha demostrado que la composición de ácidos grasos en general y DHA en concreto difiere en gran medida entre el zooplancton natural y las presas vivas que se utilizan comúnmente en los criaderos marinos, incluso después de haber sido enriquecidas (McEvoy *et al.*, 1998). Es por ello, que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inclusión de DHA purificado en un enriquecedor comercial de rotíferos para alcanzar valores similares al de zooplancton natural y evaluar su efecto sobre el crecimiento, supervivencia e incidencia de deformidades morfo anatómicas en las larvas de dorada.

Material y Métodos

El cultivo de las larvas se realizó empleando el protocolo estándar para el cultivo de la dorada, en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) y descrito por Roo *et al.* (2009). Evaluando el efecto de dos enriquecedores: un enriquecedor comercial de rotíferos Protein Selco (INVE Aquaculture, Dendermonde, Belgium) (R₁) y este mismo enriquecedor suplementado con DHA a través de la inclusión de capsulas de DHA purificado (MorDHA IQ, First Vitality Int. Ltd.; United Kingdom) (Tabla 1). Se utilizaron 6 tanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 2 m³, en con una densidad inicial de (125 huevos/l⁻¹). Semanalmente se midió la talla total de 25 larvas por tanque con un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-3000A, Kanagawa, Japón). La supervivencia durante la fase larvaria (0-50dpe) se determinó por adición a la cantidad final de alevines la cantidad de peces muertos recogidos diariamente durante el proceso de alevinaje (50-90dpe). Para determinar la composición proximal y contenido de ácidos grasos de larvas y alimento, se tomaron muestras (n=1000 individuos) los días (12 y 20 dpe), en cuanto a la evaluación de deformidades esqueléticas esta se determinó a los 50, siguiendo la metodología descrita por Roo *et al.*, (2009).

Resultados y Discusión

La inclusión de DHA en el enriquecedor comercial de rotíferos no afecta al crecimiento de las larvas de dorada (Figura 1), este resultado es similar al obtenido por Roo *et al.*, 2009 en larvas de *Pagrus pagrus*.

Figura 1. Evolución de la talla total de la larvas**Figura 2.** Caracterización de deformidades**Tabla 1.** Composición de ácidos grasos (% AGT) de rotíferos y larvas de dorada de 14dpe

Treatment	Rot DPS	Rot-DHA	Larvas DPS-Rot	Larvas DHA-Rot
ARA	0,89±0,18 ^a	1,38±0,10 ^b	1,55±0,10 ^a	1,97±0,01 ^b
EPA	6,27±0,54 ^a	7,64±0,73 ^b	3,78±0,17	3,59±0,05
DHA	10,56±1,91 ^a	25,26±1,87 ^b	13,71±0,65 ^a	20,42±0,66 ^b

La supervivencia a 50 dpe, fue similar en ambos tratamientos, con un 12,9±4,0 en el DPS- Rot y 7,9±3,01 en el DHA-Rot. Estos resultados, indican que el valor de DHA en los rotíferos control (DPS-Rot) satisface los requerimientos de este ácido graso para obtener un buen crecimiento y supervivencia de las larvas de dorada.

La composición bioquímica de las larvas y el porcentaje de larvas deformes se vio afectado por los tratamientos ensayados (Figura 2, Tabla 1). Así, el incremento de DHA en los rotíferos, conlleva un aumento del porcentaje de anomalías esqueléticas. Estos resultados vienen a confirmar la importancia de este ácido graso en los procesos de formación y remodelación de las estructuras esqueléticas como ha sido señalado en otras especies de peces como la lubina (Villeneuve *et al.*, 2006) el bocinegro (Roo *et al.*, 2009) o el pez gato (Gapasin y Duray, 2001).

Bibliografía

- Boglione, C., Gagliardi, F., Scardi, M., Cataudella S., 2001. Skeletal descriptors as quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery-reared gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L. 1758). *Aquaculture* 192, 1-22.
- Federation of European Aquaculture Producers (FEAP), 2008. www.aquamedia.org/production.
- Gapasin, R.S.J. & Duray, M.N. (2001). Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercula deformities in milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture* 193, 49-63.
- Lall, S.P., Lewis-McCrea L.M., 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish. An overview. *Aquaculture* 267, 3-19.
- McEvoy, L.A., Naess, T., Bell, J.G. Lie, Ø., 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture* 163, 237-250.
- Roo, F.J., Hernández-Cruz C.M., Socorro, J.A., Fernández-Palacios, H., Montero, D. & Izquierdo, M. S. (2009). Effect of DHA content in rotifers on the occurrence of skeletal deformities in red porgy *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 287, 84-93.
- Villeneuve, L., Gisbert, E., Moriceau, J., Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J., 2006. Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *British Journal of Nutrition* 95, (4), 677-687.

Efecto de la dieta sobre marcadores de estrés en juveniles de *Solea senegalensis* sometidos a cambios agudos y crónicos de temperatura

E. Salas-Leiton^{1*}, B. Cánovas-Conesa², J. Alhama², J. López-Barea² y J. P. Cañavate¹

¹ IFAPA Centro El Toruño, Junta de Andalucía. Apartado 16, 11500–El Puerto de Santa María, Cádiz, España

² Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, C. Rabanales, Autovía A4 Km 396a, 14071 Córdoba, España

* emilio.salas.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

Ongrowth *Solea senegalensis* juveniles were reared throughout 60 days under two different diets: feed and natural food (poliquete *N. virens*). Acute and chronic stress by temperature (5°C under and below rearing standard temperature 20 °C) assay was carried out. Hepatic protein level, G6PDH and 6PGDH (owning to pentoses-P pathway), GOR activities and different SOD isoenzymes were studied. The aim of this work was to know the effect of diet on overall oxidative status of soles reared under different temperature stress conditions. Any studied marker was not varied by cold temperature stress (15°C). In contrast, both G6PDH and 6PGDH, GOR and SOD isoenzymes were altered by acute and chronic heat temperature stress (25°C). Results revealed a higher oxidative status in soles fed with feed in comparison with those with poliquetes. Elaborating and testing diets which lead to a proper physiological status in animals must be considered a major objective, necessary for intensive rearing of sole.

Justificación

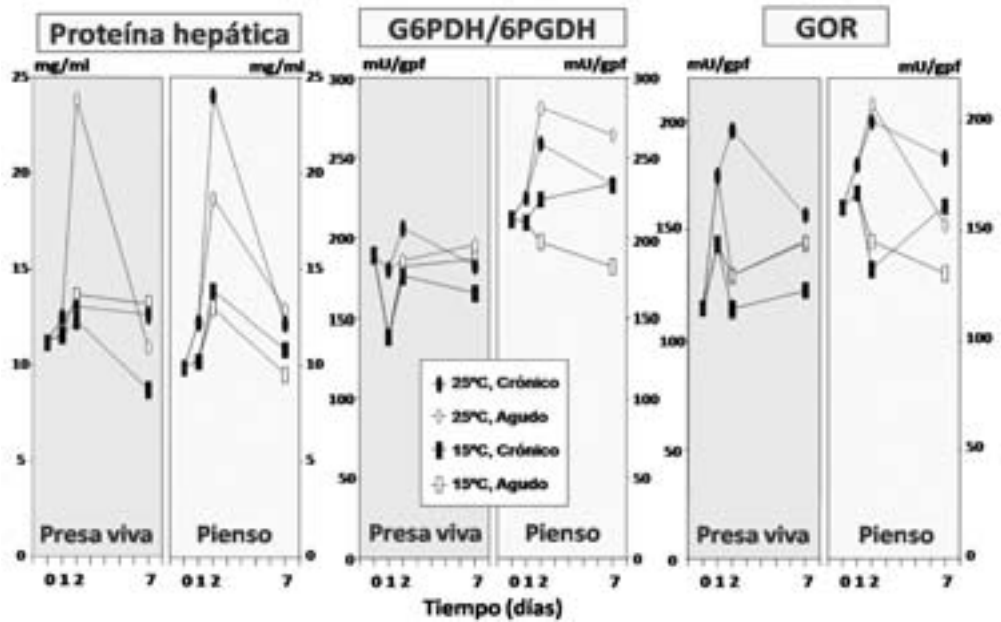
Existe poca información disponible en cuánto a los requerimientos nutricionales que precisa *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) en lo que respecta al contenido y energía de su dieta. *S. senegalensis* es una especie cuya dieta en condiciones naturales se centra básicamente en crustáceos así como poliquetos y moluscos bivalvos (Teixeira *et al.*, 2009). Para esta misma especie, en juveniles sometidos a ayuno prolongado se ha observado un efecto desigual en la recuperación de biomasa y valor de DL50 causado por el tipo de dieta (poliqueto vs pienso comercial) (Salas-Leiton *et al.*, 2007). El presente trabajo tuvo como objetivo conocer el efecto de la dieta – alimento natural y pienso comercial – sobre diferentes marcadores fisiológicos en juveniles de *S. senegalensis* sometidos a estrés térmico, tanto de carácter agudo como crónico.

Material y Métodos

Dos grupos de 60 ejemplares de *S. senegalensis* (213,32 + 82,8 g) fueron alimentados con dos dietas diferentes: pienso comercial y alimento natural basado en el poliqueto *Nereis virens*. Con esta alimentación fueron cultivados bajo condiciones estándar (T^a = 20 °C) a lo largo de 60 días. Posteriormente, ejemplares pertenecientes a cada uno de estos lotes fueron sometidos a estrés por temperatura bien de carácter agudo (24 h de tratamiento y regreso a 20°C) bien de carácter crónico (T^a de tratamiento durante 7 días). Las temperaturas ensayadas fueron 15 y 25 °C. A fin de realizar los correspondientes análisis, se sacrificaron 8 individuos de cada grupo experimental los días 0, 1, 2 y 7. En hígados de estos ejemplares, se midieron el nivel de proteína además de las actividades enzimáticas glucosa-6-P-DHasa (G6PDH), 6-P-gluconatoDHasa (6PGDH) y glutatión reductasa (GOR) según protocolos. Las distintas isoenzimas de SOD fueron separadas mediante isoelectrofoque y posterior tinción de actividad.

Resultados y Discusión

El descenso de temperatura, independientemente de si el cambio fue agudo o crónico, no produjo ninguna respuesta en los indicadores estudiados. Los resultados obtenidos en las diferentes actividades enzimáticas estudiadas (Figura 1) revelaron un mayor estado de oxidación en lenguados alimentados con pienso y sometidos a estrés térmico por calor. La mejor respuesta fisiológica ante estrés, en base a su estado oxidativo, mostrada por lenguados alimentados con *N. virens* podría relacionarse con la mayor recuperación en el valor de DL50 observado en individuos también alimentados con poliquetos tras ayuno prolongado (Salas-Leiton *et al.*, 2007). En *S. senegalensis*, se ha demostrado que el tipo de dieta, alimento natural o inerte, es responsable de una composición diferente de la flora intestinal (Martín-Antonio *et al.*, 2007). Entre la flora promovida por el alimento natural destaca la alta presencia de bacterias con actividad antimicrobiana (Makridis *et al.*, 2005). La elaboración y el ensayo de dietas que promuevan un estado fisis-inmunológico óptimo de los animales debe considerarse un objetivo prioritario en el cultivo intensivo de esta especie.



Bibliografía

- Makridis, P., Martins, S., Tsalavouta, M., Catalao Dionisio, L., Kotoulas, G., Magoulas, A., Dinis, M.T. 2005. Antimicrobial activity in bacteria isolated from Senegalese sole, *Solea senegalensis*, fed with natural prey. *Aquacult. Res.* 36, 1619-1627
- Martin-Antonio, B., Manchado, M., Infante, C., Zerolo, R., Labella, A., Borrego, J.J. 2007. Intestinal microbiota variation in Senegal sole (*Solea senegalensis*) under different feeding diets. *Aquacult. Res.* 38, 1213-1222
- Salas-Leiton, E., Martín-Antonio, B., Manchado, M., Cañavate, J.P. 2007. Efecto de la alimentación en la resistencia a patógeno y factor de condición en individuos de *Solea senegalensis* sometidos a ayuno previo prolongado. Libro de Actas XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo. Pp. 1451-54
- Teixeira, C.M., Pinheiro, A., Cabral, H.N., 2009. Feeding ecology, growth and sexual cycle of the sands sole, *Solea lascaris*, along the Portuguese coast. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* doi: 10.1017/S0025315409002562

Influencia de los ciclos de alimentación en la expresión de genes reloj en cerebro de teleósteos

J. A. Sánchez¹ y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, 30100 Murcia. e-mail: jasanchez@um.es

Abstract

In this study we investigate the existence of FAA in fish subjected to a light/dark (LD) cycle or constant light (LL) and different feeding regimes (random, fasting and feeding in the middle of the light phase or dark phase). The aim was to ascertain whether the daily rhythm of behavior and clock gene (*per1* and *cry1*) expression in the zebrafish brain was entrained by the light and feeding regime. The results revealed that FAA developed in zebrafish fed daily at a fixed time. However, the different feeding regimes failed to modify the daily rhythm of *per1* and *cry1* expression in the brain of zebrafish under LD (approximate acrophases [peak times] at ZT22 and ZT4, respectively; lights on = ZT0). Under LL, *per1* and *cry1* expression did not show significant daily rhythmicity, regardless of the feeding regime. These findings indicate that, although schedule-fed zebrafish developed FAA as regards locomotor activity, feeding had little effect on clock gene expression in whole brain homogenates, suggesting the feeding-entrainable oscillator may be located elsewhere or at specific brain sites.

Justificación

La periodicidad en la disponibilidad de alimento ejerce efectos importantes tanto a nivel fisiológico, como comportamental en teleósteos (Noeske-Hallin *et al.*, 1985) y se ha sugerido que juega un importante papel en el contexto del bienestar animal (Sánchez *et al.*, 2009). En algunas de especies, se ha demostrado la existencia de una actividad anticipatoria al alimento (FAA) y de un oscilador endógeno que es sincronizado por el alimento (FEO). Estos estudios sugieren, que los ciclos de alimento pueden actuar como potentes sincronizadores de los ritmos de comportamiento y de los procesos digestivos (Sanchez-Vazquez *et al.*, 2001; Sanchez-Vazquez y Madrid, 2001; Vera *et al.*, 2007). Sin embargo, el papel de los relojes moleculares presentes en cerebro sobre la FAA continúa siendo desconocidas. El pez cebra puede ser un buen modelo para el estudio la FAA a nivel molecular, ya que en la actualidad, es la especie de teleósteo de la que más información se dispone a nivel molecular. En esta especie, el gen reloj *per1*, ha sido muy utilizado como un indicador de la fase de los relojes moleculares y además es considerado crucial para la sincronización del comportamiento y de los relojes moleculares. Por otro lado, se ha sugerido que el gen *cry1* está implicado en los mecanismos de sincronización por luz de los relojes moleculares. El objetivo de este estudio fue investigar si los ciclos de alimentación modulan la expresión de los genes reloj, *per1* y *cry1*, en cerebro de peces cebra sometidos a alimentación periódica.

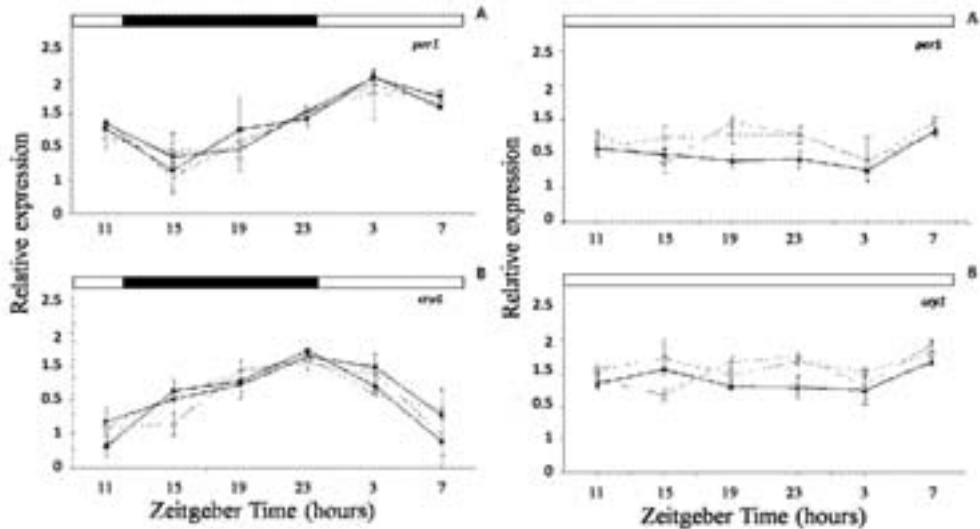
Material y Métodos

Para estudiar el efecto sincronizador de la luz y el alimento sobre la expresión de genes reloj en cerebro de peces cebra, los peces fueron sometidos a diferentes regímenes lumínicos y alimenticios: alimentación periódica, aleatoria y ayuno bajo un ciclo LD y LL. Los peces fueron sacrificados y diseccionados a lo largo de un día. Cada 3 horas, se obtuvieron muestras de cerebro de tres peces diferentes, para cada uno de los grupos experimentales. Las muestras fueron homogeneizadas en TRIzol (Invitrogen) y procesadas usando PureLink Micro-to-Midi Systems (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de RNA fue determinada por espectrofotometría y 1 µg fue utilizado para la síntesis de cDNA. Por último, se midió la expresión de *per1* y *cry1* por PCR a tiempo real utilizando SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) y ABI Prism 7500 (Applied Biosystems). La expresión de *per1* y *cry1* fue normalizada utilizando el gen GAPDH.

Resultados y Discusión

Nuestros resultados mostraron que la expresión de *per1* y *cry1* en cerebro de pez cebra se mantiene sincronizada al fotoperiodo, independiente del régimen de alimentación (periódico, aleatorio o ayuno). Además, bajo LL, la expresión de *per1* y *cry1* no mostró un ritmo circadiano, aunque si hubo una sincronización de los ritmos de comportamiento al ciclo de alimentación. Estos resultados sugieren que el reloj molecular cerebral en esta especie es sincronizado principalmente por el fotoperiodo y además sugieren que el posible oscilador endógeno que es entrenado por los ciclos de alimentación está localizado fuera del cerebro, o bien en una parte específica del cerebro quedando enmascarado por la expresión global a nivel de todo el cerebro.

Figura 1. Expresión de *per1* y *cry1* en cerebro de pez cebra sometido a un fotoperiodo 12L:12D (A y B) y a luz continua (B y C). Los peces fueron sometidos a diferentes regímenes de alimentación (periódica, aleatoria, y ayuno). No se observaron diferencias en la expresión de *per1* y *cry1* debidos a los diferentes regímenes de alimentación



Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL 2007-66507-C02-02 y «Aquagenomics» (nº 28502) del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- Noeske-Hallin, T.A., R.E Spieler, N.C Parker y M.A. Suttle. 1985. Feeding time differentially affects fattening and growth of channel catfish. *J Nutr.* 115: 1228-1232
- Sanchez-Vazquez F.J., J.A. Madrid, S. Zamora y M. Tabata. 1997. Feeding entrainment of locomotor activity rhythms in the goldfish is mediated by a feeding-entrainable circadian oscillator. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol.* 181: 121-132
- Sanchez-Vazquez F.J., A. Aranda y J.A. Madrid. 2001. Differential effects of meal size and food energy density on feeding entrainment in goldfish. *J Biol Rhythms.* 16: 58-65
- Sanchez-Vazquez F.J. y J.A. Madrid. 2001. Feeding Anticipatory Activity. En: Food Intake in Fish. D. Houlihan, T. Boujard y M. Jobling (Eds.). *Blackwell Science.* 216-232 pp.
- Sánchez J.A., J.F. Lopez-Olmeda y F.J. Sanchez-Vazquez. 2009. Effects of feeding Schedule on locomotors activity rhythms and stress response in sea bream. *Physiology and Behavior.* In press

Supervivencia de bacterias probióticas encapsuladas en alginato durante su exposición *in vitro* a condiciones digestivas de pez

V. Sánchez¹, T. F. Martínez¹, M. C. Balebona² y F. J. Alarcón¹

¹ Dpto. Biología Aplicada, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería, La Cañada de San Urbano. 04120 Almería. E-mail: falarcon@ual.es

² Dept. Microbiología. Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus Teatinos. 29071 Málaga

Abstract

Alginate beads were produced to evaluate the survival of the probiotic strain Pdp-11 after exposure to different *in vitro* gastric and intestinal fish digestive conditions using *Solea senegalensis* digestive extracts. Samples of free and encapsulated bacteria were incubated at different pH in the presence of stomach or intestine fish extracts. Survival of bacteria after incubation was enumerated by plate counts in TSA agar at 22 °C for 24 h. The encapsulation could be used to protect the probiotic at gastric conditions higher of pH 3. Also, alginate encapsulation protects the cells during their exposure at most of the intestinal conditions assayed. This study showed that alginate could be used to encapsulate probiotic bacteria for fish.

Justificación

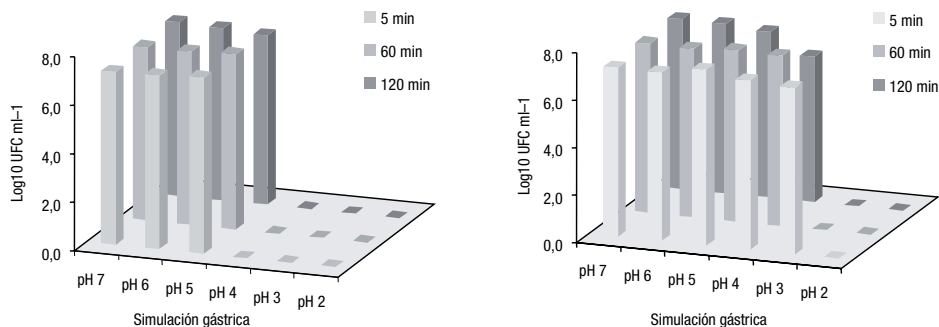
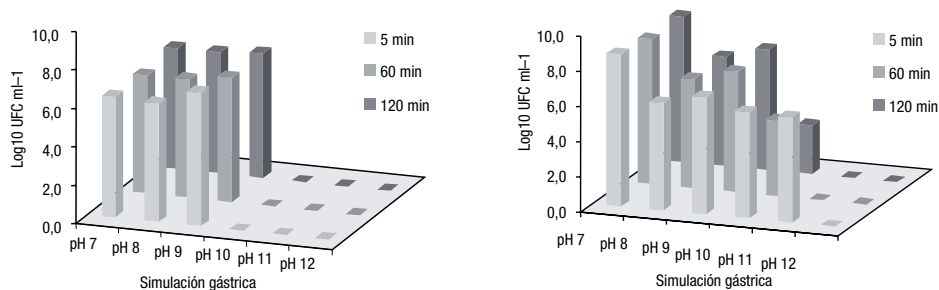
Los probióticos producen efectos beneficiosos en la salud de los peces de acuicultura. Sus ventajas terapéuticas han determinado un incremento de su uso para incorporarlos como un aditivo en piensos de acuicultura. La eficacia de las bacterias probióticas adicionadas al alimento depende de la dosis incorporada, de su viabilidad durante el almacenamiento del alimento y de su capacidad para sobrevivir durante el paso por el sistema digestivo del pez. Debido a la naturaleza de algunos probióticos, su supervivencia en un número suficientemente elevado durante el tránsito por el sistema digestivo del pez sigue siendo un reto para la liberación efectiva de estas células beneficiosas. La encapsulación de bacterias ha suscitado cierto interés debido a su potencial para poder incrementar la viabilidad de los probióticos cuando en el sistema digestivo se presentan condiciones ácidas, ya que disminuye el efecto de esta fase sobre las bacterias y reduce el daño celular en las mismas. Entre las técnicas disponibles, la encapsulación con alginato cálcico se utiliza frecuentemente para englobar bacterias lácticas. El alginato presenta la ventaja de no ser tóxico y es un aditivo autorizado en alimentación animal. Además, la retención de las células en las cápsulas es reversible cuando se retiran los iones calcio de la matriz de alginato polimerizada, por lo que las células pueden liberarse en la región intestinal de los peces. *Shewanella putrefaciens* Pdp-11 es una bacteria aislada de la epidermis de doradas de acuicultura. En estudios previos se ha confirmado que esta cepa bacteriana funciona como probiótico en lenguado senegalés. Sin embargo, hasta la fecha su viabilidad en el tracto gastro-intestinal de peces no ha sido estudiada con detalle. El presente trabajo evalúa la supervivencia de las células probióticas libres o encapsuladas en alginato cuando se exponen *in vitro* a condiciones digestivas de pez, que incluyen la simulación de la fase gástrica y de la fase intestinal, respectivamente.

Material y Métodos

Las bacterias probióticas se cultivaron en agar de soja triptona complementado con NaCl. Las bacterias se encapsularon en una matriz de estéril de alginato sódico al 2%. Se determinó el peso y el diámetro de cien cápsulas. El conteo de bacterias viables en las cápsulas se realizó por cuadruplicado en muestras de tres cápsulas tras su disolución en NaHCO₃ estéril. Los extractos enzimáticos de *S. senegalensis* se obtuvieron mediante homogenización manual de las muestras de estómago e intestino en agua destilada. Tras cuantificar la actividad proteasa ácida estomacal y la actividad proteasa alcalina intestinal de los extractos crudos se realizó la simulación *in vitro*. En la simulación digestiva, el jugo digestivo de pez se preparó diluyendo 1 ml del extracto enzimático crudo en 4 ml de tampón estéril. Para las condiciones gástricas se utilizaron tampones en el rango de pH 2 a pH 7 y para las condiciones intestinales tampones de pH 7 a 12. Según el caso, una suspensión de bacterias libres o 50 cápsulas con bacterias encapsuladas se incubaron con de jugo digestivo durante 120 min en agitación continua. A distintos tiempos se tomaron muestras para determinar la supervivencia de las células libres o encapsuladas durante la simulación digestiva. Los valores se expresaron como media ± SEM y se analizaron mediante ANOVA seguido de un test LSD.

Resultados y discusión

El diámetro y peso de las cápsulas fue de 3,7 ± 2,3 mm y 14,8 × 1,7 mg, respectivamente.

Figura 1. Supervivencia de las bacterias libres (a) y encapsuladas con alginato (b)**Figura 2.** Supervivencia de las bacterias PDP-11 libres (a) y encapsuladas con alginato (b)

Simulación gástrica: No se observó reducción significativa en el recuento de bacterias viables después de 120 min de simulación gástrica a pH 7, 6 y 5, tanto en las células libres como en las encapsuladas. Sin embargo, se encontró una disminución notable en la supervivencia de las bacterias libres tras su exposición a pH 4, 3 y 2. Las bacterias libres mostraron una drástica reducción de su viabilidad (0 log₁₀ UFC/ml) después de 5 min de incubación a los pH más ácidos (Fig. 1a). La encapsulación mejoró perceptiblemente la supervivencia de las células a pH 4, puesto que las bacterias seguían siendo totalmente viables a los 120 min (Fig. 1b). A pH 3, este efecto protector se comprobó únicamente durante los primeros 5 min, y no se registró ninguna protección cuando las cápsulas fueron incubadas a pH 2.

Simulación intestinal: No se encontraron diferencias significativas en la viabilidad de las bacterias libres durante 120 min de simulación intestinal a pH 7, 8 y 9, indicando que estos valores de pH no tienen efecto negativo en su supervivencia (Fig. 2a). Sin embargo, en la simulación con las bacterias libres la supervivencia se redujo de 7,0 a 0 log₁₀ UFC/ml en el jugo intestinal simulado después de 5 min de exposición a pH 10. Por el contrario, la encapsulación con alginato mejoró la viabilidad de bacterias a pH 10, comprobándose que el 100%, 71% y 46% de las bacterias permanecían viables después de 5, 60 y 180 min de exposición a las condiciones de simulación intestinal, respectivamente. A pH 11, las células probióticas encapsuladas permanecieron viables en los primeros cinco minutos de incubación, y no se registró ninguna protección cuando las cápsulas fueron incubadas a pH 12 (Fig. 2b).

Los datos obtenidos confirman que las bacterias encapsuladas sobreviven mejor a las condiciones digestivas simuladas que las células libres. Las cápsulas de alginato pueden utilizarse como un vehículo seguro para administrar bacterias probióticas viables a peces de acuicultura.

Agradecimientos

Parte de este trabajo ha sido financiado por los proyectos PET2006-0104-01, RTA-2007-00026-C02-02 del INIA, los fondos FEDER y el incentivo AGR 1842.

Sustitución de la harina de pescado por una mezcla de concentrados proteicos de guisante y arroz para la alimentación de dorada

N. Sánchez-Lozano, S. Martínez-Llorens, A. Tomás, y M. Jover

Instituto de Ciencia Animal y Tecnología. Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46071 Valencia (España). Silvia Martínez-Llorens, silmarll@dca.upv.es. Tel: 96-3879752; Fax 96-3877439

Abstract

Partial replacement of fish meal by a vegetal mixture (Pea Protein Concentrate (PPC) and Rice Protein Concentrate (RPC)) was carried out in on-growing gilthead sea bream (initial average weight 174 g). The experimental diets were isoproteic (48% CP) and isolipidic (18%) with 0, 30, 60 and 90% of fish meal replaced by a mix of supplemented with Methionine and Lysine. At the end of the trial (80 days), fish survival was 90%. In growth parameters there was only statistical difference with fish fed with 90% (326 g and SGR: 0.78% day⁻¹) diet. No significant differences were found in feed intake ratio (FI), which was around 1.70 to 1.96 g 100 g fish⁻¹ day⁻¹, feed conversion ratio, around 1.9 to 2.4 and protein efficiency ratio, which ranged from 0.96 to 1.2. The mix of pea protein concentrate and rice protein concentrate can replace fish meal until a 60% without altering fish growth and feed efficiency.

Justificación

Es importante encontrar fuentes alternativas a las harinas y aceites de pescado para nuestras producciones acuícolas que, por un lado abaraten los costes de la producción de los piensos y por otro, reduzcan la presión sobre los caladeros naturales. El concentrado proteico de arroz, libre de modificación genética (GMO Free), es un subproducto originado de la fabricación de almidón de arroz. Este subproducto se caracteriza por su alto contenido en proteína altamente digestible, una gran pureza, y por su bajo contenido en fibra bruta y cenizas. El concentrado proteico de arroz es una muy interesante materia prima pues tiene un adecuado perfil de aminoácidos, que combinan con otras fuentes proteicas, para sustituir a la harina de pescado en la alimentación de peces. El concentrado proteico de guisante se han obtenido resultados de crecimiento similares que con la torta de soja, pudiéndose incluir por encima del 40% de esta materia prima en piensos de dorada sin perjudicar el crecimiento y los parámetros nutritivos.

Material y Métodos

Se emplearon 240 doradas de peso inicial 174 g, las cuales fueron alimentadas con 4 dietas experimentales a las que se les sustituyó el 0, 30, 60 y 90% (MV 0, 30, 60 y 90, respectivamente) de harina de pescado por la mezcla de concentrado proteico de guisante y arroz (Tabla 1).

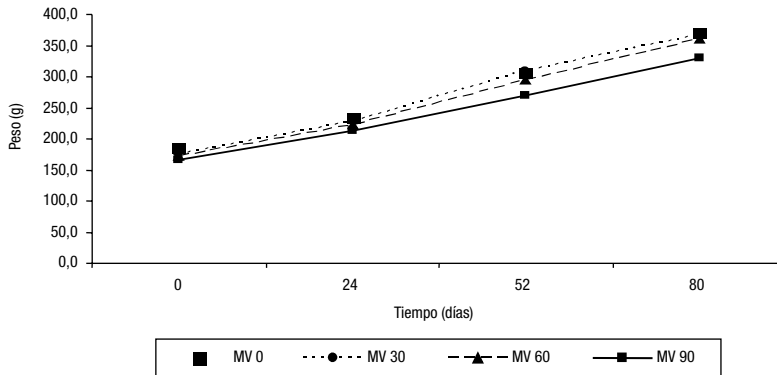
Las doradas fueron distribuidas en 12 tanques de 1500 l (tres replicas por tratamiento), alimentándose a saciedad dos veces al día. Cada 28 días se muestrearon los peces para determinar los parámetros de crecimiento y eficiencia nutritiva.

Resultados y Discusión

La evolución de los pesos medios de las doradas alimentadas con los cuatro tratamientos durante los 80 días se refleja en la Figura 1. El crecimiento fue bueno en todos los tratamientos, pudiéndose observar que

Tabla 1. Formulación de los piensos experimentales

Ingredientes (g kg ⁻¹)	MV 0	MV 30	MV 60	MV 90
Harina de pescado	609	421	233	45
Concentrado prot. guisante		82	164	246
Concentr. proteico de arroz		110	219	329
Trigo	196	178	161	142
Dextrina	50	50	50	50
Aceite de soja	40	40	40	40
Aceite de pescado	95	104	113	122
Metionina		1	2	3
Lisina		4	8	13
Complejo Vitamínico-Mineral	10	10	10	10

Figura 1. Evolución de los pesos obtenidos con los diferentes niveles de sustitución en los 80 días de experimento**Tabla 2.** Efectos de las sustituciones vegetales en los parámetros de crecimiento y eficiencia proteica de la dorada

Parámetros	0%	30%	60%	90%	E.S
Peso Inicial	174	176	171	177	21.47
Peso Final	372 ^a	367 ^a	364 ^a	326 ^b	6.23
TCI	0.96 ^a	0.95 ^a	0.93 ^a	0.78 ^b	0.02
ICA	1.95	1.96	1.72	1.70	0.14
TAD	2.40	2.28	1.92	2.39	0.14
CEC	0.99	1.01	1.20	0.96	0.06

únicamente los peces alimentados con el tratamiento 90% presentaron un menor crecimiento sobretodo en los últimos muestreos.

Los resultados globales de crecimiento y parámetros nutritivos se pueden ver en la Tabla 2. Tanto en el peso final y como en el TCI hubo diferencias significativas, de forma que las doradas alimentadas con el tratamiento 90% obtuvieron los peores valores. En cuanto a los parámetros nutritivos no hubo diferencias entre piensos.

Agradecimientos

Este trabajo experimental fue financiado por la Generalitat Valenciana (GVPRE/2008/358) y por la Universidad Politécnica de Valencia (PAID -06-08).

Efectos sobre el crecimiento de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) alimentadas con juveniles de *Artemia* suplementados con aminoácidos libres

P. Seixas^{1,2}, A. Otero², C. Araújo³, L. Valente⁴ y M. Rey Méndez¹

¹ Grupo de Sistemática Molecular de la Universidad de Santiago de Compostela (Unidad Asociada al CSIC), CIBUS, Campus Sur, 15782-Santiago de Compostela. e-mail: manuel.rey.mendez@usc.es

² Dpto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología - CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela

³ CIMAR/CCMAR - Centro de Ciências do Mar do Algarve, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

⁴ CIMAR/CIIMAR - Centro I. de Investigação Marinha e Ambiental y ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Rua dos Bragas, 177, 4050-123 Porto, Portugal

Abstract

The major bottleneck in *Octopus vulgaris* culture is the rearing of its paralarval life stage, being the modulation of *Artemia* composition one of the key issues pointed out to solve this problem. In this study octopus paralarvae were fed juvenile *Artemia* enriched with microalgae alone or further boosted with free aminoacids (AA) dissolved in the water. Positive effects were observed with this procedement, as the growth of paralarvae was maximum in the group fed *Artemia* supplemented with the free AA.

Justificación

El principal cuello de botella del cultivo integral del pulpo común es la obtención de juveniles bentónicos a partir de las paralarvas planctónicas. Las paralarvas son depredadoras carnívoras, cuyo contenido proteico es alrededor de un 70% de su peso seco (Villanueva *et al.*, 2004). Estudios previos relacionados con el enriquecimiento de juveniles de *Artemia* con distintas microalgas han demostrado que algunos aminoácidos (AA) esenciales podrían ser deficitarios en relación a la composición corporal de las paralarvas (Seixas *et al.*, 2007). En este trabajo se analizaron los efectos de suplementar juveniles de *Artemia* con aminoácidos esenciales (AAE) libres, sobre el crecimiento de paralarvas de pulpo.

Material y Métodos

El cultivo de paralarvas se realizó en tanques tronco-cónicos de 50 L de volumen, por triplicado, en un circuito de agua semi-cerrado, estableciéndose un caudal de 11 L h⁻¹. La densidad inicial fue de 10 paralarvas L⁻¹, la temperatura se mantuvo constante a 19,5±0,5 °C y se estableció un fotoperíodo de 18h luz/6h oscuridad. Las tres dietas probadas consistieron en juveniles de *Artemia* (1,6-2,8 mm) enriquecidos, distribuidos en tres tomas, en un total de 0,05 *Artemia* ml⁻¹ día⁻¹. El enriquecimiento de los juveniles de *Artemia* se hizo con la microalga *Nannochloropsis gaditana* - grupo ANANO; una mezcla de las microalgas *Rhodomonas lens* e *Isochrysis galbana* (en una proporción de un 70:30 en porcentaje de peso seco) - grupo AR+I; la misma mezcla de microalgas complementada con AA libres disueltos en las siguientes concentraciones: 3,4 mM lisina, 2,5 mM arginina, 1,5 mM metionina - grupo AR+I+AA.

Resultados y Discusión

La composición bioquímica de los juveniles de *Artemia* utilizados para alimentar las paralarvas se presenta en la tabla I. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos. La fracción de AA libres fue considerablemente más alta en los grupos AR+I y AR+I+AA, y se observó un incremento de los AA lisina y metionina en el grupo AR+I+AA, frente al grupo AR+I.

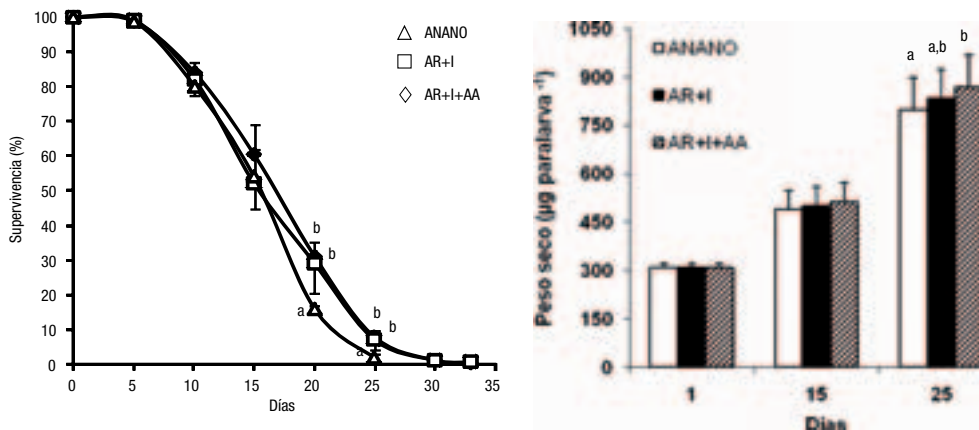
Al cabo de 25 días de cultivo se observaron diferencias significativas en la supervivencia y el peso seco de las paralarvas (Fig. 1), siendo que el grupo AR+I+AA presentó los mejores resultados.

La suplementación de *Artemia* con AAE libres produjo efectos positivos en el crecimiento de las paralarvas, por lo que sería interesante seguir esta línea de investigación, con el fin de determinar los posibles requerimientos de AA de las paralarvas.

Tabla I. Composición bioquímica (% del peso seco) y de aminoácidos libres (mg/g peso seco) de los diferentes juveniles de *Artemia* (1,6-2,8 mm) suministrados a las paralarvas de pulpo. AAL: aminoácidos libres totales. (Media±desv. est., $P<0.05$)

ANANO	AR+I	AR+I+AA	
Proteína (N x 6,25) %	65,5±0,3	64,8±0,4	65,9±1,2
Lípidos %	10,4±0,8	10,7±1,1	10,7±0,9
Carbohidratos %	9,6±0,7	10,6±0,7	9,6±0,5
AAL %	2,6±0,16 ^b	4,6±0,23 ^a	4,6±0,37 ^a
Lisina (mg/g peso seco)	1,5±0,18 ^c	2,9±0,30 ^b	3,6±0,32 ^a
Arginina (mg/g peso seco)	2,6±0,26	3,1±0,19	3,1±0,27
Metionina (mg/g peso seco)	0,4±0,04 ^c	1,0±0,11 ^b	1,7±0,09 ^a

Figura 1. Supervivencia y peso seco de las paralarvas de pulpo a lo largo del periodo de cultivo



Agradecimientos

P. Seixas ha sido financiado a través de una beca predoctoral (Ref. SFRH/BD/16419/2004) por Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal), en el periodo 2004-2008.

Este trabajo ha sido financiado por JACUMAR – Secretaria General de Pesca Marítima, España.

Bibliografía

- Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L.M.P y A. Otero. 2007. Producción y enriquecimiento de *Artemia* sp. con distintas microalgas marinas como alimento para paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*). En: *Libro de Resúmenes del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 643-646.
- Villanueva, R., Riba, J., Ruíz-Capillas, C., González, A.V. y M. Baeta. 2004. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*. 242: 455-478.

Crecimiento compensatorio en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Parastacidae): II. Protocolo de inanición-alimentación

L. Stumpf, N. Calvo y L.S. López Greco

Laboratorio de Biología de la Reproducción y Crecimiento en Crustáceos, Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN, Universidad De Buenos Aires, Cdad. Univ. C1428EHA, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: lia.stumpf@gmail.com, laura@bg.fcen.uba.ar

Abstract

The effect of intermittent feeding on compensatory growth in juveniles stage III of *Cherax quadricarinatus* was evaluated. The experiment consisted of alternate periods of feeding and starvation until moult to stage IV, followed by a refeeding period. Juveniles were divided into eight treatments of intermittent feeding and two controls. This protocol began with starvation of the juveniles. After the first moult, the growth increment (GI) and specific growth rate (SGR) were significantly different between treatments and all were significantly lower than continuous feeding (CF). At 15 and 30 days, the GI and SGR showed not differences in relation to CF showing the capacity to compensate growth in this juvenile stage although survival was significantly lower in treatments that began starvation with more than 4 days.

Justificación

Luego de un período de inanición, el adecuado retorno a condiciones de alimentación frecuentemente resulta en un estímulo en el crecimiento que en organismos acuáticos ha sido destacado como una importante aplicación para la acuicultura (Wu y Dong, 2002). En el presente estudio se evaluó el efecto de un protocolo de alimentación intermitente en juveniles tempranos de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. Este protocolo de modo similar a los desarrollados en camarones peneidos comienza el esquema de restricción con días de inanición seguido por días de alimentación y en *C. quadricarinatus* se busca evaluar si esta metodología es implementable para reducir los costos de alimentación.

Material y Métodos

Doscientos juveniles fueron obtenidos bajo condiciones de laboratorio. El peso inicial varió entre 13,6 mg y 16,3 mg. Cada juvenil fue colocado en un recipiente plástico (250 cm³) con 200 ml de agua de clorada (27±1°C) y un trozo de red (3x3cm) como refugio. Estos juveniles (estadio III) fueron distribuidos aleatoriamente en 8 tratamientos y 2 controles. El protocolo utilizado consistió de periodos alternados de restricción alimentaria (inanición y alimentación) y fue mantenido hasta que el juvenil mudara al estadio IV, en todos los tratamientos. Al mudar, los juveniles fueron alimentados *ad libitum* diariamente hasta el final del experimento. La ganancia de peso para los 15 y 30 días fue calculada a partir de la 1^{ra} muda, mientras que los días totales de alimentación en cada tratamiento fueron calculados a partir del inicio del experimento.

Los tratamientos fueron denominados de inanición-alimentación (IA) y los juveniles fueron expuestos a 1 día de inanición y 1 día de alimentación (IA1), 2 días de inanición y 2 días de alimentación (IA2), 3 días de inanición y 3 días de alimentación (IA3), 4 días de inanición y 4 días de alimentación (IA4), 5 días de inanición y 5 días de alimentación (IA5), 6 días de inanición y 6 días de alimentación (IA6), 7 días de inanición y 7 días de alimentación (IA7) y 8 días de inanición y 8 días de alimentación (IA8). Los tratamientos controles fueron: inanición continua (IC) y alimentación continua (AC).

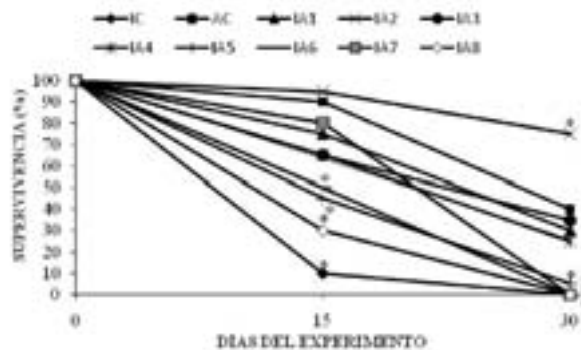
Resultados y Discusión

En los tratamientos IA1, IA4, IA5 y IA7 se obtuvieron menor cantidad de juveniles mudados ($p < 0,05$) respecto a AC mientras que en IC, IA6 e IA8 ningún juvenil mudó al estadio IV. En IA5 y IA7 la duración del estadio III fue significativamente mayor ($p < 0,05$) (13,00±1,41 días y 14,71±0,71 días, respectivamente) que el control AC (8,22±3,48 días). Durante el periodo de restricción en todos los tratamientos se obtuvieron menores ($p < 0,05$) valores de la ganancia en peso (%GP) y de la tasa de crecimiento específica (TCE) respecto a AC (Figura 2). Esto indica que al empezar la restricción alimentaria bajo condiciones de inanición, los juveniles no pueden compensar completamente, contrariamente a lo que ocurrió con el protocolo de alimentación-inanición (Stumpf *et al.* 2009 presente congreso) durante el mismo periodo. Durante la fase de realimentación (15 días del experimento) todos los tratamientos pudieron obtener la misma ganancia de peso que AC lo

Tabla 1. Ganancia de peso de los juveniles de *Cherax quadricarinatus* durante el período de restricción y realimentación. Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0,05$, ns: sin sobrevida de los que lograron mudar, **: sólo un ejemplar, *: no lograron mudar)

Tratamientos	AC	IA1	IA2	IA3	IA4	IA5	IA6	IA7	IA8
1.ª Muda									
Días de alimentación	7	4	4	4	4	5		7	
Ganancia de peso (%)	63,98±27,54 ^a	41,1±17,15 ^{bc}	29,92±8,9 ^b	27,4±11,03 ^{bd}	24,93±9,68 ^{bd}	41,71±6,94 ^b	*	32,83±23,86 ^b	*
15 días									
Días de alimentación	15	12	10	9	10	10	≠	≠	≠
Ganancia de peso (%)	31,88±29,65 ^a	34,55±30,06 ^a	18,83±20,52 ^a	18,71±24,77 ^a	31,71±23,28 ^a	4,33±5,61 ^a	ns	**	*
30 días									
Días de alimentación	30	27	25	24	26	≠	≠	≠	≠
Ganancia de peso (%)	118,58±65,77 ^a	128,42±45,74 ^a	144,08±36,11 ^a	188,58±72,62 ^a	131,25±12,65 ^a	ns	ns	ns	*

Figura 2. Supervivencia de los juveniles de *Cherax quadricarinatus* durante el experimento. Las diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto de AC se indican con *



que se mantuvo hasta el final del experimento demostrando la compensación posterior cuando disponen de alimento (Tabla 1). La supervivencia a los 15 días fue significativamente más baja para los tratamientos IC, IA5, IA6 y IA8 que AC. Al finalizar el experimento los tratamientos que empezaron con más de 4 días de inanición tuvieron baja supervivencia en relación a AC (Figura 2).

Al comparar los dos protocolos, se observa que durante el período de alimentación intermitente, el grupo que empezó con inanición obtuvo menor ganancia de peso respecto del que comenzó con alimentación así como menor sobrevida. Luego de pasado el período de restricción ambos protocolos muestran similares en relación a la capacidad de compensación de los juveniles de *C. quadricarinatus*.

Agradecimientos

PICT 2007-01187, PIP 00129, UBACYT X453. Carlos Anselmi, Granja Las Golondrinas S.A., Argentina

Bibliografía

Wu, L. y Dong, S. 2002. Effects of protein restriction with subsequent realimentation on growth performance of juvenile Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). *Aquaculture*. 210: 342-358.

Resultados preliminares. Aceptación y crecimiento individual de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) alimentado con pienso extrusionado

A. Tomás¹, A. V. Moñino¹, S. Martínez-Llorens¹, J. Cerezo Valverde² y M. Jover¹

¹ Instituto de Ciencia Animal y Tecnología. Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46071 - Valencia (España). atomasv@dca.upv.es. Tel: 96-3879385; Fax 96-3877439 2 IMIDA-Acuicultura. Murcia

Abstract

The effect of an extruded pelleted diet on growth of the *Octopus vulgaris* was determined and compared with a crab diet. One group of six wild octopus were used, which were placed in a recirculation marine water system composed six rectangular aquarium (150 l). Experimented lasted four weeks, and octopus were weighed every 14 days to determinate growth rates. Octopuses were fed to satiation once a day. Uneaten food was removed after 3 h in the tanks and weighed, to determinate food ingestion and conversion. Experimental diet was accepted from first to 28 day. Final weight of octopus fed extruded diets was lightly higher with respect to initial, but final weight of octopus fed crab was lower.

Justificación

Uno de los principales problemas del desarrollo industrial del engorde del pulpo se centra en la ausencia de piensos artificiales que sean aceptados y cubran las necesidades nutritivas de esta especie.

En los últimos años se han realizado diferentes trabajos con dietas húmedas y secas en pulpo donde la aceptación ha sido buena, aunque con un crecimiento inferior que con un alimento natural. El objetivo de este trabajo es estudiar la aceptación y el crecimiento individual del pulpo alimentado con cangrejo y un pienso extrusionado.

Material y Métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre y alojados en las instalaciones del IMIDA de Murcia antes de ser trasladados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, donde fueron transferidos a acuarios individuales de 150 l mantenidos en circuito cerrado (T= 18°C). El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente un mes, periodo en el cual se les alimentó con cangrejo (*Carcinus mediterraneus*). Durante cuatro semanas se ensayaron dos tipos de dietas: un pienso extrusionado a base de krill, trigo, gelatina y maltodextrina y una dieta control a base de cangrejo.

El procesado de los piensos se realizó en un extruder semi-industrial Clextral modelo BC45., cuyas condiciones de velocidad, presión y temperatura son 20 r.p.m, 40 atm y 125 °C respectivamente, 10 mm de diámetro y entre 8 y 10 cm de longitud del pellet.

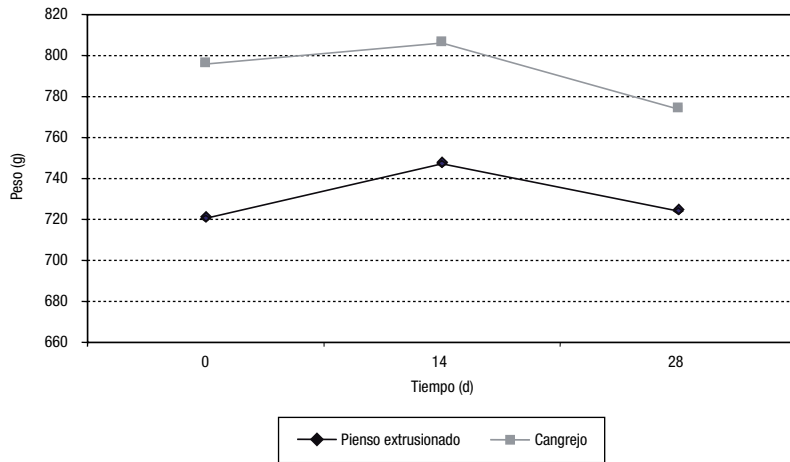
Ambas dietas se suministraron seis días a la semana en una única toma a las 10 de la mañana, recogándose el alimento sobrante a las tres horas, que se secó y se pesó para calcular la ingesta diaria.

Resultados y Discusión

Aceptación del pienso: el pienso extrusionado fue aceptado por los ejemplares de pulpo que estuvieron consumiéndolo diariamente desde el principio hasta el final del experimento, ya que aunque algunos días no cogieron el pienso, tampoco los pulpos alimentados con el cangrejo se alimentaron todos los días.

Prueba de crecimiento: la evolución del peso se representa en la Figura 1, en la cual podemos observar que durante los primeros quince días el crecimiento de los pulpos alimentados con los dos tipos de dietas fue positivo, aumentando una media de unos 10 g los alimentados con cangrejo y de 30 g los que comían el pienso extrusionado. En el segundo periodo, la tasa de alimentación disminuyó en ambas dietas, y prácticamente todos los ejemplares perdieron peso.

Los animales alimentados con pienso extrusionado presentaron una menor tasa de alimentación diaria (Tabla 1), lo que coincide con trabajos anteriores con piensos húmedos o piensos secos. Hubo diferencias significativas en el crecimiento, aunque en los pulpos alimentados con cangrejo se produjo una ligera disminución respecto al peso inicial, esto junto con la mayor ingesta hace que el índice de conversión con

Figura 1. *Peso inicial, intermedio y final de los piensos alimentados con pienso extrusionado y cangrejo***Tabla 2.** *Índices de crecimiento y aprovechamiento nutritivo de las dietas*

Parámetro	Pienso extrusionado (N = 4)	Cangrejo (N = 2)
Peso inicial (g)	720.7±53.4	796.0±65.4
Peso final (g)	749.4±35.8	735.8±44.9
TCl (%/día)	0.11±0.07	-0.05±0.07
TAD(g 100 g/d)	0.65b±0.08	1.87 ^a ±0.10
IC	5.2±2.1	14.4±3.0

esta dieta sea superior, lo cual difiere de todos los trabajos realizados hasta el momento, donde siempre el crecimiento con alimento natural era significativamente superior que con el resto de dietas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Cultivos Marinos (JACUMAR) a través de la Consellería de agricultura, Pesca y Alimentación de la generalitat Valenciana.

Preengorde en suspensión de semilla de almeja fina (*R. decussatus*) en el Delta del Ebro. Efecto de la longitud inicial y densidad sobre el % de supervivencia y crecimiento

O. Vallejo¹ y J. Gómez²

¹ Escuela de Acuicultura del IES Els Alfacs, Crta. Poble Nou, km 5.5, s/n. 43540. Sant Carles de la Ràpita (Tarragona)
e-mail: ovallsol@mixmail.com

² Departamento de Agricultura, Alimentación i Acció Rural. SSTT Terres de l'Ebre.

Abstract

This study describes the pregrowing of clam spat (*R. decussatus*) in suspended by means of baskets to different densities, and with a initial longitude of 2.2 mm. Thus it is tried to find out growth and mortality of each basket, to optimize this phase of the production.

Justificación

Para esta especie de alto valor comercial en el Mediterráneo, debido a la falta de experiencias prácticas sobre esta fase de cultivo en el Delta del Ebro, se necesita avanzar más en el conocimiento del potencial de esta especie y en los parámetros zootécnicos que presenta en la fase de preengorde, con el objetivo de aportar datos significativos que puedan ser transferidos al sector productivo. Mediante esta experiencia se pretende determinar si es viable técnicamente comenzar el preengorde en suspensión en el medio natural a una longitud aproximada de 2 mm., pudiendo así obtener una mayor rentabilidad económica.

Material y Métodos

La producción de almeja en suspendido se realizó en un emparrillado de la Bahía de los Alfaques (Delta del Ebro) con semillas procedentes del IRTA Sant Carles de la Ràpita, y con una longitud media de 2.2 mm. se distribuyeron a diferentes densidades en el lote inicial (Lote A). Las almejas se depositaron en tres niveles diferentes (superior, intermedio e inferior) de manera que en el superior había 20000 almejas/cesto y en los niveles intermedios e inferior había 10000 almejas/cesto. El lote de cestos estaba formado por 8 cestos apilados de iguales dimensiones, sirviendo el primero de tapadera, el último de lastre y 3 cestos vacíos intercalados entre los 3 cestos que contenían a las almejas. Cada cesto tenía 40 cms. de diámetro, 10 cms. de altura con una luz de malla de 3 cms, cuya base y laterales estaban forrados manualmente con malla «Intermas» con una abertura de 1 mm., donde se depositaron las semillas.

Durante el primer mes, se muestreó semanalmente para determinar peso húmedo unitario, longitud y % de supervivencia medios. En adelante los muestreos fueron quincenales y mensuales hasta finalizar la experiencia a mediados de mayo al detectarse una elevada mortalidad (90%). Se llevo a cabo una separación de tallas, mediante un tamiz de 3 mm. de abertura de malla, estableciéndose dos lotes, uno con las cabezas (Lote B) y otro con las colas (Lote C) y un desdoble de biomasa antes del último muestreo, reduciendo la densidad del Lote B de 5000 a 2500 ind/cesto y la del Lote C de 10000 a 5000 ind/cesto. Durante el período de crecimiento cuando las semillas llegaron a una longitud media de cercana a los 6 mm se cambiaron a cuarterones de 2.5 mm. y cuando llegaron a una longitud media aproximada de 8 mm. se distribuyeron en cuarterones de 4 mm. de abertura de malla. Los datos fueron anotados y se registraron en una hoja de cálculo (Excel) para su posterior cálculo e interpretación.

Resultados y Discusión

Los resultados están resumidos en la Tabla 1. El crecimiento en longitud y peso durante el primer mes fue óptimo, llegando a sobrepasar los 5 mm y un peso húmedo unitario alrededor de 20 mg, no observándose diferencias significativas entre las densidades de 20000 ind/cesto (5.07 mm. y 20 mg) y 10000 ind/cesto (5.23 mm. y 21.1 mg) en cuanto a longitud y peso, respectivamente. A partir de los 4 mm. se comenzó a detectar una ligera mortalidad, la cual se hizo más acusada (40 a 50%) cuando llegaron las semillas contenidas en malla de 1mm., casi a los 6 mm. de longitud media. A partir de aquí se clasificaron por tallas y no se volvió a detectar mortalidad en ninguno de los dos lotes, hasta el último muestreo, justo cuando se desdoblaron de biomasa. En el Lote B, las almejas de mayor crecimiento llegaron a los 11.66 mm. y a un peso unitario de 350 mg y las almejas del Lote C de menor crecimiento, alcanzaron los 7 mm. y un peso de 79 mg, con unas densidades de 5000 y 10000 ind/cesto, respectivamente.

Tabla 1. *Parámetros zootécnicos preengorde almeja fina (R. decussatus)*

CLASIFICACIÓN POR TALLAS								
Lote A								
Fecha	Densidad (ind/cesto)	Longitud (mm)	Peso (mg)	% superv.	Densidad (ind/cesto)	Longitud (mm)	Peso (mg)	% superv.
14/10	20000	2.18	3.9	100	10000	2.18	3.9	100
21/10	20000	2.62	7.2	100	10000	2.72	7.4	100
28/10	20000	3.28	12.1	100	10000	3.55	12.5	100
11/11	20000	5.07	20	80	10000	5.23	21.1	85
27/11	20000	5.8	69	50	10000	5.96	70	60
DESDOBLE DE BIOMASA								
Lote B								
Lote C								
Fecha	Densidad (ind/cesto)	Longitud (mm)	Peso (mg)	% superv.	Densidad (ind/cesto)	Longitud (mm)	Peso (mg)	% superv.
18/12	5000	6.79	82	100	10000	3.63	15	100
05/02	5000	8.24	120	100	10000	4.2	25	100
12/03	5000	8.96	170	100	10000	4.42	33	100
16/04	5000	11.66	350	100	10000	7	79	100

Podemos concluir que es técnicamente viable producir en suspensión mediante cestos con malla de 1 mm., semilla de almeja fina en el medio natural a partir de 2 mm. de longitud y a una densidad de 20000 ind/cesto, debido al rápido crecimiento en longitud y peso, sin apreciarse mortalidad desde los 2 a 4 mm. de longitud, pasando así el período crítico de climatización de las condiciones controladas de criadero a las fluctuaciones ambientales del medio natural. Sin embargo se ha de tener en cuenta que para producirla a nivel industrial es necesario la fabricación de cuarterones con obertura de 1 mm. (actualmente en el mercado los más pequeños son de 2 o 2.5 mm.), y desdoblarla a cuarterones de 2 a 2.5 mm. cuando sobrepasen los 4 mm. de longitud debido al fouling adherido en la malla de 1 mm. que dificulta la circulación de alimento y podría haber sido la causa de la primera mortalidad, ya que los análisis patológicos realizados descartan la presencia de patógenos (principalmente parásitos). Aún sin determinar la causa de la elevada mortalidad en el último muestreo y a falta de los resultados patológicos, esta podría ser debida a un problema multifactorial, entre ellos por la disminución de la salinidad en la bahía (10 ppt) por el aporte de agua dulce proveniente de los arrozales, por los pesticidas del lavado de agua dulce de los campos de arroz, por la calidad de la semilla, presencia de patógenos oportunistas, etc.

Agradecimientos

A los alumnos de 2º curso del CFGS por su voluntad en la consecución del trabajo, al IRTA por las semillas y análisis patológicos ofrecidos, a Alex Roca por la malla dada de Interma, S.A. y a E. Bertolín.

Bibliografía

García Fernández, A., Cerviño Eiroa, A. Nuevos avances y resultados de crecimiento y mortalidad en el preengorde de almejas, en diversos sistemas en las Rías Bajas de Galicia. En: *Actas de Resúmenes XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 471-474.

Nuevos avances en el preengorde en suspensión de semilla de almeja japonesa (*R. philippinarum*) en el Delta del Ebro

O. Vallejo¹

¹ Escuela de Acuicultura del IES Els Alfacs, Crta. Poble Nou, km 5.5, s/n. 43540. Sant Carles de la Ràpita (Tarragona)
e-mail: ovallsol@mixmail.com

Abstract

Two studies describe the pregrowing of manila clam spat (*R. philippinarum*) in suspended by means of batches of baskets to different densities and longitudes. Thus it is tried to find out growth and mortality of each batch of baskets, to optimize this phase from a point of view productive and economical.

Justificación

En el Delta del Ebro, se necesita avanzar más en el conocimiento del potencial de esta especie y en los parámetros zootécnicos que presenta en la fase de preengorde, con el objetivo de aportar datos significativos que puedan ser transferidos al sector productivo. Se han realizado dos experiencias que nos permitirán profundizar más en esta fase, tanto desde un punto de vista productivo como económico.

Material y Métodos

En la primera experiencia (1), las semillas procedentes de un criadero industrial, con una longitud media de 4,15mm y un precio de 0.0038 €/semilla (lote A) y con una longitud media de 8,2mm y a un precio de 0.0066 €/semilla (lote B), se distribuyeron a una densidad de 2500 ind/cesto en cada uno de los 2 lotes de cestos, respectivamente. En cada lote de cestos las semillas se depositaron en 3 niveles diferentes (superior, intermedio e inferior). Cada lote de cestos estaba formado por 7 cestos apilados iguales, sirviendo el primero de tapa, el último de lastre y 2 cestos vacíos intercalados entre los 3 cestos que contenían las semillas. El estudio se realizó en un emparrillado situado a la Bahía de los Alfaques, desde diciembre 2005 hasta junio 2006, se muestreó, para determinar la longitud media, % de supervivencia y nº individuos de cada lote. Los datos se registraron en una hoja de Excel para su cálculo e interpretación.

En la segunda experiencia (2), las semillas procedentes de un criadero industrial se distribuyeron en dos lotes con una longitud media de 6.2 mm. y a una densidad de 3000 ind/cesto (lote A) y 4000 ind/cesto (lote B). En cada lote de cestos las semillas se depositaron en 3 niveles diferentes (superior, intermedio e inferior). Cada lote de cestos estaba formado por 7 cestos apilados iguales, siendo el primero la tapa, el último de lastre y 2 cestos vacíos intercalados entre los 3 cestos que contenían las semillas. Desde octubre 2006 hasta mayo 2007, se muestreó para determinar la longitud media y % de supervivencia de cada lote.

Resultados y Discusión

Para la experiencia (1) podemos concluir que tanto desde un punto de vista productivo como económico, sería aconsejable utilizar la semilla del lote A, para la fase de preengorde en suspensión, debido a:

- Mayor crecimiento inicial (desde diciembre a febrero), por lo tanto la longitud inicial podría ser un factor limitante del crecimiento hasta una determinada longitud a iguales densidades.
- Mejor margen sobre ventas, es decir, que por cada venta realizada gana un 16,3% más que el lote B.
- Más alta productividad económica, es decir, que por cada euro que se invierte en semillas, con el lote A se gana 2,01 euros, respecto a los 1,52 euros que gana el lote B.

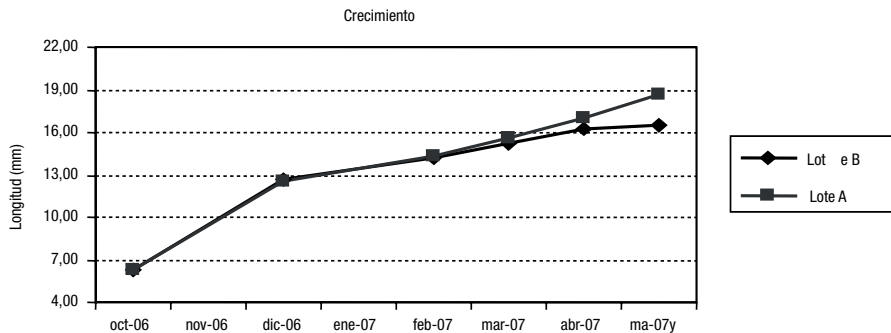
Sin embargo, se aconseja iniciar el preengorde con una longitud media inicial ligeramente superior a la del estudio (4.15 mm.), o con cuarterones con una abertura menor a 2.5 mm., ya que se detectó un 15% menos de semillas asociadas a pérdidas y no a mortalidad.

Para la experiencia (2) podemos concluir lo siguiente:

- La densidad es un factor limitante a partir de la longitud de 15 mm., pudiendo utilizarse cestos a una densidad de 4000 semillas/cesto y cuando alcancen dicha longitud, entonces desdoblarlos para optimizar el crecimiento hasta tallas cercanas a los 20 mm. para la posterior siembra.

Tabla 1. *Parámetros productivos y económicos de la experiencia (1)*

Fecha	Longitud (mm)		% supervivencia			Lote A	Lote B
	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B			
12/05	4.15	8.2	100	100	Productividad (nº ind/lote)	6375	7500
02/06	10.42	11.85	85	100	Valor venta semillas (€)	57.38	75
03/06	10.88	12.96	100	100	Gasto de las semillas (€)	28,5	49,5
04/06	12.31	13.8	100	100	Margen (€)	28,88	25.5
05/06	12.43	14.19	100	100	Margen sobre ventas	50,33%	34%
06/06	14.97	17.47	100	100	Productividad económica	2,01	1,52

Figura 1. *Crecimiento en longitud de los lotes A y B de la experiencia (2)*

- La fecha de siembra en sustrato arenoso se puede establecer en entre febrero y marzo, ya que han alcanzado la talla de siembra (15 mm.) y en el Delta del Ebro las condiciones climáticas son adecuadas (temperaturas entre 12 a 14°C) y no hay presencia de depredadores, por lo que puede repercutir positivamente en un % de supervivencia mayor en la siembra en parques de cultivo.
- Permitir una climatización de las semillas, provenientes de criaderos de fuera de la zona de cultivo (actualmente no hay criaderos industriales en el Delta del Ebro), a las condiciones ambientales de la bahía (temperatura, salinidad, etc.), para su posterior siembra en parques de arena.

Agradecimientos

A los alumnos de 2º curso del CFGS que sin su voluntad no hubiera sido posible realizar este trabajo, y a Enrique Bertolín por la cesión parcial de su emparrillado para poder realizar las experiencias.

Bibliografía

Vallejo, O., X. Barberena, J. Bertomeu, H. Gutiérrez, M. Martínez, M. Ripoll y M. Sánchez. 2005. Efecto de la densidad sobre el crecimiento y % de supervivencia de la almeja japonesa (*Tapes semidecussatus*) mediante la producción en suspensión, en la Bahía de los Alfaques (Delta del Ebro, Tarragona). En: *Actas de Resúmenes X Congreso Nacional de Acuicultura*: 660-661.

Tasas óptimas para el crecimiento y mantenimiento de la corvina (*Argyrosomus regius*)

J. Velazco, S. Martínez-Llorens, A. Tomás, S. Nogales, M. Jover

Grupo de Investigación Recursos Acuícolas. Instituto de Ciencia Animal y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46071-Valencia. España. E-mail: jorvevar@doctor.upv.es

Abstract

The meagre (*Argyrosomus regius*) is considered an alternative species for aquaculture in Spain, its production of more than 1500 metric tons per year, but still required in the nutritional knowledge. This study was carried out using a commercial feed with five feeding rates (0, 0.5, 1.75, 3.25, 4.75%). The best growth rate was 4.75%, but the best feed conversion ratio was presented with 1.75%. The daily protein and energy intake for maintenance were 0.478g protein/100g fish and 0,0644 kJ/100g fish, respectively and for maximum growth resulted 1,07 g protein/100g fish and 0,53 kJ/100g fish, respectively.

Justificación

La Corvina (*Argyrosomus regius*) es la cuarta especie más importante producida en España, siendo la Comunidad Valenciana la principal productora con aproximadamente unas 920 Tm en el 2008, lo que corrobora que es una alternativa de diversificación. Algunos trabajos (El-Shebly *et al.*, 2007) establecen que *Argyrosomus regius* tiene excelentes características biológicas al adaptarse a la cautividad y presenta elevadas tasas de crecimiento y buenos índices de conversión. Para su producción en jaulas marinas, se emplean piensos comerciales con un contenido en proteína bruta entre el 45-48% y de lípidos entre 20-24%. Sin embargo, las tasas de alimentación adecuadas a cada pienso no están establecidas, ya que no se conoce poco sobre sus requerimientos óptimos de proteína y energía, pudiéndose manejar tasas entre 1-2% del peso diario dándoles de 2-3 tomas diarias. Es de gran interés, desde el punto de vista de la estrategia alimentaria investigaciones que permitan determinar las tasas óptimas para el crecimiento y aprovechamiento nutritivo en la producción de corvina, para maximizar su crecimiento a nivel comercial.

Material y Métodos

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Politécnica de Valencia, con un periodo de duración de 56 días. Se emplearon 4 tanques de 4000 litros en los cuales se distribuyeron 3 jaulas, cada una con una capacidad de 700 l. Se repartieron 12 corvinas por jaula, con un peso medio de 50 g. Para el desarrollo de la prueba se empleó un pienso comercial con 47% PB y 19% GB, según análisis propio, con el cual se ensayaron por duplicado 5 tasas de alimentación (0, 0.5, 1.75, 3.25, 4.75%). Al final del experimento se sacrificaron todos los peces para su análisis corporal y se congelaron -30°C. Para determinar, las necesidades de proteína y energía para el mantenimiento se realizaron regresiones polinomiales para conocer la relación entre el TCI con la tasa de ingesta proteica (TIP) y la tasa de ingesta energética (TIE).

Resultados y Discusión

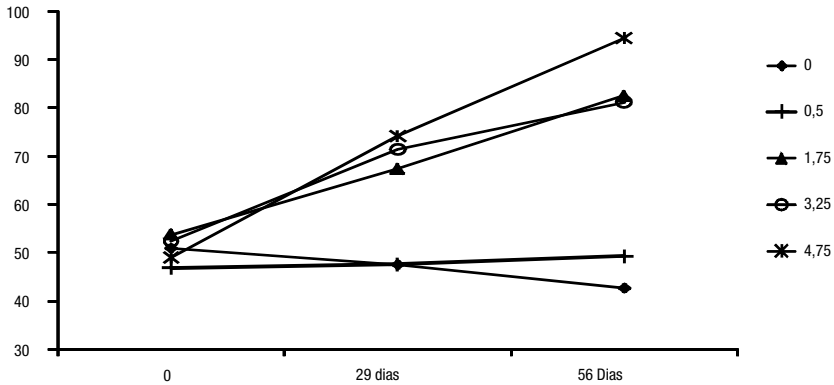
La supervivencia a lo largo del experimento fue del 70%. Los peces alimentados con las tasas mayores, presentaron un mayor crecimiento (Fig 1), siendo la 4.75%, las tasa de mayor crecimiento, sin diferencias significativas con los alimentados con las tasas de 3.25 y 1.75 (Tabla 1). En el caso de la tasa 0.5 los peces apenas ganan peso pero tampoco pierden, acercándose así a la tasa de mantenimiento. Los resultados para la tasa 0 han sido los esperados ya que estos peces, que han estado en ayuno, han perdido peso significativamente.

Con el objetivo de determinar la tasa de ingesta de proteína para maximizar el crecimiento y para mantenimiento se realizó un modelo de regresión cuadrática que relacionaba el TCI con la Tasa de Ingesta Proteica (TIP, Ecuación 1). De igual manera para determinar la tasa de ingesta de energética (TIE, Ecuación 2).

$$TCI = -0,27967 + 2,31068 * TIP - 1,0844 * TIP^2 \quad (R^2 \text{ 88\%}) \quad (1)$$

$$TCI = -0,279975 + 4,97571 * TIE - 4,67761 * TIE^2 \quad (R^2 \text{ 89\%}) \quad (2)$$

A partir de estos modelos se obtuvieron diferentes resultados que se muestran en la Tabla 2.

Figura 1. Curvas de crecimiento de acuerdo a las diferentes tasas de alimentación**Tabla 1.** Efecto de la tasa de alimentación sobre los parámetros de crecimiento y de alimentación de la corvina

Tasa alimentación	0	0.5	1.75	3.25	4.75	ESM
Peso inicial (g)	50,86	46,83	53,75	52,4	47,6	±3,06
Peso final (g)	37,5 ^a	55,36 ^a	82,55 ^b	81,25 ^b	91,33 ^b	±7,08
Superviv. (%)	48,75	82,49	84,15	70,43	65,82	±17,36
TCl(%/día)	-0,54 ^a	0,29 ^b	0,76 ^c	0,78 ^c	1,16 ^c	±0,12
TAD (%/día)	0,02 ^a	0,20 ^a	1,43 ^b	2,41 ^c	2,70 ^c	±0,14
ICA	0,05 ^a	1,43 ^b	2,11 ^{bc}	3,55 ^c	2,72 ^c	±0,42

Tabla 2. Tasas de mantenimiento y crecimiento de acuerdo a los parámetros nutritivos

Tasas	g proteína/100g pez y día	kJ/100g pez y día
Mantenimiento	0,48	0,06
Máximo crecimiento	1,07	0,53
Eficiencia óptima	0,53	0,22

Bibliografía

El-Sheblly, A.A., El-Kady, M. A.H., Hussin, A., and Yeamin Hossain, Md., 2007. Preliminary observations on the pond culture of meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Sciaenidae) in Egypt. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 2 (5): 345-352.

Efecto del ácido araquidónico (20:4 w6) el cultivo larvario del lenguado común (*Solea solea* L.)

F. Villoch¹, L. Barreiro, R. Caamaño, P. Riera-Fernández, A. Ojea, A. Paramá, M. V. Ruiz de Ocenda, B. Fandiño, S. Pais y S. Cabaleiro

¹ Centro Tecnológico Gallego de Acuicultura (CETGA), Punta de Couso s/n. Aguiño. 15965 Riveira.
E-mail: villoch@cetga.org

Abstract

The effect of arachidonic acid (ARA) in the larval culture of common sole (*S. solea* L.) has been studied. In order to get this aim, it was necessary the enrichment of rotifer and artemia with 4 emulsions, each of them with different percentages of ARA (0%, 1,85%, 3,70% y 7,40%) and using the same percentage in EPA emulsions (5,90%) and DHA (8,73). A sampling of length and dry weight was conducted on days 8 and 18. This research ended at the day 18 of life, preceded by counting the larvae –taking into account if larvae were well or poor pigmented. We have noticed that the higher the percentages of ARA, the greater the survival rate: ARA-0: 69.81%; ARA-L: 72.93%; ARA-M: 77.36% y ARA-H: 81.02%. The percentage of poorly pigmented larvae was insignificant (<1%). The test with better results in length and dry weight growth was the one carried out on the 8 day, which had higher levels of ARA, while the one on the 18 day presented the lowest level of ARA.

Justificación

La cría de lenguado común (*Solea solea* L.) se comenzó a realizar en el CETGA durante el año 2005. Durante el año 2007 se llevo a cabo el presente trabajo que consistió en evaluar el efecto que tienen 4 concentraciones diferentes de ácido araquidónico sobre el crecimiento, supervivencia y malformaciones esqueléticas hasta el día 18 de vida (d18). En trabajos realizados en una especie similar como es *Solea senegalensis*, se observó que este ácido graso inducía el albinismo (Villata, Estevez y Bransden, 2005) y lo mismo se observó con *Solea solea* (Lund, Steinfeldt y Hansen, 2007).

Material y Métodos

Se testaron 4 emulsiones diferentes que contenían diferentes porcentajes de ácido araquidónico (ARA) en su composición y con un porcentaje igual en todas las emulsiones de ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Cada prueba se realizó por triplicado donde se alimentaron con rotífero y artemia enriquecida con estas emulsiones. Se empleó la técnica de agua verde con las microalgas *Isochrysis galbana* var. *tahitiana* (T-iso) y *Tetraselmis suecia* (Ts). Se realizaron muestreos de talla y peso seco a día y 18 de vida. Al finalizar el experimento se procedió al recuento de las larvas supervivientes y se tuvo en cuenta el número de larvas bien y mal pigmentadas.

Resultados y Discusión

Los resultados de crecimiento se pueden observar en las siguientes gráficas, donde se observa que la emulsión con mayor porcentaje de araquidónico es la que da mayor crecimiento a día 8 (Tabla 1 y 2), de vida, todo lo contrario a lo observado a día 18 (Tabla 1 y 2), que es la prueba con menor contenido de araquidónico.

El motivo que sea la prueba con menor nivel de araquidónico (ARA-0) la que tiene mayor crecimiento en talla a día 18, es debido a que es esta prueba la que tiene menor supervivencia y este factor afecta notablemente al crecimiento (Figura 1)

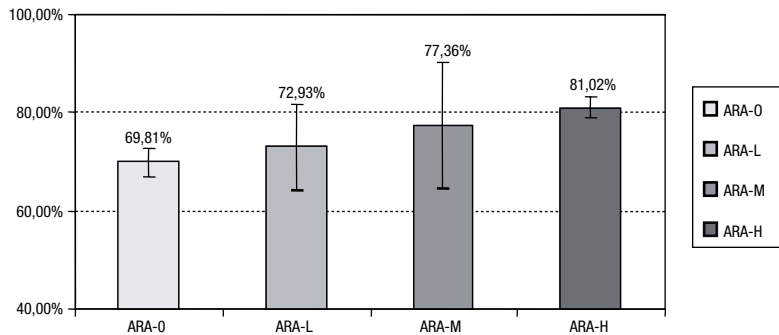
La supervivencia larvaria a día 18 fue en todos los casos superior al 69%, apreciándose que cuanto mayor es el contenido de araquidónico, mayor es la supervivencia.

Tabla 1. Talla (mm) de las larvas de *Solea solea*

Talla (mm)	Día 8	Día 18
ARA-0	7,19	10,21
ARA-L	7,16	9,32
ARA-M	7,44	9,92
ARA-H	7,49	9,87

Tabla 2. *Peso seco (mg) de las larvas de Solea solea*

Peso seco (mg)	Día 8	Día 18
ARA-0	0,446	1,526
ARA-L	0,489	1,203
ARA-M	0,381	1,445
ARA-H	0,531	1,546

Figura 1. *Supervivencia de las larvas de Solea solea alimentadas con diferentes niveles de ácido araquidónico (20:4w6)*

No se han detectado casos de albinismo elevados, ya que en ningún caso se superó el 1%, a diferencia de lo descrito por Villata *et al.*, (2005) y por Lund *et al.*, (2007). Esto podría ser debido al uso de la microalgas en el cultivo larvario, que «enmascaró» los efectos del ácido araquidónico.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con el proyecto de la Xunta de Galicia 07MMA009CT.

Bibliografía

- Villalta, M., Estévez, A. y Bransden, M. 2005. Arachidonic acid enriched live prey induces albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*. 2005, vol. 245, no1-4, pp. 193-209.
- Lund, I., Steinfeldt, S.J., Hansen B.W. 2007. Effect of dietary arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on survival, growth and pigmentation in larvae of common sole (*Solea solea* L.). *Aquaculture*. vol. 273, no4, pp. 532-544

Descripción histológica del digestivo del mero *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) nacido en cautividad

M. P. Yamuza y M. A. Bruzón

IFAPA Centro EL Toruño. Camino Tiro Pichón s/n Apart 16. 11500 El Puerto de Santa María (Cádiz)
e-mail: mpilar.yamuza.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

The dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), is a species of great interest. You can find literature related to its artificial reproduction, embryonic and larval development, culture, etc. Moreover, we know that knowledge of the digestive tract is important for further nutritional studies. The aim of this study is to describe the gastrointestinal tract by histological techniques. The study was conducted in animals born in captivity. We have observed a fairly muscular digestive tract in all areas.

Justificación

El mero, *E. marginatus*, es un serránido que se distribuye por todo el Mediterráneo y, en el Atlántico, desde las islas británicas a Brasil. Se han realizado estudios de reproducción artificial (Marino *et al.*, 2001, Bruzón *et al.*, 2006); de reproducción natural (Bruzón *et al.*, 2008); de desarrollo embrionario y larvario (Glamuzina *et al.*, 1998, Bruzón *et al.*, 2006); de cultivo (Gracia y Castelló, 2003, Bruzón, 2004) etc. El objetivo de este trabajo es describir las principales zonas del tracto digestivo de esta especie: esófago, estómago, ciegos pilóricos e intestino (anterior, posterior y ano), mediante técnicas histológicas, con ejemplares nacidos en cautividad, para posteriores estudios nutricionales que nos permitan desarrollar dietas específicas.

Material y Métodos

Los ejemplares de mero utilizados nacieron y se mantuvieron en las instalaciones del IFAPA centro El Toruño, en El Puerto de Santa María (Cádiz). Se muestrearon 255 ejemplares para estudios biométricos y, de ellos, se seleccionaron 8 para la obtención de muestras del tracto digestivo. Dichas muestras se fijaron en formol tamponado al 4%. Posteriormente, se procedió a su inclusión en parafina, la formación de bloques y los cortes en el microtomo. Los cortes se realizaron a 3 mm de grosor. En los diferentes cortes se realizaron las tinciones histológicas: Hematoxilina/Eosina y Hematoxilina/VOF (Sarasquete y Gutiérrez, 2005).

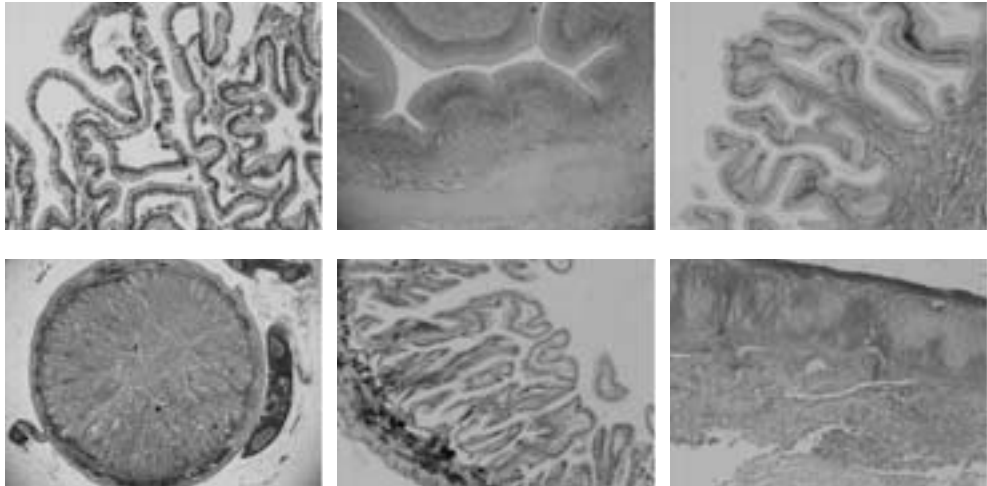
Resultados y Discusión

El peso medio de los ejemplares muestreados fue de 299,5 g y su longitud media 25,8 cm. La primera parte del tracto digestivo está constituido por los labios, la boca y los dientes. Los arcos branquiales separan estas partes del resto del digestivo. A continuación, encontramos el esófago, corto y con paredes musculosas y gruesas. La mucosa aparece como una línea regular del epitelio del interior del esófago y en ella encontramos las células caliciformes (a). En el estómago observamos diferentes capas bien diferenciadas: mucosa, submucosa, muscular circular y muscular longitudinal (b). En el intestino anterior podemos diferenciar el borde en cepillo del epitelio, las células caliciformes y la lámina propia (c). El intestino posterior tiene los pliegues algo más profundos que el anterior. Se observa la musculatura bajo la lámina propia (e). Al igual que sucede en salmónidos, parece existir un estrato compacto entre la lámina propia y la muscular en estómago e intestino (Hibiya, 1982). La musculatura de la parte anterior es más gruesa que la de la posterior. Los ciegos presentan una musculatura gruesa y la membrana serosa rodeándolos (d). Los ciegos se encuentran en un alto número ralentizando el tránsito y aumentando el tiempo de digestión al igual que ocurre con especies como el esturión (Ostos Garrido, *et al.*, 2003). El ano no presenta pliegues (f). En este se observa una fuerte musculatura y numerosas células mucosas. En la parte exterior el epitelio es continuo con la piel de la epidermis.

Agradecimientos

Las autoras quieren agradecer a Javier Serén su dedicación y su esfuerzo.

Figura 1. Zonas del tracto digestivo en el mero; a: Esófago (H/VOF, 10x); b: Estómago (H/VOF, 2x); c: Intestino anterior (H/VOF, 10x); d: Ciego pilórico (H/VOF, 4x); e: Intestino posterior (H/VOF, 4x); f: Ano (H/E, 10x)



Bibliografía

- Bruzón, M.A. 2004. Cultivo del mero *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Bases biológicas para su reproducción en cautividad. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz
- Bruzón, M.A. 2007. The reproduction and culture of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) in the South of Spain. Comunicación para el II Colloque International sur les mérous de Mediterraneo. Nice (Francia).
- Bruzón, M.A., Yamuza, P., Jiménez-Tenorio, N., Pozuelo, I. Y García-Pacheco, M. Desarrollo embrionario y larvario en puestas naturales del mero *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). 2008. *IV Jornadas de Acuicultura en el Litoral sur-Atlántico*. Cartaya, Huelva (España).
- Glamuzina, B., Skaramuka, B., Glavi, N., Ko ul, V., Duli, J. & M. Kraljevi. 1998. Egg and early larval development of laboratory reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae). *Scientia Marina* 62(4): 373-378.
- Gracia López, V. & Castelló Orvay, F. 2003. Preliminary data on the culture of juveniles of the dusky grouper. *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Hidrobiológica*, 13 (4): 321-327.
- Hibiya, T. 1982. An Atlas of Fish Histology. Published by KODANSHA LTD.
- Marino G.; Azzurro E.; Massari A, Finioia M.G. & Mandich A. 2001. Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean. *Journal of Fish Biology* 58, 909–927
- Ostos-Garrido, M.V., Llorente, J.I., García-Gallego, M., Sanz, A., 1Romero, Z., Domezain, A. y Carmona, R. 2003. Características Histológicas E Histoquímicas Del Tracto Gastrointestinal En Formas Juveniles De *Acipenser Naccarii*. *IX Congreso Nacional de Acuicultura* (Cádiz, España).
- Sarasquete, C. y Gutiérrez, M. 2005. New tetrachromic VOF stain (Type III-G.S) for normal and pathological fish tissues. *Eur. J. Histochem.* 49: 105-114.

Elaboración de listados de enfermedades relevantes en la acuicultura marina española

D. Furones^{1,4}, I. de Blas², F. Padros^{3,4}, A. Roque¹, K. Andree¹ y C. Rodgers¹

¹ IRTA. Sant Carles de la Ràpita. Ctra. de Poble Nou, km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona).
e-mail: Dolors.Furones@irta.cat

² Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza

³ Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès) Barcelona

⁴ Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de Catalunya

Abstract

In order to rank the pathogens by importance as hazards, an agreed short list of relevant pathogens (fish and molluscs) was subjected to risk evaluation using a predesigned Excel template. The template consisted of thirteen questions divided into five categories. The uncertainty of each response was also evaluated and weighted. The scores were added together to give a final risk score and the uncertainty was used separately to help interpretation of results. The method provided a structured technique to assess the potential risk of both non-listed and listed aquatic animal diseases to the Spanish aquaculture sector, as provided for Directive 2006/88/EC, and its homologue in Spain RD 1614/2008. Finally two groups of national experts were formed to consider the relevance of fish and shellfish diseases to Spain. They used this risk ranking technique to compile a list of disease hazards (pathogens) of relevance to Spanish aquaculture. It was possible to divide the list into three groups.

Justificación

El proyecto GESAC se enmarca dentro del Plan Nacional de Cultivos Marinos (Jacumar) y en él se ha creado una plataforma multidisciplinar de trabajo, para analizar y orientar las actuaciones futuras de las administraciones públicas, los laboratorios que trabajan en la materia de sistemas de vigilancia zoonosanitaria activa y de métodos de diagnóstico, y el propio sector acuícola. Uno de los objetivos del proyecto consistió en definir una lista de enfermedades relevantes consensuada por grupos de expertos, con el fin de proponer un sistema de vigilancia epidemiológica basado en riesgo y de elaborar un borrador de medidas de prevención, control y erradicación (peces y moluscos).

El análisis de riesgo es una técnica estructura para evaluar el riesgo potencial, en este caso, de diversos patógenos que pueden amenazar el estado sanitario del sector acuícola español, tal y como se establece en el artículo 43 y el Anexo IV (Parte II) de la Directiva 2006/88/EC y su equivalente en España (Real Decreto 1614/2008).

Material y Métodos

Con el fin de clasificar los patógenos con un riesgo relevante, se utilizó una variación de método utilizado en el proyecto europeo PANDA (<http://www.europanda.net>). El método utilizado estuvo dividido en dos fases: un primer ejercicio al nivel del experto como individuo y un segundo ejercicio para dos grupos (peces y moluscos) de expertos.

Para el primer ejercicio se compiló una lista de patógenos relevantes, considerando las especies susceptibles cultivadas en España, la distribución geográfica de patógenos y hospedadores y el estatus sanitario de las enfermedades de declaración obligatoria (Unión Europea y OIE). A continuación se distribuyó a los expertos este listado con información sobre la mayoría de las enfermedades de los animales acuáticos al nivel mundial y su distribución. Los expertos utilizaron los datos para considerar cada enfermedad en términos de su peligrosidad para España y decidir si merecía una consideración más exhaustiva, de forma que el resultado de este ejercicio fue un listado reducido.

De este modo, el número de enfermedades se redujo y el listado resultante fue analizado con más detalle durante el segundo ejercicio (una reunión de los grupos de expertos) considerando cuatro criterios de filtrado: existencia de hospedadores susceptible en España, importaciones de especies susceptibles, condiciones adecuadas de propagación en España e impacto potencial en el sector acuícola español. Las enfermedades que acumularon cuatro respuestas afirmativas (seguras o posibles) pasaron a la última etapa con una valoración de su riesgo por puntuación. La valoración del riesgo para cada enfermedad se estimó utilizando una hoja de cálculo (Microsoft Excel) organizada en una serie de trece preguntas divididas en cinco categorías (Presencia o ausencia del patógeno en España; Vías de introducción; Establecimiento y propagación; Consecuencias; y Mitigación (gestión) del riesgo). Cada respuesta además se evaluó por su nivel

Tabla 1. Patógenos relevantes para peces marinos

Grupo I (riesgo alto)	<i>Aphanomyces invadens</i> (EUS) ¹ , virus de la viremia primaveral de la carpa (SVCv), koi herpes virus (KHv) ² y virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHNv) ² .
Grupo II (riesgo regional)	<i>Enteromyxum</i> spp. (<i>leei</i> y <i>scophthalmi</i>), Aquabirnaviridae (incl. IPNv), virus de la encefalopatía y retinopatía viral (VERv), <i>Streptococcus iniae</i> , <i>Philasterides dicentrarchi</i> y <i>Aeromonas salmonicida</i> .
Grupo III (riesgo bajo)	<i>Sparicotyle chrysophrii</i> /Microcotylidae, <i>Flavobacterium maritimum</i> , <i>Photobacterium piscicida</i> , Togaviridae, <i>Sphaerospora testicularis</i> , <i>Edwardsiella tarda</i> , Birnavirus (no-EVE), <i>Lactococcus garviae</i> , virus de la septicemia hemorrágica viral (VHSV) ² , <i>Tenacibacterium maritimum</i> , virus de la necrosis hematopoyética epizoótica (EHNv) ¹ , <i>Renibacterium salmonicida</i> y <i>Gyrodactylus salaris</i> .

¹ EEM: Error Estándar de la Media. ² Porcentaje de grasa en el filete analizado Nivel de significación $p < 0,050$. Letras diferentes equivale a la observación de diferencias significativas.

Tabla 2. Enfermedades relevantes para moluscos

Grupo I	<i>Haplosporidium nelsoni</i> , <i>Nocardia crassostreae</i> (nocardiosis) y GNVD/HIVD (Iridovirus).
Grupo II (riesgo regional)	<i>Haplosporidium monforti</i> , <i>Perkinsus mediterraneus</i> , <i>P. olseni/atlanticus</i> , <i>Marteilia refringens</i> ² , <i>Bonamia ostreae</i> ² y <i>Microcytos mackini</i> ¹ .
Grupo III (riesgo bajo)	<i>Haplosporidium armiconum</i> , <i>Xenohaliotis californiensis</i> , Herpesvirus, <i>Perkinsus marinus</i> ¹ y <i>Bonamia exitiosa</i> ¹ .

¹ Enfermedades causadas por patógenos de declaración obligatoria y exóticos según Directiva 2006/88. ² Enfermedades causadas por patógenos de declaración obligatoria y no exóticos según Directiva 2006/88

de incertidumbre y llevó un peso según su importancia percibida. La puntuación de cada pregunta se sumó y formó una puntuación final (el riesgo y la incertidumbre por separado). Los datos generados en el ejercicio fueron analizados para elaborar los listados de enfermedades relevantes.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos son dos listados de enfermedades clasificadas en tres grupos de riesgo (Tabla 1 y Tabla 2). Destacar que sólo algunos de ellos están sometidos a declaración obligatoria, mientras que la mayor parte no se encuentran sometidos a ninguna restricción sanitaria lo que debería tenerse en cuenta en el futuro diseño de planes de prevención, control y erradicación de patógenos en acuicultura marina en España.

Agradecimientos

Al grupo de expertos en peces marinos: E. Aguirre, M.C. Alonso, P. Álvarez-Pellitero, J.L. Barja, J.J. Borrego, C.P. Dopazo, P. Fernández-Somalo, N. Frías, D. Padilla, J. Peñalver, E. Planas, F. Real, A. Sitjà-Bobadilla, C. Tafalla y C. Zarza; y al grupo de experto en moluscos: R. Aranguren Ruiz, N. Carrasco, A. Figueras, J.I. Navas, C. Gestal, C. Rodríguez y A. Villalba.

Estado zoonosario de moluscos bivalvos en la Ría de Vigo

C. Crespo, H. Rodríguez, P. Segade, J.J. Rodríguez, N. García, E. Iglesias, M. Riobo, S. Pereira, A. Seoane, R. Iglesias y J.M. García-Estévez

Laboratorio de Parasitología Marina. Estación de Ciencias Marinas (ECIMAT). Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Vigo. 36310 Vigo. e-mail: jestevez@uvigo.es

Abstract

Parasitic diseases cause significant economic losses in the shellfish sector, due to mortality of animals and a decline in production that entails. The fight against diseases affecting molluscs are facing great difficulties due to the ease of distribution in wild populations because the marketing in vivo for human consumption of these animals represents, in many cases, the immersion of the shellfish in target areas, with the consequent possibility of transmission of pathogens. Therefore prophylaxis shellfish cultivation should be based primarily on monitoring the movement of juveniles and adults, because once a disease has been introduced in an area, it is very difficult to make a success of their programs eradication. There are two basic reasons for which it is important to diagnose diseases of molluscs of commercial interest. The first is the economic significance they have, especially in certain areas of high activity such as aquaculture Galicia. The second reason which justifies the interest in the proper and accurate diagnosis is the possibility of moving diseased animals to areas free of the pathogen, infecting an area in the top clean.

Justificación

Los beneficios que generan las explotaciones de moluscos bivalvos en Galicia son incuestionables, no sólo los que se obtienen directamente a través de la extracción del recurso, sino también los que se producen en la industria paralela de la transformación. Las enfermedades parasitarias han causado (y causan) pérdidas económicas significativas en el sector marisquero, debido a la mortalidad de los animales y al descenso en la producción que conlleva. Dada la importancia de los bivalvos en la comunidad gallega, el conocimiento de su estado parasitológico es primordial para llevar a cabo una buena gestión de este recurso.

La lucha contra las patologías que afectan a los moluscos se enfrenta a grandes dificultades, debido a la facilidad de difusión de las poblaciones salvajes y a que la comercialización en vivo para el consumo humano supone, en muchas ocasiones, la inmersión de los moluscos en las zonas de destino, con la consiguiente posibilidad de transmisión de patógenos. Hay dos motivos fundamentales por los que es importante el diagnóstico y control de las enfermedades de los moluscos de interés comercial:

El primero es la importancia económica que éstos tienen. Una epidemia que provocase la mortalidad masiva de alguna de estas especies supondría una catástrofe económica para la zona. Es necesaria, pues, la determinación temprana de la presencia de patógenos en los cultivos para evitar el contagio a otros animales sanos y su dispersión por todo el área de cultivo.

El segundo motivo que justifica el interés por el correcto y preciso diagnóstico de la enfermedad es la posibilidad del traslado de animales enfermos a zonas libres de ese patógeno, infectando así un área en principio limpia.

En el presente trabajo abordamos el estudio parasitológico de cuatro de las especies de moluscos bivalvos más relevantes desde el punto de vista económico en la Ría de Vigo.

Material y Métodos

En colaboración con cuatro Cofradías de Pescadores de la Ría de Vigo, La Anunciada (Baiona), San Juan (Redondela), Virgen del Carmen (Arcade) y la Agrupación de Mariscadores Pedra de Oliveira (Moaña), se ha realizado un estudio parasitológico sobre un total de 2817 moluscos bivalvos: 876 ejemplares de berberecho *Cardium edule*, 937 de almeja fina *Ruditapes decussatus*, 501 de almeja babosa *Tapes pullastra* y 503 individuos de almeja japonesa *Ruditapes philippinarum*.

Tras un primer análisis macroscópico se procedió a su disección y fijación de los tejidos en fluido de Davidson para el posterior estudio histopatológico (Estévez *et al.*, 1998). Además las branquias de 480 *R. decussatus*, 240 *T. pullastra* y 480 *R. philippinarum* fueron extraídas e incubadas en medio tioglicolato (RFTM) (Ray, 1952), técnica que permite un diagnóstico más preciso que la histología para la detección de *Perkinsus* (Crespo *et al.*, 2007).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1, y en función de éstos proponemos una serie de consideraciones y/o recomendaciones: (1). Dadas las altas prevalencias de *Perkinsus* sp. sería conveniente

Tabla 1. Prevalencias medias y sus rangos (entre paréntesis) de los diferentes grupos de parásitos y patologías obtenidas mediante el análisis histopatológico

	<i>Ruditapes decussatus</i>	<i>Taps pullastra</i>	<i>Ruditapes philippinarum</i>	<i>Cardium edule</i>
Procariotas				
— Rickettsias	7,0% (0-30)	7,5% (0-40)	16,2% (0-30)	9,0% (0-40)
— Bolsas bacterianas	33,25% (0-100)	36,0% (0-60)	5,67% (0-30)	54,5% (16-90)
Protozoos				
— Ciliados histófagos	35,25% (0-100)	70,0% (20-100)	29,67% (0-77)	0%
— <i>Trichodina</i> spp.	14,5% (0-30)	42,25% (20-100)	30,34% (0-80)	30,25% (10-70)
— Otros ciliados	3,75% (0-20)	33,0% (0-70)	19,17% (0-55)	31,5% (0-52)
— Gregarinidos <i>Nematopsis</i> sp.	8,37% (0-50)	44,0% (0-90)	3,5% (0-22)	90,8% (80-100)
— Otros gregarinidos	13,0% (0-38)	3,6% (0-10)	3,3% (0-15)	1,25% (0-5)
— Coccidios	5,25% (0-20)	13,2% (0-37)	1,0% (0-10)	3,37% (0-20)
— <i>Perkinsus</i> sp.	9,12% (0-50)	22,0% (0-56)	5,0% (0-13)	0%
— <i>Perkinsus</i> sp. (RFMT)	44%	65%	28%	—
— <i>Haplosporidium</i> spp.	17,75% (0-67)	71,0% (0-100)	0%	1,25% (0-3)
— Microsporidia	0,75% (0-3)	3,0% (0-12)	0%	0,66% (0-3)
Metazoos				
— Turbellarios <i>Urustoma</i> sp.	6,5% (0-16)	1,6% (0-16)	1,7% (0-11)	1,75 (0-12)
— Turbellarios <i>Paravortex</i> sp.	4,7% (0-30)	8,7% (0-20)	9,95% (0-25)	17,0% (0-30)
— Digeneos (esporoquistes)	0%	2,12% (0-15)	0%	6,25% (0-20)
— Digeneos (metacercarias)	1,6% (0-10)	11,76% (0-30)	3,0% (0-12)	10,25% (0-20)
— Copépodos	6,37% (0-16)	4,66% (0-10)	1,67% (0-10)	5,5% (0-20)
— Otros metazoos	4,25% (0-20)	4,67% (0-20)	1,25% (0-10)	5,0% (0-25)
Otras patologías				
— Infiltraciones	30% (0-100)	40,67% (20-100)	32% (0-50)	72% (33-100)
— Neoplasias	0%	0,5% (0-2)	0%	9,5% (0-20)

que todas las almejas que se encuentren muertas o moribundas, sean extraídas del agua y destruidas en tierra. Con ello se podría frenar la diseminación y progresión del parásito. (2). Creemos necesario un control epidemiológico periódico sobre los bancos de almejas para determinar el grado de extensión de los ciliados histófagos. Estos parásitos provocan la muerte de manera directa, o bien debilitan a las almejas haciéndolas más susceptibles a otros agentes patógenos y/o a cambios en las condiciones ambientales. (3). Recomendación de control que hacemos extensiva a los haplosporidios encontrados en las almejas fina y babosa. (4). En los berberechos sería preciso un estudio en profundidad sobre la presencia de neoplasias y sobre *Nematopsis*. En el primer caso para encontrar posibles explicaciones a esta patología y su posible relación con elementos contaminantes. En el segundo caso, para determinar si este parásito es uno de los causantes de la alta mortalidad en *C. edule*.

Agradecimientos

Estudio financiado por la ayuda 08VIB8 de la Universidad de Vigo.

Bibliografía

- Estévez J., Soto M., Rodríguez H., Arias C. 1998. Histopathology of bivalves in the Ría de Vigo (Galicia, NW Spain) infected by *Nematopsis*. *Research and Reviews in Parasitology* 58(1), 63-65.
- Crespo C., Rodríguez H., Soto M., Iglesias R., García-Estévez J.M. 2007. New data on perkinsosis affecting three clam species cultured in the Vigo estuary. En: *Workshop for the Analysis of the Impact of Perkinsosis to the European Shellfish Industry*. Antonio Villalba (ed.).
- Ray S.M. 1952. A culture technique for the diagnosis of infection with *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen, and Collier in oysters. *Science* 116, 360-361.

Aislamiento de *Enterovibrio nigricans* a partir de rodaballos (*Psetta maxima*) enfermos

C. Fuentes-Edfuf¹, N. García-Lamas¹, P. García-González¹, M. V. Ruiz de Ocenda², S. Cabaleiro², J. Fernández Casal³, D. R. Arahal⁴, M. Piñeiro-Vidal¹ e Y. Santos¹

¹ Edif. CIBUS-Facultad de Biología, Universidad de Santiago de Compostela. e-mail: Y.santos@usc.es

² Cluster de Acuicultura de Galicia, Ribeira

³ Insuiña. O Grove

⁴ Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, Valencia

Abstract

During mortality episodes in two different turbot farms located in the North of Spain a bacteriological survey was carried out in order to clarify the cause of the disease. Samples from internal organs and ascitic fluid of moribund turbot were cultured and incubated. Pure cultures of the isolates obtained were identified using morphological, physiological, and biochemical tests. Sensitivity to antimicrobials was also evaluated by the disc diffusion method. Two strains isolated from ascitic fluid and liver that could not be differentiated to the species level were subjected to a deeper characterization by amplification and sequencing of genes coding for 16S rRNA and study of cellular fatty acid profiles. The overall results allow us to conclude that two of the fish isolates belong to the species *Enterovibrio nigricans*. Further virulence assays should be carried out in order to clarify the potential risk of these microorganisms for turbot culture.

Justificación

Galicia es uno de los líderes mundiales en acuicultura, produciendo el 94% del rodaballo cultivado en España (Apromar, 2008). Desde los inicios de esta industria, uno de los principales problemas que han afectado a la piscicultura, es la aparición de enfermedades causadas por bacterias hongos y parásitos. Estas patologías generan pérdidas importantes, debido a la reducción en la tasa de crecimiento de los peces, la calidad de los mismos y el incremento de los costes de producción por los gastos en el tratamiento de las enfermedades. En el presente trabajo se han estudiado dos cepas bacterianas aisladas durante episodios de mortalidad de rodaballo acaecidos en dos granjas diferentes de la costa gallega.

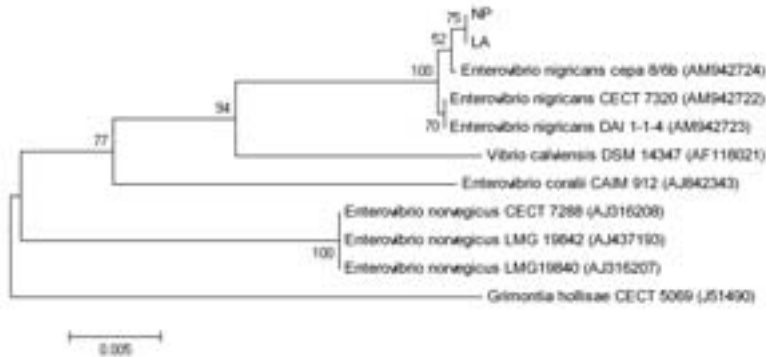
Material y Métodos

El peso medio de los individuos afectados era de 20,3 g en la granja A y 73,5 g en la granja B. Los ejemplares mostraban branquias pálidas, cavidad abdominal dilatada y hemorragias en torno a las aletas e internamente, hemorragias en músculo y riñón y ascitis. Las muestras de órganos internos y líquido ascítico se sembraron en Agar de Soja Tripticaseína (Cultimed) suplementado con un 1% de NaCl (TSA-1), Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa Agar (TCBS, Oxoid), Agar Marino (MA, Cultimed), y *Flexibacter maritimus* Medium (FMM; Pazos *et al.*, 1996) y fueron incubados a 25°C durante 24-96 horas. Dos cepas aisladas de hígado (NP) y líquido ascítico (LA), que no pudieron ser asignadas de forma presuntiva a ningún grupo taxonómico en base a los caracteres primarios (carácter Gram, presencia de los enzimas oxidasa y catalasa, movilidad y tipo de metabolismo) analizados, se sometieron a una caracterización fenotípica más profunda, al análisis de la secuencia de los genes que codifican para el 16S ARNr y al estudio del perfil de ácidos grasos celulares (Piñeiro-Vidal *et al.*, 2008).

Resultados y Discusión

La caracterización fenotípica demostró que las cepas en estudio eran cocobacilos, Gram-negativos, oxidasa y catalasa positivos, capaces de fermentar la glucosa en condiciones anaeróbicas, sin producción de gas, que crecen de forma débil y lenta en medio TCBS como no fermentadores de sacarosa (colonias verdes). En MA y en FMM, pero no en TSA-1, las colonias eran redondas y producían un pigmento pardo-oscuro no difusible. Las cepas crecían a temperaturas comprendidas entre 8 y 25°C pero no a 4 ni a 37°C y a concentraciones de NaCl comprendidas entre 1 y 7%. Las cepas degradaban Tween 20, Tween 80 y ADN pero no almidón. Los ensayos de arginina dehidrolasa e indol fueron positivos y los de lisina descarboxilasa, ornitina descarboxilasa y Voges-Proskauer negativos. Utilizan glucosa, manosa, ribosa como fuente de carbono, pero no utilizan sorbitol, ramnosa, sacarosa, inositol ni arabinosa. Los dos aislados fueron sensibles a flumequina, norfloxacin, ácido oxolínico, cloranfenicol, ampicilina, ciprofloxacina, estreptomycin, pteridina y novobiocina, pero no a kanamicina, trimetoprim-sulfometoxazol ni a tetraciclina. El tamaño de las secuencias del gen 16S ARNr utilizadas en los análisis filogenéticos fueron de 1534 pb (cepa NP) y de 1525 pb (cepa LA). El análisis se realizó con el programa Mega versión 4.0, el método del vecino más pró-

Figura 1. Árbol filogenético mostrando la relación entre cepas representativas de las especies del género *Enterovibrio* y los aislados del presente estudio. El análisis se basó en las secuencias del 16S ARNr usando el método de NJ. Para el análisis se realizaron 1000 replicaciones indicando los números el porcentaje de aparición del nexo. La barra inferior indica sustituciones nucleotídicas por posición



ximo (*Neighbour Joining*, NJ) con la corrección de Kimura-2 (Saitou y Nei, 1987). La robustez de los árboles se evaluó estadísticamente en base al análisis de muestreo repetitivo (*bootstrap analysis*) (Felsenstein, 1985). Este estudio demostró que las cepas LA y NP son similares entre sí y forman un grupo robusto con las cepas de la especie *Enterovibrio nigricans* (Fig. 1).

El análisis mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos de las cepas LP y NA demostró que los aislados presentan perfiles similares entre sí, siendo los ácidos grasos mayoritarios la mezcla 3 ($40,95 \pm 0,95\%$, mezcla formada por los ácidos grasos $C_{16:1} \omega 7c$ e iso- $C_{15:0} 2-OH$ que no pueden ser separados mediante cromatografía), seguida por $C_{16:0}$ ($21,07 \pm 1,97\%$) y $C_{18:1} \omega 7c$ ($16,35 \pm 1,75\%$). Estos valores son similares a los obtenidos con la cepa tipo de *E. nigricans* CECT 7320 (Pascual *et al.*, 2009)

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos de la Xunta de Galicia PGDIT-07MMA012CT, PGDIT-06RMA0024 e INCITE 08E1R208038 ES.

Bibliografía

- APROMAR 2009. <http://www.apromar.es/Informes/informe%202009/Informe-APROMAR-2009.pdf>
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits of phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
- Pascual J., Macián M.C., Arahal D.R., Garay, E., Pujalte M.J. 2009. Description of *Enterovibrio nigricans* sp. nov.; reclassification of *Vibrio calviensis* as *Enterovibrio calviensis* comb. nov. and emended description of the genus *Enterovibrio*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59, 698-704
- Pazos F., Santos Y., Macías A.R., Núñez S., Toranzo A.E. 1996. Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *Journal of Fish Diseases* 19, 193-197.
- Piñeiro-Vidal M., Carballas C.G., González-Barreiro O., Riaza A., Santos Y. 2008. *Tenacibaculum soleae* sp. nov. isolated from diseased sole (*Solea senegalensis* Kaup). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58, 881-885.
- Saitou N., Nei M. 1987. Neighbour-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425.

Análisis fenotípico y molecular de cepas de *Edwardsiella tarda* aisladas de rodaballo (*Psetta maxima*, L.) en cultivo

N. García-Lamas¹, C. Fuentes-Edfuf¹, P. García-González¹, C. Zarza², D. Gijón² e Y. Santos¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Biología. Ed. CIBUS. Universidad de Santiago de Compostela. 15782 Santiago de Compostela (A Coruña).
e-mail: naiara.garcialamas@hotmail.com

² Skretting Fish Health Service. Carretera de la Estación, s/n. 09620 Cojóbar (Burgos)

Abstract

In this study we have carried out the phenotypic and serological study as well as the molecular characterization (total proteins and genomic polymorphism) of a group of 16 strains of *E. tarda* isolated from turbot (*Psetta maxima*, L.) cultured in the Atlantic and Cantabric coast of Spain. The strains were homogeneous at phenotypic level as well as in protein profile but showed genetic heterogeneity by using RAPD analysis.

Justificación

Edwardsiella tarda, agente causal de edwardsiellosis, es una bacteria entérica. La enfermedad se caracteriza por hemorragias y diversos daños en órganos internos, causando grandes mortalidades e importantes pérdidas económicas. La bacteria tiene un amplio rango de hospedadores desde peces en cultivo, aves, reptiles, mamíferos incluyendo al ser humano (Austin y Austin, 2007). Existen estudios contradictorios en relación a la existencia de diversidad a nivel fenotípico y molecular en la especie *E. arda*. En el presente estudio se han analizado las características fenotípicas y moleculares de cepas de *E. tarda* aisladas de rodaballo cultivado en España (costa gallega y cantábrica).

Material y métodos

Cepas utilizadas y condiciones de cultivo. En este estudio se utilizaron 14 cepas de *E. tarda* aisladas de rodaballo cultivado en España. También se incluyeron dos cepas de referencia aisladas de heces humanas (CECT 849) y de una especie desconocida de pez (NCIMB 2034). Las cepas fueron cultivadas en Agar de Soja Trypticaseína (TSA; Panreac) suplementado con un 1% de NaCl (Panreac) a 25°C durante 48 h. La posición taxonómica de las cepas se confirmó con pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas utilizando métodos convencionales y el sistema miniaturizado API 20E (bioMérieux). La identificación se confirmó mediante métodos serológicos (aglutinación en portaobjetos, microaglutinación y ensayo Dot Blot).

Extracción de las proteínas totales de la envoltura celular y análisis en geles de SDS-acrilamida. La extracción de las muestras se llevó a cabo según la metodología descrita por Santos *et al.* (1995). El contenido proteico de las muestras se determinó mediante el método de Bradford (Bradford, 1976). Las electrofore-

Figura 1. Análisis electroforético de las proteínas de membrana de *E. tarda*

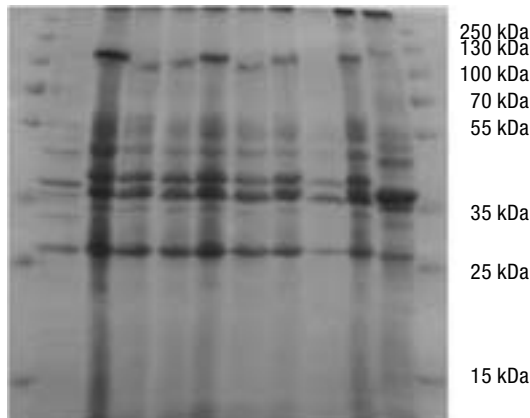


Tabla 1. Patrones obtenidos utilizando el cebador RAPD-4

N.º de cepas	Área geográfica	Perfiles con RAPD-4			
		I	II	III	IV
2	Gallega	+			
1	Cantábrica	+			
2	Gallega		+		
3	Gallega			+	
2	Cantábrica				+

+: pertenece al grupo indicado.

sis se llevaron a cabo en geles discontinuos de poliacrilamida-SDS al 12% siguiendo la técnica de Laemmli (1970). En todas las electroforesis se incluyó un marcador de masa molecular (15 a 250 kDa, Fermentas). Los geles se tiñeron con azul de Coomassie y se analizaron con el software Quantity One (Biorad).

Análisis del polimorfismo genómico y análisis en geles de agarosa. Se empleó la técnica de RAPD utilizando el método de extracción Instagene (Biorad) siguiendo las indicaciones de la casa comercial. Las electroforesis se llevaron a cabo en geles de agarosa al 2% incluyendo dos marcadores de masa molecular de 50-1.000 pb (Fermentas) y otro de 100-2.000 pb (Dominion). Los geles se revelaron con una solución acuosa de bromuro de etidio (0,5 mg/ml) (Sigma) y se analizaron con el software Quantity One (Biorad).

Resultados y discusión

Las cepas de *E. tarda* son homogéneas a nivel fenotípico, presentando unas características diferenciales dentro de la familia *Enterobacteriaceae*: rojo de metilo e indol positivas, producen gas de glucosa y SH₂. El análisis electroforético de las proteínas totales en geles de poliacrilamida-SDS (Fig. 1) demostró que, independientemente del área geográfica, los aislados de rodaballo presentan un perfil proteico similar con bandas comunes de masas moleculares de 115,5; 103,7; 53,6; 46,7; 41,5; 37,9; 36,0; 34,9; 26,9 y 22,1 kDa. Estos resultados contrastan con lo descrito en otros estudios realizados con cepas de esta especie aisladas a partir de pez gato, tilapia y sedimento (Panangala *et al.*, 2006; Maiti *et al.*, 2009). El análisis mediante la técnica de RAPD mostró cuatro patrones diferenciales (I II, III y IV) (Tabla 1). Los aislados gallegos se distribuyeron en tres patrones (I, II, y III) y las cepas cantábricas se incluyeron en los grupos I y IV. Es necesario realizar estudios con un mayor número de cepas para determinar la utilidad del análisis RAPD en estudios epidemiológicos sobre la edwardsiellosis.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto de la Xunta de Galicia INCITE 08E1R208038 ES.

Bibliografía

- Austin B., Austin D.A. 2007. *Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish*. Praxis Publishing Ltd. Chichester.
- Bradford M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. of Biochemistry* 72, 248-254.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
- Maiti N.K., Mandal A., Mohanty S., Mandal M.N. 2009. Phenotypic and genetic characterization of *Edwardsiella tarda* isolated from pond sediments. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 32, 1-8.
- Panangala V.S., Shoemaker C.A., McNulty S.T., Arias C.R., Klesius P.H. 2006. Intra- and interspecific phenotypic characteristics of fish-pathogenic *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda*. *Aquaculture Research* 37, 49-60.
- Santos Y., Pazos F., Bandín I., Toranzo A.E. 1995. Analysis of antigens present in the extracellular products and cell surface of *Vibrio anguillarum* serotypes O1, O2 and O3. *Applied Environmental Microbiology* 61, 2493-2498.

***Lernanthropus kroyeri* van Beneden, 1851 (Crustacea, Copepoda, Lernanthropidae) parásito de las branquias de la lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) en Cataluña**

P.A. Maíllo^{1,2}, C. Palacin^{1,2} y H. Salvadó^{1,2}

¹ Laboratorio de Protozoología. Departamento de Biología Animal. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. e-mail: pmaillo@ub.edu

² Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya

Abstract

A total of fifteen sea bass *Dicentrarchus labrax*, caught in the Mediterranean Sea, off the coast of Barcelona province, were examined for the presence of parasites. The gills of six out of the fifteen were infected with specimens of the parasitic copepod *Lernanthropus kroyeri*. Mean intensity of infection was 4,8 (SD \pm 2,9) parasites per host, and the intensity of infection ranged from 1 to 11 parasites per host. The morphological characteristics of the parasite were studied by means of scanning electron microscopy and light microscopy. Data on prevalence and intensity of infection and on the location in the host are provided. The potential importance of copepod parasite for sea bass culture is discussed.

Justificación

La lubina (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) es una especie de gran valor comercial, muy común en las aguas marinas y salobres del Mediterráneo. Es una de las especies más importantes en la piscicultura Mediterránea, teniendo su cultivo, en Cataluña y otras zonas de España, un gran potencial de crecimiento.

Entre los parásitos hallados habitualmente en los peces destacan los crustáceos copépodos. Algunos copépodos tienen efectos importantes sobre la supervivencia de los peces afectados, dañando las branquias, la piel y otros órganos, o bien afectando a la musculatura, causando cambios en el aspecto de la carne del pez (Lester y Hayward, 2006) que impiden o dificultan su comercialización.

Lernanthropus kroyeri es un copépodo que parasita las branquias de la lubina. En el presente trabajo se estudia la presencia del parásito en poblaciones de lubina salvajes en Cataluña, se describen los ejemplares hallados, su disposición sobre las branquias, así como los efectos patológicos que puede ejercer sobre el huésped.

Material y Métodos

Fueron examinadas 15 lubinas con una longitud media de 29,4 cm (DE \pm 3,73 cm) y un peso de 316,6 g (DE \pm 62,78 g) procedentes de capturas comerciales en mar abierto frente a las costas de Mataró (Barcelona). En el laboratorio, los peces fueron pesados, medidos y examinados en busca de parásitos. Los copépodos hallados fueron fijados en alcohol de 70° para su estudio al microscopio óptico. Algunos ejemplares de *L. kroyeri* fueron preparados para su observación al microscopio electrónico de barrido (SEM) según Gracia *et al.* (1997). La determinación específica se realizó según Kabata (1979).

Resultados y discusión

Seis ejemplares de lubina (40%), de los quince examinados, estaban infectados por *Lernanthropus kroyeri*. Este copépodo presenta grandes zonas del cuerpo, así como de los apéndices, recubiertas de una densa capa de pequeñas setas. Muestra un amplio escudo dorsal, cuyos extremos laterales se extienden ventralmente y que se alarga más allá del extremo caudal del cuerpo. El tubo bucal es alargado, con el extremo distal afilado. El tercer par de patas tienen forma laminar arqueada, y los apéndices se proyectan oblicuamente hacia afuera. Las patas del cuarto par se muestran bifurcadas a partir de un determinado punto de la base del apéndice, formando dos lóbulos de forma lanceolada que sobresalen más allá del extremo de la placa dorsal. *L. kroyeri* se distingue de otras especies del género *Lernanthropus*, entre otros caracteres, por la morfología del quinto par de patas (Kabata, 1979), que se encuentra reducido a una estructura lobular de pequeñas dimensiones. Los urópodos presentan los extremos distales afilados, mostrando dos pelos apicales de diferente tamaño.

La longitud media de los ejemplares de copépodos hallados, incluyendo el cuarto par de patas, fue de 6,2 mm (DE \pm 1,1 mm), oscilando entre 5,5 y 7,3 mm. La intensidad media de la infección fue de 4,8 (DE \pm

2,9) parásitos por huésped, fluctuando la intensidad de la infección entre 1 y 11 parásitos por huésped. No se detectaron otros parásitos branquiales en los peces afectados.

Todos los parásitos detectados eran hembras adultas y estaban situadas sobre las laminillas braquiales primarias, disponiéndose con el extremo cefálico dirigido hacia la base de la branquia. La sujeción del parásito al huésped se realizaba, principalmente, a través del segundo par de antenas.

L. kroyeri tiene importantes efectos patológicos sobre la lubina cultivada al erosionar las laminillas branquiales primarias, causando hemorragias y necrosis de las laminillas secundarias. El parásito también provoca un incremento de la secreción mucosa y afecta a los elementos vasculares de la branquia (Manera y Dezfuli, 2003). La presencia de este parásito en las aguas catalanas debería ser tenida en cuenta en los planes de prevención de las explotaciones dedicadas al cultivo de lubina en Cataluña.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la Xraq (Red de Referencia de Investigación y Desarrollo en Acuicultura de la Generalitat de Cataluña).

Bibliografía

- Lester R.G.J., Hayward C.J. 2006. Phylum Arthropoda (Cap 14.). En: *Fish Diseases and Disorders. Vol. 1. Protozoan and Metazoan Infections* (2nd ed.). P.T.K. Woo (Ed.): 466-565. CABI Publishing.
- Gracia M.P., Maíllo P.A., Amigó J.M., Salvadó H. 1997. Ultrastructural study of *Sphaeromyxa balbianii*, Thelohan 1892 (Myxozoa, Myxosporaea: Bivalvulida), a parasite of *Cepola macrophthalma*, Linnaeus 1758. *Acta Protozoologica* 36, 171-179.
- Kabata Z. 1979. *Parasitic Copepoda of British Fishes*. The Ray Society, The British Museum, London. 468 pp.
- Manera M., Dezfuli, B.S. 2003. *Lernanthropus Kroyeri* infections in farmed sea bass *Dicentrarchus labrax*: pathological features. *Diseases of Aquatic Organisms* 57, 177-180.

Valoración de la presencia del isópodo *Ceratothoa oestroides* en peces silvestres merodeadores en instalaciones de acuicultura del Levante

E. María Dolores¹, L. Bermúdez¹, O. Gómez¹, E. Viuda¹, J.I. López¹, M.L. Pla¹,
P. Muñoz² y J. Peñalver¹

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura. D.G. de Ganadería y Pesca. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65. 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia).
e-mail: jose.penalver2@carm.es

² Departamento de Sanidad Animal. Universidad de Murcia. 30100 Murcia

Abstract

C. oestroides isopod is a relatively common species in wild fish, adults in developing oral cavity and causing alterations to the host. The intensive rearing conditions facilitate the development of pathologies. The presence of marauding wildlife is an added danger. On our coast have not been cases in the aquaculture species, but in other areas of the Mediterranean. In this paper we make a check on the presence of the parasite in adult specimens of marauding species and species of aquaculture fish infested obtained only in bogue, from outside and inside of the cages.

Justificación

La cría intensiva de peces conlleva sistemas de cultivo con elevadas concentraciones de ejemplares, lo cual facilita la aparición y difusión de enfermedades. La presencia de crustáceos parásitos en los peces silvestres es un hallazgo relativamente frecuente. Dentro de este tipo de parásitos, *Ceratothoa oestroides* (Riso, 1826) es un isópodo que se desarrolla en el interior de la cavidad bucal, lo cual provoca trastornos mecánicos e irritativos en el hospedador, pero además puede producir anemia, inmunosupresión y en determinados casos la muerte del pez. Este parásito supone un potencial riesgo para la acuicultura mediterránea, pudiendo producir graves perjuicios económicos en las instalaciones afectadas. Esta patología no ha sido descrita en instalaciones de acuicultura de nuestro litoral, pero sí lo ha sido con consecuencias graves en cultivos de dorada y lubina en Grecia, Turquía y en el Mar Adriático.

C. oestroides tiene una amplia variedad de hospedadores, entre los que destaca la boga (*Boops boops*), diversas especies de Centracanthidae y otros Sparidae, en menor medida sardina (*Sardina pilchardus*), jurel (*Trachurus* sp.), salmonete (*Mullus* sp.) y brótola (*Phycis* sp.) (Kirkim *et al.* 2008). Dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*) no parecen ser hospedadores naturales. Las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (*Fish Attraction Devices*). Estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster *et al.*, 2002) sitúan como las especies más frecuentes: boga, alacha (*Sardinella aurata*), jurel, mújol (Mugilidae), palometa (*Trachinotus ovatus*) y oblada (*Oblada melanura*). Resulta por ello de gran interés comprobar el nivel de prevalencia de este parásito en estas especies merodeadoras.

Material y Métodos

Se procedió a la recolección de ejemplares de boga, alacha y jurel tanto del exterior de las jaulas de acuicultura como del interior de las mismas, ya que es muy frecuente que las especies merodeadoras, en distintas fases de la cría, pero especialmente en las operaciones de cambio de red, queden atrapados en el interior. También se chequearon ejemplares de dorada y lubina procedentes de las mismas instalaciones, situadas en el Polígono Acuícola de San Pedro de Pinatar en la zona norte del litoral de Murcia. Los peces fueron sometidos a un meticuloso examen de la cavidad bucal para la búsqueda de las formas adultas del parásito. El muestreo se realizó entre mayo y agosto de 2007 y el número de ejemplares por especie se refleja en la Tabla 1.

Resultados y Discusión

De las tres especies silvestres analizadas, sólo se encontró el parásito (parejas de macho y hembra) en boga. En el caso de las bogas obtenidas en el exterior de las jaulas, la prevalencia fue de un 9,8% (7 de 71) frente a una prevalencia del 3,5% en los ejemplares procedentes del interior de las jaulas (5 de 142). Matasin y Vucinic (2008) encuentran en el Adriático una prevalencia en boga no asociada a jaulas del 12,8%, lo cual está en concordancia con nuestros resultados. En la bibliografía consultada se considera a esta es-

Tabla 1. Número de ejemplares chequeados por especie y origen

Especie	Exterior jaulas	Interior jaulas	Total
Boga	71	142	213
Jurel	33	5	38
Alacha	29	17	46
Dorada	—	152	152
Lubina	—	57	57

pecie como la que presenta una prevalencia netamente superior que el resto de especies. Para el total de los ejemplares de esta especie, la prevalencia fue de un 5,6%. Los ejemplares de jurel y alacha no estaban infestados, hecho si descrito por otros autores tanto en jurel como en sardina (Kirkim *et al.* 2008).

Los ejemplares de acuicultura, tanto dorada como lubina, no presentaban en ningún caso el parásito. Hasta la fecha no ha sido descrita esta patología en nuestras costas, pero si han acaecido episodios graves en piscifactorías marinas de Grecia (Sarusic, 1999), Turquía (Horton y Akamura, 2001) y en el Adriático (Mladineo, 2003). Las instalaciones de acuicultura de nuestro litoral están normalmente situadas lejos de paredes y fondos rocosos, sobre una columna de agua elevada y con gran renovación de agua, todo lo cual dificulta la infestación de los ejemplares de acuicultura, que pasan toda su fase de engorde en esas condiciones. Además los adultos de *C. oestroides* no pueden migrar de un hospedador a otro. En cualquier caso, es necesario realizar un seguimiento sobre la epidemiología de este parásito.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha realizado en el marco del proyecto JACUMAR de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina.

Bibliografía

- Dempster T., Sánchez P., Bayle J.T., Giménez F., Valle C. 2002. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: spatial and short-term temporal variability. *Marine Ecology Progress Series* 242, 237-252.
- Horton T., Akamura B.. 2001. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a turkish sea bass (*D. labrax*) and sea bream (*S. aurata*) farm. *Diseases of Aquatic Organisms* 46, 181-188.
- Kirkim F., Kocatas A., Katagan T, Sezgin M. 2008. A report on parasitic isopods (Crustacea) from marine fishes and decapods in Aegean Sea (Turkey). *Acta Parasitologica Turcica* (www.tparazitolderg.org).
- Mladineo I. 2003. Prevalence of *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826), a cymothoid isopode parasite, in cultured sea bass (*D. labrax*) on two farms in Middle Adriatic Sea. *Acta Adriatica* 43(1), 97-102.
- Matasin Z., S. Vucinic S. 2008. *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) bogue (*Boops boops*) and picarel (*Spicara smaris*) from the Velebit channel in the Northern Adriatic. *Veterinarski Arhiv* 78(4), 363-367.
- Sarusic G. 1999. Preliminary report of infestation by isopod *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) in marine cultured fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 19, 110-112.

Prevalencia de *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) en anguilas (*Anguilla anguilla* L.) silvestres procedentes de dos ecosistemas: la Albufera de Valencia y el Mar Menor (Murcia)

P. Muñoz¹, C. Martínez-Carrasco¹, R. Ruiz de Ybañez¹,
A. García-Ayala² y J. Peñalver³

¹ Departamento de Sanidad Animal. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. pilarmun@um.es

² Departamento de Biología Celular e Histología. Universidad de Murcia. 30100 Murcia

³ Dirección General de Ganadería y Pesca. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Murcia

Abstract

Prevalence of *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) in wild European eels from two different ecosystems in the Mediterranean Sea in Spain has been evaluated. In this study an enzymatic method for isolation and counting of larvae stages in swimbladder wall has been described. Prevalence detected in eels from the Albufera Lake in Valencia (ALB) was 86.6% while the prevalence in eels from the Mar Menor lagoon (MM) in Murcia was 7.34%. The high salinity (42-47 g/l) and the lack a suitable intermediate host can be the cause of the scarce spread of *A. crassus* in MM eels.

Justificación

La infección por el nematodo *Anguillicola crassus* es considerada uno de los factores que han contribuido al descenso de las poblaciones naturales de anguila europea. Varios estudios han demostrado que *A. crassus* está bastante extendido en España (Korta y Díaz, 2008). No obstante, existen todavía algunos ríos españoles que no han sido colonizados por este nematodo y en otros ecosistemas, como el MM, se desconoce su prevalencia. El objetivo del presente estudio es comparar la prevalencia de *A. crassus* en anguilas procedentes de dos ecosistemas mediterráneos, la Albufera de Valencia (ALB) y el Mar Menor (MM) de Murcia.

Material y Métodos

Se muestrearon 60 anguilas (peso medio: 74,04 g) procedentes de la ALB (salinidad de hasta 2 g/l) y 109 anguilas (peso medio: 23,79 g) del MM (salinidad 42-47 g/l). Las formas parasitarias adultas halladas en el lumen de la vejiga natatoria se conservaron en etanol al 70% hasta su identificación. Las vejigas natatorias se digirieron (45 min, 38 °C) en una solución de pepsina al 1,5% y ácido clorhídrico al 1,5% en agua destilada. El material digerido se centrifugó (500g, 5 min) y se contaron las distintas fases parasitarias en una cámara de Favatti. Los resultados se analizaron mediante el test estadístico de Mann-Whitney comparando las intensidades de las fases parasitarias encontradas en las anguilas procedentes de la ALB con las de las anguilas del MM.

Resultados y Discusión

En el presente estudio se observaron diferencias estadísticas significativas en la intensidad de *A. crassus* entre las anguilas de los dos ecosistemas. La prevalencia detectada en las anguilas de la ALB es la más alta descrita en España. Diferentes estudios demuestran que, en un primer momento, la infección se extiende rápidamente y que, posteriormente, se estabiliza cuando el parásito alcanza una prevalencia que ronda el 63% (Schabuss *et al.* 2005). Los resultados sugieren que en la ALB, *A. crassus* todavía se encuentra en fase de expansión. Por otra parte, este es el primer estudio que demuestra que *A. crassus* puede completar su ciclo en ecosistemas con salinidades por encima de 35 g/l. Kirk *et al.* (2002) demostraron que un 15-21% de los ejemplares de *A. crassus* adultos utilizados en una infección experimental con anguilas de ecosistemas marinos no soportaron el estrés osmótico. No obstante, de acuerdo con Kirk (2003), las únicas limitaciones para su diseminación son temperaturas menores a 4 °C y la falta de un hospedador intermediario adecuado. El copépodo *Acanthocyclops robustus*, uno de los hospedadores intermediarios descrito en aguas continentales, es uno de los dos principales componentes del zooplancton de la ALB (Vicente y Miracle, 1992). Por el contrario, *Eurytymora affinis*, hospedador intermediario de *A. crassus* en aguas marinas, no ha sido descrito entre el zooplancton del MM (Gilbert, 2001). La elevada salinidad de las aguas del MM y la falta de un hospedador intermediario adecuado podrían explicar la baja prevalencia de *A. crassus* en las anguilas procedentes del MM.

Tabla 1. *Anguillicola crassus*. Prevalencia, intensidad de parasitación y abundancia en anguilas europeas

	ALB (N = 60)	MM (N = 109)
<i>Adultos</i>		
Prevalencia total (%)	50	3,67
Prevalencia de hembras (%)	64,79	41,66
Prevalencia de machos (%)	42,79	16,66
Sexo sin determinar (%)	20,79	41,66
Intensidad	4,4 (1-33)	3 (1-9)
Abundancia (DS)	2,2 (6,32)	0,11 (5,3)
<i>Larvas L2^a</i>		
Prevalencia (%)	40	4,59
Intensidad	2.605,54 (1-23.800)	8.666 (1- 42.960)
Abundancia (DS)	1.042,2 (5.557,3)	397,52 (22.232,92)
<i>Larvas L3</i>		
Prevalencia (%)	68,33	0,92
Intensidad	6,76 (1-47)	1 (1)
Abundancia (DS)	4,6 (8,79)	0,01 (0)
<i>Larvas L4</i>		
Prevalencia (%)	51,67	0
Intensidad	6,52 (1-140)	0
Abundancia (DS)	3,4 (24,8)	0
<i>L3 + L4 + adultos</i>		
Prevalencia (%)	83,3	4,59
Intensidad	12,47 (1-149)	2,6 (1-9)
Abundancia (DS)	10,18 (23,40)	0,12 (5,3)
<i>Carga total parasitaria</i>		
Prevalencia (%)	86,6	7,34
Intensidad	1.237 (1-23 826)	5.417,87 (1-42.969)
Abundancia (DS)	1.052,4 (3 995,08)	397,64 (19.007)

^a Huevos conteniendo larva L2 o larva L2 eclosionada. DS: desviación estándar.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Emilio Romero y a Daniel Riquelme su inestimable colaboración en el muestreo de las anguilas y en la digestión enzimática de las vejigas natatorias.

Bibliografía

- Gilabert J. 2001. Seasonal plankton dynamics in a Mediterranean hypersaline coastal lagoon: the Mar Menor. *Journal of Plankton Research* 23(2), 207-218.
- Höglund J., Andersson J., Wickström H., Reizenstein M. 1992. The distribution of *Anguillicola* in Sweden and its association with thermal discharge areas. *Irish Fish Investigation Service* 36, 143-150.
- Kirk R.S. 2003. The impact of *Anguillicola crassus* on European eels. *Fisheries Management and Ecology* 10, 385-394.
- Kirk R.S., Morrill D., Lewis J.W., Kennedy C.R. 2002. The osmotic relationship of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* with seawater eels. *Parasitology* 124, 339-347.
- Korta M., Díaz E. 2008. Report on the eel stock and fishery in Spain: working document EIFAC/ICES Working Group on eels, Leuven (Belgium), 2-9 September 2008.
- Schabuss M., Kennedy C.R., Konecny R., Grillitsch B., Reckendorfer W., Schiemer F., Herzog A. 2005. Dynamics and predicted decline of *Anguillicola crassus* infection in European eels, *Anguilla anguilla*, in Neusiedler See, Austria. *Journal of Helminthology* 79, 159-167.
- Vicente E., Miracle M.R. 1992. The coastal lagoon Albufera de Valencia: An ecosystem under stress. *Limnetica* 8, 87-100.

Nuevos métodos de control del protozooario ciliado de agua dulce *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876

S.M. Picon-Camacho¹, J.E. Bron¹ y A.P. Shinn¹

¹ Instituto de Acuicultura. Universidad de Stirling. FK9 4LA. Stirling (Reino Unido).
e-mail: sara.picon@stir.ac.uk

Abstract

Ichthyophthirius multifiliis Fouquet, 1876 («white spot») is recognised as a significant pathogenic disease of wild and cultured freshwater fish. In trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) hatchery systems, infections can quickly establish and result in high mortality if left unregulated. Current control centres around the use of regular bath treatments, however, these are not always effective and are labour intensive. Here we discuss two recent studies. 1) The efficacy of continuous, low dose application of a chemotherapeutant targeted at treating the tomonts and theronts, the external stages of the parasite. Continuous administration of a 5 ppm dose of Compound «X» reduced the number of trophonts establishing in two successive waves of infection by 83,53% [*i.e.* 379,18 ± 325,59 (C) versus 62,44 ± 33,01 trophonts/fish (5 ppm)] and 97,40% [*i.e.* 881,57 ± 1088,12 (C) versus 22,91 ± 19,42 trophonts/fish (5 ppm)]. 2) The efficacy of an environmentally safe, non-chemical alternative which employs a mechanical suction device system to remove cysts from commercial trout raceways that have been covered with a low adhesion polymer lining to facilitate the operation of the suction device. Use of the device resulted in significantly lower infections *i.e.* 361,88 ± 260,75 trophonts/fish in the control raceways versus 1,64 ± 1,59 trophonts/fish in raceways where the device was used.

Justificación

El protozooario ciliado de agua dulce *Ichthyophthirius multifiliis*, conocido comúnmente como punto blanco, supone una de las enfermedades más importantes en la industria de la trucha a nivel mundial, originando cuantiosas pérdidas económicas cada año. Este organismo posee un complejo ciclo de vida dependiente de la temperatura (Matthews, 2005). Hoy en día los tratamientos más utilizados para su control consisten en baños de sulfato de cobre, permanganato potásico, sal y formalina (Straus y Griffin, 2002). Sin embargo, estos tratamientos no son realmente efectivos y existe una necesidad de buscar nuevas alternativas. Aquí presentamos dos nuevas posibilidades: 1) El uso de un nuevo compuesto químico, Compuesto X, de manera continua a bajas concentraciones (1 mg/l, 2 mg/l y 5 mg/l) frente a los estadios externos tomonte y teronte así como el efecto profiláctico de 2 mg/l (nombrado como 2 ppm Start) previo a la infección. 2) La utilización de un sistema mecánico (denominado «System/Ch») capaz de eliminar los quistes de punto blanco, basado en una cabeza succionadora conectada a una bomba y un polímero de baja adhesión que cubre el fondo y paredes de los estanques de hormigón de las granjas de trucha.

Material y Métodos

Tratamiento químico. Para este experimento se diseñó un sistema abierto de cultivo formado por 15 tanques (66 × 24,5 × 20 cm cada uno) con 50 truchas arcoiris (~5 g) cada uno. Se utilizó una bomba peristáltica para suministrar cinco concentraciones del Compuesto X (0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l Start, 2 mg/l End y 5 mg/l) con tres réplicas por concentración. Se realizaron tres muestreos: a los 9-10 días, 23-24 días y 33-34 días después de la infección inicial, donde 10 peces por tanque se sacrificaron para el recuento de parásitos en piel, branquias y aletas.

Sistema mecánico. Este experimento se llevó a cabo durante un periodo de 4 meses (de 10 de mayo al 10 de agosto 2005) en una piscifactoría de trucha arcoiris situada en el sur de Escocia. Se utilizaron 6 estanques de hormigón (6 × 1 × 1 m), 3 ellos como control (donde solamente se llevaron a cabo las actividades diarias de limpieza en la granja) y otros 3 fueron recubiertos con el polímero de baja adhesión y la cabeza succionadora que se empleó diariamente. Cada estanque de hormigón contenía 5.000 truchas arcoiris de 5 g. Cada 15 días, 30 peces de cada estanque se sacrificaron con una sobredosis del anestésico 2-fenoxietanol para determinar el número de parásitos en la piel, branquias y aletas.

Resultados y Discusión

La administración de 5 mg/l del Compuesto X redujo el número de ectoparásitos en un 53% en el segundo muestreo (23-24 días post infección) [*i.e.* 379,18 ± 325,59 (Control) versus 62,44 ± 33,01 trofontes/pez (5 ppm)] en un 97,40% en el tercer muestreo (33-34 días post infección) [*i.e.* 881,57 ± 1.088,12 (Control) versus 22,91 ± 19,42 trofontes/pez (5 ppm)] (Fig. 1). Por otro lado, la utilización del sistema mecánico redujo significativamente los niveles de infección de punto blanco en la piscifactoría de trucha arcoiris con

Figura 1. Promedio de trofontes de las cinco diferentes concentraciones del Compuesto X en los tres puntos de muestreo. Abreviación: PI (post infección)

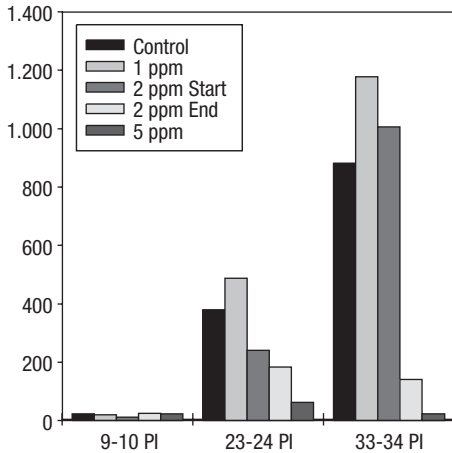
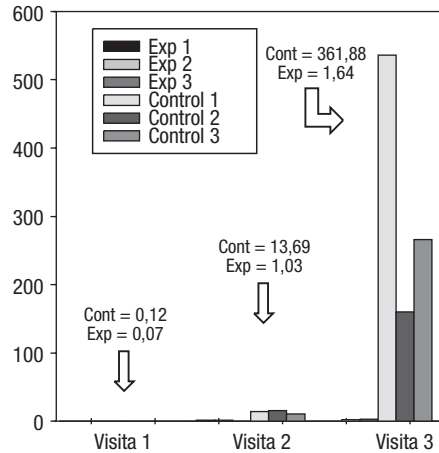


Figura 2. Número de trofontes en los tres grupos control y usando el sistema mecánico en los tres últimos muestreos. Abreviación: Cont (media del numero de trofontes en todos los grupos control), Exp (media del numero de trofontes de los estanques donde se utilizo el sistema mecánico)



1,64 ± 1,59 trofontes por pez comparado con 361,88± 260,75 trofontes por pez en el control. Esto supone una reducción de ~166 veces en los niveles de infección (Fig. 2). Por ello, tanto el compuesto X como la utilización del sistema mecánico se presentan como una solución prometedora y eficaz alternativa a los baños químicos actuales.

Agradecimientos

A los autores les gustaría mostrar su agradecimiento a la Asociación de Truchas del Reino Unido (BTA), al Fórum Escocés de Investigación en Acuicultura (DEFRA) por su apoyo financiero y el acceso a la piscifactoría de trucha comercial durante el experimento System/*Ich* así como a Novartis International Ltd. por su apoyo financiero, y por el suministro del Compuesto X.

Bibliografía

Matthews R.A. 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Advances in Parasitology* 59, 159-241.
 Strauss D.L., Griffin B.R. 2002. Efficacy of potassium permanganate in treating ichthyophthiriasis in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 14, 145-148.

Desarrollo de un protocolo de PCR a tiempo real para la detección de betanodavirus pertenecientes a los genotipos SJNNV y RGNNV

B. Lopez-Jimena¹, N. Cherif³, E. Garcia-Rosado², C. Infante¹, I. Cano⁴, D. Castro², M.C. Alonso², S. Hammami³ y J.J. Borrego²

¹ FAPA Centro El Toruño. Junta de Andalucía. Camino Tiro de Pichón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María. Cádiz.
e-mail: beloji@uma.es

² Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga

³ Institut de la Recherche Veterinaire de Tunisie. La Rabta. Tunisie

⁴ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía. CSIC. Puerto Real. Cádiz

Abstract

Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER) is a fish disease caused by nodaviruses included in the Betanodavirus genus. This disease has been a major obstacle for the aquaculture industry since these viruses affect to more than 30 marine fish species, and its control is based on the viral detection in asymptomatic specimens. Present study describes a SYBR Green I Real-Time PCR procedure for VNNV detection from several organs of seabass, sole and gilt-head seabream, either diseased or asymptomatic specimens. The sensitivity of this technique was 10^{-2} TCID₅₀/ml⁻¹. The newly designed primers allow for the specific detection of nodavirus isolates belonging to the RGNNV and SJNNV genotypes.

Justificación

La enfermedad de la Necrosis Nerviosa Vírica (NNV) ocasionada por un betanodavirus (familia *Nodaviridae*) ha sido considerada como una gran amenaza para la acuicultura, afectando a más de 30 especies marinas de peces, entre ellas, la dorada (*Sparus aurata*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Munday *et al.*, 2002) y, más recientemente, el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) (Thiery *et al.*, 2004). El objetivo de este estudio ha sido el desarrollo de un sistema de PCR a tiempo real relativa para detectar betanodavirus pertenecientes a los genotipos SJNNV y RGNNV.

Material y Métodos

Se analizaron larvas de lubina (D4) y dorada (B3) asintomáticas, y homogeneizados de cerebro, ojos, órganos internos y aletas de lubinas sintomáticas (5PG13) y doradas asintomáticas (PG75), procedentes de la costa mediterránea de Túnez (todas ellas previamente caracterizadas como RGNNV), además de lenguado (Sole1) de la costa atlántica de España, y un aislado SJ-iso1 previamente caracterizados como SJNNV. La extracción de ARN total se llevó a cabo empleando el sistema comercial Micro-to-Midi-Total RNA Purification System (Invitrogen), y la síntesis de ADNc se realizó con el kit SuperScript first strand synthesis system for RT-PCR (Invitrogen). Para la PCR a tiempo real, se utilizó el iQ SYBR Green Supermix kit (BioRad), siguiendo las especificaciones de la casa comercial. Como parejas de cebadores, se diseñó la pareja Noda5 F/R (F: 5'-CGGATACGTTGTTGACG-3'; R: 5'-CTAGCAGCGTGCCAGTC-3'), para la detección de un fragmento de 65 pb del extremo 5' del segmento ARN2; y se evaluaron los cebadores β -actin F/R (García-Rosado *et al.*, 2008) y Q-18S1/2 (Dalla Valle *et al.*, 2005), para la detección de β -actina y ARNr 18S, respectivamente, como genes de referencia. El programa de amplificación fue el siguiente: 95°C 3 min, 40 ciclos de PCR (15 s a 94°C, 30 s a 58°C y 30 s a 72°C). Se incluyeron controles negativos (agua-DEPC). Para la normalización de los resultados se utilizó la relación entre los valores C_T medios obtenidos con Noda5 F/R y β -actin F/R.

La sensibilidad se evaluó utilizando el aislado de lubina 5PG13 (título inicial, 10^8 TCID₅₀ ml⁻¹). Este mismo aislado se utilizó para la generación de curvas de calibración con las parejas de cebadores Noda5 F/R y β -actin F/R, empleando diluciones de ADNc desde $1,5 \times 10^{-1}$ a $1,5 \times 10^{-4}$ ng μ l⁻¹. La variación intra-ensayo se determinó por la desviación estándar (SD) obtenida de la media de tres réplicas incluidas en tres rangos de la curva de calibración ($1,5$, $1,5 \times 10^{-1}$, $1,5 \times 10^{-2}$ ng μ l⁻¹). La variación inter-ensayo se determinó por la SD máxima de los valores medios de dos experimentos independientes. El coeficiente de variación (CV) se calculó como la relación entre SD y media de las medidas de las réplicas.

Resultados y Discusión

Skiris *et al.* (2001) sugirieron que diferentes genotipos de nodavirus podrían coexistir en una misma zona geográfica. Por este motivo, se han diseñado los cebadores Noda5 F/R en una región conservada del extremo 5' del ARN2, detectando nodavirus pertenecientes a los genotipos SJNNV y RGNNV.

Las curvas de calibración dieron pendientes de $-3,239 \pm 0,06$ y $-3,257 \pm 0,03$ que indicaron eficiencias de $101,9 \pm 0,14\%$ y $101,25 \pm 1,06\%$ para las reacciones de amplificación del ARN2 y de la β -actina, respectivamente. Las variaciones intra-ensayo fueron entre $0,27-0,56\%$ (ensayo 1) y $0,98-1,86\%$ (ensayo 2) para el ARN2, y entre $0-0,73\%$ (ensayo 1) y $0,52-1,77\%$ (ensayo 2) para la β -actina. Las variaciones inter-ensayo oscilaron entre $0,27-1,86\%$ para el ARN2, y entre $0-1,77\%$ para la β -actina.

La técnica desarrollada permitió la detección de betanodavirus en tejido nervioso (cerebro y ojos), así como en órganos internos (hígado, bazo y riñón) y aletas, además de larvas de las distintas especies analizadas. La presencia de este virus en branquias y/o órganos internos ha sido descrita previamente (Grotmol *et al.*, 1999; Grove *et al.*, 2003). Además, la obtención de un valor de T_m en el análisis de las curvas de disociación al emplear los cebadores Noda5 F/R y β -actin F/R ($85,5$ y $83,5^\circ\text{C}$, respectivamente) demostró la especificidad de los mismos, descartándose los cebadores Q-18S1/2 al dar dos valores de T_m (82 y $85,5^\circ\text{C}$). El límite de sensibilidad obtenido (10^{-2} TCID₅₀ ml⁻¹) permitiría su aplicación en la detección de portadores asintomáticos en los que el título viral puede ser relativamente bajo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto A/8793/07 de la Agencia de Cooperación Internacional entre la Universidad de Málaga y el Instituto de Investigación Veterinaria de Túnez. B.L.J. posee una beca predoctoral INIA (Subprograma de Formación de Personal Investigador en agroalimentación en los centros de investigación INIA-CCAA). C.I. posee un contrato de investigación post-doctoral de INIA-CCAA.

Bibliografía

- Dalla Valle L., Toffolo V., Lamprecht M., Maltese C., Bovo G., Belvedere P., Colombo L. 2005. Development of a sensitive and quantitative diagnostic assay for fish nervous necrosis virus based on two-target real-time PCR. *Veterinary Microbiology* 110, 167-179.
- García-Rosado E., Alonso M.C., Bejar J., Manchado M., Cano I., Borrego J.J. 2008. Expression analysis of Mx protein and evaluation of its antiviral activity against sole aquabirnavirus in SAF-1 and TV-1 cell lines. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 121, 123-129.
- Grotmol S., Bergh Ø., y Totland G.K. 1999. Transmission of viral encephalopathy and retinopathy (VER) to yolk-sac larvae of the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: occurrence of nodavirus in various organs and a possible route of infection. *Diseases of Aquatic Organisms* 36, 95-106.
- Grove S., Johansen R., Dannevig B.H., Reitan L.J., Ranheim T. 2003. Experimental infection of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* with nodavirus: tissue distribution and immune response. *Diseases of Aquatic Organisms* 53, 211-221.
- Munday B., Kwang J., Moody N. 2002. Betanodavirus infection of teleost fish: a review. *Journal of Fish Diseases* 25, 127-142.
- Skiliris G.P., Krondiris J.V., Sideris D.C., Shinn A.P., Starkey W.G., Richards R.H. 2001. Phylogenetic and antigenic characterization of new fish nodavirus isolates from Europe and Asia. *Virus Research* 75, 59-67.
- Thiery R., Cozien J., Boissezon C., Kerbart-Boscher S., Nevarez L. 2004. Genomic classification of new betanodavirus isolates by phylogenetic analysis of the coat protein gene suggests low host-fish species specificity. *Journal of General Virology* 85, 3079-3087.

Análisis comparativo de los segmentos genómicos de betanodavirus aislados a partir de epizootias en especies de cultivo

J.G. Oliveira¹, S. Souto¹, C.P. Dopazo¹, R. Thiéry², J.L. Barja¹ e I. Bandín¹

¹ Unidad de Ictiopatología-Patología Viral. Departamento de Microbiología y Parasitología. Instituto de Acuicultura. Universidad de Santiago de Compostela. jose.oliveira@usc.es

² French Food Safety Agency, BP111, F-06902, Sophia Antipolis, France

Resumen

Betanodaviruses are the etiological agents of a devastating neuropathological condition that affects marine fish worldwide. The genome of betanodaviruses consists of two single-stranded, positive-sense RNA molecules. The larger genomic segment, RNA1, encodes the RNA-dependent RNA polymerase and the smaller segment, RNA2, encodes the capsid protein. Betanodavirus are classified in 4 genotypes on the basis of the comparison of a variable sequence of RNA2: striped jack nervous necrosis virus (SJNNV), tiger puffer nervous necrosis virus (TPNNV), red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV), and barfin flounder nervous necrosis virus (BFNNV) types. Sequencing of the full coding region of both genomic segments of 7 betanodavirus strains isolated from different farmed species in Spain and Portugal revealed that 6 of them were reassortants, exhibiting a RGNNV RNA1 and a SJNNV RNA2.

Introducción

La encefalopatía y retinopatía viral (VER) o necrosis nerviosa viral (VNN) está considerada como una de las enfermedades virales más serias que afecta a larvas y juveniles de peces marinos en todo el mundo. Los agentes etiológicos de esta enfermedad son virus pertenecientes al G. *Betanodavirus* (F. *Nodaviridae*). Se trata de virus icosaédricos, de unos 25-30 nm de diámetro, carentes de envuelta, y con un genoma compuesto por dos segmentos de RNA monocatenal de cadena positiva. El segmento más largo, RNA1, contiene la región codificante para la polimerasa viral (Nagai y Nishizawa, 1999), mientras que el RNA2, codifica para la proteína de la cápside (Nishizawa *et al.*, 1994; Delsert *et al.*, 1997).

Tradicionalmente la clasificación de los betanodavirus se ha realizado en base a una región variable del RNA2, estableciéndose 4 genotipos: SJNNV (striped jack nervous necrosis virus), TPNNV (tiger puffer nervous necrosis virus), BFNNV (barfin flounder nervous necrosis virus) y RGNNV (red-spotted grouper nervous necrosis virus) (Nishizawa *et al.*, 1997). Recientemente, Tofollo *et al.* (2007), en un análisis filogenético en el que se utilizaron secuencias parciales de los 2 segmentos genómicos, observaron la existencia de 2 aislados que presentaban un RNA1 tipo SJNNV, y un RNA2 de tipo RGNNV.

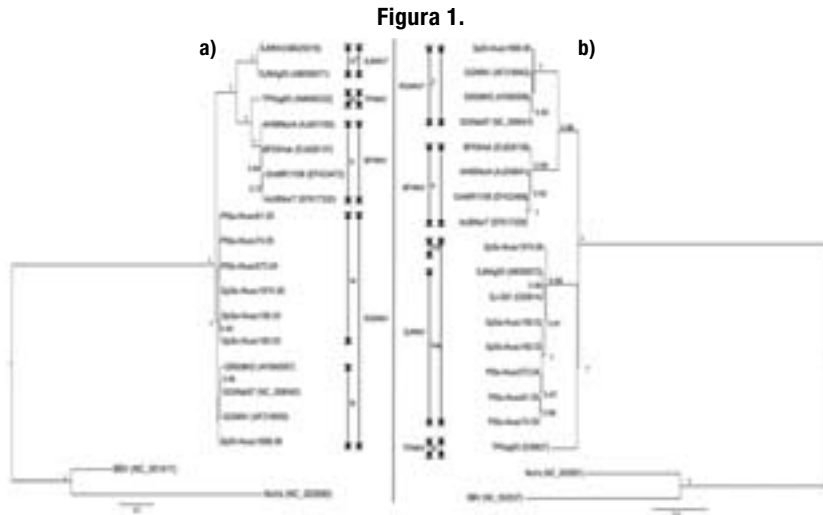
En el presente estudio se han secuenciado las regiones codificadoras del RNA1 y RNA2 de siete cepas de betanodavirus aisladas a partir de diferentes especies cultivadas en la Península Ibérica, y se han sometido a análisis filogenético. Además, se ha realizado otro análisis filogenético basado en 16 secuencias parciales de betanodavirus obtenidas directamente a partir de tejidos de peces

Material y Métodos

Se utilizaron 3 aislados de dorada (*Sparus aurata*) 3 de lenguado (*Solea senegalensis*) y 1 de lubina (*Dicentrarchus labrax*). Para la propagación viral se utilizaron dos líneas celulares, SSN-1, y SAF-1. Para extraer el RNA se utilizó el sistema comercial de Qiagen RNeasy Mini Kit. Para obtener el cDNA se utilizó el sistema de Invitrogen SuperScriptTM III utilizando «random primers» (Promega); las temperaturas de incubación fueron las siguientes: 25°C/ 10 minutos y 50°C/50 minutos, finalmente se incubó a 85°C durante 5 minutos para inactivar la reverse transcriptasa. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo usando una ADN polimerasa *GoTaq*® (Promega) Se realizaron 35 ciclos de amplificación: 95°C/30 s 60°C/30 s, y 72°C/30 s, con un período final de extensión de 10 min a 72°C. Los árboles filogenéticos se llevaron a cabo mediante inferencia bayesiana utilizando el programa Mr. Bayes 3.1.

Resultados

El análisis de los árboles basados en los dos segmentos reveló que en ambos casos se podían distinguir los 4 genotipos reconocidos en betanodavirus (Fig. 1). Sin embargo, la mayoría de nuestros aislados se agrupaban de manera distinta en los árboles realizados en base a las secuencias del RNA1 o RNA2. En el árbol basado en el RNA1 los 7 aislados de la península ibérica permanecían situados junto a las cepas del genotipo RGNNV (Fig. 1A), mientras que en el realizado en base al RNA2 uno de los aislados el SpDI-Ausc1688.08 (procedente de lubina) se mantenía en el grupo del genotipo RGNNV y los otros 6, obtenidos



a partir de lenguado y dorada, se agrupaban con las cepas del genotipo SJNNV (Fig 1B), lo que indica que estos 6 aislados son «reassortants» que poseen un genoma RGNNV/SJNNV.

La posibilidad de intercambio de segmentos génicos en betanodavirus ha sido descrita anteriormente. Iwamoto y col. (2004) obtuvieron cepas quiméricas SJNNV/RGNNV y RGNNV/SJNNV a partir de cepas SJNNV y RGNNV, lo que demuestra la viabilidad de este fenómeno. Además, el intercambio de segmentos génicos entre betanodavirus en la naturaleza ha sido descrito una única vez (Toffolo *et al.*, 2007) en un estudio en el que 2 cepas de un grupo de 27 presentaban un RNA1 de tipo SJNNV y un RNA2 perteneciente al genotipo RGNNV. Estas cepas fueron obtenidas de lubinas que presentaban síntomas clínicos. Estos datos indican que ambos intercambios entre segmentos génicos en betanodavirus pueden ser exitosos y permitir la obtención de cepas recombinantes con capacidad infectiva. Es importante resaltar que parece existir una relación entre el tipo de *reassortment* y la especie hospedadora, ya que las cepas SJNNV/RGNNV se aislaron de lubina (Toffolo *et al.*, 2007) mientras que los betanodavirus RGNNV/SJNNV de este estudio se han detectado en lenguado y dorada.

Bibliografía

- Iwamoto T., Okinaka Y., Mise K., Mori K-I, Arimoto M., Okuno T., Nakai T. 2004. Identification of host-specificity determinants in betanodaviruses by using reassortants between striped jack nervous necrosis virus and sevenband grouper nervous necrosis virus. *J. Virol* 78, 1256-1262.
- Nagai T., Nishizawa T. 1999. Sequence of the non-structural protein gene encoded by RNA1 of striped jack nervous necrosis virus. *J Gen Virol* 80, 3019-3022.
- Nishizawa T., Mori K., Nakai T., Furusawa I., Muroga K. 1994. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Dis Aquat Organ* 18, 103-107.
- Nishizawa T., Furuhashi M., Nagai T., Nakai T., Muroga K. 1997. Genomic classification of fish nodaviruses by molecular phylogenetic analysis of the coat protein gene. *Appl Environ Microbiol* 63, 1633-1636.
- Delsert C., Morin N., Comps M. 1997. A fish encephalitis virus that differs from other nodaviruses by its capsid protein processing. *Arch Virol* 142, 2359-2371.
- Toffolo V., Negrisol E., Maltese C., Bovo G., Belvedere P., Colombo L., Dalla Valle L. 2007. Phylogeny of betanodaviruses and molecular evolution of their RNA polymerase and coat proteins. *Mo. Phylogenet Evol* 4, 298-308.

DetECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL VIRUS DE LINFOCISTIS (LCDV) EN DORADAS (*Sparus aurata* L.) CULTIVADAS MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL

I. Cano¹, B. López-Jimena², E. García-Rosado², M.C. Alonso², D. Álvarez-Torres², J.B. Ortiz-Delgado*, D. Castro², J.J. Borrego², C. Sarasquete^{1*}

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC). Campus Universitario Río San Pedro. Puerto Real. Cádiz. España. carmen.sarasquete@icman.csic.es, jjborrego@uma.es

² Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga
* Unidad Asociada de Calidad Ambiental y Patología Molecular (UCA & CSIC)

Abstract

A real-time PCR assay was developed for rapid, sensitive and quantitative detection of Lymphocystis Disease Virus (LCDV) in gilt-head seabream (*Sparus aurata*) tissues. The assay used SYBR Green chemistry with specific primers targeting the major capsid protein (MCP) gene. The detection limit of this assay was 1 gene copy/reaction. A linear relationship was observed between the amount of template DNA and cycle threshold (C_T) values over a range of 1 to 10^6 copies of the viral genome. Overall intra- and inter-assay variability for C_T values were 1.53% and 2.17%, respectively. Melting curve analysis showed that there was no evidence of non-specific amplification. A linear relationship was also observed between viral genome concentration and TCID₅₀ values. Gilt-head seabream β -actin gene was used as internal control. The assay was applied successfully to quantify LCDV in tissue samples from diseased and asymptomatic fish.

Justificación

La enfermedad de linfocistis es la patología viral más frecuentemente detectada en el cultivo de la dorada (*Sparus aurata*, L.). Su agente causal es el virus de la enfermedad de linfocistis (LCDV), miembro de la familia *Iridoviridae*. Recientemente se han desarrollado diversos protocolos de detección del LCDV, tanto inmunológicos como basados en la PCR e hibridación de ácidos nucleicos, que han permitido la detección del virus tanto en peces enfermos como asintomáticos (Cano *et al.*, 2006, 2007). Sin embargo estas técnicas de detección no permiten la cuantificación de la carga viral presente en los tejidos analizados. En el presente trabajo se ha puesto a punto un ensayo de detección y cuantificación absoluta del LCDV en dorada, basado en la PCR a tiempo real, que se ha aplicado con éxito para la detección y cuantificación del virus en muestras de doradas enfermas y asintomáticas.

Material y Métodos

Los cebadores para la PCR a tiempo real se diseñaron utilizando la secuencia de un fragmento de 609 pb del gen que codifica para la proteína mayoritaria de la cápside (MCP) de un aislado de LCDV obtenido de lesiones de dorada, y clonado en un vector plasmídico (TOPO Cloning Vector, Invitrogen). Dichos cebadores amplifican un fragmento de 150 pb del gen de la MCP. El ensayo de PCR a tiempo real se realizó con el sistema 7500 Real-time PCR System (Applied Biosystem), utilizando placas de 96 pocillos. La reacción tuvo lugar durante 40 ciclos de amplificación, con una temperatura de anillamiento de 60°C, añadiéndose finalmente un análisis de curva de disociación con el fin de determinar la T_m del amplicón generado. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Para determinar la sensibilidad del ensayo se realizaron diluciones decimales del plásmido recombinante conteniendo el fragmento del gen de la MCP, obteniéndose una curva estándar. Para los análisis de regresión y el cálculo de la eficiencia de la amplificación (E) se usó el software SDS Vr. 3 (Applied Biosystem).

La variabilidad intra-ensayo se determinó utilizando tres diluciones del ADN viral analizadas por triplicado en un mismo ensayo de PCR, mientras que para determinar la variabilidad inter-ensayo se emplearon los datos procedentes de tres análisis de PCR independientes. En cada caso, el coeficiente de variación (CV) se calculó como el ratio entre la SD y la media de la C_T de las réplicas.

La correlación entre el número de copias del genoma viral y su título infeccioso (TCID₅₀) se determinó mediante análisis de regresión.

Finalmente se analizaron una variedad de muestras de dorada, tanto peces enfermos como larvas y juveniles sin síntomas aparentes. Como control negativo se usó ADN de ejemplares de dorada no infectados, analizados previamente mediante PCR convencional (Cano *et al.*, 2007). Para confirmar la calidad del ADN extraído se amplificó en paralelo un fragmento de 150 pb del gen que codifica para la β -actina de dorada, utilizando cebadores diseñados a partir de la secuencia depositada en GenBank (Santos *et al.*, 1997). La cuantificación absoluta de las copias de ADN del LCDV en las muestras analizadas se determinó median-

te extrapolación de los valores de C_T obtenidos con respecto a la curva estándar incluida en cada ensayo. La carga vírica se expresó como el número de copias de ADN viral por mg de tejido.

Resultados y Discusión

Para evaluar la especificidad de la PCR a tiempo real diseñada se determinó el valor de T_m de los productos de amplificación a partir de la curva de disociación en todos los ensayos realizados. Todas las muestras positivas (tanto ADN plasmídico como muestras de doradas infectadas) presentaron un pico específico en torno a 77 °C. Los valores de C_T obtenidos para muestras negativas (agua y muestras de doradas no infectadas) fueron siempre superiores a 34 ciclos, no obteniéndose amplificaciones específicas.

Para determinar la sensibilidad del ensayo se utilizaron diluciones decimales seriadas de un plásmido recombinante que contenía un fragmento del gen de la MCP viral. Se observó una relación lineal entre la cantidad de DNA utilizado como molde y los valores de C_T para un rango entre 1 y 10^6 copias de genoma viral. La eficiencia de amplificación obtenida fue del 98%.

El ensayo de PCR mostró una precisión y reproducibilidad aceptables, con valores de CV intra-ensayo e inter-ensayo de 1,66% y 2,17%, respectivamente.

El análisis de los datos también revela una buena correlación entre el número de copias y el título infectivo ($R^2 \geq 0,98$). Los valores de C_T variaron entre $16,17 \pm 0,06$ para 5×10^5 TCID₅₀ y $30,73 \pm 0,34$ para 5 TCID₅₀, lo que equivale a $2,2 \times 10^3$ y 1,2 copias de ADN viral, respectivamente.

El ensayo desarrollado presenta un amplio rango dinámico ($6 \log_{10}$), lo que hace que pueda ser útil para analizar muestras con muy diversa carga vírica. En este sentido, el análisis de tejidos de doradas con síntomas clínicos de linfocistis reveló que contenían una carga viral entre 10^4 y 10^2 copias/mg, mientras que en muestras de huevos, larvas y alevines asintomáticos la carga viral estimada fue de 22 a 0,3 copias/mg. Estos resultados avalan el protocolo desarrollado para la detección y cuantificación de LCDV en distintos tipos de muestras de doradas, lo que permitirá su aplicación a estudios de patogénesis y transmisión del LCDV.

Agradecimientos

Irene Cano es investigadora contratada en el ICMAN-CSIC, subvencionada a través de Ayudas del Fondo Social Europeo I3P-CSIC, y en el marco de los proyectos del Plan Nacional (AGL-2007-63380; IP: Juan José Borrego y AGL2006-13777-C03-02; IP: Carmen Sarasquete). Gracias especiales a Dña Isabel Viaña (Ayudante Investigación CSIC) por su asistencia técnica

Bibliografía

- Cano I., Alonso M.C., García-Rosado E., Rodríguez Saint-Jean S., Castro D., Borrego J.J. 2006. Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata*, L.) using an immunoblot technique. *Veterinary Microbiology* 113, 137-141.
- Cano I., Ferro P., Alonso M.C., Bergmann S.M., Römer-Oberdörfer A., García-Rosado E., Castro D., Borrego J.J. 2007. Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in different marine fish species. *Journal of Applied Microbiology* 102, 32-40.
- Santos C.R., Power D.M., Kille P., Llewellyn L., Ramsurn V., Wigham T., Sweeney G.E. 1997. Cloning and sequencing of a full-length sea bream (*Sparus aurata*) beta-actin cDNA. *Comparative Biochemistry and Physiology (B)* 117, 185-189.

Detección simultánea mediante PCR a tiempo real de *Renibacterium salmoninarum* y *Tetracapsuloides bryosalmonae* en salmónidos

N. Halaihel¹, I. Ruiz-Zarzuela¹, I. de Blas¹, T. Pérez¹, M.D Évora³, E. Escudero³, Y. García²,
D. Vendrell¹, J.L. Alonso¹, O. Gironés¹, J.L. Múzquiz¹, y J.A. Castillo¹

¹ Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. 50013 Zaragoza. España.
e-mail: Nabilhk@unizar.es

² Instituto de Ciencia Animal. Carretera Central 47. San José de las Lajas. La Habana. Cuba

³ Dirección General de Desarrollo Sostenible y Biodiversidad. Servicio de Ríos y Actividad Cinegética.
Diputación General de Aragón, 50071 Zaragoza

Abstract

Proliferative kidney disease (PKD) and Bacterial Kidney Disease (BKD) are affecting mainly salmonid species and causing economically significant losses in farmed fish and severe reductions in wild fish populations in Europe and other parts of the world. Gross lesions observed in both agents are similar in the kidney of affected fish. The present study describes the development and validation of a house duplex quantitative PCR for the PKD and BKD in the same DNA template from kidney tissue. LUX^R fluorogenic primers were designed from DNA sequence for *msa1* gene of *R. salmoninarum*, and SSU rDNA sequence from *T. bryosalmonae* (Kent *et al.*, 1998). A total of 26 bacterial strains tested negative and as low as 15 copies of *R. salmoninarum* DNA copies and 30 copies of *T. bryosalmonae* DNA were detected simultaneously. The test has similar diagnosis characteristics as the nested PCR for *R. salmoninarum* and a one log enhancement over the conventional PCR for the detection of *T. bryosalmonae*.

Justificación

Los métodos basados en la detección y amplificación de una región específica del ADN de un patógeno han demostrado ser los más sensibles, específicas y rápidos en realizar (Pascho, 1998). Las enfermedades parasitarias, como la PKD causada por el parásito intracelular *Tetracapsuloides bryosalmonae* y la enfermedad bacteriana del salmón (BKD) causada por *R. salmoninarum* se detectan por PCR anidada o PCR convencional, por histología o serología. La PCR a tiempo real aumenta considerablemente la sensibilidad de la detección del agente comparado con estas técnicas (Halaihel *et al.*, 2009). En el presente trabajo, se desarrolló una PCR duplex a tiempo real para detectar PKD y BKD en salmónidos.

Material y Métodos

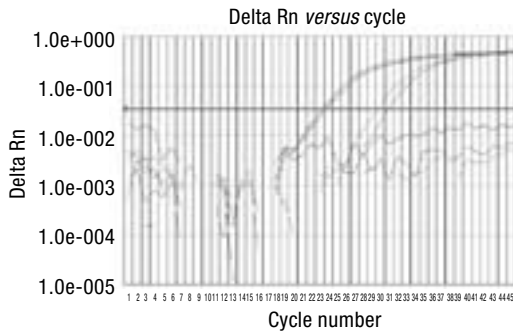
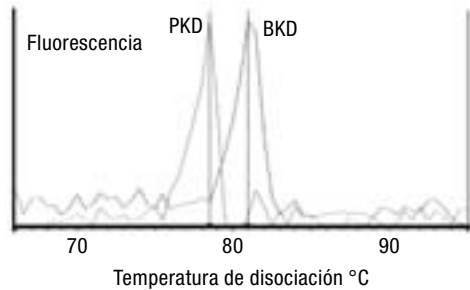
Diseño de cebadores para *R. salmoninarum* y *T. bryosalmonae*: Se diseñaron cebadores fluorescentes LUX^R fluorogenic de la secuencia del gen *msa1* de *R. salmoninarum* (GenBank accession No. AF123890), y el gen de SSU rDNA (GenBank acc. no. U70623) para PKD (*T. bryosalmonae*). Para la detección simultánea, uno de los cebadores se diseñó con la sonda fluorescente JOE (BKD) (Excitación 520, emisión > 550) y para la PKD una sonda diferente (FAM: excitación 490; emisión detectado por un filtro entre 515-530 nm). El instrumento recoge los datos de esta PCR duplex en tiempo real en dos canales de forma simultánea e independiente. Los oligonucleótidos fueron sintetizados por Invitrogen. Las concentraciones finales para PCR fueron 0,3, 0,6 ó 0,9 µM.

Muestras para los controles positivos: El ADN de cultivo de *R. salmoninarum* utilizado ha sido extraído con un Kit de extracción rápido de Biotools S.A, Madrid, España. Fueron diluidos 100 µl de una solución al 10⁸ de la bacteria disuelta en TBE en un volumen total de 200 µl. Una dilución seriada del DNA extraído sirvió para realizar una curva estándar. Para PKD el ADN se obtuvo a partir de muestra de tejido de riñón positivo por PCR convencional confirmado por histología y fue procesado de forma similar.

Resultados y Discusión

Los resultados de la PCR a tiempo real se procesaron por el software que viene con el instrumento Opticon3 de Bio-Rad. Se obtienen unas curvas exponenciales que reflejan la intensidad de la fluorescencia con el número de los ciclos en desarrollo. El punto de inflexión de las curvas corresponde a la Ct, que es el valor con el cual el software del aparato determinaría la cantidad de copias originales de ADN iniciales en la muestra, basándose en una predeterminación previa de la curva estándar para ambos agentes (Fig. 1).

Además, al terminar los ciclos, se realiza una disociación por la temperatura de cada uno de los productos finales de PCR. Esto nos permite relacionar el producto de PCR por su temperatura de disociación. El Tm

Figura 1. Fluorescencia en forma exponencial**Figura 2.** Separación por la temperatura de disociación del producto de PCR

(*melting point*) del producto de PKD es igual a 78,5°C mientras que el de la BKD es igual a 81°C (Fig. 2). En el canal del color verde se obtiene el resultado del PKD; y en el canal rojo se obtiene los resultados de BKD. En la Figura 2 se observa la fluorescencia de un pocillo que contiene el ADN de ambos agentes. Veinte seis bacterias patógenas que afectan a los salmónidos han sido testadas para determinar la especificidad de la técnica. Ninguna dio positivo. Un mínimo de 15 copias del ADN de *R. salmoninarum* y 30 copias del DNA de *T. bryosalmonae* se detectaron simultáneamente. Comparando con la detección por PCR convencional o anidada, la PCR en tiempo real ha detectado un log menos del mismo ADN utilizado en la PCR convencional de *T. bryosalmonae*.

En conclusión, la detección simultánea por PCR a tiempo real de los agentes responsable de las enfermedades PKD y BKD es factible. El límite de detección es de 15 a 30 copias de DNA genómico en el caso de ambos agentes. La detección se confirma, sin necesidad de secuenciación, por la temperatura de disociación y por la detección de fluorescencias en canales diferentes, por ello esta técnica de detección simultánea resulta altamente fiable y reduce a la mitad los costes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, proyecto.

Bibliografía

- Pascho R.J., Chase D., McKibben C.L. 1998. Comparison of the membrane-filtration fluorescent antibody test, the enzyme-linked immunosorbent assay, and the polymerase chain reaction to detect *Renibacterium salmoninarum* in salmonid ovarian fluid. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 10, 60-66.
- Kent M.L. 1998. Ribosomal DNA sequence analysis of isolates of the PKX Myxosporean and their relationship to members of genus Sphaerospora. *Journal of Aquatic Animal Health* 10, 12-21.
- Halaihel N., Vendrell D., Ruiz-Zarzuola I., De Blas I., Alonso J.L., Gironés O., Pérez T., Muzquiz J.L. 2009. A new real time PCR-based assay for diagnosing *Renibacterium salmoninarum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and comparison with other techniques. *Journal of Microbiological Methods* 76(1), 75-80.

Construcción de un vector de expresión basado en la proteína verde fluorescente (GFP) en *Flavobacterium psychrophilum*

E. Gómez, L. Fernández, D. Pérez-Pascual y J.A. Guijarro

Área de Microbiología. Departamento de Biología Funcional. Facultad de Medicina. IUBA. Universidad de Oviedo. 33006 Oviedo. e-mail: uo167556@uniovi.es

Abstract

A GFP-based reporter system (pCP23-G) has been constructed to analyse the expression of promoters from *F. psychrophilum* under different conditions. The vector is based on the pCP23 plasmid and was analyzed using the constitutive promoter from the pyruvate dehydrogenase β subunit. Cell fluorescence emission analyzed by confocal microscopy showed that the vector is functional. Studies using the promoters from *fpp1* and *fpp2*, genes encoding the corresponding extracellular proteases, indicate that the system could be useful for the study of temporal gene expression and tissue invasion in the natural host.

Introducción

Flavobacterium psychrophilum es una bacteria gram negativa, agente causal de la “enfermedad del agua fría” (cold water disease, CWD) en salmonídeos. Ésta patología es responsable de pérdidas económicas importantes en la producción intensiva, tanto de truchas, como de salmones en todo el mundo. Los mecanismos y sistemas utilizados por la bacteria para generar la enfermedad están aún por determinar. Algunos resultados publicados indican que uno de los factores de virulencia del microorganismo es la producción de proteasas extracelulares que podrían proporcionarle dos beneficios a la bacteria: 1°. El aporte de nutrientes y, 2°. Facilitar la invasión mediante la erosión de los tejidos del hospedador (Secades *et al.*, 2001, 2003). Otros están relacionados con los sistemas de captación de hierro (Álvarez *et al.*, 2008). Asimismo, la reciente secuenciación del genoma de la bacteria ha puesto de manifiesto la existencia de potenciales factores de virulencia entre los que se encuentran, además de diferentes tipos de proteasas extracelulares, una hemolisina, una toxina, etc. (Duchaud *et al.*, 2007). Sin embargo, uno de los mayores problemas que ha existido para el estudio de esta bacteria es su carácter «fastidioso» lo que conlleva una dificultad importante para su aislamiento, cultivo y manipulación. Álvarez *et al.* (2004) consiguieron establecer una serie de sistemas genéticos que posibilitan la introducción por transformación y conjugación de DNA en *F. psychrophilum*. Estas técnicas han permitido la construcción de un vector de expresión basado en la proteína verde fluorescente (GFP, *Green Fluorescent Protein*) (Cormack *et al.*, 1996) y su introducción en la bacteria. Con ello es ahora posible, entre otros, el estudio de la regulación de diferentes genes, la determinación de las rutas de infección que sigue la bacteria o su localización preferencial en determinados tejidos. En este trabajo se presentan datos relativos a la construcción del vector y la expresión de diferentes promotores, entre ellos los correspondientes a las proteasas extracelulares Fpp1 y Fpp2 (Secades *et al.*, 2001, 2003).

Material y métodos

Construcción del plásmido pCP23-G

El plásmido utilizado para la construcción del vector basado en la expresión de la GFP fue el pCP23- β (Álvarez *et al.*, 2004). En primer lugar fue necesaria la clonación en la región anterior a los genes lacZY de un terminador de la transcripción. Posteriormente, el sistema lacZY fue eliminado del plásmido mediante digestión, y en su lugar, se clonó la secuencia génica que codifica para la proteína GFP.

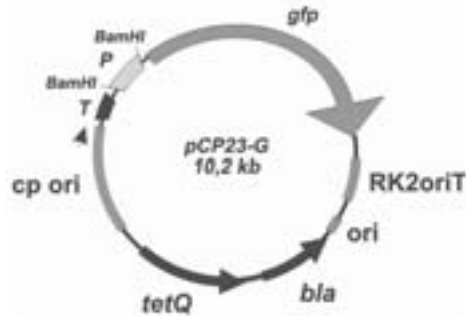
La clonación de las secuencias promotoras se realizó mediante su amplificación por PCR. Estas fueron las correspondientes a los genes *pdhB* (subunidad beta de la piruvato deshidrogenasa), *fpp1* (*Flavobacterium Psychrophilum* Protease 1) y *fpp2* (*Flavobacterium Psychrophilum* Protease 2).

Transformaciones y conjugaciones

La construcción de estos vectores se llevó a cabo en *E. coli* cepa S17 λ pir. La transmisión de los plásmidos a las cepas de estudio (*F. psychrophilum* THC02-90 y FP26) se realizó mediante conjugación según el protocolo descrito por Álvarez *et al.* (2006).

Las cepas de *F. psychrophilum* THC02-90 derivadas de este trabajo fueron: FPpCP23-G, FPpCP23-GpdhB, FPpCP23-Gfpp1, FPpCP23-Gfpp2, FP26pCP23-Gfpp1 y FP26pCP23-Gfpp2. Éstas han sido crecidas en me-

Figura 1. *Plásmido pCP23-G. P: promotor; T: terminador; tetQ y bla, genes que confieren resistencia a tetraciclina y ampicilina, respectivamente; cp ori y RK2oriT orígenes de replicación en F. psychrophilum y E. coli, respectivamente*



dio líquido con tetraciclina a 18°C. Para el estudio con un Microscopio Confocal Leica TCS-SP2-AOBS una gota de 5 µl es depositada sobre un portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos para ser observada a una longitud de onda de excitación de 485 nm y 510 nm de emisión.

También han sido observadas muestras crecidas en una capa fina de medio de cultivo sólido sobre un portaobjetos.

Resultados y discusión

El vector de expresión obtenido presenta una diana para el enzima de restricción *BamHI* (Fig. 1), lugar de clonación de los promotores. La interrupción de la expresión del ORF1 (señalado con cabeza de flecha, Fig. 1), funcional en el plásmido pCP23-b, es llevada a cabo por la región terminadora.

Las observaciones con microscopio confocal fueron que la cepa con el plásmido pCP23-G (carente de promotor en la región anterior al gen *gfp*) no mostraba emisión de fluorescencia por lo que se puede deducir que el terminador de la transcripción es funcional. Por otra parte, la cepa que contenía el plásmido pCP23-GpdhB, que porta un promotor de un gen con expresión potencialmente constitutiva en esta bacteria, emite fluorescencia con lo que puede validarse la funcionalidad y la expresión de la GFP.

Estos resultados se han obtenido con cultivos crecidos a 18°C, siendo negativos para las cepas con los plásmidos portadores de los promotores de los genes *fpp1* y *fpp2*. Sin embargo, es muy probable que la expresión de factores de virulencia se vea regulada por condiciones más similares a las que se dan durante el proceso infeccioso. Por ello, se están estudiando las expresiones de los diferentes promotores en condiciones semejantes a las que tienen lugar la aparición de los brotes de la enfermedad.

Bibliografía

- Álvarez B., Secades P., McBride M.J., Guijarro J.A. 2004. Development of genetic techniques for the psychrotropic fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 581-587.
- Álvarez B., Álvarez J., Menéndez A., Guijarro J.A. 2008. A mutant in one of two *exbD* loci of a TonB system in *Flavobacterium psychrophilum* shows attenuated virulence and confers protection against cold water disease. *Microbiology* 154, 1144-1151.
- Chen S., Bagdasarjan M., Kaufman M.G., Walker E.D. 2007. Characterization of Strong Promoters from an Environmental *Flavobacterium hibernum* Strain by Using a Green Fluorescent Protein-Based Reporter System. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 1089-1100
- Cormack B. P., Valdivia R.H., Falkow S. 1996. FACS-optimized mutants of the green fluorescent protein (GFP). *Gene* 173, 33-38.
- Duchaud E., Boussaha M., Loux V., Bernardet J-F., Michel C.I., Kerouault B., Mondot S., Nicolas P., Bossy R., Caron C., Bessieres P., Girbat J-F., Claverol S., Dumetz F., Le Henaff M., Benmansour A. 2007. Complete genome sequence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Nat. Biotechnol.* 25, 763-769.
- Secades P., Álvarez B., Guijarro J.A. 2001. Purification and characterization of a psychrophilic calcium induced, growth-phase-dependent metalloprotease from the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2436-2444
- Secades P., Álvarez B., Guijarro J.A. 2003. Purification and properties of a new psychrophilic metalloprotease (Fpp2) in the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 226, 273-279.

Resultados preliminares sobre adhesión y exclusión de posibles bacterias probióticas al mucus de dorada

L. Sorroza¹, L. Román¹, F. Acosta¹, D. Padilla¹, V. Grasso¹, J. Vega¹, J. Bravo¹, C. Trabaue², G. Gallardo² y F. Real¹

¹ Instituto Universitario de Sanidad Animal. Transmontaña s/n. 35413 Arucas (Gran Canaria).
e-mail: sorrozalita@yahoo.es

² Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología. Facultad de Medicina. ULPGC

Abstract

Aquaculture is one of the main sources of income in many countries worldwide. Intensive farms are often affected by different diseases that can decrease their final production. To control this situation, several antibiotics are frequently used. The aim of this study was to analyze *in vitro* the adhesion and competition bacterial of different strains isolated from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sole (*Solea solea*) gut that previously had showed antagonistic effect against *Listonella anguillarum*. *In vitro* adhesion assay bacteria were labeled with thymidin. Its was expressed as the percentage of radioactivity recovered after adhesion relative to the radioactivity in the bacterial suspension added to the immobilized mucus. Due excellent results, the strains D1, D2, D3, L1, L2 can be are good candidates to be used as future probiotics, although *in vivo* studies are necessary to carry out.

Justificación

Según los últimos datos de la FAO, alrededor del 45% de todo el pescado utilizado para consumo humano es de acuicultura, lo que conlleva una producción intensiva para poder responder a la demanda de este producto. Debido a esto, muchas granjas se pueden ver afectadas por enfermedades parasitarias, víricas y bacterianas. La mayoría de los agentes patógenos se encuentran en el medio marino y únicamente ocasionan daño cuando por ciertas circunstancias, éstos sobrepasan las barreras defensivas de los peces (Gatseusope, 1999). Para el control de las enfermedades, la industria hace uso de una gran cantidad de antibióticos, con las repercusiones medio ambientales que ello acarrea, por lo que disminuir la utilización de dichos fármacos con ayuda de cepas probióticas es claro objetivo de numerosas investigaciones.

Una característica necesaria de un probiótico es que sea capaz de adherirse al mucus intestinal para desarrollar ahí su efecto y que sea capaz de excluir a patógenos por diferentes mecanismos, ya sea por la competición por nutrientes, producción de sustancias antibacterianas etc. Debido a esto, en este estudio analizamos una serie de cepas bacterianas que anteriormente habíamos demostrado *in vitro* que poseían unas excelentes propiedades para ser consideradas como probióticos en acuicultura, al ejercer un fuerte efecto inhibidor del crecimiento de *Listonella anguillarum*, mediante el estudio de la capacidad de adhesión al mucus intestinal de dorada con marcaje radioactivo de las cepas y exclusión frente a *Listonella anguillarum*.

Material y Métodos

Se analizaron cinco cepas con efecto inhibitorio del crecimiento frente a *Listonella anguillarum*, tres aisladas de dorada (D1, D2, D3) y dos de lenguado (L1 y L2). Para realizar la prueba de adhesión al mucus, se extrae mucus intestinal de dorada a una concentración final de 0,5 a 1 mg/ml de proteína. Posteriormente se coloca la posible cepa probiótica marcada con timidina tritiada en el mucus inmovilizado en una placa de 48 pocillos. El porcentaje de adhesión al mucus es la relación entre la cantidad de bacterias inoculadas inicialmente (10^7 ufc/ml) y las bacterias fijadas después de realizar 1 h de incubación y 2 lavados con PBS, medidas mediante un contador de centelleo. En la prueba de exclusión competitiva, se coloca la cepa probiótica sin marcar junto al mucus inmovilizado en la placa, y después de 1 h de incubación, se coloca el patógeno marcado radioactivamente y se incuba por 1 h. A continuación se mantiene 1 h con SDS y se lee en el contador de centelleo para obtener el porcentaje de exclusión (Nikoskelainen, 2001).

Resultados y Discusión

Las cinco cepas bacterianas evaluadas D1, D2, D3, L1 y L2 presentan capacidad de adhesión al mucus de dorada, que oscila entre el 4 y 36%, mientras que la cepa de *L. anguillarum* presenta una capacidad de adhesión del 21,66 % (Tabla 1). En cuanto a los resultados de exclusión competitiva frente a *Listonella anguillarum*, observamos altos porcentajes de exclusión, que oscilan entre el 45 y el 83% (Tabla 1).

Una cepa probiótica debe cumplir una serie de requisitos para ser considerada como tal, entre los que destacamos la capacidad de inhibición del crecimiento de patógenos (sustancias antibacterianas, competi-

Tabla 1. *Porcentaje de adhesión al mucus intestinal de dorada y exclusión competitiva frente a L. anguillarum*

Cepa	Adhesión mucus	Exclusión
D1	16,66	60
D2	36	45
D3	4,85	83
L1	7	81
L2	14,6	70
<i>Listonella anguillarum</i>	21,66	

ción por nutrientes, competición por un sitio de fijación, etc), tolerancia a la bilis y pH, inocuidad, adhesión al mucus y exclusión competitiva frente a patógenos (Verschuere *et al.*, 2000; Balcázar, 2006).

Todas las cepas evaluadas habían mostrado previamente capacidad inhibitoria del crecimiento frente a *L. anguillarum* por sustancias antibacterianas, así como alta tolerancia a la bilis y al pH e inocuidad, por lo que inicialmente, presenta buenas características para su consideración como cepas probióticas. La cepa de *L. anguillarum* usada en este estudio presenta una elevada adhesión al mucus de dorada (21,66%) lo cual podría ser uno de los factores que expliquen su virulencia (Chabrilón *et al.*, 2005). Las bacterias por naturaleza presentan mecanismos antagónicos que les permiten subsistir en determinados ecosistemas. Como podemos analizar en nuestra experiencia, la cepa D3 es la que presenta un mayor porcentaje de exclusión del patógeno *L. anguillarum* (83%) junto con la L1 y L2 (81 y 70%), por lo que podemos considerar que estas cepas son las mejores candidatas para continuar con una serie de estudio *in vitro* e *in vivo* que desemboquen en una mejor caracterización de dichas cepas.

Bibliografía

- Balcázar J.L. 2006. *Selección y caracterización de cepas probióticas para la prevención de la forunculosis en trucha común (Salmo trutta fario)*. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Chabrilón M., Rico R.M., Balebona M.C., Moriño M.A. 2005. Adhesión to *Solea senegalensis* Kaup, mucus of microorganisms isolated from farmed fish, and their interaction with *Photobacterium damsela* subsp. *piscida*. *Journal of Fish Diseases* 28, 229-227.
- Gatesoupe F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147-165.
- Nikoskelainen S., Salminen S., Bylund G., Ouwehand A.. 2001. Characterization of the properties of human and dairy derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 2430-2435.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstratete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Review* 64, 655-67.

Estudio de la actividad antagonista frente a patógenos de peces de bacterias aisladas de lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup)

C. Fuentes-Edfuf¹, P. García-González¹, N. García-Lamas¹, C. Rey¹, O. González²,
A. Riaza² e Y. Santos¹

¹ Edif. CIBUS-Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. C/ Lope Gómez de Marzoa, s/n. 15705 Santiago de Compostela (A Coruña). e-mail: mishiva@hotmail.com
² Stolt Sea Farm S.A. Punta de los Remedios, s/n. Lira. Carnota (A Coruña)

Abstract

The increment of productivity in aquaculture has been accompanied by the progressive introduction of diseases of different etiology that produce heavy economical losses. The control of bacterial diseases by chemotherapeutic agents is limited due to the rapid development of resistance and the possibility of tissue residues. The use of probiotics and other biological measures are increasingly viewed as an alternative to the use of chemotherapeutic agents for disease treatment. Thus, in the present study the antibacterial properties of the indigenous bacteria isolated from skin of sole was assayed against some of the main fish pathogens causing diseases in fish culture systems.

Justificación

El control de las enfermedades bacterianas causantes de mortalidad en peces se realiza mediante el uso de antimicrobianos. Esto ha supuesto la aparición de bacterias resistentes a los fármacos y la posible presencia de residuos en los pescados. Por ello, los estudios actuales se centran en la búsqueda de alternativas biológicas para el control de las patologías. Una de las vías planteadas es el empleo de bacterias que formen parte de la microbiota de los peces y que tengan capacidad antagonista frente a microorganismos patógenos. En el presente estudio nos hemos planteado seleccionar un método rápido, sensible y eficaz para la selección de cepas con actividad antagonista y para la evaluación del grado de actividad inhibitoria.

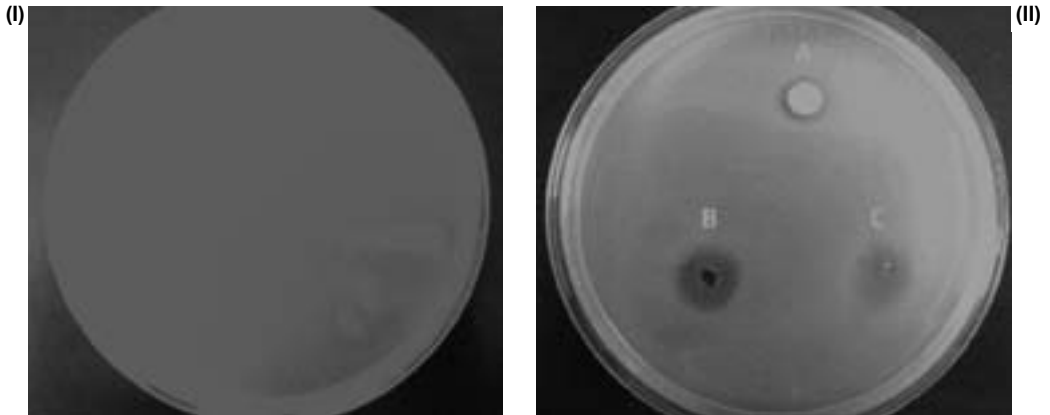
Material y Métodos

Las cepas usadas en el estudio se aislaron por siembra en placas de Agar de Soja Trypticaseína (Cultimed) suplementado con un 1% de NaCl (TSA-1), Agar Marino (MA, Cultimed) y Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS, Oxoid) de muestras obtenidas a partir de la dermis de lenguados (*Solea senegalensis*, Kaup). Las placas se incubaron durante 72 horas a 18°C y, posteriormente, se procedió al aislamiento de los diferentes tipos de colonias. Los sobrenadantes libres de células utilizados en los estudios de antagonismo se obtuvieron por incubación de las cepas en Caldo Soja Trypticaseína (Cultimed) suplementado con un 1% de NaCl (TSB-1) durante 48 horas a 18°C con agitación (100 rpm) y posterior filtración (0,45 µm, Millipore). La presencia y grado de actividad antagonista de los aislados se evaluó mediante el método de estría cruzada (Gibson *et al.*, 1998) y los métodos de difusión en agar en pocillo, en disco (Chythanya *et al.*, 2002) y por depósito (Ruiz *et al.*, 1996). Como indicadoras de actividad se usaron cepas de *Listonella anguillarum*, *L. pelagia*, *Vibrio alginolyticus*, *V. splendidus*, y *Tenacibaculum maritimum* aisladas de peces y de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas indicadoras utilizadas en los ensayos de antagonismo

Especie	Cepa
<i>L. anguillarum</i>	R82 y RG-111
<i>L. pelagia</i>	CECT 4202 BLM061.7.1, LL071.1.1, LL061.1.1, LL071.1.1
<i>V. harveyi</i>	CECT 525 BLM05.8.3.1
<i>V. alginolyticus</i>	CECT 521 LL05.8.1.1
<i>V. splendidus</i>	CECT 528 DMC-1
<i>T. maritimum</i>	LL01.8.3.8

Figura 1. Estudio de la actividad inhibitoria empleando el método de la estria cruzada (I) y los métodos de difusión (II) en disco (A), en pocillo (B) y por depósito (C)



Resultados y Discusión

Los cuatro métodos evaluados permitieron la detección de actividad antagónica pero sólo los métodos de difusión permiten determinar el grado de actividad. Estos resultados concuerdan con los descritos por Van Hai *et al.* (2007). La Figura 1 muestra los resultados obtenidos con el método de la estria cruzada (a) y con los tres métodos de difusión (b). El método de difusión en disco fue el menos apropiado para determinar el grado de actividad inhibitoria y además requiere un esfuerzo y coste superior al de los otros métodos probados.

De un total de 243 cepas aisladas de la dermis de lenguado durante el período de estudio, 29 aislados mostraron actividad inhibitoria frente a alguna de las especies bacterianas utilizadas como indicadoras. Algunas de estas cepas inhibitorias perdieron la actividad inhibitoria al ser subcultivadas. La mayoría mostraron actividad frente a las cepas de *Vibrio* y *Listonella*, pero no frente a *V. alginolitycus*. Además cuatro de los aislados mostraron capacidad de inhibir el crecimiento de *T. maritimum*.

Agradecimiento

Financiado por los proyectos INCITE 08E1R208038ES y PGIDIT 07 MRMA 002E. Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Chythanya R., Karunasagar, I. 2002. Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain. *Aquaculture* 208, 1-10
- Gibson L.F., Woodworth J., George A.M. 1998. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture* 169, 111-120.
- Ruiz C.M., Roman G. Sánchez J.L. 1996. A marine bacterial strain effective in producing antagonism of other bacteria. *Aquaculture International* 4, 289-291.
- Van Hai N. Fotedar R., Buller N. 2007. Selection of probiotics by various inhibition tests methods for use in the culture of western king prawns, *Penaeus latissulcatus* (Kishinouye). *Aquaculture* 272, 231-239.

Variabilidad intraespecífica de cepas de la especie *Flavobacterium psychrophilum* aisladas a partir de trucha arco iris (*Onchorynchus mykiss*) de cultivo

A. del Cerro, I. Márquez y J.M. Prieto

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Área de Sanidad Animal.
Travesía del Hospital, 96. 33299 Gijón. anadelcerro@rocketmail.com

Abstract

Flavobacterium psychrophilum es el agente etiológico de las enfermedades del agua fría (CWD) y del síndrome del alevín de trucha arco iris (RTFS) en salmonídeos. Estas enfermedades son un gran problema en la acuicultura española y para poder mejorar el control y la prevención de las mismas, es necesario conocer a fondo su epidemiología. Se analizaron 25 aislamientos de *F. psychrophilum* procedentes de diferentes piscifactorías españolas, mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE) y susceptibilidad a antimicrobianos. Los aislados se clasificaron en 16 perfiles de PFGE que fueron agrupados en 4 clusters y 6 ramas independientes. El 80% de los aislados llevaban un plásmido de 3,5 kb (n=13) o de 5,5 kb (n=7). En cuanto a la susceptibilidad a antimicrobianos, el 80% presentaron CMIs para oxitetraciclina (OTC) de entre 2,44 y 9,74 µg/ml, y todos los aislamientos fueron susceptibles a fluoroquinolonas (FLO). Se encontró relación entre el perfil de PFGE y el origen del aislamiento, ya que algunos sólo aparecían en una zona o en una piscifactoría concreta. Estos resultados sugieren que la población de *F. psychrophilum* con poder patógeno dispersada a lo largo del norte de España es bastante heterogénea.

Justificación

Flavobacterium psychrophilum es el agente etiológico de la enfermedad del agua fría (CWD) y del síndrome del alevín de trucha arco iris (RTFS) en salmonídeos. Afecta sobre todo a los alevines causando mortalidades elevadas en todo el mundo, ocasionando grandes pérdidas económicas (Dalsgaard, 1993). Esta enfermedad se viene detectando en España desde mediados de los 80. A pesar de que los brotes son más habituales en invierno y primavera (Nematollahi *et al.*, 2003), hemos detectado casos durante el verano. La acuicultura continental es una actividad muy importante en algunas zonas de España y sin embargo, a pesar de la importancia de estas patologías no existen estudios epidemiológicos de esta bacteria. De todos los métodos empleados para tipificar esta bacteria, el que mejores resultados a dado en cuanto a reproducibilidad y poder discriminador ha sido el PFGE (Barbier *et al.*, 1996; Chiew y Hall, 1998). Los antibióticos más utilizados en acuicultura continental para el control de CWD/RTFS son la OTC y el FLO, que se administran en el pienso. Sin embargo, el uso indiscriminado de la OTC ha reducido su eficacia y aumentado la aparición de bacterias patógenas resistentes. Como alternativa se utiliza el FLO. En España no existen estudios sobre los patrones de resistencia de *F. psychrophilum*.

El objetivo de este trabajo es la caracterización de aislamientos de *F. psychrophilum* obtenidos a partir de brotes que han ocurrido en piscifactorías españolas, con el fin de establecer la relación epidemiológica existente entre aislados.

Material y Métodos

Durante el período 2005-2008 se aislaron 25 cepas de *F. psychrophilum*, a partir de brotes ocurridos en piscifactorías del norte de España. Se incluyó la cepa de referencia NCIMB 1947^T. Para la realización del PFGE se crecieron las cepas en caldo nutritivo a 17°C durante 48h. Estas células se lavaron y resuspendieron en un buffer de suspensión de células (0,1 M TRIS, 0,13 M EDTA, pH 8), hasta una D.O de 2,5. Los bloques de agarosa se prepararon mezclando a partes iguales la suspensión bacteriana y la agarosa al 1%. Posteriormente, estos bloques se lisaron durante 2-3 h a 54°C, y después de varios lavados con agua y TE, se digirieron con el enzima de restricción *StuI*. El ADN digerido se sometió a electroforesis con las siguientes condiciones: 6 V cm⁻¹ a 14°C durante 22 h con pulsos de 0,2 a 5 s durante 10 h y 5 a 15 s durante 12 h. Los geles se tiñeron con BrEt y se visualizaron al UV (Gel-Doc, Bio Rad). Dos cepas se consideraban diferentes cuando tenían al menos una banda diferente. La similitud entre perfiles se evaluó utilizando el coeficiente de Jaccard y la agrupación se realizó con el método UPGMA. Los perfiles que presentaban un coeficiente de similitud > 0,8 se consideraron del mismo grupo.

Las CMIs se determinaron según el método de macrodilución en medio líquido descrito por Alderman y Smith (2001). Para la extracción de plásmidos se utilizó el kit QIAprep Spin (Qiagen). El tamaño de los plásmidos se determinó mediante digestión con *EcoRI* y *HindIII* y se visualizaron en un gel de agarosa al 0.8%.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron 16 perfiles de PFGE diferentes. Los más frecuentes fueron el S7 y el S12 en 4 y 3 aislados respectivamente. El dendograma de similaridad agrupó los perfiles en 4 clusters ($S = 0,8$) y 6 ramas independientes (S1, S2, S3, S8, S9 y S10). La gran diversidad observada entre los aislados se corrobora por el bajo valor de S entre ellos ($S = 0,12$, último nudo del dendograma). Se encontró relación entre el origen de la cepa y el perfil de PFGE. Algunos de los perfiles sólo aparecieron en Asturias (S2, S3, S4, S7, S8, S10 y S14), otros sólo en Galicia (S1, S6, S11, S12 y S16) y un único perfil en Cantabria (S9). En algunas piscifactorías se encontraron varios perfiles diferentes. En otras ocasiones, el mismo clon permanece en las instalaciones durante un periodo de tiempo dando lugar a brotes recurrentes. Esto indica que las bacterias liberadas al agua por los peces enfermos aumentan el riesgo de infecciones, por lo que es necesario instaurar unas buenas prácticas de manejo en las instalaciones.

En este trabajo, el 80% de los aislados fueron resistentes a OTC y todos fueron sensibles a FLO. Sin embargo algunas de las CMLs observadas para este último (1,22 y 2,44 $\mu\text{g/ml}$) indican que puede haber problemas de resistencia en el futuro. El 80% de las cepas llevaba algún plásmido (65% plásmido de 3,5 kb y el 15% de 5,5 kb). No se encontró relación con perfiles de PFGE.

En conclusión, esta técnica resultó muy útil para detectar la variación genética intraespecífica entre las cepas de *F. psychrophilum*, observándose una gran variabilidad entre los aislados del norte de España.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Ministerios de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Bibliografía

- Alderman D.J., Smith P. 2001. Development of draft protocols of standard reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases. *Aquaculture* 196, 211-243.
- Barbier N., Saulnier P., Chachaty E., Dumontier S., Andremont A. 1996. Random amplified polymorphic DNA typing versus pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology* 34, 1096-1099.
- Chiew Y.F., Hall L.M. 1998. Comparison of three methods for the molecular typing of Singapore isolates of enterococci with high-level aminoglycoside resistances. *The Journal of Hospital Infection* 3, 223-230.
- Dalsgaard I. 1993. Virulence mechanisms in *Cytophaga psychrophila* and other *Cytophaga*-like bacteria pathogenic for fish. *Annual Review of Fish Diseases* 127-144.
- Nematollahi A., Decostere A., Pasmans F., Haesebrouck F. 2003. *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. *Journal of Fish Diseases* 26, 563-574.

Toxicidad aguda y efecto bioacumulativo del fungicida Tebuconazol en el pez cebra (*Danio rerio*)

O. Andreu-Sánchez¹, L.C. Paraíba², C.M. Jonsson² y J.M. Carrasco¹

¹ Laboratorio de Plaguicidas. Departamento de Biotecnología. ETSIA. Universidad Politécnica de Valencia. C.º de Vera, s/n. 46022 Valencia. e-mail: osansan@btc.upv.es

² Embrapa Meio Ambiente. Rodovia SP 340, km 125,5, CxP. 69, CEP 13820-000 Tanquinho Velho. Jaguariúna. São Paulo. Brasil. e-mail: lourival@cnpm.embrapa.br

Abstract

The aim of this work was to investigate the bioconcentration factor (BCF) of tebuconazole [(±)-a-[2-(4-chlorophenyl)ethyl]-a-(1,1-dimethyl-1H-1,2,4-triazole-1-ethanol)] fungicide in zebrafish (*Danio rerio*) under laboratory conditions and a first-order kinetic pesticide dissipation in the water. The concentrations of tebuconazole fitted to an equivalent non-linear kinetic type model which allowed the calculation of the following parameters: bioconcentration factor (38,80 l kg⁻¹), time to reach maximum fish concentration (6 days), maximum concentration in fish (0,0075 µg mg⁻¹), half-life in fish (24 days) and time needed for the fish to eliminate 95% of the maximum concentration (105 days). These calculations permitted the establishment of theoretical reference limit values for human consumption of fish and the establishment of safe limits for the water pesticide concentration.

Justificación

El uso de plaguicidas en cultivos asociados a zonas húmedas, como el caso del arroz en las proximidades del Lago de la Albufera de Valencia puede tener serias consecuencias para los organismos acuáticos que allí viven. Si, además, estos organismos tienen un interés comercial para el consumo humano como es el caso de la anguila (*Anguilla anguilla*) o de la lisa (*Mugil cephalus*), es necesario estudiar el efecto acumulativo de estos compuestos plaguicidas y su potencial para acumularse a través de la cadena trófica. En este trabajo hemos seleccionado el compuesto tebuconazol como uno de los fungicidas empleados en el arrozal mediterráneo contra *Piricularia oryzae* causante del añublo del arroz.

Material y Métodos

El estudio se ha llevado a cabo empleando un organismo modelo como es el pez cebra (*Danio rerio*). Previamente al ensayo de bioacumulación (BFC) se realizó un ensayo de toxicidad para comprobar la LC50-96 h de este organismo y poder establecer la concentración segura que no producirá la muerte de los organismos durante la exposición al tóxico, el ensayo de toxicidad se realizó según la norma de OECD. A tenor de la LC50-96 h, para el cálculo del BFC se seleccionó una concentración de 0,2 mg/l de tebuconazol (1/125 de la LC50-96 h). El ensayo se realizó por triplicado en tanques de 150 L con agua del grifo previamente dechlorada en una cámara climatizada (a 22°C y fotoperiodo 12:12) más un tanque control (sin tóxico). Se introdujo el tóxico (pureza < 99%) disuelto en 10 ml de acetona para favorecer la disolución, tras un tiempo de equilibrio se introdujeron los peces en los tanques. Posteriormente, se fueron sacando los organismos a diferentes tiempos de exposición para su posterior análisis, se anestesiaron con MS-222 y se congelaron a -80°C hasta su análisis. La cuantificación de la concentración de tebuconazol en los peces se realizó según el procedimiento descrito por Andreu 2008, para ello las muestras de pez fueron introducidas en un tubo de ultracentrífuga con 35 ml de una mezcla de acetona: diclorometano (1:1) y homogenizadas sobre hielo en un dispersor Ultraturax® durante 3' a 18.000 rpm, seguidamente se centrifugó y el sobrenadante se purificó mediante una extracción Líquido-líquido (LLE). La cuantificación de las muestras se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Para el cálculo de la disipación y cinética de transferencia del tebuconazol entre el agua y los peces, se ajustaron los datos al siguiente modelo de ecuaciones diferenciales:

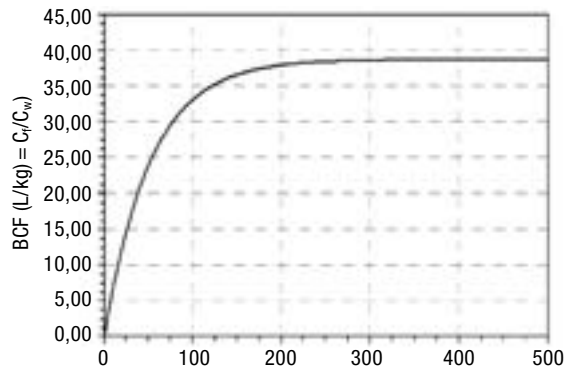
$$\frac{dC_f}{dt} = k_1 C_w - k_2 C_f \quad [1] \quad \frac{dC_w}{dt} = -k_3 C_w \quad [2] \quad C_f(0) = 0 \text{ y } C_w(0) = C_{w0} \quad [3]$$

donde t (h) es el tiempo, C_{w0} (µg mg⁻¹), C_w (mg l⁻¹) y C_f (µg mg⁻¹) son la concentración inicial de tebuconazol en el tanque de exposición, la concentración de tebuconazol en los peces y la concentración de tebuconazol en el pez cebra, respectivamente.

Resultados y Discusión

Los valores residuales de tebuconazol se ajustaron a bien a una cinética no lineal que dio como resultados los siguientes parámetros: factor de bioconcentración (BCF) (38,80 l kg⁻¹), tiempo empleado para la máxi-

Figura 1. Concentración residual del fungicida estudiado en *D. rerio* expuestos a una concentración nominal de $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ de tebuconazol



ma concentración en pez (6 días), máxima concentración de Tebuconazol en pez ($0,0075 \mu\text{g mg}^{-1}$), vida media en pez (24 días) y tiempo medio requerido para eliminar el 95% de la máxima concentración de Tebuconazol acumulada por el pez (105 días). La Figura 1 muestra el ajuste de los datos obtenidos experimentalmente según el modelo matemático planteado. Estos valores indican que el Tebuconazol tiene un potencial bioacumulativo importante, lo que debe de ser tenido en cuenta a la hora de plantear programas de tratamiento con esta materia activa. Los valores de tebuconazol predecibles en las aguas de la Albufera son muy bajos, del orden de $\mu\text{g/l}$ (Andreu y Carrasco, 2007), por ello no es de esperar un efecto tóxico de este compuesto para la fauna acuática a tenor de los valores de la LC50-96 h calculados, pero visto el potencial bioacumulativo de este compuesto y su lenta eliminación si que parece necesario extremar el uso de esta materia activa, por su posible efecto a largo plazo.

Agradecimientos

OA agradece al Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) la concesión de una beca predoctoral FPI (BES-2003-0163).

Bibliografía

- Andreu Sánchez O. 2008. *Evaluación de riegos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en zonas húmedas mediterráneas*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Andreu-Sánchez O., Carrasco J.M. 2007. Surface water monitoring of the fungicides tebuconazole and triclozole in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). En: *Book of abstracts of 14th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region*. Mediterranean Scientific Association of Environmental Protection (MESAEP). Sevilla, Spain.

Efecto de la inulina suministrada en dieta sobre la respuesta inmunitaria innata de la dorada (*Sparus aurata* L.)

R. Cerezuela, J. Mesequer y M.A. Esteban

Departamento Biología Celular e Histología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia.
30100 Murcia. España. e-mail: rcerezuela@um.es

Abstract

Inulin, a prebiotic, is a fermentable oligosaccharide that may affect immune parameters. Fish were fed either a commercial standard diet or standard diet supplemented with 15 or 30 g inulin kg⁻¹ with an application period of 4 weeks. Fish were sampled after 1, 2 and 4 weeks of treatment. Head kidney leucocytes were isolated and the cellular innate immune parameters (phagocytosis and peroxidase activities) were measured. Additionally, serum was obtained and humoral innate immune parameters (peroxidase and complement activity) were measured. The inulin-contained diet resulted in a significant stimulation of phagocytic capacity in leucocytes from specimens fed diets containing 30 g inulin kg⁻¹ for 2 weeks, whereas no significant differences were observed in other activities. Although the study showed no significant effect of inulin on immune parameters, the role of inulin as prebiotic when administered together with a probiotic and its effect on GALT could be studying in fish.

Justificación

La inulina y la oligofructosa son dos de los prebióticos mejor estudiados por sus efectos sobre las bifidobacterias intestinales y se consideran importantes sustratos prebióticos (Waligora-Dupriet *et al.*, 2007). Los recientes resultados de estudios en mamíferos sugieren claramente que tienen un fuerte impacto sobre el sistema inmunitario, siendo las células inmunitarias de las placas de Peyer las primeras en activarse. Los efectos observados incluyen aumento de la actividad citotóxica de células NK, estimulación de la producción de IL-10, aumento de la secreción de IgA, disminución de la incidencia de tumores, y aumento en la secreción de citoquinas. A nivel sistémico se observa un descenso en la actividad fagocítica (Seifert y Watzl, 2007). La información sobre los efectos de los prebióticos en peces es muy escasa (Bakke-McKellep *et al.*, 2007). En un trabajo previo, analizamos el efecto de bajas concentraciones de inulina sobre el sistema inmunitario de dorada durante periodos cortos de tratamiento (Cerezuela *et al.*, 2008), mientras que en el presente estudio se ha evaluado el efecto de la inulina pero empleando concentraciones de inulina mayores y tiempos de tratamiento más largos.

Material y Métodos

Sesenta ejemplares de dorada (*Sparus aurata* L.) (150 ± 50 g), procedentes de la piscifactoría Culmarex S.A. (Águilas, Murcia), fueron distribuidos al azar en 3 grupos, y alimentados con pienso control o suplementado con 15 ó 30 g de inulina/kg de pienso durante 4 semanas. En los muestreos, a 2 y 4 semanas, se aislaron leucocitos de riñón cefálico para estudio de las actividades fagocítica (Esteban *et al.*, 1998) y peroxidasa (Quade y Roth, 1997), y suero para estudio de la actividad hemolítica del complemento (Ortuño *et al.*, 1998) y la actividad peroxidasa (Quade y Roth, 1997). Los datos obtenidos se representan como aumento relativo de la actividad (media) (n = 10) con respecto al grupo control, calculado dividiendo el valor obtenido para cada muestra por el valor de su control correspondiente menos uno (control = 0, incremento > 0, disminución < 0). Los datos fueron analizados mediante análisis de la varianza (ANOVA; P ≤ 0,05). Se utilizó el programa estadístico SPSS 13.0.

Resultados y Discusión

La capacidad fagocítica de los leucocitos de ejemplares alimentados con pienso suplementado con 30 g/kg de inulina durante dos semanas fue significativamente mayor que la de los ejemplares control (incremento relativo de 0,149), contrariamente a lo observado en ratón (Guigoz *et al.*, 2002), mientras que el resto de actividades no se vieron afectadas de manera estadísticamente significativa por ninguna de las dietas experimentales empleadas (datos no mostrados). Aunque los resultados no sugieren un efecto estimulante de la inulina sobre el sistema inmunitario de dorada, sería interesante evaluar el papel de este prebiótico administrado junto con un probiótico, y analizar los posibles efectos sobre las células del GALT.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido parcialmente financiada mediante los proyectos AGL2008-05119-C02-01 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y de la Fundación Séneca de la Región de Murcia (10886). R. Cerezuela tiene una beca predoctoral del Ministerio de Ciencia e Innovación de España.

Bibliografía

- Bakke-McKellep A.M., Penn M.H., Salas P.M., Refstie S., Sperstad S., Landsverk T., Ringø E., Krogdahl A. 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *The British Journal of Nutrition* 97(4), 699-713.
- Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J., Angeles Esteban M. 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. *Fish and Shellfish Immunology* 24(5), 663-668.
- Esteban, M.A., Mulero, V., Muñoz, J., Meseguer, J. 1998. Methodological aspects of assessing phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by flow cytometry and electron microscopy. *Cell and Tissue Research* 293, 133-141.
- Guigoz Y., Rochat F., Perruisseau-Carrier G., Rochat I., Schiffrin E.J. 2002. Effects of oligosaccharide on the faecal flora and non-specific immune system in elderly people. *Nutrition Research* 22, 13-25.
- Ortuño J., Esteban M.A., Mulero V., Meseguer J. 1998. Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream (*Sparus aurata* L.) serum. En: *Methodology in Fish Diseases research*. Barnes A.C., Davidson G.A., Hiney M.P., McIntosh D. (eds.) 97-100. Fisheries Research Services, Aberdeen.
- Quade M.J., Roth J.A. 1997. A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 58, 239-248.
- Seifert S., Watzl B. 2007. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. *The Journal of Nutrition* 137(11 Suppl), 2563S-2567S.
- Waligora-Dupriet A.J., Campeotto F., Nicolis I., Bonet A., Soulaines P., Dupont C., Butel M.J. 2007. Effect of oligofructose supplementation on gut microflora and well-being in young children attending a day care centre. *International Journal of Food Microbiology* 113, 108-113.

Efecto de dietas suplementadas con inmunoestimulantes sobre el sistema inmune de rodaballo (*Psetta máxima* L.) y eficacia frente a infecciones parasitarias

N. Couso, A. Paramá, M.V. Ruiz de Ocenda, A. Tejjido, A. Ojea, F. Villoch, R. Caamaño, B. Fandiño, S. Pais, P. Riera-Fernández, L. Barreiro, S. Cabaleiro

Cluster de la Acuicultura de Galicia (CETGA). Punta de Couso-Aguíño. 15965 A Coruña, e-mail: parama@cetga.org

Abstract

The use of supplemented diets with immunostimulants and probiotics seems to be one of the strategies to prevent the proliferation of pathogens. In this study we have use as immunostimulants: Zn, Se—in inorganic form—, Bio-Mos® and the probiotic Aquabial Fish. We have determined the effect of different diets on several parameters of the immune system of turbot, as well as, the effect on the resistance of fish against the pathogen *Phylasterides dicentrarchi*. We have obtained the best results with the immunostimulants: Zn and Bio-Mos®, and the mixture of both. Stimulation produced by them is maintained for 1-2 weeks after the administration of experimental diets. After the induction of infection *Phylasterides*, the fish remain protected for 2 weeks after completion of the administration of experimental diets.

Justificación

El rodaballo, uno de los organismos más relevantes para la piscicultura actual, ha visto incrementado su cultivo intensificándolo, lo que ha fomentado la infección. Esto unido a que muchos quimioterápicos no están autorizados, hace que las enfermedades infecciosas constituyan la principal amenaza para un desarrollo óptimo de la acuicultura. Una opción que está cobrando fuerza, como método de control, es el uso de probióticos e inmunoestimulantes añadidos como suplementos en las dietas (Verschuere *et al.*, 2000). Uno de estos inmunoestimulantes es el Bio-Mos® (derivado de la pared de la levadura *S. cerevisiae*), oligosacárido manano que incrementa el rendimiento en peces. Los probióticos tienen un papel en la prevención de enfermedades infecciosas: favorecen la estabilidad de la microbiota normal del hospedador, inhiben la colonización por patógenos, influyen en la mucosa que actúa como barrera por su efecto trófico sobre el epitelio intestinal y estimulan componentes específicos y no específicos del sistema inmune (Balcázar *et al.*, 2007). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la administración en la dieta de Zn₂Cl, SeCa, Bio-Mos® y del probiótico Aquabial Fish, sobre el sistema inmune del rodaballo, por un lado y, probar si se produce un incremento de la resistencia de los peces frente a infecciones por *Phylasterides dicentrarchi* por otro.

Material y Métodos

Inmunoestimulantes y Probióticos

Los inmunoestimulantes empleados fueron Zn (en la forma Zn₂Cl), Se (forma inorgánica SeCa), Bio-Mos®. Como probiótico se empleó uno comercial Aquabial Fish (SORBIAL). Peces. Los rodaballos empleados tenían un tamaño inicial de 30 g. Se emplearon 150 peces/dieta, alimentados diariamente con tasa de alimentación del 2,5%.

Ensayo experimental

Dietas administradas: dieta control (pienso basal comercial PROAQUA), dieta suplementada con Zn₂Cl (0,15 g/kg), dieta con SeCa (0,256 mg/kg), dieta con Bio-Mos® (4 g/kg), dieta con Bio-Mos®+ Zn₂Cl (4 g/kg y 0,15 g/kg, respectivamente) y una última dieta con Aquabial Fish (10 g/kg). Los inmunoestimulantes y el pienso se disolvieron previamente, en 200 ml de aceite de pescado, que también se añadió a la dieta control. El SeCa se disolvió en agua y, posteriormente, se añadió aceite al pienso. El protocolo de administración de las dietas consistió en 2 semanas de pienso control, 2 semanas de dietas experimentales y 4 semanas de dieta control. Los muestreos consistieron en la extracción de riñón anterior y sangre por venopunción caudal a 10 peces/grupo. La extracción se realizó previamente al inicio de las dietas suplementadas y una vez a la semana hasta el final del ensayo. Los peces restantes se dividieron en dos grupos y se retaron frente a *P. dicentrarchi*, monitorizando la mortalidad durante 30 días. La sangre se dejó coagular durante 4 horas y se recogió el sobrenadante tras centrifugar a 2.500 rpm/10 min. El suero se

conservó a -20°C hasta su uso. La extracción de linfocitos del riñón anterior se realizó siguiendo el protocolo de Secombes (1990). *Estallido respiratorio*. El estudio se realizó tras 24 h de la recogida de las células, incubando las placas a 18°C (Secombes *et al.*, 1988).

Actividad hemolítica del complemento

Se cuantificó la actividad hemolítica del suero, utilizando glóbulos rojos de carnero como diana (Sakai, 1981).

Concentración de proteínas en suero

La determinación de la concentración de proteínas totales séricas fue realizada mediante el método de Biuret.

Resultados y Discusión

El estudio del estallido respiratorio mostró un ligero incremento durante las 2 semanas de administración de dietas suplementadas (Bio-Mos y Aquabial) manteniéndose 1 semana después de finalizar la alimentación (semana 3). El complemento puede ser activado directa o indirectamente por patógenos (Holand y Lambris, 2002) y detectar su actividad muestra una mejora en la inmunidad del pez. En el estudio observamos incremento de la actividad hemolítica del complemento en grupos experimentales. En la 2 semana de alimentación con dietas suplementadas, todos los grupos (excepto Aquabial), mostraron valores de hemólisis que duplicaban o triplicaban el control. En grupos suplementados con Zn y Zn+Bio-Mos[®] se mantuvo la actividad hasta la última semana. En carpa y trucha (Raa, 2000) también se observó incremento de los niveles de la actividad del complemento en sangre tras alimentar con Bio-Mos[®], parece que este desencadena la cascada del complemento, activando, el sistema inmune facilitando al hospedador la eliminación de patógenos sin presencia de anticuerpos. Los niveles de Igs fueron elevados en todos los grupos, excepto Aquabial, hasta la semana 3. Pasadas 2 semanas de la finalización de la alimentación con dietas experimentales, se realizó una infección, y se observó que todos los grupos reducían su mortalidad, sobre todo, Zn₂Cl, Bio-Mos[®] y la mezcla de ambos. A la semana 3, tras nueva infección, no se observaron diferencias en la mortalidad entre grupos experimentales y grupo control. Después de 1 semana se volvieron a retar peces y se comprobaron niveles bajos en la mortalidad de controles, no obstante, en los primeros 19 días de este reto la mortalidad era mayor para el grupo control, estabilizándose después y llegando a ser mayor incluso que el control. Estos resultados muestran que la estimulación producida por los inmunoestimulantes Zn₂Cl y Bio-Mos[®] y la mezcla, se mantiene durante 1-2 semanas tras finalizar la administración de dietas experimentales. Además, se observa cierta protección durante 2 semanas tras finalizar la administración de dietas experimentales. Concluimos, que el ciclo adecuado de administración es de 2 semanas con dietas suplementadas y otras 2 semanas de descanso favoreciendo la protección durante 2 semanas.

Bibliografía

- Balcázar J.L., De Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Vendrell D., Calvo A.C., Márquez I. 2007. Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in Brown trout (*Salmo trutta*). *British Journal of Nutrition* 97, 522-527.
- Holand M.C.H., Lambris J.D. 2002. The complement system in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology* 12, 399-420.
- Raa J. 2000. The use of immuno-stimulants in fish and shellfish feeds. En: Avances en Nutrición acuicola V. *Memorias del V Simposium Int de Nutrición Acuicola* (Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D., Olvera-Novoa M.A., Civera-Cerecedo R., eds). 19-22. Noviembre. Mérida, Yucatán, México.
- Sakai D.K. 1981. Heat inactivation of complements and immune hemolysis reactions in rainbow trout, masu salmon, coho salmon, goldfish and tilapia. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47, 565-571.
- Secombes C.J., Chung S., Jeffries A.H. 1988. Superoxide anion production by rainbow trout macrophages detected by the reduction of ferricytochrome C. *Development & Comparative Immunology* 12, 201-206
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64, 655-671.
- Secombes C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Robertson B.S., Van Muiswinkel W.B. (eds): *Techniques in fish immunology*. SOS, New Jersey. pp 137-154.

Estudio de la evolución de la carga bacteriana asociada a reproductores de coquina (*Donax trunculus*) durante el acondicionamiento en criadero

J. Dubert¹, A. Louzán², S. Balsa³, S. Prado¹, S. Nóvoa², J. Montes³ y J.L. Barja¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. CIBUS-Facultad de Biología. Universidad Santiago de Compostela. Campus Sur, s/n. 15782 Santiago de Compostela (A Coruña). e-mail: susana.prado@usc.es

² Centro de Cultivos Mariños (CIMA). Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Muelle Porcillán, s/n. 27700 Ribadeo (Lugo)

³ Centro de Investigacións Mariñas (CIMA). Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Pedras de Corón, s/n. Apdo. 13. 36620 Vilanova de Arousa (Pontevedra)

Abstract

The broodstock used in hatchery have a bacterial load that could be transmitted to larvae (vertical transmission). It is important to know the evolution of the bacterial load during the stay in the installation. On one side, the conditions of conditioning could enhance the bacterial growth (regular supply of food, high temperatures...). By the other, the water filtered by the animals has low levels of bacteria, making possible a reduction of the associated microbiota. The present study was focused on the bacterial load of different stocks of *Donax trunculus* conditioned and its evolution along their stay in hatchery, with special attention to possible members of genus *Vibrio*, the most known pathogens of larval cultures of bivalves. At the arrival at the installation, the individuals had a high bacterial load associated to the gonad, joined to an important proportion of vibrios. Overall, since the end of spring, the bacterial concentrations were higher. Respect to the evolution in hatchery, the stocks arrived in summer reduced their bacterial load in the installation, both marine heterotrophic bacteria as well as estimated vibrios populations.

Justificación

Los ejemplares usados en criadero como reproductores tienen una carga bacteriana asociada (Jeffries, 1982) y la posibilidad de una transmisión vertical a los cultivos larvarios ha sido apuntada en algunos trabajos (Riquelme *et al.*, 1995). Sería importante conocer la evolución de esta microbiota durante el período de acondicionamiento. Por un lado, se mantienen en unas condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano (aporte regular de alimento, temperaturas más altas que el medio natural, etc.). Por otro lado, el agua que filtran los individuos está tratada y suele tener unos niveles bajos de bacterias, lo que abre la posibilidad de una rebaja de la carga bacteriana. En este trabajo se recoge el estudio de la carga bacteriana asociada a diferentes lotes de reproductores de coquina durante su permanencia en criadero, con especial atención a posibles miembros del género *Vibrio*, principales patógenos identificados en cultivos larvarios de bivalvos.

Material y Métodos

Acondicionamiento de reproductores

Los cinco lotes de reproductores se obtuvieron del banco de Vilarrube (Galicia), entre los meses de marzo y julio. Para su acondicionamiento, en el Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo, se depositaron en tanques de 200 litros con circuito abierto de agua de mar filtrada. Se mantuvieron con aireación constante y fuerte. Se alimentaron con *Isochrysis*, *Monochrysis*, *Chaetoceros* y *Tetraselmis suecica*. Se mantuvieron a una temperatura de 16-19°C. Todos los desoves fueron espontáneos.

Microbiología

Para el procesamiento de reproductores para microbiología, se abrió cada ejemplar, se lavó con agua de mar estéril y se cortó asepticamente un fragmento de gónada. Se homogeneizó, se hicieron diluciones seriadas y se sembraron en los medios Agar Marino (AM, Pronadisa), para recuento de bacterias heterótrofas marinas, y Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS, Oxoid), para vibrios. Para la incubación, aislamiento de colonias y conservación se siguió lo descrito en Prado *et al.* (2005). Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g) de gónada. A los aislados se les realizó una caracterización microbiológica básica, con las pruebas de morfología, movilidad, Gram, oxidasa, catalasa, oxidación/fermentación de glucosa, decarboxilación de aminoácidos y crecimiento en TCBS. A los aislados fermentativos se les realizó una caracterización complementaria (Prado *et al.*, 2005).

Resultados y Discusión

El control inicial del Lote I (marzo) se realiza después de un mes en el criadero. Los contenidos bacterianos son elevados tanto en este control como en el final, a los 63 días de estancia. Las muestras en TCBS

del control final presentaron todas un mismo tipo de colonia predominante, mientras en AM se aislaron otros tres tipos de bacterias fermentativas. Las dos puestas que se obtuvieron de este lote fueron mal. Es importante señalar que los reproductores seguían maduros al final de su etapa en la instalación. Del Lote II (mayo-1) sólo se pudo realizar un control inicial. Los reproductores llegaron con contenidos bajos de bacterias heterótrofas marinas, pero muy variables en vibrios. La caracterización de los aislados, de AM y TCBS, mostró que eran todas bacterias fermentativas, con al menos cuatro perfiles bioquímicos diferentes. Los individuos estaban bastante maduros. Se obtuvo una puesta que fracasó. El Lote III (mayo-2) llegó del medio natural con contenidos altos de bacterias, que se incrementaron durante su mantenimiento en el criadero. En el control inicial, en TCBS, se vieron los mismos tipos de colonias en todos los individuos, uno de ellos claramente predominante; de AM se aislaron cinco cepas, con dos perfiles básicos. Las cepas aisladas en el control final presentaron cinco perfiles bioquímicos diferentes. Las dos puestas obtenidas fracasaron. A su llegada estaban muy maduros, condición que perdieron según se vio en el control final. Del Lote IV (junio) no se obtuvieron puestas. Llegaron al criadero muy maduros y cargados de bacterias, tanto totales como vibrios, con cinco aislados fermentativos que compartían dos perfiles bioquímicos diferentes. Se rebajaron los contenidos a lo largo del mes que estuvieron en la instalación. En cuanto a los tipos, en las muestras finales de TCBS se aislaron dos diferentes, pero en números muy bajos. En AM crecieron tres tipos diferentes, acompañadas de una bacteria oxidativa pigmentada en todos los individuos. En el control final no había individuos maduros. El Lote V (julio) no desovó. La evolución fue similar al Lote IV, llegando maduros y con elevada carga bacteriana, que redujeron en el criadero. En el control inicial se aislaron bacterias fermentativas, de AM y TCBS, con seis perfiles bioquímicos diferentes. A pesar de la presencia final de bacterias fermentativas en TCBS los recuentos fueron muy bajos. No se encontraron individuos maduros en el control final. En resumen, los reproductores, todos con un mismo origen, mostraron a su llegada al criadero una elevada carga de bacterias totales asociadas a la gónada, junto con una importante proporción de vibrios. En general, a partir de finales del mes de mayo las concentraciones bacterianas de partida fueron aún más elevadas. En lo que respecta a su evolución en el criadero, los lotes que entraron en Junio y Julio rebajaron la carga bacteriana, tanto de bacterias heterótrofas marinas como de poblaciones estimadas de vibrios. Los resultados muestran la necesidad de rebajar la carga bacteriana de los reproductores antes de los desoves, para minimizar los riesgos de transmisión vertical de vibrios a los cultivos larvarios. Una alternativa sería tratar de obtener segundas puestas, o bien introducir ejemplares en épocas anteriores a la madurez sexual, de forma que se garantice un tiempo de permanencia en la instalación que permita reducir las poblaciones bacterianas asociadas a los progenitores.

Agradecimientos

Este estudio ha sido cofinanciado por la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) y por la Consellería do Mar, Xunta de Galicia (Acción Especial 2007/CP221). Agradecimientos al personal del CCM, y a la Cofradía de Cedeira por el suministro de reproductores.

Bibliografía

- Jeffries V.E. 1982. Three *Vibrio* strains pathogenic to larvae of *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Aquaculture* 29, 201-226.
- Prado S., Romalde J.L., Montes J., Barja J.L. 2005. Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. *Diseases of Aquatic Organisms* 67, 209-215.
- Riquelme C., Hayashida G., Toranzo A.E., Vilches J., Chávez P. 1995. Pathogenicity studies on a *Vibrio anguillarum*-related (VAR) strain causing an epizootic in *Argopecten purpuratus* larvae cultured in Chile. *Diseases of Aquatic Organisms* 22, 135-141.

Niveles séricos de cortisol y testosterona en trucha común, *Salmo trutta* L., en relación con la saprolegniosis

J.M. Fregeneda-Grandes y J.M. Aller-Gancedo

Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
Campus de Vegazana, s/n. 24071 León. e-mail: jmallg@unileon.es

Abstract

Changes in the serum concentrations of testosterone and cortisol in wild and farmed brown trout, *Salmo trutta* L. were measured in relation to saprolegniosis. Trout infected with *Saprolegnia* showed significantly lower levels of testosterone (4.77 ± 7.44 ng ml⁻¹, n = 108) than did uninfected trout (9.03 ± 8.18 ng ml⁻¹, n = 81). However, serum cortisol levels were significantly higher in trout with saprolegniosis (339.0 ± 155.7 ng ml⁻¹, n = 108) than trout without saprolegniosis (172.9 ± 129.9 ng ml⁻¹, n = 82).

Justificación

Diversos factores predisponentes se han asociado con un aumento de la receptividad a la saprolegniosis, especialmente en los salmónidos, como los traumatismos, maduración sexual, estrés y otras enfermedades (Pickering, 1994). En los salmónidos, tanto en poblaciones naturales como en las piscifactorías, se ha demostrado que la saprolegniosis afecta fundamentalmente a los individuos maduros sexualmente aunque parece que los machos son más receptivos que las hembras (Aller Gancedo y Fernández Díez, 1987). Se considera que la mayor receptividad de los machos maduros se debería, al menos en parte, a la elevación de los niveles séricos de andrógenos (Cross y Willoughby, 1989). También se ha demostrado la asociación entre distintos factores estresantes (empobrecimiento de la calidad del agua, cambios en la temperatura del agua, dieta deficitaria, manejo excesivo) con la consiguiente elevación de los niveles séricos de corticoesteroides y el aumento de la receptividad a las infecciones por *Saprolegnia* (Neish y Hughes, 1980; Pickering y Christie, 1981; Pickering y Duston, 1983). Por todo ello nos planteamos medir los niveles séricos de cortisol y testosterona en truchas comunes, tanto de río como de piscifactoría, y su posible relación con la infección por *Saprolegnia*.

Material y Métodos

El estudio se llevó a cabo en poblaciones naturales de trucha común, *Salmo trutta*, de siete ríos de la provincia de León, así como en reproductores de trucha común (entre 3-5 años de edad) de una piscifactoría, también situada en la provincia de León. Las truchas de río fueron capturadas mediante pesca eléctrica. Todas las truchas fueron anestesiadas con MS 222 (50 mg ml⁻¹) para facilitar su manejo y reducir el estrés. Seguidamente se pesaron, midieron y se realizó la extracción de sangre por punción de la vena caudal en la región del pedúnculo. Las truchas fueron devueltas vivas al agua excepto aquellas que estaban enfermas de saprolegniosis. En total se obtuvieron 190 muestras de sangre, 123 de reproductores de la piscifactoría (34,9 ± 4,9 cm de longitud y 478,7 ± 233,4 g de peso) y 67 de truchas de río (32,1 ± 7,7 cm de longitud y 422,1 ± 279,8 g de peso), de las cuales 108 procedían de truchas infectadas con *Saprolegnia* (63 de reproductores y 45 de truchas de río). Las muestras de sangre se dejaron coagular y el suero se obtuvo por centrifugación (×1.000 g, 45 min.).

La determinación cuantitativa de testosterona y cortisol en el suero sanguíneo se llevó a cabo mediante un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida (Immulite®, Siemens).

Resultados y Discusión

Las truchas infectadas con *Saprolegnia*, independientemente del origen (río o piscifactoría) o sexo mostraron niveles séricos de testosterona significativamente más bajos que las truchas no infectadas pero los niveles séricos de cortisol fueron significativamente más altos (Tabla 1). Estos resultados de mayores niveles de cortisol en las truchas infectadas con *Saprolegnia* coinciden con los obtenidos por Pickering y Christie (1981) y están en la misma línea que los observados por Pickering y Duston (1983) en trucha común y Pottinger y Day (1999) en trucha arco iris. Estos autores demostraron que la administración oral o intraperitoneal de cortisol producía una elevación crónica de los niveles sanguíneos de cortisol y un aumento de la receptividad de los peces a la infección por *Saprolegnia*. Los menores niveles de testosterona observados en las truchas con saprolegniosis podrían deberse al efecto supresor de los mayores nive-

Tabla 1. Diferencias de los niveles séricos de testosterona y cortisol en truchas comunes, *Salmo trutta* L., con y sin saprolegniosis. Los datos (en ng ml⁻¹) se muestran como la media \pm la desviación estándar y el número de muestras analizadas entre paréntesis

Estado de salud	Testosterona ^a	Cortisol ^a
Sin saprolegniosis	9,03 \pm 8,18 (81)	172,9 \pm 129,9 (82)
Con saprolegniosis	4,77 \pm 7,44 (108)	339,0 \pm 155,7 (108)

^a Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

les de cortisol antes mencionados (Pickering *et al.*, 1987) o a la hemodilución asociada con la infección por *Saprolegnia* (Richards y Pickering 1979).

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado en parte por el proyecto AGL2002-00505 del Ministerio de Ciencia y Tecnología, cofinanciado por fondos FEDER. Agradecemos al Servicio Territorial de Medio Ambiente de León (Junta de Castilla y León) su inestimable colaboración para la obtención de las truchas utilizadas en el estudio.

Bibliografía

- Aller Gancedo J.M., Fernández Díez M. 1987. Saprolegniosis en la trucha común (*Salmo trutta* L.) de los ríos de León (España). *Medicina Veterinaria* 4, 181-184.
- Cross M.L., Willoughby L.G. 1989. Enhanced vulnerability of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to *Saprolegnia* infection following treatment of the fish with an androgen. *Mycological Research* 93, 379-402.
- Neish G.A., Hughes G.C. 1980. *Fungal Diseases of Fishes*. T.F.H. Publications, Neptune, 159 pp.
- Pickering A.D. 1994. Factors influencing the susceptibility of salmonid fish to saprolegniosis. En: *Salmon Saprolegniosis*, Mueller G.J. (ed.): 67-86. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Division of Fish and Wildlife, Portland.
- Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J., Sumpter J.P. 1987. The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* 68, 249-259.
- Pickering A.D., Christie P. 1981. Changes in the concentrations of plasma cortisol and thyroxine during sexual maturation of the hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* 44, 487-496.
- Pickering A.D., Duston J. 1983. Administration of cortisol to brown trout, *Salmo trutta* L., and its effects on the susceptibility to *Saprolegnia* infection and furunculosis. *Journal of Fish Biology* 23, 163-175.
- Richards R.H., Pickering A.D. 1979. Changes in serum parameters of *Saprolegnia*-infected brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Diseases* 2, 197-206.

Caracterización fenotípica de bacterias asociadas a un sistema cerrado de recirculación para el cultivo de lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup)

P. García-González¹, C. Fuentes-Edfuf¹, N. García-Lamas¹, M. Piñeiro-Vidal¹, O. González², A. Ríaza² e Y. Santos¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología Edificio CIBUS. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. 15782 Santiago de Compostela (A Coruña). e-mail: paula.garcia.gonzalez@hotmail.com

² Stolt Sea Farm S.A. Punta de los Remedios, s/n. Lira. Carnota (A Coruña)

Abstract

The water recirculating systems in marine aquaculture allow to reduce costs, environmental impact and to improve fish production when conditions do not adjust to the optimal requirements of the cultured fish species. In order to evaluate the efficacy of a closed recirculating system and its applicability for the culture of sole (*Solea senegalensis*, Kaup), we have analyzed the bacterial population of water in different points of the system as well as the changes in physic-chemical parameters that directly affect to the culture (temperature, O₂, pH, NO₃, NO₂ and NH₄⁺) during one year period. With this aim, samples from water were serially diluted and streaked on the surface of Tryptone Soy Agar supplemented with 1% (w/v) NaCl (TSA-1), Marine Agar (MA) and Thiosulphate citrate bile sucrose (TCBS) plates to determine the number of viable bacteria. Pure cultures obtained were identified using morphological, physiological and biochemical test. Throughout the complete period of the study the levels of heterotrophic bacteria and putative members of the Genus *Vibrio* ranged from 10⁴ to 10⁵ cfu/ml and from 10² to 10⁵ cfu/ml, respectively. The physic-chemical parameters maintained acceptable ranges for the culture of sole.

Justificación

Los sistemas cerrados de recirculación de agua (SRA) en acuicultura marina permiten una reducción de costes e impacto ambiental, así como una mejora en la producción cuando las condiciones no se ajustan a los requerimientos óptimos de la especie en cultivo. Los biofiltros, piezas clave en este tipo de sistema, son fácilmente desestabilizados por variaciones en las condiciones ambientales y por variaciones intrínsecas al cultivo, que pueden producir cambios en la composición bacteriana y por tanto disminuir la efectividad del biofiltro. Para evaluar la eficacia de un sistema cerrado de recirculación en el cultivo de lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup), hemos analizado los cambios en la población bacteriana y en los parámetros físico-químicos del agua durante el período Enero a Diciembre del 2008.

Material y Métodos

Se tomaron mensualmente muestras del agua del SRA aplicado al cultivo de lenguado senegalés en la planta de Couso (Riveira) de la piscifactoría Stolt Sea Farm. El número de unidades formadoras de colonias (ufc) se determinó por siembra en placa de diluciones seriadas de las muestras utilizando los medios TSA-1 (Tripticasa Soja Agar, Cultimed, suplementado con un 1% de NaCl), MA (Agar Marino, Difco) y TCBS (Agar de Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa, Oxoid). Las placas se incubaron a 18-20°C durante un período de 2 a 7 días se realizaron los recuentos y de cada medio se seleccionaron diferentes tipos de colonias que se sembraron en medio fresco para su posterior caracterización utilizando métodos microbiológicos convencionales y el sistema API 20E (BioMerieux). Para la comprobación del correcto funcionamiento del sistema de recirculación se midieron además parámetros físico-químicos que afectan directamente al cultivo como la temperatura, pH, O₂, NO₂, NO₃ y NH₄⁺.

Resultados y Discusión

Los análisis microbiológicos mostraron que el número de bacterias heterótrofas (medios TSA-1 y MA) y de presuntivos miembros del género *Vibrio* (medio TCBS) en los diferentes puntos del sistema de recirculación se mantuvieron, durante todo el período de muestreo, a niveles entre 10⁴ y 10⁵ ufc/ml y entre 10² y 10⁵ ufc/ml, respectivamente. La Figura 1 muestra los resultados obtenidos con las muestras de agua antes (a) y después (b) de su paso por el biofiltro. Estos resultados son similares a los descritos en el agua de tanques de cultivo de larvas de dorada en el mediterráneo (Pujalte *et al.*, 2003) y en sistemas de circuito cerrado para cultivo de lenguado y rodaballo (López *et al.*, 2008). Durante todo el período de estudio los valores de pH, temperatura, O₂, NO₃, NO₂ y NH₄⁺ se mantuvieron en niveles óptimos para el cultivo de lenguado.

La caracterización fenotípica permitió la inclusión de la mayoría de los aislados en los géneros *Vibrio* y *Listonella* (Fig. 2). El aislamiento de bacterias oxidativas fue menos frecuente pero, sin embargo se identifi-

Figura 1. Niveles de bacterias heterótrofas y de presuntivos miembros del género *Vibro* en agua de mar obtenida antes (a) y después de su paso por el biofiltro (b) del sistema de recirculación

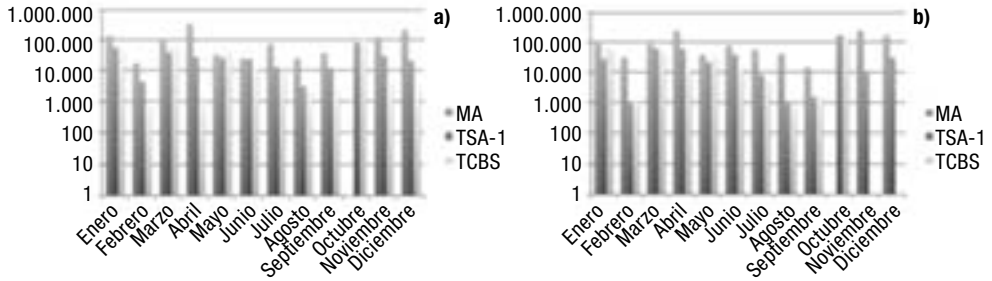
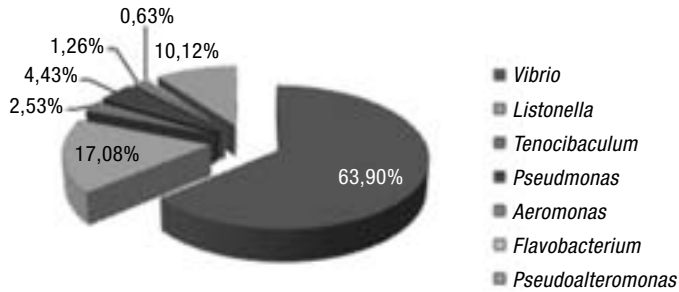


Figura 2. Géneros mayoritarios aislados del cir-



caron bacterias halófilas de los géneros *Pseudoalteromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y *Aeromonas*. Algunas cepas no pudieron ser identificadas a nivel de especie en base a las características analizadas. Las especies *V. harveyi* (7,6%) y *V. alginolyticus* (14,5%), descritas como patógenos para el lenguado y otras especies de peces en cultivo, se aislaron a partir de diferentes puntos del circuito de recirculación, sin estar relacionadas con ningún episodio de mortalidad. Por tanto, aunque la vibriosis puede ser un factor determinante de mortalidad, para que se produzca una epizootia se requieren condiciones desfavorables para los peces además de la presencia del agente patógeno.

Agradecimiento

Financiado por los proyectos INCITE 08E1R208038ES y PGIDIT 07 MRMA 002E. Xunta de Galicia.

Bibliografía

- López C., González A., Quintáns J.M., Rodríguez J.L. 2008. Datos Preliminares del control de parámetros físico-químicos y bacteriológicos en circuito cerrado de peces planos. *Foro de Acuicultura y Recursos Mariños de las Rías Galegas* 10, 471-474.
- Pujalte M.J., Sitjà-Bobadilla A., Álvarez-Pellitero P., Garay E. 2003. Carriage of potentially fish-pathogenic bacteria in *Sparus aurata* cultured in Mediterranean fish farms. *Diseases of Aquatic Organisms* 54, 119-126

Diseño y validación de un ensayo para la detección de betanodavirus en peces empleando la técnica RT-PCR cuantitativa.

Aplicaciones en estudios de transmisión de la enfermedad

R. García¹, K. Hodneland¹, C. Zarza², C. Amaro¹ y B. Fouz¹

¹ Universitat de València. Dr. Moliner, 50. 46100 Burjassot. Valencia. e-mail: belen.fouz@uv.es

² Skretting. Carretera de la estación, s/n. 09620 Cojobar. Burgos

Abstract

Infections with betanodavirus in fish is termed «viral encephalopathy and retinopathy» (VER) by the OIE. These infections affect a wide range of different fish species, mostly in marine environment. Clinical signs of VER include spiral swimming and un-coordinated behaviour caused by the replication of nodavirus in the central nervous system of fish. In order to control the virus, it is important to be able to confirm its presence or absence at an early phase in every stage of the production cycle. The aim of the present work was to develop and validate a real-time RT-PCR assay for detection of betanodavirus in fish using the TaqMan[®] probe chemistry. Moreover, we used the new detection assay to screening for betanodavirus in various farmed fish species and study the transmission and development of infection in seabass (*Dicentrarchus labrax*) under different experimental conditions. Comparisons of the new real-time RT-PCR assay with a conventional RT-PCR showed that the sensitivity and specificity in detecting betanodavirus in field samples was greatly increased (10-100 times higher), and the assay was able to detect asymptomatic carrier fish that otherwise could had been classified as free of infection.

Justificación

El objetivo del trabajo ha sido desarrollar y validar un procedimiento para la detección de betanodavirus en peces empleando la técnica de PCR con transcripción inversa (RT-PCR) a tiempo real o cuantitativa (qRT-PCR). El ensayo se ha aplicado en: a) la detección del agente viral en diferentes especies de peces marinos de importancia en acuicultura y b) el estudio de la transmisión y desarrollo de la infección por betanodavirus en lubina (*Dicentrarchus labrax*) en diferentes condiciones experimentales.

Material y Métodos

qRT-PCR

La sonda Taqman[®] y los cebadores utilizados en el ensayo se diseñaron alineando secuencias parciales de una región altamente conservada del gen RNA2 (que codifica las proteínas de la cápside del virus) de aislados locales con secuencias de la misma región de aislados de los dos grupos genéticos encontrados en la península ibérica, el SJVNN y el RGVNN, publicadas en la base de datos GENEBANK. Valores Ct o de ciclo umbral < 38 evidenciaron la presencia de nodavirus en la muestra. El ensayo se aplicó en la detección de nodavirus en diferentes especies de peces cultivados en instalaciones marinas de nuestro país.

RT-PCR convencional

El ensayo se realizó empleando el protocolo y los cebadores F2 y R3 descritos por Nishikawa *et al.* (1994).

Ensayos de infección

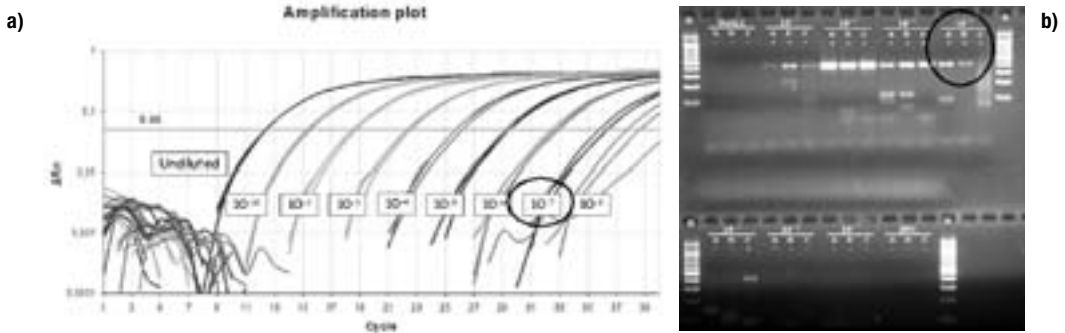
Se llevaron a cabo diferentes infecciones experimentales con aislados de nodavirus del área mediterránea en ejemplares juveniles de lubina: cohabitación con peces infectados, inyección intramuscular de una suspensión de virus (Péducasse *et al.*, 1999) e inmersión prolongada empleando tejido infectado como inóculo. El éxito de las diferentes infecciones fue evaluado empleando el ensayo qRT-PCR desarrollado para detectar y cuantificar el virus en los peces infectados.

Resultados y Discusión

El ensayo qRT-PCR mostró una gran eficiencia ($E = 0,97$) y especificidad, obteniéndose sólo el fragmento esperado de 134 pb, y resultó ser mucho más sensible (100-1.000 veces) que el convencional por RT-PCR (Fig. 1). El ensayo desarrollado permitió detectar/cuantificar la presencia nodavirus en muestras de diferentes especies de peces marinos (lubina, dorada y corvina). El origen y la observación de signos clínicos de VER o no en las muestras analizadas, así como la prevalencia del virus y el valor Ct (en correspondencia con el grado de infección de la muestra) de las mismas aparecen resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de los análisis de presencia de nodavirus en peces empleando qRT-PCR

Especie	N.º peces	VER Signos clínicos	Prevalencia (%)	Valor Ct medio (rango)
Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	10	++	100	15,0 (10,5-17,8)
	11	+	73	15,7 (14,0-29,5)
	16	-	25	22,9 (11,6-31,0)
Dorada (<i>Sparus aurata</i>)	24	-	29	33,1 (31,3-33,4)
Corvina (<i>Argyrosomus regium</i>)	11	-	55	32,5 (31,2-33,6)

Figura 1. Límite de detección de los ensayos RT-PCR empleando diluciones de una muestra de cDNA sintetizado a partir de tejido de pez altamente infectado por nodavirus. El ensayo qRT-PCR (a) detecta presencia de virus en diluciones muy altas de la muestra (hasta 1/10⁷), mientras que la técnica RT-PCR convencional sólo la detecta en diluciones bajas, hasta 1/10⁴ (b)

Los resultados demostraron que los peces con evidentes signos clínicos de VER presentaban valores Ct en el ensayo qRT-PCR menores de 17 y que los peces sin síntomas presentaban, en la mayoría de los casos, valores Ct por encima de 30. Por tanto, el ensayo permitió detectar la presencia del virus en peces portadores sin síntomas que de otra forma podrían haber sido clasificados como libres de infección. Los signos clínicos de VER se reprodujeron sólo en los peces infectados experimentalmente por inmersión o por inyección intramuscular, poniendo de manifiesto la transmisión horizontal de la enfermedad. La presencia del virus en los peces se confirmó mediante el ensayo qRT-PCR desarrollado.

En conclusión, hemos desarrollado un ensayo qRT-PCR para la detección de betanodavirus en peces enfermos o portadores muy sensible y específico.

Bibliografía

- Nishikawa T., Mori K., Nakai T., Furosawa I., Muroga K. 1994. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Diseases of Aquatic Organisms* 18, 103-107.
- Péducasse S., Castric J., Thiéry R., Jeffroy J., Le Ven A., Baudin Laurencin F. 1999. Comparative study of viral encephalopathy and retinopathy in juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* infected in different ways. *Diseases of Aquatic Organisms* 36, 11-20.
- Munday B.L., Kwang J., Moody N. 2002. Betanodavirus infections of teleost fish: A review. *Journal of Fish Diseases* 25, 127-142.

¿Inmunodeprime la oxitetraciclina la respuesta inmunitaria innata de la dorada (*Sparus aurata* L.)?

F.A. Guardiola, R. Cerezuela, M.A. Esteban y J. Meseguer

Departamento Biología Celular e Histología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia.
30100 Murcia. e-mail: faga1@um.es

Abstract

The oxytetracycline is an antibiotic used in the aquaculture, principally in the treatment of infections caused by the pathogenic Gram-negative bacteria. In the present study, the consequences of the oral administration of oxytetracycline on the main parameters of the cellular innate immune responses (respiratory burst and phagocytic activity) in specimens of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) were evaluated. The fish were sampled after 7, 14 and 21 days of treatment. The results reveal a statistically significant increase in the percentage of phagocytic cells after 7 days of treatment, comparing to the control samples, while both respiratory burst and phagocytic capacity increase after 14 days of treatment. No significant effects were observed after 21 days of treatment. The cellular innate immune parameters of gilthead seabream are stimulated after dietary administration of oxytetracycline at the dosages tested.

Justificación

La oxitetraciclina es un antibiótico utilizado en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias patógenas Gram-negativas. Ha sido ampliamente utilizada durante décadas en granjas de acuicultura de todo el mundo (Elema *et al.*, 1996). Sin embargo, varios peligros pueden ir asociados con el empleo excesivo de estos antibióticos, como son la nefrotoxicidad, daños hepáticos, retraso del crecimiento, el desarrollo de bacterias resistentes, problemas ambientales y residuos de antibióticos en el pescado (Lunden *et al.*, 1998). Además, se ha demostrado que la oxitetraciclina tiene efectos inmunosupresores (Horsberg y Berge, 1986). El objetivo del presente estudio ha sido evaluar los efectos inmunomoduladores producidos por la administración en dieta de oxitetraciclina sobre los principales parámetros de la respuesta inmunitaria innata a nivel celular en ejemplares de dorada.

Material y Métodos

Noventa ejemplares de dorada (*Sparus aurata* L.) (70 ± 20 g), procedentes de la piscifactoría Culmarex S.A. (Águilas, Murcia), fueron distribuidos al azar en 3 grupos, y alimentados con pienso control o suplementado con 80 o 160 mg de oxitetraciclina/kg de pescado durante 21 días. Los muestreos se realizaron a los 7, 14 y 21 días, aislándose los leucocitos de riñón cefálico para el estudio de la explosión respiratoria (Bayne *et al.*, 1991) y la fagocitosis (Esteban *et al.*, 1998). Los datos se expresan como la media \pm el error estándar para cada parámetro medido ($n = 30$) y fueron analizados mediante análisis de la varianza (ANOVA; $P \leq 0,05$). Se utilizó el programa estadístico SPSS 15.0.

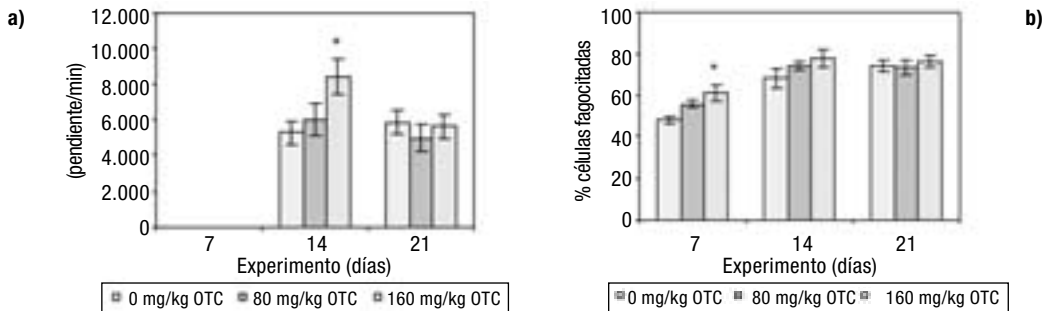
Resultados y Discusión

La explosión respiratoria y la capacidad fagocítica de los leucocitos de riñón cefálico de dorada mostraron un aumento estadísticamente significativo a los 14 días para el grupo OTC-160 con respecto a la obtenida para los leucocitos aislados de ejemplares del grupo control. La habilidad fagocítica de los leucocitos de riñón cefálico de dorada aislados de ejemplares del grupo OTC-160, mostró un aumento estadísticamente significativo con respecto a la actividad determinada para los leucocitos procedentes del grupo control, tras el séptimo día de tratamiento. Los efectos inmunomoduladores de la oxitetraciclina han sido estudiados en peces (Rijkers *et al.*, 1980); en la carpa se ha demostrado que disminuye la respuesta humoral, al igual que la actividad de los linfocitos (Rijkers *et al.* 1980) aunque el efecto decrece con el tiempo (Gron del *et al.*, 1987) y en salmónidos causa reducción en la actividad inmunitaria tanto específica como no específica (Siwicki *et al.*, 1989). En el presente trabajo, por el contrario, observamos que la oxitetraciclina, a dosis de 80 y 160 mg/ kg de pescado, produce un efecto inmunoestimulante en la respuesta inmunitaria innata celular de la dorada.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido parcialmente financiada mediante los proyectos AGL2008-05119-C02-01 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y 10886 (Fundación Séneca). R. Cerezuela tiene una beca predoctoral del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Figura 1. a) Explosión respiratoria, b) habilidad fagocítica de los leucocitos de dorada tras administración de oxitetraciclina. Las barras muestran las medias \pm e.e. ($n = 30$). Los asteriscos denotan las diferencias significativas entre el control y los grupos de tratamiento (ANOVA, $P \leq 0,05$)



Bibliografía

- Bayne C.J., Levy S. 1991. Modulation of the oxidative burst in trout myeloid cells by adrenocorticotropic hormone and catecholamines: mechanism of action. *J Leukoc Biol* 50, 554-560.
- Björklund H.V., Råbergh C.M.I., Bylund G.. 1991. Residues of oxolinic acid and oxytetracycline in fish and sediments from fish farms. *Aquaculture* 97, 85-96.
- Bruno D.W. 1989. An investigation into oxytetracycline residues in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis* 12, 77-86.
- Elema M.O., Hoff K.A., Kristensen H.G. 1996. Bioavailability of oxytetracycline from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. *Aquaculture* 143, 7-14.
- Esteban M.A., Mulero V., Muñoz J., Meseguer J. 1998. Methodological aspects of assessing phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by flow cytometry and electron microscopy. *Cell Tissue Res* 293, 133-141.
- Grondel J. L., Nouws J.F.M., Muiswinkel van W.B. 1987. The influence of antibiotics on the immunosystem: immuno-pharmacokinetic investigations on the primary anti-SRBC response in carp, *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. *Journal of Fish Diseases* 10, 35-43.
- Horsberg T.E., Berge G.N. 1986. Medikamentell behandling av oppdrettsfisk (Pharmacotherapeutics in fish farming-a review). *Nor. Vet. Tidsskr* 98, 805-812.
- Inglis V., Robertson D., Miller K., Thompson K.D., Richards R.H. 1996. Antibiotic protection against recrudescence of latent *Aeromonas salmonicida* during furunculosis vaccination. *Journal of Fish Diseases* 19, 341-348.
- Rijkers G. T., Teunissen A.G., Oosterom van R., Muiswinkel van W.B. 1980. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 19, 177-189.

Estudio de la parasitación en la tenca (*Tinca tinca* L., Cyprinidae) en una piscifactoría de Castilla y León: factores de riesgo, y comparación con la parasitación en ciprínidos salvajes en varios ríos de la cuenca del Duero

G. Illán

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL).
Laboratorio de Sanidad Animal. Polígono Industrial «Las Casas», calle A, parcela 5B. 42005 Soria.
E-mail: illagugo@jcyl.es

Abstract

Cyprinids, together with salmonids, are the most characteristic and representative family of fishes inhabiting our aquatic ecosystems. One of their species, the tench (*Tinca tinca* L.), represents a source of richness and employment for the economy of our Region. Due to the seasonal hydrological pattern of our rivers, and to the intensification in aquaculture production, the parasites of these species thrive every year, especially during the warm season, in the form of epizootic outbreaks. Some of these parasites, like the ciliate *Tripartiella* sp., a species with a direct life cycle, finds the conditions created at the fish farms very suitable for its development, causing serious damage to the fish. Even though its control and eradication is very difficult in the wild, knowing the environmental and host-dependent risk factors that affect its growth and transmission could help us to prevent and control its presence in the fish farms.

Justificación

Castilla y León es una región de clima mediterráneo continental y marcada estacionalidad. El Duero es su principal río, y los ciprínidos la familia más representativa de su ictiofauna (Velasco *et al.*, 2005). La tenca (*Tinca tinca* L., 1758) es una especie euroasiática, presente en casi todos los países europeos, y en España ha sido cultivada durante siglos. En Castilla y León existen tres piscifactorías dedicadas a su producción. Bajo condiciones de cultivo, los peces son más susceptibles a la parasitación, dando lugar a brotes epizooticos (Stoskopf, 1993) o a otros efectos negativos (reducción en el crecimiento, pérdida de fecundidad, mortalidad). Por ello es necesario, si queremos aumentar los rendimientos en acuicultura, el estudio detallado de los parásitos y de las condiciones bajo las cuales se desarrollan.

Material y Métodos

Los ríos muestreados (Arlanza, Duratón, Eresma, Ucero y Revinuesa) son ríos de montaña media y régimen pluvionival. La piscifactoría de tencas es alimentada por agua de pozo, y su régimen de explotación es semi-intensivo. Los muestreos se desarrollaron, estacionalmente, a lo largo de los años 2005 a 2007, registrando datos sobre el punto de muestreo y la calidad físico-química y microbiológica del agua. Se capturó, mediante «pesca eléctrica», un total de 782 ciprínidos, y sus parásitos se identificaron con la ayuda del microscopio óptico y, en algunos casos, del microscopio electrónico de barrido. La prevalencia de parasitación, y sus intervalos de confianza del 95%, se calcularon usando el programa informático WinEpi. Las pruebas de contraste (entre las parejas de variables) se analizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0. Para cuantificar el riesgo de parasitación frente a la exposición a un determinado factor (de riesgo/protección), se realizó un estudio epidemiológico observacional de tipo transversal, calculando los valores de Odds Ratio (OR) con el programa Win Episcope 2.0.

Resultados y Discusión

Bajo las condiciones de cultivo estudiadas, las tencas estaban parasitadas por un bajo número de parásitos (*I. multifilis*, *Tripartiella* sp., *Gyrodactylus* sp. y *Myxobolus* sp.), mientras que en los ciprínidos salvajes la diversidad era mayor. Se vieron diferencias significativas en las prevalencias de parasitación en sus parásitos comunes, siendo más altas en la piscifactoría en el caso de los protozoos ciliados (Fig. 1). La piscifactoría se comportaba como un factor de riesgo en la parasitación, que era casi 6 veces mayor que en los ríos, en particular por ciliados como *Tripartiella* sp. (Fig. 2), cuyas probabilidades de desarrollo se multiplicaban enormemente (más de 1.000 veces) bajo estas condiciones ambientales. Algunos parámetros de calidad de agua (temperatura > 18°C, nutrientes inorgánicos, etc.) actuarían como factores de riesgo en la presencia de este tricodínido en la piscifactoría, multiplicando las probabilidades de parasitación entre 7 y 500 veces, dependiendo del factor. En el verano, las probabilidades de parasitación por este parásito aumentaban algo más de 6 veces. La longitud de las tencas, por encima de los 13 cm, disminuía las

Figura 1. Prevalencia de parasitación de parásitos comunes a río y piscifactoría

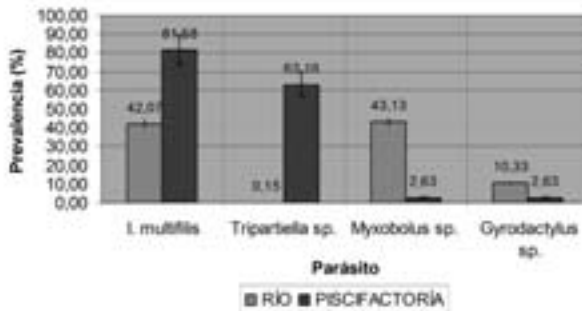
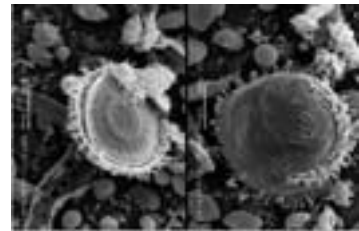


Figura 2. Imagen original (en microscopía electrónica de barrido) de *Tripartiella sp.*



probabilidades de parasitación por *Tripartiella sp.* en unas 15 veces. Además, se observaron diferencias significativas en el factor de condición de las tenca infectadas ($K = 207,31 \pm 71,43$) frente a las no infectadas ($K = 258,11 \pm 220,71$).

La existencia, en condiciones de cultivo, de pocas especies de parásitos y con ciclos de vida directos se podría explicar por la existencia de una única especie cultivada, la ausencia de hospedadores intermedios, y el secado periódico de las lagunas (Dogiel *et al.*, 1969). Además, los peces están sometidos a condiciones de estrés, que darían lugar a su inmunodepresión, y por lo tanto a una mayor probabilidad de padecer enfermedades infecciosas (Reddy y Leatherland, 1998). La temperatura y la calidad de agua afectarían en mayor medida a este tipo de ectoparásitos, favoreciendo su reproducción (Dogiel *et al.*, 1969). A lo largo del año existe una variación de la fauna parasitaria que podemos encontrar en una determinada especie de pez (Chubb, 1977) debido al carácter estacional del ciclo de los parásitos (Dogiel *et al.*, 1969). Hay que tener en cuenta, finalmente, que la tenca es una especie peculiar por su modo de vida estacional (semienterrada en el fango), y esta hibernación puede tener una influencia sobre su parasitofauna (Dogiel *et al.*, 1969), haciéndola más susceptible a la trichodinosis (Woo, 1995), más frecuente en los peces juveniles cultivados (Lom y Dyková, 1992).

Bibliografía

- Chubb J.C. 1977. Seasonal Occurrence of Helminths in Freshwater Fishes, Part I: Monogenea. *Adv. Parasitology*, 15: 133-199.
- Dogiel V.A., Petrushevski G.K., Polyanski Yu.I. (eds.). 1961. *Parasitology of Fishes*. Oliver and Boyd Ltd., London.
- Lom J., Dyková I. 1992. *Protozoan Parasites of Fishes*. Elsevier.
- Reddy P.K., Leatherland J.F., 1998. Stress Physiology. En: *Fish Diseases and Disorders. Volume 2. Non-infectious Disorders*. J.F. Leatherland y P.T.K. Woo. CABI-Publishing. London. pp. 279-301.
- Stoskopf M.K. 1993. *Fish Medicine*. Published by: W.B. Saunders Company.
- Velasco J.C., Lizana Avia M., Román Sancho J., Delibes de Castro M., Fernández Gutiérrez J. 2005. *Guía de los Peces, Anfibios, Reptiles y Mamíferos de Castilla y León*. Náyade Editorial.
- Woo P.T.K. 1995. *Fish Diseases and Disorders, Volumen I: Protozoan and Metazoan Infections*. CABI Publishing. 808 pp.

Aislamiento y caracterización de bacterias potencialmente patógenas asociadas a nuevas especies de espáridos cultivados

A. Labella¹, M.C. Alonso¹, C. Berbel², M. Manchado², D. Castro¹ y J.J. Borrego¹

¹ Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.
Campus Teatinos, s/n. 29071 Málaga, e-mail: amlabella@uma.es

² IFAPA. Centro El Toruño. Junta de Andalucía. Camino Tiro de Pichón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María (Cádiz)

Abstract

This study describes the isolation and characterization of potential bacterial pathogens affecting newly cultured sparid fish species, such as common seabream, redbanded seabream, and white seabream. The isolated bacterial strains were characterized according to traditional taxonomical analyses and sequencing of a 16S rDNA fragment. Bacterial strains were identified as *Vibrio* spp. and *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. In addition, 14 antimicrobials, widely used in aquaculture practice, were tested to determine the resistance profile of each bacterial isolate.

Justificación

El objetivo general de este estudio ha sido la caracterización de las principales patologías de origen bacteriano que afectan a nuevas especies de espáridos cultivados. En este trabajo se ha llevado a cabo el aislamiento y caracterización fenotípica y molecular de potenciales patógenos bacterianos asociados a las especies urta (*Pagrus auriga*, Valenciennes), pargo (*Pagrus pagrus*, L.) y sargo (*Diplodus sargus*, L.). A su vez, se han obtenido los perfiles de resistencia a agentes antimicrobianos de las bacterias potencialmente patógenas aisladas.

Material y Métodos

Entre los años 2003 y 2006 se llevó a cabo un seguimiento microbiológico sobre poblaciones de espáridos de nuevo cultivo criadas en el centro «El Toruño», perteneciente al IFAPA (Junta de Andalucía). Las especies objeto de este estudio fueron la urta (*P. auriga*), el pargo (*P. pagrus*) y el sargo (*D. sargus*).

La caracterización fenotípica de los aislados bacterianos se realizó utilizando métodos microbiológicos convencionales en tubo y placa, así como el sistema comercial API 20E (BioMérieux, Madrid, España). Para corroborar la inclusión taxonómica obtenida mediante caracterización fenotípica se procedió a amplificar y secuenciar un fragmento del ADNr 16S de cada uno de los aislados bacterianos. Para ello se utilizaron los cebadores universales 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') y 1387r (5'-GGGCGWGTGTACAAGGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998).

Para determinar los patrones de resistencia frente a antibióticos y agentes quimioterápicos generalmente utilizados en acuicultura se empleó el método de difusión en disco descrito por Barry y Thornsberry (1991). Se utilizaron los estándares de la NCCLS (2001) para la evaluación de los resultados. Los agentes antimicrobianos (BioMérieux) ensayados fueron (carga del disco expresada en µg): ácido nalidíxico (30), ácido oxolínico (10), amoxicilina (25), ampicilina (10), cloranfenicol (30), enrofloxacin (5), eritromicina (15), estreptomicina (10), flumequina (30), nitrofurantoína (300), novobiocina (30), oxitetraciclina (30), tetraciclina (30) y trimetoprim-sulfametoxazol (1,25 + 23,75).

Resultados y Discusión

Este estudio constituye la primera descripción de patologías de posible etiología bacteriana asociadas a especies de espáridos de nuevo cultivo (urta, pargo y sargo). En el presente trabajo, se han aislado e identificado miembros de cinco especies del género *Vibrio* (*V. harveyi*, *V. fischeri*, *V. alginolyticus*, *V. splendidus* y *V. ichthyoenteri*), y de una especie del género *Photobacterium* (*P. damsela* subsp. *damsela*) (García-Rosado *et al.*, 2007).

Las principales sintomatologías externas e internas detectadas en los peces afectados consistieron en hemorragias en aleta caudal, descamación, erosión de aleta pectoral, exoftalmia, hígado hemorrágico, alto contenido en grasa visceral, esplenomegalia y hemorragias de tipo petequial.

Los aislados bacterianos se agruparon en tres resistotipos diferentes en función de los patrones de resistencia presentados frente a 14 agentes antimicrobianos. Los aislados de *V. harveyi*, *V. fischeri*, *V. alginolyticus*

ticus y *V. splendidus* presentaron el mismo perfil de resistencia a antimicrobianos, caracterizado por la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol, amoxicilina y ampicilina. Los aislados de *V. ichthyenteri* presentaron un resistotipo caracterizado por la resistencia a ácido oxolínico, eritromicina, nitrofurantoina y ampicilina. Por último, los aislados de *P. damselae* subsp. *damselae* se caracterizaron por la resistencia a eritromicina, tetraciclina, oxitetraciclina, novobiocina y amoxicilina, y una resistencia variable a ampicilina. Todos los aislados analizados mostraron sensibilidad frente a cloranfenicol, enrofloxacin, flumequina y ácido nalidixico. Balebona *et al.* (1998) describieron la escasa resistencia de aislados de diferentes especies de *Vibrio* frente a estos antimicrobianos, como consecuencia del uso limitado de estos agentes en la acuicultura española. Por el contrario, todos los aislados analizados mostraron resistencia a estreptomycin, resultado que coincide con los obtenidos por otros autores (Balebona *et al.*, 1998; Ottaviani *et al.*, 2001; Vaseeharan *et al.*, 2005). Esto puede deberse a la presencia de plásmidos-R transferibles que confieren resistencia frente a antibióticos como la tetraciclina, el cloranfenicol y la estreptomycin (Aoki y Takahashi, 1987).

Bibliografía

- Aoki T., Takahashi A. 1987. Class D tetracycline resistance determinants of R-plasmids from fish pathogens *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* and *Pasteurella piscicida*. *Antimicrob. Agents Chemother* 31, 1278-1280.
- Balebona M.C., Zorrilla I., Moriño M.A., Borrego J.J. 1998. Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture* 166, 19-35.
- Barry A.L., Thornberry C. 1991. Susceptibility tests: Diffusion test procedures. En: Manual of Clinical Microbiology. Balbus A., Hansler W.J. Jr., Hermann K.L., Isenberg H.D., Shadomy H.J. (eds.): 117-1125.
- García-Rosado E., Cano I., Martín-António B., Labella A., Manchado M., Alonso M.C., Castro D., Borrego J.J. 2007. Co-occurrence of viral and bacterial pathogens in disease outbreaks affecting newly cultured sparid fish. *Int. Microbiol.* 10, 193-199.
- Marchesi J.R., Sato T., Weightman A.J., Martin T.A., Fry J.C., Hiom S.J., Wade W.G. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 795-799.
- NCCLS. 2001. Performance Standards of Antimicrobial Susceptibility Testing, 11th supplement. National Committee for Clinical Laboratory Standards of Antimicrobial Susceptibility Testing, Wayne.
- Ottaviani D., Bacchiocchi I., Masini L., Leoni F., Carraturo A., Giammarioli M., Sbaraglia G.. 2001. Antimicrobial susceptibility of potentially pathogenic halophilic vibrios isolated from seafood. *Int. J. Antimicrob. Agents* 18, 135-140.
- Vaseeharan B., Ramasamy P., Murugan T., Chen J.C. 2005. In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 285-291.

Efecto del reto con *Aeromonas hydrophila* sobre la respuesta inmunitaria de la dorada (*Sparus aurata* L.)

T. López-Medina¹, M. Reyes-Becerril¹, F. Ascencio-Valle¹, J. Meseguer² y M.A. Esteban²

¹ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, C.P. 23090. La Paz B.C.S., México. Email: lopezmt@hotmail.com

² Departamento de Biología Celular e Histología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100. Murcia. España

Abstract

In the present study, we evaluated the effect of Gram negative bacteria *Aeromonas hydrophila* on the gilthead seabream innate immune response for the first time. One group of fish was injected intraperitoneally with two doses of bacterial inoculum, while control group was injected with physiological saline solution. Fish were sampled at 24 and 48 hours after each injection. Cellular and humoral innate immune activities as well as the expression of immune-relevant genes were evaluated in both groups of fish.

The first injection (1×10^7 UFC/ml) produced remarkable effect in the innate immune parameters evaluated. The respiratory burst, peroxidase and phagocytic activities were significantly decreased ($p < 0.05$) in fish challenged. In the same group, the expression of genes analyzed by relative real time-PCR was down-regulated in the spleen, liver, intestine and head kidney, 24 and 48 hours after the first injection. Subsequently, the second injection (1×10^8 UFC/ml) did not elicit significant decrease in any immune activities evaluated and finally, the fish gene expression showed up-regulation of the immune-relevant genes in all tissues assessed.

Justificación

Aeromonas hydrophila es una bacteria Gram negativa que se encuentra ampliamente distribuida en ambientes acuáticos y algunas cepas inducen septicemia hemorrágica bacteriana en peces (Gosling, 1999). Entre los factores de virulencia de *A. hydrophila* se enumeran la producción de lipasas, proteasas, enterotoxinas citolíticas, hemolisinas, quitinasa y sideróforos y la capacidad de rodearse con una capa-S (Dooley y Trust, 1989), que les confiere protección contra la lisis mediada por el sistema de complemento y la fagocitosis mediada por leucocitos. En el presente estudio, se examina por primera vez el efecto de la infección experimental con *Aeromonas hydrophila* sobre algunos parámetros inmunitarios y la expresión de genes de relevancia inmunitaria en la dorada (*Sparus aurata* L.).

Materiales y Métodos

Sesenta doradas procedentes de Culmarex S.A. (Águilas, Murcia) fueron distribuidas en 4 tanques de 200 l. Dos grupos de peces fueron inyectados intraperitonealmente con 1×10^7 UFC/ml y 14 días después, con una segunda inyección con 1×10^8 UFC/ml; otros dos grcon solución salina estéril (control). Se tomaron muestras riñón cefálico para el aislamiento de leucocitos, suero sanguíneo, bazo, hígado, intestino y riñón cefálico en condiciones de asepsia a las 24 y 48 h de cada inyección. Se evaluó la actividad fagocítica (Esteban *et al.*, 1998), citotóxica natural (Cuesta *et al.*, 1999) y actividad de la peroxidasa (Quade y Roth, 1997). Además se evaluó la expresión de genes de relevancia inmunitaria en ambos grupos de peces. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA; $P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el programa estadístico SPSS versión 15.0.

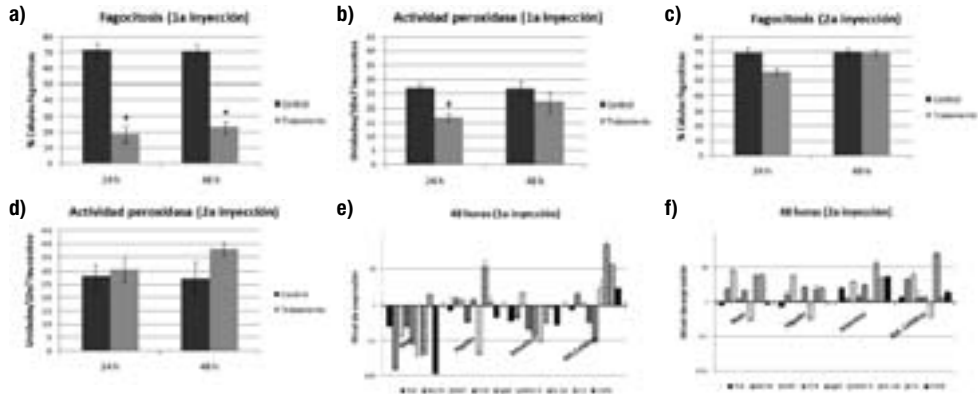
Resultados y discusión

La primera inyección (1×10^7 UFC/ml) produjo un efecto notorio en los parámetros inmunitarios evaluados. La actividades citotóxica (datos no mostrados), fagocítica y de la peroxidasa disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) en los peces retados (Figs. 1a y 1b); la expresión de la mayoría de los genes evaluados, se reprimió en bazo, hígado, intestino y riñón cefálico a las 24 y 48 horas posteriores a la inyección (Fig. 1e).

Por su parte, la segunda inyección no produjo una disminución significativa de las actividades inmunitarias evaluadas (Figs. 1c y 1d). Finalmente, la expresión génica mostró que existe sobreexpresión de la mayor parte de los genes evaluados, con respecto a la expresión del grupo control, con excepción de los genes que codifican para moléculas del complejo principal de histocompatibilidad II y receptores tipo Toll (Fig. 1f) después de la segunda inyección.

A pesar de que *A. hydrophila* no es un patógeno primario en la dorada le induce un severo desequilibrio inmunitario así como daño tisular, que puede representar una vía de entrada para otros patógenos. Una pri-

Figura 1. P Evaluación de parámetros inmunitarios y expresión génica. a) y b) Actividad fagocítica y peroxidasa a las 24 y 48 horas posteriores a la primera inyección. c) y d) Actividad fagocítica y peroxidasa a las 24 y 48 horas posteriores a la segunda inyección. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto al control. e) expresión génica a las 48h después de la primera inyección; f) expresión génica a las 48 h después de la segunda inyección



mera exposición a la bacteria puede ser severa para los peces, sin embargo, con ella se establece un antecedente inmunitario para exposiciones futuras.

Agradecimientos

Proyectos AGL2008-05119-C02-01 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y Fundación Séneca de Murcia (10886). T. López recibió una beca mixta (CONACYT 212236) y M. Reyes una beca posdoctoral, ambas del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México. Agradecemos al Departamento de Biología de la Universidad de Murcia España por las facilidades proporcionadas durante este estudio.

Bibliografía

- Gosling P.J. 1996. *Aeromonas* species in diseases of animals. In: The genus: *Aeromonas*, 1a ed, Austin, B, Altwegg, M, Gosling, P.J, Joseph, SW (Ed), John Wiley & Sons, Ltd. p.175.
- Dooley J.S., Engelhardt H., Baumeister W., Kay W., Trust T. J., 1989. Three-dimensional structure of an open form of the surface layer from the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Bacteriology*. 171(1), 190-197.
- Pemberton J.M., Kidd S.P., Schmidt R. 1997. Secreted enzymes of *Aeromonas*. *FEMS Microbiology Letters*. 1;152(1), 1-10.
- Cuesta A., Esteban M.A., Meseguer, J. 1999. Natural cytotoxic activity of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes. Assessment by flow cytometry and microscopy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 71,161-171.
- Esteban, M.A., Mulero V., Muñoz J., Meseguer J. 1998. Methodological aspects of assessing phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by flow cytometry and electron microscopy. *Cell and Tissue Research* 293, 133-141.
- Ortuño J., Esteban M.A., Mulero V., Meseguer J. 1998. Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream (*Sparus aurata* L.) serum. En: *Methodology in Fish Diseases research*. Barnes, A.C., Davidson, G.A., Hiney, M.P., McIntosh, D. (eds.) pp. 97-100. Fisheries Research Services, Aberdeen.

Mixosporidios del género *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporaea) parásitos de peces Mugílidos de las costas catalanas

P.A. Maíllo^{1,2}, H. Salvadó^{1,2}, A. Marques³ y M.P. Gracia^{1,2}

¹ Laboratorio de Protozoología. Departamento de Biología Animal. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Av. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. e-mail: pmaillo@ub.edu

² Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya

³ UMR 5119 Laboratoire Ecosystèmes Lagunaires, Département Biologie, Evolution et Environnement. Université Montpellier II (Sciences et Techniques du Lanquedoc). Francia

Abstract

Four myxosporidia species of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882, were recorded from *Liza aurata*, caught in the Mediterranean Sea, off the coast of Barcelona province and *Mugil cephalus*, captured in l'Encanyissada, a brackish lagoon in the River Ebro Delta. *Myxobolus spinacurvatura* Maeno, Sorimachi, Ogawa and Egusa, 1990 was identified as parasitizing the mesenteric vessels. *Myxobolus ichkeulensis* Bahri and Marques, 1996 was found in the gill arches. *Myxobolus bizerti* Bahri and Marques, 1996 was found in the gill filaments, while *Myxobolus* sp1 was discovered as infecting fins. All of them are histozoic species and form cysts. Data concerning morphology, dimensions, and light and electron microscopy (scanning and transmission) studies of these parasites are presented. The pathological effects of some of the *Myxobolus* infections are described.

Justificación

Los mugílidos son una familia cosmopolita de peces teleósteos. En la actualidad, el cultivo del mújol (*Mugil cephalus*) es de gran importancia económica para algunos países del Mediterráneo, pues esta especie es muy apreciada, no sólo por su carne sino también por sus huevas que, en salazón, se utilizan para la fabricación de la *botarga*. El alto valor económico de este producto, considerado un alimento de lujo (es denominado *caviar del Mediterráneo*), justifica el interés de su cultivo.

Los mixosporidios son uno de los principales grupos de parásitos de peces, ocasionando importantes pérdidas económicas, tanto en cultivo como en el medio natural. Ello hace necesario el estudio detallado de la biodiversidad y la biología de estos organismos, para poder desarrollar estrategias que permitan interrumpir el ciclo vital del parásito (Fomena *et al.*, 2007). El género *Myxobolus* Bütschli, 1882 (familia Myxobolidae) constituye el mayor grupo de mixosporidios, e incluye especies que son patógenos importantes de peces marinos y de agua dulce, tanto en los cultivos como en pesquerías.

Durante el estudio parasitológico de diversas especies de mugílidos de interés acuícola en Cataluña, detectamos cuatro especies del género *Myxobolus*, que afectaban a diferentes órganos del huésped. En este trabajo, presentamos y discutimos diversos aspectos de la estructura, disposición y órgano diana de los quistes, así como de las esporas, de los plasmodios y de diversas fases del desarrollo.

Material y Métodos

Se realizó el estudio parasitológico de 192 especímenes de *Mugil cephalus* L., 1758 (longitud media: 17,4 ± 1,3 cm; peso medio: 50,6 ± 11,0 g) provenientes de la laguna salobre de l'Encanyissada (Delta del Ebro), y 36 ejemplares de *Liza aurata* (Risso, 1810) (longitud media: 33,5 ± 2,9 cm; peso medio: 324,8 ± 72,8 g) procedentes de capturas comerciales, en mar abierto, frente a las costas de Barcelona.

Los quistes detectados fueron cuidadosamente separados de los tejidos circundantes y, posteriormente, se fragmentaron para liberar las esporas, las cuales se estudiaron en fresco, con un microscopio óptico. Algunos quistes y esporas fueron procesados para la microscopía electrónica, de transmisión y de barrido, según Gracia *et al.* (1997). Las medidas se obtuvieron de mínimo de 30 esporas de cada especie de parásito, siguiendo las directrices de Lom y Arthur (1989).

Resultados y discusión

Se detectaron cuatro especies de mixosporidios, todas ellas pertenecientes al género *Myxobolus* Bütschli, 1882. Todas las especies formaban quistes sobre los órganos infectados. *M. spinacurvatura* Maeno, Sorimachi, Ogawa y Egusa, 1990, forma quistes ovalados, de color blanquecino, de pequeño tamaño (0,3-0,5 mm) sobre la pared de los vasos mesentéricos. El número de quistes por individuo nunca es muy elevado. *M. bizerti* Bahri y Marques, 1996, aparece sobre los filamentos branquiales en formas de quistes alargados, de color claro. Son fácilmente detectables pues su tamaño oscila entre 2,1 y 3,0 mm. *M. ichkeulensis* Bah-

Tabla 1. Características de las especies de mixosporidios estudiadas

Especie	Huésped	Órgano	Espora	Cápsula polar
<i>M. sp1</i>	<i>M. cephalus</i>	Aleta	L: 8,02 - A: 7,18	L: 4,78 - A: 2,79
<i>M. bizerti</i>	<i>M. cephalus</i>	Lámina branquial	L: 10,43 - A: 8,95	L: 4,81 - A: 2,72
<i>M. ichkeulensis</i>	<i>M. cephalus</i>	Arco branquial	L: 10,95 - A: 10,0	L: 3,28 - A: 2,09
<i>M. spinacurvatura</i>	<i>L. aurata</i>	Vasos mesentéricos	L: 11,10 - A: 9,58	L: 3,3 - A: 2,0

ri y Marques, 1996, afecta también a las branquias, disponiéndose los quistes a lo largo del arco branquial. Resultan también visibles a simple vista, por su color muy blanco y por su tamaño considerable, llegando a sobrepasar, en ocasiones, los 3,5 mm de longitud. *Myxobolus* sp1, este parásito se localiza en el tejido conjuntivo del interior de las aletas del huésped. Los pequeños plasmodios de esta especie, de color blanco y aspecto puntiforme, se detectan con facilidad sobre el tejido semitransparente de las aletas.

Las medidas de todas las esporas se exponen en la Tabla 1.

La identificación de las especies del género *Myxobolus* se basa principalmente en la morfología esporal (forma y tamaño de la espora, forma, tamaño y disposición de las cápsulas polares, nº de vueltas del filamento polar, presencia o ausencia de proceso intercapsular, presencia de crestas suturales...). Sin embargo, para su correcta determinación son características imprescindibles el conocimiento de la morfología ultraestructural, así como de la especificidad en el órgano diana del huésped. Las especies de *Myxobolus* estudiadas en este trabajo son histozoicas, siendo consideradas por numerosos autores como las más patógenas y susceptibles de ocasionar lesiones graves e incluso mortales (Lom y Dykova, 1992).

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la Xraq (Red de Referencia de Investigación y Desarrollo en Acuicultura de la Generalidad de Cataluña). Los autores quieren expresar su agradecimiento a la Dra. Núria Cortadellas y a Dña. Almudena García, de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona por su asistencia técnica.

Bibliografía

- Fomena A., Lekeufack Folefack G.B., Tang Il C. 2007. New species of *Myxobolus* (Myxosporaea: Myxobolidae) parasites of freshwater fishes in Cameroon (Central Africa). *Journal of Biological Sciences* 7(7), 1171-1178.
- Gracia M.P., Mailló P.A., Amigó J.M. Salvadó H. 1997. Ultrastructural study of *Sphaeromyxa balbianii*, Thelohan 1892 (Myxozoa, Myxosporaea: Bivalvulida), a parasite of *Cepola macrophthalma*, Linnaeus 1758. *Acta Protozoologica* 36(3), 171-179.
- Lom J., Arthur J.R. 1989. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporaea. *Journal of Fish Diseases* 12(2), 151-156.
- Lom J., Dyková I. 1992. *Protozoan parasites of fishes*. Developments in Aquaculture and Fisheries Sciences. Volume 26. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. 315 pp.

Desarrollo de anticuerpos monoclonales para el estudio de la respuesta inmune en el rodaballo (*Scophthalmus maximus* Linnaeus, 1758)

L. Mantilla¹, D. Pérez¹, E. de Miguel Villegas², S. Magadan³ y A. González-Fernández¹

¹ Laboratorio de Inmunología

² Área de Biología Celular. Edificio de Ciencias Experimentales. Campus Lagoas-Marcosende. Universidad de Vigo. 36310 Vigo (Pontevedra) e-mail: leomantilla@uvigo.es

³ Planta Experimental de Cultivos. Instituto Español de Oceanografía. Subida a Radio Faro, 50-52 36390 Vigo (Pontevedra)

Abstract

Monoclonal antibodies (mAbs) can be used in several applications, v.g in the aquaculture field. In attempt to study the immune system of the turbot fish, we developed mAbs directed against turbot's leucocytes. BALB/c mice were immunized with turbot thymocytes of these mice were fused to mouse myeloma cells to generate hybridomas. The screening of mAbs was performed by ELISA for secretory hybridomas, and specific recognition by immunochemistry in turbot lymphoid tissues and by flow cytometry. We have selected the RoD4 mAb that it is able to identify a population of thymocytes in both techniques, flow cytometry and immunochemistry. The mAb recognizes a membrane marker that could be useful in the identification of thymic populations.

Justificación

La creciente necesidad de conocer el desarrollo de las principales patologías infecciosas, desarrollo de vacunas eficaces y la potenciación de la respuesta inmune de los peces en el sector de la acuicultura, requiere de un estudio exhaustivo de los componentes celulares del sistema inmune de las principales especies de cultivo (Raison y Jørgensen, 2002). Sin embargo, existe escasa información sobre los principales procesos inmunológicos que se desarrollan en los peces y no existen reactivos que identifiquen a las poblaciones leucocitarias de muchos de ellos, como es el caso del rodaballo. El uso de anticuerpos monoclonales (mAbs) en acuicultura ha mostrado ser de gran utilidad en algunos modelos (Coll y Domínguez-Juncal, 1995; Lorenzo *et al.*, 2003, 2005, 2006; Pérez *et al.*, 2009), permitiendo identificar componentes de forma muy específica. mAbs dirigidos frente a diversas moléculas de membrana que diferenciara linajes celulares (v.g. linfocitos B, macrófagos) podría ayudar a identificar a subpoblaciones de leucocitos, de forma semejante a como se estudian en mamíferos. Esto permitiría poder estudiar las respuestas inflamatorias e inmune de los rodaballos, mediante métodos como la inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, ensayos funcionales, etc., y ayudaría a identificar a las células de forma específica.

Material y Métodos

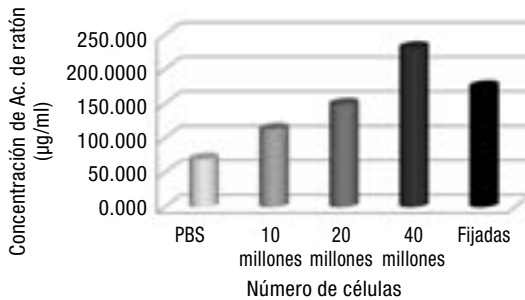
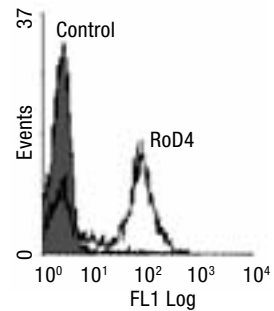
Se inmunizaron cuatro ratones BALB/c con $10-40 \times 10^6$ timocitos de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) y uno con solución salina como control. Para la obtención de hibridomas se siguió el método de Köhler y Milstein (1975). La producción de anticuerpo (Ac) por parte de los hibridomas obtenidos fue determinada mediante ELISA tipo sándwich (Abalde *et al.*, 2003). La especificidad de los Acs y así seleccionar los hibridomas de interés, estos fueron testados por inmunofluorescencia indirecta, citometría de flujo y por inmunohistoquímica (IHQ), sobre timocitos de rodaballo.

Resultados y Discusión

El suero de ratones inmunizados se testó mediante ELISA, seleccionándose para la fusión aquel ratón que mostró mayores niveles de Acs séricos (Fig. 1). Tras la fusión se obtuvo un total de 285 hibridomas de los cuales 122 fueron secretores. De estos últimos, 32 sobrenadantes dieron positivo por IHQ sobre timo de rodaballo. Uno de estos Acs, denominado RoD4, mostró reconocimiento sobre una población de timocitos de rodaballo en citometría de flujo (Fig. 2) indicando que reconoce a una molécula de membrana en una subpoblación de timocitos. Estamos caracterizando este Ac, que podría ser el primero descrito frente a células inmaduras leucocitarias de rodaballo, con fin de conocer su capacidad de discriminación de especies (Scapigliati *et al.*, 1995), molécula reconocida, así como si esta molécula se expresa también en células maduras.

Agradecimientos

Los autores quieren expresar su agradecimiento a los grupos de investigación de Ysabel Santos (Lab. Microbiología, USC) por facilitarnos los extractos de rodaballo y María Isabel Quiroga (Lab. Anatomía Patoló-

Figura 1. Niveles de Acs séricos en ratones inmunizados con timocitos de rodaballo**Figura 2.** Población de timocitos de rodaballo reconocidos por el Ac RoD4

gica Veterinaria, USC) por verificarnos las pruebas IHQs; así como a Christian Sánchez, Andrea Hernández, Tamara Lozano por su apoyo técnico. Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto IN.CI.TE-MMA financiado por la Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Coll J., Domínguez-Juncal J. 1995. Applications of monoclonal antibodies in aquaculture. *Biotechnology Advances* 13(1), 45-73.
- Köhler G., Milstein C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256, 495-497.
- Lorenzo Abalde S., Fuentes J., González-Fernández A. 2003. Identification of *Mytilus galloprovinciales* larvae from the Galician rias by mouse monoclonal antibodies. *Aquaculture* 219, 545-559.
- Lorenzo Abalde S., González-Fernández A., De Miguel Villegas E., Fuentes J. 2005. Two monoclonal antibodies for the recognition of *Mytilus* spp. larvae: studies on cultured larvae and tests on plankton samples. *Aquaculture* 250, 736-747.
- Lorenzo Abalde S., Garet E., Pérez D., Fuentes González J.M., González-Fernández A. 2006. Inmunotecnología aplicada al campo marino. *Inmunología* 25(4), 239-247.
- Raison R.L., Jørgensen T.Ø. 2002. Immunology and sustainable aquaculture. *Developmental and Comparative Immunology* 26, 129-130.
- Scapigliati G., Mazzini M., Mastrolia L., Romano N., Abelli L. 1995. Production and characterisation of a monoclonal antibody against the thymocytes of the sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) (Teleostea, Percichthyidae). *Fish & Shellfish Immunology* 5, 393-405.

Proyecto de caracterización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: diseño de red piloto de vigilancia epidemiológica

E. María Dolores¹, F. Real², L. Román², L. Sorroza², E. Areoso³, A. Muñoz³, C. Pereira³, C. Tafalla¹ y J. Peñalver¹

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura. D.G. de Ganadería y Pesca. Consejería de Agricultura y Agua de Murcia. Edificio Foro, Cartagena. e-mail: emilio.mariadolores@carm.es

² Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias. Servicio de Estructuras Pesqueras.

³ Consellería do Mar de la Xunta de Galicia. Direc. Xeral de Recursos Mariños.

Abstract

The objective of this project JACUMAR is the development of strategies to design a network for epidemiological surveillance for diseases of interest in marine aquaculture by the competent authorities, control samples from the farms and samples from the wild (cultivated species and other sites). With this objective we have designed a large sampling program against various diseases, as well as various working groups that develop technical and policy aspects. We present the main results.

Justificación

La sanidad animal tiene una importancia cada vez mayor en la gestión de las empresas de acuicultura. La administración responsable de la sanidad animal debe tener conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, ya que el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros. Se pretende establecer un modelo para la creación de una red de vigilancia epidemiológica en acuicultura marina mediterránea.

Los objetivos específicos del proyecto son: Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. La puesta a punto, mejora y optimización de técnicas de diagnóstico sensibles y específicas de respuesta rápida. Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos. Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras. Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina. Mejorar la formación de personal técnico de campo y de laboratorio.

El proyecto está enmarcado en la línea prioritaria JACUMAR de Sanidad Animal, se desarrolla entre los años 2007 y 2009 participando las comunidades autónomas de Canarias, Galicia y Murcia, siendo esta última la encargada de la coordinación.

La entrada en vigor del RD 1614/2008 establece la necesidad de realizar un Sistema de Vigilancia Zoonosaria en las explotaciones de acuicultura, lo cual revaloriza los resultados del proyecto.

Material y Métodos

Los muestreos del plan de vigilancia experimental se realizarán a tres niveles: a) Controles rutinarios sobre ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura, sobre ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural y sobre ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios a las enfermedades de las especies cultivadas o bien ser usadas como especies centinela. b) Seguimientos específicos sobre: las importaciones, las nuevas especies en acuicultura y sobre los peces usados como alimento de atunes. c) Focos de enfermedad. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura y cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

Se han seleccionado las enfermedades: encefalopatía y retinopatía viral (VER), de incidencia y gran potencialidad, septicemia viral hemorrágica (SHV) cuya incidencia se considera nula pero que resulta de gran interés la investigación de posibles portadores, especialmente en peces silvestres, y la necrosis pancreática infecciosa (IPN) cuya presencia y/o prevalencia son desconocidas en acuicultura marina mediterránea. Los muestreos de los controles rutinarios se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. *Muestreos de los controles rutinarios por Comunidades Autónomas*

Año	Origen peces	Canarias	Galicia	Murcia	Total
2007	Acuicultura	300	930	209	1.439
	Silvestres	896	201	352	1.449
	Total año	1.196	1.131	561	2.888
2008	Acuicultura	265	1.920	376	2.561
	Silvestres	1.377	632	685	2.694
	Total año	1.642	2.552	1.061	5.255
2009*	Acuicultura	300	1.920	520	2.740
	Silvestres	1.740	632	620	2.992
	Total año	2.040	2.552	1.140	5.732
Total Comunidad		4.878	6.235	2.762	13.875

* Muestreo previo.

Resultados

La realización de muestreos, analíticas, reuniones y grupos de trabajo han producido los siguientes resultados, se bien se debe considerar que se está aún en el tercer año de proyectos y diversas tareas no están finalizadas.

Mejora de la competitividad del sector: seguimiento sanitario de las instalaciones de acuicultura; obtención de datos científicos sobre las enfermedades y su epidemiología. Establecimiento y en especial valoración de técnicas rápidas de diagnóstico.

Mejora en la actividad investigadora: Coordinación de equipos interdisciplinarios en Sanidad Animal de las distintas Comunidades Autónomas y de la Administración General del Estado, campo este prioritario es la aplicación de la nueva normativa de Sanidad (RD 1614/2008) y la normativa europea relacionada.

Integración de resultados en actuaciones de la administración en materia de sanidad animal: Transferencia de información a las distintas administraciones y autoridades sanitarias sobre epidemiología de las poblaciones de peces silvestres y de las posibles interacciones entre estos; realización de la experiencia de desarrollo de una Red Piloto de Vigilancia Epidemiológica para determinadas enfermedades de peces; conocimiento del estatus sanitario frente a determinadas patologías de las instalaciones de acuicultura marina y en poblaciones de peces silvestres; interacción entre peces cultivados y silvestres; elaboración de un mapa epidemiológico de enfermedades víricas de acuicultura marina, realización de estudios parasitológicos específicos; valorar la posible transmisión de enfermedades víricas a través de la carnada usada en la alimentación de los atunes; elaboración de una guía y protocolo de actuaciones en el caso de aparición de enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres, cubriéndose así un aspecto sanitario de gran interés que la legislación no abarca suficientemente; valoración sobre el papel de las especies portadoras frente a las enfermedades listadas en el marco de la nueva normativa que regula y establece requisitos sanitarios (Reglamento 1251/2008), establecimiento de un protocolo de muestreo y diagnóstico denominado: «Protocolo normalizado de trabajo para muestreo y diagnóstico de betanodavirus, VHSV e IPNV en peces silvestres y cultivados»; valoración del uso de técnicas de diagnóstico molecular en Planes de Vigilancia Epidemiológica; formación de personal, tanto de campo como de laboratorio, en materia de sanidad animal en acuicultura y la participación en consultas de las administraciones para el diseño o revisión de textos legales.

Infestación por ácaros oribátidos del género *Trhypochthoniellus* en Tilapias [*Oreochromis niloticus* (L.)]

S. A. Olmeda¹, J. L. Pérez-Sánchez¹, A. Gibello¹, M. M. Blanco¹, M. Luzón¹ y M. Villarroya²

¹ Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid, angeles@vet.ucm.es

² Departamento de Producción Animal. ETSI. Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid, morris.villarroya@upm.es

Abstract

Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) is an important fish for freshwater aquaculture in many countries, including Spain. Parasitic diseases are sporadic or periodic limiting factors in aquaculture production. Although aquatic mites do not normally cause pathologies in fish, under certain circumstances, mites can provoke accidental infections or infestations with important negative effects on fish health. In this work, we described a case report in which oribatid mites, *Trhypochthoniellus longisetus*, were involved in tilapia mortality.

Justificación

La Tilapia [*Oreochromis niloticus* (L.)] es un pez de agua dulce de origen africano, que en la actualidad se cultiva para el consumo en muchas partes del mundo y también en España. Las enfermedades parasitarias, tanto esporádicas como periódicas, son factores que limitan significativamente la producción de peces en acuicultura. La mayoría de los ácaros acuáticos no son responsables de ninguna patología y son habitantes habituales del lodo o del agua (*Trimalaconothrus*, *Histiostoma*, *Tyrophagus*, *Limnohalacarus*, entre otros). Incluso, algunos de ellos, pueden considerarse beneficiosos estando asociados a la degradación de detritus en los filtros. Sin embargo, en determinadas circunstancias, ciertos géneros provocan infestaciones accidentales, a veces autolimitantes y sin significación clínica (*Hydracna* sp.), pero otras veces con importante repercusión sanitaria (*Histiostoma* sp.). En este trabajo se describe un caso de infestación por ácaros, identificados como *Trhypochthoniellus longisetus longisetus*, implicados en la mortalidad de Tilapias cultivadas.

Material y Métodos

Instalaciones

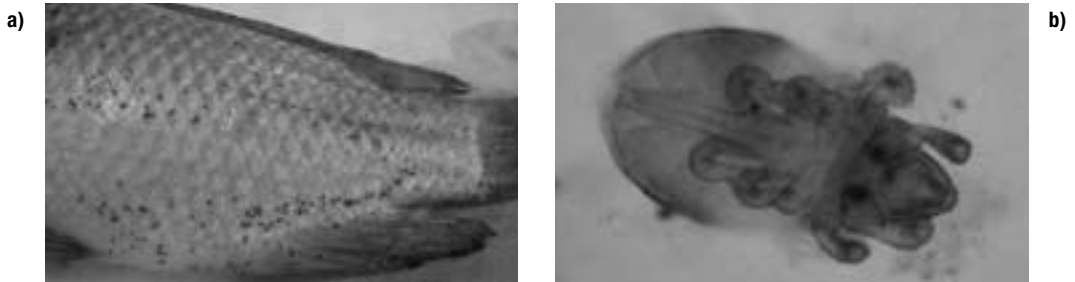
El suceso tuvo lugar en las instalaciones para acuicultura situadas en los Campos de Prácticas de la ETSI Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid. Los animales afectados procedían de 4 de los 16 tanques del circuito, de 120 litros de agua cada uno, intercomunicados entre ellos por un sistema de recirculación de agua (con separador de sólidos y biofiltro). El sistema de aireación consistía en una bomba (The Pump; Mod. 20, Rolf C. Hagen Inc.) que proporcionaba aire mediante un tubo insertado dentro de cada cubeta a 20 cm de altura desde el fondo. Dos meses antes, en el sistema general de recircularización del agua se había realizado un tratamiento con amonio del filtro del agua.

Manejo y alimentación

En el momento del caso que se describe, había aproximadamente 10 tilapias/tanque con un peso medio de 56,5 g ($\pm 13,4$ sd) adquiridas de una población de reproductores de tilapia procedentes de Valenciana de Acuicultura (Puçol, Valencia). Los animales habían sido sometidos a cuarentena e iban a ser utilizados en experimentación de dietas nutritivas. Las condiciones de mantenimiento de los animales fueron una temperatura de 21,8°C ($\pm 0,7$ sd) y un fotoperíodo de 12:12. Para la alimentación de mantenimiento de las tilapias se empleaba un pienso comercial de pellet extrusionado para carpas (tipo koi) y alta flotabilidad (3,5 mm de diámetro), fabricado por Dibaq Diproteg, S. A. Los peces eran alimentados con comederos automáticos (tipo programable EHEIM 3581), tres veces al día: a las 9:00 h, a las 13:00 h y a las 17:00 h.

Resultados y Discusión

A comienzos de marzo, los peces de cuatro de los tanques del circuito comenzaron a mostrar natación anómala con signos de irritación. A los pocos días se había producido una mortalidad del 50%. El análisis

Figura 1. Imagen de la parasitación externa (a) y ejemplar de ácaro al microscopio (b)

visual de estas tilapias mostraba manchas moteadas en la piel, interior de la boca y branquias (Fig. 1a). Ante la sospecha de una ectoparasitosis, 10 de los animales afectados se envían a la Facultad de Veterinaria (UCM), para realizar un análisis microbiológico y parasitológico. El análisis al microscopio de los frotis de las muestras tomadas de la piel y branquias mostró una alta parasitación por ácaros.

Tras la necropsia de los animales se tomaron muestras de hígado y riñón para análisis bacteriológico, que se sembraron en placas de Columbia-sangre (BioMerieux S. A.) y se incubaron durante cinco días a 28°C. Del interior del intestino se tomaron muestras que se analizaron al microscopio, permitiendo detectar gran cantidad de ácaros vivos. Las muestras con ácaros fueron montadas en PVA (polivinil alcohol) para su estudio al microscopio (Figura 1B), anotando los datos morfológicos y las medidas de 16 ejemplares.

No se obtuvo crecimiento relevante en las placas de cultivo, por lo que el análisis bacteriológico de las tilapias no resultó significativo con la mortalidad registrada. Aunque no se realizó el análisis virológico de las muestras, la alta infestación por ácaros observada en las tilapias sugiere esta parasitación como la causa de la mortalidad de los peces. Los ácaros más implicados en procesos patológicos en acuicultura, asociados con elevadas mortalidades de peces, pertenecen al género *Histiostoma*: *H. anguillarum*, *H. papillata* e *H. piscium* (Halliday y Collins, 2002), y tan sólo se ha descrito un caso de mortalidad en truchas por ácaros del género *Schwiebea* (Fain y Ferrando, 1990).

Los ácaros encontrados en las tilapias se identificaron como muy próximos a *Trhypochthoniellus longisetus longisetus* ya que coinciden en todas sus características morfológicas con las descritas en el holotipo (Aoki, 1964), salvo en la fórmula epimeral (3-0-3-2 ó 3-1-3-2) descritas en la bibliografía y la encontrada (2-1-3-2) en los ácaros descritos en este trabajo. *Trhypochthoniellus longisetus longisetus* (= *Hydronthrus aquariorum*; Fain y Lambrechts, 1987) (= *Hydronthrus crispus* Aoki, 1964) (= *Trhypochthonius* (*Trhypochthoniellus setosus* Willmann, 1929),... es un ácaro oribatido semicosmopolita, asociado a hábitats acuáticos ricos en materia orgánica. Hasta la fecha, este ácaro sólo se ha aislado de piel necrótica de peces disco (Fain y Lambrechts, 1987), siendo ésta la primera vez que se le asocia como causa accidental de mortalidad en Tilapias.

Agradecimientos

A D. Pascual Anguitar por su trabajo técnico y al Dr. Félix Valcárcel por el apoyo iconográfico.

Bibliografía

- Aoki J-I. 1964. A new aquatic oribatid mite from Kauai Island. *Pacific Insect* 6 (3), 483-488.
- Fain A., Lambrechts L. 1987. Observation on the acarofauna of fish aquariums. I. Mites associated with discus fish. *Bulletin et Annales de la Société Royale Belgique d'Entomologie* 123,87-102.
- Fain A., Ferrand M. 1990. A new species of *Schwiebea* Oudemans (Acari, Acaridae) parasitizing the trout *Salmo trutta fario* in Spain. *Revista Ibérica de Parasitología* 5 (1-2), 67-71.
- Halliday R.B., Collins R.O. 2002. *Histiostoma papillata* sp. n. (Acari: Histiostomatidae), a mite attacking fish in Australia. *Australian Journal Entomology* 41, 155-158.

Detección simultánea mediante PCR múltiple de *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas anguilliseptica* y *Photobacterium damsela*

L. Palacios¹, A. I. Vela^{1,2}, A. J. Ibáñez³, L. Zamora¹, V. Sánchez¹, L. Domínguez¹,
J. F. Fernández-Garayzábal^{1,2}

¹ Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Universidad Complutense, 28040 Madrid. Spain.
e-mail: luciapalacios@visavet.ucm.es

² Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

³ Acuicola Marina S.L. Parque empresarial Carabona.12530 Burriana (Castellón), Spain

Abstract

A multiplex PCR (m-PCR) method was developed for simultaneous detection of 3 important fish pathogens in warm water aquaculture. The m-PCR to amplify target ADN fragments from *Vibrio alginolyticus* (744 bp), *Pseudomonas anguilliseptica* (439 bp) and *Photobacterium damsela* (267 bp) The lower detection limit for each of the 3 bacteria was 50 ng/ml, 0.78 ng/ml and 0.19 ng/ml of nucleic acid template from each bacteria per m-PCR reaction mixture. The m-PCR can be useful for the rapid, sensitive and simultaneous detection of the three pathogens in naturally infected fish compared to the time-consuming traditional bacteriological culture techniques.

Justificación

Vibrio alginolyticus, *Pseudomonas anguilliseptica* y *Photobacterium damsela* son tres bacterias patógenas responsables de importantes pérdidas económicas en la acuicultura marina. Aunque existen descritas PCR individuales para la detección e identificación de las principales bacterias patógenas de peces, la puesta a punto de sistemas de PCR múltiple que permiten el diagnóstico de varios patógenos en una misma reacción supone un importante avance al reducir el tiempo necesario para la obtención de un resultado de diagnóstico, así como los costes del mismo. En este estudio se describe el diseño y puesta a punto de un sistema de PCR múltiple (PCR-m) utilizando oligonucleótidos con diana en secuencias específicas del gen ARNr 16S de *P. anguilliseptica* y *Ph. damsela* y el gen de la colagenasa de *V. alginolyticus* para la detección específica y simultánea de estos tres patógenos de peces.

Material y métodos

Cepas utilizadas en el estudio

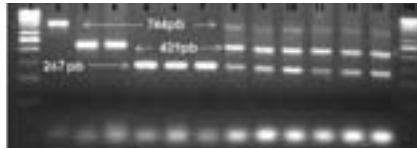
En la puesta a punto de la PCR-m se utilizaron cepas tipo y diferentes aislados clínicos de cada uno de los tres patógenos utilizados en este estudio reflejados en la Tabla 1. Todas ellos fueron sembradas en placas de Agar Sangre Columbia (BioMerieux) e incubadas a su temperaturas óptimas de crecimiento durante 24-72 h.

Extracción del ADN bacteriano, selección de oligonucleótidos y condiciones de amplificación

Las extracciones del ADN bacteriano se llevaron a cabo según el método descrito por Lawson *et al.* 1989.

Diferentes parejas de oligonucleótidos fueron seleccionados teniendo en cuenta su especificidad para cada uno de los patógenos de interés, la compatibilidad de sus temperaturas de hibridación y tamaño del fragmento resultante. Las parejas de oligonucleótidos seleccionadas fueron VA-Fm/VA-R que amplifican un fragmento de 744 pb correspondiente al gen ADN colagenasa de *V. alginolyticus* (Di Pinto *et al.* ,2005), PAR/PAF que amplifica un fragmento de 439 pb correspondiente a regiones no conservadas del 16 S rRNA de *P. anguilliseptica* y CAR1/CAR2 que da lugar a un fragmento de 267 pb correspondiente a un fragmento interno específico del 16S rRNA de *Ph. damsela*. Con el fin de determinar la especificidad de cada pareja de oligonucleótidos se llevaron a cabo las PCR individuales para cada uno de los tres microorganismos en un volumen final de 25 µl en una mezcla de reacción constituida con 160 pmol de cada uno de los oligonucleótidos (Roche), 1,5 U de Taq polimerasa en 1X de su correspondiente buffer de reacción (Biotools), 200 µM de cada uno de los deoxinucleótidos trifosfato (Biotools) y 5 µl de ADN. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un primer paso de desnaturalización durante 5 minutos a 94°C seguido de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a la temperatura de anillamiento de 57°C, 2 minutos de elongación a 72°C y finalmente un tercer paso de extensión durante 10 minutos a 72°C. La PCR-m se llevó a cabo en un volumen final de 50 µl, en el que se incluyeron 15, 5 y 10 µl de ADN de *V. alginolyticus*, *P.an-*

Figura 1.



guilliseptica y *Ph.damselae* respectivamente, manteniéndose el resto de condiciones como en las PCR individuales.

Resultados y Discusión

La PCR-m, dio lugar a tres fragmento del tamaño esperado 744, 439 y 267 pb, correspondientes a los genes amplificados de *V. alginolyticus*, *P. anguilliseptica* y *Ph. damsela*, respectivamente aunque de menos intensidad que los obtenidos en las PCR individuales (fFig. 1, calles 8, 9, 10, 11, 12 y 13).

Las pruebas de sensibilidad se hicieron tanto individualmente para cada uno de los patógenos como de manera simultánea, obteniéndose una alta sensibilidad en el caso de la PCR para *P. anguilliseptica* (0,19 ng/ml), y algo más baja para *Ph. damsela* (hasta 0,78 ng/ml de ADN purificado en la mezcla de reacción). La sensibilidad de *V. alginolyticus* resultó más baja, detectándose una concentración de ADN de 50 ng/ml. Esta técnica de PCR-m suponer una alternativa rápida, sensible para la detección simultánea de estos tres patógenos en peces infectados en comparación con las técnicas tradicionales más laboriosas de cultivo bacteriológico.

Bibliografía

- Arias C.R., Garay E., Aznar R. 1995. Nested PCR method for the rapid and sensitive detection of *Vibrio vulnificus* in fish, sediments and water. *Applied and Environmental Microbiology* 61(9),3476-3478.
- Blanco M.M., Gibello A., Vela A.I., Moreno M.A., Domínguez L., Fernández-Garayzábal J.F. 2002. PCR detection and PFGE DNA macrorestriction of clinical isolates of *Pseudomonas anguilliseptica* from winter disease outbreaks in sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms* 50.: 19-27.
- Di Pinto A., Ciccarese G., Tabtillo G., Catalano D., Forte V.T. 2005. A collagenase-targeted multiplex PCR assay for identification of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection* 68(1), 150-513.
- Coleman S.S., Melanson D.M., Biosca E.G., Oliver J.D. 1996. Detection of *Vibrio vulnificus* Biotypes 1 and 2 in Eels and Oyster by PCR amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 62(4), 1378-1382.
- González S.F., Krug M.J., Nielsen M.E., Santos Y., Call D.R. 2004. Simultaneous detection of marine fish pathogens by using multiplex PCR and DNA microarray. *Journal of Clinical Microbiology* 42(4), 1414-1419.
- Lawson P.A., Gharbia S.E., Shanh H.N., Clark D.R. 1989. Recognition of *Fusobacterium nucleatum* subgroups Fn-1, Fn-2 and Fn-3 by ribosomal RNA gene restriction patterns. *FEMS Microbiology Letters* 53, 41-45.
- Osorio C.R., Toranzo A.E., Romale J.L., Barja J.L. 2000. Multiplex PCR assay for ureC and 16S rRNA genes clearly discriminates between both subspecies of *Photobacterium damsela*. *Diseases of Aquatic Organisms* 40,177-183.

Estudio de la flora microbiana asociada a las fases de cultivo en criadero de la almeja fina (*Ruditapes decussatus*) en el Delta del Ebro

J. Pérez-Larruscain¹, A. Roque¹, D. Furones¹ y M. Delgado²

¹ IRTA. Sant Carles de la Ràpita. Ctra. de Poble Nou, km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona).
e-mail: josu.perez@irta.cat

² Centro Oceanográfico de Cádiz (IEO). Muelle de Levante s/n, P.O. Box 2609 E-11006 Cádiz

Abstract

An experiment was developed to monitor the flora associated to different stages in hatchery growth of carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*). The phases of highest risk and mortality are the larval culture and settlement, so the study focuses on them. Traditional techniques and protocols of hatchery have been used to produce seeds. The study of microbial flora was made by inoculating different samples on TCBS and Marine Agar plates. A pattern was observed over the three spawns that were followed, in which both survival and growth were highly satisfactory (30% survival). A trend was observed towards a more irregular growth of the microbiota in the early phases of cultivation, probably linked to different larval stages being present, becoming more stable, with a slight downwards slope.

Justificación

El control sanitario de los criaderos de moluscos bivalvos resulta imprescindible en la creación de protocolos de trabajo de producción en hatchery, con vistas a obtener una semilla de mejor calidad y en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades del mercado. Con el fin de identificar los puntos críticos en el cultivo de *R. decussatus* en criadero, se ha desarrollado una experiencia para la monitorización de la flora microbiana asociada a las distintas fases de su cultivo: mantenimiento de reproductores, cultivo larvario, cultivo postlarvario y de semilla.

Material y Métodos

Se ha realizado un seguimiento de la calidad microbiológica del agua, paredes de tanques de cultivo, fitoplancton y almejas. Para ello se procedió en tres ocasiones a la inducción a la puesta de reproductores de *Ruditapes decussatus* y se realizaron tres ciclos larvarios completos, postlarvario y de semilla, según técnicas y protocolos estandarizados y tradicionalmente utilizados en criaderos (Helm y Bourne, 2004).

Mantenimiento de reproductores, cultivo larvario, postlarvario y de semilla

Se acondicionó un grupo de reproductores en bandejas de 20 litros en circuito abierto (agua filtrada a 1 μm y 19°C), y alimentadas en continuo según protocolo descrito en Delgado y Pérez-Camacho (2003). Se indujo la puesta mediante shock térmico. Tanto las larvas como las semillas se mantuvieron en circuito cerrado (300 l., agua filtrada a 1 μm y 19°C), con cambios de agua cada 2 días y alimentadas según Beiras *et al.* (1994). En estas fases de cultivo el fitoplancton utilizado provino de balones de 6 litros de cámara isoterma, para asegurar un grado máximo de axenidad.

Estudio de la microbiota asociada

Se realizaron siembras en medio Agar marino y TCBS siguiendo el método de conteo total viable. La duración del seguimiento de los cultivos fue de 12 semanas, desde la puesta hasta semillas de 500 μm de diámetro. En la Tabla 1 se detallan las muestras recogidas, su periodicidad y el tiempo de crecimiento bacteriano en placa antes de su recuento.

Resultados y Discusión

Los tres ciclos presentaron buenas supervivencias, cercana al 30% para el larvario, y un poco mayor (cerca del 40%) en la fase de producción de semilla antes de ser enviada al exterior para su siembra en parques.

En el transcurso de los tres ciclos larvarios, se observó un patrón similar de comportamiento de la microbiota asociada al cultivo. La cantidad de microbiota en las primeras fases del cultivo fue irregular seguramente debida a la superación de los diferentes estadios larvarios. Posteriormente se observó un ligero descenso a lo largo del tiempo (al cabo de 4-5 semanas de iniciado el cultivo). En casi todos los casos el punto álgido de floración bacteriana en placas de Agar Marino coincide con la fase crítica de la fijación y metamorfosis de las larvas, dado que es uno de los puntos donde se detectó mayor mortalidad.

Tabla 1. Muestras analizadas

Muestra	Muestras/ semana	Volumen muestra (ml)	Volumen siembra (μ l)	Diluciones	Recuento (horas)
Agua larvas	2-3	100	100	1:10-1:100	24
Agua semilla	1	100	100	1:10-1:100	24
Pared tanque de larvas	2-3	*	100	1:10	24
Pared tanque de semilla	1	*	100	1:10	24
Fitoplancton	1	100	100	1:100-1:1000	72***
Larvas	1	10	100	1:10-1:100	24
Semillas	1	**	100	1:10-1:100	24

* La muestra de pared se recogía mediante un hisopo estéril sobre una superficie seleccionada al azar de 25 cm². El contenido se vertía en un tubo de ensayo con 9 ml de solución salina estéril.

** Las semillas se recogían una a una y se anotaba el número total. Se añadía 1 ml de solución salina, se machacaban con mortero y se vertía en un tubo con 9 ml de solución salina estéril.

*** Para recuento de bacterias de lento crecimiento asociadas al fitoplancton.

Los datos referidos al número de vibrios, contabilizados en agar TCBS, presentaron unos valores muy variables y que no pudieron ser relacionados con ninguno de los otros parámetros monitorizados, como calidad del agua, supervivencia, fase del desarrollo o presencia de bacterias heterótrofas totales. No se apreció ningún tipo predominante.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Plan Nacional "Optimización del cultivo intensivo de la almeja e identificación de marcadores genéticos para el seguimiento de las repoblaciones" de JACUMAR. Queremos agradecer la ayuda técnica prestada a todo el personal de apoyo del IRTA-Sant Carles de la Ràpita, especialmente a Nuria Soler y Meritxell Fibla por su inestimable ayuda.

Bibliografía

- Helm M., Bourne N. 2004. Hatchery culture of bivalves: A practical manual. *FAO Fisheries technical paper 471*.
- Beiras R., Pérez-Camacho A., Albertosa M. 1994. Influence of temperatura on the physiology of growth in *Ruditapes decussates* larvae. *Journal of Shellfish Research* 13(1), 77-83.
- Delgado M., Pérez-Camacho A. 2003. A study of gonadal development in *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: bivalvia), using image analysis techniques: Influence of food ration and energy balance. *Journal of Shellfish Research* 22(2), 435-441.

Actividad inhibitoria in vitro de bacterias aisladas en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) frente a *Lactococcus garvieae*

T. Pérez¹, I. Ruiz-Zarzuela¹, J.L. Balcázar¹, N. Halalhel¹, D. Vendrell¹, Y. García²,
I. de Blas¹, O. Gironés¹ y J.L. Múzquiz¹

¹ Laboratorio de Ictiopatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. CP 50013.
e-mail: taniaper@unizar.es

² Instituto de Ciencia Animal. Departamento de Fisiología. Carretera Central 47.
San José de las Lajas. La Habana, Cuba

Abstract

In vitro inhibitory activity of bacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Lactococcus garvieae*.

A total of 335 bacterial strains were isolated from rainbow trout and screened for antagonistic activity against *Lactococcus garvieae* by using an agar spot assay. All antagonistic isolates were further analysed using 16S rRNA gene sequence analysis. The results revealed that the antagonistic assays belonged to the genus *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Leuconostoc*.

Justificación

La Lactococosis es una enfermedad que afecta a muchas especies de peces marinos y dulceacuícolas, causando importantes pérdidas económicas, sobre todo cuando la temperatura del agua supera los 16°C. Generalmente cursa con una septicemia hemorrágica de carácter agudo. (Vendrell *et al.*, 2006). El tratamiento de la enfermedad se basa en el uso de antibióticos como la eritromicina, oxitetraciclina, amoxicilina y doxiciclina, sin embargo el uso de los mismos no está exento de problemas, debido principalmente a la aparición de resistencias, así como la anorexia presente en los peces afectados, lo que dificulta su administración. Uno de los métodos que está adquiriendo progresivamente un amplio reconocimiento para el control de patógenos en la producción acuícola, es el uso de probióticos. Recientemente, un estudio realizado en trucha arco iris demostró que la administración de *Aeromonas sobria* aumenta la resistencia de los peces a la Lactococosis (Brunt y Austin, 2005). En el presente trabajo se planteó como principal objetivo el aislamiento e identificación de bacterias con propiedades inhibitorias frente a *Lactococcus garvieae*, con el fin de evaluar dichas cepas como potenciales probióticos frente a la enfermedad.

Material y Métodos

Para llevar a cabo dicho estudio se utilizaron truchas arco iris, procedentes de piscifactorías ubicadas en la Comunidad Autónoma de Aragón. Posteriormente a la necropsia se realizaron siembras en medios de cultivo sólidos, agar de Trypticase Soja (TSA) y agar de Man Rogosa Sharpe (MRS), de la porción final del intestino, branquias y mucus cutáneo. Las cepas bacterianas obtenidas fueron evaluadas para determinar el posible efecto inhibitorio frente a *Lactococcus garvieae* según la metodología descrita por Austin *et al.* (1992) y Balcázar *et al.* (2007). Las cepas seleccionadas fueron identificadas mediante pruebas de tinción, microscopía y pruebas bioquímicas entre las que se incluyeron los sistemas de identificación API 20NE, API 20E, API 50 CH y API 20Strep.

Para la tipificación genética de las cepas aisladas se utilizaron cebadores basados en las regiones conservadas del gen 16S ARN ribosomal para amplificar aproximadamente un producto de 900 pares de bases. Los cebadores utilizados fueron 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 907R (5'-CCGCAATTCCTTTGAGTTT-3'). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las del gen 16S ARN ribosomal depositadas en la base de datos del GenBank, utilizando el programa informático BLAST.

Resultados y Discusión

A partir de las siembras realizadas en TSA y MRS se aislaron un total de 335 cepas bacterianas, de las cuales 11 demostraron tener efecto inhibitorio frente a *L. garvieae*. Todas las cepas con propiedades inhibitorias fueron bacterias ácido-lácticas, caracterizadas fenotípicamente como bacterias Gram positivas, oxidadas y catalasa negativas, y confirmadas posteriormente mediante el uso de kits comerciales API 50 CH y API 20 Strep.

Posteriormente, las 11 cepas seleccionadas fueron caracterizadas molecularmente (Tabla 1). Dichas cepas se correspondieron con *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* (n = 5), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (n = 5) y *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (n = 1).

Tabla 1. Identificación molecular de las cepas seleccionadas

Cepa	Identificación	Similitud
M3(1)	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	99,8%
I3(1)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	99,9%
I8(1)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	99,9%
I9(1)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	99,9%
I10(1)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	99,9%
I15(1)	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	99,8%
I16(1)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	99,9%
B2(1)	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	99,8%
B5(1)	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	99,8%
I11(2)	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	99,8%
8B(07)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	99,5%

Como consecuencia de estos resultados y basándonos en la capacidad para inhibir el crecimiento de *L. garvieae* bajo condiciones *in vitro*, las cepas aisladas de la microbiota endógena de trucha arco iris, podrían ser consideradas como candidatas en el proceso de selección de probióticos.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Departamento de Ciencia, Tecnología y Universidad del Gobierno de Aragón a través de una beca doctoral concedida a T. Pérez, . Agradecemos la asistencia técnica de MC. Uriel, J. Orós y R. Claver.

Bibliografía

- Austin B., Baudet E., Stobie M. 1992. Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. *Journal of Fish Diseases* 15, 55-61.
- Balcázar J.L., Vendrell D., De Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Gironés O., Múzquiz J.L. 2007. *In vitro* competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. *Veterinary Microbiology* 122, 373-380.
- Brunt J., B. Austin B. 2005. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 28, 693-701.
- Vendrell D., Balcázar J.L., Ruiz-Zarzuola I., De Blas I., Gironés O., Múzquiz J.L. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *CIMID* 29, 177-198.

Susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos de peces *Tenacibaculum discolor*, *T. gallaicum* y *T. soleae*

M. Piñeiro-Vidal¹, M.V. Ruiz de Ocenda² e Y. Santos¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. Centro de Investigaciones Biológicas (CIBUS).
Universidad de Santiago de Compostela. 15782 Santiago de Compostela. A Coruña. e-mail: mp.vidal@usc.es

² Cluster de Acuicultura de Galicia. Ribeira

Abstract

In the present study the susceptibility to antimicrobials *in vitro* of isolates of the species *Tenacibaculum discolor*, *T. gallaicum* and *T. soleae* were assayed in comparison with *T. maritimum* isolates. No differences in the pattern of susceptibility to oxolinic acid and amoxicillin were observed among the three species tested. In the case of enrofloxacin, trimethoprim-sulfomethoxazole and oxytetracycline, different patterns were observed depending of the species and/or strain studied. The strains of *Tenacibaculum maritimum* used with comparative purpose were sensitive to all the antimicrobials used except oxolinic acid.

Justificación

La flexibacteriosis marina es actualmente la mayor causa de mortalidad en cultivos de rodaballo (*Psetta maxima*, L.) y lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup.) en la comunidad gallega. La patología es causada por las bacterias filamentosas *T. maritimum*, *T. ovolyticum*, *T. gallaicum*, *T. discolor* y *T. soleae*. Para el tratamiento de la enfermedad causada por *T. maritimum* se ha sugerido el uso de diferentes compuestos antimicrobianos (Avendaño-Herrera *et al.*, 2005, 2007). Sin embargo, la aparición de nuevas especies del género *Tenacibaculum* que pueden causar la enfermedad (Piñeiro-Vidal *et al.*, 2008 a,b) hace necesario la evaluación de los antimicrobianos recomendados. En el presente trabajo se ha evaluado la susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de las especies *T. discolor*, *T. gallaicum* y *T. soleae* aisladas de peces enfermos y agua de sistemas de cultivo de rodaballo y lenguado en comparación con cepas de *T. maritimum*.

Material y Métodos

Cepas bacterianas. En este estudio se han incluido 35 cepas bacterianas pertenecientes a las especies *Tenacibaculum discolor* (13), *T. gallaicum* (8), *T. soleae* (14) aisladas a partir de agua de mar, lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup), rodaballo (*Psetta máxima*, L.), acedia (*Dicologoglossa cuneata*, Moreau), «brill» (*Scophthalmus rhombus*, L.) y lubina (*Dicentrarchus labrax*, L.). Con fines comparativos se han incluido la cepa de referencia de *T. maritimum* NCIMB 2154 de la Colección Nacional de Bacterias Industriales y Marinas (NCIMB, Aberdeen, Reino Unido) y una cepa aislada de lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup) de nuestra colección (Tabla 1). Las cepas se mantuvieron a -80°C en viales de congelación Microbank™ (Pro-La-

Tabla 1. *Cepas de Tenacibaculum empleadas en el estudio*

Especie	Origen	Cepas
<i>T. gallaicum</i> (n = 8)	Agua del tanque de cultivo Rodaballo	DSM 18841, A13.3, A35.1, A38.1 R006.0.1, R006.0.3, CLT07.1, S2
<i>T. discolor</i> (n = 13)	Agua del tanque de cultivo Rodaballo Lenguado Lubina	A22.2, A35.2, A36.1 RI45.1, R01 6.8.1, IT07.2, IT07.4, IT07.5 DSM 18842, LC06 11.5.1, LC07 3.2.2, LM07.1, SK179/08
<i>T. soleae</i> (n = 14)	Agua del tanque de cultivo Rodaballo Lenguado «Brill» Acedía Lubina	A71.3 CLT07.2 CECT 7292, a410, a469 a11 a47, a50, a216, a462, 469 567/06.1, 567/06.2, 567/06.3
<i>T. maritimum</i> (n = 3)	Pargo japonés Rodaballo Lenguado	NCIMB 2154 C03 6.1.3 LL01 8.3.8

Tabla 2. Susceptibilidad de los aislados frente a los antimicrobianos (% de cepas susceptibles)

	<i>T. gallaicum</i> (n = 8)	<i>T. discolor</i> (n = 13)	<i>T. soleae</i> (n = 14)	<i>T. maritimum</i> (n = 3)
AML	100	100	100	100
ENR	12,5	23,1	35,7	100
OA	0	0	0	0
OT	87,5	100	50	100
SXT	100	100	71,1	100

boratory Diagnostics, Canadá). Todas las cepas se cultivaron durante 48 h a 25°C en el medio *Flexibacter maritimum* (FMM, Pazos *et al.*, 1996). La posición taxonómica de todos los aislados se confirmó antes de la realización del ensayo.

Ensayo de susceptibilidad. Se usó el método de difusión en placa y cinco quimioterapéuticos empleados en el tratamiento de enfermedades bacterianas en acuicultura. Los discos empleados fueron amoxicilina (AMX; 25 µg), enrofloxacin (ENR; 5 µg), ácido oxolínico (OA; 2 µg), oxitetraciclina (OT; 30 µg) y trimetoprim-sulfometoxazol (SXT; 1,25 µg + 23,75 µg), suministrados todos ellos por Oxoid (Inglaterra). El ensayo de difusión en placa se realizó siguiendo estrictamente las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (2006) (NCCLS) con las modificaciones propuestas por Avendaño-Herrera *et al.*, (2005) para la especie *T. maritimum*. Los ensayos se realizaron en medio FMM (Pazos *et al.*, 1996), y mantenidas a 22°C durante 72 h al cabo de las cuales se leyeron las placas.

Resultados y Discusión

Las cepas de las especies *T. gallaicum*, *T. discolor* y *T. soleae* empleadas en el estudio mostraron un patrón de susceptibilidad semejante frente a OA y a AMX. Sin embargo, con los restantes antimicrobianos probados (ENR, SXT y OT), se observaron diferentes patrones de sensibilidad, dependiendo de la especie y cepa analizada (Tabla 2). Los resultados obtenidos con las cepas de *T. maritimum* concuerdan con los descritos previamente por Avendaño-Herrera *et al.* (2005) e indican que esta bacteria es sensible a todos los antimicrobianos probados, excepto ácido oxolínico. En base a los resultados de este estudio se puede concluir que sólo la amoxicilina es útil para el tratamiento de la tenacibaculosis causada por las cuatro especies de *Tenacibaculum* descritas como patógenas de peces.

Agradecimientos

Financiado por los proyectos INCITE 08E1R208038ES y PGIDIT 07 MMA 012CT. Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Avendaño-Herrera R., Irgang R., Núñez S., Romalde J.L., Toranzo A.E. 2005. Recommendation of and appropriate medium for *in vitro* drug susceptibility testing of the fish pathogen *Tenacibaculum maritimum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(1), 82-87.
- Avendaño-Herrera, Núñez R.S., Barja J.L., Toranzo A.E. 2007. Evolution of drug resistance and minimum inhibitory concentration to enrofloxacin in *Tenacibaculum maritimum* strains isolated in fish farms. *Aquaculture International* 16, 1-11.
- Pazos F., Santos Y., Macías A.R., Núñez S., Toranzo A.E. 1996. Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimum*. *Journal of Fish Diseases*. 19, 193-197.
- Piñeiro-Vidal M., Rianza A., Santos Y. 2008. *Tenacibaculum discolor* sp. nov. and *Tenacibaculum gallaicum* sp. nov. isolated from sole (*Solea senegalensis*) and turbot (*Psetta maxima*) culture systems. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58(1), 21-25.
- Piñeiro-Vidal M., Carballas C.G., Gómez-Barreiro O., Rianza A., Santos Y. 2008b. *Tenacibaculum soleae* sp. nov., isolated from diseased sole (*Solea senegalensis* Kaup). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58(4), 881-885.

Producción *in vitro* e *in vivo* de *N*-acil-L-homoserín lactonas (AHLs) por el patógeno *Tenacibaculum discolor*

M. Piñeiro-Vidal¹, M. Romero₁, Y. Santos¹ y A. Otero¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. Centro de Investigaciones Biológicas (CIBUS). 15782 Universidad de Santiago de Compostela. A Coruña. e-mail: mp.vidal@usc.es

Abstract

This work describes the *in vitro* and *in vivo* production of acylated homoserine lactones by the strain DSM 18842 of the fish pathogenic *Tenacibaculum discolor*. The HPLC-MS analysis unequivocally identified *N*-butyryl-L-homoserine lactone (C4-HSL) as the only QS signal present in the acidified extracts of *in vitro* cultures of the strain DSM 18842 of *T. discolor* under the culture conditions tested. The same compound was also detected in the internal organs (kidney, spleen, and liver) of asymptomatic, moribund and dead experimentally infected juvenile turbot. In conclusion, *Tenacibaculum discolor* produces a single AHL, C4-HSL, at detectable levels both *in vitro* and *in vivo* during experimental infection of turbot, which may play a role in the pathogenesis of the tenacibaculosis caused by this species.

Justificación

En los últimos años el mecanismo de comunicación intercelular mediado *N*-acil-L-homoserín lactonas (AHLs) ha sido descrito en muchas bacterias Gram-negativas. Este tipo de moléculas está relacionado con el control y la expresión de determinados genes de virulencia como los responsables de la colonización y persistencia en el hospedador, producción de proteasas y síntesis de sideróforos. Trabajos recientes indican que *Tenacibaculum maritimum*, principal agente causal de la tenacibaculosis en peces marinos produce *in vitro* *N*-acil-L-homoserín lactonas que pueden estar relacionadas con la formación de biopelículas en este patógeno. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la producción *in vitro* e *in vivo* de este tipo de moléculas responsables de la comunicación bacteriana por la especie patógena de peces *Tenacibaculum discolor*.

Material y Métodos

Cepa bacteriana y condiciones de cultivo. En este estudio se empleó la cepa tipo de la especie *Tenacibaculum discolor* DSM 18842. Esta cepa se cultivó en medio caldo *Flexibacter maritimus* (FMM) a 25°C durante 24-48 h. La cepa se conservó a -70°C en viales de congelación Microbank™ tubes (Prolab Diagnostics, Ontario, Canadá).

Detección de AHLs *in vitro*. Un preinóculo de 24 h de la cepa DSM 18842 se inocularó en matraces de 1 l que contenían 200 ml de medio FMM y MB. A diferentes intervalos de tiempo (0, 6, 24 y 50 h) se recogieron fracciones de 50 ml del cultivo para determinar la presencia de AHLs. Las muestras se centrifugaron a 1.000 × g durante 10 min y los sobrenadantes se acidificaron (pH 2,0) por tratamiento con HCL 1 M durante 12 horas a temperatura ambiente. Las muestras se extrajeron por triplicado con triclorometano y la muestra obtenida se evaporó y se resuspendió finalmente en etil-acetato previo a su análisis en HPLC-MS Agilent 1100 series (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

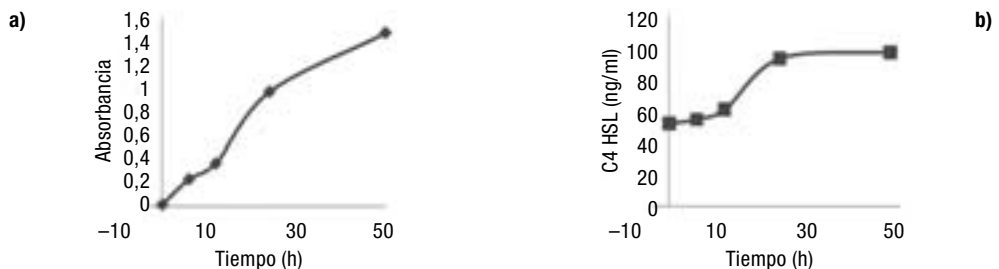
Detección de AHLs *in vivo*. La infección experimental se realizó mediante inoculación intraperitoneal de la suspensión bacteriana en juveniles de rodaballos (25 g) siguiendo la metodología descrita por Piñeiro-Vidal *et al.* (2007). El ensayo duró 21 días y de los ejemplares asintomáticos, moribundos y muertos se extrajeron muestras de sangre, riñón, hígado y bazo para confirmar la presencia de la bacteria y realizar la extracción de la lactona. Para la extracción de lactonas a partir de los tejidos y la sangre se resuspendieron estas muestras en PBS (pH = 2) y se homogenizaron mediante un ultra turrax mixer en 3 ml de etil-acetato. A continuación, se realizó la extracción y el análisis de la lactona según el procedimiento descrito para los ensayos *in vitro*.

Resultados y Discusión

El análisis de los extractos de los medios de cultivo bacterianos libres de células mediante HPLC-MS mostró un pico con tiempo de retención similar al generado por la *N*-acil-L-homoserín lactonas (C4-HSL) sintética utilizada como referencia. El análisis mediante espectrometría de masas confirmó que la C4-HSL es la única señal de comunicación celular producida *in vitro* por la cepa DSM 18842 de *T. discolor* en las condiciones de cultivo usadas en el estudio. La Figura 1 muestra la curva de crecimiento de *T. discolor* (a) y la de producción de la lactona (b) en el medio FMM.

Tabla 1. Detección in vivo de C4-HSL

Rodaballo	C4-HSL (mmol/kg · pez)
No inoculados	Sangre (0,026) Tejido (0,025)
Asintomáticos	Sangre (0,486) Tejido (0,398-1,144)
Moribundos	Sangre (0,018) Tejido (0,018-0,313)
Muertos	Sangre (0,000) Tejido (0,113-1,430)

Figura 1. Curva de crecimiento de la cepa DSM 18842 (a) y producción de C4-HSL in vitro (b)

Los ensayos de infección experimental en rodaballo demostraron que la cepa DSM 18842 producía C4-HSL también *in vivo*, detectándose este compuesto en hígado, riñón y bazo de peces asintomáticos, moribundos y muertos. La lactona fue detectada también en sangre pero sólo en muestras de peces moribundos y asintomáticos (Tabla 1).

Estos resultados sugieren que la cepa DSM 18842 de *Tenacibaculum discolor* presenta un mecanismo de comunicación celular mediado por AHLs que podría jugar un papel en la patogénesis de la tenacibaculosis.

Agradecimientos

Financiado por los proyectos INCITE 08E1R208038ES, PGIDIT 07 MRMA 002E y PGIDIT 06PX 1B 200045PR de la Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Buch C., Sigh J., Nielsen J., Larsen J.L., Gram L. 2003. Production of acylated homoserine lactones by different serotypes of *Vibrio anguillarum* both in culture and during infection of rainbow trout. *Systematic and Applied Microbiology* 26, 338-349.
- Milton D.L., Hardman A., Cámara M., Chhabra S.R., Bycroft B.W., Stewart G.S.A.B., Williams P. 1997. Quorum sensing in *Vibrio anguillarum*: Characterization of the *vanI/vanR* locus and identification of the autoinducer *N*-(3-oxodecanoyl)-L-homoserine lactone. *Journal of Bacteriology* 179, 3004-3012.
- Piñeiro-Vidal M., Centeno-Sestelo G., Riaza A., Santos Y. 2007. Isolation of pathogenic *Tenacibaculum maritimum*-related organisms from diseased turbot and sole cultured in the Northwest of Spain. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 27, 29-35.
- Piñeiro-Vidal M., Riaza A., Santos Y. 2008a. *Tenacibaculum discolor* sp. nov. and *Tenacibaculum gallaicum* sp. nov. isolated from sole (*Solea senegalensis*) and turbot (*Psetta maxima*) culture systems. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58(1), 21-25.
- Piñeiro-Vidal M., Carballas C.G., Gómez-Barreiro O., Riaza A., Santos Y. 2008b. *Tenacibaculum soleae* sp. nov., isolated from diseased sole (*Solea senegalensis* Kaup). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58(4), 881-885.

Influencia del uso de antibiótico en diferentes desarrollos larvarios de almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*)

S. Prado¹, J. Ojea², J. Dubert¹, A. Cerviño-Otero² y A.E. Toranzo¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. CIBUS - Fac. Biología. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Sur, s/n. 15782 Santiago de Compostela. A Coruña. e-mail: susana.prado@usc.es

² Centro de Cultivos Mariños. Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Muelle de Porcillán, s/n. 27700 Ribadeo. Lugo

Abstract

Nowadays, Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) is the most important culture of bivalves in Galicia (NW Spain), out of mussel. This species, as other bivalves cultured in hatchery, suffers outbreaks of disease causing the lost of complete batches and difficulting the regular supply of spat to outside cultures. Opportunistic bacteria belonging to genus *Vibrio* have been described as responsible of mortalities in hatchery. The antibiotic chloramphenicol had been used as method to avoid these episodes, but its use is prohibited at present by EU (Annex IV of Council Regulation 2377/90/EC). This work studies the use of chloramphenicol in experimental hatchery, analyzing its effect on larval cultures and the resistance onset in the associated microbiota, with special attention to bacteria of genus *Vibrio*. It is demonstrated that the chloramphenicol is not a guarantee for the development of larvae and it enhances the appearance of antibiotic-resistance in the vibrios present.

Justificación

La almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*) es actualmente el cultivo de bivalvos más importante en Galicia, a excepción del mejillón (Pesca de Galicia, 2008; <http://www.pescadegalicia.com>). Esta especie, como otros bivalvos cultivados en criadero, sufre episodios de mortalidades masivas que dificultan la obtención regular de semilla competente para suministrar al sector. En los estudios existentes para diferentes especies se han descrito como causantes de estas mortalidades bacterias patógenas oportunistas del género *Vibrio* (Tubiash *et al.*, 1965; Brown y Tettelbach, 1988; Prado *et al.*, 2005). Para combatir estos problemas se ha venido utilizando el antibiótico cloranfenicol, pero su uso está actualmente prohibido por la UE (Anexo IV del Reglamento de la CEE 2377/90/EEC). En este trabajo se estudió el uso experimental del cloranfenicol en criadero, analizando sus efectos sobre los cultivos larvarios y la resistencia en la microbiota asociada, con especial atención a bacterias del género *Vibrio*. Este antibiótico no sólo no garantizó el desarrollo del cultivo, sino que favoreció la aparición de resistencias entre los vibrios presentes.

Material y Métodos

Cultivo larvario. Se hizo el seguimiento de cuatro desoves espontáneos, en el Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo, entre los meses de junio y septiembre. Las larvas se cultivaron siguiendo lo descrito en Helm y Bourne (2004). De cada desove se controlaron dos tanques, sometidos a las mismas condiciones, con la única diferencia del uso de antibiótico (cloranfenicol) en uno de ellos, suministrado en días alternos coincidiendo con la renovación del agua. Se hicieron controles semanales de crecimiento y supervivencia larvaria.

Microbiología. Las muestras para microbiología de larvas se tomaron en el cambio de agua de los tanques, extendiéndolas con asa de siembra estéril sobre placas de los medios Agar Marino (AM, Pronadisa), para bacterias heterótrofas marinas, y Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS, Oxoid), selectivo para vibrios. Se obtiene una estima cualitativa de las poblaciones bacterianas, aunque permitiendo la comparación entre muestras al unificar el volumen sembrado. El agua de cultivo se recogió en recipientes estériles, justo antes del vaciado en el cambio. Se hicieron las diluciones seriadas apropiadas en agua de mar estéril y se sembraron en AM y TCBS. Para la incubación, lectura, aislamiento de colonias y conservación se siguió lo descrito en Prado *et al.* (2005). A los aislados seleccionados se les realizó una caracterización microbiológica básica, con las pruebas de morfología, movilidad, Gram, oxidasa, catalasa, oxidación/fermentación, decarboxilación de aminoácidos y crecimiento en TCBS. Además, se realizaron pruebas complementarias (Prado *et al.* 2005) a los aislados fermentativos seleccionados de la puesta 2.

Resultados y Discusión

El primer desove, recogido en el mes de junio, fue de 10.640.000 larvas, que se cultivaron a una densidad de 6 larvas/ml y una temperatura del agua de cultivo de 19,5-21°C. Se mantuvieron dos tipos de cultivo: sin antibiótico (sAb) y con antibiótico (cAb). La evolución de los cultivos fue similar, hasta llegar a la fijación con tallas de 238–236 µm y supervivencia del 1,6-1,9%. Los datos microbiológicos mostraron que

las larvas partían con elevada carga inicial, mayoritariamente bacterias fermentativas. A lo largo del cultivo el uso del antibiótico no redujo la carga bacteriana total del agua, ni la presencia de bacterias fermentativas, que aparecieron asociadas a las larvas pero no en el agua de cultivo. El segundo desove, en Julio, fue de 28.448.00 larvas, y se cultivó a una densidad de 14 larvas/ml y una temperatura de 19-22°C. La evolución fue muy diferente, mientras las larvas sAb se eliminaron a los 22 días, el otro lote llegó a fijación con una supervivencia del 13% y una talla de 239 μm . Las larvas partían con una baja carga bacteriana, aunque se detectaron bacterias fermentativas. Durante el cultivo no hubo diferencias en los recuentos del agua de ambos lotes y, de nuevo, no se aislaron bacterias fermentativas. Estas aparecieron asociadas a las larvas, obteniéndose hasta 16 aislados de las muestras sAb, incluidas las muestras finales correspondientes a la mortalidad de este lote, y tan sólo 5 de las muestras cAb. El tercer desove, de Agosto, fue de 34.140.000 larvas, cultivada a una densidad de 22 larvas/ml y una temperatura de 20-22°C. Llegaron a fijación con una talla de 203-205 μm , y una buena supervivencia, 28% y 25% en los cultivos sAb y cAb respectivamente. De nuevo las bacterias fermentativas aparecieron asociadas a las larvas, mayoritariamente sAb, aunque en números muy bajos, y no al agua. En el agua, los recuentos de bacterias totales fueron similares, aunque ligeramente mayores en los tanques cAb. La cuarta puesta se recogió en Septiembre, con un total de 11.100.000 larvas, cultivadas a una densidad de 5,5 larvas/ml y una temperatura de 17-21°C. La evolución fue muy parecida, alcanzando tallas de 219-221 μm , y con valores de supervivencia buenos, ligeramente superiores en el cultivo cAb (33 y 51%). Los datos microbiológicos mostraron que las bacterias fermentativas aparecían asociadas a las larvas pero también se encontraban en el agua. En cualquier caso, los números fueron bajos, detectándose principalmente en TCBS, y sólo de forma puntual en AM. Los recuentos de bacterias totales en el agua fueron superiores en el cultivo sAb, igualándose en la muestra final. Las 21 cepas fermentativas aisladas del segundo desove, a las que se hizo una caracterización más completa, fueron bacilos móviles, Gram negativos, oxidasa y catalasa positivos y fermentativos (glucosa). Todas crecieron en TCBS, 12 formando colonias verdes y 9 colonias amarillas. Según los perfiles de descarboxilación de aminoácidos (arginina, lisina y ornitina), 12 fueron $\text{A}^+\text{L}^-\text{O}^-$, el más común entre vibrios patógenos de cultivos larvarios de bivalvos, 4 $\text{A}^-\text{L}^-\text{O}^-$ y 5 $\text{A}^-\text{L}^+\text{O}^+$. Finalmente, el estudio de la sensibilidad a cloranfenicol indicó que los aislados resistentes procedían de los cultivos tratados. En resumen, a la vista de los resultados de este trabajo se puede afirmar que el uso del cloranfenicol no garantizó el buen desarrollo de las puestas de almeja japonesa, en ninguna de las condiciones ensayadas, y favoreció a la aparición de cepas resistentes dentro del género *Vibrio*, en el que se encuadran los principales patógenos conocidos de cultivos larvarios de bivalvos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Consellería do Mar, Xunta de Galicia (Acción Especial 2007/CP221). Se agradece la colaboración del personal del CCM de Ribadeo.

Bibliografía

- Helm M.M., Bourne N. 2004. *Hatchery culture of bivalves: A practical manual*, FAO Fisheries Technical Paper 471. Rome, Italy.
- Brown C., Tettelbach L.P. 1988. Characterization of a nonmotile *Vibrio* sp. pathogenic to larvae of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. *Aquaculture* 74, 195-204.
- Prado S., Romalde J.L., Montes J., Barja J.L. 2005. Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. *Diseases of Aquatic Organisms* 67, 209-215.
- Tubiash H.S., Chanley P.E., Leifson E. 1965. Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. I. Etiology and epizootiology. *Journal of Bacteriology* 90, 1036-1044.

Microbiota de cultivos larvarios de longueirón vello (*Solen marginatus*)

S. Prado¹, F. da Costa^{2,3}, J. Dubert¹, D. Martínez-Patiño² y J.L. Barja¹

¹ Departamento de Microbiología y Parasitología. CIBUS - Fac. Biología. Universidad de Santiago de Compostela. Campus Sur, s/n. 15782 Santiago de Compostela. A Coruña. e-mail: susana.prado@usc.es

² Centro de Cultivos Mariños. Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Muelle de Porcillán, s/n. 27700 Ribadeo. Lugo

³ Departamento de Biología Celular y Molecular. Universidade da Coruña. A Zapateira, s/n. 15071 A Coruña

Abstract

Nowadays, hatchery culture of razor clam (*Solen marginatus*) is under development, being pioneer the Centro de Cultivos Mariños of Ribadeo (Galicia, NW Spain). In their experience, they have observed episodes of mortalities during larval and post-larval development, with the same signs described for other bivalve species. Bacteria belonging to genus *Vibrio* have been identified as causative agents of outbreaks in bivalve cultures. This fact, together with the absolute ignorance of the microbiota associated to the cultures of this bivalve, make necessary a basic study about bacterial populations present and their evolution during cultivation. In this work the monitoring of two batches of razor clam, obtained and cultured in the Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo. The results confirmed the existence of presumptive vibrios associated to cultures which suffered mortalities, while oxidative bacteria were isolated as dominant populations in cultures with good development.

Justificación

El cultivo de longueirón vello (*Solen marginatus*) en criadero está apenas desarrollado, siendo pionero el Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo (da Costa y Martínez-Patiño, 2009). En su experiencia, han observado que durante el desarrollo larvario y post-larvario puede haber episodios de mortalidades masivas, que cursan con signos semejantes a los descritos para otras especies de bivalvos. Los agentes causales identificados en cultivos de bivalvos han sido, sobre todo, bacterias pertenecientes al género *Vibrio*, como *V. tubiashii*, *V. alginolyticus* (Tubiash *et al.*, 1965), *V. anguillarum* (Tubiash y Otto, 1986), *V. neptunius* (Prado *et al.*, 2005), *V. pectenicida* (Nicolas *et al.*, 1996) y *V. splendidus* (Sugumar *et al.*, 1998). Este hecho, junto con el desconocimiento absoluto de la microbiota asociada a los cultivos de esta especie, hace necesario un estudio básico de las poblaciones bacterianas presentes y de su evolución a lo largo de los cultivos. En este trabajo se recoge el seguimiento de dos puestas de longueirón vello, en el Centro de Cultivos Mariños (Ribadeo). La combinación de los datos de cultivo y microbiológicos, ofrecen una herramienta para la puesta a punto del protocolo de cultivo de esta especie en criadero.

Material y Métodos

Cultivo larvario

En este trabajo se analizaron las muestras obtenidas de dos desoves espontáneos de longueirón vello, obtenidos en el CCM de Ribadeo. Los cultivos larvarios se realizaron siguiendo la metodología descrita por da Costa y Martínez-Patiño (2009). Se controló el crecimiento y supervivencia larvaria. Se les suministró 2,6 mg/l de cloranfenicol a los cultivos para poder las mortalidades observadas en criadero.

Microbiología

Para los controles microbiológicos se recogieron muestras semanalmente. Las larvas, en los cambios de agua, se extendieron con asa de siembra sobre placas de Agar Marino (AM, Pronadisa), para bacterias heterótrofas marinas, y Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS, Oxoid), para vibrios. Se obtuvo una estimación cualitativa de las poblaciones bacterianas, comparable al unificar el volumen sembrado. El agua de cultivo se recogió en recipientes estériles, en el cambio, antes del vaciado. Se hicieron diluciones seriadas y se sembraron en AM y TCBS. Para la incubación, aislamiento de colonias y conservación se siguió lo descrito en Prado *et al.* (2005). A los aislados obtenidos se les realizó una caracterización microbiológica básica, con las pruebas de morfología, movilidad, Gram, oxidasa, catalasa, oxidación/fermentación de glucosa, decarboxilación de aminoácidos y crecimiento en TCBS. Una vez identificadas las bacterias fermentativas, se les realizó una caracterización complementaria (Prado *et al.* 2005).

Resultados y Discusión

La primera puesta llegó a fijación con una supervivencia del 46,2%, sin que se registraran mortalidades significativas durante el desarrollo larvario. De las muestras de larvas obtenidas a lo largo del cultivo se aislaron 13 cepas, todas ellas del medio AM. Sólo dos de estos aislados resultaron fermentativos, ambos procedentes de las muestras de larvas tomadas los primeros días del desarrollo larvario. El primero de los aislados era dominante en la muestra de larvas inicial, mientras que el segundo era minoritario respecto a otras bacterias oxidativas predominantes en una muestra tomada tan sólo 3 días después. En cuanto al agua de cultivo, los recuentos de bacterias totales se mantuvieron en valores muy similares a lo largo del proceso, con valores entre $3,4 \times 10^4$ y $2,1 \times 10^5$ ufc/ml. Todos los aislados de este origen fueron bacterias oxidativas. Se tomó una muestra final del agua de post-larvas, y a pesar de que en el momento de poner a fijar el cultivo se dejó de suministrar el antibiótico, los recuentos de bacterias totales continuaron en los mismos valores, sin que se aislaran bacterias fermentativas ni apenas hubiera crecimiento en TCBS. La segunda puesta tuvo un desarrollo larvario problemático, con una supervivencia final de sólo el 5,9%. Ya en fase de post-larvas, a los 27 días de cultivo, la mortalidad fue del 100%, a pesar de que el antibiótico se había mantenido después de fijación. Se obtuvieron aislados fermentativos de las muestras sembradas en TCBS a lo largo de todo el cultivo larvario. Los 10 aislados se repartieron en 6 procedentes de larvas y 4 del agua de los tanques. Además, en una muestra de las post-larvas muertas, se aislaron 3 nuevas cepas fermentativas (2 de TCBS y 1 de AM). El cultivo mantuvo desde el principio una población de bacterias fermentativas, presuntos vibrios, asociadas cuya proliferación no impidió el antibiótico. La caracterización de los 13 aislados fermentativos mostró que se trataba de bacilos móviles, Gram negativos, oxidasa y catalasa positivos, fermentativos (glucosa), negativos para la descarboxilación de lisina y ornitina y para el crecimiento al 0% de NaCl; fueron positivos para la reducción de nitratos, las actividades gelatinasa y lipasa, el crecimiento a 4°C y al 6% de NaCl. El crecimiento en TCBS permitió repartirlos en dos grandes grupos, según formaran colonias amarillas (6) o verdes (7). En cuanto a otra de las características diferenciales dentro del género *Vibrio*, la arginina dihidrolasa fue positiva en sólo 4 de los aislados. Es necesario completar la caracterización para establecer de forma su posición taxonómica.

Los ensayos en placa de sensibilidad al cloranfenicol mostraron que al menos la mitad de los aislados eran resistentes a este antibiótico. Por todo lo explicado, es preciso continuar profundizando en el conocimiento de la microbiota asociada al cultivo en criadero de *Solen marginatus* y establecer el papel que desempeñan las poblaciones de vibrios presentes.

Agradecimientos

Este estudio ha sido cofinanciado por la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR), la Secretaría General de Pesca Marítima y la Consellería do Mar, Xunta de Galicia (Acción Especial 2007/CP221). Se agradece la colaboración del personal del CCM de Ribadeo. Agradecimientos a la Cofradía de Redondela por el suministro de reproductores.

Bibliografía

- Da Costa F., Martínez-Patiño D. 2009. Culture potential of the razor clam, *Solen marginatus* (Pennánt, 1777). *Aquaculture* 288, 57-64.
- Nicolas J.L., Corre S., Gauthier G., Robert G., Ansquer D. 1996. Bacterial problems associated with scallop *Pecten maximus* larval culture. *Diseases of Aquatic Organisms* 27, 67-76.
- Prado S., Romalde J.L., Montes J., Barja J.L. 2005. Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of *Vibrio neptunius* as an oyster pathogen. *Diseases of Aquatic Organisms* 67, 209-215.
- Sugumar G., Nakai T., Hirata Y., Matsubara D., Muroga K. 1998. *Vibrio splendidus* biovar II as the causative agent of bacillary necrosis of Japanese oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Diseases of Aquatic Organisms* 33, 111-118.
- Tubiash H.S., Chanley P.E., Leifson E. 1965. Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. I. Etiology and epizootiology. *Journal of Bacteriology* 90, 1036-1044.
- Tubiash, H.S., Otto S.V. 1986. Bacterial problems in oysters. A review. En: *Pathology in Marine Aquaculture*. EAS spec. pub. n° 9, pp. 233-242. Bredene (Bélgica).

Mortalidad de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) en la bahía de Santander en 1998-99

A. Remacha-Triviño

Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Área de Zoología. Universidad de Oviedo.
C/ Catedrático Rodrigo Uría, s/n. E-33071 Oviedo. Asturias (España). e-mail: tonirem@gmail.com

Abstract

Mortality of *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) in Santander bay during 1998-99. The pathology which caused significant mortalities in the natural populations of *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) in Santander bay during 1998 and 99 was investigated. The disease did not seem to be induced by parasites and was characterized by a progressive weakening of specimens until expiration. Densities of the species in the sampling area decreased from the initial $8 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-2}$ to the $0 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-2}$ found in last two months. Fe, Pb y Zn concentrations were higher than $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, while not significant amounts of heavy gasoils were found in bay sediments. Levels of faecal bacteria sampled in a bay beach were much higher than sufficient CE values for bathing waters. The pathology could be multifactorial due to a probable excessive anthropic transformation of the bay. In order to improve the environmental quality of Santander bay, a relevant global plan for environmental sanitation is being carried out, whose construction will be finished this summer 2009.

Introducción

La bahía de Santander alberga a un mínimo de 65 especies de bivalvos, tres de ellas navajas (Lastra, 1991). El colectivo de mariscadores de la bahía de Santander advirtió desde Septiembre del 98 un descenso significativo de almejas finas *Tapes decussata* y navajas *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) en toda la bahía. Las especies estaban afectadas por una patología de origen desconocido que provocaba un debilitamiento progresivo de las mismas. A partir de diciembre del 98, la mortalidad fue tan elevada que algunas cooperativas de mariscadores se vieron obligadas a importar ejemplares con el objeto de hacer frente a la demanda, mientras que la mayor parte renunciaron al marisqueo de estas especies.

Las concentraciones de criseno y benzo(a)pireno en el sedimento marino de ciertas áreas de la bahía de Santander superaron en 1997 y 98 los valores permitidos por las regulaciones (Cortés, 1998). Asimismo, cuatro de sus playas sobrepasaron durante el periodo de baños del 98 los límites de coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales tolerables por la CE, presentando el 7,5% de sus bañistas afecciones relacionadas con un proliferación excesiva de estos tipos bacterianos (Prieto *et al.*, 2001).

Esta comunicación tiene por objeto describir la patología en *S. marginatus*, estimar su decrecimiento en densidad, sugerir un posible origen de esta patología en base a diferentes parámetros químicos y microbiológicos analizados y destacar la adecuada actuación del Gobierno de Cantabria para mejorar la calidad medioambiental de la bahía de Santander.

Material y Métodos

Muestras zoológicas

Entre octubre del 98 y diciembre del 99, muestras de *S. marginatus* se capturaron mensualmente en la bahía de Santander, en una parcela de 625 m^2 . El total muestral fue la suma de individuos de 30 realizaciones muestrales obtenidas mediante muestreo sistemático por la superposición reiterada de una cuadrícula standard de 90 cm^2 sobre la parcela. El sedimento de cada realización se excavó hasta los 70 cm y se tamizó con un tamiz de 5 mm de luz de malla. En el laboratorio, los animales se fijaron y procesaron mediante histología rutinaria.

Análisis de hidrocarburos alifáticos

En diciembre de 99, se recogieron 5 kg de sedimento de la parcela a partir de 10 réplicas aleatorias extraídas mediante un corer metálico de 50 cm de longitud. El sedimento se transfirió *in situ* a un recipiente de vidrio adecuado y se trasladó al Laboratorio de Análisis Dr. Echevarne donde la cantidad y proporciones de hidrocarburos alifáticos C10-C3 por kg de sedimento se determinaron mediante una cromatografía de gases/F.I.D.

Metales pesados

Muestreo y traslado idénticos al apartado previo pero en corer de plástico y recipiente de vidrio, respectivamente. Las concentraciones de: Cd, Cu, Fe, Hg, Pb y Zn por kg de sedimento se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Concentración de bacterias fecales

Se estimaron los percentiles 90 de las concentraciones de coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales de las muestras tomadas durante la temporada de baños de 99 en la playa de la Magdalena a partir de los datos cedidos por la Consejería de Sanidad del Gobierno de Cantabria.

Resultados y Discusión

Descripción de la patología

Animales superficialmente enterrados (generalmente a menos de 40 cm de profundidad en fase inicial y a menos de 25 cm en fase avanzada, distancias medidas desde extremo posterior de valvas). Adelgazamiento, pérdida de masa muscular y tejido hepatopancreático de leves a muy significativos. Movilidad muy reducida o nula. Sifones no autotomizables. Pies significativamente cortos y débiles. Olor pútrido. Gónadas de atresia significativa y folículos reducidos conteniendo gametos aparentemente funcionales. Mayor supervivencia de individuos de longitudes inferiores a 45 mm. En casos extremos, manto y región distal del pie traslúcidos debido a adelgazamiento extremo. Oscurecimiento de masa muscular y vísceras como indicativo de probable necrosis generalizada. Valvas y partes blandas fácilmente escindibles. Carencia de lesiones parasitarias en tejidos en fases iniciales que indiquen un origen parasitario.

Evolución de densidades

Densidad inicial de 8 ind · m⁻² que disminuyó progresivamente hasta los 0 ind · m⁻² de los dos últimos meses. En 1999 los mariscadores declararon una ausencia generalizada de *S. marginatus* en toda la bahía.

Metales pesados en sedimento

Se detectaron Fe, Pb y Zn en concentraciones superiores a los 10 mg · kg⁻¹. La concentración total de hidrocarburos alifáticos por kg no fue significativamente elevada (7,010 mg · kg⁻¹), pero se detectaron gasóleos pesados.

Bacterias fecales de playa la Magdalena en temporada de baños 99

Los percentiles 90 de las concentraciones de coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales fueron (UFC · 100 ml⁻¹): 7089, 871 y 837, respectivamente. Según la Directiva (2006/7/EC) las aguas costeras presentan una calidad pobre o insuficiente para el baño cuando dichos percentiles de *Escherichia coli* y enterococos intestinales superan los 500 y 185 (UFC · 100 ml⁻¹), respectivamente. En consecuencia, esta patología pareció ser de tipo multifactorial probablemente originada por una excesiva alteración antrópica del medio.

El Gobierno de Cantabria ha emprendido un plan de saneamiento integral de la bahía de Santander que prevé finalizar en el verano de 2009. El plan es una de las obras más emblemáticas de Cantabria, implica un gasto de 93 millones de euros y en 2020 dará servicio al 45% de la población regional e industrias ribereñas litorales (Zabala *et al.*, 1999; El Diario Montañés, 2009).

Agradecimientos

El autor agradece a las siguientes personas e instituciones: Mariscadores de la Cooperativa de Ambojo (Pedreña), Área de Zoología de la Universidad de Oviedo y especialmente a la Dra. Nuria Anadón Álvarez por su ayuda.

Bibliografía

- Cortés Posas M. 1998. *Caracterización y evaluación ambiental de microcontaminantes orgánicos en los sedimentos de la bahía de Santander*. Tesis doctoral, Universidad de Cantabria: 431 pp.
- El Diario Montañés. 2009. La última fase del saneamiento de la bahía finalizará este verano. *El Diario Montañés*. 35749: 17.
- Lastra Valdor M. 1991. *Cartografía y dinámica de la macrofauna bentónica submareal de los sustratos blandos de la bahía de Santander*. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela: 383 pp.
- Prieto M.D., López B., Juanes J.A., Revilla J.A., Llorca J., Delgado-Rodríguez M. 2001. Recreation in coastal waters: health risks associated with bathing in sea water. *Journal of Epidemiology and Community Health*. 55: 442-447.
- Zabala A., Rodríguez J., Tejero I., Álvarez C., Pantaleón M.J., Juanes J.A., Revilla J.A., De la Serna I. 1999. Saneamiento de la bahía de Santander. *Revista de Obras Públicas*. 3389: 29-47.

Registro de esporocistos, redia y cercaria de *Digenea* en manto perirenal y aparato excretor de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799). Caracterización como estadios parasitarios probables de *Gymnophallus fossarum* Bartoli, 1965 (Digenea: Gymnophallidae)

A. Remacha-Triviño

Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Área de Zoología. Universidad de Oviedo.
C/ Catedrático Rodrigo Uría, s/n. E-33071 Oviedo. Asturias. e-mail: tonirem@gmail.com

Abstract

This study shows different digenean parasite stages found within a renal cyst and perirenal mantle in a single specimen of *Solen marginatus* (Pulteney, 1799), collected in Villaviciosa estuary (Asturias, NW Spain). The infected perirenal tissues contained two morphologically-similar immature sporocysts. The renal cyst enclosed a single immature sporocyst different to the previous sporocysts and a first-described redia containing a first-described furcocercaria. We suggest that all parasite stages resolved here could belong to the same digenean species, being *Gymnophallus fossarum* Bartoli, 1965 (Digenea: Gymnophallidae) the most probable candidate, as the latter is the only known digenean species infesting the excretory system of *S. marginatus*, because all parasite stages described here were found in two nearby cysts, and also basing on morphological identities among sporocysts with respect to the corresponding stages of *G. fossarum*.

Introducción

Las navajas son bivalvos de interés económico relevante. *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) es parasitada por cuatro especies de Digenea (Bartoli, 1974), no encontrándose referencias sobre infestaciones alternativas de Aspidogastrea, Monogenea o Cestoda. Se descubrieron metacercarias de *Gymnophallus fossarum* Bartoli, 1965 (Trematoda: Digenea: Gymnophallidae) en el aparato excretor de poblaciones naturales de *S. marginatus* de Asturias (NO de España), Cantabria (N de España) y Huelva (SO de España), sugiriéndose el probable carácter panzoótico de dicha patología en España, al ser propagada por aves de las familias Laridae y Haematopodidae (Remacha-Triviño, 2007).

Esta comunicación identifica esporocistos, cercarias y redias de Digenea en manto perirenal y aparato excretor de *S. marginatus*. Su propósito es contribuir a una mejor comprensión de la localización histológica y del ciclo parasitario de estos trematodos, parásitos frecuentes de *S. marginatus*.

Material y Métodos

Muestras de *S. marginatus* se capturaron mensualmente con fisga o sal en la ría de Villaviciosa en 2006 y se fijaron en Davidson's 48 h. El análisis patológico se llevó a cabo mediante la extracción *in toto* de quistes de un único ejemplar. Los parásitos se deshidrataron en alcohol de 70° y creosota, se tiñeron con carmín acético de Semichon, se montaron sobre portaobjetos y se observaron al microscopio.

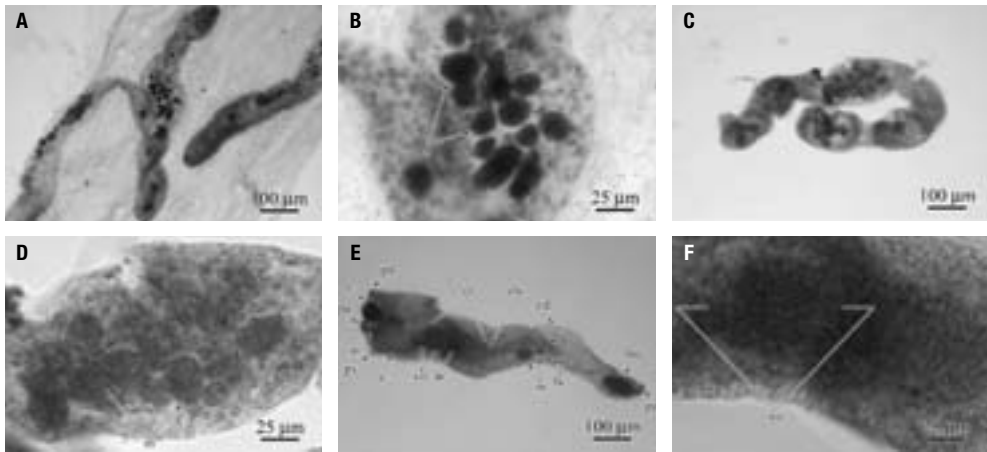
Resultados y Discusión

Se encontró tejido perirenal infectado y un quiste renal. El tejido perirenal infectado estaba situado en el manto interno a 3 mm del borde dorsal del nefridio y contenía dos esporocistos inmaduros (Fig. 1, a-b). El quiste renal albergó un esporocisto inmaduro diferente a los esporocistos previos y una redia conteniendo una cercaria furcocerca (Fig. 1, c-f).

Este estudio es el primer registro de una redia parasitando a *S. marginatus*. La furcocercaria encontrada presentaba diferencias morfológicas significativas en relación a las cercarias de Digenea que infectan *S. marginatus*, lo cual imposibilitó su determinación y sugiere que redia y furcocercaria podrían pertenecer a otra especie diferente. Sin embargo, basándonos en que la furcocercaria procedía de una redia nunca antes descrita, creemos más probable que ambos estados parasitarios formen parte del ciclo biológico de un Digenea conocido del bivalvo. Si consideramos factible que todas las fases parasitarias aquí descritas pertenezcan a la misma especie debido a su proximidad dentro del mismo individuo, *G. fossarum* podría ser el candidato más probable, al ser el único Digenea conocido que infesta el aparato excretor de *S. marginatus* (Remacha-Triviño, 2007).

Asimismo, la mayor parte de las características morfológicas de los esporocistos inmaduros encontrados coinciden con las descritas por Bartoli (1974) para los esporocistos de *G. fossarum*.

Figura 1. Estadios parasitarios de *Digenea* en aparato excretor de *S. marginatus*. (A): Esporocistos inmaduros. (B): Detalle de (A) mostrando esferas germinales. (C): Esporocisto inmaduro. (D): Detalle de (C) mostrando esferas germinales. (E): Redia conteniendo furcocercaria. (F): Detalle de (E) mostrando ventosa oral de cercaria. (a): anillo cefálico; (ac): acetabulario de cercaria; (bc): furca de cercaria; (bm): área muscular elíptica; (c): ciego intestinal; (cc): cuerpo de cercaria; (cd): cresta dorsal; (clc): cola de cercaria; (f): faringe; (m): esferas germinales; (pa): protuberancia ambulacral anterior; (pd): protuberancia ambulacral dorsal; (pp): protuberancia ambulacral posterior; (pv): protuberancia ambulacral ventral; (vo): ventosa oral de cercaria



Agradecimientos

El autor agradece a las siguientes personas e instituciones: Manuel García Tuya, Área de Zoología de la Universidad de Oviedo y especialmente a la Dra. Nuria Anadón Álvarez por su ayuda.

Bibliografía

- Bartoli P. 1974. *Recherches sus les Gymnophallidae F. N. Morozov, 1955 (Digenea), parasites d'oiseaux des côtes de Camargue: systématique, biologie et écologie*. Thèse, Université d'Aix-Marseille: 338 pp.
- Remacha-Triviño A. 2007. Presencia de *Gymnophallus fossarum* Bartoli, 1965 (Digenea: Gymnophallidae) en cuatro poblaciones naturales de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) de España. Evidencia de una probable panzootia. En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. Tomo II*. (25-28 de septiembre de 2007, Vigo, España): 1017-1020. Consejería de Agricultura y Pesca. Xunta de Galicia, España.

Efecto simbiótico de la inclusión en la dieta de levaduras e inulina sobre el sistema inmunitario de la dorada

M. Reyes-Becerril^{1,2}, F. Ascencio Valle¹, J. Meseguer² y M.A. Esteban²

¹ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Mar Bermejo, 195. Col. Playa Palo de Santa Rita. La Paz, B.C.S. 23090, México

² Grupo Sistema Inmunitario Innato de Peces. Departamento de Biología Celular e Histología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100 Murcia. España.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of dietary administration of the live yeast *Debaryomyces hansenii* strain L2+inulin on seabream (*Sparus aurata* L.) immune responses. Fish were fed control or *D. hansenii*-supplemented diets (10^6 CFU g⁻¹) plus inulin (3%). Humoral (complement, peroxidase and IgM), and cellular (peroxidase, phagocytic, respiratory burst) innate immune parameters were measured from serum and head-kidney leucocytes respectively, after two and four weeks of feeding. Expression levels of immune-associated genes were quantified by real-time PCR in skin, intestine, liver and head-kidney. L2+inulin supplementation only affected significantly the peroxidase in serum at week 4; although not significant, the highest values were recorded from the groups fed with *D. hansenii* L2+inulin. The experimental diet up-regulated the expression of most seabream genes at week 2 mainly in skin and in intestine and head-kidney at week 4. These results strongly support the idea that live yeast *Debaryomyces hansenii* strain L2 plus inulin can have a symbiotic effect in seabream.

Justificación

Los probióticos parecen ser inmunoestimulantes efectivo y se definen como microorganismos vivos, los cuales cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador (FAO, 2002). Por otra parte, los prebióticos son definidos como ingredientes no-digeribles que estimulan y activan el metabolismo de bacterias promotoras de salud en el tracto intestinal mejorando de esta manera el balance intestinal del hospedador. El suplemento combinado de probióticos y prebióticos conforman una relación simbiótica. Este nuevo concepto ha de ser investigado en de la acuicultura para poder determinar su efecto en organismos acuáticos y, en concreto, peces.

Materiales y Métodos

Cuarenta ejemplares de dorada (*Sparus aurata* L.) (100 ± 10 g), procedentes de la piscifactoría Culmarex S.A. (Águilas, Murcia), fueron distribuidos al azar en 2 grupos por duplicado. Un grupo fue utilizado como control (alimentado con pienso comercial) y el segundo grupo fue alimentado con pienso comercial suplementado en el laboratorio con levadura *Debaryomyces hansenii* (10^6 CFU g⁻¹) + inulina (3%) durante cuatro semanas, realizándose dos muestreos a la segunda y a la cuarta semana. Los muestreos consistieron en la extracción de riñón cefálico para aislamiento de leucocitos (10^7 células/ml) y análisis de las principales actividades del sistema inmunitario celular (actividad fagocítica, explosión respiratoria y peroxidasa en leucocitos) y la obtención de suero para el análisis de los principales parámetros del sistema inmunitario humoral (actividad lítica del complemento, niveles de IgM y peroxidasa sérica).

Resultados y discusión

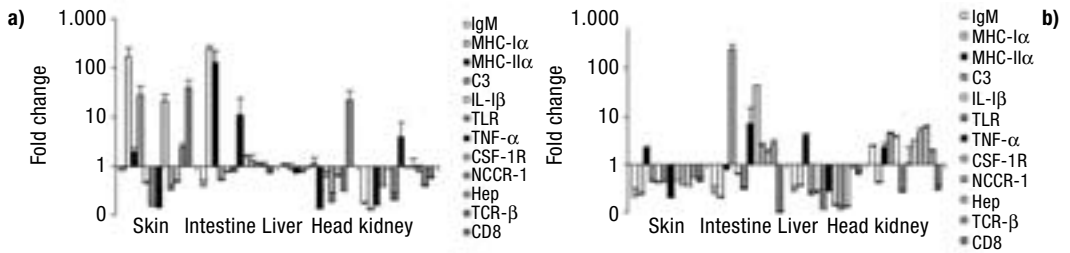
La suplementación en la dieta de la levadura+inulina no produjo ningún efecto estadísticamente significativo en los parámetros medidos, a excepción de la peroxidasa en suero que aumentó a la cuarta semana, en comparación con los valores detectados para el grupo control. Sin embargo, es de destacar que existe una tendencia al aumento en todos los parámetros medidos en ejemplares alimentados con la dieta experimental, con respecto a los obtenidos en ejemplares alimentados con la dieta control. Cerezuela *et al.*, (2008) observaron resultados similares tras administrar a ejemplares de dorada un prebiótico sólo, que también fué la inulina.

La expresión de genes cuantificados por PCR en tiempo real mostró una sobre-regulación de los genes evaluados principalmente a la cuarta semana en muestras de intestino pero, sobre todo, en riñón cefálico (Fig. 1a y b).

Agradecimientos

Esta investigación ha sido parcialmente financiada por el Ministerio Nacional de Ciencia e Innovación de España mediante el proyecto AGL2008-05119-C02-01 y por la Fundación Séneca de la Región de Murcia

Figura 1. Expresión de genes por PCR en tiempo real en peces alimentados con L2+inulina a la segunda semana (a) y cuarta semana (b) de suplementación



(número 10886). M Reyes es becaria Postdoctoral del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT beca 164653). Los autores agradecen a Rebeca Cerezuela y a Francisco Guardiola su asistencia técnica para la realización de los análisis de laboratorio.

Bibliografía

FAO. 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J., Esteban M.A. 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology* 24, 663-668.

Parásitos como potenciales patógenos del sargo picudo en la acuicultura española

N. Sánchez-García¹, B. García-García², J.A. Raga¹ y F.E. Montero³

¹ Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia. Apdo. 22085 Valencia.
e-mail: m.les.sanchez@uv.es

² Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CIDA)-Acuicultura. Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua de la Región de Murcia. San Pedro del Pinatar. Apdo. 65. 30740 Murcia

³ Universitat Autònoma de Barcelona. Cerdanyola del Vallés Barcelona. Apdo. 08193

Abstract

Strategies of aquaculture diversification result convenient to fight the oligoculture situation in Spain. In this situation results important to explore the biology of new culture species, including the potential parasite pathogens that could compromise the future cultures. This work has been focused in a parasitological study of the sharpnose seabream *Diplodus puntazzo* in the wild with the aim of knowing what parasites could produce production problems related with fish health. Wild *D. puntazzo* was found to be parasitized by three genera of parasites that can produce negative effects in a fish condition: The monogenean platyhelminth *Lamellodiscus* spp. produces moderate lesions in gill epithelia because the hooks and esclerites of their their attachment system. The trematode platyhelminth *Cardiocephaloides* sp., a brain parasite that can induce fish behaviour and swimming changes; and the copepod *Caligus* sp. a genera of ectoparasites that affects fish condition by skin feeding generating important economical losses in fish production.

Justificación

La acuicultura intensiva lleva asociada el aumento en la frecuencia e intensidad de las enfermedades (Fioravanti *et al.*, 2006). Actualmente se tienden a desarrollar cultivos de nuevas especies piscícolas, para diversificar la industria y permitir la expansión de los mercados. Una de las especies más interesantes en el contexto de diversificación es el sargo picudo (*Diplodus puntazzo* L.). En España, se han realizado estudios con larvas importadas y con juveniles para evaluar la viabilidad de esta especie (Hernández *et al.*, 2002). El cultivo de esta especie se encuentra todavía en su fase inicial pero ya han aparecido importantes enfermedades parasitarias como la enteromixosis (asociada a *Enteromyxum leei*, un mixozoo) que han provocado elevadas mortandades. La diversificación conlleva el estudio de patógenos emergentes que pueden comprometer el desarrollo del sector. Resulta necesario establecer cuáles son los patógenos potenciales de las nuevas especies y prever su efecto en los cultivos consolidados. El objetivo de este trabajo es el estudio de los parásitos metazoos que parasitan al sargo picudo en el medio natural, valorando la patogenicidad de cada uno de ellos. Esto permitirá prever que parásitos pueden resultar patógenos durante las condiciones intensivas de cría en cautividad.

Material y Métodos

Treinta sargos picudos capturados en el Mar Menor, Murcia, mediante pesca extractiva fueron congelados para su posterior análisis en fresco en el Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de la Universidad de Valencia (ICBIBE). Las branquias y los órganos internos fueron descongelados y examinados en solución salina mediante microscopio óptico. Los parásitos se aislaron y se conservaron en alcohol 70% para su examen morfológico e identificación. Los trematodos fueron teñidos con acetocarmin férrico y examinados en preparaciones permanentes montadas con bálsamo de Canadá. Los monogéneos fueron examinados en preparaciones semipermanentes de glicero-gelatina. Los mixozoos y crustáceos fueron analizados en fresco mediante observación en microscopio óptico. Para todas las especies parásitas detectadas, se calculó la prevalencia (P%), la intensidad (I) y la abundancia (A) de infección, excepto para el caso de los protozoos de los cuáles sólo se determinó presencia o ausencia.

Resultados y Discusión

Todos los peces examinados estaban infectados por algún parásito. Se aislaron un total de 16 especies diferentes. Los grupos predominantes fueron los monogéneos (7 especies) y los trematodos (6 especies).

El resto de grupos se encontraron en menor número: 1 especie de mixozoo y 2 de crustáceos (Tabla 1).

Algunas parásitos son potencialmente patógenos. Los monogéneos del género *Lamellodiscus* fueron los más abundantes, este género está compuesto numerosas especies que parasitan las branquias de todas los espáridos (Desdise *et al.*, 2002), y son muy comunes en el género *Diplodus* (Amine, Euzet y Keche-

Tabla 1. *Parásitos del sargo picudo*

Parásito	Riqueza de especies	Órganos infectados	A	P(%)	I
Monogenea	7	Branquias	6.265	100	209
Digenea	6	Branquias, intestino, ciegos, cerebro	447	80	19
Crustacea	2	Branquias	11	27	1,3
Mixozoa	1	Vesícula biliar	3	10	—

Riqueza de especies: n.º de especies encontradas. A: abundancia total. P(%): prevalencia. I: intensidad.

mir-Issad, 2006). Este género representan un cierto riesgo para la salud de los peces debido a su sistema de anclaje basado en un haptor formado por ganchos y por placas esclerotizadas (lamelas) que penetran en el interior del tejido branquial produciendo alteraciones más o menos extendidas con procesos inflamatorios y ulceraciones. Las metacercarias de trematodos digeneos del género *Cardiocephaloides* fueron encontradas en quistes del cerebro de la mayoría de los sargos picudos examinados. Un número elevado de *C. longicollis* produce alteraciones del comportamiento del pez para favorecer su transmisión a los hospedadores finales, aves marinas (Osset *et al.*, 2005). Los crustáceos copépodos *Caligus* sp. estaban presentes en las branquias. El grave efecto patológico que los calígidos producen ha sido descrito en numerosos trabajos (Costello, 2009); producen ulceraciones en el epitelio del pez y deja abiertas numerosas vías para el desarrollo de infecciones secundarias disminuyendo el factor de condición del pez y produciendo grandes pérdidas económicas. A pesar de que no se detectó la presencia del mixozoo intestinal *E. leei* éste sigue siendo el peligro principal para el desarrollo de este cultivo. El monogeneo poliopistocotileo *Sparycotyle chrysophrii*, especie cuya patogenicidad ha sido demostrada en cultivos mediterráneos de sargo picudo, tampoco fue encontrada (Mladineo y Marsiç-Luciç, 2007). En la cría en cautividad del sargo picudo en el Mediterráneo será necesario, controlar la posible presencia de mixozoos, monogeneos, metacercarias de trematodos y calígidos, que podrían producir pérdidas económicas en los futuros cultivos.

Agradecimientos

N. Sánchez-García disfruta de una *Beca V Segles* concedida por la Universidad de Valencia.

Bibliografía

- Amine F., uzet L., Kechemir-Issad N. 2006. Description de deux nouvelles espèces de *Lamellodiscus* Johnston & Tiegs, 1922 (Monogenea: Diplectanidae) du groupe morphologique «ignoratus», parasites de *Diplodus sargus* et *D. vulgaris* (Teleostei: Sparidae). *Systematic Parasitology* 64(1), 37-45.
- Costello M.J. 2009. The global economic cost of sea lice to the salmonid farming industry. *Journal of Fish Diseases*. 32(1), 115-118.
- Desdève Y., Morand S., Jousson O., Legendre P. 2002. Coevolution between *Lamellodiscus* (Monogenea: Diplectanidae) and Sparidae (Teleostei): the study of a complex host-parasite system. *Evolution* 56(12), 2459-2472.
- Fioravanti M.L., Caffara M., Florio D., Gustinelli A., Marcer F., Quaglio F. 2006. Parasitic diseases of marine fish: epidemiological and sanitary considerations. *Parassitologia* 48(1-2), 15-8.
- Hernández M.D., Martínez F.J., García García B. 2002. Sensory evaluation of sharpnout seabream (*Diplodus puntazzo*) raised in captivity. *Aquaculture International* 9 (6), 519-529.
- Mladineo I., Marsiç-Luciç J. 2007. Host switch of *Lamellodiscus elegans* (Monogenea: Monopisthocotylea) and *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Polyopisthocotylea) between cage-reared sparids. *Veterinary Research Communications* 31(2), 153-60.
- Osset E.A., Fernández M., Raga J.A., Kostadinova A. 2005. Mediterranean *Diplodus annularis* (Teleostei: Sparidae) and its brain parasite: unforeseen outcome. *Parasitology International* 54, 201-206.

Aislamiento de cepas probióticas para su uso en acuicultura

L. Sorroza, D. Padilla, L. Román, J. Vega, J. Bravo, V. Grasso, F. Real y F. Acosta

Instituto Universitario de Sanidad Animal. Transmontaña, s/n. 35413 Arucas. Gran Canaria.
e-mail: sorrozalita@yahoo.es

Abstract

The aquaculture industry is often affected by the presence of diseases that cause great losses in this sector. Probiotics are an alternative to using antibiotics. The aim of this study was to analyze *in vitro* bacterial strains isolated from gilthead sea bream (*Sparus aurata*), sole (*Solea solea*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and meagre (*Argyrosomus regius*) gut in order to evaluate possible probiotic effect. One gram amounts (wet weight) of the gut contents were homogenized and vortexed in 9 ml PBS and serial dilutions prepared, that were spread in different selective and non selective culture media, for growing the bacteria. All strains tests only D1, D10, DG1, L1, D3S1, L21, L6, LB1, and LC1 presented antibacterial effect against *Listonella anguillarum* and D3S1 has no effect against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and *Yersinia ruckeri*. These first tests allow us to select best candidates to be used as future probiotics, although *in vivo* studies are necessary to carry out.

Justificación

La acuicultura intensiva supone un mayor número de peces por volumen de agua, que sumado en muchas ocasiones a las malas condiciones higiénico-sanitarias, y junto al estrés de los animales, favorece la penetración y desarrollo de agentes patógenos, y como consecuencia, la aparición de enfermedades. Este problema conlleva pérdidas económicas muy elevadas en este sector, y en muchas ocasiones se produce un uso indiscriminado de antibióticos, con los problemas medioambientales que originan y la aparición de mecanismos de resistencia antibiótica en patógenos. En los últimos años, un gran número de investigaciones están enfocadas a la utilización de probióticos como medida preventiva o curativa en los cultivos de peces (Gómez-Gil, 2000). El objetivo de este trabajo es evaluar *in vitro* cepas bacterianas aisladas del intestino de diferentes especies de peces como dorada, lubina, lenguado y corvina, que posean efecto inhibitorio del crecimiento frente a *Listonella anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* y *Yersinia ruckeri*.

Material y Métodos

Se utilizaron cuatro especies de acuicultura como son dorada, lubina, corvina y lenguado. Se extrajo 1 g de intestino de cada una de las diferentes especies y se homogenizan cada una en 9 ml de PBS. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas 1:10 y se sembraron en diferentes medios de cultivo como BHI, TSA y MRS agar. Las placas son incubadas entre 24 horas y 1 semana, para posteriormente evaluar las diferentes cepas aisladas en función de su posible efecto inhibitorio frente a *Listonella anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* y *Yersinia ruckeri*.

Para ello, sembramos el patógeno en placa a una concentración de 10^7 ufc/ml, y se pone en contacto con 5 μ l de la posible cepa probiótica a testar. Transcurridas 24 horas de incubación se observa el posible halo de inhibición de crecimiento de los diferentes patógenos utilizados.

Resultados y Discusión

Se aislaron un total de 85 cepas diferentes entre las diferentes especies de peces muestreados, de las cuales únicamente 9 cepas presentaron efecto inhibitorio frente a alguno de los agentes patógenos analizados. De estas 9 cepas, 5 se aislaron de dorada (D1, D10, L1, DG, y D3S1), 2 de lenguado (L6, L21), 1 de lubina (LB1) y 1 de corvina. (LC1).

Las 9 cepas mostraron efecto inhibitorio del crecimiento frente a *Listonella anguillarum*, pero sólo 8 de ellas presentaron a su vez, inhibición frente a *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* y *Yersinia ruckeri* (Tabla 1). El efecto inhibitorio producido puede ser debido a diversos factores que pueden actuar de forma simple o combinada, como pueden ser la producción de antibióticos, bacteriocinas, sideróforos, lisozimas, proteasas, peróxido de hidrógeno o alteraciones en los valores del pH debido a la producción de ácidos orgánicos (Verschuere *et al.*, 2000).

En acuicultura existe un gran número de bacterias que pueden ser usadas como probióticos, tanto Gram positivas como Gram negativas, que han sido seleccionadas por ser inocuas e inhibir o limitar el crecimiento de diferentes patógenos (Robertson *et al.*, 2000). La producción de sustancias antibacterianas por par-

Tabla 1. Inhibición del crecimiento que producen la cepas bacterianas aisladas del intestino de diferentes especies de peces frente a *L. anguillarum*, *P. damsela* subsp. *piscicida* y *Y. ruckeri*

Especies	Cepas aisladas	Inhibición crecimiento
Dorada	D1, D10, L1, DG1 D3S1	<i>L. anguillarum</i> , <i>Photobacterium</i> y <i>Y. ruckeri</i> <i>L. anguillarum</i>
Lenguado	L6 y L21	<i>L. anguillarum</i> , <i>Photobacterium</i> y <i>Y. ruckeri</i>
Lubina	LB1	<i>L. anguillarum</i> , <i>Photobacterium</i> y <i>Y. ruckeri</i>
Corvina	LC1	<i>L. anguillarum</i> , <i>Photobacterium</i> y <i>Y. ruckeri</i>

te de las cepas probióticas es uno de los principales mecanismos de acción que producen la inhibición de dicho crecimiento (Lemos *et al.*, 1985).

En conclusión, nuestros resultados indican que podemos obtener posibles cepas probióticas de una gran variedad de especies de peces, y que estas cepas presentan efecto inhibitorio del crecimiento para varios agentes patógenos de la acuicultura marina y continental como *Listonella anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* y *Yersinia ruckeri*, independientemente de la especie de pez origen de la cepa probiótica. Estas cepas evaluadas podrían ser utilizadas como posibles probióticos en el control biológico de agentes patógenos bacterianos en acuicultura, si bien es cierto, son necesarias más pruebas *in vivo* e *in vitro* para su caracterización definitiva.

Bibliografía

- Gómez Gil B., Roque A., Turnbull J. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191, 259-270.
- Lemos M., Toranzo A., Barja J.L. 1985. Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolated from intertidal seaweeds. *Microbial Ecology* 11, 149-163
- Nikoskelainen S., Ouwehand C.A., Salminen S., Bylund G. 2001. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture* 198, 229-236.
- Niall G.N., Winston L., Horrst K. 2004. *In vitro* growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiology letters* 231, 145-152.
- Robertson P., O'Dowd C., Burrells C., Williams P., Austin B. 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 185, 235-243.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstratete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Review* 64, 655-67.

Nueva metodología para la detección en agua de *Lactococcus garvieae*

J.L. Tejedor³, L. Palacios¹, L. Zamora¹, V. Sánchez¹, L.J. F. Fernández-Garayzábal^{1,2},
A.I. Vela^{1,2}, Domínguez¹

¹ Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Universidad Complutense.
28040 Madrid. Spain. e-mail: luciapalacios@visavet.ucm.es

² Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040 Madrid. Spain.

³ Dibaq Diproteg S.A. Crta. de Navalmanzano a Fuentepeelayo, km 4,300. 40260 Fuentepeelayo. Segovia. Spain

Abstract

A methodology consisting of selective enrichment, DNA extraction, molecular detection by PCR and isolation in CNA agar was developed for detecting *Lactococcus garvieae* in water. This methodology allowed to isolate this pathogen in the 79.2% of the water samples analyzed. Isolates were characterized by PFGE in 44 different genetic profiles which present a genetic diversity of 0.69. The epidemic strain which causes disease in trout since 1994 in Spain was detected in several water samples, although only in the immediate surroundings of rainbow trout farms affected by lactococcosis.

Justificación

Una de las posibles vías de introducción de *Lactococcus garvieae* en una instalación es a través del agua de los ríos que abastecen a la piscifactoría. *L. garvieae* es una bacteria ubicua que se encuentra presente en el lodo de los ríos y en el agua con fuerte contenido de materia orgánica (Kusuda y Salati, 1999). También se ha conseguido aislar en los alrededores de las piscifactorías afectadas con lactococosis (Yasunaga *et al.*, 1982; Vela *et al.*, 2000) y se ha comprobado que este microorganismo es capaz de permanecer en el agua (Vela *et al.*, 2000). El origen de estas cepas pudieran ser los peces enfermos que eliminan la bacteria a través de las heces o bien cualquier otro reservorio presente en la naturaleza o medioambiente y en contacto con el agua contaminada. En este estudio hemos caracterizado aislados de *L. garvieae* procedentes de aguas de distintos ríos para estudiar y analizar las relaciones epidemiológicas existentes entre ellos.

Material y Métodos

Número de muestras

Se analizaron un total de 48 muestras de agua pertenecientes a 6 países diferentes: España (35), Italia (5), República Checa (3), Polonia (2), Francia (2) y Portugal (1). Las muestras españolas se dividieron en 10 muestras del agua de entrada y 6 de salida de piscifactorías de trucha arco iris; 16 del curso natural de ríos y 3 de aguas residuales de la balsa de decantación de depuradoras de la Comunidad de Madrid.

Metodología

La metodología para el aislamiento de *L. garvieae* fue la descrita por Tejedor (2008). 110 ml de cada muestra de agua se enriquecieron en 115 ml del medio de enriquecimiento MES-CNA (v/v), que se incubó a una temperatura de 30°C durante 48 h y en agitación a 150 rpm. Posteriormente, se realizó una extracción de ADN mediante el método ADN Fast DNA Modificado y una PCR basada en los trabajos de Mata *et al.* (2004) y Baeck *et al.* (2006). Todas las muestras positivas a la PCR se sembraron (VOLUMEN™) en el medio Agar Columbia (BioMerieux) para intentar el aislamiento de *L. garvieae*. De cada placa fueron seleccionadas un total de 3 a 5 colonias.

Caracterización genética

Para la caracterización genética mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE) se utilizó el protocolo utilizado por Vela *et al.* (2000).

Resultados y Discusión

Obtuvimos un elevado porcentaje de muestras de aguas de ríos, piscifactorías y depuradoras positivas a *L. garvieae* por PCR (79.2%). De estas muestras, se aislaron un total de 63 aislados: 22 de un total de 12 ríos españoles, 8 de 4 ríos italianos, 4 de 2 muestras de agua de ríos franceses, 3 de 2 ríos polacos y 1 ais-

lado de un río portugués. Respecto a los muestreos realizados en piscifactorías españolas, se consiguieron aislar 11 aislados en 5 muestras de agua de entrada y 8 aislados en 6 muestras de agua de salida. A este número habría que sumarle 6 aislados de dos muestras de aguas residuales. Estos resultados confirman la amplia distribución ambiental de esta bacteria.

El estudio de caracterización genética mediante PFGE mostró una elevada diversidad genética (0,69) entre los aislados de *L. garvieae*. En España circula una cepa epidémica de *L. garvieae* responsable de la mayor parte de los casos de lactococosis en trucha diagnosticados en España (Vela *et al.*, 2000). Seis aislados de *L. garvieae* recuperado del agua del entorno de tres piscifactorías con problemas de lactococosis mostraron mediante PFGE patrones de restricción indistinguibles de los de la cepa epidémica de truchas españolas. Podríamos asumir que los animales enfermos o portadores que eliminan *L. garvieae* al medio ambiente a través de las heces fueran el origen de estas cepas en el agua de salida. Este hecho concuerda con la transmisión fecal-oral demostrada en infecciones experimentales producidas en truchas (Romalde *et al.*, 1996).

Bibliografía

- Kusuda R., Salati F. 1999. *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*. Fish diseases and disorders. Vol 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections. Woo P.T.K., Bruno D.W. (eds). CAB International Publishing, Wallingford, U.K.
- Mata A.I., Gibello A., Casamayor A., Blanco M.M., Domínguez L., Fernández-Garayzábal J.F. 2004. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in Fish. *Applied of Environmental Microbiology* 70, 3183-3187.
- Tejedor J.L. 2008. Puesta a punto de una metodología para la detección de cocos gran positivos patógenos de peces en piensos compostos y muestras ambientales. Estudio de la presencia y caracterización de *Lactococcus garvieae* en estas matrices. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Romalde J.L., Magariños B., Nuñez S., Barja J.L., Toranzo A.E. 1996. Host range susceptibility of *Enterococcus sp.* strains isolated from diseased turbot: possible routes of infection. *Applied of Environmental Microbiology* 62, 607-611
- Vela A.I., Vázquez J., Gibello A., Blanco M.M., Moreno M.A., Liébana P., Albendea C., Alcalá B., Méndez A., Domínguez L., Fernández-Garayzábal J.F. 2000. Phenotypic and genetic characterization of *Lactococcus garvieae* isolated in Spain from lactococcosis outbreaks and comparison with isolates of the other countries and sources. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 3791-3795.
- Yasunaga N. 1982. Occurrence of *Streptococcus sp.*, a pathogen of cultured yellowtail, in muscle of sardine for diets. *Fish Pathology* 17, 195-198.

Aislamiento y caracterización de flavobacterias en alevines de trucha arcoíris con sintomatología clínica compatible con RTFS

L. Zamora¹, M.A. Palacios³, L. Palacios¹, A. Rodríguez^{1,2}, V. Sánchez¹, L. Domínguez¹,
J. F. Fernández-Garayzábal^{1,2}, A. I. Vela^{1,2}

¹ Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Universidad Complutense. 28040 Madrid. Spain.
e-mail: lzamoram@visavet.ucm.es

² Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040 Madrid. Spain

³ Piszolla, S.L. 37800 Alba de Tormes (Salamanca), Spain.

Abstract

Flavobacterium psychrophilum is the causative agent of two bacterial diseases with high significance in aquaculture, the cold water disease and rainbow trout fry syndrome (RTFS). RTFS is a septicemic disease, generally acute, that causes severe outbreaks in salmonids reared in hatcheries and fish farms worldwide and it is responsible for important economic losses. Up to now, *F. psychrophilum* is considered the only causative agent responsible for RTFS. Nevertheless, we have received in our laboratory a significant number of trout with clinical and epidemiological characteristics compatible with RTFS, in which *F. psychrophilum* was not isolated. On the other hand, we have isolated bacteria with phenotypic and phylogenetic characteristics compatible with members of the genus *Flavobacterium* although distinct from *F. psychrophilum*. Our results suggest that *Flavobacterium psychrophilum* may not be the only etiological agent responsible for RTFS, and that more than one bacterial species could be involved.

Justificación

Flavobacterium psychrophilum (antes conocido como *Cytophaga psychrophila* o *Flexibacter psychrophilus*) es el agente etiológico de dos enfermedades bacterianas de significación clínica en acuicultura, la enfermedad del agua fría y el síndrome del alevín de la trucha arco iris (rainbow trout fry syndrome, RTFS; Austin y Stoble, 1991). RTFS es una enfermedad septicémica de curso generalmente agudo que provoca brotes severos en salmónidos criados en piscifactorías a nivel mundial, incluido España, con importantes pérdidas económicas (Crumlish *et al.*, 2007). Hasta el momento *F. psychrophilum* se considera el único agente responsable de RTFS. Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos recibimos un número significativo de alevines con características clínicas y epidemiológicas compatibles con RTFS, en los que de manera sistemática no se aisló *F. psychrophilum*. Por tanto es imprescindible tener un conocimiento más amplio de los microorganismos implicados en dicha patología para establecer mecanismos de identificación eficaces y sentar las bases para posibles mecanismos de control en un futuro. En este estudio se ha realizado un abordaje múltiple destinado a identificar y caracterizar los microorganismos aislados en esta patología con el fin de establecer una asociación entre su aislamiento y el proceso clínico.

Material y métodos

Aislamiento bacteriano

Se analizaron 230 alevines de trucha arcoíris, remitidos a nuestro laboratorio en diferentes envíos en el periodo comprendido entre el 8 de mayo y el 24 de octubre del 2008. De cada pez se tomaron muestras de branquias e hígado que se sembraron en Agar TGE y se incubaron a 20 °C durante 5-7 días. Se aislaron todas las colonias de color amarillo-naranja cuya morfología macroscópica fuera similar a la de *F. psychrophilum*.

Identificación fenotípica y caracterización molecular

Para la caracterización bioquímica utilizamos el sistema comercial Api 20NE y una serie de pruebas (susceptibilidad al O/129, crecimiento a 15, 25, 30, 37 y 42°C, en agar nutritivo, agar marino y TSA) recomendadas para la diferenciación de microorganismos del género *Flavobacterium* (Bernardet y Bowman, 2006). La identificación molecular se realizó mediante la PCR anidada, específica para *F. psychrophilum* descrita por Wiklund *et al.* (2000). En 26 de los aislados se secuenció el gen que codifica para el 16S rRNA siguiendo los protocolos descritos por Vela *et al.* (2007). En algunos aislados se secuenció un fragmento 700 pb, mientras que en otros se secuenció el gen completo (1.500 pb). La caracterización molecular se realizó mediante la técnica de electroforesis de campo pulsado (PFGE), siguiendo la metodología descrita por Arai *et al.* (2007). La digestión del DNA se realizó con la enzima *Xho*I, siguiendo las recomendaciones del fabricante y la electroforesis se llevo a cabo en las siguientes condiciones: 200 V, pulsos 0,1-10 durante 20 h.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron un total de 52 aislados, 27 (51,9%) de branquias y 25 (48,0%) de hígado, que desarrollaban colonias en el medio TGE de una tonalidad amarillo/naranja. Tras realizar la PCR anidada, se obtuvo en la primera PCR el fragmento esperado para todos los aislados, no consiguiéndose una amplificación en la segunda PCR que era específica para *F. psychrophilum* y que implica que ninguno de los aislados se corresponde con esta especie bacteriana. El análisis de las secuencias del gen que codifica para el 16S ARN ribosómico de los aislados clínicos con las secuencias disponibles en las bases de datos encuadró todos los aislados en el género *Flavobacterium*. No obstante, se obtuvieron porcentajes de similaridad entre 95,4% y 96,3% con la especie tipo de *F. psychrophilum*, confirmando por tanto los resultados de PCR. El análisis de las pruebas bioquímicas mostró que todos ellos eran capaces de crecer a 22°C en TSA (a diferencia de *F. psychrophilum*), agar nutritivo y en caldo cerebro corazón a las temperaturas de 15, 25 y 30°C. Once de los aislados crecieron en agar marino y veinticuatro fueron sensibles al O/129. Todos hidrolizaron la esculina, utilizaron la glucosa y asimilaron el ácido cáprico y el ácido fenilacético en el API 20NE. En el resto de las pruebas incluidas en este sistema comercial obtuvimos resultados variables, lo que permitió agrupar los aislados en 22 perfiles bioquímicos, siendo uno de ellos predominante al incluir el 32% de los aislados.

Los resultados de caracterización genética mediante PFGE mostraron que casi el 60% de los aislados se encuadraron en tres perfiles genéticos diferentes (A-C), que incluyeron el 17,4%, 31,0% y 10,3% de los aislados, respectivamente. El resto de los perfiles incluyeron un menor número de aislados. Estos resultados sugieren que posiblemente *F. psychrophilum* no sea el único agente etiológico responsable del síndrome del alevín de la trucha arco iris, pudiendo estar implicadas otras especies bacterianas incluidas en el género *Flavobacterium*.

Bibliografía

- Austin B., Stoble M. 1991. Recovery of yellow pigmented bacteria from dead and moribund fish during outbreaks of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fry syndrome in England. *J Fish Dis* 14, 677-682.
- Bernardet J.F., Bowman J.P. 2006. The Genus *Flavobacterium*. In *The Prokaryotes, a Handbook on the biology of bacteria*, 3rd Ed., Vol. 7, pp. 481-531. Edited by Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.-H., Stackebrandt E. Springer-Verlag, New York.
- Crumlish M., Diab A.M., George S., Ferguson H.W. 2007. Detection of the bacterium *Flavobacterium psychrophilum* from a natural infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), using formalin-fixed, wax-embedded fish tissues. *J Fish Dis* 30, 37-41.
- Vela A.I., Fernández A., Sánchez-Porro C., Sierra E., Méndez M., Arbelo M., Ventosa A., Domínguez L., Fernández-Garayzábal J.F. 2007. *Flavobacterium ceti* sp. nov., isolated from beaked whales (*Ziphius cavirostris*). *Int J Syst Evol Microbiol* 57, 2604-2608.
- Wiklund T., Madsen L., Bruun M.S., Dalsgaard, I. 2000. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* from fish tissue and water samples by PCR amplification. *J Appl Microbiol* 88, 299-307.

Aplicación de marcadores microsatélite para el apoyo de la cría en cautividad del caballito de mar *Hippocampus guttulatus*

A. López¹, M. Planas², A. Vilar³, P. Martínez¹ y C. Bouza¹

¹ Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. Campus de Lugo.

Avenida Carballo Calero s/n. 27002 Lugo. España. E-mail: almuneda.lopez@usc.es

² Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC), Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo. España.

³ Aquarium Finisterrae, Paseo Marítimo s/n, 15002 A Coruña. España.

Abstract

A captive breeding program for the endangered seahorse *Hippocampus guttulatus* has been recently developed to support the conservation of this species in Galician coasts. Population and family genetic analyses, based on non-invasive sampling of the wild broodstock founded in captivity, have been carried out by means of microsatellite markers to avoid inbreeding and losses of genetic diversity in culture. The paternity analysis of the progenies obtained allowed the identification of parents involved in the matings, yielding information about the mating system in captivity for this seahorse species. The estimation of relatedness coefficients between pairs of offspring with known relatedness allowed the selection of the most suitable parentage estimator. This information is useful for the establishment and management of the broodstock and for designing groups of individuals with minimum kinship and maximum genetic diversity as possible.

Justificación

Los caballitos de mar (*Hippocampus* spp.) son peces teleósteos marinos singulares por muchas de sus características biológicas y morfológicas, que incluyen el cuidado paterno extremo, con posesión de una bolsa incubadora de huevos fecundados en los machos. La Convención Internacional sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres ha incluido todas las especies de caballitos de mar en la lista de especies amenazadas (<http://www.cites.org>). De las 33 especies descritas en el género, solamente dos habitan en el litoral español: *Hippocampus hippocampus* e *H. guttulatus*, siendo escasos los estudios genéticos realizados hasta la fecha en ambas especies. El presente estudio se integra en un proyecto de investigación centrado en la caracterización de poblaciones naturales atlánticas de *H. guttulatus* y en el desarrollo de la cría en cautividad como apoyo a su conservación (<http://www.iim.csic.es/proyectohippocampus>). En el presente trabajo se describe el análisis genético, en base a marcadores microsatélite, realizado como apoyo al desarrollo de la cría en cautividad de *H. guttulatus*.

Material y Métodos

Se recogieron muestras no invasivas de aleta dorsal y pedúnculos dérmicos de los individuos del stock de reproductores (Planas *et al.*, 2008). Durante 2006-2008, aplicando distintos tratamientos con varios progenitores candidatos por acuario (Planas *et al.*, 2008), se obtuvieron 381 descendientes distribuidos en 19 lotes larvarios. La extracción de ADN se realizó utilizando el método de Chelex[®]. Para realizar los análisis de paternidad, se amplificaron 7 loci hipervariables de los descritos previamente en *H. guttulatus* (*Hgu-USC2*, *Hgu-USC4-9*; Pardo *et al.*, 2007). La asignación de paternidad por acuario se realizó utilizando el programa CERVUS 3.0 (<http://www.fieldgenetics.com/pages/home.jsp>). A partir de los grupos familiares obtenidos se estimaron las frecuencias de alelos nulos y errores de genotipado que podrían originar falsas exclusiones. En las familias más grandes de hermanos completos se testó el ajuste a las proporciones mendelianas mediante χ^2 aplicando la corrección secuencial de Bonferroni. A partir de los grupos familiares de parentesco conocido, se evaluó la capacidad del panel de marcadores para estimar el coeficiente de parentesco (r), en base a dos estimadores recomendados en el escenario del estudio (conjunto familiar limitado y origen salvaje con predominancia de individuos no relacionados; Pino-Querido *et al.*, 2009; LR, Lynch y Ritland, 1999; W, Wang, 2002), y se valoró la influencia de la población de referencia utilizada (propia población vs. stock). En base a las estimas obtenidas con el programa SPAGeDI 1.2 (Hardy y Vekemans, 2002) se determinó el porcentaje de individuos de parentesco conocido (no relacionados, medios hermanos y hermanos completos) correctamente asignados.

Resultados y Discusión

En el análisis de paternidad realizado con el panel de 7 marcadores informativos y en el escenario particular de estabulación con pocos progenitores candidatos por tanque, todos los descendientes analizados fueron asignados a una única pareja (potencial de exclusión real: 100%). En algunos casos se identifica-

ron incongruencias con los padres putativos, debidas a alelos nulos (0,22%; locus *Hgu-USC7*) y errores de genotipado por *drop out* (0,09%; locus *Hgu-USC8*). En base a los lotes de hermanos completos más representados se confirmó el ajuste a la segregación mendeliana para todos los loci testados. El análisis de paternidad de los 19 lotes larvarios reveló finalmente 9 familias de hermanos completos, al asignar varias puestas consecutivas para 4 de los machos del stock, evidenciando, en todos los casos, el apareamiento con una única hembra de las disponibles en el acuario. Estos resultados son congruentes con los datos preliminares de Planas *et al.* (2008), que apuntan a la contribución de un único progenitor femenino por puesta y a su estabilidad temporal entre puestas, sugiriendo un sistema de apareamiento monógamo de *H. guttulatus* en cautividad, similar a lo descrito en otras especies de caballito de mar (Kvarnemo *et al.*, 2000; Wilson y Martin-Smith, 2007). Globalmente, los mejores resultados de asignación correcta en el análisis de parentesco oscilaron entre el 75% con el estimador W, utilizando el stock como población referencia, y el 80% con el estimador LR, usando la propia población como referencia. La asignación correcta para individuos no relacionados alcanzó el 90% con el estimador LR y la propia población como referencia. La evaluación de estos resultados permitirá extraer conclusiones respecto a la estimación de parentesco entre reproductores del stock, para optimizar su organización y diseñar cruzamientos, manteniendo la diversidad genética y minimizando la consanguinidad, acorde a los criterios en programas de conservación *ex situ*.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (CGL2005-05927-C03-03) y la Xunta de Galicia (PGDITO6PXIC261075PN). Nuestro agradecimiento a María López, María Portela, Sonia Gómez, Susana Sánchez y Lucía Insua por su apoyo técnico.

Bibliografía

- Hardy, O. J. y X. Vekemans. 2002. SPAGeDI: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*. 2: 618-620.
- Kvarnemo, C., G. I. Moore, A. G. Jones, W. S. Nelson y J. C. Avise. 2000. Monogamous pair bonds and mate switching in the Western Australian seahorse *Hippocampus subelongatus*. *Journal of Evolutionary Biology*. 13: 882-888.
- Lynch, M. y K. Ritland. 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics*. 152: 1753-1766.
- Pardo, B. G., A. López, P. Martínez y C. Bouza. 2007. Novel microsatellite loci in the threatened European long-snouted seahorse (*Hippocampus guttulatus*) for genetic diversity and parentage analysis. *Conservation Genetics*. 8: 1243-1245.
- Pino-Querido, A., M. Hermida, M. Vilarinho, C. Bouza y P. Martínez. En prensa. Statistical properties and performance of pairwise relatedness estimators using turbot (*Scophthalmus maximus* L.) family data. *Aquaculture Research*. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02344.x
- Planas, M., A. Chamorro, P. Quintas y A. Vilar. 2008. Establishment and maintenance of threatened long-snouted seahorse, *Hippocampus guttulatus*, broodstock in captivity. *Aquaculture*. 283: 19-28.
- Wang J. 2002. An estimator for pairwise relatedness using molecular markers. *Genetics*. 160: 1203-1215.
- Wilson, A. B. y M. Martin-Smith. 2007. Genetic monogamy despite social promiscuity in the pot-bellied seahorse (*Hippocampus abdominalis*). *Molecular Ecology*. 16: 2345-2352.

Búsqueda de variación genética en el rodaballo (*Scophthalmus maximus*) relacionada con la adaptación a diferentes condiciones de salinidad

R. Vilas, C. Bouza, M. Vera, A. Millán, P. Martínez

Departamento de Xenética, Universidade de Santiago de Compostela, Facultade de Veterinaria, Campus de Lugo, 27002 Lugo, Spain. Fax: +34 982 258641 email: roman.vilas@usc.es

Abstract

The study of the variation of 34 anonymous and 31 EST-associated microsatellites in four populations of turbot living along a gradient in salinity and temperature allowed identifying possible divergent selection effects on three genes: the fibroblast growth factor receptor, the NADPH oxidase subunit p47Phox, and the Leucotriene sintetase. These genes may be used as candidates to be involved in local adaptation to differences in salinity.

Introducción

Las poblaciones naturales de rodaballo se caracterizan por exhibir altas tasas de migración debido a la existencia de formas del ciclo vital pelágicas, altas fecundidades y tamaños de población relativamente elevados, características que sugieren altas tasas de flujo génico y, por consiguiente, una cierta homogeneidad genética a lo largo de amplias áreas geográficas (Blanquer et al., 1992; Bouza et al., 2002). El rango de distribución de esta especie incluye a dos conocidas barreras biogeográficas: la zona de transición Báltico/Mar del Norte, que separa áreas que difieren dramáticamente en salinidad, (Johannesson y André, 2006) y el frente Orán/Almería (Blanquer et al., 1992), que supone importantes diferencias en temperatura. Al menos existen dos hipótesis que pueden explicar la supervivencia del rodaballo en estas condiciones variables: (1) es posible que la adaptación local esté siendo impedida por el flujo génico, en cuyo caso la especie sobreviviría gracias a plasticidad fenotípica (Florin y Höglund, 2007); (2) también es posible que la migración esté fuertemente restringida para genes específicos debido a la adaptación local, de tal manera que aquellos alelos inmigrantes con menor aptitud sean eficazmente purgados por la selección natural (Nielsen *et al.*, 2004). Una forma de poner a prueba ambas hipótesis es realizar un escaneado genómico mediante marcadores independientes presumiblemente neutrales, asumiendo que aquellos estrechamente ligados a un gen afectado por la selección vayan a reflejar sus efectos. Concretamente, marcadores ligados a genes sometidos a selección disruptiva deberían manifestar un grado de diferenciación interpoblacional significativamente mayor que la expectativa neutral.

Materiales y métodos

Se analizaron 60 microsatélites (30 anónimos y 30 ligados a ESTs) en 190 individuos de 4 poblaciones ubicadas en el noreste del océano Atlántico: Mar Báltico, Mar del Norte, Mar Cantábrico y la costa atlántica gallega. El DNA fue extraído mediante métodos estándar de fenol-cloroformo. Los marcadores fueron escogidos de acuerdo con sus relaciones de ligamiento (Bouza et al., 2008). Para buscar posibles huellas de selección divergente aplicamos dos métodos estadísticos que asumen diferentes modelos poblacionales y hacen uso de distintos estimadores de divergencia poblacional: Fdist (Beaumont y Nichols (1996), que usa una distribución neutral de F_{ST} obtenida por simulaciones de coalescencia, y DetSel (Vitalis et al., 2001), el cual hace uso de una estima de identidad por descendencia. Con el fin de incrementar la fiabilidad estadística los análisis se hicieron por pares de poblaciones. En lugar de aplicar una corrección para tests múltiples, se tuvo en cuenta la posibilidad de falsos positivos adoptando una aproximación cualitativa similar a la seguida por Bonin et al. (2006). Así, sólo se consideraron outliers fiables aquellos que fueron estadísticamente significativos según ambos métodos en varios de los pares que involucraron poblaciones viviendo en hábitats distintos: agua salobre (Báltico) y salada (el resto de poblaciones). Además, algunos outliers pudieron ser descartados como falsos positivos mediante el análisis adicional de 5 microsatélites estrechamente ligados (menos de 1 cM). La aplicación de estos criterios constituyó una aproximación conservadora, ya que supuso el descarte del 80% de los outliers detectados.

Resultados y Discusión

Un total de cuatro marcadores, uno anónimo (Sma146) y tres ligados a genes (SmaE4, SmaE7, y SmaE12) fueron significativos con DetSel en al menos dos de las tres comparaciones a pares que involucran a la población del Báltico ($P < 0,001$). Estos outliers fueron confirmados con Fdist en varias comparaciones

($P < 0,01$), por lo que fueron considerados candidatos fiables. Sin embargo, el comportamiento outlier del único marcador anónimo no fue confirmado con el análisis de un marcador adicional estrechamente ligado (SmaE28). Así pues, los tres marcadores que parecen reflejar los efectos de la selección diversificante fueron marcadores ligados a genes, los cuales han sido anotados como aquellos que codifican para el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, la leucotrieno sintetasa, y la subunidad p47Phox de la NADPH oxidasa. Un análisis funcional de estos genes reveló que no parecen constituir una muestra aleatoria ($P < 0,1$), sino que están implicados en procesos de membrana, tal vez relacionados con la regulación osmótica. Estos resultados sugieren que las poblaciones de rodaballo de ambos lados de la zona de transición Báltico/Mar del Norte están diferencialmente adaptadas en presencia de niveles de flujo génico elevados (el valor de F_{ST} global para los marcadores anónimos, presumiblemente neutrales fue de 0,017). Los tres genes podrán ser utilizados como candidatos en análisis posteriores de la secuencia nucleotídica que permitan validar a la selección como la causa principal de su variación interpoblacional.

Agradecimientos

Agradecemos a Einar Nielsen y Michael Hansen el habernos proporcionado muestras del Mar del Norte y el Mar Báltico, y a Lucía Insua por su ayuda en el laboratorio. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PGIDIT06PXIB261178PR de la Xunta de Galicia y un contrato Parga Pondal concedido a R.V.

Bibliografía

- Beaumont, M.A y R.A. Nichols. 1996. Evaluating loci for the use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society, Series B: Biological Sciences*. 263: 1619-1626.
- Blanquer, A., J.P. Alayse, O. Berrada-Rkhami, y P. Berrebi. 1992. Allozyme variation in turbot (*Psetta maxima*) and brill (*Scophthalmus rhombus*) (Osteichthyes, Pleuronectiformes, Scophthalmidae) throughout their range in Europe. *Journal of Fish Biology*. 41: 725-736.
- Bonin, A., P. Taberlet, C. Miaud, y F. Pompanon. 2006. Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Biology and Evolution* 23: 773-783.
- Bouza, C., P. Presa, J. Castro, L. Sánchez, y P. Martínez. 2002. Allozyme and microsatellite diversity in natural and domestic populations of turbot (*Scophthalmus maximus*) in comparison with other Pleuronectiformes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 59: 1460-1473
- Bouza, C., M. Hermida, A. Millán, R. Vilas, M. Vera, C. Fernández, M. Calaza, B.G. Pardo y P. Martínez. 2008. Characterization of EST-derived microsatellites for gene mapping and evolutionary genomics in turbot. *Animal Genetics*. 39: 666-670.
- Florin, A.B y J. Höglund. 2007. Absence of population structure of turbot (*Psetta maxima*) in the Baltic Sea. *Molecular Ecology*. 16: 115-126.
- Johannesson, K., y C. André. 2006. Life on the margin: genetic isolation and diversity loss in a peripheral marine ecosystem, the Baltic Sea. *Molecular Ecology* 15: 2013-2029.
- Nielsen E.E., P.H. Nielsen, D. Meldrup y M.M. Hansen. 2004. Genetic population structure of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) supports the presence of multiple hybrid zones for marine fishes in the transition zone between the Baltic Sea and the North Sea. *Molecular Ecology*. 13: 585-595.
- Vitalis, R., K. Dawson, y P. Boursot. 2001. Interpretation of variation across marker loci as evidence of selection. *Genetics* 158: 1811-1823.

Precisión de la evaluación genómica para resistencia a enfermedades en programas de selección en acuicultura

B. Villanueva¹, J. Fernández¹, L.A. García-Cortés¹, L. Varona² y M.A Toro³

¹ Departamento de Mejora Genética Animal, INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria), Carretera de La Coruña km 7,5, 28040 Madrid, e-mail: villanueva.beatriz@inia.es

² Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

³ Departamento de Producción Animal, ETS Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid Ciudad Universitaria 28040 Madrid

Abstract

Genome-wide evaluation of breeding values offers new opportunities for improving disease resistance in aquaculture breeding programs. However, up to date studies on genome-wide evaluation have only considered traits with a continuous distribution of phenotypes. In this study we extend genomic evaluation methods to include dichotomous traits such as resistance to disease. The accuracy of genomic breeding values obtained with the threshold model (U) was compared, through stochastic computer simulations, with the accuracy obtained with a linear model using continuous (Lc) or dichotomous (Ld) phenotypes. It was shown that the advantage of using the threshold model is clear when dealing with dichotomous traits, particularly in testing populations.

Justificación

En la actualidad, existe un gran interés en la utilización de la evaluación genómica para identificar animales de alto mérito genético (e.j., Meuwissen *et al.*, 2001). Este método utiliza asociaciones de un gran número de SNPs situados a lo largo de todo el genoma con los fenotipos, sin tener que detectar previamente los loci que afectan al carácter de interés. En una primera etapa, los efectos de los SNP se estiman en una población de referencia en la que los individuos son genotipados y medidos para el carácter. En una segunda etapa, estas estimas son utilizadas para obtener estimas de los valores mejorantes de animales que sólo han sido genotipados (población evaluada).

Uno de los caracteres más importantes en acuicultura es la resistencia a enfermedades. Este carácter presenta una distribución discontinua de fenotipos (vivo o muerto) y es difícil de mejorar a través de selección convencional. Aunque la selección genómica tiene un gran potencial para la mejora de este tipo de caracteres, hasta el momento todos los estudios han considerado caracteres con fenotipos continuos. Los objetivos de este trabajo son: 1) extender el método de evaluación genómica para incluir caracteres dicotómicos; y 2) cuantificar, a través de simulación con ordenador, la precisión de las estimas genómicas de los valores mejorantes utilizando la metodología desarrollada.

Material y Métodos

Evaluación genómica. Sobre caracteres continuos, la evaluación genómica de los candidatos a la selección se realiza habitualmente utilizando el método BayesB (Meuwissen *et al.*, 2001). En este trabajo este método se ha extendido para incorporar el modelo umbral. Este modelo presenta un grado de dificultad mayor debido a que considera una variable subyacente continua equivalente al fenotipo de un carácter continuo convencional, pero la manifestación observable es de naturaleza discreta. Las soluciones se obtuvieron mediante el muestreo de Gibbs con un máximo de 50.000 iteraciones. Como prior se utilizó la distribución mezcla descrita en Meuwissen *et al.* (2001) que supone: a) que el 95% de los SNPs tienen efecto cero; y b) los SNPs con efecto se distribuyen con una χ^2 (4.234, 0.0429).

Simulación de la población. El genoma consistió de 10 cromosomas cada uno de un Morgan de longitud. En la población inicial (de censo efectivo 100), se simularon 1.000 SNP y 100 QTL bialélicos en cada cromosoma. Con el objetivo de generar una población en equilibrio mutación-deriva, se simularon 5.000 generaciones de apareamientos al azar con censo efectivo constante. Las tasas de mutación simuladas para SNP y QTL fueron $2,5 \times 10^{-3}$ y $2,5 \times 10^{-5}$, respectivamente. Después de las 5.000 generaciones iniciales, el tamaño de la población se aumentó hasta un total de 6.000 individuos. De estos, una muestra elegida al azar de 3.000 individuos constituyó la población de referencia y el resto constituyó la población evaluada. Se descartaron los loci con frecuencias alélicas menores de 0,05. El número final de SNP y QTL segregando fue alrededor de 8.000 y 30, respectivamente. La heredabilidad del carácter fue 0.30 en la escala subyacente (0,19 en la escala observada) y el umbral se situó en cero. La precisión de la evaluación se estimó como la correlación entre el valor mejorante verdadero y el estimado (ρ). El valor de ρ obtenido con el

modelo umbral (U) se comparó con los obtenidos con el modelo lineal utilizando fenotipos continuos (Lc) o dicotómicos (Ld).

Resultados y Discusión

La Tabla 1 muestra la precisión obtenida con los diferentes modelos de evaluación genómica. Los resultados para Lc se incluyen sólo a efectos de comparación, puesto que estos fenotipos continuos no son observables. Los valores obtenidos para ρ utilizando Lc concuerdan con los obtenidos por Nielsen *et al.* (2009), que en el contexto de acuicultura, han investigado la precisión de la evaluación genómica para un carácter continuo cuando los candidatos son sólo genotipados y los hermanos son genotipados y medidos. Para una heredabilidad de 0,4, ρ fue aproximadamente 0,65.

Tabla 1. Precisión de la evaluación genómica utilizando un modelo lineal con fenotipos continuos (Lc) o dicotómicos (Ld) y un modelo umbral (U)

Población	Lc	Ld	U
Referencia	0,66	0,41	0,58
Evaluada	0,58	0,09	0,51

Como cabe esperar, la ρ en la población de referencia fue siempre mayor que en la población evaluada. En la población de referencia, el modelo umbral resultó en una ρ considerablemente mayor (un 40%) que el modelo lineal utilizando el carácter dicotómico. La ventaja del modelo umbral resultó mucho más dramática en la población evaluada en donde ρ_{enLd} resultó muy baja. En resumen, la principal conclusión de este trabajo es que la ventaja de utilizar el modelo umbral es evidente cuando el fenotipo es de naturaleza discreta.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (proyecto CGL2006-13445-C02/BOS).

Bibliografía

- Meuwissen, T.H.E., B.J. Hayes y M.E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819–1829.
- Nielsen, H.M, A.K. Sonesson, H. Yazdi y T.H.E. Meuwissen. 2009. Comparison of accuracy of genome-wide and BLUP breeding value estimates in sib based aquaculture breeding schemes. *Aquaculture* 289: 259-264.

Polimorfismos en genes candidatos relacionados con el crecimiento y su asociación con caracteres cuantitativos en una población cultivada de dorada (*Sparus aurata*)

I. Sánchez-Ramos¹, I. Cross¹, G. Martínez-Rodríguez² y L. Rebordinos¹

¹Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Polígono Río San Pedro s/n 11.510, Puerto Real (Cádiz) e-mail: laureana.rebordinos@uca.es

²Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Puerto Real (Cádiz)

Abstract

Sparus aurata is one of the most important fish species cultivated in the Mediterranean region where the competition between producer companies and the strong increase in production have caused the selling prices of the product to fall. For this reason, breeding programmes to increase both the growth and homogeneity in the rate growth of individuals could be essential to reduce production costs. Therefore we studied the associations between PCR-RFLPs markers in candidate genes for growth in a commercial broodstock composed of 131 breeders and 375 offspring sampled during different life stages. We focused on five candidate genes which influence on growth characters, analyzed eleven gene fragments generated by PCR-RFLP and looked for significant associations between these markers and growth traits (fork length, body weight and condition index). Associations between the marker genotype at each RFLP locus and the phenotypic traits were tested by ANOVA and we found that the myostatin gene polymorphism showed a significant statistical association with growth traits. We also found that prolactin and myostatin genes presented linkage disequilibrium.

Justificación

El crecimiento de la dorada en las instalaciones de alta densidad no es uniforme, encontrándose una amplia distribución de tamaños. La búsqueda de genes candidatos que afecten al crecimiento está siendo uno de los objetivos más importantes en los últimos años, proponiéndose genes implicados principalmente en el eje somatotrópico del crecimiento y aquellos pertenecientes a la superfamilia de los factores de transformación del crecimiento (De-Santis y Jerry 2007). En este trabajo se eligieron cinco genes: Hormona de Crecimiento (*GH*), Factor de Crecimiento similar a la Insulina I (*IGF-I*), Prolactina (*PRL*), Miostatina-1 (*MSTN-1*) y Somatolactina (*SL*).

El objetivo del trabajo ha sido detectar y describir Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos de Restricción de los productos de amplificación (PCR-RFLP) de estos cinco genes candidatos. Una vez caracterizados se estudió la posible asociación entre ciertos alelos y la expresión fenotípica del carácter de interés (peso, talla o índice de condición). Si la asociación es significativa, se toma como una evidencia que el gen está directamente implicado en el control genético del carácter o bien, que el polimorfismo funcional está ligado al marcador (Lynch y Walsh 1997).

Material y Métodos

El material biológico utilizado estuvo formado por un stock de reproductores de 131 individuos y su descendencia de la empresa CUPIMAR S.A., situada en la Bahía de Cádiz. Un total de 375 individuos de la descendencia fue muestreada en distintos momentos de su desarrollo: (1) a los 112 días tras la eclosión se tomaron un total de 76 individuos (J_{112}); (2) a los 126 días se recogieron 72 individuos (J_{126}); (3) a los 635 días 108 individuos (A_{635}) y (4) a los 819 días 120 ejemplares (A_{819}). De todos los individuos muestreados se tomaron muestras de sangre o aleta y los datos de peso y talla con los que se calculó el índice de condición.

La obtención de ADN genómico se realizó según el protocolo descrito por Martínez *et al.* (1998). La amplificación de las distintas regiones de los genes se llevó a cabo con primers descritos por Almuly *et al.* (2000) para la GH, el resto de los primers fueron diseñados con Primer 3 (RozenySkaletsky 2000), a partir de las secuencias disponibles en el GenBank. Las reacciones de PCR y las digestiones con las enzimas de restricción se llevaron a cabo según Sánchez-Ramos *et al.* (2006). Para contrastar si existía alguna asociación significativa entre los caracteres biométricos y los RFLPs se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor con el programa SPSS 14.0 y el análisis de desequilibrio de ligamiento con el programa GENEPOP.

Resultados y Discusión

Todos los fragmentos amplificados fueron secuenciados, caracterizándose distintos tipos de polimorfismos (microsatélites y SNP) que podrían ser útiles en futuros programas de selección asistida por marcadores.

La mayoría de los RFLPs que mostraron asociación significativa con los caracteres cuantitativos estudiados se corresponden con el gen de la *MSTN*, lo que significa que este gen o está directamente implicado en el control genético de los caracteres estudiados, o el polimorfismo funcional se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el marcador.

Precisamente, se encontró desequilibrio de ligamiento entre la *MSTN* y la *PRL*, lo cual sugiere que estos loci, o bien están localizados en el mismo cromosoma, o bien están en diferentes cromosomas pero cierta combinación genotípica de los loci está selectivamente favorecida/desfavorecida. Esta asociación es muy interesante porque recientemente, Sarropoulou *et al.* (2007) han descrito un panel de híbridos por radiación (RH) en dorada y han localizado en el grupo RH24 los genes de la GH y de la PRL. Esta localización es muy interesante porque si el desequilibrio de ligamiento encontrado entre la *MSTN* y la *PRL* se debiera a que los dos genes están ligados en el genoma de dorada, podría haberse revelado un ligamiento entre tres genes candidatos a QTLs (Loci de Caracteres Cuantitativos) de gran interés como la *PRL*, la *MSTN* y la GH.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto Petri PTR1995-0648-OP-03-03 en colaboración con CUPIMAR S.A, becas de la Junta de Andalucía al grupo BIO-219 y gracias a una beca FPI de la Universidad de Cádiz concedida a I. Sánchez-Ramos.

Bibliografía

- Almuly, R., B. Cavari, H. Ferstman, O. Kolodny y B. Funkenstein. 2000. Genomic structure and sequence of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth hormone-encoding gene: Identification of minisatellite polymorphism in intron I. *Genome* 43: 836-845.
- De-Santis, C. y D. R. Jerry. 2007. Candidate growth genes in finfish - Where should we be looking? *Aquaculture* 272: 22-38.
- Lynch, M. y B. Walsh. 1997. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sunderland, Massachusetts, Sinauer.
- Martínez, G., E. M. Shaw, M. Carrillo y S. Zanuy. 1998. Protein salting-out method applied to genomic DNA isolation from fish whole blood. *BioTechniques* 24: 238-239.
- Rozen, S. y H. J. Skaletsky. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. S. Krawetz y S. Misener. Totowa, NJ, Humana Press: 365-386.
- Sánchez-Ramos, I., M. Barrios, I. Cross y L. Rebordinos. 2006. Identificación de RFLP en genes relacionados con el crecimiento en dorada *Sparus aurata* L., 1758. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 253-259.
- Sarropoulou, E., R. Franch, B. Louro, D. Power, L. Bargelloni, A. Magoulas, F. Senger, M. Tsalavouta, T. Patarnello, F. Galibert, G. Kotoulas y R. Geisler. 2007. A gene-based radiation hybrid map of the gilthead sea bream *Sparus aurata* refines and exploits conserved synteny with *Tetraodon nigroviridis*. *BMC Genomics* 8:44.

Identificación de la región determinante del sexo en rodaballo (*Scophthalmus maximus*)

P. Martínez¹, C. Bouza¹, L. Sánchez¹, A. Felip⁴, F. Piferrer⁵, I. Ferreiro⁶, M. Hermida¹, J. Fernández², M.A. Toro³, M. Vera¹, B.G. Pardo¹, A. Millán¹, C. Fernández¹, R. Vilas¹, A. Viñas¹ y Cabaleiro⁷

¹ Departamento de Xenética, Universidade de Santiago de Compostela (USC), Facultade de Veterinaria, Campus de Lugo, 27002 Lugo, e-mail: paulino.martinez@usc.es

² Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), 28040 Madrid

³ Departamento de Producción Animal, ETS Ingenieros Agrónomos, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid

⁴ Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (IATS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Ribera de Cabanes, 12595, Castellón

⁵ Institut de Ciències del Mar, Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Passeig Marítim, 37-49, 08003 Barcelona

⁶ Departamento I+D Stolt Sea Farm S.A, Lira, 15292 Carnota, A Coruña

⁷ Cluster de la Acuicultura de Galicia (CETGA), Punta de Couso s/n, 15965, Aguiño (Ribeira), A Coruña

Abstract

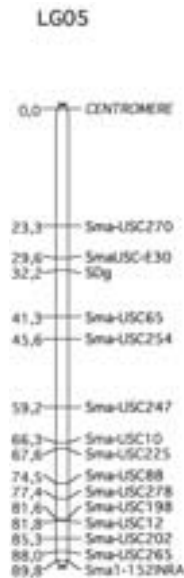
En este trabajo identificamos la principal región determinante del sexo (DS) en rodaballo mediante la detección de QTLs y marcadores asociados con el sexo en 5 familias. Esta región se localizó en el extremo proximal del grupo de ligamiento 5 (GL5) cercano al marcador SmaUSC-E30. Con este marcador fue posible sexar correctamente el 98,4% de los individuos en 4 de las 5 familias estudiadas. El refinamiento del mapa genético del GL5 sugiere que el gen responsable de la determinación del sexo (Gds) en rodaballo se localiza a 2.6 cM y 1.4 Mb de este marcador. El análisis genómico comparado contra 5 especies modelo demostró una posible relación con el par sexual de tilapia (*Oerochromis* spp.). El análisis de segregación de los marcadores más próximos al Gds demostró un mecanismo de determinación cromosómica de tipo ZW/ZZ. Este modelo explicaría la mayor parte de los datos previos relacionados con las proporciones sexuales en triploides, ginogénéticos y progenies de padres revertidos hormonalmente. Una pequeña proporción de familias no se ajustó exactamente al modelo lo que sugiere la existencia de algún otro factor genético menor o ambiental en la determinación sexual de rodaballo.

Justificación

La determinación del sexo en peces puede estar influenciada por factores genéticos y ambientales, aunque el factor genético es usualmente el mecanismo primario. Un único gen, unos pocos genes o un sistema poligénico han sido descritos para explicar la determinación del sexo en este grupo (Penman y Piferrer, 2008). Por otro lado, los mecanismos de determinación sexual pueden evolucionar rápidamente en peces, de forma que especies del mismo género o incluso poblaciones de una misma especie pueden mostrar mecanismos diferentes. Esto significa que los genes maestros responsables del desencadenamiento de la diferenciación gonadal pueden cambiar rápidamente en peces por procesos de selección sexual (Peichel *et al.*, 2004). Las nuevas estrategias genómicas permiten el rastreo masivo de los genomas (Cnaani *et al.*, 2004), lo que ha posibilitado la identificación de las regiones DS en 8 especies de peces. El rodaballo es una de las especies principales de la Acuicultura española. En esta especie las hembras crecen más rápidamente que los machos, de ahí el interés de la industria por obtener poblaciones todo-hembras. Mecanismos de tipo ZW/ZZ y XX/XY han sido propuestos para explicar las proporciones sexuales observadas en progenies manipuladas cromosómica y/o hormonalmente. La elucidación del mecanismo de determinación sexual en esta especie aporta nuevos datos para comprender la evolución de este carácter en peces y proporciona una herramienta fundamental para la mejora de su cultivo.

Material y Métodos

Se utilizaron 5 familias F2 para la búsqueda de QTLs y asociaciones de marcadores al sexo. Los peces fueron sexados mediante inspección visual de las gónadas a los 8 meses o por palpación en la época de maduración gonadal. Se utilizó un panel de 98 microsatélites para la identificación de QTLs en dos de las familias. En las otras tres se estudió la asociación de marcadores ligados a QTLs con el sexo. Para este análisis se utilizaron respectivamente, el programa GRIDQTL 1.3.2 y test de chi-cuadrado a nivel genotípico y alélico. Tras la identificación de la región DS en el GL5, se realizó un mapeo refinado del mismo utilizando la metodología descrita por Bouza *et al.* (2007) y Martínez *et al.* (2008). Para el análisis genómico comparado, las secuencias de los marcadores del GL5 se compararon mediante NCBI-BLAST contra los genomas

Figura 1. Localización del gen determinante del sexo en rodaballo

de las siguientes especies modelo: *Tetraodon nigroviridis*, *Takifugu rubripes*, *Danio rerio*, *Oryzias latipes* y *Gasterosteus aculeatus* ($E < 10^{-5}$). Para el análisis de segregación se utilizaron los marcadores más próximos a la región DS en todas las familias.

Resultados y Discusión

Se detectó un único QTL significativo a nivel genómico asociado con el sexo. Este mostró asociación máxima en el extremo proximal del GL5, muy próximo al marcador SmaUSC-E30 (Figura 1). El mapeo fino realizado permitió posicionar el Gds en esta especie a 2,6 cM y 1,4 Mb de este marcador. El estudio genómico comparado sugiere una consistente homología con el GL 23 de tilapia donde se localizaron QTLs asociados con el sexo en esta especie. El análisis de segregación demostró un sistema de tipo ZW/ZZ en todas las familias. El marcador SmaUSC-E30 está siendo utilizado en programas de selección genética en diversas aplicaciones relacionadas con el superior crecimiento de las hembras de esta especie.

Bibliografía

- Bouza, C., M. Hermida, B. G. Pardo, *et al.* 2007. A microsatellite genetic map in the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Genetics* 177: 2457-2467.
- Cnaani, A., N. Zilberman, S. Tinman, *et al.* 2004. Genome-scan analysis for quantitative trait loci in an F2 tilapia hybrid. *Mol. Gen. Genomics* 272: 162-172.
- Martínez, P., M. Hermida, B. G. Pardo, *et al.* 2008. Centromere-linkage in the turbot (*Scophthalmus maximus*) through half-tetrad analysis in diploid meiotogynogenetics. *Aquaculture* 280: 81-88.
- Peichel, C. L., J. A. Ross, C. K. Matson, *et al.* 2004. The master sex-determination locus in three-spined sticklebacks in on a nascent Y chromosome. *Curr. Biol.* 14: 1416-1424.
- Penman, D. J. y F. Piferrer. 2008. Fish gonadogenesis. Part I: Genetic and environmental mechanisms of sex determination. *Rev. Fish Sci.* 16(S1): 16-34.

Clonación y distribución de la expresión de dos criptocromos de lubina

J.A. Sánchez¹, A. Del Pozo¹ y F.J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, 30100 Murcia. e-mail: jasanchez@um.es

Abstract

The European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is a very important species in aquaculture that shows a flexible circadian system. In this study, two clock genes, *cry1* and *cry2*, were cloned, and their expression in different tissues (brain, liver, heart, gills, retina, muscle and spleen) was investigated through PCR. The results revealed that both genes were expressed in all the analyzed tissues. Furthermore, these data are point to the importance of cryptochromes in the synchronization of circadian rhythms, and especially in the seasonal phase inversions of the European sea bass.

Justificación

La lubina es una de las especies de mayor interés en acuicultura. Esta especie presenta un sistema circadiano flexible, mostrando alimentación diurna desde primavera a otoño, y cambiando a nocturna en invierno (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998). A pesar de los numerosos estudios sobre estas inversiones estacionales, se desconocen los procesos biológicos que las inducen.

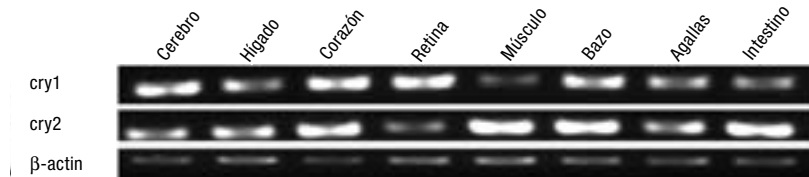
El sistema circadiano de teleósteos, ha sido muy estudiado en pez cebra. En esta especie todos los tejidos contienen osciladores circadianos que responden directamente a la luz y que se sincronizan al fotoperiodo independientemente (Whitmore *et al.*, 1998). Se ha sugerido que los criptocromos podrían participar en la sincronización a la luz de éstos relojes moleculares, pero su modo de acción continúa siendo desconocido. Los criptocromos fueron caracterizados inicialmente como fotorreceptores de luz azul y se ha sugerido que podrían participar en la sincronización de los relojes moleculares al fotoperiodo (Stanewsky *et al.*, 1998). Como paso previo para discernir la importancia de los criptocromos en la sincronización de los ritmos circadianos y en las inversiones estacionales de la lubina, este trabajo tiene como objetivo clonar dos genes reloj, *cry1* y *cry2* de dicha especie, y estudiar la distribución de la expresión en diferentes tejidos.

Material y Métodos

Para este estudio se utilizaron lubinas con un peso medio de 400 g., que fueron mantenidas en tanques de 500 litros bajo un fotoperiodo 12L:12D, con el encendido de las luces a las 9:00 horas. Después de dos semanas de aclimatación a estas condiciones, los peces fueron anestesiados y diseccionados a las 13:00 h (en mitad de la fase de luz). Se tomaron muestras de cerebro, hígado, corazón, tracto digestivo, agallas, retina, musculo y bazo, que fueron congeladas a -80°C en Trizol (Invitrogen). Estas muestras fueron posteriormente homogeneizadas y se llevo a cabo la extracción del RNA total el kit PureLink Micro-to-Midi Systems (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante. Dos EST presentes Genbank fueron identificados con putativos genes *cry* de lubina, a partir de un BLAST utilizando los genes *cry* de pez cebra. Estas dos secuencias fueron utilizadas para el diseño de primers, con el objetivo de clonar totalmente estos genes. Para ello se llevo a cabo la PCR 3' y 5'RACE a partir de RNA total de cerebro. Los productos obtenidos fueron clonados en el vector TOPO-TA (invitrogen) y secuenciados. Las secuencias completas obtenidas fueron posteriormente amplificadas y re-secuenciadas utilizando primers específicos. Después, estas secuencias fueron analizadas y comparadas con las secuencias presentes en las bases de datos. La determinación de la distribución de expresión de los genes *cry1* y *cry2* en lubina fue llevada a cabo mediante RT-PCR. Un microgramo de RNA total de cada muestra fue tratado con DNasa I y se utilizó para la síntesis de cDNA usando la enzima SuperScript III (Invitrogen). A continuación, se llevo a cabo la PCR para cada uno de los tejidos y los productos obtenidos fueron sometidos a electroforesis en un gel de agarosa.

Resultados y Discusión

En este trabajo se llevó a cabo la clonación de dos genes que codifican para criptocromos de lubina, los cuales presentan una alta homología con los genes *cry1* y *cry2* de teleósteos. El análisis de la distribución expresión de estos genes en diferentes tejidos reveló que ambos son expresados en todos los tejidos analizados (cerebro, hígado, corazón, tracto digestivo, agallas, retina, musculo y bazo). Sorprendentemente, la expresión de los genes *cry1* y *cry2* en lubina apareció tanto en tejidos nerviosos (cerebro y retina), como

Figura 1. Expresión de *cry1* y *cry2* en lubina.

en tejidos periféricos internos, los cuales difícilmente quedarán expuestos a la luz, lo que podría sugerir que carecen de función fotorreceptora. Sin embargo, estos resultados confirman los resultados obtenidos en pez cebra, en los que se muestra que la expresión de los genes reloj, incluyendo los cryptocromos, ocurre tanto en cerebro como en tejidos periféricos apoyando la hipótesis de que los peces presentan un sistema circadiano altamente descentralizado.

Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar si la presencia de estas proteínas en los diferentes tejidos, está implicada en los mecanismos de sincronización de los relojes moleculares. Además, este experimento sienta las bases necesarias para profundizar en el estudio de los mecanismos de sincronización por luz de los relojes moleculares de lubina y de las posibles implicaciones de la luz y el fotoperíodo mediados por cryptocromos, en las inversiones de comportamiento de lubina.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL 2007-66507-C02-02 y "Aquagenomics" (nº 28502) del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

- Sanchez-Vazquez FJ, Azzaydi M, Martinez FJ, Zamora S, Madrid JA. (1998). Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiol. Int.* 15: 607-622
- Whitmore D, Foulkes NS, Strahle U, Sassone-Corsi P. (1998). Zebrafish Clock rhythmic expression reveals independent peripheral circadian oscillators. *Nat. Neurosci.* 1: 701-707
- Stanewsky R, Kaneko M, Emery P, Beretta B, Wager-Smith K, Kay SA, Rosbash M, Hall JC. (1998). The *cryb* mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell.* 95: 681-92.

Creación y evaluación de lotes de reproductores de dorada (*Sparus aurata*) en base a la tasa de crecimiento de su descendencia y a la asignación de paternidades

V. Gallego¹, Y. Borrell², C. García-Fernández², I. Mazzeo¹, L. Pérez¹, J.F. Asturiano¹, J.A. Sánchez² y G. Blanco²

¹ Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n 46022, Valencia. E-mail: jfastu@dca.upv.es

² Departamento de Biología Funcional. Laboratorio de Genética Acuicola. IUBA, Universidad de Oviedo. C/Julían Clavería s/n. 33071, Oviedo.

Abstract

Two gilthead seabream (*Sparus aurata*) broodstocks were formed considering phenotypic characteristics and using a combinatorial optimization approach after microsatellites study. Progenies from these broodstocks were divided in heads and tails of a curve of growth performance and raised until 80 and 525 days post-hatching. Microsatellites analyses allowed the parental assignment of fish sampled at both ages. High variance in family size and a large number of non-contributing fish were found in both broodstocks, possibly as a result of a hierarchy behaviour between breeders that lead to small effective population size and a high rate of inbreeding in offspring. It is necessary to apply new techniques in the hatcheries populations to increase the number of true parents.

Justificación

Las empresas piscícolas presentan un escaso desarrollo genético, tanto por la manera de establecer sus lotes de reproductores, a partir de individuos de poblaciones naturales, como por el desconocimiento de las relaciones de parentesco entre sus individuos. Este estudio se planteó con la finalidad de iniciar un programa de mejora genética con la creación y evaluación de lotes de reproductores en base a la tasa de crecimiento de su descendencia y al empleo de marcadores genéticos para la asignación de paternidades.

Material y métodos

En enero de 2004, tras 18 meses de crecimiento en jaulas marinas propiedad de Granja Marina Safor, S.L. (Gandía, Valencia), 385 doradas fueron seleccionadas considerando características fenotípicas: peso y ausencia de deformidades esqueléticas o enfermedades. Los peces fueron marcados con microchips y genotipados mediante una PCR multiplex para loci microsatélites según Borrell *et al.* (2007). En marzo de 2006 parte de estas doradas se trasladaron a la *hatchery* Piscicultura Marina Mediterránea, S.L. (Burriana, Castellón) donde se establecieron 2 lotes de reproductores (38-40 individuos/lote). En abril de 2007 dos puestas obtenidas de estos lotes fueron cultivadas en las condiciones habituales de la *hatchery*.

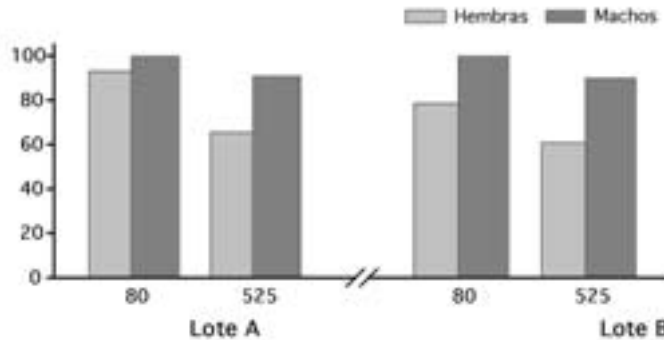
Aproximadamente 80 días después de la eclosión, los alevines fueron sometidos a un primer proceso de selección que consistió en una criba por tamaño (ancho del cuerpo) utilizando distintos tamices. Este proceso permitió seleccionar en cada lote a los alevines que se encontraban en ambos extremos de la curva de crecimiento (cabezas/colas). Se anotaron los pesos de 96 alevines de cada uno de los 4 grupos y un fragmento de aleta fue conservado en etanol para su análisis genético y la asignación de paternidades.

Con 160 días de edad los peces fueron trasladados a las instalaciones de la UPV donde se mantuvieron en condiciones intensivas de crecimiento. En una etapa intermedia del proceso de engorde los peces fueron sometidos a un segundo proceso de selección por peso para volver a seleccionar a los que se encontraban en los extremos de la curva de crecimiento. A la edad de 525 días se tomaron los pesos de todos ellos y un fragmento de aleta fue conservado en etanol para su análisis genético y la asignación de paternidades.

Para evaluar la diferente contribución de cada reproductor (macho y/o hembra) a los distintos tipos de descendencias (cabezas/colas) se utilizaron dos aproximaciones: un coeficiente de incertidumbre y una correlación no lineal (Eta), ambos disponibles en el paquete estadístico SPSS13.0.

Resultados y discusión

Más del 90% de los machos contribuyeron a la progenie tanto a los 80 como a los 525 días de edad, mientras que un 30-35% de las hembras dejaron de contribuir a la descendencia a los 525 días en ambos lo-

Figura 1. Proporción de reproductores que participan en las puestas a los 80 y 525 días de desarrollo.

tes (Fig. 1). Las asignaciones parentales también revelaron que más del 50% de los descendientes de cada puesta procedían de un grupo reducido de reproductores, formado únicamente por 3-5 hembras y 2-3 machos de los 38-40 ejemplares que componían cada lote. Los resultados obtenidos pueden explicarse fruto de las interacciones inter e intrasexuales que se generan entre los individuos que componen un lote, fenómeno ya descrito en otras especies de espáridos, donde los niveles jerárquicos establecidos entre los reproductores afectan notablemente al tamaño efectivo de la población (Brown *et al.*, 2005). Estos factores suponen que ambos lotes presenten un tamaño reducido de la población efectiva, que puede derivar en problemas de consanguinidad en la descendencia. Por ello, es necesario introducir nuevos métodos de manejo en las *hatcheries* que incrementen el número de parentales que contribuyen en cada puesta.

Por otra parte, el hecho de pertenecer a la clase cabezas/colas a los 80 días es explicado en un 13-26% por tener unos determinados padres. Sin embargo, a los 525 días, el pertenecer a una clase u otra es explicado en un 21-41% por tener un padre/madre determinado. Además, las hembras presentan mayor influencia que los machos sobre la clase a la que pertenecerá su descendencia (datos no mostrados).

Cabe destacar que los resultados alcanzados hasta el momento poseen un carácter parcial debido a que los datos obtenidos corresponden a un único día de puesta por lote, por lo que este trabajo deja abiertas algunas cuestiones que podrían ser abordadas en futuros estudios analizando sucesivas puestas a lo largo del periodo reproductivo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por los Proyectos Coordinados *CRIOGEN*, *SELECTSPARUS* y *SELECTBREAM* (AGL2007-64060-C03-00) del MICINN. V. Gallego disfruta de una Beca de Posgrado de la Universidad Politécnica de Valencia; I. Mazzeo disfruta de una Beca FPI de la Generalitat Valenciana; C. García-Fernández disfruta de una beca FPU del MICINN. Agradecer al personal de Granja Marina Safor, S.L. (Gandía, Valencia) y Piscicultura Marina Mediterránea, S.L. (Burriana, Castellón) su colaboración en el mantenimiento y cuidado de los animales.

Bibliografía

- Borrell, Y., C. Carleos, J.F. Asturiano, D. Bernardo, E. Vázquez, N. Corral, J.A. Sánchez y G. Blanco. 2007. Use of microsatellites and a combinatorial optimization approach in the acquisition of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) broodstocks for hatcheries. *Aquaculture*. 269: 200-210
- Brown R.C., J.A. Woolliams y B.J. McAndrew. 2005. Factors influencing effective population size in commercial populations of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*. 247: 219-225

Estimas de heredabilidades y correlaciones genéticas de caracteres de crecimiento y calidad e interacción GxA, en dorada (*Sparus aurata* L.)

A. Navarro¹, M.J. Zamorano¹, S. Hildebrandt¹, R. Ginés¹, M. Soula¹, D. Negrín-Báez¹, I. Lee¹, R. Badilla¹, C. Aguilera² y J.M. Afonso¹

¹Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA). Carretera Trasmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas. anadeagaete@gmail.com

²IRTA. Centro de Acuicultura. Ctra. Poble Nou Km 6, 43540 San Carlos de la Rápita, Tarragona.

Abstract

Heritabilities and genetic correlations in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), for growth and body composition traits and the GxE interaction were estimated at harvest size, from the offspring reared at two facilities with different production systems (cages and tanks) in the Canary Islands. A total of 867 offspring from an industrial mass-spawning of 66 broodstocks were analysed. Parental assignment showed a total of 89 full-sib families and was inferred using microsatellites. GxE interaction was null for all traits. Heritabilities were medium for growth and carcass traits, low for meat quality traits and high for the visceral fat. These values, the simplicity of measurement and meaning of genetic correlations between traits, suggest that the implementation of genetic improvement for economic traits in gilthead seabream is feasible without changing the production system of the industry through the development of selection indexes for growth and quality.

Justificación

La dorada (*Sparus aurata* L.) es una de las especies marinas más importantes de la acuicultura europea, en cuyos sistemas de producción no está implementada la mejora genética de caracteres de interés comercial. El objetivo de este estudio es estimar por primera vez parámetros genéticos (heredabilidades y correlaciones genéticas), bajo condiciones industriales de cultivo.

Material y Métodos

Una puesta masal de un stock comercial de 66 reproductores, fue sembrada en el ICCM (Gran Canaria). A los 130 días, los alevines se llevaron a una jaula de la empresa Playa de Vargas 2001 S.L. (PLV2001, Gran Canaria), y una muestra permaneció en tanques en el ICCM, donde se cultivaron según Navarro *et al.* (2009). A los 509 días, los peces del ICCM (N=472) y una muestra de PLV2001 (N=395) fueron analizados para crecimiento y calidad. La asignación parental se determinó según Navarro *et al.* (2008). Los parámetros genéticos se estimaron con un modelo animal, siendo el tanque y la instalación efectos fijos y el animal efecto aleatorio (Kováč *et al.*, 2002). Las interacciones GxA se estimaron a través de ANOVA y la correlación genética entre las medias familiares de un carácter en ambas instalaciones.

Resultados y Discusión

Las interacciones GxA, a través del método I, fueron todas no significativas ($P > 0,05$), y mediante el método II, las correlaciones genéticas variaron entre 0,70 y 0,99 para los caracteres de crecimiento, 0,90 y 0,99 para los de la canal y 0,15 y 0,81 para los de calidad. Los resultados de la Tabla 1 sugieren que El peso y la longitud son criterios igualmente válidos para la selección, si bien se propone la longitud por ser un carácter más fácil de medir; A través de la selección para el crecimiento, el peso canal y peso filete mejorarían indirectamente, sin embargo debe vigilarse el rendimiento filete, y, a largo plazo, mejoraría la textura de la carne pero decrecería la grasa muscular pero ésta se podría mejorar a través de la humedad que de los caracteres de composición de la carne es el más fácil de medir. Por último, la inclusión de la grasa visceral en el índice de selección permitiría disminuir ésta a la vez que aumentar el rendimiento canal. Todo esto revela el potencial que tienen las empresas de dorada para mejorar su producción a través de la explotación de la variación genética aditiva, y demuestra que es posible implementar un programa de mejora genética en dorada, sin cambiar la idiosincrasia de la industria.

Tabla 1. Correlaciones genéticas (en cursiva bajo la diagonal \pm E.T.), correlaciones fenotípicas (encima de la diagonal) y heredabilidades (en negrita en la diagonal \pm E.T.) de caracteres de crecimiento y calidad en dorada a talla de sacrificio (509 días).

	Peso	Long.	Peso Canal	Peso Filete	Rend. Canal	Rend. Filete	Grasa Visceral	Grasa Muscular*	Humedad*	Ceniza*	Colágeno*
Peso	0,34\pm0,06	0,91	0,99	0,90	-0,07	0,02	0,13	0,07	0,05	0,07	0,05
Long.	0,97 \pm 0,01	0,33\pm0,07	0,92	0,85	-0,01	0,00	0,09	0,07	0,05	0,17	-0,05
Peso Canal	0,99 \pm 0,00	0,97 \pm 0,01	0,26\pm0,06	0,90	0,04	0,04	0,07	0,09	-0,19	0,07	-0,07
Peso Filete	0,96 \pm 0,02	0,93 \pm 0,03	0,94 \pm 0,03	0,15\pm0,04	0,03	0,46	0,08	0,10	-0,18	0,11	-0,09
Rend.Canal	0,02 \pm 0,18	0,12 \pm 0,16	0,14 \pm 0,20	0,14 \pm 0,23	0,31\pm0,07	0,18	-0,51	-0,09	0,04	-0,05	0,02
Rend.Filete	-0,59 \pm 0,19	-0,56 \pm 0,19	-0,64 \pm 0,17	-0,38 \pm 0,26	-0,05 \pm 0,19	0,12\pm0,03	-0,05	-0,03	0,06	0,13	-0,04
Grasa Visceral	0,08 \pm 0,16	-0,09 \pm 0,17	-0,05 \pm 0,17	0,03 \pm 0,03	-0,92 \pm 0,04	-0,01 \pm 0,20	0,50\pm0,07	0,10	-0,09	0,10	-0,03
Grasa Muscular*	0,12 \pm 0,21	0,04 \pm 0,21	0,06 \pm 0,22	0,03 \pm 0,28	-0,05 \pm 0,14	-0,11 \pm 0,22	0,05 \pm 0,27	0,05\pm0,03	-0,61	-0,07	-0,35
Humedad*	0,10 \pm 0,18	0,09 \pm 0,18	-0,25 \pm 0,19	-0,30 \pm 0,11	-0,51 \pm 0,19	0,13 \pm 0,18	0,11 \pm 0,23	-0,98 \pm 0,07	0,09\pm0,03	0,07	0,45
Ceniza*	-0,02 \pm 0,15	0,26 \pm 0,33	0,05 \pm 0,13	0,05 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,14	-0,13 \pm 0,19	0,65 \pm 0,13	0,03 \pm 0,32	-0,09 \pm 0,28	0,08\pm0,03	0,01
Colágeno*	0,64 \pm 0,35	0,63 \pm 0,44	0,48 \pm 0,49	0,57 \pm 0,50	0,01 \pm 0,49	0,04 \pm 0,38	0,16 \pm 0,31	-0,80 \pm 0,23	0,85 \pm 0,25	-0,03 \pm 0,36	0,02\pm0,01

Long: longitud forquial, Rendimiento canal, Rendimiento filete y Grasa Visceral: Porcentajes del peso del pez, Grasa muscular, Humedad, Ceniza y Colágeno: Porcentajes del músculo fresco. * Se utilizó el peso del pez como covariable para estimar las correlaciones y heredabilidades.

Bibliografía

- Kovač, M., Groeneveld, E., García-Cortés, L.A., 2002. VCE-5: A package for the optimization of dispersion parameters. En: *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, France*.
- Navarro, A., Badilla, R., Zamorano, M.J., Pasamontes, V., Hildebrandt, S., Sánchez, J.J., Afonso, J.M., 2008. Development of two new microsatellite multiplex PCRs for three sparid species: gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), red porgy (*Pagrus pagrus* L.) and red-banded seabream (*P. auriga*, Valenciennes, 1843) and their application to paternity studies. *Aquaculture*. 285: 30-37.
- Navarro, A., Zamorano, M.J., Hildebrandt, S., Ginés, R., Aguilera, C., Afonso, J.M., 2009. Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*. 289: 225-230.

Desarrollo de un programa piloto de mejora genética en dorada (*Sparus aurata* L.) (PROGENSA)

J.M. Afonso¹, M. Manchado², A. Estévez³, G. Ramis⁴, J. Roo¹, M. Ponce², J.A. Sánchez⁵, E. Armero⁶, I. Lee¹, Berbel², J. Asturiano⁷, E. Mariadolores⁶, A. Navarro¹, C. M. Aparicio², C. Aguilera³, J.J. Sánchez⁸, M.J. Zamorano¹, M.A. Toro⁹

¹ Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA). Carretera Trasmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas. jafonso@dpat.ulpgc.es

² Centro de Investigación y Formación Pesquera y Acuícola El Toruño (IFAPA). Ctra. N. IV Km. 654a. Camino de Tiro Pichón. 11500 - Puerto de Santa María. Cádiz.

³ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Centro de Acuicultura. Ctra. Poble Nou Km 6, 43540 San Carlos de la Rápita, Tarragona

⁴ Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria. Campus de Espinardo, 30100. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), C/ Mayor S/N, 30150. Murcia
5 Universidad de Oviedo. Calle Principado, 3, 33003 – Oviedo

⁶ Universidad Politécnica de Cartagena. Plaza del Cronista Valverde, Edificio «La Milagrosa» 30202, Cartagena

⁷ Universidad Politécnica de Valencia. Campus Camino de Vera, s/n. Código Postal. 46022 - Valencia

⁸ Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses (INT). Campus de Ciencias de la Salud. La Cuesta 38320, La Laguna (Sta. Cruz de Tenerife)

⁹ Universidad Politécnica de Madrid. C/ Ramiro de Maeztu, 7. 28040, Madrid

Abstract

Gilthead seabream is an important species in Spanish and European aquaculture, whose industrial production is not based on breeding strategies, ie, through the development of selection schemes for economic traits. In part because of the high economic cost for companies to organize the production with genetic criteria, the lack of methodology combining production and genetic variation, and the biological characteristics of gilthead seabream. This project is developed to implement genetic methodology and protocols available at industrial level, under selection schemes by defining commercial traits, the study of genetic parameters, the estimation of interaction Genotype-environment and management of broodstocks.

Justificación

Las comunidades autónomas de Valencia, Canarias, Andalucía, Murcia y Cataluña soportan el 100% de la producción de dorada (APROMAR, 2008). Toda esta producción es llevada a cabo, fundamentalmente en jaulas flotantes y sin esquemas de selección genética. Para hacer factible y atractiva la explotación de la variación genética de las poblaciones por parte de las empresas, es importante el entendimiento de los principales factores que lleva asociado el cultivo de dorada en condiciones industriales, tanto desde el punto de vista tecnológico como biológico, dentro del contexto de las fases que conlleva la aplicación de un programa de mejora genética, como son la variación de la población base, la determinación de la matriz de parentesco, la definición de los caracteres objeto de la selección, la estima de parámetros genéticos, la cuantificación de la interacción genotipo-ambiente, la evaluación genética o la reposición. Para llevarlo a cabo, el presente proyecto pretende llevar a cabo los objetivos concretos de: a) diseñar PCRs múltiple de marcadores genéticos, microsatélites, que permitan inferir las relaciones de parentesco, bajo puesta masal, entre reproductores y descendientes de forma más rápida y económica, b) Maximizar la contribución en términos del número de familias a través de puestas masales controladas, c) Cuantificar la interacción genotipo-ambiente a través de cultivo de distintos lotes de descendientes en diferentes sistemas de cultivo y engorde (jaulas flotantes y esteros) y regiones (insular y continental), y d) estimar las heredabilidades de los caracteres de interés y las correlaciones genéticas y fenotípicas entre éstos, que le permita al sector tomar decisiones de cara a explotar la rentabilidad de sus poblaciones sin modificar sustancialmente su sistema de producción.

Materiales y Métodos

Intervendrán tres stocks de reproductores que suministran alevines al sector comercial (ICCM, CALMASUR, PISCIMAR), y cuyos descendientes serán criados en los centros de investigación que soportan el proyecto (ICCM, IFAPA, IRTA, IMIDA) y engordados en las empresas CANEXMAR, CUPIMAR, PIMSA, ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO y CULTIPEIX. Con ellos realizará el siguiente planteamiento metodológico para afrontar los objetivos propuestos: se rediseñarán juegos de cebadores para elaborar reacciones múltiple de microsa-

télites (Franch *et al.*, 2006; Senger *et al.*, 2006), para reconstruir las matrices de parentesco. Se establecerán puestas masales a partir de los stocks del ICCM, CALMASUR y PISCIMAR, con variaciones en términos de biomasa y proporción sexual. A distintas edades, se tomarán muestras de larvas de cada siembra para determinar la evolución de los parámetros morfométricos y calidad. Luego se remitirán muestras de alevines de cada criadero a cada empresa de engorde, previo marcaje de los alevines con el sistema PIT y obtención de trozo de aleta para llevar a cabo la caracterización genética. El engorde implicará a los sistemas de esteros, jaulas continentales e insulares. A la talla de comercialización, todos los peces supervivientes serán sacrificados e identificados en las empresas comercializadoras, analizados para los distintos caracteres de crecimiento, calidad del pez y de la carne, y serán llevados a cabo todas las estimaciones de parámetros genéticos.

Resultados y Discusión

España es el tercer mercado de productos pesqueros más importante del mundo después de EEUU y Japón, y cuya producción propia sólo cubre aproximadamente el 43% de los hábitos alimenticios de los españoles de productos pesqueros. Ello genera un importante déficit en la balanza comercial exterior española, a la vez que potencia la producción proveniente de la acuicultura y el tejido empresarial dedicado a la producción de peces, cuya producción media por empresa aumenta anualmente. Dentro de este contexto, la dorada es la única de las especies pesqueras analizadas por el FROM que mayoritariamente proviene de la acuicultura, lo que ha consolidado a España como el mayor mercado de dorada de toda Europa aunque tan solo se producen a nivel nacional 24.790 toneladas (APROMAR, 2008).

A pesar de la consolidación de la piscicultura en España aún restan grandes retos al sector, entre los cuales se encuentra, y en voz de los propios productores, la «*Diferenciación de los pescados mediante distintivos de calidad (Crianza del Mar, Dorada de Crianza del Sur, etc.) y aprovechamiento de los distintivos de calidad para transmitir una imagen de calidad de los productos y de los procesos productivos.*» Esto cobra especial importancia para dorada, ya que forzará a que las empresas optimicen más sus costes de producción y ofrezcan productos con valor añadido, y justamente aquí es donde la implementación de esquemas de selección genética a escala industrial puede intervenir, posibilitando la consecución de dichos retos comerciales. Así, el presente proyecto, y con la complicidad de empresas y centros de investigación, pretende, desde el marco de financiación JACUMAR, contribuir a la diferenciación de la calidad de dorada desde estrategias genéticas, con el valor añadido de que éstas proporcionan logros que son acumulativos, estables y recanalizables en el tiempo.

Agradecimientos

A JACUMAR por considerar la idea del proyecto como financiable, así como a las empresas que participan y/o apoyan el proyecto: CULMASUR, PISCIMAR, CANEXMAR, CUPIMAR, PIMSA, ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO, CULTIPEIX y TINAMENOR.

Bibliografía

APROMAR, 2008. La acuicultura marina de peces en España

Franch, R., Louro, B., Tsalavouta, M., Chatziplis, D., Tsigenopoulos, C.S., Sarropoulou, E., Antonello, J., Magoulas, A., Mylonas, C.C., Babucci, M., Patarnello, T., Power, D.M., Kotoulas, G., Bargelloni, L., 2006. A genetic linkage map of the hermaphrodite teleost fish *Sparus aurata* L. *Genetics*. 174: 851-861.

Senger, E., Priat, C., Hitte, C., Sarropoulou, E., Franch, R., Geisler, R., Bargelloni, L., Power, D., Galibert, F., 2006. The first radiation hybrid map of a perch-like fish: The gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Genomics*. 87: 793-800.

Consideraciones genéticas básicas en la implementación de programas de repoblación de peces en ambientes marinos

E. Blanco Gonzalez

The Research Institute of Marine Bioresources of Fukuyama University, 452-10 Innoshima-Ohama, Onomichi 722-2101, Japón e-mail: lorgas_99@yahoo.es

Abstract

Aquaculture activities play a fundamental role not only to provide fish for consumption, but also to produce high-quality seeds to be used in enhancement activities. The depletion of the natural stocks has boosted the propagation of stock enhancement and restocking programs in several marine species as a mean to recover the populations. These activities have a high potential to rehabilitate and restore the harvestable resources; nevertheless, there are also some risks associated to the introduction of specimens from different origin which must be considered. In this regard, special emphasis should be paid to the conservation of the genetic resources of the natural stock. This paper identifies the main genetic risks associated to stock enhancement and restocking programs and provides some basic means to be considered to minimize those risks.

Riesgos genéticos asociados a la repoblación de peces en ambientes marinos

Al contrario de la acuicultura, el objetivo principal en los programas de repoblación es recuperar y conservar los recursos genéticos de las poblaciones naturales degradadas por diferentes motivos. Estas actividades pretenden que los individuos producidos en cautividad posean similar información y variabilidad genética a los individuos silvestre (Allendorf y Ryman, 1987). La preservación del contenido genético resulta asimismo fundamental para la posterior adaptación de los individuos liberados. Las dos principales diferencias respecto a las especies dulceacuícolas o anádromas residen en que, normalmente, el tamaño censal de las poblaciones de peces marinos son mayores y en segundo lugar que en el medio marino no existen barreras geográficas que impidan el flujo genético, favoreciendo la diversidad genética (Ryman, Utter y Laikre, 1995). Los riesgos genéticos intraespecíficos pueden ser de cuatro tipos.

1. *Selección por domesticación.* Este proceso se refiere a las adaptaciones funcionales y las respuestas o alteraciones de tipo genético que se puedan producir durante el período en cautiverio.
2. *Pérdida de variabilidad intrapoblacional.* Representa la pérdida de variabilidad o alteración en la composición genética del grupo de organismos a liberar, siendo el número y origen de los reproductores así como el diseño de su apareamiento elementos vitales para minimizar estas pérdidas.
3. *Pérdida de variabilidad interpoblacional.* Este tipo de alteración genética está directamente relacionada con la repoblación y el éxito reproductivo de los peces liberados. En este caso, la pérdida de variabilidad se debe a la hibridación entre los individuos liberados con aquellos existentes en el medio receptor.
4. *Extinción.* Este proceso representa el riesgo más extremo y supone la desaparición de la especie debido a fatales errores de diseño o en el manejo de los reproductores.

Medidas básicas para preservar la variabilidad genética en la repoblación de peces marinos

Una vez identificados los principales riesgos a tener en cuenta en los programas de repoblación, evaluaremos la adopción de medidas que pueden eliminar o al menos reducir el impacto genéticos en teleósteos marinos (FAO/UNEP 1981; Cross, 1999; Miller y Kapuscinski, 2003; Taniguchi, 2004). Las acciones para minimizar el impacto genético deben de ser consideradas en cinco fases fundamentales, a las que debe incluirse la posterior fase de monitorización una vez en el medio natural.

1. *Evaluación genética del medio receptor antes de iniciar la repoblación.* La introducción de peces al medio marino supone una serie de riesgos para la población silvestre. Es por ello, que resulta imprescindible caracterizar genéticamente la población receptora, así como la unidad a conservar antes de comenzar el programa de repoblación.
2. *Colección de los reproductores.* Esta elección es posiblemente el paso más crítico en todo el proceso, y condicionará en gran medida la futura composición genética de los individuos a liberar. Este hecho, hace indispensable un esfuerzo especial en la correcta elección del número, origen y composición genética de los reproductores. Como norma general, estos deben ser renovados anualmente, conservar la variabi-

lidad genética de la población silvestre y poseer características y comportamientos similares a los individuos existentes en el medio receptor.

3. *Apareamiento de reproductores.* El mantenimiento de un gran número de individuos en las instalaciones, no garantiza la participación de todos ellos en el proceso reproductivo. De este modo, el diseño en el apareamiento entre reproductores debe hacerse de forma que se maximice el tamaño genético efectivo de los reproductores (N_c), minimizando de este modo posibles pérdidas de alelos presentes en ciertos reproductores que no contribuyan en el proceso reproductivo. Para ello, es fundamental conservar la relación de sexos 1:1 y tener en cuenta la variación en la contribución entre reproductores o tamaño de las familias. Finalmente, existen otros factores, tales como la simulación del ambiente de puesta o la extensión del período de recolección de huevos, que pueden aumentar el tamaño efectivo de la población (N_e) y minimar el impacto genético.

4. *Cultivo y mantenimiento de los individuos producidos en cautividad.* En esta etapa se producen las principales alteraciones genéticas debido al proceso de domesticación, alterando el contenido genético de forma involuntaria. Así pues, los esfuerzos en esta fase están encaminados al cultivo en ambientes similares al medio natural y a producir individuos con características semejantes a los organismos que habitan el futuro área receptora para facilitar su adaptación, supervivencia y reproducción en el mar.

5. *Suelta de individuos.* En la liberación de organismos al medio marino se debe favorecer la supervivencia de los peces liberados y evitar diferencias entre familias. Antes de implementar el programa de repoblación, es esencial realizar pruebas piloto así como simulaciones para determinar el número de peces a liberar sin comprometer los recursos genéticos.

La adopción de todas y cada una de estas medidas resulta fundamental y la no inclusión de alguna de ellas puede provocar pérdidas irreparables. Finalmente, es necesario recalcar que la eficacia de estas medidas debe ser continuamente evaluada y el diseño inicial sujeto a la posibilidad de introducir variaciones.

Agradecimientos

Este trabajo recoge algunas ideas recogidas durante largas charlas tomando café en Hiroshima University junto al Profesor Tetsuya Umino y en Fukuyama University con el Profesor Nobuhiko Taniguchi a quienes quisiera reconocer y agradecer su inspiración. También quisiera darle las gracias a José Luis Muñoz Pérez del IFAPA El Toruño por ofrecerme la posibilidad de participar en la Sesión Técnica sobre Repoblaciones Marinas.

Bibliografía

- Allendorf, F. W. y N. Ryman. 1987. Genetic management of hatchery stocks. En: *Population Genetics and Fishery Management*. N. Ryman y F. Utter (Eds.): 141-159.
- Cross, T. M. 1999. Genetic considerations in enhancement and ranching of marine and anadromous species. En: *Stock Enhancement and Sea Ranching*. B.R. Howell, E. Mokness y T. Svasand (Eds.): 37-48.
- FAO/UNEP. 1981. Conservation of the genetic resources of fish: problems and recommendations. En: *FAO Fisheries Technical Paper 217*: 43 pp.
- Miller, L. M. y A. R. Kapuscinski. Genetic guidelines for hatchery supplementation programs. En: *Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists*. E.M. Hallerman (Eds.): 329-355.
- Ryman, N., F. Utter y L. Laikre. 1995. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 5: 417-446.
- Taniguchi, N. 2004. Broodstock management for stock enhancement program of marine fish with assistance of DNA marker (a review). En: *Stock Enhancement and Sea Ranching: Developments, Pitfalls and Opportunities*. K.M. Leber, S. Kitada, H.L. Blankenship y T. Svasand (Eds.): 329-338.

Aislamiento y caracterización de cinco loci microsatélites en *Pagellus acarne* procedente de las costas de Andalucía

G. Catanese, V. Funes, L. Perez y M. Manchado

IFAPA Centro El Toruño, Camino Tiro Pichón s/n, 11500, El Puerto de Santa María, Cádiz
e-mail: gaetano.catanese@juntadeandalucia.es

Abstract

The Spanish seabream (*Pagellus acarne*; Risso, 1827) is a species of commercial interest in Spain. Nevertheless, little information is currently available about the genetic characteristics of wild populations. In this survey, we have developed five new microsatellites using an enriched genome library protocol. Primers were screened on a total of 58 individuals from two wild populations (Mediterranean and Atlantic) from the south coast of Spain, revealing seven to 19 alleles per locus with expected heterozygosities ranging from 0.35 to 0.80. These markers can potentially be useful tools for use in population genetic studies.

Justificación

El aligote o besugo blanco (*Pagellus acarne*) es un espárido presente en el Mediterráneo y en el Atlántico Este, desde Inglaterra hasta Senegal (Greco *et al.*, 1995). Dicha especie es una de las 32 candidatas al estudio para la diversificación de especies en acuicultura, que viene realizándose desde el año 2003. Así, se han cultivado alevines en jaulas para observar su crecimiento y en lagunas para analizar el desarrollo gonadal (Divanach, 2004). Debido a este posible interés acuícola, es importante conocer las características genéticas de las poblaciones naturales de aligote, para establecer el grado de variabilidad genética y de estructura poblacional, controlando así los efectos de la contaminación genética como consecuencia de la acuicultura.

Los microsatélites se han utilizado como marcadores genéticos en una amplia variedad de peces para estudiar el éxito reproductivo, la estructura social o el parentesco entre individuos, siendo muy útiles para el establecimiento de la diversidad genética y la estructura de las poblaciones. La caracterización de microsatélites de aligote proporciona una útil herramienta para estudiar la diversidad genética y la estructura de las poblaciones tanto cultivadas como salvajes, así como el impacto de los individuos cultivados sobre las poblaciones naturales (Poteaux *et al.*, 1999).

Material y Métodos

Se analizaron 58 ejemplares de dos zonas del litoral Mediterráneo andaluz (Málaga y Estepona) y otras dos ubicadas en la costa Atlántica (Cádiz y Barbate). El aislamiento de microsatélites se realizó a partir de ADN genómico de músculo, usando el protocolo descrito en Funes *et al.* (2004). Una vez obtenidas las secuencias de microsatélites, se diseñaron cebadores específicos en las regiones flanqueantes, marcando uno de ellos en su extremo 5' con FAM o HEX. La electroforesis de los productos amplificados se realizó en un secuenciador automático ABI Prism 377, determinándose el tamaño de cada alelo mediante el software GeneScan v3.1.2 (Applied Biosystems).

Utilizando el programa MSA v3.12 (Dieringer y Schlötterer, 2003) se determinó para cada locus el número de alelos y el índice de fijación F_{st} entre poblaciones. La heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg y el test de desequilibrio de ligamiento se calcularon con el programa Arlequin v2.5 (Schneider *et al.*, 2000).

Resultados y Discusión

Se han caracterizado cinco loci microsatélites: Pac2 [(CA)₁₀], Pac3 [(CA)₃], Pac4 [(CAT)₁₅], Pac8 [(GT)₁₄] y Pac9 [(CA)₁₅ CCT (CA)₁₀ CCT (CA)₁₄] (Tabla 1). Todos los loci han resultado ser polimórficos con un nivel de variabilidad alto. El número de alelos fue de 8-18 para la población del Mediterráneo y 8-19 para la del Atlántico. En la población del Mediterráneo, las H_o y H_e resultaron entre 0,40-0,80 y entre 0,73-0,91, respectivamente. Se observaron valores similares en la población del Atlántico, 0,35-0,78 para H_o y 0,74-0,93 para H_e . El valor de F_{st} resultó en todas las comparaciones no significativo, indicando que no existe diferenciación genética entre las poblaciones analizadas. Se han detectado desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los loci excepto en el locus Pac4 para la población del Mediterráneo y en los loci Pac2 y Pac8 para la del Atlántico. Dichas desviaciones podrían deberse bien a un exceso de heterocigotos por

Tabla 1. Caracterización de microsatelites en *P. acarne*. pb, rango de tamaños; k, n° de alelos; N, n° de especímenes analizados; Ho, heterocigosidad observada; He, heterocigosidad esperada; HW, valor P del equilibrio de Hardy-Weinberg

Locus	Mediterráneo						Atlántico				
	pb	k	N	H _o	H _e	HW	k	N	H _o	H _e	HW
Pac2	126-228	17	30	0.66	0.91	0.000***	15	28	0.78	0.89	0.083ns
Pac3	158-186	10	30	0.43	0.77	0.000***	8	28	0.35	0.74	0.000***
Pac4	166-210	13	30	0.80	0.90	0.117 ns	16	28	0.71	0.93	0.000***
Pac8	105-119	8	30	0.40	0.73	0.000***	7	28	0.64	0.74	0.347 ns
Pac9	183-281	18	30	0.70	0.91	0.000***	19	28	0.75	0.92	0.022*

un efecto de Wahlund no detectado, o bien a una falta de heterocigotos, consecuencia de la pérdida de alelos de baja frecuencia. También podría estar relacionado con la presencia de alelos nulos en algunos de los loci caracterizados (Ponce *et al.*, 2006). En ningún caso el test de desequilibrio de ligamiento resultó significativo aplicando las correcciones secuenciales de Bonferroni (Rice, 1989).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido llevado a cabo gracias a la Dirección General de Pesca (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía) en el marco de un proyecto financiado por fondos FEDER (UE).

Bibliografía

- Dieringer, D. y C. Schlötterer (2003). Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*. 3: 167-169.
- Divanach, P. (2004). New Species in Mediterranean Aquaculture (Strengths and weakness). PROFET Workshop Hatchery Techniques. Bordeaux, 16-17 January.
- Funes, V., E. Zuasti, G. Catanese, C. Infante y M. Manchado (2004). Isolation and characterization of ten microsatellite loci for Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Molecular Ecology Notes*. 4: 339-341.
- Greco, S., L. Genovese y V. Micalé (1995). Growth, gonadal histology and liver lipid composition in *Pagellus acarne*. Marine aquaculture finfish species diversification. Zaragoza, CIHEAM-IAMZ: 89-101.
- Ponce, M., C. Infante, A. Crespo, E. Zuasti, L. Pérez, V. Funes, G. Catanese, S. Cárdenas y M. Manchado (2006). Characterization of microsatellite loci for the redbanded seabream, *Pagrus auriga* (Teleostei, Sparidae) *Molecular Ecology Notes*. 6: 527-529.
- Poteaux, C., F. Bonhomme y P. Berrebi (1999). Microsatellite polymorphism and genetic impact of restocking in Mediterranean brown trout (*Salmo trutta* L.). *Heredity* 82:645-653.
- Rice W.R. (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*. 43: 223-225.
- Schneider, S., D. Roessli y L. Excoffier (2000). ARLEQUIN, version 2.000: a software for Population Genetics Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of single sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research*. 17: 6463-6471.

Bases moleculares de las malformaciones pigmentarias en peces: implicación en el cultivo del rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.)

R.M. Ceinos¹, J.M. Cerdá-Reverter², J. Hernández-Urcera³, R. Cal3, B. Novoa¹,
A. Figueras¹, J. Rotllant^{1*}

¹ Instituto de Investigaciones Marinas, IIM, CSIC, Vigo, Eduardo Cabello nº 6, CP 36208 Pontevedra. otllant@iim.csic.es

² Instituto de Acuicultura Torre de La Sal (IATS-CSIC). Castellon.

³ Instituto Español de Oceanografía de Vigo (IEO-Vigo). Pontevedra.

Una de las adaptaciones cromáticas de mayor éxito en vertebrados es la presencia de un patrón dorso/ventral de coloración en el cual la piel dorsal es oscura mientras que la piel ventral es clara. En los peces, al igual que en otros vertebrados, la determinación del patrón de pigmentación se inicia a partir de la diferenciación de células pluripotentes de la cresta neural en estadios tempranos del desarrollo larvario. La señalización de las melanocortinas vía receptor de tipo 1 (MC1R) es clave en la determinación genética de la pigmentación en peces. La activación del receptor por la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH) promueve la diferenciación de las células precursoras hacia melanocitos, su proliferación y la síntesis de melanina. Atípicamente, el MC1R es también regulado por un antagonista endógeno, la proteína de señalización agouti (ASP). En peces, ASP se expresa diferencialmente en la piel de la región ventral, que habitualmente muestra tonalidades claras en contraste con la región dorsal. Varias hipótesis defienden que este antagonismo sobre MC1R es responsable del patrón de pigmentación dorso-ventral en peces. Dicha polaridad en el patrón de pigmentación es extrema en los peces planos que habitualmente presentan problemas de hiper- o hipopigmentación en cultivo. En este estudio, se presenta la identificación y caracterización de un antagonista endógeno de melanocortinas denominado proteína de señalización agouti (ASP) en el rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) y su implicación en la determinación del patrón de pigmentación en esta especie mediante el uso de técnicas de expresión diferencial génica.

Justificación

El principal objetivo fue determinar si la proteína ASP, podría estar relacionada en procesos de despigmentación del rodaballo en cultivo. Para comprobar nuestra hipótesis se procedió a la inyección epidérmica de capped RNAm -ASP sintetizado *in vitro* en rodaballos bien pigmentados.

Material y Métodos

Animales, Diseño Experimental y Síntesis de Capped mRNA

Se emplearon 16 ejemplares de rodaballo de 3 meses de edad cultivados en las instalaciones del Instituto Español de Oceanografía de Vigo. El cultivo se realizó a temperatura ambiente (15-19°C) y con luz natural. Los peces fueron alimentados con pienso de fabricación industrial mediante alimentadores automáticos. Se establecieron 4 grupos de peces, 2 control y 2 tratados con capped mRNA agouti de n=4 individuos cada uno. La cantidad inyectada fue de 1µg capped mRNA agouti en 20µl de NaCl. La inyección se realizó en la epidermis dorsal. Al cabo de 5 días los peces fueron fotografiados a través de una lupa (Nikon SMZ8000). El gen agouti fue clonado mediante una estrategia de RACE-PCR degenerada. Una vez clonado el gen Agouti este fue ligado al vector pCS2+. La construcción de pCS2+-agouti fue linearizada con Eco RI. Capped RNAm fue sintetizado *in vitro* empleando el SP6 Message Machine Kit (Ambion).

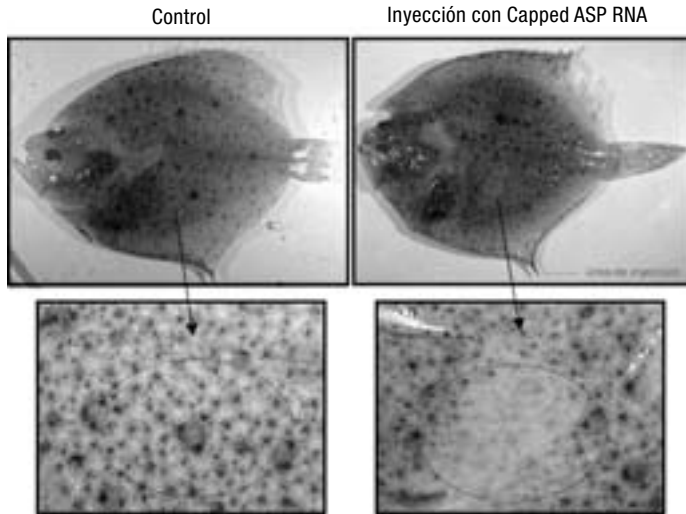
Resultados y Discusión

Estudios realizados en vertebrados mostraron que la expresión del gen agouti, que codifica para ASP, es más elevada en las zonas claras con respecto a las oscuras del mismo animal (Vrieling *et al.*, 1994; Cerdá-Reverter 2004). Pero además, la proteína ASP antagoniza los efectos de la hormona α -MSH inhibiendo la síntesis de melanina (Lu *et al.*, 1994). La figura 1 muestra las fotos de un pez control y un pez inyectado con Capped ASP RNA 5 días después del tratamiento. La superficie epidérmica de los peces tratados con Capped ASP RNA sufrió un emblanquecimiento localizado cuando se compara con sus respectivos peces control, o con áreas del mismo pez alejadas de la zona tratada sugiriendo una disminución en la síntesis de melanina por parte de los melanóforos, o bien una agregación de pigmentos. Este trabajo preliminar indica que el gen agouti (ASP) podría participar en la despigmentación de los rodaballos, sin embargo se requiere un mayor número de experimentos para conocer los efectos de la ASP en el proceso de pigmentación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias a la concesión de los contratos JAEDoc (IIM-CSIC) y Ramón y Cajal (MEC-CSIC) a RMC y JR respectivamente, y al proyecto MICIN AGL2008-00392/ACU.

Figura 1. *Rodaballo control (izquierda) y tratado con capped RNAm-agouti (derecha) 5 días después del tratamiento. La elipse señala la zona de inyección.*



Bibliografía

- Lu, D., Willard, D., Patel, I. R., Kadwell, S.m Overton, L., Kost, T., Luter, M., Chen, W., Woychik, R.P. y Wilkison, W.O. 1994. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371, 799-802.
- Vrieling, H., Duhl, D.M.J., Millar, S.E., Miller, K.A. y Barsh, G.S. 1994. Differences in dorsal and ventral pigmentation result from regional expression of the mouse agouti gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol.91: 5667-5671.
- Cerdá-Reverter, J.M., Haitina, T., Schiöth, H.B., Peter, R.E. 2004. Gene structure of the goldfish-agouti-signaling protein: A putative role in the dorsl-ventral pigment pattern of fish. *Endocrinology*. 146(3): 1597-1610.

Estimación de parámetros genéticos del crecimiento de tilapia del Nilo en condiciones naturales de baja temperatura

R. Fortes-Silva¹, R. A. Torres² y O. P. Ribeiro-Filho³

¹ Estudiante de doctorado del Departamento de Fisiología Animal. Universidad de Murcia (UMU). 30003 Murcia. España. E-mail: fortesrs@yahoo.com.br

² Profesor del Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa (UFV). 36571-000 Viçosa-MG. Brasil

³ Profesor del Departamento de Biología. Universidade Federal de Viçosa (UFV). 36571-000 Viçosa-MG. Brasil

Abstract

The goal of this study was estimate genetic parameters of growth characteristics in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in natural's conditions of low temperature. Used was information of 800 full-sib provided by 20 families. The fishes had been weighed each 12 ± 2 days in birth but also 180 age. The Proc Mixed was used to evaluate the variance and covariance components to obtain the heritability's and correlations, it was applied the unicharacteristic model via REML, considering fixed effect the contemporary group (tank and sex) and genetic effect (animal). The general measurements for W60(g), W180(g), L60(cm), L180(cm), GWD(g), GLD (cm), EC (g) e ER (g) were: 31,62; 220,54; 10,50; 90,60; 1,68; 0,69; 83,89; 0,87 respectively. The high values of Nile Tilapia heritability and genetic correlation of body weight and eviscerated dressing, obtained for body weight and body length in this study, can be used in future studies of animal breeding, intending to increase the proportion of these characteristics related with body weight.

Justificación

Brasil ocupa una considerable posición en el mercado internacional como productor de pescado, teniendo buenas condiciones de clima que podrían permitir aumentar su producción. Sin embargo, debido a la gran extensión territorial, existen regiones de bajas temperaturas anuales, pero con alguna importancia en el cultivo de tilapias debido a generación de empleo y renta en esas regiones. El aumento en el interés del cultivo de la tilapia proporcionó la busca por programas de mejoramiento genético y mejoras en la productividad (Ponzoni *et al.*, 2005). Según Mackay *et al.* (1984), es de gran importancia la valoración de la interacción genotípica con la temperatura, eso para obtener mejores tasas de crecimiento. El objetivo del presente trabajo ha sido el de estimar los parámetros genéticos para las características de producción en una generación de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), en condiciones naturales de baja temperatura.

Material y metodos

El trabajo ha sido realizado en el Departamento de Biología, centro de ranicultura de la Universidad Federal de Viçosa-UFV, Viçosa-Brasil, en el periodo de 01/03/2007 a 01/07/2007. A los 60 días de edad, aleatoriamente 40 alevines provenientes de 20 familia fueron identificados (Faria *et al.*, 2003) y repartidos en cinco tanques con capacidad total de 5000l cada uno. Los peces fueron sometidos a diez pesajes hasta el final del experimento. En el momento de de tomada de peso, los peces con perdida de marcación fueron descartados, siendo establecida una nueva carga para los tanques. A los 180 días de edad los peces han sido anestesiados y sacrificados y fue obtenido el peso de la carcaza y peso de carcaza sin vísceras. Las variables consideradas para el estudio fueron: peso a los 60 días de edad (P60), peso a los 180 días (P180), talla a los 60 días de edad (T60), talla a los 180 días (T180), ganancia de peso al diario (GPD), tasa de crecimiento al diario (TCD), rendimiento de carcaza (RC) y carcaza sin vísceras (CSV). Los componentes de varianza y covarianza para la obtención del índice de herencia y correlaciones fueron estimadas por el *Proc Mixed*, aplicando modelo de unicaracterística vía REML y fue utilizado el programa estadístico SAS (2004). Ha sido considerado como efecto fijo el grupo contemporáneo (tanque y sexo) y efecto genético (animal). El modelo estadístico utilizado para este caso fue: $y_{ijk} = \mu + s_i + C_j + e_{ijk}$ en que: y_{ijk} = animal K del cruzamiento j del sexo i ; μ = Média general; S_i = Efecto fijo del sexo, $i = 1, 2$; C_j = Efecto del cruzamiento j , $j = 1, 2, \dots, 20$, $C_j \sim (0, \sigma_c^2)$; e_{ijk} = error asociado a cada observación. No fue considerado el efecto ambiental permanente materno una vez que las larvas fueron separadas de las madres en el según día de edad. Utilizando la covarianza entre hermanos, lo componente genético fue descrito como componente de varianza de cruzamiento que, en términos de componentes genéticos fue: $\sigma_c^2 = \sigma(IC) = 1/2 \sigma_A^2 + 1/4 \sigma_B^2$. El índice de herencia fue estimado por: $h^2 = 2\sigma_c^2 / \sigma_c^2 + \sigma_e^2$. Las correlaciones entre las características fueron estimadas utilizando los componentes de covarianza de cruzamiento y calculadas del siguiente modo:

$\sigma_{c(A,B)} = (\sigma_{c(A,B)}^2 - \sigma_{c(A)}^2 - \sigma_{c(B)}^2) / 2$; $r_g = \sigma_{c(A,B)}^2 / \sqrt{\sigma_{c(A)}^2 \cdot \sigma_{c(B)}^2}$ $Rp = \sigma_{c(A,B)}^2 + \sigma_{c(A,B)}^2 / \sqrt{(\sigma_{cA}^2 + \sigma_{cBA}^2)(\sigma_{cB}^2 + \sigma_{cAB}^2)}$; en que: $\sigma_{c(A,B)}$ = Componente de covarianza de cruzamiento de las características «A» y «B», entre los reproductores; r_g = correlación genética; r_p = correlación genotípica.

Cuadro 1. Componentes de varianza y índice de herencia (h^2) para las variables en tilapia del Nilo

Variábles	Media \pm DE	$\hat{U}2e$	$\hat{U}2g$	h^2 (EP)
P 60 (g)	31,62 \pm 7,01	1,366	1,812	1,36 (0,15)
T 60 (cm)	10,50 \pm 0,98	0,685	0,480 0,	94 (0,12)
P 150 (g)	220,54 \pm 40,50	470,85	314,902	0,91 (0,11)
T 150 (cm)	90,60 \pm 4,26	2,420	1,703 0,	95 (0,10)
GPD (g)	1,68 \pm 0,21	0,055	0,035 0,	87 (0,11)
TCD (cm)	0,69 \pm 0,11	0,032	0,010	0,60 (0,13)
CSV (g)	83,89 \pm 6,67	2,332	1,988	1,00 (0,16)
RC (g)	0,87 \pm 0,01	1,980	1,672	0,21 (0,10)

P 60: peso a los 60 días de edad, T 60: talla a los 60 días de edad, P 150: peso a los 150 días de edad, T 150: talla a los 150 días de edad, GPD: ganancia de peso al diario, TCD: tasa de crecimiento al diario, (CSV): carcaza sin vísceras y RC: rendimiento de carcaza. $\hat{U}2e$: variáncia ambiental, $\hat{U}2p$: variáncia genética y h^2 : índice de herencia. EP: error.

Cuadro 2. Correlación fenotípica (r_e) y genética (r_p) para las variables analizadas en tilapia del Nilo

Variábles	r_e	r_p
P60 x P150	+ 0,70	+ 0,36
P60 x T 60	+ 0,84	+ 0,67
P150 x T150	+ 1,00	+ 0,87
P60 x CSV	+ 0,48	+ 0,32
P150 x CSV	+ 0,76	+ 0,85

P 60: peso a los 60 días de edad, T 60: talla a los 60 días de edad, P 150: peso a los 150 días de edad, T 150: talla a los 150 días de edad y CSV: carcaza sin vísceras.

Resultados y Discusión

Las medidas de temperatura para todo el periodo experimental estuvieron en $21 \pm 4^\circ\text{C}$, llegando a $17 \pm 1^\circ\text{C}$ en el último mes de experimentación. Según Kubitzka (2000), El rango de temperatura para mejor crecimiento de la especie estudiada es de 27°C y 32°C . Las medias fenotípicas para cada una de las variables de crecimiento estudiadas, los componentes de varianza y índice de herencia se presentan en el cuadro 1.

Los resultados de crecimiento fueron considerablemente mayores a los encontrados por Graeff y Pruner (2006), que trabajando con alevines de tilapia con peso inicial de $41,0 \pm 1,0\text{g}$ han obtenido animales de $99,3 \pm 6,0\text{g}$ a los 152 días de edad. Los autores confirman que mismo los peces teniendo un bajo rendimiento en el invierno, llegaron ellos al consumidor en menos tiempo debido a un mayor peso de los alevines en el principio del verano, lo que justifica su producción en bajas temperaturas. Sin embargo, las condiciones de temperatura deben ser respetadas, pues debajo de 20°C el apetito queda comprometido (Kubitzka, 2000). Las estimativas de índice de herencia fueron de media a alto, sin embargo en la literatura hay muchas variaciones de valores para el índice de herencia (Tave y Smitherman, 1980; Ponzoni *et al.*, 2005) para peso corporal de la tilapia del Nilo en distintos sistemas de producción. Las estimativas de índice de herencia consideradas altas, también pueden haber ocurrido debido al hecho de los índices de herencia haber sido estimados en apenas una generación que no ha sufrido ninguna selección anterior (Según Carvalho *et al.*, 2001), pues cuando la estimativa es realizada en apenas un año o en un sitio en concreto, la varianza genética sufre acción de los factores de interacción que pueden estar presentes, y con eso ocurre una súper estimativa de la varianza. Los resultados de correlación genética y fenotípica se presentan en el cuadro 2.

Las correlaciones genéticas y fenotípicas entre (P60/P150), (P60/T 60), (P150/T150) y (P150/CE) fueron consideradas altas. Según Cardellino y Rovira (1987), el grado de correlación genética entre dos características es importante para controlar directamente el cambio genético de estas características cuando seleccionadas por medio de otra. En conclusión, las estimativas de índice de herencias obtenidas para la tilapia del Nilo, indican que las características estudiadas son en gran parte controladas por genes de efecto aditivo, siendo posible obtener ganancia genética por medio de selección. Las correlaciones obtenidas permiten plantear selección para las características correlacionadas.

Agradecimiento

El proyecto ha sido financiado por el sector de ricultura-UFV. Agradezco al Dr. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho y funcionarios del Departamento de Biología-UFV por la especial ayuda y a la piscifactoría João Salame por la donación de hipófisis.

Estudio preliminar de la variación genética en *Venerupis pullastra* de Galicia usando el gen mitocondrial citocromo b

R. Freire, S. Rumbo, A. Arias, J. Méndez y A. Insua

Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidade da Coruña, A Zapateira s/n,
15071 A Coruña, aarias@udc.es

Abstract

This is a preliminary study on the genetic diversity and population differentiation in pullet carpet shell *Venerupis pullastra* from Galician coast. A fragment of 314 pb of the mitochondrial cytochrome b gene was sequenced in 156 individuals belonging to five Galician localities and 14 haplotypes were identified. Nucleotide and haplotype diversity ranged from 0.0023 to 0.0047 and from 0.407 to 0.677, respectively. The haplotype relationships inferred suggest the existence of an ancestral haplotype widely distributed. The population structure analysis did not show significant differences among the examined localities. Nevertheless, in the Neighbor Joining tree the Rías Altas and Rías Bajas localities clustered separately.

Justificación

La conservación de la diversidad genética es un requisito indispensable ya que de ella depende la supervivencia a largo plazo de la especie o población al permitir la adaptación a los cambios del ambiente. Recomendaciones de la FAO (Welcomme y Barg 1977) establecen que deben documentarse los recursos genéticos naturales y de acuicultura para evitar endogamia, mantener la integridad genética y minimizar la transferencia de stocks genéticamente diferenciados. Sin embargo, en la almeja babosa, *Venerupis pullastra*, una de las especies de moluscos bivalvos de mayor importancia para el sector marisquero de Galicia, poco se conoce de su composición genética. El objetivo de este estudio es comenzar a evaluar la diversidad genética y estructura poblacional en esta almeja a lo largo de la costa gallega. Para ello se examina la variación en parte del gen mitocondrial que codifica para el citocromo b.

Material y Métodos

Las muestras empleadas en este estudio proceden de las localidades de Barqueiro (Ría de Ribadeo), Barallobre (Ría de Ferrol), Camariñas (Ría de Camariñas), O Grove (Ría de Pontevedra) y Cangas (Ría de Vigo). Las extracciones de ADN se hicieron siguiendo el método de Fernández-Tajes y Méndez (2007). Parte del gen del citocromo b se amplificó por PCR empleando los cebadores diseñados por Dalhgren, Weinberg y Halanych (2000). Los productos de PCR se secuenciaron en los Servicios de Apoyo á Investigación de la Universidade da Coruña.

Las secuencias fueron editadas con el programa BioEdit (Hall, 1999) y se alinearon empleando ClustalW (Thompson, Higgins y Gibson, 1994). El análisis de la diversidad nucleotídica y haplotípica se realizó con el programa DnaSP v.5 (Librado y Rozas, 2009). Se empleó el programa Network (Fluxus Technology Ltd.) para la construcción de redes de haplotipos. El cálculo de las frecuencias haplotípicas y las estimas de diferenciación poblacional se realizaron con el programa Arlequin v.3.11 (Excofier, Laval y Schneider, 2005). El programa GENDIST de PHYLIP (Felsenstein, 1993) se empleó para calcular la distancia de Cavalli-Sforza y Edwards (1967). El análisis filogenético de las poblaciones se realizó con ayuda del programa NEIGHBOR de PHYLIP. La significación del árbol obtenido se determinó mediante un análisis bootstrap (Felsenstein, 1985).

Resultados y Discusión

Se secuenció un fragmento de 314 pb del citocromo b en 156 individuos procedentes de las cinco localidades muestreadas. Tras el alineamiento se identificó un total de 14 haplotipos definidos por 18 sitios variables. Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica total fueron de 0,583 y 0,0033 respectivamente. Los individuos de Cangas mostraron los mayores valores de diversidad tanto haplotípica (0,677) como nucleotídica (0,0047). La menor diversidad haplotípica se encontró en O Grove (0,407) y la nucleotídica en Camariñas (0,0023).

Sólo dos de los haplotipos (1 y 2) se encontraron en todas las localidades analizadas. El haplotipo 2 presentó en todos los casos la mayor frecuencia relativa, seguido siempre del haplotipo 1. Los demás haplo-

tipos fueron compartidos por un máximo de tres localidades. El número de haplotipos únicos en una población varió entre cero (O Grove) y tres (Barqueiro).

Las relaciones entre haplotipos inferidas indicaron que el haplotipo 2 es el haplotipo ancestral, a partir del cual derivarían el resto. Los haplotipos 1, 3, 8, 10, 11 y 12 lo harían de manera directa y los demás de manera indirecta.

Los análisis de estructura poblacional no mostraron diferenciación interpoblacional. El valor estimado de F_{st} fue de 0,027 (P -valor = 0,07). En el análisis AMOVA el 97,28% de la variación se localizó dentro de las poblaciones. No obstante, en el árbol Neighbor Joining, obtenido a partir de las distancias genéticas, las localidades de las Rías Altas y las de las Rías Bajas se agruparon por separado.

El análisis de otros marcadores moleculares y más localidades permitirá obtener estimas adicionales de diversidad genética y diferenciación poblacional necesarias para la explotación sostenible de esta almeja.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto PGIDIT06RMA50101PR de la Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Cavalli-Sforza, L.L. y A.W.F. Edwards 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*. 19: 233-257.
- Dalhgren, T.G., J.R. Weinberg y K.M. Halanach 2000. Phylogeography of the ocean quahog (*Artica islandica*): influences of paleoclimate on genetic diversity and species range. *Marine Biology*. 137: 487-495.
- Excoffier, L. G. Laval y S. Schneider 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1: 47-50.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 39: 783-791
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogenetic Inference Package), version 3.5c. Distribuido por el autor. Dpt. Genetics. University of Washington, Seattle.
- Fernández-Tajes, J. y J. Méndez 2007. Identification of the razor clam species *Ensis arcuatus*, *E. siliqua*, *E. directus*, *E. macha*, and *Solen marginatus* using PCR-RFLP analysis of the 5S rDNA region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 7278-7282.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.
- Librado, P. y J. Rozas 2009. DnaSP v.5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451-1452.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins y T.J. Gibson 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research*. 22: 4673-4680.
- Welcome, R. L. y U. Barg. 1997. *FAO technical guidelines for responsible fisheries-5: aquaculture development*. Food and Agriculture Organization; Roma

Efecto del ayuno, la dieta y la hormona del crecimiento (GH) sobre la expresión génica de IGF-I e IGF-II en *Solea senegalensis*

V. Funes, G. Catanese, L. Pérez, C. Infante y M. Manchado

IFAPA Centro El Toruño, Camino Tiro de Pichón, s/n, 11500, El Puerto de Santa María (Cádiz)
e-mail: victoria.funes.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

In this study we have quantified the transcript levels of *IGF-I* and *IGF-II* in the liver of Senegalese sole individuals during starvation and re-feeding with two different diets. Moreover, transcriptional regulation by GH was determined. Starvation reduced both *IGF-I* and *IGF-II* mRNAs at 12 days after beginning the experiment. Re-feeding with commercial dry-feed reduced *IGF-I* transcript levels earlier at 3 h recovering the steady state levels later at 8 days. Feeding with polychaeta promoted a similar expression pattern although the increase of mRNA levels at 8 days was more pronounced. With respect to *IGF-II*, mRNAs levels increased at 3 h after providing dry-feed whereas no change was observed with polychaeta. Injection of GH induced the expression of both IGFs, although *IGF-II* exhibited a longer and more intense response. All these data indicate that nutrition and GH can modulate expression of IGFs, key mediators of growth in sole.

Justificación

El sistema IGF (ligandos IGF-I e IGF-II, receptores de membrana y proteínas de unión), juega un papel central en la regulación del crecimiento de vertebrados (Wood *et al.*, 2005). En teleósteos, la acción biológica de IGF-I se ha asociado al crecimiento, metabolismo, diferenciación celular, reproducción, osmorregulación y sistema inmune. La presencia de IGF-II en larvas, juveniles y adultos de peces sugiere un importante papel no sólo a nivel embrionario sino durante todo el ciclo de vida (Funes *et al.*, 2006, Ponce *et al.*, 2008). El lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup) es un Pleuronectiforme que se distribuye por el nordeste del Océano Atlántico, desde el Golfo de Vizcaya hasta Senegal, y por el Oeste del Mar Mediterráneo (Quéro *et al.*, 1986). Dado su interés comercial en los últimos años se ha experimentado un importante auge de su acuicultura. El objetivo del presente trabajo ha sido cuantificar la expresión génica de *IGF-I* e *IGF-II* en especímenes de lenguado senegalés sometidos a ayuno y diferentes dietas y tras inyección intraperitoneal de hormona del crecimiento, con el fin de comprobar su papel como reguladores del crecimiento.

Material y Métodos

Los ejemplares de lenguado senegalés se obtuvieron del IFAPA Centro *El Toruño*. Para el experimento de alimentación, se utilizaron tres acuarios de 400L en cada uno de los cuales se situaron 12 individuos (media = 55 g). Tras una semana de ayuno, un acuario se alimentó con pienso comercial, otro con poliquetos (ambos al 1% del peso corporal), y el tercero se mantuvo en ayunas. A las 3 h, 24 h, 8 días y 12 días después de iniciar la administración del alimento, se sacrificaron tres individuos de cada tanque mediante inmersión en fenoxietanol y se extrajo el hígado que se congeló en nitrógeno líquido y se conservó a -80 °C hasta su utilización.

Para el experimento de inducción con la hormona del crecimiento (GH), se transfirieron 32 individuos (35 g) a dos tanques (Grupo Control y Grupo GH). Tras una semana de adaptación y ayuno se les inyectó intraperitonealmente 10 µg de GH porcina disuelta en PBS/g peso corporal, mientras que al grupo control sólo PBS. Se sacrificaron cuatro individuos de cada grupo a las 1, 6, 12 y 24 h tras la inyección. De estos individuos se extrajo el hígado que se congeló y conservó como se describe anteriormente.

La cuantificación de la expresión génica se realizó según lo descrito por Funes *et al.* (2006). Para normalizar, se utilizó el *ARNr 18S* tal como se describe en Infante *et al.* (2008). La significación estadística de los datos se determinó mediante un análisis de varianza no paramétrico (test Mann-Whitney *U*) utilizando el programa InStat v3.0.

Resultados y Discusión

La realimentación con pienso redujo significativamente los niveles de transcrito de *IGF-I* a las 3h. Posteriormente, los niveles incrementaron progresivamente hasta recuperar los niveles basales a los 8 días para reducirse de nuevo a los 12 días tras la alimentación. En el grupo alimentado con poliquetos, la tendencia fue parecida aunque el incremento al día 8 fue más pronunciado (~4 veces respecto a las 24 h tras la

alimentación). El control en ayuno redujo significativamente los ARNm de *IGF-I* a los 12 días. Con respecto a *IGF-II*, el nº de transcritos aumentó rápidamente a las 3h en el grupo alimentado con pienso (3.1 veces) recuperando los niveles basales a las 24h. En el grupo alimentado con poliquetos no se detectaron diferencias significativas. Al igual que en *IGF-I*, el nº de transcritos de *IGF-II* disminuyó a los 12 días de ayuno. Esta reducción en los niveles de *IGFs* tras un ayuno prolongado se ha descrito anteriormente en otros peces (Ayson, de Jesus-Ayson y Takemura, 2007). Cabe destacar las diferencias de expresión de *IGF-I* e *IGF-II* al suministrar diversas dietas, lo que sugiere un distinto papel de ambas *IGFs* en respuesta a factores nutricionales.

El tratamiento con GH indujo los niveles hepáticos de *IGF-I* a 1 h (1.8 veces) tras la inyección. Los transcritos de *IGF-II* también aumentaron aunque de una forma más prolongada a 1, 6 y 12h tras la administración de GH (2.6-6.5 veces). Estos resultados coinciden con los de otras especies (Carnevalli *et al.*, 2005; Ponce *et al.*, 2008), aunque con pequeñas diferencias en la respuesta temporal posiblemente asociadas a la distinta naturaleza del compuesto utilizado para vehicular la hormona (PBS, colesterol, etc). En cualquier caso, habría que destacar el papel destacado de *IGF-II* en lenguado senegalés para responder a la GH y a factores nutricionales con implicaciones en el crecimiento, tal como se sugirió para larvas en Funes *et al.* (2006).

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a la Dirección General de Pesca (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía) en el marco de un proyecto financiado con fondos FEDER (UE).

Bibliografía

- Ayson, F.G., E.G.T. de Jesus-Ayson, A. Takemura. 2007. mRNA expression patterns for GH, PRL, SL, IGF-I and IGF-II during altered feeding status in rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Gen Comp Endocrinol.* 150: 196–204.
- Carnevalli, O., M. Cardinali, F. Maradonna, M. Parisi, I. Olivotto, A.M. Polzonetti-Magni, G. Mosconi y B. Funkenstein (2005). Hormonal regulation of hepatic IGF-I and IGF-II gene expression in the marine teleost *Sparus aurata*. *Mol Reprod Dev.* 71: 12–18.
- Funes, V., E. Asensio, M. Ponce, C. Infante, J.P. Cañavate y M. Manchado (2006). Insulin-like growth factors I and II in the sole *Solea senegalensis*: cDNA cloning and quantitation of gene expression in tissues and during larval development. *Gen Comp Endocrinol.* 149:166–172.
- Infante, C., M.P. Matsuoka, E. Asensio, J.P. Cañavate, M. Reith y M. Manchado (2008). Selection of housekeeping genes for gene expression studies in larvae from flatfish using real-time PCR. *BMC Mol. Biol.* 9: 28.
- Ponce, M., C. Infante, V. Funes y M. Manchado (2008). Molecular characterization and gene expression analysis of insulin-like growth factors I and II in the redbanded seabream, *Pagrus auriga*: transcriptional regulation by growth hormone. *Comp Biochem Physiol part B.* 150: 418–426.
- Quéro, J.C., M. Desoutter y F. Lagardère (1986) Soleidae. In: Fishes of the North eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol 3. P.J. Whittetehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen y E. Tortonese, (Eds.): 1308–1328.
- Wood, A.W., C. Duan y H.A. Bern (2005). Insulin-like growth factor signalling in fish. *Int Rev Cytol.* 243: 215–285.

Expresión génica del receptor de IGF-I (IGF-IR) en tejidos y durante el desarrollo larvario de *Solea senegalensis*. Efecto de la administración de hormona del crecimiento (GH)

V. Funes, G. Catanese, L. Pérez, C. Infante y M. Manchado

IFAPA Centro El Toruño, Camino Tiro de Pichón, s/n, 11500, El Puerto de Santa María (Cádiz)
e-mail: victoria.funes.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

The present study was aimed at measuring relative gene expression levels of insulin-like growth factor I receptor (IGF-IR) in different organs and during larval development and after growth hormone (GH) administration in Senegalese sole. Real-time PCR data showed that *IGF-IR* was expressed at the highest levels in spleen, gills and kidney (8.8, 13.6 and 13.9-fold higher than liver, respectively). During larval development, *IGF-IR* transcripts reduced significantly during metamorphosis. GH administration increased *IGF-IR* mRNA at 1, 6, 12 and 24 h after injection in liver (1.9-3.0 fold higher than control) and at 1 and 6 h in spleen (>2.0-fold higher than control). Our results demonstrate that *IGF-IR* is differentially expressed in organs and positively regulated by GH playing a key role in growth in sole.

Justificación

Los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) son claves en el crecimiento y desarrollo de peces (Wood *et al.*, 2005). Su acción está mediada por el receptor IGF tipo 1 (IGF-IR), habiéndose identificado 2 tipos en teleosteos cuya expresión está modulada por diversas hormonas, la temperatura y el estado metabólico (Wood *et al.*, 2005). El estudio de este tipo de genes en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup), pleuronectiforme de gran interés económico, resulta de gran interés con vistas al futuro desarrollo industrial de su cultivo. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los perfiles de expresión del gen *IGF-IR* durante el desarrollo larvario y en tejidos de juveniles de lenguado senegalés, así como su regulación por la hormona del crecimiento (GH).

Material y Métodos

Los ejemplares de lenguado senegalés se obtuvieron del IFAPA Centro *El Toruño*. Para el estudio en tejidos y larvas, el cultivo y la toma de muestras se realizó según Funes *et al.* (2006). Para el experimento de inducción con GH, las dosis empleadas, tiempos de muestreo así como la toma y conservación de muestras se ajustaron a lo descrito en Ponce *et al.* (2008). En este caso, el peso medio de los individuos fue de 35 g y los órganos estudiados fueron hígado y bazo. La cuantificación de la expresión génica se realizó según lo descrito por Funes *et al.* (2006), utilizando una pareja de cebadores específicos para IGF-IR (Acc No FJ515914.1) y el *ARNr 18S* para normalización tal como se describe en Infante *et al.* (2008).

La significación estadística de los datos se determinó mediante un análisis de varianza no paramétrico (test Krustal-Wallis para comparar tejidos o estadios larvarios y el test Mann-Whitney *U* para el efecto de GH), utilizando el programa InStat v3.0.

Resultados y Discusión

IGF-IR se expresó de forma ubicua aunque diferencialmente en hígado, bazo, estómago, intestino, riñón y branquias de lenguado senegalés. El número de transcritos era reducido en hígado, con niveles elevados en bazo, branquias y riñón (8.8, 13.6 y 13.9 veces más que en hígado, respectivamente). Esta distribución coincide con la de lenguado japonés (Nakao *et al.*, 2002) destacando en nuestro caso los niveles elevados de órganos linfoides. En larvas los niveles máximos de *IGF-IR* se observan en el 2º día tras la eclosión, a partir del cual comienza una disminución moderada que se mantiene durante los días 6-10, detectándose una caída significativa de los mismos a partir del día 12, cuando comienza la migración del ojo. Estos resultados coinciden con los descritos para el rodaballo y fletán, en los que se observa una disminución de la expresión de *IGF-IR* tras la metamorfosis (Elies *et al.*, 1999; Hildahl *et al.*, 2007). La inyección de GH aumentó los niveles de *IGF-IR* a las 1, 6, 12 y 24 h en hígado, y a 1 y 6 h en bazo (1.9-3.0 veces más que el control, PBS 1h). En pez cebra no se detectaron diferencias significativas en la expresión de *IGF-IR* tras la administración de 1 µg/g de GH, aunque cabe destacar que se midió a las 15 horas tras la inyección (Maures *et al.*, 2002). Los resultados obtenidos reflejan que IGF-IR puede actuar de forma diferencial en tejidos

modulando la acción de sus ligandos IGFs así como su regulación positiva por GH promoviendo el crecimiento.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a la Dirección General de Pesca (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía) en el marco de un proyecto financiado con fondos FEDER (UE).

Bibliografía

- Eliès, G., H. Duval, G. Bonnet, J. Wolff, G. Boeuf y D. Boujard (1999). Insulin and insulin-like growth factor-1 receptors in an evolved fish, the turbot: cDNA cloning and mRNA expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 158: 173–185
- Funes, V., E. Asensio, M. Ponce, C. Infante, J.P. Cañavate y M. Manchado (2006). Insulin-like growth factors I and II in the sole *Solea senegalensis*: cDNA cloning and quantitation of gene expression in tissues and during larval development. *General and Comparative Endocrinology*. 149:166-172.
- Hildahl, J., M. Galay-Burgos, G. Sweeney, I.E. Einarsdóttir y B.T. Björnsson (2007). Identification of two isoforms of Atlantic halibut insulin-like growth factor-I receptor genes and quantitative gene expression during metamorphosis. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 147: 395–401.
- Infante, C., M.P. Matsuoka, E. Asensio, J.P. Cañavate, M. Reith y M. Manchado (2008). Selection of housekeeping genes for gene expression studies in larvae from flatfish using real-time PCR. *BMC Molecular Biology*. 9: 28.
- Maures, T., S.J. Chan, B. Xu, H. Sun, J. Ding y C. Duan (2002). Structural, biochemical, and expression analysis of two distinct insulin-like growth factor I receptors and their ligands in zebrafish. *Endocrinology*. 143: 1858–1871.
- Nakao, N., M. Tanaka, Y. Higashimoto y K. Nakashima (2002). Molecular cloning, identification and characterization of four distinct receptor subtypes for insulin and IGF-I in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Endocrinology*. 173: 365–375.
- Ponce, M., C. Infante, V. Funes y M. Manchado (2008). Molecular characterization and gene expression analysis of insulin-like growth factors I and II in the redbanded seabream, *Pagrus auriga*: transcriptional regulation by growth hormone. *Comparative Biochemistry and Physiology part B*. 150: 418-426.
- Wood, A.W., C. Duan y H.A. Bern (2005). Insulin-like growth factor signalling in fish. *International Review of Cytology*. 243: 215-285.

Identificación morfológica y molecular del Centollo Mediterráneo *Maja squinado* (Decapoda, Brachyura, Majidae)

G. Guerao¹, K. Andree¹, C. Frogli², C. G. Simeó¹ y G. Rotllant¹

¹ IRTA, Ctra. Poble Nou Km 5,5, 43540 Sant Carles de la Ràpita, guillermo.guerao@irta.cat

² Istituto di Scienze Marine (CNR), Largo Fiera della Pesca, 60125 Ancona, Italia.

Abstract

The present work provides morphological and molecular information allowing easy recognition of the European species of the genus *Maja* (except *M. goltziana*). *M. brachydactyla* and *M. squinado* are commercial species that can be easily confused. The relationship between CL and LP is a useful morphometric index to identify *M. brachydactyla* and *M. squinado* species. At the molecular level, the restriction enzymes *Spe* I and *Ase* I with the mitochondrial gene COI allows rapid identification of species (including *M. crispata*). The molecular identification may be particularly useful in juvenile and young crabs, when the morphological differences found in adults are not applicable.

Justificación

En las costas europeas, se ha descrito cuatro especies del género *Maja*: *M. brachydactyla*, *M. squinado*, *M. goltziana* y *M. crispata*. *M. brachydactyla* y *M. squinado* son especies con valor comercial, parecidas en morfología y tamaño, y recientemente se han identificado como especies diferentes (Neumann, 1998; Sotelo *et al.*, 2008). *M. brachydactyla* está presente en el Atlántico, mientras que *M. squinado* se ha encontrado sólo en el Mediterráneo (d'Udekem d'Acoz, 1999). Actualmente se está estudiando la viabilidad del cultivo de ambas especies para su producción y/o repoblación. *M. crispata* es de menor tamaño pero puede confundirse con los juveniles de las especies comerciales. En el presente trabajo se aporta información morfológica, morfométrica y molecular que permite el fácil reconocimiento de las especies europeas del género *Maja* (excepto *M. goltziana*).

Material y Métodos

Ejemplares de *M. brachydactyla* fueron capturados en Galicia y en Ceuta; los de *M. squinado* y *M. crispata* proceden de la costa mediterránea española y del Mar Adriático. Se midió la longitud del cefalotórax (CL) y la distancia entre la punta de las dos espinas preorbitarias (LP). Para el estudio molecular, el gen mitocondrial COI se amplificó mediante PCR a partir de ADN extraído del tejido muscular. Posteriormente, se trató el producto de la PCR con los enzimas de restricción *Spe* I y *Ase* I.

Resultados y Discusión

Los resultados muestran claras diferencias en la forma y orientación de las espinas preorbitarias en *M. brachydactyla* y *M. squinado* (Figura 1). La relación entre CL y LP es un buen índice morfométrico para diferenciar las dos especies (Figura 2A). A nivel molecular, el uso de los enzimas de restricción *Spe* I y *Ase* I

Figura 1. Forma y orientación de la espina preorbitaria (indicada con las flechas). A, *Maja squinado*, visión frontal. B, *M. brachydactyla*, visión frontal

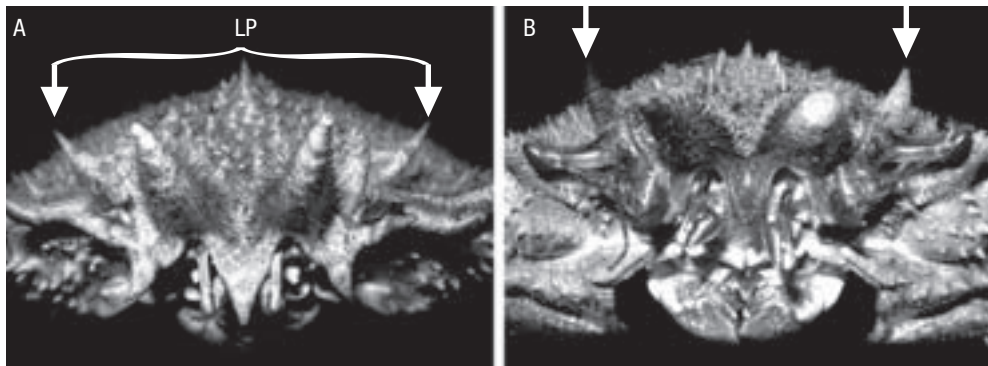
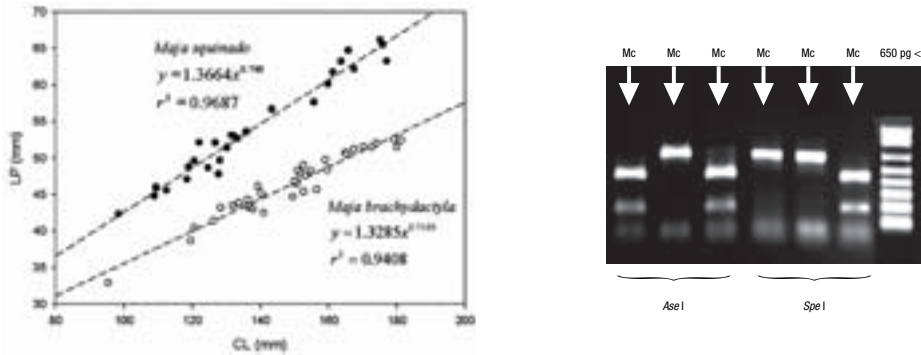


Figura 2. A, relación entre la longitud del cefalotórax (CL) y la distancia entre la punta de las espinas preorbitarias (LP) en *Maja squinado* y *M. brachydactyla*. B, patrón de bandas obtenido mediante la digestión del gen COI con los enzimas de restricción Spe I y Ase I en *M. crispata* (Mc), *M. squinado* (Ms) y *M. brachydactyla* (Mb).



con el gen mitocondrial COI, permite una rápida identificación de las especies (incluyendo *M. crispata*) sin necesidad de proceder a la secuenciación del gen (Figura 2B). La identificación molecular puede ser especialmente útil en ejemplares jóvenes, cuando las diferencias morfológicas detectadas en los adultos son difícilmente aplicables.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al proyecto REPES (JACUMAR) y a la beca post-doctoral INIA de GG.

Bibliografía

- d'Udekem d'Acoz, C. 1999. Inventaire et distribution des crustacés décapodes de l'Atlantique nord-oriental, de la Méditerranée et des eaux continentales adjacentes au nord de 25°N. *Patrimoines naturels (M.N.H.N./S.P.N.)*, 40, 1-383.
- Neumann, V. 1998. A review of the *Maja squinado* (Crustacea: Decapoda: Brachyura) species-complex with a key to the eastern Atlantic and Mediterranean species of the genus. *Journal of Natural History*. 32(10-11): 1667-1684.
- Sotelo, G., P. Morán y D. Posada. 2008. Genetic identification of the northeastern Atlantic spiny spider crab as *Maja brachydactyla* Balss, 1922. *Journal of Crustacean Biology*. 28(1): 76-81.

Duplicación en teleósteos de los genes codificantes de calsecuestrina. Caracterización molecular y análisis de la expresión génica en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup)

C. Infante, M. Manchado

IFAPA Centro El Toruño, Camino Tiro de Pichón s/n, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz,
e-mail: carlos.infante@juntadeandalucia.es

Abstract

The complete cDNAs encoding four different calsecuestrin isoforms in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup) have been sequenced. Maximum likelihood phylogenetic analysis including sequences from other fish and mammals revealed that the four sole calsecuestrins appeared clustered into two separate and highly supported clades with their respective fish counterparts, each one including skeletal (CASQ1) and cardiac (CASQ2) isoforms. In each of these clades, two well-supported branches (referred to as CASQ1A/CASQ1B and CASQ2A/CASQ2B, respectively) were detected. Presence of paralogous genes in the Senegalese sole and other teleost could be the result of the fish-specific genome duplication. In juvenile fish, both CASQ1 were strongly expressed in skeletal muscle, whereas the highest CASQ2A transcript levels were detected in heart. Strikingly, CASQ2B revealed as brain-specific. During larval development, the four different calsecuestrin genes exhibited a different expression pattern, although only CASQ1A transcription appeared to be regulated by thyroid hormones during metamorphosis.

Justificación

La calsecuestrina es una proteína con moderada afinidad y alta capacidad de unión a Ca^{++} que se localiza en el lumen del retículo sarcoplásmico de las células musculares esqueléticas y cardíacas, jugando un papel fundamental en la contracción y relajación muscular. Además de su función tamponadora de Ca^{++} , la calsecuestrina regula la liberación de Ca^{++} desde el retículo sarcoplásmico inhibiendo la actividad de los canales transportadores de Ca^{++} . En mamíferos se han descrito dos isoformas distintas de calsecuestrina, esquelética y cardíaca, codificadas por los genes *CASQ1* y *CASQ2*, respectivamente (Beard, Laver y Dulhanty, 2004). A diferencia de mamíferos, hasta la fecha no se ha llevado a cabo la caracterización molecular ni el estudio de la expresión génica de ambas isoformas en ninguna especie de teleósteo. Dicha información permitirá conocer el grado de conservación y la evolución de los genes codificantes de calsecuestrina, así como su posible función en teleósteos.

Material y Métodos

Se construyeron diez librerías de ADNc correspondientes a distintos estadios larvarios y tejidos adultos de lenguado senegalés. Las librerías se mezclaron y normalizaron, y se secuenciaron aproximadamente 11.000 clones (Cerdà *et al.*, 2008). Tras la anotación, se identificaron dos ESTs que se correspondían con *CASQ1* y *CASQ2*, respectivamente. Ambas secuencias se completaron diseñando cebadores específicos con el programa Oligo (Medprobe) empleando como ADN molde una librería de larvas post-metamórfica (Números de acceso: AB442012 y AB442013, respectivamente).

En una búsqueda en la base ENSEMBL se comprobó que las especies de teleósteos representadas existían secuencias parálogas de *CASQ1* y *CASQ2* no encontradas en mamíferos. A partir de dichas secuencias se diseñaron cebadores degenerados, obteniéndose las correspondientes secuencias parciales en el lenguado senegalés. Tales secuencias parciales se completaron posteriormente siguiendo la estrategia anteriormente descrita (Números de acceso: AB512768 y AB512769, respectivamente). Posteriormente se llevó a cabo un análisis filogenético mediante el método de máxima verosimilitud, del mismo modo al descrito en Infante *et al.* (2008), incluyendo secuencias de otros teleósteos y de mamíferos.

Adicionalmente, se cuantificó la expresión génica relativa mediante PCR a tiempo real durante el desarrollo larvario y en distintos tejidos de juveniles tal como se describe en Infante *et al.* (2008). Asimismo, se estudió su posible regulación por hormonas tiroideas durante la metamorfosis mediante tratamientos con TU y TU + T4 siguiendo el procedimiento descrito en Manchado *et al.* (2008).

Resultados y Discusión

Se han caracterizado los ADNc que codifican cuatro isoformas de calsecuestrina en el lenguado senegalés, dos de tipo esquelético, y dos de tipo cardíaco. El análisis filogenético incluyendo un amplio rango de

secuencias muestra que las distintas isoformas esqueléticas y cardíacas aparecen agrupadas en cuatro ramas principales con un alto soporte de bootstrap, diferenciándose los clados de mamíferos y de teleosteos. Dentro de estos últimos, cada clado aparece subdividido en dos sub-grupos parálogos altamente significativos (CASQ1A/CASQ1B y CASQ2A/CASQ2B), lo que sugiere la existencia de un evento pasado de duplicación génica, probablemente resultado de la ronda de duplicación 3R específica de peces (Steinke *et al.*, 2006).

Las isoformas CASQ1A y CASQ1B de lenguado alcanzaron los mayores niveles de expresión génica en músculo. Por el contrario, los mayores niveles de transcrito de CASQ2A se detectaron en corazón. Sorprendentemente, la isoforma CASQ2B se reveló como específica de cerebro.

Cada isoforma presentó un patrón de expresión diferente durante el desarrollo larvario. Además, los resultados de los tratamientos con TU y TU + T4 indicarían que solamente CASQ1A estaría regulada por hormonas tiroideas durante la metamorfosis.

En conjunto, los resultados de expresión génica en larvas y en tejidos de lenguado senegalés sugieren la existencia de procesos de subfuncionalización y/o neofuncionalización de las diferentes calsequestrinas (Force *et al.*, 1999). En el caso de CASQ2B, su posible papel en la regulación de la liberación del Ca⁺⁺ citoplásmico durante la transmisión de señal entre neuronas merece especial atención en futuros estudios.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha financiado con el proyecto INIA RTA2009-00066-00-00.

Bibliografía

- Beard, N.A., D.R. Laver y A.F. Dulhunty. 2004. Calsequestrin and the calcium release channel of skeletal and cardiac muscle. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 85: 33-69.
- Cerdà, J., J. Mercadé, J.J. Lozano, M. Manchado, A. Tingaud-Sequeira, A. Astola, C. Infante, S. Halm, J. Viñas, B. Castellana, E. Asensio, P. Cañavate, G. Martínez-Rodríguez, F. Piferrer, J.V. Planas, F. Prat, M. Yúfera, O. Durany, F. Subirada, E. Rosell y T. Maes. 2008. Genomic resources for a commercial flatfish, the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): EST sequencing, oligo microarray design, and development of the Soleamold bioinformatic platform. *BMC Genomics*. 9: 508.
- Force, A., M. Lynch, F.B. Pickett, A. Amores, Y.L. Yan y J. Postlethwait. 1999. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics*. 151: 1531-1545.
- Infante, C., E. Asensio, J.P. Cañavate y M. Manchado. 2008. Molecular characterization and expression analysis of five different elongation factor 1 alpha genes in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup): Differential gene expression and thyroid hormones dependence during metamorphosis. *BMC Molecular Biology*. 9: 19.
- Manchado, M., C. Infante, E. Asensio, J.V. Planas, J.P. Cañavate. 2008. Thyroid hormones down-regulate thyrotropin β subunit and thyroglobulin during metamorphosis in the ?at?sh Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup). *General and Comparative Endocrinology*. 155: 447-455.
- Steinke, D., S. Hoegg, H. Brinkmann y A. Meyer. 2006. Three rounds (1R/2R/3R) of genome duplications and the evolution of the glycolytic pathway in vertebrates. *BMC Biology*. 4: 16.

Incremento de la apoptosis durante el desarrollo embrionario en rodaballos (*Scophthalmus maximus* L.) triploides

S. Magadán¹, J. Hernández¹ y R. Cal¹

¹ Instituto Español de Oceanografía, C.O. de Vigo. Cabo-Estai, Canido. Aptdo. 1552. 36200 Vigo.
susana.magadan@vi.ieo.es

Sumario

The chromosome manipulation techniques, such as induction of triploidy, have been evaluated to improve the culture of fish species with high economic interest, such as turbot (TJ Benfey, 1999; Hulata G. 2001). Previous studies in adults suggest that turbot triploid fish have a lower number of cells, which are larger than diploid (Cal R., et.al, 2005; Budiño B., et. Al. 2006). These differences in number and size could alter cellular activity and affect the development, not only in adults but also in embryos and larvae. The aim of this study is to determine whether triploidy in turbot has an effect on one of the most important processes that control embryonic development, the apoptosis. Data obtained by flow cytometry indicated a higher percentage of apoptotic cells and a smaller number of proliferating cells in triploid embryos. This increased rate of apoptosis could have an effect on survival during the early stages of development, and this factor should be considered in the culture of these triploid fishes.

Justificación

El rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) es un especie marina, de gran interés comercial, en la que la inducción de triploidía es una opción interesante debido a la mayor proporción de hembras y además estériles que se obtienen. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para evaluar cómo afecta una mayor dotación cromosómica en el desarrollo del rodaballo.

Material y Métodos

Obtención individuos

Los embriones de rodaballo se obtuvieron en las instalaciones del Centro Oceanográfico de Vigo tras la fertilización de ovocitos obtenidos mediante masaje abdominal. La producción de individuos triploides se realizó mediante el bloqueo de la segunda división meiótica con la aplicación de un choque frío a huevos fecundados. Individuos diploides (2n) y triploides (3n) fueron cultivados por separado y de la forma habitual hasta la eclosión.

Obtención muestras

Se recogieron huevos/embriones cada 48-72 horas. Se realizaron dos lavados mediante centrifugación en Tampón fosfato salino estéril. Tras los lavados, los huevos se transfieren a un filtro en el que, con ayuda del émbolo de una jeringuilla, son presionados obteniéndose una suspensión celular. El número y viabilidad celular se determinó bajo un microscopio óptico, mediante recuento con Azul Tripán en cámara de Neubauer.

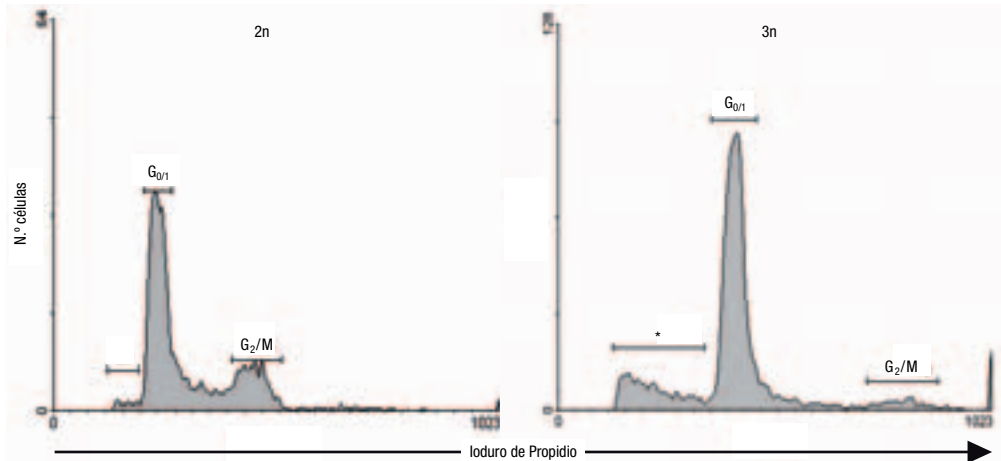
Determinación triploidía y apoptosis mediante Citometría de Flujo

5x10⁵ células (en 500 µL) fueron incubadas en presencia de 50 µL de una solución de Ioduro de Propidio (1 mg/ml), 0,02% Tritón X-100 RNAsa A (1 mg/mL). La tinción fue analizada en el Citómetro de Flujo FC500, Beckman Coulter, CA, USA. En algunos casos para confirmar la presencia de apoptosis se utilizó el kit TACS Annexin-Fitc de RnDSystems.

Resultados y Discusión

El objetivo fundamental de este trabajo es evaluar, mediante citometría de flujo, cómo afecta la dotación cromosómica al ciclo celular durante el desarrollo embrionario. Como se muestra en la Figura 1, con un ejemplo representativo, a las 48 horas, los embriones triploides (3n) muestran un mayor porcentaje de células en apoptosis y un menor porcentaje de células en división. Este retraso en el ciclo celular, así como el mayor índice de apoptosis podría tener un efecto en la supervivencia durante los primeros estadios del desarrollo, siendo un factor a tener en cuenta en el cultivo de estos peces triploides.

Figura 1. Análisis del ciclo celular de células embrionarias de rodaballos diploides ($2n$) y triploides ($3n$). En la parte superior se muestra un ejemplo representativo de los datos obtenidos por Citometría de Flujo con embriones de 48 horas. En el caso de individuos $2n$ apenas se detectan células en apoptosis, sin embargo, en individuos $3n$ el porcentaje de células con DNA fraccionado (Indicado como *) es superior (Bedner et.al. 1999). En la parte inferior de la figura se muestran los datos obtenidos con embriones de 48 horas, se analizaron un total de 35 individuos $2n$ y 32 $3n$. (*) % de células con DNA fraccionado; (G_0/G_1) % de células en estadios G_0/G_1 del ciclo celular y (G_2/M) % de células en estadios G_2/M del ciclo



	*	G_0/G_1	G_2/M
2n (35)	3%	61,7%	16,8%
3n (32)	27,8%	39,8%	8,4%

Bibliografía

- Bedner E., Li X., Gorczyca W., Melamed M.R. and Darzynkiewicz Z. 1999. Analysis of Apoptosis by Laser Scanning Cytometry. En: *Cytometry* 35: 181-195.
- Benfey T.J. 1999. A bibliography of triploid fish, 1943 to 1988. En: *Can. Tech.Rep.Fish. Aquatic. Sci.* 1682 (33p).
- Budiño B., Cal R., Piazzon M. C. and Lamas J. 2006. The activity of several components of the innate immune system in diploid and triploid turbot. En: *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 145: 108-113.
- Cal R., Vidal S., Camacho T., Piferrer F. and Guitián F. 2005. Effect of triploidy on turbot haematology. En: *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 141: 35-41.
- Hulata G. 2001. Genetic manipulation in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. En: *Genetica* 11: 155-173.

Utilización de la región ITS-1 como marcador especie-específico de la familia Sparidae (Teleostei)

M. A. Merlo, I. Cross y L. Rebordinos

Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Polígono Río San Pedro, 11510 Puerto Real, Cádiz. e-mail: laureana.rebordinos@uca.es

Abstract

A molecular study of ITS-1 from 45S rDNA region has been carried out into three species of fishes of Sparidae family: *Pagrus pagrus*, *Pagrus auriga* and *Diplodus sargus*. Amplicons containing 3' end of 18S rDNA, entire ITS-1 region and 5' end of 5.8S rDNA were obtained by mean of PCR; sequence alignments showed polymorphic sites that were taken advantage to design four species-specific primers: three forward primers specific for each species and another reverse primer common to the three species. Multiplex PCR carried out using these primers gave as results products of 789, 644 and 553 bp belonging to *P. pagrus*, *P. auriga* and *D. sargus* respectively; it allowed the identification of these three species of high commercial value in an only rapid and reliable step. On the other hand, by analysis of common sequence blocks into ITS-1 region in the three species, it was possible to observe rearrangements into this region from each species.

Justificación

Los problemas taxonómicos evidentes dentro de la familia Sparidae, la amplitud de sus hábitats y su elevado interés comercial, hacen necesaria la búsqueda de marcadores moleculares que permitan identificar especies o diferenciar entre poblaciones de una misma especie. En este sentido, las familias multigénicas han demostrado ser eficaces para este objetivo en otras especies de peces, como en lenguados (Manchado, Rebordinos e Infante, 2006) o en escómbridos (Infante *et al.*, 2007). Se han utilizado incluso para la identificación de especies en filetes de pescado ahumados (Carrera *et al.*, 2000).

Las regiones espaciadoras no codificantes del gen ribosómico ADNr 45S (ITS-1, ITS-2 o IGS) han sido utilizadas en multitud de ocasiones como marcadores para diferenciar especies o incluso para vislumbrar la estructura poblacional de una misma especie, por lo que estas regiones de ADN se sitúan como excelentes marcadores moleculares para la identificación de especies.

Material y Métodos

Para llevar a cabo el análisis molecular de las familias multigénicas se tomaron muestras de tejido muscular de individuos distintos de *Diplodus sargus*, *Pagrus pagrus* y *Pagrus auriga*. Los peces fueron amablemente cedidos por el centro de investigación IFAPA «El Toruño» (Puerto de Santa María, Cádiz, España).

La extracción de ADN de los tejidos musculares se realizó siguiendo el protocolo descrito en el kit FastDNA® (Q-Biogene). A cada ADN extraído se le realizó una amplificación por PCR de la región completa del ITS-1, incluyendo parte de las regiones codificantes ADNr 18S y ADNr 5.8S. Para ello se utilizaron las parejas de cebadores descritas por Kuriwa *et al.* (2007). Las condiciones de amplificación fueron las mismas descritas por Cross *et al.* (2005).

Los productos de PCR purificados fueron clonados en vectores pGEM®-T Easy (Promega), y se extrajeron los plásmidos con el kit NucleoSpin® Plasmid (Macherey-Nagel). Los plásmidos se enviaron al Servicio Central de Apoyo a la Investigación (SCAI) de la Universidad de Córdoba (España) y al SCAI de la Universidad de Málaga (España) para la secuenciación de los insertos clonados.

Las secuencias de los clones fueron alineadas con el programa ClustalW, y las secuencias consenso fueron creadas mediante el programa BioEdit. Por otro lado, se procedió al diseño, dentro de los espaciadores ITS-1, de cebadores específicos de cada especie, consiguiendo diseñar 3 cebadores «forward» específicos de cada especie y uno «reverse» común a las tres especies. Con estos cuatro cebadores se realizó una PCR multiplex, cuyas condiciones de PCR fueron las mismas. Por otro lado, se procedió a una búsqueda, dentro de los espaciadores, de bloques de secuencias comunes en las especies estudiadas mediante el programa MACAW.

Resultados y Discusión

Las amplificaciones de la región ITS-1 con los cebadores específicos fueron claras y repetitivas, dando unos productos de 553 pb en *D. sargus*, de 789 pb en *P. pagrus*, de 644 pb en *P. auriga*. Los resultados aquí

obtenidos convierten al ITS-1 en un excelente marcador específico para cada una de estas especies. La región ITS-1 ya ha sido utilizada con éxito como marcadores para identificación de especies en ostras (Wang y Guo, 2008) y merluzas (Pérez, Vieites y Presa, 2005) entre otros, siendo también un marcador ampliamente utilizado para estudios de filogenia (Kuriwa *et al.*, 2007).

Analizando la existencia de bloques de secuencias comunes dentro del ITS-1 pudimos comprobar que existe relación entre las secuencias de las tres especies, que comparten hasta 6 bloques de secuencias distintas (bloques A, B, C, D, E y F). Las diferencias entre los ITS-1 se caracterizaron (además de los fragmentos de secuencias únicas de cada especie) por una duplicación del extremo 3' del bloque A y el bloque B completo en *P. pagrus*. Esta duplicación no se observó ni en *P. auriga* ni en *D. sargus*. Por otro lado, el bloque A de *D. sargus* presentaba una delección por ambos extremos con respecto a las especies *Pagrus*, y el bloque B por el extremo 5'. La existencia de tal cantidad de bloques de secuencias comunes en las tres especies de espáridos refuerza el valor de esta secuencia como marcador filogenético.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por ayudas concedidas por la Junta de Andalucía al grupo PAI BIO-219.

Agradecemos al centro IFAPA «El Toruño» la cesión de las muestras necesarias para llevar a cabo este trabajo.

Bibliografía

- Carrera E., García T., Céspedes A., Gonzáles I., Fernández A., Asensio L., Hernández P., and Martín R. (2000). Differentiation of smoked *Salmo salar*, *Onchorhynchus mykiss* and *Brama raii* using the nuclear marker 5S rDNA. *International Journal of Food Science and Technology* 35: 401-406.
- Cross I., Diaz E., Sanchez I., and Rebordinos L. (2005). Molecular and cytogenetic characterization of *Crassostrea angulata* chromosomes. *Aquaculture* 247: 135-144.
- Infante C., Blanco E., Zuasti E., Crespo A., and Manchado M. (2007). Phylogenetic differentiation between Atlantic *Scomber colias* and Pacific *Scomber japonicus* based on nuclear DNA sequences. *Genetica* 130: 1-8.
- Kuriwa K., Hanzawa N., Yoshino T., Kimura S., and Nishida M. (2007). Phylogenetic relationships and natural hybridization in rabbitfishes (Teleostei: Siganidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 69-80.
- Manchado M., Rebordinos L., and Infante C. (2006). U1 and U2 Small Nuclear RNA Genetic Linkage: A Novel Molecular Tool for Identification of Six Sole Species (Soleidae, Pleuronectiformes). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 3765-3767.
- Pérez M., Vieites J. M., and Presa P. (2005). ITS1-rDNA-Based methodology to identify World-Wide hake species of the genus *Merluccius*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5239-5247.
- Wang Y., and Guo X. (2008). ITS length polymorphism in oysters and its use in species identification. *Journal of Shellfish Research* 27: 489-493.

Evaluación genética del impacto del asentamiento exógeno sobre cuerdas de batea inoculadas con semilla seleccionada

M. Miñambres¹, M. Pérez¹, A. Aghzar², P. Alvarez¹ y P. Presa¹

¹ Universidad de Vigo, ECIMAT-Facultad de Ciencias del Mar, Illa de Toralla, 36331 Coruxo, 36310 Vigo.
E-mail: presa@uvigo.es

² Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Appliquée et Pathologie, BP. 2121, Mhannech 2, 93002 Tétouan, Morocco

Abstract

En este trabajo pionero en los estudios genéticos sobre el mejillón cultivado, utilizamos una batería multiplex de microsatélites para diferenciar la semilla que procede de fijación externa, de aquella otra que nos hemos propuesto engordar en batea. En función de la latitud, de la época de implantación en parque, y del dispositivo de suspensión, podemos estimar precisamente el impacto de la fijación externa de mejilla procedente de puestas naturales. Esta tecnología de manejo genético permite garantizar la autenticidad genética de la semilla seleccionada, implantada en batea, y finalmente cosechada.

Justificación

La creciente competitividad del sector miticultor internacional, debería acarrear un esfuerzo innovador en aspectos de gestión costera, infraestructuras y tecnologías de cultivo, y también en aspectos biológicos del mejillón. Entre estos últimos se encuentran campos de investigación muy activos, como la optimización nutricional para el pre-engorde de semilla en criadero (e.g., Whyte *et al.*, 2002) o la incorporación de tecnologías genéticas para el manejo de semilla tanto de stocks naturales como la producida en criadero. La selección de semilla ha comenzado a efectuarse en ECIMAT de modo experimental (Miñambres *et al.*, 2009), pues antes de su transferencia al sector es necesario evaluar su impacto sobre las poblaciones naturales (en caso de modificación genética), y desarrollar técnicas que permitan trazar los stocks seleccionados hasta la cosecha (como garantía comercial, marca comercial, y denominación de origen). El sistema de cultivo de mejillón en batea resulta más rentable que otros alternativos, sin embargo el engorde en batea de semilla implantada en cuerdas, no asegura que los adultos finales cosechados sean los implantados inicialmente. En este trabajo se muestra parte de los resultados de un estudio efectuado para valorar la identidad genética de un stock seleccionado en fase de cosecha (Miñambres *et al.*, datos no publicados).

Material y Métodos

En octubre 2007 se generó una progenie de hermanos completos de *M. galloprovincialis* en la hatchery de mejillón de ECIMAT (Universidad de Vigo). La semilla se asentó en tanques troncocónicos de PVC en noviembre 2007, momento en que se procedió a la fijación de alicuotas de la progenie en cuerdas de engorde. A cada cuerda de 2 m, y a sus replicas y controles, se fijó una alicuota de 4000 individuos por metro, protegida con malla de fijación, y se mantuvieron en nursery durante 1 mes hasta el asentamiento definitivo de todos los individuos. En Enero 2008 se implantaron cuatro replicas de las cuerdas en batea (2 protegidas y 2 desprotegidas) y se mantuvieron las cuerdas control en criadero con dieta basal hasta el final del experimento (Figura 1). A partir de abril 2008 se extrajeron muestras mensuales de 60 individuos por cada cuerda y se congelaron para análisis posterior. El último muestreo se realizó a los 12 meses sobre individuos adultos. Los individuos muestreados y sus parentales se genotiparon con 6 marcadores microsatélites (Presa *et al.*, 2002), y se calculó la tasa mínima de asentamiento externo de semilla respecto a la progenie control como proporción de individuos con segregación multilocus atípica según el genotipo parental.

Resultados y Discusión

La tasa de fijación de semilla exterior fue nula en los tres primeros meses (abril - junio 2008) en todas las cuerdas. A los 12 meses de cultivo la tasa de fijación fue inferior al 2 % en las cuerdas protegidas y fluctuó entre el 20% y el 40% en las cuerdas desprotegidas (Tabla 1). Se observó que la tasa de fijación externa depende al menos, 1) del momento de salida a parque de las cuerdas inoculadas, debido a la asincronía con la puesta natural; 2) de la densidad de mejilla, que permite la implantación de larva planctónica exterior; 3) del impacto de la depredación sobre el stock y de la mortalidad de la mejilla implantada, que

Figura 1. Cuerda inoculada con progenie biparental mantenida en criadero durante 12 meses, utilizada como control de estabilidad génica



Tabla 1. Ejemplo de medidas obtenidas sobre una réplica experimental para estimar fijación externa

	6 meses		7 meses		8 meses		12 meses	
	P	D	P	D	P	D	P	D
Supervivencia (%)	100	100	100	80	100	70	99.5	50
Fijación externa (60 individuos)	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	1/60	22/60
Porcentaje de fijación	0	0	0	0	0	0	1.67	36.67

proporcionan nichos para el asentamiento exterior. Para maximizar la cosecha del mayor porcentaje del stock seleccionado es necesario minimizar la depredación, ajustar la densidad y distribución por cuerda, y efectuar los controles iniciales y finales respectivos sobre la identidad genética del stock implantado y el cosechado.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico de la Xunta de Galicia (Agrupación Estratégica Eci-mat-Oceanografía Ref# 2008-080, y Ayudas para la Consolidación de Unidades Competitivas de Investigación 2007/08, Ref# V825 122P 64502) y de la Universidad de Vigo (Contrato Programa con Grupos de Investigación Consolidados, Ref# 08VIB15).

Bibliografía

- Whyte, J., K. Sherry, N. Ginther y G. Peribere. 2002. Effects of a *Schizochytrium*-based diet in the growth and nutritional condition of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*. En: *Actas del Congreso Aquaculture Canada 2002*, Abstracts: <http://www.aquacultureassociation.ca/ac02/abstracts/mussel.htm>.
- Miñambres, M., P. Alvarez, A. Aghzar, A. Pita, M. Pérez, D. Costas, y P. Presa. 2009. Growth enhancement of *Mytilus galloprovincialis* juveniles fed with multi-species algae diets. En: *Actas del congreso Aquaculture Europe 2009*, Trondheim, Noruega, 14-17 Agosto 2009.
- Presa, P., M. Pérez y A.P. Diz. 2002. Polymorphic microsatellite markers for blue mussels (*Mytilus* spp.). *Conservation Genetics*. 3 (4): 441-443.

11 β -Hidroxilasa y Receptor de Glucocorticoides como potenciales marcadores moleculares de respuesta a estrés por confinamiento en juveniles de lubina (*Dicentrarchus labrax*)

D. Negrín-Báez, D. Montero, M. Soula, A. Navarro, L. Rincón, J. García, J. Estefanell, T. Benítez, M. Betancor y J. M. Afonso

Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA): Instituto Universitario de Sanidad Animal (IUSA),
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC)
Carretera Trasmontaña, s/n. 35413. Arucas, Las Palmas. davineba@gmail.com

Abstract

European seabass (*Dicentrarchus labrax*) is a species whose production is carried out mainly through intensive culture, during which it is subjected to manipulation processes such as netting and high density, producing stress conditions and affecting fish welfare. Biomarkers have shown to be an excellent tool to assay the stress response in fish. Among them, genes related with proteins of the cortisol pathway, 11 β -hydroxylase (11 β) and glucocorticoid receptor (GR). In this study, the expression of these two genes has been measured by quantitative reverse transcription-PCR (Q-RT-PCR), in head kidney and liver of stressed and unstressed European sea bass juveniles, exposed to confinement stress. The experiment was carried out for 7 days and twelve fish were sampled at 0, 1.5, 4 and 24 hours and 3 and 7 days. In head kidney, 11 β gene expression at 1.5 and 4 hours was higher ($P < 0.05$) than at the other time points. Significant differences were found in GR expression in liver at 7 days being this value the highest. For the first time in the European sea bass, these results report the utility of 11 β gene for evaluating the stress response, under culture conditions.

Justificación

La lubina (*Dicentrarchus labrax*) es una de las especies más importantes de la acuicultura mediterránea. Los estímulos estresantes derivados de su cultivo intensivo, parecen afectar de una manera significativa a la salud y bienestar de esta especie (Gornati *et al.*, 2004). Para cuantificar la respuesta a estrés en peces, la medida del cortisol circulante ha sido ampliamente utilizada, aunque parece no ser suficientemente fiable para cuantificar el estrés crónico, ya que la producción y metabolismo de esta molécula en términos de duración y magnitud parece ser dependiente del tipo, intensidad y duración del estímulo estresante (Wendelaar Bonga, 1997). Por este motivo, se hace indispensable buscar otros marcadores moleculares, cuya expresión se modifique bajo condiciones de estrés (Gornati *et al.*, 2004). En este sentido, la 11 β -hidroxilasa (11 β) y el receptor de glucocorticoides (RG) son proteínas relacionadas con la respuesta a estrés en peces. La 11 β cataliza el paso final de una serie de isomerizaciones e hidroxilaciones que dan lugar al cortisol (Payne *et al.*, 2004) y el RG es un receptor citosólico de alta afinidad que actúa como un factor de transcripción ligando-dependiente (Evans, 1998). En el presente trabajo se ha estudiado la expresión génica de estas proteínas con el objetivo de determinar si son herramientas útiles para caracterizar la respuesta a estrés por confinamiento en lubina

Material y Métodos

Se utilizaron un total de 72 lubinas de 121 ± 3.14 g de peso, las cuales se mantuvieron en 4 tanques de 500l con una densidad de $10,2 \text{ kg/m}^3$. Tras un periodo de aclimatación de 1 mes, se mantuvieron bajo condiciones de estrés durante 7 días, consistentes en confinamiento en cajas flotantes (50x30x15 cm), siendo el número de peces de cada caja igual a 4. A las 0, 1,5, 4 y 24 horas y a los 3 y 7 días de empezado el confinamiento, se sacrificaron rápidamente 12 peces y se les extrajo el riñón anterior y el hígado. Dichos tejidos se conservaron en *RNALater (Sigma®)* a 4°C durante 8 horas y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. El ARN total fue extraído a partir de 100 mg de tejido, y el ADNc fue sintetizado a partir de 1 μ g de ARN total. Las reacciones de RT-PCR se realizaron en un volumen final de 25 μ l. Las condiciones de los cebadores se muestran en la Tabla 1. Como gen constitutivo para normalizar los datos de expresión se utilizó el gen β -actina.

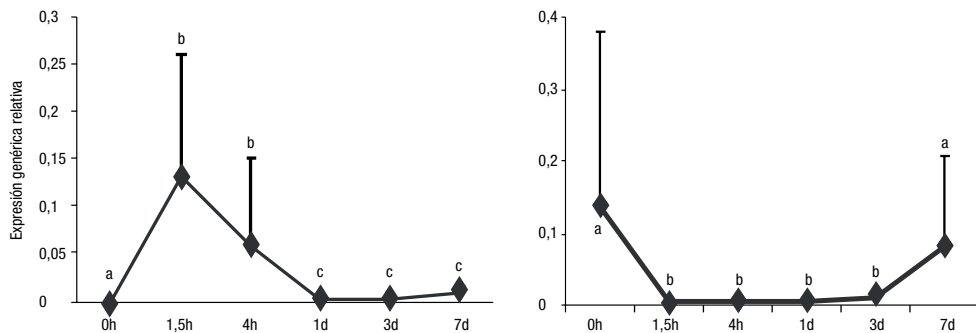
Resultados y Discusión

Como se puede observar en la Figura 1A, la expresión del gen 11 β en riñón anterior fue máxima después de 1,5 y 4 horas de confinamiento, sugiriendo que en lubina la expresión de este gen se modifica ante estímulos estresantes. Estos resultados están en concordancia con los de Aluru *et al.*, 2006, quienes describieron en trucha arcoiris, 1 hora después de ejercer estrés por manejo, una mayor expresión génica del

Tabla 1. Temperatura de hibridación, tamaño esperado y concentración final de cada cebador en la reacción RT-PCR

Cebadores	Temperatura hibridación (°C)	Tamaño esperado del amplicón (pb)	Concentración final de cada cebador (pmoles/μl)
11β-hydroxilasa (F+R)	63.5	170	1
RG (Terova <i>et al.</i> , 2005) (F+R)	63.5	75	1
β-actin (F+R)	66	330	0.8

Figura 1. Expresión relativa del gen 11β en riñón anterior (A) y del gen RG en hígado (B) a diferentes tiempos de estrés. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($P < 0,05$)



gen 11. Respecto a la Figura 1B, ésta sugiere que la expresión del RG en hígado se ve afectada por el aumento de la síntesis de cortisol, puesto que disminuye en los primeros puntos tras el estrés y es significativamente mayor el día 7, cuando la síntesis de cortisol ya ha regresado a valores basales. Estos resultados están en consonancia con los de Terova *et al.*, 2005, quienes observaron, también en lubina, que la expresión del RG se reducía significativamente cuando la producción de cortisol aumentaba.

Bibliografía

- Aluru, N. and Vijayan, M.M., 2006. Aryl hydrocarbon receptor-dependent transcriptional responses in the brain of rainbow trout. En: [Anonymous] Fairmont Hotel.. *7th International Congress on the Biology of Fish*.
- Evans, R.M., 1998. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*. 240: 889-895.
- Gornati, R., Papis, E., Rimoldi, S., Terova, G., Saroglia, M., Bernardini, G., 2004. Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*dicentrarchus labrax*, L.). *Gene* 341, 111-118.
- Payne, A. and Hales, D., 2004 Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr. Rev.* 25: 947-970.
- Terova, G., Gornati, R., Rimoldi, S., Bernardini, G., Saroglia, M., 2005. Quantification of a glucocorticoid receptor in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) reared at high stocking density. *Gene*. 357: 144-151.
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. *The stress response in fish. Physiological Reviews*. 77: 591.

Desarrollo y aplicación de marcadores moleculares tipo microsatélite en la corvina *Argyrosomus regius*

D. Porta², J. M. Porta², K. Andree¹ y N. Duncan¹

¹ IRTA. Centre Sant Carles de la Rapita. Ctra Poble Nou s/n. 43540. Email: Neil.Duncan@irta.cat
² AquaSolutions Biotech. C/ Marie Curie n° 8 Edif. B. Parque Tecnológico de Andalucía. 29590. Málaga

Abstract

Argyrosomus regius is a marine fish species in the early stages of domestication. To assist in the domestication of this species, 10 microsatellites were isolated from the genome. These loci have been applied to genetic characterization of the broodstock held in IRTA Sant Carles de la Rapita. This stock was composed of two groups; one of wild origin (Faro, Portugal) and the other cultivated (Canary Island). All ten loci were polymorphic in both groups displaying from 4 to 12 alleles/locus (mean 6.6) in the wild group. The results obtained from the broodstock population screening indicate that the microsatellites and analysis might be useful for studies of genetic structuring and/or pedigree analysis in *Argyrosomus regius*.

Justificación

El desarrollo de microsatélites para especies con importancia en acuicultura ha crecido enormemente en los últimos años dada su utilidad para el control y manejo de la genética de los stocks: análisis del pedigrí, grado de parentesco, control de endogamia, programas de selección genética, mapas de ligamiento o para manipulaciones genéticas relacionadas con poliploidías o ginogénesis.

Por ello, el presente trabajo tiene un doble objetivo: Primero, desarrollar una herramienta de genotipado para la corvina *Argyrosomus regius* basada en el análisis de 10 loci polimórficos, y como segundo objetivo, la aplicación de estos marcadores a la caracterización genética del grupo reproductor perteneciente al IRTA.

Material y Métodos

Las extracciones de ADN genómico se realizaron usando el kit "High Pure Genomic DNA Isolation kit" (Aqua-solutions Biotech). La cantidad del ADN extraído se analizó mediante el cálculo de la absorbancia de cada muestra a 260 nm, así como su calidad mediante las relaciones de absorbancias a 260/280 y 260/230 empleando un equipo NanoDrop ND-1000. El aislamiento de secuencias microsatélites de la especie *Argyrosomus regius* se realizó usando el protocolo descrito por Estoup y Turgeon, 1996. Una vez obtenidas las genotecas se realsaron 750 clones y se realizaron screening mediante hibridación en placa con sondas (CA)₁₀, (GA)₁₀ y (GT)₁₀ marcadas con 5' [γ 32P]-dCTP. Los clones positivos fueron secuenciados en ambos sentidos usando el kit Big Dye Terminador Cycle Sequencing (Applied Biosystems) y, posteriormente, se ensamblaron las secuencias con el software Seqman Ver. 5.00 (DNASTAR Inc.). A partir de las secuencias microsatélites obtenidas se diseñaron primers específicos usando el software Oligo 6.0 (Molecular Biology Insight Inc). En la optimización de la PCR se han ensayado distintas concentraciones de ADN (100, 50, 25 y 15ng) y Cl₂Mg (2.5, 2, 1.5 y 1 mM), distintas temperaturas de annealing (62, 60, 58, 56 y 54) y número de ciclos (35, 30 y 25). Una vez optimizadas las condiciones de PCR, se procedió a la búsqueda y selección de aquellos loci con mejores características de amplificación, patrones de bandas y grado de polimorfismo, en una muestra de 10 individuos. Los productos de las reacciones fueron analizados mediante fluorescencia en un analizador genético ABI3130 (Applied Biosystems). El tamaño de los alelos fue determinado y revisado usando el software GeneMapper V. 4.0. (Applied Biosystems).

Como segundo objetivo se propuso aplicar el análisis de 10 de los loci microsatélites seleccionados para la caracterización genética del stock reproductor del IRTA. Este stock está constituido por dos grupos: uno compuesto por 32 animales salvajes capturados en las costas del sur de Portugal (Faro) y otro grupo de 34 reproductores constituido por individuos nacidos en cautividad y engordado en las Islas Canarias (Canarias) antes de su traslado al IRTA.

La caracterización genética de estos dos grupos (Faro y Canarias) se realizó empleando el software Fstat V. 2.9.3 (Goudet, 2001). Los parámetros genéticos analizados han sido: número de alelos (K) por locus, heterocigosidad observada y esperada (Ho y He respectivamente), contenido de información polimórfica (PIC), valores de exclusión 1 y 2 (Excl 1 y Excl 2 respectivamente) y grado de conformidad con respecto a las condiciones de equilibrio de Hardy-Weinberg (Fis), desequilibrio de ligamiento, así como el grado de diferen-

ciación genética entre ambos grupos (Fst). También se analizó la posibilidad de que existan alelos nulos y errores de genotipado mediante el programa Micro-Cheker v. 2.2 (Van Oosterhout *et al.*, 2004).

Resultados y Discusión

Se ha obtenido ADN genómico de alto peso molecular para todas las muestras, con una concentración media de 160 ng/ μ l y una relación de absorbancia de 1,83 y 2,01 (Abs 260/280 y 260/230, respectivamente). Se han realizado con éxito 3 genotecas parciales de ADN genómico para la especie *Argyrosomus regius*. El número de clones estimado de cada una de estas genotecas ha sido de 500.000 clones. Los resultados del screening de las genotecas refleja una proporción de secuencias microsatélite en las genotecas del 10% para cada una de los motivos (CA, GA y GTT). A partir de los ensayos de optimización de las PCR se ha conseguido amplificar con éxito un total de 17 loci de los 20 ensayados. De éstos se seleccionaron 10 loci microsatélite (AreCA11, AreCA12, AreCA13, AreCA14, AregA2B, AregA5B, AregA6, AregA16, AregA17 y AregA21) por sus mejores características en la amplificación, patrones de bandas y grado de polimorfismo en una muestra de 10 individuos.

La aplicación de estos 10 loci a la caracterización genética del grupo reproductor del IRTA muestra que este stock está constituido por dos grupos significativamente distintos ($F_{st}=0,076$). Los parámetros de variabilidad genética del grupo de Faro fueron significativamente mayores (un número medio de alelos por locus de 6,6 y valores de $H_o=0,600$ y $H_e=0,697$) que los de Canarias (con valores de 3,3, 0,54 y 0,57 respectivamente). Esto concuerda con el origen salvaje y cultivado de estos dos grupos. Sin embargo, el estudio genético reveló también que de estos dos grupos, el grupo de Faro presentaba sus frecuencias genotípicas en desequilibrio de H-W, fundamentalmente debido al déficit de heterocigotos de los loci gA16, CA12 y gA2B, mientras que el grupo de Canarias presentaba valores en equilibrio de H-W, con un solo locus gA16 en desequilibrio.

En resumen, el grupo de Faro parece corresponder con individuos del medio natural dado sus altos valores de variabilidad genética, sin embargo, parece no corresponderse con el muestreo de una sola población o bien pudieran existir alelos nulos para algunos de los loci analizados. Por otro lado, el grupo de Canarias parece provenir del cruce entre unos pocos reproductores, dados los valores de variabilidad genética que presentan.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo resultan muy útiles para el control, seguimiento y mejora de este y otros grupos reproductores de corvina *Argyrosomus regius*, lo que resulta fundamental en todo proceso de domesticación de una especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el PROYECTO INIA (RTA2008-00107-00-00). Gracias a los técnicos y estudiantes de IRTA por su apoyo técnico.

Bibliografía

- Estoup, A., Turgeon, J. 1996. Microsatellite markers: isolation with non radioactive probes and amplification. Available at <http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm>.
- Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3). Available at <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W., Wills, D. y Shipley, P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, Vol. 4, No. 3: 535-538.

Evidencia de múltiple paternidad en el pulpo común (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797)

J. Quinteiro¹, T. Baibai^{1,2}, L. Oukhattar^{1,2}, A. Soukri, P. Seixas¹, M. Rey-Méndez¹

¹ Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad asociada al CSIC). CIBUS, Campus Sur. 15782 Santiago de Compostela, A Coruña. e-mail : manuel.rey.mendez@usc.es

² Laboratoire de Physiologie et de Génétique Moléculaire (PGM). Faculté des Sciences Ain Chock. Km 8, Route d'El Jadida B.P 5366 Maarif, Casablanca 20100. Marruecos

Abstract

Two microsatellite DNA markers were used to determine genotypes of four brooding female octopuses and 11 embryos, in order to confirm the multiple paternity hypothesis within this species. Two well-known reproductive behavioral patterns are apparently conflicting in paternity: the often observed multiple mating and the role of the male's hectocotylus in removing stored spermatophores left by other males inside the female's oviductal gland. Genotyping data suggest that at least two males have been successful in fertilizing eggs sampled from a single clutch. This first evidence of multiple paternity in the superorder Octobranchia is an issue to be considered in population and conservation genetics, as well as in aquaculture design and management.

Justificación

El pulpo común, *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797), es una especie gonocórica con dimorfismo sexual que se caracteriza, en los machos, por la modificación del tercer brazo derecho, llamado hectocótilo, especializado en la transferencia del esperma. El comportamiento reproductivo de *O. vulgaris* implica la inserción del hectocótilo en la cavidad interna del manto de una hembra transfiriéndole los espermatóforos, que pueden permanecer almacenados y viables hasta diez meses. Ambos sexos tienen múltiples compañeros de cópula, siendo probable que exista algún tipo de competencia con el fin de que el último macho en aparearse deje su huella genética en la descendencia, tratando de eliminar el esperma de los anteriores. De hecho, la punta del hectocótilo, llamada lígula, tiene forma de cuchara y parece estar diseñada para este fin. El presente estudio utiliza marcadores microsatélite para determinar los genotipos de hembras y de sus puestas, intentando confirmar la hipótesis de la múltiple paternidad, dados los dos patrones de comportamiento reproductivo que son conflictivos en este aspecto: acoplamiento con múltiples individuos y papel del hectocótilo para eliminar los anteriores espermatóforos.

Material y Métodos

Las muestras se tomaron de puestas obtenidas en ejemplares bajo condiciones de cultivo, conteniendo cada una cuatro racimos con 10 a 15 huevos, así como del tejido muscular de las hembras correspondientes. Un total de 41 muestras de tejido muscular fue seleccionado para el genotipado de la población. El ADN total fue aislado de 11 embriones así como del tejido muscular de las hembras y de otros especímenes, usando el sistema NucPrep[®] en un ABI PRISM[™] 6100 Nucleic Acid PrepStation (Applied Biosystems). Los embriones, las hembras y las muestras de la población fueron genotipados en los loci de los microsatélites Oct3 (repetición dinucleotídica) y Ov12 (repetición tetranucleotídica) usando los cebadores μ Oct3F/ μ Oct3R y μ Oct12F/ μ Oct12R (Greatorex *et al.*, 2000) marcados con los fluorocromos 6-FAM y TET, respectivamente. Los diversos análisis realizados se llevaron a cabo con el software GenScan y Genotyper (Applied Biosystems) y CERVUS v3.0 (Kalinowski *et al.*, 2007). Los alelos maternos y paternos en ambos loci fueron deducidos usando el criterio de exclusión (Adam y Ardren, 2008) comparando el genotipo materno con el genotipo de cada descendiente.

Resultados y Discusión

Los datos de genotipado indican que al menos dos machos han tenido éxito en la fertilización de los huevos procedentes de una misma puesta (tabla 1).

Esta primera evidencia de múltiple paternidad en el superorden Octobranchia, es de gran importancia y debe ser considerado en los estudios de genética de poblaciones y de conservación, así como en el diseño y manejo de la acuicultura de *O. vulgaris*.

Tabla 1. Datos de genotipado en cuatro hembras y descendencia de *O. vulgaris* con dos microsatélites

Código	Genotipo materno		Código	Genotipo materno	
	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
Madre A	165/0 ¹	372/386	Madre C	150/174	227/319
Embrión N°	Genotipo descendientes		Embrión N°	Genotipo descendientes	
	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
1	165/0 ¹	182/372	1	174/174	186/319
2	165/143	200/372	2	174/174	182/319
3	165/0 ¹	182/372	3	174/174	186/319
4	165/0 ¹	308/372	4	174/174	186/227
5	0/147	194/386	5	150/150	182/319
6	165/0 ¹	308/372	6	150/140	300/227
7	165/0 ¹	174/386	7	150/144	182/319
8	165/0 ¹	194/386	8	174/174	182/227
9	165/163	194/372	9	174/174	182/319
10	165/163	178/372	10	150/150	182/319
11	165/167	160/372	11	150/120	339/319
Código	Genotipo materno		Código	Genotipo materno	
	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
Madre B	139/163	194/315	Madre D	141/146	186/198
Embrión N°	Genotipo descendientes		Embrión N°	Genotipo descendientes	
	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
1	139/163	186/315	1	139/141	190/198
2	139/139	186/315	2	139/141	319/198
3	139/139	186/315	3	139/141	319/198
4	139/139	186/315	4	146/146	213/186
5	139/148	304/194	5	141/146	178/186
6	139/139	194/194	6	146/146	190/186
7	163/163	198/194	7	141/146	319/198
8	139/163	186/194	8	130/146	319/198
9	139/153	186/194	9	180/146	319/198
10	139/139	186/194	10	146/146	190/186
11	163/141	186/315	11	146/146	178/198

¹ Alelo 165 o alelo nulo materno/paterno.

Agradecimientos

A la Sociedad Cooperativa Galega Samertolameu (Moaña, Pontevedra) por las facilidades concedidas para la realización de este estudio. Este trabajo ha sido cofinanciado por JACUMAR – Secretaría General de Pesca Marítima, Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos (Xunta de Galicia) y Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo (AECID).

Bibliografía

- Adam, G.J. y W.R. Ardren. 2008. Methods of parentage analysis in natural populations. *Mol. Ecol.* 12: 2511-2523.
- Greatorex, E.C., C.S. Jones, J. Murphy, L.N. Key, A.M. Emery y P.R. Boyle. 2000. Microsatellite markers for investigating population structure in *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda). *Mol. Ecol.* 9: 641-642.
- Kalinowski, S.T., M.L. Taper y T.C. Marshall. 2007. Revising how the computer program Cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16: 1099-1106.

Evaluación del sistema de marcaje PIT (*Passive Integrated Transponder*) en alevines de corvina (*Argyrosomus regius*): efecto sobre el crecimiento, mortalidad y tasa de pérdida

M. Soula, D. Negrín-Báez, L. Rincón, S. Hildebrandt, A. Navarro, M. J. Zamorano, J. M. Afonso

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA). Carretera Trasmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas. midaqua@hotmail.com

Abstract

The meagre (*Argyrosomus regius*) is one of the new species in Mediterranean aquaculture. Its rapid growth, quality and excellent conversion rate make it particularly suitable for industrial production, which is carried out by mass spawning. Breeding programs of economic traits require the implementation of physical tagging systems on small fish to know their genealogical relationships as soon as possible. The present study examines the optimal fish size for the PIT (*Passive Integrated Transponder*) tagging system, through its effect on the fish growth and survival rates and the tag loss rates. Fish of three weight classes (2-3 g, 3-4 g and 4-5 g) were tagged. 300 fish (150 tagged and 150 controls) of each weight class, distributed at random, in 3 tanks, were used. Results showed that PIT tagging did not affect the fish growth in any of the 3 classes. The corrected mortality was 12.2%, 16% and 5% for weight classes 2-3g, 3-4g and 4-5g, respectively, and it was concentrated in the first days after tagging. The tag loss rate was null in all three weight classes. These results suggest that the most appropriate size for tagging meagre fingerlings is from 4 g onwards.

Justificación

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una nueva especie de rápido crecimiento y de interés para la producción industrial. Ésta es llevada a cabo mediante puestas masales, por lo que la implementación un programa de mejora genética requiere del uso de marcadores físicos y genéticos, como el sistema de marcaje interno *Passive Integrated Transponder* (TROVAN Ltd., Reino Unido) y los microsatélites. El marcaje a talla pequeña y el análisis de marcadores microsatélites, permitiría la mezcla temprana de lotes minimizando las fuentes de parecido debidas al ambiente común (Herbinger *et al.*, 1999) y la reconstrucción de la genealogía (Navarro *et al.*, 2008), respectivamente, a la vez que proporcionaría la posibilidad de estimar correlaciones genéticas y fenotípicas entre edades (Navarro *et al.*, 2009). Las diferencias entre las especies en susceptibilidad a los anestésicos y la manipulación, la capacidad de recuperación, la tasa de crecimiento o incluso la morfología, hace necesario que los sistemas de marcaje PIT sean optimizados por especie (Navarro *et al.*, 2006). En el presente estudio se ha puesto a punto el sistema de marcaje PIT en corvina determinando la talla mínima del pez para ser marcado, evaluando la tasa de pérdida del PIT y el efecto de éste sobre el crecimiento y la mortalidad del pez.

Materiales y Métodos

Se utilizaron peces de 3 clases de peso: 2-3g, 3-4g y 4-5 g. De cada grupo, compuesto por 300 peces, se marcaron 150 con el sistema de marcaje PIT (peces PIT), según Navarro *et al.* (2006), y otros 150 quedaron como control. Para distinguir los peces marcados que hubieran perdido el PIT de los controles, todos los peces fueron además marcados con VIE (*Visible Implant Elastomer*) en la cabeza con 2 colores diferentes, según Astorga *et al.* (2005). Los peces de cada grupo fueron distribuidos al azar, por marca y en igual proporción, en 3 tanques de 500 l y se mantuvieron durante un periodo de 30 días, alimentados según las tablas de la empresa suministradora de piensos Skretting (Trouw España S.A., Burgos). La temperatura del agua fue $22,75 \pm 0,4$ °C, el oxígeno disuelto $5,64 \pm 0,4$ ppm y el flujo de renovación 4 l/min. A los 0, 15 y 30 días se pesaron todos los peces. El análisis de los datos se realizó usando el programa SPSS (v.16). Los resultados de peso se evaluaron mediante ANOVA, testando previamente la normalidad y homogeneidad de varianzas. La mortalidad y la tasa de pérdida se valoraron, de modo acumulado al final del experimento y se evaluaron mediante un modelo loglineal.

Resultados y Discusión

Como se puede observar en la Tabla 1, partiendo del mismo peso, a los 15 días los peces marcados con PIT mostraron un peso significativamente inferior que los controles, en cada uno de las 3 clases de peso. Sin embargo, mostraron un crecimiento compensatorio, puesto que al final del experimento no se encontraron diferencias significativas entre el peso de los peces marcados con PIT respecto al de los controles.

Tabla 1. Pesos de peces]marcados y controles (g) de cada clase de peso, a los puntos inicial, medio y final del experimento

Clases de peso	Marcaje	Día 0	Día 15	Día 30
2-3 g	Peces PIT	2,59±0,02	4,94±0,08a	7,79±0,15
	Controles	2,58±0,02	5,16±0,07b	7,65±0,13
3-4g	Peces PIT	3,52±0,02	6,57±0,09a	10,43±0,18
	Controles	3,50±0,02	7,16±0,07b	11,36±0,17
4-5g	Peces PIT	4,56±0,02	9,08±0,07a	13,67±0,2
	Controles	4,54±0,02	9,53±0,08b	14,09±0,2

Dentro de cada clase de peso, superíndices con letras distintas muestran diferencias significativas ($P<0,05$)

Este efecto a corto plazo, a talla pequeña, ha sido observado igualmente en otras especies como perca, tilapia del Nilo, dorada y bocinegro (Baras *et al.*, 1999, 2000; Navarro *et al.*, 2006; Soula *et al.* 2006). Estos resultados muestran que en corvina, el sistema PIT no tiene efecto sobre el crecimiento a partir de los 2 g de peso. Respecto a la mortalidad, el 75,7% de ésta se produjo en los primeros 15 días del experimento y en las 3 clases de peso. Los peces marcados mostraron una mortalidad mayor que los controles (21,8 vs 9,6% en 2-3g; 25,2 vs 9,3% en 3-4g y 9,9 vs 4,9% en 4-5g, respectivamente) ($P<0,05$). Estos resultados están en concordancia con las mortalidades obtenidas por Baras *et al.* (1999) en tilapias (10-50% para peces de 1,6-13g), y por Mahapatra *et al.* (2001) en carpa (20% para 2-4g y 12% para]] 4-6g). La tasa de pérdida fue nula en las 3 clases de peso. Teniendo en cuenta todos estos resultados, la mejor talla para marcar corvina con el sistema PIT es a partir de los 4g de peso, puesto que no afecta al crecimiento y sólo presenta una mortalidad del 5% corregida respecto a la de los controles.

Bibliografía

- Astorga, N., Afonso, J.M., Zamorano, M.J., Montero, D., Oliva, V., Fernández-Palacio, H., 2005. Evaluation of visible implant elastomer tags for tagging juvenile gilthead seabream (*Sparus auratus* L.); effects on growth, mortality, handling time and tag loss. *Aquaculture Research*. 36: 733-738
- Baras, E., Malbrouck, C., Houbart, M., Kestemont, P., Melard, C., 2000. The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*. 185: 159-173.
- Baras, E., Westerloppe, L., Melard, C., Philippart, J.C., Benech, V., 1999. Evaluation of Implantation Procedures for PIT-Tagging Juvenile Nile Tilapia. *North American Journal of Aquaculture*. 61: 246-251.
- Herbinger, C.M., O'Reilly, P.T., Doyle, R.W., Wright, J.M., O'Flynn, F., 1999. Early growth performance of Atlantic salmon full-sib families reared in single family tanks vs in mixed family tanks. *Aquaculture* 173: 105-116.
- Mahapatra, K.D., Gjerde, B., Reddy, P.V.G., Sahoo, M., Jana, R.K., Saha, J.N., Rye, M., 2001. Tagging: on the use of Passive Integrated Transponder tags for the identification of fish. *Aquacult. Res.* 32: 47-50.
- Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M.J., Ginés, R., Izquierdo, M.S., Astorga, N., Afonso, J.M., 2006. Evaluation of PIT system as method to tag fingerlings of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): effects on growth, mortality and tag loss. *Aquaculture*. 257: 309-315.
- Navarro, A., Badilla, R., Zamorano, M.J., Pasamontes, P., Hildebrandt, S., Sánchez, J.J., Afonso, J.M., 2008. Development of two new microsatellite multiplex PCRs for three sparid species: Gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), red porgy (*Pagrus pagrus* L.) and red-banded seabream (*P. auriga*, Valenciennes, 1843) and their application to paternity studies. *Aquaculture*. 285: 30-37.
- Navarro, A., Zamorano, M.J., Hildebrandt, S., Ginés, R., Aguilera, C., Afonso, J.M. 2009. Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*. 289: 225-230.
- Soula, M., Navarro, A., Zamorano, M.J., Roo, J., Real, F., Ginés, R., Hernández-Cruz, C.M., Afonso, J.M., 2006. Evaluación de los sistemas VIE y PIT para marcar alevines de bocinegro (*Pagrus pagrus*): efectos sobre el crecimiento, la mortalidad y la tasa de retención. *ITEA*. 102: 159-167.

Aplicaciones del Sónar de Barrido Lateral en acuicultura en mar abierto: determinación de las posiciones de los elementos de fondeo

J. Andrés, S. Iglesias, M.M. Segura, J.C. Macias

E. P. Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. C/ Bergantín, 39. 41012. Sevilla: jandres@dap.es

Abstract

Fish and shellfish production in the open ocean is at present a great technological and important productive challenge for the European aquaculture, given the environmental and oceanographic conditions in exposed and away areas from the coast, which directly affect the technical feasibility of the facilities. In this way, any implementation of available technologies for marine environmental research can support the aquaculture facilities management, and this case is the Side Scan Sonar (SSS, or Sónar de barrido Lateral, SBL).

This study is based on the SSS exploration in several floating cages for marine fishes fattening in the southern Spanish Mediterranean coast. The applications were directed towards the detection and monitoring of prairie as well as the anchoring elements position.

Justificación

Según el documento de la comisión, COM(2009) 162 final, se apuesta por la innovación y el desarrollo tecnológico para aumentar la competitividad de las empresas de acuicultura, y en este sentido, la utilización de las tecnologías de prospección en el medio marino tienen también su aplicación en la acuicultura realizada en mar abierto.

En numerosas ocasiones se observa que, frente a episodios de condiciones extremas de vientos, corriente y oleaje, existe una coincidencia en las unidades de cultivo que se ven más afectadas. Ante este hecho surge la idea de examinar mediante el Sónar de Barrido Lateral (SBL), la geometría de los elementos de sujeción (entramados) y anclaje (líneas de fondeo) reales, y compararlos con las de diseño y fondeo teórico realizado, para así examinar si existen diferencias significativas, y estudiar su comportamiento y soluciones. Otra aplicación del SBL en la acuicultura off-shore es la relativa a la preservación de unidades ambientales especialmente sensibles en el entorno de las instalaciones. En este sentido, los estudios realizados con esta herramienta para el seguimiento de praderas de fanerógamas marinas es un claro ejemplo de su potencial.

Material y Métodos

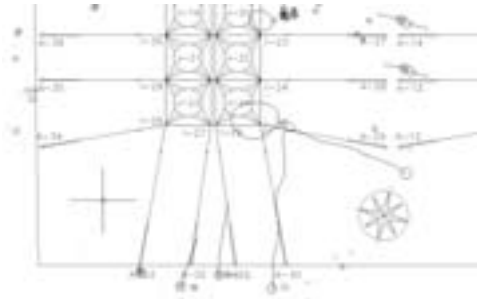
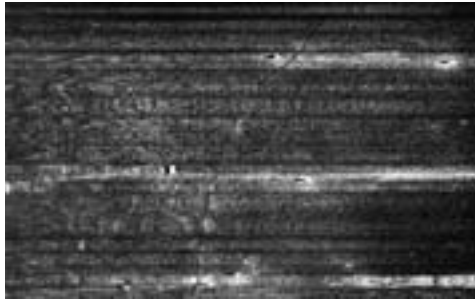
La metodología empleada se basa en el empleo de un sónar de barrido lateral instrumento hidroacústico usado para prospectar superficies de lecho marino de considerable extensión. La intensidad del eco recibido por el SBL es capaz de discernir diferentes tipos de superficies, mostrando claramente la textura de los fondos arenosos, las rocas, o las praderas de algas y fanerógamas marinas, así como cualquier estructura sumergidas cuya reflectividad sea alta. Y así en nuestro caso, nos permite detectar anclas, muertos, estachas, etc., y su configuración real, ya que el SBL no sólo genera una imagen representativa del fondo marino, sino que además ésta queda georreferenciada pudiendo aportar en todo momento las posiciones de las anomalías antes mencionadas con precisiones submétricas.

El desarrollo de los trabajos comienza con una campaña de adquisición de registros SBL en la granja acuícola, instalando todo el instrumental necesario a bordo de una embarcación. Posteriormente se realiza el procesamiento de los datos con el software específico SonarPro y SonarWizmap, visualizando los registros y seleccionando los objetos relevantes. Este procesamiento hace patente la dificultad de obtener las posiciones de todos los elementos de fondeo, que son subsanados en parte al descartar un buen número de ecos falsos con la ayuda de la comparación entre los registros en alta y baja frecuencia. Finalmente se relacionan con los planos de fondeo originales o teóricos y se comprueban y analizan las diferencias.

Resultados y Discusión

Como conclusiones destacables podemos agrupar por una parte las que se refieren a los resultados del trabajo y por otra las relativas a la metodología empleada. El objetivo de posicionamiento de los fondeos se ha logrado al 74%, detectando 49 de los 66 elementos reflejados en el plano de la instalación, además de otros 6 de refuerzo, identificando inequívocamente el elemento al que se corresponden en el plano de diseño de la instalación, según se aprecia en el croquis adjunto. En cuanto a la observación del lecho ba-

Figura 1. Líneas de fondeo dobles y triples (línea de cabo perpendicular a ellas)



jo las jaulas, se han detectado diferentes elementos. Entre ellos los biofiltros experimentales cuyas posiciones se han podido determinar con exactitud, coincidiendo con los datos que de ellos se tenían (Aguado-Giménez F., *et al.*, 2009) y siendo claramente identificables en la imagen de los registros. En lo referente a la geometría de las líneas de fondeo, se observan algunas diferencias tanto en la orientación como en la longitud de las líneas, menos acusadas en el tren oriental (de reciente instalación), en el que, si bien las longitudes varían, no ocurre así con su orientación.

Varios factores pueden contribuir a la mejora de los resultados en este tipo de estudios, los más destacables serían el uso de una embarcación de menor tamaño, y capaz de navegar con rumbo estable por debajo de los 2,5 nudos, evitar las horas de alimentación y la presencia de otras embarcaciones, así como establecer un proyecto de derrotas en base al plano de la instalación. Así se podrían obtener registros con mayor resolución y precisión de las posiciones de los elementos detectados.

En definitiva, el SBL puede ser un buen instrumento de apoyo para el seguimiento de los trenes de fondeo en instalaciones de acuicultura en mar abierto para detectar a tiempo problemas de desplazamientos, garreros, etc., elevando con ello el nivel de seguridad frente a roturas en este tipo de instalaciones.

Agradecimientos

Al personal de Piagua (Grupo Culmarex) y Naturepesca, que en todo momento nos facilitaron nuestra labor, poniendo todos los medios disponibles a nuestro alcance.

Bibliografía

- Rooper C.N., Zimmermann M. 2006. A bottom-up methodology for integrating underwater video and acoustic mapping for seafloor substrate classification. *Continental Shelf Research* 27 (2007), 947-957.
- Jacumar P.N. 2006-2008. Mitigación del impacto ambiental generado por los cultivos marinos en estructuras flotantes. Evaluación de la eficacia de la utilización de biofiltros artificiales de fondo para la mitigación del impacto ambiental derivado de la piscicultura marina en jaulas flotantes. 2009. F. Aguado-Giménez, V. Aliaga, P. Ávila, B. García-García, N. García, N. González, J.M. Gutiérrez, A. Ibáñez, J.C. Macías, M.A. Piedecausa, M. Ruiz.

Difusores de elevado rendimiento para aplicaciones en acuicultura

J. Dávila y A. Luque

Grupo de Mecánica de Fluidos. Universidad de Sevilla. Camino de los Descubrimientos, s/n. 41092 Sevilla.
E-mail: davila@us.es

Abstract

The aeration system we have developed allows much higher efficiencies than that of traditional systems (surface agitators, ceramic or membrane diffusers, submerged agitators, etc.). As in venturris, it is based on a cross-flow configuration. However, the geometry of the new diffuser is highly optimized to minimize the hydraulic losses, both in the water passing through the system as in the air injection line. Measurements of the Standard Aeration Efficiency (SAE), performed according to standard ASCE-92, indicate that these systems can drastically reduce the cost of oxygenation. Even in situations where the oxygen concentration is close to saturation level, the water temperature is high, and the salinity is low, the operating cost is lower than that of systems working with liquid oxygen.

El dispositivo que hemos desarrollado permite generar burbujas de aire en agua con un tamaño muy controlado y con una baja dispersión. Dependiendo de las aplicaciones se pueden alcanzar incluso tamaños medios inferiores a las 100 micras, aunque para muchas aplicaciones, como es el caso de la disolución de oxígeno en agua, esto se consigue en detrimento de la eficiencia energética, por lo que normalmente interesará más trabajar con burbujas entorno al rango del milímetro.

Al igual que en los venturris, en nuestros difusores el aire se introduce en la corriente a través de una serie de orificios practicados en la pared del conducto de agua (configuración de flujo cruzado). Sin embargo, la optimización de su geometría nos ha permitido reducir al mínimo el consumo de energía, tanto el asociado con la impulsión del flujo de agua a través del dispositivo como en la línea de inyección de aire. Tanto es así, que la diferencia de altura necesaria para la impulsión del agua es menor de 15cm, lo que permite que para su operación sea suficiente con aprovechar las pequeñas diferencias de nivel existentes entre los distintos puntos de una instalación o, en el peor de los casos, se pueden utilizar air-lifts o bombas de potencia muy reducida.

En el laboratorio de Mecánica de Fluidos de la Escuela Superior de Ingenieros se han realizado ensayos de transferencia de oxígeno (norma ASCE-1992) para obtener la eficiencia de aireación estándar (Standard Aeration Efficiency o SAE). Estas medidas demuestran que con estos difusores se puede alcanzar un valor de SAE superior a 8 kilogramos de oxígeno disuelto por kilovatio-hora (8 kg/kWh), un valor muy superior al de los difusores comerciales existentes, que tienen una eficiencia en torno a los 2 kg/kWh. Además, estos valores de eficiencia se alcanzan a las profundidades habituales en las instalaciones en Acuicultura, a diferencia de los difusores cerámicos o de membrana que pierden mucha eficiencia a profundidades menores de 1,5 m.

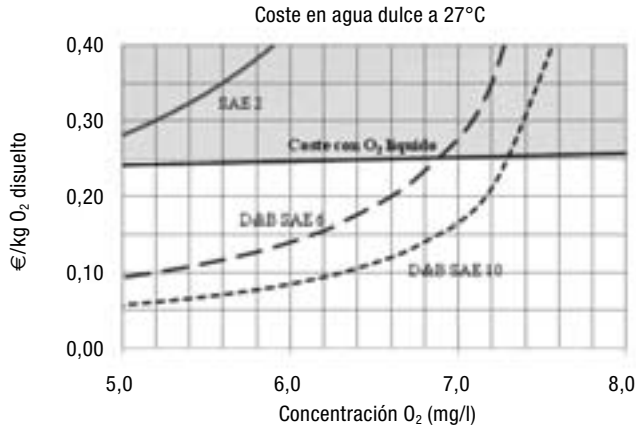
Resultados y discusión

Cuando se requiere mantener una concentración elevada de oxígeno se recurre al uso de oxígeno puro, más aún si la temperatura del agua es elevada. Esto es debido a que los sistemas de aireación existentes

Figura 1. Difusor de aire patentado para aplicaciones en acuicultura y depuración de aguas



Figura 2. Costes de oxigenación dependiendo de la eficiencia de aireación estándar y del uso de aire u oxígeno líquido



tienen una eficiencia reducida (en el mejor de los casos de 2 kg/kWh) y por lo tanto no son competitivos cuando se pretende mantener unos niveles cercanos a la saturación. Sin embargo, cuando la eficiencia de aireación es superior a 6 kg/kWh, aunque el consumo de energía eléctrica pudiera ser superior al de los sistemas con oxígeno puro, el ahorro que supone trabajar con aire en vez de con oxígeno hace que el coste total de aireación sea muy inferior.

A modo de ejemplo, en la Figura 2 se muestra el coste de aireación para un sistema típico ($SAE = 2$ kg/kWh) en comparación con el que se obtendría con eficiencias de 6 kg/kWh y de 10 kg/kWh, valores alcanzables con los difusores de flujo cruzado. Estos datos se han calculado para agua a 27°C (concentración de oxígeno a saturación = 8 mg/l), suponiendo un coste eléctrico de 0,08 €/kWh. El coste de la oxigenación con oxígeno puro es prácticamente independiente de la concentración a saturación y de la concentración deseada, resultando un coste total de oxigenación aproximado de 0,25 €/kg de oxígeno disuelto (para un coste del oxígeno líquido de 0,14 €/kg inyectado a través de un dispositivo que consiga un 90% de disolución al 50% de nivel de saturación).

Obsérvese como para un nivel de saturación superior al 70% el sistema de menor eficiencia ($SAE = 2$ kg/kWh) sería más costoso que uno basado en oxígeno líquido, mientras que para un $SAE = 10$ kg/kWh, ni siquiera para un nivel de saturación del 90% interesaría trabajar con oxígeno puro. En agua salada y a temperaturas inferiores el ahorro que supondría usar aire con nuestra tecnología sería aún mayor.

Bibliografía

American Standard of Civil Engineers. 1992. Measurement of Oxygen Transfer Rate in Clean Water. *ANSI-ASCE* 2-91.

Efecto de la implantación de dispositivos de identificación electrónica en diferentes especies de peces. Resultados parciales obtenidos en Anguila europea (*Anguilla anguilla*)

P. Bou¹, S. Regojo¹, F. Torrent², S.M. Ronda¹, A. Saiz¹, O. San Miguel¹

¹ Sanidad Animal y Servicios Ganaderos, S.A. Julián Camarillo, 6A. Madrid. e-mail: pbou@tragsa.es

² ETS de Ingenieros de Montes. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria, s/n. Madrid.

Abstract

Electronic identification is a very powerful tool to monitor aquatic animals in their environment. The knowledge of habitat use and movement patterns of aquatic animals is very useful to determine their biology and to evaluate the effectiveness of restocking plans. In this study, the adequacy of implanting electronic devices as: acoustic, radiofrequency transmitters and passive integrated transponders was evaluated in *Anguilla anguilla*.

Justificación

En el presente estudio se evaluará el efecto de la implantación de dispositivos tanto de alta como de baja frecuencia. En lo que se refiere a alta frecuencia, se emplearán dos tipos distintos de transmisores acústicos y uno de radiofrecuencia. En cuanto a baja frecuencia, se emplearán Passive Integrated Transponders (en adelante PITs) de 12, 15 y 23 mm. Dado que algunas de las experiencias de este estudio aún están en curso, los resultados que se presentan hacen referencia a la implantación de un tipo de transmisor acústico, uno de radiofrecuencia de alta frecuencia y PITs de 12 mm en anguila europea (*Anguilla anguilla*). En fases más avanzadas del estudio se ampliará el número de experiencias con anguila, así como las especies objeto, que serán, además de la anguila: dorada (*Sparus aurata*), corvina (*Sciaena umbra*), rodaballo (*Psetta maxima*), salmón atlántico (*Salmo salar*) y trucha común (*Salmo trutta*).

El objetivo del estudio en su conjunto es establecer el tamaño mínimo de implantación de los diferentes dispositivos electrónicos, en función de la especie, tipo de transmisor, técnica empleada y lugar de implantación. El uso de estos dispositivos resulta de gran interés para determinar tanto la biología de las especies objeto como la efectividad de los planes de repoblación y la posible influencia de obras hechas por el hombre (presas, centrales hidráulicas, etc.) en el comportamiento y uso del hábitat por parte de estas especies.

Material y Métodos

En el caso de la implantación de transmisores, se emplearon transmisores de radiofrecuencia de la marca Lotek® así como transmisores acústicos de la marca Vemco®. Se seleccionaron anguilas de 4 rangos de peso diferentes para cada transmisor, de forma que la relación peso del transmisor/peso del individuo variara entre el 1 y el 6%. De las 36 anguilas empleadas en cada rango de peso, 18 fueron objeto de marcaje, empleándose el resto como controles.

Los transmisores se implantaron por medio de cirugía en el interior de la cavidad abdominal de las anguilas, previa anestesia en un baño de eugenol a 100 ppm. Las anguilas también fueron identificadas exter-

Figuras 1 y 2. Supervivencia de anguilas del rango 2-3% (peso transmisor/peso anguila) marcadas con transmisor acústico y del 5-6% marcadas con transmisor de radiofrecuencia

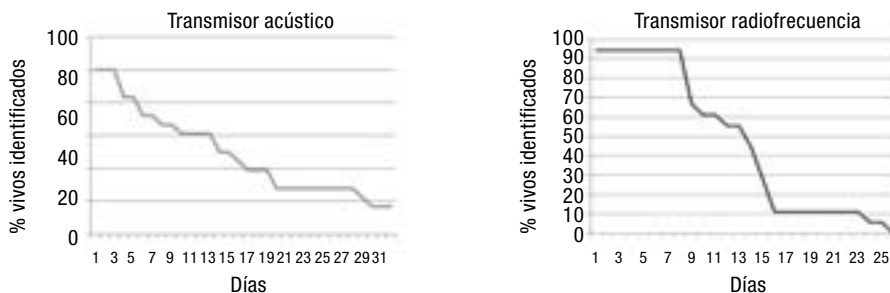
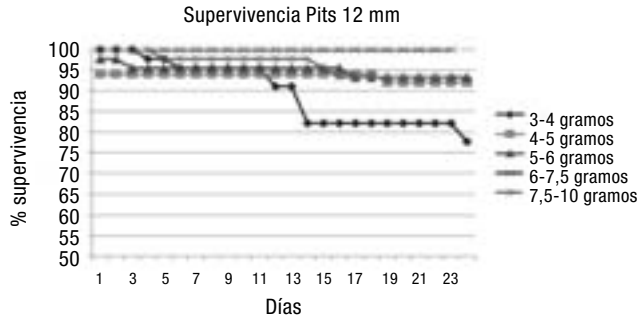


Figura 3. Supervivencia de anguilas marcadas con PITs de 12 mm

namente mediante el empleo de VIE (Visual Implant Elastomer). Las anguilas control también fueron anestesiadas del mismo modo y marcadas con VIE. Una vez finalizada la intervención, las anguilas se depositaron en tanques separados hasta la completa recuperación de la anestesia. Posteriormente las anguilas se mantuvieron durante 6 semanas en un sistema de 3 tanques cilíndricos de fondo cóncavo a razón de 6 anguilas marcadas y 6 anguilas controles por tanque.

En el caso del marcaje con PITs (Passive Integrated Transponders), se emplearon por cada rango de peso un total de 90 anguilas (45 marcadas y 45 controles) seleccionándose 5 rangos para cada dispositivo. Los pesos de las anguilas a marcar estaban comprendidos entre los 3 y los 10 gramos. El marcaje se realizó mediante la inyección intraperitoneal de los transpondedores tras anestesia con eugenol a 80 ppm. El mantenimiento de los individuos tuvo lugar en 3 tanques rectangulares en los que se cultivaron 15 anguilas marcadas junto con 15 controles por tanque durante 4 semanas.

Resultados y Discusión

Las gráficas que se muestran a continuación son las referentes a la implantación de transmisores acústicos y de radiofrecuencia.

Los resultados mostrados en esas gráficas nos hacen pensar que los dos rangos por los que se comenzaron las experiencias no son los óptimos para los respectivos transmisores probados, ya que ocurrió la expulsión del dispositivo o muerte del individuo para todos los peces intervenidos, en el caso del transmisor de radiofrecuencia, transcurridos 25 días desde su implantación. En el caso de los transmisores acústicos, la supervivencia alcanzó solo el 20% de los individuos a los que se implantó transmisor. Estos resultados obligan a emplear rangos mayores en las próximas experiencias.

Los resultados de los que se obtiene la gráfica de la figura 3 muestran que las anguilas con pesos comprendidos entre los 3 y los 4 gramos tienen una supervivencia significativamente menor ($p = 0,05$) que las de rangos mayores (> 4 gramos) en lo referente a la implantación de transpondedores de 12 mm vía intraperitoneal.

Agradecimientos

Al personal de la Piscifactoría de la Escuela Superior de Ingenieros de Montes de la Universidad Politécnica de Madrid.

El Sistema de Información Geográfica (SIG) aplicado a la planificación y gestión de la acuicultura marina

M. M. Lara, A. A. Álvarez y J. C. Macías

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Conserjería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. Correo electrónico: mdmlara@dap.es

Abstract

The Communication from the Commission to the Council and the European Parliament, on the strategy for sustainable development of European aquaculture, set a goal at the end of 2012, that aquaculture must be consolidated as a stable activity for rural areas and shorebirds development. However, in Spain, aquaculture has been perhaps one of the last usages brought into coastal planning and management, and maybe for that coastal planning is a priority in aquaculture.

The requests for the successful development of aquaculture are: the availability of physical space, and the quality of local environmental conditions. In this context, we launched an initiative with the aim to plan and manage aquaculture through the localization of interesting areas for the aquaculture activities development along the Andalusian coast, addressing administrative aspects of the complex relation between available space and the quantity of basic background information, and relative environmental suitability for the culture of a given species as well as the existing technology. All this will be integrated into a GIS tool for aquaculture development and management, for all stakeholders.

Justificación

En la comunicación de la Comisión al Consejo y al Parlamento europeo sobre la Estrategia para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura Europea, se fijó como objetivo que a finales del 2012 la acuicultura debe de estar consolidada como una actividad estable en el desarrollo de las zonas rurales y costeras. Sin embargo, en España, la acuicultura ha sido quizás uno de los últimos usos introducidos en la planificación y gestión costera, lo que hace que no disfrute de una posición ventajosa ni una imagen positiva en un contexto muy competitivo y exigente por cuantos intereses se dan cita en el mismo espacio.

Por los motivos anteriores, disponer de una herramienta de análisis espacial destinada a la acuicultura es una necesidad y en este contexto, en el año 2000, la Consejería de Agricultura y Pesca inició una línea de trabajo dirigida a la mejora de la gestión y planificación de la acuicultura, basada en la utilización de los Sistemas de Información Geográfica. El uso de esta herramienta en la gestión diaria de autorizaciones de cultivos marinos ha permitido mejorar los procesos administrativos relacionados con las tramitaciones relacionadas con la acuicultura, apoyando así tanto a la Administración como al propio sector.

Material y Métodos

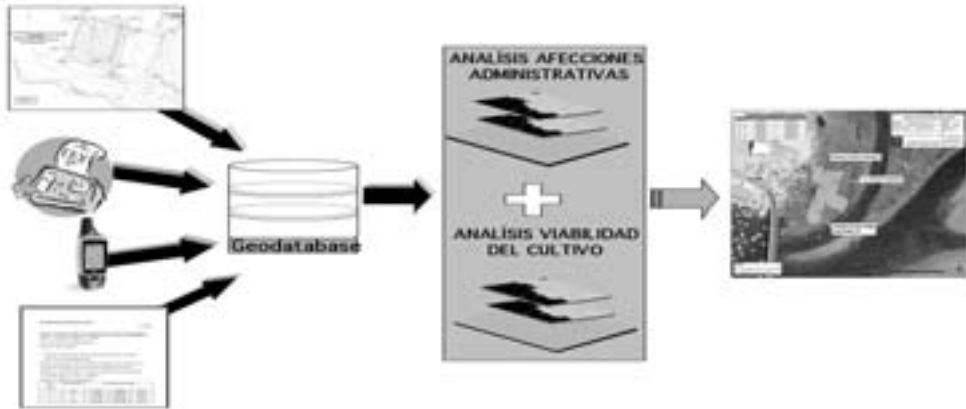
Para que la acuicultura pueda desarrollarse, es necesario que se den dos condiciones, por un lado disponer de soporte espacial (que existan espacios libres), y por otro lado, que las condiciones ambientales así lo permitan. Por tanto es necesario obtener información sobre los aspectos del territorio diferenciado entre factores administrativos que nos permiten delimitar el espacio según el uso y clasificar en función de las incompatibilidades o limitaciones respecto a la acuicultura y factores ambientales, que nos permitirán conocer cómo desarrollar la acuicultura en función de los requerimientos de las distintas especies y los sistemas de cultivo existentes.

Los trabajos se han realizados utilizando el software ArcGis 9.2 (ESRI), y se clasifican en:

- Destinados a la Planificación (antes de la autorización de cultivo): donde se encuadra el Asesoramiento a nuevos promotores sobre zonas más adecuadas, la comprobación y/o rectificación de coordenadas y el cálculo de superficies y análisis de capacidades
- Destinados a la Gestión (después de la autorización): integra la realización de un seguimiento ambiental, nuevos trámites para ampliaciones o modificaciones, seguimiento de ocupación espacial y análisis de interferencias de uso.

La metodología aplicada, se estructura en 4 fases:

- 1.^a Búsqueda y captura de la información: La búsqueda se realiza mediante consultas a otras administraciones con competencia en el espacio, trabajos de campo (utilizando otras herramientas como GPS y material oceanográfico), consultas bibliográficas, normativas, etc. La información no siempre se localiza en formato compatible con el sistema capturándose entonces la misma mediante procesos de escaneado, digitalización, georreferenciación, etc.

Figura 1. *Protocolo de consultas espaciales*

- 2.^a Integración de la información espacial: en formato compatible asignándole el sistema de referencia de coordenadas UTM Huso 30, Datum ETRS89, en cumplimiento del Real Decreto 1071/2007, por el que se regula el sistema geodésico de referencia oficial en España.
- 3.^a Análisis espacial: se realizan análisis superponiendo capas, por proximidad entre elementos espaciales, mediciones no lineales y simulación digital de la realidad ambiental entre otras. De manera general la información administrativa procesada es de tipo vectorial (puntos, líneas y polígonos), y el grado de compatibilidad de cada uso con la actividad acuícola, se determina mediante consulta con la Administración Central o Autónoma con competencia en la materia. Las variables ambientales, son representadas por medios de valores asociados a celdas, generándose información raster a partir de capas puntuales (proceso de interpolación de las variables).
- 4.^a Diseño de mapas temáticos: cartografía temática específica donde se representa de manera conjunta la información sobre los aspectos del territorio.

Resultados y Discusión

El resultado obtenido se materializa en la obtención de cartografía temática y mapas específicos que aportan una visión espacial fundamental en el proceso de otorgamiento de autorizaciones y desarrollo de la acuicultura. Se obtiene una importante cantidad de información espacial, ambiental y sectorial agrupada en cartografías temáticas asociadas a una Base de Datos Relacional, que permite la consulta y el análisis de todos los campos de información considerados, con un nivel de respuesta ágil.

Finalmente, el SIG se puede considerar como una herramienta de planificación que aporta agilidad al proceso administrativo y que es útil tanto para la Administración (como mecanismo de coordinación y control de la actividad espacial), como para el sector privado, en la búsqueda de nuevos espacios para el cultivo, contribuyendo de esta forma al desarrollo de la acuicultura marina.

Bibliografía

Macías J.C., Del Castillo F. 2006. Zonas de interés para el desarrollo de la acuicultura en el litoral andaluz. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.

Investigación participativa para el desarrollo de una piscicultura indígena en la cuenca del río Pachitea (Perú)

P. Navarro Huercio¹, F. Torrent Bravo¹, G. L. Olivares Ponce² y E. V. Vega Galarza³

¹ Grupo de Investigación de Hidrobiología. ETSI de MONTES. UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid. fernando.torrent@upm.es

² WATU Acción Indígena. C/ Antonia Calas, 17, 2º C. 28053 Madrid

³ UNALM. Camilo Carrillo 300-A. Jesús María. LIMA. Perú. evogalarza@lamolina.edu.pe

Abstract

In view of the depleted natural population of fish within the Peruvian Amazon Basin, mainly due to overfishing and a growing demand on the local market, if it is possible to be farmed, would be a challenge to the native communities, in these isolated areas. Besides, there is a common interest in developing the culture techniques for many different species to contribute to the recovery of wild populations. A pilot hatchery was built to provide with juveniles several pilot on-growing farms. The aim of this report is to describe the cooperation action finance by the UPM together with WATU-Acción Indígena.

Justificación

La Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, ha participado en el 2008 en un Proyecto de cooperación en la Amazonía Peruana, con WATU Acción Indígena, promoviendo la piscicultura indígena, financiado por la Universidad Politécnica de Madrid.

El proyecto ha pretendido ayudar a generar la información y el conocimiento necesarios, a través de la investigación participativa, para obtener un modelo de piscicultura indígena adaptada a las condiciones ecológicas y socioculturales de la región en la Cuenca del Río Pachitea (Selva Central del Perú), que permita mejorar las condiciones de vida de los beneficiarios del proyecto.

El proceso de investigación participativa ha sido dirigido localmente por expertos indígenas Asháninkas y Yanesha, apoyados por biólogos e ingenieros, asegurando al proyecto su adaptación a la cultura local y que se pueda desarrollar con suministros obtenidos localmente, evitando dependencias futuras.

En esta fase inicial del proyecto, se ha preparado a personal técnico indígena capacitado, que cuenta con un laboratorio para la producción de alevines y para realizar investigación aplicada así como dirigida al desarrollo de una tecnología local de piscicultura. Del mismo modo, se espera que dicho laboratorio artesanal produzca la información necesaria para la producción piscícola de nuevas especies nativas. Además se han instalado cinco «piscigranjas» piloto en diferentes comunidades nativas beneficiarias, de manera que la población ha quedado dotada de herramientas y con el conocimiento para gestionar las producciones de los estanques.

El proyecto ha estado englobado en un proyecto de ordenación de la cuenca, denominado «Propachitea» que lleva desarrollándose 5 años con diversos apoyos, donde se encuentra de protagonista la ONG peruana IBC y supervisa la ONG española WATU-Acción Indígena y la ONG peruana Instituto del Bien Común. Además, se ha contado con ayuda de la Universidad Agraria de La Molina en Perú, de la Universidad de Florida, del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor San Marcos, y de varias Federaciones Indígenas.

Material y métodos

El proyecto tenía como objetivo contribuir a generar un modelo de producción sustentable para las poblaciones de comunidades indígenas de las etnias Ashaninka y Yanesha con el fin de mejorar su condición alimenticia, en un área que abarca la cuenca del río Pachitea (parte de los departamentos de Pasco y Huánuco), ambas con instituciones del mismo nivel de organización, pero con diferentes objetivos de desarrollo para cada una. La población en ambas regiones, considerada en situación de extrema pobreza (mapa de pobreza según Foncodes, 2006), es en su mayoría alto andina y solo una pequeña parte es amazónica, que, de hecho, es la más vulnerable.

En la zona se han instalado programas de reducción de cultivos de hojas de coca. El recurso pescado es uno de los más importantes en la dieta de la población indígena amazónica (consumo per cápita 50 kg al año*, reporte de Caretas, 2006), hoy existe más presión sobre el recurso por la explosión demográfica en esta zona disminuyendo su disponibilidad en el ambiente natural.

Se mejoró el laboratorio de reproducción artesanal en Puerto Inca (Huánuco), para lo cual se contó con la participación del Instituto Superior Tecnológico Público Puerto Inca (ISTPPI). Se produjo un retraso en la construcción del módulo de reproducción debido a las frecuentes lluvias.

En las instalaciones del laboratorio de reproducción se realizaron cursos de capacitación sobre construcción de tanques, instalación de sistemas de incubación, manejo de reproductores, calidad de agua y cálculos de pendientes y caudales, los cuales estuvieron dirigidos a técnicos, promotores indígenas y pobladores de las comunidades nativas. Para reforzar el contenido de los cursos se generó material didáctico: dos trípticos ilustrados, uno sobre construcción de estanques y otro sobre biología de peces. Se adquirieron reproductores de especies nativas de «paco» y «gamitana» capturadas del medio natural, y algunas de algunos otros productores. Actualmente, todavía se encuentra en fase de preparación y manejo debido a que muchos de los peces han presentado problemas nutricionales que han influido en el sistema reproductivo, y se encuentran en proceso de recuperación. Se adquirieron larvas y alevines en las ciudades de Pucallpa e Iquitos y se les trasladó a Puerto Inca.

Resultados y Discusión

Se ha iniciado un camino para comenzar con la piscicultura indígena en dichas regiones, basadas en las tecnologías de reproducción de la carpa. Cabe mencionar que ha sido muy compleja la actuación por la falta de infraestructuras, y los primeros alevines se han producido en primavera del 2009.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado y apoyado técnicamente por la Universidad Politécnica de Madrid y asesorado por Universidad Agraria de la Molina (Lima, Perú), y ejecutado por Instituto del Bien común (ONG peruana) con la colaboración de WATU-Acción Indígena.

Metodologías para la definición de criterios de diseño de tanques para el cultivo de peces planos

J. Oca¹, I. Masaló, S. Duarte, C. Almansa y L. Reig

¹ Departamento de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología. Universidad Politécnica de Cataluña. Campus Baix Llobregat UPC. C/ Esteve Terradas, 8. 08860 Castelldefels. Barcelona. Joan.Oca@upc.edu

Abstract

Benthonic species have been intensely investigated during the last decades. Generally these species have been reared in tanks used for pelagic species, without taking into account their peculiar life habits (low activity, tank bottom coverage). Tank design for benthonic species has to promote water homogeneity and a homogeneous fish distribution all along the tank bottom. In order to define this tank design criteria, different methodologies have been tested to obtain a hydrodynamic characterisation of aquaculture tanks for benthonic species, and to study fish behaviour and evaluate preferences in cultured benthonic species.

The study of tank hydrodynamics was carried out using Particle Tracking Velocimetry (PTV), analysis of Residence Time Distribution (RTD) and Acoustical Doppler Velocimetry (ADV). PTV and ADV allowed obtaining tank flow pattern and RTD was useful to determine dead volumes and by-pass currents.

Fish behaviour was studied using image analysis. A fluorescent external mark on the fish allowed determining fish position and evaluating fish preferences in the tank. Using a laser scanner device, fish distribution promoted by changes in rearing parameters was assessed. And finally image subtraction of consecutive frames allowed obtaining fish activity level.

With these new and innovate methodologies the mutual interaction between fish and flow in rearing tanks may be understood and evaluated.

Justificación

Los peces planos constituyen un grupo de especies que concentran un gran interés para la acuicultura. Los lenguados (*Solea solea* y *Solea senegalensis*), pertenecientes a este grupo, han sido sujeto de un gran interés durante décadas. A pesar de los esfuerzos dedicados, sus hábitos bentónicos aún plantean importantes retos que dificultan la consolidación de su producción. Uno de estos retos se encuentra en la ingeniería de las instalaciones. Con frecuencia, los peces planos se han producido en instalaciones inicialmente pensadas para peces pelágicos, con pocas o nulas modificaciones, las cuales no satisfacen los requerimientos específicos que su especial forma de vida impone.

Las instalaciones para peces planos deben considerar diversos aspectos, especialmente su bajo nivel de actividad en comparación con otras especies, la ocupación casi exclusiva del fondo del tanque, que genera importantes gradientes verticales de oxígeno (Reig *et al.*, 2007), y el contacto continuado de su piel con el material del tanque.

En el presente trabajo se presentan diversas metodologías basadas en el análisis hidrodinámico de los tanques y en el análisis del comportamiento de los peces planos, que deben facilitar la definición de criterios de diseño específicos, que optimicen el uso de la superficie de cultivo y el bienestar animal.

Material y Métodos

Metodologías basadas en el análisis hidrodinámico de los tanques para peces planos

Se han utilizado tres metodologías: la velocimetría de seguimiento de partículas (PTV), el análisis de tiempos de residencia (RTD) y la velocimetría acústica de efecto Doppler de alta frecuencia (ADV).

La PTV utiliza partículas trazadoras para la determinación del campo de velocidades en una sección iluminada de un tanque a escala.

El análisis de tiempos de residencia (RTD) se basa en la evolución temporal de un trazador introducido en el tanque, del cual se miden las concentraciones en la salida a lo largo del tiempo.

La velocimetría acústica (ADV) permite obtener la velocidad y la turbulencia en los ejes X, Y y Z (Masaló *et al.*, 2008) en un punto concreto de tanques a escala real.

Metodologías basadas en el análisis del comportamiento del pez (análisis de imágenes)

El análisis de imágenes se ha utilizado para el estudio de la distribución de peces en el tanque y determinar preferencias, y para cuantificar el nivel de actividad.

El estudio de la distribución de peces en el tanque se ha realizado mediante marcaje de los peces y posterior tratamiento de las imágenes obtenidas para determinar su posición, y también mediante un escaneado del tanque con un láser.

La cuantificación del nivel de actividad se ha realizado mediante la sustracción de imágenes consecutivas.

Resultados y Discusión

Metodologías basadas en el análisis hidrodinámico de los tanques para peces planos

La técnica PTV permitió obtener el patrón de flujo de tanques a escala con diferentes configuraciones de entrada y salida (Oca *et al.*, 2004; Oca y Masaló, 2007a). Utilizando la técnica RTD se detectaron volúmenes muertos y corrientes de cortocircuito en tanques con diferentes configuraciones de entrada y salida (Masaló y Oca, 2004). Finalmente la técnica ADV también permitió obtener el patrón de flujo en tanques circulares y rectangulares (Oca y Masaló, 2007b).

Metodologías basadas en el análisis del comportamiento del pez (análisis de imágenes)

El marcaje de peces y el posterior tratamiento de las imágenes obtenidas, permitió determinar la preferencia de los peces, cultivados a baja densidad (< 100% de cobertura del fondo), en función de las condiciones ambientales (Duarte *et al.*, 2006; Reig *et al.*, enviado). Esta técnica también permitió realizar un marcaje diferencial con dos poblaciones que compartían tanque, pudiéndose determinar la jerarquía (Duarte *et al.*, 2006).

Mediante el escaneado del fondo del tanque, utilizando un dispositivo láser, se determinaron las preferencias de los peces cultivados a alta densidad (> 300% de cobertura del fondo) en función de las condiciones ambientales (velocidad del agua, oxígeno) (Oca *et al.*, 2007). Este escaneado también es útil para hacer estimaciones de la biomasa presente en el tanque.

Finalmente, la sustracción de imágenes consecutivas del fondo del tanque se utilizó con éxito para determinar el nivel de actividad de los peces planos (Duarte *et al.*, en prensa).

La utilización de estas metodologías permitirá conocer y evaluar la interacción mutua existente entre las condiciones hidrodinámicas del tanque y el comportamiento y bienestar de los peces, aportando una información necesaria para la definición de los criterios de diseño de tanques para peces planos.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el MEC (AGL2005-00223-ACU) y la UE (CRAFT 016869).

Bibliografía

- Duarte S., Reig L., Oca J., Sánchez P., Ambrosio P.P., Flos R. 2006. Behavioural responses of an heterogeneous size sole (*Solea senegalensis*) population at two different stocking densities. *Aqua* 2006, Firenze (Italy) May. pp. 9-13, 2006.
- Duarte S., Reig L., Oca J. (en prensa). Measurement of sole activity by digital image analysis. *Aquacult Eng* 38.
- Masaló I., Reig L., Oca J. 2008. Study of fish swimming activity using Acoustical Doppler Velocimetry (ADV) techniques. *Aquacult Eng* 38, 43-51.
- Masaló I., Oca J. 2004. Analysis of Residence Time Distribution (RTD) in aquacultural tanks, and correspondence with the flow pattern characterized using Particle Tracking Velocimetry (PTV) techniques. *EAS Special Publication* 34, 538-539.
- Oca J., Masaló I., Reig L. 2004. Comparative analysis of flow patterns in aquaculture rectangular tanks with different water inlet characteristics. *Aquacult Eng* 31, 221-236.
- Oca J., Masaló I. 2007a. Design criteria for rotating flow cells in rectangular aquaculture tanks. *Aquacult Eng* 36, 36-44.
- Oca J., Masaló I. 2007b. Use of the «Tank Resistance Coefficient» to evaluate modifications of water inlet devices in rotating flow tanks. *Aquaculture Europe 2007*, Istanbul, Turkey. 24-27 Oct. pp. 395-396.
- Oca J., Duarte S., Reig L. 2007. Evaluation of spatial distribution of flatfish by laser scanning. *Aquaculture Europe 2007*, Istanbul, Turkey. 24-27 Oct. pp. 157.
- Reig L., Piedrahita R.H., Conklin D.E. 2007. Influence of California halibut (*Paralichthys californicus*) on the vertical distribution of dissolved oxygen in a raceway and a circular tank at two depths. *Aquacult Eng* 36, 261-271.
- Reig L., Duarte S., Valero J., Oca J. (enviado). Preference of cultured sole (*Solea senegalensis*) for different substrates differing in texture and colour. *Aquacult Eng*.

Nuevos datos sobre el cultivo del mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en Andalucía

P. León¹, P. Ávila¹, M. M. Agraso¹, J.C. Macías¹ y D. Acosta²

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. C/ Bergantín, 39. Sevilla. Correo electrónico: pileon@dap.es

² Consejería de Agricultura y Pesca. Dirección General de Pesca y Acuicultura. C/ Tabladilla, s/n. 41012 Sevilla. daniel.acosta@juntadeandalucia.es

Abstract

The Andalusian shore is a site of major interest for the bivalve aquaculture. The growing interest for the culture of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in this region makes necessary to identify main features and problems derived from this activity in order to improve better practices. This work, carried out in three mussels farms existing in Andalusia from May 2007 until July 2009, focuses on the analysis of condition index, seed growing, the recruitment of mussel on artificial collectors and related environmental factors. The impact of toxic events between 2001-2009 is also studied. The presence of a coastal upwelling in the Western Mediterranean region has a strong influence on the culture conditions. Results show shorter production cycles and higher condition index in Marbella and La Línea de la Concepción. Higher values of recruitment were found to occur from May to July at depth (10 m) in Caleta de Vélez. Toxic events, mainly caused by the Paralytic Shellfish Poison (PSP), showed a seasonal pattern, with a higher occurrence during winter. Finally, other aspects such as Andalusian suitable zones for mussel culture, its compatibility with other activities and its market perspectives are also discussed.

Justificación

Andalucía constituye una región con un gran potencial para el cultivo de bivalvos marinos. La existencia de condiciones favorables en el litoral andaluz (Tirado y Macías, 2006), la disponibilidad de zonas idóneas, y la baja ocupación por instalaciones de acuicultura han provocado un creciente interés en los últimos años por parte de la industria mejillonera (fundamentalmente de origen gallego) para el cultivo de esta especie. Este hecho se ha visto reflejado en el otorgamiento de varias autorizaciones de cultivo en las localidades de la Línea de la Concepción y Algeciras (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga), Isla Cristina (Huelva) así como por la solicitud y convocatoria pública para la concesión de autorizaciones para esta actividad en las provincias de Huelva, Cádiz, Málaga y Granada (Resolución de 31 de julio de 2006, BO-JA 156).

El posible crecimiento y posibilidades de desarrollo de esta industria en Andalucía hacen patente la necesidad de abordar estudios sobre el cultivo de mejillón en el litoral andaluz, que permita un mejor conocimiento de los diversos aspectos y/o problemáticas asociadas a dicha actividad, como requisito necesario una correcta gestión de la misma. Es este sentido, la Consejería de Agricultura y Pesca a través de su Empresa Pública viene trabajando desde el año 2001 en la recopilación de datos científico-técnicos que permitan profundizar en dicho conocimiento.

Material y Métodos

Para el desarrollo de este estudio se han llevado cabo una serie de muestreos mensuales entre los años 2006 y 2009 en las instalaciones de cultivo de mejillón situadas en las localidades de La Línea de la Concepción (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga). Estas instalaciones son representativas de condiciones hidrodinámicas y ambientales diversas, e incluyen diferentes métodos de cultivo (bateas y long-lines). En ellas se han estudiado aspectos como crecimiento e índices de condición (IC), fijación de semilla, epifauna, e incidencia de episodios tóxicos. Para ello se han realizado biometrías y aplicado protocolos específicos, se han fondeado colectores y se han analizado las bases de datos obtenidas del Plan de Control Sanitario de las Zonas de Producción de Moluscos Bivalvos de Andalucía. Adicionalmente se han llevado a cabo tareas de monitorización ambiental (fondeo de fluorómetros, correntímetros y perfiles de CTD) con la intención de relacionar los aspectos estudiados con las variables ambientales. Finalmente, se está elaborando un cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo del mejillón en las costas andaluzas, y se han analizado otros aspectos del cultivo relativos a las condiciones de mercado y su compatibilidad con otros sistemas acuícolas.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto importantes diferencias en las condiciones ambientales presentes en cada una de las zonas de estudio, aún estando relativamente próximas (aprox. 90 millas). La evo-

lución temporal de la temperatura y la clorofila muestran una clara estacionalidad, así como la existencia de un afloramiento permanente en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción. Bajo vientos de poniente el ascenso de aguas frías y ricas en nutrientes se extiende hacia Caleta de Vélez, determinando el enriquecimiento de estas zonas del litoral andaluz oriental.

La estacionalidad observada en las variables ambientales tiene una clara repercusión en las condiciones de cultivo del mejillón y por tanto sobre los aspectos estudiados, especialmente en Caleta de Vélez donde el crecimiento (con ciclos de cultivo de 18 meses) y los IC se correlacionan ($P < 0.05$) negativamente con la temperatura del agua. En Marbella el afloramiento permanente permite que las tasas de crecimiento e IC sean más elevados y continuados, determinando por tanto ciclos de producción más cortos (13-14 meses) y rendimientos mayores (de hasta el 25%). El cultivo en La Línea de la Concepción muestra características intermedias.

Los ciclos gametogénicos (Tirado y Macías, 2006) y la evolución temporal de los IC sugieren un periodo de puesta en primavera. Esta circunstancia es coherente con el patrón de fijación de semilla observado en las instalaciones de Marbella y Caleta de Vélez, que se caracteriza por un periodo de fijación a finales de primavera y principios de verano. La fijación presenta además un gradiente vertical, siendo más intensa en profundidad (10 m) en Caleta de Vélez y en superficie en Marbella (con hasta 85.000 individuos por unidad muestral).

El análisis de los episodios tóxicos ocurridos entre el 2001 y el 2009 pone de manifiesto que la principal toxicidad responsable de los cierres es la de tipo paralizante. Se observa además una clara estacionalidad de los niveles tóxicos, con una mayor incidencia por PSP en los meses de invierno y de DSP en primavera o verano. Asimismo, durante la primavera de 2009 se registró un intenso episodio por ASP en La Línea de la Concepción. Estos episodios se traducen en cierres de hasta el 20% anuales, que impiden la puesta en el mercado del producto.

Los diversos aspectos considerados en este proyecto, revelan el interés hacen interesante del litoral mediterráneo andaluz para el cultivo de mejillón, y en especial de su sector occidental, donde las condiciones de cultivo determinan ciclos de producción más cortos y rendimientos similares a los obtenidos en otras regiones españolas. No obstante, existen otros factores relacionados, como los episodios tóxicos por biotoxinas, que deben ser tenidos en cuenta a la hora de analizar la viabilidad de este tipo de iniciativas. Con los datos aportados en este proyecto se pretende que las empresas dispongan de datos objetivos y reales y que la Administración pueda valorar íntegramente los nuevos proyectos para este tipo de cultivos.

Agradecimientos

Plan Nacional de cultivos marinos JACUMAR «Cultivo de mejillón: expansión y sostenibilidad»(2007-2009). Cultivos Marinos de Andalucía, S.L. y Pescados y Mariscos Mar de La Línea, S.L., Unidad de Apoyo Técnico en Acuicultura (Subdirección de Servicios Pesqueros. Empresa Pública DAP).

Bibliografía

Tirado C., Macías J.C. 2006. Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. 176 pp.

Pautas de crecimiento y mortalidad del mejillón cultivado en mar abierto en el delta del Ebro

M. Ramón^{1,2,4}, E. Dámaso^{3,4} y E. Galimany^{3,4}

¹ Instituto Español de Oceanografía-Centre Oceanogràfic de les Balears. Moll de Ponent, s/n. 07015 Palma. mramon@icm.csic.es

² ICM-CSIC. Psg. Marítim de la Barceloneta, 37-49. Barcelona 08003

³ IRTA. Crta. Poble Nou, s/n. St. Carles de la Ràpita 43540

⁴ Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya. CRAQ

Abstract

Growth and mortality of cultured mussels were analyzed in a semi-exposed area during two years by means of a floating structure. Initial mean lengths were 33 mm in October 2007 and reached 60 mm in June 2008. For the first culture cycle (2007-2008), mussels near the surface showed higher growth than those on other depths studied (3 and 6 m) except for August, when we found no length differences between depths. Monthly mortality was below 5% except for summer. Even so, such mortality rates were much lower than those found for mussels cultured in a nearby location, Alfacs bay (100%). It still needs to be confirmed if these tendencies are also observed in the second culture cycle (2008-2009). These results are very important for the local mussel shellfisheries showing similar mussel yield (size and length) between the semi-exposed area and the Ebro Delta bays. Moreover, mortality associated to high temperatures in the bays could be avoided.

Justificación

El cultivo de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en Cataluña se concentra en las dos bahías del delta del Ebro, con una producción anual alrededor de 3000 Tn. Durante los años 2003 y 2006 se produjeron grandes pérdidas causadas por las elevadas y sostenidas temperaturas del agua de las bahías (> 28°C), que provocaron la mortalidad de adultos y semilla. Actualmente se está evaluando la posibilidad de producir mejillón en zonas más expuestas.

Material y Métodos

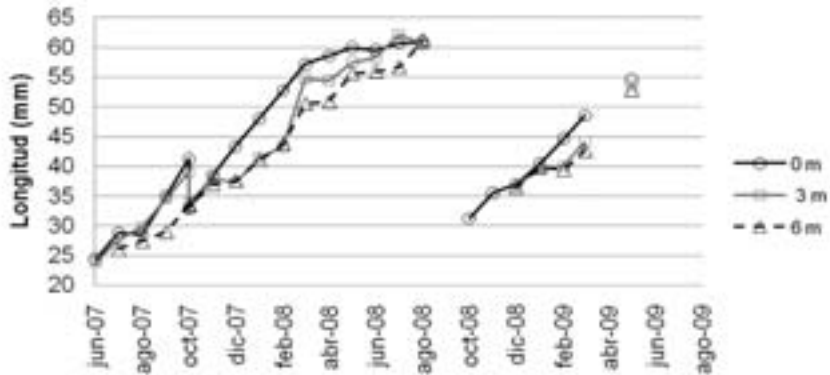
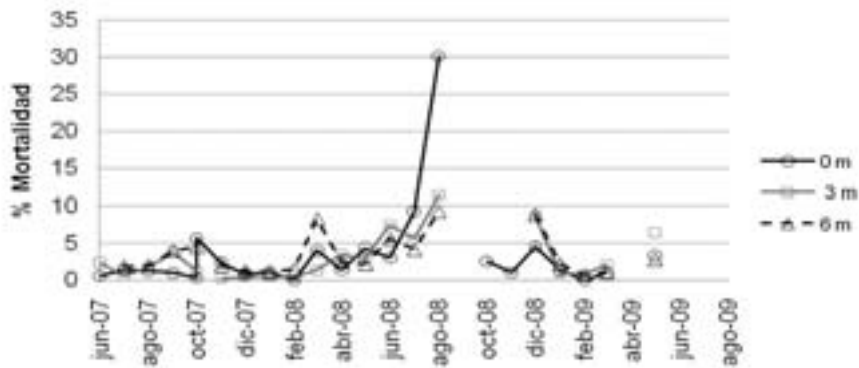
El estudio se desarrolló en una estructura flotante situada frente a Les Cases d'Alcanar (Tarragona), desde donde se suspendieron las cuerdas de cultivo a lo largo de dos ciclos de producción. Se emplearon cuerdas de una longitud de 3 metros por la imposibilidad de levantar a mano el peso de cuerdas más largas. La mitad de las cuerdas de 3 metros se colgaron desde la superficie (rango 0-3m de profundidad) y la otra mitad en el rango 3-6 m de profundidad. Para evitar posibles diferencias debidas a la posición, se dispusieron las cuerdas de manera que de una misma argolla de sujeción colgaba una cuerda de de 0-3 y otra de 3-6 m, simulando así una única cuerda de 0-6 m. Para el seguimiento del primer ciclo de cultivo las cuerdas fueron suspendidas de la batea en octubre 2007, manteniéndose hasta agosto 2008. Hacia mediados de octubre 2008 se inició un nuevo ciclo de cultivo (2008-2009), suspendiéndose nuevas cuerdas preparadas con semilla obtenida en la propia batea offshore.

En ambos ciclos de producción y con periodicidad mensual se procedió a extraer aproximadamente entre 200 y 400 ejemplares por profundidad (0, 3, 6 m), analizándose un total de 3 réplicas (cuerdas) por nivel. La muestra fue congelada al llegar al laboratorio debido a la imposibilidad de trabajar todo el material en fresco, cuantificándose previamente los ejemplares muertos. A posteriori se descongeló para determinar la longitud, el peso de la concha y el peso fresco y seco de la carne de cada individuo. Al mismo tiempo se realizó el seguimiento ambiental (temperatura, contenido en seston y clorofila del agua).

Resultados y Discusión

Durante el primer ciclo de producción, el crecimiento fue mayor en el periodo octubre 2007-marzo 2008 (Fig. 1). De marzo 08 a agosto 08 el crecimiento se ralentizó en todas las profundidades. Transcurridos ocho meses del cultivo, se observa que el crecimiento fue mayor en los ejemplares que se desarrollaron a 0,5 metros de profundidad (57,18 ± 7,08 mm) con respecto a los de 3 m (54,74 ± 6,71) y fondo (50,50 ± 6,42). Sin embargo en Agosto 08 la talla media de los mejillones cultivados a las tres profundidades se igualó (60,8 mm).

Respecto a la mortalidad (Fig. 2), se mantuvo a niveles por debajo del 10% en ambos ciclos de cultivo, a excepción de julio 08 y agosto 08, cuando alcanzó el 30% en superficie, 11,5% a 3 m y 9,4% a 6 m de profundidad.

Figura 1. Evolución de la talla del mejillón en la batea flotante durante dos ciclos de producción**Figura 2.** Evolución de la mortalidad del mejillón en la batea flotante durante dos ciclos de producción**Agradecimientos**

Se agradece a J. M. Reverte su ayuda en los trabajos de campo. Este estudio forma parte del Plan «Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad», financiado por JACUMAR y la Secretaria General de Pesca Marítima.

Crecimiento disjunto de clases fenotípicas de *Mytilus galloprovincialis* en bolsas de cultivo suspendidas en long-line

A. Aghzar¹, M. Miñambres², A. Pita A², M. Pérez² y P. Presa²

¹ Université Abdelmalek Essaâdi-Faculté des Sciences. Laboratoire de Biologie Appliquée et Pathologie. 93002 Tétouan. Morocco

² ECIMAT-Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Vigo. 36310 Vigo. E-mail: prensa@uvigo.es

Abstract

It is believed that growth rate of small mussels is faster than that of large mussels and reach commercial size at the same time. This research addresses the growth dynamics of distinct size-class seed from the same cohort of *Mytilus galloprovincialis*. We show that not all individuals of a given cohort reach the same final phenotypic performance, at least during early development. This implies that mussel culturing in suspension systems would benefit from early selection of seed based on shell length, a task always dependent of the commercial size pursued.

Justificación

El crecimiento del mejillón en sistemas suspendidos depende fundamentalmente de la cantidad de alimento disponible y de la tasa individual de filtración (Page y Hubbard, 1987). Se piensa que la tasa de crecimiento de la cola inferior de la distribución de tallas/pesos de las cohortes de mejillón, es mayor que la del mejillón más grande, y que todos ellos se sincronizan para alcanzar la talla comercial en el momento de la cosecha (Lök *et al.*, 2007). Debido a la mayor mortalidad temprana en las colas inferiores, la selección de talla puede pasar inadvertida en los estudios de crecimiento del mejillón (Pérez Camacho *et al.*, 1991). Esta investigación estudia la dinámica de crecimiento de todas las clases de edad o tamaño de una misma cohorte de *Mytilus galloprovincialis*. El objetivo consistió en clarificar si la selección temprana de la semilla según un criterio de longitud puede servir para optimizar la productividad del cultivo en batea.

Material y Métodos

En mayo de 2007 se recogió una cohorte de mejillón salvaje procedente de Tetuán (Marruecos), que había sido reclutada en primavera 2007 en colectores suspendidos de long-line. La cohorte se clasificó en tres clases de tamaño (longitud valvar): pequeños (0-20 mm), medianos (20-40 mm), y largos (40-60 mm). Cada clase de 100 individuos se envolvió en malla de nasa, se amarró a colectores de 5 m de longitud, y se suspendió de nuevo del long-line. El crecimiento se monitoreó cada 20 días, en cuatro momentos comprendidos entre el 15 de mayo 2007 (semilla de 120 días) y el 15 de julio de 2007 (semilla de 180 días). La longitud se midió sobre 50 individuos por bolsa mediante un calibre electrónico y se comparó entre y dentro de momentos así como entre y dentro de clases de tamaño, mediante ANOVA y test de Kruskal-Wallis.

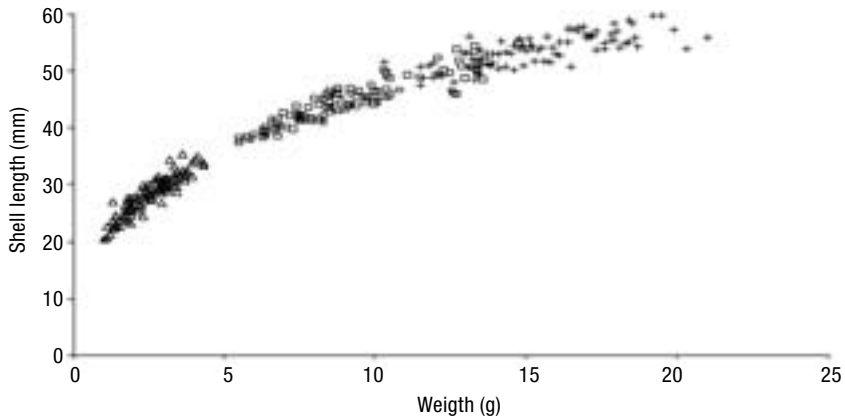
Resultados

Todas las clases de tamaño difirieron significativamente entre sí en los 4 momentos y en todos los parámetros (Longitud, Peso, y ratio L/P). La clase representativa de la cola inferior y la mayoría de individuos intermedios, mostraron distribuciones disjuntas hasta el final del periodo estudiado. Una fracción del 20% de los individuos intermedios (20-40mm) solapó claramente con la clase de tamaño grande (40-60mm) a partir del momento III (semilla de 160 días) (Fig. 1).

Discusión

La diferencia constante entre clases de tamaño indica una falta general de transición entre clases fenotípicas y un determinismo temprano en la dinámica de crecimiento de una cohorte de mejilla. Este resultado contrasta con estudios previos que indicaban un mayor crecimiento de la cola inferior con equiparación de tallas con la cola superior al final de la cosecha (Lauzon-Guay *et al.*, 2005; Lök *et al.*, 2007). Estos resultados implican que el cultivo de mejillón en sistemas suspendidos podría beneficiarse de la selección temprana de semilla basada en la longitud valvar, dependiendo del mercado al que vaya destinado el producto.

Figura 1. Ejemplo de la distribución de longitud/peso obtenida en el momento IV (180 días de edad)



Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico de la Xunta de Galicia (Agrupación Estratégica ECI-MAT-Oceanografía Ref#2008-080, y Ayudas para la Consolidación de Unidades Competitivas de Investigación 2007/08, Ref#V825 122P 64502) y de la Universidad de Vigo (Contrato Programa con Grupos de Investigación Consolidados, Ref#08VIB15).

Bibliografía

- Lök A., Acarl S., Serdar S., Kose A., Harun Y. 2007. Growth and mortality of Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk., 1819, in relation to size on long-line in Mersin Bay, Izmir (Turkey-Aegean Sea). *Aquaculture Research* 8(8), 819-826.
- Lauzon-Guay J.S., Dionne M., Barbeau M.A., Hamilton D.J. 2005. Effects of seed size and density on growth, tissue-to-shell ratio and survival of cultivated mussels (*Mytilus edulis*) in Prince Edward Island, Canada. *Aquaculture* 250, 652-665.
- Page H., Hubbard D.M. 1987. Temporal and spatial patterns of growth in mussels *Mytilus edulis* on an offshore platform: relationships to water temperature and food availability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 111, 159-179.
- Pérez Camacho A., González G., Fuentes J. 1991. Mussel culture in Galicia (NW Spain). *Aquaculture* 94, 263-278.

Ensayos con colectores piloto para la optimización del reclutamiento de semilla natural de *Mytilus galloprovincialis* en el Mar de Alborán

A. Aghzar¹, M. Miñambres², A. Pita², P. Presa² y M. Pérez²

¹ Université Abdelmalek Essaâdi -Faculté des Sciences. Laboratoire de Biologie Appliquée et Pathologie. 93002 Tétouan. Morocco

² ECIMAT-Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Vigo. 36310 Vigo. E-mail: mon@uvigo.es

Abstract

La dependencia de semilla salvaje para abastecer a los cultivos de mejillón en zonas de bajo reclutamiento es un serio problema, debiendo recurrir a frecuentes importaciones de semilla para cultivo. Para intentar mejorar la tasa de reclutamiento larvario in situ, uno de los aspectos esenciales es la optimización de los sistemas colectores. En este estudio se compara la capacidad de dos tipos de colectores para reclutar larva planctónica en la Baía de M^odíq, una de las áreas más agitadas del Mar de Alborán. En los primeros 3 metros superiores no se observan diferencias de densidad de asentamiento entre tipos de colector. Sin embargo en los 2 metros más profundos hay diferencias significativas muy consistentes entre tipos de colector, con diferencias entre ellos en torno a 5-10 veces en densidad de reclutamiento.

Justificación

Las cuerdas de reclutamiento larvario o colectores suspendidos de batea, han sido utilizados desde el comienzo del cultivo intensivo de mejillón en Galicia. El uso de estos colectores se ha recomendado debido a la mayor biomasa calculada en la cosecha de semilla derivada de ellos, respecto a la semilla natural (Fuentes *et al.*, 1998). Sin embargo este sistema de reclutamiento no es igualmente eficiente en todos los medios marinos, tales como el área marina de la Baía de M^odíq (Tétouan), sometida a fuertes temporales. El objetivo de esta experiencia ha consistido en medir la capacidad de distintos tipos de colectores en cuanto a su forma y composición, para fijar semilla planctónica de mejillón, de modo que con este tipo de ensayos se consiga mejorar la tasa de reclutamiento en el área de Alborán.

Material y Métodos

El experimento se desarrolló en la primavera de 2007, en la Baía de Baie de M^odíq (Tétouan, Morocco), utilizando un sistema long-line. Se utilizaron dos tipos de colector de poliéster o nylon, ambos de 5 metros de longitud, que se diferenciaban en su diámetro y forma filamentosa. El asentamiento de semilla se monitorizó cada 15 días, comenzando el 15 de febrero de 2007. El primer asentamiento se observó el 15 de abril de 2007, y la semilla se dejó crecer en los colectores hasta el 15 de mayo de 2007 para mejorar el escrutinio del número total de individuos por metro lineal, utilizando una lupa binocular y un contador manual.

Resultados

La densidad de reclutamiento larvario de mejillón fue significativamente mayor en un tipo de colector que en otro (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 18.207$, 9 d. f., $P = 0.03$, $F = 153.65$, $P < 0.001$). No se observaron diferencias en la densidad de reclutamiento entre metros en profundidad dentro de los colectores Tipo RED. Sin embargo, la densidad de reclutamiento fue significativamente diferente entre metros dentro de los colectores Tipo (ANOVA $F = 52.96$, $P < 0.001$). Los 3 primeros metros de los colectores RED fijaron una cantidad significativamente menor de semilla que los metros más profundos (Scheffé tests, $P < 0.01$) (Tabla 1).

Discusión

Las diferencias en densidad de semilla entre metros en profundidad, en los colectores tipo BLUE, indican que la profundidad de la columna juega un papel importante en el reclutamiento, como ya ha sido apuntado en estudios previos en otras latitudes (e.g., Fuentes y Molares, 1994). Sin embargo el mayor reclutamiento de mejilla en todas las comparaciones efectuadas entre metros de los dos tipos de colectores, así como la homogeneidad de densidad entre los 5 metros del colector tipo RED, indica que la profundidad de la columna no es el único factor responsable del asentamiento. Se piensa de hecho que tanto la forma (e.g., Pulfrich, 1996) como las propiedades del sustrato son claves también para maximizar reclutamiento (Alfaro *et al.*, 2006). En nuestro estudio la saturación por densidad parece la explicación lógica de la equivalencia entre metros en los colectores tipo RED, mientras que la profundidad y la forma del colector parecen los responsables de las diferencias de densidad entre metros en los colectores tipo BLUE.

Tabla 1. Ejemplo de medida de reclutamiento. Superíndices distintos en la misma columna, o en la fila de la densidad media, señalan diferencias significativas ($p < 0,01$) en la densidad de reclutamiento respectiva entre metros en profundidad o entre tipos de colector

Profundidad (m)	Tipo de colector	
	Tipo RED	Tipo BLUE
1	15 ^a	116 ^a
2	32 ^a	159 ^a
3	42 ^a	180 ^a
4	28 ^a	242 ^b
5	45 ^a	249 ^b
Densidad media	32,4a ± 11,9	189,2b ± 56,4

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico de la Xunta de Galicia (Agrupación Estratégica Eci-mat-Oceanografía Ref# 2008-080, y Ayudas para la Consolidación de Unidades Competitivas de Investigación 2007/08, Ref# V825 122P 64502) y de la Universidad de Vigo (Contrato Programa con Grupos de Investigación Consolidados, Ref# 08VIB15).

Bibliografía

- Fuentes J., Molares J., Villalba A. 1998. Growth, mortality and parasitisation of mussels cultivated in the Ría de Arousa (NW Spain) from two sources of seed: intertidal rocky shore vs. collector ropes. *Aquaculture* 162, 231-240.
- Fuentes J., Molares J. 1994. Settlement of the mussel *Mytilus galloprovincialis* on collectors suspended from rafts in the Ría de Arousa (NW of Spain): annual pattern and spatial variability. *Aquaculture* 122, 55-62.
- Pulfrich A. 1996. Attachment and settlement of post-larval mussel (*Mytilus edulis* L.) in the Schleswig-Holstein Wadden Sea. *Journal of Sea Research* 36, 239-250.
- Alfaro A.C., Copp B.R., Appleton D.R., Kelly S., Jeffs A.G. 2006. Chemical cues promote settlement in larvae of the green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Aquaculture International* 14, 405-412.

Seguimiento de poblaciones de atún rojo (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758) en cultivo en jaulas flotantes en la costa mediterránea de Andalucía

E. Aguirre, J. P. Gallé y J. C. Macías

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. eaguirre@dap.es

Abstract

The current communication reports a series of recommendations oriented to the optimization of using a stereographic video system, the Vicass Biomass Estimator (AKVA Group), in the monitoring of Northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) fattening campaigns. Five consecutive samplings with the image system and a final manual sampling were performed along the whole campaign. The biometric data obtained in the final sampling allowed the design of a specific algorithm which was further used in the video system. The calculated biometric variables were quite similar to those measured manually confirming the great potential of using the Vicass Biomass Estimator in the assessment of tuna fattening process.

Justificación

El cultivo de atún rojo en jaulas flotantes se ha convertido en una actividad importante en la acuicultura mediterránea, y aunque en un breve periodo de tiempo ha pasado por diferentes grados de expansión y expectativas, es necesario ir mejorando el método de cultivo. Así, entre las dificultades presentes en este cultivo se encuentra la inexistencia de métodos probados para la estimación de la población y de la biomasa.

Con la realización de este estudio se pretende prestar un servicio de apoyo científico-técnico a las empresas que realizan cultivo de atún rojo para el seguimiento de las poblaciones mediante el empleo del VICASS (*Video Image Capture And Size System*), utilizado ya en atún y otras especies como el salmón (A. C. R. Shieh y R. J. Petrell, 1998), o la dorada (B. García-García, F. Aguado-Giménez y C.J. Carrasco, 2007).

El procesado de las imágenes obtenidas con el VICASS proporciona dos dimensiones, como son la longitud furcal (Lf) y la altura máxima (Hm), a través de cuales se obtiene el peso tras la aplicación de un algoritmo. No obstante, existen otras especies de interés cuyo algoritmo no es del todo fiable, y por ello es necesario un mayor número de datos biométricos, como en el caso del atún rojo (especie en las que se está trabajando para obtener algoritmos propios y fiables (Felipe *et al.*, Jacumar, 2007). Así, para las empresas dedicadas a este tipo de cultivo es muy importante conocer el crecimiento de los individuos, para poder ajustar el suministro de alimento a las necesidades requeridas y planificar con mayor acierto el momento de sacrificio y venta del pescado, todo ello debido a que los precios del atún varían considerablemente y de forma proporcional según el peso sea inferior a 60 kg, entre 60-120 kg o superior a 120 kg (Beltmonte *et al.*, 2007).

Material y Métodos

El cultivo objeto de estudio se inicia a finales de junio de 2008 con la transferencia de los atunes a la jaula, siendo ésta filmada por cámaras subacuáticas por buzos de la empresa, que posteriormente analizan las imágenes y estiman una población de aprox. 940 atunes con aprox. 50 kg de peso medio y 190 atunes con aprox. 150 kg. Según Aguado, 2005, una cuestión que dificulta el muestreo de poblaciones tan dispersas es el hecho de que los individuos más pequeños tienden a agruparse en la zona central de la jaula, quedando menos disponibles para ser muestreados, y además al estar tan alejados, el error en el cálculo de sus dimensiones aumenta. Al posicionar la cámara en la parte central de la jaula, tienden a dispersarse a las zonas laterales de la jaula, y por ello, la forma de observarlos es en el momento de la alimentación. Partiendo de estas premisas y de las observaciones y resultados obtenidos durante el seguimiento se fue modificando la estrategia de muestreo (Tabla 1).

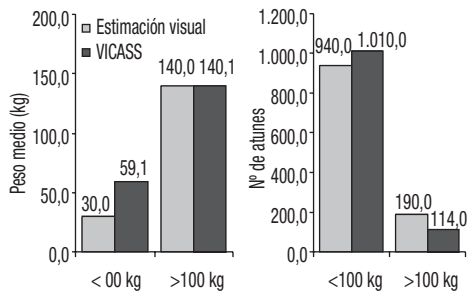
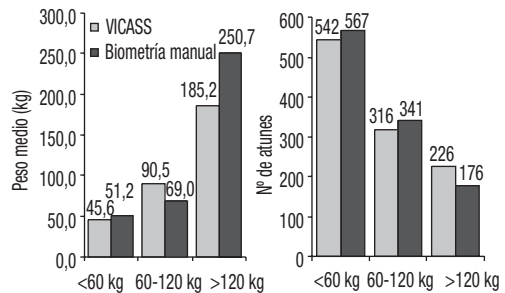
A primeros de noviembre se realiza una pesca selectiva de 12 individuos, y el sacrificio final se realiza entre el 16 y 24 de noviembre, en el cual se realiza un muestreo biométrico tomándose medidas de Longitud furcal (Lf) y Altura máxima (Hm), utilizando un ictiómetro de 0,5 cm de precisión y se pesan, uno a uno, con una balanza de 0,1 kg de precisión.

Resultados y Discusión

Desde el inicio de la campaña se produjeron 16 bajas y se sacrificaron 12 atunes, por lo que los resultados obtenidos en la tercera campaña han de referirse a una población teórica definitiva de 1083 atunes.

Tabla 1. *Materiales y métodos empleados durante el seguimiento del cultivo*

Fecha	Material y métodos	Condiciones
30/07/2008	VICASS12": Tras la alimentación, con zodiac en el centro y cámaras sumergidas entre -8 y -12 m VICASS15": Simultáneamente, desde un barco abarloado a la jaula y cámaras a 35 m del centro, sumergidas entre -8 y -12 m	Buena visibilidad y corrientes suaves
02/10/2008	VICASS12": Tras alimentación, un barco abarloado a la jaula con las cámaras a 25 m del centro y sumergidas a -10 m	Mala visibilidad
03/10/2008	VICASS12": Desde la zodiac, durante la alimentación, a 25 m del centro de la jaula y a -14 metros de profundidad	Buena visibilidad
12/11/2008	VICASS12": Desde la zodiac, durante la alimentación, a 25 metros del centro de la jaula, entre -10 y -15 m de profundidad	Mala visibilidad y corrientes

Figura 1. *Relación peso medio y número de individuos estimado con Vicass y datos teóricos de la empresa***Figura 2.** *Relación peso medio y número de individuos estimado con Vicass y biometría final*

De las biometrías realizada a 503 ejemplares, con rangos de peso de 30-450 kg, de Lf de 107-266 cm y de Hm de 28-88 cm, se obtiene la ecuación (1) para el atún rojo (ANOVA $P < 0,00001$; $R = 0,9865$).

$$\text{Peso} = 1,09735 + 0,0000860434 \times x (\text{Lf}^2 \times \text{Hm}) \quad (\text{Adaptada de Shieh y Petrell, 1998}) \quad [1]$$

Los datos sobre la población obtenidos con el VICASS están muy próximos a los de la pesca final, observando una similitud en la distribución de tallas (mayores diferencias en los individuos de mayor tamaño). El comportamiento imprevisible y la alta dispersión de los atunes en cultivo aconsejan realizar muestreos antes de ningún sacrificio, de al menos un 25% de los ejemplares, en condiciones preferentes de buena visibilidad y corrientes suaves, durante la fase de alimentación, enfocando las cámaras hacia la salida del tubo de alimentación, y variando la distancia y la profundidad según las indicaciones de un buzo.

Agradecimientos

A la empresa Nature Pesca, S.L. por el alto grado de implicación de los trabajadores y al equipo de Acuicultura Marina del IMIDA (Murcia), por el asesoramiento prestado.

Bibliografía

- Belmonte A., Ortega A., De la Gándara F. 2007. Cultivo de túnidos. In: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 2007. Vigo (España), pp. 539-546.
- Shieh A.C.R., Petrell R.J. 1998. Measurement of fish size in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) cages using stereographic video techniques. *Aquacultural Engineering*, Volume 17, Issue 1, February 1998, pp. 29-43.
- García-García B., Aguado-Giménez F., Carrasco C.J. 2007. Modelo de crecimiento para la dorada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) cultivada en jaulas flotantes en mar abierto, obtenido a partir de muestreos con equipo de visión estereográfica. In: Libro de Resúmenes del XI Congreso Nacional de Acuicultura, Vigo.

El diseño de la instalación influye en la rentabilidad de la producción de dorada en el Mediterráneo

R. Baeza Ariño², J.A. Bonilla Florez², V. Calabuig Pons², P. Campus², M. Cortés Zavala², V.-A. Costa Barber², R.V. Guillot Miralles², A. Hernández Contreras², M. Maccari², F.J. de La Paz García², P. Querol Ordóñez², M. Rebello Dos Santos², A.I. Santos Bajo², S. Martínez-Llorens¹, M. Jover Cerdá¹

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46022. Valencia. silmarll@dca.upv.es

² Máster de Interuniversitario de Acuicultura. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46022. Valencia

Abstract

A design of seabream marine farms study was carried out in different areas of the coast Mediterranean (Valencia, Andalucía and Cataluña). Several alternatives were considered as the volume of annual production (2,000, 4,000 and 6,000 tm), the number of annual lots (3 or 6) and the initial weight (10 or 40 g). The production plan, the installation budget and the financial economic analysis were elaborated for each alternative. The ratio between benefit and costs was analyzed (B/C) observing that this ratio was increasing in relation with production volume. 4,000 and 6,000 tm production volume showed significantly higher values than 2000 tm. In the alternative «weight initial», 10 g registered significantly a B/C higher than the alternative 40 g of initial weight. As the alternative «number of annual lots», differences were not observed in the B/C.

Justificación

La rentabilidad de la producción de dorada en una granja marina, se determina en función del coste de producción y del precio de venta de los peces. Durante los últimos años, la producción de dorada en España ha alcanzado un máximo, produciéndose excesos de oferta que han provocando disminuciones drásticas en el precio de venta, reduciendo la rentabilidad en la producción acuícola de esta especie. Por lo tanto, es necesario reducir los costes de producción bien, favoreciendo las economías de escala mediante el diseño adecuado de las instalaciones (García *et al.*, 2001) y/o mediante una adecuada planificación previa de la producción (Merinero *et al.*, 2005). En este sentido, hay que considerar varias alternativas a la hora de diseñar la instalación, como la ubicación de la planta, el tamaño de las jaulas, el peso de compra de los alevines y el volumen de producción.

Existen muy pocos estudios económicos que analicen la rentabilidad de las tales alternativas, por lo que el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la producción anual, el número de lotes anuales y del peso inicial de los alevines en la rentabilidad de la producción de la dorada, para lo cual se consideraron 3 volúmenes de producción de dorada: 2.000, 4.000 y 6.000 tm, cada una con 3 y 6 lotes anuales y dos pesos iniciales 10 y 40 gramos.

Material y Métodos

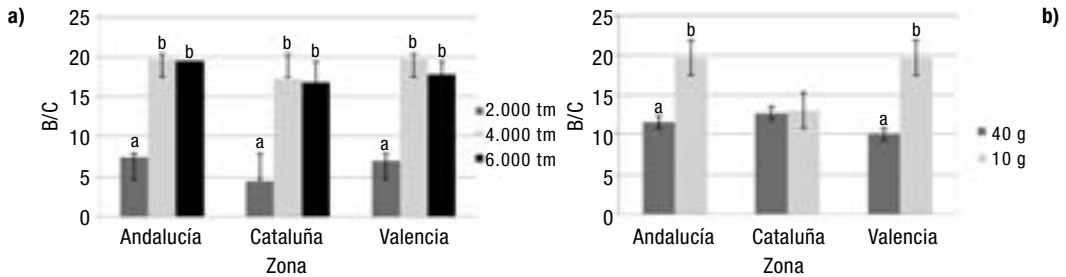
El estudio se realizó en diferentes zonas del litoral Mediterráneo (Valencia, Andalucía y Cataluña); para cada una de las alternativas (Tabla 1) se elaboró el plan de producción, el presupuesto de la instalación, la estructura de costes y el análisis económico financiero.

El plan de producción se basó en el cálculo del crecimiento de los peces según el modelo obtenido por (Mayer *et al.*, 2005) o modelo del Coeficiente Térmico de Crecimiento (CTC). Se consideró un valor medio en el CTC de 0,00172 obtenido de resultados reales de crecimiento en granjas marinas del litoral Mediterráneo, y las temperaturas efectivas se calcularon a partir de las medias obtenidas de los datos de temperaturas diarias de los años 1998, 1999 y 2000 (Luna y Martín, 2005).

Tabla 1. Resumen de las alternativas estudiadas

Volumen de producción anuales (tm)	2.000, 4.000, 6.000
Número de lotes anuales	3, 6
Litoral	Andaluz, valenciano, catalán
Peso inicial (g)	10, 40

Figura 1. Relación B/C* obtenida para la alternativa volumen de producción (a) y peso inicial (b).
*Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$).
Test de Student-Newman-Keul ($n = 36$)



Los parámetros de diseño fueron los siguientes: jaulas de 25 m de diámetro (5.000 m³), supervivencia final del 70% en el caso de alevines de 10 g y 90% para los de 40 g, y densidad de los peces fue 10 kg m⁻³ para pre-engorde hasta 100 g, y 20 kg m⁻³ hasta la talla comercial. Los datos básicos para el presupuesto de las distintas alternativas se obtuvieron de empresas especializadas en producción y suministro para la acuicultura. El cálculo del alimento se realizó mediante las tablas de alimentación de un pienso comercial (43% PB, 21% EE) para toda la fase de engorde. Como sistema dispensador del alimento se utilizaron cañones neumáticos manuales. Se realizó un estudio económico estático para cada alternativa con el fin de determinar la rentabilidad de la empresa en un año de plena producción teniendo en cuenta: a) inversión inicial, b) cuotas de amortización según c) gastos fijos (salarios, alevines y pienso), d) gastos variables (20 % de los fijos) y e) cobros derivados de la venta de peces considerando un precio de venta de 4 €/kg, determinado a partir de la evolución de precios en los Mercas.

Resultados y Discusión

Al analizar la relación entre los beneficio y los costes (B/C), y considerando sólo la alternativa volumen de producción, se observó una tendencia a aumentar esta conforme se aumentaba el volumen de producción, por lo que se favorecen las económicas de escala (Fig. 1), aunque sólo el volumen 2.000 fue significativamente inferior que el 4.000 y 6.000 tm. En la alternativa peso inicial, los diseños realizados con producciones que se inician con 10 gramos de peso doradas obtuvieron un B/C, significativamente mayor, que los realizados a partir de 40 g de peso, a pesar de su menor mortalidad.

En cuanto al número de lotes anuales, no se observaron diferencias en el B/C.

Bibliografía

- García J., Rouco A., García B. 2001. General guidelines for the design of sea fish on growing farm in sea cages. *Arch. Zootec.* 51, 469-472.
- Luna L., Martín A. 2005. La empresa de dorada y lubina: sistemas productivos y rentabilidad económica, en acuicultura marina mediterránea. Ruesga S. (ed) 4, 75-128. Fundación Martín Escudero.
- Mayer P., Estruch V.D., Jover M. 2005. Modelo descriptivo basado en la regresión cuantil para el análisis del crecimiento de la dorada en jaulas marinas. X Congreso Nacional de Acuicultura (octubre, 2005. Gandía, España). Actas.
- Merinero S., Martínez-Llorens S., Tomás A., Jover M. 2005. Análisis económico de alternativas de producción de Dorada en jaulas marinas en el litoral Mediterráneo español. *Revista AquaTIC* 23, 1-19.

Descripción del cultivo de mejillón *Perna perna* en longline (Fuerteventura, Islas Canarias)

A. Bilbao¹, M.P. Viera², G. Courtois de Viçose², Y. Pérez¹, R. Falcón¹, L. Aarab², A. Bilbao-Villena², H. Fernández-Palacios², L. Molina², M.S. Izquierdo² y N. Pavón¹

¹ Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. C/ Subida al Mayorazgo, 26, portal B, 2ª planta. Polig. Ind. El Mayorazgo. 38108 Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias. albertobs@gmrcanarias.com

² Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35200. Telde, Islas Canarias

Abstract

Significant populations of the Canarian mussel *Perna perna* are present only on the Island of Fuerteventura and are experimenting a serious decline mainly due to overfishing and a high demand on the local market. Considering the present situation of *Perna perna*'s stocks the local government has applied a restrictive law to forbid the capture of specimens and has promoted the experimental culture of this specie. Mussel are cultivated worldwide using the longline technique. However, design, materials and deployment are checking constant new challenge mainly in offshore conditions. We describe the first *longline* mussel culture located on the island of Fuerteventura at open sea and anchored in January 2008. The main problems encountered are discussed.

Justificación

En la isla de Fuerteventura (Islas Canarias) se encuentran las únicas poblaciones significativas de mejillón *Perna perna* del Archipiélago. Sin embargo, este molusco de interés marisquero se encuentra sobreexplotado y, por tanto, la administración competente ha prohibido, desde 2004, su captura. Por otro lado, Carrillo, Bacallado y Cruz (1992) sugieren que experiencias de cultivo de esta especie en aguas relativamente tranquilas podrían originar una explotación industrial. Auspiciado por la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias se está desarrollando la primera experiencia piloto de cultivo de mejillón en Canarias, mediante *longline*, con el propósito de otorgar nuevas opciones profesionales a los pescadores isleños y contribuir a la recuperación de las poblaciones naturales de esta especie. El cultivo de moluscos en *longline* consta de un sistema de cuerdas horizontales, ancladas al fondo marino, con boyas para proporcionar flotabilidad, sobre las cuales se amarran las cuerdas de cultivo. En contraste con los sistemas flotantes de cultivo (ej. bateas), los *longlines* pueden ser dispuestos en un modo sumergido, a varias profundidades, evitando los sobreesfuerzos en los niveles superficiales del mar, soportando fuertes vientos y la acción del oleaje, debido a la flexibilidad del sistema. Por otro lado, destaca lo sencillo de su instalación y materiales, además de los escasos costes de inversión económica en comparación con otros sistemas de cultivo. En cuanto al diseño específico, se puede hablar, en términos generales, de tres tipos de *longline* en función de la proximidad de la línea de cultivo principal a la superficie del mar: superficial o flotante, sub-superficial y sumergido (Bompais, 1991). La elección del diseño específico será función de las condiciones del lugar (Buck, 2007).

Material y Métodos

Se seleccionarán dos lugares en la costa este de la Isla Fuerteventura con los siguientes criterios: cercanía a puertos pesqueros; relativa bonanza de las aguas, puesto que los trabajos de muestreos mensuales serán realizados a bordo de embarcaciones pesqueras artesanales, de escasa eslora, propias de estas zonas; lugares que no afecten a ámbitos de protección, ni a otros usos profesional o deportivo-recreativo; aprobación con administraciones competentes en la materia y cofradías de pescadores afectadas por los lugares propuestos.

Resultados y Discusión

Se escogieron dos lugares (a 30 m de profundidad) situados en las cercanías de los puertos de Corralejo y Gran Tarajal, situados en la costa este de Fuerteventura. Ambas localizaciones están separadas unas 35 millas y localizadas a menos de una milla de costa. En cuanto a las condiciones marítimas existentes en ambas zonas, los vientos soplan generalmente del primer cuadrante (N-E) con una intensidad de entre 6 y 20 nudos, alcanzando, en ocasiones, vientos de 40 nudos. Las corrientes fluyen siguiendo el litoral de la isla, entre 0,25 a 0,60 m/s, cambiando de dirección según la marea; pero predomina la corriente en sentido sur (Ministerio de Medio Ambiente, 2006). El régimen extremal de oleaje indica que se pueden llegar a los 6,75 m de altura de ola, con un periodo de retorno de 2 años (Copeiro *et al.*, 1994). El régimen de ma-

rea en la isla de Fuerteventura presenta un carácter típicamente semidiurno, con un rango máximo de unos 3 m. El diseño elegido, según las condiciones descritas, es el de *longline* sub-superficial. La cuerda horizontal presenta una longitud de unos 110 m y está ubicada a unos 4 m de profundidad. Las boyas que sustentan la instalación son 4 de 350 l, 2 en cada extremo, y 16 de 150 l a lo largo de la cuerda horizontal. Cada *longline* está lastrado al fondo marino, en cada extremo, con 3 muertos, de 0,9, 3 y 6 ton, unidos al resto de la instalación con grillete, cadena y estacha. Ambos *longlines* fueron propuestos para que los pescadores locales pudiesen trabajar desde sus embarcaciones, bien manualmente o con la ayuda de pequeñas «maquinillas». En enero de 2008 se fondean dos *longlines* en las localizaciones seleccionadas. Previamente, el material fue montado en los puertos más próximos a las zonas de cultivo, y embarcado, el mismo día de la instalación en un buque remolcador. La maniobra de fondeo fue realizada desde el buque, sin la ayuda de buzos. Fondearon en primer lugar el extremo sur del *longline* y luego el norte. Para evitar tensiones se decidió fondear el *longline* paralelo a la corriente. Uno de los principales problemas que se están observando es la excesiva tensión de la cuerda madre que imposibilita su correcto izado en la embarcación, lo que obliga a trabajar en situaciones de bajamar. De hecho, en una de las instalaciones, la tensión de la cuerda horizontal hizo necesaria la intervención de buzos para poner unos metros más de estacha. Es probable que esta situación tenga su origen en la maniobra de fondeo. Aunque la tensión es necesaria para mantener la correcta funcionalidad de la obra, es fundamental lograr un equilibrio con la forma de trabajar preestablecida. Es por ello que una posible solución pase por instalar contrapesos de tensión a ambos lados del *longline*. Cabe añadir que, en algunas de las cuerdas que sujetan las boyas de 150 l se observa un deterioro considerable, próximo a la rotura. Con posterioridad a la fecha de fondeo se pusieron unas 40 cuerdas de cultivo de unos 2 m separadas unos 2 m, lastradas con pesos de unos 3 kg y con una densidad de cultivo inicial de 1 kgm^{-1} . El seguimiento científico se está desarrollando desde entonces.

Agradecimientos

Proyecto cofinanciado por la Unión Europea (fondos I.F.O.P. y F.E.P.) y la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias, con el asesoramiento del Instituto Español de Oceanografía.

Bibliografía

- Bompais X. 1991. *Les filières pour l'élevage des moules*. Guide pratique. IFREMER. 241 pp.
- Buck B.H. 2007. Experimental trials on the feasibility of offshore seed production of the mussel *Mytilus edulis* in the German Bight: installation, technical requirements and environmental conditions. *Helgol Mar Res.* 61, 87-101
- Carrillo M., Bacallado J.J., Cruz T. 1992. Primeros datos sobre el mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en las costas de Fuerteventura (Islas Canarias). En: *Actas del V Simp. Ibér. Estud. Bentos Mar.* Vol. 2, 411-422. Septiembre 1986. Puerto de la Cruz (Tenerife).
- Copeiro E., Jofré J.M., García M.A., Medina J.A. 1994. *Regímenes direccionales de oleaje y temporales en las islas Canarias*. Tomo III: Provincia de Las Palmas de Gran Canaria. Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias.
- Ministerio de Medio Ambiente. 2006. *Estudio Ecocartográfico del litoral de la Isla de Fuerteventura*.

Diseño hidrodinámico de tanques para acuicultura continental y litoral

J. Dávila

Grupo de Mecánica de Fluidos. Universidad de Sevilla, Camino de los Descubrimientos, s/n. 41092 Sevilla.
E-mail: davila@us.es

Abstract

The use of Computational Fluid Dynamics to simulate shallow water flows, together with the existing knowledge in the field, enables improved design of aquaculture tanks. The main advantages that can be obtained from efficient hydrodynamic designs are: the reduction of power consumption linked to drive water, the control and reduction of unwanted phenomena in the flow pattern (such as recirculation and dead zones in the flow or localized hydraulic losses), the optimization of the oxygenation systems, the accumulation and control of solid waste for easy removal, and the effective and uniform dispersion of nutrients to maximize the volume of the tank and promote the proper development of the species.

Justificación

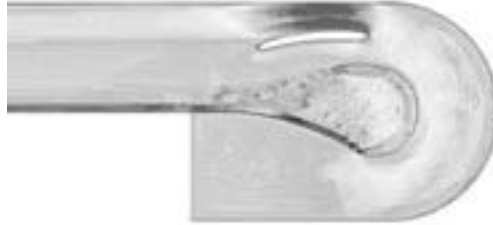
Los sistemas de producción en recirculación tienen evidentes ventajas, pero plantean como principal inconveniente la necesidad de eliminar los residuos sólidos y tratar el agua de los tanques. Por otra parte, el control del consumo energético es otro de los aspectos de mayor interés en el diseño de piscifactorías, determinado en gran medida por los sistemas de impulsión y oxigenación, en muchos casos íntimamente ligados. Hoy en día se pueden resolver algunos de estos problemas utilizando modelos analíticos simplificados, pero su gran complejidad hace que en la mayoría de los casos haya que recurrir a la experimentación o, alternativamente, a simulaciones numéricas, que no solo describan la dinámica del flujo, sino también la de las partículas sólidas en suspensión. El uso apropiado de las simulaciones numéricas permite obtener unos conocimientos mucho más profundos de la hidrodinámica de los tanques y por lo tanto es posible realizar diseños que permitan mejorar el comportamiento de los existentes. Sin embargo, las simulaciones numéricas están limitadas por la validez de los modelos en los que se basan, por lo que es necesario realizar un estudio teórico profundo del problema junto con su resolución numérica. Con la potencia de los ordenadores actuales se ha reducido el tiempo de computación, pero aún así, una vez determinada la geometría exacta, el cálculo del patrón de flujo en un tanque típico puede tardar unos días, a lo que se une la necesidad de probar distintas configuraciones. Sin embargo, estas herramientas son muy potentes y permiten resolver muchos problemas de interés en el diseño de las instalaciones acuícolas.

Material y Métodos

Los residuos sólidos deben ser extraídos de los tanques de cultivo lo antes posible. Lo más eficiente es concentrar las partículas en una zona del tanque con el menor área posible y que esté específicamente diseñada para su extracción. Esto puede conseguirse mediante un diseño hidrodinámico muy cuidado que además evite la deposición en el resto del tanque. Para ello se recurre a mantener una elevada intensidad de la turbulencia asociada al flujo del tanque, mientras que en las zonas de deposición se busca el efecto contrario: la intensidad de la turbulencia así como la velocidad media del flujo han de ser muy bajas.

En cuanto a la optimización de los sistemas de oxigenación, la experiencia demuestra que en muchos casos es posible reducir el consumo de estos equipos (Dávila y Gutiérrez-Rubio, 2004). Por ejemplo, el uso de agitadores de paletas para oxigenación y agitación en grandes zonas de cultivo está siendo reemplazado por el de bombas axiales (hélices) de mucho mayor rendimiento, aunque eso suponga tener que aportar oxígeno por un procedimiento alternativo. Este tipo de bombas, además de ser capaces de elevar el agua una cierta altura (normalmente menos de 1 m, pero suficiente en muchos casos) son capaces de mezclar volúmenes mucho mayores que un agitador de paletas. Sin embargo, siempre es importante que los equipos de impulsión y mezcla se adapten al caudal y a las pérdidas hidráulicas correspondientes al tramo donde estén instalados. La geometría del tanque en la zona cercana al equipo de impulsión debe ser diseñada especialmente para optimizar el rendimiento del mismo, ya que de entre las posibles pérdidas hidráulicas, las pérdidas localizadas (desprendimientos de la corriente, recirculaciones, etc.) son las más importantes, siendo las pérdidas por fricción despreciables en la mayoría de los casos, debido a las bajas velocidades del agua en los tanques de cultivo. Las simulaciones numéricas también permiten determinar la forma de reducir este tipo de pérdidas, ya que se obtiene una información muy detallada de las zonas

Figura 1. Simulación numérica de un tanque de cultivo para favorecer la acumulación de partículas en zonas bien localizadas (recirculación central) y evitar su deposición en el resto del tanque



donde se producen y con una cierta experiencia es posible prever qué modificaciones conviene realizar en los sistemas de impulsión o en la geometría del tanque.

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se muestra el resultado de una simulación realizada con este fin. Para ahorrar tiempo de computación se ha simulado solo la mitad del tanque, en este caso de tipo *carrusel*. La longitud de los vectores indica la velocidad del agua en ese punto. Se observa la formación de una zona central de recirculación y baja velocidad, impuesta principalmente por la geometría del borde interno del tanque y por el deflector. Este diseño se ha probado a escala real en laboratorio, donde se midieron los perfiles de velocidad en las secciones más representativas del tanque, con una excelente concordancia de los datos experimentales y numéricos. También se estudió el comportamiento de partículas de pienso de diverso tamaño, comprobando que se depositaban en las zonas previstas para su posterior extracción.

En definitiva, el desarrollo de métodos numéricos para simular el flujo en aguas poco profundas permite, junto con la experiencia acumulada en este campo, la mejora en los diseños de tanques para la producción de peces y crustáceos. Las principales ventajas que pueden obtenerse de un diseño hidrodinámico eficiente del tanque son: la reducción del consumo energético relacionado con la impulsión del flujo, el control y eliminación de fenómenos no deseables en el patrón de flujo (tales como las recirculaciones incontroladas y otras pérdidas hidráulicas localizadas), la optimización de los sistemas de oxigenación, la concentración controlada de residuos sólidos para facilitar su extracción y la dispersión efectiva y uniforme de nutrientes para aprovechar al máximo el volumen del tanque y el favorecer el desarrollo correcto de todo el cultivo.

Bibliografía

Dávila J., Gutiérrez-Rubio D. 2004. Análisis del flujo, sedimentación y dispersión de partículas en tanques de producción de peces y crustáceos. *Acuicultura, pesca y marisqueo en el Golfo de Cádiz*. Editado por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, Libro-CD, «Agua del Pino».

Crecimiento de *Ruditapes decussatus* y *Ruditapes philippinarum* en las bahías del Delta del Ebro: Influencia de la temperatura y el sistema de cultivo

M. Delgado¹, J. Pérez-Larruscain², D. Furones², J. I. Gairin²

¹ Centro Oceanográfico de Cádiz (IEO). Muelle de Levante s/n, P.O. Box 2609 E-11006 Cádiz (Spain).
E-mail: marina.delgado@cd.ieo.es

² IRTA. Sant Carles de la Ràpita. Ctra. de Poble Nou, km 5,5. E-43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona, Spain)

Abstract

In order to study the viability of pre-fattening phase of culture of clams (*R. decussatus* and *R. philippinarum*) in the bays of Ebro's Delta, two culture systems were hang of mussel culture raft in April 2007 until November 2007. Growth, biomass, mortality were studied along this period where environmental conditions in the bays are extreme. «Oyster trays» presents clear advantages comparing to «oyster bags» as culture system. Both species showed three different phases of growth along the culture period. An initial phase with high growth rates during the first months (May-June) coinciding with temperatures around 20°C and chl-*a* peaks. An intermediate phase with lack of growth between days 60 and 122 (July-August) when temperatures regimes is higher (> 25°C), low values of chl-*a* and drops of dissolved oxygen concentrations were registered. Appropriate environmental conditions (temperature decrease (< 25°C) and chl-*a* levels increase) since September cause a new positive growth phase. *R. philippinarum* culture in Alfacs bay presents better results in terms of length growth and biomass production than in Fangar bay.

Justificación

Se han realizado diversas experiencias de preengorde en cestos y pochones en las dos bahías del Delta del Ebro. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las posibilidades de la intensificación del cultivo (antes de la fase de engorde) de almejas, *R. decussatus* y *R. philippinarum*, en las bahías del delta. Este trabajo se ha centrado en evaluar los diferentes sistemas de cultivo y, sobre todo, la tolerancia de estas especies a los factores ambientales extremos que experimentan las bahías durante el verano. Éstas (Bahía de Alfacs y del Fangar) sufren grandes variaciones de los parámetros físico-químicos a lo largo del año debido a la dimensión de las mismas (12 y 50 km², respectivamente, y una profundidad máxima de 6 m).

Material y Métodos

Se compraron semillas de *R. decussatus* y *R. philippinarum* a un criadero comercial de Cantabria (España). Éstas llegaron el 24 de abril de 2007 y fueron distribuidas en las dos bahías del Delta del Ebro y en dos sistemas [cestos (A) y pochones (B)]. El experimento duró hasta el 13 de noviembre (205 días).

Se midieron los valores de temperatura (°C), oxígeno disuelto, clorofila-*a* (chl-*a*) y la salinidad semanalmente, tanto a 2 m de profundidad como en superficie. La densidad inicial fue 2 kg/m² para todos los casos. En los días 0, 30, 60, 122, 177 y 205 del ensayo se midió la biomasa total y la longitud de 100 almejas tomadas al azar de cada conjunto experimental. La tasa de crecimiento instantáneo (K) se calculó utilizando la fórmula: $K = (\ln Z_t + 1 - \ln Z_i) / t_2 - t_1$, donde: $Z_t + 1$ es la media de la concha (mm) del período en curso; Z_i es la longitud de la concha del período anterior; $t_2 - t_1$ es el tiempo entre los muestreos (días) (Malouf y Bricej, 1989).

Las comparaciones entre los sistemas de cultivo y toma de muestras (días) se realizaron mediante la prueba de t (T) y ANOVA. La homogeneidad de las diferencias fue probada por la prueba de Cochran (Snedecor y Cochran, 1984). En los casos en que la homogeneidad no fue lograda después de la transformación logarítmica, se usaron el método de W-Mann-Whitney (W) y las pruebas de Kruskal-Wallis. Las regresiones del plazo de duración se calcularon por comparación y por el análisis de covarianza (ANCOVA) entre las bahías (Snedecor y Cochran, 1984).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos muestran el cultivo en cestos como el sistema más productivo. Algunos autores han demostrado la eficacia de los cestos y de los pochones (Cerviño *et al.*, 2005; García y Cerviño, 2007).

El verano es una temporada estresante al registrar temperaturas superiores a los 25°C, bajos niveles de chl-*a*, valores de oxígeno disuelto mínimos y oscilaciones de la salinidad. Los factores ambientales más importantes durante el crecimiento de los bivalvos son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Bay-

ne *et al.*, 1989; Albentosa *et al.*, 1996). Nuestros datos, sin embargo, no permiten establecer una clara correlación estadística entre el incremento de longitud y las variables ambientales, probablemente debido a la amplia gama de parámetros ambientales en todo el ciclo de crecimiento, hecho también registrado por Ramón *et al.* (2007) para *Mytilus galloprovincialis* en la bahía del Fangar. Sin embargo, podemos describir, para ambas especies, tres distintas fases de crecimiento a lo largo del período de cultivo. Una fase inicial con altas tasas de crecimiento durante los primeros meses (mayo-junio). Una fase intermedia con sin crecimiento entre los días 60 y 122 (julio-agosto), y una fase final de reactivación del crecimiento desde el día 122 (septiembre). La primera fase coincide con temperaturas en torno a 20°C (temperatura adecuada para el cultivo de estas especies, Pérez-Camacho, 1987) y un pico de chl-a. Durante el verano (julio y agosto) los regímenes de altas temperaturas (> 25°C), los bajos valores de chl-a y una baja concentración de oxígeno disuelto probablemente provocaron un menor crecimiento. Desde mediados de septiembre vuelven a darse condiciones ambientales adecuadas (temperatura (< 25°C) y aumento de los niveles chl-a) lo que da lugar a una nueva fase de crecimiento positivo.

BAgradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Plan Nacional «Desarrollo de la tecnología de producción y cultivo de almejas» de JACUMAR. Queremos agradecer la ayuda técnica prestada a todo el personal de apoyo del IRTA-Sant Carles de la Ràpita, especialmente a Esther Damaso y Sandra Molas por su inestimable ayuda.

ibliografía

- Albentosa M., Pérez-Camacho A., Beiras R. 1996. The effect of food concentration on scope for growth and growth performance of *Ruditapes decussatus* (L.) seed reared in an open-flow system. *Aquacult Nutr* 2, 213-220.
- Bayne B.L., Hawkins A.J.S., Navarro E., *et al.* 1989. The effects of seston concentration on feeding, digestion and growth in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar Ecol Prog Ser* 55, 47-54.
- Cervião A., García A., De Coó A. 2005a. Resultados de preengorde de almeja fina, *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758), en diversos sistemas en las Rías Bajas de Galicia. In: UPV (ed.) X Congreso Nacional de Acuicultura, Valencia (Spain), October 2005, vol. II, pp. 598-599.
- Cervião A., García A., De Coó A. 2005b. El preengorde de la almeja japonesa, *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850), en diversos sistemas de cultivo de las Rías Bajas y litoral de Galicia. In: UPV (ed.) X Congreso Nacional de Acuicultura, Valencia (Spain), October 2005, vol. II, pp. 600-601.
- Malouf R.E., Bricelj V.M. 1989. Comparative biology of clams: environmental tolerances, feeding, and growth. In: Manzi J.J., Castagna M. (eds.). *Clam Mariculture in North America*. Elsevier, Amsterdam, pp. 23-73.
- Pérez-Camacho A., Cuña M. 1987. Experimental culture of *Venerupis decussatus* and *Ruditapes philippinarum*. *Cuad Marisq* 12, 353-358.
- Ramón M., Fernández M., Galimany E. 2007. Development of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) seed form two different origins in a semi-enclosed Mediterranean Bay (N.E. Spain). *Aquaculture* 264(1-4), 148-159.
- Snedecor G.W., Cochran W.G. 1980. *Métodos estadísticos*. Cía Ed. Continental, Buenos Aires.

Estudio sobre el marisqueo a pie de moluscos bivalvos en la Bahía de Cádiz

M. Fernández, M.M. Lara y J.C. Macías

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012, Sevilla. Correo electrónico: mflora@dap.es

Abstract

Bivalve shellfish exploitation is a professional practice with great tradition in the Bay of Cadiz that develops in the intertidal zones which are characterized by an intricate network of tidal channels, and salt marshes. Specifically, the shellfish collection activity is found in three production areas type B.

In this context, the Consejería de Agricultura y Pesca, developed a project to study on one hand the required improvements in order to organize and regulate the collection sector according to its production, as well as the scope and availability of species and extraction volumes. On the other hand, by updating and organization of a productive network that generates wealth through the integration of the activity in the marketing of fishery products in the Bay of Cadiz in order to professionalize the activity. All information gathered was analyzed and generated in a GIS (Geographic Information Systems) as a tool for the synthesis of the current status of the shellfish, detailing factors such as real production surface for shellfish production within the areas of production, and shellfish collection effort detected.

Justificación

El marisqueo a pie de bivalvos en la Bahía de Cádiz, es una práctica profesional con gran tradición que se desarrolla en las zonas intermareales caracterizadas por una intrincada red de caños, marismas y salinas, y que están clasificadas desde el punto de vista sanitario como zonas de producción tipo B (AND1-14, AND1-15 y AND1-16). No obstante, y aunque se gestionan a partir de las correspondientes licencias de marisqueo, es necesario disponer de un mayor nivel de información sobre la actividad, las especies, las épocas, la depuración, la comercialización, etc, para mejorar la gestión de la actividad.

En este contexto, la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, desarrolló entre 2007-2008 un proyecto denominado «Actuaciones de apoyo al sector del marisqueo tradicional en la provincia de Cádiz: Situación actual y opciones de desarrollo», cuya finalidad era estudiar las mejoras necesarias se dimensionamiento, organización, ámbito de actuación y la disponibilidad de especies y volumen de extracción.

Material y Método

La metodología empleada se ha basado en un diagnóstico real y actual del marisqueo tradicional desarrollado, mediante la recopilación de información en tres bloques de trabajo:

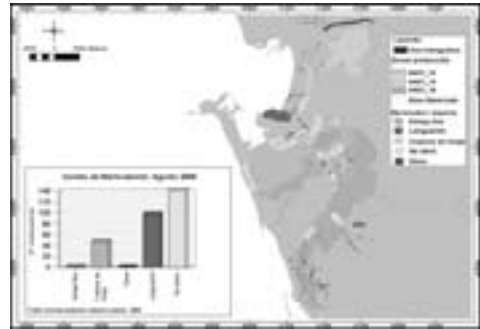
1. *Regulación actual del marisqueo a pie en la Bahía de Cádiz*: Relativa al nº de mariscadores censados, legislación en materia de pesca y salud, localización de las zonas por especies explotadas, otras actividades y/o usos administrativos que se desarrollan en las zonas de producción etc., mediante la visita a los distintos agentes implicados (Administraciones Públicas, centros de expedición/depuración, sector marisquero...).
2. *La actividad extractiva y la comercialización del molusco*: Relativa a trabajos de campo y observación directa (conteo de mariscadores y especies) de la actividad marisquera a pié en cada zona de producción. Los trabajos se realizaron en la franja intermareal comprendida en el nivel de bajamar de mareas vivas en horario de mañana, y al menos una hora antes y otra después de la bajamar. Para obtener información sobre los canales de comercialización se realizó un seguimiento, mediante visitas, en los mercados principales y puestos ambulantes adyacentes para obtener datos sobre procedencia y precios.
3. *Depuración y control sanitario*: Relativos al registro facilitados por el centro de depuración / expedición localizado en el ámbito de estudio, sobre la depuración del bivalvo; los referidos al control sanitario del molusco en la zonas de producción han sido facilitados por el Laboratorio de Control de Calidad de los Recursos Pesqueros (L.C.C.RR.PP.) y por la Delegación Provincial de Agricultura y Pesca de Cádiz y que se han integrado en una Base de Datos.

En relación a las zonas de producción del bivalvo, se describieron determinados aspectos de la caracterización ambiental de cada una, desde el punto de vista hidrológico y de protección medio ambiental.

Toda la información recopilada y generada se analizó en un SIG (Sistemas de Información Geográfica) como herramienta de síntesis de la situación actual del marisqueo, considerándose además, el área total de

Figura 1. *Ámbito de estudio*

Figura 2.



cada zona de producción en las que no existe incompatibilidad de usos o actividad en ese mismo espacio identificándose el grado de afectación que sufre cada una de estas .

Resultados y Discusión

Respecto a la regulación actual del marisqueo en la zona, para desempeñar la actividad es necesario disponer de una licencia, que la otorga la Consejería de Agricultura y Pesca, según lo dispuesto en la *Orden de 24 de septiembre de 2008, por la que se regula la obtención, renovación y utilización de los carnés profesionales de marisqueo a pie en el litoral de la Comunidad Autónoma de Andalucía*. Así, hasta septiembre de 2008, el número de carnés emitidos para la provincia era de aproximadamente 250.

Por otro lado, se caracterizó la distribución espacial del esfuerzo de la actividad marisquera en la Bahía de Cádiz, detectándose una mayor presencia de mariscadores en la época estival, siendo el longueirón (*Solen spp*) mediante la utilización de muerguera y la coquina de fango (*Scrobicularia plana*) utilizando cuchara, las dos especies principales objeto del marisqueo.

En relación a la comercialización del bivalvo, predominan especies que se encuentran de forma autóctona en la Bahía de Cádiz, como almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*), ostión (*Crassostrea angulata/C. Gigas*) y el longueirón (*Solen spp*), y en menor medida almeja fina (*Ruditapes decussatus*) y berberecho (*Cerastoderma edule*). Aún así, se ha constatado que la procedencia de estas especies son países como Portugal, Italia y Marruecos; y que por tanto, los productos autóctonos son reemplazados con las mismas especies de otros destinos.

Considerando la información estudiada se puede concluir que el sector marisquero de a pie en el ámbito de estudio, es un sector con muchas carencias en el conocimiento y organización del desarrollo integral de la actividad. Por ello y en relación a los tres procesos principales de la actividad marisquera, (extractivo, depuración y comercialización), se han elaborado una serie de propuestas de actuación para la mejora de la gestión y regulación de la actividad marisquera basadas en un profundo trabajo de síntesis, tras el análisis realizado. Se trata de un conjunto de medidas individualizadas que podrían a medio-largo plazo, encaminarse para que en un futuro se pudiesen establecer planes de explotación por especies, propuestas de recolección por agrupaciones marisqueras en zonas concretas de producción, medidas que fomenten y controlen la obligatoriedad de depurar las especies y que creen un tejido empresarial para la comercialización de los productos marisqueros de la Bahía de Cádiz, permitiendo la incorporación de estos a los flujos comerciales normalizados de los productos pesqueros.

Agradecimientos

A todas las entidades que han participado y colaborado en el proyecto.

Bibliografía

Centro de Investigaciones Mariñas. XI Congreso Nacional de Acuicultura. 2007. El marisqueo: razones para la supervivencia de una actividad artesanal.

Estudio de barreras y propuestas de escalas de peces para las barreras transversales en el río Guadiamar, en el tramo comprendido entre el nacimiento hasta la confluencia con el río Agrio

R. García Díaz y F. Torrent Bravo

Departamento Ingeniería Forestal. ETSI de Montes. UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid.
E-mail: ricardo.garcia@upm.es ;fernando.torrent@upm.es

Abstract

In this communication we are presenting a list of the main barriers affecting the fish survival in summer time and the fish migration in the upper part of Guardamar river. We are presenting the solutions adopted to improve the fish ecosystem within this river. We described the different solutions and actions taken to allow a better fish survival and the different fish ladders models proposed. The different models have been studied, presenting the main advantages and disadvantages within the different models

Introducción

Entre los principales factores de amenaza para la supervivencia de los peces fluviales de España, además de la contaminación del agua, existe el problema generado por la construcción de presas y obstáculos de todo tipo en los cauces de los ríos (Elvira, 1996).

La existencia de una barrera impide los movimientos de dispersión y colonización, así como los propiamente migratorios. Como consecuencia del establecimiento de estos obstáculos se llega a producir el fraccionamiento de las poblaciones holobióticas o la pérdida de territorio fluvial de los migradores diadromos (Nicola *et al.*, 1996). Consecuentemente los ríos deben de ser franqueables, situación bastante improbable en la mayoría de los ríos españoles, por este motivo se debe de actuar para recuperar la franqueabilidad.

El río Guadiamar sufre sequía estival, durante tres o cuatro meses el río queda reducido a algunas charcas en número y de mayor o menor tamaño dependiendo del año hidrológico. Si bien esta sequía es parte del ciclo natural, actualmente debido a las extracciones de agua principalmente usadas para el riego, la sequía es más intensa y por lo tanto las mortandades de peces es mayor. Esta circunstancia condiciona a que en algunos casos la actuación elegida implica que se mantenga una lámina de agua, es decir si existe una olición de la barrera. De esta manera se consigue crear pequeñas lagunas o charcas en las que se consigue sobrevivir un gran número de peces.

Método

Las fases que comprende el trabajo se enumeran a continuación:

- Estudio biológico de la especies existentes o que existieron o que pudieran existir.
- Detección de las potenciales barreras por medio de fotografías aéreas.
- Visita de campo, en la cual se confirma la existencia de la barrera.
- Se recogen los datos necesarios.
- Estudio de caudales. En cada una de las barreras determinando el caudal de calculo de la barrera, con mayor indicación del caudal durante el periodo de Reproducción, y el caudal para un periodo de retorno de 100 años.
- Selección de la escala más adecuada, con todos los datos anteriores.

Resultados

Las barreras encontradas fueron de los siguientes tipos, la clasificación de las escalas es la desarrollada por Larinier (2002) y FAO, DVWK, (2002):

1. Badén de carretera con salto de agua al final del mismo. En esta barrera se producen dos tipos de barreras, uno primero consistente en velocidad superior en la propia solera del puente y/o una disminución del calado por debajo del admisible, en concreto inferior a 1,5 veces la altura del pez, la segunda barrera se produce por la existencia de un salto de agua al final de la solera.

2. Solera de puentes. También en este caso se pueden producir los dos tipos de barreras descritos en el punto anterior.
3. Azud o presa. Este tipo de barrera suele ser el más frecuente. La existencia de un azud genera una barrera. La altura de los azudes varían desde 0,5 hasta 5 m, consecuentemente la solución al mismo será distinta. En algunos casos los azudes se encuentran en ruina.
4. Estación de aforo. La estación de aforo genera dos puntos de barreras, el primero se encuentra en el llamado canal sensible, es decir en el canal central de pequeña anchura, donde se concentra las aguas en los caudales pequeños. La segunda barrera se genera en el salto de agua existente al final del canal sensible.

Las actuaciones seleccionadas para recuperar la franqueabilidad se exponen a continuación:

1. Demolición. Se ha optado por esta actuación en el caso de un azud en desuso.
2. By pass. Es decir derivación, y se realizará por medio de una escala rústica de estanques de piedras.
3. Escala de artesas sucesivas. Es la escala más utilizada y más estudiada, por lo tanto presenta un alto grado de eficacia y de funcionamiento. Esta escala se aplicará en el azud con mayor altura (4,5 m). De los tres tipos existentes se ha optado por la escala de orificio con vertedero lateral sumergido.
4. Escala rústica de estanques de piedra. Este es el tipo de escala más utilizada en el presente trabajo. Esto es debido a que esta escala de piedras se integra más en el paisaje, utilizando materiales más naturales favorece el tránsito no solo de los peces sino también de parte del bentos. Otra razón por lo que se ha elegido en bastantes ocasiones es que se puede diseñar de tal forma que sea válida para gran parte de caudales de tal forma que cuando se producen caudales grandes, gran parte del agua sobrepasa por encima de la escala. Esta escala es la elegida en los saltos de agua de la estación de aforo, azudes, en los saltos al final de los badenes o soleras de puentes.
5. Deflectores. Los deflectores consisten en elementos ortogonales que situados en dirección transversal u oblicua a la dirección del flujo, de tal forma que produzca concentración del mismo y disminuya la velocidad. Estos dispositivos se colocarán en la barrera producida en la solera de uno de los puentes.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a D. Javier Serrano Aguilar Comisario de la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir y a D. Miguel Ángel Fernández Fernández por el apoyo y confianza prestados en la realización del estudio en el que se ha basado el presente estudio.

Bibliografía

- Elvira B. 1996. Endangered freshwater fish of Spain. Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe. Kirchofer A., Hefti D. (eds). Birkhäuser Verlag, Base. pp. 55-61.
- Elvira B., et al. 1996. Impacto de las obras hidráulicas en la ictiofauna. Dispositivos de pasos para peces en las presas de España. Madrid. Edita Organismos Autónomos Parques Nacionales (Ministerio de Medio Ambiente). pp. 32-33.
- FAO, DVWK (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2002. Fish passes-Design dimensions and monitoring 116 pp. Roma.
- Larinier M. 2002. Fishways: biological basis, design criteria and monitoring. Chapter 5 pool fishways, prebarrages and natural bypass channels. Ed. *Bulletin Français de la pêche et de la Pisciculture* 364, 51-82.
- Nicola G.G., Elvira B., Almodóvar A. 1996. Dams and fish passage facilities in the large rivers of Spain: effects on migratory species. *Archive für Hydrobiologie* 11 (10), 375-379.

Patrones de fijación de semilla de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en colectores en la costa surmediterránea de Andalucía

P. León, P. Ávila, A. Guerrero, A. Ibáñez, M. M. Agraso y J.C. Macías

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. Correo electrónico: pileon@dap.es

Abstract

The growing interest for the culture of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in Andalucía, and the need for seed supplying makes necessary to study mussel settlement in order to identify patterns of recruitment. Mussel spat-collecting ropes were placed at three sites (La Línea de la Concepción, Marbella, and Caleta de Vélez) and at three different depths (2, 6 and 10 meters). The abundance of mussels within three size classes (< 0.5, 0.5-1, and > 1 mm in shell length) was recorded monthly between May 2008 and July 2009. Settlement showed a strong spatial variability regarding the situation of the mussel farms and the depth. Settlement events were detected at the end of spring and extended until mid summer at all locations, but with an increasing intensity eastwards. While in Caleta de Vélez the settlement was higher at 10 meters, mussels were more abundant at surface levels in Marbella. At both locations higher abundance of small mussels (< 0.5 mm) was found. No settlement was observed at La Línea de la Concepción. To our knowledge, it is the first time that the recruitment of mussel on artificial collectors in the Andalusian shore is carried out.

Justificación

El suministro de semilla de mejillón es un aspecto crítico para el desarrollo de la industria mejillonera. Si bien se han realizado estudios previos sobre la presencia de semilla en la costa andaluza (Tirado y Macías, 2006), el carácter limitante de la disponibilidad de semilla junto con el crecimiento de esta industria en Andalucía hacen necesario el estudio de los patrones de fijación de semilla en colectores.

Con el fin de profundizar en el conocimiento de estos aspectos de interés para el desarrollo del cultivo del mejillón en Andalucía, la Consejería de Agricultura y Pesca a través de su Empresa Pública ha desarrollado una línea de trabajo específica al respecto, la cual ha sido financiada por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino en el marco del Plan Nacional de cultivos marinos JACUMAR «Cultivo de mejillón: Expansión y sostenibilidad» (2007-2009).

Material y Métodos

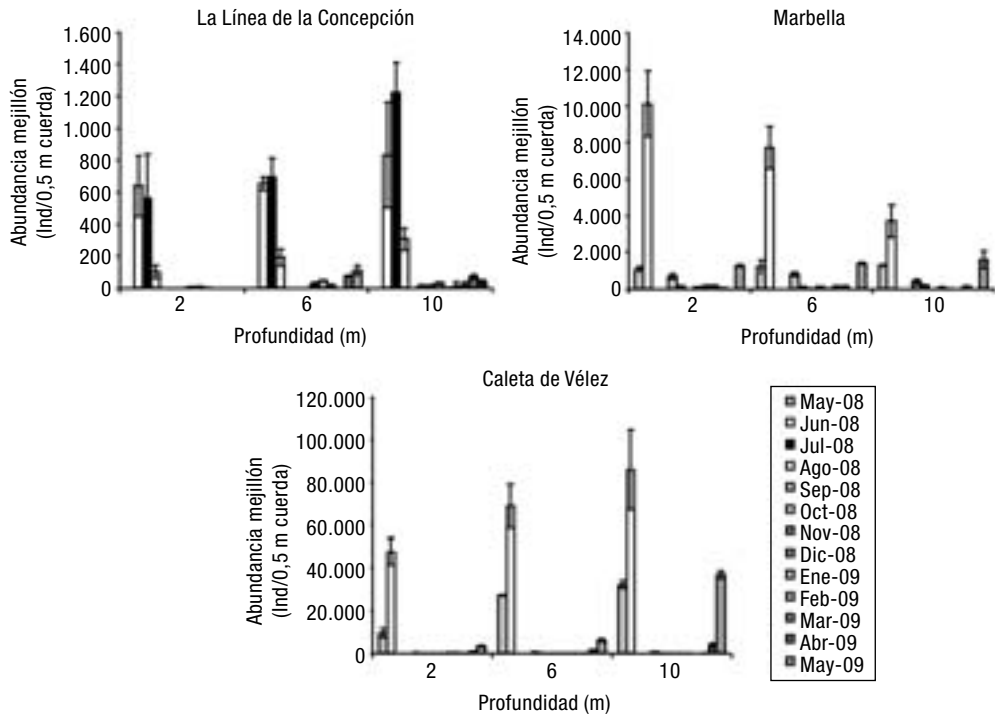
El patrón de fijación de semilla ha sido estudiado mediante el fondeo de fragmentos de 0.5 metros de cuerda de producción a tres profundidades (2, 6 y 10 metros) en tres instalaciones de cultivo, situadas en La Línea de la Concepción (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga). Dichos fragmentos fueron fondeados mensualmente entre mayo de 2008 y julio de 2009, y muestreados con una periodicidad bimensual, con el fin de permitir tiempo suficiente para detectar un posible episodio de fijación de semilla. Una vez transportadas al laboratorio las muestras se congelaron hasta su análisis. Posteriormente se procedió a la cuantificación con lupa de la abundancia de semilla en tres clases de tamaño (< 0,5, 0,5-1, > 1 mm).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto fijación de semilla a finales de la primavera y comienzos de verano en 2008 y 2009, en las tres instalaciones estudiadas (Fig. 1). La fijación fue mucho más abundante en Caleta de Vélez, especialmente en el mes de junio de 2008, mientras que en Marbella y La Línea de la Concepción la intensidad de estos episodios fue menor. Asimismo, se observa (Fig. 1) un patrón de fijación con la profundidad en Caleta de Vélez y Marbella. En Caleta se observó una fijación significativamente mayor ($P < 0.001$) en profundidad, mientras en Marbella fue más abundante en superficie ($P < 0,001$).

Las fracciones de tamaño analizadas muestran este patrón espacial. En las tres zonas la fracción dominante fue la más pequeña, con un ligero aumento de la talla predominante a lo largo del episodio de fijación.

El patrón temporal de fijación descrito es coherente con el observado en 2007 en colectores de pectínidos fondeados en las tres instalaciones. Asimismo concuerda con los periodos de puesta en estas zonas (Tirado y Macías, 2006), y con los ciclos biológicos que establecen un periodo de desarrollo larvario previo a la fijación de entre tres y ocho semanas (Seed, 1976; Cáceres-Martínez y Figueras, 1998). El patrón observado en profundidad parece estar fuertemente determinado por la distancia al fondo, así como por la acuada hidrodinámica presente en cada una de las instalaciones.

Figura 1. Abundancia media de mejillones fijados en cuerdas colectoras a tres profundidades**Agradecimientos**

A las empresas de cultivo de mejillón Cultivos Marinos de Andalucía, S.L. y Pescados y Mariscos Mar de La Línea, S.L. por su participación en el proyecto.

Bibliografía

- Cáceres-Martínez J., Figueras, A. 1998. Distribution and abundance of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae and post-larvae in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 229, 277-287.
- Seed R. 1976. Ecology. In: Bayne B.L. (ed), *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 13-65.
- Tirado C, Macías J.C. 2006. Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. 176 pp.

Acuicultura en mar abierto: del proyecto a la realidad

J. Carlos Macías¹, Francisco Padilla², J. Ramón Texeira¹ y Diego Gil²

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla .E-mail: jcmacias@dap.es

² DYDMAR Departamento de Acuicultura. Cofradía de Pescadores de Conil de la Frontera.

Abstract

Over the past few years (since 2002), from the Regional Government has been carrying out a series of projects and research promoted by the Regional Ministry and addressed to the development of marine aquaculture in Andalusia. Amongst the work that we carry out we can highlight the experimental projects in order to test new technology (offshore aquaculture) and new sites in open ocean.

Offshore aquaculture experiences in Andalusia, which have been divided into three linked stages: the first stage started in 2000, and it was mainly dedicated to technology testing; the second stage started in 2003, and was addressed on the testing of new aquaculture species using the aquaculture facilities that we already have; and the third stage, at which where we are right now, is the transfer of technology to the sector and farming with a final objective of 200 tons of fishes and 160 tons of shellfish.

Justificación

La acuicultura en mar abierto es una actividad con gran potencial de desarrollo en las costas españolas, ya que esta modalidad representa una alternativa a la problemática asociada a la confluencia de intereses sobre las zonas costeras que implican limitaciones de espacio para la producción acuícola.

En este marco, en el año 2000 la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, apoyada por otros organismos, decidió promover y cofinanciar una serie de proyectos experimentales destinados a evaluar técnicamente estas posibilidades en la zona sur atlántica andaluza. La experiencia adquirida fue posteriormente transferida a la Cofradía de Pescadores de Conil, quien en varios años ha lanzado un proyecto productivo de acuicultura integrada en mar abierto pionero en el sur de Europa.

Material y Métodos

Las experiencias de la fase de investigación (2001-2006) se dividieron en dos etapas. En la primera de ellas (2001-2003), desarrollada frente a Rota (Cádiz, Spain) a más de 5 millas de la costa, y cuyo objetivo fue testar la resistencia a las condiciones oceanográficas de diferentes sistemas de cultivo: tipo Corelsa[®] o de gravedad, tipo Refa[®] o auto sumergible y tipo Ocean Spar[®] o de flotabilidad controlada. En la segunda etapa (2004-2006) el objetivo fue realizar experiencias piloto de cultivo de varias especies tanto de peces como de moluscos y cuantificar sus parámetros biológicos de crecimiento. Se desarrolló a más de 4 millas al suroeste de Conil (Cádiz, Spain), y se utilizaron además de los sistemas ya probados, otros sistemas de cultivo de moluscos en long-lines. La zona elegida se caracteriza por duras condiciones oceanográficas (en una zona de alta energía, fuertes corrientes, vientos frecuentes y gran oleaje).

Después de la segunda etapa de investigación, se diseñó un proyecto de transferencia tecnológica que finalmente se dirigió a una organización del sector pesquero (Cofradía de Pescadores de Conil) y cuyos criterios básicos fueron la sostenibilidad técnica-económica y comercial. Actualmente, y después del desarrollo de dos proyectos productivos por parte de esta Cofradía, en el polígono donde se desarrolló la segunda etapa de investigación, se producen unas 200 toneladas de peces en jaulas semi-sumergidas de 3000 m³ (Tipo Ocean Spar[®]), y 160 toneladas de moluscos en long-lines de diseño propio.

Figura 1. Distribución del polígono de cultivo

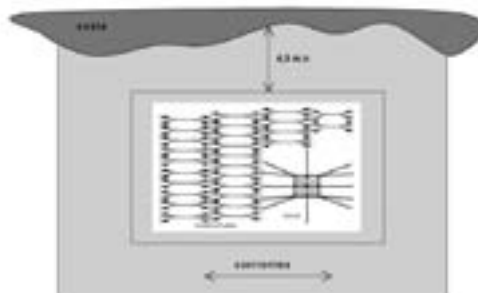


Tabla 1. Tipología y clasificación de acuicultura realizada en mar

Área geográfica	Tipo de acuicultura	Principales características					
		Distancia a costa	Altura de oleaje	Calidad de agua	Riesgos meteorológicos frecuencia	Interferencias de uso	Manejo, operatividad y logística
Mar	Inshore (zonas semicerradas)	0,1-3 m.n	< 1 m	Media	Escasos/baja	Alta	Bueno
	Onshore (cerca de la costa)	0,5-1,5 m.n	1-2	Media-buena	Elevados/baja	Media-alta	Medio
	Offshore (mar abierto)	Aprox. 3 m.n	2 a 4 metros	Buena-excelente	Muy elevados/media	Muy baja	Necesidad tecnológica y personal cualificado
Océano	Open Ocean (oceánica)	> 4 m.n	Mayor de 4 metros	Excelente	Muy elevados/alta	Muy baja	Alta necesidad tecnológica y personal cualificado

Para el desarrollo de la actividad productiva, la Cofradía cuenta además de las instalaciones de cultivo con una nave de apoyo en tierra, una embarcación de 16 metros de eslora y 6,5 metros de manga dotada de todo el equipamiento necesario para la alimentación automatizada, mantenimiento, despesques y manejo de sistemas de cultivo.

Resultados y Discusión

Tras seis años de investigación y desarrollo de proyectos se ha adquirido gran experiencia tanto a nivel productivo como a nivel de gestión de la acuicultura en mar abierto, y entre otros aspectos ha permitido caracterizar los distintos tipos de acuicultura en función de la zona donde se ubican. Este aspecto es una de las demandas o necesidades del sector a nivel europeo como reconoce la EATP.

A nivel productivo, los resultados de estas experiencias han permitido el lanzamiento de una actividad productiva pionera tanto por su situación como por su gestión por parte de una organización del sector pesquero, con un importante nivel tecnológico y una producción de alta calidad. La transferencia de *know-how* a la Cofradía de Pescadores de Conil ha permitido la obtención de una producción de 70 toneladas de peces y 25 toneladas de moluscos en el año 2008.

La alimentación se realiza mediante un sistema de tubos conectados a un punto central que permite alimentar las cuatro jaulas de forma simultánea desde una bomba situada en la cubierta del barco, reduciéndose la interacción barco-jaula y como consecuencia el estrés de los peces. Las jaulas cuentan además con un sistema de cámaras sumergidas que permiten vigilar y detectar comportamientos anómalos durante el proceso de alimentación a través de un monitor ubicado en las dependencias del barco.

Para realizar las pescas dispone de una bomba aspiradora de peces que se conecta a la jaula mediante un sistema de tubos flexibles, gomas, racores y accesorios y que genera un rendimiento medio de 200 kg/min. Mientras, para la cosecha de los moluscos el barco dispone de una grúa en la popa con la cual se suben a bordo las cestillas que son transportadas directamente a puerto para su manipulación y comercialización.

En lo que respecta a datos de cultivo, los resultados más destacados son un incremento de la densidad de cultivo de peces a 30 kg/m³, aumento del índice de conversión, disminución del periodo de engorde de peces respecto a la zona mediterránea (de 5 a 350 gr en 12-16 meses) y descenso de la mortalidad. En moluscos, se obtienen periodo de engorde de 10-12 meses.

Agradecimientos

Departamento de Acuicultura. Cofradía de Pescadores Conil de la Frontera.

Bibliografía

Basurco B. 2001. Status of marine fish farming in Mediterranean Aquaculture. The Offshore Alternative. CIHEAM.

Análisis del sector de la piscicultura marina en mar abierto en el Mediterráneo oriental. I. Parámetros descriptivos

O. Vallejo¹, V. Estruch² y M. Jover¹

¹ Grupo de Investigación en Recursos Acuícolas. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia. e-mail: ovallsol@mixmail.com

² Instituto de Investigación para la Gestión Integrada de Zonas Costeras. Universidad Politécnica de Valencia. Paranimf, 1. 46730 Gandia. Valencia

Abstract

This study describes the actual state of the fish farming in cages in the Mediterranean, from a productive, technologic, structural and functional point of view.

Justificación

Este trabajo descriptivo pretende analizar el estado del subsector acuícola más relevante en el Mediterráneo oriental, la producción de doradas y lubinas en corrales o viveros marinos, desde un punto de vista productivo, tecnológico, estructural y funcional. En este primer, análisis se pretende caracterizar las empresas en función de su volumen de producción, estableciendo unos indicadores que permitan estimar el intervalo más efectivo.

Material y Métodos

Durante el período de 2006 se realizaron y cumplimentaron una serie de cuestionarios de forma personal con el Gerente y/o Director Técnico de 10 granjas piscícolas en mar abierto, productoras de dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*D. labrax*), de las Comunidades Autónomas de Valencia y Cataluña, con producciones comprendidas entre 240 y 2.350 toneladas anuales. Los cuestionarios fueron divididos en los aspectos siguientes:

Aspectos Productivos/Tecnológicos. Contestados básicamente por el Director Técnico, hacen referencia principalmente a los parámetros zootécnicos y tecnología aplicada durante el proceso productivo.

Aspectos Estructurales. Generalmente analizados por el Gerente, hacen referencia a la estructura del personal, la I+D+i y los sistemas de calidad llevados a cabo en la empresa.

Resultados y Discusión

Las Tablas 1, 2 y 3 muestran los resultados (promedios), recogidos en los cuestionarios, para los parámetros tecnológicos, estructurales y productivos correspondientes a cada uno de los tres rangos de producción anual (toneladas) de las granjas marinas estudiadas (0-500 Tm/año, 500-1.000 Tm/año y > 1.000 Tm/año), y los valores medios globales.

El número de viveros, y por tanto el volumen de producción, se incrementa con el volumen de producción, y también el número de embarcaciones (Tabla 1). El 100% las granjas con una producción mayor de 1.000 toneladas cuentan con equipos para manejar y clasificar los peces, y tan solo cuentan con estos equipos

Tabla 1. Principales parámetros tecnológicos en función del volumen de producción

Tecnológicos	0-500 Tn	500-1.000 Tn	> 1.000 Tn	Media
Número de corrales o viveros marinos	15	23	27	21
Volumen de agua (m ³)	49.421	55.351	153.297	82.363
Número de catamaranes	1,25	1,5	2	1,5
Número de embarcaciones auxiliares	1	1,25	3	1,5
Número de cañones de alimentación	1,25	2,75	2	2
% granjas con clasificadora de peces	0	25	100	30
% granjas con bombas de transferencia peces	0	0	100	20
% granjas con sistemas de evaluación biomasa	25	75	50	50

Tabla 2. Principales parámetros estructurales en función del volumen de producción

Estructurales	0-500 Tn	500-1.000 Tn	> 1.000 Tn	Media
Número Total de Plantilla	19	26	34	25
Número de buzos	5	6,7	9	6,7
Número de patrones de barco	2,5	7,7	7	5,4
Número de alimentadores	0,8	3,3	5,3	2,9
Número de licenciados y/o ingenieros	2,5	2	7	3,2
Nº técnicos FP acuicultura	2,5	1,5	0	1,6
Nº personal sin formación en acuicultura	7,25	12	6	8,9
% granjas que realizan I+D+i	25	100	50	60
% granjas con sistemas calidad ISO 9001:2000	50	50	50	50
% granjas sistemas gestión ambiental ISO 14001	0	50	0	20
Número de personal dedicado I+D+i	0,25	2	2	1,3

Tabla 3. Principales parámetros productivos en función del volumen de producción

Productivos	0-500 Tn	500-1.000 Tn	> 1.000 Tn	Media
Producción media (Tm/año)	335	717	1.550	740
Peso (g) inicial dorada	10	19	7	13,45
Peso (g) inicial lubina	12	27	10	16,5
Densidad inicial (kg/m ³)	1,0	1,1	1,2	1,12
Densidad final (kg/m ³)	18	21	19	19,5
Peso (g) medio final de venta	420	465	450	444
Duración (meses) media del ciclo en dorada	17	16	17	16,55
Duración (meses) media del ciclo en lubina	18	15	20	17,66
% dispersión de tallas (< 300 g)	5,12	3,75	10	5,55
% dispersión de tallas (300-400 g)	38,5	27,5	30	32,4
% dispersión de tallas (400- 600 g)	40	50	45	45
% dispersión de tallas (> 600 g)	16,38	18,75	15	17,05
Índice de Conversión	1,86	1,92	1,95	1,9
% Supervivencia	85	91	86	87,5
Producción unitaria volumen (kg/m ³)	7	13	11	10
Producción unitaria personal (kg/pers)	19	29	51	31

el 25 % de las granjas intermedias y ninguna de las menores de 500 toneladas. Respecto a los sistemas de estimación de biomasa, son las intermedias las que más equipos disponen.

La media de trabajadores en las granjas es de 25, incrementándose el número de buzos, patrones y alimentadores con el volumen de producción (Tabla 2).

En la Tabla 3 se puede observar que las granjas intermedias, entre 500 y 1000 toneladas, tienden a comenzar el ciclo de producción con peces más grandes, lo que supone que el ciclo de producción sea más corto, y la proporción de individuos comerciales de talla 6 y la supervivencia sean mayores. El índice de conversión es mejor para las granjas pequeñas, debido a que la alimentación está más controlada. Se aprecia la economía de escala al aumentar el volumen de producción, pues la producción unitaria por persona es mayor para las granjas mayores de 1.000 toneladas, 51 toneladas por persona, mientras que la producción por unidad de volumen es mayor para las granjas intermedias, de 13 kg/m³.

Agradecimientos

A todas las empresas que desinteresadamente han hecho posible la realización de este trabajo.

Análisis del sector de la piscicultura marina en mar abierto en el Mediterráneo Oriental. II. Correlaciones estadísticas

O. Vallejo¹, V. Estruch² y M. Jover¹

¹ Grupo de Investigación en Recursos Acuícolas, Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia. e-mail: ovallsol@mixmail.com

² Instituto de Investigación para la Gestión Integrada de Zonas Costeras. Universidad Politécnica de Valencia. Paraninf, 1. 46730 Gandia. Valencia

Abstract

This study analyzes from a statistical point of view, the productive, technologic, structural and functional variables, obtained from interviews to technical directors of Mediterranean fish farming.

Justificación

Este estudio pretende determinar cuáles son las variables con mayor grado de correlación para ser utilizadas como base de cara al diseño de un modelo matemático y establecer, utilizando análisis de regresión múltiple, cuáles son las variables que aportan información válida para predecir la supervivencia, descartándose aquellas que aportan información redundante o que presentan multicolinealidad.

Material y Métodos

Durante 2006 se cumplimentaron una serie de cuestionarios a partir de la información aportada por Gerentes y/o Directores Técnicos de un porcentaje representativo de 10 granjas en mar abierto, productoras de dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*), de Valencia y Cataluña.

Utilizando el programa estadístico SPSS 12 se llevó a cabo un análisis exploratorio de las 196 variables obtenidas, mediante matrices de correlación de Pearson, que abarcaban desde la estructura del personal en función del volumen de producción a las correspondientes al desarrollo tecnológico empleado en cada granja marina, así como las variables productivas más representativas. Se realizó un análisis de regresión múltiple, mediante la técnica de pasos sucesivos, considerando como variable dependiente el porcentaje de supervivencia, y como variables independientes o explicativas las de carácter productivo, tecnológico y estructural. El análisis de indicadores para diagnosticar la colinealidad, como son el índice de condición de los valores propios de la matriz de varianzas-covarianzas (IC) o el factor de inflación de varianza (FIV), ha permitido la selección final de las variables regresoras.

Resultados y Discusión

Las variables correlacionadas de la Tabla 1, se muestran en dos grupos. El primer grupo con valores altos de correlación de Pearson, de 0,8 a 0,9, y el segundo grupo con valores muy altos de correlación, entre 0,9 y 1. El resto de variables, que han dado valores de correlación más bajos que 0,8, se han descartado.

Para las granjas marinas de dorada, Tabla 2, no se detecta multicolinealidad hasta la variable «peso inicial de alevines de dorada» la cual supera el valor de referencia 10 para el IC (14.54), por lo que las variables anteriores no estarían afectadas por la multicolinealidad.

Por lo tanto, podemos concluir que estas variables son las que aportan una mayor información para pre-

Tabla 1. Variables con un alto grado de correlación

Valores entre 0,8 y 0,9

- Producción anual de dorada (Tn) – Número de buzos (verano) = 0,83
- Producción anual de dorada (Tn) – Número de jaulas con diámetro de 50 m = 0,84
- Peso inicial (g) alevines de lubina – Supervivencia final (%) = 0,84
- Producción anual de lubina (Tn) – Duración media del ciclo (meses) de lubina = 0,85

Valores mayores de 0,9

- Producción anual de dorada (Tn) – Número de buzos (invierno) = 0,92
- Producción anual de dorada (Tn) – Consumo de pienso anual (Tn) = 0,96

Tabla 1. Variables introducidas pr el sistema en la regresión múltiple «paso a paso», con los valores del Índice de Condición para el diagnóstico de la multicolinealidad (IC)

Granjas marinas de dorada		Granjas marinas de lubina	
Variable	IC	Variable	IC
Tomas pienso/día verano (adultos)*	2,72	Peso inicial alevines lubina (g)*	1,99
Tomas pienso/día festivos verano (adultos)*	3,76	Nº de Manipuladores (invierno)*	3,24
Nº de Directores Técnicos*	6,98	Tomas pienso/día en invierno*	8,89
Meses de introducción de los lotes*	7,47	Nº de Manipuladores (verano)	15,96
Tomas pienso/día en invierno*	9,82	Tomas pienso/día verano (adultos)	
Peso inicial de alevines de dorada (g)	14,54	Nº de Técnicos CFGM (verano)	
Nº de clasificadoras de peces		Densidad final (kg/m ³)	
Tomas pienso/día festivos verano (alevines)		Nº de Directores Técnicos	
		Nº de Jefes de Planta (verano)	
		Profundidad al fondo (m)	

* Variables que no ven sus valores alterados por la multicolinealidad.

decir el valor del porcentaje de supervivencia, rechazándose el resto, para las cuales, además, el valor del FIV calculado ha indicado multicolinealidad severa.

Las variables significativas son de carácter básicamente productivo, y en concreto están dirigidas a la gestión de la alimentación y al tiempo de «siembra» de los alevines. También hay una variable de carácter funcional (Nº de Directores Técnicos) que estadísticamente influye, pero que en todas las granjas tiene el mismo valor (1).

Para las granjas marinas de lubina, Tabla 2 no se detecta multicolinealidad hasta la variable «Nº de manipuladores (verano)» que supera el valor de referencia 10 del IC (15.96), por lo que las variables anteriores no estarían afectadas por la multicolinealidad.

Se puede concluir, por lo tanto, que las variables indicadas son las que nos aportan una mayor información para predecir el valor del porcentaje de supervivencia, y que el resto de variables tendrían que ser rechazadas por introducir multicolinealidad.

Una vez más, las variables significativas son de carácter básicamente productivo, y en concreto están dirigidas a la gestión de la alimentación (Tomas pienso/día en invierno) y al peso inicial de «siembra» de los alevines. Respecto a la variable «Nº de Manipuladores (invierno)» aunque sea significativa desde un punto de vista estadístico, no cabe ser considerada, por sentido común, en cuanto a su relación con la realidad productiva, ya que los manipuladores manejan pescado ya muerto y, por lo tanto, existe relación directa con el porcentaje de supervivencia final.

Agradecimientos

A todas las empresas que desinteresadamente han hecho posible la realización de este trabajo.

Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón *Perna perna* en Fuerteventura. Fase inicial: Selección, diseño y montaje de sistemas en zonas expuestas (*SmartFarm*)

M.P. Viera¹, A. Bilbao², G. Courtois de Viçose¹, Y. Pérez², L. Aarab¹, A. Bilbao-Villena¹, R. Falcón², N. Pavón², H. Fernández-Palacios¹, L. Molina¹ y M.S. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35214. Telde. Las Palmas. Islas Canarias. mapi@iccm.rcanaria.es

² Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. C/ Subida al Mayorazgo, 26, portal B, 2º planta. Polig.Ind. El Mayorazgo. 38108 Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias. España

Abstract

In view of the depleted natural population of the Canarian mussel *Perna perna* L., mainly due to overfishing and a high demand on the local market, its culture, could be a further challenge for local aquaculture. Besides, there is a public interest in developing the culture techniques of this species to contribute to the recovery of wild populations. A pilot study assessing the feasibility of mussel culture on Norwegian SmartFarm system, at sea, has just started on the island of Fuerteventura (Canary Islands). The aim of this report is to describe the site selection process as well as the planning and the installation of this fully operational pilot scale SmartFarm system, pioneer in Spain.

Justificación

El mejillón *Perna perna* es un molusco con gran tradición marisquera en el Archipiélago Canario, principalmente en la isla de Fuerteventura donde, en las costas expuestas de barlovento, se encuentran las poblaciones más significativas. Sin embargo, la constatación de la preocupante situación del «mejillón majore-ro», fuertemente diezmada por la extracción furtiva, motivó, en el año 2004, la necesidad de establecer un período de veda para su extracción (*Orden de 16 de julio de 2004. BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004*) aún vigente.

El presente proyecto técnico, surge como iniciativa del Cabildo Insular de Fuerteventura, que además de intentar conseguir la recuperación de la especie, pretende también proporcionar medios de subsistencia adicionales a las Cofradías de Pescadores de la isla, mediante la posible explotación del cultivo de mejillón, en caso de que las experiencias fuesen satisfactorias.

El desarrollo científico del proyecto es llevado a cabo por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, a través del Grupo de Investigación en Acuicultura (Instituto Canario de Ciencias Marinas - Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria), mientras que el asesoramiento técnico es proporcionado por la empresa Gestenaval, S.L., representante en España del sistema noruego de producción de mejillones *SmartFarm*.

Considerando el grado de exposición y características del litoral majorero, se optó por la técnica *Smart-Farm* como sistema de cultivo, debido a que está dando buenos resultados y rentabilidades para el mejillón en mar abierto en Noruega, Irlanda, Islas Shetland y Alemania, donde se registraron temporales con olas de 8-12 metros y fuertes corrientes de 4,5 nudos.

De forma general, los objetivos que persigue el presente proyecto, recién iniciado, son:

1. Determinar cuáles son las zonas de la costa de Fuerteventura en las que se produce mayor fijación de las larvas así como el posterior crecimiento de la especie objetivo sobre las redes de los *SmartLines*.
2. Comprobar el comportamiento mecánico de los *SmartLines* en aguas expuestas, así como la resistencia de la estructura y de sus fondeos.

Material y Métodos

A partir de las características ambientales (T° ; producción primaria; oleaje; corriente; presencia de mejillones, cercanía a puertos etc.) se evaluaron distintos emplazamientos a lo largo del litoral para la ubicación de las instalaciones.

Cada instalación *SmartFarm* consta de dos líneas de cultivo o *SmartLine*, compuestos por un tubo flotante de PE (polietileno), DN 250 y color negro de 126 metros de longitud resultante de la unión de tubos más pequeños de 10 y 12 metros; línea de superficie, para el amarre de la red y fondeos unida al tubo con una

cuerda UV-estabilizada; red colectora de 120 metros y altura de 2,5 metros, luz de malla 250 × 280 mm y 230 × 280 mm, y línea de fondo lastrada.

Cada línea se fondea individualmente mediante boyas situadas en los extremos además de otras boyas sumergidas para ajustar correctamente la tensión en las líneas de fondeo. Para disminuir el ángulo de trabajo en las anclas de las líneas de fondeo, se sitúan unos pesos de hormigón para que el empuje experimentado en las anclas sea lo más horizontal posible. Las líneas están separados entre sí 50 metros y orientadas de forma paralela a la dirección de la corriente predominante. El tren de fondeo consta de cadena, muerde de 2.500 kg y ancla tipo *sanding* de 500 kg.

Cada instalación cuenta con el balizamiento y señalización perimetral según las características indicadas por Puertos del Estado.

Resultados y Discusión

Se seleccionaron dos emplazamientos, uno en la Costa de Barlovento (Frente a Baja Pesebre, Pájara), zona expuesta donde existen zonas rocosas tapizadas por mejillón, siendo de esperar que en esta región de la isla, la concentración de larvas de mejillón en la columna de agua sea mayor, y otra en la Costa de Sotavento (Jandía).

Para el montaje de las líneas, se trasladó desde Noruega la «unidad de producción», máquina específica para la unión los tubos de PE mediante termofusión e insertarlos en la red, así como dos técnicos. El trabajo se realizó en dos días. El resto del entramado: trenes de fondeo, balizamiento etc. se realizó en una zona del muelle, habilitada para ello de fácil acceso al mar.

Una vez montadas las unidades *SmartLines*, mediante una pequeña embarcación auxiliar, fueron fondeadas de forma temporal en una zona próxima a la de montaje, hasta su posterior remolque por mar para instalarlas en el área de la concesión. Previo al traslado de las líneas, se realizaron las labores de fondeo de las balizas y señalización perimetral así como el entramado interior para la unión de los tubos.

A excepción del sistema de balizamiento perimetral, que ha tenido que ser sustituido por otro más robusto, la fase inicial del proyecto ha transcurrido de forma satisfactoria.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por el Excmo. Cabildo Insular de Fuerteventura, Consejería de Medio Ambiente e Infraestructura y Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca.

Modelo explicativo de la rentabilidad de las empresas de cría de dorada y lubina. Aplicación empírica a las empresas españolas en el periodo 2005/2007

L. Luna, J.L. Fernández e I. Llorente¹

¹ Grupo de Investigación Gestión Económica para el Desarrollo Sostenible del Sector Primario. Departamento de Administración de Empresas. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Cantabria. Avenida de los Castros, s/n. CP 39005. Santander. lunal@unican.

Abstract

The results obtained by gilthead seabream and european seabass breeding companies don't match with the expected ones in an increasing market which is an indicator of the complexity in management where biological, environmental and economical factors interact. The target of this work is, in the first place, to identify relevant variables in the breeding process from a theoretical check-ing. And in the second place, to contrast the influence of these variables with the Spanish companies dedicated to this activity in the 2005/07 period. To finish up, an explicatory model of the financial profitability of the breeding companies is elaborated. For this purpose, the theoretical coherence of the variables is used as design restrictions taking into account the data of 47 companies during this period. The results allow you to have an empiric evidence on the interaction of factors which influence in the profitability of a breeding company, taking into account that this has an explicatory nature due to the limits of the data.

Justificación y objetivo

El creciente aumento del consumo mundial de pescado y las restricciones en la oferta de origen extractivo ha incrementado significativamente la demanda de pescado de cultivo. De este incremento es un buen ejemplo la demanda de dorada y lubina en España que ha crecido en el periodo 2005/07 un 20% y 21% respectivamente. Por el contrario, las empresas dedicadas al cultivo de estas especies no presentan unos resultados que se correspondan con el incremento de la demanda, hasta el punto que el 50% de las empresas de la muestra tuvieron pérdidas en 2005 y un 43% en 2007.

Los malos resultados obtenidos por las empresas, a pesar del crecimiento experimentado por el mercado, es un indicador de la complejidad que tiene la gestión económica del proceso de cría y de la necesidad de desarrollar el conocimiento necesario para permitir el desarrollo sostenible de esta actividad.

El objetivo de este trabajo es, en primer lugar, identificar las variables relevantes en el proceso de cría a partir de una revisión teórica de los factores biológicos, medioambientales y económicos que inciden en el proceso, para contrastar, en segundo lugar, dicha influencia en las empresas de España dedicadas a esta actividad en el periodo 2005-2007. Por último, se elabora un modelo explicativo de la rentabilidad financiera de las empresas de cría, utilizando como restricciones en su diseño la coherencia teórica de las variables y sus efectos.

Material y Métodos

Los datos productivos y de la localización se obtuvieron de la base ACUIDIR de la Secretaría General del Mar, los ambientales del Banco de Datos Oceanográficos de Puertos del Estado y los económico-financieros de la base SABI. La diversidad de procedencia y periodicidad de los datos añade complejidad a la creación de la muestra, compuesta por empresas de cría de dorada y lubina que sean sociedades mercantiles y cuyos estados financieros no presenten ausencias de datos o incongruencias contables, limitaciones que redujo la muestra a datos de 47 empresas en el periodo 2005/07.

Tras la determinación de las variables y su efecto a partir de una revisión teórica se contrasta la coherencia de su efecto en la muestra mediante un análisis de correlación. Una vez identificadas las variables se elabora un modelo cuyo parámetro de diseño es la coherencia teórica de las variables y sus efectos. Una vez contrastadas las ecuaciones con los valores observados (relaciones congruentes teóricamente y significativas) se instrumentaliza el modelo, utilizando como valores de las variables los estimados mediante las ecuaciones. El modelo resultante permite estimar la rentabilidad financiera de una empresa de cría de dorada y lubina a partir de la temperatura de agua, escala de producción, distancia al mercado, rotación, eficiencia productiva, productividad y endeudamiento.

Tabla 1. Modelo teórico y resultados

Ecuación	Modelo observado	Modelo estimado
$R_{Fi} = Z + \beta_1 R_{Ei} + \beta_2 E_i \eta_i + \varepsilon_i$	$R_{Fi} = -32,810 + 2,389^{**} R_{Ei} + 0,488^{**} E_i \eta_i$	$\hat{R}_{Fi} = -24,292 + 1,620^{**} \hat{R}_{Ei} + 0,465 E_i \eta_i$
$R_{Ei} = X + \beta_3 P_i + \beta_4 C_{Mi} + \beta_5 Ef_i + \mu_i$	$R_{Ei} = -2,325 + 0,072^{**} P_i + 7,086^{**} C_{Mi} - 0,123^{**} Ef_i$	$\hat{R}_{Ei} = 2,734 + 0,149^{**} \hat{P}_i + 9,356^{**} \hat{C}_{Mi} - 0,241^{**} Ef_i$
$C_{Mi} = \Gamma + \beta_6 R_i + \beta_7 A_i + \beta_8 D_i + \eta_i$	$C_{Mi} = 0,018 + 0,005^{**} R_i + 7,870 \cdot 10^{-8} A_i - 9,030 \cdot 10^{-5} D_i$	$\hat{C}_{Mi} = 0,018 + 0,005^{**} R_i + 7,870 \cdot 10^{-8} A_i - 9,030 \cdot 10^{-5} D_i$
$P_i = \Delta + \beta_9 T_i + \beta_{10} R_i + \eta_i$	$P_i = -256,636 + 13,978^{**} T_i + 0,541^{**} R_i$	$\hat{P}_i = -256,636 + 13,978^{**} T_i + 0,541^{**} R_i$

R_F : Rentabilidad Financiera. R_E : Rentabilidad Económica. E : Grado Endeudamiento. P : Productividad. C_M : Cuota de Mercado. Ef : Eficiencia productiva. R : Rotación. T : Temperatura del agua. A : Escala. D : Distancia en Km. Significación nivel 0,05 ** Significación nivel 0,1 * ^ Valores Estimados. *Fuente*: Elaboración propia.

Resultados y conclusiones

Se observa una evidencia empírica de la incidencia de las variables eficiencia productiva, productividad, tasa de conversión y calidad del pienso (biológicas), temperatura del agua (ambiental) y distancia al mercado (ambas relacionadas con la localización) y rentabilidad económica, grado de endeudamiento, rotación, escala, periodo medio de cobro y cuota de mercado (económicas) sobre la rentabilidad de las empresas de cría en España.

Los resultados del modelo (Tabla 1) muestran como el rendimiento financiero empresarial está positiva y significativamente influenciado por el nivel de endeudamiento y la rentabilidad económica. Esta a su vez depende significativamente de la productividad, la posición en el mercado y la eficiencia productiva. La temperatura del agua y la rotación influyen positivamente sobre la productividad. Por último, la cuota de mercado tiene una relación directa con la escala y la rotación e inversa con la distancia al mercado.

De los resultados obtenidos se puede concluir, a pesar de las limitaciones de los datos, que los resultados de las empresas de cría de dorada y lubina se ven afectados por factores relacionados con la localización, biológicos y de gestión, de cuyo efecto aislado se encuentran evidencias teóricas y empíricas. Sin embargo, el estudio de la sostenibilidad económica de las empresas se debe hacer a partir de modelos complejos que integren los factores y tengan en cuenta como interactúan.

Agradecimientos

Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM). Red de Puertos del Estado.

Bibliografía

- Gasca-Leyva E., León C.J., Hernández J.M. 2003. «Management strategies for seabream sparus aurata cultivation in floating cages in the Mediterranean sea and Atlantic ocean». *Journal of the World Aquaculture Society* 34(1), 29-39.
- Ruyet J.P.L., Mahe K., Le Bayon N., Le Delliou H. 2004. «Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*». *Aquaculture* 237(1-4), 269-280.
- Oca J., Reig L., Flos R. 2002. «Is land-based sea bream production a feasible activity on the northwest mediterranean coast? Analysis of production costs». *Aquaculture International* 10(1), 29-41.

Análisis de costes comparativo del engorde de diversas especies de espáridos en jaulas en mar abierto

J. García García y B. García García

IMIDA. C/ Mayor, s/n. 30150 La Alberca (Murcia). e-mail: jose.garcia21@carm.es

Abstract

We performed an economic study of feasibility and cost analysis to assess the fattening in cages of five species of *sparidae*: red sea bream, common dentex, banded porgy, red porgy and sharp snout sea bream. The relative cost of fixed assets for the various species ranges from 5.57% of dentex to 7.95% in the red sea bream, i.e., a fixed very low. The highest costs and therefore of greatest economic importance are feed, juveniles and salaries.

Justificación

Se ha realizado un estudio económico en el ámbito de la viabilidad y la analítica de costes para evaluar el engorde en jaulas de cinco especies de espáridos: besugo, dentón, hurta, pargo y sargo picudo. Los datos para el análisis se basan en el conocimiento y las técnicas disponibles actualmente fruto de trabajos anteriores y del desarrollo del presente proyecto, así como la tecnología actual de engorde de dorada. Así pues, el objeto ha sido determinar el umbral de rentabilidad y varios indicadores de rentabilidad propios del análisis realizado; todo ello, estableciendo para cada especie una explotación tipo de producción de 1.000 toneladas anuales en jaulas en mar, utilizando los métodos y técnicas actualmente disponibles.

Material y Métodos

En primer lugar se definió la estructura contable de una explotación de engorde en jaulas en mar abierto, con producción anual de 1.000 toneladas, y basada en la tecnología existente para el engorde de dorada (García García, 2001; García García *et al.*, 2002) pero teniendo en cuenta las variables zootécnicas de cada especie y la zona potencial de cultivo. Así, la planta de besugo se ubica en las rías Gallegas, el bocinegro en Canarias, la hurta en el Mediterráneo y Atlántico Sur, y el dentón y el sargo picudo en el Mediterráneo. En todos los casos el ciclo de producción parte de juveniles de 12-15 g y el peso comercial es de 500 g para besugo, dentón y hurta y de 400 g para el bocinegro y sargo. Las variables zootécnicas (duración del ciclo, mortalidad, carga final e índice de conversión, precio del alevín, precio del pienso) para cada especie se ha estimado a partir del conocimiento y experiencia propia de los distintos participantes. La duración del ciclo y la carga final de cultivo de las distintas especies influyen fundamentalmente sobre el número de jaulas y conllevan tres inversiones distintas (Tabla 1).

Para el análisis económico se han utilizado varios índices de la analítica de costes (García García *et al.*, 2004), calculando el umbral de rentabilidad o coste medio de producción (Cmp) para el engorde de cada especie. Asimismo, se han calculado algunos otros indicadores tales como el índice Inversión/Producción (K_0/P) y el porcentaje que representa el coste del inmovilizado y el del circulante. Se calculó el índice TIR, índice económico que caracteriza cualquier proyecto de inversión.

Resultados y discusión

La Tabla 2 muestra un resumen de los costes de producción expresados en términos relativos, así como los indicadores económicos utilizados, coste medio de producción, precio de venta para obtener una tasa TIR del 10% y plazo de recuperación de la inversión expresado en años.

Tabla 1. Número de jaulas e inversión inicial para cada especie. Producción 1.000 Tn

Especies	N.º jaulas (unidades)	Inversión (€)	Ocupación (m ²)
Besugo	42	3.679.930	310.752
Dentón	14	1.862.590	153.504
Hurta	14	1.862.590	153.504
Pargo	12	1.752.876	142.272
Sargo picudo	12	1.752.876	142.272

Tabla 2. Resumen de los costes de producción e indicadores económicos

	Besugo	Dentón	Hurta	Bocinegro	Sargo picudo
Inmovilizado (%)	7,95	5,57	6,61	7,55	7,36
Circulante (%)	95,42	96,92	96,35	95,85	95,96
Personal (%)	5,71	8,34	9,90	12,08	11,76
Alevines (%)	32,48	44,59	17,19	25,71	25,04
Pienso (%)	44,29	31,53	55,45	42,45	43,85
Personal (€/kg)	0,434	0,434	0,434	0,434	0,434
Alevines (€/kg)	2,468	2,323	0,754	0,924	0,924
Pienso (€/kg)	3,366	1,642	2,432	1,526	1,619
Cmp (€/kg)	7,60	5,21	4,39	3,59	3,69
PV (1) (€/kg)	9,50	5,57	4,63	3,86	3,86
Inversión/producción (€/Tn)	3.680	1.863	1.863	1.753	1.753
PR (años)	13	11	11	11	11

(1) Precio de venta para obtener un TIR del 10%.

El coste relativo de inmovilizado para las diferentes especies oscila entre los 5,57% del dentón y los 7,95% del besugo, es decir, un inmovilizado muy bajo. En el circulante destacan los costes de pienso, alevines y personal. El coste más importante en términos relativos es el de alimentación, a excepción del dentón en el que destaca el coste de alevines, siendo el coste de alimentación muy elevado. La altísima mortalidad en la fase larvaria del dentón y sus exigencias en condiciones medioambientales muy controladas determinan un precio del alevín muy elevado y hacen que este coste se dispare hasta un 44,59% del total. También en besugo, por parecidas circunstancias, el coste de alevines es elevado (32,48%). En referencia al Cmp las especies de menor coste son bocinegro (3,59 €/kg) y sargo picudo (3,69 €/kg) con cifras muy similares entre ellas y también muy parecidas al coste de producción de dorada. Les sigue a distancia la hurta con 4,39 €/kg, el dentón (5,21 €/kg) y, por último, con un valor mucho más elevado el besugo (7,60 €/kg). Por último, el precio de venta establecido para obtener una tasa TIR del 10% sirve para determinar el precio umbral en igualdad de condiciones. La duración del ciclo y las bajas cargas en el cultivo de besugo, así como el correspondiente alto índice de conversión hacen que este precio en esta especie sea muy elevado (9,50 €/kg) en origen y, por tanto sólo sería un producto competitivo si el consumidor final está dispuesto a pagar precios iguales o superiores a 11-12 €/kg.

El dentón presenta cargas bajas y alta mortalidad relativa pero su ciclo de engorde es corto. Su gran inconveniente es el elevado precio del alevín, fundamentalmente por las altas mortalidades larvarias. Esta especie sería rentable con precios en origen de 5,57 €/kg. Por su parte, la hurta sería rentable con precios en origen de 4,63 €/kg. Bocinegro y sargo picudo tienen el precio umbral más bajo y además éste es coincidente en ambas especies (3,86 €/kg), por lo que se puede afirmar que serían especies potenciales a precios al consumidor iguales o algo más bajos que los de dorada de los últimos años.

Bibliografía

- García García J. 2001. Análisis económico financiero comparado de dos sistemas de engorde de dorada en el litoral de la Región de Murcia. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 210 pp.
- García J., Rouco A., García B. 2002. Directrices generales de diseño de explotaciones de engorde de especies acuícolas en jaulas en mar. *Revista Archivos de Zootecnia* 51(196), 469-472.
- García García J., Rodríguez González L.M., García García B. 2004. Cost analysis of octopus ongrowing installation in Galicia. *Span J Agric Res* 2(4), 531-537.

Modelización de la competitividad en la acuicultura española

F.J. Sánchez Sellero y M.M. Cruz González¹

¹ Departamento de Organización de Empresas y Marketing, Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales, Universidad de Vigo. Campus Lagoas-Marcosende, s/n. 36310 Vigo (Pontevedra). e-mail: javiss@uvigo.es

Abstract

Proposal of a factorial model for the analysis of the competitiveness in the sector of the aquaculture in Spain. Research of observable variables that define the competitiveness.

Justificación

Dado que podemos caracterizar a la acuicultura como un sector emergente e innovador, tiene sentido que las empresas del sector asuman crecientes gastos e inversiones en I+D+i. El exponencial crecimiento mundial de la acuicultura en los últimos años y sus perspectivas de futuro, unidos al necesario proceso de diversificación y creación de nuevas especies, convierten el análisis de la competitividad en la acuicultura española en el referente más adecuado para determinar la viabilidad estratégica de cualquier empresa y explotación y orientar su actitud proactiva.

Nuestra modelización pretende contrastar las teorías de la competitividad basadas en las ventajas país y los campeones nacionales, a través de la propensión exportadora, el entorno específico (Porter, 1999, 2008), las centradas en factores internos (Teoría de Recursos y Capacidades; Grant, 1996; Bueno Campos *et al.*, 2006, y Capacidades dinámicas; Teece y Pisano y Shuen, 1997) y las que asocian la competitividad a la innovación y creación de conocimiento (Nonaka y Takeouchi, 1995); en este punto también tendremos en cuenta las complementariedades e implicaciones entre enfoques.

Material y Métodos

Para valorar la competitividad hemos utilizado datos de carácter secundario, obtenidos de la base de datos SABI y, de carácter primario, a través de una encuesta realizada en los meses de octubre de 2006 a mayo de 2007, a 748 empresas del sector, con un índice de respuesta del 13,2%, un error muestral del $\pm 9,2\%$ para un nivel de confianza del 95% ($z = 1,96$).

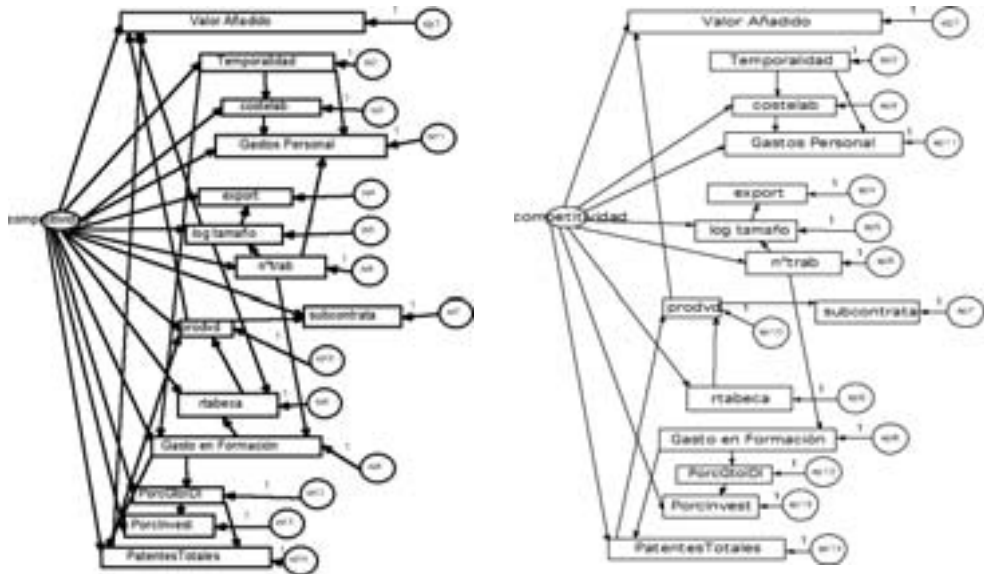
Para la obtención de resultados, analizamos aquellas variables que explican el comportamiento competitivo de las empresas del sector acuícola, y proponemos un modelo factorial (Fig. 1) complementado con ciertas relaciones entre indicadores, para comprobar incidencias directas e indirectas respecto a la competitividad. Para ello hemos utilizado el programa estadístico SPSS 15.00 y el paquete estadístico AMOS 7.0, ya que así podemos tratar variables latentes o constructos no observables a partir de variables observables o indicadores, posibilitando la incorporación del error de medida en el proceso de estimación; al mismo tiempo, se pueden analizar dependencias cruzadas entre variables y, principalmente, realizar un contraste simultáneo de múltiples variables asociadas a relaciones de causalidad y dependencia entre variables.

La hipótesis que queremos comprobar es: «*La competitividad como variable latente se relaciona positiva y significativamente con la rentabilidad, la productividad, la propensión exportadora, el tamaño empresarial, el valor añadido, el coste laboral, la posesión de patentes y mayores niveles de gasto e inversión en I+D+i*».

Para su verificación hemos utilizado 7 ratios provenientes de la base de datos SABI y 7 valoraciones subjetivas del directivo de cada empresa.

Resultados y Discusión

En función de la hipótesis planteada y, tras las necesarias tareas de reespecificación del modelo exploratorio (Fig. 1), contrastamos la incidencia positiva sobre el tamaño, rentabilidad económica, posesión de patentes, productividad y la propensión exportadora, siendo negativa su incidencia sobre los niveles de gasto e inversión en I+D+i (constatación contrainductiva que se debe a que los grandes grupos empresariales crean divisiones específicas para la investigación y a que esta partida está muy sesgada por institutos públicos e institutos tecnológicos, que se mueven en parámetros muy diferentes a la rentabilidad o productivi-

Figura 1. Modelos factoriales de competitividad exploratorio y confirmatorio

dad). La competitividad se relacione negativamente con el porcentaje de valor añadido; por lo tanto, serán más competitivas aquellas empresas que se especializan en una o muy limitadas actividades frente a aquellas otras que integran muchas actividades y tareas. Igualmente contrastamos la incidencia negativa del abuso de la contratación temporal; hemos comprobado las vinculaciones positivas y estadísticamente significativas entre competitividad, coste laboral, especialización, productividad y rentabilidad económica. Así podemos decir que las empresas más rentables, con un mayor nivel de productividad, rentabilidad y presencia en mercados exteriores presentan mayores costes laborales. En nuestro modelo presentamos algunos rasgos de las ventajas país y otros propios de la dinámica interna de las empresas (recursos y capacidades o capacidades dinámicas), e incluso algunos elementos propios del esquema sectorial de Porter.

Bibliografía

- Bueno Campos E., Morcillo Ortega P., Salmador M.P. 2006. Dirección Estratégica: Nuevas Perspectivas. Ed. Pirámide, Madrid.
- Grant R. 1996. «*Toward a Knowledge-Based Theory of the Firm*». *Strategic Management Journal* 17, 109-122.
- Nonaka I., Takeouchi H. 1995. *The Knowledge-Creating Company. How Japanese Companies Create the Dynamics of Innovation*. Oxford University Press, New York-Oxford.
- Porter M.E. 1999. *On Competition*, Harvard Business School Press, Boston.
- Porter M.E. 2008. *The Five Competitive Forces that Shape Strategy*. *Harvard Business Review* Enero, 79-93, Enero.
- Teece D.J., Pisano G., Shuen A. 1997. «*Dynamic Capabilities and Strategic Management*». *Strategic Management Journal* 18(7), 500-532.

Creencias de los consumidores españoles sobre el pescado de crianza en comparación con el de pesca extractiva

L. Guerrero¹, A. Claret¹, M.D. Hernández², E. Aguirre³, L. Rincón⁴, E. Pérez⁵, A. Grau⁶,
C. Rodríguez⁷ y C. Fernández⁸

¹ IRTA, Finca Camps i Armet. 17121 Monells (Girona). e-mail: lluis.guerrero@irta
² IMIDA, ³ EPDAP, ⁴ ULPGC, ⁵ IEO Vigo, ⁶ LIMIA, ⁷ CEP, ⁸ IEO Santander

Abstract

Consumer beliefs are regarded as powerful determinants of purchase behaviour. In this study some of the beliefs hold by Spanish consumers about farm fish vs. wild fish were explored by means of a survey. Participants perceived farm fish as a cheaper option, more controlled, containing less parasites and less polluted by sea contaminants. However, wild fish was described as having higher overall quality, better sensory properties and less artificial character. The results obtained may constitute an important input for designing new marketing strategies and more effective communication policies aimed to promote farm fish consumption in Spain.

Justificación

Las creencias que un individuo posee sobre una idea acción o hecho constituyen una parte fundamental de su actitud hacia estos y, por lo tanto, un buen predictor potencial de su comportamiento (Fishbein y Azjen, 1975) e intención de compra.

En nuestro país una importante parte del pescado que se consume procede de la acuicultura, con una producción en 2007 superior a las 280.000 Tm, un valor comercial de 496 millones de euros y la creación de 27.643 puestos de trabajo (MARM, 2009). Sin embargo, se conoce muy poco sobre las creencias del consumidor español sobre este sistema de cría y la imagen de calidad de los productos que de él se derivan.

El objetivo de este estudio es conocer las creencias de los consumidores españoles sobre el pescado de crianza en comparación con el de pesca extractiva.

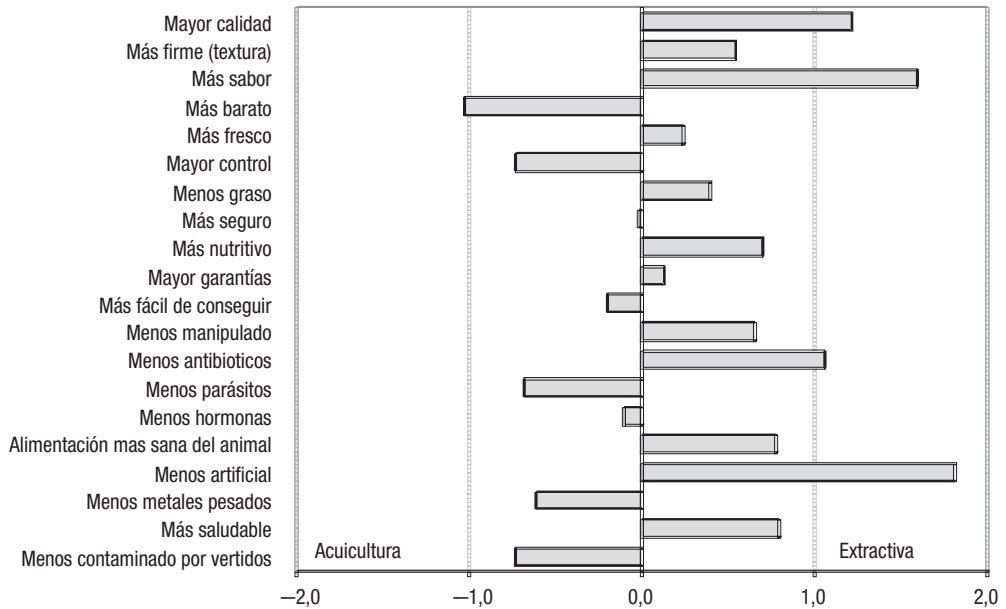
Material y Métodos

Se seleccionaron un total de 919 consumidores de 9 Comunidades Autónomas españolas: Andalucía (n = 101), Asturias (n = 101), Baleares (n = 98), Canarias (n = 101), Cantabria (n = 103), Cataluña (n = 103), Galicia (n = 104), Madrid (n = 104) y Murcia (n = 104). El reclutamiento se realizó mediante un muestreo probabilístico por cuotas en función del género (mínimo un 33,3% de hombres) y de la edad. La muestra final estuvo compuesta por 319 hombres, 599 mujeres, 149 participantes con edades comprendidas entre 18 y 25 años, 216 entre 26 y 35, 206 entre 36 y 45, 166 entre 46 y 55, 127 entre 56 y 65 y 54 entre 66 y 70 años de edad. Los participantes cumplimentaron un cuestionario con varias preguntas sobre sus hábitos alimenticios, sus características socio-demográficas, sus creencias y actitud generales y sus creencias específicas sobre ciertos aspectos del pescado de acuicultura en comparación con el de pesca extractiva (ver Fig. 1). Todas las creencias se cuantificaron mediante una escala de Likert de 7 puntos desde «Totalmente en desacuerdo» hasta «Totalmente de acuerdo». Las puntuaciones obtenidas para cada creencia se codificaron de -3 a +3 según las recomendaciones de Fishbein y Azjen (1975).

El análisis estadístico de la información obtenida se realizó mediante técnicas de análisis descriptivo, análisis de la varianza y análisis de conglomerados (método de Ward). Todos ellos se efectuaron con el programa estadístico XLSTAT (Addissoft, Francia).

Resultados y Discusión

La Figura 1 muestra los valores medios obtenidos para las distintas creencias de toda la muestra estudiada. Así, el pescado de crianza se percibió como una opción más barata, más controlada, con menos parásitos, con menos metales pesados y menos contaminado por los vertidos marinos que el pescado de pesca extractiva. El pescado salvaje se describió principalmente como aquel de mayor calidad, mayor sabor y menor carácter artificial. Estos resultados son bastantes similares a los observados en otros países europeos, confirmando el correcto conocimiento de ambos productos por parte de los consumidores en algunos aspectos y su gran desconocimiento en otros.

Figura 1. Valores medios de las creencias para el pescado de crianza y para el extractivo

El análisis de la varianza por Comunidades Autónomas desveló algunas diferencias entre éstas. Así, cabe destacar las distintas creencias respecto a la frescura del pescado de acuicultura, considerado como más fresco que el de pesca extractiva únicamente en Andalucía y Galicia o la mayor dificultad para conseguir el pescado de crianza respecto al salvaje expresada tan solo por los consumidores andaluces y canarios. Respecto a la edad y al género también se observaron diferentes valoraciones de las creencias en algunos casos. Por su parte el análisis de conglomerado permitió la identificación y caracterización de 5 grupos de consumidores con creencias notablemente diferentes, lo que sin duda constituye una información de gran valor a la hora de diseñar las estrategias de marketing y las políticas de promoción de la acuicultura a aplicar en cada segmento detectado.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen a la Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR) la financiación de este estudio mediante el proyecto “Caracterización de la calidad del pescado de crianza” (2008-2011).

Bibliografía

- Fishbein M., Ajzen I. 1975. Belief, attitude, intention and behavior: An introduction to theory and research. Addison Wesley. USA.
 MARM. 2009. Estadísticas pesqueras. Subdirección General de Estadística. Abril 2009.

Actitudes de los consumidores españoles hacia la acuicultura. Antecedentes y efectos

J. Fernández Polanco, L. Luna y J.L. Fernández Sánchez¹

¹ G.I. Gestión Económica para el Desarrollo Sostenible del Sector Primario. Dpto. de Administración de Empresas. Universidad de Cantabria. AV. Los Castros, s/n. 39005 Santander. e-mail: polancoj@unican.es

Abstract

Attitudes towards food harvest processes have increased their importance in consumer's purchase decisions since the beginning of the new century. This paper tests different factors that may affect consumers' attitudes towards aquaculture as a food production method and its consequences on quality assessments and accepted price. Three independent national consumer samples were used to fit the proposed models to test the relations among variables.

Justificación

Las actitudes constituyen, en el comportamiento del consumidor, el antecedente causal directo de la intención de compra (Fisbein y Ajzen, 1975). Estas se componen, de las creencias que el sujeto tiene acerca del objeto de la actitud. Después de las crisis alimentarias de finales de los 90, los consumidores han aumentado su interés hacia la información relativa a los métodos de producción, que aseguran atributos tales como calidad técnica y condiciones de seguridad alimentaria (Hoffman, 2000). El estudio de las actitudes de los consumidores hacia los métodos de producción acuícola y los factores que las condicionan ayudará a comprender su percepción del valor del producto.

No todas las creencias acerca de los diferentes atributos de la actividad acuícola resultarán en efectos positivos sobre la valoración del producto. Por este motivo se han seleccionado aquellos atributos que han demostrado tener efectividad sobre la predisposición de los compradores a pagar por un producto pesquero: seguridad alimentaria (Wessells y Anderson, 1995) y sostenibilidad del método extractivo (Jaffry et al 2003). Se considera que ambos atributos participan también en la formación de las preferencias hacia los productos de la acuicultura (Young, Brugere y Muir, 1999).

Material y Métodos

Los datos empleados, para ajustar los modelos de comportamiento estudiados, proceden de las muestras correspondientes a los años 2005, 2006 y 2007 del estudio «Valoración de la Acuicultura en España 2003-2007», financiado por la Secretaría General de Pesca Marítima. Los tamaños de las muestras totales rondan entre los 2500 y 3000 participantes que fueron entrevistados personalmente, en todo el territorio nacional, seleccionados de acuerdo a un procedimiento de muestro aleatorio y proporcional.

La medición de las actitudes se realizó mediante la aplicación de técnicas de análisis factorial, exploratorio y confirmatorio, sobre una batería de escalas de Lickert, que recogen diferentes creencias de los consumidores acerca de la calidad, seguridad y sostenibilidad de los métodos de la acuicultura. Los modelos referidos a los antecedentes de las actitudes han sido ajustados mediante procedimientos de regresión con factores fijos (GLM), en donde la variable dependiente viene dada por un índice factorial de actitud. Para estudiar los efectos de la actitud sobre la percepción de calidad y precio máximo admisible se utilizaron modelos de ecuaciones estructurales con variables latentes (LVSEM) en los que la actitud hacia la acuicultura se incluye, como variable exógena, dentro de un mismo modelo de comportamiento de compra responsable.

Todos los modelos ajustados arrojan valores significativos en sus correspondientes contrastes generales de hipótesis. La significación a nivel de parámetros se consideró para niveles de confianza del 95,5%.

Resultados y Discusión

La ecuaciones [1] y [2] muestran los resultados de los modelos de formación de la actitud hacia la acuicultura. En ambos puede confirmarse que estas mejoran cuando el entrevistado es menor de 65 años, posee un nivel académico alto y consideran creíbles las campañas institucionales de promoción genérica de la acuicultura. Pueden rechazarse influencias de la actividad ocupacional y la renta de los entre-

vistados, en tanto que el hecho de realizar personalmente la compra sólo arroja significación en la muestra de 2006.

$$(Muestra 2005) \text{ Actitud} = 0,182* + 0,186* \text{ Edad} + 0,182* \text{ Estudios} + 0,017 \text{ Actividad} + \quad [1] \\ + 0,080 \text{ Renta} + 0,061 \text{ Compra} + 0,281* \text{ Credibilidad} + \varepsilon$$

$$(Muestra 2006) \text{ Actitud} = 0,649* + 0,144* \text{ Edad} + 0,163* \text{ Estudios} + 0,045 \text{ Actividad} + \quad [2] \\ + 0,050 \text{ Renta} + 0,121* \text{ Compra} + 0,687* \text{ Credibilidad} + \varepsilon$$

El modelo de efectos de la actitud sobre las evaluaciones de calidad de especies cultivadas, ajustado con datos de la muestra de 2005, se presenta en la ecuación [3]. En este puede apreciarse como en los consumidores más concienciados hacia la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de la producción, la percepción de calidad de la especie mejora cuando la actitud hacia la acuicultura presenta puntuaciones más altas. Si bien, la identificación incompleta o incorrecta en el punto de venta afecta negativamente a esta relación.

$$\text{Calidad} = 0,538* \text{ Actitud} - 0,252* \text{ Identificación} - 0,008 \text{ Conciencia} + \varepsilon \quad [3]$$

Utilizando datos de la muestra de 2007, en los que se preguntó a los compradores el precio máximo que estarían dispuestos a pagar por diferentes especies cultivadas, se ajustó un modelo semejante al de la ecuación anterior [Ecuación 4] usando como variable dependiente el precio asignado para cada especie. La actitud vuelve a presentar un efecto positivo sobre el precio aceptable. Sin embargo, este decrece cuanto mayor es la importancia del precio en las decisiones de compra y la predisposición a pagar por alimentos debidamente identificados como seguros o sostenibles.

$$\text{Precio Máximo} = 0,498* \text{ Actitud} - 0,530* \text{ Importancia P} - 0,644* \text{ Identificación} + \varepsilon \quad [4]$$

Agradecimientos

Secretaría General de Pesca Marítima del Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino, Gobierno de España. Entidad financiadora del proyecto "Valoración de la acuicultura en España, 2003 – 2007".

Bibliografía

- Fishbein M.A., Ajzen I, 1975. *Belief, Attitude, Intention and Behavior: An Introduction to Theory and research*. Reading, MA. Addison Wesley.
- Hoffman R., 2000. Country of Origin – A Consumer Perception Perspective of Fresh Meat. *British Food Journal* 102, 211-229.
- Jaffry S., Pickering H., Ghulam Y., Whitmarsh D., Wattage P. 2003. Consumer Choices for Quality and Sustainability Labeled Seafood Products in the UK. *Food Policy* 29, 215-28.
- Wessells C.R., Anderson J.G. 1995. Consumer Willingness to Pay for Seafood Safety Assurances. *Journal of Consumer Affairs* 29, 85-107.
- Young J.A., Brugere C., Muir J.F. 1999. Green Grow the Fishes-Oh? Environmental Attributes in Marketing Aquaculture Products. *Aquaculture Economics and Management* 3(2), 7-17.

Demanda de las especies de pescado de acuicultura en España

J. A. Millán¹, y N. Aldaz²

¹ Universidad Politécnica de Madrid. ETSIA. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. e-mail: joaquin.millan@upm.es

² Universitat de Lleida. ETSEAM. Rovira Roure. 25198 Lleida. e-mail: natalia@aegern.udl.es

Abstract

Se estudia un sistema de demanda para las principales especies de pescado que se consumen en España en relación con la acuicultura (trucha, salmón, dorada, lubina, rodaballo, junto a lenguado y merluza), considerando la existencia de observaciones en que no hay consumo de alguna de las especies. Se utilizan datos trimestrales de las 17 comunidades autónomas desde 2004 a 2008. Se encuentran razonables elasticidades renta y elasticidades precios así como interacciones que contrastan con estudios previos. Se observan patrones estacionales en la demanda de estas especies.

Justificación

Se presentan los resultados de la estimación de un sistema completo de demanda de pescado de especies de interés en acuicultura en España, utilizando una base de datos muy reciente.

Material y Métodos

Los datos proceden de los resultados detallados para el grupo de pescados por CCAA del Panel de Consumo Alimentario del Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino (antes MAPA), desde enero de 2004 hasta diciembre de 2008. Los datos se agregan trimestralmente en cantidades y valores per capita, para cada CCAA. Los precios se obtienen directamente como valores unitarios (valor/cantidad). Las especies consideradas son trucha, salmón, dorada, lubina, rodaballo, lenguado, merluza y otro pescado. En total son 340 observaciones (5 años, 4 trimestres, 17 CCAA).

Para estimar la demanda se especifica una extensión del sistema casi ideal de demanda con variables estacionales (D_k ; $k = 1, \dots, 4$; toma 1 para el trimestre k , 0 en los otros tres trimestres), regionales (D_r ; $r = 1, \dots, 17$; toma 1 para la CCAA r , 0 en las otras CCAA) y de tendencia T (centrada en mitad de la muestra, para recoger la evolución de los consumos no recogida en otras variables). Las variables propias de la demanda son la participación en el gasto de consumo de la especie i (w_{it}), el precio de la especie j (p_{jt}), el gasto total per capita en pescado (M_t) y un índice de precios de pescado (P_t), todo ello en t . Las ecuaciones a estimar son de la forma:

$$w_{it} = \sum_k a_{ik} D_k + \sum_r c_{ir} D_r + \sum_j b_{ij} \log p_{jt} + d_i \log(M_t/P_t) + a_{it} T \quad [1]$$

con las restricciones de simetría ($b_{ij} = b_{ji}$), homogeneidad en precios y adición ($\sum_i w_i = 1$). A pesar de la agregación temporal quedan algunas observaciones con ceros en trucha y rodaballo (sobre todo). Para resolver el problema se utiliza la especificación de McLaren *et al.* (1995)

$$y_{it} = \log(w_{it}/w_{i8}) + u_{it} \quad [2]$$

sustituyendo w_{it} y w_{i8} según la ecuación [1]. Las observaciones con ceros mantienen la relación de composición para los datos no cero siguiendo Fry *et al.* (2000).

Resultados y Discusión

Por razones de espacio no se incluyen los resúmenes estadísticos de las variables ni lo resultados detallados de las estimaciones, sino sólo los parámetros más importantes de carácter económico. Tampoco se incluye el detalle por CCAA. La Tabla 1 recoge las elasticidades precio. Se observan demandas elásticas en salmón, lubina y otros pescados. Otras demandas son inelásticas aunque moderadamente altas, salvo merluza. Las elasticidades cruzadas muestran un patrón rico de sustituciones y sobre todo complementariedades (dorada-salmón, lubina-lenguado, lenguado-merluza, y con otros pescados de trucha, rodaballo y merluza).

La Tabla 2 muestra las elasticidades renta (lenguado, rodaballo y lubina, son pescados de lujo), las estacionalidades más significativas y la evolución en el período de cinco años por aspectos no recogidos en las variables anteriores. Como resumen más general el consumo de las especies de acuicultura españolas decrece en verano y es más importante en invierno (descontado los efectos precio y gasto en pescado), mientras que siguen mostrando una tendencia creciente en consumo.

Tabla 1. *Elasticidades precio (significativas en negrita)*

	Trucha	Salmón	Dorada	Lubina	Rodaballo	Lenguado	Merluza	Otro
Trucha	-0,90	-0,05	0,04	-0,19	0,38	0,13	-0,01	-0,01
Salmón	-0,16	-1,31	-0,46	0,02	0,69	0,08	0,13	-0,01
Dorada	0,08	-0,44	-0,78	0,19	0,12	0,15	-0,03	0,00
Lubina	-0,31	0,02	0,13	-1,33	0,04	-0,24	0,03	0,03
Rodaballo	0,11	0,08	0,02	0,01	-0,60	0,03	-0,03	-0,01
Lenguado	0,69	0,25	0,38	-0,73	0,59	-0,49	-0,14	-0,04
Merluza	-0,22	0,81	-0,10	0,21	-1,68	-0,57	-0,38	-0,17
Otro	-0,56	0,10	0,10	0,69	-1,16	-0,81	-0,51	-1,20

Tabla 2. *Elasticidades de gasto, estacionalidad y evolución de la demanda*

	Elast. gasto	T1	T2	T3	T4	Evol.
Trucha	0,28		-	+		Decr
Salmón	0,54			-	+	Crec
Dorada	0,67	+	-		+	Crec
Lubina	1,13	+		-		Crec
Rodaballo	1,62		-		+	
Lenguado	1,72			+	-	Decr
Merluza	0,95	+		-		Decr
Otro	0,96					

Agradecimientos

Esta investigación se inició financiada con el proyecto ALG04-7303.

Bibliografía

Fry J.M., Fry T.R.L., y McLaren K.R. 2000. Compositional data analysis and zeros in microdata. *Applied Economics* 32, 953- 959.
 McLaren K.R., ry J.M., Fry T.R.L. 1995. A simple test of the almost ideal demand system. *Empirical Economics* 20. 149-161.

Importancia de la frescura, el país de origen, el método de obtención y el precio en la selección del pescado mediante Análisis conjunto

A. Claret¹, L. Guerrero¹, M.D. Hernández², E. Aguirre³, L. Rincón⁴, J. B. Peleteiro⁵,
A. Grau⁶, C. Rodríguez⁷ y I. Martínez⁸

¹ IRTA. Finca Camps i Armet, 17121 Monells (Girona). e-mail: anna.claret@irta

² IMIDA, ³ EPDAP, ⁴ ULPGC, ⁵ IEO Vigo, ⁶ LIMIA, ⁷ CEP, ⁸ IEO Santander

Abstract

Food choice and selection are influenced by several factors. In this study a Conjoint Analysis was applied to assess the relative importance for Spanish consumers of fish freshness, country of origin, method for obtention and fish price. Country of origin was the most important aspect, price and freshness had a medium relative importance and the method for fish obtention was the least important factor. Cluster Analysis allowed the identification of 8 different segments of consumers with different preferences that pointed out the importance of consumer segmentation in order to properly understand consumer behaviour.

Justificación

Son numerosos los factores que influyen en el proceso de selección y consumo del pescado: desde aquellos relacionados con sus propiedades sensoriales (sabor, textura...) hasta aquellos ligados al marketing y a los aspectos productivos (origen, precio, sistema de cría, conservación...).

El Análisis Conjunto es una técnica ampliamente utilizada en investigación de mercados para obtener información sobre las preferencias de los consumidores y el efecto de diferentes atributos en la intención de compra de diversos productos (Gustafsson *et al.*, 2003).

En este estudio, el Análisis Conjunto se aplicó con el fin de determinar la importancia de la frescura, el país de origen, el método de obtención y el precio para los consumidores españoles a la hora de seleccionar el pescado que consumen.

Material y Métodos

Se seleccionaron un total de 919 consumidores de 9 Comunidades Autónomas (CCAA) españolas: Andalucía (n = 101), Asturias (n = 101), Islas Baleares (n = 98), Islas Canarias (n = 101), Cantabria (n = 103), Cataluña (n = 103), Galicia (n = 104), Madrid (n = 104) y Murcia (n = 104). El reclutamiento se realizó mediante un muestreo probabilístico por cuotas en función del género (mínimo un 33,3% de hombres) y de la edad. La muestra final estuvo compuesta por 319 hombres, 599 mujeres, 149 participantes con edades comprendidas entre 18 y 25 años, 216 entre 26 y 35, 206 entre 36 y 45, 166 entre 46 y 55, 127 entre 56 y 65 y 54 entre 66 y 70 años de edad.

A partir de los resultados obtenidos en un estudio cualitativo previo realizado en las mismas 9 CCAA (n = 85) (Claret *et al.*, 2003), se seleccionaron cuatro atributos relevantes para los consumidores a la hora de seleccionar el pescado y los diferentes niveles dentro de cada uno de ellos: frescura (fresco o congelado), país de origen (España, Noruega o Marruecos), método de obtención (extractiva o crianza) y el precio (6 €/kg, 12 €/kg y 18 €/kg). Dado el elevado número de combinaciones de los distintos niveles posibles ($2 \times 3 \times 2 \times 3 = 36$), se realizó un diseño factorial fraccionado (diseño ortogonal) para reducir el número de opciones o perfiles hipotéticos. Se confeccionaron 9 tarjetas, una por perfil seleccionado, y se entregaron a los consumidores para que las ordenaran según su preferencia de compra.

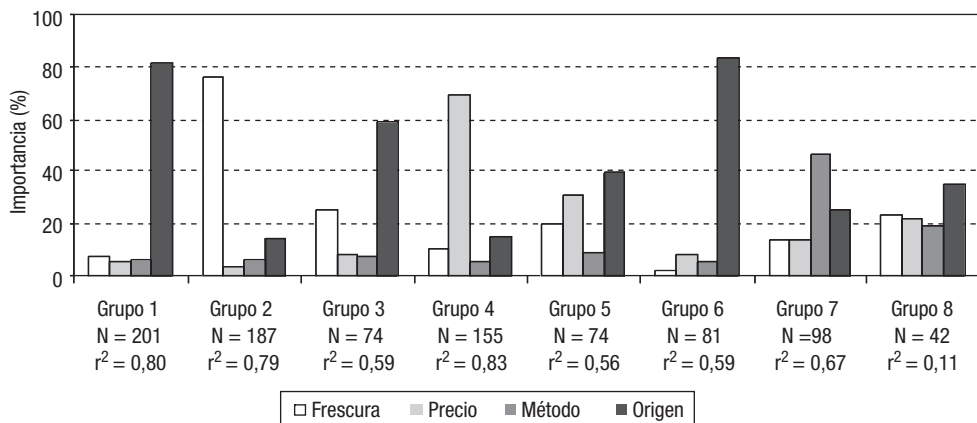
El análisis de los resultados se realizó mediante regresión múltiple. Posteriormente se efectuó un análisis de conglomerados para determinar la existencia de diferentes segmentos de consumidores.

Resultados y Discusión

Globalmente, los consumidores otorgaron una mayor importancia relativa al país de origen (42,1%). El hecho de que el pescado procediera de pesca extractiva o de crianza tuvo la menor importancia (18%). En general, el pescado fresco y el pescado de pesca extractiva fueron los que proporcionaron una mayor utilidad para los consumidores. En cuanto al país de origen del pescado, los consumidores prefirieron en primer lugar el procedente de España. En segundo lugar, en la mayoría de CCAA se prefirió el pescado procedente de Noruega excepto en Andalucía y las Islas Canarias donde, probablemente por proximidad

Tabla 1. Utilidad que los niveles de cada atributo proporcionaron a cada grupo de consumidores

Atributo	Nivel	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	Grupo 8
Frescura	Congelado	4,76	1,88	3,98	4,53	6,13	4,96	4,86	4,31
	Fresco	5,22	6,64	5,62	5,35	4,59	5,09	5,99	5,19
Precio	6 €/kg	4,95	4,13	4,45	7,24	6,28	5,11	5,69	4,61
	12 €/kg	5,18	4,38	4,96	5,72	5,93	5,20	5,87	4,42
	18 €/kg	4,85	4,24	5,00	1,86	3,89	4,76	4,73	5,24
Método extracción	Extractiva	5,19	4,46	4,57	5,16	5,71	5,17	7,28	4,38
	Crianza	4,79	4,06	5,03	4,71	5,02	4,88	3,58	5,12
País origen	España	6,98	4,80	7,33	5,54	7,35	6,65	6,73	4,57
	Marruecos	1,79	3,86	3,54	4,37	4,32	6,15	4,68	4,19
	Noruega	6,20	4,12	3,53	4,90	4,42	2,27	4,87	5,50

Figura 1. Importancia (%) otorgada a cada atributo por cada grupo de consumidores

geográfica, se prefirió el marroquí. El pescado de 18 €/kg fue rechazado en todos los casos y los consumidores de las CCAA de Andalucía, Cantabria y Murcia prefirieron el pescado más económico (6 €/kg). El análisis de conglomerados permitió diferenciar 8 grupos de consumidores. La Figura 1 muestra el porcentaje de importancia que cada uno de los grupos otorgó a cada uno de los atributos del pescado estudiados.

En la Tabla 1 se presenta la utilidad que los niveles de cada atributo del pescado proporcionaron a cada grupo de consumidores. El grupo más diferenciado fue el 8, el cual se caracterizó principalmente por agrupar consumidores para los que el pescado de crianza y el procedente de Noruega proporcionaban una mayor utilidad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- Gustafsson A., Herrmann A., Huber F. 2003. Conjoint measurement. Methods and applications. Springer-Verlag, Berlin.
- Claret A., Guerrero L., Guàrdia M.D., Hernández M.D., Aguirre E., Ginés R., Olmedo M., Grau A., Rodríguez C., Martínez I. 2009. Assessment of the advantages and disadvantages of fish consumption by Spanish consumers. The 8th Pangbon Sensory Symposium, Florencia.

Estudio socioeconómico sobre la potencialidad del cultivo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*) en Andalucía

P.A.^a Álvarez¹, A.J. Ibanez², C.Ortega², C.López², C.Norman²

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. paalvarez@dap.es

² Carmen Ortega González Consejería de agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía

² Carlos Norman Barea Universidad de Cádiz. Facultad de Ciencias del Mar. Departamento de Biología

Abstract

The fisheries of sea urchin (*Paracentrotus lividus*), as with many other species, has increased substantially in recent decades, which has resulted in a significant overuse of natural populations of our coastal systems. The Ministry of Agriculture and Fisheries of andalusia has adjusted the Andalusian sea urchin fishery to ensure sustainable exploitation by an order setting out the conditions for exercising this activity shellfish. Due to increased demand for this resource, more and more appreciated by haute cuisine, due to their unique taste and excellent nutritional composition, it is considered that the cultivation of this resource as innovative, full of opportunities to grow in captivity, productive and a big market in EU states, besides extending the lines of diversification of aquaculture Andalusia.

The project «Culture of Sea urchin in Andalusia» is aimed at improving the overall technological development of the crop fattening this invertebrate for a possible exploitation of this resource in Andalusia

Because of this, we have made a parallel study on consumption habits in Andalusia, demand, consumer preference, and the relationship of the activity data from shellfishers with the observed data of population. this study reveals the needs and possible success of the introduction of the consumption of sea urchins under cultivation in Andalusia.

Justificación

El proyecto de «Cultivo de erizo de Mar en Andalucía» tiene como objetivo general la mejora del desarrollo tecnológico del cultivo de engorde de este equinodermo para una posible explotación económica de dicho recurso en Andalucía.

Aún así, el Proyecto del Erizo requiere una serie de estudios e iniciativas que complementen los resultados científicos obtenidos de las experiencias investigadoras.

Los estudios económicos y de comercialización, la divulgación del proyecto entre las empresas del sector así como las actuaciones que permitan garantizar la sostenibilidad de las pesquerías, son aspectos importantes a considerar por muy diversas razones.

Los estudios económicos permitirán valorar los costes de la tecnología desarrollada, consumidores actuales y posibles consumidores futuros, así como establecer la producción mínima necesaria que garantice la rentabilidad económica del cultivo.

Dentro de los distintos piensos que están siendo probados para la alimentación artificial, se ha valorado inclusive el coste y rendimiento económico para cada uno de estos, así como las distintas tecnologías empleadas en el engorde.

La divulgación de la experiencia entre las empresas locales propiciará la definitiva transferencia tecnológica al sector empresarial.

Material y Métodos

La recopilación de datos se ha realizado por las distintas zonas costeras de Andalucía donde el consumo de erizo de mar es mayor; ej: Campo de Gibraltar, Bahía de Cádiz, costa norte de Cádiz, Málaga, etc.

Mediante la creación de una encuesta se han ido obteniendo datos sobre consumo, extracción, preferencias sobre el producto, hábitos, etc.

El numero de encuestados ha sido $n \geq 30$.

Personal hostelería Preferencias consumidor

Posteriormente, y mediante un modelo económico de ajuste dinámico de las variables biológicas y económicas de este recurso, se ha estudiado la potencialidad y rentabilidad de el cultivo de esta especie en Andalucía.

Encuestados	Datos obtenidos
Mariscadores	Abundancia Demanda erizos año
Personal centro expedición	Futuro recurso Precios
Consumidores	Consumo anual Valoración del producto
Personal hostelería	Preferencias consumidor

Resultados y Discusión

Analizando los datos observados, la disponibilidad del recurso procedente del sector extractivo es cada vez mas baja desde el año 2000 (Castillo *et al.*, 2001; Castillo y Terrón-Sigler, 2007) Las poblaciones se encuentran en un estado de retroceso, y sigue existiendo un gran problema con el furtivismo muy difícil de estimar y controlar. Introducir el cultivo del erizo de mar en Andalucía, puede ser una oportunidad de diversificación del sector pesquero y acuícola; no solo por su consumo de ámbito regional si no por la cada vez mas creciente demanda nacional e internacional.

En los últimos años, han proliferado diversas empresas dedicadas al procesado y comercialización de este producto, enfocadas a la venta para uso en restauración en este tipo de mercados previamente mencionados.

Aunque este estudio se encuentra en su fase preeliminar, podemos hablar de que nos encontramos con un producto muy establecido y tradicional en algunas localidades andaluzas, con diversas presentaciones y formas, hábitos y épocas de consumo estacional.

En general la valoración del producto por el consumidor es alta lo que nos hace pensar que realizando campañas promocionales adecuadas, este sería un producto de gran aceptación y por ello un buen potencial económico y acuícola.

Bibliografía

- Del Castillo y Rey F., Daza Cordero J.L., Márquez Pascual I. 2001. Estudio integral de la pesquería del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*) y la anémona marina (*Anemonia sulcata*) en las provincias de Granada y Almería. *Informe técnico*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Del Castillo y Rey F., Terrón-Sigler A. 2007. Estudio de las poblaciones de erizo y anémona marinos en las provincias de Granada. *Informe técnico*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Schaefer M.B. 1954. Some aspects of the dynamics of population important to the management of the commercial marine fisheries. *Bull. Inter-Am. Trop. Tuna Comm.* 1(2), 27-56. *Reprinted in Bull. Math. Biol.* 53(1/2), 253-279. 1991.
- Tegner M.J., Basch L.V., Dayton P.K. 1996. Near extinction of an exploited marine invertebrate. *Trends Ecol. Evol.* 11, 278-280.

Ventajas e inconvenientes asociados al consumo de pescado desde una perspectiva cualitativa

A. Claret¹, L. Guerrero¹, E. Aguirre², M.D. Hernández³, B. Álvarez-Blázquez⁴, L. Rincón⁵, I. Martínez⁶, A. Grau⁷, C. Rodríguez⁸

¹ IRTA, Finca Camps i Armet. 17121 Monells (Girona). e-mail: anna.claret@irta

² EPDAP, ³ IMIDA, ⁴ IEO Vigo, ⁵ ULPGC, ⁶ IEO Santander, ⁷ LIMIA, ⁸ CEP

Abstract

Food consumption is influenced by a pool of beliefs and attitudes that consumers have. Most of these beliefs and attitudes are a balance between different motives and barriers that drive consumer behaviour. In the present study, motives and barriers regarding fish consumption were investigated by means of 9 focus groups carried out in different Spanish regions. Health was perceived as the main advantage of fish consumption, while price and inconvenience were cited as the main barriers. Some differences in barriers and motives were observed between consumers depending on their fish consumption, age and gender. The results obtained are a valuable preliminary input for future quantitative studies involving a representative sample of participants.

Justificación

Las actividades relacionadas con el sector pesquero desempeñan un papel fundamental en el desarrollo social y económico de las zonas costeras de nuestro país. Aunque España es uno de los países con un mayor consumo de pescado, éste se encuentra en el límite de las recomendaciones mínimas que las autoridades alimentarias y nutricionales aconsejan (Verbeke *et al.*, 2005; AECOC, 2009). Para mantener e incluso incrementar el consumo de pescado entre los consumidores españoles es especialmente importante estudiar cuáles son las características individuales que determinan su consumo.

El objetivo de este trabajo es determinar las principales ventajas e inconvenientes que los consumidores españoles asocian al consumo de pescado.

Material y Métodos

Se realizaron 9 entrevistas grupales diferentes en 9 comunidades autónomas españolas. En total participaron 85 consumidores, con perfiles socio-demográficos y frecuencia de consumo de pescado diversos (Tabla 1). Durante el desarrollo de las entrevistas, los consumidores debían citar los principales motivos/ventajas y barreras/inconvenientes que asociaban al consumo de pescado. Estos se agruparon en 12 y 9 categorías respectivamente. Se calculó la frecuencia relativa de cada una de ellas y estas se analizaron mediante un Análisis Factorial de Correspondencias Simple.

Resultados y Discusión

En general, los principales beneficios asociados al consumo de pescado fueron los relacionados con la salud (71,76% de los encuestados), la variedad de especies (42,35%) y las propiedades sensoriales (29,41%)

Tabla 1. Datos socio-demográficos y frecuencia de consumo de pescado de participantes en las entrevistas grupales (% de consumidores, n = 85)

CCAA	Andalucía	12,9	Edad	≤ 25 años	14,1	
	Asturias	11,8		De 26 a 50 años	52,9	
	Islas Baleares	11,8		> 50 años	32,9	
	Islas Canarias	7,1	Consumo de pescado	≤ 1 vez por semana	17,6	
	Cantabria	14,4		2-3 veces por semana	67,0	
	Cataluña	9,4		> 3 veces por semana	15,3	
	Galicia	8,2		Nivel de estudios	Básicos	16,5
	Madrid	11,8			Medios	41,2
	Murcia	12,9	Superiores		41,2	
Género	Hombres	48,2				
	Mujeres	51,8				

Tabla 2. Frecuencias relativas de citación de cada categoría de ventajas/motivos e inconvenientes/barreras asociados al consumo de pescado

Ventajas/motivos	%	Inconvenientes/barreras	%
Salud	71,76	Incomodidad al comerlo	57,65
Variedad de especies	42,35	Precio	57,65
Digestibilidad	38,82	Características sensoriales	44,71
Características sensoriales	29,41	Incomodidad para limpiarlo	40,00
Comodidad	25,88	Incomodidad para cocinarlo	31,76
Valor nutricional	23,53	Incomodidad para obtenerlo	27,06
Variedad de formas de cocinarlo	23,53	Seguridad e higiene	22,35
Dieta equilibrada	21,18	Salud	17,65
Relación calidad/precio	14,12	Calidad del pescado de crianza	8,24
Hipocalórico	12,94	Ninguno	3,53
Contexto	12,94		
Frescura	5,88		

(Tabla 2). Asimismo, los principales barreras citadas por los consumidores fueron el precio (57,65%), la incomodidad al comerlo (57,65%) y una vez más las características sensoriales del producto (44,71%) (Tabla 2). En otros países europeos como, por ejemplo en Bélgica, se han obtenido resultados similares (Verbeke *et al.* 2005).

Los consumidores con un mayor consumo de pescado valoraron positivamente su frescura y variedad y citaron como principales inconvenientes su precio y las dificultades que tienen para obtenerlo (proximidad de los establecimientos, horarios...). Los consumidores con un menor consumo destacaron, como principal inconveniente, la incomodidad general que para ellos supone el consumo de pescado. Se observaron diferencias notables entre los participantes de ambos géneros. Las mujeres valoraron positivamente las propiedades sensoriales y la relación calidad/precio del pescado. También destacaron como principales inconvenientes, la incomodidad que para ellas supone la compra y la limpieza del pescado y los aspectos relacionados con la salud (espinas, anisak...). Por su parte, los hombres valoraron la importancia del pescado en una dieta equilibrada y citaron como principales inconvenientes del consumo de pescado su precio y incomodidad de prepararlo. En cuanto a la edad, los consumidores de mayor edad afirmaron que las propiedades sensoriales y su valor nutritivo eran los principales motivos por los que consumían pescado y su precio y la incomodidad al comerlo las principales barreras en su consumo. Por su parte, los consumidores más jóvenes valoraron positivamente la frescura y las características saludables y destacaron la incomodidad que en general comporta el consumo de pescado como principal inconveniente. No se observaron tendencias destacables ni por comunidad autónoma ni por nivel de educación. Estos resultados constituyen la base de estudios cualitativos posteriores, con un número de consumidores representativo de España.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- Verveke W., Vackier I. Individual determinants of fish consumption: application of the theory of planned behaviour. *Appetite* 2005 Feb. 44(1), 67-82.
- AECOC. 2009. «Hábitos de compra, conservación y consumo de los productos del mar en España».

La acuicultura en la heráldica municipal española

F. de Benito^{1,2} y M. Jover^{1,2}

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia (España). Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia. e-mail: mjover@dca.upv.es

² Academia Valenciana de Genealogía y Heráldica. Paseo de la Alameda, 29. Apdo. 18034. 46080 Valencia. e-mail: avghcv@yahoo.es

Abstract

The Aquaculture in the Spanish Municipal Heraldry.

Introducción

En la heráldica municipal española, se presentan figuras zoomórficas y entre ellas estudiamos la de los animales acuáticos, tanto las de agua continental como de agua marina, que tienen relación con la acuicultura, en la actualidad. Los animales acuáticos no ocupan un lugar destacado en los armoriales, ya que esta presencia solo aparece en las autonomías con gran tradición marinera. El objetivo del presente estudio es el de observar la frecuencia con la que se representan los animales acuáticos, en la heráldica municipal española, relacionados con la acuicultura y su blasonamiento.

Material y Métodos

Se han revisado los principales armoriales sobre la heráldica municipal de los diferentes pueblos, villas, ciudades, comarcas y provincias que recogen las armerías españolas, los repertorios de blasones de la comunidad hispana y los minutarios de los Cronistas Reyes de Armas de España. Según el método aplicado en un anterior trabajo (De Benito *et al.* 2007).

Resultados

A efectos metodológicos, podemos subdividir los animales acuáticos relacionados con la acuicultura, en grandes grupos: peces, mamíferos, conchas o veneras y tortugas (Tabla1).

Si bien las diferencias entre las conchas de las distintas especies producidas en la acuicultura son importantes, en heráldica es la concha de Santiago la utilizada en la mayoría de los escudos, se denomina venera. Se pintan de frente, mostrando su lado convexo. Son símbolo del municipio, que participa en la conquista de nuevas tierras para su soberano. En España se utiliza en recuerdo del Patrón de España y en honor del Apóstol Santiago.

Pueden estar blasonadas las armas, con peces sin identificar o por la especie, para utilizarlos como armas parlantes, de estos últimos seleccionamos los relacionados con la Acuicultura. (Tabla2).

Cuando en las descripciones heráldicas se los denomina simplemente peces, sin definir su especie, se recurre a dibujarlos de perfil con el cuerpo alargado, a veces curvado, y con un diseño estereotipado que a menudo no evoca a ninguna especie precisa. Su posición normal es nadando, adiestrados de perfil, mostrando el ojo derecho abierto y el cuerpo cubierto de escamas.

Tabla 1. Número de presencias de animales acuáticos (78) que se encuentran blasonados en la heráldica municipal española

Especie	N.º	Especie	N.º
<i>Peces</i>		<i>Conchas</i>	
Sin identificar	16	Venera	39
Identificados	14	Pechina	1
<i>Mamíferos</i>		Caracola Marina	2
Delfín	1		
Ballena	3	<i>Tortuga</i>	2

Tabla 1. Número de peces identificados con sus respectivas especies que se encuentran blasonadas en la heráldica municipal y estas especies están siendo producidas en la acuicultura

Peces	Acuicultura	N.º	Simbología	Municipios
Atún	<i>Thunnus thynnus</i>	2		Barbate (Cádiz), Conil de la Frontera (Cádiz)
Mujol	<i>Mugil cephalus</i>	1		Lliçà de Vall (Barcelona)
Salmón	<i>Salmo salar</i>	2	Superación de grandes dificultades	Ribeira de Arriba (Asturias), Coiros (La Coruña)
Trucha	<i>Salmo trutta</i>	5	Animo ardiente en la guerra y tranquilo en la paz	Beas del Segura (Jaen) Ribeira de Piquin (Lugo), Madarcos (Madrid) Erasun (Navarra) Hermisende (Zamora)

Atún (*Thunnus thynnus*): **Barbate (Cádiz)**: Cortado. 1º, de gules con un monte de oro sumado de una cruz llana, también de oro, cargado de una estrella de oro; 2º, de azur, con dos atunes de plata puestos en faja; y al timbre, corona ducal. **Conil de la Frontera (Cádiz)**: Escudo partido: 1º, de gules, el castillo de oro, aclarado de gules y mazonado de sable; 2º, de azur, el atún de plata puesto en palo. Al timbre, corona ducal.

Mujol o Cabot (*Mugil cephalus*): **Lliçà de Vall (Barcelona)**: De plata, dos lizas nadando de azur contornadas puestas en palo. Al timbre, corona mural de pueblo.

Salmón (*Salmo salar*): **Ribera de Arriba (Asturias)**: En sinople, una perla de azur, perfilada de plata y cargada en su centro de un salmón de plata. El escudo se timbra con la corona real española. **Coiros (La Coruña)**: De sinople, dos fajas ondadas de plata, acompañadas en jefe de un torre de lo mismo, acostada de dos cruces floradas de oro; en punta, un salmón de oro.

Truchas (*Salmo trutta*): **Beas del Segura (Jaen)**: En campo de sinople, un puente romano de dos ojos, de plata, mazonado de sable, sobre ondas de azur y plata, en medio de las cuales figura una trucha de plata. Sobre el puente, un castillo de plata, almenado y mazonado de sable. El castillo y puente, están cargados por una cruz de Santiago de gules, modelo que actualmente utiliza el Ayuntamiento; si bien conocemos otro diseño, en el que el escudo está acamado a una encomienda de Santiago. Cartela con la divisa en letras de sable: «Muy Noble e Muy Leal Villa de Veas». Contorno hispano-francés y timbre de corona de infante, elementos a sustituir, por el contorno español y la corona real cerrada. **Ribeira de Piquin (Lugo)**: De oro, una trucha de sinople, acompañado de dos fajas ondadas de azur, una en lo alto y otra en lo bajo. Al timbre, corona real cerrada. **Madarcos (Madrid)**: Escudo cortado por una faja vibrada de ondas de plata (dos) y de azur (una). Primero, de gules, una trucha (rectilínea), de oro. Segundo, de sinople, un reloj, de sol de plata (que es un cilindro de granito, en una de cuyas bases se hincan un vástago de hierro). Al timbre Corona Real Cerrada. **Erasun (Navarra)**: Trae de gules y una trucha de oro puesta en palo. **Hermisende (Zamora)**: Escudo medio partido y cortado. Primero de sinople con una iglesia de oro, mazonada de sable. Segundo, de oro con un castaño al natural, frutado de oro y acompañado a la siniestra de un lobo de sable, armado y linguado de oro. Tercero, de gules con un puente de cuatro ojos, de plata, mazonado de sable, puesto sobre ondas de plata y azur en las que nadan cinco truchas de plata. Timbrado de la Corona Real española.

Conclusiones

En la heráldica municipal española, no abundan los animales acuáticos, muy pocos municipios (10) utilizan peces que en la actualidad se están produciendo en Acuicultura. Siendo las Veneras en cambio muy utilizadas, en las regiones con la carga histórica del Camino de Santiago.

Bibliografía

De Benito F., Jauralde I. Jover M. 2007. La Acuicultura en la Heráldica Gentilicia Española. En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*. pp. 853-856. Vigo.

Análisis de potencialidades para acuicultura en zonas dependientes de la pesca: Barbate y Costa da Morte

M. Fernández, M.M. Lara, E. Pereiro, J.C. Macías, E. Osorno y A.A. Álvarez

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. Correo electrónico: mflora@dap.es

Abstract

The selection of new areas for economic activities development such as aquaculture, can bring economic and employment expectations for the Atlantic coastal people, that dependent on fishery, with great traditional connection to the sea. In this context and as a complementary measure to create new sustainable incomes and business development in the Atlantic coastal areas, a study funded by the General Secretariat for the Sea, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino called «Pilot Project of Potential for aquaculture on the organization and compartmentalization of the coast of Barbate and Costa da Morte» was developed.

This study was based on identifying areas currently associated with aquaculture, as well as other economic, cultural and social activities up by implementing a GIS. From identified areas, there are a number of concrete proposals for aquaculture development, and therefore as a measure of local development in study field.

Justificación

La selección de zonas de interés para el desarrollo de nuevas actividades económicas como la acuicultura, pueden aportar expectativas socioeconómicas y laborales para la población de zonas costeras atlánticas dependientes de la pesca, con gran tradición y vinculación al mar. En este marco, y como medida complementaria para la creación de nuevas fuentes de ingresos sostenibles y desarrollo empresarial en zonas costeras atlánticas, se ha desarrollado un estudio financiado por la Secretaria General del Mar, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino denominado «Proyecto Piloto de Potencialidades para la acuicultura relativas a la ordenación y parcelación del litoral de Barbate y Costa da Morte».

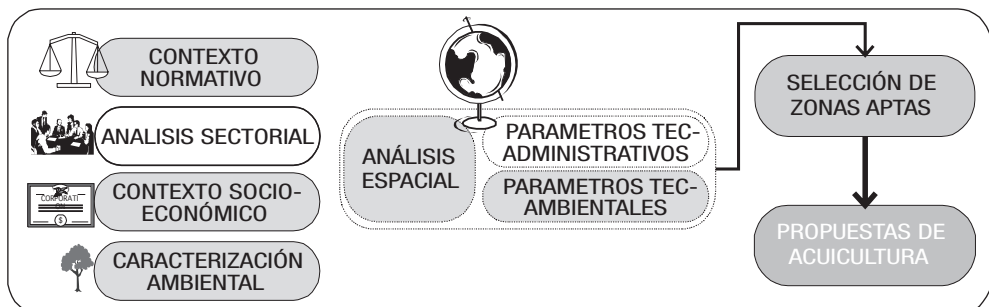
El objetivo del proyecto consistió en la búsqueda de un desarrollo sostenible y ordenado de la actividad acuícola marina empleando una metodología integradora y favorecedora de la planificación de las áreas costeras, y apoyada en los Sistemas de Información Geográfica.

Material y Métodos

Este estudio se ha basado en la identificación de zonas potenciales para el desarrollo de la actividad acuícola, considerando los posibles conflictos entre otros usos o actividades, que se dan en la actualidad y los que podrían darse a medio y largo plazo, por el uso del espacio. Además, considerando la condición de estas zonas costeras, dependientes de forma tradicional de la actividad pesquera, se desarrolló un análisis pormenorizado de su contexto social (empleo, productividad, tejido empresarial, etc.), y un análisis de las condiciones ambientales relacionadas con la idoneidad de realizar distintos tipos de cultivos acuícolas (climatología, calidad del agua, hidrología-oceanografía, etc.).

La información administrativa y medio ambiental fue analizada, interpretada y representada espacialmente mediante un Sistema de Información Geográfica (SIG), herramienta de planificación a partir de la cual

Figura 1. Metodología del estudio en el análisis de potencialidades para la acuicultura



se analizaron las posibilidades de desarrollo acuícola, identificando zonas aptas y zonas con limitaciones, en función de los usos administrativos y las características de las zonas propuestas.

De esta forma, a partir de las zonas identificadas, se han formulado una serie de propuestas concretas de cultivo para el desarrollo acuícola, y por consiguiente como medida de desarrollo local en el ámbito de estudio. Para ello, se ha considerado el tipo de acuicultura presente en la zona, así como las opciones de mercado, viabilidad técnica, ambiental, de ubicación, económica y comercial.

Resultados y Discusión

La serie cartográfica generada integra la actividad acuícola, la disponibilidad de espacios, la información sobre usos y actividades, los condicionantes normativos y otros criterios particulares de la zona.

En relación a la caracterización ambiental, los datos obtenidos muestran que ambos lugares tienen condiciones adecuadas para el desarrollo de iniciativas acuícolas en sus diferentes versiones y tipologías. Las condiciones de Barbate aconsejan cultivos de especies mediterráneas de aguas más cálidas, mientras que las condiciones de la Costa da Morte aconsejan especies de aguas frías.

En la identificación de zonas de interés se han localizado diferentes lugares en los que se podrían desarrollar iniciativas acuícolas. Concretamente, en Barbate se plantean más de 20 propuestas con distintos niveles de producción, especies y destinatarios. De ellas, la mayoría se sitúan en la zona de marismas del río Barbate y en menor medida en la franja marítima. En general, están dirigidas hacia la realización a cultivos semiintensivos en las zonas de marismas así como la posibilidad de instalar centros de producción de alevines y semillas.

En Costa da Morte, las zonas aptas se localizan principalmente en las rías de Camariñas y Corme-Laxe. Se plantean más de 30 propuestas de las cuales la mitad se dirigen hacia proyectos en tierra y la otra mitad a proyectos en mar. En general estas propuestas están enfocadas a dinamizar y potenciar las zonas libres de los polígonos de cultivo en las rías con iniciativas experimentales de especies ordenadas mediante los planes de explotación, así como intentar diversificar las áreas de bancos marisquero y parques de cultivo.

Agradecimientos

Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía y Consellería do Mar, Xunta de Galicia.

Bibliografía

Del Castillo y Rey F., Macías Rivero J.C. 2006. Zonas de interés para el desarrollo de la acuicultura en el litoral andaluz. Dirección General de Pesca y Acuicultura, Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

Modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad para el engorde de sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) en jaulas en mar abierto

J. García García y B. García García

IMIDA. C/ Mayor, s/n. 30150 La Alberca (Murcia). e-mail: jose.garcia21@carm.es

Abstract

We have designed and evaluated an ongrowing plant in sea cages as representative of spanish mediterranean exploitations with an annual production of 1 000 tonnes. The costs analysis points to a profitable business activity, but with a relatively low profitability ($B/C = 7.26\%$) although the B/K index is slightly better (15.29%). The feeding price threshold indicates that the activity is viable up to a cost of € 1.85/kg, while the cost of juvenile threshold (€ 1.17/kg) is much above this range. The econometric model is therefore a very useful tool for evaluating the viability or profitability of new species.

Justificación

El uso de modelos matemáticos basados en la econometría puede emplearse para establecer determinadas variables de producción en nuevas especies a desarrollar comercialmente, convirtiéndose la econometría en una herramienta de gran utilidad para la evaluación económica del engorde de las nuevas especies (García García y García García, 2006). En el presente trabajo se desarrollan modelos econométricos de rentabilidad con la finalidad de estimar parámetros económicos ligados a la producción aún no definidos a nivel comercial, tales como precio de venta, coste del alevín o coste de alimentación. El modelo es válido para unos rangos preestablecidos de dichos parámetros. Para la elección de las variables utilizadas en el modelo se establece la contabilidad de costes de la explotación analizada.

Material y Métodos

Para realizar la analítica de costes en primer lugar se definió la estructura contable con una descripción pormenorizada de estructura de costes de una explotación de engorde en jaulas en mar abierto, con producción anual de 1.000 toneladas, y basada en la tecnología existente para el engorde de dorada (García García *et al.*, 2002) pero teniendo en cuenta las variables zootécnicas de esta especie. La instalación de jaulas consta de 12 jaulas de 24 m de diámetro y 10 m útiles de profundidad. El resumen de capítulos de la inversión inicial se muestra en la Tabla 1.

Se realizaron estimaciones de crecimiento, partiendo de ejemplares de 15 g y hasta que alcanzan el tamaño comercial de 400 g, e iniciando el engorde en cada uno de los meses del año. De las 12 posibilidades se seleccionaron 4 lotes anuales en los que la duración del ciclo es más corto, los índices de conversión son más bajos y, al mismo tiempo, se pueden obtener tallas comerciales a lo largo de todo el año. Para el correspondiente análisis económico usaremos varios parámetros e índices utilizados en la analítica de costes, beneficio/inversión (B/K), beneficio/circulante (B/c), beneficio/coste total (B/C), punto muerto y varios umbrales de rentabilidad. Asimismo, se calcularon los índices VAN y TIR. La Tabla 2 muestra los rangos preestablecidos de las variables utilizadas en el modelo.

Tabla 1. Resumen de capítulo de la inversión inicial de una explotación de 1.000 toneladas/año

Capítulo	Presupuesto
Capítulo I. Instalación de jaulas	884.850
Capítulo II. Edificio multiuso	229.290
Capítulo III. Edificio multiuso	12.020
Capítulo IV. Equipos y maquinaria	471.775
Capítulo V. Varios	166.961
Total inversión	1.752.876

Tabla 2. Rango de las variables utilizadas en el modelo econométrico

	Valores iniciales	Rango de las variables
K (€)	1.752.876	1.402.301-2.103.451
CF (€/kg)	1,62	1,34-1,93
CJ (€/kg)	0,91	0,82-1,02
CO (€/kg)	1,00	0,80-1,20
SP (€/kg)	3,96	3,40-5,10

Resultados y discusión

En la Tabla 3 se muestra un análisis de costes utilizando los valores medios de las variables consideradas. Este análisis nos indica una actividad rentable pero con rentabilidad relativamente baja (B/C = 7,21%) y más eficaz en cuanto al índice B/K (15,20%) debido a que la inversión es también relativamente baja.

Tabla 3. Análisis de costes calculado con los valores de partida (valores medios del rango)

B/K (%)	B/c (%)	B/C (%)	UR (€ kg ⁻¹)	PM (kg año ⁻¹)	UF (€ kg ⁻¹)	UJ (€ kg ⁻¹)
15,29	7,57	7,26	3,69	709,363	1,85	1,17

Las ecuaciones obtenidas para las variables VAN y TIR son las siguientes:

$$\text{VAN} = -458.504,06 - 1,00K - 13.750.322,64C_F - 14.930.486,42C_J - 14.992.031,25C_0 + 13.854.061,25SP$$

$$(P < 0,001; \text{Error de la estimación} = 437,15; R^2_{aj} = 1,0000)$$

$$\text{TIR} = 0,0424 - 3,2 \cdot 10^{-8}K - 0,1241 C_F - 0,1444 C_J - 0,1459 C_0 + 0,1446SP$$

$$(P < 0,001; \text{Error de la estimación} = 0,027; R^2_{aj} = 0,9392)$$

El umbral de alimentación nos indica que la actividad es viable hasta costes de 1,85 €/kg, mientras que el umbral de alevines (1,17 €/kg) está muy por encima del citado rango. Esto nos verifica una gran sensibilidad de la viabilidad económica respecto a la alimentación, mientras que el precio del alevín no es muy determinante. Se ha estimado a partir de las ecuaciones aquí desarrolladas y con los datos aportados por Hernández *et al.* (2007) tres escenarios posibles. Para estas estimaciones calculamos el índice VAN/K y el porcentaje que suponen los costes de alimentación respecto a los costes totales. La Tabla 4 muestra la repercusión del contenido de soja de la dietas sobre la rentabilidad y viabilidad.

Tabla 4. Indicadores económicos estimados a partir de los datos obtenidos por Hernández *et al.* (2007)

Harina de soja	IC	Precio pienso	ICE	VAN	TIR	VAN/K	CF/CPT
20%	2,21	0,76	1,68	971.386	4,69	0,55	44,74
40%	2,34	0,68	1,59	2.208.915	6,23	1,26	43,39
60%	2,48	0,60	1,49	3.583.947	7,94	2,04	41,80

Variables del modelo: Ko = 1.752.876 €; C_F = 1,6 €/kg; C_J = 0,91 €/kg; C₀ = 1,00 €/kg; SP = 3,96 €/kg.

Bibliografía

- García J., Rouco A., García B. 2002. Directrices generales de diseño de explotaciones de engorde de especies acuícolas en jaulas en mar. *Revista Archivos de Zootecnia* 51(196), 469-472.
- García J., García B. 2006. An econometric viability model for ongrowing sole (*Solea senegalensis*) in tanks using pumped well sea water. *Spanish Journal of Agricultural Research* 4(4), 304-315.
- Hernández M.D., Martínez F.J., Jover M., García García B. 2007. Effects of Partial replacement of fish meal by soybean meal in sharp-nout seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture* 263,159-167.

Determinación del riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque en la cría de dorada mediante técnicas PSO de Swarm Intelligence

L. Luna, A. Cobo e I. Llorente¹

¹ Grupo de Investigación Gestión Económica para el Desarrollo Sostenible del Sector Primario. Departamento de Administración de Empresas. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Cantabria. Avenida de los Castros, s/n. CP 39005. Santander. lunal@unican.

Abstract

The breeding of gilthead seabream demands the adoption of complex decisions because of the great amount of factors which have to be considered simultaneously, among which the election of the young fish weight, and the moment of spreading and harvesting to the commercialization of the product in the market can be pointed out. This decision impacts on the breeding profit margin, which is the difference between the present value of the sales income of the gilthead seabream in the market and the cost of young fish spreading and feeding until the harvesting. The target of this work is the implementation of PSO optimization techniques within the determination of the spreading-harvesting sequence which generate a maximum and a minimum breeding profit margin in order to quantify the operational risk derived from such decision in a time horizon.

Justificación y objetivo

La evolución de la actividad económica asociada a la cría de la dorada en España resulta paradójica ya que mientras que la demanda tiene un fuerte crecimiento las empresas no logran rentabilizarla, hasta el punto que el 43% de ellas tuvieron pérdidas en 2007. Esta situación pone de manifiesto que la gestión de este tipo de empresas no es una tarea sencilla debido a la globalización del mercado que genera una importante variabilidad en la oferta y en el precio, la dimensión de las empresas que limita su capacidad financiera y comercial y la complejidad de la gestión en la que deben adoptarse decisiones en las que interactúan una gran cantidad de factores.

El objetivo de este trabajo es determinar el riesgo operativo derivado de la estrategia de siembra y despesque de los distintos lotes que se produzcan en un horizonte temporal. Con este fin se cuantifica el margen bruto de cría y se aplican técnicas de optimización PSO en la determinación de la secuencia de siembra y despesque que generan un margen bruto de cría máximo y mínimo.

La variabilidad y cantidad de factores que inciden en el riesgo operativo requirió el desarrollo de un software específico, aportando como aplicación empírica el resultado de dicho sistema por m³ en un horizonte temporal de 5 años en Canarias y Levante.

El riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque

El riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque se cuantifica en porcentaje como la variabilidad máxima que puede tener el margen bruto de cría en un horizonte temporal. Calculando dicho margen como el valor actual de los ingresos procedentes de la venta de las doradas en el mercado menos el coste de siembra del alevín y de la alimentación hasta el momento del despesque de los lotes que se produzcan en el horizonte temporal predeterminado.

El software que determina la estrategia de siembra y despesque óptima tiene en cuenta: el número de unidades (jaulas/tanques) de la explotación, las existencias iniciales, la fecha, el retardo en la siembra (lo que significa que no se tiene que sembrar inmediatamente después del despesque), los precios de mercado de los alevines y la dorada según peso y estacionalidad, el precio del pienso, las tasas diarias de crecimiento (SGR) y alimentación (DFR) en la ración máxima recomendada para la alimentación ad libitum del pienso en los valores estándar, la biomasa máxima admisible y la tasa de descuento.

Técnica de optimización: Particle Swarn Optimization (PSO)

La inteligencia de enjambre (*Swarm Intelligence*) hace referencia a diversas técnicas utilizadas en el ámbito de la Inteligencia Artificial y que se basan en la idea de que grupos de agentes sencillos y poco organizados pueden exhibir un comportamiento complejo. Estas técnicas, iniciadas por Kennedy y Eberhart en 1995, son menos conocidas que otras técnicas metaheurísticas, como los algoritmos genéticos, aunque diversos estudios experimentales ponen de manifiesto su mejor efectividad para abordar determinados

problemas de optimización combinatoria (Mouser y Dunn, 2005; Uysal y Bulkan, 2008). De acuerdo al esquema general de un algoritmo PSO, cada una de las partículas que compone el enjambre tendrá asociado un vector de posición que marcará la planificación asociada y que se irá actualizando de forma iterativa buscando cada vez mejores planificaciones. Cada posición determina igualmente un margen bruto de cría. La estructura de cada uno de estos vectores, en cada una de las iteraciones del algoritmo, en los n lotes que como máximo se pueden tener en el periodo, es:

$$P_i(t) = (re_{i,1}(t), pd_{i,1}(t), pa_{i,1}(t); re_{i,2}(t), pd_{i,2}(t), pa_{i,2}(t); \dots; re_{i,n}(t), pd_{i,n}(t), pa_{i,n}(t))$$

$re_{ik}(t)$ número de días de retardo $pd_{ik}(t)$ peso objetivo de despesque $pa_{ik}(t)$ peso del alevín a sembrar

Los valores de los vectores de posición se inicializan con valores aleatorios dentro de un rango prefijado y el proceso se detiene cuando no se produce mejora en un número de iteraciones predeterminado.

Resultados y Discusión

El riesgo operativo por m^3 a la temperatura media del agua en Canarias y Levante es:

Tabla 1. Riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque

Localización	Mejor planificación		Peor planificación		Riesgo operativo
	N.º lotes	Margen bruto de engorde	N.º lotes	Margen bruto de engorde	
Canarias	5	191,24 €/m ³	4	135,96 €/m ³	40,66%
Levante	4	138,86 €/m ³	4	119,96 €/m ³	15,76%

Condiciones de la planificación: horizonte temporal de 5 años a partir del 1 de enero, densidad máxima de biomasa de 20 kg/m³, tipo de interés aplicado del 5%, máximo retardo de 60 días, pesos admisibles para despesque entre 300 y 700 g, pesos admisibles de alevines entre 3 y 10 g, precio dorada y alevín función del peso y no estacional y pienso prefijado.

El resultado obtenido, aún cuando se refiere a un caso con unas restricciones de planificación muy grandes, pone de manifiesto el elevado riesgo operativo de la estrategia de siembra y despesque. Este resultado indica también la importancia que tendría para los gestores de las empresas el apoyo de un sistema que determine la estrategia de siembra y despesque óptima siempre que los parámetros de diseño permitan adaptarlo a las peculiaridades específicas de cada explotación: escala, número de unidades productivas, existencias iniciales y restricciones comerciales y operativas de despesque.

Agradecimientos

Trabajo realizado en el marco de un convenio de colaboración con la Secretaría General del Mar.

Bibliografía

- Kennedy J., Eberhart R. 1995. Particle swarm optimization. En: *Proceedings of the IEEE International Conference on Neural Networks (ICNN)*. Perth, Australia, volume 4, pp. 1942-1948.
- Mouser C., Dunn S. 2005. Comparing genetic algorithms and particle swarm optimisation for an inverse problem exercise. *ANZIAM Journal* 46, 89-101.
- Uysal O., Bulkan S. 2008. Comparison of genetic algorithm and particle swarm optimization for bicriteria permutation jowshop scheduling problem. *International Journal of Computational Intelligence Research* 4(2), 159-175.

Modelos de cánones de saneamiento de las Comunidades Autónomas españolas en la acuicultura continental

F. Martín Palmero¹, F. González Laxe y J. Prado Domínguez

¹ Instituto Universitario de Estudios Marítimos. Edificio de Investigación. Campus de Elviña. 15071 A Coruña (España). iuem@udc.es

Abstract

Continental aquaculture has had a significant presence in the primary sector of Spanish economy for more than 40 years; and, particularly, the sub-sector related to trout farming appears as a pioneer in this activity. Thus, it is necessary to have a specific design of the taxes, as this kind of companies are part of an international competitive market in which the best use of the economies of scale is a determining factor.

On the other hand, regarding to regulation and legislation, we have to talk about different environmental taxes, depending of the Spanish Autonomous Communities, the year of implementation, and also the legislation currently in force in each of these Communities. Lastly, we carry out a comparative analysis of different taxes in the Autonomous Communities, assuming that the volume spilled is the same as the volume consumed.

Introducción

El sector productor acuícola continental de una comunidad autónoma está caracterizado por su participación en un mercado competitivo a nivel mundial, por lo que las empresas que lo conforman son precio-aceptantes de un «precio mundial del producto», que les viene dado de forma exógena. El equilibrio a largo plazo se produce cuando:

$$IMe = Img = P = CMe = CMg \quad [1]$$

Por ello, el aprovechamiento de economías de escala es determinante, y se busca minimizar los costes medios a largo plazo, y definir correctamente la capacidad de las empresas:

$$CT = CF + CV \rightarrow CT = CF + \sum_{ci} Q_t \quad [2]$$

$$CT = CF + C_{agua} Q + \sum_{ci} Q_t \quad [3]$$

Entonces, ¿qué sucede con los costes medios y con los costes marginales?

$$C_{Me} = CT/Q \rightarrow C_{me} = CF/Q + \sum_{cit} \rightarrow C_{Me} = CF/Q + C_{agua} + \sum_{cit} \quad [4]$$

$$C_{Mg} = dCT/dQ \rightarrow C_{mg} = \sum_{cit} \rightarrow C_{Mg} = C_{agua} + \sum_{cit} \quad [5]$$

La introducción del canon de saneamiento, tributo de tipo pigouviano, con tipo de gravamen proporcional t ($0 < t \leq 1$) por unidad de consumo de agua, supone un notable incremento de costes relativos, al carecer de coeficientes reductores para que no se pierda el principio de proporcionalidad entre hecho imponible y carga tributaria y se contrarreste la doble imposición en las zonas o casos en que son de aplicación simultánea la normativa estatal y autonómica.

Regulación (ver Tabla 1)

Análisis Competencial

Para realizar un análisis comparativo de las *diferencias de tributación* por canon de saneamiento, elaboramos las siguientes hipótesis:

- Los datos de carga contaminante facilitados, corresponden con los incrementos de la carga contaminante de entrada y salida del agua en la piscifactoría.
- Las concentraciones máximas y medias de los parámetros del vertido son iguales.
- El volumen vertido es igual al volumen consumido.

Partiendo del esquema de liquidación general por carga contaminante y particularizándolo con las medidas que cada comunidad autónoma ha introducido para modificar la cuota de las piscifactorías (allí donde esté implementado el tributo específico), se obtiene un análisis comparado de las diferencias de tributación entre Comunidades Autónomas.

Tabla 1. Tipología de tributos ambientales de las comunidades autónomas españolas y año de implantación

Comunidad autónoma	Canon de saneamiento de agua	Canon de vertidos líquidos	Impuesto sobre emisiones a la atmósfera	Impuesto sobre instalaciones	Impuesto sobre productos energéticos	Canon de residuos	Impuesto sobre depósito de residuos peligrosos
Andalucía		1994	2003				2003
Aragón	1997		2006				
Asturias	1994						
Baleares	1991			1991 (i)	1999 (i)		
Canarias		1987 (*)			1986		
Cantabria	2002						
Castilla-León							
Castilla-La Mancha	2002 (*)		2000		2000		2000
Cataluña	1981					2003	
Comunidad Valenciana	1982						
Extremadura				1997	1997		
Galicia	1993		1995				
La Rioja	1994						
Madrid	1984					2003	
Murcia	2000	2006	2006			2006	
Navarra	1989						
País Vasco							

Notas: (i) Tributo declarado inconstitucional. (*) Tributo aprobado pero no aplicado.

Tabla 2. Análisis comparado de las diferencias de tributación entre comunidades autónomas

Andalucía	$C = \text{carga contaminante} \cdot \text{tarifa} \cdot \text{coeficiente multiplicador}$ $LC = (Q \times CMES/300 \times COT/150 \times P/15 \times NTK/55) \times 10 \times 0,375$
Asturias	$C = Q \times [a + (PssMES) + (PdQO DQO) + (Pntk NTK)]$ $LC = Q \times (0,3044 \text{ MES} + 0,2706 \times DQO + 0,8456 \times NTK)$
Cantabria	$C = \text{Fijo} + Q \times [\sum (Pi \times Ci \times Ksi \times Kdi)] \times Kr$ $LC = 4,40 + Q \times [\sum (Pi \times Ci)] \times Kr$
Castilla-León	Todavía no ha implementado el canon de saneamiento
Galicia	$C = Q \times (PMES + Pss SS + Pmo Mo + Pmet MET + Pmi MI)$ $LC = Q \times (0,193 \text{ MES} + 3,106 \text{ SS} + 0,387 \text{ MO})$
Aragón	Piscifactorías exentas al estar asimiladas a explotaciones ganaderas
Cataluña	$C = Q \times [\sum (Pi \times Ci \times Cpi \times Ksi \times Kdi)] \times Kc \times F] \times Kr \times \text{Coef. Uso}$ $LC = Q \times [(Pi \times Ci \times Cpi \times Ksi \times Kdi) \times Ka \times F] \times Kr \times 0,005$
Murcia	$C = (Qs + Qc \times Q) \times Cc$ $LC = (10.398 + 0,22Q) \times 0,001$
La Rioja	$C = 0,32 \times Q \times (K_1 \times SS/SSo + K_2 \times DQO/DQO_0 + K_3 \times C(Co) \times K_4)$ $LC = 0,32 \times Q \times [K_1 \times SS/SSo + K_2 \times DQO/DQO_0 + K_3 \times C(Co) \times (0,000 \text{ ó } 0,015)]$
Valencia	$C = (Qs + Qc \times Q) \times Cc$ $LC = (2.759,19 + 0,287 Q) \times 0,001$

Notas: (C) Canon. (LC) Liquidación Canon.

Liquidación del canon de saneamiento en la acuicultura continental

F. Martín Palmero¹, F. González Laxe y J. Prado Domínguez

¹ Instituto Universitario de Estudios Marítimos. Edificio de Investigación. Campus de Elviña. 15071 A Coruña (España). iuem@udc.es

Abstract

The different assumptions concerning liquidation of taxes carried out highlight the fact that the tax burden on continental aquaculture facilities, derived from the application of the various environmental taxes on spills is very different depending on the Spanish Autonomous Community.

Likewise, the assessment of the different tax systems analysed in environmental and economic terms produces not very positive results and we have to talk about a quite limited level of efficiency. The most positive results are those related to taxes on the building of hydraulic facilities and the drainage of sewage waters, with positive environmental results, although not more than any other taxes with having a design applied to the same spending programmes.

Finally, we include some conclusions based on the analysis carried out about the different liquidations in each Spanish Autonomous Community.

Tributación por canon autonómico de la utilización de agua en piscifactorías continentales

A continuación, y con el objeto de determinar las diferencias de tributación, se realiza una comparativa de las diferentes liquidaciones, tomando como referencia el Canon de Saneamiento de Galicia, Comunidad Autónoma líder en la producción acuícola-piscícola de España, que presenta la cuota anual más elevada.

Conclusiones

Los trabajos realizados sobre supuestos de liquidación ponen de manifiesto que la carga fiscal varía notablemente entre Comunidades Autónomas. Esa divergencia entre cargas fiscales sobre el mismo tipo de actividad, igualdad de tamaño del vertido y similitud de carga contaminante obedece fundamentalmente a tres circunstancias:

- Las **figuras tributarias** que se deben aplicar **varían entre comunidades autónomas**. Mientras que en unas comunidades sólo se debe aplicar el canon de control de vertidos estatal (correspondiente a las federaciones hidrográficas), en otras es preciso añadir un canon de saneamiento autonómico o una figura tributaria similar (canon de aguas o canon de vertidos líquidos).
- La **forma de cálculo** de la base imponible y **los tipos impositivos** de los diferentes cánones autonómicos **difieren** entre unas comunidades autónomas y otras.
- En **algunas** comunidades autónomas **existen coeficientes correctores** y otros procedimientos de minoración de la carga tributaria de las instalaciones de acuicultura, mientras que en otras **no es posible realizar** dicha corrección.

Otras conclusiones que se pueden extraer del análisis de las diferentes liquidaciones efectuadas para cada una de las comunidades autónomas son las siguientes:

Tabla 1. *Tributación por canon autonómico de la utilización de agua en piscifactorías continentales*

	Cuota anual Galicia (€)	Cuota anual La Rioja (€)	Cuota anual Cataluña (a) (€)	Cuota anual Cataluña (b) (€)	Cuota anual Cataluña (c) (€)	Cuota anual Asturias (€)	Cuota anual Cantabria (€)
Instalación PEQUEÑA (3,153 millones m ³)	2.525,51	3,98	4.020,71	99,02	2,17	2.240,00	2.104,48
Instalación GRANDE (43,629 millones m ³)	166.444,24	245,42	55.424,57	1.369,95	142,57	140.930,65	131.171,08
Instalación MEDIANA (17,568 millones m ³)	29.640,16	44,79	22.326,94	551,63	25,40	25.587,05	23.597,60

Tabla 2. *Tributación por canon autonómico de la utilización de agua en piscifactorías continentales (continuación)*

	Cuota anual Valencia (€)	Cuota anual Murcia (€)	Cuota anual Navarra (a) (€)	Cuota anual Navarra (b) (€)	Cuota anual Andalucía (a) (€)	Cuota anual Andalucía (b) (€)
Instalación PEQUEÑA (3,153 millones m ³)	907,84	704,19	6,53	922,43	0,63	1,89
Instalación GRANDE (43,629 millones m ³)	12.524,31	9.608,80	391,48	12.761,51	30,54	91,62
Instalación MEDIANA (17,568 millones m ³)	5.044,76	3.875,35	71,97	5.138,63	5,975	17,92

Cataluña: (a) Tarifa Industrial General, (b) Tarifa Industrial Específica, (c) Carga contaminante basada solamente en MES, MO/DBO/DQO y SS. Navarra: (a) Carga contaminante basada solamente en MES, MO/DBO/DQO y SS, (b) Índice Corrector = 0,5. Andalucía: (a) Instalaciones con vertidos por debajo de los objetivos de calidad. (b) Instalaciones con vertidos por encima de los objetivos de calidad.

- El canon de saneamiento que supone una mayor carga fiscal para las instalaciones de acuicultura continental es el de la comunidad autónoma de Galicia. Se da la circunstancia de que esta comunidad es precisamente la líder en producción de España.
- Las comunidades autónomas que siguen a Galicia en producción acuícola continental, Castilla-León y Castilla-La Mancha, no tienen figuras tributarias autonómicas del mismo tipo que el canon de saneamiento gallego, sino que simplemente deben pagar como tributo ambiental el canon de control de vertidos de las confederaciones hidrográficas.
- Además del caso de Galicia, de todos los cánones autonómicos de saneamiento sólo los aplicados en Asturias y Cantabria presentan una carga fiscal significativa sobre las piscifactorías de agua continental. Al igual que Galicia, tanto Asturias como Cantabria no cuentan con normativas específicas sobre piscifactorías en sus cánones de saneamiento ni con coeficientes correctores para estas instalaciones, aspecto que determina la existencia de cuotas tributarias elevadas en los cánones de saneamiento.
- Las comunidades autónomas con normativa específica sobre piscifactorías a la hora de aplicar los cánones ambientales y con coeficientes correctores para las instalaciones de acuicultura continental son las que presentan unas cargas tributarias menores sobre las piscifactorías. Ese es el caso, cumpliendo determinados supuestos, de Cataluña, La Rioja, Navarra e incluso Valencia si contase con instalaciones de agua dulce. En consecuencia, el análisis detallado de la proporcionalidad entre carga fiscal y carga contaminante ha conducido a determinadas comunidades a reducir significativamente las cuotas tributarias por canon de saneamiento en las instalaciones de acuicultura continental, mientras que aquellas comunidades que no han introducido estos coeficientes correctores aplican unas tarifas tributarias muy elevadas en relación con la carga contaminante generada por estas instalaciones.

Bibliografía

- Braungart M., McDonough W. 2005. *Cradle to Cradle (De la cuna a la cuna)*, McGraw-Hill, Madrid.
- Gago A., Labandeira X. 1997. *La imposición ambiental: Fundamentos, tipología comparada y experiencias en la OCDE y España*, mimeo, Vigo.
- Gago A., Labandeira X., Picos F., Rodríguez M. 2005. *La imposición ambiental autonómica*, mimeo, Vigo.
- Labandeira X., León C.J., Vázquez M.X. 2007. *Economía ambiental*, Pearson Educación Prentice Hall, Madrid.
- Martín Queralt J. 2005. *Los fines extrafiscales de los gravámenes sobre el agua conforme a las políticas hidrológicas europea y española y su adecuación a ellos del canon de regulación y de la tarifa de utilización de agua regulados en el texto refundido de la Ley de Aguas*, mimeo, Valencia.
- Pérez de Ayala J.L. 197). *Las cargas públicas: principios para su distribución*. *Hacienda Pública Española* 39.
- Sociedad Española de Presas y Embalses. 1999. *Libro blanco del agua en España*, Sociedad Española de Presas y Embalses, Madrid.

Estructura financiera de las empresas españolas de acuicultura

J. A. Millán¹ y N. Aldaz²

¹ Universidad Politécnica de Madrid. ETSIA. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. e-mail: joaquin.millan@upm.es

² Universitat de Lleida. ETSEAM. Rovira Roure. 25198 Lleida. e-mail: natalia@aegern.udl.es

Abstract

Se analiza la estructura del activo y del pasivo de los balances de un panel de empresas españolas de acuicultura entre 2001 y 2006 por medio del análisis de correlación canónica. Se observa un primer componente muy importante asociado a la rentabilidad de las empresas, y un segundo componente asociado a liquidez. El patrón es diferente al más habitual en las pequeñas y medianas empresas españolas.

Justificación

Este trabajo analiza la estructura financiera de las empresas de acuicultura por medio del análisis de correlación canónica. A diferencia de otros análisis financieros basados en la elaboración de ratios contables, se identifican así las relaciones existentes entre las dos hojas de balance, mostrando las correspondencias existentes entre las decisiones de inversión (activo) y de financiación (pasivo), y se sugieren implicaciones respecto a actuación y crecimiento de las empresas de acuicultura.

El estudio de la interdependencia entre las dos hojas de balance por análisis de correlación canónica fue iniciado en Stowe *et al.* (1980). Más recientemente, van Auken y García Pérez de Lema (2003) lo han aplicado a un panel amplio de empresas españolas.

Material y Métodos

El análisis de correlaciones canónica es una técnica de estadística multivariante para estudiar la interdependencia de dos grupos de variables ($\{u_1, \dots, u_p\}$; $\{v_1, \dots, v_q\}$). El análisis de correlaciones canónicas realiza una transformación en buscar nuevas variables ($X = \{x_1, \dots, x_p\}$; $Y = \{y_1, \dots, y_q\}$) se supone que $p < q$ tal que: 1 todas las x_i y todas las y_j tienen media cero y varianza unidad; 2 cualquier x_i en el grupo p tiene correlación nula con cualquier otra x_j del grupo p , y análogamente para cualquier par y_i, y_j en el grupo q ; 3 las correlaciones entre las X y las Y se anulan excepto para p correlaciones, p_1, \dots, p_p , que son las correlaciones entre x_1 e y_1 , x_2 e y_2, \dots, x_p e y_p , respectivamente, siendo p_1 es la mayor correlación que se puede encontrar entre una función lineal de las U y una función lineal de las V , p_2 es la mayor correlación entre funciones lineales de U y V que no estén correlacionadas con aquellas que contribuyen en p_1 , y así sucesivamente.

La interpretación de los resultados se realiza más fácilmente sobre las correlaciones («cargas») de las variables originales con las respectivas variables canónicas, que sobre los coeficientes de la transformación. Las cargas interpretar como los valores que permiten obtener las variables originales normalizadas (media cero y varianza unitaria) a partir de las correspondientes variables canónicas.

Los datos proceden de la base de datos SABI. Se han tomado los balances disponibles de 197 empresas de acuicultura operativas en 2007, desde 2001 hasta 2006; la representación es variable desde 168 empresas en 2005 a 112 en 2001. Como en van Auken y García Pérez de Lema (2003) se han agrupado las observaciones de todos los años, contándose un total de 864 observaciones. Las variables se miden como estructura, dividiendo por el activo total. Para la correlación canónica se toman cinco variables de activo (inmovilizado material, inmovilizado inmaterial, existencias, deudores y tesorería) y cuatro variables de pasivo (capital, otro propio, exigible a largo plazo y exigible a corto plazo).

Resultados y Discusión

Teniendo en cuenta que el grupo menor (pasivo) sólo tres variables linealmente independiente (las cuatro suman uno) habrá un máximo de tres correlaciones canónicas. De ellas, las dos primeras son muy significativas, según las pruebas F de Wilks o de Pillai (la tercera da $p = 0,08$, y no es tenida en cuenta aquí).

La Tabla 1 muestra las cargas de los dos primeros pares de variables canónicas.

Las primeras cargas son positivas en otro propio, principalmente, y otro activo, y negativas mayormente en exigible a corto plazo y existencias. Estas variables indican la importancia de los resultados acumulados en la estructura del balance de las empresas de acuicultura. Teniendo en cuenta que las primeras variables ca-

Tabla 1. Cargas de las variables canónicas

	x_1	x_2		y_1	y_2
Inmov. Material	-0,22	-0,80	Capital	-0,04	-0,30
Inmov. Inmat.	0,28	-0,31	Otro propio	0,85	0,33
Existencias	-0,66	0,51	Exig. Largo	-0,20	-0,93
Deudores	0,21	0,50	Exig. Corto	-0,83	0,54
Otro activo	0,89	0,21			

nónicas en balance suelen recoger coberturas (como se verá en la segunda variable canónica aquí), este resultado refleja el riesgo asociado en la práctica a las inversiones en acuicultura, o si se prefiere, la variabilidad de resultados en la explotaciones de acuicultura. La interpretación de esta variable como resultados acumulados se refuerza al comprobar correlaciones significativas por un lado con los ratios de resultados de explotación y EBITDA respecto a activo, y por otro lado con la antigüedad de las empresas.

Las segundas variables canónicas reflejan con valores negativos la cobertura del inmovilizado (principalmente material) con deuda a largo plazo, sobre todo, y recursos propios. Otros recursos propios y deuda a corto plazo financian masas patrimoniales menos permanentes. Es una relación esperable.

Agradecimientos y reconocimiento

Esta investigación se inició financiada con el proyecto ALG04-7303. Una versión previa con una base de datos mucho más reducida se presentó en AQUA2006.

Bibliografía

- Stowe J.D. Watson C.J., y Robertson D. 1980. Relationships between the two sides of the balance sheet: A canonical correlation analysis. *Journal of Finance* 34(4), 973-980.
- Van Auken H.E., Garcóa Pérez de Lema D. 2003. Financial Strategies of Spanish Firms: A Comparative Analysis by Size of Firm. *Journal of Small Business and Entrepreneurship* 17(1), 17-30.

ARouSA. Una aplicación en Visual Basic para la evaluación de stocks de bancos marisqueros

J. M. Parada¹ y J. Molares²

¹ CETMAR. Eduardo Cabello s/n. Vigo. España. jparada@cetmar.org / paradajm@gmail.com

² CIMA. Centro de Investigaciones Mariñas. Apdo. 13. 36620 Vilanova de Arousa. España.

Abstract

A Visual Basic application for Excel 2003 that facilitates the evaluation of commercial benthic invertebrate populations has been developed. This tool allows the implementation of standard methods for stock assessment, virtual population analysis and calculation of mortality rates. Standard reports are generated in Excel or HTML format that allows the user to process the results with other programs. The application is available on <http://sites.google.com/site/arousa09> free for use in non-profit.

Justificación

Desde 2002 el CIMA y el CETMAR vienen desarrollando, por encargo de la Consellería do Mar el «Plan de actuación para la recuperación de los bancos marisqueros Lombos do Ulla y O Bohído (Ría de Arousa)». Uno de los principales objetivos de esta encomienda es el asesoramiento técnico a los encargados de la explotación de los recursos de estos bancos para llevar a cabo una gestión sostenible. Entre los resultados alcanzados destaca el diseño y la puesta en marcha de una serie de procedimientos técnicos para el análisis de los stocks de invertebrados bentónicos en los bancos marisqueros, que facilita la recogida de los datos necesarios para el asesoramiento en formatos homogéneos y compartibles. En respuesta a la demanda de convergencia metodológica por parte de los técnicos de las cofradías de pescadores y de la propia Administración, se desarrolló, en el ámbito del proyecto, la aplicación ARouSA. Esta herramienta informática permite el empleo de procedimientos estandarizados en la evaluación de stocks facilitando las labores de análisis y elaboración de informes.

La ausencia de procedimientos normalizados o la acumulación de resultados elaborados junto con la consiguiente pérdida de los datos originales, han sido dos de las debilidades identificadas en el sistema de asesoramiento técnico-científico a la gestión del marisqueo en Galicia (Parada, 2007). Estas dificultades podrían ser minimizadas con la implantación de una herramienta como la que aquí se propone.

Material y Métodos

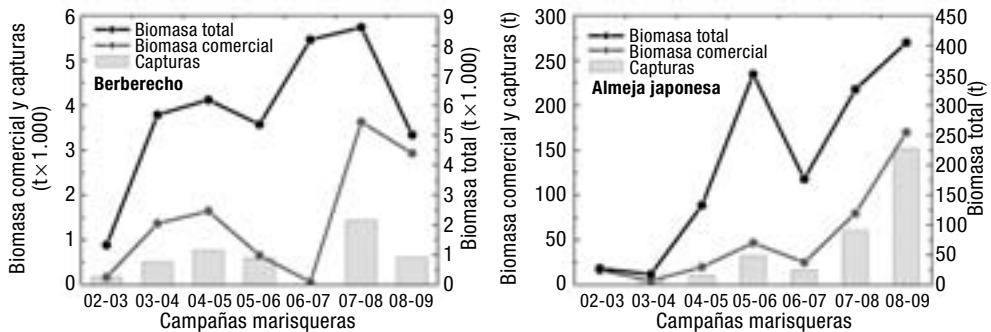
La aplicación está basada en Visual Basic para Excel (Microsoft Office 2003) y permite realizar dos tipos de cálculos de stock, denominados análisis parcial y análisis completo. El primero hace referencia al cálculo de stock de poblaciones distribuidas en agregados, a partir de muestreos grandes (número de muestras > 30) o pequeños ($n < 30$), según los procedimientos descritos en Elliott (1967). El análisis completo parte de los resultados del análisis parcial en estratos homogéneos de un banco, para incluirlos en el procedimiento específico de muestreos estratificados (Elliott, 1967; Krebs, 1999).

Para los cálculos se requiere conocer: superficie del área estudiada y de las unidades de muestreo, talla de los ejemplares capturados o frecuencia de tallas en las muestras, talla mínima comercial y relación talla-peso de especie estudiada. A partir de los datos de superficie y de frecuencia de tallas de los ejemplares procesados, la aplicación calcula las densidades de cada clase de talla para estimar el stock en términos de ind/m^2 . A cada clase se le asigna un peso obtenido a partir de la relación talla-peso, para estimar el stock en términos de biomasa. La relación talla-peso puede ser almacenada en un catálogo de regresiones.

Se incluyen tres herramientas complementarias: una para el cálculo, comparación y almacenamiento de regresiones talla-peso; otra para el cálculo de tasas de mortalidad natural y por pesca para cohortes predefinidas (Parada y Molares, 2008); y una última de análisis de poblaciones virtuales, que permite realizar inferencias sobre la evolución de una población o una cohorte en el tiempo, a partir de su estructura de tallas inicial, de un modelo de crecimiento, de una relación talla-peso y de una tasa de mortalidad, definidas por el usuario.

Para cada especie en cada estrato o en el conjunto del banco se obtiene, con un intervalo de confianza del 95%, estimaciones de densidad, peso por unidad de superficie y peso total, para cada clase de talla, así como para el conjunto del stock, el stock comercial y el no comercial. Además, cada uno de los análisis y

Figura 1. Estimaciones de biomasa antes del inicio de las campañas marisqueras y capturas totales obtenidas en cada una de ellas en Lombos do Ulla



herramientas complementarias permite la emisión de un informe estándar en formato Excel o html que posibilita el tratamiento posterior de los resultados numéricos y gráficos con otras aplicaciones.

Resultados y Discusión

Las evaluaciones de stocks realizadas con ARouSA en el banco marisquero de Lombos do Ulla (Ría de Arousa) entre 2002 y 2008 han arrojado unas estimaciones satisfactorias, observándose concordancia entre el stock comercial estimado previamente al inicio de cada campaña extractiva y las capturas totales obtenidas en cada una de ellas (Fig. 1).

La aplicación desarrollada puede descargarse en <http://sites.google.com/site/arousa09> y es de uso libre por personas, instituciones o entidades para actividades sin ánimo de lucro.

Bibliografía

- Elliot J.M. 1977. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. *Freshwater Biological Association. Scientific Publication* 25, 1-160.
- Krebs C.J. 1998. *Ecological methodology*. Addison. Wesley Longman, Menlon Park. 320 pp.
- Parada J.M. 2007. Asesoramiento técnico a las organizaciones de mariscadores para el manejo de los recursos marinos. En *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura* 2, 915-920.
- Ortega A., Linares F., Rodríguez J.L., Ruiz N., Figueiro R. 1977. Experiencias de engorde de rodaballo (*Psetta maxima*, L.) en jaulas. En: *Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura*. pp. 885-890.
- Parada J.M., Molares J. 2008. Natural mortality of the cockle *Cerastoderma edule* (L.) from the Ria of Arousa (NW Spain) intertidal zone. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(3), 501-511.

Efecto del espectro de luz y fotoperiodo en el crecimiento, desarrollo y supervivencia en el lenguado *Solea senegalensis*

B. Blanco-Vives, N. Villamizar y F.J. Sánchez-Vázquez

Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. España. borja@um.es

Abstract

This study was focused on the effects during metamorphosis of Senegal sole larvae (*Solea senegalensis* Kaup., 1858), under different photoperiods and light spectrum. Five different light treatments were applied to the larvae: A) red light, 12L:12D (LD R); B) blue light, 12L:12D (LD B); C) white light, 12L:12D (LD W); D) continuous white light (LL); and E) continuous dark (DD). Those larvae that were under the LL and DD photoperiods died before starting of metamorphosis. The larvae that most quickly evolved were those in the LD B treatment, showing smaller deformities in the jaw. These results show the importance of the light spectrum and photoperiod for *Solea senegalensis* larvae, the best performance being achieved under the light conditions that best approached those of their natural aquatic environment (LD B). These findings should be considered when designing rearing protocols for larvae in aquaculture.

Justificación

El ciclo del día y la noche es uno de los principales retos que tienen que afrontar los peces en la naturaleza (Yoseda *et al.*, 2008). El impacto de la luz afecta al crecimiento y a la supervivencia de larvas de peces (Vallote *et al.*, 2007), pero poca atención se presta a la influencia y las características de la luz artificial. En este estudio queremos ver que efectos tienen luces de diferentes longitudes de onda en el desarrollo larvario del lenguado.

Material y Métodos

Para el estudio, huevos y larvas de lenguado (*Solea senegalensis*) se mantuvieron en acuarios de 80 litros de fondo plano hasta el día 25 tras la eclosión (dph). Se diseñaron lámparas utilizando LED's de alta luminosidad, que permiten un claro pico de irradiancia a una determinada longitud de onda (Luz roja, $\lambda = 641-718$ nm; Luz azul, $\lambda = 435-500$ nm). Se usaron dos acuarios por tratamiento: A) Luz roja, 12L:12D (LD R); B) Luz azul, 12L:12D (LD B); C) Luz blanca, 12L:12D (LD W); D) Luz blanca, continua (LL); y E) Oscuridad continua (DD). Las larvas se fijaron con formaldehído, se examinaron bajo un esteroscopio binocular cada dos días y se observaron los cambios biométricos en función de las distintas luces.

Resultados y Discusión

A partir del día 9 dph observamos que las larvas en LD B crecieron de forma significativa con respecto al resto de tratamientos. Estudios previos realizados en lubina bajo condiciones similares (Villamizar *et al.*, 2009) ponen de manifiesto que LL y DD son condiciones inapropiadas para el desarrollo y supervivencia

Figura 1. Evolución del crecimiento de las larvas con cada fotoperiodo. Letras diferentes hacen referencia a diferencias significativas entre grupos (ANOVA, $p < 0,05$)

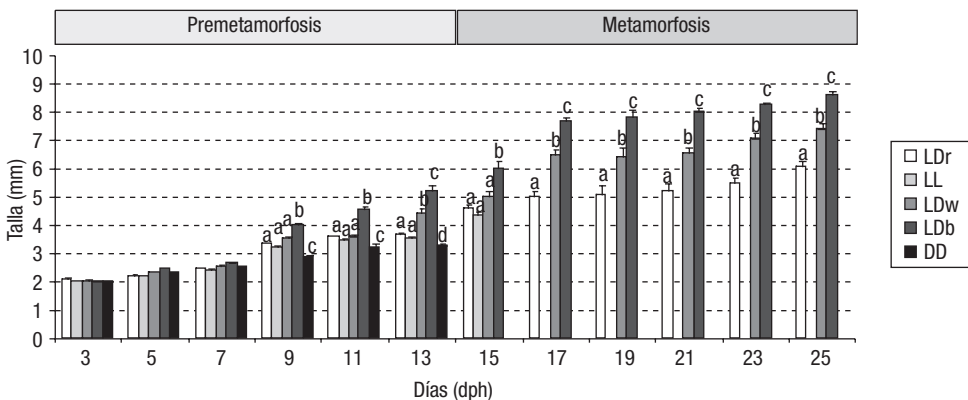
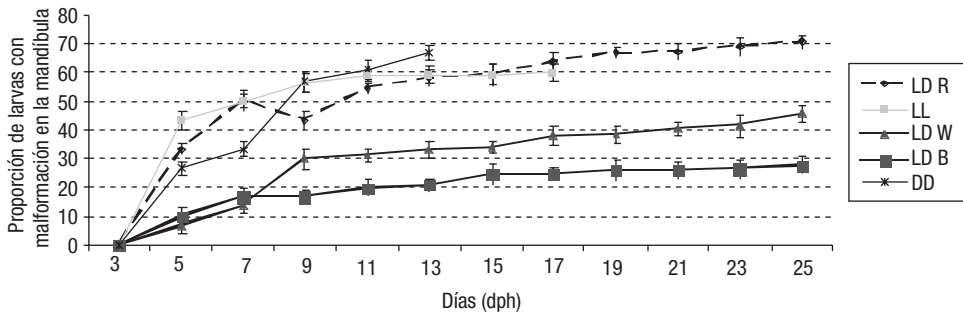


Figura 2. Proporción de larvas con malformaciones en la mandíbula durante el periodo experimental.

de las larvas. Esto concuerda con nuestro estudio, donde larvas bajo fotoperiodos de LL y DD murieron sin llegar a realizar la metamorfosis (Fig. 1).

Las larvas que estuvieron sometidas a LD B iniciaron la metamorfosis el día 13 tras la eclosión (dph), en LD W comenzaron el día 15 DHA, mientras que las que estuvieron expuestas a LD R comenzaron el día 19 DHA (Fig. 2). Fue necesario que las larvas tuvieran 4,2 mm de longitud total (Lt) para que tuviera lugar la metamorfosis. La migración del ojo se produjo cuando las larvas alcanzaron de 4,8-5,5 mm de longitud cuando el fotoperiodo fue de LD B y LD W, pero en las que estaban sometidas a un fotoperiodo de LD R hasta que no alcanzaron los 6,4 mm no se produjo la migración del ojo. Además, el mayor porcentaje de malformación de la mandíbula se vió en el grupo de LD R (70,4%) y el menor en las del grupo LD B (27,7%) (Fig. 2). Por lo tanto, como ocurre con otras especies de peces como la lubina, el crecimiento temprano del lenguado está relacionado con el tipo de luz y fotoperiodo que se le aplique durante su fase larvaria, siendo el LD B el óptimo para esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación del Ministerio de Ciencia y Tecnología AGL 2007- 66507- C02- 02 de F.J. Sánchez- Vázquez. Los autores quieren agradecer la colaboración prestada al I.E.O de Santander.

Bibliografía

- Vallote, D., K. Lahiri, T. Dickmeis, N. Foulkes. 2007. Start the clock! Circadian rhythms and development. *Dev. Dyn.* 236, 142-155.
- Villamizar, N., A. García-Alcázar y F.J. Sánchez-Vázquez. 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture.* 292, 80-86.
- Yoseda, K, K. Yamamoto, K. Asami, M. Chimura, K. Hashimoto, S. Kosada. 2008. Influence of light intensity on feeding, growth and early survival of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardos*) larvae under mass-scale rearing conditions. *Aquaculture.* 279, 55-62.

Efecto de la ración alimenticia y densidad de cultivo sobre el crecimiento y la expresión de genes del sistema inmune innato en lenguado

E. Salas-Leiton¹, V. Anguís¹, J.V. Planas², J.P. Cañavate¹ y M. Manchado¹

¹ IFAPA Centro El Toruño. Junta de Andalucía. Camino tiro de pichón, s/n. 11500–El Puerto de Santa María. Cádiz.
e-mail: manuel.manchado@juntadeandalucia.es

² Departament de Fisiologia. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. 08028 Barcelona

Abstract

Density and ration are two important factors influencing growth and immunocompetence in fish. To evaluate the effects of both factors during on-growing in Senegalese sole, four groups of animals (148.32 ± 50.3 g) were reared throughout 60 days under two initial stocking densities (7 and 30 kg m⁻²) and two rations (0.25 and 1.0% biomass). No differences in the SGR were found between densities in spite of soles at high density had elevated plasma cortisol levels. As expected, animals fed ration 0.25% showed reduced SGR (3.5 folds lower than those fed at 1.0%). At transcriptional level, g-type lysozyme and hepcidin were greatly affected by both factors showing reduced mRNAs in soles fed the lowest ration and at high densities. The profound effects of both factors on the expression of these key genes from the innate immune system make necessary an optimization of the intensive production conditions considering not only growth but immunological status to avoid disease outbreaks.

Justificación

La densidad de cultivo y la ración alimenticia son dos factores de gran importancia en acuicultura ya que pueden afectar al crecimiento, bienestar y salud de los peces. En términos productivos, se ha demostrado que *Solea senegalensis* puede ser cultivada satisfactoriamente en densidades comprendidas entre 30-45 kg m⁻² (Salas-Leiton *et al.*, 2008). Sin embargo, existe poca información referente al efecto que la densidad de cultivo ejerce sobre la fisiología y la expresión de genes implicados en el sistema inmune de lenguados en fase de engorde. En el presente trabajo se determinó los niveles plasmáticos de cortisol y se cuantificó la expresión génica mediante PCR en tiempo real de los genes del sistema inmune innato lisozima g y hepcidina (HAMP1) en lenguados cultivados bajo dos densidades (densidad inicial de 7 y 30 kg m⁻²) y dos regímenes alimenticios (0,25 y 1% de la biomasa).

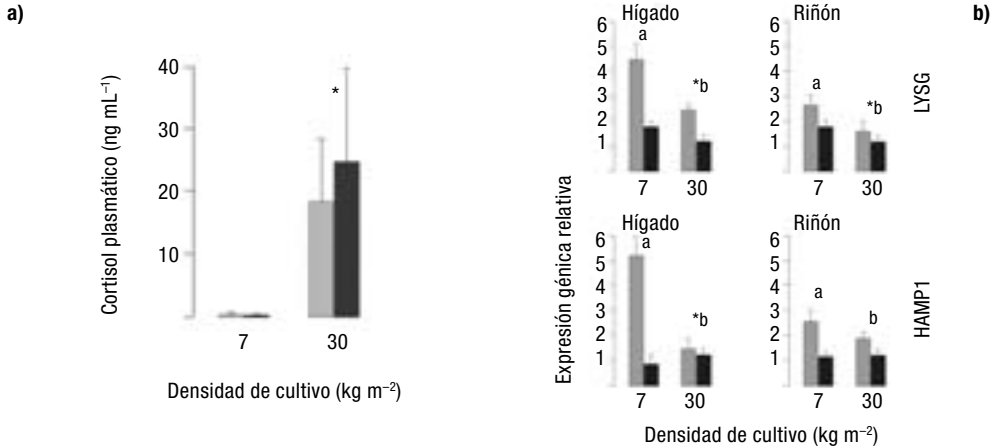
Material y Método

Un grupo de 576 ejemplares de *S. senegalensis* ($148,32 \pm 50,3$ g) cultivados en el centro IFAPA El Toruño se establecieron inicialmente a dos densidades diferentes: 7 y 30 kg m⁻². Además, para cada densidad se utilizaron dos raciones alimenticias diferentes, 1,0 y 0,25% de la biomasa del tanque. El crecimiento [SGR = $(e^g - 1) * 100$; $g = (\ln W_t - \ln W_0) / (t - t_0)$] fue determinado a partir de los pesos registrados los días 0, 20, 40 y 60. Una vez finalizado el experimento, día 60, se tomaron muestras sanguíneas, así como de hígado y riñón, de 9 individuos pertenecientes a cada condición. La cuantificación de cortisol se realizó mediante radioinmunoensayo (CORT-CT2, Iba Molecular Spain, S.A.). Para la cuantificación de la lisozima g y HAMP1 se siguió la metodología descrita en Infante *et al.* (2008) utilizando cebadores específicos y utilizando la ubiquitina como normalizador.

Resultados y Discusión

La densidad de cultivo no afectó el SGR ($P < 0,05$) a día 60 para una misma ración alimenticia, confirmando la tolerancia, en términos productivos, de *S. senegalensis* para ser cultivada en el intervalo 30-45 kg m⁻² (Costas *et al.*, 2008; Salas-Leiton *et al.*, 2008). Como era de esperar, la ración alimenticia afectó el crecimiento obteniendo un SGR reducido en la ración de 0,25%. Al estudiar los niveles de cortisol plasmático se observó que los lenguados cultivados a alta densidad presentaban niveles más elevados (Fig. 1a) indicando un alto nivel de estrés. Esto coincide con lo observado por Costas *et al.* (2008). A nivel de expresión tanto la ración reducida como la alta densidad de cultivo reducían los niveles de ARNm (2-5 veces) de la lisozima g y HAMP1, tanto en hígado como en riñón (Fig. 1b). Nuestros resultados sugieren que ambos factores jugarían un papel clave en la inmunocompetencia del lenguado durante el engorde con especial relevancia en la lucha frente a patologías.

Figura 1. a) Concentración de cortisol plasmático (a) y expresión relativa de la lisozima g y HAMP1 en hígado y riñón de lenguados inicialmente estabulados a 7 y 30 kg m⁻² y alimentados con una ración del 1,0 (gris) y 0,25% (negro) de biomasa. Los datos de expresión indican número de veces promedio (media ± SEM, n = 9) respecto al grupo calibrador (30 kg m⁻²; 0,25% biomasa de peces). El asterisco representa diferencias estadísticamente significativas entre densidades de cultivo. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre raciones



Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR). Plan Nacional del Cultivo de Lenguado.

Bibliografía

- Costas, B., C. Aragao, J.M. Mancera, M.T. Dinis y L.E.C. Conceição. 2008. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. *Aquacult. Res.* 39, 1-9
- Infante C., M.P. Matsuoka, E. Asensio, J.P. Cañavate, M. Reith y M. Manchado. 2008. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in larvae from flatfish using real-time PCR. *BMC Mol. Biol.* 9:28.
- Salas-Leiton, E., V. Anguís, M. Manchado, J.P. Cañavate. 2008. Growth, feeding and oxygen consumption of *Senegalese sole* (*Solea senegalensis*) juveniles stocked at different densities. *Aquaculture* 285, 84-89

Preengorde de corvina (*Argyrosomus regius*) en diferentes salinidades ambientales

A.B. Tinoco¹, A. Rodríguez-Rúa¹, I. Ruiz-Jarabo², L.H. Vargas-Chacoff²,
J.M. Mancera² y S. Cárdenas²

¹ IFAPA. 11500 El Puerto de Santa María., Cádiz. E-mail: salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia

² Facultad de Ciencias Marinas y Ambientales. Universidad de Cádiz. 11510 Puerto Real. Cádiz

Summary

The effects of two different environmental salinities (12 and 39‰) on growth, osmoregulation and energy metabolism of juvenile *Argyrosomus regius* (4.32 ± 0.07g mean initial body weight), after a period of 6 weeks were investigated. Specimens acclimated to 12‰ salinity presented higher growth, weight gain, specific growth rate, diary growth rate, condition factor, hepatosomatic index and protein efficiency rate that those acclimated to 39‰ salinity. Plasma osmolality, and gill and kidney Na⁺,K⁺-ATPase activities were unaffected for environmental salinity. Plasma cortisol and metabolites (glucose, lactate and triglyceride) levels enhanced in 39‰ acclimated specimens suggesting a chronic stress situation. Tissues (liver, gill, kidney) metabolic changes observed in this salinity also suggested a stress situation. Our results showed that *A. regius* is able to acclimate to different osmotic conditions (from 12‰ to 39‰ salinity), but acclimation to 39‰ induced a stress situation and a poor growth respect to 12‰ salinity.

Justificación

La corvina (*Argyrosomus regius*) es un teleosteo de alto valor comercial, cuya cría está extendiéndose por la región suratlántica andaluza. En esta zona la piscicultura marina se encuentra íntimamente ligada a la explotación en esteros, zonas sometidas a grandes variaciones de salinidad según las condiciones meteorológicas, o en piscifactorías situadas en la desembocadura de grandes ríos (Guadiana y Guadalquivir) donde situaciones de baja salinidad son habituales. El objetivo de este estudio es analizar la influencia de la salinidad ambiental sobre la cría de corvina, con vistas a la determinación de la salinidad óptima para el preengorde, en la cual la reducción del coste metabólico osmorregulador podría reflejarse en una mejora del crecimiento y utilización del alimento por parte del animal (Bouef y Payan, 2001).

Material y Métodos

Los juveniles de corvina (*Argyrosomus regius*) se obtuvieron en las instalaciones del Centro IFAPA *El Toruño*, a partir de un stock de reproductores propio. Los ejemplares (n = 234; 4,32 ± 0,07g de peso húmedo; 94 días de edad) se distribuyeron aleatoriamente en 8 tanques rectangulares de 125 L, divididos en dos salinidades ambientales (12 y 39‰). Los tanques con salinidad 39‰ se mantuvieron en circuito abierto; mientras los de 12‰ estaban en circuito cerrado. Los juveniles se estabularon durante 45 días bajo condiciones naturales de temperatura (22.4 ± 0,1°C) y fotoperiodo. La alimentación se llevo a cabo diariamente (excepto el día antes del sacrificio) mediante pienso granulado a una ración del 4.4% de la biomasa de los peces. El día 45 se realizó el muestreo final, se tomaron muestras biológicas, además de determinar parámetros biométricos y de eficiencia alimentaria del cultivo: peso (P), factor de condición (K), tasa diaria de crecimiento (DGR), tasa específica de crecimiento (SGR), factor de conversión (FCR) y eficiencia proteica (PER). Los siguientes parámetros fueron analizados en plasma: osmolalidad, glucosa, lactato, proteínas totales, triglicéridos y cortisol. Se realizaron biopsias de riñón y branquias para la determinación de la actividad Na⁺,K⁺ ATPásica. El análisis estadístico se llevo a cabo mediante ANOVA de una vía, para la eliminación de valores atípicos, y test de Tukey, para comparar entre los diferentes grupos.

Resultados y Discusión

La escasa mortalidad observada durante el desarrollo del experimento (2% en salinidad 12‰ y 3% en salinidad 39‰) indica la buena adaptabilidad de esta especie a las condiciones de estudio. El análisis de los parámetros biométricos estudiados (Tabla 1) nos muestra un crecimiento significativamente mayor en salinidad 12‰. Los índices de eficiencia alimentaria muestran también un aprovechamiento alimenticio significativamente mayor en aquellos especímenes cultivados a salinidad 12‰. Estos resultados concuerdan con los obtenidos durante fases posteriores de cultivo de *A. regius* (El-Shehly *et al.*, 2007).

No se apreciaron diferencias significativas en la osmolalidad plasmática (Tabla 2) ni en las actividades Na⁺,K⁺ ATPásica branquial y renal, lo que nos indica que *A. regius* es una especie con una gran capacidad osmorreguladora. Los valores obtenidos en glucosa, lactato, triglicéridos y cortisol (Tabla 2) parecen indi-

Tabla 1. *Parámetros biométricos y de eficiencia alimentaria (media \pm S.E.M.) en juveniles de *A. regius* (94-139 DDE) expuestos a dos salinidades ambientales ($n = 60$, 4 réplicas por grupo). Diferentes índices expresan diferencias significativas ($P < 0,05$, ANOVA y test de Tukey)*

Salinidad (‰)	Pf (g)	K	DGR ($\text{g} \cdot \text{día}^{-1}$)	SGR ($\% \cdot \text{día}^{-1}$)	FCR	PER
12	21,6 \pm 0,5 ^a	1,20 \pm 0,05 ^a	0,41 \pm 0,01 ^a	3,83 \pm 0,04 ^a	1,14 \pm 0,02 ^a	2,5 \pm 0,4 ^a
39	17,2 \pm 0,5 ^b	1,18 \pm 0,05 ^b	0,31 \pm 0,00 ^b	3,30 \pm 0,02 ^b	1,34 \pm 0,02 ^b	1,9 \pm 0,4 ^b

Tabla 2. *Parámetros plasmáticos osmorreguladores y metabólicos, de juveniles (139 DDE) de *A. regius* cultivados a dos salinidades ambientales ($n = 24$, 2 réplicas por grupo). Diferentes índices expresan diferencias significativas ($P < 0,05$, ANOVA y test de Tukey)*

Salinidad (‰)	Osmolalidad (mOsm/kg)	Glucosa (mM)	Lactato (mM)	Proteínas ($\text{g} \cdot \text{dL}^{-1}$)	Triglicéridos (mM)	Cortisol ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
12	271 \pm 2 ^a	5,56 \pm 0,47 ^a	1,88 \pm 0,17 ^a	32,33 \pm 1,34 ^a	8,59 \pm 0,65 ^a	8,95 \pm 0,95 ^a
39	274 \pm 3 ^a	15,46 \pm 0,77 ^b	2,27 \pm 0,21 ^a	29,99 \pm 1,10 ^a	16,86 \pm 1,58 ^b	12,91 \pm 0,92 ^b

car una situación de estrés crónico en aquellos peces cultivados a salinidad 39‰, que podría ser la causa del menor crecimiento obtenido a esta salinidad (Wendelaar-Bonga, 1997). En la salinidad del 39‰ los valores de triglicéridos hepáticos disminuyen significativamente ($3,511 \pm 0,574$ frente a $8,040 \pm 1,513$) y aumentan a nivel plasmático (Tabla 2). Según el ciclo de vida de *A. regius*, y en base a nuestros resultados, podríamos sugerir que el preengorde de esta especie a una salinidad del 39‰ parece provocar una situación de estrés que originaría el menor crecimiento observado a esta salinidad; siendo la salinidad del 12‰ más adecuada para esta fase del cultivo. Sin embargo, son necesarias nuevas investigaciones sobre el preengorde de *A. regius* a diferentes salinidades ambientales para confirmar esta hipótesis.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas).

Bibliografía

- Boeuf G. y P. Payan. 2001. How should salinity influence fish growth?. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 130C: 411-423.
- El-Shebly AA., MAH. El-Kady, AB. Hussin y YMd. Hossain. 2007. Preliminary observations on the pond culture of meagre, *Argyrosomus regius* (Asoo, 1801) (Sciaenidae) in Egypt. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 2: 345-352.
- Wendelaar-Bonga SE. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*. 77: 591-625.

Componentes estrogénicos y crecimiento en peces de cultivo

S. Puchol¹, E. Sánchez¹, E. Leal¹, B. Muriach¹, M.J. Agulleiro¹,
J.M. Navas² y J.M. Cerdá-Reverter¹

¹ Departamento de Fisiología de Peces y Biotecnología. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Torre de la Sal, s/n. 12595 Ribera de Cabanes. Castellón.

E-mail: cerdarev@iats.csic.es.

² Departamento de Medio Ambiente. INIA

Abstract

Last tendencies in protein and lipid substitution for fish diets are associated to a high risk in bringing in estrogenic substances capable to disrupt the physiology of reared fish. Several papers have demonstrated the steroid regulation of fish growth. Our experiments demonstrate that the administration of sexual steroids dramatically inhibits growth via a reduction of food intake level and food conversion rate. We also demonstrate the presence of estrogenic compounds in commercial fish diets. Results strongly suggest that the presence of estrogenic compounds in substitutive diets may reduce growth rate via inhibition of feeding behaviour and reduction of food conversion rate in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*).

Justificación

En la última década se han realizado esfuerzos para encontrar fuentes proteicas y oleicas alternativas. La inclusión de soja en la formulación ha provocado la incorporación de fitoestrógenos, tales como las isoflavonas. Dichos fitoestrógenos son moléculas estructuralmente relacionadas con los estrógenos animales. Su relación estructural permite unirse y activar los receptores de estrógenos, emulando sus efectos. En peces, se ha demostrado que los fitoestrógenos dietarios como la genisteína y daidzeína, presentes en la soja, pueden provocar distorsiones del eje reproductor (revisado por Pelissero y Sumpter, 1992). La acción de los esteroides sexuales no se reduce a su participación en los procesos reproductivos, sino que además, intervienen en la regulación de múltiples procesos biológicos. Nuestra hipótesis plantea que los componentes estrogénicos presentes en las dietas de sustitución pueden disminuir la eficiencia de conversión y los niveles de ingesta, afectando al crecimiento de las especies cultivadas. El objetivo del este trabajo fue desarrollar métodos para la detección de componentes estrogénicos y ver como estos pueden afectar al crecimiento, ingesta y conversión alimenticia de la lubina (*Dicentrarchus labrax*), una de las principales especies cultivadas en Europa.

Material y Métodos

Efecto de los estrógenos sobre la ingesta, conversión alimenticia y crecimiento de lubina.

Cien lubinas de aproximadamente 252,4±2,54 g se repartieron en 10 tanques de 500 litros (n = 10). Los animales se trataron con 50 µg/g estradiol (E50, n = 3 tanques), 50 µg/g testosterona (T50, n = 3 tanques), o sin esteroides (CTRL, n = 4 tanques) mediante implantes silásticos. En un segundo experimento diseñado para corroborar los resultados previos y estudiar el efecto de los andrógenos no aromatizables, cien lubinas de 235,59 ± 2,92 g distribuidas de igual forma se implantaron con 10 µg/g (E10, n = 3 tanques) o 50 µg/g (E50, n = 2 tanques) de estradiol, 50 µg/g de 11K-androstenedione (A50, n = 2 tanques) o sin esteroides (CTRL, n = 3 tanques). Mediante el uso de un sistema computerizado de autodemanda y recolección de los pienso no ingeridos se registró la ingesta durante 30 días consecutivos.

Desarrollo de un método para la evaluación de la estrogénicidad

El receptor de estrógenos de lubina ESR1 se clonó en un vector de expresión bajo el control un promotor constitutivo. Este se transfectó en una línea celular de riñón humano (HEK293) que ya expresa de forma estable el gen de la luciferasa bajo el control de un promotor que porta elementos de respuesta al receptor de estrógenos (ERE). Los clones expresando de forma estable el gen de la luciferasa y el ESR1 se seleccionaron mediante adición de puomicina al medio de cultivo. Bajo este sistema, la activación del receptor se traduce en un aumento de actividad luciferasa detectable mediante luminometría.

Detección de componentes estrogénicos en los piensos de cultivo

Entre 3-5 gramos de pienso se homogenizaron de forma mecánica y 1 gramo de homogenizado se extrajo con 5 ml de metanol. Tras centrifugación, el sobrenadante se recuperó y secó en corriente de nitrógeno. El extracto se resuspendió en 200 µl de metanol y se almacenó a -20°C hasta su ensayo.

Figura 1. Curvas dosis-respuesta de las diferentes líneas celulares expresando de forma estable el receptor de esteroides de lubina

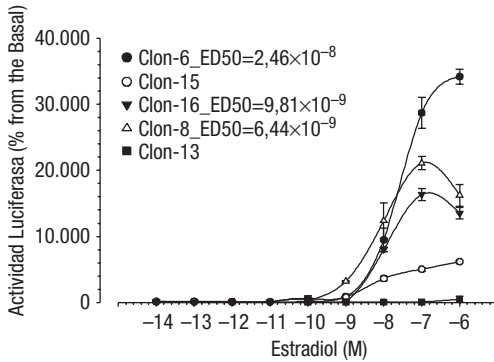


Figura 2. Actividad estrogénica presente en piensos comerciales utilizando el sistema celular desarrollado (Fig. 1)

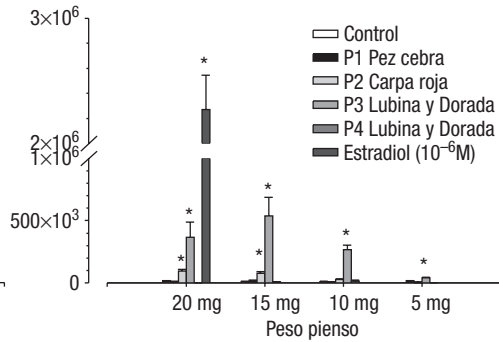


Tabla 1. Efecto de los esteroides sexuales sobre el crecimiento de lubina tras 30 días de tratamiento

Treatment	Peso (g)	Talla (cm)	g peso (%)	g talla (%)	Conversión
<i>Experimento 1</i>					
CTRL	331,9 ± 5,17 ^a	29,01 ± 0,133 ^a	0,84 ± 0,02 ^a	0,19 ± 0,002 ^a	1,38 ± 0,06 ^a
T50	279,5 ± 5,26 ^b	28,05 ± 0,152 ^b	0,32 ± 0,04 ^b	0,09 ± 0,006 ^b	2,13 ± 0,27 ^b
E50	289,2 ± 6,32 ^b	28,01 ± 0,178 ^b	0,33 ± 0,05 ^b	0,05 ± 0,015 ^c	2,35 ± 0,05 ^b
<i>Experimento 2</i>					
CTRL	342,3 ± 6,25 ^a	29,71 ± 0,38 ^a	1,01 ± 0,04 ^a	0,26 ± 0,194 ^a	1,65 ± 0,04 ^a
E50	301,6 ± 9,64 ^c	28,35 ± 0,26 ^b	0,62 ± 0,12 ^b	0,13 ± 0,071 ^b	2,32 ± 0,02 ^b
E10	334,5 ± 7,79 ^{ab}	29,32 ± 0,21 ^{ab}	0,99 ± 0,038 ^a	0,23 ± 0,164 ^a	1,54 ± 0,09 ^a
A50	307,5 ± 6,08 ^{bc}	28,82 ± 0,19 ^{ab}	0,97 ± 0,055 ^a	0,24 ± 0,113 ^a	1,69 ± 0,04 ^a

Resultados y Discusión

Mediante el uso de líneas celulares de mamíferos y transfección de el receptor de esteroides de lubina, ESR1, en combinación con el gen de la luciferasa hemos desarrollado un sistema muy sensible para la determinación y cuantificación de sustancias estrogénicas (Fig. 1). El sistema revela la presencia de componentes estrogénicos en los piensos comerciales utilizados para el crecimiento de lubinas y doradas, incluso en niveles muy superiores a los presentes en piensos de animales herbívoros (Fig.2). Los experimentos de implantes de esteroides demuestran un efecto negativo de los estrógenos sobre la ingesta (no mostrado), el crecimiento y la conversión de alimento en la lubinas de talla comercial (Tabla.1).

Los resultados sugieren sólidamente que la presencia de componentes estrogénicos en los piensos de sustitución utilizados para el cultivo de peces puede comprometer el crecimiento de juveniles de lubina.

Agradecimientos

Financiado por los proyectos AGL2007-65744-C03-02 y CSD 2007-00002.

Bibliografía

Pelissero, C., Sumpter, J.P. 1992. Steroid and steroid-like substances in fish diets. *Aquaculture* 107: 283-301.

Efecto de dos dietas comerciales sobre la calidad de la puesta de dorada (*Sparus aurata*)

H. Fernández-Palacios¹, D. Schuchardt¹, J. Roo¹, C.M. Hernández-Cruz¹ y G. Rosenlund²

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM-ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35214 Telde. Las Palmas. email: pipo@iccm.rcanaria.es

² Skretting Aquaculture Research Centre AS, P.O.Box 48. N-4001 Stavanger. Norway

Abstract

Two diets were tested, one based on fish meal (Vitalis Repro, Skretting) supplemented with natural food (mussels, and cuttlefish) and the other based on squid meal (Vitalis Cal, Skretting) on gilthead seabream spawning quality. Two experimental groups were formed with a total of 30 fishes distributed; 2 ♀ and 1 ♂ in 10 1m³ tanks (5 per diet). The results of this study showed an improvement in the spawning quality in terms of number of spawns, percentage of fertilized eggs, viable eggs, hatching and production per kg female when the broodstocks were fed diets based on the squid meal.

Justificación

En muchos peces cultivados, el comportamiento reproductor imprevisible y variable es un importante factor limitante para la producción masiva de semilla. Una mejora en la alimentación y nutrición de los reproductores no solo mejora la calidad de huevos y espermatozoides, si no también la producción de semilla. Varios estudios han puesto de manifiesto el efecto beneficioso de la alimentación de los reproductores de espáridos con sepia, calamar o las harinas preparadas de estos cefalópodos, sugiriendo que presentan componentes nutritivos esenciales para la reproducción.

Material y Métodos

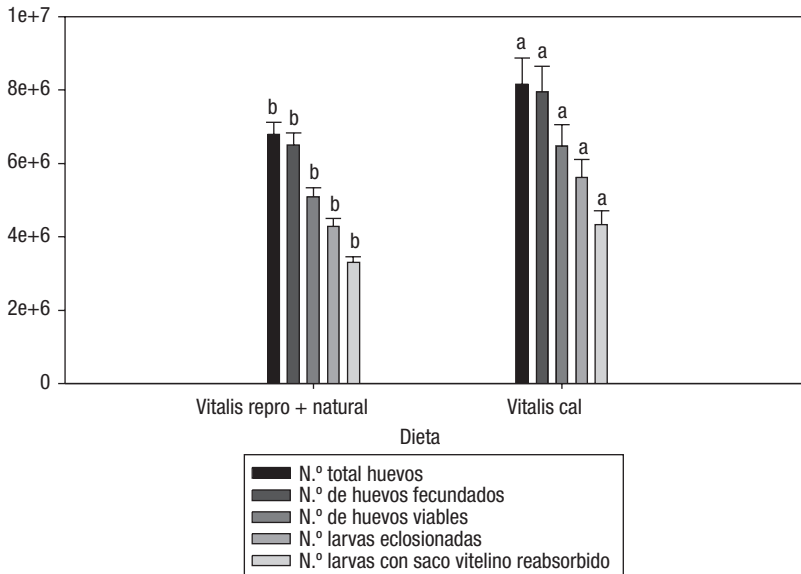
Treinta ejemplares de dorada, procedentes del stock de reproductores del Instituto Canario de Ciencias Marinas, fueron seleccionados al azar y distribuidos en diez tanques de fibra de 1 m³ de capacidad (5 por dieta). La proporción de machos y hembras en cada tanque fue de 2:1. Los reproductores fueron alimentados, tres veces por semana, fuera del periodo de puesta, con un pienso basado en harina de pescado Vitalis Repro (Skretting), desde el momento en que fueron estabulados en los tanques de puesta se establecieron dos grupos experimentales: uno se continuo alimentando con este pienso dos veces en semana y con alimento fresco (mejillón y choco) una vez en semana, y el otro con un pienso basado en harina de calamar Vitalis Cal (Skretting) tres veces a la semana. La ración fue del 1% de la biomasa de cada tanque. La calidad y producción de los dos grupos experimentales se determino siguiendo la metodología descrita por Fernández-Palacios *et al.* (1995). Los resultados obtenidos se han expresado como media \pm desviación típica de la media. Los datos se compararon estadísticamente utilizando el test de la t de Student.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron puestas de los cinco grupos de reproductores alimentados con Vitalis Cal y de cuatro de los alimentados con la otra dieta. Los resultados de este estudio mostraron una mejora en la calidad de las puestas (Tabla 1), en términos de número de puestas, porcentaje de huevos fecundados, de huevos viables y de eclosión cuando los reproductores fueron alimentados con la dieta basada en la harina de calamar. Un incremento en la viabilidad fue también observada por Watanabe *et al.* (1984) cuando el pargo japonés fue alimentado con una dieta basada en harina de calamar. De una manera similar la sustitución del 50%

Tabla 1. Parámetros de la calidad de las puestas

	Vitalis repro y natural	Vitalis cal	P
Nº puestas	120 \pm 6,00	169,33 \pm 25,35	P < 0,05
% huevos fecundados	95,84 \pm 7,86	97,59 \pm 4,08	P < 0,01
% huevos viables	74,96 \pm 13,88	79,10 \pm 14,03	P < 0,01
% eclosión	83,48 \pm 11,45	87,06 \pm 13,77	P < 0,01
% larvas S. Vitelino reabsorbido	77,66 \pm 24,25	77,19 \pm 25,73	P > 1

Figura 1. Producciones por kg de hembra de las dietas ensayadas

* Barras, del mismo color, sin o con una misma letra no presentan diferencias significativas. Barras, del mismo color, con diferentes letras presentan diferencias significativas.

de la harina de pescado por harina de calamar en dietas para el jurel dentón (*Pseudocaranx dentex*) mejoró los porcentajes de huevos fecundados y eclosión (Vassallo-Agius *et al.*, 2001).

En cuanto a las producciones (Fig. 1), los peces alimentados con la dieta basada en harina de calamar produjeron aproximadamente un 20% más de huevos por kg de hembra, este hecho, unido a un más alto porcentaje de huevos fecundados, de huevos viables y de eclosión, tiene como consecuencia que los reproductores alimentados con esta dieta produzcan casi 2,5 veces más larvas con el saco vitelino reabsorbido, que la dieta basada en harina de pescado. Resultados similares son obtenidos por Domarco (2001), para esta misma especie, utilizando dietas basadas exclusivamente en calamar fresco.

Bibliografía

- Domarco, E. 2001. Efecto de la calidad de la dieta sobre las puestas de dorada (*Sparus aurata*). Tesis de Master, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. 67 pp.
- Fernández-Palacios, H., M. S. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi y J.M. Vergara. 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*. 132 (3-4): 325-337.
- Vassallo-Agius, R., H. Imaizumi, T. Watanabe, T. Yamazaki, S. Satoh y V. Kiron. 2001. Effect of squid meal in dry pellets on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Fisheries science*. 67: 271-280.
- Watanabe, T., T. Arakawa, C. Kitajima y S. Fujita. 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diet on reproduction of red seabream. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 50 (3): 495-501.

Calidad de las puestas inducidas hormonalmente en relación con la hora de ovulación y el momento del masaje abdominal en lenguado senegalés

I. Rasines, M. Gómez, C. Rodríguez, I. Martín y O. Chereguini

Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Santander. Promontorio de San Martín, s/n. Apdo. 240. 39080 Santander. e-mail: inma.rasines@st.ieo.es

Abstract

It has been determined the time of ovulation in Senegalese sole after its induction with GnRH α and the changes in the fertilization and hatching rates of eggs retained in the abdominal cavity after ovulation. At 32 hours of treatment and at intervals of 3 hours, females were gently stripped to get the first eggs (ovulation time); from then we continued taking small amounts of oocytes every 3 hours that were fertilized artificially with the same pool of criopreserved semen. In 70% of females ovulation was detected between 41 and 44 hours post-treatment. The highest rates of fertilization and hatching of eggs were obtained in the first 3 hours after ovulation and then decreased significantly. These results suggest that to obtain good quality oocytes, the abdominal massage in Senegalese sole should be performed immediately after ovulation.

Introducción

Las hembras F1 de lenguado senegalés tratadas hormonalmente producen huevos viables, que tras masaje abdominal, pueden ser fecundados mediante la técnica de fecundación artificial (FA) (Chereguini *et al.*, 2007), pero las tasas de fecundación y eclosión obtenidas hasta ahora han sido bajas. Una de las claves del éxito de este tipo de técnicas es determinar el tiempo entre la inyección hormonal y la recolección de los ovocitos; si estos no se recolectan en la ventana de tiempo adecuada después de la ovulación se pueden obtener tasas de fecundación bajas, aumentar las tasas de mortalidad de embriones y larvas y el nº de embriones deformes, debido a la sobremaduración de los ovocitos.

El objetivo de este estudio fue establecer el tiempo de ovulación después del tratamiento hormonal (período de latencia) y la viabilidad de los ovocitos retenidos en la cavidad ovárica después de la ovulación.

Material y métodos

Se utilizaron 10 hembras F1 en estado de maduración aparente E3 (Cañavate y Anguis, 2007) a las que se inyectó, a las 12 a.m., 25 μ g/kg de LHRH α . La temperatura del agua de mar se mantuvo a 16°C desde el día anterior a la inducción hormonal hasta el final de la experiencia. A las 32 h del tratamiento hormonal se empezó a realizar suaves presiones abdominales con intervalos de 3 h hasta que se obtuvieron los primeros ovocitos, tiempo que se consideró como tiempo de ovulación o tiempo cero. Después se continuó sacando pequeñas porciones de ovocitos cada 3 h. Los ovocitos obtenidos en cada tiempo se fecundaron inmediatamente por triplicado con el mismo pool de esperma criopreservado por hembra y se incubaron a 19°C.

La evolución temporal de la calidad de los huevos se estimó mediante las tasas de fecundación y de eclosión. El análisis de los resultados se realizó mediante los test no paramétricos de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney con un nivel de significación de $p > 0,05$.

Resultados y discusión

En el 70% de las hembras la ovulación se detectó entre las 41 y 44h variando entre 38 y 50 h. Esta variación en el periodo de latencia puede ser debida al distinto grado de maduración de las hembras ya que la valoración de la maduración se realizó mediante una escala cualitativa según Cañavate y Anguis (2007). El periodo de latencia varía con la especie, la hormona utilizada, la dosis y la temperatura: *Pangasius hypophthalmus* responde a las 5-11 h de la inyección de GnRH α (Ovaprim) a 29°C (Legendre *et al.*, 2000) y *Inimicus japonicus* a las 24-48 h de la inyección de LHRH α (Takushima *et al.*, 2003).

Las tasas de fecundación fueron altas cuando se detectó la ovulación y se mantuvieron en las siguientes tres horas para luego decaer significativamente (Fig. 1). En muchas de las FA realizadas a partir de las 6h postovulación las divisiones eran irregulares. Las tasas de eclosión también fueron significativamente mayores durante las tres primeras horas postovulación (Fig. 2). Estos datos están de acuerdo con lo observado en otras especies, así la viabilidad de los ovocitos (estimada como el lapso de tiempo entre la ovulación y el momento en que la calidad inicial del ovocito empieza a declinar) en *Pangasius hypophthalmus* es de

Figura 1. Evolución de las tasas de fecundación. Las letras distintas sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

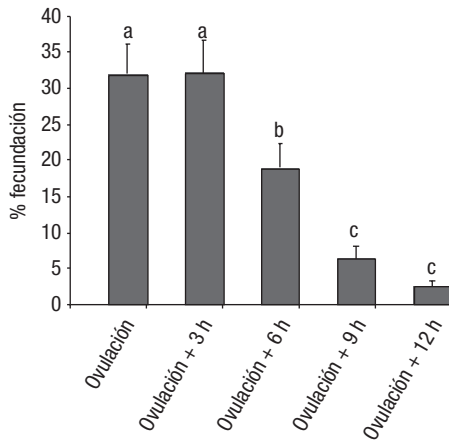
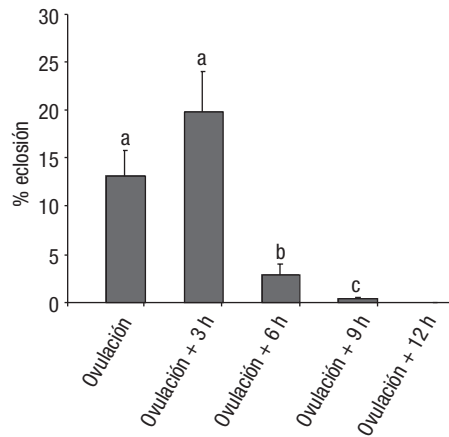


Figura 2. Evolución de las tasas de eclosión. Las letras distintas sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0,05$)



2 h (Legendre *et al.*, 2000), en *Inimicus japonicus* 6 h (Takushima *et al* 2003), en *Hippoglossus hippoglossus* de 4 a 6 h (Bromage *et al.*, 1994), en *Scophthalmus maximus* 10 h (McEvoy, 1984), en *Limanda yokohamae* 2-3 días (Hirose *et al.*, 1979) y en *Salmo gairdneri* 4-6 días (Springate *et al.*, 1984). No se encontraron diferencias significativas en las tasas de eclosión entre $t = 0$ y el $t = +3$ h postovulación aunque los datos obtenidos fueron menores a $t = 0$. Esto puede ser debido a que con los ovocitos obtenidos en la primera presión abdominal se arrastran algunos de peor calidad de ovulaciones anteriores, o como sugiere Springate *et al.* (1984) que los ovocitos no estén suficientemente maduros. En conclusión, estos resultados indican que para obtener ovocitos de buena calidad en lenguado senegalés, se debe determinar el momento de la ovulación con precisión y realizar el masaje abdominal en un periodo no superior a tres horas.

Este trabajo se enmarca dentro del Subproyecto de la CCAA de Cantabria financiado por el Programa Nacional de lenguado JACUMAR 2009-2011.

Bibliografía

- Bromage, N., M. Bruce, N. Basavaraja, K. J. Rana, R. Shields, C. Young, J. Dye, P. Smith, M. J. S. Gillespie, & J. Gamble. 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): 13-21.
- Cañavate, J. P. y V. Anguis. 2007. Obtención de puestas del lenguado senegalés en cautividad. En: *Manual de cultivo de lenguado y otros peces planos. Serie: Recursos Pesqueros* Ed: Junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.
- Chereguini, O., I. Rasines, V. Anguis, R. Cal, I. Martín, C. Rodríguez, J. M. Guzman, C. C. Mylonas, E. Mañanos. 2007. Primeras fecundaciones artificiales en lenguado senegalés cultivado (Generación F1). *Libro de actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*, Vigo, España, Tomo II, 1443-1446.
- Hirose, K., Y. Machida, & E. M. Donaldson. 1979. Induced ovulation of japanese flounder (*Limanda yokohamae*) with human chorionic gonadotropin and salmon gonadotropin, with special reference to changes in quality of eggs retained in the ovarian cavity after ovulation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 45(1): 31-36.
- Legendre, M., J. Slembrouck, J. Subagja, & A. H. Kristano. 2000. Ovulation rate, latency period and ova viability after GnRH- or hCG-induced breeding in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluriformes, Pangasiidae). *Aquatic Living Resources*, 13: 145-151.
- McEvoy, L. A. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Biol.*, 24: 437-448.
- Springate, J., N. Bromage, J. A. K. Elliot, & D. L. Hudson. 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 43: 313-322.
- Takushima, M., R. Nozaki, K. Kadomura, S. Yasumoto, & K. Soyano. 2003. Induced ovulation using LHRHa and artificial fertilization in devil stinger, *Inimicus japonicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28: 521-522.

Observaciones del cortejo de lenguado (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) salvaje mantenido en cautividad

I. Carazo¹, O. Chereguini², F. Huntingford³, I. Martín², F. Norambuena¹ y N. Duncan¹

¹ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Centro de Aquicultura Unitat de Cultius Experimentals. Ctra. Poble Nou, km 6. 43540 San Carles de la Ràpita. Tarragona. email: neil.duncan@irta.cat

² Instituto Español de Oceanografía. Planta de cultivos Marinos «El Bocal». Santander. Cantabria

³ Glasgow University. Glasgow, Scotland

Abstract

During May 2008, the behaviour of 29 wild sole broodstock was recorded with cameras and a digital recorder. A total of 8 fertilized (91%) spawns were collected from the tank and observed on the digital recordings. Reproductive behaviour was observed from 18:00 to 03:00. The behaviour leading to a spawn was divided into 4 steps: Step 0: Normal interactions not necessarily related to reproduction. Step 1: The start of courtship, a male protecting a female from other males (named Guardian), males chasing a female and interaction or chasing between males (named persecutions). Step 2: a male and female swim together towards the surface. Step 3: Male and female spawn at the water surface. This sequence of behaviour was observed with all spawns and behaviours such as Guardian and Persecutions can be used to predict spawning. Spawning was only observed when a pair swam together at the water surface.

Justificación

El cultivo del lenguado se encuentra limitado por la reproducción, ya que la generación F1 de cultivo presenta puestas irregulares y aparentemente sin fecundación. En comparación, lenguados salvajes mantenidos en cautividad tienen puestas regulares de buena calidad. Una posible explicación es que haya un problema con el comportamiento reproductivo en la generación F1. La descripción de los pasos del cortejo de individuos que presentan puestas fertilizadas y la valoración de los comportamientos durante este proceso, es un paso clave para descubrir en qué aspectos falla el cortejo de la F1, y proponer soluciones.

Materiales y Métodos

El grupo de peces utilizado en el presente estudio estaba compuesto por 29 peces salvajes (14 hembras y 15 machos) de 6 años de edad y con un peso medio de $1,688 \pm 0,093$ kg. El grupo fue estabulado en el IEO Santander en un tanque rectangular de fibra de vidrio de 14 m³ de capacidad (biomasa total del 48,94 kg) con circuito abierto. En el dispositivo de salida del agua se instaló un colector de huevos de superficie que fue revisado cada día. La temperatura del sistema se varió según un ciclo semanal en el que los lunes la temperatura del agua se programó en 16°C, y los jueves en 18°C (Anguis y Cañavate, 2005). El fotoperiodo consistió de 16 horas de luz (fluorescentes de 58 W de luz blanca) de las 08:00 de la mañana a las 24:00 de la noche. Durante la noche, el tanque estaba iluminado con 2 fluorescentes de 58W cubiertos con un filtro rojo supergel ROSCO que permite el paso de la radiación infrarroja y de rojo $\lambda > 720$ nm pero impide el paso de las de menor λ . Los peces fueron alimentados a saciedad, cinco días a la semana con mejillón y los dos días restantes con calamar troceado, uno de los días mezclado con gusano.

El estudio del comportamiento se llevó a cabo entre los días 15 a 23 de mayo del 2008. Para grabar el comportamiento de los peces se colocaron 4 cámaras subacuáticas (F60B/NIR580-50G, Praesentis, S.L., Barcelona) en el tanque. Se situaron las cámaras cerca de la superficie y, enfocadas hacia el fondo cubriendo el 99% del volumen del tanque. La información fue grabada y almacenada en una grabadora digital de cuatro entradas (UCDI DV41-50 Praesentis, S.L., Barcelona). Se analizaron los videos del comportamiento de dos formas: 1) análisis objetivo: para cuantificar la actividad de los peces y 2) En una forma descriptiva: a) una descripción de los comportamientos observados organizados en un etograma reproductivo y b) una descripción detallada del cortejo (Martin y Bateson, 2008).

Resultados y Discusión

De los colectores de huevos se recogieron un total de 6 puestas con un volumen medio de 307,85 ml y una fecundación media del 91,38%. Dos de los días presentaban huevos en muy diferente estadio con diferencias en el grado de desarrollo del orden de 3 a 5 horas, lo cual indicó que hubo dos puestas por tanque durante la noche.

Se observó un aumento de actividad a las 12:00 AM lo cual coincidía con la alimentación. La máxima actividad fue observada entre las 18h a 22 h lo cual coincidió con el comportamiento reproductivo. Las puestas

tas y comportamiento reproductivo fueron observados principalmente con la luz de día antes de la media noche (24:00). Las interacciones macho-hembra, se extendían desde 18:00 PM hasta las 03:00 AM.

Se dividió el comportamiento reproductivo en cuatro pasos 0 a 3, partiendo de los periodos en los que no se aprecia intencionalidad reproductiva, hasta finalizar en la puesta fertilizada: **Paso 0**) Existen interacciones entre machos y hembras, los cuales se dan como contactos puntuales durante casi todas las horas. **Paso 1**) Las interacciones entre los peces indican que un pez o grupo de peces han centrado atención en otro pez o grupo de peces. Los machos son más insistentes en los contactos con las hembras incluyendo cierto tipo de competencia por las hembras. Hay diversas interacciones complejas entre machos y con la hembra de las que cabe destacar la **actitud de guardián**: el macho se interpone frente a otros machos y controla a la hembra y las **persecuciones**: Varios individuos nadando de forma similar siguiendo unos a otros. El primero suele ser una hembra, seguida por un macho, y un grupo de machos que siguen al macho perseguidor. Ambos comportamientos presentan un gran valor predictivo acerca de las puestas (día de puesta e individuos implicados). **Paso 2**) Cuando se consigue el desplazamiento de la hembra, al menos, el macho que ha provocado la respuesta, persigue a la hembra. Cuando ésta acepta al macho (interacción permitida), comienza a nadar mas separada del suelo [natación hacia la superficie, lo cual difiere de lo observado en otras especies de solea, (Baynes *et al.*, 1994)], el macho se introduce bajo la hembra y comienza a elevarse, subiendo con la hembra hasta la superficie y controlando su avance con la cabeza. **Paso 3**) La hembra y el macho llegan juntos al superficie y tras unos segundos en esta situación, la hembra y el macho comienzan a liberar los gametos (freza) los paso 2 y 3 fueron observados en las 8 puestas recogidas, sin variaciones.

Se concluyó que un requisito imprescindible para la liberación de huevos por parte de la hembra, mientras esta interaccionando con el macho, es la natación durante unos segundos por la superficie del agua, para lo cual el macho eleva a la hembra y parece dirigir en la medida de lo posible su natación. Se ha descrito el comportamiento reproductivo (como guardián y persecuciones por mencionar algunas) en el **etograma reproductivo**.

Agradecimientos

Gracias al equipo técnico del instituto oceanográfico de Santander, gracias al soporte que nos presta continuamente el IRTA, así como al INIA que ha financiado el estudio por el proyecto INIA RTA2005-00113-00-00 y JACUMAR (MAPA) Plan Nacional Cultivo del Lenguado II.

Bibliografía

- Anguis V, Cañavate JP. 2005. Spawning of captive Senegal sole (*Solea senegalensis*) under a naturally fluctuating temperature regime. *Aquaculture* 243: 133-145.
- Baynes SM, Howell BR, Beard TW, Hallam JD. 1994. A description of spawning behaviour of captive Dover sole, *Solea solea* (L.). *Netherlands Journal of Sea Research* 32(3/4): 271-275.
- Martin P, Bateson P. 2008. *measuring behaviour, an introductory guide*: Cambridge, University press.

Crecimiento e índices de condición de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) cultivado en Andalucía

P. León, P. Ávila, A. Guerrero, A. Ibáñez, M.M. Agraso y J.C. Macías

Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
C/ Bergantín, 39. 41012 Sevilla. Correo electrónico: pileon@dap.es

Abstract

In recent years the growing interest for the culture of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in Andalucía has been reflected by the authorization and installation of several mussel farms along the Andalusian shore. The developing perspectives of this sector in this region makes necessary to study several aspects of the mussel culture in Andalucía. This work focus on the growth and condition indexes of mussels cultivated at La Línea de la Concepción, Marbella, and Caleta de Vélez between May 2007 and May 2009. Results are analysed in terms of environmental information such as water temperature, food availability, and hydrodynamics. Sites were characterized by different levels of phytoplankton availability and currents. The presence of an almost permanent upwelling causes higher growing rates and condition index in Marbella and La Línea de la Concepción. The influence of the upwelling is higher under westerly wind regimes, when it reaches locations as Caleta de Vélez. Seasonal variations showed lower values of condition indexes in spring, accordingly to spawning periods observed in previous works. The results indicate that cultivated mussels are suitable for marketing during most of the year.

Justificación

El cultivo de mejillón en Andalucía se encuentra actualmente en fase de expansión por lo que se hace necesario el conocimiento de aspectos de interés para la gestión y rendimiento de esta actividad como el rango de crecimiento de la semilla.

Por otro lado, el estudio de la evolución de los índices de condición (IC) se considera un referente de la calidad comercial del producto y aporta un conocimiento de la evolución fisiológica del cultivo bajo determinadas condiciones ambientales.

Con el fin de profundizar en el conocimiento de estos aspectos de interés para el cultivo del mejillón en Andalucía, la Consejería de Agricultura y Pesca a través de su Empresa Pública viene trabajando desde el año 2001 en la recopilación de datos científico-técnicos que puedan esclarecer algunas de las cuestiones determinantes del éxito de esta actividad. Estos trabajos han continuado con el estudio aquí presentado, el cual ha sido financiado por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino en el marco del Plan Nacional de cultivos marinos JACUMAR «Cultivo de mejillón: Expansión y sostenibilidad» (2007-2009).

Material y Métodos

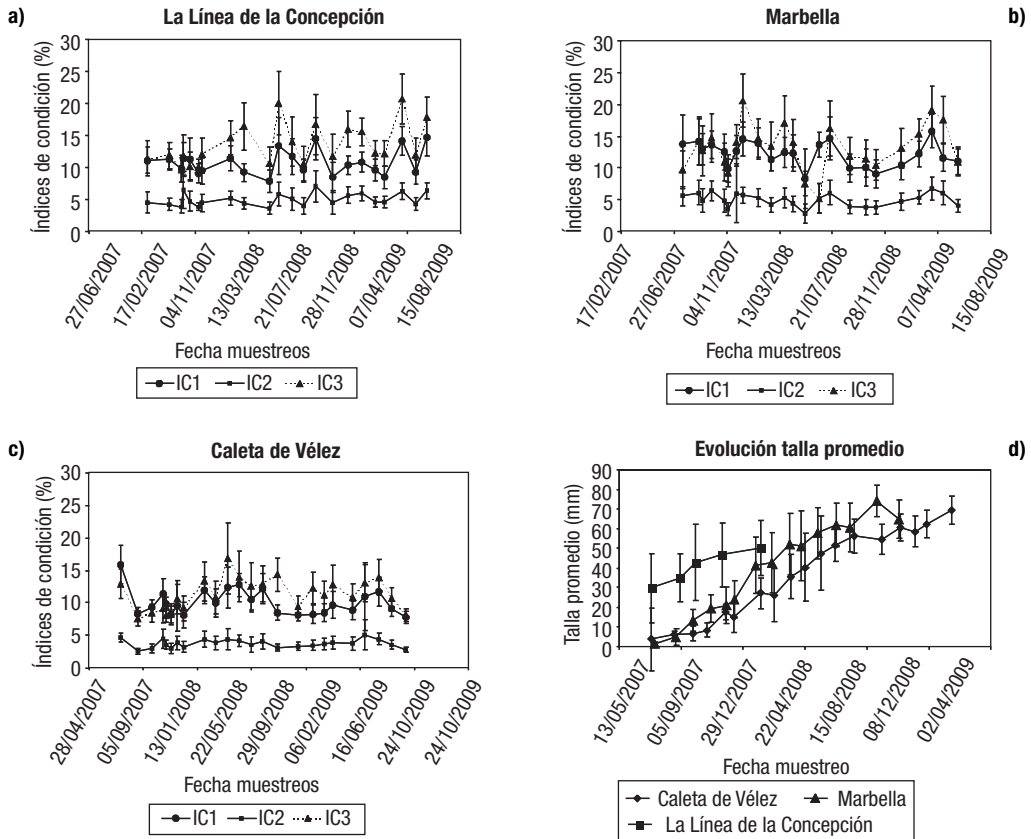
El estudio del crecimiento y los índices de condición se ha realizado a partir de muestras de mejillón obtenidas mensualmente en las instalaciones de La Línea de la Concepción (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga) entre mayo de 2007 y mayo de 2009. Para ello, se han analizado las distribuciones de talla y su evolución temporal, obteniendo las curvas y tasas de crecimiento de las poblaciones de mejillón. Los índices de condición seleccionados para este estudio han sido el de Freeman (1974) y los de Hickman e Illingworth (1980).

Adicionalmente se ha estudiado la relación e influencia del crecimiento con diversos factores ambientales (tales como abundancia fitoplanctónica, temperatura, turbidez y condiciones hidrodinámicas), mediante la instalación de equipos de monitorización ambiental (fluorómetros, CTDs y correntímetros) y el análisis de bases de datos procedentes de Puertos del Estado y de la Red de Estaciones Agroalimentarias de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

Resultados y Discusión

La evolución de las tallas promedio (Fig. 1) muestra mayor crecimiento, con tasas de hasta 12,92 mm/mes, del mejillón en la instalación de Marbella, seguidas de La Línea de la Concepción y Caleta de Vélez. Esta circunstancia determina ciclos de cultivo más cortos (14-15 meses) en Marbella que en Caleta de Vélez (18-19 meses). En esta última zona el crecimiento sigue una clara tendencia estacional, siendo mayor en los meses de otoño e invierno, mientras que en Marbella la existencia de un afloramiento permanente determina la pérdida de dicho patrón temporal. El régimen de vientos juega un importante papel en la intensificación y extensión de dicho afloramiento a otras zonas de producción, determinando condiciones más

Figura 1. Evolución temporal índices de condición (a, b y c) y distribución de talla promedio (d). El IC1 se corresponde con el IC de Freeman (1974) y el IC2 e IC3 con Hickman e Illingworth (1980)



favorables para el desarrollo del mejillón en dichas zonas. Esta circunstancia es especialmente interesante en los meses de verano en Caleta de Vélez.

Los IC muestran un comportamiento similar (Fig. 1), variando de manera estacional en Caleta de Vélez con la temperatura ($P < 0,05$) del agua, y en relación con el afloramiento costero de aguas más frías y ricas en Marbella y La Línea de la Concepción. Esta circunstancia determina IC más elevados en Marbella con valores de hasta el 20% de rendimiento en carne. En las tres instalaciones se observan acusados descensos de los IC en primavera, en consonancia con periodos de puesta descritos en la zona a partir de ciclos gametogénicos (Tirado y Macías, 2006).

Agradecimientos

Cultivos Marinos de Andalucía, S.L. y Pescados y Mariscos Mar de La Línea, S.L. Unidad de Apoyo Técnico en Acuicultura (Subdirección de Servicios Pesqueros. Empresa Pública DAP).

Bibliografía

- Freeman, K.R., 1974. Growth, mortality and seasonal cycle of *Mytilus edulis* in two Nova Scotian embayments. Department of the Environment, Fisheries and Marine Service, Canada, Technical Report No. 500: 112 pp.
- Hickman, R.W., y J. Illingworth. 1980. Condition cycle of the green-lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology*. 60: 27-38.
- Tirado, C. y J.C Macías. 2006. Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca: 176 pp.

Concentraciones crítica y letal de oxígeno y capacidad de recuperación frente a la hipoxia en el centollo (*Maja brachydactyla*)

J. Cerezo Valverde, M.D. Hernández, F. Aguado-Giménez y B. García García

IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Puerto de San Pedro del Pinatar. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar.Murcia. E-mail: jesus.cerezo@carm.es

Abstract

We analyse the oxygen consumption response of this species to gradual hypoxia in different weight (W: 0.42-1.62 kg) and temperature (T: 17.8-26.3°C) conditions, along with its ability to recover. *M. brachydactyla* behaved as a regulatory organism, maintaining its oxygen consumption constant until it reached a critical oxygen saturation (S_{crit}). This value varied between 24.1 and 53.3% oxygen saturation ($42.4 \pm 7.4\%$ Sat.; 2.95 ± 0.43 mgO₂/l), and significantly depended on the temperature ($P < 0.01$). The lethal oxygen saturation (LS) varied from 4.8 to 20.3% Sat. ($12.15 \pm 5.32\%$ Sat.; 0.85 ± 0.35 mgO₂/l), also depending on the temperature ($P < 0.05$). Neither S_{crit} nor LS was significantly correlated with body weight. When oxygen levels were re-established after exposure to acute hypoxia, the animals recovered, oxygen consumption remaining above the routine value for up to ten hours. We conclude that dangerous oxygen levels for this species can be set at less than 36% Sat. at 18°C and 49% at 26°C. In such conditions the participation of anaerobic metabolism would be evident and animals would only survive a short period of time.

Justificación

Entre los parámetros de calidad del agua el nivel de oxígeno disuelto es de especial interés en acuicultura. Por encima de una concentración crítica de oxígeno (P_{crit}) la mayoría de los estudios muestran que los crustáceos son organismos reguladores y son capaces de mantener su consumo de oxígeno (CO) dentro de un amplio rango de concentraciones de oxígeno (McMahon, 2001). Cuando la concentración de oxígeno disminuye por debajo de P_{crit} , se estimula la producción anaeróbica de energía, la acumulación de ácido láctico y disminución del pH, impidiendo que la hemolinfa se sature de oxígeno a niveles adecuados (Taylor, 1981). De igual forma la hipoxia puede afectar tanto al sistema inmunitario de los crustáceos como a la ingesta, lo que repercutiría también afectando al crecimiento. Además, tanto la temperatura del agua como el peso de los ejemplares podrían afectar tanto al valor de P_{crit} como a la concentración letal de oxígeno (LC). Un conocimiento de estos parámetros sería de utilidad para establecer niveles de oxígeno seguros para el mantenimiento de esta especie.

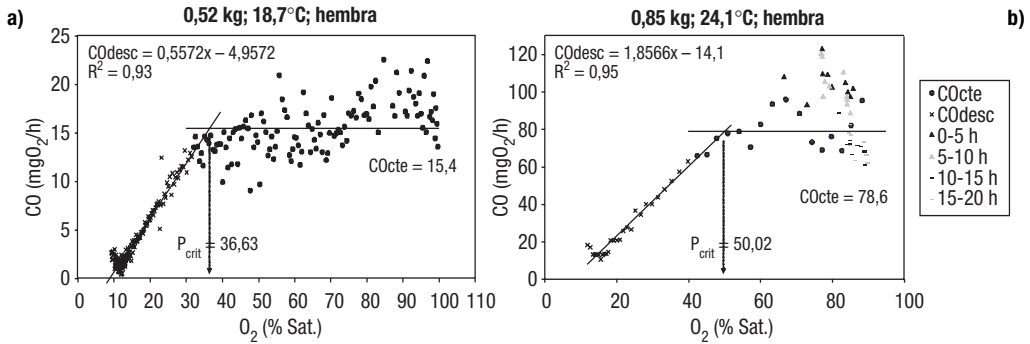
Material y Métodos

Se realizaron dos tipos de medidas: a) registro del CO entre el 120% de saturación y los niveles letales ($N = 15$; 0,42-1,62 kg; 17,8-26,3°C) y, b) registros similares al apartado anterior pero restaurando el suministro de agua antes de alcanzar el nivel letal, con el fin de analizar la respuesta del CO después de someter a los animales a la hipoxia aguda y su capacidad de recuperación ($N = 3$; 0,58-1,08 kg; 24,1-24,7°C). El CO se obtuvo en circuito cerrado en animales individuales que ayunaron 24 h, a partir del descenso en la concentración de oxígeno en intervalos de 30 minutos. El CO se representó en función de la concentración de oxígeno, calculándose: P_{crit} (concentración crítica de oxígeno), como la intersección entre la recta que representa el promedio de los valores de CO en el rango de independencia respiratoria (valores constantes), y la recta de regresión ajustada a los valores de CO en el rango de dependencia respiratoria (P para la pendiente de la recta $< 0,05$); LC (concentración letal de oxígeno), anotando los valores de oxígeno cada 12 horas y obteniendo el promedio del último valor donde los animales vivían ($CO > 0$ y movimiento de las anténulas) y el valor donde no se apreciaba movimiento de las anténulas.

Resultados y Discusión

En la Figura 1a se puede observar como *M. brachydactyla* se comportó como un organismo regulador, manteniendo constante su consumo de oxígeno sobre un amplio rango de saturación de oxígeno, hasta que P_{crit} es alcanzado. P_{crit} estuvo comprendido entre el 24,10 y 53,26% Sat. ($42,4 \pm 7,4\%$ Sat.; $2,95 \pm 0,43$ mgO₂/l), correlacionándose positiva y significativamente con la temperatura del agua ($P < 0,01$) pero no con el peso corporal. La ecuación de regresión para explicar los valores de P_{crit} en función de la temperatura explicó un 46 % de la varianza de los datos y se ajustó de forma significativa a la ecuación de una recta: P_{crit} (% Sat.) = $1,6576 * T + 5,5264$ ($P < 0,01$; $R^2 = 0,46$; ESE = 5,57). LC estuvo comprendida entre el 4,78 y 20,32% Sat. ($12,15 \pm 5,32\%$ Sat.; $0,85 \pm 0,35$ mgO₂/l), correlacionándose también positiva y significativamente con la temperatura del agua ($P < 0,05$) pero no con el peso corporal. La ecuación de regresión para expli-

Figura 1. a) Respuesta del CO en función del nivel de saturación de oxígeno en *M. brachydactyla*. b) Respuesta del CO en función del nivel de saturación de oxígeno en *M. brachydactyla* antes y después de restablecer el aporte de agua a los acuarios, agrupando los datos a partir de este momento en valores de consumo de oxígeno entre 0-5 h, 5-10 h, 10-15 h y 15-20 h en el periodo de recuperación



car los valores de LC en función de la temperatura explicó un 27 % de la varianza de los datos, ajustándose los datos de forma significativa a la siguiente ecuación: $LC = 0,9035 \cdot T - 7,6638$ ($P < 0,05$; $R^2 = 0,27$; ESE = 4,70).

En la Figura 1b se puede observar la respuesta del consumo de oxígeno de *M. brachydactyla* después de restablecer los niveles de oxígeno tras la exposición a la hipoxia. Se observó como hasta las 10 horas después de restablecer el flujo de agua el consumo de oxígeno se muestra incrementado respecto de los valores iniciales, regresando al estado previo entre 10 y 20 horas después.

En base a los resultados obtenidos *M. brachydactyla* presenta mecanismos para hacer frente a la hipoxia, si bien éstos serían incapaces de regular el CO por debajo de un 36% a 18°C y un 49% a 26°C. Por debajo de estos niveles la participación del metabolismo anaeróbico sería evidente y los animales sobrevivirían sólo durante un periodo limitado de tiempo.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- McMahon, B.R.. 2001. Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Respiration Physiology* 128: 349-364.
 Taylor, E.W. 1981. Some effects of temperature on respiration in decapodan crustaceans. *Journal of Thermal Biology* 6: 239-248.

Efecto del confinamiento en espacios reducidos, sobre el crecimiento de juveniles de centollo (*Maja brachydactyla*)

J. Alaminos y P. Domingues

IFAPA Centro Agua del Pino. Ctra. Cartaya-Punta Umbría, s/n. 21450 Cartaya (Huelva).
fjavier.alaminos@juntadeandalucia.es

Abstract

The effects of bottom area on growth of juvenile spider crab (*Maja brachydactyla*) were determined during 135 days. 150 recently moulted spider crabs were placed in individual chambers. Mortality and moulting was registered on a daily basis. Every 15 days, weight and carapace length were measured. After 75 days, significant differences in growth ($p < 0.05$) were recorded between the smallest and largest chambers; after 135 days the three groups showed significant differences ($p < 0.05$), with higher growth in larger bottom areas.

Justificación

Durante 135 días se llevó a cabo un experimento para dilucidar si el aislamiento y la confinación en espacios reducidos influyen en el crecimiento de juveniles de centollo (*Maja brachydactyla*). 150 individuos recién metamorfoseados se distribuyeron en celdillas individuales de tres tamaños distintos. Diariamente se registraban mortalidad y mudas y cada 15 días se tomaban datos individuales de peso y longitud del caparazón. Al final del experimento la mortalidad fue similar en todos los grupos. A los 75 días se manifestaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el crecimiento de las celdillas pequeñas comparadas con las grandes y a los 120 días, las diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tres grupos, correspondiendo la mayor tasa de crecimiento a las celdillas grandes y la menor a las celdillas pequeñas.

Material y Métodos

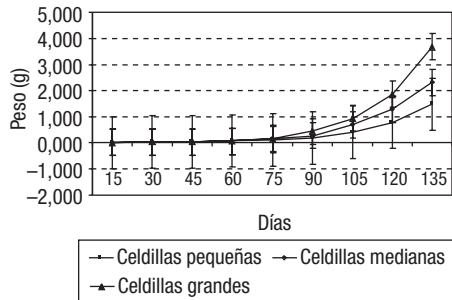
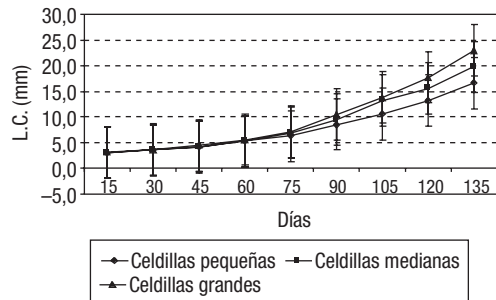
Se tomaron 150 juveniles de 15 días de edad y pesos comprendidos entre 6 y 10 mg, nacidos en las propias instalaciones y se distribuyeron en bandejas provistas de celdillas individuales de tres tamaños distintos: celdillas pequeñas, de 6x8 cm de fondo y 3,5 cm de profundidad; celdillas medianas, de 12 x 16 cm de fondo y 7 cm de profundidad; y celdillas grandes, de 35 x 27 cm de fondo y 15 cm de profundidad. Las condiciones de cultivo fueron: Temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, salinidad 35 ± 2 ppt, fotoperiodo natural, circuito abierto con renovación alta (inferior a 4 h) y agua previamente filtrada y tratada con UV. Como alimentación se usó mejillón fresco (*Mytilus, sp*) a saciedad. Diariamente se retiraban los restos de la comida del día anterior y se añadía la ración correspondiente en una sola toma. Todos los días se registraba la mortalidad y la existencia de mudas y cada 15 días se pesaban y medían individualmente todos y cada uno de los individuos.

Las tasas individuales de crecimiento se calcularon sobre estos datos quincenales, distinguiéndose entre peso y longitud del caparazón, calculándose la tasa de crecimiento mediante la fórmula: $\text{TC} (\% \text{ de crecimiento día}^{-1}) = ((\text{LnM2} - \text{LnM1})/t) \times 100$ siendo LnM el logaritmo neperiano de la medida correspondiente (peso o longitud del caparazón) inicial (1) y final (2) y t el tiempo transcurrido entre los momentos 1 y 2, expresado en días. Los datos se trataron mediante análisis estadísticos (ANOVA) (Zar, 1984) para determinar si existían diferencias en el crecimiento.

Resultados y Discusión

En las figuras 1 y 2 se representa la evolución del crecimiento frente al tiempo en cuanto a peso (Fig. 1) y longitud del caparazón (Fig. 2) durante los 135 días de duración del experimento. Las tasas de crecimiento finales en cuanto a peso fueron $3,7 \pm 0,5\% \text{gd}^{-1}$, $4,3 \pm 0,4\% \text{gd}^{-1}$ y $4,6 \pm 0,4\% \text{gd}^{-1}$ respectivamente para las celdillas pequeñas, medianas y grandes, indicando que el crecimiento fue del mismo orden que otros experimentos realizados en las mismas condiciones y proporcionando mejillón fresco a saciedad como dieta (Domingues y Alaminos, 2008; Alaminos y Domingues, 2007).

A la luz de los resultados, se confirma la hipótesis de que el espacio es un factor limitante para el desarrollo de los crustáceos, en particular del centollo, manifestándose este efecto tanto en el crecimiento en peso, como en el tamaño del caparazón, que resultan ser menores conforme tienen menos espacio para su desarrollo. Durante los dos primeros meses de vida no se manifiesta este efecto, pero a los 75 días co-

Figura 1. Evolución del peso**Figura 2.** Evolución de la longitud del caparazón

mienzan a aparecer diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las celdillas pequeñas y las grandes, los dos tamaños más extremos, a los 90 días las diferencias son estadísticamente significativas entre las celdillas grandes y las medianas y pequeñas, pero no entre estas dos últimas entre sí, y, finalmente las diferencias son estadísticamente significativas entre los tres grupos a los 120 días de duración del experimento.

Si consideramos el tamaño del caparazón el efecto se aprecia de manera similar. A los 75 días aparecen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el crecimiento de las celdillas pequeñas comparadas con las medianas y grandes, no así entre estas dos últimas, cuya diferencia no empieza a ser estadísticamente significativa hasta los 120 días de duración del experimento. Se da el caso de que en el momento en que aparecen las diferencias significativas, es decir, a los 75 días en las celdillas pequeñas y a los 120 días para las celdillas medianas, la relación LC/superficie de la celdilla es de $0,13 \pm 0,03 \text{ mm/cm}^2$ y $0,10 \pm 0,02 \text{ mm/cm}^2$, un orden similar en ambos casos.

Se puede concluir finalmente que el aislamiento y el confinamiento en espacios reducidos influye negativamente en el crecimiento de juveniles de centollo, lo que empieza a manifestarse de una manera estadísticamente significativa a partir de que la relación LC/sup celdilla se encuentra entre los límites $0,08-0,16 \text{ mm/cm}^2$.

Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto Jacumar-Cría de la centolla (2005-2008) la financiación para la ejecución de este trabajo.

Bibliografía

- Domingues, P. y J. Alaminos. 2008. Efectos de la densidad de cultivo y de elementos de refugio en el crecimiento y supervivencia de juveniles de centollo, *Maja brachydactyla* (Balss, 1922). Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(1): 121-127. U. de Valparaíso.
- J. Alaminos y P. Domingues. 2007. Effects of different natural or prepared diets on growth and survival of juvenile spider crabs, *Maja brachydactyla* (Balss, 1922). Aquacult Int. DOI 10.1007/s10499-007-9154-6.

Influencia del estrés por confinamiento y por ayuno sobre el metabolismo intermediario en el bocinegro *Pagrus pagrus* L.

R. Laiz-Carrión¹, I. Rosa², I. Ruiz-Jarabo², J. R. Cejas¹, S. Jerez¹, J.A. Martos²,
E. Almansa¹ y J. M. Mancera²

¹ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias. Avda. Tres de Mayo, 73. Apdo. 1373. 38005 S/C de Tenerife. raul.laiz@ma.ieo.es

² Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. 11510 Puerto Real. Cádiz

Abstract

In the present study the influence of food restriction and crowding stress on intermediary metabolism of red porgy (*Pagrus pagrus*) was investigated by observing changes in plasmatic, hepatic and muscle parameters. Plasma cortisol level increased in fish maintained under confinement, with higher effect in fed fish. Our results suggest an enhancement in the gluconeogenic and glycogenolytic potential to cope reallocation of metabolic energy due to simultaneous stressors in *P. pagrus*.

Justificación

El bocinegro o pargo (*Pagrus pagrus* L.) se ha convertido en una de las especies objetivo para la diversificación de la acuicultura, haciéndose necesario profundizar en diversos aspectos de su cultivo con el fin de optimizar el mismo. En condiciones de cultivo intensivo son habituales situaciones que originan una respuesta del sistema de estrés, donde desde un punto de vista metabólico se produce un alto consumo de energía que deja de ser invertida en otros procesos fisiológicos. Así, altas densidades de cultivo originan problemas de estrés crónico que afectan al metabolismo del animal y comprometen su proceso de crecimiento (Wendelaar Bonga, 1997). El objetivo de este trabajo es evaluar la influencia conjunta de dos tipos de estrés, confinamiento y ayuno, sobre el metabolismo intermediario de carbohidratos del bocinegro.

Material y Métodos

Los ejemplares inmaduros de bocinegro ($95,36 \pm 7,19$ g) fueron cultivados en La Planta Experimental de Cultivos Marinos del C. O. de Canarias del I.E.O. Se probaron diferentes condiciones experimentales de alimentación (con y sin) y confinamiento (baja densidad, $4 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, BD; y alta densidad, $50 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, AD). Los ejemplares fueron distribuidos aleatoriamente en 4 tanques, a los cuales se les asignó uno de los siguientes tratamientos: 1) peces alimentados en baja densidad (BD-A); 2) peces sin alimentación en baja densidad (BD-NA); 3) peces alimentados en alta densidad (AD-A) y 4) peces sin alimentación en alta densidad (AD-NA). Se sacrificaron 10 ejemplares de cada tratamiento a los 14 y 21 días y se conservaron muestras de plasma, hígado y músculo a -80°C para su posterior análisis.

Resultados y Discusión

No se observaron diferencias significativas en crecimiento a lo largo del periodo experimental. Se apreció un claro aumento del cortisol por efecto del confinamiento durante el experimento, siendo más patente a los 21 días, lo que coincide con lo descrito previamente para esta especie (Fanouraki *et al.*, 2007). En los especímenes sometidos a confinamiento, los alimentados (AD-A) presentaban mayores niveles de cortisol que los mantenidos en ayuno (AD-NA); estos resultados sugieren una adaptación al ayuno además de una situación de alerta por competencia por el alimento (Uchida *et al.*, 2003). Por otro lado, los ejemplares en ayuno presentaron niveles de lactato, proteína y triacilglicéridos (TAG) pasmáticos inferiores a los alimentados. Estos datos indicarían el aumento de la actividad gluconeogénica en el hígado, posiblemente debido a un aumento de la utilización de lactato y aminoácidos como sustrato para la síntesis de glucosa (Vijayan *et al.*, 1997). Por otro lado, en hígado, los TAG se incrementan por efecto del ayuno, sugiriendo una disminución del metabolismo lipídico. Al mismo tiempo, se observa una importante disminución del glucógeno en los peces mantenidos en ayuno, indicando un aumento de los potenciales gluconeogénico y glucogenolítico (Pottinger *et al.*, 2003). Los parámetros analizados en músculo parecen apuntar a la utilización en este órgano de aminoácidos como fuente energética, durante el ayuno prolongado (21 días); mientras que las reservas lipídicas se reducen los primeros 14 días para posteriormente recuperarse a los 21 días, tal y como se ha descrito para otras especies (ver Vigliano *et al.*, 2002). En su conjunto, los resultados aquí

Tabla 1. Variables analizadas bajo los distintos tratamientos

	14 días				21 días			
	Baja densidad		Alta densidad		Baja densidad		Alta densidad	
	Alimento	No alimento	Alimento	No alimento	Alimento	No alimento	Alimento	No alimento
Cortisol plasma (ng/mL)	27,7±4,3 ^{ab}	23,9±3,9 ^a	35,1±4,7 ^{ab}	35,4±3,7 ^b	24,2±3,2 ^a	22,0±2,5 ^a	54,9±2,9 ^{b,*}	38,3±3,2 ^c
Lactato plasma (mM)	1,6±0,1 ^a	1,2±0,1 ^b	1,3±0,1 ^b	0,9±0,1 ^c	1,5±0,1 ^a	0,8±0,1 ^{b,*}	1,2±0,1 ^c	0,6±0,1 ^d
Proteína plasma (g/dL)	34,1±0,9 ^a	32,7±0,9 ^a	31,4±1,0 ^a	27,2±1,0 ^b	34,5±0,8 ^a	29,4±0,8 ^b	30,8±0,8 ^b	24,9±0,7 ^c
TAGs plasma (mM)	1,3±0,1 ^a	0,4±0,1 ^b	0,8±0,1 ^c	0,5±0,1 ^b	1,2±0,1 ^a	0,6±0,1 ^b	1,1±0,1 ^a	0,6±0,1 ^b
GLU hígado (mg g ⁻¹ PH)	40,7±1,9 ^a	1,6±1,9 ^b	33,1±2,1 ^c	4,7±1,9 ^b	40,6±2,1 ^a	0,9±1,9 ^b	34,6±2,1 ^c	3,1±2,0 ^b
TAGs hígado (mg g ⁻¹ PH)	10,4±1,5 ^a	17,2±1,4 ^{bc}	14,5±1,4 ^{2b}	19,3±1,5 ^c	11,4±1,5 ^a	18,7±1,4 ^b	14,5±1,6 ^a	20,0±1,4 ^b
TAGs músculo (mg g ⁻¹ PH)	2,3±0,1 ^a	1,6±0,1 ^b	2,1±0,1 ^a	1,3±0,1 ^b	2,7±0,3 ^{a,b}	2,3±0,3 ^{a,b}	3,5±0,4 ^a	2,6±0,4 ^b
AA músculo (µmol g ⁻¹ PH)	53,8±3,3 ^a	38,7±2,8 ^b	46,7±2,9 ^{ab}	44,1±2,8 ^{ab}	56,5±1,7 ^a	30,2±1,7 ^b	62,7±2,0 ^c	33,4±1,7 ^b

Datos expresados como media ± error típico (n = 9-10). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos para un mismo tiempo (ANOVA de doble vía con test de multicomparación de Tukey). * indica diferencias significativas ($P < 0,05$) para el mismo tratamiento en diferentes tiempos (t-Student). GLU, glucógeno; TAGs, triacilglicéridos; AA, aminoácidos; PH, peso húmedo.

presentados sugieren una reordenación del metabolismo intermediario de carbohidratos en *P. pagrus* en respuesta a los agentes estresantes empleados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyecto AGL 2001-3755-C02-01 del MICyT y PETRIPARGO del I. E. O. Los autores agradecen al personal técnico de la Planta Experimental de Cultivos Marinos del C. O. de Canarias su asistencia técnica y cuidado de los animales.

Bibliografía

- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77 (3): 591-625.
- Fanouraki, E., P. Divanach, y M. Pavlidis. 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* 265: 294-304.
- Uchida, K., S. Kajimura, L.G. Riley, T. Hirano, K. Aida y E.G. Grau. 2003. Effects of fasting on growth hormone/insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 134: 429-439.
- Vijayan, M.M., C. Pereira, E.G. Grau y G.K. Iwama. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. *Comparative Biochemistry and Physiology* 116: 89-95.
- Pottinger, T.G., M. Rand-Weaver y J.P. Sumpter. 2003. Overwintering fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilisation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 136B: 403-417.
- Vigliano, F.A., M.I. Quiroga y J.M. Nieto. 2002. Metabolic adaptation to food deprivation and refeeding in fish. *Revista de ictiología* 10: 79-108.

Efectos de la exposición aguda al amoníaco sobre el metabolismo cerebral de la dopamina y serotonina en juveniles de *Solea senegalensis*

R. A. Weber¹, M. J. Mancebo¹, J. B. Peleteiro³, L. O. García Martín² y M. Aldegunde¹

¹ Laboratorio de Fisiología Animal (Facultad de Biología). USC, 15782 Santiago de Compostela.
Email: manuelalejo.aldegunde@usc.es

² Instituto de Acuicultura. USC. 15782 Santiago de Compostela

³ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Vigo. Cabo Estai. Canido. 36200 Vigo

En este trabajo se investiga el efecto de la exposición al amoníaco (estrés agudo) sobre el sistema monoaminérgico en el cerebro del lenguado (*Solea senegalensis*). Los peces fueron expuestos durante 12 y 24 h a 64.4 mg L⁻¹ de amoníaco total. La respuesta de los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico fue global y uniforme: una estimulación de la actividad cerebral de los sistemas serotoninérgico y dopaminérgico, reflejada en un aumento de las relaciones DOPAC/DA y 5-HIAA/5-HT.

Justificación

Bajo unas condiciones de cultivo intensivo, cuando el flujo de agua es inadecuado o está restringido, tanto el alimento no consumido como los residuos orgánicos pueden incrementar los niveles de amoníaco en el agua de cultivo hasta alcanzar una concentración de amoníaco lo suficientemente alta como para repercutir adversamente sobre los peces. También se sabe que en los peces, la exposición al amoníaco no ionizado además de inducir respuestas de estrés, puede causar una disfunción cerebral. Así por ejemplo, se ha observado que la exposición al amoníaco altera el comportamiento depredador-presa (Heath, 1987), el comportamiento alimentario (Ortega *et al.*, 2005) y los niveles de neurotransmisores monoaminérgicos cerebrales (Ortega *et al.*, 2005; Ronan *et al.*, 2007). Por todo ello, el objetivo del presente trabajo fue examinar si una exposición a amoníaco a corto plazo es capaz de inducir alteraciones sobre la DA y 5-HT cerebral en juveniles del lenguado *Solea senegalensis*. Cualquier alteración de estos parámetros refleja la existencia de funciones fisiológicas o de comportamiento alteradas, que a su vez pueden comprometer seriamente el rendimiento de la explotación.

Material y Métodos

Juveniles de lenguados senegaleses (*Solea senegalensis*) (86 ± 3 g) fueron obtenidos del IEO (Canido, Vigo) y transportados al acuario experimental de la Facultad de Biología, USC. Los peces fueron aclimatados en tanques de almacenamiento de 300 L a los que se proporcionó permanentemente agua de mar aireada durante al menos 4 semanas bajo condiciones del acuario: pH: 7,3 ± 0,1, temperatura: 14 ± 1°C, salinidad: 36 g L⁻¹, oxígeno disuelto: por encima del 80% del nivel de saturación y un fotoperíodo 12 h luz: 12 h oscuridad. Los peces fueron alimentados a saciedad una vez al día, a las 17:00 h, con pienso seco comercial, siendo el exceso de alimento eliminado diariamente. Durante los experimentos los animales fueron expuestos a: 0 mM NH₄Cl, 64.4 mg.L⁻¹ (12 h) y 64.4 mg.L⁻¹ (24 h). De acuerdo con el pH del agua y la temperatura, el nivel de NH₃ fue aproximadamente 330 µg.L⁻¹. Al final de las exposiciones los peces fueron sacrificados, el cerebro extraído rápidamente e introducido en N₂ líquido. El cerebro congelado fue diseccionado en dos áreas cerebrales: telencéfalo e hipotálamo, determinándose 5-HT, 5-HIAA, DA, y DOPAC por HPLC. Para la comparación de las medias se empleó un ANOVA seguido por el test de Student-Newman-Keuls. En todos los experimentos descritos el manejo de los animales se realizó de acuerdo con el Real Decreto de la legislación española (1201/2005).

Resultados y Discusión

La DA desciende significativamente en el hipotálamo con ambas exposiciones y en el telencéfalo sólo tras una exposición de 12 h al amoníaco. Se encontraron incrementos en la relación DOPAC/DA, aunque únicamente significativos ($P < 0,05$) en el hipotálamo después de una exposición de 24 h a amoníaco. Respecto al sistema serotoninérgico, se detectaron disminuciones significativas en los niveles de 5-HT en el hipotálamo 12 y 24 h después de la exposición, y en el telencéfalo después de 12 h de exposición. Incrementos significativos ($P < 0,05$) de la relación 5HIAA/5HT, después de una exposición de 12 h y 24 h a amoníaco, fueron obtenidos en el hipotálamo y telencéfalo ($P < 0,05$). En conclusión, se observa que en el lenguado, la exposición al amoníaco afecta a los sistemas aminérgicos cerebrales: i) induciendo una acción generalizada y no región-específica y ii) estimulando la actividad de los sistemas serotoninérgico, fundamental-

Tabla 1. Niveles cerebrales (pg/mg tejido) de DA y 5-HT y de los catabolitos DOPAC (3,4-dihydroxyphenylacetic acid) y 5-HIAA (5-hydroxyindoleacetic acid) y relaciones 5-HIAA/5HT y DOPAC/DA, después de 12 ó 24 h de exposición al amoníaco en el lenguado *S. senegalensis*. Cada valor es la media \pm S.E.M. de 11-12 peces

	5HT	5HIAA	5HIAA/5HT	DA	DOPAC	DOPAC/DA
<i>Hipotálamo</i>						
12 h						
— Control	1.003 \pm 64	243 \pm 8	0,25 \pm 0,02	480 \pm 36	141 \pm 15	0,318 \pm 0,05
— Tratado	650 \pm 63*	227 \pm 15	0,44 \pm 0,04*	321 \pm 26*	135 \pm 14	0,448 \pm 0,06
24 h						
— Control	1.047 \pm 85	323 \pm 27	0,32 \pm 0,02	484 \pm 63	141 \pm 10	0,342 \pm 0,05
— Tratado	551 \pm 78*	344 \pm 46	0,80 \pm 0,2*	301 \pm 37*	175 \pm 21	0,695 \pm 0,14*
<i>Telencéfalo</i>						
12 h						
— Control	603 \pm 53	206 \pm 23	0,35 \pm 0,03	485 \pm 23	171 \pm 15	0,353 \pm 0,02
— Tratado	457 \pm 41*	257 \pm 32	0,56 \pm 0,04*	356 \pm 21*	151 \pm 18	0,432 \pm 0,05
24 h						
— Control	763 \pm 107	273 \pm 34	0,37 \pm 0,01	468 \pm 47	162 \pm 28	0,397 \pm 0,09
— Tratado	490 \pm 68	285 \pm 31	0,66 \pm 0,11*	385 \pm 52	204 \pm 30	0,564 \pm 0,08

* Significación ($P < 0,05$).

mente, y dopaminérgico. Las posibles implicaciones fisiológicas asociadas al incremento de la actividad de estos dos sistemas de neurotransmisores en el hipotálamo son importantes, pudiendo mediar la activación del eje HHI y la inhibición de la ingesta que se observan después de una exposición al amoníaco.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por un proyecto de Xunta de Galicia INCITE08PXIB2000053PR a MA.

Bibliografía

- Heath, A.G. 1987. Behaviour and nervous system function. En: *Water pollution and Fish Physiology*. A.L. Heath (Ed.):181-200.
- Ortega, V., Renner, K. y N. J. Bernier. 2005. Appetite-suppressing effects of ammonia exposure in rainbow trout associated with regional and temporal activation of brain monoaminergic and CRF systems. *Journal of Experimental Biology*, 208: 1855-1866.
- Ronan, P., P. Gaikowski, S. Hamilton, K. Buhl y C. H. Summers. 2007. Ammonia causes decreased brain monoamines in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Brain Research*, 1147: 184-191.

Efecto de la dieta y de la salinidad sobre la expresión de IGF-I e IGF-II en juveniles de sargo (*D. sargus*)

L. Pérez y M. Manchado

IFAPA Centro El Toruño. Camino Tiro de Pichón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María Cádiz.
laura.perez.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

In this work we have quantified the mRNA levels of the insulin-growth factors, IGF-I and IGF-II, under three different salinities (15, 37 and 50 ppt) and diets (2 types of dry-feed and frozen shrimps) in white seabream. IGF-I and IGF-II transcripts reduced early in liver and gills at 15 ppt recovering progressively the steady-state levels. In contrast, hypersalinity (50 ppt) increased IGF-II mRNA levels after 8h in gills. Fasting (4 weeks) reduced drastically transcript levels of both genes. Refeeding increased progressively the mRNA levels of IGF-I in liver and muscle peaking between 2nd-3rd week. No differences between the assayed diets were observed. In contrast, IGF-II transcription induced earlier (1st week) in liver of animals fed shrimps. Moreover, IGF-II mRNAs also increased in the muscle of these animals during 2nd week. These data indicate that expression of IGFs are modulated by salinity and diet, with IGF-II playing a key role in osmoregulation and growth in this species.

Justificación

La acuicultura como actividad económica posee cada día mayor importancia, creciendo el interés por el cultivo de nuevas especies. El sargo común es una de las especies más prometedoras para ampliar la oferta, ya que es capaz de alcanzar precios en el mercado similares a los de dorada o lubina. A pesar de que ya existen algunas poblaciones domesticadas en Grecia y Turquía, son pocos los estudios publicados sobre esta especie. Desde este punto de vista, es interesante estudiar la función de los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II) en esta especie, por su implicación en el desarrollo embrionario, crecimiento, diferenciación celular, reproducción, osmorregulación y sistema inmune.

Material y métodos

Los individuos *D. sargus* se cultivaron en el Centro IFAPA *El Toruño*. Para determinar el efecto de la salinidad se utilizaron 65 juveniles que se distribuyeron en cada uno de 6 tanques cilíndricos de 400L en circuito abierto. Antes de comenzar el experimento, los animales se aclimataron en dichos tanques durante 4 días, con un fotoperíodo natural, una salinidad de $36,1 \pm 0,2$ ppt y una T^a de $20,6 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$. Los individuos se alimentaron diariamente con un pienso comercial. Para comenzar el experimento, la salinidad de los tanques se cambió directamente a 15 y 50 ppt por duplicado. Dos tanques se utilizaron como control a 37 ppt. Para los estudios de expresión, 4 individuos de cada tanque se muestrearon a las 3, 8, 24, 48 y 96h tras el cambio de salinidad. Los individuos se sacrificaron por inmersión en fenoxietanol (100 ppm) extrayendo hígado y músculo que se congelaron en nitrógeno líquido y se conservaron a -80°C hasta su uso. Hay que destacar que en los tanques de 50 ppt se detectó un mortalidad acumulada del 33 y 36% en los días 4 y 5 tras el inicio del experimento. Para determinar el efecto de la dieta, se emplearon 25 juveniles que se distribuyeron en 6 tanques cilíndricos de 300 L en circuito abierto. Previo al inicio del experimento los animales se aclimataron tal como se ha descrito arriba. Posteriormente, los animales permanecieron en ayuno durante 4 semanas. Durante este período se sacrificó un animal por tanque a tiempos 0, 2 y 4 semanas de ayuno. A las 4 semanas, los individuos se comenzaron a alimentar una vez al día hasta saciedad con 3 dietas distintas: 2 tanques con un pienso comercial para dorada (Skretting D4-excel2P), 2 con camarón congelado y los 2 restantes con un pienso para camarón (Lucky star aquaculture feed. Taiwan Hung Kuo industrial Co., LTD). Cada semana y durante 1 mes se sacrificaron 3 animales por tanque a los que se les extrajo el hígado y músculo esquelético que se conservaron como se ha descrito más arriba.

La extracción de ARN, la síntesis de cDNA se llevó a cabo según Ponce *et al.* (2008). Los niveles de expresión se cuantificaron mediante PCR a tiempo real utilizando cebadores específicos para cada gen, y como gen de referencia *ARN 18S* para el experimento de dieta y el *factor de elongación 1a (Eef1A)* para el de salinidad.

Resultados y discusión

La salinidad de 15 ppt redujo significativamente los niveles de transcrito de IGF-I respecto al control de 37 ppt en hígado a las 8 y 24 h, y en branquias a las 3 y 8 h tras el cambio, recuperando posteriormente los

niveles basales de expresión. La hipersalinidad (50 ppt) no afectó la expresión de IGF-I en hígado mientras que redujo sus niveles de expresión en branquias a las 8 h tras el cambio. Respecto a la IGF-II, sus transcritos se redujeron a las 8 h a la salinidad de 50 ppt. Estos resultados contrastan con los descritos en salmón y trucha arcoiris donde los niveles de IGF-I incrementan en branquia durante el proceso de esmoltificación y al cambiar de agua dulce a agua de mar (Duguay *et al.* 1994; Sakamoto *et al.* 1993). Nuestros datos sugieren que es IGF-II la que jugaría un papel más importante en la adaptación a un ambiente hipersalino (50 ppt) en sargo.

El ayuno provocó una drástica reducción de los niveles de transcritos de IGF-I e IGF-II tanto en hígado como en músculo, siendo más pronunciado para la IGF-I. Similares efectos se han observado en otras especies tales como lubina (Terova *et al.*, 2007), trucha arcoiris (Montserrat *et al.* 2007) y fletán (Hagen *et al.* 2009). La realimentación de los peces aumentó los niveles de ARNm de IGF-I durante la 3ª semana en hígado y 2ª semana en músculo, sin observar diferencias entre las tres dietas estudiadas. Para la IGF-II se encontró que la dieta basada en camarón congelado era capaz de inducir su expresión de forma temprana en la 1ª semana tras la realimentación en hígado y la 2ª semana en músculo. De forma análoga a la IGF-I, las otras dietas incrementaron la expresión de la IGF-II más tardíamente en la 3ª semana en hígado sin observar diferencias en músculo. La expresión diferencial de ambas IGFs en sargo ante condiciones de salinidad y de dieta diferentes sugiere que la IGF-I e IGF-II representan un sistema complejo de regulación del crecimiento y osmoregulación en el que la IGF-II podría jugar un papel destacado en esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a la Dirección General de Pesca (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía) en el marco de un proyecto financiado con fondos FEDER (UE).

Bibliografía

- Duguay, S. J., P. Swanson y W.W. Dickhoff. 1994. Differential expression and hormonal regulation of alternative spliced IGF-I mRNA transcripts in salmon. *Mol. Endocrinol.* 12: 25-37.
- Hagen, O., J.M.O. Fernandes, C. Solberg y I.A. Johnston. 2009. Expression of growth-related genes in muscle during fasting and refeeding of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Comp. Biochem. Physiol* 152B: 47-53.
- Montserrat, N., J.C. Gabillard, E. Capilla, M.I. Navarro, J. Gutierrez. 2007. Role insulin-like growth factors, and muscle regulatory factors in compensatory growth of the trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 150: 462-472
- Ponce, M., C. Infante, V. Funes y M. Manchado. 2008. Molecular characterization and gene expression analysis of insulin-like growth factor I and II in the redbanded seabream, *Pagrus auriga*: transcriptional regulation by growth hormone. *Comp. Biochem Physiol.* 150: 418-426.
- Sakamoto, T. y T. Hirano. 1993. Expression of insulin-like growth factor I gene in osmoregulatory organs during seawater adaptation of the salmonid fish: Possible mode of osmoregulatory action of growth hormone. *Proc Acad Natl Sci USA* 90: 1912-1919.
- Terova, G., S. Rimoldi, V. Chini, G. Gornati, G. Bernardini y M. Saroglia. 2007. Cloning and expression analysis of insulin-like growth factor I and II in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) during long-term fasting and refeeding. *J. Fish. Biol. Suppl.* B. 70: 219-233.

Influencia de la temperatura en el tiempo de evacuación gastrointestinal en dorada (*Sparus aurata*)

A. Álvarez*, B. García García y M. D. Hernández

IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo. 65.
30740 San Pedro del Pinatar. Murcia.*e-mail: anam.alvarez2@carm.es

Abstract

Starvation before slaughter is a very common practice in aquaculture, the purpose of which is to obtain fish with clean digestive tracts. The time needed to empty the digestive tract depends on the evacuation rate. This varies according to the temperature, among other factors. In the current study, the time required to empty the gastrointestinal tract in gilthead seabream (*Sparus aurata*) was estimated for the normal average temperatures that occur during the different seasons of the year in the Mediterranean (15°C, 20°C and 25°C). The evacuation speed was shown to increase with the temperature. Food intake was much higher for the experimental group kept at 25°C. Evacuation times were similar at 25°C and 20°C, and lower than at 15°C.

Justificación

Con el fin de obtener un pescado con un digestivo sin restos de alimento, se suele mantener a los peces en ayuno antes del sacrificio. El tiempo mínimo necesario de ayuno depende principalmente de la tasa de evacuación gastrointestinal. El objetivo de nuestro estudio era estimar el tiempo necesario para completar la evacuación del tracto gastrointestinal en doradas de tamaño comercial a las temperaturas medias que se dan en las distintas estaciones del año en el Mediterráneo (15° en invierno, 20° en primavera y otoño, y 25° en verano). Estos datos permitirían conocer la duración del ayuno al que deben someterse los peces antes de ser sacrificados, según la estación del año en que se proceda al despesque.

Material y métodos

Los animales fueron mantenidos en ayuno durante 72 horas para asegurar la completa evacuación del digestivo, y posteriormente fueron alimentados *ad libitum*. Tras la ingesta fueron sacrificados a las 0,5, 3, 6, 12, 24, 36, 48 y 72 horas. Posteriormente fueron diseccionados para obtener los digestivos y extraer el contenido del estómago e intestino. Se estimó el peso seco de los contenidos de cada parte.

Se calcularon las medias geométricas y las desviaciones estándar de los datos. Las tasas de evacuación (*TE*) para cada temperatura se estimaron mediante un análisis de regresión basado en la relación entre el tiempo de evacuación (*t*) y el contenido gastrointestinal (*CG*) (Ecuación 1); donde la pendiente de la recta de regresión es la *TE* (g/h).

$$CG = n + mt \quad [1]$$

El efecto de la temperatura (*T*) en la tasa de evacuación, así como la interacción entre *t* y *T*, fue analizada mediante un análisis de regresión múltiple (Ecuación 2).

$$CG = a + bT = ct + dTt \quad [2]$$

La Ecuación 2 puede expresarse como $DC = a + bT + (c + dT)t$, de manera que *t* tiene una relación lineal con *T* cuando los coeficientes *b*, *c*, y *d* sean significativamente distintos de 0. Entonces el tiempo de evacuación se calcula a partir de la Ecuación 2, cuando $CG = 0$.

Resultados y discusión

La tasa de evacuación incrementó con la temperatura (Fig. 1). El punto de intersección con el eje Y (*n*) refleja el nivel de ingesta antes del sacrificio, de manera que éste incrementa con la temperatura, siendo muy superior en el grupo de 25°C (0,652). Los tiempos de evacuación, indicados por la intercepción de la recta de regresión con el eje X (Santulli *et al.*, 1993), fueron de 23,6 h a 25°C, 26,5 h a 20°C y 43,3 h a 15°C.

Los coeficientes del análisis de regresión múltiple (Fig. 2) que describe la relación entre *t* y *T* fueron significativamente distintos de 0 ($P < 0,0001$), de manera que la pendiente de *t* varía linealmente con la temperatura y *t* para $CG = 0$ en función de *T* se calcula a partir de la Ecuación 2. Esta estimación nos permite calcular valores de *t* para todo el rango de temperaturas de 15°C a 25°C (Fig. 2). Según estos resultados se puede concluir que en condiciones de alimentación *al libitum*, el consumo de alimento y la tasa de evacuación gastrointestinal en dorada incrementan con el aumento de temperatura. De manera que, cuando

Figura 1. Tasa de evacuación gastrointestinal, calculada como gramos de material seco en tanto por ciento del peso corporal, en dorada cultivada a 25°C, 20°C y 15°C. $GC = n + mt(TE = 0)$

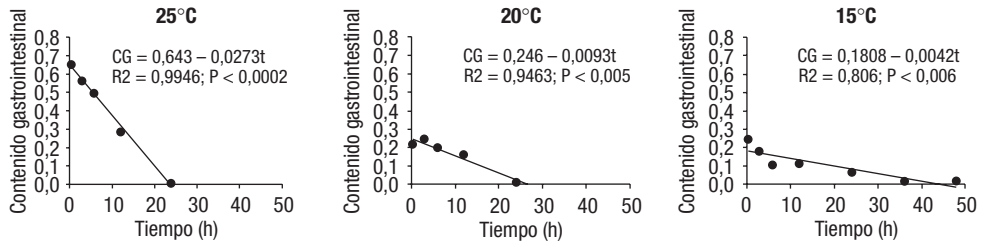
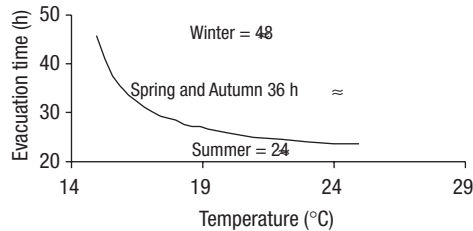


Figura 2. Relación entre el tiempo de evacuación y la temperatura, descrita por la ecuación: $t = (-0,5570 + 0,0460T) / (0,0307 - 0,0022T)$, $R = 0,9489$; $R^2_{adj} = 0,8773$; $P < 0,0001$; donde t es el tiempo de evacuación y T es la temperatura



el rango de temperatura media es 20-25°C un periodo de 24 h de ayuno debería ser suficiente obtener animales con los digestivos vacíos. Sin embargo, a 15°C el ayuno no debe ser menor a 40 h. A efectos prácticos, los tiempos de ayuno podrían aproximarse a los reflejados en la figura.

Agradecimientos

Proyecto (POI-0701) de la «Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia» financiado por la fundación FEDER. Animales donados por Culmarex S. A. (Águilas, Murcia, España).

Bibliografía

Santulli, A., A. Modica, L. Cusenza, A. Curatolo y V. D'Amelio. 1993. Effects of temperatura on gastric evacuation rate and absorption and transport of dietary lipids in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 105A: 363-367.

Variación del consumo de oxígeno y la frecuencia de ventilación de la dorada (*Sparus aurata*) como respuesta a una hipoxia progresiva

A. Cocco, S. Pérez Pacheco, J. Cerezo Valverde y B. García García

IMIDA. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Estación de Acuicultura Marina. Puerto de San Pedro del Pinatar. Box 65. 30740 San Pedro del Pinatar. Murcia. jesus.cerezo@carm.es

Abstract

The object of the present study was to analyse the respiratory behaviour of *Sparus aurata* in the face of a gradual decrease in oxygen concentration. For this, we used fish of 4.4-589 g body weight and temperatures of 14.4 -20.5°C, studying the critical dissolved oxygen saturation (Scrit), the lethal level (LS50) and ventilation frequency (VF). The response of *S. aurata* was that of a regulator species, reaching a Scrit of 24-52% saturation, depending on temperature ($P < 0.05$) but not affected by weight. Oxygen saturation at which VF is modified (SVf) did not depend on these two variables either, varying between 58 and 88 % oxygen saturation. The maximum ventilation frequency reached by *S. aurata* as a result of the gradual hypoxia (105-201 bts/min) was inversely related with body weight and directly related with temperature. The lethal oxygen saturation level was between 3 and 8%.

Justificación

La dorada es una especie cuyo cultivo se encuentra consolidado desde hace años en muchos países del Mediterráneo, siendo la producción en 2006 de 107 mil toneladas (FAO, 2009), destacando Grecia (44 mil toneladas), Turquía (28 mil toneladas) y España (17 mil toneladas). Desde los años 60 se han realizado numerosos estudios sobre esta especie relacionados en su mayor parte con distintos aspectos de su cría. Sin embargo, la respuesta frente a la disminución de la concentración de oxígeno e hipoxia no ha sido estudiada en profundidad, existiendo sólo datos muy puntuales.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar como el consumo de oxígeno y la frecuencia de ventilación se modifican en función de la concentración de oxígeno, para identificar en esta especie los niveles de saturación de oxígeno crítico y letal en función de peso y temperatura.

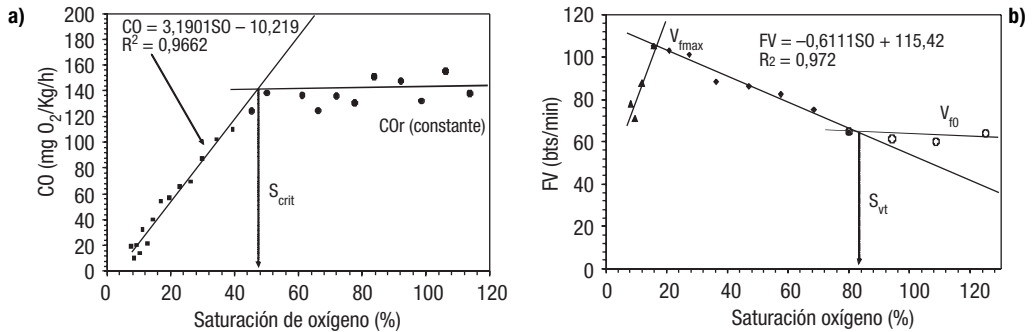
Material y Métodos

Los respirómetros eran acuarios cubiertos con una lámina plástica flotante, adaptada al volumen existente para evitar el intercambio de oxígeno atmosférico. Se dispuso de dos volúmenes: los ejemplares pequeños (4 a 20 g) se colocaron en acuarios de 70 litros y los grandes (200 a 600 g) en acuarios de 167 litros de volumen útil. Estos respirómetros formaban parte de sistema de recirculación con filtro mecánico, biológico, lámpara ultravioleta y bomba de calor para controlar la temperatura del agua.

El consumo de oxígeno se obtuvo en circuito cerrado por interrupción del flujo de agua, a partir del descenso en la concentración de oxígeno en intervalos de 15 minutos a partir del siguiente fórmula: $CO = ([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2}) / (V \cdot t) / (B \cdot t)$. La posible transferencia de oxígeno a través del plástico así como la demanda biológica de oxígeno fueron medidas en un respirómetro control sin animales. La frecuencia de ventilación (FV) se obtuvo visualmente, contando el número de veces que abrían y cerraban los opérculos en un periodo de treinta segundos, de uno de los individuos del grupo elegido al azar. La medida se realizó por triplicado y cada media hora.

Los datos de consumo de oxígeno y de frecuencia de respiración se representaron gráficamente en función ambas de la concentración de oxígeno y se calcularon los siguientes parámetros: CO: Valor medio del consumo de oxígeno antes de que este se modifique debido a la disminución de la saturación de oxígeno. Scrit: Nivel o saturación crítica de oxígeno (% de saturación) calculado como la intersección entre la recta que representa el promedio de los valores de consumo de oxígeno en el rango de independencia respiratoria (valores constantes de consumo de oxígeno), y la recta de regresión ajustada a los valores de consumo de oxígeno en el rango de dependencia respiratoria. LS50: nivel o saturación de oxígeno (% de saturación) en la que mueren el 50 % de los individuos. V₁₀: Frecuencia de ventilación inicial antes de que se modifique por la saturación de oxígeno. V_{max}: Frecuencia de ventilación máxima que alcanza el pez. S_{VF}: Nivel o saturación de oxígeno (% de saturación) en la cual se modifica la frecuencia de ventilación. Se calcula como la intersección entre la recta que representa V₁₀, y la recta de regresión que se obtiene con los datos desde donde empieza a aumentar FV y hasta alcanzar V_{max}.

Figura 1. Evolución del consumo de oxígeno (a) y la frecuencia de ventilación (b), según disminuye la saturación de oxígeno en uno de los experimentos



En total se realizaron 12 medidas, 6 de ellas a 15°C para dos pesos corporales (4,5 y 370 g) y 6 a 20°C también para dos pesos (11 y 579 g). La influencia del peso y la temperatura sobre los parámetros medios se evaluaron con el análisis de regresión múltiple.

Resultados y Discusión

La dorada responde frente a una disminución progresiva del oxígeno disuelto como una especie reguladora alcanzando el nivel crítico entre 24 y 52% de saturación, dependiendo de la temperatura ($S_{crit} = 9,284 + 2,796T$) y no del peso corporal. No dependió de ninguna de estas variables la saturación de oxígeno en la cual se modifica la frecuencia de ventilación (S_{vt}), que se registra entre el 58 y 88% de saturación. La frecuencia ventilatoria máxima que alcanza la dorada por efecto de una hipoxia progresiva varía entre 105 y 201 bts/min, y se relaciona inversamente con el peso corporal y directamente con la temperatura. El nivel letal de saturación de oxígeno se registra entre el 3 y 8% y no depende del peso corporal. Los resultados a grandes rasgos son similares a los observado en sargo picudo (Cerezo Valverde y García García, 2004) y dentón (Cerezo Valverde *et al.*, 2006), aunque existen ciertas diferencias.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto RM-POI07-013-002.

Bibliografía

- Cerezo Valverde, J., B. García García, B. 2004. The effects of oxygen levels on oxygen consumption, survival and ventilatory frequency of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo* Gmelin, 1789) at different conditions of temperature and fish weight. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 48-492.
- Cerezo Valverde, J., F.J. Martínez, B. García García. 2006. Oxygen consumption and ventilatory frequency responses to gradual hypoxia in common dentex (*Dentex dentex*): Basis for suitable oxygen level estimations. *Aquaculture* 256: 542-551.

Ritmos diarios de pH gástrico y actividad enzimática digestiva en doradas (*Sarus aurata* L., 1758) alimentadas de día, de noche y aleatoriamente

A. Montoya¹, M. Yúfera², J. F. López Olmeda¹ y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 30100 Espinardo, Murcia.
e-mail: andermontoya@um.es

² Instituto Ciencias Marinas Andalucía (CSIC). Apartado Oficial .11510 Puerto Real. Cádiz

Abstract

The influence of scheduled vs random feeding on daily rhythm of gastric pH and digestive enzymes was investigated in Gilthead seabream. Fish of an initial body weight of 80g were feed at 15 h, 3 h and randomly during 2 weeks by a diet constituted on 5% of protein, 30% of carbohydrates and 20 % of lipids, using gelatin and casein (1:5) as protein source, dextrin for carbohydrate and soybean oil and cod liver oil (1:3) for lipids. After this period fish were anesthetized and stomach and intestine were sampled and gastric pH in stomach measured every 4 hours (n = 6). Stomach and intestine samples were immediately frozen at -80°C and stored until digestive enzymes analysis (amilase and proteases). Daily rhythm of gastric pH showed for the three treatments a downfall in the next hours to mealtime and fish feed randomly showed a similar curve (sampling day were feed at 15 h) to feeds at 15 h buth with lower pH values. In conclusion, this is the first study that shows the effect of random feeding on daily rhythm of gastric pH, and suggest this parameter as a new welfare indicator.

Justificación

Si un organismo es capaz de anticipar una comida, la ingesta de alimento y la utilización de nutrientes puede ser mejorada, permitiendo al animal preparar y optimizar los procesos digestivos y metabólicos, proporcionando una ventaja adaptativa (Strubbe y Van Dijk, 2002).

Varios trabajos describen variaciones diarias del pH gastrointestinal en peces teleósteos (Yúfera *et al.*, 2004, Yúfera y Darias, 2007) señalando una caída del pH durante la digestión gástrica, aunque el efecto del horario de alimentación y de la alimentación aleatoria sobre el ritmo de pH gástrico aún no se ha estudiado. Por ello, el objetivo de este trabajo fue investigar las variaciones diarias de pH gástrico y enzimas digestivas en doradas alimentadas de día, de noche y aleatoriamente.

Materiales y Métodos

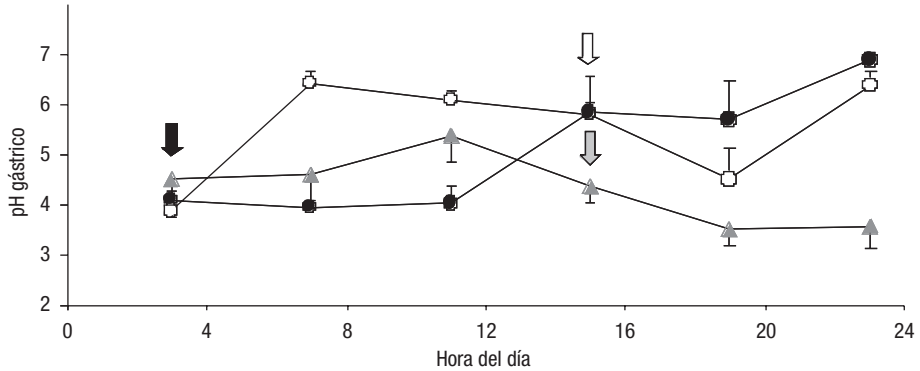
Este experimento se llevó a cabo en el laboratorio de acuicultura situado dentro de la Base Naval de la Algameca (Cartagena) durante el mes de abril del 2009. Para ello, se distribuyeron 216 doradas de un peso medio inicial de 80 g en 6 tanques de 500 L dotados de un flujo continuo de agua de mar, aireación y fotoperiodo 12:12 (luz:oscuridad). Destinando 2 tanques a cada tratamiento, los peces fueron alimentados por medio de comederos automáticos (EHEIM, model 3581, Germany) a las 15 horas, a las 3 horas y de forma aleatoria a base de una dieta compuesta en un 50% de proteína, 30% de carbohidratos y 20% de grasa durante 2 semanas. Cabe señalar que el día de muestreo, y con el fin de comparar los resultados del grupo alimentado aleatoriamente, estos animales fueron alimentados a las 15 horas. Seis peces de cada tratamiento fueron anestesiados con aceite de clavo (Guinama, Valencia, España) cada 4 horas, a los que se les midió el pH gástrico por medio de un microelectrodo y se les extrajo el estómago e intestino medio. Las muestras fueron inmediatamente congeladas a -80°C para su posterior análisis enzimático.

Resultados y Discusión

Los ritmos de pH gástrico en los tres tratamientos muestran una caída del mismo tras la hora de alimentación. Los peces alimentados mediante un horario fijo, presentan curvas con valores de pH similares aunque desplazadas en el tiempo, mientras que los animales alimentados aleatoriamente, presentan una curva paralela a los alimentados de día, aunque compuesta por valores de pH sensiblemente mas bajos. Esto último reflejaría la necesidad que tienen estos peces de estar preparados para digerir en cualquier momento.

Nuestros resultados muestran un claro efecto de la alimentación aleatoria sobre el ritmo diario de pH gástrico demostrando que este tipo de alimentación afecta al rango de valores de pH que constituyen la curva y a la amplitud de la misma. Por ello sugerimos este parámetro como un nuevo indicador de bienestar animal.

Figura 1. Ritmos diarios de pH gástrico. Los círculos negros hacen referencia a los peces alimentados de noche, los círculos blancos a los peces alimentados de día y los triángulos grises a los peces alimentados aleatoriamente. Las flechas negra, gris y blanca señalan el momento de alimentación de los animales pertenecientes al grupo alimentación nocturna, aleatoria y diurna respectivamente el día que fueron muestreados



Agradecimientos

Agradecemos la ayuda prestada tanto a Anny Berenisse Sánchez como a José Antonio Oliver durante todo el desarrollo del experimento.

Bibliografía

- Strubbe, J.H. y G. Van Dijk. 2002. The temporal organization of ingestive behaviour and its interaction with regulation of energy balance. *Neuroscience Biobehaviour Reviews* 26: 485-498.
- Yúfera, M., C. Fernandez-Díaz, A. Vidaurreta, J.B. Cara, F.J. Moyano, 2004. Gastrointestinal pH and development of the acid digestion in larvae and early juveniles of *Sparus aurata* L. (Pisces: teleostei). *Marine Biology* 144, 863-869.
- Yúfera, M. y M.J. Darías 2007. Changes in the gastrointestinal pH from larvae to adult in Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 267: 94-99.

Caracterización del ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* (Linné, 1758) en las Islas Canarias

L. Aarab¹, A. Bilbao¹, M.P. Viera¹, G. Courtois de Viçose¹, A. Bilbao², Y. Pérez², R. Falcón², S. Merbah³, N. Pavón², L. Molina¹, H. Fernández-Palacios¹ y M.S. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35214 Telde. Las Palmas. Islas Canarias. asafunss@gmail.com

² Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. C/ Subida al Mayorazgo, portal B, 2ª planta. Polig. Ind. El Mayorazgo. 38108 Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias. España

³ Université des Sciences et de la Nature Houari Boumediene. Alge. Algeria

Abstract

In the Canarian archipelago *Perna perna* is a potential candidate for aquaculture. Hence, the biological information of natural populations is essential to develop and improve artificial propagation techniques. In the present study twenty monthly samples of *Perna perna* were collected from Fuerteventura Island between January 2008 and June 2009. Histological techniques were used to investigate the reproductive biology. The reproductive cycle is characterized as an annual spawning throughout the year, although the maximum reproductive activity of population is between September and February. The sex ratio of males to females was 1:1.02.

Justificación

El mejillón *Perna perna*, es una especie con una distribución típicamente anfiatlántica ya que se localiza en la costa Oeste de Africa y en el Mar Caribe. En las Islas Canarias, dicho molusco se distribuye en determinados puntos de Lanzarote y Fuerteventura, donde es habitual su consumo. La constatación de que el «mejillón majorero», como recurso marisquero de la costa de la isla de Fuerteventura, se encuentra actualmente en una preocupante situación de conservación, ha motivado la necesidad de establecer un amplio período de veda para su extracción, actualmente vigente (*Orden de 16 de julio de 2004; BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004*) y así mismo, ha despertado el interés por el desarrollo de su cultivo.

El objetivo general de este estudio es describir el ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* en las costas canarias, determinando el período de puesta en la Naturaleza. Estos resultados permitirán aumentar el conocimiento de la biología reproductiva de la especie de cara al control de la reproducción y cría en cautividad de ejemplares de este molusco.

Material y Métodos

Con el fin de caracterizar el ciclo reproductivo de *Perna perna*, se realizó un estudio histológico a partir 20 ejemplares de *Perna perna*, mayores de 35 mm en longitud de concha (Id Halla, 1997), capturados mensualmente durante un año y medio en una población natural en la zona de Los Morteros (Fuerteventura). El sexo de cada individuo se asignó por la coloración del manto (naranja en hembras y beige en machos) certificándose microscópicamente por la presencia de oocitos y espermatozoides. Para el estudio histológico, se procedió a la disección del manto que se fijó en formalina al 10% durante al menos 24 horas. Posteriormente, se procedió a la deshidratación en serie creciente de alcoholes, clarificado en xilol, infiltración en parafina y obtención de cortes de 5 micras de muestra. La tinción de los cortes se realizó con hematoxilina de Harris y eosina.

El ciclo reproductivo se estableció mediante los siguientes índices gonadosomáticos:

- Porcentaje de frecuencias de los estados de madurez (Lubet, 1959; Id Halla, 1997).
- Diámetro de oocitos: Se midieron el diámetro de 50 oocitos por individuo con la ayuda del programa informático *Image Pro-plus*.

Los resultados obtenidos se relacionaron con los datos de temperatura y producción primaria de la zona estudiada. Dichos datos fueron cedidos por el Departamento de Oceanografía del ICCM.

Resultados y Discusión

El sex-ratio de machos respecto a hembras fue 1:1,02, por lo que se aceptó la relación 1:1. Este resultado es similar al encontrado en la misma especie de mejillón por Id Halla *et al.* (1997).

Los valores encontrados en las medianas del diámetro de oocitos no fluctuaron durante el periodo de estudio y se observaron individuos en estado *madurando*, *maduro* y *parcialmente desovado* en todos los meses, con un mayor porcentaje de individuos desde septiembre hasta marzo. La disminución de la actividad gonadal resultó desde abril hasta agosto, caracterizado por la presencia de individuos en estados *restauración gonadal* y *regresión gonadal*. Estos resultados sugieren que la población de *Perna perna* muestra una actividad reproductora a lo largo de todo el ciclo anual, presentando una máxima actividad entre los meses de septiembre y marzo. Al comparar estos resultados con datos bibliográficos en otras zonas geográficas (Cayre, 1981; Lasiak, 1986; Benomar *et al.*, 2006), se observa que a medida que la latitud decrece el periodo de puesta en *Perna perna* aumenta a lo largo del año, reflejando claramente su relación con las condiciones medioambientales.

El periodo de puesta en *Perna perna* está relacionado con la temperatura y la disponibilidad de alimento (Id Halla *et al.*, 1997). En el presente estudio se observó la máxima actividad reproductiva durante el periodo de mayor concentración de clorofila (entre septiembre y marzo) de acuerdo con lo observado por otros autores para la misma especie (Griffiths y Griffiths, 1987). Así mismo, la maduración gonadal de la mayoría de individuos coincidió con el aumento de temperatura, como observó Lubet *et al.* (1987) en *Mytilus edulis*, mientras que la mayoría de las puestas se dieron entre septiembre y febrero, coincidiendo con la disminución de la temperatura registrada en el agua de mar (de 26 a 18°C).

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto: «Viabilidad del Cultivo de *Perna perna* en Canarias», subproyecto del Proyecto JACUMAR «Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad».

Bibliografía

- Benomar, S., Bouhaimi, A., El Hamidi, F., Mathieu, M., 2006. Cycle de reproduction de la moule africaine *Perna perna* (Molusca: Bivalvia) dans la baie d'Agadir: Impact des rejets d'eaux usées domestiques et industrielles. *Biologie & Santé*, vol. 6, 1: 25-36.
- Cayre P., 1981. Stocks de mollusques bivalves. In: Milieu et ressources halieutiques de la République Populaire du Congo, par Fontana, A., ed. Editions de l'ORSTOM, Paris: 313-322.
- Griffiths C.L., and Griffiths R.J., 1987. Bivalvia. In: animal energetics, Vol. 2. Bivalvia through Reptilia, by Pandian, T.J. and Vernberg, F.J., eds. Academic Press, New York, USA: 1-88.
- Id Halla, M., Bouhaimi, A., Zekhnini, A., Narbonne, J.F., Mathieu, M., Moukrim, A., 1997. Etude du cycle de reproduction de deux moules *Perna perna* (Linné 1758) et *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) dans la baie d'Agadir (Sud du Maroc). *Haliotis*, 26: 51-62.
- Lasiak, T., 1986. The reproductive cycles of the intertidal bivalves *Crassostrea cucullata* (Born, 1978) and *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from Transkei Coast, Southern Africa. *Veliger*, 29: 226-230.
- Lubet, P., 1959. Recherches sur le cycle sexual et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques Bivalves). *Rev. Trav. Inst. Pêches Mar.*, 23: 387-548.
- Lubet, P., Aloui, N., 1987. Limites létales thermiques et action de la température sur la gamétogenèse et l'activité neurosécrétoire chez la moule (*Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*), Mollusques bivalves. *Haliotis*, 16: 309-316.

Estudio comparativo de la actividad de enzimas antioxidantes en glándula digestiva y gónada de la vieira *Pecten maximus* L.

M. Abad y P. García-Martínez

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela.
E-mail: marcelina.abad@usc.es

Abstract

Aerobic cells produce, as a result of normal oxygen metabolism, reactive oxygen species (ROS). As ROS are highly reactive and responsible for cytotoxic effects, cells have developed certain mechanisms to scavenge them. Such protection can be, in part, accomplished by the primary antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX). In the present study the activity of antioxidant enzymes were measured in the digestive gland and gonad of the scallop *Pecten maximus* from the Ria de Arousa (Galicia). Results showed marked differences for CAT and, in a lesser extension, for GPX levels between gonad and digestive gland of *P. maximus*, being levels much higher (100 times and 10 times, respectively) in the digestive tissue. In contrast, same order levels (106-313 U/g wet weight) for SOD activity were measured in both tissues.

Justificación

Todos los organismos aeróbicos producen, de forma continua, durante la respiración especies reactivas del oxígeno (ROS). Estos ROS son responsables del daño oxidativo en las células, cuya extensión depende de la eficacia de las defensas antioxidantes que comprenden componentes enzimáticos y no enzimáticos. Los enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX) participan en la eliminación directa de las ROS producidas durante el metabolismo normal y después de un ataque oxidativo (Halliwell y Gutteridge, 2007).

Numerosos estudios han demostrado la producción de enzimas antioxidantes en diferentes especies de bivalvos, especialmente en mejillones (Livingstone *et al.*, 1992); sin embargo, la información disponible en pectínidos es más bien escasa, aunque se ha apuntado la posibilidad de utilizar la vieira para la monitorización de la contaminación marina (Viarengo *et al.*, 1995; Regoli *et al.*, 1997). El objetivo principal del presente estudio es proporcionar datos básicos sobre los procesos antioxidantes en la vieira, *Pecten maximus* de la Ría de Arousa (Galicia), que permitan su uso posterior en estudios relacionados con distintos tipos de contaminación en la zona, ya que estos enzimas son usados como biomarcadores de estrés oxidativo en muchos sistemas biológicos (Cheeseman y Slater, 1993).

Material y Métodos

Los tejidos utilizados para realizar el estudio han sido la glándula digestiva y la gónada por distintas razones: el primero por ser el sitio donde se almacenan xenobióticos y donde actúan los enzimas de biotransformación que producen ROS (Viarengo *et al.*, 1995) y el segundo por ser una parte comestible de este molusco. Las vieiras fueron recogidas por el INTECMAR (Xunta de Galicia) en la Ría de Arousa (Galicia) y se llevaron inmediatamente al laboratorio donde se procedió a su disección. Las gónadas (separadas por sexo) y las glándulas digestivas fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido y almacenadas a -70°C hasta su uso. Las actividades de los enzimas antioxidantes fueron determinadas en el sobrenadante de 12.000 xg siguiendo el procedimiento descrito en Livingstone *et al.* (1992). La actividad de la CAT se determinó como el consumo de H₂O₂ a 240 nm. La actividad de la SOD se midió mediante la inhibición sobre la reducción del citocromo *c* a 550 nm provocada por el radical superóxido generado por el sistema hipoxantina/xantina oxidasa. La actividad de la GPX se midió por el descenso de NADPH a 340 nm usando como sustrato hidropéroxido de cumeno.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestran las actividades específicas, expresadas por gramo de tejido, de los enzimas antioxidantes en las gónadas y en la glándula digestiva de la vieira, *Pecten maximus*.

Las actividades de los enzimas antioxidantes analizados fueron siempre superiores en glándula digestiva que en gónada, tal y como fue observado en otros moluscos (Gamble *et al.*, 1995; Regoli *et al.*, 1997). Entre los resultados obtenidos destaca la diferencia observada para la CAT, cuya actividad es unas 100 veces superior en la glándula digestiva. Esta diferencia se reduce para la actividad de la GPX, siendo en este caso sólo unas 10 veces superior la actividad medida en el tejido digestivo. Los elevados niveles en la

Tabla 1. Actividades específicas de los enzimas antioxidantes, Glutathion peroxidasa (GPX), Superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT), en *Pecten maximus* L. Los resultados se expresan como la media \pm S.E.M, n = 5

Tejido	Enzimas		
	GPX (μ moles/min/g tejido)	SOD (unidades/g tejido)	CAT (mmoles/min/g tejido)
Gónada			
— Macho	0,22 \pm 0,04	106,4 \pm 37	0,35 \pm 0,03
— Hembra	0,25 \pm 0,04	184,0 \pm 33	0,27 \pm 0,04
Glándula digestiva	2,15 \pm 0,25	313,3 \pm 47	21,90 \pm 3,50

glándula digestiva de estos dos enzimas, encargados de la eliminación de H₂O₂, podrían ser el resultado de una mayor producción de este compuesto lo que haría que aumentasen los mecanismos de eliminación de esta sustancia. En cambio la actividad de la SOD muestra un nivel de actividad similar en ambos tejidos. Con relación a las diferencias entre sexos, se observaron ligeros aumentos en las hembras con respecto a los machos para la GPX, pero para la SOD el aumento fue del 73% en hembras. Por el contrario, la actividad de la catalasa fue inferior en las hembras (0,27 frente a 0,35 mmoles/min/g tejido).

Bibliografía

- Cheeseman, K.H. y T.F. Slater. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49: 481-493
- Gamble, S., P.S. Goldfarb, C. Porte y D.R. Livingstone. 1995. Glutathione peroxidase and other antioxidant enzyme function in marine invertebrates (*Mytilus edulis*, *Pecten maximus*, *Carcinus maenas* and *Asterias rubens*). *Mar. Env. Res.* 39: 191-195
- Halliwell, B. y J.M.C. Gutteridge. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford. U.K.: 851 pp.
- Livingstone, D. R., F. Lips, P. García-Martínez y R.K. Pipe. 1992. Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol* 112: 265-276
- Regoli, F., G.B. Principato, E. Bertoli, M. Nigro y E. Orlando. 1997. Biochemical characterization of the antioxidant system in the scallop *Adamussium colbecki*, a sentinel organism for monitoring the Antarctic environment. *Polar Biol.* 17: 251-258
- Viarengo, A., L. Canesi, P. García-Martínez, L.D. Peters y D.R. Livingstone. 1995. Pro-oxidant processes and antioxidant defence systems in the tissues of the Antarctic scallop (*Adamussium colbecki*) compared to the Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 111B: 119-126.

Efecto de la intensidad de la luz sobre el crecimiento y supervivencia larvaria en dentón (*Dentex dentex*)

E. Abellán, M. Arizcun y A. García-Alcázar

Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Murcia. Carretera de la Azohía, s/n.
30860 Puerto de Mazarrón. Murcia. España. Email: emilia.abellan@mu.ieo.es

Abstract

The effect of different light intensity on growth, survival and swim bladder inflation in *Dentex dentex* larvae was investigated. Four different light intensities (200, 400, 800 and 1200 lux) were tried, and the experiments were carried out in 1 m³ fibre glass tanks for 20 days. The temperature was fixed at 20–22°C and the photoperiod was 18L/6O. The best results in final survival were obtained when the intensity was 200 lux. The final mean length larvae are similar in all treatments and the best percent of swim bladder inflation (100%) was obtained at 1,200 lux.

Justificación

El conocimiento de los factores ambientales que influyen en el desarrollo larvario de cada especie, es esencial para diseñar protocolos que maximicen supervivencia y crecimiento en condiciones de cultivo. El fotoperiodo, la intensidad de luz, el color de los tanques etc., son determinantes para el crecimiento, supervivencia y calidad larvaria, condicionando la inflación de la vejiga natatoria (Chatain *et al.*, 1991). La localización y captura de las presas viene condicionada por los factores anteriores y depende mucho del contraste existente entre presa y medio (Downing and Litvak, 1999). En este estudio se trata de establecer las intensidades lumínicas adecuadas que permitan un óptimo crecimiento, supervivencia y calidad de las larvas de esta especie.

Material y Métodos

Se probaron cuatro intensidades de luz: 200, 400, 800 y 1200 lux. Todos los ensayos se realizaron por duplicado en tanques de fibra de vidrio de 1 m³ de capacidad. La temperatura se mantuvo entre 20 y 22°C y el fotoperiodo fue de 18 L/ 6 O. Cada tanque estuvo provisto de una lámpara de luz incandescente, situada a 50 cm de la superficie del agua, con un potenciómetro que proporcionó las diferentes intensidades lumínicas requeridas. La densidad inicial de cultivo fue de 50 huevos/l y la alimentación a base de rotífero hasta el día 18 de vida y de nauplios de *Artemia* desde el día 15 hasta el 20 en que finalizó la prueba. Cada dos días, se realizó un muestreo para controlar talla y porcentaje de larvas con vejiga. Al final del experimento se determinó, además, peso y supervivencia larvarias.

Resultados y Discusión

La Figura 1, muestra la evolución del crecimiento en talla de las larvas a las diferentes intensidades lumínicas. Las tallas medias finales de las larvas (Fig. 2 y Tabla 1), son muy similares no existiendo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los distintos tratamientos. Los mejores resultados, en cuanto a superviven-

Figura 1. Evolución de la talla media de las larvas sometidas a los diferentes tratamientos

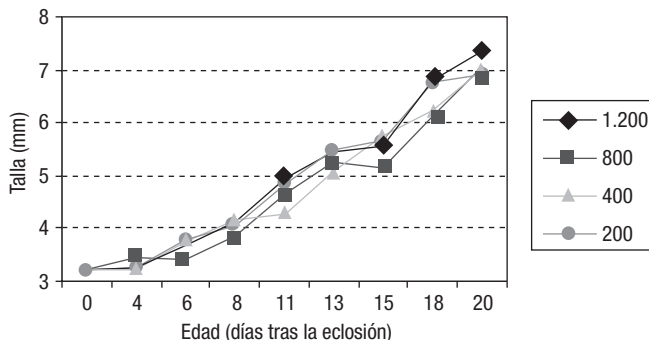
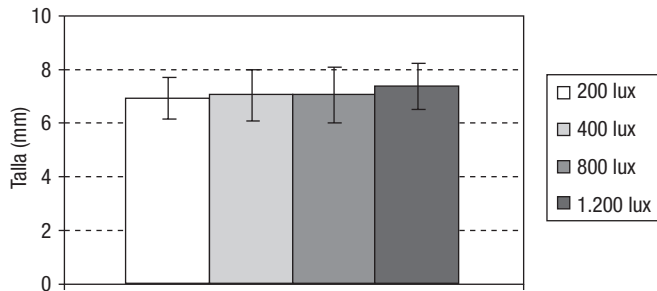


Figura 2. Talla final (media \pm SD) de las larvas a las diferentes intensidades**Tabla 1.** Tallas, supervivencias e inflación de vejiga en larvas (media \pm SD) al final de la prueba. Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Intensidad (lux)	Talla larvas (mm)	Supervivencia (%)	Inflación vejiga (%)
200	6,9 \pm 0,77 ^A	4,5 \pm 1,3 ^B	98,3 \pm 2,9 ^{BC}
400	7,01 \pm 0,97 ^A	1,7 \pm 0,3 ^A	83,5 \pm 6,1 ^A
800	7,05 \pm 1,06 ^A	2,1 \pm 0,4 ^{AB}	86,7 \pm 11,5 ^{AB}
1.200	7,37 \pm 0,83 ^A	2,9 \pm 0,4 ^{AB}	100 \pm 0,0 ^C

cia (5%), se obtuvieron cuando se utilizaron intensidades de 200 lux. En el resto de los tratamientos las supervivencias finales oscilaron entre 1,7% y 3% (Tabla 1). A mayores intensidades (800 y 1.200 lux) la inflación ocurre antes y a la edad de 9 días aparece la vejiga en el 25% de las larvas, mientras que a intensidades de 200 y 400 lux sólo tienen vejiga el 10% de las larvas. Esta tendencia se invierte a la edad de 15-16 días, apareciendo un mayor porcentaje de larvas con vejiga en los tratamientos de 200 y 400 lux. Al final del experimento, a los 20 días de edad, existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los distintos tratamientos y los mejores resultados del 100% de larvas con vejiga se consiguen a 1200 lux (Tabla 1).

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto ACU03-009-C4-1 del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

- Downing, J.E. and L.M. Litvak. 1999. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquaculture International*. 7 (6): 369-382.
- Chatain, B., N. Ounais-Guschemann. 1991. The relationships between light and larvae of *Sparus aurata*. In: Lavens, P. et al. (Ed.). *Larvi '91. Short Communications and abstracts of contributions presented at the International Symposium on Fish and Crustacean Larviculture*. Gen, Belgium, August 27-30. EAS Special Publicatium, 15:pp. 310-313.

Nuevas aportaciones al estudio de la organogénesis en larvas de corvina (*Argyrosomus regius* Asso, 1801)

N. Abreu, J. Socorro, M. Betancor, M. J. Caballero, H. Fernández-Palacios, C. M. Hernández-Cruz, J. Roo y D. Schuchardt

Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35214 Telde, Las Palmas. España. e-mail: natayian@hotmail.com

Abstract

The present study describes histological aspects of *Argyrosomus regius* larval development up to day 60 after hatching and provides on the ontogeny of digestive system in relation to development of eye and swim bladder. To 3 day, the mouth and the anus were opened together with the advanced development of the eye, it let to the larvae get ready for the predation. The swim bladder was observed at 3 day, and its inflation is produced on the day 8. When reabsorption of endogenous reserves proceeded (day 4) larvae acquired initial absorptive and digestive equipments necessary for first feeding (enterocytes brush border, zymogen pancreatic granules, and ducts connecting accessory glands to the gut). At this time photoreceptors were increased in size and number, the eye pigmentation pattern was finished and thus the visual system was completely ready for prey capture. The third day, the digestive tract started to differentiate and buccopharyngeal cavity, esophagus, midgut and hindgut were distinguished.

Justificación

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una especie que en los últimos años ha despertado un gran interés en la acuicultura debido su rápido crecimiento, y a la calidad de su carne. El presente trabajo pretende incrementar la información existente durante los dos primeros meses de vida de esta especie, lo que permitirá profundizar en el cultivo larvario.

Material y Métodos

El cultivo larvario se realizó según protocolo establecido por (Roo *et al.*, 2005). La temperatura fue de 19,98±0,46°C. Diariamente y hasta el día 60 post-eclosión, 30 larvas de un tanque de cultivo, se capturaron y anestesiaron en una solución de esencia de clavo natural al 1‰ en agua de mar. Se determinaron parámetros morfométricos según Fernández-Palacios *et al.* (2007). Para el estudio histológico, las larvas fueron fijadas en formol tamponado, deshidratadas, transferidas e infiltradas en parafina en un procesador de tejidos. Secciones seriadas de 5 micras fueron teñidas con Hematoxilina y Eosina (H&E), observadas y fotografiadas en un microscopio óptico (Leica DM 2500 con cámara Leica DFC 420).

Resultados y Discusión

La evolución de la organogénesis del sistema digestivo en la corvina ha sido descrita durante los primeros 30 días de vida por Cruz *et al.* (2007). La apertura de la boca y ano tuvo lugar el día 3 (LS = 3,251) estructurándose el sistema digestivo en anterior, medio y posterior a partir de ese momento. En nuestras condiciones de cultivo, al día 26 (LS = 5,985 mm) se diferenciaron las primeras glándulas gástricas, distinguiéndose un sencillo estómago glandular al día 35 (LS = 8,51 mm). Esta cronología presenta un retraso respecto a otros estudios para la misma especie donde comenzaron a observarse entre los 15 y 21 días a 20,12°C (Cruz *et al.*, 2007), siendo probablemente factores tales como temperatura y nutricionales, los que ocasionan esta diferencia. Los primeros esbozos de ciegos pilóricos fueron diferenciables a partir del día 29. El día 31 (LS = 6,851 mm), se diferenciaron 3 ciegos pilóricos, y estos fueron aumentando de tamaño y número hasta el día 48 con 8 ciegos pilóricos. Cruz *et al.* (2007) no describieron la presencia de ciegos antes del día 30, aunque con una LS de 13,67mm, valor próximo al determinado en nuestra experiencia a los 42 días de vida larvaria. Valores también dispares a los obtenidos por Rodríguez-Rúa *et al.* (2007), que obtuvieron longitudes de 15,106 y 11,66 mm (20-23°C, 20,5 y 24,8°C respectivamente) a los 30 días de eclosionar. Al final de nuestro estudio (60 días) la longitud estándar observada fue de 22,615 mm. La vejiga natatoria se observó como una masa de células con núcleo central y basófilo desde el día 3. Este desarrollo temprano puede observarse en otros espáridos (Santamaría *et al.*, 2004; Socorro, 2006) En este mismo día se pudo observar el conducto neumático, como un epitelio cúbico simple. La formación del rete mirabile se observó a partir del día 5 situándose en la región ventral de la vejiga. El desarrollo de la glándula del gas se evidenció entre los días 5 y 8 (LS = 3,406 y 3,539 mm, respectivamente). La inflación de la vejiga comenzó a observarse desde el día 5, aunque la expansión total se produjo entre los días

as 8 y 10 (LS = 3,539 y 3,617 mm respectivamente). Esta cronología coincide con la observada para el bocinegro o pargo por Socorro (2006) y algo más temprana que lo señalado en otro estudio de la corvina (20,12°C, Cruz *et al.*, 2007) y otros espáridos como el dentón (11-12 días) (Santamaría *et al.*, 2004).

Al eclosionar, en el ojo se observó la lente como un epitelio de células indiferenciadas y distribución esférica, mientras que en la retina las células estaban dispuestas radialmente. El nervio óptico se diferenció desde el momento de la eclosión. El día 1 se observó en la retina dos capas celulares: una nuclear externa donde se comienzan a distinguir las primeras células fotorreceptoras, y otra interior de células esféricas ganglionares. A partir del día 2 se produce el mayor desarrollo de la capa nuclear externa dispuesta de fotorreceptores, coincidiendo con la próxima apertura de la boca. Al día 3, se observó la proliferación de tejido alrededor del ojo, comenzando a formarse la esclerótica. A partir del día 5 las capas de la retina fueron más evidentes, sobre todo por la pigmentación desarrollada en la nuclear externa que se evidenció al día 6. Al día 16 (LS = 5,270 mm) se observaron las primeras células precursoras, (núcleos de los bastones), varios días antes de lo observado en bocinegro (Roo *et al.*, 1999). Los resultados demuestran que la corvina es una especie de rápido desarrollo y muy susceptible a las condiciones de cultivo durante su fase larvaria, condicionando éstas su crecimiento. A su vez el presente estudio ratifica que las características morfológicas y la organogénesis están directamente relacionadas con la longitud de la larva, independientemente de la edad de la misma.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado gracias a la subvención otorgada por los planes nacionales de cultivos marinos (JACUMAR).

Bibliografía

- Cruz, W., A. Grau, E. Pastor, S. Crespo y R. Sala. 2007. Desarrollo ontogénico de la larva de Corvina (*Argyrosomus regius*): estudio preliminar. En: *Actas del XI Congreso Nacional en Acuicultura*: 735-738.
- Fernández-Palacios, H., D. Schuchardt, J. Roo, C. Borrero, C. M. Hernández-Cruz y J. Socorro. 2007. Estudio morfométrico de la corvina (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) durante el primer mes de vida. En: *Actas del XI Congreso Nacional en Acuicultura*: 755-758.
- Rodríguez-Rúa, A., A. Grau, M. T. Jiménez, J. M. Valencia, M. Rosano, J. Durán, E. Pastor y S. Cárdenas. 2007. Cultivo larvario de la corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 739-742.
- Roo, F. J., J. Socorro, M. S. Izquierdo, M. J. Caballero, C. M. Hernández-Cruz, A. Fernández, H. Fernández-Palacios. 1999. Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture*.179: 499-512.
- Roo, J., C.M. Hernández Cruz, H. Fernández-Palacios y M.S. Izquierdo. 2005. Development of skeletal deformities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) reared under different larval culture and dietary condition. En: *Europ.Aquac.Soc.Spec Pub*. 36: 441-444.
- Santamaría C. A., M. Marín de Mateo, R. Traveset, R. Sala, A. Grau, E. Pastor, C. Sarasquete, S. Crespo. 2004. Larval organogenesis in common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and histochemical aspects. *Aquaculture*. 237 207-228.
- Socorro, J. 2006. Estudio comparado del desarrollo embrionario y larvario del bocinegro (*Pagrus pagrus*) y de la sama de pluma (*Dentex gibbosus*). Tesis doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 256pp.

Caracterización de linfocitos intraepidérmicos en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

M.E. Alonso-Naveiro¹ y J.L. Martínez²

Universidad de Oviedo. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas.
Catedrático Rodrigo Uriá, s/n. 33071 Oviedo

¹ escurcorpina@hotmail.com

² juanlm@uniovi.es

Abstract

Because of the important role played by the fish skin as a defensive barrier, it contains a wide range of immunological elements such as intraepidermal lymphocytes. Despite this fact, essential questions about the nature and function of these cells remain unanswered. The aim of this work is to characterise the number and location of the intraepidermal lymphocytes in the tegument of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fifteen 4-month-old fishes were selected, and skin pieces from the dorsal region of their head were fixed in Bouin and embedded in paraffin. Sections of 8 μm were stained with haematoxylin-eosin and microscope images were analysed by Image J. Two parameters were calculated: Intraepidermal Lymphocyte Number (ILN) and Lymphocyte Density (LD). ILN hardly varied among the tested fish. Regarding to their distribution, lymphocytes were mostly concentrated in the middle region of epidermis, above the basal layer of epithelial cells. It may be concluded that a resident population of lymphocytes is present in the rainbow trout skin, that they move in intercellular spaces, and that the patterns of their number and distribution are similar in the analysed samples.

Justificación

Debido al importante papel que desempeña la piel en los teleósteos, en ella se concentran muchos componentes del sistema inmune, entre los que se encuentran los linfocitos intraepidérmicos. En trucha, Peleteiro y Richards (1985) y Magor (1988) abordaron el estudio de estos linfocitos, pero limitándose a los de tipo B, a pesar de que los linfocitos T son más abundantes en los epitelios de otros órganos, como el digestivo, y también se han descrito en piel de *Salmo salar* (Bakke-Mckellep *et al.*, 2007). En algunos trabajos sobre alteraciones tegumentarias de teleósteos (Santos Atienza, 2007) se observó un aparente incremento de la población linfocitaria intraepidérmica, lo que sugiere su intervención en los mecanismos de defensa, pero se desconoce si en la piel sana forman una población residente estable, cuál es su número y cómo se distribuyen, que son los aspectos que se abordan en el presente trabajo.

Material y Métodos

Se emplearon 15 truchas arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) de 4 meses de edad que fueron sacrificadas mediante sobredosis de MS-222. De cada una se extrajeron piezas de piel sin escamas de la zona dorsal de la cabeza que se fijaron en Bouin y se incluyeron en parafina. Mediante microtomo se obtuvieron secciones de 8 μm de grosor, perpendiculares a la superficie del tegumento, que posteriormente fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina y montadas con Cytoseal.

De cada trucha se seleccionaron 10 secciones en las que se estableció un recuadro de muestreo de 150 μm de longitud y altura suficiente para incluir todo el grosor de la epidermis. Mediante el programa *Image J* se analizó la distribución de los linfocitos (determinación de su posición y altura) y se cuantificó su número, calculándose el Número Linfocitario Intraepidérmico (NLI): media del número de linfocitos contabilizados en los recuadros de muestreo, y la Densidad Linfocitaria (DL): número de linfocitos presentes en $10^{-4} \mu\text{m}^{-2}$ de epidermis.

Resultados y Discusión

Los linfocitos intraepidérmicos suelen aparecer separados de las células epiteliales por espacios intercelulares («espacios linfoides») (Mittal y Munshi, 1974). Si bien la mayoría presentaron el aspecto típico de los linfocitos (núcleo esférico muy heterocromático, y delgada franja citoplásmica), algunos mostraron proyecciones digitiformes de longitud variable que indican claramente procesos migratorios, tal como ha sido descrito en otras especies de teleósteos (Bermúdez *et al.*, 2006). El valor determinado para el NLI fue de $19,4 \pm 2,69$, y con intervalos de confianza al 95% muy estrechos que indican una gran homogeneidad en todos los ejemplares analizados. La DL en el conjunto de las muestras analizadas fue de $17,84 \pm 3,17$ linfocitos por $10^{-4} \mu\text{m}^{-2}$.

El estudio de la posición de los linfocitos puso de manifiesto que no se distribuyen al azar en la epidermis (Fig. 1) sino que se concentran mayoritariamente sobre las células epiteliales basales, en la franja linfocitaria

Figura 1. Distribución de los linfocitos en la epidermis

taria situada entre las 15 y 30 μm de altura. En esta Zona Intermedia de la epidermis $DL = 53,98 \pm 9,54$; en la Zona Basal (entre 0 y 15 μm de altura) $DL = 7,31 \pm 4,11$; y en la Zona Superficial (entre 30 μm de altura y la superficie) $DL = 8,68 \pm 2,58$ linfocitos por $10^{-4} \mu\text{m}^{-2}$ de epidermis.

Se concluye que en la epidermis de la piel sana de trucha arco iris hay una población permanente de linfocitos, en número constante, situados preferentemente en una franja linfocitaria sobre las células epiteliales basales y con una plasticidad morfológica que sugiere su desplazamiento por los espacios linfoides.

Agradecimientos

M. E. Alonso Naveiro disfrutó de una beca predoctoral concedida por FICYT durante la realización de este trabajo. La piscifactoría del Alba (Rioseco) proporcionó los ejemplares.

Bibliografía

- Bakke-Mckellep, A.M., M.K. Froystad, E. Lilleeng, F. Dapra, S. Refstie, A. Krogdahl y T. Landsverk. 2007. Response to soy: T-cell-like reactivity in the intestine of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 30: 13-25.
- Bermúdez, R., F. Vigliano, A. Marcaccini, A. Sitjà-Bobadilla, M.I. Quiroga y J.M. Nieto. 2006. Response of Ig-positive cells to *Enteromyxum scophthalmi* (Myxozoa) experimental infection in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.): A histopathological and immunohistochemical study. *Fish & Shellfish Immunology*, 21: 501-512.
- Magor, B.G. 1988. *Characteristics of lymphocytes and immunoglobulin expressing epithelial cells from the epidermis of rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson*. Master of Science Thesis, Dalhousie University: 107 pp.
- Mittal, A.K. y J.S.D. Munshi. 1974. On the regeneration and repair of superficial wounds in the skin of *Rita rita* (Ham.) (Bagridae, Pisces). *Acta Anatomica*, 88: 424-442.
- Peleteiro, M.C. y R.H. Richards. 1985. Identification of lymphocytes in the epidermis of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 8: 161-172.
- Santos Atienza, E.M. 2007. *Alteraciones del tegumento de truchas arco iris (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792) expuestas a pH ácido*. Ph. D. Thesis, Universidad de Oviedo: 121 pp.

Estabulación, mantenimiento de stocks de reproductores de mugílidos en tanques (*Chelon labrosus* y *Mugil cephalus*) y primeros ensayos de inducción a la puesta

O. Amezcua¹, I. Sanchez y J.M. Naranjo¹

¹ Centro IFAPA El Toruño. 11500 El Pto. Sta. María. Cádiz. e-mail: oscar.amezcua@uca.es

Abstract

The present work describes the maintenance and evolution of several stocks of two mullet species: striped grey mullet (*Mugil cephalus*) and thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). For this, fish were caught from different ponds throughout the marshes of the province of Cadiz, and periodic samplings to determine individual growth in weight and size. Conditions were optimized to maintain and reproduce the stocks in tanks. Also, different attempts were carried out to achieve the spawn of this species, with one successful lay in *C. labrosus*.

Justificación

El desarrollo de la acuicultura de especies herbívoras u omnívoras autóctonas como los mugílidos supone una alternativa con un alto potencial dentro de un marco de desarrollo sostenible en la acuicultura. Especies capaces de adaptarse a distintos hábitats con mayor facilidad y con menores requerimientos nutricionales, que pueden ofrecer solución a muchos de los problemas planteados. En el presente trabajo se describe la estabulación y evolución de un stock de reproductores de mugílidos en el IFAPA el Toruño, así como los primeros ensayos para inducir la puesta en la liseta (*Chelon labrosus*) y el serranillo (*Mugil cephalus*).

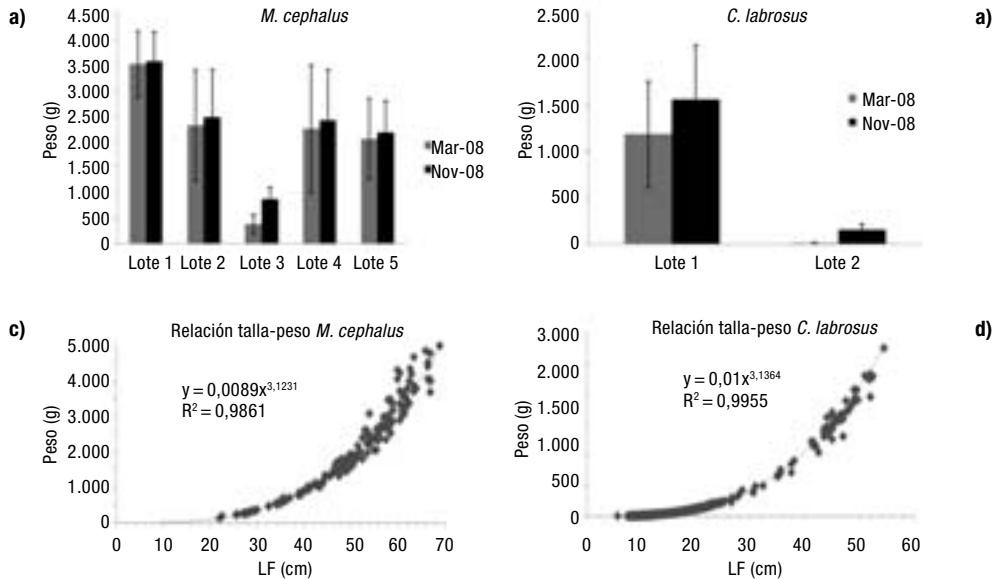
Material y Métodos

Durante el año 2007 se capturaron ejemplares salvajes de liseta de los esteros del IFAPA «El Toruño», hasta conseguir un stock de 40 individuos con un peso aproximado de 1,5 kg. De la misma forma se capturaron 200 juveniles de 23,6 + 2,3 g de peso total medio para hacer un seguimiento del engorde en tanques con dietas comerciales. Por otro lado se capturaron y trasladaron a nuestras instalaciones 80 ejemplares de serranillo procedentes de dos zonas de marisma diferentes de la Bahía de Cádiz, con un rango de pesos que varió entre 1,5 y 5 kg. Una vez en nuestras instalaciones las lisas se estabularon en tanques de 10 m³, separándolos en lotes por tamaño y procediéndose a un tratamiento preventivo con baños de formol y antibiótico. Se mantuvieron en circuito abierto, con una renovación diaria de 3-4 veces su volumen total, y se siguió la evolución de los parámetros físico-químicos para evitar cualquier condición desfavorable. Una vez los peces adaptados, se procedió a un primer muestreo en el que se marcaron con un microchip a todos los individuos supervivientes. Los animales fueron alimentados diariamente *ad libitum* registrándose una tasa de ingestión de aproximadamente 3-5% en peso, con distintas dietas comerciales. Se realizaron muestreos periódicos en los que se realizó un seguimiento de las variables biométricas (peso, longitud total, furcal y estándar) para determinar el crecimiento. También se realizó un ensayo de alimentación de mantenimiento en mesocosmos de artemia, rotíferos y microalgas suplementado con una pequeña dosis de pienso comercial. Para la obtención de puestas viables se siguieron distintas estrategias tomadas de protocolos utilizados por diversos autores (Nash y Shehaded, 1980) en los que a través de implantes comerciales (Ovaplant, Syndel), de LHRHa (Lee *et al.*, 1988) o de LHRHa junto con un antidopaminérgico (Aizen *et al.*, 2005) se obtuvieron distintos resultados. Además se realizaron pruebas de inducción a través de fotoperiodo para controlar la maduración gonadal.

Resultados y Discusión

Se produjeron bajas al inicio de la estabulación, debidas a saltos de los peces fuera de los tanques. Una vez que estos se cubrieron con las mallas no se observaron más bajas por intento de fuga. De 5-7 días después de su llegada a las instalaciones y tras su paso por un periodo de cuarentena, los peces comenzaron a comer, normalmente, la dieta comercial. El crecimiento en peso del stock de reproductores de ambas especies se indica en la Figura 1a y b. La Figura 1c y d muestra la relación talla peso de ambas especies, determinándose la curva de crecimiento. Se ha considerado la longitud furcal en lugar de la total por ser una variable más fiable en este género debido a la morfología de su aleta caudal. Al no disponer de individuos juveniles ni obtener puesta de *M. cephalus*, la curva de crecimiento obtenida es menos fiable para individuos de pequeño tamaño. La relación talla-peso puede estar afectada por diversos factores como el hábitat, alimentación, época del año, sexo, estado de maduración, de aquí la diversidad en los datos encontra-

Figura 1. a y b: evolución de los pesos en los lotes formados. c y d: relación talla-peso considerando los diferentes muestreos a lo largo del tiempo



dos para estas especies en individuos capturados en el medio o cultivados (Oren *et al.*, 1980; Wootton, 1998). En este caso hemos obtenido una buena regresión para ambas especies, siendo los coeficientes de correlación de 0,986 y 0,995 respectivamente. En liseta se realizaron cinco ensayos de inducción de la puesta en los que tan solo obtuvimos resultados positivos en uno de ellos. Se obtuvieron 580.000 huevos de entre 1,3-1,4 mm de diámetro, con un porcentaje de eclosión de 6,79%. La supervivencia fue del 4% en la primera semana de vida. A pesar de la baja calidad de la puesta conseguimos un número suficiente de larvas para hacer un cultivo en mesocosmos en el que se obtuvo una supervivencia de más del 95% después de la primera semana de la eclosión. También se obtuvieron puestas en otros ensayos, pero la viabilidad de las mismas fue tan baja que se descartaron. Durante la época de puesta natural siempre se encontraron machos fluyentes, lo cual indica la buena adaptación a la cautividad en los tanques. También se realizaron los mismos ensayos en serranillo, pero en este caso nunca se obtuvo puesta, ni machos fluyentes. Tras diversas canulaciones no se hallaron hembras en estado de maduración en el que los ovocitos estuviesen suficientemente maduros como para inducir la puesta. Distintos ensayos de inducción de la maduración fueron igualmente infructuosos. Es necesario profundizar en el conocimiento de los distintos aspectos zootécnicos para incrementar la viabilidad de la reproducción de estas especies en cautividad.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto TRANSFORMA (TRP-2008-1) «Proyecto de innovación y transferencia tecnológica para el desarrollo de la acuicultura de aguas salobre en las marismas del bajo Guadalquivir» concedido a J.M. Naranjo.

Bibliografía

- Aizen, J., Meiria, I., Tzchoria, I., Levavi-Sivanb, B., Rosenfeld, H. (2005). Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *General and Comparative Endocrinology*. 142(1-2): 212-221.
- Lee, C. S., Tamaru, C.S., Kelley, C.D. (1988). The Cost and Effectiveness of CPH, HCG and LHRH-a on the Induced Spawning of Grey Mullet, *Mugil cephalus*. *Aquaculture* 73: 341-347.
- Nash, C. E., Shehadeh, Z.H. (1980). *Review of breeding and propagation techniques for grey mullet, Mugil cephalus L.* Manila, ICLARM.
- Oren, O. H. e. (1981). *Aquaculture of Grey Mullet*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Tacon, A.G.J. 2004. Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources. Culture and Development*. 1,3-14.
- Wootton, R. J., 1998: *Ecology of teleost fishes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.

Desarrollo embrionario y larvario de dos especies de moluscos bivalvos: *Donax trunculus* (Linné, 1758) y *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758)

J.A. Aranda¹, A. Louzán¹, F. Da Costa^{1,2}, A. Cerviño-Otero¹, S. Nóvoa¹, J. Ojea¹ y D. Martínez-Patiño¹

¹ Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA). Consellería do Mar. Xunta de Galicia. 27700 Ribadeo. Lugo

² Dpto. de Biología Celular y Molecular. Universidade da Coruña. A Zapateira, s/n. 15071 A Coruña
aranda.jose@cimacoron.org andrealp@cimacoron.org mptea@cimacoron.org

Abstract

The aim of this study is to optimise larval culture in two species of bivalves of the family Veneridae, grooved carpet shell, and Donacidae, wedge shell clam, in hatchery. It was investigated embryonic and larval development with light microscopy. Grooved carpet shell egg measured 68 µm, meanwhile wedge shell clam egg showed higher diameter, 85 µm. Although embryonic development until trochophore stage was similar between both species, D-shaped veliger stage in grooved carpet shell was reached 16 hours before than wedge shell clam. Larval development of *Ruditapes decussatus* and *Donax trunculus* lasted approximately one month, reaching postlarval stage with different size, 208 µm and 256 µm, respectively.

Justificación

La producción de moluscos bivalvos constituye un sector de elevadas posibilidades económicas en el litoral español. Los bancos naturales de coquina, en la actualidad, están restringidos a zonas muy concretas de la costa norte gallega (Martínez *et al.*, 2003). Estos bancos han sufrido en los últimos años un fenómeno de regresión que hace necesario repoblar. Dentro de las especies de almeja, la almeja fina *Ruditapes decussatus*, es la más apreciada y valorada en Galicia. El cultivo de estos bivalvos marinos está limitado por la disponibilidad de semilla (Ojea *et al.*, 2008). Para optimizar el cultivo en criadero de estas dos especies, se hace un estudio del desarrollo embrionario y larvario mediante técnicas de microscopía óptica.

Material y Métodos

Se recogen lotes de reproductores de talla comercial de coquina procedentes de la ría de O Vicedo y de almeja fina de un banco natural localizado en la ría de Arousa. Los progenitores se trasladan al criadero donde se estabulan. Los desoves se obtienen sometiendo a las almejas a choque térmico y de manera espontánea en la coquina. Los huevos fecundados se llevan a los tanques de incubación. El cultivo larvario se hace en tanques de 500 L, con agua de mar filtrada, aireación constante y una temperatura de 20±1°C, en los que se mantienen desde el inicio del desarrollo hasta alcanzar la metamorfosis. Se trabaja con densidades comprendidas entre 5 y 10 larvas/mL. La alimentación consta de una dieta mixta de cuatro especies de microalgas: *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros calcitrans* y *Tetraselmis suecica*, la cual se administra diariamente.

Para controlar los tiempos en los que aparecen las diferentes fases del desarrollo embrionario, se observan las larvas cada 10 minutos al microscopio óptico. Desde la fase de trocófora hasta larva D, se toman muestras cada hora y a partir de este momento el control se hará diariamente. En cada estadio del desarrollo se tomaron, al menos, 100 individuos, se midieron con un programa de análisis de imagen *PC image* y fotografiados usando el microscopio óptico.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestran los tiempos de aparición de los diferentes estadios embrionarios y larvarios de almeja fina y coquina. *Ruditapes decussatus* presenta un tamaño de huevo (68 µm) similar al de la almeja babosa (74 µm) y la navaja (71 µm) (Cerviño-Otero *et al.*, 2008). El huevo de coquina presenta un tamaño superior (85 µm). Tras la fecundación aparece el primer corpúsculo polar dándose aproximadamente al cabo de 1 h el estadio de 2 células. Aunque el desarrollo embrionario hasta trocófora es similar en ambas especies, el estadio de larva D en almeja fina se alcanza 16 h antes que en coquina. El pie aparece a los 15 días en la almeja fina y a los 22 días en coquina. Aproximadamente al cabo de un mes de cultivo se produce la fijación en ambas especies.

Tabla 1. *Tiempos de aparición de los estadios embrionarios y larvarios de las dos especies*

<i>R. decussatus</i>		<i>D. trunculus</i>	
0 h	(68µm)	Huevo	0 h (85 µm)
1 h 15'		2 células	1 h 15'
1 h 40'		4 células	2 h 05'
2 h 10'		8 células	3 h 05'
4 h		16 células	4 h 20'
4 h 50'		32 células	5 h 20'
5 h 30'		Blástula	7 h 20'
7 h 20'		Gástrula	9 h 40'
12 h 40'	(81 µm)	Trocófora	13 h 45' (95 µm)
26 h	(98 µm)	Larva D	41 h 45' (105 µm)
7 días	(138 µm)	Umbonada	8 días (130 µm)
15 días	(180 µm)	Pediveliger	22 días (211 µm)
27 días	(208 µm)	Postlarva	31 días (256 µm)

Agradecimientos

A la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) por la financiación de este proyecto. Al personal del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo y a las cofradías de Cedeira, O Vicedo, O Barqueiro y Cambados.

Bibliografía

- Martínez Patiño, D., Nóvoa Vázquez, S., Ojea Martínez, J. y Rodríguez Moscoso, E. 2003. Determinación de la talla de primera maduración sexual de la coquina, *Donax trunculus* (Linné, 1758) (Mollusca: Bivalvia), en un banco natural de la Ría del Barqueiro (NO Galicia). En: *Libro de Actas IX Congreso Nacional de Acuicultura*. 215-217 pp.
- Ojea, J., Pazos, A.J., Martínez, D., Nóvoa, S., García-Martínez, P., Sánchez, J.L. y Abad, M. 2008. Effects of temperatura regime on broodstock conditioning of *Ruditapes decussatus*. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 27 (5): 1093-1100.
- Cerviño-Otero, A., Da Costa, F., Ojea, J., Nóvoa, S. y Martínez-Patiño D. 2008. Desarrollo embrionario y larvario de tres especies de bivalvos: navaja (*Ensis arcuatus*), longueirón (*Ensis siliqua*) y almeja babosa (*Venerupis pullastra*). En: *XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. 317-320 pp.

Primeros resultados sobre reproducción y cultivo larvario de verrugato (*Umbrina cirrosa* L.)

M. Arizcun, E. Abellán y A. García-Alcázar

Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Murcia. Carretera de la Azohía, s/n. 30860 Puerto de Mazarrón. Murcia. España. e-mail: marta.arizcun@mu.ieo.es

Abstract

This paper describes preliminary results in spawning and larval culture of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.), a promising fish for the mediterranean aquaculture. Two females were selected and induced with GnRH α injection hormone (10 μ g kg $^{-1}$). After 48 hours, 35,200 eggs with a mean diameter of $782.01 \pm 18.9 \mu$ m were obtained. The percentage of viable eggs was 93, 2%, hatching rate was 53% and larval survival at three dph was 68%. The total mean lengths of newly hatched larvae and at 21 dph were $2,454 \pm 115 \mu$ m and $14,275 \pm 1,427 \mu$ m respectively which indicates a high growth rate during the first days of life.

Justificación

Una de las prioridades actuales en la piscicultura marina es diversificar la producción mediante la introducción de nuevas especies con potencial comercial. El verrugato (*Umbrina cirrosa*), especie que pertenece a la familia Esciéndidos (Nelson, 1994), presenta unas características ventajosas que le hacen ser una especie candidata para la acuicultura mediterránea. Su tasa de crecimiento es elevada, se adapta bien a las condiciones de cultivo y parece que las larvas aceptan dietas artificiales en un estadio temprano debido al rápido desarrollo de su aparato digestivo (Mylonas *et al.*, 2004; Koumoundouros *et al.*, 2005).

En España, hasta el momento, no se ha realizado ningún estudio sobre esta especie. En Italia y más recientemente en Grecia y Chipre se han realizado varios trabajos sobre reproducción en cautividad y cultivo larvario mediante la técnica del mesocosmos.

En este trabajo se presentan los primeros resultados obtenidos en España al estimular hormonalmente hembras de verrugato para obtener puestas en cautividad y los datos del cultivo larvario realizado hasta los 21 días tras la eclosión.

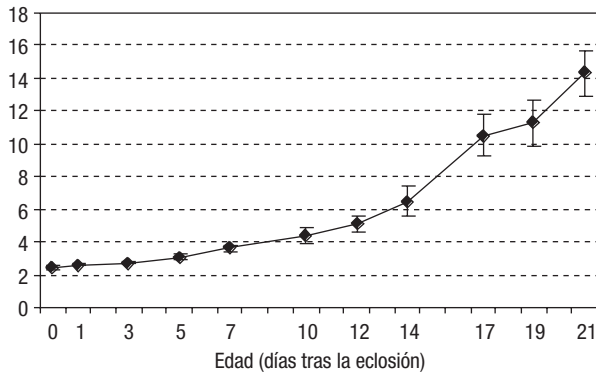
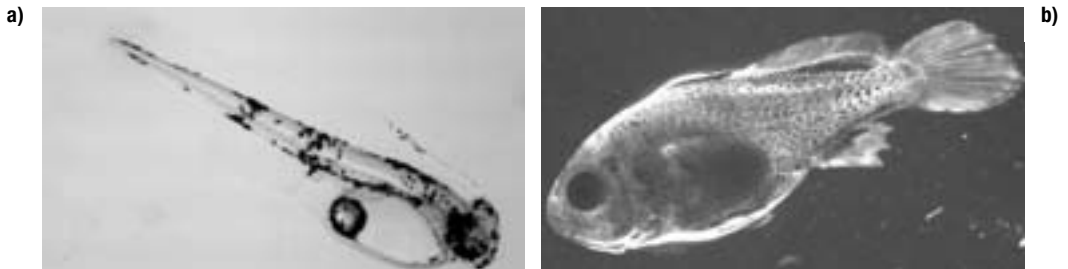
Material y Métodos

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Planta Experimental de Cultivos Marinos (Mazarrón) del Instituto Español de Oceanografía y se realizó con reproductores salvajes adaptados a la cautividad. En el mes de junio de 2009 se inyectaron dos hembras maduras con GnRH α (10 μ g kg $^{-1}$) y se estabularon en un tanque con cuatro machos maduros. A las 48 horas se recogió una única puesta de 32800 huevos que se incubaron a temperatura ambiente (23°C) hasta la eclosión. Las larvas fueron trasladadas a un tanque de cultivo larvario de 1 m 3 y, una vez agotado el saco vitelino, comenzó la administración de alimento a base

Tabla 1. Datos de larvas desde la eclosión hasta 21 días (medias \pm SD) (n = 20)

Días tras eclosión	LT (μ m)	LN (μ m)	LS (μ m)	PH (mg)	PS (mg)	Vejiga (%)
0	2.454 \pm 115	2.337 \pm 117	617 \pm 55			
1	2.606 \pm 53	2.487 \pm 53				
3	2.688 \pm 65	2.545 \pm 65				
5	3.100 \pm 167	2.946 \pm 169				
7	3.655 \pm 200	3.466 \pm 207				35
10	4.420 \pm 511	4.195 \pm 452				
12	5.124 \pm 565	4.573 \pm 348		1,65 \pm 0,09	0,25 \pm 0,02	
14	6.519 \pm 949			4,05 \pm 0,2	0,76 \pm 0,06	
17	10.557 \pm 1.317			16,9 \pm 5	3,25 \pm 0,9	95
19	11.316 \pm 1.407			21,4 \pm 6,5	4,17 \pm 1,1	95
21	14.275 \pm 1.427			40,5 \pm 10,7	7,86 \pm 1,9	95

LT: longitud total. LN: longitud a la notocorda. LS: longitud saco vitelino. PH: peso húmedo. PS: peso seco.

Figura 1. Evolución del crecimiento en talla**Figura 1.** Larvas de 0 (a) y 21 (b) días

de rotífero (10-20 rot/ml) hasta el día 17 tras la eclosión y nauplios de artemia a partir del día 11 (0,25-4 art/ml). Durante la alimentación con rotífero se suministró fitoplancton al tanque diariamente. La temperatura de cultivo varió entre 23°C y 27°C (temperatura ambiente) y el fotoperíodo se mantuvo en 12/12 con una intensidad de 600 lux en la superficie del agua. Se tomaron muestras de huevos y larvas cada 2 o 3 días (40 huevos y 20 larvas) con el fin de realizar medidas de talla y peso para controlar el crecimiento. También se observó el momento de aparición de aletas y vejiga natatoria así como el porcentaje de larvas con vejiga.

Resultados y Discusión

A las 48 horas tras la inyección hormonal se obtuvo una puesta de 35.200 huevos de los cuales 32.800 estaban fertilizados, con un diámetro medio de $782,01 \pm 18,9\mu\text{m}$ ($n = 40$) y de $191,7 \pm 10,6\mu\text{m}$ en la única gota de grasa. La tasa de eclosión fue del 53% con una supervivencia larvaria a los 3 días tras la eclosión del 68%. En la Tabla 1 se muestran los datos de talla, peso y porcentaje de vejigas de las larvas durante el desarrollo larvario hasta los 21 días tras la eclosión. Los huevos eclosionaron a las 24 horas, las larvas abrieron la boca a las 72 horas, a las 96 horas ya tenían desarrolladas las aletas pectorales y entre los días 5 y 7 se observaron las primeras vejigas natatorias. Las larvas presentaron un rápido crecimiento alcanzando una talla de 14,3 mm el día 21 (Fig. 1) poniendo de manifiesto el rápido desarrollo de esta especie durante sus primeros días (Fig. 2).

Bibliografía

- Mylonas, C., Y. Kyriakou, I. Sigelaki, G. Georgiou, D. Stephanou y P. Divanach. 2004. Reproductive biology of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in captivity and induction of spawning using GnRH α . *The Israeli Journal of Aquaculture*. Bamidgheh 56(2): 77-94.
- Koumoundouros, G., S. Kouttoui, E. Georgakopoulou, I. Papadakis, E. Maingot, P. Kaspiris, Y. Kiriakou, G. Georgiou, P. Divanach, M. Kentouri y C. Mylonas. 2005. Ontogeny of the shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture. *Aquaculture Research*. 36: 1265-1272.

Crecimiento muscular en doradas, *Sparus aurata* L., alimentadas con un suplemento de alginato sódico

M.^a D. Ayala¹, I. Abdel¹, A. García-Alcázar², E. Abellán², G. Ramírez¹ y O. López-Albors¹

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Campus de Espinardo. Murcia. E-mail: mdayala@um.es

² Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Murcia. Carretera de la Azohía, s/n. 30860 Puerto de Mazarrón. Murcia

Abstract

Three types of dietary regime were applied on specimens of sea bream, *Sparus aurata* L., of 98, 200 and 300 gr: diet I o standard diet, diet II and diet III being supplemented with sodium alginate at 2% and 5%, respectively. Muscle parameters and body growth parameters were registered. Results showed no significant differences among groups, such that the diet did not modify the muscle cellularity. Similarly, rates of growth as well as conversion and survival rates were similar among groups.

Justificación

Algunos estudios han mostrado que el crecimiento del pez mejora con dietas suplementadas con alginato sódico (Nakagawa, Umino y Tasaka, 1997). No obstante, no hay estudios sobre el efecto de los prebióticos en la musculatura axial. La musculatura de los teleosteos está formada por un estrato rojo superficial, un estrato rosa intermedio y un estrato blanco profundo. Este último constituye el 80 % del total del miotomo, y presenta una gran variabilidad de tamaños fibrilares como consecuencia del incremento en el tamaño (hipertrofia) y número de fibras (hiperplasia). Ambos parámetros muestran una gran plasticidad frente al régimen alimenticio, la composición de la dieta, factores genéticos y medioambientales (Johnston, 1999). Además, estos factores influyen también sobre la madurez histoquímica del miotomo. En el presente trabajo se emplean diferentes porcentajes de alginatos en la dietas, con el fin de valorar su efecto sobre la musculatura.

Material y Métodos

Un total de 413 doradas de 98 g de peso medio se repartieron en 6 tanques y se sometieron a tres tratamientos (2 tanques/tratamiento): dieta estándar; dieta estándar suplementada con 2% de alginato sódico y dieta estándar con 5% de alginato sódico. La temperatura inicial fue de 24,5°C, el pH de 8,18, el fotoperiodo natural y la renovación de los tanques de 1/hora. El suministro del aditivo a los peces se hizo en base al peso vivo de los lotes de peces (2 y 5 g de aditivo por 100 kg de peces) elaborando una pasta húmeda con pienso triturado y agua, en la que se había disuelto previamente el aditivo durante 2 horas y que se daba a los peces a primera hora de la mañana. En la primera mitad de la experiencia la alimentación se llevó a cabo según las tablas suministradas por el fabricante del pienso; se alimentó 3 veces al día con una cantidad fija de pienso que dependía de la temperatura del agua y del peso de los peces. En la segunda mitad del trabajo, y al observarse un mayor apetito de los peces que comían aditivo, se cambió la estrategia de alimentación a «ad libitum» en 3 tomas diarias.

El primer muestreo se realizó al comienzo del experimento, con un peso medio de ≈98 g y el segundo y tercero a los ≈200 g y ≈300 g respectivamente. Previa anestesia total de los peces con aceite de clavo (40 ppm) se determinó el peso y la talla de todos los ejemplares y se calculó la tasa de crecimiento estándar (% diario) (SGR), la tasa de conversión del alimento (FCR), y la tasa de supervivencia. Los parámetros musculares se analizaron en 4 ejemplares/tanque en el primer muestreo y 6-7 ejemplares/tanque en el resto. De cada ejemplar se obtuvo una sección del miotomo de 5-7 cm de grosor, a nivel de la apertura anal. Cada sección fue subdividida en 3-4 bloques de ≈1 cm² que fueron congelados en 2-metil butano enfriado sobre nitrógeno líquido (-159°C). Se obtuvieron criosecciones de 8 μm, y se tiñeron con hematoxilina/eosina. Se realizó también una tinción mATPasa, según el protocolo de Mascarello, Romanello y Scapolo (1986). El tamaño fibrilar (500 fibras/pez) se midió mediante análisis de imagen (SigmaScan Pro5.0). Se halló la densidad fibrilar y el número de fibras blancas.

Resultados y Discusión

En la 1ª toma de muestras (inicio del experimento) los ejemplares aún no habían recibido suplemento. En los siguientes estadios, cada lote (2 tanques/lote) había recibido una dieta diferente, por lo que podrían es-

Tabla 1. Valores medios \pm error estándar de los parámetros musculares en los lotes experimentales, alimentados con dieta estándar y suplementada (Supl.) con 2% y 5% de alginato sódico. No se encontraron diferencias significativas entre lotes ($p > 0,05$)

Toma de muestras (peso)	Dieta	Área transversa M. blanco (mm ²)	Diámetro fibras blancas (µm)	Número de fibras blancas	Densidad fibrilar (n.º/mm ²)
98 g	Estándar	596 \pm 18,4	54,83 \pm 0,5	207.981,5 \pm 14.083,7	350,25 \pm 24,1
	Supl. 2%	625,5 \pm 22,3	64,22 \pm 0,5	172.370,8 \pm 17.601,9	273,25 \pm 21,6
	Supl. 5%	566,25 \pm 19,6	54,73 \pm 0,5	201.670,3 \pm 17.276,4	354,5 \pm 25,4
200 g	Estándar	761,66 \pm 37,7	69,99 \pm 0,4	165.748,8 \pm 11.940,2	217 \pm 9,8
	Supl. 2%	771,53 \pm 15,05	66,96 \pm 0,4	180.404,7 \pm 4.897,1	234,38 \pm 6,5
	Supl. 5%	694,66 \pm 29,1	68,14 \pm 0,6	156.927,2 \pm 9.012,7	226 \pm 9,4
300 g	Estándar	1.376,2 \pm 38,9	75,61 \pm 0,4	271.422,9 \pm 11.399,8	196,95 \pm 5,8
	Supl. 2%	1.379,8 \pm 53,5	74,65 \pm 0,4	264.208,7 \pm 9.512,5	192,35 \pm 3,5
	Supl. 5%	1.193,8 \pm 63,2	77,28 \pm 0,6	219.472,3 \pm 12.224,2	184,5 \pm 5,9

perarse diferencias entre ellos. Sin embargo, todos los parámetros musculares fueron similares entre lotes ($p > 0,05$) (Tabla 1), lo que indica que el suplemento de alginato no influyó en el crecimiento muscular. Dado que la constitución fibrilar varía frente a diferentes factores (nutrición, temperatura, fotoperiodo, etc.) (Johnston, 1999), los resultados encontrados no se corresponden con lo esperado, lo que puede ser debido a un aporte insuficiente de alginato sódico. El mosaico histoquímico miosin ATPásico fue similar en todos los ejemplares, sin diferencias por el régimen alimenticio.

De igual forma, no aparecen diferencias significativas entre los tratamientos en SGR, FCR, biomasa final, ni en la mortalidad. Ésta última, sin embargo, fue menor en los lotes suplementados. Las diferencias significativas aparecieron entre las dos partes de la experiencia, con mejores valores de SGR y FCR cuando se alimentó a los peces según tablas recomendadas, por lo que el mayor apetito mostrado por los peces suplementados no se reflejó en un mejor aprovechamiento del pienso. Una posible explicación a estos resultados podría ser la utilización de niveles de aditivo muy bajos. Además el análisis estadístico se ha visto dificultado por el bajo número de réplicas (2) y la muerte de uno de los lotes, por fallo en la entrada de agua al principio de la experiencia.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado al amparo del contrato de investigación entre la Universidad de Murcia, el Instituto Español de Oceanografía y la empresa Biopolym Ibérica S.A.

Bibliografía

- Johnston, I.A. 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture*. 177: 99-115.
- Mascarello, F., M. G. Romanello and P. A. Scapolo. 1986. Histochemical and immunohistochemical profile of pink muscle fibres in some teleosts. *Histochem*. 84: 251-255.
- Nakagawa, H., R. Umino y Y. Tasaka. 1997. Usefulness of Ascophylum meal as a feed additive for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 151: 275-281.

Análisis metabólico del preengorde de corvina (*Argyrosomus regius*) bajo diferentes tasas alimenticias

A.C. Bajandas¹, A. Rodríguez-Rúa¹, I. Ruiz-Jarabo², J.A. Martos², C. Cárdenas¹, J.M. Mancera² y S. Cárdenas¹

¹ IFAPA. 11500 El Puerto de Santa María. Cádiz. E-mail: salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia.es

² Facultad de Ciencias Marinas y Ambientales. Universidad de Cádiz. Puerto Real. 11510. Cádiz

Abstract

Three feeding rates (2.5%, 5.0% and 10.0% of body weight per day) have been tested by triplicate during 30 days (88-118DAH) in 540 juveniles meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) averaging 6.6 ± 1.3 g body weight. No statistically significant differences ($P > 0.05$) were observed in growing, neither in length nor in weight. Analyzing feeding parameters, in fish fed at 10.0% FCR has been significantly higher ($P < 0.05$) and PER results for the 2.5% rate have been higher ($P < 0.05$), than the others feeding rates. Plasma metabolites were higher than similar experiments but with no statistical differences between feeding rates excepting lactate which is statistically lower at 10.0%, this suggests that this fingerlings were less stressed than the others of the trial. With regard of hepatic metabolites no statistically significant differences were observed between feeding rates.

Justificación

La corvina es una especie interesante para la diversificación de la acuicultura pues: i) posee una carne apreciada y de alta calidad, y ii) presenta un crecimiento muy elevado, con lo que aumenta la rentabilidad de su producción (Cárdenas, 2007). En éste estudio nos hemos centrado en la fase de preengorde probando distintas tasas alimenticias (2.5%, 5.0% y 10.0%) para analizar el crecimiento y optimizar el consumo de pienso, además de realizar un análisis de los cambios metabólicos inducidos por las distintas tasas alimenticias.

Material y Métodos

Los alevines de corvina, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), fueron obtenidos en el Centro IFAPA *El Toruño* (El Puerto de Santa María, Cádiz) a partir de puestas obtenidas en el LIMIA (Puerto de Andratx, Mallorca) mediante inyección con GnRHa, según el protocolo descrito por Grau *et al.* (2007). Se seleccionaron 540 alevines de 88DDE, con una longitud total media de $81,1 \pm 5,1$ mm y un peso total medio de $6,6 \pm 1,3$ g. Fueron repartidos de forma aleatoria en 9 tanques de 300L de capacidad. Tres tasas diferentes de alimentación (2,5%, 5,0% y 10,0% del peso húmedo por día) fueron probadas por triplicado durante 30 días (88-118DDE). Los tanques se mantenían en régimen de circuito abierto con agua salada (40 gL^{-1}) a una temperatura de 22°C , con intensidad luminosa baja y fotoperíodo de 12:12 L/O, iniciándose el periodo de luz a las 8 de la mañana. El alimento proporcionado fue pienso comercial, repartido en cuatro tomas diarias. Se realizaron muestreos biométricos semanales, tomándose medidas de longitud total (LT, mm) y peso húmedo (PT, g) de 10 alevines por tanque. El crecimiento de los alevines se estudió a partir de los datos obtenidos en los muestreos (LT y PT) y de la tasa específica de crecimiento (SGR). Además se analizó el aprovechamiento alimenticio mediante FCR (factor de conversión) y PER (eficiencia proteica). El último día del experimento se realizó el muestreo fisiológico, tomándose 10 alevines de cada tasa alimenticia, que se anestesiaron y les fueron extraídos sangre e hígado, que se congelaron y posteriormente se analizaron (en plasma: glucosa, triglicéridos, proteínas totales, cortisol, lactato, aminoácidos y ácidos grasos; en hígado: glucosa, glucógeno, triglicéridos y aminoácidos). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía, para la eliminación de valores atípicos, y test de Tuckey, para comparar entre los diferentes grupos.

Resultados y Discusión

El crecimiento ha sido bueno en todas las tasas alimenticias aunque no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el crecimiento de los alevines ni en longitud ni en peso. La SGR media a lo largo del experimento fue bastante similar, si bien es ligeramente más baja para la tasa 10,0%. En cuanto a FCR resultó significativamente menos efectiva en la tasa del 10,0% y a PER mejor para la tasa de alimentación más baja del 2,5%.

En los metabolitos plasmáticos analizados (Tabla 1) no se observaron diferencias significativas entre las tasas, salvo para el lactato donde el valor obtenido para la tasa del 10,0% fue significativamente menor ($p > 0,05$). Los valores de los metabolitos son elevados con respecto a los apreciados anteriormente en ale-

Tabla 1. Valores de los metabólicos plasmáticos analizados [media (\pm error típico)] en los ejemplares de *A. regius* mantenidos bajo tres tasas de alimentación diferentes. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el caso del lactato

Tasa alim.	Cortisol (ng/mL)	Glucosa (mM)	Lactato (mM)	Triglicér. (mg/dL)	Proteínas (mg/ml)	Aminoác. (mM)	A. grasos libres (mM)
2,5%	15,14 \pm 1,15	17,87 \pm 1,51	9,14 ^a \pm 1,41	13,00 \pm 3,63	21,93 \pm 2,04	12,19 \pm 1,87	10,50 \pm 2,02
5,0%	12,88 \pm 0,96	15,88 \pm 1,82	9,82 ^a \pm 2,14	11,87 \pm 5,35	24,88 \pm 4,44	10,53 \pm 4,76	8,10 \pm 3,11
10,0%	13,72 \pm 0,83	13,63 \pm 0,89	6,76 ^b \pm 1,16	13,52 \pm 3,98	22,35 \pm 4,29	12,9 \pm 4,04	9,20 \pm 1,46

Tabla 2. Valores de metabolitos hepáticos (media \pm error típico) en ejemplares de *A. regius* mantenidos bajo tres tasas de alimentación diferentes. No se encontraron diferencias significativas entre tasas

Tasa	Glucosa (mg/g pf)	Glucógeno (mg/g pf)	Triglicéridos (mg/g pf)	Aminoácidos (μ mol/g pf)
2,5%	11,12 \pm 0,34	22,69 \pm 1,05	3,73 \pm 0,57	20,05 \pm 0,54
5,0%	11,18 \pm 0,45	20,05 \pm 0,77	2,48 \pm 0,54	18,88 \pm 0,90
10,0%	10,78 \pm 0,56	21,11 \pm 1,63	2,96 \pm 1,17	19,87 \pm 0,90

vines de corvina de edad similar (Lavié *et al.*, 2008). El lactato plasmático puede ser utilizado como indicador de activación del sistema de estrés (Wendelaar-Bonga, 1997), lo que sugiere que los alevines sometidos a la tasa del 10,0% estaban menos estresados que los demás. En los metabolitos hepáticos (Tabla 2) no se observaron diferencias significativas entre las diferentes tasas de alimentación. Comparando los valores obtenidos con experimentos anteriores (Lavié *et al.*, 2008) los niveles de glucógeno y aminoácidos eran mucho menores en este experimento.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas).

Bibliografía

- Cárdenas S., 2007. Fish Farming Production Systems in Andalusia. *Aquaculture Europe 2007*. European Aquaculture Society, Estambul, Turquía.
- Grau A., Rodríguez-Rúa A., Massuti-Pascual E., Jiménez MT., Durán J., Jiménez-Cantizano RM., Pastor E. y Cárdenas S., 2007. Spawning of meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) using GnRH α . *Aquaculture Europe 2007*. European Aquaculture Society, Estambul, Turquía.
- Lavié A., Rodríguez-Rúa A., Ruiz-Jarabo, I., Rosano M.; Vargas-Chacoff L., Mancera JM. y Cárdenas S., 2008. Efecto de la densidad de cultivo sobre la biometría y el metabolismo en alevines de corvina, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *IV Jornadas de Acuicultura del Litoral Suratlántico*. Cartaya, Huelva, España.
- Wendelaar-Bonga SE., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77: 591-625.

Efecto de la temperatura en el crecimiento y cambios fisiológicos durante la metamorfosis en el lenguado *Solea senegalensis*

B. Blanco-Vives¹, M.J. Bayarri², J. Ramos² y F.J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. España. e-mail: borja@um.es

² Departamento de Fisiología y Biotecnología de peces. Instituto de Acuicultura de Torre la Sal (CSIC). Castellón. España

Abstract

This study investigates how the characteristics of temperature affect Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup., 1858) eggs and larvae from 3 to 30 days post-hatching. Fertilised eggs and larvae were reared under three different temperature treatments: A) 20°C, B) 22°C day-19°C night and C) 19°C day-22°C night. These results highlight the key role of the temperature for Senegal sole larvae, the best performance being achieved under nature thermocycle conditions that best approached those of their natural aquatic environment. These findings should be considered when designing rearing protocols for larvae in aquaculture.

Justificación

El efecto de la temperatura es importante en el desarrollo de las larvas marinas (López-Olmeda *et al.*, 2006). Además, la metamorfosis en el lenguado ocurre en un amplio rango de tallas dependiendo de las condiciones medioambientales (Fernández-Díaz *et al.*, 2001). Pocos estudios se han llevado a cabo que tengan en cuenta termociclos diarios y sus efectos en la metamorfosis del lenguado. Por ello, este trabajo pretende esclarecer que ciclo de temperatura es óptimo para el desarrollo de larvas de lenguado.

Material y Métodos

Huevos provenientes de reproductores salvajes se mantuvieron en tanques circulares de fondo plano, usándose dos tanques por tratamiento: A) Temperatura constante (20°C); B) Termociclo natural (22°C día-19°C noche); C) Termociclo invertido (19°C día-22°C noche). El fotoperiodo fue de 12L:12D (luz-oscuridad). Las larvas se fijaron con formaldehído, se examinaron bajo un esteroscopio binocular cada dos días, observando los cambios biométricos en función de los termociclos del agua.

Resultados y Discusión

Durante la fase de premetamorfosis no se vieron diferencias significativas en ninguno de los tres tratamientos de temperatura, pero sí se observó que durante la metamorfosis las larvas que más crecieron fueron las expuestas a un termociclo natural (Fig. 1).

Las larvas que estuvieron sometidas a temperatura constante iniciaron la metamorfosis el día 15 tras la eclosión (dph), en termociclo natural comenzaron el día 13 dph, mientras que las que estuvieron expuestas a termociclos invertidos comenzaron el día 17 dph (Fig. 2). Fue necesario que las larvas tuvieran 3,7

Figura 1. Evolución del crecimiento de las larvas en cada termociclo. Letras diferentes hacen referencia a diferencias significativas entre grupos (ANOVA, $p < 0,05$)

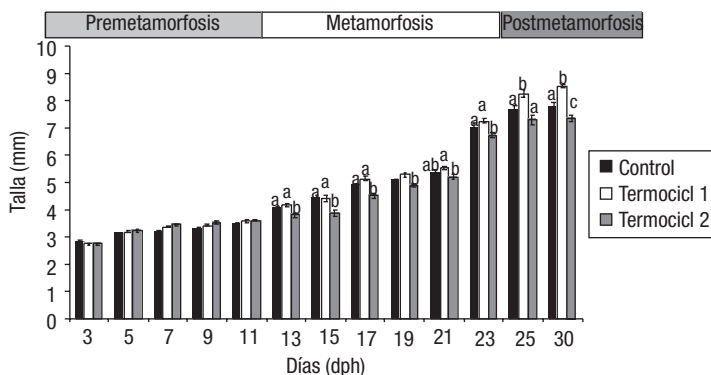
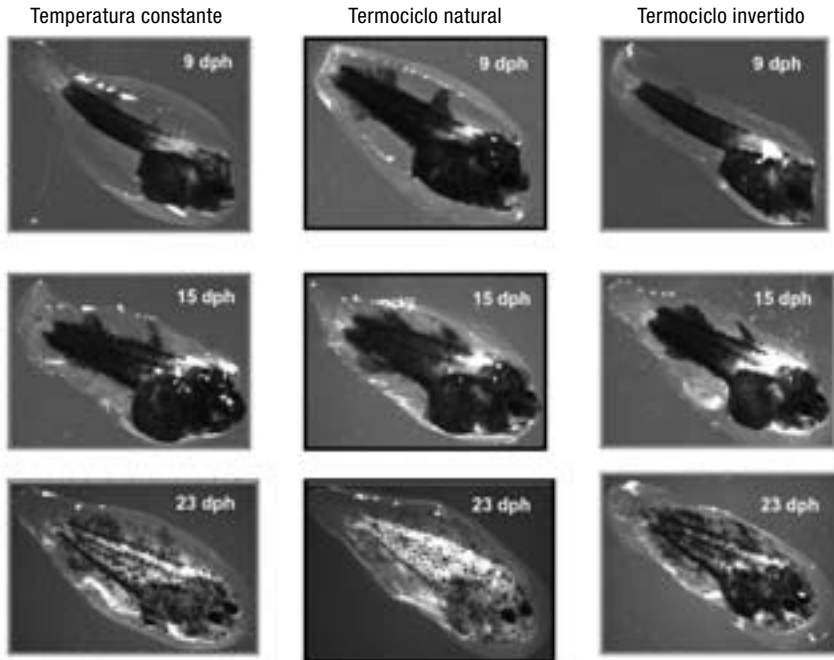


Figura 2. Evolución de las larvas sometidas a los diferentes termociclos

mm de longitud total (Lt) para que tuviera lugar la metamorfosis. La migración del ojo se produjo cuando las larvas alcanzaron de 5,1-5,8 mm de longitud cuando la temperatura fue constante o el termociclo era el natural, pero en las que estaban sometidas a un termociclo invertido hasta que no alcanzaron los 8,8 mm no se produjo la migración del ojo. Además, el mayor porcentaje de malformación ocurría en el grupo de termociclo invertido (68,5%).

Al igual que ocurre con otras especies de peces planos como *Palulichthys olivaceus* (Seikai et al., 1986), podemos concluir que la metamorfosis en el lenguado depende de la temperatura a la cual se encuentre el agua, siendo el termociclo natural el óptimo para esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación del Ministerio de Ciencia y Tecnología AGL 2007-66507-C02-02 de F.J. Sánchez-Vázquez. Los autores quieren agradecer la colaboración prestada al I.E.O de Santander y a Juan Antonio Rielo por su ayuda en el desarrollo del experimento.

Bibliografía

- Fernández-Díaz, C., M. Yúfera, J.P. Cañabate, F.J. Moyano, F.J. Alarcón y M. Díaz. 2001. Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole reared in the laboratory. *Journal of Fish Biology*. 58: 1086-1097.
- López-Olmeda, J.F., J.A. Madrid y F.J. Sánchez-Vázquez. 2006. Light and temperature cycles as zeitgebers of zebrafish (*Danio rerio*) circadian activity rhythms. *Chronobiology international*. 23(3): 537- 550.
- Seikai, T., J., J.B. Tanangonan y M. Tanaka. 1986. Temperatura Influence on Larval Growth and Metamorphosis of Japanese Flounder *Palulichthys olivaceus* in the Laboratory. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*. 52(6), 977-982.

Influencia del espectro de luz y el fotoperiodo en los ritmos de actividad de juveniles de lubina (*Dicentrarchus labrax*)

B. Blanco-Vives, N. Villamizar y F.J. Sánchez-Vázquez1

Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. España. e-mail: borja@um.es

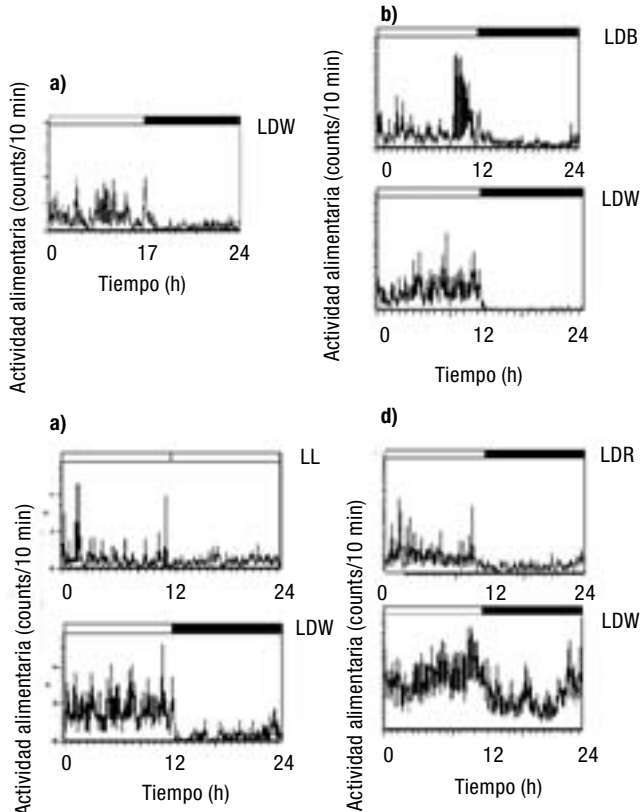
Abstract

This study investigates how different light spectrum affect locomotor and feeding behaviour in juvenile sea bass. The results showed that juvenile sea bass is highly sensitive to light, presenting behavioural rhythms synchronised to the light phase. Both food intake and locomotor activities increased during the light phase, while they decreased during the dark phase. It is possible that the endogenous circadian clock of fish becomes functional from the embryonic stage, contributing to both larvae and juveniles to feed at appropriate times of the day.

Justificación

La luz es el principal sincronizador de los osciladores circadianos en peces. Se han realizado muchos estudios por Barahona-Fernandes (1982) y por Roo y Alfonso (2007) donde se han descrito los efectos de la intensidad de luz y el fotoperiodo en el desarrollo temprano, crecimiento y supervivencia del pez. A pesar de la importancia de los ritmos locomotores y alimentarios en cultivos de peces, y su papel en el control de la ingesta y la utilización de alimento, pocos estudios han tenido en cuenta la influencia de las características de la luz (longitud de onda y ciclos de luz oscuridad) en el perfil diario del comportamiento de pe-

Figura 1. Ondas medias del perfil de actividad alimentaria de juveniles de lubina



ces. Por tanto, el objetivo de este estudio es investigar la influencia del espectro de luz y el fotoperiodo en los ritmos locomotor y alimentario de juveniles de lubina.

Material y Métodos

Lubinas de 85 a 120 días tras la eclosión (dph) se sometieron a diferentes espectros de luz: A) Luz roja, 12L:12D (luz-oscuridad)(LD R); B) Luz azul, 12L:12D (LD B); C) Luz blanca, 12L:12D (LD W); D) Luz blanca, continua (LL); y E) Oscuridad continua (DD). Del día 121 al 132 dph los peces se sometieron a un tratamiento de luz blanca 12L:12D. Se utilizaron acuarios de cristal de 80 litros con 20 individuos cada uno y sus réplicas. Las actividades alimentaria y locomotora se midieron con dos fotocélulas infrarrojas situadas en diferentes lugares del acuario.

Resultados y Discusión

Los resultados mostraron que los juveniles de lubina se alimentan preferentemente durante la fase de luz (9:00 a.m.-21:00 p.m). Este patrón de actividad diurno se mantuvo a lo largo del experimento (del día 85 al día 132) (Fig. 1a). Bajo el espectro LD B, la actividad alimentaria del pez durante la fase de luz fue mayor que durante la fase de oscuridad (Fig. 1b). El comportamiento alimentario bajo el tratamiento LL no mostró ninguna ritmicidad, aunque al establecer un tratamiento 12L:12D se observó una sincronización a la fase de luz (Fig. 1c). En el tratamiento LD R, el comportamiento alimentario se vio también durante la fase de luz, aunque no de forma tan clara como en el resto de tratamiento. Un incremento en la actividad alimentaria diurna se observó una vez que el ciclo LD W fue aplicado (Fig. 1d).

Los juveniles de lubina mostraron unos ritmos locomotor y alimentario diario sincronizados a la fase de luz ajo diferentes espectros de luz. No se observó ritmicidad bajo el tratamiento LL.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación del Ministerio de Ciencia y Tecnología AGL 2007- 66507- C02- 02 de F.J. Sánchez- Vázquez. Los autores quieren agradecer la colaboración prestada al I.E.O de Mazarrón.

Bibliografía

- Afonso J.M. y F.J Roo. 2007. Anomalías Morfológicas en Peces Cultivados: Heredabilidad y Selección. En: Martínez, P. y Figueras, A. (Eds.), Genética y Genómica en Acuicultura. Observatorio Español de Acuicultura, Madrid, pp. 157-181.
- Barahona-Fernandes MH. 1982. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. *Aquaculture*. 17, 311-321.
- Hurd MW, Carhill GM. 2002. Entraining signals initiate behavioral circadian rhythmicity in larval zebrafish. *Journal of Biology Rhythms*. 17, 307-314.

Dinámica del contenido en fosfolípidos y triglicéridos asociada a la temperatura, en el acondicionamiento de *Ruditapes decussatus* (L.)

M. J. Blanco¹, A. Pérez-Camacho¹, U. Labarta² y M. J. Fernández-Reiriz²

¹ Instituto Español de Oceanografía. A Coruña. C/ Paseo Francisco Vázquez, 10. 15001 A Coruña España.
e-mail: maria.blanco@co.ieo.es

² CSIC. Instituto de Investigaciones Marinas. Vigo

Abstract

The aim of this study was to evaluate the evolution of phospholipids and triacylglycerols in *Ruditapes decussatus* broodstock conditioning under two temperatures, 14°C and 18°C.

The phospholipids and triacylglycerols showed different evolution in males and females. In females at 18°C the phospholipids rise was higher than at 14°C, there were no differences in males. The triacylglycerols consumption was higher at 18°C than at 14°C in males, whereas there were no differences in females.

Justificación

En *R. decussatus* se ha demostrado una estrecha relación entre la evolución de las diferentes clases de lípidos y el proceso de maduración sexual bajo diferentes regímenes de alimentación y a temperatura constante (Delgado *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se aborda el estudio de la evolución de fosfolípidos y triglicéridos en individuos adultos de *R. decussatus* acondicionados a 14°C y 18°C, con el fin de determinar la influencia de la temperatura sobre la evolución de éstos componentes.

Material y métodos

Se realiza el acondicionamiento de individuos adultos de *R. decussatus* con una talla media de $37,7 \pm 1,6$ mm y un peso vivo de $12,5 \pm 1,1$ g procedentes de la Ría de Arousa (Galicia, España), a 14°C y 18°C. El alimento utilizado fue una dieta del 50% en peso seco de *Isochrysis galbana* clone T-ISO y el 50% de *Te-traselmis chuii*. La ración suministrada fue de 1,57 mg de materia orgánica por gramo de peso vivo de almeja y día.

La experiencia se lleva a cabo en cubetas de plástico de 20 l en circuito abierto con agua de mar natural filtrada a 1 µm durante un periodo de 60 días con un muestreo inicial y muestreos a los 33 y 60 días.

La extracción de lípidos se realizó según el método descrito por Fernández-Reiriz *et al.* (1989) y para la determinación de las clases de lípidos se utilizó cromatografía de capa fina (CCF). El revelado se realizó según las técnicas descritas por Freeman y West (1966), y para la lectura se utilizó un Scanner-densímetro. Los datos están expresados como contenido medio por individuo (mg.indv^{-1}) estandarizado a una almeja de 12 g de peso vivo.

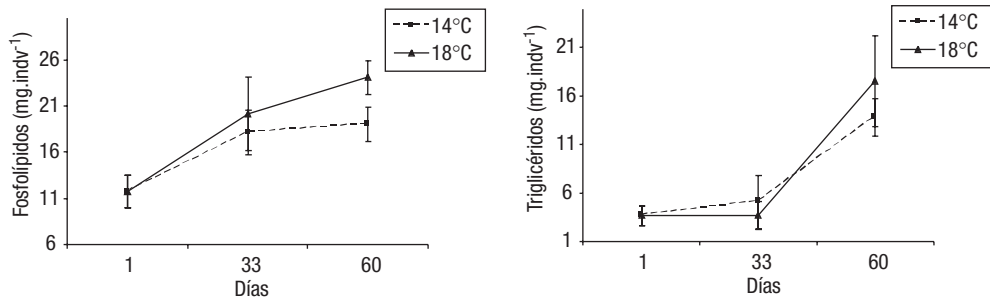
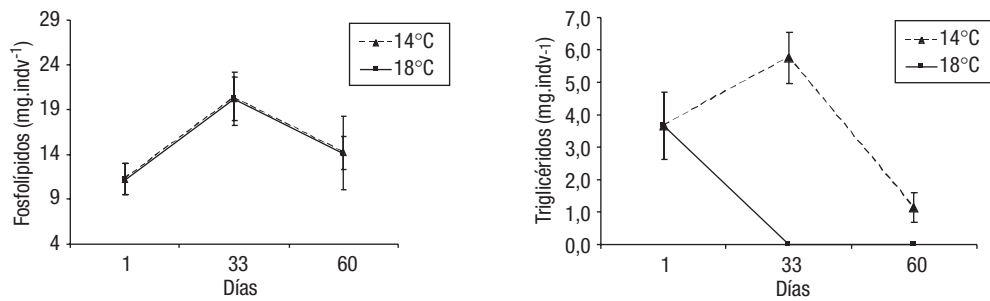
Los resultados fueron analizados utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1.

Resultados y discusión

Los fosfolípidos son un componente importante dentro de los lípidos en *R. decussatus* (Fernández-Reiriz *et al.*, 1999) con una clara función estructural formando parte de las membranas celulares. En la experiencia realizada, a medida que avanza el acondicionamiento y se produce el desarrollo gonadal, se observa un incremento significativo (ANOVA, $p < 0,05$) en el contenido en fosfolípidos de hembras (Fig.1), lo que coincide con lo obtenido para *Nodipecten subnodosus* por Palacios *et al.* (2007). Éste incremento, conduce a un valor significativamente (ANOVA, $p < 0,05$) más alto a 18°C en el muestreo final.

En los machos acondicionados a 14°C y 18°C el contenido en fosfolípidos (Fig. 2) varía significativamente (ANOVA, $p < 0,05$) a lo largo del acondicionamiento de manera que, tras un aumento inicial se produce un descenso en el último muestreo, sin que existan diferencias significativas (ANOVA, $p > 0,05$) entre las temperaturas ensayadas.

El contenido en triglicéridos, componente que constituye la fracción mayoritaria de los lípidos vitelínicos de los ovocitos (Holland, 1978), se incrementa significativamente (ANOVA, $p < 0,05$) entre el segundo y ter-

Figura 1. Evolución de fosfolípidos y triglicéridos en hembras de *R. decussatus* a 14°C y 18°C**Figura 2.** Evolución de fosfolípidos y triglicéridos en machos de *R. decussatus* a 14°C y 18°C

cer muestreo (Fig. 1), coincidiendo con la fase de vitelogenésis y alcanzando un valor más alto a 18°C, aunque las diferencias que se producen no son estadísticamente significativas (ANOVA, $p > 0,05$). En el caso de los machos se produce un rápido consumo de éste componente, como lo evidencia el descenso significativo (ANOVA, $p < 0,05$) de los niveles triglicéridos que se produce en ambas temperaturas a lo largo del acondicionamiento (Fig. 2). Este descenso, es más acusado en el caso de 18°C, temperatura a la cual en el día 33 de acondicionamiento ya se han consumido la totalidad de los triglicéridos iniciales, existiendo por lo tanto diferencias significativas (ANOVA, $p < 0,05$) entre ambas temperaturas. Este comportamiento, coincide con lo obtenido por Delgado *et al.* (2004) en *R. decussatus*, quienes señalan que en la fase final de la maduración sexual los triglicéridos están ausentes de la gónada masculina.

Agradecimientos

Quisiéramos agradecer a B. Gonzalez, L. Nieto y C. Rodríguez la asistencia técnica prestada. Este estudio ha sido financiado por los proyectos AGL21004-07023-C02/01/ACU (MEC) y PGDIT05PXIC60401PN (Xunta de Galicia). M. J. Blanco disfruta de una beca pre-doctoral del Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

- Delgado, M., A. Pérez-Camacho, U. Labarta y M. J. Fernández-Reiriz. 2004. The role of lipids in the gonadal development of the clam *Ruditapes decussatus* (L.). *Aquaculture* 241: 395-411
- Fernández-Reiriz, M. J., A. Pérez-Camacho, M. J. Ferreiro, J. Blanco, M. Planas, M. J. Campos y U. Labarta. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 83:17-37
- Fernández-Reiriz, M. J., U. Labarta, M. Albertosa y A. Pérez-Camacho. 1999. Lipid profile and growth of the clam spat, *Ruditapes decussatus* (L.), fed with microalgal diets and cornstarch. *Comp. Biochem. Physiol.*, (B) 124: 309-318
- Freeman, C. y D. West. 1966. Complete separation of lipid classes on a single thin-layer plate. *J. Lipid Res.*, 7: 324-327
- Palacios, E., I. S. Racotta, O. Arjona, Y. Marty, J. R. Le Coz, J. Moal y J. F. Samain. 2007. Lipid composition of the pacific lion-paw scallop, *Nodidiplecton subnodosus*, in relation to gametogenesis 2. Lipid classes and sterols. *Aquaculture* 266: 266-273

Ultraestructura del epitelio del pie de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata*)

I. Bravo³, A. M. Garcés¹, V. S. Martínez-Zorzano² y P. Molist¹

¹ Área de Biología Celular. Universidad de Vigo. 36310. Vigo. pmolist@uvigo.es

² IEO. Centro Oceanográfico de Vigo. Apdo. 1552. 36200 Vigo

³ Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Biología. Universidade de Vigo. 36310 Vigo.

Abstract

The fine structure of the pedal epithelia of the gastropod *Haliotis tuberculata* was studied by transmission electron microscopy (TEM). Ultrastructural examination by TEM of the epithelial cells of the side of the foot revealed deeply pigmented cells with high electron-dense melanosomes and a variety of granular content. These pigmented granules were not observed in the sole. Four different types of intraepithelial secretory cells were found to occur abundantly in the side foot epithelium, whereas in the sole, there were five types of secretory cells found, three in intraepithelial position and two in subepithelial position. The presence of a mucous layer and different types of glands confirms the secretory nature of the pedal epithelia.

Justificación

Las células epiteliales y secretoras del epitelio pedal de *Haliotis tuberculata* (abalón u oreja de mar), fueron previamente estudiadas mediante métodos histoquímicos aplicados a microscopía óptica. Se encontraron notables diferencias entre el epitelio del pie lateral y el del suelo (Bravo *et al.* 2001). El presente trabajo pretende, por tanto, ampliar conocimientos sobre este epitelio por medio de técnicas de microscopía electrónica y contribuir, de este modo, a la comprensión de la anatomía y morfología funcional tegumentaria de los moluscos.

Material y Métodos

Los ejemplares de *Haliotis tuberculata* se recogieron en la Ría de Vigo, Galicia. Secciones del pie se fijaron para TEM en paraformaldehído y glutaraldehído al 2% en tampón cacodilato. Se lavó el tejido y se realizó un postfijado con OsO₄ al 1%. Tras lavar los tejidos, se deshidrataron en acetona y se embebieron en resina de Spurr. Los cortes semifinos se tiñeron con azul de toluidina y los ultrafinos con acetato de uranilo y citrato de plomo. Se utilizaron los TEM Philips CM20 y Jeol JEM1010 para observar las muestras.

La manipulación animal siguió la normativa vigente de la Xunta de Galicia de protección de animales utilizados en experimentación conforme con las pautas de la Unión Europea.

Resultados

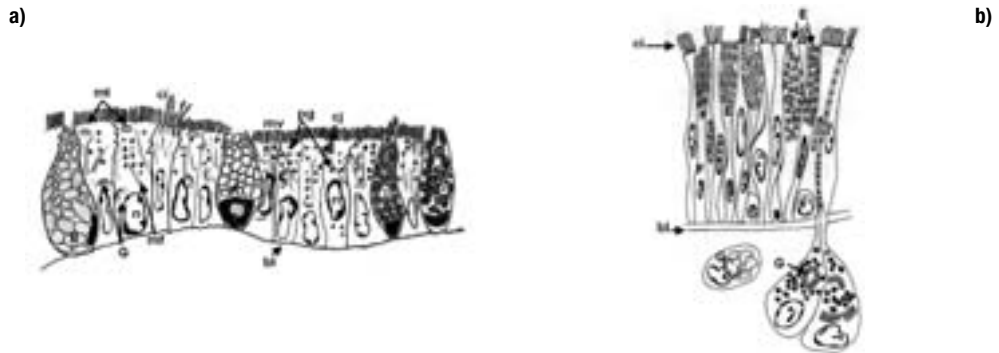
El epitelio pedal lateral es columnar simple, formado por células epidérmicas con borde en cepillo intercaladas por células secretoras. El epitelio se repliega formando valles, con células epidérmicas muy pigmentadas por la presencia de gránulos de melanina de coloración marrón, y crestas, donde las células presentan un contenido granular variado. Además, por su apariencia y por la densidad electrónica de sus gránulos de secreción, se han podido distinguir cuatro tipos de células secretoras, las cuales hemos denominado A, B, C y D (Fig. 1a).

El epitelio pedal inferior es pseudoestratificado, con células basales y columnares ciliadas y recubiertas por una espesa capa de mucus. Se localizan tres tipos de células secretoras: uno igual a la llamada célula B del pie lateral, y, además, otros dos nuevos tipos: E y F. Esta parte del pie se caracteriza por la presencia de agrupaciones celulares en posición subepitelial que forman glándulas multicelulares características (Fig. 1b).

Discusión

Diferenciamos una región lateral altamente pigmentada con melanina y ficobilina que presenta un borde en cepillo con células ciliadas aisladas, similar a la de otros prosobránquios (Grenon y Walter, 1978) y otra parte que corresponde al pie inferior con gran cantidad de cilios, al igual que ciertos prosobránquios acuáticos (Grenon y walter, 1978; Shirbhate y Cook, 1987; Fretter y Graham, 1994). Bubel (1984) y Simkiss (1988), describen la diversidad celular encontrada en el epitelio de moluscos definiendo la epidermis como un conjunto de tejidos en uno, de ahí las posibles diferencias funcionales. Excepto las células tipo C y

Figura 1. Epitelio del pie lateral (a), mostrando las células tipo A, B, C y D, y pie inferior (b), mostrando las células tipo B, E, F y subepiteliales. bl: lámina basal; ci: cilios; cj: uniones celulares; G: Golgi; mf: microfilamentos; mt: mitocondrias, mv: microvellosidades; n: núcleo; pg: gránulos secretores



D, cuya composición granular es inusual en células secretoras de mucus, el resto de las células secretoras fueron caracterizadas anteriormente por otros autores (Luchtel *et al.*, 1997; Kunz y Haszprunar, 2001). Los gránulos de melanina descritos tienen una ultraestructura similar a la de *Sepia officinalis* (Schremer, 1994), encontramos diferentes grados de maduración en los melanocitos, que se sitúan en las crestas que forman el epitelio y en los valles cuando están ya maduros. Concluyendo, podemos decir que al comparar entre la ultraestructura de la región del pie lateral y la región de la parte inferior, observamos diferencias en lo que se refiere a células epiteliales y secretoras, lo que nos indica diferencias funcionales en ambas partes del tegumento de la oreja de mar. Se están realizando métodos histoquímicos con lectinas para determinar la composición de los glicoconjugados presentes en los distintos tipos de células secretoras identificadas.

Bibliografía

- Bravo, I., Franco, J.M., Alonso, A., Dietrich, R. y Molist, P. 2001. Cytological study and immunohistochemical location of PSP toxins in foot skin of the ormer, *Haliotis tuberculata*, from the Galician coast (NW Spain). *Marine Biology*, 138: 709-715
- Bubel, A. 1984. Epidermal cells. In: *Biology of the integument*, (Bereiter-Hahn J, Matalsy AG & Richard KS, eds), 1: 400-477. Springer-Verlag, Berlin.
- Fretter, V. y Graham, A. 1994. British prosobranch molluscs : their functional anatomy and ecology. Ray Society: London.
- Grenon, J.F. y Walker, G. 1978. The histology and histochemistry of the pedal glandular system of two limpets, *Patella vulgata* and *Acmaea tessulata* (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal Marine Biology Association U K*, 58: 803-816
- Künz, E. y Haszprunar, G. 2001. Comparative ultrastructure of gastropod cephalic tentacles: Patellogastropoda, Neritaemorphi and Vetigastropoda. *Zoologischer Anzeiger*, 240:137-165.
- Luchtel, D.L., Martin, A.W., Deyrup-Olsen, I. & Boer, H.H. 1997. Gastropoda: Pulmonata. In: *Microscopic Anatomy of Invertebrates* (Harrison F.W. & Kohn A.J. eds), 6B: 459-718. Wiley-Liss, Inc., New York
- Shirbhate, R. y Cook, A. 1987. Pedal and opercular secretory glands of *Pomatias*, *Bithynia* and *Littorina*. *Journal Molluscan Studies*, 53:79-96.
- Simkiss, K. 1988. Molluscan skin (excluding cephalopods). In: *The Mollusca. Form and Function* (Trueman, E.R. & Clarke, M.R. eds), 11: 11-35. Academic Press, Inc, London.

Optimización del cultivo de camarón (*Palaemonetes varians*. Leach.1814) a partir de la captación de hembras ovígeras

C. Burgos, J. A. Calderón, I. Algarín y F. Valera

IES Marítimo Zaporito. Paseo de la Magdalena, s/n. 11100 San Fernando. Cádiz. Apartado de correo 237.
e-mail: burkeplacell@hotmail.com

Abstract

An experience, in a polyester tanks in a nursery, has been carried out to verify the viability of the rearing in captivity of the shrimps *P. varians* and in the future being able to extrapolate the results to the nature with the goal of increasing the output and guarantee that the supply of them in rearing ponds is continuous.

At first place, some ovigerous females, for commercializing, were extracted and later were introduced in a polyester tank of 8,000 litres, keeping itself in baskets isolated. This baskets allowed to exit the larvae to avoid the predation of the adult females. A surveillance of the diferents larval stages until the phase postlarvae is made to the larvae. At this moment, the survival is estimated by the used method.

On having obtained satisfactory results, it has been demonstrated the viability of the hatching and liberation of the larvae of shrimp in captivity from ovigerous females. By this method is possible to obtain big quantities of shrimps who would have been eliminated in the commercial process. This larvae returned to the nature, would allow to support constant population in the units of farm assuring the productive base of the new crops

Justificación

El cultivo de camarón (*Palaemonetes varians*), es una actividad empresarial emergente motivada fundamentalmente por la aceptación comercial del producto, pero sustentada en cimientos inestables, ya que el nivel productivo carece de solidez necesaria para soportar con seguridad la actividad. Por ello hasta el momento no se considera una actividad consolidada, ya que no se puede asegurar el suministro continuo del producto bruto. Con esta experiencia se pretende mejorar el cultivo de esta especie, a través de una labor de producción que no supone elevados costes para el empresario ni grandes esfuerzos para los operarios.

Material y Métodos

Las hembras ovígeras procedentes de pescas realizadas por la empresa Camarislá S.L. en los esteros dedicados a cultivos extensivos, fueron extraídas de cajas de pesca destinadas a la comercialización, cogiéndose aleatoriamente 200 g en cada experimentación. Se contaron los individuos seleccionándose las hembras con huevos en su abdomen.

Las hembras ovígeras se introdujeron en cestas con un tamaño de 0,5 m² y una luz de malla de 5mm, para que las larvas eclosionadas pudieran salir de éstas, aprovechando a la vez el alimento que se les proporcionaba a las hembras adultas consistente en mejillones congelados a demanda.

Las cestas con las hembras se colocaron en un tanque de 8000 litros de capacidad. Los parámetros del agua se mantuvieron durante la experiencia: salinidad de 28-30 mg/l, temperatura de 16-18°C, oxígeno de 3 ppm-5 ppm y pH 7,5-8.

Una vez nacidas las primeras larvas, el agua se ha renovado al 100% una vez a la semana. Esta se renovaba mediante un cultivo masivo en exterior de Chaetoceros calcitrans a una densidad de 25.000 cl/ml, con el fin de conseguir un medio apacible para las zoeas. Las larvas fueron alimentadas con nauplius de Artemia salina a razón de 5 np/ml. Una vez que la mayoría de éstas alcanzaron la etapa de postlarva (momento en el que pueden ser más fácilmente manipuladas), fueron extraídas del tanque inicial, contadas y estimada la supervivencia. A continuación fueron introducidas en un tanque de 1 m³ y alimentadas con pienso de langostino hasta su etapa de adulto.

La supervivencia fue estimada sabiendo que las hembras de camarón portan en su abdomen una media de 200-250 huevos y el conteo se realizó contando los individuos que había en un gramo y extrapolándolo al peso de la totalidad de las larvas.

Resultados y Discusión

El experimento se ha llevado a cabo con tres partidas de hembras ovígeras. En la primera prueba (E1) se introdujeron en la cesta 120 hembras de 200 gramos de camarón procedentes de las pescas, en las que había un total de 1.002 camarones. El resultado final fue de 1.215 postlarvas a los 26 días, por lo que la

Tabla 1. Resultado de la reproducción en cautividad de hembras ovígeras de *P. varians*

Prueba	Ind en 200 g	H. ovígeras	Postlarvas	Supervivencia (%)
E1	1.002	120	1.215	4-5
E2	963	131	5.213	16-20
E3	987	126	5.345	17-21

supervivencia fue del 4-5%, una supervivencia baja, que se cree debido a que algunas hembras lograron escapar de la cesta alimentándose de larvas. En el segundo experimento (E2) se mejoró la cesta de puesta de las hembras ovígeras, y de 131 hembras que se separaron se obtuvieron 5213 postlarvas a los 25 días, con una supervivencia del 16-20%. Este segundo grupo de hembras fueron extraídas de 200 gramos, en los que había 963 camarones. En la tercera experiencia (E3) se obtuvo una supervivencia del 17-21% ya que de 126 hembras colocadas en la cesta se obtuvo un total de 5345 postlarvas a los 30 días. Las hembras de este tercer estudio se obtuvieron de 200 gramos de camarones en los que había un total de 987 individuos.

A través de esta experiencia hemos logrado demostrar que es viable la cría en cautividad de la especie de camarón *Palaemonetes varians*, ya que aunque la supervivencia es más baja comparada con otras especies de cultivo, se consigue una descendencia de un gran número de individuos, que para el objetivo del experimento es bastante significativo.

Por lo tanto creemos que la labor de separar las hembras ovígeras y llevarlas a la puesta antes del proceso de comercialización, es una técnica que puede aumentar las poblaciones de camarón en cultivos extensivos y así poder garantizar un suministro continuo de la especie.

Agradecimientos

A los alumnos del I.E.S. Marítimo Zaporito por su colaboración e interés.

Bibliografía

- M. Yufera y A. Rodríguez. 1985. Tasas de alimentación y crecimiento de *Palaemonetes varians* durante el desarrollo larvario. *Inv. Pesq* 49(4):597-606
- J. Aguzzi, J.A. Cuesta, M. Libroero, J. Toja. 2005. Daily and seasonal feeding rhythmicity of *Palaemonetes varians* (Leach 1814) from south-western Europe. *Marine Biologie* 148: 141-147
- F.J. Barroso, F. Rodríguez, J. R. Arrebola, C. Granés. 1990. Biometría de los estados larvales y postlarvas del camarón *Palaemonetes varians* (Leach, 1814) en balsas de engorde. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6(1): 87-94.
- A.A. Fincham. 1979. Larval development of British prawns and shrimps (crustacea: Decapoda: Natantia). 2. *Palaemonetes varians* (Leach, 1814) and morphological variations. *Mus. Nat. Hist. (Zoo)* 35 (2): 127-200.
- F. Rodríguez, F. J. Barroso y M. D. Galindo. 1993. Estudio biométrico y morfológico de los huevos de *Palaemonetes varians* (Leach, 1814) de dos localidades del suroeste español. *Limnética*, 9: 67-72

Formación y desarrollo de las diferentes aletas de *Acipenser naccarii* (Bonaparte, 1836), durante la morfogénesis

R. Cabrera¹, C. Zabala¹, M. C. Soriguer¹, A. Domezain² y J. A. Hernando¹

¹ Dpto. Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. Campus Río San Pedro. 11510 Puerto Real. Cádiz. Spain y e-mail: reme.cabrera@uca.es

² Dpto. de I+D. Piscifactoría de Sierra Nevada S.L. 18313 Riofrio. Granada. España

Abstract

Sturgeons are conodontiform fish. The Acipenseridae family, which *Acipenser naccarii* belongs to, has great scientific interest for its phylogenetic position and antiqueness, plus most populations, in decline or endangered are subject of conservation programs (Birstein, 1993).

Research on the morphology and functionality in Acipenseriformes plays an essential role in understanding the evolution of organ systems. This paper studies the formation and development of the fins of *A. naccarii*.

Justificación

La investigación sobre la morfología y funcionalidad en Acipenseriformes desempeña un papel esencial en la comprensión de la evolución de los sistemas orgánicos. El estudio sobre la formación y desarrollo de las diferentes aletas en *A. naccarii* resulta de gran interés para los estudios comparados y para su aplicación en la acuicultura que ha tenido una rápida expansión en los últimos años.

Material y Métodos

Se ha estudiado el desarrollo ontogénico desde la fecundación del huevo hasta los tres meses de edad (3 meses post-eclosión) del esturión *Acipenser naccarii*, (Bonaparte 1836), en condiciones de piscifactoría. Los huevos, embriones y alevines descendían de progenitores F2 de F1 criados y reproducidos en Riofrio (Granada), procedentes de parentales salvajes. Tras la eclosión, los embriones eclosionados se han mantenido en piscinas de poliéster a $15 \pm 1^\circ\text{C}$, pH $7,4 \pm 0,3$, sometidos a un fotoperiodo artificial 12/12. El aporte de alimento se ha realizado con alimento vivo desde que el embrión inicia la alimentación exógena hasta los tres meses de edad. La periodicidad de los muestreos se ha ido espaciando en el tiempo para adaptarlo a la velocidad de desarrollo. En cada muestreo se extraen 9 ejemplares (cigotos, embriones y juveniles, según el estado de desarrollo) que se fotografiaron en vivo, mediante una cámara digital Canon acoplada a un microscopio estereoscópico Leica MZ10 y se almacenaron las imágenes en CDROM. Algunos ejemplares fueron sometidos a una técnica específica de tinción cartilago-hueso (azul alcian-rojo alizarina). Para el estudio macroscópico se ha partido de embriones (Balon, 1999) cuyos estados de desarrollo se corresponden con los descritos en Dettlaff *et al.*, (1993).

Resultados y Discusión

El desarrollo de las diferentes aletas es uno de los cambios más importantes que se producen en las etapas de embrión de vida libre y juvenil. Presenta un origen común, a partir de un único pliegue principal que en *A. naccarii* ya podíamos observar en el Estadio 30 (56-66 h, 17°C ; 130 h; 15°C), antes de la eclosión, que se extiende desde detrás de la cabeza, recorre toda la parte dorsal, rodea la cola y acaba justo detrás de donde finaliza el saco vitelínico, al que habíamos denominado membrana aletil (FF), a excepción de las aletas pectorales. El desarrollo y características de las diferentes aletas se muestran en la Tabla 1.

Agradecimientos

Al Departamento de I+D de la Piscifactoría «Sierra Nevada», le queremos agradecer que se encargaran de todo el proceso de cría y mantenimiento de los ejemplares de *A. naccarii*, que se han utilizado en este trabajo.

Bibliografía

- Balon, E.K. (1999). Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). *Env. Biol. Fish.* 56: 17-36.
- Bonaparte, C. L. (1836). Iconografía della fauna italiana per le quattro classi degli animali vertebrate. 3. Roma.
- Dettlaff, T.A. Ginsburg, A.S. & Schmalhausen, O.I. (1993). *Sturgeon Fishes. Developmental Biology and Aquacultura*. Springer-Verlag, Berlin. 300 pp.

Tabla 1. Formación y desarrollo de las diferentes aletas de *A. naccarii* especificando las características principales en función del estadio de desarrollo para una temperatura ($15^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

Estadio de desarrollo	Tiempo desde la eclosión ($15 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	Características específicas de las aletas
<i>Aletas pares</i>		
— Aletas pectorales		
36	Eclosión	Pequeño abultamiento sobre el saco vitelínico
37	1-2 dpe	Se diferencian dos pequeños pliegues
39	3 dpe	Aumentan de tamaño, su base casi alcanza la superficie lateral del estómago
41	4 dpe	Adquiere forma oblicua al cuerpo
42	5-6 dpe	Descienden hacia la zona media desplazándose hacia adelante
44	6-7 dpe	Presentan forma redondeada y aumentan su tamaño
45	7 dpe	Descienden hacia el lado ventral
46	8 dpe	Mayor tamaño y pigmentación en la base; forma redondeada, se van separando del cuerpo; aparecen los primordios musculares
48	11-13 dpe	Aparecen los radios de las aletas, se extiende la pigmentación
50	26-66 dpe	Los radios se extienden más de la mitad de la aleta, aspecto robusto e hidrodinámico
51	66-96 dpe	Cubiertas de piel y pigmentación; totalmente formadas
— Aletas ventrales		
40	3-4 dpe	Aparecen los rudimentos sobre el pliegue preanal
41	4 dpe	Se estrecha el pliegue preanal y se ensancha el ventral
43	6 dpe	Las aletas ventrales alcanzan el borde del pliegue preanal
44	6-7 dpe	Los lóbulos de las aletas ventrales sobrepasan el pliegue preanal
47	9-10 dpe	Se observan los radios en las aletas ventrales
51	66-96 dpe	Los radios se acercan al borde distal, cubiertas de piel, definitivas
<i>Aletas impares</i>		
— Aleta caudal		
36	Eclosión	Cola proterocerca con pigmentación débil
39	3 dpe	Comienza a separarse de las aletas dorsal y anal por estrechamiento
41	4 dpe	La cola se curva hacia arriba debido a la flexión de la notocorda
45	7 dpe	Aparece definida aunque aún no separadas de la dorsal y anal
47	9-10 dpe	Aparecen los primeros radios en la parte dorsal de la aleta caudal
50	26-66 dpe	Membrana más estrecha en su parte superior que inferior; su extremo final se dobla en su extremo formando un lóbulo; reabsorción parte anterior y el pedúnculo caudal queda libre
51	66-96 dpe	Adquiere la forma heterocerca que mantendrá en el adulto
— Aleta dorsal		
38	2-3 dpe	Primeros indicios formación aleta dorsal, áreas más pigmentadas
39	3 dpe	Elevación de la membrana para formar la aleta dorsal
45	7 dpe	Aparece definida aunque aún no separadas de la caudal y anal
47	9-10 dpe	Aparecen los primeros radios, se marcan los pliegues separación
50	26-66 dpe	Se separa de la aleta caudal al final del estadio
51	66-96 dpe	Se incrementa la separación con la caudal, totalmente formada
— Aleta anal		
38	2-3 dpe	Primeros indicios formación aleta anal, áreas más pigmentadas
45	7 dpe	Aparece definida aunque aún no separadas de la caudal y dorsal
47	9-10 dpe	Aparecen los primeros radios, se marcan los pliegues de separación
50	26-66 dpe	Se separa de la aleta caudal al final del estadio
51	66-96 dpe	Se incrementa la separación con la caudal, totalmente formada

dpe: días post-eclosión.

Desarrollo embrionario y larvario de la almeja babosa *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803) al microscopio electrónico de barrido

A. Cerviño-Otero¹, F. da Costa^{1,2}, J. Ojea¹, S. Nóvoa¹ y D. Martínez-Patiño¹

¹ Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo-CIMA. Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Muelle de Porcillán, s/n. 27700 Ribadeo (Lugo). mptea@cimacoron.org

² Dpto. de Biología Celular y Molecular. Universidade de A Coruña. A Zapateira, s/n. 15071 A Coruña

Abstract

To optimize hatchery production, a study of embryonic, larval and post-larval development was carried out using scanning electron microscopy. Throughout embryonic, larval and postlarval development, a sample of each stage was collected and analyzed using scanning electron microscopy. After 5 hours and thirty minutes post-fertilization a ciliated blastula was observed, being the first motile stage. The gastrula was produced by epibolia. Then, gastrula evolved to a pyriform and ciliated trochophore. After that D-shaped larvae developed from the trochophore after 30 hours with a length of 102 μm .

Justificación

Desde los años 80 la almeja babosa, de relativa importancia en Galicia, ha sido sobreexplotada causando un descenso de producción. El conocimiento del desarrollo embrionario y larvario de una especie es importante a la hora de acometer su cultivo en criadero. Se pretende describir el patrón de evolución del desarrollo embrionario y larvario utilizando microscopía electrónica de barrido.

Material y Métodos

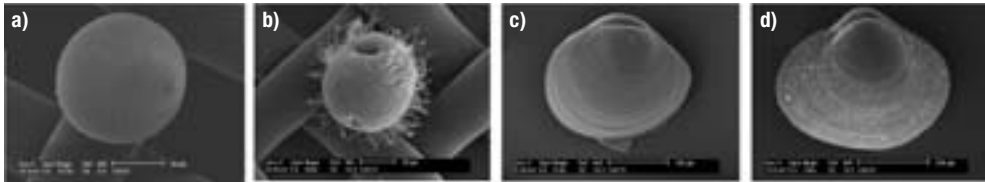
Se recogió un lote de progenitores de talla comercial (250 individuos) en la Ría de O Barqueiro. Los progenitores se llevaron al Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo donde desovaron espontáneamente. Los huevos obtenidos fueron recolectados e incubados en tanques de 500 L con aireación constante y una temperatura de $19 \pm 1^\circ\text{C}$. Las larvas se alimentaron diariamente con un dieta mixta de microalgas compuesta por *Ts*, *Ig*, *Mn* y *Chat*. El cultivo larvario hasta la obtención de semilla se realizó siguiendo el método de Martínez *et al.* (2000).

Con el fin de controlar el tiempo de aparición de las distintas fases del desarrollo embrionario, las muestras se observan cada 5 minutos al microscopio óptico. Desde larva trocófora hasta larva D las muestras se observan cada hora y las posteriores diariamente. En cada estadio de desarrollo fueron recogidos al menos 100 individuos, se fotografiaron usando un microscopio óptico, se midieron en el programa de análisis de imagen *PC image* y se recogió una muestra para el microscopio electrónico de barrido (MEB). Estas muestras se fijaron con glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato 0,1 M durante 4 horas y posteriormente se mantuvieron en tampón cacodilato hasta su procesado para el MEB en el C.A.C.T.I.-Universidad de Vigo. Las muestras se postfijaron en tetraóxido de osmio en tampón cacodilato, se deshidrataron en series crecientes de etanoles. Posteriormente se hace una sustitución en escala de amiloacetato-etanol, para continuar desecando, montar las muestras en stubs y recubrirlas con oro para visualizarlas al microscopio.

Resultados y Discusión

El huevo tiene un diámetro medio de 74 μm y después de la fecundación se observa la aparición del primer corpúsculo polar. Una hora y treinta minutos después aparece el estadio de 2 células. Dos horas después de la fecundación se observa el estadio de 4 células, con tres blastómeros iguales más pequeños y el cuarto más grande. Media hora más tarde se obtuvo el estadio de 8 células con un macrómero y siete micrómeros. En el estadio de 16 células (a las tres horas y media) y en el de 32 (a las cuatro horas), el macrómero aparece recubierto por los micrómeros. La blástula se observa después de cinco horas y media, es el primer estadio ciliado y por epibolia, siete horas después de la fecundación dará origen a la gástrula. En la gástrula tardía se puede distinguir el blastoporo y la invaginación de la glándula de la concha. Once horas después de la fertilización aparece la larva trocófora piriforme y también ciliada, en ella se puede distinguir la prototroca (corona de cilios), la telotroca (mechón de cilios dorsales). La larva D aparece después de treinta horas con una talla media de 102 μm y a los ocho días la larva umbonada mide 158 μm . En la larva umbonada se distingue la prodisoconcha I (aspecto rugoso) y la prodisoconcha II (con anillos concéntricos). A los 18 días aparece la larva pediveliger en la que se observa todavía el velo ciliado y el

Figura 1. Diversas fotografías del desarrollo embrionario de *V. pullastra*. a: huevo. b: gástrula. c: pediveliger. d: postlarva



pie. Veintidós días después de la fecundación la postlarva, con pie y sin velo, ya alcanza 253 μm ; en ella se observa además de la prosidoconcha I y II, la disoconcha (con microvellosidades).

Aunque existen algunos estudios sobre el desarrollo embrionario en moluscos bivalvos (Moueza *et al.*, 1999; Raleigh *et al.*, 2007), este es el primero que se realiza con la almeja babosa. La Larva D en esta especie se observó a las 30 horas después de la fertilización, al mismo tiempo que la navaja (Da Costa *et al.*, 2008). En ambas especies se alcanza la fijación al mismo tiempo (20-22 días), sin embargo para la almeja fina se necesitan 30 días (Martínez *et al.*, 2001).

Agradecimientos

Al personal del Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo-CIMA (Xunta de Galicia) y al Servicio de Microscopía electrónica del C.A.C.T.I.- Universidade de Vigo. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ALBA [«Mellora na produción de ameixa babosa *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803)»], PGDIT06RMA50801PR Programa de Recursos Mariños, Dirección Xeral de Investigación, Desenvolvemento e Innovación. Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Da Costa, F., S. Darriba y D. Martínez-Patiño. 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Phoridae). *J. Moll. Stud.* 74: 103-109.
- Martínez, D., S. Novoa y J. Ojea. 2001. Cultivo larvario y postlarvario de almeja fina (*Ruditapes decussatus*) y almeja babosa (*Venerupis senegalensis*) en criadero. *Actas de VIII Congreso Nacional de Acuicultura. Santander.* 304-306.
- Martínez D., S. Nóvoa, J. Ojea y L.M. Álvarez. 2000. Larval rearing of razor clams *Solen marginatus* (Pénnant, 1777), *Ensis siliqua* (Linné, 1758) and *Ensis ensis* (Linné, 1758). *Abstracts Aquaculture Europe 2000. Nice. France.*
- Mouëza, M., O. Gros y L. Frenkiel. 1999. Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliana* (Bivalvia, Veneridae). *J. Moll. Stud.* 65: 73-88.
- Raleigh, J. y B.F. Keegan. 2007. Embryonic development in the bivalve *Scrobicularia plana* (Semelidae) using scanning electron microscopy. *Invertebrate Reproduction and Development.* 50:3.

Efecto del anestésico MS-222 en parámetros sanguíneos indicadores de estrés en trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) y su atenuación mediante oxigenación intensa del medio

M. Conde-Sieira, M.A. López-Patiño, J.L.P. Muñoz, A. Aguilar,
J.L. Soengas, J.M. Míguez

Departamento de Biología Funcional e Ciencias da Saúde. Universidade de Vigo. Lagoas-Marcosende.
36310 Vigo (Pontevedra). e-mail: mconde@uvigo.es

Abstract

In Aquaculture, fish are exposed to stress conditions during research or technical procedures such as handling, transport, blood sampling and surgery. The reduction of stress under those conditions by anaesthetizing the animals is a common practice, and MS-222 is one of the most utilized anaesthetics. However, several studies suggest that the administration of MS-222 may act as a stressor under certain circumstances. In this study, we assessed the effects of MS-222 in haematological and plasmatic parameters of stress in rainbow trout. Thus, we used two groups of 21 fishes that were anaesthetized with 50 mg/L of MS-222. One group was oxygen supplied by aeration of the anaesthetizing medium, whereas the other group was not aerated while in anesthesia. Fishes were sampled by caudal puncture 5, 15 and 30 min after anaesthesia. Plasma levels of glucose, lactate, and cortisol as well as hematocrit were assessed. All parameters increased with time in anesthesia. However, in trout with oxygenated medium the increase was attenuated compared with fish without aeration (except for cortisol levels at 30 min). These findings show the importance of an adequate oxygenation during fish anaesthesia to counteract the short-term «chemical stress» produced by the MS-222.

Justificación

Las prácticas habituales de manipulación de los peces en acuicultura pueden traducirse en condiciones estresantes para los animales si no se toman las medidas adecuadas. El estrés provocado por estas prácticas, o por otros factores derivados del cultivo, induce una serie de respuestas fisiológicas que influyen negativamente en diversos aspectos de la biología de los peces, incluyendo el crecimiento, la reproducción o el sistema inmune. Además, en el caso de la investigación, el efecto producido por el estrés de manipulación podría alterar de forma inespecífica diferentes funciones de interés.

El uso de anestésicos es una de las principales medidas para la reducción del estrés provocado por el manejo de los peces (Ross y Ross, 1999). Sin embargo, un inconveniente de los anestésicos es que pueden actuar por sí mismos como agentes estresantes. Por ello es importante desarrollar prácticas que contribuyen a reducir, en la medida de lo posible, la magnitud y duración del estrés asociado al uso de anestésicos. En acuicultura, uno de los anestésicos más utilizados es la tricaina metanosulfonada (MS-222), del cual se han descrito efectos sobre parámetros indicadores de estrés en diversas especies de peces (Wagner *et al.*, 2003; Weber *et al.*, 2008). En el presente trabajo, hemos evaluado el efecto estresante a corto plazo del anestésico MS-222 en la trucha arco iris, así como la influencia que podrían tener sobre dicho efecto las condiciones de oxigenación del medio en el que se realiza la anestesia.

Material y Métodos

Se utilizaron truchas (157 ± 6 g) obtenidas de una piscifactoría, que se mantuvieron en tanques de 100 L con agua a 14°C. Los peces fueron alimentados con pienso comercial a saciedad, aunque fueron ayunados 24 h previas al muestreo para asegurar niveles basales de hormonas y otros metabolitos.

En un primer experimento, se capturaron grupos de 7 peces de un tanque stock y se trasladaron a cubas que contenían el anestésico MS-222 a la dosis de 50 mg/L, neutralizado con bicarbonato sódico 100 mg/L. Los peces permanecieron en la solución anestésica sin suministrar aireación adicional. Transcurridos 5, 15 y 30 minutos, se retiraron los peces de las cubas correspondientes (una por cada tiempo), se pesaron y se obtuvo sangre mediante punción en la vena caudal. Una muestra de sangre sirvió para determinar el hematocrito y el resto fue centrifugado a $9.000 \times g$ durante 10 minutos para la separación del plasma. En un segundo experimento, se procedió de forma idéntica con 3 grupos de peces que fueron sometidos a las mismas condiciones que en el experimento 1, pero esta vez favoreciendo la oxigenación del medio anestésico mediante aireación mecánica de elevada intensidad. Mediante kits comerciales se analizaron los niveles plasmáticos de glucosa y lactato, así como de cortisol. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante ANOVA y test Student Newman-Keuls.

Tabla 1. Valor hematocrito (%) y niveles plasmáticos de glucosa (mM), lactato (mM) y cortisol (ng/ml)

	Sin aireación			Con aireación		
	5 min	15 min	30 min	5 min	15 min	30 min
Glucosa	4,1 ± 0,3 ^a	4,9 ± 0,3 ^a	7,2 ± 0,6 ^b	3,9 ± 0,2 ^a	4,5 ± 0,3 ^a	5,7 ± 0,3 ^{b*}
Lactato	1,4 ± 0,1 ^a	2,9 ± 0,1 ^b	4,7 ± 0,4 ^c	1,2 ± 0,3	1,7 ± 0,1 [*]	1,7 ± 0,2 [*]
Cortisol	44 ± 6 ^a	90 ± 7 ^b	135 ± 18 ^c	11 ± 3 ^{a*}	107 ± 9 ^b	215 ± 14 ^{c*}
Hematocrito	47,0 ± 0,8	52,9 ± 6,9	49,9 ± 4,6	39,5 ± 2,7	37,8 ± 3,0 [*]	41,1 ± 2,5

Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de grupo (sin/con aireación). * Diferencias con grupo sin aireación.

Resultados y Discusión

Tanto en el grupo de peces sometidos a anestesia sin oxigenación como en los que se aportó aireación externa, se produjo un incremento del nivel de glucosa en plasma con el tiempo de exposición al anestésico, de forma que a los 30 min los valores de ambos grupos fueron mayores que a 5 min (tiempo de inducción anestésica). Además, tras 30 min de permanencia en el anestésico, el grupo mantenido sin oxigenación presentó niveles mayores de glucosa plasmática que el grupo oxigenado (Tabla 1). Con respecto al nivel de lactato en plasma, se observó un incremento progresivo en los animales anestesiados sin aireación durante todo el tiempo de exposición, efecto que no estuvo presente en los que recibieron oxigenación de forma continuada. En relación a los niveles de cortisol, la exposición al anestésico indujo un incremento paulatino independientemente de que la solución anestésica fuese oxigenada o no. No obstante, a los 5 minutos de permanencia en el anestésico, el grupo oxigenado mostró valores muy inferiores al grupo que no recibió oxigenación externa.

Los resultados obtenidos en los análisis de cortisol y glucosa constatan el efecto estresante que tiene el anestésico MS-222 en la trucha, en concordancia con lo descrito en la bibliografía (2,3). Además, los bajos niveles de lactato del grupo que recibió oxigenación adicional sugieren la importancia que ésta tiene para reducir el efecto asfijante del anestésico, incluso en manipulaciones de corta duración.

Agradecimientos

Investigación financiada por proyecto AGL2007-65744-C03-01/ACU del MCYIN. Marta Conde es beneficiaria de una ayuda FPI (BES-2008-002914). José L. Muñoz es becario del CONICYT (Gobierno de Chile). Ariel Aguilar es beneficiario de una beca MAE. Marcos A. López es contratado del programa Parga Pondal (Xunta de Galicia)

Bibliografía

- Ross, L. G. y Ross B. 1999. *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. Blackwell Sci., Oxford, pp. 222.
- Wagner G. N., Singer T. D. & McKinley R. S. 2003. The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Res.*, 34: 1139-1146.
- Weber, R. A., Pérez-Maceira J. J., Peleteiro J. B., García Martín O., Aldegunde M. 2008. Effect of the anesthetics clove oil and MS-222 on blood and plasma indicators of stress in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). *Comp. Biochem. Physiol., Part A* 151: S17.

Efecto del estadio gametogénico inicial en el acondicionamiento de tres especies de solénidos: *Ensis arcuatus*, *E. siliqua* y *Solen marginatus*

F. da Costa^{1,2}, J. Ojea², S. Nóvoa² y D. Martínez-Patiño²

¹ Centro de Investigaciones Mariñas. Consellería do Mar. Xunta de Galicia. 27700 Ribadeo. Lugo

² Dpto. de Biología Celular y Molecular. Universidade da Coruña. A Zapateira, s/n. 15071 A Coruña.
fdacosta@udc.es, mptea@cimacoron.org

Abstract

The aim of this study is to investigate the effect of gonad developmental stage when conditioning is started on broodstock conditioning of the razor clams *Ensis arcuatus*, *E. siliqua* and *Solen marginatus*. Broodstock were held in 200 liter rectangular tanks in open circuit and they were fed on a ration of 4% mean dry meat weight of adults per day. Conditioning was started when individuals were in sexual rest, start of gametogenesis and advanced gametogenesis stages. From sexual rest stage conditioned broodstock only had reached ripe stage at the end of the experience. Similar results were observed when conditioning had started from start of gametogenesis stage. When conditioning trials were started from advanced gametogenesis stage successful results were achieved.

Justificación

La navaja (*Ensis arcuatus*), el longueirón (*E. siliqua*) y el longueirón vello (*Solen marginatus*), son las tres especies de solénidos comercialmente importantes en Galicia. Estas tres especies presentan períodos de puesta cortos en el medio natural que oscilan entre 1-2 meses en *E. siliqua* y *S. marginatus* y los 4 meses en *E. arcuatus* (Darriba y Martínez-Patiño, 2008). Para el desarrollo del cultivo en criadero se hace necesario adelantar y ampliar los períodos de puesta mediante el acondicionamiento, para asegurar una mayor producción de semilla y evitar concentrar la obtención de juveniles en unos pocos meses del año. En el acondicionamiento un factor importante es el estadio de desarrollo gametogénico inicial (Utting y Millican, 1997), puesto que muchas especies presentan un momento del año en que acondicionar no es posible modificando la alimentación y la temperatura. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del estadio gametogénico inicial en el acondicionamiento de *Ensis arcuatus*, *E. siliqua* y *Solen marginatus*.

Material y Métodos

Se recogieron adultos de talla superior a la comercial en distintos estadios gametogénicos. La navaja se capturó en el banco submareal de Rodas, en las Islas Cíes (Ría de Vigo) con una talla de $126,1 \pm 9,0$ mm, el longueirón ($122,9 \pm 13,5$ mm) en el banco submareal de la playa de O Sardiñeiro (Ría de Corcubión) y el longueirón vello en un banco intermareal en «A Barra» en Redondela (Ría de Vigo) ($103,9 \pm 9,5$ mm). Los individuos se mantuvieron en tanques rectangulares de 200 litros con una capa de arena de unos 30-40 cm de espesor en circuito abierto. Se dispusieron 80 individuos por tanque, realizando la experiencia por duplicado. La temperatura durante la experiencia fue de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ y la salinidad de 32-35‰. La alimentación consistió en una dieta mixta compuesta por: *T. suecica*, *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. calcitrans*, *P. tricorntum* y *S. costatum* a una ración de 4% en peso seco de algas con respecto al peso seco de los reproductores. Mensualmente se realizaron controles histológicos de la maduración gonadal de 20 individuos. Para la fijación se utilizó fijador Davidson durante 24 horas y la tinción se realizó con hematoxilina-eosina. Se siguió la escala gametogénica descrita por Gaspar (1996) para *Ensis siliqua* y adaptada en nuestro laboratorio.

Resultados y Discusión

Partiendo de reposo gonadal en *E. arcuatus*, se consigue una pequeña proporción de individuos en madurez al final de la experiencia, similar a como estaría la población del medio natural (Tabla 1). De modo similar en *S. marginatus* y *E. siliqua* se alcanzan estadios de madurez y puesta a finales de abril, comparado con madurez en mayo y junio en el medio natural. Por lo tanto, no se conseguiría adelantar la maduración en el criadero. En el acondicionamiento de otoño de la almeja fina *R. decussatus*, partiendo de reposo gonadal, se alcanza la madurez en 14 semanas (Ojea *et al.*, 2008).

En *E. arcuatus* y *E. siliqua* desde el estadio de inicio de la gametogénesis, se obtendrían resultados similares a los logrados a partir del reposo gonadal, con estadios de madurez próximos a los de los bancos naturales.

Tabla 1. Estadios gametogénicos en el acondicionamiento de tres especies de solénidos partiendo desde reposo gonadal (E0), gametogénesis inicial (E1) y gametogénesis avanzada (E2) al inicio (I) y final (F) de la experiencia. Negrita: E3 (madurez) y E4 (puesta)

		<i>E. arcuatus</i>					<i>E. siliqua</i>					<i>S. marginatus</i>							
		E0	E1	E2	E3	E4	E5	E0	E1	E2	E3	E4	E5	E0	E1	E2	E3	E4	E5
E0	I	20				10	70	100						50	50				
	F		17	58	25						63	37					54	46	
E1	I		60	40				100											
	F				70	30					38	50	12						
E2	I	10	35	55				30	70					10	10	80			
	F			55	40	5			15	80	5					20	60	20	

Sin embargo, si comenzamos el acondicionamiento desde gametogénesis avanzada en *E. siliqua* y *S. marginatus*, se obtienen estadios de madurez en marzo, adelantando entre 1 y 2 meses la maduración con respecto al medio. No obstante, en *E. arcuatus* a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, se consiguen individuos maduros en el mismo momento que en el medio natural, no consiguiendo adelantar la puesta. En esta especie se obtienen mejores resultados realizando el acondicionamiento en criadero a la temperatura presente en el medio en esa época del año (15°C al inicio y paulatinamente va descendiendo según avanza la experiencia) (Da Costa *et al.*, 2005).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por el Plan Nacional «Cultivo de nuevas especies de moluscos bivalvos de interés en hatcheries» por parte de JACUMAR y de la Secretaría General de Pesca Marítima, y el proyecto «Towards Integrated Management of *Ensis* Stocks» (TIMES), de la iniciativa europea Interreg IIIB. Agradecer la ayuda del personal del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo-CIMA.

Bibliografía

- Da Costa, F., S. Nóvoa, J. Ojea y D. Martínez. 2005. Acondicionamiento del solénido *Ensis arcuatus* en 2 regímenes de temperatura: relación con las proteínas y el glucógeno. En: *Actas del X Congreso Nacional de Acuicultura*: 608-609.
- Darriba, S. y Martínez-Patiño, D. 2008. Reproducción. En: *Navajas y longueirones: biología, pesquerías y cultivo*. A. Guerra y C. Lodeiros (Eds.): 63-85.
- Gaspar, M.B. 1996. Bivalves do Litoral Oceânico Algarvio. Aspectos da biologia, ecologia e da pescaria dos mananciais de interesse económico: aplicação à gestão dos recursos. *Tesis doctoral. Univ. do Algarve, Faro*. 282 pp.
- Ojea, J., A.J. Pazos, D. Martínez, S. Nóvoa, P. García-Martínez, J.L. Sánchez y M. Abad. 2008. Effects of temperature regime on broodstock conditioning of *Ruditapes decussatus*. *Journal of Shellfish Research*. 27: 1093-1100.
- Utting, S.D. y P.F. Millican. 1997. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstock and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture*. 155: 45-54.

Reproducción del atún rojo *Thunnus thynnus* en jaulas flotantes. Obtención de puestas masivas mediante implantes hormonales

F. de la Gándara¹, A. Ortega¹, A. Belmonte², C.C. Mylonas³, D. Covès⁴, C.R. Bridges⁵, J.R. Prieto¹ y J. Viguri¹

¹ Centro Oceanográfico de Murcia. Instituto Español de Oceanografía (IEO). Ctra. de la Azohía, s/n. 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia). e-mail: fernando@mu.ieo.es

² Tuna Graso, S.A. Carretera de la Palma, km 7. Paraje la Estrella. Cartagena (Murcia)

³ Institute of Aquaculture. Hellenic Centre for Marine Research. Grecia

⁴ Institut Français d'Exploration de la Mer. Francia

⁵ Heinrich-Heine University of Düsseldorf. Alemania

Abstract

In the frame of the SELFDOTT project (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) (n = 15, estimated body weight = 90 kg) maintained for 3 years in captivity in El Gorguel (Cartagena, Spain) were administered a gonadotrophin releasing hormone agonist (GnRHa) implant underwater, during the natural spawning period for this species in the Mediterranean Sea (June). Beginning 48-72 h later, massive spawnings occurred everyday for 17 days, with a daily maximum fecundity of 34 million eggs. Egg collection was accomplished by placing a special curtain around the perimeter of the cage and at 6 m allowed the floating eggs to be maintained within the cage and be collected at night and sunrise with 500 µm mesh size nets from the surface of the water.

Justificación

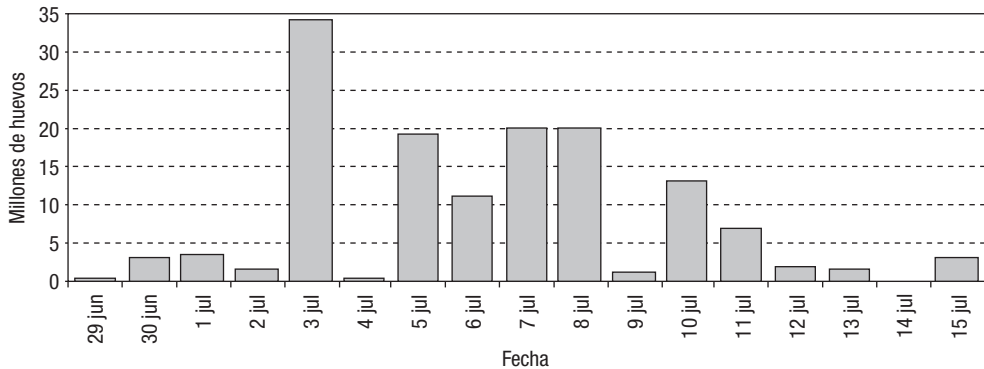
Uno de los objetivos del proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) financiado por el 7º PM de la UE, es la reafirmación de los conocimientos actuales sobre la reproducción en cautividad de esta especie. Para ello está previsto contar con reproductores ubicados en jaulas flotantes, en El Gorguel (Cartagena) y en la Bahía de Marsaxlokk (Malta) y mediante la aplicación de implantes hormonales con hormona liberadora de la gonadotropina (GnRHa), obtener puestas masivas de huevos viables que sirvan para la realización del segundo objetivo del proyecto: el establecimiento de los conocimientos básicos necesarios para la obtención de puestas y el control del desarrollo larvario.

Material y Métodos

El stock de reproductores de la instalación del proyecto en El Gorguel (Cartagena) estuvo compuesto por 32 ejemplares de unos 90 kg de peso, mantenidos en cautividad durante 3 años. Se encontraban ubicados en una jaula circular de 25 m de diámetro y 20 metros de profundidad, provista de un bolsillo de malla de 2 cm de luz, para evitar en lo posible la entrada de pelágicos que depredan los huevos liberados. Los atunes fueron alimentados una vez al día, a saciedad, con pescado crudo; estornino (*Scomber japonicus*) y caballa (*Scomber scombrus*). Los días 23 y 24 de julio de 2009, se dispuso un sistema a modo de barrera rodeando la jaula, compuesto de arriba a abajo por una lona impermeable de dos metros que cubría el primer metro de un colector especial encargado por el IEO al Centro Tecnológico Naval y del Mar (CTNM) de Murcia, de 4 metros de alto, y de una lona de 500 µm de luz de malla de dos metros de alto. El colector especial, constaba de 11 conos de malla de 500 µm, rematados por cestas también de 500 µm que permitían su extracción desde la superficie. Este sistema fue diseñado para el caso de existencia de corrientes importantes en la zona. Todo el sistema cubría todo el perímetro superior de la jaula hasta los 6 metros de profundidad e impedía que los huevos flotantes liberados a esa profundidad se escapasen de la jaula, movidos por las corrientes. Los días 24 y 25 de julio, se implantaron al azar bajo el agua, con ayuda de un rejón (lupara) 15 reproductores mediante la aplicación de un arponcillo plástico que en su base contenía los implantes de GnRHa (6 mg/pez), según la técnica desarrollada en el proyecto REPRODOTT financiado por el 5º PM de la Unión Europea y también coordinado por el IEO (Mylonas *et al.*, 2008)

Resultados y Discusión

A partir del día 29 de julio, es decir entre 48 y 72 horas después de la inducción, se empezaron a obtener puestas regulares. Se observó que se producían por la noche, a partir de las 3 de la madrugada y se prolongaban en ocasiones hasta después de la salida del sol. En la Figura 1 se observa la cantidad de huevo

Figura 1. Huevos viables (en millones) recolectados diariamente

viable recolectado diariamente. La temperatura del agua osciló entre los 22 y los 28°C en superficie y entre los 19 y los 27°C en el fondo de la jaula.

El periodo de puesta fue de 17 días y se extendió entre el 29 de Junio y el 15 de julio. Debido a la práctica inexistencia de corrientes durante el periodo de puesta, la cantidad total (140 millones de huevos) fue recolectada en su práctica totalidad en la lona impermeable dispuesta en la superficie. Los huevos fueron trasladados a las instalaciones del IEO para proceder a su eclosión y al cultivo larvario. Así mismo y según está planteado en el Anexo Técnico del Proyecto SELFDOIT, se realizaron envíos de huevos y larvas a los laboratorios de Francia (IFREMER-Palavas), Grecia (HCMR-Creta) e Israel (NCM-IOLR). La obtención de huevos viables de atún rojo a partir de individuos cautivos es el primer paso para la producción de esta especie de forma independiente, sin recurrir a la explotación de los mermados stocks naturales, de manera que en el futuro se pueda abastecer el mercado de una forma sostenible.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la tripulación del Sol de Levante, especialmente a Paul Chapman, que aplicó impecablemente los implantes bajo el agua, y a Manolo Amat, Lolo Castro y Pedro Morales por su inestimable ayuda. Este trabajo ha sido llevado a cabo con el soporte financiero del 7º Programa Marco de la Unión Europea, "Food, Agriculture, Fisheries and Biotechnology" del Proyecto SELFDOIT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). No refleja necesariamente el punto de vista de la Comisión Europea, ni anticipa de ninguna manera su futura política en este área.

Bibliografía

Mylonas, C.C., C.R. Bridges, H. Gordin, A. Belmonte, A. García, F. de la Gándara, C. Fauvel, M. Suquet, A. Medina, M. Papadaki, G. Heinisch, G. De Metrio, A. Corriero, R. Vassallo-Agius, J.M. Guzmán, E. Mañanós y Y. Zohar. 2007. Preparation and administration of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH_a) implants for the artificial control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science* 15(3), 183-210.

Influencia de distintas condiciones de cultivo sobre el crecimiento y la supervivencia de la acedía (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881)

E. de la Roca, M. Herrera, I. Hachero, J.I. Navas y M.L. Cordero

IFAPA. Centro Agua del Pino. Ctra. Cartaya-Punta Umbría. 21459 Cartaya (Huelva-España).
E-mail: melena.roca@juntadeandalucia.es

Abstract

Several wedge sole (*D. cuneata*) juvenile batches were reared at different culture conditions in order to study the growth and survival. The variables studied were stocking density, type of substrate (with and without sand) and light intensity. The trials lasted 189, 325 and 96 days, respectively. The initial fish size varied between 0,31 and 1,42 g. Significant differences were not found for SGR in any experiment. Regards the survival, differences were only observed in the density trial, the survival varying inversely with the density.

Justificación

Las condiciones de cultivo de la acedía (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) vienen siendo una de las líneas principales de investigación en el Centro IFAPA Agua del Pino, donde se desarrolla su cultivo a escala experimental desde el año 2002 (Herrera *et al.*, 2005). La densidad, la intensidad luminosa y el tipo de sustrato son variables que pueden resultar determinantes en la viabilidad del cultivo de esta especie, ya que pueden afectar de forma directa a la fisiología de los peces (crecimiento, reproducción, susceptibilidad a enfermedades...). El objetivo de este trabajo es determinar unos valores adecuados de dichas variables que permitan conseguir tasas eficientes de crecimiento y supervivencia.

Material y Métodos

En la experiencia de densidades fueron ensayadas tres densidades de cultivo: 250, 500 y 1.000 ind/m². Para el ensayo de tipos de sustratos se cultivaron alevines en dos tipos de fondos: con arena y sin arena. Y para el experimento de intensidad luminosa se comprobó el efecto de tres tipos de intensidades diferentes: 150, 500 y 1.500 lux. Todas las experiencias se realizaron en tanques rectangulares de polipropileno con una superficie de 0,2 m² y 40 L de capacidad, a una temperatura de 20 °C. En la Tabla 1 se resumen las condiciones de cultivo de cada ensayo. Semanalmente fueron realizados muestreos biométricos y de supervivencia. Se calculó la tasa específica de crecimiento (SGR) mediante la Ecuación [1], donde P y P₀ son los pesos final e inicial, y t el tiempo (días).

$$SGR = [(\ln P - \ln P_0) / t] \cdot 100 \quad [1]$$

Resultados y Discusión

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en las tres experiencias. De éstos se puede deducir que para los tres experimentos no se registraron diferencias significativas en la SGR. Las supervivencias tampoco fueron significativamente diferentes excepto en el caso del estudio de densidades, donde varió de forma inversa a la densidad.

Sin embargo, otros estudios realizados de peces planos, no coinciden con los resultados obtenidos en este estudio. Rodiles *et al.* (2005) observaron que aunque para *Solea senegalensis* no se encontraron diferencias significativas entre las tallas y los pesos de los ejemplares cultivados en diferentes fondos, sí hubo una supervivencia significativamente inferior en los tanques con arena. En estudios sobre diferentes densidades de cultivo de *Scophthalmus maximus* y *Solea solea* (Irwin *et al.*, 1999; Schram *et al.*, 2006) los

Tabla 1. Condiciones ensayadas en las diferentes experiencias

Experiencia	Duración (días)	Peso inicial (g)	Densidad (kg/m ²)	Fotoperíodo	N.º de réplicas
Densidad de cultivo	189	0,21 ± 0,02	Variable	12L:120	3
Tipo de sustrato	325	1,32 ± 0,1	0,2	12L:120	3
Intensidad luminosa	96	0,44 ± 0,03	0,2	7L:170	2

Tabla 2. Valores de SGR y supervivencia (media \pm ESM) en los tres ensayos realizados. Superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas

Experiencia		SGR	Supervivencia (%)
Densidad de cultivo	250 ind/m ²	2,04 \pm 0,03	18,75 \pm 1,7 ^a
	500 ind/m ²	1,92 \pm 0,05	5,5 \pm 1,24 ^b
	1.000 ind/m ²	1,94 \pm 0,05	3,78 \pm 0,45 ^c
Tipo de sustrato	Sin arena	0,75 \pm 0,03	31,25 \pm 3,75
	Con arena	0,72 \pm 0,02	32,5 \pm 3,82
Intensidad luminosa	150 lux	2,16 \pm 0,02	16,67 \pm 2,96
	500 lux	1,95 \pm 0,28	11,98 \pm 2,73
	1.500 lux	2,03 \pm 0,09	15,91 \pm 1,19

resultados contrastan con los obtenidos en este estudio, ya que se encontraron diferencias significativas tanto en las SGR como en la supervivencia.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por el proyecto 0251_ECOAQUA_5_E, del Programa de Cooperación Territorial España-Portugal 2007-2013.

Bibliografía

- Herrera, M., I. Hachero, J.F. Ferrer, J.M. Márquez, M. Rosano y J.I. Navas. 2005. Primeros datos sobre el cultivo de la acedia (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881). En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 799-802.
- Irwin, S., J. O'Halloran y R.D. FitzGerald. 1999. Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. (Rafinesque). *Aquaculture*. 178: 77-88.
- Rodiles, A., M. Herrera, I. Hachero, M. Rosano, J. R. Ferrer, J. M. Márquez y J. I. Navas. 2005. Influencia de distintos tipos de fondo en el preengorde del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21 (1-4): 195-199.
- Schram, E., J.W. Van der Heul, A. Kamstra, M.C.J. Verdegem. 2006. Stocking density-dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). *Aquaculture*. 252: 339-347.

Cultivo larvario del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*). Resultados obtenidos en el período 2006-2009

S. de la Uz¹, J.F. Carrasco² y C. Rodríguez¹

¹ Centro de Experimentación Pesquera. Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias. Carretera del Muelle, s/n. 33760 Castropol. Asturias. e-mail: silviadelauz@gmail.com

² Centro de Experimentación Pesquera. Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias. Avenida Príncipe de Asturias, s/n. 33212 Gijón. Asturias

Abstract

Larval culture of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*). Adult sea urchins *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) were induced to spawn throughout 4 years (2006-2009). Larvae were fed on microalgae and maintained at 18-20°C. Size eggs and larval survival were estimated at the end of the experiment in each treatment. There were problems due to larval mortality but the production of competent larvae of the sea urchin was feasible. Larvae become competent around the 24th or 27th day after fertilization.

Justificación

La puesta en peligro de las poblaciones naturales del erizo de mar y su valor económico ha despertado el interés por desarrollar métodos de cultivo en condiciones controladas (Grosjean *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2000) como una medida de gestión de este recurso.

El presente estudio se enmarca dentro del proyecto «Cultivo y gestión del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816)» y muestra los resultados obtenidos por parte de la Comunidad Autónoma de Asturias en las diversas experiencias de cultivo larvario del erizo mar llevadas a cabo a lo largo del proyecto y los problemas encontrados durante su desarrollo.

Material y Métodos

Se recolectaron adultos de *Paracentrotus lividus* del medio natural, bien del intermareal a pie o del submareal mediante buceo, durante los años 2006-2009, que fueron trasladados al laboratorio en el menor tiempo posible para evitar la desecación y el desove anticipado. Inmediatamente, se someten a la inducción al desove mediante inyección de 2,5-5,0 ml de KCl 0,5N a través de la membrana peristomial.

La movilidad del esperma y la homogeneidad y tamaño de los ovocitos fueron observados antes de realizar la fecundación. A las 48h se hace recuento de las larvas prisma y comienza el cultivo larvario.

El cultivo larvario se realizó en tanques de poliéster cilíndricos de base cónica de 200 y 400 L de capacidad en circuito cerrado y con suave aireación suministrada desde el fondo. La densidad larvaria inicial es de 1,5 larvas ml⁻¹ y la temperatura del agua de mar oscila entre 17-20°C.

Durante los primeros años se ensayó el efecto de la dieta en el cultivo larvario aportando diferentes especies de microalgas cultivadas, como las diatomeas *Chaetoceros gracilis* y/o *Phaeodactylum tricorutum* y los flagelados *Isochrysis galvana* y/o *Tetraselmis suecica*. A lo largo del año 2009 se realizaron pruebas relacionadas con la manipulación de los tanques y la frecuencia de alimentación.

En el seguimiento del desarrollo larvario se realizaron, periódicamente, estimaciones del número de larvas en los tanques y la observación de su estado (prisma, cuatro brazos, seis brazos...). Cuando la mayoría de las larvas presenta el primordio equiniano se consideran larvas competentes, aptas para la fijación, y se da por finalizado el cultivo larvario.

Resultados y Discusión

Durante las diez experiencias de cultivo larvario realizadas a lo largo de los cuatro años con el objetivo de determinar el efecto de la dieta, la frecuencia de alimentación y el manejo de los tanques, aparecieron mortalidades masivas y repentinas, al menos en alguna de las réplicas, sin explicación aparente. Por ello, sólo se muestran los resultados obtenidos en aquellos tanques que presentaron una mortalidad larvaria al final del cultivo inferior al 50%.

Los mejores resultados se obtuvieron en el desove realizado el 25 de marzo del 2008, en el que se ensayaron dos tipos de dieta, con una réplica por dieta. Mientras que en tres de los tanques se alcanzaron supervivencias finales entre 75-85% (Tabla 1), uno de los tanques sufrió una muerte masiva a mitad del cul-

Tabla 1. *Tamaño de los ovocitos (μm), microalgas suministradas (Chg: Chaetoceros gracilis, Ig: Isochrysis galvana, MI: Monochrysis lutei, Pt: Phaeodactylum tricornutum y Ts: Tetraselmis suecica), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), duración del cultivo (días) y supervivencia larvaria (%) de cuatro desoves inducidos*

Fecha	Tamaño ovocitos (μm)	Dieta	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Días cultivo	Supervivencia (%)
15 mayo 2006	90-110	Chg, Ig, Ts	18,3 \pm 0,9	24	57,5
28 agosto 2007	90-100	Chg	18,9 \pm 0,7	25	50,0
25 marzo 2008	100-110	Chg, Ts	17,8 \pm 0,2	27	75,0
25 marzo 2008	100-110	Chg, MI, Ts	17,8 \pm 0,7	27	75,0
25 marzo 2008	100-110	Chg, MI, Ts	18,0 \pm 0,6	27	85,5
12 mayo 2009	90-110	Pt, Ig, Ts	19,8 \pm 0,9	25	58,2

tivo obteniendo una supervivencia final del 1,6%. Esta inducción, realizada en la época anterior a la de máxima madurez, mostró un desove abundante y un diámetro de los ovocitos superior a las 100 μm .

En el resto de las experiencias, las mayores supervivencias aparecen en tanques aleatorios independientemente de la dieta suministrada y sin repetición en su réplica (Tabla 1). Aunque se pueden obtener desoves inducidos en un período muy amplio del ciclo gonadal del erizo, la cantidad, calidad y tamaño de los ovocitos se ven afectados repercutiendo en el cultivo larvario.

A pesar de los problemas surgidos durante el cultivo, la producción de larvas competentes es fácilmente viable y la aparición de éstas ocurrió entre los días 24 y 27.

La amplia variabilidad de los resultados obtenidos en las experiencias desarrolladas no permite elaborar un protocolo estandarizado del cultivo larvario, por lo que el seguimiento microbiológico de todo el proceso, resulta indispensable para establecer unas pautas más o menos estandarizadas y poder obtener unos resultados satisfactorios y repetibles.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado conjuntamente por la Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias y la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR).

Bibliografía

- Grosjean, P., C. Spirlet, P. Gosselin, D. Vaïtilingon, & M. Jangoux. 1998. Land-based, closed-cycle echiniculture of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinoidea: Echinodermata): a long-term experiment at a pilot scale. *Journal of Shellfish Research*, Vol.17, No.5: 1523-1531.
- Kelly, M.S., A.J. Junter, C.L. Scholfield & J.D. McKenzie. 2000. Morphology and survivorship of larval *Psammechinus miliaris* (Gmelin) (Echinodermata: Echinoidea) in response to varying food quantity and quality. *Aquaculture* 183: 223-240.

Marcaje interno de juveniles del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816)

S. de la Uz¹, J.F. Carrasco² y C. Rodríguez¹

¹ Centro de Experimentación Pesquera. Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias. Carretera del Muelle, s/n. 33760 Castropol. Asturias. e-mail: silviadelauz@gmail.com

² Centro de Experimentación Pesquera. Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias. Avenida Príncipe de Asturias, s/n. 33212 Gijón. Asturias

Abstract

Internal tagging for juveniles sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). The tagged equipment used in this study (Northwest Marine Technology) inserting a coded wire tag through the sea urchin peristome membrane. Fifty tagged sea urchins and their respective controls were used in each of the following size-classes: class 1: (10 > 15 mm), class 2 (15 > 20 mm) and class 3 (20 > 25 mm). The growth, survival and tag retention rates were determined at 31, 62 and 93 days after the tagging procedure. The results show no significant differences in the growth of tagged sea urchins vs. untagged sea urchins and we have successfully tagged juveniles over 15 mm test diameter. In size-class 2 and 3 the tag retention rates was higher (82%) than in size-class 1 (62%). At the end of the experiment, sea urchins had a high survival rate (> 96%).

Justificación

Varias técnicas de marcaje han sido desarrolladas para varias especies de equinoideos destinadas a fines diferentes (*Diadema antillarum*: Tuya *et al.*, 2003; Clemente *et al.*, 2007; *Strongylocentrotus droebachiensis*: Hagen, 1996; Duggan y Miller, 2001). Estas marcas pueden ser externas o internas, siendo éstas últimas las que prevalecen más tiempo en los ejemplares.

La finalidad del marcaje es el seguimiento a largo plazo de juveniles del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), por lo que una marca interna es la más adecuada en el experimento.

El objetivo de este estudio es conocer el porcentaje de supervivencia y retención de la marca en tres clases de talla de juveniles de erizo, así como el efecto de la técnica de marcaje empleada sobre el crecimiento.

Material y Métodos

El equipo de marcaje (Northwest Marine Technology) utilizado en el estudio inyecta un alambre magnético codificado de 2,2 mm de longitud a través de la membrana peristomial del erizo que es localizado posteriormente mediante un detector.

Se utilizaron 300 juveniles del erizo de mar, *Paracentrotus lividus*, procedentes de cultivo. Cincuenta ejemplares marcados y sus respectivos controles fueron utilizados en cada una de las siguientes clases de talla: clase 1 (10 > 15 mm), clase 2 (15 > 20 mm) y clase 3 (20 > 25 mm).

A los 31, 62 y 93 días se midió con un calibre, el diámetro ($\pm 0,01$ mm) del caparazón sin considerar las púas y el peso húmedo ($\pm 0,01$ g) de todos los erizos y se determinaron los porcentajes de supervivencia y retención de la marca, y la Tasa de Crecimiento Lineal (TCL) y la Tasa de Crecimiento Específico (TCE), para lo que se emplearon las siguientes fórmulas:

$$TCL = (D_f - D_i) / t \quad [1]$$

$$TCE = (\ln W_f - \ln W_i) / t \times 100 \quad [2]$$

en donde, D_i y D_f son los diámetros de caparazón iniciales y finales respectivamente; t el tiempo en días; $\ln W_i$ y $\ln W_f$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_i el peso inicial y W_f el peso final.

Resultados y Discusión

No existen diferencias significativas en el crecimiento de los juveniles marcados y sus controles para las tres clases de talla, las tasas de crecimiento lineal y crecimiento específico muestran valores muy similares entre los erizos marcados y los que no lo fueron (Tabla 1). El crecimiento de los juveniles, en talla y en peso, muestra diferencias entre las tres clases, los mayores valores son alcanzados por los erizos de la clase 1 (10 > 15 mm) y los menores por la clase 3 (20 > 25 mm).

Tabla 1. Tasa de crecimiento lineal ($\mu\text{m día}^{-1}$) y tasa de crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$) para las 3 clases de talla (clase 1: $10 > 15\text{mm}$, clase 2: $15 > 20\text{mm}$ y clase 3: $20 > 25\text{mm}$). Supervivencia (%) y retención de la marca (%) al final del experimento

	Clase 1		Clase2		Clase 3	
	Marcado	Control	Marcado	Control	Marcado	Control
Tasa de crecimiento lineal ($\mu\text{m día}^{-1}$)	0,06	0,07	0,06	0,06	0,04	0,04
Tasa de crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$)	1,19	1,22	0,90	0,92	0,56	0,54
Supervivencia (%)	96	96	100	98	100	100
Retención de la marca (%)	62		82		82	

La supervivencia de los erizos fue superior al 95% en las tres clases de talla. De los 5 erizos muertos durante el experimento, cuatro pertenecen a la clase 1 y sólo dos habían sido marcados.

El porcentaje de retención de la marca interna fue del 82% en la clase 2 ($15 > 20 \text{ mm}$) y la clase 3 ($20 > 25 \text{ mm}$) mientras que la clase 1 ($10 > 15 \text{ mm}$) presenta un porcentaje de retención inferior (62%). La mayoría de pérdidas de la marca se producen durante el primer periodo de muestreo, siendo sólo cuatro las marcas que se pierden en los meses posteriores.

La técnica de marcaje empleada no afecta al crecimiento de los juveniles del erizo de mar *Paracentrotus lividus* y debe ser aplicada a ejemplares con un diámetro de caparazón $\geq 15 \text{ mm}$ para obtener tasas de retención del 80%.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado conjuntamente por la Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias y la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR).

Bibliografía

- Clemente, S., J.C. Hernández, & A. Brito. 2007. An external tagging technique for the long-spined sea urchin *Diadema aff. antillarum*. Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom, 87: 777-779.
- Duggan, R.E. & R.J. Miller. 2001. External and internal tags for the green sea urchin. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 258: 115-122.
- Hagen, N.T. 1996. Tagging sea urchins: a new technique for individual identification. Aquaculture, 139: 271-284.
- Lauzon-Guay, J.S. & R.E. Scheibling. 2008. Evaluation of passive integrated transponder (PIT) tags in studies of sea urchins: caution advised. Aquatic Biology, 2:105-112.
- Tuya, F., J.A. Martín, & A. Luque. 2003. A novel technique for tagging the long-spined sea urchin *Diadema antillarum*. Sarsia 88: 365-368.

Crecimiento de *Octopus vulgaris* en tanques en el Delta del Ebro: efectos de la densidad de cultivo y de la salinidad

M. Delgado^{1,2}, J.I. Gairín¹, R. Carbó¹ y C. Aguilera¹

¹ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA-Sant Carles de la Rápita). Carretera del Poble Nou, km 5,5. E-43540 Sant Carles de la Rápita. Tarragona (Spain). E-mail address: ignasi.gairin@irta.es

² Centro Oceanográfico de Cádiz (IEO). Muelle de Levante, s/n. P.O. Box 2609. E-11006 Cádiz (Spain). E-mail address: marina.delgado@cd.ieo.es

Abstract

Several experiences were carried out in order to evaluate *O. vulgaris* growth in tanks as well as to provide useful information for a possible future on-growing in cages in Ebro Delta bays. Effects of salinity and culture density were studied. Final culture density multiplied by almost four the initial data after 60 days: (D1: 12.36 → 44.37 kg/m³; D2: 24.13 → 67.76 kg/m³), with optimal survival results (> 90%). A slightly indirect relationship was attributable to density in terms of growth rates. Salinity did not affect survival (100%) or growth within the range tested (34-29 psu). The influence of temperature on growth and feeding rates were clear in both experiences.

Justificación

Las bahías del delta del Ebro son zonas de potencial interés para la implantación de jaulas de engorde de pulpo. Sin embargo, estas áreas experimentan importantes fluctuaciones de temperatura y salinidad debido a sus dimensiones. La mayoría de cefalópodos son organismos estenohalinos y pobres osmoreguladores (Boleztky and Hanlon, 1983), por lo que las fluctuaciones salinas pueden condicionar la viabilidad y el emplazamiento de estructuras de cultivo de esta especie. Por otro lado, el pulpo es un organismo territorial y competitivo que requiere un mínimo espacio para su desarrollo y crecimiento. En este sentido, nuestra intención ha sido llevar a cabo experiencias que nos proporcionen información de las posibilidades de engorde de esta especie en condiciones de mayor confinamiento a las probadas hasta la fecha, con una perspectiva semi-industrial.

Material y Métodos

Las experiencias de engorde tuvieron una duración de 2 meses (otoño de 2007 y 2008), y se llevaron a cabo en épocas de régimen favorable de temperaturas (Delgado *et al.*, 2007). La dieta (2:1; 10% de la biomasa) compuesta de peces (*Boops boops* y *Mugil cephalus*) y cangrejo (*Carcinus sp.*) se suministraba 6 días a la semana.

Experiencia 1 (efecto de la densidad de cultivo)

Se probaron 2 densidades iniciales de cultivo: D1 (12 kg/m³) y D2 (24 kg/m³). Las experiencias se llevaron a cabo en circuito abierto y en tanques de 650 l provistos de estructuras rectangulares de 14 (D1) y 28 (D2) refugios. Se dispusieron 3 réplicas para cada densidad.

Experiencia 2 (efecto de la salinidad)

Se probaron 3 salinidades diferentes: S1 (34 psu; control), S2 (31.5psu) y S3 (29 psu), teniendo en cuenta que 29 psu es un límite inferior al rango de salinidad compatible con la vida descrito por Mangold (1983), y que se corresponde con valores mínimos registrado en la bahía dels Alfacs (Delta del Ebro) a la profundidad a la que se colocarían futuras jaulas de engorde (1,5 m). Las experiencias se llevaron a cabo en circuito abierto y en tanques de 650 l provistos de estructuras rectangulares de 12 refugios. Se dispusieron 3 réplicas por salinidad. La salinidad en cada tanque se mantuvo gracias a un regulador de mezcla de agua dulce y salada PID GFE 210 (GF pumping systems), provisto de una sonda de conductividad GFE 210 (GE-ORGE Fisher, S.A.).

Se tomaron datos de peso al inicio (Pi) y final (Pf) de las experiencias y se evaluó la supervivencia. Se determinó la tasa de crecimiento absoluto [AGR = (Pf - Pi) / t] y específico [SGR = (LnPf - LnPi) * 100 / t], donde t es el tiempo. Salinidad, temperatura y oxígeno se registraban 2 veces al día (8:00 h a.m. y 15:00 h p.m). Tres veces por semana se midió pH y amonio.

Tabla 1. Valores medios \pm S.D. para cada índice

	Exp 1 - Densidad		Exp 2 - salinidad		
	D1	D2	S1 (34 psu)	S2 (31,5 psu)	S3 (29 psu)
Pi (g)	803,2 \pm 146,8	784,1 \pm 155,5	1.087,0 \pm 251,6	904,0 \pm 267,7	995,1 \pm 261,8
Pf (g)	2.690,9 \pm 626,6	2.416,4 \pm 602,8*	2.324,9 \pm 458,9	2.064,4 \pm 634,8	2.233,0 \pm 439,3
S (%)	96,6	91,6	100	100	100
AGR (g/day)	31,9 \pm 3,7	27,4 \pm 2,9	22,2 \pm 0,4	20,7 \pm 1,9	22,1 \pm 1,1
SGR (%)	2,0 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	1,4 \pm 0,0	1,5 \pm 0,1	1,4 \pm 0,0
Di (kg/m ³)	12,4 \pm 0,5	24,1 \pm 0,2			
Df (kg/m ³)	44,4 \pm 0,9	67,8 \pm 1,1			

* Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Resultados y Discusión

El peso final, así como, las tasas de crecimiento de los pulpos cultivados a menor densidad (D1: 12 kg/m³) muestran valores superiores a los mantenidos a 24 kg/m³ (D2) (Tabla 1). No obstante, hay que resaltar los buenos resultados obtenidos en la experiencia D2, ya que tras 2 meses de cultivo se alcanzaron elevadas densidades de cultivo (D2: 67,8 kg/m³; 4 veces el valor inicial), pulpos de peso medio 2.416 g, y una supervivencia del superior al 90%.

Por otro lado, transcurridos 2 meses de cultivo, los pulpos incrementan 1 kg su peso inicial, sin que se observen diferencias estadísticamente significativas en el peso final, tasas de crecimiento o supervivencia, atribuibles a la salinidad y dentro del rango de salinidad testado (29-34 psu). Por último, resaltar que en ambas experiencias se constata la influencia de la temperatura sobre las tasas de crecimiento, apreciándose el mismo comportamiento que Delgado et al. (2007) describen para dicha época del año (otoño).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Plan Nacional «Optimización del engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*)» de JACUMAR. Queremos agradecer la ayuda técnica prestada a todo el personal de apoyo del IR-TA-Sant Carles de la Ràpita, especialmente a Josep Lluís Celades. Estamos también agradecidos a Benjamín García y Jesús Cerezo (IMIDA) por sus valiosos consejos.

Bibliografía

- Boletzky y Hanlon. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Mem. Natl. Mus. Vic.* 44: 147-187.
- Delgado, M., J.I. Gairín, R. Carbó y C. Aguilera. 2007. Determinación de los periodos de engorde de *Octopus vulgaris* en el Delta del Ebro: Rango térmico óptimo. En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*.
- Mangold, K. *Octopus vulgaris*. En: *Cephalopod Life Cycles*. vol. 1, pp. 335-364.

¿Funciona el hígado de *Carassius auratus* como un oscilador sincronizado a la hora de alimentación?

A. Feliciano, N. de Pedro, S. Valdeolivas, M.J. Delgado y E. Isorna

Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II). Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid. e-mail: eisorna@bio.ucm.es

Abstract

The aim of this work was to investigate if a feeding time schedule is able to entrain the rhythmic expression of clock genes in the liver the goldfish (*Carassius auratus*). To this end, fish kept under continuous lighting conditions (24 L) were divided into three groups. Two groups of fish were daily fed at 10 a.m. and 10 p.m., respectively, and the third group was fed at random times. After 30 days, fish were sacrificed every six hours throughout 24 hours. Clock gene (*Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2* and *Cry3*) expression in the liver was measured by quantitative RT-PCR. Results showed that the locomotor activity of goldfish was clearly synchronized by feeding time in both groups fed at schedule times, but not in randomly fed fish. Most of the clock genes analyzed in the liver in the three experimental groups showed daily rhythms that are in phase with the last meal time. These results suggest that: (1) the daily locomotor activity rhythms synchronized by feeding time are not a direct output of liver oscillator, and (2) this rhythmic expression of clock genes in liver could be reset only by the last meal time.

Justificación

Los osciladores biológicos se sincronizan por diversas señales cíclicas, como, el ciclo luz/oscuridad (*Light Entrainable Oscillator*, *LEO*) o la alimentación (*Food Entrainable Oscillator*, *FEO*), confirmando la ventaja a los organismos de poder predecir los cambios cíclicos en el ambiente. En la actualidad, a pesar de la escasa información existente acerca del FEO, en los mamíferos, se ha propuesto que su funcionamiento se basa en los mismos mecanismos moleculares que dirigen el LEO, es decir en los bucles de transcripción de los llamados genes reloj (Mendoza, 2006). Uno de los ritmos determinados por la hora de alimentación mejor caracterizado es la actividad anticipatoria a la alimentación (FAA), considerada como una vía de salida (*output*) del FEO. En peces, la FAA está bien caracterizada (Sánchez-Vázquez y Madrid, 2001), pero se desconoce la posible sincronización de los genes reloj al horario de alimentación. Estudios recientes han descrito oscilaciones diarias en la expresión de varios genes reloj en el hígado del carpín (*Carassius auratus*; Velarde *et al.*, 2009), aunque se ignora si estas oscilaciones dependen de la alimentación o del fotoperiodo. El objetivo de este trabajo es investigar si el horario de alimentación es capaz de sincronizar la expresión de genes reloj en el hígado del carpín.

Material y Métodos

Animales y diseño experimental

Los peces se mantuvieron en condiciones de luz constante (24 L) durante 30 días y se sometieron a 3 protocolos de alimentación. Los grupos 1 y 2 fueron peces alimentados diariamente a las 10 y 22 h, respectivamente, y el grupo 3 recibió alimentación con horario aleatorio. La actividad locomotora diaria se registró a lo largo de todo el estudio y finalmente los peces se sacrificaron en un ciclo completo de 24 h en intervalos de 6 h.

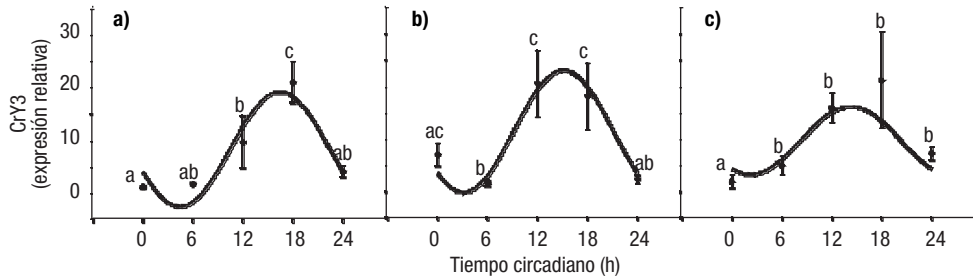
Análisis de expresión de genes reloj por PCR cuantitativa en tiempo real

La expresión relativa de los genes reloj (*Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2* y *Cry3*) en el hígado se cuantificó mediante el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ utilizando como normalizador el rRNA 18S. Las diferencias diarias de expresión génica fueron determinadas mediante ANOVA de una vía seguido del test NSK. Para identificar ritmos diarios de expresión génica se realizaron análisis cosinor, considerando significativo cuando la relación ruido/señal es menor que 0,3.

Resultados y Discusión

La actividad locomotora se sincronizó con la hora de alimentación en los peces alimentados periódicamente a las 10 y 22 h, sin embargo el grupo de peces alimentado en horario aleatorio no mostró un patrón rítmico de actividad. En el hígado se observó una expresión rítmica diaria de los genes *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* y *Cry3* (Fig. 1) tanto en los peces alimentados diariamente a un horario fijo como en los peces alimentados de forma aleatoria. Estos ritmos se encuentran en fase respecto a la hora de administración de la última

Figura 1. Expresión relativa de *Cry3* en el hígado del carpín. Peces alimentados a las 10 h (a), a las 22 h (b) y con horario aleatorio (c). El tiempo circadiano se expresa en función del horario de la última comida. Los datos muestran la media \pm error estándar ($n = 6$ /punto). Diferentes letras indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$). La línea continua muestra el ajuste de los datos a una función sinusoidal en el análisis cosinor



comida, y las mayores amplitudes se observan en los genes *Per1* y *Cry3* en todos los grupos experimentales. Estos resultados obtenidos en un órgano periférico como el hígado, contrastan con resultados recientemente obtenidos en nuestro laboratorio en el techo óptico de la misma especie (Feliciano *et al.*, 2009). Así, en el hígado, a diferencia de lo que sucede en tejidos centrales, no es necesario un horario de alimentación constante para la expresión rítmica de genes reloj. Además, nuestros resultados sugieren que el ritmo diario de actividad motora no está únicamente determinado por la expresión rítmica de genes reloj en el hígado, pudiendo ser necesaria la participación de osciladores centrales. Finalmente, el hecho de que no se requiera un horario fijo de alimentación para la expresión rítmica de genes reloj en el hígado del carpín nos permite proponer que el oscilador hepático podría resetearse con la hora de la última comida.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la UCM/CAM (proyecto CCG08-UCM/AGR-4377) y por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto AGL2007-65744-C03-03).

Bibliografía

- Sánchez-Vázquez, F.J. y J.A. Madrid. 2001. Feeding anticipatory activity. En: *Food intake in fish*. D. Houlian, T. Boujard y M. Jobling (Eds.): 216-232.
- Mendoza J. 2006. Circadian clocks: setting time by food. *Journal of Neuroendocrinology* 19: 127-137.
- Feliciano, A., L. Esteban, Y. Vivas, A.B. Tinoco, L. Nisembaum, N. de Pedro, M.J. Delgado y E. Isorna. 2009. Looking for entrainable clock genes in the goldfish brain. En: *Actas del 7º Congreso de la AIEC*.
- Velarde E, R. Haque, P.M. Iuvone, C. Azpeleta, A.L. Alonso-Gómez y M.J. Delgado. 2009. Circadian clock genes of goldfish, *Carassius auratus*: cDNA cloning and rhythmic expression of *Period* and *Cryptochrome* transcripts in retina, liver and gut. *Journal of Biological Rhythms*. 24(2): 104-113.

Efecto de distintas dosis de GnRH α sobre la calidad de la puesta de corvina (*Argyrosomus regius*)

H. Fernández-Palacios¹, D. Schuchardt¹, J. Roo¹, C.M. Hernández-Cruz¹ y N. Duncan²

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM-ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35214-Telde, Las Palmas, email: pipo@iccm.rcanaria.es

² IRTA, San Carlos de la Rápita. 43540 Tarragona

Abstract

An experiment was carried out to determine the effect of different doses of GnRH α on spawning quality and production of meagre broodstocks. Five experimental groups were established, and one control group that was not injected. Fish were acclimated in six 10 m³ tanks, and in each tank there was 3 ♀ and 4 ♂ with an average weight of 8.33 \pm 0.97 and 8.47 \pm 1.09 kg respectively. Throughout the experimental period (April 14-June 2 of 2009), broodstock were induced on a weekly basis. Each time one female and two males from each of the five experimental groups were induced with an injection of GnRH α at the doses of 10, 20, 30, 40 and 50 μ g.kg⁻¹ respectively. The best spawning quality rates were obtained with the lower doses, 10 and 20 μ g.kg⁻¹, and the highest spawning production in: num of eggs, fertilized eggs, live eggs, hatched larvae and larvae with reabsorbed yolk sac were obtained with the broodstocks that were induced with 10 μ g.kg⁻¹ doses.

Justificación

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una de las especies que puede contribuir a la diversificación de la acuicultura Mediterránea, tiene un gran interés debido a su rápido crecimiento y a la buena calidad de su filete. Desafortunadamente, la corvina, como muchas otras especies de peces exhiben disfunciones reproductoras cuando son estabulados en cautividad, por ello el tratamiento hormonal es el único medio de asegurar la puesta.

Material y Métodos

Se utilizaron cuarenta y dos ejemplares de corvina, nacidos en cautividad, procedentes del stock de reproductores del ICCM y marcados con microchip, con los que se constituyeron cinco grupos experimentales y un grupo de control que no fue inyectado. Se estabularon en 6 tanques de 10 m³ a razón de 3 ♀ y 4 ♂ en cada uno y con un peso medio de 8,33 \pm 0,97 y 8,47 \pm 1,09 kg, respectivamente. A lo largo del periodo experimental (14 de abril-2 de junio del 2009) se indujo semanalmente una hembra y dos machos, de cada uno de cinco grupos experimentales, mediante una inyección de GnRH α (Sigma-Aldrich Co.) con dosis de 10, 20, 30, 40 y 50 μ g.kg⁻¹, respectivamente. La calidad y producción de los grupos experimentales se determinó siguiendo la metodología descrita por Fernández-Palacios *et al.* (1995). Previamente, al inicio de las inducciones, se comprobó el estado de madurez sexual de los reproductores midiendo el tamaño de 100 oocitos de cada hembra (canulación ovárica) y la actividad del esperma (obtenido mediante presión abdominal).

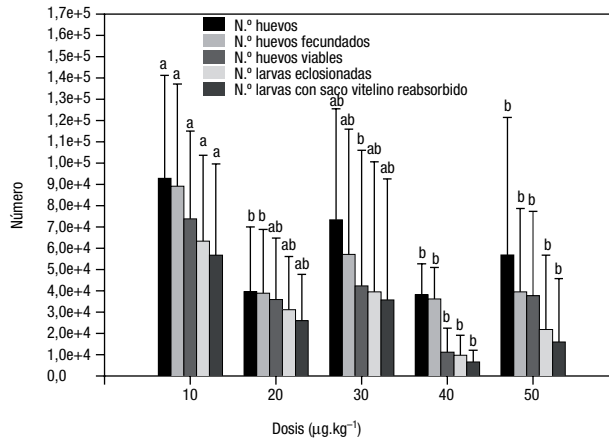
Resultados y Discusión

El tamaño medio de los oocitos de los reproductores de los grupos oscilo entre 0,50 \pm 0,13 y 0,53 \pm 0,19 mm, y la motilidad del esperma entre el 77,32 \pm 9,26 y el 89,91 \pm 3,48%, con una actividad de > 6 minu-

Tabla 1. Índices de calidad de las puestas (media \pm desviación típica de la media)

Dosis (μ m.kg ⁻¹)	% huevos viables	% huevos fecundados	% eclosión	% larvas con el saco vitelino reabsorbido
10	80,73 \pm 15,26 ^a	95,52 \pm 4,81	83,92 \pm 18,54	82,44 \pm 24,68
20	87,14 \pm 10,66 ^a	96,97 \pm 3,84	89,42 \pm 12,95	84,83 \pm 10,56
30	40,19 \pm 46,54 ^b	85,91 \pm 19,22	64,25 \pm 39,26	55,58 \pm 42,02
40	25,94 \pm 26,19 ^b	93,83 \pm 8,73	66,13 \pm 41,49	51,35 \pm 37,81
50	43,55 \pm 39,71 ^b	85,22 \pm 23,17	60,59 \pm 46,15	44,14 \pm 44,65

* Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas (ANOVA y test de Duncan para p < 0,05).

Figura 1. Producciones relativas (por kg de hembra y por puesta) de los grupos experimentales

* Barras, del mismo color, sin o con una misma letra no presentan diferencias significativas. Barras, del mismo color, con diferentes letras presentan diferencias significativas (ANOVA y test de Duncan para $p < 0,05$).

tos. No se obtuvieron puestas en el grupo control, en la Tabla 1 se señalan los resultados obtenidos en cuanto a los índices de calidad de las puestas. Se observa que los mejores resultados, en todos los índices, corresponden a las puestas de reproductores inducidos con las dosis más bajas 10 y 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, sin embargo solo existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) en el porcentaje de huevos viables. El porcentaje de huevos viables obtenido, con las dosis más bajas, es similar al obtenido por Grau *et al.* (2007), en corvinas salvajes inyectadas con una dosis de 0,50 ml.kg^{-1} de Ovaprim. Wang *et al.* (2009) tampoco encuentran diferencias en los porcentajes de fecundación y de eclosión en reproductores de *Misgurnus anguillicaudatus* inyectados con GnRH α en dosis de 10, 20, 40 y 60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

En la Figura 1 se observan las producciones de los grupos experimentales correspondiendo las mayores a las puestas de los reproductores inyectados con la dosis de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, Levavi-Sivan *et al.* (2004) indican una mayor volumen de huevos por kg de hembra de *Bydianus bydianus* cuando son inyectadas con dosis de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ que cuando los son con dosis de 20, 30 y 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH α .

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto RTA2008-00107-00-00 financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Bibliografía

- Fernández-Palacios, H., M. S. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi y J.M. Vergara. 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*. 132 (3-4): 325-337.
- Grau, A., A. Rodríguez-Rúa, E. Massuti-Pascual, M.T. Jiménez, J. Durán, R.M. Jiménez-Cantizano, E. Pastor y S. Cárdenas 2007. Spawning of meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) using GnRH α . *Aquaculture Europe 2007*. Estambul, Turquía. European Aquaculture Society.
- Levavi-Sivan, B., R.Vaiman, O. Sachs y I. Tzchori. 2004. Spawning induction and hormonal levels during final oocyte maturation in the silver perch (*Bydianus bydianus*). *Aquaculture*. 229: 419-431.
- Wang, Y., M. Hu, W. Wang, X. Li, S.G. Cheung, P.K.S. Shin y L. Song. 2009. Effects of GnRH α (D-Ala⁶, Pro⁹-NET) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture*. 291: 136-139.

Eficacia de la inducción hormonal con distintas dosis de GnRHa en corvina (*Argyrosomus regius*)

H. Fernández-Palacios¹, D. Schuchardt¹, J. Roo¹, C.M. Hernández-Cruz¹ y N. Duncan²

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM-ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35214 Telde. Las Palmas. email: pipo@iccm.rcanaria.es

² IRTA. San Carlos de la Rápita. 43540 Tarragona. España

Abstract

The objective of this experiment was to determine the efficacy of different GnRHa doses for the induction of the spawning in meagre broodstock born in captivity. Five experimental groups were established, and one control group that was not injected. Fish were acclimated in six 10 m³ tanks, and in each tank there was 3 ♀ and 4 ♂ with an average weight of 8.33 ± 0.97 and 8.47 ± 1.09 kg respectively. Throughout the experimental period (April 14-June 2 of 2009), broodstock were induced on a weekly basis. Each time one female and two males from each of the five experimental groups were induced with an injection of GnRHa at the doses of 10, 20, 30, 40 and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectively. No significant differences were found in any of the controlled parameters: % of injected females with spawning, latency period and % of spawns. Although the highest spawning ratio was obtained with the lower doses, a statistically significant negative correlation between the doses and percentage spawning was found.

Justificación

En la actualidad, una de las técnicas más utilizadas para la inducción de la puesta, de reproductores en cautividad, es el uso de hormonas liberadoras de gonadotropina (GnRH) que inducen a la hipófisis a la secreción de gonadotropinas y la consiguiente maduración de los oocitos y puesta. Con la aparición de análogos sintéticos se ha generalizado su uso, tanto en especie marinas como de agua dulce. Sin embargo hay diferencias en la respuesta de las diferentes especies a la inducción con análogos de la GnRH. El objetivo del presente estudio fue determinar la eficacia de distintas dosis de GnRHa en la inducción de la puesta de reproductores de corvina (*Argyrosomus regius*) nacidos en cautividad.

Material y Métodos

Se formaron 5 grupos experimentales y un grupo control que no fue inyectado, se estabularon en 6 tanques de 10 m³. Cada uno de los 6 grupos estaba constituido por 3 ♀ y 4 ♂ marcados con microchip, con un peso medio de $8,33 \pm 0,97$ y $8,47 \pm 1,09$ kg, respectivamente. Semanalmente y a lo largo del periodo experimental (14 de abril-2 de junio del 2009), se inyectaron una hembra y dos machos, de cada uno de los grupos experimentales, con dosis de 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectivamente, de GnRHa (SIGMA, Aldrich Co.). Previamente, al inicio de las inducciones, se comprobó el estado de madurez sexual de los reproductores midiendo el tamaño de 100 oocitos de cada hembra (canulación ovárica) y la actividad del esperma (obtenido mediante presión abdominal). Como parámetros de la eficacia de la inducción se determinaron: el porcentaje de hembras inyectadas que pusieron, el periodo de latencia (tiempo transcurrido entre la inyección y el momento de la puesta) y el porcentaje de puestas (n° puestas/ n° inyecciones $\times 100$).

Tabla 1. *Tamaño de los oocitos, % de movilidad y tiempo de actividad de los espermatozoides de los grupos de reproductores utilizados en el experimento (media \pm desviación típica de la media)*

Dosis ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Medida oocitos (mm)	Movilidad esperma (%)	Tiempo de actividad (min)
0	0,517 \pm 0,126	88,95 \pm 4,25	7,02 \pm 0,21
10	0,501 \pm 0,135	85,91 \pm 3,48	6,54 \pm 0,37
20	0,535 \pm 0,191	77,32 \pm 9,26	6,42 \pm 0,19
30	0,514 \pm 0,137	77,66 \pm 1,42	6,37 \pm 0,20
40	0,504 \pm 0,184	77,72 \pm 8,16	7,07 \pm 0,24
50	0,520 \pm 0,169	82,49 \pm 3,48	6,34 \pm 0,46

* Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas (ANOVA).

Tabla 2. Efecto de las dosis inyectadas sobre las puestas (media \pm desviación típica de la media)

Dosis ($\mu\text{m.kg}^{-1}$)	N.º hembras inyectadas	N.º inyecciones	N.º hembras con puestas	N.º puestas	Período de latencia (h)	% de puestas
10	3	5	100	9	52,8 \pm 10,73	166,6 \pm 37,7
20	3	6	100	9	60,0 \pm 13,14	150,0 \pm 50,0
30	3	5	100	7	52,8 \pm 10,73	150,0 \pm 86,6
40	3	7	100	8	67,2 \pm 20,07	141,6 \pm 68,7
50	3	7	100	5	66,0 \pm 13,85	106,2 \pm 71,8

* Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas (ANOVA).

Resultados y Discusión

No se obtuvieron puestas en el grupo de control. En la Tabla 1 se señala la medida de los oocitos y la movilidad y actividad del esperma del grupo control y de los grupos experimentales, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los parámetros controlados.

En la Tabla 2 se indica los resultados obtenidos en cuanto al porcentaje de hembras con puesta, periodo de latencia y porcentaje de puestas, observándose que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los parámetros medidos. Así, todas las hembras que se inyectaron tuvieron puesta. Mikolajczyk *et al.* (2008). También obtienen puestas en todos los reproductores de *Thymallus thymallus* inyectados con dosis de 16, 32 y 48 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ del análogo de la GnRH Gonazon™.

En cuanto al periodo de latencia este es similar en todas la dosis y semejante al obtenido para reproductores salvajes de esta misma especie, inyectados con 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, por Duncan, Estévez y Mylonas (2007) que fue de 60 \pm 16,97 horas. El mayor porcentaje de puestas corresponde a la dosis de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, encontrándose una correlación negativa significativa ($p < 0,05$) entre la dosis empleada y el porcentaje de puestas. Cerqueira y Canarin (2008) señalan una mayor eficacia con dosis altas que con bajas en puestas de reproductores de *Centropomus parallelus* inyectados con dosis de 15, 35 y 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de LH-RHa.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto RTA2008-00107-00-00 financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Bibliografía

- Cerqueira, V. y M. Canarin. 2008 Multiple spawning of the fat snook *Centropomus parallelus* using different dosages of LHRH. *Cybiu*, 32(2) suppl.: 330-331.
- Duncan, N.J., A. Estévez y C.C. Mylonas. 2007. Efecto de la inducción hormonal mediante implante o inyección de GnRHa en la cantidad y calidad de puestas de corvina (*Argyrosomus regius*) En: Cerviño A., Guerra A. y Pérez C. (Eds.), Actas XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo, España: 731-734.
- Mikolajczyk, T., M. Sokolowska-Mikolajczyk, P. Szczerbik, M. Duc, K. Goryczko, S. Dobosz, J. Glogowski, P. Epler, y W.J. Enright. 2008. The effects of the GnRH agonist, azagly-nafarelin (Gonazon™), on ovulation and egg viability in the European grayling (*Thymallus thymallus* L.) *Aquaculture*. 281: 126-130.

Localización histoquímica de glicoconjugados en el epitelio del pie de *Haliotis tuberculata* mediante el uso de lectinas

A. M. Garcés¹, V. S. Martínez-Zorzano² y P. Molist¹

¹ Área de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidade de Vigo. 36310 Vigo. pmolist@uvigo.es

² Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Biología. Universidade de Vigo. 36310 Vigo

Abstract

The foot of *Haliotis tuberculata* is covered by a simple epithelium layer, finding some differences between the sole-foot and the side-foot epithelium. In both cases, a variety of mucocytes were found interspersed between the epidermal cells. Moreover, epithelial mucous cells were located underneath the epithelium in subepithelial location in the sole-foot.

Biotinylated and digoxigenin-conjugated lectins were used to study into epithelial mucous cells and subepithelial glands the presence and distribution of sugar residues in the oligosaccharide side chains of glycoconjugates

The mucocytes of the pedal epithelia have shown target sites for the following monosaccharides: galactose, glucosamine and galactosamine. However, subepithelial glands contains mainly: fucose and manose. Sialic residues were found to be absent. The lack of sialic acid in molluscs could be a general feature.

Justificación

El presente trabajo pretende estudiar la composición de los glicoconjugados de las células secretoras, o mucocitos, que se encuentran dispersos entre las células epidérmicas del epitelio del pie de *Haliotis tuberculata*, así como de las glándulas localizadas en posición subepitelial en la porción inferior del pie.

Material y Métodos

Se seleccionaron pequeños fragmentos del pie, diferenciando la parte lateral, la inferior, y el epipodio; se fijaron por inmersión durante, al menos, dos horas en formol Baker, antes de incluirse en parafina. Se incubaron cortes de 8µm con diferentes lectinas conjugadas con digoxigenina (DIG) obtenidas de Boehringer Mannheim Biochemica (Mannheim, Germany), y con lectinas conjugadas con biotina, suministradas por Sigma (St. Louis Mo., USA).

Las lectinas conjugadas con DIG se utilizaron siguiendo el método histoquímico descrito previamente por Fernández-Rodríguez *et al.* (2000) con modificaciones, mientras que las conjugadas con biotina se usaron según el protocolo convencional de bloqueo, incubación y revelado con tabletas de 0,7 mg/ml de diamino-bencidina y 0,003% de peróxido de hidrógeno.

En todos los casos se realizaron controles negativos, bloqueando los grupos reactivos de las lectinas con su azúcar específico. También se ensayaron las lectinas tras la desulfatación de la muestra, consistente en un proceso secuencial de metilación-saponificación que permite eliminar grupos sulfato de los monosacáridos y hacerlos más accesibles a la lectina.

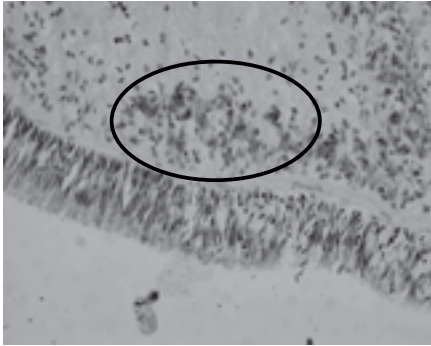
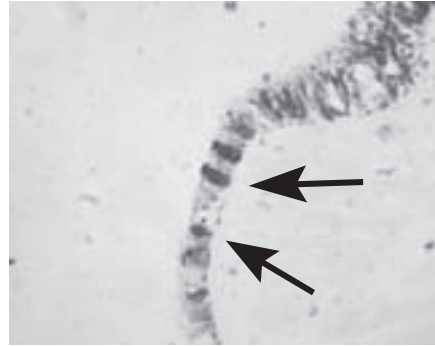
La manipulación animal siguió la normativa vigente de la Xunta de Galicia de protección de animales utilizados en experimentación conforme con las pautas de la Unión Europea.

Resultados

Los resultados obtenidos se describen agrupando las lectinas que reconocen específicamente un determinado carbohidrato.

Para las lectinas específicas de fucosa (LTA, UEA y AAA), obtuvimos los mismos resultados: fuerte reactividad de las glándulas subepiteliales del epitelio inferior demostraban la presencia de α -fucosa como componente mayoritario de los glicoconjugados presentes en la secreción glandular (Fig. 1). Además, mucocitos del epipodio y de la porción del pie lateral se tiñeron con AAA, siendo este resultado potenciado al realizar la desulfatación. Las glándulas subepiteliales también mostraron reactividad, pero de manera más moderada, con lectinas que reconocen manosa (Con A y GNA). En las células epidérmicas del epitelio del epipodio y pie, la manosa aparece homogéneamente distribuida en su porción apical. Las lectinas usadas para localizar ácido siálico (MAA y SNA) no se unen a ningún tipo celular incluso tras la desulfatación.

La lectina que reconoce glucosamina, WGA, mostró una fuerte afinidad por los mucocitos del pie, tanto lateral como inferior, pero únicamente después de la desulfatación. Con respecto a la presencia de galacto-

Figura 1. Glándulas subepiteliales positivas para UEA en el inferior. 60×**Figura 2.** Mucocitos positivos para DBA en el pie lateral. 100×

samina, DBA tuvo afinidad por mucocitos del pie lateral (Fig. 2) cuyo número aumentaba después de la desulfatación. Un resultado similar se encontró con PNA, que reconoce residuos de galactosa.

Discusión

El epitelio del pie de la oreja de mar presenta estructuralmente muchas similitudes con otros moluscos. La presencia de distintos tipos de mucocitos y glándulas subepiteliales que contienen una gran variedad de glicoconjugados ha sido demostrada mediante técnicas histoquímicas convencionales en algunos prosobranchios (Grenon y Walker, 1978; Shirbhate y Cook, 1987). En *Haliotis tuberculata*, estudios histoquímicos previos (Bravo *et al.*, 2001), así como el presente uso de lectinas, nos han permitido distinguir entre un epitelio secretor situado en el pie inferior, donde el mucus es rico en fucosa y manosa gracias a la secreción de las glándulas subepiteliales, y las células mucosas del epitelio lateral del pie y del epipodio que secretan un mucus rico en galactosa, galactosamina y glucosamina. Los resultados obtenidos con MAA y SNA indican la ausencia de ácido siálico en los glicoconjugados del pie de la oreja de mar, coincidiendo con estudios realizados en otros moluscos (Bolognani y Ottaviani, 1990; Menghi *et al.*, 1991; Calabro *et al.*, 2005). En resumen, nuestros resultados indican que el mucus presente en las distintas partes del pie de *Haliotis tuberculata* tiene una composición distinta, debido a la diferente secreción de sus glándulas, lo que sugiere una diferente funcionalidad.

Bibliografía

- Bolognani F., A.M. y Ottaviani, E. 1990. N-acetylmuramic acid in Mollusca Gastropoda: a histochemical and immunocytochemical study. *Histochemical Journal*, 22: 475-479.
- Bravo, I., Franco, J.M., Alonso, A., Dietrich, R. y Molist, P. 2001. Cytological study and immunohistochemical location of PSP toxins in foot skin of the ormer, *Haliotis tuberculata*, from the Galician coast (NW Spain). *Marine Biology*, 138: 709-715.
- Calabro, C., Albanese, M.P., Martella, S., Licata, P., Lauriano, E.R., Bertuccio, C. y Licata, A. 2005. Glycoconjugate histochemistry and nNOS immunolocalization in the mantle and food epithelia of *Tapes philippinarum* (bivalve mollusc). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 43 (3): 151-156.
- Fernández Rodríguez J., Feijoo-Carnero C., Merino-Trigo, A., Páez de la Cadena, M., Rodríguez-Berrocal F.J., De Carlos A., Butrón M. y Martínez-Zorzano V.S. 2000 Immunohistochemical analysis of sialic acid and fucose composition in human colorectal adenocarcinoma. *Tumor Biology*, 21:153-164.
- Grenon, J.F. y Walker, G. 1978. The histology and histochemistry of the pedal glandular system of two limpets, *Patella vulgata* and *Acmaea tessulata* (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 58: 803-816.
- Menghi, G., Ottaviani, E., Accilli, D. y Bolognani F., A.M. 1991. Identification of muramyl derivatives in Mollusca Gastropoda tissue. *Histochemistry*, 96: 209-213.
- Shirbhate, R. y Cook, A. 1987. Pedal and opercular secretory glands of *Pomatias*, *Bithynia* and *Littorina*. *Journal Molluscan Studies*. 53: 79-96.

Influencia de la fuente de lípidos del pienso sobre la respuesta de macrófagos renales en tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)

J.A. García¹ y M. Villarroel²

¹ Dpto. Sanidad Animal. Fac. Veterinaria. Univ. Complutense de Madrid.
Avda. Puerta de Hierro, s/n. 2804 Madrid

² Dpto. Producción Animal, ETSI Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid.
Avda. Complutense, s/n. 28040 Madrid

Abstract

Fish feeds have depended very heavily on fish oil, their decreased availability and increased price have forced the feed industry to seek for other potential ingredients, like vegetable oils. Three different feeds differing only in the plant oil included (linseed, sunflower oil and high oleic sunflower oil) were used to feed tilapia during 2 months. A fourth group fed with a feed with fish oil was included as control group. After that time, kidney macrophages were collected and their capacity to control and eliminate a bacterial infection was tested by counting the number of macrophages, and estimating the number of bacteria/macrophage at 0 and 4 hours post-infection. Respiratory burst was also recorded as a measure of macrophage function. The results suggest improved macrophage response using sunflower oil. Surprisingly, the feed with fish oil seemed to be the worst from the macrophage function point of view.

Justificación

Tradicionalmente, las dietas para los peces han estado basadas en la utilización de aceite de pescado como fuente de energía y de ácidos grasos esenciales (Watanabe, 2002; Montero, 2008). Sin embargo, en los últimos años se ha producido un importante aumento en la demanda del aceite de pescado tanto para el consumo humano como animal, provocando un importante aumento en su precio, lo que unido al descenso en las cantidades obtenidas ha obligado a la búsqueda de nuevas fuentes de lípidos para las dietas de peces. Entre éstas se ha estudiado la utilización de aceites vegetales como sustitutivos en parte o totalmente al aceite de pescado (Watanabe, 2002; Montero *et al.*, 2008). Sin embargo, la utilización de estas grasas vegetales en las dietas de los peces puede dar lugar a una alteración del metabolismo de los animales, lo que finalmente puede traducirse en una alteración de la respuesta inmune (Yu-Hung y Shi-Yen, 2003; Montero *et al.*, 2003). Aunque el efecto de los distintos tipos de ácidos grasos (n-3 y n-6) sobre la respuesta inmune de los peces no parece estar muy clara, ya que existen diferentes estudios con resultados contradictorios (Yu-Hung y Shi-Yen, 2003; Montero *et al.*, 2003).

El objetivo del presente estudio fue el de estudiar el efecto de tres aceites vegetales (linaza, aceite de girasol y aceite de girasol rico en ácido oleico) sobre los macrófagos de peces alimentados con esas dietas. Como control se usó un grupo de peces alimentados con un pienso formulado con aceite de pescado.

Material y métodos

Para el presente trabajo se emplearon 96 tilapias (*Oreochromis niloticus*) con un peso inicial medio de 10,2 g ($\pm 1,4$) obtenidas originalmente de Valenciana de Acuicultura (Puçol, Valencia). Los peces se mantuvieron en 24 tanques cilíndricos de recirculación (120 l). La temperatura (26°C), oxígeno (aproximadamente 6,0 mg/l) y flujo de agua (160 litros/hora) se mantuvieron constantes durante todo el experimento. Los peces se separaron en seis tanques por tratamiento (tipo de pienso), que fueron alimentados con linaza, aceite de girasol, aceite de pescado y aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico, como fuentes de energía.

Al finalizar el experimento, tres peces por tratamiento fueron sacrificados, para obtener macrófagos renales según García y Villarroel (2009). Una vez aislados, los macrófagos fueron infectados con una cepa de *E. coli* y el número de macrófagos y bacterias se contó a las 0 y 4 horas post-infección (hpi) siguiendo el método descrito por García y Villarroel (2009). Los macrófagos aislados también fueron utilizados para medir la explosión respiratoria mediante la técnica de reducción de NBT (García y Villarroel, 2009).

Resultados y Discusión

En general, la ganancia de peso de los peces fue muy similar entre los diferentes tratamientos (ganancia media de 36 g \pm 5,7 entre los 4 tratamientos), así como el índice de conversión (IC media de 1,19 \pm 0,18), mientras que la mortalidad fue más alta ($P = 0,0623$) en el tratamiento con girasol alto oleico.

Tabla 1. Resultados de la mortalidad de tilapias, supervivencia de macrófagos a la infección con *E. coli*, explosión respiratoria (reducción del NBT) y del control de la infección (bacterias recuperadas a las 4 horas post-infección (hpi)/macrófago).

Aceite	Mortalidad tilapias (%)	Pienso	% macrófagos		Explosión respiratoria	Bacteria/macrófago	
			0 hpi	4 hpi		0 hpi	4 hpi
Linaza	0	E	100	49,8	0,313	98	0,13
Aceite de girasol	0	F	100	70,4	0,821	96	0,05
Aceite de pescado	4,2	G	100	59,8	0,169	99	0,15
Aceite de girasol (alto oleico)	16,7	H	100	53,7	0,753	98	0,05

Los resultados de la repuesta macrofágica se presentan en la Tabla 1. En ella se puede observar como los macrófagos del grupo F (aceite de girasol) fueron capaces de sobrevivir en mayor cantidad a la infección bacteriana, y podría ser posible que la mayor explosión respiratoria observada fuera debido a esa mayor cantidad de células. Pero es interesante observar cómo los macrófagos del grupo H (aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico) presentaron similares valores de explosión respiratoria e igual capacidad para controlar la infección bacteriana a pesar de realizarlo con un número menor de macrófagos.

Puesto que todas las dietas fueron formuladas para diferenciarse únicamente en el tipo de aceite empleado, parece que el aceite de girasol podría tener una acción protectora sobre las membranas celulares de los macrófagos. Estas membranas celulares juegan un importante papel en la función que estas células realizan en el hospedador. No sólo intervienen en la entrada de los agentes extraños durante la fagocitosis, sino posteriormente durante la explosión respiratoria, ya que esta acción se lleva a cabo dentro de vacuolas rodeadas por una membrana. Sin embargo, la presencia de mayores cantidades de ácido oleico podría tener un efecto más negativo sobre la supervivencia de los macrófagos. Pero, según nuestros resultados, esa mayor cantidad de ácido oleico podría tener un efecto beneficioso sobre la explosión respiratoria, lo que se traduciría en una mayor reducción del número de bacterias presentes en cada macrófago, ya que los macrófagos del grupo H, fueron capaces de mantener la infección bacteriana en los mismos niveles que los del grupo F aún cuando el número de macrófagos fue menor.

También resulta llamativa la comparación de los resultados obtenidos en los grupos E (linaza) y G (aceite de pescado). En ambos casos, los resultados fueron peores que en los grupos F y H, pero en el E se observa una supervivencia un 10% menor que en el G, aunque la explosión respiratoria fue casi el doble, si bien los valores de bacterias presentes/macrófago en ambos casos fue muy similar.

Bibliografía

- Watanabe, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, 68: 242-253.
- Yu-Hung Lin y Shi-Yen Shiau. 2003. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses. *Aquaculture*, 225: 243-250.
- Montero, D., T. Kalinowski, A. Obach, L. Robaina, L. Tort, M.J. Caballero y M.S. Izquierdo. 2003. Vegetable lípido sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, 225: 353-370.
- Montero, D., V. Grasso, M.S. Izquierdo, R. Ganga, F. Real, L. Tort, M.J. Caballero y F. Acosta. 2008. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead seabream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish and Shellfish Immunology*, 24: 147-155.
- García, J.A. y M. Villarroel. 2009. Effect of feed type and feeding frequency on macrophage functions in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 27: 325-329.

Cambios morfométricos y de composición durante el primer año de cultivo de la corvina (*Argyrosomus regius*)

S. García-Mesa¹, G. González², A. Mechón³, A. Sanz¹, M.D. Suárez³ y M. García-Gallego¹

¹ Dpto. Biología Animal. Universidad de Granada. Campus Fuentenueva. 18071 Granada. E-mail: sgarciam@ugr.es

² Departamento de Producción. Centro IFAPA El Toruño

³ Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería

Abstract

Meagre (*A. regius*) is nowadays considered as a highly interesting candidate for expanding the marine aquaculture species roll. Its relative novelty as farmed fish demands a complete characterization of its morphometric and nutritional characteristics. In this paper the evolution of some morphological and biochemical patterns during the first year of cage culturing are reported. During this period, external morphology does not suffer important changes but liver reveals as an important place for fat accumulation. Fillet increases its relative weight but it remains as a lean compartment, in spite of fish have been fed on a high fat diet.

Justificación

La corvina (*Argyrosomus regius*) se presenta como un firme candidato para la diversificación del mercado de la acuicultura marina, ya que presenta una serie de características biológicas que la aventajan sobre otras especies. Es un pez particularmente esbelto que, incluso recibiendo dietas ricas en grasa, da lugar a productos comerciales de alta calidad. Posee un alto porcentaje de músculo, baja adiposidad y contenido lipídico saludable (Jiménez *et al.*, 2005)

Por tratarse de una relativa novedad dentro del mundo de la acuicultura, nuestro objetivo inicial ha sido hacer un seguimiento del crecimiento y de la evolución de la composición corporal y de la fracción comestible (músculo), de un cultivo de corvina en jaulas flotantes durante su primer año.

Material y Métodos

Los individuos a los que se les ha hecho el seguimiento proceden de las instalaciones (jaulas flotantes) que la empresa Ceutammar S.L. posee en la Bahía de Algeciras. La temperatura promedio del agua durante el periodo considerado fue de $17,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$. El cultivo se inició con alevines de 9 g de peso inicial procedentes de Ferme Marine de Dohuet (Francia). Durante los primeros meses los peces se alimentaron con una dieta con 55% de proteína y 21% de grasa, continuando con una dieta en que la proteína se redujo a 46%. Se realizaron muestreos periódicos, extrayendo los individuos ($n = 15$) de las propias jaulas para posteriores análisis biométrico y bioquímico en el laboratorio. Sobre la tabla de disección se llevaron a cabo las siguientes medidas; longitud total (LT), estándar (LE) y cefálica (LC), altura máxima (AM) y longitud ágil (LA) (distancia del plano caudal al plano de máxima altura)

Además de cada individuo fue determinado el peso total (PT) y el de las principales estructuras corporales: aletas, branquias, paquete visceral, tracto digestivo, riñón, corazón, gónadas y cabeza, para ello se empleó una balanza de precisión. A partir de estas se pueden obtener una serie de índices morfométricos tales como el Perfil Relativo (PR), el Índice Cráneo-Somático (ICS), el Índice Digestivo-Somático (IDS), el Índice Hepato-Somático (IHS) y el Rendimiento del Filete (RF).

Tanto animales enteros como muestras de músculo dorsal fueron analizadas según los métodos establecidos por la AOAC (2000) para determinación de composición bioquímica.

Tabla 1. Evolución de los principales parámetros biométricos durante el primer año del cultivo de la corvina

Días	LT*	LE	LC	AM	LA	PT (g)	PR	ICS	IDS	IHS	RF
0	9,56 ± 0,16	8,41 ± 0,12	2,55 ± 0,04	2,19 ± 0,03	5,08 ± 0,06	9,14 ± 0,45	0,23 ± 0,003	26,25 ± 0,23	3,65 ± 0,11	0,86 ± 0,10	38,13 ± 0,50
327	25,81 ± 0,59	22,55 ± 0,53	6,74 ± 0,13	5,96 ± 0,17	13,03 ± 0,38	194,6 ± 14,55	0,23 ± 0,002	20,34 ± 0,33	3,22 ± 0,14	2,87 ± 0,09	47,88 ± 0,50

* Variables descritas en texto.

Tabla 2. Evolución de la composición porcentual del músculo

Días cultivo	Agua	Grasa	Proteína	Cenizas
202	77,19 ± 0,35	1,90 ± 0,30	20,06 ± 0,77	1,36 ± 0,03
327	76,76 ± 0,17	1,70 ± 0,34	20,90 ± 0,25	1,42 ± 0,02

Resultados y Discusión

El perfil relativo apenas sufre variaciones en el período de cultivo, lo cual puede indicar que no hay un cambio en la esbeltez de este pez, sometido a condiciones de engorde, alimentado con un pienso rico en grasas. La sección craneal pierde peso relativo, lo que se debe atribuir a un aumento proporcional del resto del cuerpo.

El valor IHS está triplicado al final del período de seguimiento, ya que este órgano sirve de depósito de grasa. El rendimiento del filete, la parte comercialmente más importante, muestra un aumento de 10 puntos desde el inicio de cultivo hasta el final del período de seguimiento. Según Poli *et al.* (2003) el rendimiento del filete alcanza valores del 47%, coincidentes con los que hemos obtenido al final del período controlado.

Centrándonos en la composición del músculo, observamos que ésta apenas varía. El contenido proteico está ligeramente por encima del de otros peces de piscifactoría mientras que el lipídico es bastante menor al de esas otras especies. Posiblemente el potencial genético de la corvina podría vencer el desafío que supone la ingesta de una dieta hipercalórica.

Bibliografía

- AOAC, 2000. *Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists*, Gaithersburg, Maryland, USA, 1018 pp.
- Grigorakis, K. 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture*. 272. 55 – 75.
- Jiménez, M.T., Pastor, E., Grau, A., Alconchel, J.I., y Cárdenas, S. 2005. Revisión sobre el cultivo de esciéndidos en el mundo y presentación del Plan Nacional de Cría de corvina (*Argyrosomus regius*). En: *Actas del X Congreso Nacional de Acuicultura*. Gandía.
- Poli, B. M., Lurzan F., Mecatti M., Zampacavallo G., Lupi P. y Parisi G. 2002. Progress in evaluation of quality traits and quality changes of large sized reared meagre (*Argyrosomus regius*): A new candidate specie for aquaculture. *European Aquaculture Society Special Publication* 32: 427- 428.

Ciclo gametogénico, talla de primera madurez sexual y fecundidad en hembras de bocinegro, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz

M. García-Pacheco¹ y M.A. Bruzón²

¹ Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero (EPDAP). C/Bergantín, 39.
41012 Sevilla. España. e-mail: mmargp8@hotmail.com

² IFAPA. Centro El Toruño. Camino Tiro Piñón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María. Cádiz. España

Abstract

The main objective has been studying on the reproductive biology of sea bream, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758). A total of 176 females were sampled monthly for one year. Gametogenic cycle was determined by histological methods. Spawning period was from January to May. The average absolute and relative batch fecundity estimated from stereological quantification was $392,720 \pm 343,980$ oocytes and $17,651 \pm 32,555$ oocytes g^{-1} of body mass respectively.

Justificación

El bocinegro, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758), pertenece al orden perciformes, a la familia Sparidae. Es una especie común en el atlántico oriental extendiéndose desde el norte de las Islas Británicas al Estrecho de Gibraltar, incluyendo los Archipiélagos de Madeira, Canarias y Cabo Verde (Hureau, 1996). En el atlántico occidental se distribuye de New York y norte del Golfo de México a Argentina incluyendo la costa continental del mar Caribe.

Se reproduce en primavera y verano en fondos cercanos a la costa. La época de puesta va desde enero hasta mayo en el mediterráneo y en el Golfo de México ocurre en invierno y primavera (Hood and Johnson, 2000). Otros estudios sobre la biología reproductiva del *P. pagrus* se han realizado en las Islas Canarias (Lozano *et al.*, 1990; Pajuelo and Lorenzo, 1996) y Grecia (Vassiliopu y Papaconstantino, 1992).

Material y Métodos

Los muestreos fueron de carácter mensual durante un año. Se obtuvieron un total de 176 ejemplares hembras. A cada individuo se le midió longitud total (cm), peso total, eviscerado y de la gónada (g). Estas fueron fijadas en formol tamponado al 4%, embebidas en parafina y cortadas en un micrótomos de rotación, consiguiendo cortes histológicos de 3 μm de grosor. Estos cortes fueron teñidos con Hematoxilina-eosina y Hematoxilina-V.O.F. (Gutiérrez, 1967) mediante un teñidor automático. El estudio de la fecundidad se realizó mediante métodos estereológicos.

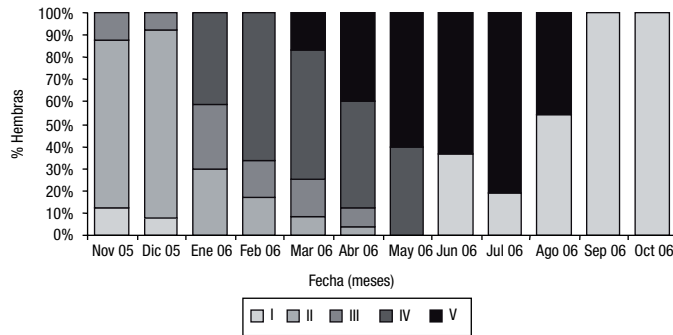
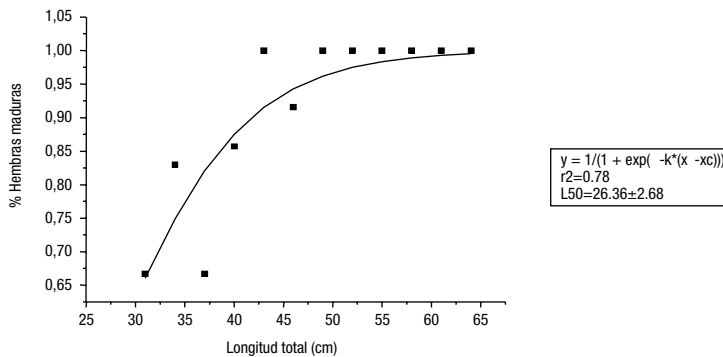
Los diferentes estados de desarrollo gonadales fueron determinados microscópicamente y establecidos de acuerdo con la escala propuesta por Wallace y Selman (1981) y Sarasquete *et al.* (2002). La determinación de la talla de primera madurez sexual, se realizó por medio de estudios histológicos en los meses de mayor actividad sexual. Se empleó el programa informático Origin 7.0.

Resultados

El desarrollo gametogénico comenzó en el mes de junio. En los meses de septiembre y octubre hubo mayor proporción de hembras inmaduras (previtelogénicas) y en noviembre y diciembre hubo un alto número de hembras que se encontraban en estado de desarrollo. La época de puesta va de enero a mayo, observándose un aumento de hembras en estado de puesta en el mes de febrero. En el mes de marzo, empiezan a aparecer las hembras en estado de postpuesta, hasta alcanzar el mes de agosto (Fig. 1).

La talla de primera madurez sexual fue 26,36 cm de longitud total, (95% I.C. = 2,68) cm. Los individuos se repartieron a lo largo de toda la curva (Fig. 2), siendo mayoritarios en la zona alta, presentando un ajuste en la ecuación logística ($R^2 = 0,78$).

Se determinó la fecundidad absoluta de 15 individuos, cuyas tallas estuvieron comprendidas entre 30 y 58 cm de longitud total, variando el número de ovocitos entre 1.236.444 y 54.493 (promedio = 392.720 ± 343.980). La fecundidad relativa calculada fluctuó entre 23549 y 15107 ovocitos por gramo de peso del individuo (promedio = 17.651 ± 32.555).

Figura 1. Evolución de los estados de maduración gonadal de *P. pagrus* en el Golfo de Cádiz**Figura 2.** Curvas de la talla de primera madurez sexual de *P. pagrus*

Bibliografía

- Gutiérrez, M. 1967. Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pesq.* 31(2): 265-271.
- Hood, P.B.; Johnson, A.K. (2000). Age, growth, mortality, and reproduction of red porgy, *Pagrus pagrus*, from the eastern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.* 98(4): 723-735.
- Hureau, J.C. (1996). Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean (World Biodiversity Database, CD-ROM Series). Paris: ETI (Univ. Amsterdam)/UNESCO.
- Lozano, I.J., Caldentey, M.A., González, J.A., Carrillo, J., Santana, J.I. (1990). Talla de primera madurez sexual de seis espáridos de interés pesquero en Canarias. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.* 84:1-30.
- Pajuelo, J.G., Lorenzo, J.M. (1996) Life history of the red porgy *Pagrus pagrus* (Teleostei: Sparidae) off the Canary Islands, central east Atlantic. *Fisheries Research.* 28:163-177.
- Sarasquete, C., S. Cárdenas, M.L. González de Canales y E. Pascual. 2002. Oogenesis in the bluefin tuna, *Thunnus thynnus* L.: A histological and histochemical study. *Histol. Histopathol.* 17: 775-88.
- Vassiliou, V. and Papaconstantinou, C. (1992). Age, growth and mortality of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in the eastern Mediterranean sea (Dodecanese, Greece). *Vie Milieu.* 42: 51-55.
- Wallace, R.A. y K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer. Zool.* 21: 325-43.

Organogénesis y morfometría de la fase lecitotrófica de larvas del medregal negro (*Seriola rivoliana* Valenciennes, 1883)

E. Grossi, H. Fernández-Palacios, N. Abreu, J. Socorro, J. Roo,
C. M. Hernández-Cruz y D. Schuchardt

Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM-ULPGC). Instituto Canario de Ciencias Marinas. Muelle de Taliarte, s/n. 35200 Telde. Las Palmas. España. e-mail: cukiiss@hotmail.com

Abstract

El presente trabajo describe las principales etapas del desarrollo embrionario y larvario, en condiciones de cultivo, del medregal negro hasta el cuarto día de vida. Se ha realizado además un estudio morfométrico de huevos y larvas procedentes de puestas inducidas. Para ello se tomaron diariamente muestras de larvas, de un tanque de cultivo, para el estudio organogenico y se midieron para determinar las variaciones de los parámetros morfométricos estudiados. La eclosión de las larvas comenzó a partir de las 30 horas desde el momento de la fertilización. Transcurridas 60 horas desde de la eclosión el 100% de las larvas tenían la boca abierta. A las 72 horas el total de las larvas presentan vejiga natatoria y un tubo digestivo lo suficientemente formado para comenzar con la alimentación externa.

Justificación

El objetivo del presente trabajo es describir las características morfológicas, y determinar los parámetros morfométricos de *Seriola rivoliana*, durante el desarrollo embrionario y primera etapa larvaria. La necesidad de diversificación de la acuicultura ha llevado al interés por el cultivo de nuevas especies, entre estas han adquirido gran importancia aquellas de rápido crecimiento, como lo son las especies de la familia de los Carángidos. El medregal negro alcanza una talla de 160 cm y un peso máximo de 59 kg (IGFA, 2001). Es un depredador pelágico muy común en Azores y Canarias, siendo frecuente encontrarlos asociados al medregal limón, *Seriola dumerili* (Santos, Porteiro y Barreiros, 1997). Habita en zonas costeras, áreas de arrecifes y bancos extraterritoriales a de 5 a 160 metros de profundidad (Smith-Vaniz, 1986; Gasparini y Floeter, 2001). El rápido crecimiento, tamaño, y altos precios en el mercado son los factores que explican el interés por el cultivo de las especies de la familia Carangidae.

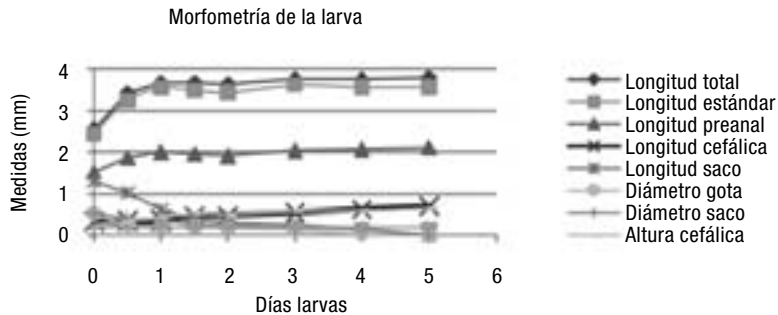
Material y Métodos

Los huevos y larvas utilizados en el presente estudio, procedían de puestas del stock de reproductores de medregal negro del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Las puestas fueron obtenidas mediante inducción hormonal y sembradas en tanques de 2 m³. El desarrollo organogenico se estudio utilizando una lupa Leica M125 y cámara DFC 295. La temperatura a lo largo del periodo experimental fue de 23°C ± y el fotoperiodo fue el natural. Diariamente, se tomaron muestras de larvas de los tanques de cultivo. Las larvas se midieron tras ser anestesiadas con una solución de esencia de clavo natural al 1‰ en agua de mar. Las medidas se realizaron utilizando un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-3000A, Kanagawa, Japón).

Resultados y Discusión

El desarrollo embrionario fue estudiado a partir de la fase de organogénesis, 20 horas después de la fertilización. El diámetro del huevo en este momento era de 1,049 ± 0,04 mm, y el de la gota lipídica de 0,299 ± 0,009 mm. En este estadio se podía apreciar una suave pigmentación del embrión a lo largo de la zona dorsal, los latidos del corazón, y el comienzo de la formación del ojo, en *Seriola lalandi*, a 17°C, esta fase se observa a las 42 h (Moran *et al.*, 2007). El extremo caudal estaba separado de vitelo y el embrión era más largo que el diámetro del huevo. A las 23h de la fertilización se apreciaron los primeros movimientos del embrión y se hicieron visibles las cápsulas óticas y ópticas. En *S. lalandi*, a 17°C, la formación de las cápsulas ópticas tiene lugar a las 72 h (Moran *et al.*, 2007). A las 25 h aparecieron melanóforos en la zona de las cápsulas olfativas y en la gota lipídica. El aumento de pigmentación (DONDE) se observó claramente a las 27 h. A las 30 h se inicio la eclosión de las larvas, tal como ocurre en *Seriola dumerili* a la misma temperatura (Papandroulakis *et al.*, 2005), mientras que *S. lalandi* eclosiona entre las 103 y 108 h a 17°C (Moran *et al.*, 2007).

Figura 1



Las larvas recién eclosionadas tenían una longitud total de $2,54 \pm 0,01$ mm y un saco de $1,29 \pm 0,07$ mm, siendo menor que el de las larvas de *S. dumerili*, $2,88 \pm 0,22$ (Papandroulakis *et al.*, 2005). Se observó un tubo digestivo rectilíneo formando un ángulo recto a la altura del ano. A las 12 h después de la eclosión (dpe) se apreció un aumento del tamaño de la larva del 34,64%, la gota lipídica se desplazó hacia la zona posterior del saco vitelino, y se incrementó la pigmentación en la aleta embrionaria. A las 24 h dpe se observan los neuromastos libres, los otolitos y el esbozo de la línea lateral. Los ojos se observan ligeramente pigmentados. A las 48 h dpe el saco y gota se han reducido un 88 y 87% respectivamente, reabsorbiéndose totalmente el día 4 dpe, mientras que en *S. lalandi* la reabsorción total ocurre a las 30 h (Moran *et al.*, 2007). En el segundo día dpe, la pigmentación de la larva es más intensa y el 20% de las larvas tenían la boca abierta, mientras que a las 60 h dpe el 100% de las larvas la tenían. Similar desarrollo, en el mismo tiempo, es señalado para *S. dumerili* por Papandroulakis *et al.* (2005). En este estadio las larvas tienen los ojos intensamente pigmentados, las aletas pectorales desarrolladas y la válvula ileorrectal y vejiga natatoria definida, apreciándose movimientos digestivos. Al cuarto día de vida el 100% de las larvas presentan vejiga natatoria con una longitud $0,13 \pm 0,07$ mm y una altura de $0,08 \pm 0,02$ mm. El tubo digestivo está lo suficientemente desarrollado para comenzar con la alimentación externa, esta etapa del desarrollo coincide, en el tiempo, con la de *S. lalandi* (Moran *et al.*, 2007). En la Figura 1 se observa la evolución de los parámetros morfométricos controlados.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto piloto para el cultivo de especies de rápido crecimiento en Canarias (RAPCRE) financiado por la Vicencosejería de pesca del Gobierno de Canarias.

Bibliografía

- Gasparini, J. L. y S. R. Floeter. 2001. The shore fishes of Trindade Island, western South Atlantic. *Journal of Natural History*. 35:1639-1656.
- IGFA. 2001. Database of IGFA angling records until 2001. *IGFA*, Fort Lauderdale, USA.
- Moran D., C. K. Smith, B. Gara y C. W. Poortenaar. 2007. Reproductive behaviour and early development in yellowtail kingfish. (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833). *Aquaculture*. 262: 95-104.
- Papandroulakis N., C. C. Mylonas, E. Maingot y P. Divanach. 2005. First results of greater amberjack (*Seriola dumerili*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture*. 250:155-161.
- Santos R. S., F. M. Porteiro y J. P. Barreiros. 1997. Marine fishes of the Azores: An annotated checklist and bibliography. *Arquipélago. Life Mar. Sci. Suppl.* 1: 1-231.
- Smith-Vaniz W. 1986. Carangidae. In: *FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes*. Western Indian Ocean fishing area 51, Vol. 1 (Fischer W. & G. Bianchi, eds).

Captura, aclimatación y maduración en cautividad de reproductores salvajes de *Pseudocaranx dentex* en Canarias

R. Guirao¹, J. A. Socorro², H. Fernández-Palacios², D. Schuchardt² y J. Roo²

¹ Canexmar. C/ Palangre, s/n, nave 1. Castillo del Romeral. San Bartolome de Tirajana. Las Palmas

² Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM&ULPGC). PO Box 56. E-35200 Telde. Las Palmas, Islas Canarias. España. E-mail: rafa_guirao@hotmail.com

Abstract

The present work describes the procedures for capture, maintenance and evolution of a *Pseudocaranx dentex* stock in the Instituto Canario de Ciencias Marinas. Forty fish captured in a commercial off-shore fish farm, were transferred to on land facilities, acclimation to tanks and inert food was successfully carried out, with 100% survival after 1 year. Initial fish weight (4.15 kg) was, followed and sampled to determine individual growth in weight and size. Also, the evolution of its sexual maturity state was evaluated at capture and one year after to determine the maturation of fish for future juvenile production. Fish mature in captivity, but natural spawn was unsuccessful.

Justificación

El Jurel dentón (*Pseudocaranx dentex*) es un teleosteo marino de la familia de los Carángidos. Aunque es una especie poco conocida en el entorno Mediterráneo, es muy apreciada por el mercado local en las islas Canarias, Madeira y en países como Australia o Japón, donde su producción en los últimos años ronda las 2000 Tm anuales (Watanabe y Vassallo-Agius, 2003). Una característica particular de esta especie es que frecuenta las instalaciones comerciales de engorde de peces en mar abierto, siendo muy común observar alrededor de las jaulas, la presencia de cardúmenes de *P. dentex*. Estos cardúmenes están formados por varios cientos de individuos juveniles o adultos nadando y comiendo, tanto el pienso que escapa a través de las redes, como alevines de otras especies que se concentran en gran número en el entorno. Con el propósito de impulsar su cultivo a escala comercial, se han realizado diferentes experiencias preliminares de engorde de juveniles capturados (Roo *et al.*, 2005) y estudios de la maduración gonadal en ejemplares salvajes (Guirao *et al.*, 2005). En el presente trabajo se describe el protocolo de captura, transporte y aclimatación en tanques de ejemplares adultos vivos, así como la evolución de su maduración gonadal en cautividad.

Material y Métodos

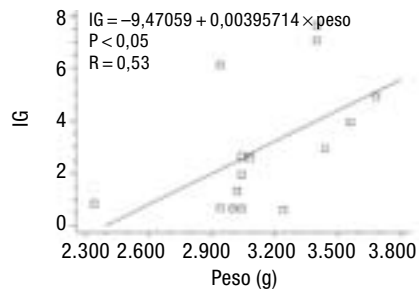
La captura de los ejemplares adultos de *P. dentex* se realizó en una jaula flotante circular de 20 m de diámetro, con un volumen útil de 3.500 m³. El cardumen de *P. dentex* se atrae hacia el interior de la jaula a través de un corte vertical de 6 m practicado en un lateral de la red, mediante el suministro de pequeñas cantidades de pienso se atraen hacia el interior de la misma. Los peces capturados (n = 40) se adaptaron rápidamente a cautividad y a la alimentación con dietas comerciales (Vitalis Repro™) manteniéndose en la jaula durante dos meses, hasta que fueron transportados a las instalaciones en tierra. Para el traslado, fue necesario la captura nuevamente en la jaula, para lo cual se empleó una red de cerco, una vez cerrado el copo, se procedió a ferrarlo con una lona plástica, introduciendo en la bolsa formada dos difusores de oxígeno y 30 ppm de anestésico (Aceite de clavo, Guinama S.L, Valencia, España). Los peces anestesiados se trasladaron al barco, distribuyéndolos en 8 tanques rectangulares de 0,6 m³ de capacidad, dotados con un suministro de oxígeno en continuo. Una vez en las instalaciones de tierra, se determinó la longitud estándar (LS), peso total (PT) y factor de condición $FC = (PT/LS^3) \cdot 100$ de quince ejemplares, seleccionados al azar que se sacrificaron para determinar el índice gonadosomático [$IG = (PG/PT) \cdot 100$] y determinación del estado de maduración gonadal. Los 25 ejemplares restantes se estabularon en 1 tanque de 10 m³ de capacidad. Dos meses más tarde, se procedió al marcaje mediante microchip subcutáneo de todos los ejemplares y se determinaron las medidas morfométricas. Los peces se alimentaron, dos veces por semana (1% de su biomasa) con pienso comercial (Vitalis Repro™), complementado una vez en semana con alimento fresco (calamar y mejillón). Tras 12 meses de cultivo, en el periodo de puesta natural (mayo-septiembre; Guirao *et al.*, 2005) se realizó un nuevo muestreo donde se determinó nuevamente PT, LS, FC y el estado de maduración mediante canulación gonadal procediendo a la medición de oocitos para determinar la potencialidad de obtención de puesta natural o posible inducción de la misma.

Resultados y Discusión

Los protocolos de captura, y aclimatación descritos, dieron como resultado una supervivencia de 100% de los ejemplares de jurel durante los 12 meses de confinamiento. Los ejemplares incrementaron su peso me-

Tabla 1. *Parámetros determinados*

	Salvajes	Capturados	
	15/05/2008	28/07/2008	16/07/2009
PT(kg)	3,14 ± 0,32	4,15 ± 0,62	4,68 ± 0,65
TL	51,17 ± 1,57	63,31 ± 3,44	65,35 ± 3,21
FC	1,63 ± 0,09	1,64 ± 0,19	1,68 ± 0,14
Macho/hembra	7/8	10/15	10/15

Figura 1. *Relación entre el peso vs. IG*

dio en 0,5 kg y el factor de condición se mantuvo en torno a 1,6 (Tabla 1), dato inferior al determinado por Roo *et al.* (2005) en juveniles de jurel engordados en jaulas y tanques durante un año. Sin embargo, la similitud entre el factor de condición, de ejemplares mantenidos en cautividad y ejemplares procedentes del medio natural parece indicar que este parámetro estaría alrededor de 1,6 e indicaría la normal adaptación de los reproductores y el estado de bienestar de los mismos, siendo este uno de los elementos que más influye en la calidad de la puesta en los criaderos (Kjørsvik *et al.*, 1990).

El IG en el momento de la captura osciló entre 0,66 y 7,65 en las hembras y entre 0,62 y 6,12 para los machos. Los mayores IG tanto de machos como de hembras se encuentran en los ejemplares de mayor tamaño (> 3,0 kg; Fig. 1). Por lo que respecta a la maduración en cautividad, se ha determinado la maduración efectiva de los ejemplares machos y hembras, detectando presencia de machos maduros 100% individuos y gónadas femeninas con oocitos mayores de 500 micras en el 40% de las hembras. Estos datos se corresponde en todos los casos con ejemplares de talla superior a 3,5 kg. Sin embargo, no se ha observado liberación de gametos de forma espontánea.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto piloto para el cultivo de especies de rápido crecimiento en Canarias (RAPCRE) financiado por la Vicencosejería de pesca del Gobierno de Canarias.

Bibliografía

- Guirao, R., Socorro, J., Reyes, T. Y Roo, J. (2007) Estudio del desarrollo gonadal del Jurel dentón (*Pseudocaranx dentex*) asociado a jaulas de engorde de peces en aguas de Canarias. Boletín Instituto Español de Oceanografía 21, 253-264.
- Kjørsvik, E., A. Mangor-Jensen y L. Holmefjord. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26: 71-113.
- Roo, F. J., Socorro, J., Guirao, R., Reyes, T., Hernández-Cruz, C.M., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S. 2007. Primeras experiencias de engorde de jurel dentón (*Pseudocaranx dentex*) en tanques y jaulas flotantes, en Canarias. Boletín Instituto Español de Oceanografía 21, 183-188.
- Watanabe, T. y Vassallo-Agius R. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*. 227: 35-61.

Evaluación de los efectos fisiológicos e histopatológicos de un polibromado sobre juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*)

M.A. López-Patiño¹, J.M. Míguez¹, M. Conde-Sieira¹, J.L. Soengas¹, C. Gesto², L. Mhadhbi³, R. Beiras³ y R. Álvarez-Otero²

¹ Fisiología. Dpto. Biología Funcional y CC de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. 36310 Vigo (Pontevedra). e-mail: jmmiguez@uvigo.es

² Biología Celular. Dpto. Biología Funcional y CC de la Salud. Universidad de Vigo

³ Depto. Ecología y Biología Animal. Universidad de Vigo

Abstract

The study evaluated the effects of the polybrominated biphenyl BDE-47 in juveniles of turbot (*Scophthalmus maximus*). No mortality or macroscopic alterations were found after the concentrations of BDE-47 assayed. Fish size and hepatosomatic index were reduced after the polybromate exposure for 15 days, but minor changes were found in food intake and plasma glucose levels. Histopathological studies revealed vacuolization in hepatocytes and enterocytes, as well as lamellar fusion and hyperplasia of calciform cells of gills and intestine in fish exposed to BDE-47. The results support that liver, gills, and the intestine might be target organs to the action of that polybromate.

Justificación

Los bifenilos polibromados (PBBs) son compuestos incorporados en plásticos, madera, textiles, circuitos electrónicos, etc., para reducir su inflamabilidad (Boer *et al.*, 2000). Aunque estos ignífugos fueron considerados altamente beneficiosos para consumidores y público en general, el episodio de contaminación agrícola acaecido en Michigan en 1973, así como su reciente detección en peces, aves y mamíferos marinos, indican potenciales propiedades tóxicas. La analogía entre su estructura y la de ciertas hormonas podría ya estar causando problemas reproductivos en la vida silvestre (Vetter *et al.*, 2008).

No hay ninguna fuente natural conocida de PBBs en el ambiente. Estos compuestos son sólidos con baja volatilidad, hidrofóbicos, solubles en grasas y en diversos solventes orgánicos. La ruta de entrada al agua y suelo es a través de descargas industriales o deposición de residuos. Una vez liberados al ambiente, ingresan en la cadena alimenticia y son bioconcentrados por los organismos. En este trabajo, analizamos el efecto de la exposición de juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) a un PBBs, el BDE-47 (2',4,4'-tetrabromodifenil éter), con el fin de determinar sus potenciales efectos en organismos acuáticos.

Material y Métodos

Se utilizaron juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) obtenidos de un mismo desove, con un peso de 30 + 2 g y 4 meses de edad. Los peces (n = 10 por grupo) se alojaron en acuarios de 20 L, con control de pH y temperatura del agua. Los animales fueron alimentados una vez al día, con una ración de 1,5% peso corporal. Se establecieron 4 grupos de tratamiento: 1) grupo control, sin exposición al polibromado. 2) grupo control con exposición al solvente (DMSO 0,1‰). 3) grupo expuesto a BDE-47 0,03 µg/L y 4) grupo expuesto a BDE-47 0,3 µg/L. Los tratamientos se aplicaron durante 15 días, evaluándose la ingesta a los días 1, 7 y 15 del experimento, así como la evolución del peso y la talla de los animales.

Transcurrida la fase experimental los peces fueron anestesiados en MS-222. Se extrajo una muestra de sangre y posteriormente se sacrificaron los animales y se evaluó el índice hepatosomático. Se analizó el contenido de glucosa y lactato en plasma mediante técnicas espectrofluorimétricas. El estudio histopatológico se realizó sobre branquias, intestino e hígado. Las muestras fueron fijadas en Bouin y paraformaldehído 4%, incluidas en parafina, seccionadas a 3-5 µm de grosor y teñidas con hematoxilina y la técnica histoquímica del ácido peryódico de Schiff (PS).

Resultados y Discusión

En el estudio histopatológico se puso de manifiesto que el grupo control tratado con DMSO no mostró alteraciones a nivel de branquias e intestino, pero si una ligera retracción de los hepatocitos. En los grupos tratados con BDE-47 se observó vacuolización de los hepatocitos y enterocitos, así como un incremento en el número de las células calciformes en el epitelio intestinal. A nivel branquial se observó fusión lamelar e hiperplasia de células productoras de moco.

Tabla 1. Efecto del tratamiento crónico con distintas dosis del polibromado BDE-47 y su vehículo sobre los índices biométricos y la ingesta de alimento en *Scophthalmus maximus*

	Peso corporal (relativo al día 1, %)			HSI (%)	Ingesta (relativa al día 1, %)		
	Día 1	Día 7	Día 15	Día 15	Día 1	Día 7	Día 15
Control	100	105,7	115,1	1,07 + 0,07	100	150,60	163,98
Control _{DMSO}	100	108,5	113,3	0,80 + 0,08	100	90,33	100,57
BDE-47 0,03 mg/L	100	105,1	109,4	0,78 + 0,06*	100	74,00	94,15*
BDE-47 0,3 mg/L	100	106,5	113,3	1,16 + 0,22	100	122,39	133,00

Los datos corresponden al promedio de 10 animales por grupo. El peso corporal y la ingesta se representan relativos al día 1 del tratamiento, considerado éste como 100%. * P < 0,05 respecto del grupo control.

Con respecto a los datos biométricos, se produjo un incremento de forma homogénea en el peso corporal en los individuos de todos los grupos experimentales (Tabla 1). Con respecto a la talla, se notó una disminución en los individuos del grupo tratado con BDE-47 0,03 µg/L con respecto a los controles. También se observó un descenso significativo en el índice hepatosomático en el grupo control con exposición al solvente, así como en el grupo tratado con la dosis más baja de BDE-47.

La ingesta de alimento disminuyó en el primer intervalo estudiado (día 7), tanto en el grupo control con DMSO como en los animales expuestos a BDE-47 0,03 µg/L. En este último grupo, se halló un ligero descenso en los niveles plasmáticos de glucosa, el cual no fue evidente con la dosis de BDE 0,3 µg/L. Finalmente, los niveles de lactato fueron muy bajos en todos los grupos experimentales, lo que sugiere la ausencia de estrés durante la manipulación.

Todos estos resultados indican que los bifenilos polibromados desencadenan diversas alteraciones histológicas, particularmente en epitelios expuestos al contaminante (intestino, branquias). Ello posiblemente constituya una respuesta adaptativa ante agentes irritantes. A nivel metabólico los efectos observados son menores, pero podrían condicionar el crecimiento de los animales en exposiciones prolongadas a estos agentes.

Agradecimientos

Los autores agradecen a INSUIÑA el suministro de peces y a ECIMAT la utilización de sus instalaciones. M. A. López Patiño es un investigador del programa Isidro Parga Pondal de la Xunta de Galicia (P.P. 0000 300S 14008). M. Conde Seira es portadora de una beca FPI predoctoral (BES-2008-002914).

Bibliografía

- De Boer, J., K. de Boer y JP. Boon. 2000. Polybrominated biphenyls and diphenylethers. En: *The Handbook of Environmental Chemistry*. Vol. 3. J. Paasivirta (ed): 61-95.
- Vetter, W., R. von der Recke, D. Herzke y T. Nygard. 2008. Detailed analysis of polybrominated biphenyl congeners in bird eggs from Norway. *Environmental Pollution*, 156: 1204-1210.

Estudio del desarrollo larvario de una población de coquina *Donax trunculus* (Linné, 1758)

A. Louzán¹, F. da Costa^{1,2}, S. Nóvoa¹, J. Ojea¹ y D. Martínez-Patiño¹

¹ Centro de Investigacións Mariñas (CIMA). Consellería do Mar. Xunta de Galicia.
27700 Ribadeo. Lugo

² Dpto. de Biología Celular y Molecular. Universidade da Coruña. A Zapateira, s/n. 15071 A Coruña
andrealp@cimacoron.org, mptea@cimacoron.org

Abstract

Based on previous studies of reproductive cycle of *Donax trunculus* (Linné, 1758), wedge shell clam has a ripe and spawning stage between March and August. Ripe adults held in hatchery facilities spawned several times. The aim of this study was to investigate growth and survival of larval batches in order to optimize larval culture in this species. Average size of the oocytes was 80 µm. Settlement was reached after approximately 1 month of culture. Broodstock conditioning in suitable feeding regime and optimal conditions may allow growth and survival of larval batches, reaching up to 20-31% of survival in the larval batches obtained from broodstock held from one month onwards conditioned in hatchery facilities.

Justificación

Según estudios previos realizados a reproductores de *Donax trunculus* (Linné, 1758), la coquina presenta un período de madurez y puesta que abarca de marzo a agosto (Louzán, 2008). Los progenitores maduros, desovan varias veces a lo largo de su permanencia en el criadero. En este trabajo se hace un estudio de crecimiento y supervivencia de las puestas de coquina con el fin de optimizar el cultivo larvario de esta especie.

Material y Métodos

Se recogen lotes de reproductores de coquina procedentes de bancos naturales de las rías de Cedeira y O Vicedo y se trasladan al Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo donde se depositan en tanques de 200 L con entrada constante de agua de mar filtrada. Los desoves se obtienen manteniéndolos en seco unas horas o mediante shock térmico. En períodos de madurez, es suficiente con introducir las coquinas en tanques con agua de mar a 16°C para que tengan lugar las puestas. Los huevos fecundados se incuban en tanques de 500 L donde se mantienen con agua de mar filtrada a una temperatura de 20°C ± 1 con aireación constante. La densidad inicial de coquina en cada tanque está entre las 5 y 10 larvas por mililitro. La alimentación diaria se basa en una dieta mixta de 4 microalgas en la misma proporción: *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros calcitrans* y *Tetraselmis suecica*. Dos veces por semana se toman muestras y se hace un conteo de individuos para controlar la supervivencia hasta la fijación. De cada muestra se toman 100 larvas y se miden en un analizador de imagen obteniendo datos de longitud o eje antero-posterior.

Resultados y Discusión

De cada uno de los cinco lotes de reproductores estabulados en el criadero, se obtuvieron varios desoves. El tamaño medio de los ovocitos de coquina es de 80 µm, algo superior al observado en almeja babosa por Cerviño-Otero *et al.* (2008) con 74 µm y al de navaja 71 µm, Da Costa *et al.* (2007). Al cabo de un mes de cultivo aproximadamente la coquina alcanza la fijación, a diferencia del longueirón y longueirón vello que fijan a los 14 y 9 días respectivamente, Da Costa (2009) y algo más tarde que en almeja babosa que fija a los 22 días de cultivo. Las puestas 2A, 3A y 4B, mueren antes de fijar. El resto de desoves sí alcanzan la fijación con porcentajes de supervivencia comprendidos entre el 13% y 31%. Los mejores datos de supervivencia larvaria, entre un 20% y un 31% se obtienen en las puestas cuyos reproductores han permanecido más tiempo en criadero, en los individuos no acondicionados se obtuvieron peores resultados. Estudios microbiológicos preliminares han puesto de manifiesto que la carga bacteriana de reproductores se reduce al cabo de un mes de permanencia en el criadero. En el caso de la puesta 4B, la mortalidad podría tener un origen microbiológico. El tiempo de acondicionamiento de progenitores en criadero con una dieta y condiciones adecuadas, parece favorecer la supervivencia y viabilidad de las puestas durante el período larvario, manteniéndose entre un 20% y un 31% en aquellos desoves cuyos progenitores llevan un mes o más tiempo de permanencia en el criadero.

Tabla 1. *Tiempos de acondicionamiento de progenitores en criadero, talla, tiempo y supervivencia de desoves hasta fijación*

Lotes de reproductores	Desoves	Talla de ovocitos	Tiempo de acondicionamiento en criadero	Talla de fijación (μm)	Tiempo hasta la fijación	Supervivencia hasta fijación
1 (12/02/09)	1A (17/03)	78 μm	5 días	299 μm	25 días	13%
	1B (08/05)	78 μm	85 días	253 μm	23 días	18%
2 (24/03/09)	2A (30/03)	79 μm	6 días			
	2B (08/05)	80 μm	45 días	275 μm	25 días	20%
	2C (19/05)	82 μm	56 días	238 μm	30 días	31%
	2D (21/05)	85 μm	58 días	280 μm	30 días	31%
3 (22/04/09)	3A (08/05)	72 μm	16 días			
	3B (21/05)	75 μm	29 días	330 μm	32 días	19%
4 (27/04/09)	4A (29/04)	77 μm	2 días	273 μm	34 días	21%
	4B (21/05)	77 μm	24 días			
	4C (26/05)	85 μm	29 días	256 μm	30 días	22%
	4D (28/05)	82 μm	31 días	260 μm	35 días	24%
5 (28/05/09)	5A (29/05)	80 μm	1 día	350 μm	26 días	20%
	5B (03/06)	73 μm	6 días	267 μm	29 días	24%

Agradecimientos

A la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) por la financiación de este proyecto. Al personal del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo, y a las cofradías de Cedeira, O Vicedo y O Barqueiro.

Bibliografía

- Cervinho-Otero, A., Da Costa, F., Ojea, J., Nóvoa, S. y Martínez-Patiño D. 2008. Desarrollo embrionario y larvario de tres especies de bivalvos: navaja (*Ensis arcuatus*), longueirón (*Ensis siliqua*) y almeja babosa (*Venerupis pullastra*). En: *XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. 317-320.
- Da Costa, F., Darriba, S. y Martínez-Patiño, D. 2007. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Phoridae). *Journal of Molluscan Studies*. 74. 103-109.
- Da Costa, F. Optimización del cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865), longueirón (*E. siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennant, 1777): composición bioquímica y de ácidos grasos en los desarrollos larvarios. 2009. *Tesis. Universidad de Santiago de Compostela*. 336 pp.
- Louzán, A. Ciclo reproductor, composición bioquímica y patología de los progenitores de *Donax trunculus* (Linné, 1758), de un banco natural de Valdoviño (NO Galicia), para la obtención de semilla en criadero. 2008. *Diploma de Estudios Avanzados. Universidad de Santiago de Compostela*. 67 pp.

Un modelo cuantil estacional del crecimiento de la dorada (*Sparus aurata*) en condiciones de producción

P. Mayer¹, V. Estruch² y M. Jover¹

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46071 Valencia. Spain. pabmagon@doctor.upv.es

² Instituto de Investigación para la Gestión Integrada de Zonas Costeras. Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Politécnica Superior de Gandia. Carretera de Nazaret-Oliva. 46730-Grao de Gandia. Valencia. Spain

Abstract

A quantile seasonal growth model were used to describe the evolution of the weight of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*).

Justificación

La regresión cuantil sobre la base del modelo *TGC* (Thermal-unit Growth Coefficient), es una herramienta muy eficaz para la descripción del crecimiento en la acuicultura de la dorada (Mayer *et al.*, 2009). Esta herramienta nos permite modelar la evolución de la distribución en peso del crecimiento, aportando curvas, correspondientes a cuantiles seleccionados previamente, para el control del crecimiento en un proceso productivo.

En muchas ocasiones la temperatura del agua donde se ubican las granjas marinas tiene un comportamiento periódico, susceptible de ser modelado mediante una función continua y periódica (Dumas y France, 2008). Dicha función permite el desarrollo de un modelo estacional de crecimiento.

Material y Métodos

A partir de datos correspondientes a múltiples muestreos realizados cuyas características se describen en Mayer *et al.* (2008), se obtuvieron, los valores correspondientes a los pesos iniciales y *TGC* (Tabla 1) en base a los modelos descritos en la ecuación [1]:

$$W_f = \left(\frac{1}{W_i^n + TGC \cdot ST} \right)^n, \quad n = 3 \text{ y } n = 3/2 \quad \text{Ecuación [1]}$$

En base a datos de la temperatura del agua (septiembre de 2004-febrero de 2009) se obtuvo la siguiente función continua para la temperatura acumulada, $ST(t)$:

$$ST(t) = 7,124 \cdot t + 398,79 \frac{365}{2\pi} \left(\cos \left(\frac{2\pi(t-319,12)}{365} \right) - \cos \left(\frac{2\pi\alpha}{365} \right) \right) \quad \text{Ecuación [2]}$$

Los modelos estacionales finales se obtienen a partir de las ecuaciones [1] y [2]:

$$W_{f,n,\alpha} = \left(\frac{1}{W_{i,\alpha}^n + TGC_{\frac{1}{n},\alpha} \cdot ST} \right)^n \quad \text{Ecuación [3]}$$

Donde α corresponde al valor del cuantil considerado, $\alpha \in]0,100[$ y n toma los valores 3 y 3/2. Los modelos [3] con los valores del *TGC* descritos en la Tabla1, han sido testados con 65 lotes de doradas producidas en la costa de Sagunto, entre marzo del 2005 y febrero del 2009, posteriormente, se calcularon los errores correspondientes a los dos modelos [3], para peces menores de 264 gramos, para peces mayores de 264 gramos y a largo plazo. El valor de referencia 264 g es una aproximación obtenida de forma empírica, a partir de un análisis exploratorio previo teniendo en cuenta simulaciones con los dos modelos.

Resultados y Discusión

La Tabla 1 resume los valores de los parámetros (peso inicial teórico y *TGC*) obtenidos de la regresión cuantil y la Tabla 2 muestra los errores medios obtenidos a partir del análisis de los 65 lotes.

Tabla 1. *Parámetros correspondientes a distintos percentiles considerados para los modelos de las ecuaciones [4] y [5]*

Cuantil (α)	$\frac{1}{W_{1,\alpha}^3}$	$TGC_{\frac{1}{3}\alpha}$	$\frac{2}{W_{1,\alpha}^3}$	$TGC_{\frac{2}{3}\alpha}$	Cuantil (α)	$\frac{1}{W_{1,\alpha}^3}$	$TGC_{\frac{1}{3}\alpha}$	$\frac{2}{W_{1,\alpha}^3}$	$TGC_{\frac{2}{3}\alpha}$
2,5	1,783079	0,001432	-0,51683	0,011841	60	3,110296	0,001494	7,368063	0,015288
5	2,047441	0,001407	0,29081	0,012687	70	3,250061	0,00151	8,277476	0,015755
10	2,289428	0,001415	1,443443	0,013387	75	3,301927	0,00153	8,776383	0,016067
20	2,539625	0,001433	3,308653	0,013769	80	3,391211	0,00154	9,419619	0,016303
25	2,627356	0,001441	3,885896	0,014014	90	3,597501	0,00157	11,1037	0,017163
30	2,719652	0,001443	4,568514	0,014167	95	3,758019	0,0016	12,34126	0,017878
40	2,856302	0,001459	5,608006	0,014553	97,5	3,892996	0,001615	13,39052	0,018542
50	2,994272	0,001471	6,48841	0,01491					

Tabla 2. *Promedios de errores absolutos (g) para los modelos [3] correspondientes a los distintos cuantiles*

Modelo Cuantil	1/3 2,5	2/3 2,5	1/3 5	2/3 5	1/3 10	2/3 10	1/3 20	2/3 20	1/3 25	2/3 25	1/3 30	2/3 30	1/3 40	2/3 40
Largo plazo	271	58	101	62	104	74	110	82	113	88	113	92	119	102
Peso < 264	27	24	22	26	22	28	22	29	22	30	22	30	22	31
Peso > 264	146	56	112	59	113	62	115	64	115	65	116	66	117	67
Modelo Cuantil	1/3 60	2/3 60	1/3 70	2/3 70	1/3 75	2/3 75	1/3 80	2/3 80	1/3 90	2/3 90	1/3 95	2/3 95	1/3 97,5	2/3 97,5
Largo plazo	135	125	142	141	153	151	158	159	176	189	194	216	204	242
Peso < 264	22	34	23	35	23	37	23	38	24	41	24	44	24	47
Peso > 264	121	71	123	73	125	74	126	76	129	80	132	83	134	87

Los resultados mostrados en la Tabla 2 indican un mejor ajuste, a largo plazo y para pesos mayores que 264 g, del modelo 2/3. Hasta un peso máximo de 264 g el error es menor para el modelo 1/3.

Estos resultados sugieren considerar los dos modelos como complementarios, o lo que es lo mismo, en un primer periodo de crecimiento consideraríamos el modelo 1/3 y en el segundo periodo, el modelo 2/3.

Obsérvese también que los errores menores se sitúan en los cuantiles más bajos respecto a los dos modelos. Esto nos indica que los lotes analizados, en promedio, desarrollarían un crecimiento en la parte baja de la distribución teórica, recomendándose el modelo 2/3 para estimaciones a largo plazo. Para simulaciones con peso máximo de 264 g estaría indicado el modelo 1/3 con un valor promedio del TGC considerando todos los cuantiles. Para estimaciones con peso inicial mínimo de 264 g estaría indicado el modelo 2/3 con un valor del TGC similar al indicado anteriormente para simulaciones a largo plazo. No obstante el valor de referencia 264 gr supone una aproximación puramente empírica que está siendo revisada a partir del análisis en detalle del comportamiento dinámico de los dos modelos (1/3 y 2/3).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Cultipeix los datos de crecimiento de los lotes de dorada facilitados.

Bibliografía

- Dumas, A. and France, J., 2008. Modelling the ontogeny of ectotherms exhibiting indeterminate growth. *J. Theoretical Biology*. 254, 76-81.
- Mayer, P., Estruch, V., Blasco, J., Jover, M., 2008. Predicting the growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) farmed in marine cages under real production conditions using temperature and time-dependent models. *Aquac. Res.* 39, 1046-1052.
- Mayer, P., Estruch, V., Martí, P., Jover, M., 2009. Use of quantile regression and discriminant analysis to describe growth patterns in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 292 (2009), 30-36.

Modelo TGC mixto para el crecimiento estacional de la dorada (*Sparus aurata*) en condiciones de producción

P. Mayer¹, V. Estruch² y M. Jover¹

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. 46071 Valencia. Spain. pabmagon@doctor.upv.es

² Instituto de Investigación para la Gestión Integrada de Zonas Costeras. Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Politécnica Superior de Gandía. Carretera de Nazaret-Oliva. 46730 Grao de Gandía. Valencia. Spain

Abstract

We present two seasonal TGC growth models which allows to describe different patterns in the growth of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on a commercial fish farm in Sagunto (Spanish Mediterranean). The results suggest considering a mixed model to describe different growth patterns.

Justificación

El ajuste y la creación de nuevos modelos matemáticos que describan el crecimiento de una manera más eficaz son una herramienta básica para la disminución en los costes de producción.

El crecimiento de la dorada ha sido objeto de estudio en numerosas publicaciones, en concreto, en Kauschik *et al.* (1998) y Mayer *et al.* (2008) se considera el «Thermal-unit Growth Coefficient» (TGC) para la simulación del crecimiento de la dorada, basado en la suma de temperaturas, pues la dorada, como organismo poiquiloterma, crece de acuerdo con la temperatura del agua. Dumas y France (2008) proponen un modelo de crecimiento estacional, basado en una ecuación dinámica de la cual se deduce el modelo TGC clásico, para diversos grupos de ectodermos, con datos obtenidos de la bibliografía. En muchas ocasiones la temperatura del agua donde se ubican las granjas marinas tiene un comportamiento periódico, susceptible de ser modelado mediante una función continua y periódica (Short, 1980; Dumas y France, 2008). Dicha función permite el desarrollo de un modelo estacional de crecimiento.

Material y Métodos

A partir de datos de crecimiento de 65 lotes de doradas producidas en la costa de Sagunto, entre marzo del 2005 y febrero del 2009, se testaron diversos valores de TGC obtenidos a partir de los lotes descritos en Mayer *et al.* (2008). Tras un análisis exploratorio de los datos publicados, se dedujeron dos modelos (Ecuación 1) con $n = 3$ y $n = 3/2$, según la formulación descrita en Dumas y France, 2008, de los que se deducirían dos patrones de crecimiento. El análisis exploratorio previo también sugiere un peso aproximado de referencia de 264 gr para delimitar el rango de aplicación de ambos modelos.

$$W_f = \left(W_i^n + TGC \cdot ST \right)^n, \quad n = 3 \text{ y } n = 3/2 \quad [1]$$

En base a datos de la temperatura del agua (septiembre de 2004-febrero de 2009) se obtuvo una función continua de periodo 365 (Ecuación 2).

$$T(t) = 19,1240 - 6,7795 \cdot \sin\left(\frac{2\pi}{365}(t - 319,1219)\right), \quad R^2 = 0,9590 \quad [2]$$

A partir de la Ecuación 2 se obtiene, por integración, el valor de la suma de temperaturas acumuladas $ST(t)$, en función del tiempo comprendido entre el intervalo entre 1 y 365 días (Ecuación 3).

$$ST(t) = \int_0^t T(t) dt = T_m \cdot t - T_D \frac{365}{2\pi} \left(\cos\left(\frac{2\pi(t-\alpha)}{365}\right) - \cos\left(\frac{2\pi\alpha}{365}\right) \right) \quad [3]$$

Los modelos estacionales finales se obtienen a partir de las ecuaciones [1] y [3] para $n = 3$ (Ecuación 4) y para $n = 3/2$ (Ecuación 5).

$$W_f = \left(\frac{1}{W_i^3} + TGC \cdot ST \right)^3 \quad [4]$$

$$W_f = \left(\frac{2}{W_i^3} + TGC \cdot ST \right)^{\frac{3}{2}} \quad [5]$$

Por último, se calcularon los errores correspondientes a los dos modelos [4] y [5], para peces menores de 264 gramos, para peces mayores de 264 gramos y a largo plazo.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 aparecen los valores estimados de *TGC* y *R*² y los errores correspondientes a los modelos [4] y [5]

Tabla 1. Errores absolutos/relativos de los dos modelos

Modelo	1/3 (n = 3)	2/3 (n = 3/2)
TGC	0,00164561	0,0160953
R2 (%)	97,34	98,08
Largo plazo	343,1 (79,6%)	182,9 (43,3%)
Peso < 264g	25,2 (33,2%)	36,2 (57,5%)
Peso > 264g	137,2 (33,2%)	74,6 (18,2%)

A partir de los resultados expuestos en la Tabla 1, se observa que el modelo 2/3 funciona mejor para predicciones a largo plazo y para peces mayores de 264 g. El modelo 1/3 se comporta mejor para peces menores de 264 g.

Los resultados indican la conveniencia de considerar un modelo mixto consistente, básicamente, en describir el crecimiento hasta un peso de referencia final por debajo de los 264 g mediante el modelo 1/3 y a partir de 264 g de peso inicial, se utilizaría el modelo 2/3.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Cultipeix los datos de crecimiento de los lotes de dorada facilitados.

Bibliografía

- Dumas, A. and France, J., 2008. Modelling the ontogeny of ectotherms exhibiting indeterminate growth. *J. Theoretical Biology*. 254, 76-81.
- Kaushik, S.J., 1998. Nutritional bioenergetics and estimation of waste production in nonsalmonids. *Aquat. Living Resour.* 11, 211-217.
- Mayer, P., Estruch, V., Blasco, J., Jover, M., 2008. Predicting the growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) farmed in marine cages under real production conditions using temperature and time-dependent models. *Aquac. Res.* 39, 1046-1052.
- Short F.T., 1980. A simulation model of seagrass production systems: In Phillips R.C. McRoy C. P. (ed). *Handbook of seagrass biology on ecosystems perspective*, Garland New York, pp. 277-295.

Variaciones en la composición en ácidos grasos en tejidos de machos de anguila europea durante la maduración sexual inducida

I. Mazzeo, V. Gallego, L. Pérez, D.S. Peñaranda, M. Jover y J.F. Asturiano

Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n 46022 Valencia. E-mail: jfastu@dca.upv.es

Abstract

In fish a positive correlation between fatty acids and gametes and spawning quality exists. Due to the lack of information about the role of fatty acids in eel maturation, the aim of this work was to determine fatty acid changes in muscle, liver, testis and milt of European eel (*Anguilla anguilla*) males during hormonally induced maturation. At the same time, histological analyses were carried out to observe sexual development.

In muscle no variations were appreciated. In liver the most abundant fatty acids were MUFA during the first weeks, while were PUFA in the last weeks. In testis PUFA increased and MUFA diminished. As evidenced by histology, these changes occurred at the end of meiosis. In milt no variations were appreciated and PUFA resulted the most abundant fatty acids.

Justificación

La anguila europea (*A. anguilla*) no madura en cautividad y su situación ecológica hace que sean necesarias investigaciones sobre su reproducción. En peces, los PUFA (ácidos grasos poliinsaturados) juegan un rol importante en la espermatogénesis, la composición espermática y la fertilización. Debido a los escasos conocimientos sobre el papel de los ácidos grasos en la maduración sexual de la anguila, la finalidad de este trabajo ha sido estudiar las variaciones en la composición en ácidos grasos en músculo, hígado, gónada y esperma de machos de anguila europea durante la maduración sexual inducida hormonalmente.

Material y métodos

Animales y obtención de muestras

Los machos fueron inyectados cada semana con hCG (1,5 UI g pez⁻¹) durante 13 semanas. Cada semana se pesaron y sacrificaron 10 individuos de los que se cogieron muestras de músculo, hígado y gónada. A partir de la cuarta semana se recogieron muestras de esperma.

Análisis de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de ácidos grasos se prepararon según O'Fallon *et al.* (2007) y fueron analizados con cromatografía de gases.

Análisis histológico

Las muestras se fijaron en solución Bouin. Después de la deshidratación y la inclusión en parafina se prepararon los bloques. Los cortes se tiñeron por el método de hematoxilina-eosina. Los estadios de desarrollo (S1-S6) fueron descritos por Utoh *et al.* (2004).

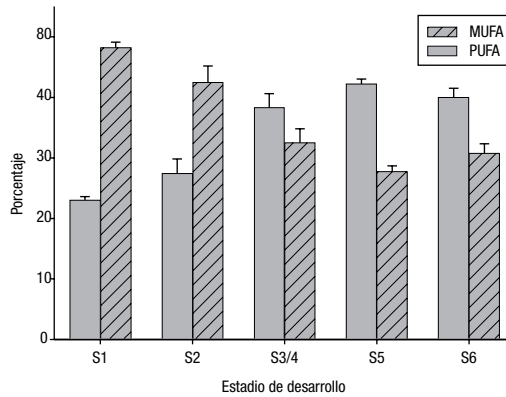
Resultados y discusión

El músculo perdió masa a lo largo de las semanas, no presentando variaciones en cuanto a composición. Los MUFA (ácidos grasos monoinsaturados) fueron los mayoritarios (cerca del 50%), seguidos por SFA (ácidos grasos saturados) (28%) y PUFA (25%). La falta de variaciones podría deberse, a pesar de la disminución de la masa, a la necesidad de garantizar funciones fisiológicas musculares básicas.

En hígado los MUFA fueron los ácidos grasos mayoritarios en las primeras semanas mientras que los PUFA lo fueron en las últimas. Los SFA se mantuvieron constantes (cerca del 32%).

En el testículo los SFA fueron constantes alrededor del 30%. Los MUFA disminuyeron de 50 a 26% quizás por fines energéticos (Huynh *et al.*, 2007). Los PUFA aumentaron de 22 a 44% gracias a los incrementos de AA, DHA y EPA. Estos cambios coincidieron con el paso del estadio gonadal S2 a S3/4 caracterizado por la aparición de espermátidas y espermatozoa (Fig. 1). En los mismos animales la expresión de LH, 11-KT, 17,20,P, así como el índice ocular y el índice gonadosomático aumentaron en relación con el desarrollo testicular,

Figura 1. Variaciones en los contenidos de PUFA y MUFA en gónada en relación con el estadio de desarrollo gonadal. Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de una misma clase de ácidos grasos



llegando a resultar significativos coincidiendo con el paso de S2 a S3/4 (Peñaranda *et al.*, submitted). Esto parece indicar que este es un momento clave en la espermatogénesis en el que ocurren importantes cambios fisiológicos.

El aumento de AA es coherente con su papel en la síntesis de testosterona. El aumento de DHA y EPA podría tener una explicación estructural más que fisiológica por su papel inhibitor de la síntesis de testosterona AA-dependiente (Asturiano *et al.*, 2000). Estos ácidos grasos son los mayores constituyentes del esperma y su aumento podría reflejar la acumulación de esperma dentro de la gónada, coincidiendo el aumento con el final del proceso meiótico cuando el número de células aumenta y nuevas membranas ricas en PUFA tienen que ser sintetizadas.

El esperma no sufrió variaciones en su composición, siendo mayoritarios los PUFA (casi el 50%), seguidos por SFA (30%) y MUFA (20%). El esperma es el producto final de la espermatogénesis y su composición se mantiene constante durante todo el periodo de espermiación.

Agradecimientos

A Vicente Javier Moya por su ayuda técnica con la cromatografía de gases. I. Mazzeo tuvo una Beca FPI de la Generalitat Valenciana; V. Gallego una Beca de Posgrado de la Universidad Politécnica de Valencia; D.S. Peñaranda dispone de un contrato cofinanciado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

Bibliografía

- Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S. y Carrillo, M. 2000. Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in a primary testis cell culture system for the European sea bass. *Journal of Fish Biology* 57: 1563-1574.
- Huynh, M.D., Kitts, D.D., Hu, C. y Trites, A.W. 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology part B* 146: 504-511.
- O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L. y Gaskins, C.T. 2007. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science* 85: 1511-1521.
- Utoh, T., Okamura, A., Yamada, Y., Tanaka, S., Mikawa, N., Akazawa, A., Horie, N. y Oka, H.P. 2004. Reproductive cycle in reared male common Japanese conger, *Conger myriaster*. *Aquaculture* 240: 589-605.

Cortisol y movilización de lípidos como indicadores de estrés en bocinegros (*Pagrus pagrus* L.) sometidos a confinamiento y ayuno

Ó. Monroig¹, M. Díaz-López², R. Laiz-Carrión¹, D. Rodríguez-Barreto²,
C. Rodríguez² y E. Almansa¹

¹ Centro Oceanográfico de Canarias. IEO. Santa Cruz de Tenerife. oscar.monroig@stir.ac.uk

² Dpto. Biología Animal. Universidad de La Laguna. La Laguna. Santa Cruz de Tenerife

Abstract

This study aims to investigate stress condition of red porgy in response to confinement and starvation. Plasma cortisol levels were increased in fish maintained under high confinement, in contrast to a low effect of starvation. Red porgy appears to satisfy the high energy demands of both stressing conditions through the use of energy sources other than lipids. This hypothesis is supported by the fact that perivisceral adipose tissue/total viscera ratios, and total lipid contents in liver and muscle, did not decrease in groups subjected to stress compared with the control group.

Justificación

El pargo o bocinegro (*Pagrus pagrus*) es un excelente candidato para diversificar la acuicultura en aguas mediterráneas y atlánticas, donde la producción de especies como la dorada y la lubina presenta signos de saturación. El bocinegro muestra características muy favorables para su cultivo tales como su reproducción en cautividad, elevada supervivencia tras el destete y buena aceptación de dietas comerciales para su engorde. Sin embargo, su desarrollo a escala comercial requiere más investigación sobre el comportamiento metabólico de esta especie en condiciones de cultivo intensivo. El presente experimento pretende estudiar el estrés en bocinegros sometidos a condiciones de confinamiento y restricción de alimento, y la respuesta metabólica de esta especie en relación con la movilización de lípidos desde el hígado y otros tejidos de almacenamiento.

Material y Métodos

Se estabularon juveniles de bocinegro ($95,38 \pm 4,34$ g) en cuatro grupos de 10 individuos y se probaron los tratamientos resultantes de combinar dos grados de confinamiento y dos regímenes de alimentación según: Grupo I o control, alimentado en bajo confinamiento (4 kg m^{-3}); Grupo II, alimentado en alto confinamiento (50 kg m^{-3}); Grupo III, no alimentado en bajo confinamiento; Grupo IV, no alimentado en alto confinamiento. Tras 21 d de experimentación, se determinó el índice hepatosomático (IHS) y la relación peso de grasa perivisceral/peso de víscera. Se recogieron muestras de hígado y músculo para el análisis de lípidos, y plasma para la determinación de cortisol y triglicéridos (TAGs).

Resultados y Discusión

Los niveles plasmáticos de cortisol muestran un aumento por efecto del confinamiento (Grupos II y IV) con respecto a tratamientos con bajo confinamiento (Tabla 1), de acuerdo con lo descrito previamente para esta (Fanouraki *et al.*, 2007) y otras especies de espáridos (Laiz-Carrión *et al.*, 2009). Además, los animales alimentados y mantenidos en alto confinamiento (Grupo II) presentaron los niveles de cortisol más elevados, indicando un marcado efecto aditivo derivado de la interacción entre los dos factores. Aunque la restricción de alimento es entendida como una situación estresante, los mayores niveles de cortisol registrados en presencia de alimento pueden explicarse como una respuesta de alerta de competencia por el alimento, junto con una situación adaptativa con la que muchas especies de peces afrontan largos periodos de escasez de alimento (Lowry y Somero, 1990).

La elevación de los niveles de cortisol plasmático se relaciona con la movilización de fuentes energéticas de reserva con las que el animal compensa la alta demanda metabólica asociada al estrés (Montero *et al.*, 2001). En este sentido, la reducción del IHS en peces alimentados bajo alto confinamiento concuerda con el incremento de cortisol (Grupo II). La reducción del 50% en el IHS de los peces no alimentados respecto al grupo control (Grupo I), parece obedecer, sin embargo, a un fuerte incremento catabólico asociado al ayuno. Lo que resulta evidente en el bocinegro es que estos incrementos de demanda energética no van asociados al consumo de lípidos, que sin embargo aumentan en el hígado de forma proporcional a la ba-

Tabla 1. Variables medidas en los cuatro grupos experimentales (media \pm error típico) y comparación estadística de los resultados

	Alimentados		No alimentados		ANOVA dos vías		
	Bajo confinamiento	Alto confinamiento	Bajo confinamiento	Alto confinamiento	Significación estadística (P)		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Confinamiento	Alimentación	Interac.
Cortisol plasma (ng/mL)	24,2 \pm 3,2	55,0 \pm 2,9	22,0 \pm 2,5	38,3 \pm 3,2	< 0,001	0,004	0,024
TAGs plasma (mmol/L)	1,2 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,391	< 0,001	0,576
IHS (%)	2,0 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	0,050	< 0,001	0,058
G. perivisceral /víscera (%)	15,9 \pm 2,7	22,9 \pm 0,2,7	20,8 \pm 2,6	21,5 \pm 2,7	0,155	0,519	0,246
LT hígado (% PS)	29,4 \pm 4,4	36,3 \pm 3,9	64,0 \pm 7,1	60,5 \pm 2,9	0,728	< 0,001	0,301
LT músculo(% PS)	6,3 \pm 0,8	12,3 \pm 0,8	8,8 \pm 0,5	8,0 \pm 0,8	0,003	0,123	0,004

TAGs: triglicéridos. LT: lípidos totales. PS: peso seco.

jada del IHS. Otras fuentes energéticas como el glucógeno y las proteínas parecen ser utilizadas por esta especie en situaciones de estrés (Wendelaar Bonga, 1997).

Otros resultados obtenidos en este estudio apoyan la hipótesis de que el bocinegro, en condiciones de alto confinamiento y/o ausencia de alimentación, utiliza fuentes energéticas alternativas a los lípidos. En primer lugar, los bajos niveles de TAGs plasmáticos indicarían una baja movilización de lípidos en peces sometidos a ayuno con respecto al Grupo I. En segundo lugar, los valores promedio del índice de grasa perivisceral/víscera total y del porcentaje de LT en músculo, son mayores en peces sometidos a algún factor estresante (Grupos II, III y IV) en comparación al Grupo I (Tabla 1). Una vez más, cabe especular que el aumento relativo de grasas evidencia la reducción de la masa muscular y visceral por consumo de sustancias como proteínas y glucógeno, tal y como propusieron Rueda *et al.* (1998) tras observar mayor contenido lipídico en bocinegros sometidos a 7 d de inanición.

Bibliografía

- Fanouraki, E., P. Divanach y M. Pavlidis. 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* 265: 294-304.
- Laiz-Carrión, R., J. Fuentes, B. Redruello, J.M. Guzmán, M.P. Martín del Río, D.M. Power y J.M. Mancera. 2009. Expression of pituitary prolactin, growth hormone and somatolactin is modified in response to different stressors (salinity, crowding and food-deprivation) in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 162, 293-300.
- Lowry, M.S. y G.N. Somero. 1990. Starvation effects on protein synthesis in red and white muscle of the barred sand bass, *Paralabrax nebulifer*. *Physiol. Zool.* 63: 630-648.
- Montero, D., L.E. Robaina, J. Socorro, JM. Vergara, L. Tort y M.S. Izquierdo. 2001. Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet. *Fish Physiol. Biochem.* 24: 63-72.
- Rueda, F.M., F.J. Martínez, S. Zamora, M. Kentouri y P. Divanach. 1998. Effect of fasting and refeeding on growth and body composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquacult. Res.* 29: 447-452.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiol Rev.* 77: 591-625.

Cultivo de erizo de mar en criadero: desoves y desarrollos larvarios

J. Ojea¹, D. Martínez-Patiño¹, S. Nóvoa y J.L. Catoira²

¹ Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo (CIMA), Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Muelle Porcillán, s/n. 27700 Ribadeo (Lugo). justaom@cimacoron.org

² Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Dpto. Territorial de A Coruña. Casa do Mar, 5º P. 15006. A Coruña

Abstract

A study of sea urchin (*Paracentrotus lividus*) culture was made in hatchery, to try to obtain spawning during all year. Spawning was induced by injecting 3ml of KCL 0.5 M in the body cavity of adult individuals, with positive results in all cases. The success of induction ranged from 43% to 100% (during most part of the year). Egg mean size was 104 µm. The following of larval culture was made in several months. The percentage of transformation from egg to larva ranged between 31 and 98% and larval survival showed great variability depending on the period of the year. The best results were obtained from May to June, with a mean larval survival of 44%, coinciding with sea urchin maturity in the environment. The rest of the year mean survival was of 7%. The duration of larval period ranged from 13 days in June spawning to 24-26 days in February.

Justificación

En España el consumo del erizo de mar es habitual en algunas comunidades autónomas, como Galicia (donde se localizan las principales poblaciones), Cataluña, Andalucía y Asturias (donde existe una gran tradición de consumo). Japón es el principal mercado de erizo en el mundo y el mayor productor y Galicia ocupa el primer lugar dentro de Europa. No obstante, en todos los países productores se observa un declive de las poblaciones de este recurso, que se traduce en un descenso de los desembarcos, debido a la sobreexplotación de los recursos llevada a cabo en el pasado y en la actualidad. Por eso, entre otras actuaciones posibles, para frenar este descenso, está la recuperación de zonas fomentando el reclutamiento mediante la introducción de juveniles procedentes de cultivo en criadero.

Material y Métodos

Se realiza el seguimiento de varios cultivos larvarios de forma continuada a lo largo del año, a partir de reproductores recolectados en diferentes puntos de Galicia, con el fin de conseguir juveniles en criadero. Se consiguen los desoves inyectando a los erizos 3 ml de una solución de cloruro potásico 0.5 M. El desove empieza a producirse a los pocos minutos de la inyección y los gametos emitidos se recogen al cabo de dos o tres horas. Se calcula el éxito de la inducción expresado como el porcentaje de individuos que emiten sus gametos del total de los erizos sometidos a inducción. Se realiza el recuento y medición de los óvulos con un procesador de imagen. Se produce la fecundación de los óvulos y se trasladan a un tanque de 500 litros de capacidad donde se mantienen en incubación durante dos días. Después se cuentan las larvas para comprobar el porcentaje de transformación de huevo a larva (equinopluteus de cuatro brazos). Las larvas se reparten en tanques de cultivo con una densidad de 1,5 larvas por ml. Se alimentan con una dieta mixta de varias especies microalgales como *Isochrysis* y *Tetraselmis*, con predominio de diatomeas como *Phaeodactylum*, *Chaetoceros* y *Skeletonema*. Se realiza un cambio semanal total del agua de cultivo y limpieza de los tanques, y dos renovaciones parciales del agua. Cuando los erizos están próximos a la metamorfosis, se observa la reabsorción de los brazos, de esta manera disminuyen su volumen y comienzan a tomar la forma característica de un erizo. Antes de pasarlos a los tanques de fijación, se cuentan las larvas para obtener el porcentaje de supervivencia larvaria.

Resultados y Discusión

La época de madurez y puesta de esta especie y para diferentes poblaciones estudiadas en Galicia se extiende desde febrero a agosto (Ojea *et al.*, 2009), pudiéndose encontrar en algunas zonas erizos maduros en todos los meses del año. Induciendo la puesta en criadero se han obtenido desoves siempre que se ha intentado (desde enero a julio y en septiembre y diciembre), aunque el porcentaje de éxito alcanzado depende de la época del año y también del lugar de procedencia de los erizos. La mayor parte del año el éxito de los desoves fue del 100% y los porcentajes más bajos obtenidos están entre 43 y 69%. Es muy variable el número medio de óvulos emitidos por hembra, pudiendo variar desde 130.000 hasta los 7.700.000 óvulos. El tamaño de los mismos va desde las 70-80 micras en desoves del mes de noviembre y diciembre hasta valores máximos de 110-140 micras en los meses de marzo, abril y mayo. En la siguiente tabla se resume la evolución de los diferentes cultivos llevados a cabo durante el año 2008, los

Tabla 1. Evolución de los diferentes cultivos larvarios

Fecha	Tamaño de los óvulos (micras)	% transformación huevos → larvas	% supervivencia larvaria	Duración del cultivo larvario (días)
Febrero	109	76	5	24
	106	34	18	26
Abril	140	51	4	21
	114	52	4	23
Mayo		92	31	18
Junio	115	43	30	13
	119	85	67	13
Julio	94	31	47	17
Septiembre		98	4	16
	99		9	20

mejores resultados, en cuanto a supervivencia larvaria, se obtienen entre los meses de mayo a julio, que coincide con la puesta en el medio natural. El resto del año, aunque es posible obtener desoves inducidos, los resultados de supervivencia larvaria son bajos y la duración de los cultivos hasta llegar a metamorfosis es más larga.

Agradecimientos

A la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) por la financiación del proyecto: Cultivo y Gestión del Erizo de mar, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Al personal del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo.

Bibliografía

- Bustos, E. y Olave, S. 2001 Manual: El cultivo del erizo (*Loxechinus albus*). Diversificación de la Acuicultura en la X Región. FONDEF D96 I 1101.
- Cellario, Ch and L. Fenaux. 1990. *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in Culture (Larval and Benthic Phases): Parameters of Growth Observed during Two Years following Metamorphosis. *Aquaculture*, 84 173-188.
- Grosjean, Ph., Ch. Spirlet y M. Jangoux. 1996. Experimental study of growth in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (*Echinodermata*). *Journal of Experimental Marine Biology*, 201 173-184.
- Ojea, J., D. Martínez, S. Nóvoa y J.L. Catoira. 2009. Reproducción del erizo de mar, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en dos poblaciones naturales: Mar Cantábrico (Cederira) y Océano Atlántico (Aguíño). *XI Foro Acu. Rec. Mar. Rías Gal.* 11:581-588.

Resultados preliminares de los 30 primeros días de cultivo larvario atún rojo *Thunnus thynnus*, en el IEO

A. Ortega¹, J. Viguri¹, A. Belmonte² y F. de la Gándara¹

¹ Centro Oceanográfico de Murcia. Instituto Español de Oceanografía (IEO). Ctra. de la Azohía, s/n. 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia). e-mail: aurelio.ortega@mu.ieo.es

² Tuna Graso, S.A. Carretera de la Palma, km 7. Paraje la Estrella. Cartagena (Murcia)

Abstract

One of the objectives of the SELFDOTT project (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) is to establish the knowledge-base on essential biological functions onset required for controlled development of eggs and larvae. In this paper the results of the 30 first days of bluefin tuna larval rearing are shown.

Justificación

Uno de los objetivos del proyecto SELFDOTT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*) financiado por el 7º PM de la UE, es el establecimiento de los conocimientos básicos necesarios para la obtención de puestas y el control del desarrollo larvario. Se muestran en este trabajo los resultados preliminares obtenidos a partir de las primeras puestas.

Material y Métodos

Desde el día 29 de Julio y durante dos semanas, se obtuvieron puestas masivas de huevos viables, del stock de reproductores que el proyecto SELFDOTT tiene en El Gorguel (Cartagena). Estas puestas se empezaron a obtener a partir de que se implantaran con GnRH α 15 reproductores de los 32 ubicados en una jaula de 25 m de diámetro y 20 metros de profundidad, según la técnica desarrollada en el proyecto RE-PRODOTT (Mylonas *et al.*, 2008).

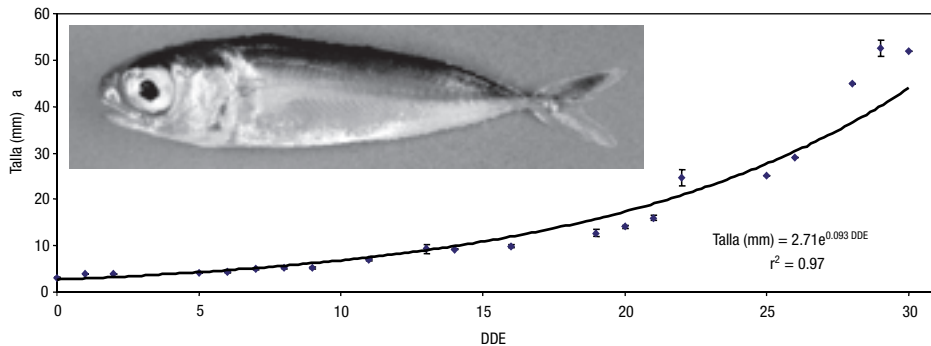
Los huevos fueron trasladados a las instalaciones del IEO en Mazarrón, y, tras ser estimado su número fueron ubicados en incubadores de 400 y 1000 litros, con aporte de agua filtrada y aire. La densidad de incubación fue de 1.000 huevos/l. La salinidad fue la natural (~37‰) y la temperatura osciló entre 23 y 26°C. Una muestra de la puesta fue incubada en una placa de pocillos para estimar la tasa de eclosión. Cuando las larvas tenían 1 DDE (día después de la eclosión) fueron trasladadas a tanques de 1.500 litros (1,5 m de diámetro por 1 m de profundidad) a una densidad de 6-7 larvas/l. Los tanques estaban provistos de una entrada de agua inferior, aireación, y un limpiador de superficie, del tipo descrito en Chatain and Ounais-Guschemann (1990). Diariamente, una muestra de larvas de cada tanque fue fotografiada y medida. A partir del 2º DDE se comenzó la alimentación con rotífero enriquecido con *Spresso* (INVE). A 12 DDE se empezó la alimentación con nauplios de Artemia OF (INVE), que tras dos-tres días fueron sustituidos por metanauplios enriquecidos con *Spresso*. A los 17 DDE comenzó a añadirseles larvas recién eclosionadas de dorada (*Sparus aurata*). El porcentaje de renovación de agua se incrementó progresivamente desde un 100 hasta un 400%/día. Diariamente también se administró fitoplancton (una mezcla de *Nannochloropsis gaditana* e *Isochrysis galbana*)

Resultados y Discusión

Los primeros resultados obtenidos a partir de las puestas de los días 29 y 30 de junio, arrojan una tasa de eclosión superior al 85%. A 25°C, la eclosión comienza a las 28-30 horas desde la fecundación.

Las larvas de atún aceptan rotífero (*Brachionus plicatilis*) como primer alimento, pero su ingesta es moderada durante los dos primeros días de apertura de la boca. A partir del 4 DDE, su ingesta aumenta rápidamente, y la larva se vuelve mas activa. La primera inflación de la vejiga la realizan entre los 4 y 6 DDE. Durante estos primeros días su crecimiento es moderado, comenzando a aumentar a partir de día 12-14, coincidiendo con la alimentación de Artemia. 4 ó 5 días después comienzan a alimentarse de larvas de peces, y la dispersión de tamaño se hace muy patente, observándose un canibalismo muy acentuado. Existen dos picos importantes de mortalidad: el primero durante los primeros días de vida y se corresponde con larvas que se van al fondo del tanque o que no son capaces de alimentarse. Durante esta fase observamos una mortalidad del 60-90% según los tanques. El segundo pico se produce hacia el 15-17 DDE, y parece deberse a problemas nutricionales. Esta mortalidad puede alcanzar el 100% en

Figura 1. Crecimiento de larvas de atún rojo durante los 30 primeros DDE. En la foto, larva de 30DDE (medias \pm error estándar)



algunos tanques y se detiene cuando las larvas supervivientes comienzan a alimentarse de larvas de otros peces.

En la Figura 1 se muestra el crecimiento de las larvas de atún durante los 30 primeros días en los tanques estudiados. A partir del 17 DDE, y debido a la elevada mortalidad, los peces dejaron de muestrearse diariamente, realizándose medidas aleatorias e integrándose los datos de los ejemplares muertos. A los 30 días de vida, la metamorfosis está terminada y el alevín de atún pesa alrededor de 1 gramo.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al personal técnico de la Planta de Cultivos del Centro Oceanográfico de Murcia (IEO). Este trabajo ha sido llevado a cabo con el soporte financiero del 7º Programa Marco de la Unión Europea, «Food, Agriculture, Fisheries and Biotechnology» del Proyecto SELFDOIT (From capture based to SELF-sustained aquaculture and Domestication Of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*). No refleja necesariamente el punto de vista de la Comisión Europea, ni anticipa de ninguna manera su futura política en este área.

Bibliografía

- Chatain, B. y N. Ounais-Guschemann. 1990. Improved rate of initial swim bladder inflation in intensively reared *Sparus auratus*. *Aquaculture*, 84: 345-353.
- Mylonas, C.C., C.R. Bridges, H. Gordin, A. Belmonte, A. García, F. de la Gándara, C. Fauvel, M. Suquet, A. Medina, M. Papadaki, G. Heinisch, G. De Metrio, A. Corriero, R. Vassallo-Agius, J.M. Guzmán, E. Mañanós y Y. Zohar. 2007. Preparation and administration of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH_a) implants for the artificial control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science* 15(3), 183-210.

Efectos del metilcolantreno en la migración ocular y en la aparición de fenotipos malformados en juveniles de lenguado (*Solea senegalensis* K.)

J.B. Ortiz-Delgado¹ y C. Sarasquete²

¹ IFAPA Centro el Toruño. CAP Junta de Andalucía. Camino Tiro Pichón, s/n. 11500 Puerto de Santa María. Cádiz. Spain

² Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC). Campus Río San Pedro. Puerto Real

Abstract

The metamorphic changes of *Solea senegalensis* were studied in larvae reared at 20°C, from hatching to the juvenile stage, under control conditions, and in larvae exposed to 3-Metyl Cholantrene (3-MC) (50 µg/L). Morphometric changes in head were detected between 10-13 days in exposed individuals, in which ocular migration doesn't occur. Instead of that, fish showed bilateral symmetry, which changed to an incomplete eye migration when fish were placed in freshly contaminant-free water. Ocular migration was not complete in depurated fish, showing a cranial malformation consisted on a cranial protuberance on the ocular region and an incomplete eye migration. Malformations on the caudal region consisted on modified neural and haemal spines and fusions of epural, hypurals and paraypurals, were also frequent in exposed fish. Since eye migration is a process in which asymmetrical growth of head bone structures is present, any factor that disrupt normal bone development, can cause head and/or body malformations. In this work we studied the effect of a polycyclic aromatic hydrocarbon, 3-MC, known to exert an effect on skeletal modelling and bone formation through an Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) pathway, on *Solea senegalensis* individuals.

Justificación

En peces planos, el proceso de migración ocular en larvas con simetría bilateral comienza con un crecimiento asimétrico de la parte dorsomedial del etmoides junto con el de los huesos frontales del neurocráneo, inicialmente localizadas en posición simétrica entre los ojos. El movimiento de estas estructuras en la dirección ocular futura ejerce un estiramiento de los fibroblastos del tejido conectivo adyacente localizado entre las estructuras móviles y el ojo empieza a migrar. Debido a que la migración ocular comienza en peces planos con el remodelado de los huesos del cráneo, cualquier alteración de este remodelado inicial afecta al proceso de migración ocular y la adquisición de la vida bentónica de lenguado senegalés (Saele *et al.*, 2006). En vertebrados es conocido el efecto del 17 β-estradiol cuyo incremento modula la expresión de genes relacionados con el metabolismo óseo (Naruse *et al.*, 2002). Además, los esteroides desencadenan la calcificación vascular *in vitro*, pudiendo ser también un importante factor *in vivo* (Sinha *et al.*, 2009). Los estrógenos también actúan potenciando el fenotipo osteoblástico de líneas celulares derivadas de músculo liso (Sinha *et al.*, 2009). Por otro lado, existe un número elevado de compuestos químicos que se denominan xenoestrógenos y que pueden realizar una actividad similar a los estrógenos naturales a través de su interacción con el receptor de Aril hidrocarburos (AhR). En este trabajo se estudió el efecto del hidrocarburo aromático policíclico, 3-Metilcolantreno (3-MC), como compuesto xenoestrogénico modelo, en el proceso de migración ocular y desarrollo del esqueleto.

Material y Métodos

Los huevos de lenguado fueron obtenidos de ejemplares salvajes mantenidos en las instalaciones del IFA-PA-El Toruño procedentes de puestas naturales. Una vez eclosionadas las larvas fueron transferidas a tanques cilíndricos de 16 litros y se dividieron en grupo control y expuesto a 3-MC (50 µg/L), realizándose el experimento por triplicado (3 grupos control + 3 grupos expuestos). La densidad en cada cilindro fue de 60 larvas por litro. Las larvas fueron mantenidas a 20°C, la salinidad osciló entre 32-38‰ y el oxígeno entre el 85-100% de saturación. Las larvas fueron inicialmente alimentadas con rotífero y posteriormente con nauplios de *Artemia* hasta el final del experimento (36 días). Las larvas fueron contaminadas con el Metilcolantreno desde los 2 dpe y se mantuvieron en circuito cerrado realizando renovaciones parciales de agua cada 24 horas adicionándose en contaminante en proporción adecuada. Se tomaron muestras diariamente a partir del día 9 de experimento las cuales fueron conservadas en formol tamponado al 4% (pH 7,2, 0,1 M) para su posterior análisis. A partir de los 13 dpe, cada cilindro del lote de larvas contaminadas con 3-Metilcolantreno fue desdoblado en dos emplazando la mitad de las larvas en cada uno de los contenedores. En ese momento un subgrupo prosiguió su exposición a 3-MC y el otro fue mantenido en agua totalmente limpia para determinar una posible recuperación tras la depuración. Se tomaron muestras a los 7, 11 y 16 días después de la depuración, las cuales fueron convenientemente fijadas en formol tamponado para su posterior análisis.

Para identificar y cuantificar las deformaciones esqueléticas en larvas del grupo control y expuesto, se muestrearon unas 30 larvas de cada uno de los puntos de muestreo las cuales fueron procesadas para la doble tinción de Azul Alcían Rojo Alizarina (AA/AR) (Klymkowsky and Hanken, 1991)

Resultados y Discusión

Tras el examen macroscópico, las larvas del grupo control mostraron una migración ocular normal, de acuerdo con lo descrito por Fernández-Díaz *et al.* (2001), mientras que las del grupo expuesto a 3-MC mostraron a los 22 dpe simetría bilateral ocular, aunque adquirieron hábitos bentónicos y la forma general de la porción-tronco caudal se asemejaba a la de los ejemplares control. Sin embargo, los ejemplares de 22 dpe mantenidos en depuración (sin contaminante) mostraron a partir de los 7 días el comienzo de la migración ocular, la cual no fue completa como se observa en ejemplares de 33 dpe los cuales estuvieron en depuración durante 16 días. En este trabajo se apunta un efecto pseudo-reversible del 3-MC en el crecimiento de dos huesos del neurocráneo, el etmoides y los huesos frontales, los cuales son los candidatos como iniciadores de este proceso de migración ocular. Estudios posteriores deben ser realizados para determinar los efectos de la exposición al 3-MC en la expresión de genes y receptores nucleares relacionados con el proceso de migración ocular en peces planos.

Numerosas alteraciones fueron detectadas también en la porción tronco-caudal en ejemplares expuestos, sobre todo en la zona caudal, la cual se forma por osificación endocondral (paso de cartilago a hueso promovido por osteoblastos). Como el estradiol ha sido propuesto como inductor del fenotipo osteoblástico, alteraciones en este proceso producidas por un compuesto xenoestrogénico como el 3-MC pueden ser causantes de tales patologías.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el MICIIN (proyecto AGL2008-03897-C04-04). J.B. Ortiz-Delgado es beneficiario de una ayuda del Programa Ramón y Cajal (MEC).

Bibliografía

- Fernández-Díaz, C. Yúfera, M., Cañavate, P., Moyano, F.J., Alarcón, F.J., Díaz, M. 2001. Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole reared in the laboratory. *J. Fish. Biol.* 58: 1086-97.
- Klymkowsky, M.W., Hanken, J. 1991. Whole mount staining of *Xenopus* and other vertebrates. *Methods Cell Biol.* 36: 411-19.
- Naruse M, Ishihara Y, Miyagawa-Tomita S, Koyama A, Hagiwara H. 2002. 3-MC, which binds to the AhR inhibits proliferation and differentiation of osteoblasts *in vitro* and ossification *in vivo*. *Endocrinology* 143(9):3575-81.
- Saele, O., Silva, N. Pittman, K. 2006. Post embryonic remodelling of neurocranial elements: a comparative study of normal versus abnormal eye migration in flatfish. *J. Anat.* 209(1): 31-41.
- Sinha S, Eddington H, Kalra PA. 2009. Vascular calcification: lessons from scientific models. *J Ren Care.* 35(1):51-56.

Expresión de IGF-I e IGF-II en gónada masculina y femenina de *D. sargus*. Dependencia de GH y LH

L. Pérez, J.B. Ortiz-Delgado y M. Manchado

IFAPA. Centro El Toruño. Camino Tiro de Pichón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María Cádiz.
laura.perez.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

Insulin-growth factors (IGF-I and IGF-II) play a key role in reproduction in fish. In this work, IGF-I and IGF-II expression was quantified in male and female gonads of *Diplodus sargus*. In males, IGF-I and IGF-II transcripts increased in spermiating fish. In females, IGF-I mRNAs increased in mature spawning individuals whereas IGF-II levels were higher at immature stages (S1-S2). Inoculation of growth hormone (GH) activated expression of both IGF-I and IGF-II. In contrast, luteinizing hormone (LH) only increased IGF-I transcripts, but not IGF-II, at 24 h post-inoculation.

Justificación

La acuicultura marina española se basa fundamentalmente en el cultivo de dorada, lubina y rodaballo. El sargo (*Diplodus sargus*) es una especie prometedora en acuicultura al alcanzar precios elevados en el mercado. Estudios experimentales indicaron una alta tasa de supervivencia larvaria y de crecimiento para esta especie, lo que la hace una candidata perfecta para ampliar la oferta de especies de acuicultura (Santos *et al.*, 2006). Uno de los factores a tener en cuenta al cultivar una especie es la reproducción. Numerosos estudios en peces indican el importante papel de las IGFs por su implicación en el desarrollo gonadal, la producción de hormonas y la maduración de los gametos (Duan, 1997).

Material y métodos

Para estudiar la relación entre la maduración gonadal y la expresión de las IGFs se utilizaron un total de 22 reproductores de *D. sargus* procedentes del IFAPA centro «El Toruño». Los animales se sacrificaron mediante inmersión en fenoxietanol. A cada uno de ellos se les extrajo la gónada de la que una porción se congeló en nitrógeno líquido y guardó a -80°C para los análisis de expresión y otra porción se introdujo en formol tamponado 4% (0,1M pH 7,2) para determinar el sexo y grado de madurez en base a técnicas histológicas.

Para determinar la regulación de las IGFs por GH y LH se traspasaron 15 juveniles de *D. sargus*, procedentes del IFAPA centro *El Toruño*, a cada uno de 6 tanques cúbicos de 300L en circuito abierto. Previo al inicio del experimento, los animales se aclimataron durante 7 días a una salinidad de $36,1 \pm 0,2$ ppt, con un fotoperiodo natural y a una temperatura de $20,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Los individuos se alimentados diariamente con un pienso comercial hasta dos días antes del experimento. Dos tanques se inyectaron intraperitonealmente con $0,83 \mu\text{g/g}$ de GH porcina (Sigma), otros dos tanques con $0,042 \mu\text{g/g}$ de LH (Sigma) y a 2 tanques restantes tampón fosfato salino (PBS). Para los análisis de expresión, se sacrificaron 2 individuos/tanque a 1, 3, 8, 24, 48 y 72 h y se les extrajo la gónada que se conservó como se describió arriba. La cuantificación de la expresión génica se llevó a cabo según Ponce *et al.* (2008) utilizando unos cebadores específicos para cada gen y el *ARN 18S* para normalización. La significación estadística de los datos se determinó mediante ANOVA utilizando el programa InStat v3.0.

Resultados y discusión

Los niveles de ARNm de IGF-I aumentaron en machos a medida que la gónada alcanzaba la madurez sexual, mostrando su nivel más alto en peces en espermiación. La expresión en hembras fue similar a la de machos, aumentando los niveles de expresión en hembras en puesta. Estos resultados son similares a los detectados en hembras de *Acipenser ruthenus* (Wuertz *et al.*, 2007), donde se cuantificó un número mayor de transcritos de IGF-I en hembras maduras que inmaduras, y en *O. mykiss* (Bobe, Nguyen y Jalabert, 2004), donde los niveles de ARNm de IGF-I fueron significativamente más altos en oocitos maduros que en inmaduros. Esto sugiere que IGF-I podría ser un modulador intraovárico involucrado en el desarrollo del folículo. Respecto a la IGF-II, sus niveles de expresión fueron más elevados en el estadio de espermiación. A diferencia de la IGF-I, los niveles de ARNm fueron más elevados en el estadio S1-S2 y reducidos en puesta. Los resultados no coinciden con los encontrados en hembras de *O. mykiss*, donde los valores más altos de expresión se cuantificaron en oocitos maduros (Bobe, Nguyen y Jalabert, 2004).

Respecto a su regulación, la inoculación de LH incrementó significativamente la expresión de IGF-I a las 24 h, mientras que GH aumentó los niveles de transcritos a las 48 h. La IGF-II no aumentó significativamente sus niveles de expresión tras la administración de LH. Por el contrario, la GH aumentó su expresión a las 24 y 48 horas tras la administración. En trucha arcoiris, la inyección de GH y gonadotropinas aumentan los niveles de IGF-I e IGF-II en testículos inmaduros (Perrot y Funkenstein, 1999). Estos datos experimentales podrían sugerir que IGF-I e IGF-II podrían servir como mediadores de la acción de GH y de las gonadotropinas en testículo y ovario de sargo común.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a la Dirección General de Pesca (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía) en el marco de un proyecto financiado con fondos FEDER (UE).

Bibliografía

- Bobe, J., T. Nguyen, y B. Jalabert. 2004. Targeted gene expression profiling in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovary during maturational competence acquisition and oocyte maturation. *Biol. Reprod.* 71: 73-82.
- Duan, C. 1997. The insulin-like growth factor system and its biological actions in fish. *AMER. ZOOL.* 37:491-503.
- Maestro, M.A., J.V. Planas, S. Moriyama, J. Gutierrez, J. Planas y P. Swanson. 1997. Ovarian receptors for insulin and insulin-like growth factor I (IGF-I) and effects of IGF-I on steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 106: 189-201.
- Perrot, V. y B. Funkenstein. 1999. Cellular distribution of insulin-like growth factor II (IGF-II) mRNA and hormonal regulation of IGF-I and IGF-II mRNA expression in rainbow trout testis (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish. Physiol. Biochem.* 20: 219-229.
- Ponce, M., C. Infante, V. Funes y M. Machado. 2008. Molecular characterization and gene expression analysis of insulin-like growth factor I and II in the redbanded seabream, *Pagrus auriga*: transcriptional regulation by growth hormone. *Comp. Biochem. Physiol.* 150: 418-426.
- Santos, M.N., P. Lino, P. Pousao-Ferreira y C.C. Monteiro. 2006. Preliminary results of hatchery-reared seabream released at artificial reefs of the Algarve coast (Southern Portugal): a pilot study. *Bull. Mar. Sci.* 78(1):177-186.
- Wuertz, S., A. Nitsche, M. Jastroch, J. Gessner, M. Klingenspor, F. Kirschbaum y W. Kloas. 2007. The role of IGF-I system for vitellogenesis in maturing female sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Gen. Comp. Endocrinol.* 150: 140-150.

Caracterización molecular y análisis de la expresión génica del receptor de la tirotropina en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup)

M. Ponce, C. Infante y M. Manchado

IFAPA. Centro El Toruño. Junta de Andalucía. Camino Tiro de Pichón, s/n. 11500 El Puerto de Santa María (Cádiz).
e-mail: marian.ponce.ext@juntadeandalucia.es

Abstract

The hypothalamic-pituitary-thyroid axis plays a key role in larval development and metamorphosis in flatfish. In this work, we report the cloning and molecular characterization of the thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) in *Solea Senegalensis*. Main domains and conserved motifs were identified. Also, a truncated TSHR gene (TSHRv) was detected. Expression profiles of both genes were determined in juvenile tissues and during larval development using a qRT-PCR approach. TSHR and TSHRv showed distinct transcript levels in tissues. In larvae, TSHR and TSHRv mRNAs reduced significantly at metamorphosis. To evaluate a possible regulation by T4 during metamorphosis, larvae were exposed to the goitrogen thiourea (TU) and T4. No change in TSHR expression was detected. In contrast, TSHRv transcripts increased significantly at 11 days after treatment. Moreover, addition of exogenous T4 to TU-treated larvae restored the steady-state levels with respect to the untreated control, demonstrating that TSHRv is negatively regulated at transcriptional level by thyroid hormones.

Justificación

Las hormonas tiroideas (THs) juegan un papel importante en el desarrollo larvario, crecimiento y metamorfosis de peces planos (Power *et al.*, 2001). Su síntesis está regulada por la tirotropina (TSH), para lo cual requiere la unión a su receptor específico (TSHR). El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es un pez plano de gran importancia comercial en Europa. Esta especie lleva a cabo su metamorfosis muy pronto durante el desarrollo larvario, entre los días 12 y 19 tras la eclosión (DAH) (Fernández-Díaz *et al.*, 2001). Estudios recientes han demostrado que la administración del bociógeno tiourea (TU) es capaz de bloquear la migración del ojo. Además, se ha determinado que las THs ejercen una retroalimentación negativa a nivel transcripcional sobre la cadena beta de la TSH y del precursor tiroglobulina para regular su síntesis (Manchado *et al.*, 2008). Sin embargo, no hay información sobre el papel del TSHR en esta cascada regulatoria. Por ello, es necesario la caracterización y estudio de la expresión del TSHR para comprender el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisiario-tiroideo durante la metamorfosis en *S. senegalensis*.

Material y métodos

Las muestras de desarrollo larvario así como las correspondientes a los tratamientos de bloqueo con TU y rescate con T4 son las descritas en Manchado *et al.* (2008). Las muestras utilizadas para determinar el patrón de expresión tisular se describen en Manchado *et al.* (2009). Para la clonación y secuenciación del TSHR se utilizó la técnica 3' y 5' RACE-PCR con cebadores específicos diseñados a partir de una secuencia parcial utilizando las condiciones descritas en Ponce *et al.* (2008). Para la cuantificación de la expresión génica se utilizó PCR en tiempo real utilizando los genes GAPDH 2 y ubiquitina como normalizadores en larvas y tejidos, respectivamente (Infante *et al.*, 2008). La significación estadística se determinó mediante ANOVA utilizando el programa InStat v3.0.

Resultados y discusión

Se ha clonado y secuenciado el TSHR en el lenguado senegalés. El ADNc presentó un tamaño de 3.303 nucleótidos (nt), con una región 5' y 3'-UTR de 258 y 687 nt, respectivamente. La fase abierta de lectura codificaba una proteína de 786 aminoácidos (aa) en la que se identificó el péptido señal (25 aa), y los dominios extracelular (436 aa), transmembrana (260 aa) e intracelular (89 aa). Asimismo, se localizaron 4 zonas conservadas de N-glicosilación y 10 residuos de cisteína conservados necesarios para adquirir la estructura terciaria de la proteína. Además, en el análisis de clones se identificó un ADNc como una variante truncada de este receptor (TSHRv) no descrita anteriormente en peces. Su tamaño fue de 1.694 nt de longitud y presentaba el dominio extracelular (418 aa) y parte del transmembrana (14 aa). El dominio extracelular poseía las características necesarias para la unión al ligando.

Los estudios de expresión demostraron que ambos receptores se expresaban de forma ubicua en los órganos de juveniles de *S. senegalensis*, aunque con niveles más altos de transcrito en cerebro para el TSHR y en cerebro, branquias y piel para el TSHRv. La expresión extratiroidea del TSHR se ha descrito también en otras especies de peces como *Dicentrarchus labrax* (Rocha *et al.*, 2007) y *Morone saxatilis* (Kumar *et al.*,

2000). Además, las diferencias en el patrón de expresión de ambos genes sugiere que ambos receptores podrían haber sufrido procesos de sub- o neofuncionalización. Durante el desarrollo larvario, los niveles de transcrito de TSHR y TSHRv disminuyeron significativamente en la metamorfosis. Para investigar la posible regulación transcripcional de TSHR y TSHRv por las THs durante la metamorfosis, las larvas se trataron con TU en el día 7. En el caso de TSHR, las larvas tratadas con TU no mostraron cambios significativos con respecto a los controles en los días 11 y 15 después del tratamiento. Asimismo, tampoco se observaron cambios significativos al añadir T4 a las larvas tratadas con TU. Por el contrario, los niveles de transcrito de TSHRv en la larvas tratadas con TU aumentaron significativamente en el día 11 después del tratamiento (aunque en el día 15 este aumento no fue significativo). Además, la adición de T4 a las larvas tratadas con TU redujo los niveles de transcrito de TSHRv hasta recuperar los niveles basales con respecto a los controles no tratados en los días 8 y 15 después del tratamiento. Estos datos demuestran que en lengua-do existe un doble sistema de receptores para la TSH, de los que la forma truncada TSHRv estaría regula-da negativamente por THs estando implicada en el eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo que regula la me-tamorfosis en esta especie.

Agradecimiento

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de excelencia CVI-3216

Bibliografía

- Fernández-Díaz, C., M. Yúfera, J.P. Cañavate, F.J. Moyano, F.J. Alarcón y M. Díaz. 2001. Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole reared in the laboratory. *J Fish Biol.* 58: 1-13.
- Infante, C., M.P. Matsuoka, E. Asensio, J.P. Cañavate, M. Reith y M. Manchado. 2008. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in larvae from flatfish using real-time PCR. *BMC Mol. Biol.* 9: 28.
- Kumar, R.S., S. Ijiri, K. Kight, P. Swanson, A. Dittman, D. Alok, Y. Zohar y J.M. Trant, 2000. Cloning and functional expression of a thyrotropin receptor from the gonads of a vertebrate (bony fish): potential thyroid-independent role for thyrotropin in reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 167: 1-9.
- Manchado, M., C. Infante, E. Asensio, J.V. Planas y J.P. Cañavate. 2008. Thyroid hormones down-regulate thyrotropin beta subunit and thyroglobulin during metamorphosis in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Gen. Comp. Endocrinol.* 155: 447-455.
- Manchado, M., C. Infante, L. Rebordinos y J.P. Cañavate. 2009. Molecular characterization, gene expression and transcriptional regulation of thyroid hormone receptors in Senegalese sole. *Gen. Comp. Endocrinol.* 160: 139-147.
- Ponce, M., C. Infante, V. Funes y M. Manchado. 2008. Molecular characterization and gene expression analysis of insulin-like growth factor I and II in the redbanded seabream, *Pagrus auriga*: transcriptional regulation by growth hormone. *Comp. Biochem Physiol.* 150: 418-426.
- Power, D.M., L. Llewellyn, M. Faustino, M.A. Nowell, B.T. Bjornsson, I.E. Einarsdottir, A.V. Canario y G.E. Sweeney. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 130: 447-459.
- Rocha, A., A. Gomez, M. Galay-Burgos, S. Zanuy, G.E. Sweeney y M. Carrillo. 2007. Molecular characterization and seasonal changes in gonadal expression of a thyrotropin receptor in the European sea bass. *Gen. Comp. Endocrinol.* 152: 89-101.

Optimización de la reproducción inducida del cacho (*Squalius pyrenaicus*, Günther 1868)

H.J. Pula, M. Pascual, P. Moreno y C. Fallola

Centro de Acuicultura. Dirección General de Medio Natural. Junta de Extremadura. Antigua N-V, km. 391,7. 06195 Villafranco del Guadiana (Badajoz). España: piscifactoria@gmail.com

Abstract

Populations of the endemic cyprinid *Squalius pyrenaicus* are decreasing in Extremadura (SW-Spain). As an important part of the recovery program of this species, an optimization of the protocol for artificial spawning was planned. Previous assays in our laboratory using pituitary extract (EPC) and gonadotrophine release hormon [(des-Gly¹⁰, D-Ala⁶)-LH-RH ethylamide acetate hydrate] as hormonal inductores were not totally successful.

In the present study, we have used the complex of mGnRH (36-40 mg/kg) combined with a dopamine antagonist (16-20 mg/kg), used successfully in other species of cyprinids. Thirty one females were injected with this complex, and spawning occurred in 58%. It was obtained 125,5 g of eggs/kg, with fertilization rate of 88,2%. The results showed that the use of this complex as spawning inductor in the *Squalius pyrenaicus* gives high fertilization rates in artificial reproduction.

Justificación

Ante la situación de regresión del cacho (*Squalius pyrenaicus*) en Extremadura, se decidió iniciar un programa que se pudiera incluir en el futuro Plan de Conservación de la especie. El objetivo fundamental es poner a punto las técnicas de reproducción artificial, tratando de obtener unos efectivos poblacionales que nos permitan la reintroducción o recuperación de sus poblaciones.

Material y Métodos

El estudio se ha realizado en el Centro de Acuicultura «Vegas del Guadiana» de la Junta de Extremadura, durante los meses de abril y mayo de 2009. Se utilizaron reproductores 3+ nacidos en el Centro y mantenidos en un estanque de 24 m² con fotoperiodo y termoperiodo naturales.

Para la comprobación del estado idóneo de madurez de los reproductores se identificaron signos externos como flacidez abdominal y la inflamación del poro genital en las hembras, y la fluidez y presencia de tubérculos nupciales en los machos. Además se obtuvieron muestras de ovocitos de varias hembras para verificar la migración de la vesícula germinal.

Los reproductores se aclimataron al laboratorio en tanques de poliéster de 2,5 m³ con circuito cerrado, temperatura controlada de 20-21°C y fotoperiodo 12:12. Para la inducción hormonal se seleccionaron 31 hembras de 203,3 ± 51,6 g de peso a las que se inyectó intramuscularmente una sola dosis de 1 ml/kg de pez de un complejo de análogo de mGnRH (D-Ala⁶, Pro⁹Net-mGnRH) (36-40 mg/kg) y un antagonista de la dopamina, metoclopramida (16-20 mg/kg) preparado en suero salino. Dado que los machos estaban fluyentes se prescindió de su inducción. Las hembras se comprobaron cada 3 h, comenzando 14 h después de la inyección. El éxito de la ovulación se determinó calculando el porcentaje de hembras desovadas entre las hembras inyectadas. También se calculó el índice gonadosomático. Para la fecundación se siguió el método propuesto por Woynarovich (Woynarovich y Horvath, 1981) excluyendo el último paso en el que se elimina la adherencia de los huevos. Una muestra de cada puesta de huevos se incubó de manera individualizada a 20°C para la estimación de las tasas de fertilización y eclosión. El resto de la puesta se incubó sobre un sustrato de vegetación artificial en condiciones controladas. Para la estimación de alevines obtenidos, se tomó el valor de 600 ovocitos/gr de hueva obtenido en hembras de unos 200 g, dato que pudimos constatar en experiencias anteriores.

Resultados y Discusión

La maduración del cacho en cautividad se produce de finales de abril a mayo, dependiendo de las condiciones climatológicas, al igual que ocurre en la naturaleza (Fernández-Delgado y Herrera, 1995). Sin embargo la freza no se produce en cautividad, siendo necesaria una estimulación externa. Este hecho ya fue constatado en *Leuciscus cephalus* (Linnaeus, 1758) por Poncin *et al.* (1987) quienes indicaban la necesidad de un tratamiento hormonal para la obtención de puestas.

En este experimento frezaron el 58% de las hembras inducidas, con una puesta media del 12,5% del peso de las hembras. Los porcentajes de fecundación y eclosión estuvieron cercanos al 90%. Los huevos in-

Tabla 1. Resumen de los datos obtenidos durante la campaña de 2009

Peso de hembras inducidas	Peso de hembras desovadas	Peso huevos	% fertilización	N.º de alevines
6.302 g	3.785 g	475 g	88,2	247.979 inds.

cubados a una temperatura media de 20°C comenzaron a eclosionar a los 60 grados/día, aunque en experiencias anteriores habíamos comprobado que la eclosión se producía a los 90 grados/día con temperaturas medias de 17°C. Podemos estimar que en este ensayo obtuvimos unos de 250.000 alevines que pasaron a la fase posterior de engorde.

Consideramos este resultado como satisfactorio ya que, por ejemplo, en las experiencias realizadas en la campaña 2008, utilizando LH-RH con una dosis de 40 µg/kg, se obtuvo un máximo de 34,8% de hembras desovadas y un 63,6% de eclosión de las puestas resultantes.

Podemos concluir con esta experiencia que el cacho sometido a régimen de cultivo semi-intensivo, muestra desarrollo y madurez gonadal, y mediante tratamiento hormonal a las hembras se pueden obtener puestas sincronizadas con un alto porcentaje de viabilidad.

En cuanto al tratamiento hormonal empleado, se puede concluir que ha demostrado ser efectivo y fiable en la inducción de la puesta en el cacho, con un porcentaje mayor de hembras frezadas que en el caso de otros compuestos empleados anteriormente.

Bibliografía

- Fernández Delgado, C. y Herrera, M., 1995. Age structure, growth and reproduction of *Leuciscus pyrenaicus* in an intermitent stream in the Guadalquivir river basin, southern Spain. En *Journal of Fish Biology* 46; 371-380.
- Poncin, P.; Melard, Ch. y Philippart, J.C. 1987. Utilisation de la temperature et de la photoperíode pour controlar la maturation sexuelle en captivité de trois espèces de poissons cyprinidés européens: *Barbus barbus* (L.), *Leuciscus cephalus* (L.) et *Tinca tinca* (L.) – Résultats préliminaires. *Bull. Fr. Peche Piscic.* 304: 1-12.
- Woynarovich, E Y Horvath, L. 1981. La reproduction artificielle des poissons en eau chaude: manuel de vulgarisation. FAO Doc. Tech. Peches 201. 191 p.

Obtención de puestas de lenguado senegalés por masaje abdominal con dos métodos de administración de terapia hormonal

I. Rasines¹, M. Gómez¹, I. Martín¹, C. Rodríguez¹, O. Chereguini¹ y R. Cal²

¹ Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Santander. Promontorio de San Martín, s/n. Apdo. 240. 39080 Santander. e-mail: inma.rasines@st.ieo.es

² Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Vigo. Cabo Estay-Canido. Apdo.1552. 36200 Vigo (Pontevedra)

Abstract

In order to develop a protocol for obtaining oocytes for artificial fertilization of sole, the production of oocytes were compared by means of two hormonal therapy administration procedures: weekly injection of GnRH α and a GnRH α implant. The number of spawns per female and the volume of oocytes per kg of female were significantly greater in the females that received weekly injections ($n = 6.5 \pm 2.5$ and $V = 327 \pm 105 \text{ cm}^3$) than in the implanted ones ($n = 2,3 \pm 1,3$ and $V = 68 \pm 69 \text{ cm}^3$).

Introducción

La falta de puestas naturales en la generación F1 de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es un factor limitante para el cultivo integral de esta especie. Recientemente, con hembras F1 de lenguado senegalés tratadas hormonalmente, se han obtenido huevos viables tras masaje abdominal que fueron fecundados mediante la técnica de fertilización artificial (FA) (Chereguini *et al.*, 2007). Con el fin de desarrollar un protocolo de obtención de ovocitos para la FA en lenguado se comparó la producción de ovocitos mediante dos sistemas de administración de la terapia hormonal con GnRH α : inyección repetida e implante.

Material y métodos

Se distribuyeron 12 hembras F1 en estado de maduración de postvitelogénesis en tres tanques de 4 m²: Tanque A: control, una inyección de solución salina (0,15 ml kg⁻¹); Tanque B: implantes de liberación lenta (GnRH α 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$); Tanque C: inyección semanal de GnRH α (25 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Diariamente se muestreó a las hembras hasta obtener por masaje abdominal la primera puesta y posteriormente cada dos o tres días según el grado de hinchazón abdominal externo, durante 30 días. Se midió el volumen obtenido y se determinó el n^o de ovocitos cm⁻³. El análisis de los resultados se realizó comparando los tratamientos mediante ANOVA o su equivalente no paramétrico.

Resultados

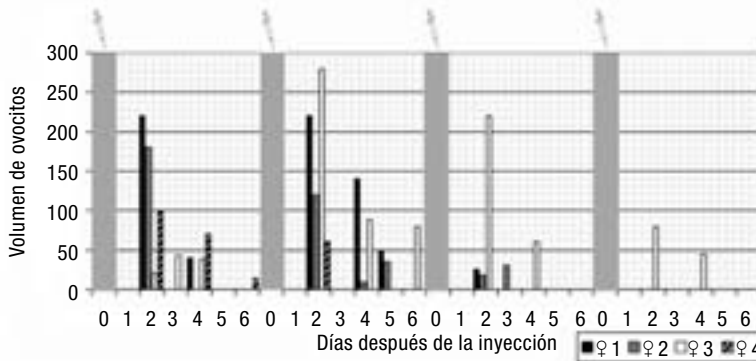
El número de puestas por hembra y el volumen de ovocitos por kg de hembra fue significativamente mayor ($p = 0,003$ y $p = 0,001$ respectivamente) en las hembras que recibieron el tratamiento hormonal mediante inyección repetida que en las implantadas (Tabla 1). Todas las hembras inyectadas respondieron al menos a dos inyecciones consecutivas con cantidades superiores a 50 cm³ a las 48 h del tratamiento (Fig. 1). En algunos casos se pudieron conseguir dos puestas importantes después de cada inyección (Fig. 1). En el caso del tratamiento con implantes solo se consiguieron puestas mayores de 50 cm³ en dos hembras y en este caso hubo una única respuesta a las 48h del tratamiento. Solo una hembra control produjo una puesta importante.

Discusión

La administración de GnRH α mediante inyecciones repetidas ha sido más productiva que mediante implantes. Los análogos sintéticos de la GnRH estimulan la síntesis de la pituitaria y la liberación de hormonas

Tabla 1. Datos de producción por tratamiento expresados como media \pm std. Los datos con letra superíndice son significativamente diferentes

Tratamiento	N ^o puestas / ♀	N ^o puestas > 50 cm ³	Vol/ ♀	cm ³ / kg ♀	N ^o ovocitos / ♀
Inyección	6,5 \pm 2,5 ^a	3,5 \pm 1,73	572 \pm 317	327 \pm 105	848.683 \pm 414.956
Implante	2,3 \pm 1,3	0,5 \pm 0,58	91 \pm 68	68 \pm 69	122.393 \pm 97.379
Control	0,8 \pm 1,0	0,25 \pm 0,5	52 \pm 99	29 \pm 53	69.906 \pm 132.452

Figura 1. Secuencia y volúmenes de puesta de las hembras inyectadas

gonadotropas. Sin embargo, después de la administración de una única inyección de GnRH α , la elevación de estas hormonas en el plasma sanguíneo es temporal mientras que los sistemas de liberación sostenida liberan la hormona al torrente sanguíneo durante un periodo que va de días a semanas y según Mylonas y Zohar (2001) eliminan la necesidad de suministrar varias inyecciones. En lenguado senegalés, el tratamiento con GnRH α se ha demostrado eficaz en la estimulación de puestas en hembras, tanto en implantes (Agulleiro *et al.*, 2006; Mañanos *et al.*, 2007) como con inyecciones repetidas (Agulleiro *et al.*, 2006) permitiendo obtener sucesivas puestas espontáneas. Para obtener puestas por masaje abdominal son efectivas al menos dos inyecciones de GnRH α en semanas consecutivas, sin embargo con el implante se obtiene una única puesta, equivalente a lo que se obtendría con una única inyección.

Agradecimientos

Este trabajo se enmarca dentro del Subproyecto de la CCAA de Cantabria financiado por el Programa Nacional de lenguado JACUMAR 2006-2008

Referencias

- Mañanos, E., I. Ferreiro, D. Bolón, J.M. Guzman, C. Mylonas y A. Riaza. 2007. Different responses of Senegalese sole *Solea senegalensis* broodstock to a hormonal spawning induction therapy, depending on their wild or captive-reared origin. En: *Abstracts of Aquaculture Europe 07 (October 24-27, Istanbul, Turkey)*: 330-331
- Zohar, Y. y C. Mylonas. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 197(1-4): 99-136.
- Chereguini, O., I. Rasines, V. Anguis, R. Cal, I. Martín, C. Rodríguez, J.M. Guzman, C. Mylonas y E. Mañanos. 2007. Primeras fecundaciones artificiales en lenguado senegalés cultivado (Generación F1). En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. Tomo II*: 1435-1438.
- Agulleiro, B., V. Anguis, J.P. Cañavate, G. Martínez-Rodríguez, C. Mylonas y J. Cerdá. 2006. Induction of spawning of captive-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*) using different administration methods for gonadotropin-releasing hormone agonist. *Aquaculture*. 257(1-4): 511-524.

Evolución de la maduración gonadal de ejemplares de *Seriola dumerilli* mantenidos en cautividad

J. Roo¹, D. Schuchardt¹, J. A. Socorro¹, R. Guirao², C. M. Hernández-Cruz
y H. Fernández-Palacios¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM&ULPGC). PO Box 56, E-35200 Telde. Las Palmas. Islas Canarias. España. E-mail: Jroo@iccm.rcanaria.es

² Canexmar: C/ Palangre, s/n, nave 1. Castillo del Romeral. San Bartolome de Tirajana. Las Palmas

Abstract

The present work describes the evolution of *Seriola dumerilli* stock in the Instituto Canario de Ciencias Marinas from year 2006 to 2009. Nine sub adults of kingfish were captured by local fisherman in the south coast of Gran Canaria in may 2006, fish were transported in a truck and transferred to on land facilities. Adaptation to tanks and inert food was successfully carried out one month after the capture. After 3 year kept in captivity 100% survival was obtained. Initial fish weight (1,66kg), was increased over to 8,0 kg nowadays. Every year fish were sampled to determine individual growth in weight and size. In addition, the evolution of its sexual maturity state was established by ovarian biopsy. Oocytes over 500 microns were observed in year 2008 in one of the females with an average weight of 3,8 kg. In year 2009, mature fish were observed, but natural spawn was unsuccessful, however the use of hormonal injection (LHRH) results in a successful spawn.

Justificación

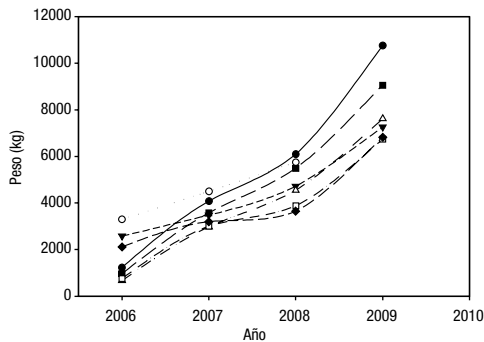
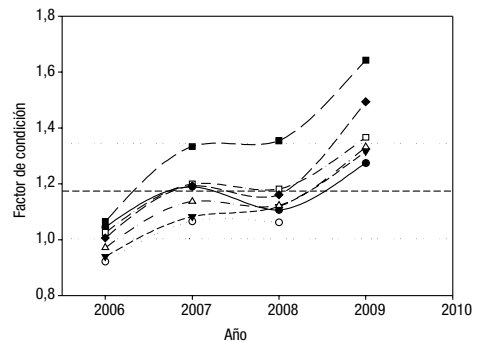
La seriola (*Seriola dumerilli*) es un Carángido, que presenta una amplia distribución en todo el globo y ha sido definida como especie de rápido crecimiento. Los antecedentes de cría, en algunos casos son el resultado del engorde de juveniles salvajes capturados (Jover *et al.*, 1999) mientras que en otros, reflejan los resultados de trabajos de biología reproductiva, obtención de puestas inducidas o espontáneas (Mylonas *et al.*, 2004; Jerez *et al.*, 2007) siendo estas, unas de los principales limitaciones en el cultivo de seriola, que a su vez condiciona el desarrollo de las técnicas de cría larvaria (Papandroulakis *et al.*, 2005). En el caso concreto de España son varias CCAA (Andalucía, Baleares, Canarias y Murcia) donde se han obtenido puestas y reproducción en cautividad, si bien en muchos casos se ha abandonado su estudio por las dificultades el mantenimiento de los reproductores y la obtención de huevos. Con el propósito de impulsar nuevamente el cultivo a escala comercial, se han realizado diferentes experiencias preliminares de captura y aclimatación de ejemplares subadultos para crear un stock de reproductores de esta especie que permita realizar estudios de reproducción y cultivo larvario. En el presente trabajo se describe la evolución de los ejemplares, así como la evolución de su maduración gonadal en cautividad y la primera obtención de tras tres años de cultivo mediante inducción hormonal.

Material y Métodos

Los ejemplares de *S. dumerilli*, se capturaron en la costa SO de Gran Canaria. El transporte hasta las instalaciones del ICCM fue por carretera en tanques rectangulares de 0,5m³ de capacidad, con un suministro de oxígeno en continuo. A su llegada, los peces se trasladaron a un tanque de 10m³ de capacidad. Una vez aclimatados a las condiciones de cultivo, se determinó la longitud estándar (LT), peso total (PT) y factor de condición $FC = (PT/LS^3) \times 100$ procediendo al marcaje mediante microchip subcutáneo. Los peces se alimentaron, dos veces por semana con pienso comercial (Vitalis ReproTM), complementado una vez en semana con alimento fresco (calamar y mejillón). Anualmente, se determinó PT, LT, FC y el estado de maduración mediante biopsia gonadal procediendo a la medición de oocitos para determinar la potencialidad de obtención de puesta natural o posible inducción de la misma. En el año 2009, los peces fueron sometidos a tratamiento hormonal (LHRH, Sigma-Aldrich) por inyección (20µg/kg vivo), para promover la liberación de la puesta.

Resultados y Discusión

Los ejemplares capturados presentaron una muy buena aclimatación a las condiciones de cultivo que resultó en una supervivencia de 100% tras 3 años de confinamiento. El peso medio inicial de 1,66 kg incremento hasta 8,0 kg en la actualidad (Fig. 1). Los resultados obtenidos en esta y sucesivas experiencias, muestran que la captura de ejemplares con tallas inferiores a 1,5 kg resulta más efectiva, ya que además de capturarse con mayor facilidad, estos alcanzan en un año a los capturados con tallas superiores a los 3 kg lo que puede ser un resultado de una mejor adaptación a cautividad. El incremento observado del fac-

Figura 1. Crecimiento en peso 2006-2009**Figura 2.** Evolución del factor de condición**Tabla 1.** Parámetros determinados

	Jun-2006	Jun-2007	Jun-2008	Jun-2009
TL	53,21 ± 11,94	67,07 ± 4,33	74,79 ± 5,45	82,92 ± 6,10
Oocito (µm)	0,04 ± 0,01	n.d	> 500 *	> 500
Macho/hembra	2/7	2/7	2/7	2/7

Nota: n.d: dato no disponible. * En 1 ejemplar de peso medio 3,8 kg.

tor de condición (1,1 hasta 1,4) (Fig. 2), da idea de un engrosamiento de los ejemplares con el paso del tiempo y se relacionó con las condiciones de cultivo y tipo de alimento utilizado, e indicaría la necesidad de cambios en los protocolo de alimentación o condiciones de cultivo con el fin de mantener este parámetro en los valores cercanos a 1.

En el año 2008, se detecto por primera vez un ejemplar de 3,8 kg y 62 cm SL en estado de madurez avanzada (oocitos > 500 µm), talla inferior a la indicada por Micale *et al.* (1999) como mínima para la maduración de esta especie (80 cm SL). Durante el mes de Julio del año 2009 se procedió a la inducción hormonal los días 13-jul y 27-jul, resultando en dos puestas con un total de 427.000, en ambos casos los huevos no estaban fecundados, lo que se ha atribuido a la falta de coordinación entre machos y hembras presentes en el tanque. Los resultados obtenidos, indican la viabilidad de obtención de gametos en ejemplares aclimatados, con pesos inferiores a los referenciados previamente como tallas mínimas de maduración para esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto piloto para el cultivo de especies de rápido crecimiento en Canarias (RAPCRE) financiado por la Vicencosejería de pesca del Gobierno de Canarias.

Bibliografía

- Jerez, S., Samper, M., Santamaría, F.J., Villamandos, J.E., Cejas, J.R., Felipe, B.C., 2006. Natural spawning of greater amberjack (*Seriola dumerilii*) kept in captivity in the Canary Islands. *Aquaculture* 252,199-207.
- Jover, M., García-Gómez, A., Tomás, A., De la Gandara, F., Pérez, L., 1999. Growth of Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture*, 179, 25-33.
- Papandroulakis, N., Mylonas, C.C., Maingot, E., Divanach, P., 2005. First results of greater amberjack (*Seriola dumerilii*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture* 250, 155-161.
- Micale, V., Maricchiolo, G., y Genovese, L., 1999. The reproductive biology of the amberjack, *Seriola dumerilii* (Risso 1810). I. Oocyte development in captivity. *Aquaculture research*, 30; 349-355.
- Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Divanach, P., 2004. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerilii*) using GnRH implants. *Aquaculture*, 237,141-154.

Maduración y obtención de puestas de *Seriola rivoliana* en Canarias

J. Roo¹, D. Schuchardt¹, J. A. Socorro¹, R. Guirao², C. M. Hernández-Cruz
y H. Fernández-Palacios¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (ICCM&ULPGC). PO Box 56. E-35200 Telde. Las Palmas. Islas Canarias. España. E-mail: Jroo@iccm.rcanaria.es

² Canexmar: C/ Palangre, s/n, nave 1. Castillo del Romeral. San Bartolome de Tirajana. Las Palmas

Abstract

The almaco jack *Seriola rivoliana* belongs to the Carangidae family of fishes. These species are an important resource for recreational and commercial fisheries worldwide. Among other attributes, almaco jack has been identified as potentially aquaculture species due to their fast growth, excellent flesh quality and significant market opportunities internationally. The present work describes the establishment of broodstock of *Seriola rivoliana* in the Instituto Canario de Ciencias Marinas from year 2006 to 2009 and subsequent maturation and spawning. Twenty sub adults were captured by local fisherman in the South coast of Gran Canaria in May 2006. Adaptation to culture conditions in tanks and inert food was successfully carried out just after one month of capture. Initial fish weight (1.76 ± 0.25 kg), was increased to 6.0 ± 1.1 kg in July 2009. Every year fish were sampled to determine individual growth in weight and size. In addition, the evolution of its sexual maturity state was established by gonadal biopsy. In July 2009, the use of hormonal injection (LHRH) results in two successful spawns with 42% of viable eggs.

Justificación

El medregal negro, (*Seriola rivoliana*), es una especie circuntropical perteneciente a la familia de los carángidos (Fischer, 1978). En la región del Atlántico Este, se puede encontrar desde Portugal (Azores y Madeira), Islas Canarias hasta Cabo Verde, (Fischer *et al.*, 1981), si bien ya se ha detectado la presencia esporádica de ejemplares en el Mediterráneo (Castriota *et al.*, 2002). La talla máxima se sitúa en torno a los 160 cm de longitud estándar, pudiendo alcanzar los 59 kg de peso (IGFA, 2001), siendo lo habitual en Canarias tallas entre 55 y 80 cm. Los antecedentes de cría, se reducen a las experiencias realizadas en Ecuador (Blacio *et al.*, 2003) y Hawai (Laidley *et al.*, 2004) donde se produce comercialmente. Con el propósito de impulsar el cultivo de esta especie en Europa, se vienen realizando diferentes experiencias de captura y aclimatación de ejemplares para la creación de un stock de reproductores que permita realizar estudios de reproducción y cultivo larvario. En el presente trabajo se describe el crecimiento de los ejemplares, así como la evolución de su maduración gonadal en cautividad y la primera obtención de puestas viables tras tres años de cultivo.

Material y Métodos

Los ejemplares de Medregal negro, se capturaron en la costa SO de Gran Canaria. A su llegada a las instalaciones en tierra, los peces se trasladaron a un tanque de 10 m³ de capacidad. Una vez aclimatados a las condiciones de cultivo, se determinó la longitud estándar (LT), peso total (PT) y factor de condición $FC = (PT/LS^3) \times 100$ procediendo al marcaje mediante microchip subcutáneo. Los peces se alimentaron, dos veces por semana con pienso comercial (Vitalis ReproTM), complementado una vez en semana con alimento fresco (calamar y mejillón). Anualmente, se determinó PT, LT, FC y el estado de maduración mediante biopsia gonadal. Se realizó la medición de oocitos para determinar la potencialidad de obtención de puesta natural o la necesidad de inducción a la misma. En el año 2009, los peces fueron sometidos a tratamiento hormonal (LHRH, Sigma-Aldrich) por inyección (20 µg/kg vivo), para promover la liberación de la puesta.

Resultados y Discusión

Los ejemplares capturados, se aclimataron rápidamente a las condiciones de cultivo, obteniendo una supervivencia media de 75% de la población inicial, la principal causa de mortalidad se identificó como infestación por *Neobenedia sp.*, un ectoparásito monogéneo, ya previamente descrito por afectar a esta y otras especies de seriola (Hirayama *et al.*, 2009) (Imágenes 1a,1b).

El peso medio inicial de 1,7 kg (junio 2006) se incrementó hasta 6,0 kg en julio 2009 (Fig. 1).

Los resultados de la biopsia gonadal durante los años 2007-2008, indicaron que todos los ejemplares hembras estaban inmaduros, lo que se relacionó con una talla de los peces por debajo de la primera maduración como señala Lidley *et al.* (2004), estos autores identifican un peso mínimo de maduración de 5 kg. Durante el mes de mayo de 2009, los resultados de la biopsia mostraron la presencia de machos maduros

Imagen 1. a) Ejemplar de *Seriola rivoliana*. b) Ectoparásito, *Neobenedenia* sp. c) Huevo embrionado. d) Larva de 3 días

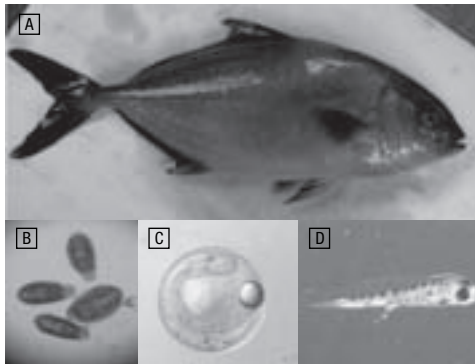
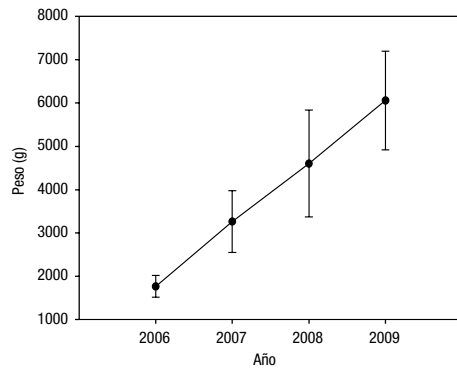


Figura 1. Crecimiento en peso 2006-2009



en un rango de pesos desde 2,3 a 4,4 kg, mientras que en el caso de las hembras, solo se detectaron ejemplares maduros en un rango de tallas de 5,1 a 7,3 kg. La inducción hormonal los días 13-jul y 27-jul, tuvo como resultando la obtención de dos puestas de 34.500 y 252.400 huevos con un porcentaje de huevos viables del 42% lo que ha permitido la realización de las primeras experiencias de cría larvaria de esta especie en Europa (imágenes 1c, 1d).

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto piloto para el cultivo de especies de rápido crecimiento en Canarias (RAPCRE) financiado por la Vicensejería de pesca del Gobierno de Canarias.

Bibliografía

- Blacio, E., Darquea, J., y Rodríguez, S., 2003, Avances en el cultivo de huayaiepe, *Seriola rivoliana* (Valeciennes 1833), en las instalaciones del Cenaim. El mundo acuícola, 9 (1), 21-24.
- Castriota, L., Greco, S., Marino G., y Andaloro, F. 2002. First record of *Seriola rivoliana* Cuvier, 1833 in the Mediterranean. *Journal of Fish Biology* 60, 486-488.
- IGFA. 2001. Database IGFA angling records until 2001. IGFA, Fort Lauderdale, USA.
- Fischer, W., Bianchi, G. & Scott, W. B. (Eds) (1981). FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Central Atlantic: Fishing Areas 34, 47, Vol. 1. Ottawa: Canada Funds-in-Trust.
- Hirayama, T., Kawano, F., y Hirazawa, N., 2009. Effect of *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection on host amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae). *Aquaculture* 288, (3-4); 159-165.
- Laidley, C.W., Shields, R. J., y Ostrowski, A. O., 2004. Progress in amberjack culture at the Oceanic Institute in Hawaii. *Glob.Aqua.Advoc.* 7(1):42-43.
- Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Divanach, P., 2004. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRH α implants. *Aquaculture*, 237, 141-154.

Expresión de *per1* en lubina (*Dicentrarchus labrax*)

J. A. Sánchez¹ y F. J. Sánchez-Vázquez¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. 30100 Murcia. e-mail: jasanchez@um.es

Abstract

The Period family is a group of clock genes that are essential components of the molecular clock. In the present study, we have cloned a period gene (*per1*) of European sea bass, a marine teleost of aquaculture interest. The cloned sequence encoded a protein consisting of 1,436 amino acids, which homology and phylogenetic analyses showed to be related with fish PER1 proteins possessing very high identity with *Oryzas latipes per1*. The *per1* expression analysis showed that it is expressed in all the tissues analyzed (brain, heart, liver, gill, muscle, digestive tract, adipose tissue, spleen and retina). In addition, a daily expression rhythm, with an acrophase at around ZT0 (lights on), was found in the two tissue types investigated—neural (brain) and peripheral (liver and heart). In conclusion, identification and characterization of the gene encoding sea bass *per1* provide valuable information for understanding the circadian mechanism at the molecular level in this species, although further research is needed to clarify the exact role that *per1* plays in the circadian oscillator and the dual behavior of European sea bass.

Justificación

La lubina, *Dicentrarchus labrax*, es una especie de interés para la acuicultura mediterránea que posee la habilidad de invertir sus patrones de comportamiento. Bajo condiciones ambientales naturales muestra una actividad alimentaria nocturna en invierno, mientras que el resto del año muestra una actividad diurna (Sanchez-Vazquez *et al.*, 1998). Sin embargo, curiosamente, en condiciones constantes de fotoperiodo y temperatura también se han observado estas inversiones comportamiento (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995). Estudios previos han revelado que los ritmos de alimentación no son respuestas pasivas a cambios en las condiciones ambientales sino que tienen un componente endógeno. En el contexto de la acuicultura, el estudio de estos cambios en los patrones de comportamiento, podría ayudar a optimizar la alimentación y producción de ésta y otras especies. El control de los ritmos de comportamiento diarios y estaciones es mediado por los llamados «genes reloj». Estos genes han sido muy estudiados en pez cebra (Whitmore *et al.*, 1998; Cermakian *et al.*, 2000) y también han sido mostrados en otras especies como *Siganus*, *Takifugu rubripes*, *Tetraodon nigroviridis*, y *Oryzias latipes*. Sin embargo, en especies de interés para la acuicultura, los estudios sobre estos genes son escasos. Uno de los componentes del reloj molecular es la familia de genes *period*, los cuales son esenciales para el mantenimiento del periodo y estabilidad de los ritmos circadianos. Así pues, el estudio de los genes *period* en lubina podría ayudar a discernir los mecanismos moleculares implicados en las inversiones de comportamiento. El objetivo de este estudio fue la clonación del gen *per1* de lubina, examinando su expresión en diferentes tejidos. Además, se investigó la expresión diaria en tejidos nerviosos (cerebro) y periféricos (hígado y corazón).

Material y Métodos

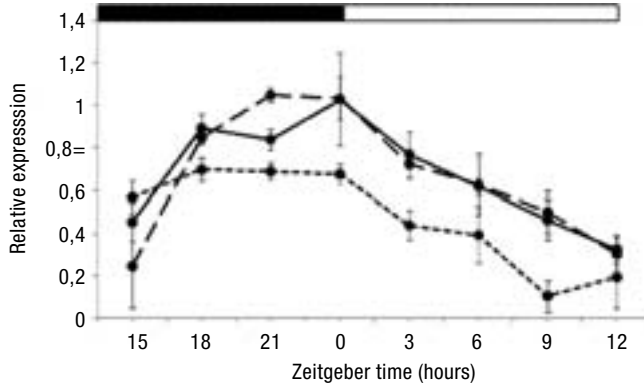
Para este estudio se utilizaron lubinas que fueron mantenidas en tanques de 500 litros bajo un fotoperiodo 12L:12D. Después de dos semanas de aclimatación, los peces fueron anestesiados y diseccionados a lo largo de 24 horas, tomando muestras de cerebro, hígado y corazón cada 4 horas. Además se tomaron muestras de tracto digestivo, agallas, retina, musculo y bazo a las 9:00 horas (ZT0, en el encendido de las luces). Las muestras fueron homogeneizadas en Trizol (Invitrogen) y se llevo a cabo la extracción del RNA total con el kit PureLink Micro-to-Midi Systems (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante.

Utilizando oligonucleótidos degenerados diseñados en base a secuencias conservadas de genes *period* de otras especies, se amplificó una región que fue clonada en un plásmido (pGEM-T, Promega) y secuenciada. A continuación se llevó a cabo la PCR 3' y 5'-RACE para obtener la secuencia completa de este gen. La determinación de la distribución de expresión de *per1* en lubina fue llevada a cabo mediante RT-PCR. Por último, se midió la expresión de *per1* por PCR a tiempo real utilizando SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) y ABI Prism 7500 (Applied Biosystems).

Resultados y Discusión

En este estudio se llevó a cabo la clonación del gen *per1* de lubina, el cual contenía un ORF que codifica para una proteína con una alta homología a otras PER1 de teleosteos. El análisis de su expresión mediante RT-PCR reveló que este gen es expresado en todos los tejidos analizados (cerebro, hígado, corazón, agallas, musculo, digestivo, bazo y retina). Además, se analizó su expresión a lo largo de 24 horas en cerebro,

Figura 1. Expresión de *per1* en cerebro (línea continua), hígado (línea de puntos) y corazón (línea discontinua). El tiempo se muestra en zeitgeber time (Z0 = encendido de las luces)



hígado y corazón. En los tres tejidos se encontró un ritmo de expresión circadiano con una acrofase o pico de expresión cercano a ZT0 (encendido de las luces), similar a lo encontrado para este gen en otras especies de teleosteos (Fig. 1).

En conclusión, en este estudio hemos clonado completamente el gen *per1* de lubina, mostrando que este gen es expresado en todos los tejidos analizados. Además hemos mostrado que este gen presenta un patrón de expresión circadiano tanto en tejidos nerviosos, como en tejidos periféricos. La identificación y caracterización de este gen, proporciona una valiosa información para profundizar en el estudio de relojes moleculares y de las inversiones de comportamiento de esta especie.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto «Aquagenomics» (nº 28502) del MICINN.

Bibliografía

- Cermakian N, Whitmore D, Foulkes NS, Sassone-Corsi P. (2000). Asynchronous oscillations of two zebrafish CLOCK partners reveal differential clock control and function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 97: 4339-4344
- Sanchez-Vazquez FJ, Madrid JA, Zamora S. (1995). Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. *J. Biol. Rhythms* 10: 256-266
- Sanchez-Vazquez FJ, Azzaydi M, Martinez FJ, Zamora S, Madrid JA. (1998). Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiol. Int.* 15: 607-622
- Whitmore D, Foulkes NS, Strahle U, Sassone-Corsi P. (1998). Zebrafish Clock rhythmic expression reveals independent peripheral circadian oscillators. *Nat. Neurosci.* 1: 701-707

Efecto de la temperatura en el crecimiento, supervivencia y desarrollo larvario del mejillón *Mytilus galloprovincialis*

C. Sánchez-Lazo¹, I. Martínez-Pita¹ y M. L. Cordero¹

¹ IFAPA. Centro Agua del Pino. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Ctra. Punta Umbria-Cartaya, km 12. Huelva. E-mail: clara.sanchez@juntadeandalucia.es

Abstract

Under homogeneous salinity, nutrition and light, the effect of water temperatures of 17, 20 and 24°C on survival, growth and development of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* larvae was studied in the laboratory. It was observed that growth was delayed and survival was dramatically lower after metamorphosis with a water temperature of 17°C. It was also shown that metamorphosis occurred with smaller larvae in a water temperature of 24°C. Results suggest that temperatures under 20°C are not optimal for the *Mytilus galloprovincialis* larvae culture.

Justificación

En los últimos años ha venido incrementándose el interés por la producción de mejillones en bateas en las costas andaluzas. Sin embargo, el éxito del cultivo de mejillón en Andalucía dependerá en gran parte de la producción de semillas en sistemas controlados (criaderos), puesto que sólo en la provincia de Málaga la densidad de semilla es suficiente para mantener este tipo de explotaciones (Tirado y Macías, 2006). Para eso es fundamental conocer los aspectos biológicos de la reproducción del mejillón y de sus estadios tempranos del desarrollo. Entre los factores que afectan al crecimiento larvario de bivalvos, la temperatura es uno de los que ha recibido mayor atención (Bayne, 1983), y es clave en la fase de metamorfosis y fijación para algunas especies de bivalvos del género *Ruditapes*, *Pecten* o *Perna*.

Material y Métodos

Para la obtención de larvas, se indujo la puesta a 80 individuos adultos provenientes de La Atunara (Cádiz, España) a base de ciclos de temperatura y de inmersión-emersión. Los huevos resultantes se incubaron durante 48 horas a 22°C. Tras la incubación, las larvas D se recogieron en tamicos de 40 µm, se contaron y se distribuyeron en 9 vasos de 1 L a razón de 15.555 larvas/L. De esos 9 vasos, tres se cultivaron a 17 ± 0,5°C, otros tres a 20 ± 0,5°C y otros tres a 24 ± 0,5°C. La dieta de los nueve vasos fue la misma: 50Θ *Isochrysis galbana* clon Ti/µL cada dos días durante la primera semana, y 50Θ Ti + 50Θ *Chaetoceros* sp./µL a partir del octavo día de cultivo. Cada 3-5 días, coincidiendo con la limpieza y renovación de los cultivos, se muestreó la supervivencia, el crecimiento (longitud anteroposterior) y el estado de desarrollo (velíger, pedivelíger, postlarva) de las larvas en cada vaso. Se consideró terminada la etapa de cultivo larvario cuando el porcentaje de postlarvas en cada vaso fue igual o mayor al 30%.

Resultados y Discusión

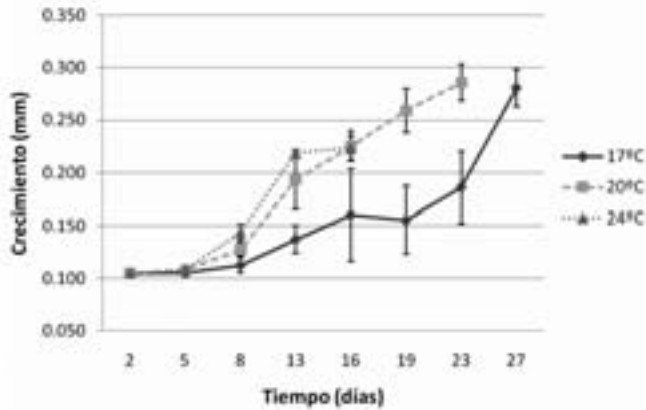
En esta experiencia se partió de larvas con un tamaño de 105 ± 4µm. No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de las larvas cultivadas a 20°C y 24°C; sin embargo, el tamaño de las larvas cultivadas a 17°C fue significativamente menor de las anteriores a partir del 13^{er} día de cultivo (Fig. 1).

A 17°C las larvas pedivelíger comienzan a aparecer en el día 16 de cultivo, mientras que a 20 y 24°C las larvas pedivelíger aparecen y sustituyen por completo a las velíger ya en el día 8. En los cultivos a 17°C, las postlarvas aparecen el día 27, mientras que ya están presentes desde el día 16 a 20 y 24°C.

El día 16 se retiró el cultivo a 24°C con una supervivencia del 6,4%, y un tamaño medio de las larvas de 223 ± 12 µm. Ese día, en los cultivos a 17 y 20°C la supervivencia media fue de 7,1% y 20,0% respectivamente, y el tamaño medio de las larvas fue de 160 ± 44 µm y de 225 ± 14 µm respectivamente. El día 23 se retiró el cultivo a 20°C con una supervivencia del 3,0% y un tamaño medio de las larvas de 286 ± 18 µm. Ese día, en el cultivo a 17°C la supervivencia fue de 0,9% y el tamaño medio de las larvas fue de 286 ± 34 µm. El día 27 se retiró el cultivo a 17°C con una supervivencia del 0,5% y un tamaño medio de las larvas de 281 ± 18 µm.

De entre los factores que influyen en la fijación de larvas de bivalvos, la temperatura actúa favoreciendo la emisión de neurotransmisores desencadenantes de la metamorfosis como la epinefrina (Joaquim *et al.*,

Figura 1. Crecimiento de larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* a temperaturas de cultivo de 17, 20 y 24°C. Las barras representan la desviación estándar de la distribución



2008). En nuestro ensayo hemos observado que, efectivamente, con la temperatura de cultivo más elevada las larvas metamorfosearon antes y con un menor tamaño.

En resumen, el cultivo de larvas del mejillón *Mytilus galloprovincialis* resultó más corto y tuvo una mayor supervivencia a una temperatura de cultivo de 24°C frente a temperaturas de 20°C y 17°C.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por el Subprograma de Formación de Personal Investigador en agroalimentación en los centros de investigación INIA-CCAA y por el Proyecto 0251_ECOAQUA_5_E, del Programa de Cooperación Territorial España-Portugal 2007-2013.

Bibliografía

- Bayne, B.L. 1983. The physiological ecology of marine molluscan larvae. En: *The Mollusca*. Vol.3. N.H.Verdonk, J. A. M. van den Biggelaar, A.Tompa, (Eds.) Academic Press, Nueva York: 299-343.
- Joaquim, S., D. Matias y O. Moreno. 2008. *Cultivo de bivalvos en criadero*. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura y Pesca (Junta de Andalucía). 84 pp.
- Tirado, C. y J.C. Macías. 2006. *Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía*. Junta de Andalucía. Dirección General de Pesca y Acuicultura (Junta de Andalucía). 176 pp.

Crecimiento y supervivencia del esturión *Acipenser naccarii* durante su permanencia en el agua de mar

A. Sanz¹, J. A. Santiago³, J. A. Hernando⁴, T. González⁴, M. Furné¹, C. Trenzado¹,
M. C. Hidalgo¹, M. García-Gallego¹, F. Picón² y A. Domezain²

¹ Dpto. Biología Animal. Universidad de Granada. Campus Fuentenueva. 18071 Granada. anasanz@ugr.es

² Dpto. I+D Piscifactoría «Sierra Nevada». Riofrío (Granada)

³ Delegación de Acuicultura y Pesca. Consejería de Acuicultura y Pesca. Junta de Andalucía (Cádiz)

⁴ Dpto. Biología. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Cádiz

Abstract

This work takes place in a set of test that pretends to follow the experiments done previously in which the acclimatization of the sturgeon *Acipenser naccarii* to saltwater was under study. Our aim was studying the physiological response of this specie during it permanence in saltwater. The results obtained indicate that the sturgeon with two years old, after being in an acclimatization period of 30 days in saltwater and in a permanence period of 166 days in water salinity of 36‰, presents a food behaviour, growing and survival rate and corporal composition according with a good adaptation to the marine environment.

Justificación

Debido principalmente al efecto antropogénico, la mayoría de especies de esturiones se encuentran actualmente en un serio riesgo de desaparición y demandan políticas y medidas de protección y recuperación. *Acipenser naccarii* está incluida entre la «fauna estrictamente protegida» de la Convención de Berna, además, su comercio está restringido desde 1998, planteándose la necesidad de políticas activas de recuperación en toda su área histórica de distribución que incluye las costas de la Península Ibérica (Domezain, 2003). En este sentido, la cría mediante prácticas de acuicultura puede ayudar, no sólo a generar los individuos necesarios para dichas prácticas sino también para aportar especímenes con los que realizar un estudio exhaustivo de sus principales caracteres biológicos.

Acipenser naccarii es una especie anádroma en la que no está bien definido el momento en que se inician los procesos de adaptación al cambio de salinidad en el medio natural. Su conocimiento permitiría la posibilidad de extender su cultivo a aguas litorales, ampliar el de la biología de la especie en cuanto a procesos de osmorregulación y, además, utilizarse como referencia para posibles experiencias de repoblación en los ríos andaluces. Nuestro grupo ha llevado a cabo algunos estudios de marinización de *A. naccarii* (García Gallego *et al.*, 1997; Sánchez de Lamadrid *et al.*, 1995; Martínez-Álvarez, 2003; Martínez-Álvarez *et al.*, 2005), en los que hemos puesto de manifiesto la supervivencia del esturión al proceso de aclimatación al agua salada y la edad más adecuada para una mayor supervivencia.

El presente trabajo forma parte de un bloque de ensayos donde se pretende continuar los anteriores, tratando de ver qué ocurre con los animales después del proceso de aclimatación y durante su permanencia en agua salada. Concretamente se evalúa el éxito de la aclimatación mediante un estudio a largo plazo de supervivencia, alimentación y crecimiento así como de la evolución de ciertos parámetros fisiológicos relacionados con el proceso.

Material y Métodos

Un lote general de 60 animales (2+, 414 g) procedentes de las instalaciones de Piscifactoría «Sierra Nevada» en Riofrío (agua dulce) se sometió a una aclimatación al agua salada mediante la adición controlada de agua de mar: aumento de salinidad de 2‰/día durante los primeros 7 días y 1‰/día hasta una valor final de 36‰ a los 30 días, tras lo cual la salinidad se mantuvo constante hasta completar los 196 días del experimento. Otro grupo equivalente de animales se mantuvo como control de agua dulce en la propia piscifactoría. El experimento se llevó a cabo en una cetárea propiedad de la Cofradía de Pescadores de Cádiz, situada en el Puerto Pesquero de Cádiz. El tanque general era de hormigón, recubierto de poliéster y de forma rectangular, con una superficie de 459,8 m², y un volumen de agua de 293 m³. El aporte de agua de mar, previamente filtrada (columna de carbón activo) se realizó mediante una bomba (Q = 48 m³/h) sumergida en el mar a 22 m de profundidad. La renovación del agua fue de 4 veces/día, gracias a la acción de bombas de 0,5 L/s situadas en el extremo opuesto a la entrada de agua (2 bombas durante el proceso de marinización y 1 cuando el sistema se encuentra en circuito abierto al alcanzarse la salinidad final deseada). El aire fue suministrado por un electrosoplante conectado a 6 difusores. Diariamente se controla-

ron salinidad, oxígeno (siempre dentro del rango 6-8 mg/L) y temperatura (18-21°C durante el experimento). Durante todo el experimento los peces fueron alimentados con un pienso ecológico (40% de proteína, 15% de grasa) a razón de 0,5% del peso corporal por día durante la aclimatación, ración que se aumentó al 0,8% concluida la misma. En todos los casos la ración diaria se distribuyó en dos tomas.

Se realizaron tres muestreos (N = 9) coincidiendo con los días 33, 60 y 196 del experimento. En todas las muestras se determinaron: peso, longitud, composición del músculo (AOAC, 2000), osmolaridad total (osmómetro Osmostat) y concentración sodio, potasio, cloro y calcio (absorción atómica).

Resultados y Discusión

Desde el principio del experimento, una observación cuidadosa de los animales nos mostró una buena apetencia por el alimento que aumentó con el transcurso de los días y, sobre todo, con la estabilización de la salinidad. La supervivencia global fue del 96% de los individuos, superior a la encontrada en ensayos anteriores incluso para experimentos de menor duración (Sánchez de Lamadrid *et al.*, 1999). Además, a diferencia de esos ensayos anteriores (García-Gallego *et al.*, 1997), pudimos detectar un incremento de peso/longitud de los peces que fue acompañado, incluso, por otro del contenido de grasa muscular lo que, globalmente, podría ser indicativo de un buen estado general de los animales.

Las osmolaridad plasmática así como las concentraciones de los electrolitos estudiados aumentaron con el cambio al agua salada, aunque se trata de cambios de escasa entidad lo que habla a favor de la eficacia de los mecanismos osmorreguladores.

Podemos concluir que el esturión *Acipenser naccarii* de 2 años de edad, después de un periodo de aclimatación de 30 días al agua salada y 166 días de permanencia a salinidad 36‰, muestra un comportamiento alimentario, unas tasas de crecimiento y supervivencia y una composición corporal indicativos de una buena adaptación al medio marino.

Agradecimientos

Este trabajo se incluye dentro del proyecto «Cultivo Ecológico de Esturión en Agua de Mar: Marinización» financiado por IFAPA (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía).

Bibliografía

- Domezain, 2003. Tesis doctoral. Granada.
- García-Gallego *et al.*, 1997. Aorixunacuib a la edad mas adecuada para la marinización del esturión *Acipenser naccarii* Bonaparte 1836. II Congreso Ibérico de Biólogos Ambientales, Badajoz.
- Martínez-Alvárez *et al.*, 2002. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. The Journal of Experimental Biology 205, 3699-3706.
- Martínez-Alvárez *et al.*, 2005. Adaptative branquial mechanisms in the sturgeon (*Acipenser naccarii*) during acclimation salt water. Comp. Biochem. Physiol. 141 A, 183-190.
- Sánchez de Lamadrid *et al.*, 1999. Acclimatizagtion of the sturgeon *Acipenser naccarii* (Bonaparte 1836) to saltwater. Effect of age and weight. Seminar on Mediterranean Marine Aquaculture finfish species diversification. Tecam-Ciheam. Zaragoza (España).

Efecto del desplazamiento del fotoperiodo natural en la inducción y calidad de la puesta de la centolla, *Maja brachydactyla*

C. G. Simeó¹, A. Estévez¹ y G. Rotllant¹

¹ IRTA- Sant Carles de la Ràpita. Crta. del Poble Nou, km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita.
e-mail: carlos.garcia@irta.cat

Abstract

Induction of the off-season spawning and larval hatching under delayed photoperiod regimes has been studied in the spider crab, *Maja brachydactyla*. Broodstock has been subjected to two experimental treatments, in which natural photoperiod was delayed 3 months (group 3-) and 6 months (group 6-). Natural photoperiod was used as control. Number of batches of newly hatched larvae per female, number of larvae per hatch and female, larval individual dry weight, and proximate biochemical content (protein, carbohydrate and lipid) of newly hatched larvae were determined monthly for each treatment. No significant differences between the experimental treatments and the control group were found in any of the parameters measured. These results suggest that the use of photoperiod is not enough to induce off-season spawning and larval hatching in the spider crab.

Justificación

El control de la reproducción en cautividad es fundamental para la obtención de larvas de calidad a lo largo del año. El ciclo reproductivo de la centolla, *Maja brachydactyla*, presenta un máximo anual de puestas durante la primavera y verano (González-Gurriarán *et al.*, 1998), de forma que la inducción de puestas en el resto de estaciones del año optimizaría la producción larvaria en cautividad. Estudios previos muestran que el ciclo reproductivo se mantiene en cautividad con un fotoperiodo natural (Andrés *et al.*, 2008) y es influenciado negativamente por los fotoperiodos fijos (12L:12D y 16L:8D; Luz: Oscuridad en Simeó *et al.*, 2007). El objetivo del presente estudio es la inducción de la puesta fuera del ciclo reproductivo natural de la centolla mediante el retraso de la variación estacional del fotoperiodo natural.

Material y Métodos

Los reproductores de *Maja brachydactyla*, capturados en Galicia, se distribuyeron en tanques de 2000 L, a razón de 6 hembras y 2 machos por tanque, conectados a un sistema de recirculación y mantenidos a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, $34 \pm 2\text{‰}$ y alimentados con mejillón fresco y cangrejo congelado. Los reproductores se sometieron a dos tratamientos experimentales en los que la variación estacional del fotoperiodo natural se retrasó 3 (grupo 3) y 6 meses (grupo 6-). El fotoperiodo natural fue utilizado como control (C). El experimento se inició en febrero de 2008 y finalizará en diciembre de 2009.

Para cada tratamiento, se estimó el número de puestas por hembra (en adelante, se entiende por puesta la aparición de larvas recién eclosionadas), el número de larvas por puesta y hembra, el peso seco individual y el porcentaje respecto el peso seco de proteínas (PRT), carbohidratos (CH) y lípidos totales (LPD). La extracción y cuantificación de las PRT y CH se realizó según Bradford (1976) y Dubouis *et al.* (1956), respectivamente. Los LPD se extrajeron según Folch *et al.* (1957) y se cuantificaron por gravimetría.

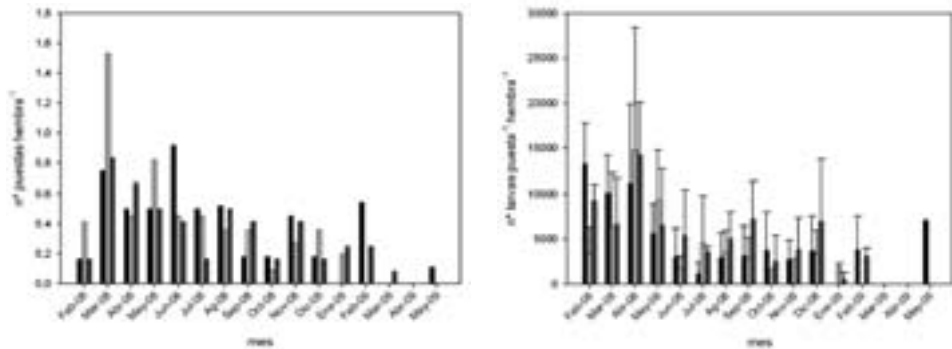
El análisis estadístico se realizó mediante un ANOVA de una vía entre los diferentes tratamientos y entre las medias mensuales para cada tratamiento. Para la comparación post-hoc entre grupos se utilizó el test de Tukey ($P < 0,05$). El número de larvas por puesta y hembra se normalizaron mediante el método de la raíz cuadrada antes del análisis.

Resultados y Discusión

Se presentan los resultados preliminares desde febrero de 2008 hasta mayo de 2009. Los grupos experimentales presentan un comportamiento similar al grupo control respecto el número de puestas por hembra y número de larvas por puesta y hembra (Fig. 1), con una disminución de los valores hasta octubre de 2008 y un posterior aumento durante el otoño. Los valores del segundo año fueron inferiores y se dejaron de obtener puestas. El peso seco individual de las larvas, el porcentaje de PRT, CH y LPD no variaron significativamente entre los grupos. Sin embargo, el porcentaje de PRT disminuyó significativamente entre 2008 y 2009 en los tres grupos (C y 6-: $P < 0,001$; 3-: $P = 0,020$), en paralelo a un incremento significativo del porcentaje de CH (C, 3- y 6-: $P < 0,001$).

Los resultados sugieren que el desplazamiento del fotoperiodo es insuficiente para inducir la puesta en di-

Figura 1. *Maja brachydactyla*. A) Variación anual del número de puestas por hembra. B) Variación anual del número de larvas por puesta y hembra (media y desviación estándar). Tratamientos: C) en negro; 3-, en gris claro; 6- en gris oscuro



ferentes épocas del año. El número de puestas por hembra y número de larvas por puesta y hembra de los tratamientos experimentales muestran un comportamiento similar al grupo control y a lo observado en el medio natural (González-Gurriarán *et al.*, 1998). A pesar de que el fotoperiodo parece ejercer un fuerte control sobre el ciclo reproductivo de la centolla (Simeó *et al.*, 2007), otros factores podrían ser necesarios para la inducción a la puesta, como la temperatura (Matsuda *et al.*, 2002). La disminución en el número de puestas por hembra, larvas por puesta y hembra y porcentaje de PRT en las larvas recién eclosionadas sugiere un efecto negativo de la estabulación, que podría estar relacionado con el estado nutricional, edad o agotamiento reproductivo de los reproductores (Racotta *et al.*, 2003).

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR), dentro del proyecto *Cria de Maja* sp. y apoyado por el Comissionat per a Universitats i Recerca del DIUE de la Generalitat de Catalunya y el Fondo Social Europeo. Este estudio ha sido posible gracias a G. Maciá, M. Matas, S. Molas, J. Canoura (mantenimiento de los ejemplares) y M. Sastre y N. Gras (análisis bioquímicos).

Bibliografía

- Andrés, M., A. Estévez, C. G. Simeó y G. Rotllant. Annual variations in quantity and quality of newly hatched larvae of *Maja brachydactyla* in captivity. En: *Actas del IX Colloquium Crustacea Decapoda Mediterranea*: 25.
- González-Gurriarán, E., L. Fernández, J. Freire y R. Muiño. 1998. Mating and role of seminal receptacles in the reproductive biology of the spider crab *Maja squinado* (Decapoda, Majidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 220 (2): 269-285.
- Matsuda, H., T. Takenouchi y T. Yamakawa. 2002. Effects of photoperiod and temperature on ovarian development and spawning of the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Aquaculture*. 205(3-4): 385-398.
- Racotta, I. S., E. Palacios y A. M. Ibarra. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture*. 227 (1-4): 107-130.
- Simeó, C. G., M. Andrés, A. Estévez y G. Rotllant. 2007. Efecto de la proporción de sexos, el fotoperiodo y la salinidad en la calidad de la puesta de la centolla, *Maja brachydactyla*. En: *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 567-570.

Localización de la expresión de leptina en *Carassius auratus* y su regulación por el fotoperiodo en el hígado

A.B. Tinoco, L.G. Nisembaum, E. Isorna, N. de Pedro, E. Velarde y M.J. Delgado.

Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II). Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid. e-mail: mjdelgad@bio.ucm.es.

Abstract

Leptin is a hormone involved in the energy balance regulation, with an anorectic effect in goldfish. In the present work, available leptin sequences of *Carassius auratus* were compared with sequences from other fish species, and their peripheral and central distribution were analyzed. Three different types of leptin were distinguished in goldfish: leptin A1, leptin A2 and leptin B. The highest leptin A1 expression was observed in peripheral organs (gonads and liver); meanwhile leptin A2 was mainly expressed in the central nervous system. Possible daily variations of the hepatic expression of leptin A1 were analyzed under different lighting conditions (24L, 24D, 12L:12D and 12D:12L). Leptin A1 transcript levels were lower in fish maintained at constant darkness compared to the other experimental groups. Besides, it seems that the daily photocycle by itself did not modify the daily expression of liver leptin A1.

Justificación

La leptina en los peces tiene una función anorexigénica, disminuyendo significativamente la ingesta y el peso corporal en *C. auratus* (Volkoff, Eykelbosh y Peter, 2003; De Pedro, Martínez-Álvarez y Delgado, 2006). En esta especie, actualmente están publicadas diversas secuencias (FJ534535 y EU095524 y AY547322) que parecen ser homólogas a las secuencias que codifican para leptinas de otras especies de vertebrados. Sin embargo, aún no se conoce dónde se expresan tales leptinas, si existen diferencias entre ellas, o los factores que regulan su expresión. Por tanto, el primer objetivo de este estudio ha sido identificar los lugares de expresión de las diferentes leptinas secuenciadas en esta especie. Además, estudios recientes de nuestro grupo sugieren que los efectos anoréticos de la leptina dependen del fotoperiodo. Así, nuestro siguiente objetivo fue investigar si este factor ambiental puede modificar la expresión de leptina, y para ello elegimos el hígado, propuesto como principal fuente de leptina en los peces (Huisling *et al.*, 2006).

Material y Métodos

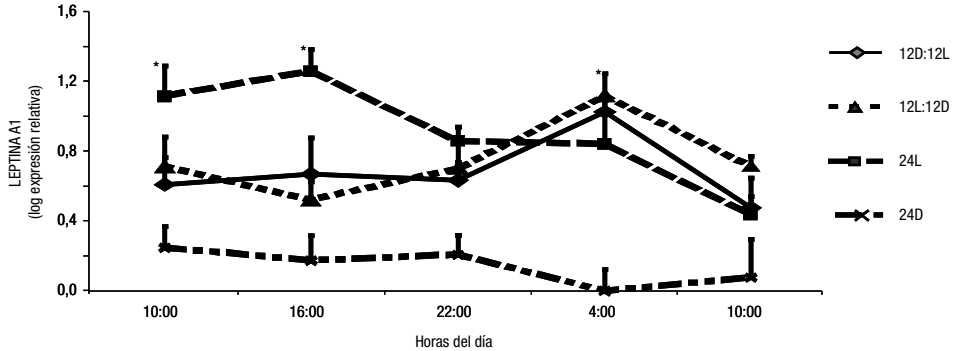
Para el primer objetivo los peces se mantuvieron en un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (12L:12D). Para el segundo objetivo los carpines se dividieron en 4 grupos experimentales que se mantuvieron durante 1 mes en los siguientes fotoperiodos: 12L:12D, 12D:12L, 24D (oscuridad continua) y 24L (luz continua). Los animales se sacrificaron cada 6 horas durante un ciclo completo de 24 horas. Los tejidos extraídos (músculo, tejido adiposo perivisceral, corazón, bazo, intestino anterior y posterior, hígado, riñón, gónadas, branquias, retina, cerebelo, hipófisis, hipotálamo, techo óptico y telencéfalo) se conservaron en RNA*later* (Sigma) y se almacenaron a -80°C hasta su utilización. La expresión del ARNm de las diferentes leptinas se analizó por PCR cuantitativa a tiempo real. La cuantificación se realizó utilizando el método $\Delta\Delta C_T$, normalizando con el ARNr 18S.

Las secuencias se obtuvieron en la base de datos Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) y se analizaron mediante los programas BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) y CLUSTALW (<http://align.genome.jp/>). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía seguida del test de Tukey (Statgraphics).

Resultados y Discusión

Con el fin de comparar la similitud de las diferentes leptinas del carpín con las descritas en otras especies de teleosteos, se realizó un alineamiento de secuencias que mostró que las secuencias FJ534535 y EU095524 parecen corresponder a las leptinas I y II de carpa (*Cyprinus carpio*), respectivamente. La secuencia AY547322 es similar a la leptina B de *Oryzias latipes*. A partir de estos resultados hemos denominado a las secuencias FJ534535, EU095524 y AY547322 del carpín, leptina A1, leptina A2 y leptina B. En este estudio nos hemos centrado en el análisis de la expresión de las leptinas A1 y A2. La leptina A1 se expresa principalmente en tejidos periféricos (gónadas > hígado > riñón ~ intestino posterior ~ intestino anterior ~ bazo ~ cerebelo ~ hipófisis ~ telencéfalo ~ techo óptico ~ hipotálamo > retina). La leptina A2 es más abundante en el sistema nervioso central del carpín (techo óptico > cerebelo > telencéfalo ~ hipotálamo > gónada ~ hígado), a diferencia de lo que sucede en la carpa, que se expresa mayoritariamente en

Figura 1. Expresión hepática de leptina A1 en *Carassius auratus* mantenidos en diferentes condiciones de iluminación. Los datos se expresan como la media \pm e.e.m. ($n = 6/\text{grupo}$). * $p < 0,05$ entre 24L y 24D



hígado (Huisling *et al.*, 2006). No se ha observado expresión de ninguno de los dos tipos de leptina en el tejido adiposo perivisceral. Este diferente patrón de expresión de las leptinas A1 y A2 en el carpín pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios adicionales dirigidos a investigar las posibles funciones de las distintas leptinas en los peces.

La expresión hepática de leptina A1 en los peces mantenidos en oscuridad constante se reduce significativamente respecto al resto de grupos experimentales (Fig. 1). Además, el ciclo diario de luz-oscuridad (grupos 12L:12D y 12D:12L) *per se* no condiciona la expresión diaria de leptina A1 en el hígado. La exposición a luz constante tiende a aumentar los niveles basales de expresión de leptina A1 en este órgano.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por los proyectos AGL2007-65744-C03-03 del Ministerio de Educación y Ciencia, y GR58-08, de la Comunidad de Madrid y la Universidad Complutense. A.B.T. y E.V. son becarias predoctorales de FPI (MEC), L.G.N. es becaria del programa MAEC-AECI.

Bibliografía

- De Pedro, N., R. Martínez-Álvarez, M.J. Delgado. 2006. Acute and chronic leptin reduces food intake and body weight in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Endocrinology* 188: 513-520.
- Huisling, M.O., E.J.W. Geven, P.K. Corine, B.N. Sander, E.H. Stolte, F.A.T. Spanings, B.M.L. Verburg-van Kemenade, G. Flik. 2006. Increased leptin expression in common carp (*Cyprinus carpio*) after food intake but not after fasting or feeding to satiation. *Endocrinology* 147(12): 5786-5797.
- Volkoff, H., A.J. Eykelbosh, R.E. Peter. 2003. Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain Research* 972(1-2): 90-109.

Estudio de las defensas enzimáticas antioxidantes en tres especies del erizo de mar (*Arbacia lixula*, *Sphaerechinus granularis* y *Paracentrotus lívidus*)

C.E. Trenzado, M.E. Díaz, F. Hidalgo, M. Furné, y A. Sanz

Dpto. Biología Animal. Universidad de Granada. Campus Fuentenueva. 18071 Granada. anasanz@ugr.es

Abstract

The study of the oxidative state of animals in general may be a tool to indicate physiological peculiarities like the metabolic activity, alimentary habits, age. Furthermore, the antioxidant defence level may suffer changes from animal exposure to stressor component and so can be used as biochemical biomarkers. The aim of the present work is to study the oxidative state under natural condition of sea urchins *Arbacia lixula*, *Sphaerechinus granularis* y *Paracentrotus lívidus*, which will suppose the start point of future works trying to explain the interaction between abiotic and biotic factors in these animals. The results showed that there are important differences between species, tissue and sex.

Justificación

La generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) en las células está acompañada por la aparición de un sistema de defensas antioxidantes. Una baja eficiencia de dicho sistema ocasiona estrés oxidativo con el consiguiente daño a las diferentes macromoléculas.

El estudio del estado oxidativo de los animales puede indicar peculiaridades fisiológicas, actividad metabólica, hábitos alimentarios, edad, cambios antes agentes medioambientales y utilizarse como biomarcadores (Ahmad and Perdini, 1990; Barbehenn, 2003; Kim *et al.*, 2007). Los biomarcadores en especies acuáticas pueden ser interesantes para detectar la presencia de agentes contaminantes y cambios de las condiciones ambientales (temperatura, pH, oxígeno disuelto, etc.).

El objetivo de este trabajo es hacer una evaluación del equipamiento enzimático antioxidante de tres especies de erizo de mar, *Arbacia lixula*, *Spahaerechinus granularis* y *Paracentrotus lívidus*, correspondiente al tejido gonadal y al extragonadal.

El conocimiento del estado oxidativo de estas especies en condiciones naturales podrá servir de punto de partida para futuros trabajos donde se trate de comprender la interacción de diferentes factores bióticos y abióticos y avanzar en el conocimiento de las necesidades nutricionales y ambientales necesarias para el establecimiento de un cultivo integral. Asimismo, también se podría considerar su utilización como biomarcadores

Material y Métodos

Animales

Los erizos *Arbacia lixula* (erizo negro), *Spahaerechinus granularis* (erizo violáceo) y *Paracentrotus lívidus* (erizo común) fueron extraídos del infralitoral rocoso de la playa del embarcadero de Calahonda (Granada) a una profundidad que varió entre 1 y 5 m. En este rango los erizos negros tendían a estar más en superficie, en la zona más expuesta al oleaje, y el erizo común y el violáceo, más en profundidad. Las capturas tuvieron lugar en el mes de mayo de 2009 y las condiciones del agua eran: temperatura: 17°C, salinidad: 38‰ y oxígeno a saturación.

Tratamiento y análisis de las muestras

La extracción de las gónadas y tejido gonadal de 6 animales de cada especie (3 de cada sexo), se hizo *in situ*, conservándose en nitrógeno líquido y posteriormente almacenándose -80°C hasta el momento de realización de los distintos análisis. Las actividades de las enzimas antioxidantes determinadas fueron superóxido dismutasa (SOD); glutatión peroxidasa (GPX); glutatión reductasa (GR); catalasa (CAT); glutatión transferasa (GST); diaforasa (DTD). Los niveles de peroxidación lipídica (MDA) también fueron determinados. Por último se determinó la actividad de la glucosa 6-fosfato dehidrogenasa (G6PDH), enzima implicada en aportar poder reductor mediante la generación de NADPH. El contenido en proteína fue determinado por el método de Bradford.

Resultados y Discusión

La actividad de las diferentes enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPX, GR, GST y DTD determinadas en las gónadas y tejido extragonadal de *A. lixula*, *S. granularis* y *P. lividus*, junto con los niveles de peroxidación lipídica nos indican que:

En el tejido extragonadal existe una mayor actividad de las diferentes enzimas antioxidantes en *P. lividus*, especialmente GR, G6PDH y DTD.

En el tejido gonadal la especie *S. granularis* destaca por un mayor potencial antioxidante, fundamentalmente se encuentran más elevadas la SOD, GR, G6PDH y DTD, lo que explicaría un menor MDA en gónadas que el resto de las especies.

La especie *A. lixula* destaca por una marcada actividad GST tanto en gónadas como en el tejido extragonadal y un mayor nivel de MDA en gónadas. Asimismo, en esta especie las gónadas de los machos presentan un superior potencial antioxidante con respecto a las gónadas de las hembras, especialmente debido a las enzimas CAT, SOD, GR, G6PDH y DTD, posiblemente este hecho explique unos inferiores valores de MDA en las gónadas del macho de esta especie. Estas diferencias entre sexos también hay que destacarlas en la especie *Paracentrotus lividus* pero de forma menos marcada, tanto en gónadas como en el tejido extragonadal, siendo la GR y G6PDH las enzimas más elevadas en gónadas de macho.

Cuando comparamos entre tejidos, en general las gónadas de *S. granularis* destacan por un mayor potencial antioxidante, como se ha comentado anteriormente. Otras diferencias marcadas entre gónadas y tejido extragonadal son para las enzimas CAT y GST que son más elevadas, en todas las especies, en el tejido extragonadal, mientras que la actividad de la SOD y G6PDH es mayor en gónadas en las especies *A. lixula* y *S. granularis*. Por último los niveles de MDA son mayores en el tejido extragonadal en todas las especies.

Los diferentes resultados podrán explicarse en base a la biología y ecología de las diferentes especies de erizos de mar estudiadas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

Bibliografía

- Ahmad, S., Pardini R.S. 1990. Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Rad. Biol. Med.* 8: 401-413.
- Barbehenn, R.V. 2003. Antioxidants in grasshoppers: higher levels defend the midgut tissues of a polyphagous species than a graminivorous species. *J. Chem. Ecol.* 29:683-702.
- Kim, B.Y., Kim, H.J., Lee, K.S., Seo, S.J., Jin, B.R. 2007. Catalase from the white-spotted flower chafer, *Protaetia brevitarsis*: cDNA sequence, expression, and functional characterization. *Comp. Biochem. Physiol.* 149B: 183-190.

Efecto de la salinidad sobre los perfiles de ácidos grasos y la actividad Na^+/K^+ -ATPasa de branquias de dorada, *Sparus aurata*

R. Ureña¹, M.J. Pérez², E. Viciano³, N.G. Acosta², I. Varó³, A. Torreblanca¹,
C. Rodríguez² y J.C. Navarro³

¹ Departamento de Biología Funcional y Antropología Física. Universidad de Valencia. Dr. Moliner, 50. 46100 Burjassot (Valencia). Rocio. Urena@uv.es

² Departamento de Biología Animal. Universidad de La Laguna. 38206 La Laguna (Tenerife)

³ Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (CSIC). 12595 Ribera de Cabanes (Castellón)

Abstract

To study physiological changes induced by salinity, gilthead seabream (350 g) were randomly distributed in two groups. One was gradually acclimated to water of 18-20 g L⁻¹ salinity (low), whereas another group was kept as a control at 37 g L⁻¹ (high). After 5 months (mean weight: low: 521 ± 88 g; high 453 ± 65 g), fish were sampled (n = 6), anaesthetized, dissected and their branchial arches isolated for analysis of fatty acids and Na^+/K^+ -ATPase activity. Total lipids were extracted, an aliquot further fractionated into polar and neutral classes and the fatty acids analysed by gas chromatography. The resulting fatty acid profiles were chemometrically studied by principal components analysis (PCA). The score plot obtained after the generation of the two first principal components was used to analyse the fatty acid patterns. Main pattern of differentiation was clearly associated to the polar-neutral lipid classes, with the total lipid fatty acid composition highly related to the polar fraction. Fatty acid profiles of fish kept at the two salinities were hardly distinguishable within the fractions, whereas Na^+/K^+ -ATPase activity showed a tendency towards lower values in gills of fish kept at low salinity.

Justificación

Como parte de un amplio estudio sobre la búsqueda de biomarcadores útiles para evaluar el impacto del cambio climático en peces de interés acuícola y pesquero, se han analizado los efectos de la salinidad en los perfiles de ácidos grasos de los lípidos totales, neutros y polares, y en la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa de branquias de dorada europea.

Material y Métodos

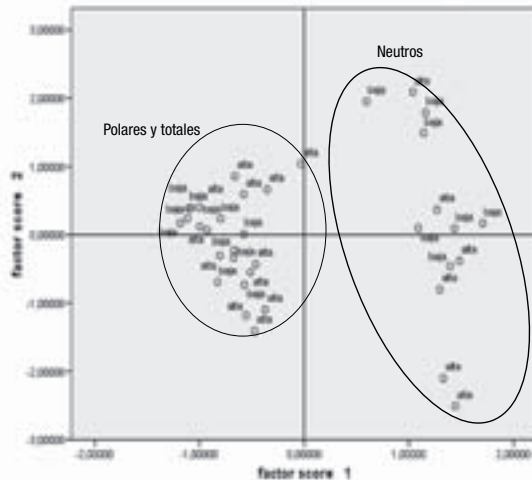
Doradas de 350 g de peso inicial, fueron distribuidas al azar en dos grupos. Uno mantenido como control a la salinidad del agua de mar (37 g L⁻¹: alta), y otro gradualmente aclimatado hasta 18-20 g L⁻¹ (baja). A los 5 meses (peso medio: baja: 521 ± 88 g; alta: 453 ± 65 g), los peces fueron sacrificados tras anestesia y los arcos branquiales congelados y liofilizados. Una alícuota de los lípidos totales extraídos con cloroformo:metanol (2:1), se fraccionó en polares y neutros mediante cromatografía en capa fina. Los ácidos grasos se derivatizaron mediante transmetilación catalizada por ácido, y tras su purificación en capa fina, fueron analizados por cromatografía de gases. Los perfiles de ácidos grasos de los lípidos totales, polares y neutros se estudiaron quimiométricamente mediante un análisis de componentes principales (PCA) y la representación gráfica de las puntuaciones (SPSS ver. 17). Asimismo, se determinó la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en las branquias de ambos grupos de peces.

Resultados y Discusión

El PCA de la matriz de datos correspondiente a los perfiles de ácidos grasos de los lípidos totales, polares y neutros muestra que los dos primeros componentes explican el 92% de la varianza total (70 % el primer componente y 22% el segundo). Las variables más asociadas al primer componente son el 20:4n-6 y el 22:6n-3 en el lado negativo, y los monoenos de 16 y 20 carbonos en el positivo. La variable 16:0 está muy asociada al segundo componente en la parte negativa, mientras que los poliinsaturados de 18 carbonos lo están, pero mucho menos, en la parte positiva. El gráfico de puntuaciones (Figura 1.) muestra una clara separación entre los lípidos polares y totales por un lado, y los neutros por otro. Así, los primeros están asociados a ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6, mientras que los segundos lo están a monoenos de 16 y 20 carbonos.

Asimismo, la falta de grupos definidos entre las dos salinidades dentro de las diferentes fracciones lipídicas, señala la ausencia de patrones específicos de ácidos grasos. La adaptación de las membranas mediante la alteración del grado de insaturación de los ácidos grasos, frente a cambios de salinidad, ha sido documentada en otros teleosteos (Khérijji *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2005). Sin embargo, no parece darse un mecanismo semejante en la dorada durante la adaptación a largo plazo a baja salinidad, sino que la os-

Figura 1. Gráfico de puntuaciones del PCA aplicado a los perfiles de ácidos grasos de los lípidos de las branquias de doradas cultivadas a dos salinidades (alta: 37 g L⁻¹, baja: 18-20 g L⁻¹)



moregulación debe basarse mayormente en el incremento de la actividad de la Na⁺/K⁺-ATPasa y otros mecanismos de transporte, y en la regulación de metabolitos plasmáticos como sustratos energéticos (Arjona *et al.*, 2007) hasta llegar a una fase de estabilidad (Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2005). De hecho, la actividad Na⁺/K⁺-ATPasa de las branquias de los peces del grupo de baja salinidad fue menor que la del grupo control (0,28 ± 0,13 y 0,45 ± 0,25 μmol Pi/mg proteína hora respectivamente), si bien, dicha diferencia no fue estadísticamente significativa.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el proyecto (CTM2006-14279-CO2/MAR). R. Ureña fue contratada dentro del plan de ayudas para estancia de doctores en centros de excelencia de la Generalitat Valenciana.

Bibliografía

- Arjona, F.J., L. Vargas-Chacoff, I. Ruiz-Jarabo, M.P.M. del Rio y J.M. Mancera. 2007. Osmoregulatory response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to changes in environmental salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology* 148: 413-421.
- Khérifi, S., M. El Cafsi, W. Masmoudi, J.D. Castell, y M.S. Romdhane, 2003. Salinity and temperature effects on the lipid composition of mullet sea fry (*Mugil cephalus*, Linneo, 1758). *Aquaculture International* 11: 571-582.
- Sangiao-Alvarellos, S., F.J. Arjona, M.P.M. del Rio, J.M. Miguez, J.M. Mancera y J.L. Soengas. 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in *Sparus auratus*. *Journal of Experimental Biology* 208: 4291-4304.
- Zheng, X., B. Torstensen, D.R. Tocher, J.R. Dick, R.J. Henderson y J.G. Bell. 2005. Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BBA* 1734: 13-24.

Efecto del fotoperiodo en el crecimiento y supervivencia de larvas de corvina (*Argyrosomus regius*) en cultivo intensivo

R. Vallés¹ y A. Estévez¹

¹ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA). Ctra. Poble Nou, km 6. Sant Carles de la Ràpita. 43540 Tarragona. Email: alicia.estevez@irta.cat

Abstract

The effects of photoperiod on growth and survival of meagre larvae was studied during the first month of life under intensive culture. Larval samples were taken periodically to measure the growth in length and weight whereas survival was estimated by counting the remaining larvae at the end of the study. The best results on growth were obtained using continuous light (24hL:0hD) whereas short photoperiod (8hL:16hD) produced the best survival.

Justificación

En los últimos años la corvina se ha convertido en una de las especies de mayor interés para la acuicultura debido a su rápido crecimiento en jaulas y a la calidad de su carne. Sin embargo las condiciones adecuadas para el cultivo larvario de esta especie no están suficientemente desarrolladas y existe muy poca información acerca de los requerimientos de esta especie tanto a nivel nutricional como zootécnico. A fin de maximizar la producción de juveniles de esta especie resulta imprescindible determinar las condiciones ambientales óptimas durante el cultivo larvario. El fotoperiodo y la intensidad de luz influyen de forma decisiva en el crecimiento de larvas carnívoras visuales como la corvina (Boeuf y Le Bail, 1999) por su efecto no sólo en la captura de presas sino también en el canibalismo y la capacidad de las larvas para escapar de sus depredadores.

Material y Métodos

Las larvas de corvina se obtuvieron de una puesta inducida mediante implantes de liberación lenta de GnRH. El cultivo larvario se realizó a una densidad de 50 larvas/L en tanques de 500 L conectados a un sistema de recirculación, por duplicado y manteniendo los parámetros del agua en $19,6 \pm 0,52^\circ\text{C}$, $32,6 \pm 2,03\%$ y $8,3 \pm 0,5$ mg/L oxígeno. Se ensayaron 4 fotoperiodos: 24 hL:0 hO, 16 hL:8 hO, 12 hL:12 hO y 8 hL:16 hO. Las larvas se alimentaron con rotífero enriquecido (Easy Selco, INVE, Bélgica) a una dosis de 10 rot/ml desde el día 2 al 11 después de la eclosión (dph), metanauplios de artemia enriquecidos a partir del 10dph y microdieta Gemma Micro 300 a partir del día 20 dph.

Los muestreos se realizaron los días 1, 4, 7, 9, 12, 15, 20, 26 y 30 dph en los cuales se midieron peso y talla de 30 individuos. El peso seco de las larvas se determinó tras secado a 60°C durante 24h. El último día (30 dph) se contaron las larvas supervivientes a fin de obtener la supervivencia.

Los datos de crecimiento y supervivencia se compararon estadísticamente utilizando un análisis de la varianza (ANOVA). Cuando se detectaron diferencias significativas entre las medias se analizaron con el test de Tukey y el método de Dunn ($p < 0,05$).

Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra los resultados de crecimiento en talla y peso así como la supervivencia larvaria al final del periodo de estudio. El crecimiento fue mayor en los tratamientos mantenidos con luz continua (24 hL:0 hD), disminuyendo al reducirse las horas de luz. A día 30, se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los crecimientos observados usando 24 hL:0 hO y 8 hL:16 hO así como entre 16 hL:8 hO y 8hL:16hO, de manera que podemos concluir que el número de horas de luz afecta significativamente al crecimiento de las larvas de corvina, probablemente como consecuencia de un mayor consumo de presas vivas (no evaluado).

La supervivencia, por el contrario, fue mayor al disminuir el fotoperiodo. No se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos, pero sí que existe una correlación negativa y significativa ($R = 0,9578$, $R^2 = 0,9174$, $p = 0,0088$) entre fotoperiodo y tasa de supervivencia. La baja supervivencia obtenida en los tratamientos mantenidos con fotoperiodo largo fue consecuencia de una mayor incidencia de larvas con hiperinflación de la vejiga natatoria que se mantenían en superficie, sin alimentarse y al mayor canibalismo (observación visual) manifestado por las larvas a partir de la introducción de alimento inerte. Los re-

Tabla 1. Resultados de crecimiento y supervivencia a 30 dph de larvas de corvina

Fotoperiodo	Peso seco (mg)	TL (mm)	Supervivencia (%)
2 4hL:0 hO	2,22 ± 0,38 ^a	9,41 ± 0,1 ^a	6,18 ± 1,85 ^a
16 hL:8 hO	2,12 ± 1,72 ^a	8,45 ± 1,74 ^a	13,79 ± 5,00 ^a
12 hL:12 hO	0,8 ± 0,14 ^{ab}	7 ± 0,15 ^b	27,26 ^a
8 hL:16 hO	0,63 ± 0,22 ^b	6,53 ± 0,79 ^b	47,74 ± 14,46 ^a

Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas.

sultados indican que el uso de fotoperiodos largos, aunque produce un mayor crecimiento de las larvas, provoca un mayor estrés (hiperinflación de la vejiga natatoria) y un adelanto en el comportamiento de canibalismo observado en esta especie como consecuencia del uso de alimento inerte. La elección de uno u otro fotoperiodo dependerá, pues, del interés del productor, bien por adelantar el crecimiento de los individuos y vender el producto de forma más temprana (uso de fotoperiodos largos) o por producir un mayor número de individuos en un periodo de tiempo más largo (fotoperiodos cortos). El efecto del fotoperiodo sobre la calidad larvaria, medida en cuanto a incidencia de deformaciones esqueléticas también se ha considerado y los resultados obtenidos se presentarán durante el congreso.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el INIA (proyecto INIA RTA 2008-00107-00-00 y beca predoctoral FPI-INIA 2008 «Requerimientos nutricionales del cultivo larvario de la corvina»). Se agradece la ayuda prestada por J. Canoura, M. Pimentel, S. Molas, M. Monllaó durante el cultivo larvario y O. Bellot, N. Gras en los muestreos.

Bibliografía

- Abellán, E., García-Acázar, A., Arizcun, M., Nortes, M.D. y García-Alcázar, S. 2000. Effect of photoperiod on growth, survival and inflation of the swim bladder in dentex larvae (*Dentex dentex* L.). Cahiers Options Méditerranéennes, 47, 177-180.
- Boeuf, G., y Le Bail, P. 1999. Does light have an influence on fish growth? Aquaculture, 177: 129-152.
- Chatain, B. y Ounais-Guschemann, N. 1991. The relationship between light and larvae of *Sparus aurata*. EAS Special Publication, 15: 310-313.
- Felder, D.S., Bardsley, W.J., Allan, G.L., Pankhurst, P.M. 2002. Effect of photoperiod on growth and survival of snapper *Pagrus auratus* larvae. Aquaculture, 211: 135-150.
- Giménez, G., Estévez, A. 2008. Effect of larval and prey density, prey dose and light conditions on first feeding common dentex (*Dentex dentex* L.) larvae. Aquaculture research, 39: 77-84.
- Hart, P.R., Hutchinson, W.G.J., Purser, G. 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery, reared larvae of the green-back flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). Aquaculture, 144: 303-311.
- Puvanendran, V., Brown, J. 2002. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. Aquaculture, 214: 131-151.

Modificaciones estacionales del metabolismo hepático de la corvina (*Argyrosomus regius*) durante la fase de engorde en estero

L. Vargas-Chacoff^{1,3}, I. Ruiz-Jarabo¹, I. Páscoa², O. Gonçalves²,
M. P. Martín del Río¹ y J. Miguel Mancera¹

¹ Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz.
11510 Puerto Real. Cádiz. Spain. E-mail. luis.vargas@uca.es

² Ecophysiology Lab. Centro de Investigação Marinha e Ambiental-CIMAR. 4050-123 Porto. Portugal

³ Centro Andaluz de Ciencia y Tecnologías Marinas. Instituto de Investigación de la Universidad de Cádiz.
11510 Puerto Real. Cádiz

Abstract

In this work, we studied growth and enzymatic modifications at hepatic level in earthen pond cultured *A. regius* during a period of 18 months. The results showed a good capacity of growth during summer's months, showing hepatic metabolites and enzymatic activities different responses according to seasonal effects.

Justificación

La corvina *Argyrosomus regius* es una especie que se muestra como una buena alternativa dentro del proceso de diversificación en acuicultura debido a su rápido crecimiento, buen precio en el mercado y palatabilidad (Cárdenas, 2007). En los últimos años se han realizado diversos experimentos de engorde con esta especie con el fin de optimizar dicho proceso. En este estudio hemos analizado el crecimiento y las modificaciones metabólicas estacionales a nivel hepático durante la fase de engorde realizada en estero.

Material y Métodos

Ejemplares de *A. regius* fueron cultivados en esterros de una instalación acuícola de San Fernando, y alimentados con un pienso de dorada según el protocolo de la empresa. Se realizaron 9 muestreos durante un periodo de 18 meses (2/12/2004, 21/2/2005, 13/4/2005, 30/5/2005, 27/7/2005, 26/9/2005, 22/11/2005, 8/3/2006, 23/5/2006) partiendo de animales de unos 100 g de peso y finalizando con pesos entre 1.300-1.500 g. Los peces fueron anestesiados con 2-fenoxietanol (1 mL/L), pesados y medidos. El hígado fue rápidamente extraído, pesado, congelado en nitrógeno líquido y mantenido a -80°C hasta su posterior análisis. Se analizaron los siguientes metabolitos: glucógeno, triglicéridos, proteínas y aminoácidos; así como las siguientes actividades enzimáticas: hexokinasa (HK, EC 2.7.1.11), glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH EC 1.1.1.49), glutamato deshidrogenasa (GDH, EC 1.4.1.2), glicerol 3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH, EC 1.1.1.8) según los protocolos descritos anteriormente por Sangio-Alvarellos *et al.* (2005) y Polakof *et al.* (2006).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos muestran un mayor crecimiento en peso y longitud en los meses más cálidos. Sin embargo, durante los meses de invierno cuando los especímenes estuvieron expuestos a temperaturas bastante bajas en los esterros (llegando en algunos días a los $8-10^{\circ}\text{C}$), se detectó un cese de la ingesta y algunos episodios de mortalidad.

Figura 1. Gráficas de crecimiento en peso (a) y longitud (b) durante el periodo de engorde de *A. regius*

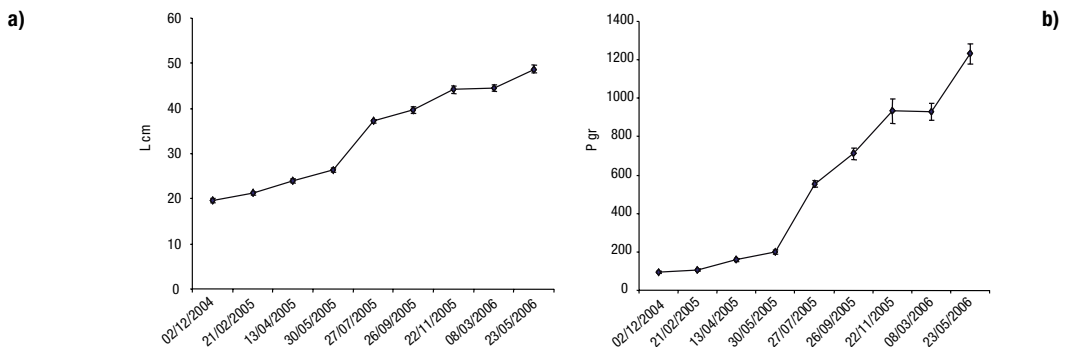


Tabla 1. Modificaciones estacionales de diferentes metabolitos hepáticos ($\mu\text{mol/g}$ peso fresco) de *A. regius* durante el periodo de engorde en estero

Fecha	Glucógeno	Triglicéridos	Proteínas	Aminoácidos
02/12/2004	0,22 \pm 0,04 ^a	0,39 \pm 0,07 ^a	0,17 \pm 0,01 ^a	0,08 \pm 0,03 ^a
21/02/2005	0,13 \pm 0,03 ^a	0,64 \pm 0,08 ^{ab}	0,21 \pm 0,02 ^{ad}	0,05 \pm 0,01 ^a
13/04/2005	0,16 \pm 0,02 ^a	1,07 \pm 0,23 ^b	3,91 \pm 0,27 ^b	2,49 \pm 0,20 ^b
30/05/2005	0,04 \pm 0,01 ^b	1,68 \pm 0,10 ^{cd}	2,85 \pm 0,24 ^b	0,24 \pm 0,04 ^c
27/07/2005	0,03 \pm 0,01 ^b	3,00 \pm 0,30 ^d	5,16 \pm 0,54 ^b	0,39 \pm 0,09 ^c
26/09/2005	0,17 \pm 0,03 ^a	0,92 \pm 0,12 ^b	1,51 \pm 0,28 ^c	0,40 \pm 0,04 ^c
22/11/2005	0,12 \pm 0,02 ^{ac}	1,99 \pm 0,14 ^{cd}	0,20 \pm 0,02 ^{ad}	0,42 \pm 0,06 ^c
08/03/2006	0,12 \pm 0,02 ^{ac}	1,04 \pm 0,11 ^{bc}	0,31 \pm 0,03 ^{ad}	0,29 \pm 0,07 ^c
23/05/2006	0,05 \pm 0,01 ^{bc}	0,78 \pm 0,14 ^b	0,41 \pm 0,10 ^d	0,53 \pm 0,11 ^c

Tabla 2. Modificaciones estacionales de diferentes actividades enzimáticas hepáticas (U/mg proteínas) de *A. regius* durante el periodo de engorde en estero

Fecha	HK	G6PDH	GDH	G3PDH
02/12/2004	0,22 \pm 0,04 ^a	0,39 \pm 0,07 ^a	0,17 \pm 0,01 ^a	0,08 \pm 0,03 ^a
21/02/2005	0,13 \pm 0,03 ^a	0,64 \pm 0,08 ^{ab}	0,21 \pm 0,02 ^{ad}	0,05 \pm 0,01 ^a
13/04/2005	0,16 \pm 0,02 ^a	1,07 \pm 0,23 ^b	3,91 \pm 0,27 ^b	2,49 \pm 0,20 ^b
30/05/2005	0,04 \pm 0,01 ^b	1,68 \pm 0,10 ^{cd}	2,85 \pm 0,24 ^b	0,24 \pm 0,04 ^c
27/07/2005	0,03 \pm 0,01 ^b	3,00 \pm 0,30 ^d	5,16 \pm 0,54 ^b	0,39 \pm 0,09 ^c
26/09/2005	0,17 \pm 0,03 ^a	0,92 \pm 0,12 ^b	1,51 \pm 0,28 ^c	0,40 \pm 0,04 ^c
22/11/2005	0,12 \pm 0,02 ^{ac}	1,99 \pm 0,14 ^{cd}	0,20 \pm 0,02 ^{ad}	0,42 \pm 0,06 ^c
08/03/2006	0,12 \pm 0,02 ^{ac}	1,04 \pm 0,11 ^{bc}	0,31 \pm 0,03 ^{ad}	0,29 \pm 0,07 ^c
23/05/2006	0,05 \pm 0,01 ^{bc}	0,78 \pm 0,14 ^b	0,41 \pm 0,10 ^d	0,53 \pm 0,11 ^c

Los metabolitos hepáticos, presentaron un claro patrón estacional. El glucógeno mostró sus menores niveles durante el periodo estival, mientras los triglicéridos presentaron sus mayores niveles en este periodo, lo que sugiere que durante este periodo los peces incrementan sus sustancias de reservas para afrontar el invierno. Tanto las proteínas como los aminoácidos totales tenían sus mayores niveles durante el periodo estival y primaveral respectivamente, coincidiendo con los mayores incrementos de talla y peso. El metabolismo de carbohidratos (representados en este estudio por las actividades enzimáticas HK y G6PDH) mostró respuestas diferenciadas: mientras la actividad de HK presentó sus menores actividades durante los meses estivales, la G6PDH mostró las mayores durante este periodo. En el metabolismo de aminoácidos (evaluado mediante la actividad GDH) se detectaron los niveles máximos durante el periodo de primavera y verano, coincidiendo con la época de mayor crecimiento. Por último, el metabolismo lipídico (calculado por la actividad G3PDH) presentó su máxima actividad en primavera con respecto a las otras estaciones del año.

El crecimiento, así como los niveles de metabolitos y las actividades enzimáticas analizadas en el hígado de *A. regius* presentaron una clara estacionalidad. Este crecimiento se incrementó durante los periodos más cálidos, coincidiendo con las mayores actividades enzimáticas y niveles metabolitos hepáticos.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por Contrato OTRI referencia OT2004/155. L.V.C. ha sido financiado mediante una Beca Presidente de la República de Chile y otra de la Comisión de Ciencia y Tecnología de Chile (CONICYT).

Bibliografía

- Cárdenas S., 2007. «Fish Farming Production Systems in Andalucía». Aquaculture Europe 2007. European Aquaculture Society, Istanbul, Turkey.
- Polakof S., Arjona F.J., Sangiao-Alvarellos S., Martín del Río M.P., Mancera J.M. y Soengas J.L., 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Journal of Comparative and Physiology* 176 B: 441-452.
- Sangiao-Alvarellos S., Arjona F.J., Martín del Río M.P., Miguez M.P., Mancera J.M. y Soengas J.L., 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in *Sparus auratus*. *Journal of Experimental Biology* 208: 4291-4304.

Cronotoxicidad de anestésicos y comportamiento en peces

Vera, L.M.¹; Terry, M.I.¹; Ros, G.²; García-Mateos, G.²; Felizardo, V.O.¹, y Sánchez-Vázquez, F.J.¹

¹ Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Campus de Espinardo.
30100 Universidad de Murcia. Murcia. E-mail: lmvvera@um.es

² Departamento de Informática y Sistemas. Facultad de Biología. Campus de Espinardo.
30100 Universidad de Murcia. Murcia

Abstract

Fish species possess an endogenous oscillator and could be considered as rhythmic physiological systems. Therefore, their response to xenobiotics would be expected equally rhythmic. In aquaculture, fish are usually exposed to anaesthetics, however the different effect of those substances when applied during the day or during the night has not been investigated yet. In this experiment we studied the efficiency of tricaine methanesulfonate (MS-222) exposure at ML and MD in zebrafish and gilthead seabream. Our results showed that time to induction of anaesthesia clearly differed between day and night, indicating temporal differences of sensitivity and/or in the detoxifying system of these species.

Justificación

En acuicultura, los peces se ven expuestos habitualmente a diferentes tipos de xenobióticos, entre ellos los anestésicos. La manipulación de los peces durante su transporte, pesaje, clasificación, cirugía, etc., es la causa más común de estrés y mortalidad. Para evitar este problema se emplean anestésicos como la tricaina (MS-222), el cual está aprobado por varios países para ser utilizado en peces destinados al consumo humano (Welker *et al.*, 2007; Rombough, 2007). La toxicidad (y por tanto la eficacia) de un anestésico para peces no sólo varía con su concentración, sino que también influyen otros factores, como la hora de administración. Este último factor aún no ha sido investigado en peces, aunque en mamíferos se han descrito numerosos ritmos diarios de toxicidad para diversos fármacos (Reinberg y Ashkenazi, 2008). Los peces, al igual que el resto de animales, viven en un ambiente cíclico, por lo que han desarrollado osciladores circadianos y muestran ritmos biológicos diarios. Por ello, un pez ha de ser considerado como un sistema fisiológico rítmico y cabe esperar que sus respuestas frente a la exposición de xenobióticos sean igualmente rítmicas.

En este trabajo se estudiaron las diferencias día/noche en la inducción de la anestesia con MS-222 y posterior recuperación en dos especies de teleosteos, el pez zebra (*Danio rerio*) y la dorada (*Spaurus aurata*).

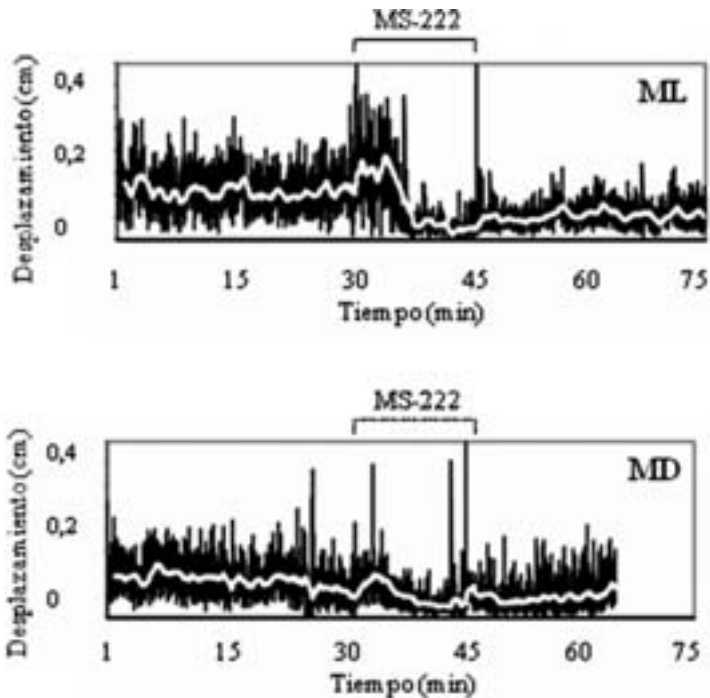
Material y métodos

Para la realización de este experimento se emplearon 14 peces zebra de $0,80 \pm 0,02$ g y 14 doradas de $3,70 \pm 0,20$ g, que previamente habían sido aclimatados a un fotoperiodo luz-oscuridad (LO) 12 h: 12 h. Para el estudio de las diferencias día/noche en el tiempo de inducción de la anestesia y subsiguiente recuperación, los peces se expusieron al anestésico en mitad de la fase de luz (ML) y de oscuridad (MD) y se registró su actividad motora. Para ello, se equipó un acuario de cristal con separadores perforados para permitir la circulación del agua y se alojó un pez por compartimento resultante. La actividad motora de los individuos durante el experimento se grabó con una videocámara (SONY, Handycam, DCR-SR55E), y posteriormente se analizaron los vídeos resultantes con un programa informático especialmente diseñado para este fin (Fish Tracker, G. Ros Sánchez, Universidad de Murcia). Dicho software realiza un seguimiento del desplazamiento de cada uno de los peces a lo largo del ensayo y genera un archivo que puede ser exportado a Microsoft Excel para su posterior análisis. Para la grabación en condiciones de oscuridad (MD) se emplearon lámparas de LEDs de infrarrojos (focos de LEDs monocolor, mod. C-2290, Cebek Components) de manera que los peces no percibían ningún tipo de luz pero se posibilitaba el análisis de imágenes por parte del Fish Tracker.

La filmación de la actividad se inició media hora antes de la exposición al MS-222, que duró 15 minutos, y se prolongó durante una hora más para el estudio de la recuperación. Las dosis de MS-222 empleadas fueron de 60 mg/l en el caso del pez zebra y 70 mg/l en la dorada. Además, en ambas especies, se realizó una grabación en ML y MD sin que hubiera contacto con el anestésico y que fue empleada como control del experimento.

Resultados y discusión

En el pez zebra, los resultados mostraron claras diferencias día/noche en el tiempo de inducción de la anestesia. Así, durante el día se observó una caída significativa en la actividad transcurridos 7 minutos desde

Figura 1. Registro de actividad en peces zebras expuestos a MS-222 en ML y MD

el inicio de la exposición al anestésico mientras que en mitad de la fase de oscuridad dicha reducción se observó tras 12 minutos. Además, durante los primeros minutos de la exposición en ML se observó un incremento puntual de la actividad que no se registró en MD (Fig.1).

En dorada, los análisis preliminares también apuntan a la existencia de diferencias día/noche en la inducción de la anestesia y recuperación. No obstante, en este momento se están llevando a cabo nuevos experimentos que darán luz a esta cuestión.

Las diferencias observadas indican la existencia de variaciones circadianas en la susceptibilidad al anestésico en distintos momentos del día y/o de un funcionamiento rítmico de los sistemas enzimáticos detoxificantes de estas especies, abriendo así una línea de investigación muy interesante al respecto.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de la Fundación Séneca nº 08743/PI/08.

Bibliografía

- Reinberg, A., Ashkenazi, I. 2008. Internal desynchronization of circadian rhythms and tolerance to shift work. *Chronobiology International*. 25, 625.
- Rombough, P.J. 2007. Ontogenetic changes in the toxicity and efficacy of the anaesthetic MS222 (tricaine methanesulfonate) in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 148, 463-469.
- Welker, T.L., Lim, C.E., Ajsoy, M., Klesius, P.H. 2007. Effect of buffered and unbuffered tricaine methanesulfonate (MS222) at different concentrations on the stress responses of channelfish (*Ictalurus punctatus* Rafinesque). *Journal of Applied Aquaculture*. 19, 1-18.

Optimización del cultivo de las macroalgas *Ulva rigida*, *Hypnea spinella* y *Gracilaria cornea* en aguas efluentes de cultivos marinos

M.P. Viera¹, P. Fidalgo¹, R. Haroun², G. Courtois de Viçose¹, A. Bilbao¹, H. Fernández-Palacios¹, J.L. Gómez-Pinchetti³ y M.S. Izquierdo¹

¹ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35214 Telde. Las Palmas. Islas Canarias. mapi@iccm.rcanaria.es

² Centro de Biodiversidad y Gestión Ambiental (BIOGES) Fac. Ciencias del Mar. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 35017 Las Palmas. Islas Canarias

³ Grupo de Algología Aplicada. Centro de Biotecnología Marina. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Muelle de Taliarte, s/n. 35214 Telde. Las Palmas. Islas Canarias

Abstract

The aim of this research was to evaluate the optimal rearing conditions for the culture of the macroalgae *Gracilaria cornea* J. Agardh, *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützinger and *Ulva rigida* J. Agardh within the aquaculture research facility of the Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Macroalgae species were chosen according to their suitability as feed for the Canarian abalone *H. tuberculata coccinea* which had been determined in previous studies. Four trials were carried out during 10, 6, 6 and 3 weeks evaluating the biological indexes (growth rate and biomass yield) of the seaweeds under: initial stocking densities (low: 1, 3 and 4 g.l⁻¹ and high: 4, 4 and 6 g.l⁻¹) and water exchange rates (24, 8 and 4 vol.d⁻¹). Presence of epiphytes as well as environmental factors: water temperature, irradiation, oxygen and pH were also measured and are discussed. In the experimental tanks used for the assays, maximum growth rate (5.08, 6.01 and 8.63 %d⁻¹) and yield (37.02, 31.80 and 36.60 g DWm⁻²d⁻¹) were obtained at a low initial stocking density and high water exchange for *G. cornea*, *H. spinella* and *U. rigida* respectively. Yield was significantly higher in *G. cornea* whereas *U. rigida* showed the highest growth rate. Results indicate that to maximize growth performance in this experimental system, density of *U. rigida*, *H. spinella* and *G. cornea* should be adjusted to 1, 3 and 4 g FW l⁻¹ respectively and water exchange rate should be as high as possible

Justificación

El sector de la acuicultura en las Islas Canarias se basa exclusivamente en la producción de peces marinos. La oreja de mar *Haliotis tuberculata* spp. R., cuya población natural es muy escasa debido a la sobreexplotación a la que ha sido sometida tradicionalmente en las islas, es una de las especies con mayor potencial para la diversificación de dicho sector. La escasez de algas en las aguas del Archipiélago, hace que, para la producción comercial de este molusco, sea necesario buscar un método alternativo a la obtención de algas del medio natural. El cultivo de macroalgas puede realizarse a partir del efluente, rico en nitrógeno, resultante de la producción intensiva de peces, crustáceos e incluso moluscos, de este modo, la biomasa producida supone un producto añadido, que puede a su vez servir de alimento para el cultivo de otros mariscos (Schuenhoff *et al.*, 2003; Neori *et al.*, 2004). Factores como el diseño del tanque, la densidad de inóculo, la tasa de renovación y la relación entre la biomasa peces-algas, afectan de forma determinante al crecimiento y la eficiencia de biofiltración de las algas. El objetivo general de este trabajo es la optimización del cultivo de las macroalgas *Gracilaria cornea*, *Hypnea spinella* y *Ulva rigida* en el sistema de cultivo integrado del ICCM. La selección de dichas macroalgas se debió a su idoneidad como alimento para el abalón determinado en estudios previos (Toledo *et al.*, 2000; Viera *et al.*, 2005).

Material y Métodos

Las algas, cedidas por el Banco Nacional de Algas (Centro de Biotecnología Marina- ULPGC), fueron cultivadas en el sistema de cultivo integrado de la nave de cultivos del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), Telde, Gran Canaria. Se realizaron cuatro experiencias de 10, 6, 6 y 3 semanas de duración, donde se evaluaron los índices de crecimiento: tasa de crecimiento y producción de las macroalgas bajo diferentes condiciones de cultivo: densidad de inóculo bajas (1, 3 y 4 g.l⁻¹) y altas (4, 4 y 6 g.l⁻¹) y tasa de renovación (24, 8 y 4 vol.d⁻¹), analizándose así mismo los parámetros abióticos (temperatura, irradiación, pH y oxígeno disuelto) así como la presencia de epifitos durante el cultivo. Las diferentes condiciones de cultivo fueron ensayadas por triplicado realizándose cosechas semanales. Se analizaron muestras de agua mediante un autoanalizador de flujo continuo segmentado y se evaluaron las tasas de asimilación (TAN, NUE y NUR) tanto de los compuestos inorgánicos de nitrógeno disuelto como de fósforo y silicio.

Resultados y Discusión

El máximo crecimiento (5,08, 6,01 y 8,63 gPS.m⁻²d⁻¹) y producción (37,02, 31,80 y 36,60 %d⁻¹) se obtuvo a una densidad de inóculo baja (4, 3 and 1 gl⁻¹) y una alta tasa de renovación (24 vol d⁻¹) para *G. cornea*, *H.*

spinella y *U. rigida* respectivamente. El descenso en la tasa de crecimiento al aumentar la densidad se debe probablemente al efecto de autosombreado en los tanques utilizados y a la limitación de nitrógeno a bajas tasas de renovación (flujo de amonio), por el contrario, al aumentar la tasa de renovación se aumenta la concentración de NH_4^+ disponible por unidad de tiempo. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para otras macroalgas tales como *Ulva fascinata* (Lapointe y Tenore, 1981), *Ulva lactuca* (Jiménez de Río *et al.*, 1994), *Ulva rigida* (Jiménez del Río *et al.*, 1996) y *Gracilaria cornea* (Suárez *et al.*, 2001) cultivadas a diversas densidades y/o tasas de renovación. El máximo crecimiento se obtuvo con *U. rigida* mientras que *G. cornea* presentó la mayor producción, lo que coincide con lo encontrado por Viera *et al.* (2005b) al cultivar estas especies directamente en los efluentes de una piscifactoría a escala industrial. La tasa de crecimiento obtenida al inocular *U. Rigida* a una densidad de 1 gl^{-1} ($8,63\% \text{ d}^{-1}$) fue mucho más baja que la obtenida por Neori *et al.* (1991) y Cohen y Neori (1991) para *Ulva sp.* (18 y $15,6-17,5\% \text{ d}^{-1}$ respectivamente), probablemente debido a la mayor concentración de amonio que entró en el sistema ($75 \mu\text{M NH}_4^+$), frente a los registrados durante nuestras experiencias ($5,6-10,2 \mu\text{M NH}_4^+$). La presencia de epifitos, fundamentalmente en algas rojas, es uno de los mayores problemas de los cultivos algales, (Lapointe and Ryther, 1978; Ugarte and Santelices, 1992). Con un total de 2-7% de su biomasa, *G. cornea* fue la única especie afectada, mayoritariamente en los periodos de máxima temperatura e irradiación (Westermeier *et al.*, 1993; Friedlander y Levi, 1995). Los bajos valores en la concentración de nutrientes inorgánicos del efluente de la nave aún a pesar de estar a máximo rendimiento durante el período experimental, se relaciona con la baja carga y alta renovación del sistema. Los nulos (*U. rigida* e *H. spinella*) o bajos (*G. cornea*), valores obtenidos tanto en la capacidad de biofiltración (NUE) como la tasa de asimilación (NUR) pueden estar relacionados con la alta renovación (8 y 24 vol.d^{-1}) utilizada en los tanques durante los experimentos y la baja cantidad de amonio que entró en el sistema ya que, la eficacia de captación de amonio se relaciona inversamente con la tasa de renovación de agua y directamente con la densidad de cultivo.

Los resultados obtenidos sugieren que para optimizar la producción de *U. rigida*, *H. spinella* y *G. cornea*, la densidad de inóculo para el diseño de los tanques ensayados debiera ajustarse a 1, 3 y 4 g FW l^{-1} respectivamente y la tasa de renovación de 24 vol. d^{-1} . La biomasa algal anual que se podría producir en el sistema de biofiltros experimental del ICCM sería aproximadamente de 100 kg de peso fresco de *Ulva rigida*, 84 kg de *Hypnea spinella* y 90 kg de *Gracilaria cornea*, lo que serviría para alimentar un stock de unos 300 reproductores de oreja de mar.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto JACUMAR (Oreja de mar).

Efectos de la leptina de *Takifugu rubripes* sobre la actividad locomotora, la ingesta y la glucemia en el carpín (*Carassius auratus*)

Y. Vivas, C. Azpeleta, A. Sánchez, E. Isorna, M.J. Delgado y N. De Pedro.

Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II). Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.
C/ José Antonio Nováis, 2. 28040 Madrid. e-mail: ndepedro@bio.ucm.es

Abstract

Leptin is a hormone involved in the energy balance in vertebrates, including fish. Most of the studies carried out in fish have used mammalian leptins. Taking in mind the low homology between mammalian and fish leptins, the objective of the present work was to study the possible actions of leptin in fish by using directly leptins purified from fish species. Thus, we analyzed the biological activity of recently cloned recombinant pufferfish (*Takifugu rubripes*) leptin (pLEP), examining its effects on locomotor activity, food intake and plasma glucose levels in *Carassius auratus*. Goldfish were intraperitoneally injected with teleost saline (10 µl/g body weight) or different doses of pLEP (0.1, 1, 5 µg/g body weight). The pLEP administration significantly reduced locomotor activity and circulating glucose, showing a decreasing trend on food intake at 8 h post-injection. These results demonstrate, for the first time in fish, an *in vivo* biological activity of pufferfish leptin in a teleost, and highlight the relevance of using species-specific leptin in hormonal activity studies in fish.

Justificación

La leptina es una hormona proteica implicada en la regulación de la homeostasis energética en la mayoría de los vertebrados, incluido el teleosteo *C. auratus* (De Pedro, Martínez-Álvarez y Delgado, 2006). La mayoría de los estudios realizados en peces han usado leptinas de origen mamífero, a pesar de la reducida identidad (16-25%) entre sus secuencias (Murashita *et al.*, 2008). El objetivo del presente estudio ha sido ensayar en el carpín la actividad biológica *in vivo* de la leptina clonada en el teleosteo *Takifugu rubripes* (Yacobovitz *et al.*, 2008), lo que nos proporcionará información relevante sobre la importancia de esta hormona en la regulación neuroendocrina de la ingestión de alimento en los peces.

Material y Métodos

Se realizaron inyecciones intraperitoneales (IP) a carpines ($n = 8/\text{grupo}$) con solución salina (10 µl/g peso corporal) o con leptina de *Takifugu rubripes* (pLEP) a diferentes dosis (0, 1, 1 y 5 µg/g peso corporal). La actividad locomotora se registró en peces individuales durante las 8 h anteriores y posteriores a los tratamientos, mediante un actímetro compuesto por unas fotocélulas infrarrojas adheridas a las paredes de los acuarios y el software Adq16 (Micronec). A las 8 h postinyección se evaluó la ingestión de alimento y se extrajeron muestras de sangre para determinar los niveles plasmáticos de glucosa mediante un método colorimétrico-enzimático (Spinreact). Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante un ANOVA de una vía y el test de *Student-Newman-Keuls*.

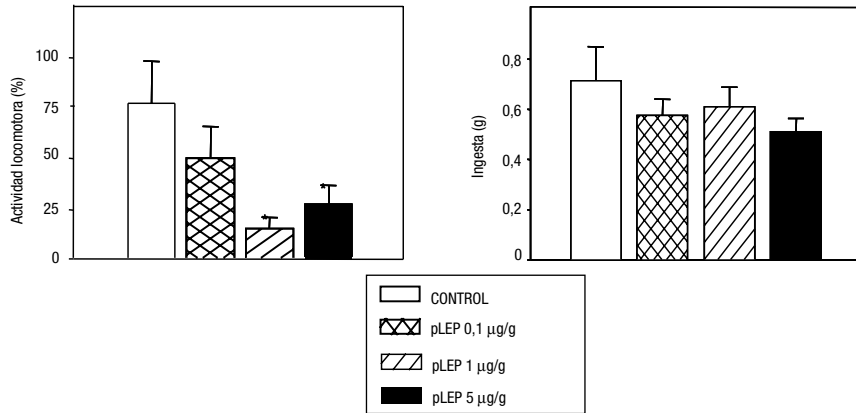
Resultados y Discusión

La leptina de *T. rubripes* redujo significativamente ($p < 0,05$) la actividad locomotora a las 8 h del tratamiento a las dos dosis más altas (1 y 5 µg/g) utilizadas en el presente estudio (Fig. 1), demostrándose por primera vez en los peces un papel de la leptina en la regulación de la actividad locomotora. Por el momento se desconocen los mecanismos responsables de esta hipoactividad inducida por la leptina en los peces, aunque podría estar mediada por una reducción en el contenido hipotalámico de NPY (Volkoff, Eykelbosh y Peter, 2003) y/o dopamina (De Pedro, Martínez-Álvarez y Delgado, 2006), sistemas neurales implicados en la regulación de la actividad alimentaria y/o locomotora en los peces.

En la Figura 1 se observa una tendencia reductora de la ingesta tras la administración de pLEP, aunque no llega a ser estadísticamente significativa. Este efecto anorético leve puede deberse al bajo grado (26%) de identidad entre la pLEP y las leptinas del carpín, recientemente secuenciadas (FJ534535, EU095524 y AY547322). Nuestros resultados enfatizan la relevancia del uso de leptinas homólogas, dada la importante limitación de su uso en especies no estrechamente relacionadas desde un punto de vista evolutivo. Por ello, se impone la necesidad del desarrollo de leptinas específicas de especie para su potencial uso en el ámbito del cultivo de peces.

La administración de pLEP redujo significativamente ($p < 0,05$) la glucemia a las 8 h postinyección, respecto al grupo control. Esta hipoglucemia puede estar asociada a un incremento en el almacenamiento de

Figura 1. Efecto de la administración IP de diferentes dosis de pLEP (0,1, 1 y 5 $\mu\text{g/g}$ peso corporal) sobre la actividad locomotora y la ingesta a las 8 h postinyección. Los valores de actividad en cada grupo experimental se expresan en forma de porcentaje respecto a su propia actividad locomotora previa al tratamiento. Los datos se expresan como la media \pm e.e.m. ($n = 8/\text{grupo}$). * $p < 0,05$



glucosa en forma de glucógeno hepático y muscular, tal y como se ha demostrado previamente tras un tratamiento crónico con la hormona en el carpín (De Pedro, Martínez-Álvarez y Delgado, 2006).

Todos estos resultados demuestran por primera vez una actividad biológica *in vivo* de la leptina del *Takifugu rubripes* en teleósteos, concretamente en *Carassius auratus*, y contribuyen al conocimiento de la posible evolución de la funcionalidad de la leptina en un contexto filogenético.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto AGL2007-65744-C03-03), y por la UCM-BSCH (proyecto GR58/08).

Bibliografía

- De Pedro N., R. Martínez-Álvarez y M.J. Delgado. 2006. Acute and chronic leptin reduces food intake and body weight in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Endocrinology* 188: 513-520.
- Murashita K., S. Uji, T. Yamamoto, I. Rønnestad y T. Kurokawa. 2008. Production of recombinant leptin and its effects on food intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 150B(4): 377-384.
- Volkoff H., Eykelbosh A.J. y Peter R.E. 2003. Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain Research* 972(1-2): 90-109.
- Yacobovitz M., G. Solomon, E.E. Gusakovsky, B. Levavi-Sivan y A. Gertler. 2008. Purification and characterization of recombinant pufferfish (*Takifugu rubripes*) leptin. *General Comparative Endocrinology* 156(4): 83-90.

Propiedades texturales del músculo de corvina. Influencia de la composición del pienso y el tiempo de almacenamiento

A. Menchón Galera¹, S. García Mesa², A. Rodríguez-Rúa³, M.D. Suárez¹, S. Cárdenas³, M. García Gallego² y G. González⁴

¹ Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería dsuarez@ual.es

² Departamento de Biología Animal. Universidad de Granada

³ IFAPA Centro *El Toruño*. El Puerto de Santa María. Cádiz

⁴ Ceutamar, S.L. Algeciras. Cádiz

Abstract

Two lots of juvenile meagre from the farm Ceutamar S.L. were fed on two different commercial foods: C-1 (43% protein/26% fat) and C-3 (46% protein/22% fat) throughout 330 days in the facilities of an off-shore cages-based fish-farm. At the end of that period, 20 fish were randomly sampled of each lot and flesh quality parameters (muscle firmness, pH, water holding capacity, and protein solubility) were measured at the following post-mortem intervals: 4, 24, 48, 72 and 120 hours. Fish fed with higher protein content diet show higher myofibrillar protein content, reflecting a lower hydrolysis of structural proteins compared to the fish fed the low protein content diet. However, this has little effect on firmness, and none on the water holding capacity, this suggesting that other structural components are responsible for the textural characteristics of the muscle of this species.

Justificación

La corvina es una especie poco conocida en los mercados, ya que se captura de forma esporádica y su cultivo es muy reciente. Son pocos los estudios realizados sobre la calidad de su músculo. Se ha observado que este pez tiene un alto porcentaje de filete, baja adiposidad y contenido lipídico saludable. Se ha podido comprobar que se puede conservar durante largos periodos de tiempo en refrigeración sin verse afectadas sus características (Poli *et al.*, 2003). Piccolo *et al.* (2008) confirmaron los resultados obtenidos por Poli *et al.*, 2003 en cuanto a su alto porcentaje de músculo y baja adiposidad. Las dietas de alta energía pueden suponer beneficios económicos importantes en piscicultura. No obstante, presentan inconvenientes desde el punto de vista de la calidad del producto, ya que una parte importante de la grasa dietaria puede depositarse en el músculo afectando negativamente los aspectos texturales. En general los peces cultivados son menos apreciados que los salvajes debido a un exceso en la acumulación de grasa en los primeros (Kora *et al.*, 1995).

Material y Métodos

Dos lotes de juveniles de corvina se mantuvieron en las instalaciones de la empresa Ceutamar S.L. (Algeciras, Cádiz) durante un periodo experimental de 330 días. Cada lote se alimentó con una dieta comercial diferente: C-1 (43% proteína y 26% grasa) y C-3 (46% proteína y 22% grasa), ambas de la empresa Dibaq-Diproteg, siendo la segunda diseñada específicamente para corvina, con un mayor aporte proteico y menor contenido lipídico y, por tanto, energético.

Una vez sacrificados en la piscifactoría, 20 peces de cada lote fueron envasados en cajas de polipropileno, recubiertos con hielo y transportados rápidamente al laboratorio de Producción Animal de la Universidad de Almería donde se almacenaron en cámara fría a 4°C, envueltos en papel de aluminio. Para el estudio de la evolución *post-mortem* se tomaron ejemplares (n = 4) a diferentes intervalos de tiempo (4, 24, 48, 72 y 120 horas). En cada uno de los intervalos considerados, se determinó la firmeza y el pH, a continuación se realizó la extracción de fragmentos musculares de la parte delantera dorsal del pez en los que se determinó la capacidad de retención de agua, el resto se congelaron y almacenaron a -80°C, posteriormente se liofilizaron y se utilizaron para la extracción de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares.

Resultados y Discusión

Los valores de firmeza, pH y retención de agua del músculo de corvina son elevados si se comparan con los de otras especies de peces en los que se han medido de forma similar como la dorada, la lubina o el dentón. La pauta de evolución de estos parámetros es similar a la de las otras especies, sin embargo, se observa un adelanto del desarrollo del rigor con relación a ellas. Este adelanto, que también se ha descrito en otras especies, indica una mayor actividad muscular *post-mortem*. Los valores de firmeza y capacidad de retención de agua son muy similares durante todo el periodo de almacenamiento de 120 horas, lo que indica una prolongación de la frescura en esta especie durante este periodo de tiempo.

Tabla 1. Influencia de la dieta sobre la firmeza, pH, capacidad de retención de agua (C.R.A.), proteínas sarcoplámicas y miofibrilares a diferentes tiempos después del sacrificio (valores medios \pm SD, n = 4). Los asteriscos expresan diferencias significativas entre dietas (P < 0,05).

Horas	Firmeza (Newton)		pH		CRA (%)		P. sarcopl. mg/g (ss)		P. miofibril. mg/g (ss)	
	C-1	C-3	C-1	C-3	C-1	C-3	C-1	C-3	C-1	C-3
4	28,7 \pm 3,1	30,3 \pm 2,2	6,7 \pm 0,1	6,7 \pm 0,1	74,2 \pm 0,6	72,2* \pm 0,6	—	—	—	—
24	21,6 \pm 1,7	24,6 \pm 2,8	6,5 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	72,9 \pm 1,3	70,2* \pm 1,9	174,4 \pm 12,6	155,0* \pm 6,9	229,3 \pm 13,4	276,3* \pm 10,6
48	23,1 \pm 1,4	25,0 \pm 1,8	6,5 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	72,3 \pm 1,0	70,2 \pm 1,2	142,9 \pm 10,2	123,8* \pm 3,4	221,1 \pm 12,0	285,7* \pm 14,1
72	22,7 \pm 2,0	23,1 \pm 1,3	6,8 \pm 0,1	6,7 \pm 0,1	71,4 \pm 0,7	70,6 \pm 3,4	136,9 \pm 9,9	117,1* \pm 3,3	188,3 \pm 8,3	263,5* \pm 8,6
120	18,6 \pm 2,7	19,6 \pm 1,7	6,8 \pm 0,2	6,7 \pm 0,2	71,6 \pm 1,1	70,8 \pm 1,0	130,8 \pm 10,3	122,6 \pm 4,7	214,0 \pm 18,2	230,6 \pm 12,0

La composición del pienso no muestra influencia significativa sobre la firmeza y el pH a lo largo del periodo de almacenamiento, aunque sí se han podido apreciar valores de firmeza ligeramente superiores en las corvinas alimentadas con la dieta C-3. La capacidad de retención de agua es mayor para la dieta C-1 que la C-3 en los dos primeros puntos del muestreo (4 y 24 horas). En los puntos siguientes las diferencias no son significativas. La solubilidad de las proteínas sí está influenciada de forma significativa por el tipo de pienso: las corvinas alimentadas con la dieta C-3 muestran un mayor contenido en proteínas miofibrilares que las alimentadas con la dieta C-1. Estas diferencias se mantienen desde el inicio del experimento hasta las 120 horas en que se igualan los valores.

Gran cantidad de estudios muestran que los cambios texturales ocurridos en el músculo del pez durante el almacenamiento *post-mortem* son resultado de la degradación de los componentes miofibrilares (Obstad *et al.*, 1996). Los mayores valores de proteínas miofibrilares en las corvinas alimentadas con la dieta de mayor contenido en proteína reflejan una menor hidrólisis de las proteínas estructurales frente a las alimentadas con la dieta C-1. Sin embargo, este hecho tiene muy poco efecto sobre los valores de firmeza y ninguno sobre los de retención de agua, lo que sugiere que es otro componente estructural de la célula muscular el principal responsable de la firmeza y retención de agua del músculo. En este sentido, algunos estudios han mostrado que el colágeno es un componente muscular que contribuye a la firmeza y la retención de agua en dorada (Suárez *et al.*, 2005).

Bibliografía

- Kora H., Osato S., Miyata K., Wu Z.H., Tachibana K., Tsuchimoto M. 1995. Change in amounts of fat, water, protein, and ash of cultured red seabream with growth, and comparison with wild bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 6: 211-218.
- Ofstad R., Egelanddal B., Kidman S., Myklebust R., Olsen R.L., Hermansson A.M. 1996. Liquid loss as affected by *post-mortem* ultrastructural changes in fish muscle; cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 71: 301-12.
- Piccolo G., Bovera F., De Riu N., Marono S., Salati F., Cappuccinelli R., Moniello G. 2008. Effect of two different protein/fat ratios of the diet on meagre (*Argyrosomus regius*) traits. *Ital. J. Anim. Sci.* 7: 363-371.
- Poli B.M., Parisi G., Zamapacavall G., Lurzan F., Mecatti M., Lupi P., Bonelli A. 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial size fish. *Aquaculture International* 11: 301-311.
- Suárez M.D., Abad M., Ruiz-Cara T., Estrada J.D., García-Gallego M. 2005. Changes in muscle collagen content during *post-mortem* storage of farmed sea bream, *Sparus aurata*: influence on textural properties. *Aquaculture International* 13: 315-325.

Influencia de la restricción dietaria y el tiempo de almacenamiento sobre las proteínas musculares de la dorada (*Sparus aurata*)

M.D. Suárez¹, T.F. Martínez¹, M. Sáez¹, A.E. Morales² y M. García-Gallego²

¹ Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. dsuarez@ual.es

² Departamento de Biología Animal. Universidad de Granada. Granada

Abstract

Four lots of sea bream were feed with different ration levels (100 —control—, 75, 50 and 25% of the standard ration fed in the fish farm), in order to assess the effects of a pre-slaughtering period of feed restriction (30-day long) on the electrophoretic patterns of muscular proteins of farmed sea bream at 2 and 96 hours *post-mortem*. Electrophoretic studies showed minor changes in the relative optical density of sarcoplasmic and myofibrillar protein fractions attributable to the different ration sizes assayed. In this sense, only the optical density of the fraction identified as α -actinin decreased significantly after 2 hours of storage in the group fed with 50% ration, compared to the other feeding levels. The results suggest that the observed enhancement in muscle texture due to even moderate feed restriction prior to slaughtering is not attributable to proteolytic changes in the muscle structural proteins.

Justificación

El uso frecuente de dietas de alta energía en alimentación de peces supone un ahorro de proteína con los consiguientes beneficios ecológicos y económicos. No obstante, se presentan inconvenientes desde el punto de vista de la calidad del producto, ya que una parte importante de la grasa dietaria repercute negativamente sobre los aspectos texturales. La restricción dietaria previa al sacrificio puede ser usada para reducir el contenido graso de peces cultivados y mejorar, por tanto, sus características texturales (Einen *et al.*, 1999). Sin embargo, es posible que estas prácticas vayan asociadas con disminución de la calidad del producto por alteración de las proteínas musculares.

Las proteínas del músculo del pescado experimentan una degradación catalizada por proteasas endógenas, que provoca lentos cambios en las propiedades reológicas del pescado refrigerado. Esto se debe a la fragmentación parcial de las moléculas y a la relajación de la ultraestructura. La separación electroforética de las proteínas musculares contribuye al estudio de los mecanismos bioquímicos implicados en el ablandamiento del músculo.

En estudios previos realizados sobre los cambios en el patrón electroforético de las proteínas musculares de varias especies de peces durante el almacenamiento *post-mortem*, Verrez-Bagnis *et al.* (2001) no observaron degradación de las proteínas miofibrilares en lubinas; Papa *et al.* (1996) observaron proteolisis parcial de α -actinina; Martínez (1992) mostró degradación de la miosina.

El objetivo del presente trabajo es investigar los efectos de la restricción dietaria durante 30 días previos al sacrificio de la dorada sobre el patrón electroforético de las proteínas musculares sometidas a 2 y 96 horas de almacenamiento.

Material y Métodos

Se utilizaron doradas de tamaño comercial (entre 300-350 g) que se mantuvieron durante 30 días en tanques de las instalaciones de la empresa Predomar (Carboneras, Almería) distribuidas en 4 lotes. Cada lote se alimentó diariamente con una dieta comercial (47% proteína y 25% lípidos), con diferentes niveles de racionamiento, constituyendo diferentes porcentajes de su ración habitual: 100%, 75%, 50% y 25% (lotes denominados como D100, D75, D50 y D25, respectivamente).

Al final del periodo experimental, se tomaron muestras del músculo de cuatro doradas por tratamiento a las 2 y 96 horas después del sacrificio que se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C . Posteriormente fueron liofilizadas, y a partir de ellas se realizó la extracción y cuantificación de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares y su separación por SDS-PAGE.

Resultados y Discusión

Para las proteínas sarcoplásmicas se identificaron 9 bandas (masas moleculares relativas de 97, 60, 51, 41, 36, 34, 27 y 25 kDa), Estudiando el efecto que tuvieron sobre las densidades ópticas relativas de todas las fracciones sarcoplásmicas identificadas en su conjunto tuvieron el tiempo de almacenamiento (2

y 96 h) y los niveles de alimentación (D100, D75, D50 y D25), no se pudieron apreciar diferencias significativas achacables a estas variables ($p = 0,8935$ y $0,9891$, respectivamente).

Si se tiene en cuenta la densidad relativa de las bandas individuales, la banda B60 mostró una disminución en la intensidad relativa al disminuir el nivel de ingesta de las doradas, tras 2 h de almacenamiento, aunque no fue significativa ($p = 0,5281$). Tras 96 horas de almacenamiento, las diferencias fueron inapreciables ($p = 0,4581$).

Por el contrario, las bandas B36 y B34 mostraron una tendencia opuesta, es decir, ofrecieron a las 2 h de almacenamiento una mayor densidad óptica en los músculos de las doradas con mayor restricción dietaria, aunque tampoco de manera significativa ($p = 0,9155$ y $0,7849$ para B36 y B34, respectivamente). Esta tendencia no se mantuvo a las 96 horas. De manera similar, aunque esta vez a las 96 h, se observó una tendencia al incremento de densidad óptica de la banda B41 cuanto más restrictiva fue la dieta, aunque no resultó significativa ($p = 0,3494$).

Para las proteínas miofibrilares se obtuvieron 6 grupos de bandas identificadas como miosina, α -actinina, un grupo de bandas entre 51 y 60 kDa, actina, grupo de bandas tropomiosina, y otro grupo de bandas de bajo peso molecular.

Discretas diferencias debidas a la dieta fueron observadas también para las proteínas miofibrilares, y así, únicamente la fracción α -actinina tras 2 horas de almacenamiento presentó diferencias significativas achacables a los distintos niveles de ingestión, siendo el nivel D50 el que disminuyó significativamente ($p = 0,0198$) la densidad óptica de esta fracción miofibrilar comparada con los otros tres niveles de alimentación. No obstante, esta diferencia no se mantuvo a las 96 horas de almacenamiento ($p = 0,8223$). La miosina tendió a disminuir su densidad óptica al disminuir la ingesta a las 2 horas *post-mortem* de forma no significativa ($p = 0,9179$). Por el contrario, la fracción de bajo peso molecular aumentó su presencia a las 2 h cuanto mayor fue la restricción dietaria, pero tampoco fue significativo este hallazgo ($p = 0,9723$).

En estudios realizados para evaluar la influencia de la restricción dietaria sobre la estabilidad de las proteínas miofibrilares, se ha mostrado que éstas no resultaron afectadas en la rata (Almeida *et al.*, 2002), pero en cabritos se ha descrito una disminución significativa de ciertas fracciones, como la proteína C y la α -actinina (Almeida *et al.*, 2004). Este último resultado coincide con los hallazgos mostrados en el presente trabajo para la α -actinina, única fracción cuya disminución por efecto de la restricción dietaria resultó significativa.

Los pequeños cambios observados en el patrón electroforético muestran que la reducción de la ingesta no perjudica de forma decisiva la estructura muscular, aunque es posible que hayan ocurrido cambios importantes en las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares, relacionados con la desnaturalización de sus estructuras más allá de la mera proteólisis.

Bibliografía

- Almeida A.M., Harten S.V., Cardoso L.A. 2002. Serum amino acid and myofibrillar protein profiles of fed and underfed laboratory rats. *Nutrition Research* 22: 1453-1459.
- Almeida A.M., Schwabach L.M.J., De Waal L.H.O., Greyling J.P.C., Cardoso L.A. 2004. Serum amino acid and myofibrillar protein profiles in Boer goat bucks following undernutrition. *Small Ruminant Research* 55: 141-147.
- Einen O., Mørkøre T., Rørå A.M.B., Thommassen M. S. 1999. Feed ration prior to slaughter - A potential tool for managing product quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 178: 149-169.
- Martínez I. 1992. Fish myosin degradation upon storage. In: Huss H.H., Jacobsen M., Liston J. (Eds.), Quality Assurance in the Fish Industry. Developments in *Food Science*, vol. 30. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 389-397.
- Papa I., Álvarez C., Verrez-Bagnis V., Fleurence J., Benyamin Y. 1996. Post mortem release of fish white muscle α -actinin as a marker of disorganisation. *J. Sci. Food Agric.* 72: 63-70.
- Verrez-Bagnis V., Ladrat C., Morzel M., Fleurence J.N.J. 2001. Protein changes in *post mortem* sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle monitored by one- and two-dimensional gel electrophoresis. *Electrophoresis* 22: 1539-1544.

Conservación de filetes de tilapia (*Oreochromis spp*) en atmósfera modificada y vacío «skin»

L. Provincial¹, S. M. Español¹, V. Alonso¹, M. Villarroya², P. Roncalés¹, J. A. Beltrán¹

¹ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 199, 50009, Zaragoza. jbeltran@unizar.es

² Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid

Abstract

The objective of this study was to obtain a long shelf life keeping the safety and the best quality of fresh tilapia fillets in modified atmosphere packaging (MAP) and Vacuum «Skin» (VS) packaging in refrigeration ($4 \pm 1^\circ \text{C}$) and darkness. Four groups were constituted: 60% CO_2 / 40% N_2 ; 5% O_2 / 50% CO_2 / 45% N_2 , vacuum «Skin» and Over-wrap packages. Samples were stored during 21 days. No differences were found for the pH, L^* and a^* values in 60% CO_2 / 40% N_2 , 5% O_2 / 50% CO_2 / 45% N_2 and vacuum «Skin». Nevertheless, lipid oxidation (TBARS) values were lower for these atmospheres. Tilapia fillets had a longer shelf life for 60% CO_2 / 40% N_2 and 5% O_2 / 50% CO_2 / 45% N_2 modified atmosphere packages (19-21d) and for Vacuum «Skin» packages (15-19d).

Introducción

Actualmente, los productos de pescado envasados en atmósfera modificada (AM o EAP) están experimentando un aumento en su demanda, ya que se consigue prolongar la vida útil (1).

Objetivos

El estudio de diferentes atmósferas modificadas en la conservación de tilapia en fresco, determinando las condiciones óptimas.

Materiales y métodos

Se utilizaron 20 ejemplares de tilapia cultivada. Se filetearon y envasaron en Aire 100% (Aire), Vacío-Skin (Skin) y con las AM 5% O_2 / 50% CO_2 / 45% N_2 (5/50/45) y 60% CO_2 / 40% N_2 (60/40). Las condiciones de almacenamiento fueron 21 días, $4 \pm 1^\circ \text{C}$ y oscuridad. Los parámetros medidos fueron: pH por homogeneización (Crison Modelo Basic 20), medida de la oxidación lipídica (TBARS) método de *Pfalzgraf y col* (2); color (parámetros L^* a^* b^*) mediante espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón); recuento microbiano de aerobios y enterobacterias por homogeneización en masa y análisis sensorial con panel entrenado de 6 miembros, utilizando escalas estructuradas para valorar la tilapia en fresco y en cocinado a 72°C , determinando la significación mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS (2005).

Descripción de resultados

El pH inicial de los filetes de tilapia fue de $6,63 \pm 0,02$ y tanto en las AM como en el Skin siguió el mismo comportamiento, mientras que el Aire experimenta un incremento notable a partir del día 15. La oxidación lipídica fue durante todo el periodo de almacenamiento inferior al límite máximo establecido (3). El lote AM 60/40 y Skin presentan valores más bajos que las demás condiciones de envasado. En el análisis del color, los valores iniciales de los parámetros estudiados fueron $L^* = 35,12 \pm 3,14$; $a = -0,3 \pm 2,41$ y $b = 0,55 \pm 2,65$. El valor L^* en todas las condiciones de envasado permanece constante en el tiempo. El valor b^* y a^* para el Aire, a partir del día 11, es considerablemente diferente al resto de condiciones. El crecimiento bacteriano en la AM 60/40 es inferior a los demás casos, puede atribuirse a la acción bacteriostática del CO_2 (4,5). En el análisis sensorial en crudo, se aprecian mejores puntuaciones para las dos AM y el skin durante todo el periodo de almacenamiento. La decoloración es más rápida y severa en el envasado en aire y el olor en este lote no supera el límite de aceptabilidad a partir del día 11 mientras que para los otros tres lotes, no se sobrepasa dicho límite hasta el día 21. Respecto al análisis sensorial tras el cocinado, cabe destacar que el olor característico presenta valoraciones similares y positivas hasta el día 19 tanto para las AM como para el skin. Por el contrario, el flavor de las muestras envasadas en skin se acerca más a las valoraciones del aire, resultando muy inferiores a las de las AM. Los olores desagradables son mayores para las muestras envasadas en aire y skin alcanzando las puntuaciones máximas los días 11 y 19 respectivamente, mientras que el valor máximo en AM se alcanzó el día 21 de estudio. La apreciación

global para el aire no supero el umbral de aceptación a día 11, el vacío-skin a día 15 y las AM recibieron puntuaciones positivas hasta el día 19.

Conclusiones

Las dos AM prolongaron la vida útil del producto entre 15 y 19 días, obteniendo para la 60/40 valores físico-químicos sensiblemente mejores.

Referencias bibliográficas

1. Giménez B., Sánchez-Escalante A., Torrescano G., Roncalés P., Beltrán J. A. Different Packaging Conditions to Improve shelf Life of Filleted Gilt-Head Sea Bream (*Sparus aurata*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11, 275-286 (2002)
2. Pfalzgraf A., Frigg M., and Steinhart H. Alpha tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *J. Agric. Food. Chem*, 43, 1339-1342 (1995).
3. Connell JJ. *Control of Fish Quality* 1st Edition. Fishing Books Limited, London (1975).
4. Aaron L. Brody. *Envasado de carne en atmósferas modificadas y a vacío. Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío*, 21-45 (1996).
5. Devlieghere F., Debeverea J., Van Impe J. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 105-113 (1998).

Estabilización y caracterización de pulpas de pescado procedentes de especies de acuicultura

R. Llorente, Y. Ríos, M. Altonaga, M. Ibargüen e I. Peral

Unidad de Investigación Alimentaria. Área de Nuevos Alimentos. AZTI-Tecnalia. Atondo Bidea. Edif. 609. Parque Tecnológico de Bizkaia. 48160 Derio (Bizkaia). e-mail: rllorente@azti.es

Resumen

The objective of this work was to study new alternatives to improve the industrial commercial value of two Spanish aquaculture fish species, Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) and Seabass (*Dicentrarchus labrax*) by means of obtaining stabilized minced fish. The products were obtained by mechanically separating the fish-muscle from skins and bones using a meat mincer. After that, it was mixed with cryoprotectants and frozen at -20°C . Physico-chemical characterization was measured by means of analytical composition, colour, water holding capacity (WHC), water binding capacity (WBC) and cooking yield (CY) analyses. The obtained stabilized minces showed good quality properties; however the best quality protein was obtained from seabass because its proportion of bound water after a defrosting process, a physical stress and cooking processes were higher than seabream. In addition, Whiteness, considered as a quality factor for fish products, was higher in frozen and crude seabass minces, however it was not found significant differences in cooked minces. It was concluded that it is possible to develop an industrial process to obtain high added value products starting from stabilized mince fish from aquaculture species.

Justificación

La acuicultura es uno de los sectores productores de alimentos con mayor potencial de crecimiento. Este crecimiento, permite mantener la proporción de pescado en la dieta mundial. Sin embargo, aunque cada vez es mayor la demanda de producto eviscerado y fileteado en el mercado, la mayor parte sigue comercializando pescado entero. Una forma de proporcionar un valor añadido sería la obtención de pulpas de pescado estabilizadas, ya que a partir de este músculo de pescado picado se pueden elaborar una amplia gama de productos reestructurados con formas, sabores y texturas diferentes a las tradicionales. Por tanto, el objetivo de este trabajo es proporcionar una alternativa al sector acuícola para obtener productos de alto valor en el mercado y mejorar la rentabilidad del mismo mediante la fabricación de pulpas de pescado.

Materiales y Métodos

Para la elaboración de pulpas de pescado estabilizadas se han empleado dos especies de pescado de acuicultura, Dorada (*Sparus aurata*) y Lubina (*Dicentrarchus labrax*) de peso aproximado 400 ± 50 g. Una vez descongeladas y evisceradas fueron transformadas en planta piloto mediante una procesadora de pulpa (Baader 694) y estabilizadas mediante una mezcla compuesta por sorbitol, azúcar y polifosfatos. Finalmente fueron congeladas a -20°C hasta su posterior análisis.

Para caracterizar las pulpas de pescado se determinó su composición básica en proteína, grasa, humedad y cenizas (AOCAC, 1995). El color superficial se analizó tanto en muestras congeladas, refrigeradas y cocidas empleando el colorímetro Minolta CR400 asociado al software Spectramagic NX. Así mismo, se determinó la capacidad de retención de agua tras el proceso de descongelación (WHC) realizado a 4°C durante 12 horas, tras la aplicación de fuerzas externas (WBC) centrifugando a 1.341 g durante 15 minutos y tras el cocinado (CY) a 100°C durante 15 minutos (Sánchez-Alonso *et al.*, 2007)

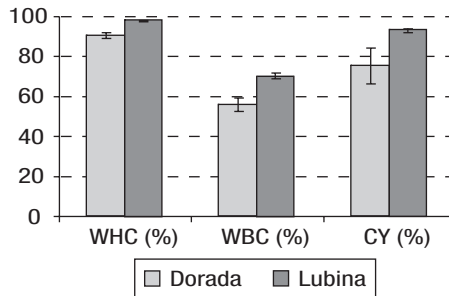
Resultados y Discusión

El análisis de composición muestra ligeras diferencias entre las dos muestras de pulpas de pescado analizadas, siendo el contenido graso y humedad en los que se han encontrado diferencias significativas ($p < 0,05$). El contenido graso en pulpa de dorada y lubina varía entre 3,7 y 4,2% respectivamente por lo que sería adecuado añadir algún aditivo antioxidante para prevenir los problemas de oxidación grasa durante el almacenamiento en congelación.

En cuanto a las medidas de color superficial (Tabla 1), todas las muestras cocinadas presentan valores de luminosidad (L^*) y blancura (W) mayores que las muestras congeladas o crudas-descongeladas. De las dos muestras, la Lubina es la que presenta mejores características de blancura en crudo y congelado, ya que la pulpa de dorada tiende hacia tonalidades rojas demostrable por los valores a^* obtenidos, sin embargo en muestras cocidas no se encontraron diferencias significativas entre ambas ($p < 0,05$).

Tabla 1. Color superficial en muestras congeladas, crudas y cocinadas

	L*	a*	b*	W*
<i>Pulpa congelada</i>				
— Dorada	56,91 ± 0,77	2,59 ± 0,02	9,60 ± 0,17	28,10 ± 0,38
— Lubina	64,62 ± 1,28	1,19 ± 0,19	9,79 ± 0,36	35,25 ± 1,88
<i>Pulpa cruda descongelada</i>				
— Dorada	61,76 ± 2,02	2,85 ± 0,69	11,48 ± 1,65	27,32 ± 3,32
— Lubina	59,81 ± 3,03	0,75 ± 0,41	9,23 ± 1,04	32,13 ± 1,49
<i>Pulpa cocinada</i>				
— Dorada	73,21 ± 2,03	0,02 ± 0,17	10,79 ± 0,38	40,85 ± 2,80
— Lubina	75,49 ± 1,97	-0,19 ± 0,11	11,50 ± 0,47	41,00 ± 1,45

Figura 1. WHC, WBC y CY en pulpas de pescado estabilizadas de dorada y lubina

La capacidad de retención de agua podría considerarse como un método indirecto para determinar la textura de los alimentos (Troutt, 1988) y permite obtener información sobre su efecto en las propiedades mecánicas y estructurales. Según los resultados de la Figura 1, se observa que la pulpa estabilizada de Lubina es la que presenta una mayor calidad proteica por los mayores porcentajes de retención de agua tanto tras descongelación (WHC), tras aplicación de fuerzas externas (WBC) y tras cocinado (CY). Sin embargo, sería conveniente estudiar el efecto del almacenamiento en congelación sobre la calidad de las proteínas de pescado.

La obtención de pulpas estabilizadas de dorada y lubina podría ser una alternativa para mejorar la comercialización de estas especies ya que sus propiedades fisicoquímicas las hacen adecuadas para una transformación posterior.

Agradecimiento

Se agradece a la empresa Aquicosta S.L por su financiación dentro del proyecto Cenit-Acuicost 2008-11.

Bibliografía

- AOAC.1994. Official methods of Analysis. 16th ed Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists. p. 1298.
- Sánchez-Alonso I., Haki-Maleki R., Borderias A.J. 2007. Wheat fiber as functional ingredient in restructured fish products. *Food Chemistry* 100: 1037-1043.
- Troutt G.R. 1989. Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods. A review of methodology. *Meat Science* 23: 235.

Desarrollo de perfiles sensoriales para la caracterización de tres especies de crianza: dorada, lubina y besugo

L. Rincón¹, R. Ginés¹, M.D. Hernández², A. Álvarez², A. Claret³ y L. Guerrero³

¹ ICCM-ULPGC. Trasmontaña, s/n. 35413 Arucas. larima@hotmail.com

² IMIDA-Acuicultura. Box 65. 30740 San Pedro del Pinatar

³ IRTA. Finca Camps i Armet. 17121 Monells

Abstract

The quality perception of consumers to aquaculture products is the expression of an intention to consume them. In this sense, descriptive analysis is a sensory methodology that provides a basis for determining those sensory attributes that are important to acceptance. And the first step to compare the organoleptic characteristics of wild and cultured species is to develop and validate a sensory profile. For that, three sensory profiles are proposed to work with three different species: gilthead sea bream *Sparus aurata*, European sea bass *Dicentrarchus labrax* and blackspot sea bream *Pagellus bogaraveo*.

Justificación

El principal motivo esgrimido para que el pescado de crianza sea rechazado en nuestro mercado por parte de aquellos consumidores que no lo consideran como una opción de compra es su deficiente calidad al compararlo con el de pesca extractiva (Luna *et al.*, 2004). Y aun siendo la percepción de calidad de un producto como el pescado de crianza una amalgama compleja de factores, uno de los aspectos quizá más importantes para su aceptación tiene que ver con las características organolépticas. En este sentido, un análisis descriptivo cuantitativo que proporcione una completa descripción sensorial, permitirá establecer similitudes y diferencias dentro de especies según su origen, así como determinar cuales de esos atributos son preponderantes para favorecer el acceso de los consumidores más reticentes.

Con el presente trabajo se describe la realización y validación de perfiles sensoriales para tres especies de pescado de crianza como paso previo para su caracterización sensorial y la cuantificación de las diferencias que se puedan apreciar frente a individuos de la misma especie pero provenientes de pesca extractiva.

Material y Métodos

Las especies sobre las que se ha trabajado han sido dorada *Sparus aurata*, lubina *Dicentrarchus labrax* y besugo *Pagellus bogaraveo*, tanto con individuos procedentes de pesca extractiva como de crianza. En el desarrollo de los perfiles sensoriales han intervenido tres paneles de evaluadores entrenados que están radicados en diferentes centros de investigación (ICCM, IMIDA e IRTA). Cada uno de los paneles ha trabajado de manera independiente, siendo consensuados al final del proceso aquellos descriptores más adecuados para definir las características sensoriales de cada una de las especies en estudio. La selección de los descriptores propuestos por cada panel se estableció mediante la discusión entre los evaluadores dentro del panel. Uno a uno fueron describiendo las sensaciones percibidas y de manera global se concretaron y definieron los descriptores que se confirmaron como más apropiados y uniformes, entendidos y aceptados por todos, y que además fueran suficientemente discriminantes para diferenciar, en este caso, el origen del pescado en las especies bajo estudio.

Una vez establecidos los descriptores, se diseñaron las correspondientes escalas para el entrenamiento específico del panel. Se seleccionaron especies de pescado en función de que presentaran una intensidad alta o baja para algunos de los atributos seleccionados, siendo en definitiva los propios integrantes el panel los que decidieron cuales eran los más convenientes para cada característica a evaluar. Las valoraciones se realizaron utilizando una escala no estructurada de 10 cm con anclajes en los extremos.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se presentan los descriptores utilizados para los perfiles sensoriales de las tres especies así como sus definiciones, algunos de los cuales ya han sido previamente utilizados probando diferentes dietas con las mismas especies (Izquierdo *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2005). Aunque el total de descriptores es 21, no todos han sido incluidos para todas las especies, siendo el perfil con mayor número el del besugo (18 descriptores) y la lubina el de menor (15). Estos han sido agrupados en cinco bloques atendiendo al tipo de percepción sensorial: olor, apariencia, textura, flavor y gusto residual tras la deglución.

Tabla 1. Definición de los descriptores usados para estudios de perfiles en dorada, lubina y besugo

Atributos	Definiciones
<i>Olor</i>	
Intensidad global	Intensidad del olor, su persistencia
Marino***	Intensidad de olor a mar, a algas
A marisco**	Intensidad de olor a marisco, a crustáceos
Aceitoso	Intensidad de olor a aceite de pescado
<i>Apariencia</i>	
Color	Intensidad de color blanco al corte
Brillo	Intensidad de luz reflejada al corte
Exudado*	Cantidad de líquido expelido por el filete
Integridad del miómero	Facilidad para disgregar los miómeros musculares
<i>Textura</i>	
Firmeza	Firmeza de la carne al presionar contra el paladar
Jugosidad	Líquido liberado durante la masticación
Gomosidad**	Grado de cohesión durante la masticación
Masticabilidad	Numero de masticaciones necesarias deglutir
Adherencia	Grado en que el filete disgregado se adhiere a los dientes
Carácter graso	Percepción de una película grasa en la boca
Áspera**	Intensidad de sensación áspera
<i>Flavor</i>	
Intensidad global	Intensidad del flavor, su persistencia
Marino***	Intensidad de flavor a mar, a algas
A marisco**	Intensidad de flavor a marisco, a crustáceos
Aceitoso	Intensidad de flavor a aceite de pescado
Dulce**	Intensidad de flavor dulce
<i>Gusto residual</i>	Persistencia del flavor tras la deglución

Para definir las intensidades de las escalas, las especies empleadas han sido merluza, salmón, fletan, lenguado, sama roquera, rape, mújol, panga y emperador. Al igual que con los descriptores, no todas se han considerado en los tres perfiles, siendo incluidas atendiendo al atributo específico a calibrar con cada una.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura de JACUMAR.

Bibliografía

- Izquierdo M.S., Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Rosenlund G., Ginés R. 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250: 431-444.
- Luna L., Fernández J.M., Incera M., Duque C.. 2004. *Hábitos de consumo de dorada y lubina en España en el periodo 2003-2004*. Ed. MA-PA, Madrid, 2004, 64 pp.
- Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Ginés R., Izquierdo M.S. 2005. Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils. A time-course study on the effect of a refeeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248: 121-134.

Perfil descriptivo de dorada (*Sparus aurata*). Comparativa entre salvaje y cultivada por tres paneles de catadores entrenados

M.D. Hernández¹, A. Álvarez¹, B. García García¹, A. Claret², L. Guerrero², L. Rincón³ y R. Ginés³

¹ IMIDA-Acuicultura. Apdo. 65. 30740 San Pedro del Pinatar (Murcia). mdolores.hernandez6@carm.es

² IRTA. IRTA, Finca Camps i Armet. 17121 Monells

³ ULPGC-GIA. Trasmontaña, s/n. 35413 Arucas (Las Palmas de Gran Canaria)

Abstract

Organoleptic characteristics are a fundamental aspect in the quality of a food. Its perception, despite being very variable among the potential purchasers, may become measurable and as well modified or at least controlled during production and commercialization. The objective of this work was to evaluate possible sensory differences between seabream obtained by fishing and those cultured. In order to get this, three panels of independent tasters (IRTA, ULPGC, IMIDA) were trained in the specific characteristics of this species. Significant differences have been found ($p < 0.05$) depending of the origin for marine odor intensity, oily odor, color, shine, exuded color, intensity of characteristic flavor and marine flavor, oily flavor, firmness, juiciness, chewiness and fatness. The differences detected for the different attributes among the panels are quite homogeneous, with a relatively high degree of coherence among the three panels. It would be convenient to make tests to find out if the differences are detectable without training, doing tests among consumers.

Justificación

El Plan Nacional de Acuicultura «Caracterización de la calidad del pescado de crianza» (2008-2011, JACUMAR) persigue dotar de herramientas que posibiliten llegar a un mayor número de consumidores. Un aspecto fundamental en la calidad de un alimento son sus características organolépticas. Su percepción aun siendo muy variable entre potenciales compradores, pueden llegar a ser mensurables y además modificables o al menos controlables durante la producción y comercialización. El objetivo de este trabajo fue evaluar las posibles diferencias sensoriales de doradas procedentes de la pesca y de crianza.

Material y Métodos

Para ello tres paneles de catadores independientes (IRTA, ULPGC, IMIDA) fueron entrenados en las características propias de la especie (ISO 8586-1, 1993). Las doradas de tamaño comercial utilizadas en el estudio provenían de una misma localización geográfica (Murcia).

Para la elaboración del perfil descriptivo de la dorada, se partió de una propuesta de posibles descriptores que fueron consensuados por los panelistas de los tres paneles. El perfil estaba compuesto por tres atributos de olor, cuatro de apariencia, cuatro de sabor y cinco de textura. Se utilizó una escala no estructurada de 10 cm con anclajes en los extremos. Como referencia, se trabajó con distintos tipos de pescados (fletán, panga, emperador, mújol, salmón, merluza, lenguado) para definir los extremos de las escalas para cada uno de los atributos. Las especies se seleccionaron de modo que la dorada se encontrase, para ese atributo, en una posición intermedia.

También se consensuó entre los tres paneles el protocolo experimental para que las pruebas se desarrollaran de igual manera para los tres grupos. Los peces fueron descamados, eviscerados y fileteados. De cada filete se extraían tres porciones de la parte dorsal de unos dos centímetros de ancho por tres de alto. Cada trozo se colocaba en una cajetilla de aluminio y se tapaban para su cocinado en horno a 115°C durante 10 minutos. Las muestras fueron identificadas con un código con tres dígitos. Cada catador realizó 8 catas de doradas de cada uno de los orígenes (8 réplicas) en cuatro días diferentes para evitar la fatiga sensorial.

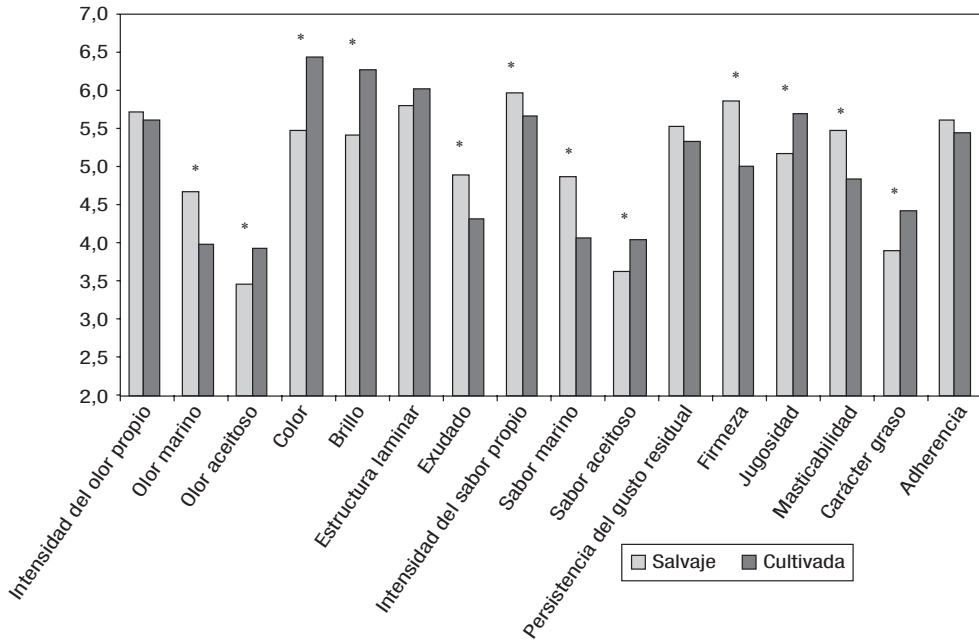
Resultados y Discusión

Se han detectado diferencias significativas ($p < 0,05$) según el origen para la intensidad del olor marino, la del olor aceitoso, el color, el brillo, el color del exudado, la intensidad del sabor propio, la del sabor marino, la del sabor aceitoso, la firmeza, la jugosidad, la masticabilidad y el carácter graso (Fig. 1).

Las diferencias detectadas para los diferentes atributos entre los distintos paneles son bastante homogéneas. Apreciándose un relativamente alto grado de coherencia entre los tres paneles.

Los resultados obtenidos están de acuerdo con los aportados por otros autores (ver Grigorakis, 2007), mostrando los peces salvajes una textura más firme, más sabor y un color más oscuro. Mientras que los culti-

Figura 1. Valores medios obtenidos para cada atributo para la dorada salvaje y cultivada. Diferencias entre los mismos (* = $p < 0,005$)



vados tienen un carácter graso más intenso con mayor olor y sabor aceitoso. En cualquier caso, la magnitud de las diferencias encontradas es bastante pequeña. Sería conveniente comprobar si estas diferencias son detectables si no se está entrenado para ello; realizando pruebas de diferencia entre consumidores.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los «Planes Nacionales de Acuicultura (JACUMAR)».

Bibliografía

- Grigorakis K. 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture* 272: 55-75.
- ISO 8586-1. 1993. Sensory analysis. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors.

Programa de vigilancia sobre anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia

J. Peñalver, E. María Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, E. Viuda, J. I. López y M. L. Pla

Servicio de Pesca y Acuicultura. D.G. de Ganadería y Pesca. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia).
e-mail: jose.penalver2@carm.es

Abstract

The entry into legal effects of RD 1420/2006 has created controversy over the presence of *Anisakis* larvae in fish aquaculture, especially marine industry's arguments based on studies conducted in Northern Europe. It is of great interest for the sector to demonstrate its absence in fish farms from the Mediterranean sea. In this work, checked the analyzed farmed fish within the JACUMAR project. Epidemiological Surveillance has been conducted to assess the presence of the parasite, both by visual examination as making artificial digestion techniques on muscle tissue. In total 851 fish were analyzed between 2006 and 2009 from farms in the coastal of Murcia, none positive.

Justificación

La presencia de larvas de anisakis en el pescado de consumo humano supone un riesgo para la salud pública. Con el fin de disminuir la incidencia de esta zoonosis, las autoridades sanitarias a nivel europeo promulgaron diversa normativa la cual ha tenido su reflejo a nivel nacional en el Real Decreto 1420/2006. La aplicación de esta normativa ha provocado reacciones contrarias en diversos sectores y ha suscitado una polémica sobre la ausencia o no de este parásito en los ejemplares procedentes de la acuicultura. No hay estudios sobre la presencia de anisakis en ejemplares procedentes de acuicultura marina mediterránea, justificándose por el sector su ausencia en estudios realizados básicamente en el Norte de Europa (Lunestad, 2003). Resulta de gran interés verificar la ausencia de larvas de este parásito en los productos de la acuicultura, lo cual puede aportar un valor añadido a estas producciones.

Material y Métodos

Estudio sobre peces engordados en instalaciones acuícolas en mar abierto de la Región de Murcia entre los años 2006 y 2009. Los ejemplares eran de talla comercial o próxima a ella. La distribución temporal y por especies se detalla en la Tabla 1.

Todos los ejemplares fueron necropsiados por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar anotándose las características morfológicas habituales. Posteriormente fueron sometidos a un examen visual completo, tanto de la cavidad abdominal como de los órganos del aparato digestivo, para detectar la presencia de larvas libres de anisakis y posteriormente fueron sometidos a una digestión artificial de músculo para detectar la presencia de larvas en dicho tejido siguiendo la sistemática descrita por Osanz (2001).

Resultados y Discusión

No se encontró ninguna larva de anisakis en los ejemplares examinados, ni mediante la inspección visual ni en la prueba de la digestión de tejido muscular. Nuestros resultados coinciden con los de Lunestad (2003) en salmones, quien muestreó 1180 peces, realizando también inspección visual y digestión artificial de músculo. Excepcionalmente, Marty (2008) encontró una larva de anisakis en intestino de salmón cultivado en Canadá.

Existen muchos estudios sobre prevalencia de larvas de anisakis en peces procedentes de pesca extractiva. En estos estudios se analizan multitud de especies, estableciéndose en algunos trabajos recopilatorios las especies más frecuentemente infestadas (Ferre, 2001), no apareciendo la dorada ni la lubina entre ellos.

La ausencia de anisakis en pescados de acuicultura de nuestro litoral puede deberse a diversos factores: El más importante parece ser la alimentación. Lo cierto es que la alimentación artificial mediante pienso limita enormemente que los peces criados en jaulas en mar abierto entren en contacto con la fuente de infestación que serían pequeños crustáceos o incluso peces de menor tamaño como ocurre en los peces silvestres. Las especies cultivadas tradicionalmente en nuestras costas son la dorada y la lubina, las cuales no se citan como especies normalmente infectadas (Ferre, 2001). Aunque se trata de una parasitosis

Tabla 1. *Distribución temporal y por especies de peces analizados*

Año	Dorada	Lubina	Total Año
2006	66	34	100
2007	152	57	209
2008	251	105	356
2009	143	43	186
Total Especie	612	239	
Total Estudio			851

cosmopolita, tal y como cita el anterior autor, la temperatura del agua parece ser de gran importancia, siendo más frecuente en aguas frías y polares, lo cual implica que las aguas del Mediterráneo, bastante cálidas, sean menos favorables para el ciclo de vida de estos nematodos. Los datos de distintos estudios, como el de Fernández-Buendía (2005), corroboran que el grado de infestación en los peces del Atlántico es mucho mayor que el de los peces procedentes del Mediterráneo. La prevalencia más baja en el Mediterráneo también puede estar influida por un menor número de hospedadores definitivos.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha realizado en el marco del proyecto JACUMAR de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina.

Los autores agradecen a Emilio Romero y Jose M^a Martín-Lunas su inestimable colaboración en procesado de las muestras y análisis de datos.

Bibliografía

- Fernández-Buendía F., Pérez M.J., Hernández C., Fernández A. 2005. Resultados de las inspecciones llevadas a cabo en el programa de control de parásitos en el pescado en el municipio de Murcia en el año 2003 y 2004. *Actas del I Congreso de Seguridad Alimentaria*.
- Ferre I. 2001. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. *Revista Aquatic* 14.
- Lunestad B.T. 2003. Absence of nematodos in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66(1), 122-124.
- Marty G.D. 2008. Anisakid larva in th eviscera of a farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 279, 209-210.
- Osanz A.C. 2001. Presencia de larvas de anisakis (Nematodo: ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.

Influencia del ayuno previo al sacrificio sobre la vida útil de doradas (*Sparus aurata*) de tamaño comercial almacenadas en hielo

A. Álvarez^{1*}, B. García García¹, M.D. Garrido² y M.D. Hernández¹

¹ IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo. 65. 30740 San Pedro del Pinatar (Murcia). *e-mail: anam.alvarez2@carm.es

² Departamento de Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30071 Murcia

Abstract

Farmed commercial-sized gilthead seabream were subjected to different periods of starvation (24, 48 and 72 h) before being slaughtered in order to study the effect this had on post mortem quality and shelf-life. The animals were stored on ice at 4°C for 0, 7, 14, and 21 days. At each point during the sampling, physical-chemical (pH, TBA, TVBN, color and texture), microbiological and sensory analyses were performed to determine the spoilage that had occurred in the fish. Higher pH values were found in animals that were starved for 24 or 48 h. These values were the highest on days 14 and 21. Variations in TBA were not significant in any of the treatments. The TVBN increased with the number of days stored on ice. A discoloration occurred as the days went by in ice storage. The texture analysis revealed a certain softening of the flesh with time spent in storage. The microbiological analysis (total aerobic and Pseudomonas counts) and the quality index showed very significantly the deterioration in gilthead seabream as the on-ice storage time and the starvation time increased. The shelf-life was estimated to be 16 days for seabream starved for 24 h, 15 days for those starved for 48 h and 14 days for those starved for 72 h.

Justificación

El incremento en la demanda de dorada en el Mediterráneo y norte de Europa hace necesaria la obtención de productos acuícolas de alta calidad. La investigación sobre los cambios de calidad de la dorada que ocurren durante su manejo, distribución y almacenamiento en hielo cobran interés para las industrias acuícolas, comerciantes y consumidores (Alasalvar *et al.*, 2001).

El ayuno durante unos días antes del sacrificio es una práctica habitual en acuicultura, que permite obtener un pescado con los digestivos sin restos de alimento. Considerando el procesado, por ejemplo el fileteado y el congelado, la interrupción de la alimentación debe ser un determinante de la vida útil del producto (Huidobro y Tejada, 2004).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de la duración del período de ayuno previo al sacrificio (24, 48 y 72 h) sobre la vida útil de doradas de tamaño comercial almacenadas en hielo.

Material y Métodos

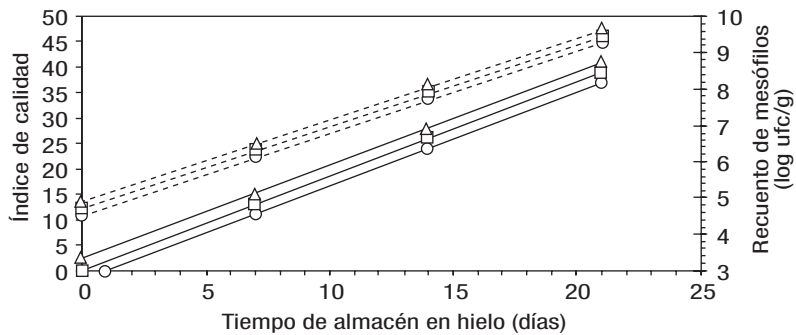
Doradas de cultivo de tamaño comercial ($436,8 \pm 87,3$ g) fueron sometidas a distintos periodos de ayuno (24, 48, y 72 h) antes de ser sacrificadas. Los animales se almacenaron a 4°C con hielo durante 0, 7, 14, y 21 días. Se llevaron a cabo análisis físico-químicos (pH, TBA, TVBN, color y textura), microbiológicos (aerobios mesófilos y psicrófilos, Pseudomonas, enterobacterias y coliformes) y un sensorial de apariencia para determinar el grado de deterioro de las doradas. El análisis sensorial se llevó a cabo tomando como referencia el Método del Índice de Calidad (QIM) específico para dorada de Huidobro *et al.* (2000) y el esquema seguido por González Cortés *et al.* (2000) de acuerdo con la legislación vigente (96/2406/CE).

Resultados y Discusión

Las variaciones de los parámetros medidos en cada análisis fueron más significativas con los días de almacén en hielo. No obstante, en cada uno de los días de muestreo se observaron diferencias significativas de algunas variables entre los distintos grupos de ayuno, poniendo en evidencia su efecto. El pH mostró valores más altos en animales ayunados 24 ó 48 horas con respecto a los que ayunaron 72 horas, y en los días 14 y 21. Las variaciones de TBA no fueron significativas con ninguno de los tratamientos. El TVBN incrementó con los días de almacén en hielo. Se produjo una decoloración y un ablandamiento de la carne de las doradas con el tiempo de almacenamiento. Los recuentos de aerobios totales y Pseudomonas, y el índice de calidad mostraron muy significativamente ($P < 0,01$) el deterioro de las doradas con el tiempo de almacén y al prolongar el periodo de ayuno.

El análisis microbiológico determina en última instancia la vida útil del pescado fresco. El límite máximo de aceptabilidad considerado para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos es de 7 log cfu/g

Figura 1. Regresión lineal del índice de calidad (líneas discontinuas) y recuento de mesófilos (líneas continuas) frente al tiempo de almacenamiento para los periodos de ayuno de 24 (○), 48 (□) y 72 (△) horas. Índice de calidad = $10,010+0,049t+1,619d$ y recuento de mesófilos = $2,497+0,011t+0,259d$



(ICMSF, 1986). La ecuación obtenida para este parámetro estima que este valor se alcanzaría a los 14, 15 y 16 días en función de que el ayuno sea de 72, 48 ó 24 horas, y el índice de calidad estimado con la ecuación correspondiente sería de 38 (Fig. 1).

Agradecimientos

Proyecto (POI-0701) de la «Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia» financiado por la fundación FEDER. Animales donados por Culmarex S. A. (Águilas, Murcia, España).

Bibliografía

- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Öksüz A., Garthwaite T., Alexis M.N., Grigorakis K. 2001. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry* 72: 33-40.
- EEC. 1996. Laying down common marketing standards for certain fishery products. Council Regulation (EC) No 2406/96 of 26 November 1996 Official Journal of European Communities, L 334, 1-15.
- Huidobro A., Pastor A., Tejada M. 2000. Quality Index Method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science* 65: 1202-1205.
- Huidobro A., Tejada M. 2004. Gilthead seabream (*Sparus aurata*): suitability for freezing and commercial alternatives. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 84: 1405-1413.
- González Cortés M.A., Penedo J.C., Millán R., Sanjuán E., Estupiñán S. 2000. Cambios en la vida útil de dorada acuacultivada en Canarias (*Sparus aurata*) conservada en hielo. *Alimentaria Marzao*: 61-64.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1986. Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications, 2nd Edition, Vol. 2. University of Toronto Press. Toronto; Canadá, pp. 181-196.

Selección y entrenamiento de un panel de catadores para pescado

A. Álvarez^{1*}, B. García García¹, M.D. Garrido², M.B. López², E. Ferrandini² y M.D. Hernández¹

¹ IMIDA-Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Apdo. 65.

30740 San Pedro del Pinatar (Murcia). *e-mail: anam.alvarez2@carm.es

² Departamento de Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30071 Murcia.

Abstract

Sensory analysis permits to define the changes produced in the organoleptic characteristics of food. In fish farming, any change in the conditions of farming can affect the nutritional quality and organoleptic properties of the final product. In this respect, the quality of fish is a major concern to the industry and consumers. The aim of this work consists of the selection and training of a group of subjects in order to form a taste panel for fish. The recruitment, selection and general training were conducted according to international standard ISO 8586-1:1993. Then the specific training for fish was performed. This consisted of the familiarization with attributes of appearance, odour, flavour and texture which can find in fish. In addition to work the development and use of descriptive profilings and the generation of the reference scores.

Introducción

Existen varios factores que pueden influir en la calidad del pescado de crianza, tanto en su calidad nutricional como en sus propiedades organolépticas. En este sentido, la evaluación sensorial permite detectar y definir los cambios producidos en las características organolépticas. El presente trabajo consistió en la selección y entrenamiento de un grupo de candidatos, cuya finalidad fue disponer de un panel entrenado de catadores de pescado.

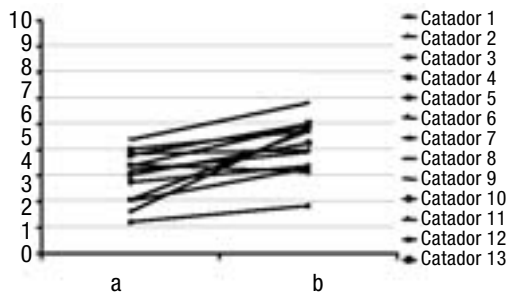
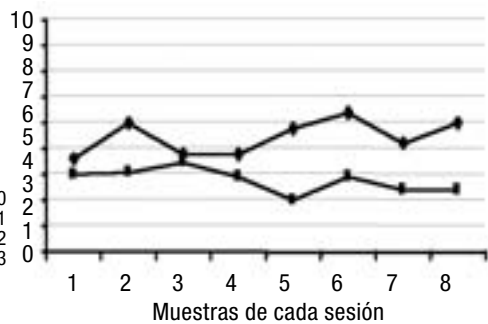
Material y Métodos

El reclutamiento, selección previa y entrenamiento general se llevó a cabo según la Norma Internacional ISO 8586-1:1993. Se reclutaron 38 candidatos del personal de administración, técnicos, investigadores, etc del IMIDA de edades comprendidas mayoritariamente entre 30 y 50 años, y consumidores habituales de pescado. Un total de 30 preseleccionados se sometieron a pruebas de reconocimiento y emparejamiento y de detección de sabores y olores, pruebas de descripción de olores y texturas, y pruebas de ordenación de estímulos para color, sabor, olor y textura. Posteriormente 24 seleccionados (16 mujeres y 8 hombres) realizaron el entrenamiento general, durante el cual se llevaron a cabo pruebas de emparejamiento, ordenación y detección con sabores básicos. Realizaron pruebas de ordenación con escalas normalizadas de textura (dureza, jugosidad, carácter graso, fibrosidad, y masticabilidad) y se iniciaron en el uso de descriptores para elaborar un perfil descriptivo con productos simples.

Tras el entrenamiento general 15 catadores (9 mujeres y 7 hombres) se sometieron a un entrenamiento específico de pescado. Para familiarizarse con olores relativos a mar se les presentó una serie de productos con dichas características (agua de mar, arena de playa, cangrejos, conchas, algas, gambas cocidas y percebes cocidos). También se les presentó muestras de algunos de los ingredientes utilizados en la elaboración de piensos (aceite de pescado, aceite de hígado de bacalao y harina de pescado) con olores que pueden detectarse en pescados de acuicultura. Se realizaron pruebas de reconocimiento de sabores básicos (dulce, salado, ácido y amargo), a alta y baja intensidad, y de olores (a mar, a rancio, ácido y amoniacal) en pescado.

Debido a que el panel debía entrenarse para la valoración de pescados blancos, se les preparó una prueba de discriminación de niveles de intensidad de distintas tonalidades de blanco. A partir de disoluciones acuosas con distintos productos que eran mezcladas con leche, se obtuvieron escalas de color blanco con tonos verdoso, marrón, gris y amarillento.

Para iniciar al panel en el uso de perfiles descriptivos se les presentó muestras de tres pescados distintos (merluza, salmón y atún) para que desarrollaran una relación de términos que describieran a cada especie en particular, así como aquellos términos que permitieran diferenciar una de otra. Se les proporcionó una lista de vocabulario que fue seleccionado tras una revisión bibliográfica. Posteriormente, con el objetivo de entrenar al panel en la elaboración de escalas y el desarrollo de perfiles descriptivos, valoraron y describieron una serie de muestras de distintos pescados (fletán, lenguado, dorada, emperador, mújol, merluza, rodaballo, lubina, besugo, rape, y bacalao).

Figura 1. Medida de la concordancia entre los catadores del panel para el atributo «firmeza»**Figura 2.** Medida de la repetibilidad individual de un catador para el atributo «carácter graso» del lote a (■) y b (◆)

Las últimas sesiones se dedicaron al entrenamiento específico de dorada. Los catadores seleccionaron y consensuaron los atributos de mayor relevancia para esta especie. Para ello cataron doradas de diferente origen (salvaje, cultivada), método de conservación (refrigerada, congelada) y manejo previo al sacrificio (ayunada). Para comprobar la fiabilidad del panel se representaron los datos de las puntuaciones medias de cada lote dadas por cada catador y las puntuaciones dadas a cada una de las muestras en las distintas sesiones según Fortín y Desplancke (2001).

Resultados y Discusión

Las valoraciones sensoriales realizadas por el panel pueden variar de un individuo a otro, y dentro de una misma persona en distintas sesiones (Ibáñez y Barcina, 2001). En la Figura 1 se muestra el rendimiento de cada catador para los dos tipos de muestra durante la valoración del atributo «firmeza». Existe una concordancia entre los asesores del panel, ya que, excepto los catadores 9 y 12, las puntuaciones dadas para cada lote son similares (3-5 el lote a y 4-6 el lote b). En cuanto al rendimiento de un juez para las distintas repeticiones, en el ejemplo de la Figura 2 puede apreciarse como este catador da puntuaciones similares a las distintas muestras de cada origen (3-4 el lote a y 5-6 el lote b) valoradas en distintas sesiones. Llegado a este punto el panel estaría preparado para llevar a cabo un análisis sensorial descriptivo de dorada.

Agradecimientos

Este proyecto ha sido financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura (Jacumar).

Bibliografía

- ISO 8586:1993. Sensory analysis. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors.
 Fortín J., Desplancke C. 2001. *Guía de selección y entrenamiento de un panel de catadores*. Acribia, S. A. Zaragoza; España.
 Ibáñez F.C., Y. Barcina Y. 2001. *Análisis sensorial de alimentos. Métodos y aplicaciones*. Springer-Verlag Ibérica. Barcelona, España, 84 pp.

Cambios musculares y texturales en dorada, *Sparus aurata* L. durante la degradación postmortem.

Estudio I: Filetes mantenidos en refrigeración

M.^a D. Ayala¹, I. Abdel¹, M. Santaella², C. Martínez², M.^a J. Periago², F. Gil¹ y O. López Albors¹

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Campus de Espinardo (Murcia). e-mail: mdayala@um.es

² Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Campus de Espinardo (Murcia). e-mail: marinasp@um.es; mjperi@um.es

³ Anatomía Patológica Comparada. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba

Abstract

The present work studies muscle and texture changes in refrigerated filets of sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem days: 0, 1, 5, 10, 15 and 22. Ultrastructural changes increased throughout the post-mortem degradation, although such alterations were already very marked since the initial stages. Thus, from 5 days on, the detachments of myofibrils to sarcolemma-endomysium were very frequent, the smooth reticulum appeared swollen and lysosomes degraded. Similarly, the interfibrillar detachments increased gradually, although such detachments were already very frequent since the initial stages. Texture parameters decreased throughout the post-mortem degradation, thus showing a negative correlation with the percentage of fibre to fibre detachments.

Justificación

Tras la muerte del pez se desencadenan cambios bioquímicos que alteran de forma importante la estructura muscular y disminuyen la calidad del producto. La manipulación y el método de conservación influyen en los procesos de degradación. En concreto, el fileteado incrementa la vida útil (Huss, 1999), ya que implica la evisceración y con ello disminuye la carga microbiana endógena, responsable de la degradación. No obstante, hay escasos estudios sobre el efecto del fileteado en la estructura del tejido muscular y su repercusión en la textura. El objetivo de este trabajo es estudiar la degradación muscular y la evolución de los parámetros texturales en filetes de dorada mantenidos en refrigeración durante 22 días. Los resultados se comparan con los encontrados a partir de dorada entera refrigerada (Ayala *et al.*, 2007).

Material y Métodos

36 doradas de talla comercial (≈30 cm longitud y ≈400 g de peso) fueron recogidas en la lonja de pescado de Alcantarilla (Murcia) y transportadas a la Facultad de Veterinaria en cajas selladas con hielo. Posteriormente, se obtuvo un filete/pez de ≈100 g. Se analizaron 6 filetes en cada uno de los siguientes estadios postmortem: 0, 1, 5, 10, 15 y 22 días, mantenidos en refrigeración (2°C). El análisis de las fibras musculares se realizó en el tercio caudal del filete, según la metodología descrita por Ayala *et al.* (2005). Los porcentajes de desuniones y fracturas fibrilares se calcularon en ≈150 fibras/pez, según protocolos de Taylor, Fjaera y Skjervold (2002) y Ayala *et al.* (2005). Los parámetros ultraestructurales se estudiaron con el microscopio electrónico de transmisión (7-10 fibras/ejemplar).

El perfil textural se midió mediante un texturómetro TA-XT2 (Stabel Microsystems, Surrey, England) con una célula de carga de 25 kg y software Textura Pro v.v. 2.1. Las muestras se comprimieron perpendicularmente al eje mayor de las fibras musculares en la porción craneal del filete dorsal, inmediatamente tras su obtención, y en crudo. Se utilizó una célula cilíndrica de 20 mm de diámetro, dos ciclos consecutivos al 50% de compresión, con velocidad constante de movimiento de la célula, 50mm/min. Las variables de textura se calcularon según Bourne (1978).

Resultados y Discusión

Los resultados ultraestructurales muestran que las organelas intracelulares (mitocondrias, retículo endoplásmico liso, etc.) se alteran de forma muy acusada en los filetes desde los 5 días postmortem. Tales alteraciones se observaron en estadios más avanzados en muestras no fileteadas de dorada (Ayala *et al.*, 2007), apareciendo principalmente a partir de los 10 días. De igual forma, los filetes de dorada del presente estudio mostraron mayor porcentaje de desuniones interfibrilares que los encontrados previamente en dorada entera (Ayala *et al.*, 2007). Tales desuniones aumentaron progresivamente (Tabla 1), mostrando una correlación negativa con los principales parámetros texturales del filete, lo que coincide con los resultados encontrados por Ayala *et al.* (2007) en ejemplares sin filetear.

Tabla 1. Evolución postmortem de las desuniones interfibrilares y fracturas intrafibrilares en filetes refrigerados de dorada. Valores medios \pm error estándar a partir de 6 ejemplares/estadio

Parámetros musculares	0 días	1 día	5 días	10 días	15 días	22 días
Desuniones (%)	58 \pm 16	64 \pm 26	73 \pm 26	73 \pm 27	81 \pm 7	100 \pm 0,3
Fracturas (%)	3 \pm 2	3 \pm 1	5 \pm 2	8 \pm 4	10 \pm 0,3	47 \pm 9

Tabla 2. Parámetros texturales en filetes refrigerados de dorada a lo largo de la degradación post-mortem. Valores medios a partir de 6 ejemplares/estadio

Parámetros texturales	0 días	1 día	5 días	10 días	15 días	22 días
Dureza (N)	18,5	11,1	3,9	4,8	4,4	2,6
Gomosidad (N)	6,7	4,4	2,1	2,1	2,2	1,4
Adhesividad (N/s)	-0,1	-0,1	-0,1	-0,03	-0,1	-0,1
Cohesividad (ratio)	0,4	0,4	0,6	0,4	0,5	0,5
Masticabilidad (N/mm)	12,5	12,6	4,6	6,1	5,5	3,1
Elasticidad (mm)	1,9	2,7	2,5	2,9	2,4	2

Estos resultados evidencian que la firmeza de la carne está relacionada con el aumento de las desuniones entre fibras, como ha sido encontrado por otros autores (Taylor, Fjaera y Skjervold, 2002; Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006). Por otra parte, si comparamos los datos texturales de los filetes del presente estudio con las muestras no fileteadas (Ayala *et al.*, 2007), se pone de manifiesto que la firmeza es menor en los filetes.

Bibliografía

- Ayala M.D., López Albors O., Blanco A., García-Alcázar A., Abellán E., Ramírez-Zarzosa G., Gil F. 2005. Structural and ultrastructural changes on muscle tissue of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., after cooking and freezing. *Aquaculture* 250: 215-231.
- Ayala, M.D., Abdel I., Santaella M., Periago M.^a J., Gil F., Martínez C., López-Albors O.. 2007. Valoración de parámetros estructurales y texturales en la degradación postmortem y vida comercial de la dorada, *Sparus aurata* L. *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 885-888.
- Bourne M.C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technology* 41(2): 163-178.
- Delbarre-Ladrat C., Chéret R., Taylor R., Verrez-Bagnis R. y V. 2006. Critical reviews in food science and nutrition. Archimer, archive institutionnelle de l'Ifremer. <http://www.ifremer.fr/docelec/>
- Huss H.H. 1999. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Documento Técnico de pesca 348. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, Roma, Italia.
- Taylor R.G., Fjaera S.O., Skjervold P.O. 2002. Salmon fillet texture is determined by myofiber-myofiber and myofiber-myocommata attachment. *Food Chem. Toxicol.* 67: 2067-2071.

Cambios musculares y texturales en dorada, *Sparus aurata* L., durante la degradación postmortem. Estudio II: Filetes envasados al vacío

M.^a D. Ayala¹, I. Abdel¹, M. Santaella², C. Martínez², A. Blanco³,
R. Latorre¹ y O. López Albors¹

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Campus de Espinardo (Murcia). e-mail: mdayala@um.es

² Departameto de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Campus de Espinardo (Murcia). e-mail: marinasp@um.es; mjperi@um.es

³ Anatomía Patológica Comparada, Fac. Veterinaria, Universidad de Córdoba

Abstract

The present work studies the muscle and textural degradation on vacuum fillets of sea bream, *Sparus aurata* L. during the following post-mortem days: 1, 7, 12, 16 and 22, in 6 specimens per stage. The interfibrillar detachments increased throughout the post-mortem degradation. The muscle ultrastructure altered gradually, thus showing the following alterations: detachments of myofibrils to sarcolemma, vacuolization of both mitochondriae and sarcoplasmic reticulum and disruption of sarcolemma-endomysium. Such alterations increased markedly from 12 days on. Autolytic mechanisms increased gradually, with presence of autophagic vacuoles, degraded lysosomes and hypertrophy of smooth reticulum. Such mechanisms increased on the two latest stages (16-22 days). Textural parameters decreased progressively, although a specific increasing of textural values was observed at 5-7 days.

Justificación

Los diferentes métodos de conservación influyen en la degradación postmortem. En concreto, el método de envasado al vacío permite retrasar dicho deterioro (Huss, 1999), ya que disminuye el aporte de oxígeno a las bacterias aerobias de la carne y reduce el enranciamiento de las grasas.

No existen estudios sobre la influencia de este método en el tejido muscular de las especies acuícolas. Por ello, el presente trabajo estudia la influencia del envasado al vacío en la degradación muscular de los filetes de dorada, y su correlación con la textura. Los resultados son comparados con los encontrados en dorada entera (sin filetear) (Ayala *et al.*, 2007), y con filetes no envasados a vacío (Estudio I: Filetes mantenidos en refrigeración. Ayala *et al.*).

Material y Métodos

30 doradas de talla comercial (≈ 400 g de peso) fueron recogidas en la lonja de pescado de Alcantarilla (Murcia) y transportadas a la Facultad de veterinaria de Murcia en cajas selladas con hielo. Posteriormente, se obtuvo un filete/pez de ≈ 100 g/pez. Los filetes se introdujeron en bolsas gofradas PA/PE 80/20, de 100 μm de espesor total, con una permeabilidad al oxígeno de 50 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{día}^{-1} \text{bar}^{-1}$ y al vapor de agua de 2,3 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ (T^a 23°C y 0% de HR), envasándose al vacío con una envasadora ORVED Proffesional Family (ORVED srl unipersonale, Italia) con un nivel de vacío final de 0,15 bar. Se analizaron 6 peces en cada uno de los siguientes estadios postmortem: 1, 7, 12, 16 y 22 días. El estudio del tejido muscular y los parámetros texturales se realizó según la metodología descrita en el estudio precedente (Estudio I: Filetes mantenidos en refrigeración. Ayala *et al.*).

Resultados y Discusión

Los filetes envasados al vacío mostraron una alteración gradual de las organelas intracitoplasmáticas y de los sarcómeros a lo largo de los diferentes estadios postmortem. Tales alteraciones se intensificaron a partir de los 16 días (Fig. 1), en que el retículo endoplásmico liso aparecía frecuentemente hipertrofiado y todas las organelas estaban intensamente alteradas, indicando un incremento de los mecanismos autolíticos. Sin embargo, tales alteraciones eran ya observadas a partir de los 5 días en filetes no envasados al vacío (Estudio I. Ayala *et al.*), lo que evidencia un retraso de los mecanismos autofágicos en las muestras envasadas al vacío. Por su parte, en dorada entera (Ayala *et al.*, 2007), estas marcadas alteraciones eran observadas desde los 10 días. Por otra parte, el porcentaje de desuniones interfibrilares fue menor en filetes envasados al vacío que en filetes no envasados, principalmente en los primeros estadios (hasta los 5-6 días) (Tabla 1), lo que evidencia una mejor preservación de la estructura en filetes envasados.

Figura 1. Secciones musculares de filetes de dorada al vacío 16 días postmortem. Barras: a: 1 μ m; b: 1,6 μ m; c: 1,1 μ m; if: espacios interfibrilares; mf: miofibrillas; c: fibras de colágeno; rel: retículo endoplásmico liso dilatado e hipertrofiado; des: mofibrillas desunidas del sarcolema; M: vacuola autofágica con estructuras mieloides; mit: mitocondria

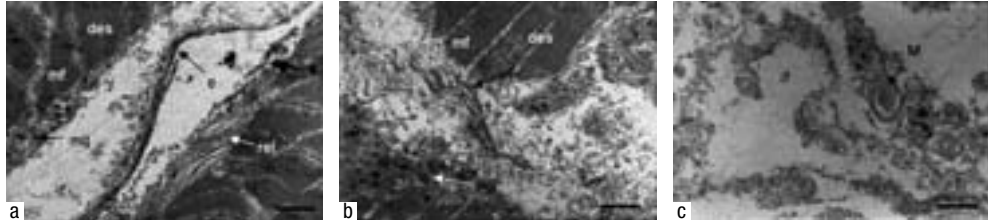


Tabla 1. Evolución postmortem de las desuniones y fracturas fibrilares en filetes de dorada envasados al vacío (FV), filetes refrigerados (FR) y dorada entera refrigerada (ER). Valores medios \pm error estándar. Diferentes superíndices dentro de cada columna indica diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$)

Parámetros		0 días	1 día	5 días	10 días	15 días	22 días
Desuniones interfibrilares (%)	FR	58 ^b \pm 16	64 ^b \pm 26	73 ^b \pm 26	73 ^b \pm 27	81 ^b \pm 7	100 ^b \pm 0,3
	FV		42 ^a \pm 12	31 ^a \pm 6	62 ^b \pm 9	63 ^b \pm 3	95 ^b \pm 5
	ER	4 ^a \pm 1	8 ^a \pm 2	12 ^a \pm 5	12 ^a \pm 3	27 ^a \pm 8	26 ^a \pm 6
Fracturas intrafibrilares (%)	FR	3 ^b \pm 2	3 ^b \pm 1	5 ^{ab} \pm 2	8 ^{ab} \pm 4	10 ^{ab} \pm 0,3	47 ^b \pm 9
	FV		2 ^b \pm 1	22 ^b \pm 3	28 ^b \pm 7	23 ^b \pm 7	59 ^b \pm 39
	ER	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	0 ^a \pm 0	1 ^a \pm 1	2 ^a \pm 1

Los valores texturales fueron más elevados en los estadios iniciales. Los valores más elevados se obtuvieron en dorada entera (Ayala *et al.*, 2007), seguido de filetes al vacío, mostrando los valores más bajos los filetes no envasados al vacío (Estudio I. Ayala *et al.*). En los siguientes estadios, los valores texturales disminuyeron en todos los casos. Estos resultados son similares a los descritos por Goulas y Kontominas (2007), que encontraron que la textura disminuía a partir de los 8 días en mackerel (*Scomber japonicus*), aunque tal disminución era menos intensa en filetes envasados al vacío que en filetes no envasados.

Bibliografía

- Ayala M.D., Abdel I., Santaella M., Periago M.^a J., Gil F., Martínez C., López-Albors O. 2007. Valoración de parámetros estructurales y texturales en la degradación postmortem y vida comercial de la dorada, *Sparus aurata* L. *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*: 885-888.
- Goulas A.E., Kontominas M.G. 2007. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Eur Food Res Technol* 224: 545-553.
- Huss H.H. 1999. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Documento Técnico de pesca 348. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, Roma, Italia.

Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes. Parámetros ambientales, fitoplancton tóxico y biotoxinas

M. Fernández-Tejedor¹, E. Dámaso¹, G. Giménez¹, P. de la Iglesia¹, M. Campàs¹,
J. Diogène¹ y M. Ramon²

¹ IRTA. Carretera del Poblenou km 5,5, 43540 Sant Carles de la Ràpita.
margarita.fernandez@irta.es

² Institut de Ciències del Mar (CSIC). Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49. 08003 Barcelona

Abstract

In the bays of Delta de l'Ebre, mussel (*Mytilus galloprovincialis*) mortalities occur basically due to the rise of temperature during summer period in these semiclosed areas in warm years. On the other side open Mediterranean waters are less productive but temperatures in summer are lower than in semiclosed areas. The objective is to determine if the conditions, in an open mediterranean area, are suitable to grow mussels. Sampling is performed every month to study the characteristics of the area. Physical and chemical parameters are registered, the chlorophyll amount and particulate organic and inorganic matter present in the water are determined as well as phytoplankton species and density. Mussels were analyzed for ASP (Amnesic Shellfish Poisoning) and lipophilic toxins including DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning). At the same time, the growth and development of the individuals was studied as a sample of the area.

Justificación

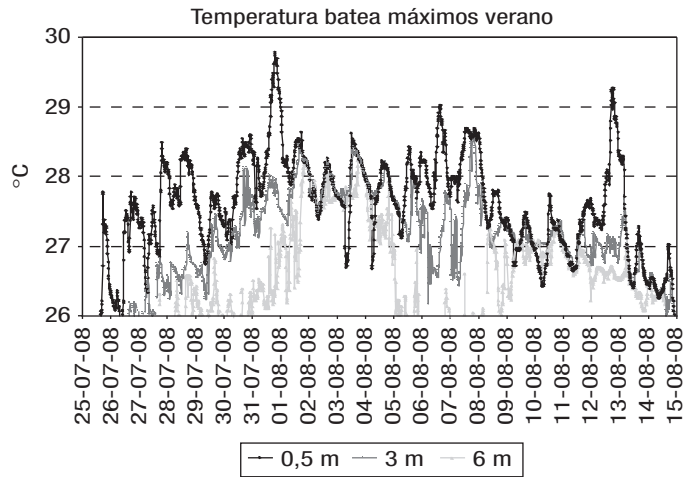
La producción de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en Cataluña se concentra en las bahías del delta del Ebro, Alfacs y Fangar. Ambas bahías presentan una elevada concentración de fitoplancton y de materia orgánica particulada, condiciones adecuadas para el cultivo, pero tienen el inconveniente de que las altas temperaturas del verano causan mortalidades más o menos elevadas dependiendo del año al llegar a una temperatura crítica para el mejillón. Teniendo en cuenta el aumento de la temperatura global es necesario encontrar soluciones para este sector. En aguas abiertas del Mediterráneo las temperaturas en verano no alcanzan valores tan elevados como las zonas de aguas semiconfinadas, pero por otro lado, la concentración de fitoplancton y de materia orgánica particulada son generalmente bajas. Para determinar la viabilidad del cultivo del mejillón en estas zonas es necesario conocer la variación de estos 2 parámetros a lo largo del año así como de otros, temperatura, salinidad, concentración de oxígeno disuelto, presencia de toxinas y de contaminación microbiológica. Por otro lado, es importante conocer la tasa de crecimiento, el ciclo reproductivo, la composición bioquímica del organismo y su susceptibilidad frente a organismos patógenos.

Material y Métodos

Para la realización del estudio se ha utilizado una batea flotante que consta de 6 módulos de 6 × 3,2 m disponiendo de 228 argollas en la que se han colgado las cuerdas de mejillón. La estructura se encuentra frente a Les Cases d'Alcanar a 2 millas de la costa donde hay una profundidad de 12 metros. Con frecuencia mensual, desde abril del 2007 hasta julio del 2009, se han realizado diferentes análisis de las aguas donde se encuentra dicha estructura. Mediante sondas YSI 556 MPS y CTD SeaBird 19-plus se han determinado las características físico-químicas de la columna de agua. Se han utilizado registradores de temperatura HOB0® Pro v2 Water Temperature colocados a diferentes profundidades para la obtención de datos de temperatura en continuo. Se han recogido muestras de agua de diferentes profundidades con una botella Niskin para determinar la concentración de clorofila, de materia particulada orgánica e inorgánica, de toxinas marinas y la composición de la población de fitoplancton. Se han recogido muestras de mejillón y filtros de agua para el posterior análisis del contenido en toxinas ASP por HPLC-UV (GEN 2008); y DSP/lipofílicas por LC-MS y ensayo de inhibición de fosfatasa.

Resultados y Discusión

Las temperaturas registradas en la zona de estudio superan la temperatura crítica para la supervivencia del mejillón pero solamente en superficie y de manera puntual como se puede observar en la figura 1. No se registraron condiciones de baja concentración de oxígeno disuelto en toda la columna de agua durante el periodo de estudio. Los valores de materia particulada total variaron entre 1,43 y 6,90 mg L⁻¹, con un contenido de materia orgánica que varía entre 17 y 81%. La concentración de clorofila varió entre 0,5 y 3 µg L⁻¹. Observamos acumulación de toxinas durante el periodo de estudio, siendo los perfiles similares

Figura 1. Registro de las temperaturas máximas durante el verano de 2008

a los que se encuentran en la bahía de Alfacs. Predomina el ácido okadaico (DSP), la pectenotoxina-2 secoácido y yessotoxinas. La caracterización de los perfiles multitoxínicos de las muestras están contribuyendo a la optimización de un biosensor para okadaico basado en la inhibición de la enzima proteína fosfatasa. Las toxinas tipo ASP se detectaron solamente por debajo del límite de cuantificación de la técnica que son $1,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ en dos ocasiones. Las especies y las densidades de fitoplancton detectadas explican las concentraciones de toxinas encontradas; especies como *Dinophysis caudata*, *D sacculus*, *D acuta*, *Protoceratium reticulatum* estuvieron presentes, estas especies han sido frecuentemente responsables de episodios de toxicidad en la bahía de Alfacs próxima a la zona de estudio (Fernández *et al.*, 2008).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos su financiación en el proyecto «Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad». Agradecimientos a FEPROMODEL (Federación de productores del Delta de l'Ebre) y al personal de apoyo de la Unidad de Seguimiento del Medio Marino en el IRTA, especialmente a Josep M^a Reverté y Vanessa Castan.

Bibliografía

- European Committee for Standardization (CEN). 2008. Standard reference method CEN/TC 275/WG5. Foodstuffs - Determination of domoic acid in shellfish and finfish by RPHPLC.
- Fernández M., Delgado M., Vila M., Sampedro N., Camp J., Furones D., Diogène J. 2008. Resultados del programa de seguimiento de fitoplancton tóxico y biotoxinas en las zonas de producción de bivalvos de Cataluña: años 2003-2006 y primer trimestre del 2007. En: *Avances y tendencias en fitoplancton tóxico y biotoxinas*. Actas de la IX Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas, Cartagena 7-10 Mayo 2007. J. Gilabert (Ed.), pp. 37-46.

Interrelación de laboratorios de control y laboratorios de investigación en España para la armonización de metodologías de determinación de toxinas paralizantes

G. Giménez¹, M. Gordillo², L. Fernández², R. Fernández², D. Jaén², M.A. Ocaña², L. Mamán², A. Caillaud¹, E. Cañete¹, M. Campàs¹, P. de la Iglesia¹, H. Eixarch¹, M. Fernández-Tejedor¹, C. Aguilar³, M.J. Solsona³, C. Yustes³, G. Llaveria⁴, J. Blanco⁵, J. Correa⁶, F. Arévalo⁶, P. Riobó⁷, B. Paz⁷, J. Franco⁷, A. López-Santacruz⁸, D. Merino⁸, E. Cacho⁸ y J. Diogène¹

¹ IRTA Sant Carles de la Ràpita. Ctra. Poble Nou, km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona).
gemma.gimenez@irta.cat

² Laboratorio de Control de Calidad de los Recursos Pesqueros (L. C. C. RR. PP).
Ctra. Punta Umbria-Cartaya, km 12. 21459 El Rompido (Huelva)

³ Laboratori a Tarragona de l'Agència de Protecció de la Salut. Avda. Maria Cristina 54. 43002 Tarragona

⁴ Institut de Ciències del Mar (ICM). Pg. Marítim de la Barceloneta, 37-39. 08003 Barcelona

⁵ Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA). Apdo. 13, 36620 Vilanova de Arousa (Pontevedra)

⁶ Instituto Tecnológico para o Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR).

Peirao de Vilaxoán, s/n. 36611 Vilagarcía de Arousa (Pontevedra)

⁷ Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo. C/ Eduardo Cabello, 6. 36208 Vigo (Pontevedra)

⁸ Sanidad Exterior. Estación Marítima del Puerto de Vigo. 36071 Vigo (Pontevedra)

Abstract

Marketing of cultured and harvested shellfish is linked to monitoring programs for granting food safety. Its complexity requires constant cooperation between research and monitoring laboratories in order to improve sampling and analysing performances, achieve legal requirements, etc. for increasing consumer's health protection but not reducing producer's benefits. The JACUMAR project «Comparison of methodologies for the evaluation of Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) toxins in bivalves. Application for aquaculture in Spain» groups research and monitoring laboratories from Galicia, Andalucía and Cataluña. Efforts are focused on detection and quantification of PSP toxins, searching an analytical method able to fulfil technical and management requirements.

Justificación

Los moluscos bivalvos son los organismos que se ha conseguido cultivar con mayor éxito en el campo de la acuicultura marina, representando el 27% de la producción total de animales acuáticos, el 59% de la producción marina total en el 2006 (FAO, 2009). Debido a que gran parte de su ciclo de producción se desarrolla en el medio natural, estos organismos están expuestos a un amplio espectro de contaminantes que pueden suponer un riesgo para la salud humana al consumirlos.

España, con Galicia a la cabeza, es uno de los principales productores mundiales de moluscos bivalvos. Su exportación y comercialización está sujeta a la ejecución de programas de control de la calidad de las aguas, el fitoplancton y los moluscos de las zonas de producción, de manera que sólo se permite cuando el contenido en una serie de contaminantes se encuentra por debajo de unos límites legales máximos permitidos (LMP). En caso contrario, se prohíbe —cierra— la explotación de la zona o especie en cuestión, lo que implica pérdidas económicas para el sector, más o menos importantes según la duración del cierre, el precio en el mercado de la especie, etc. La complejidad de estos programas conlleva la necesidad de intercambio y colaboración continuos entre los laboratorios encargados de su ejecución, pero también con otros laboratorios y grupos de investigación para poder optimizarlos (costes analíticos, n° de muestras procesables, tiempo de ejecución, n° personas implicadas, etc.) sin reducir el grado de protección al consumidor ni menoscabar los beneficios del sector productivo, y para estar a la última en cuanto a revisión de los niveles legales permitidos, técnicas, nuevos contaminantes a tener en cuenta, etc.

En este contexto de búsqueda de mejoras continuada, el proyecto financiado por la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR), «Comparación de metodologías para la determinación de toxinas paralizantes en bivalvos relacionadas con el Paralytic Shellfish Poisoning (PSP). Aplicación a la acuicultura en España», integra laboratorios de control y de investigación de Galicia, Andalucía y Cataluña con el propósito final de evaluar qué método analítico para la detección de toxinas PSP es aplicable dentro de los respectivos programas de control, tanto desde el punto de vista técnico como práctico, aprovechando la diversidad de tipos de muestras y la experiencia que pueden aportar los grupos participantes. Galicia, Andalucía y Cataluña son, por este orden, las tres comunidades autónomas con mayor producción de moluscos bivalvos del Estado, en las que los programas de control se ejecutan en la misma comunidad, por lo que los laborato-

Tabla 1. *Muestras disponibles para los ejercicios intercomparativos previstos en el proyecto. Los «blancos» son matrices de bivalvo en las que no se ha detectado toxicidad PSP*

<i>Alexandrium minutum</i>	<i>Gymnodinium catenatum</i>	«Blancos»
Mejillón	Corruco	Mejillón
Ostión	Mejillón	Ostión
Almeja	Almejón	Almeja
Berberecho	Vieira	Longueirón
	Chirla	Vieira
	Almeja chocha	

rios responsables de llevarlos a cabo tienen experiencia de primera mano sobre las peculiaridades locales, como la sensibilidad de las especies a determinados contaminantes, las dificultades analíticas, las dinámicas de los episodios de cierre, etc.

Material y Métodos

El proyecto se plantea como una comparación entre 6 metodologías: 1) el bioensayo ratón para toxinas paralizantes (MBA), 2) HPLC con derivatización pre-columna, 3) HPLC con derivatización post-columna, 4) LC-MS/MS, 5) la citotoxicidad y 6) los kits comerciales. Se requiere disponer de cepas de microalgas productoras de toxinas PSP en colección, y una cantidad importante de una misma muestra de bivalvo, ya sea originada por episodios naturales, ya sea por exposiciones experimentales en puertos o en laboratorio, para la realización de ejercicios intercomparativos entre técnicas y laboratorios sobre los que se basará la evaluación de la aplicabilidad de las metodologías.

Resultados y Discusión

Como resultado de esta colaboración, se ha fortalecido la comunicación ya existente entre los laboratorios participantes y ha aumentado el intercambio de muestras (Tabla 1), resultados y experiencia. Se dispone de cepas de 6 especies productoras de PSP entre todas las colecciones de los diferentes participantes.

En lo que a metodologías para la detección de toxinas PSP se refiere, este proyecto tiene mucho que aportar al debate continuo a nivel europeo sobre las metodologías de detección por HPLC pre- o post-columna, o sobre la reducción de los niveles aceptables planteado por el panel de expertos de la EFSA (European Food Safety Agency; Scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain). Los ejercicios intercomparativos previstos permitirán armonizar protocolos analíticos y pondrán a prueba los límites de detección y cuantificación de las metodologías.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR), y los programas de control por los gobiernos autónomos de Galicia, Andalucía y Cataluña.

Bibliografía

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2009. The state of world fisheries and aquaculture, 2008. *FAO Fisheries and Aquaculture Department*.

Estudio del contenido de ácidos grasos en la carne de trucha común (*Salmo trutta fario*). Comparación de la trucha común salvaje y de piscifactoría

A. M. Larrán¹, G. Illán¹, J. A. Carrasco², C. López-Quiroga²

¹ Unidad Otras Investigaciones Ganaderas, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Polígono las Casas, Calle A, parcela 5B, 42005-Soria. largaran@itacyl.es

² Instituto Nacional del Frío, CSIC, Jose Antonio Novais, nº 10, Ciudad Universitaria, 28040-Madrid. atanasio@if.csic.es

Abstract

Fat content is a good indicator of the wildlife aquatic organisms nutritional state. It depends on the species, season, size and the metabolism exchange. In the case of wild brown trout (*Salmo trutta fario*) the fatty acid composition greatly varies upon their diet (macro-invertebrate benthonic faune). Farmed brown trout are fed with commercial stuffs with all requirements.

In Castilla y León, there is not enough information about the fatty acid composition of the wildlife aquatic trout populations from the rivers. The objective is a preliminary study of the fatty acid composition either wildlife brown trout or farmed brown trout.

On the other hand, a chemical sensor («electronic nose») is used to determine the sensory factors to differentiate all kind of fish types.

In both groups, there is not statistical difference between total lipids, although DHA (C22:6), DPA (C22:5) and EPA (C20:5) content was higher in the farmed than in wild populations and the difference was statistically significant (Table 1). Total lipids in groups with different ages (one and three years old) show a difference statistically significant (Table 2)

The sensor could identify and differentiate both groups of populations (reared and wild) either volatile compounds than fatty acid.

Justificación

En el caso de la trucha de río, la que consideramos salvaje, el perfil de ácidos grasos está relacionado con el tipo de macroinvertebrados que ingiere como presa-alimento. En la trucha criada en piscifactoría se administran piensos comerciales que tienen el objeto de que cumplan con todos los requisitos nutricionales y que contengan todos los nutrientes que necesitarían los peces en condiciones naturales.

Debido a la poca información existente sobre la composición de ácidos grasos en poblaciones naturales de salmónidos en ríos de Castilla y León, se inicia este estudio para obtener datos preliminares sobre el perfil de ácidos grasos en trucha común de río salvaje y trucha común criada en piscifactoría.

Material y Métodos

Se eligió un tramo de río de la provincia de Soria, el río Ucero, sabiendo de antemano que no ha estado sujeto a repoblaciones y de este modo se asegura que la alimentación de las truchas se ha basado en macroinvertebrados. Se han recogido truchas de uno y tres años de edad. Las truchas alimentadas con pienso se obtuvieron en la misma época procedentes de una piscifactoría con fines de repoblación. Los lotes y edades fueron los mismos, para que la muestra fuera homogénea. En el músculo de los peces se determinó el contenido en grasa y perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gases-masas. Se ha utilizado el paquete estadístico SAS para estudiar las posibles diferencias entre los orígenes y las edades. La caracterización sensorial se ha realizado mediante la utilización de un «Sensor Químico» (Pseudonariz electrónica).

Resultados y Discusión

Desde el punto de vista estadístico, entre el grupo de truchas salvajes y cultivadas no hay diferencias significativas en el porcentaje de grasa encontrado aunque éstas diferencias si se observan en cuanto a la composición de la grasa. (Tabla 1). Cuando comparamos ambos grupos respecto a la edad, no se aprecian diferencias significativas respecto al perfil de los ácidos grasos analizados, aunque si en el porcentaje de grasa. (Tabla 2)

Con el análisis de compuestos volátiles y ácidos grasos se clasifican perfectamente las truchas por el origen. Los resultados obtenidos con el sensor químico permiten discriminar las truchas alimentadas con pienso de las truchas que se alimentan de presas silvestres de río.

Tabla 1. Nivel de significación respecto al origen

% ácidos grasos	Origen			
	Piscifactoría	Río	P-valor	EEM ¹
MirísticoC14:0	3,98 ^a	1,29 ^b	0,0001	0,08
Palmítico C16:0	16,40 ^a	18,13 ^b	0,0001	0,18
Palmitoleico C16:1	5,85	6,15	0,324	0,21
Esteárico C18:0	3,15 ^a	5,14 ^b	0,0001	0,09
Oleico C18:1	18,01 ^a	23,96 ^b	0,0001	0,59
Linoleico C18:2	6,22 ^a	4,16 ^b	0,0001	0,20
Linolénico C18:3	1,51 ^a	3,57 ^b	0,0001	0,16
Araquidónico C20:4	0,76 ^a	2,32 ^b	0,0003	0,26
EPA C20:5	10,57 ^a	6,45 ^b	0,0001	0,50
DPA C22:5	3,99 ^a	2,87 ^b	0,0001	0,99
DHA C22:6	24,40 ^a	21,37 ^b	0,001	0,83
GB ²	1,42	1,42	0,99	0,10

¹ EEM: Error Estándar de la Media. ² Porcentaje de grasa en el filete analizado Nivel de significación $p < 0,050$. Letras diferentes equivale a la observación de diferencias significativas.

Tabla 2. Nivel de significación respecto a la edad

% ácidos grasos	Edad			
	Un año	Tres años	P-valor	EEM ¹
MirísticoC14:0	2,76	2,51	0,04	0,08
Palmítico C16:0	18,4a	16,08 ^b	0,0001	0,18
Palmitoleico C16:1	6,31	5,70	0,05	0,21
Esteárico C18:0	4,22	4,07	0,279	0,09
Oleico C18:1	21,8	20,16	0,06	0,60
Linoleico C18:2	4,01 ^a	6,37 ^b	0,0001	0,21
Linolénico C18:3	2,41	2,67	0,25	0,16
Araquidónico C20:4	1,14	1,93	0,04	0,26
EPA C20:5	9,12	7,90	0,1	0,51
DPA C22:5	3,09 ^a	3,77 ^b	0,0001	0,10
DHA C22:6	21,89	22,88	0,11	0,86
GB ²	1,72 ^a	1,12 ^b	0,0004	0,10

¹ EEM: Error Estándar de la Media. ² Porcentaje de grasa en el filete analizado Nivel de significación $p < 0,050$. Letras diferentes equivale a la observación de diferencias significativas.

Agradecimientos

Este trabajo pertenece al Plan de Experimentación Agraria del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León y ha sido realizado con la colaboración del Instituto Nacional del Frío del CSIC y de los agentes medioambientales de la Sección de caza y pesca de Soria.

Bibliografía

- Bergstrom E. 1989. Effect of natural and artificial diets on seasonal changes in fatty acid composition and total body lipid content of wild and hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Parr-smolt. *Aquaculture*. 82: 205-217.
- Blanchet C., Lucas M., Julián P., Morin R., Gingras S., Dewally E. 2005. Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*. 40: 529-531.
- Mnari A., Bouhleb I., Chraief I., Hammami M., Romdhane MS., El Cafsi M., Chaouch A. 2007. Fatty acid in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Food Chemistry*. 100: 1393-1397.

Influencia de la etapa de crecimiento sobre las proteínas musculares de la corvina (*Argirosomus regius*)

A. Menchón Galera¹, S. García Mesa², A. Rodríguez-Rúa³, M.D. Suárez¹, S. Cárdenas³,
M. García Gallego², A. Sanz² y G. González⁴

¹ Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería dsuarez@ual.es

² Departamento de Biología Animal. Universidad de Granada

³ IFAPA Centro El Toruño. El Puerto de Santa María. Cádiz

⁴ Ceutamar, S.L.

Abstract

In this study we assessed the influence of growth stage on the composition of muscle from meagre (*Argirosomus regius*). Five samples of juvenile meagre were sampled at intervals during their first year of stay in an off-shore cages-based fish-farm (Algeciras Bay, Southern of Spain). Muscle lipid content, total and soluble collagen and sarcoplasmic and myofibrillar proteins were determined. There have occurred an increase in protein and decrease in fat and collagen content against time. Although in the early stages of growing fat content of muscle is higher, it is considerably lower than in other species of interest in aquaculture, which justified its consideration of meagre fish.

Justificación

Las características funcionales del músculo dependen principalmente de las proteínas miofibrilares (Brown, 1986), ya que son el componente mayoritario del músculo de los peces. El músculo de los peces cambia considerablemente durante su desarrollo (Isani *et al.*, 2000). Estos cambios están influidos por factores ambientales como la alimentación o la temperatura del agua y tienen un impacto importante sobre su valor nutricional. En una especie como la corvina, de nueva incorporación a la acuicultura, el estudio de estas variaciones permite un mayor conocimiento de las características de su cultivo. La corvina tiene un alto porcentaje de músculo, baja adiposidad y contenido lipídico saludable (Poli *et al.*, 2003). El presente trabajo pretende el estudio de la evolución de la composición del músculo de la corvina cultivada, datos que pueden ser útiles para caracterizar la calidad del producto final y comprobar que mantiene sus características durante todo el cultivo.

Material y Métodos

Juveniles de corvina (4,1 g peso inicial) se mantuvieron en las instalaciones de la empresa Ceutamar S.L. (Algeciras, Cádiz) durante un periodo experimental de 330 días, desde junio de 2007 a mayo de 2008. Los peces se alimentaron diariamente (3-4 tomas diarias) con un pienso comercial (43% proteína y 26% grasa) de la empresa Dibaq-Diproteg. A lo largo del periodo experimental se realizaron un total de 8 muestreos, en cada uno de ellos se analizaron cinco ejemplares, se les extrajo una muestra de la parte anterior del músculo dorsal que se conservaron a -80°C para la posterior determinación de el contenido en lípidos musculares, colágeno total, extracción y determinación de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares.

Resultados y Discusión

El contenido lipídico ha sido bajo si se compara con otros peces de piscifactoría, las diferencias son claras con respecto a dorada (Grigorakis K., 2007); lubina (Grigorakis K., 2007) o peces dulceacuícolas como la trucha y el esturión (Furné M., 2008). Esto justifica su consideración de pez magro. Los depósitos de grasa muscular han mostrado importantes oscilaciones durante el periodo evaluado.

Las proteínas miofibrilares se han mantenido en valores constantes durante las 5 primeras etapas de muestreo, y a partir de entonces aumentan significativamente hasta alcanzar valores máximos en los dos últimos muestreos. Las proteínas sarcoplásmicas también experimentan un aumento significativo en los últimos muestreos aunque de carácter menos marcado que en las miofibrilares. Este aumento en el contenido de proteínas musculares ha coincidido con la disminución en el contenido en colágeno muscular. Los cambios observados en los componentes estructurales del músculo pueden ser debidos a la diferente etapa de desarrollo de los peces; aunque también pueden haber influido los cambios en la temperatura del agua a lo largo del periodo evaluado y el importante efecto que ésta tiene sobre la ingesta de alimento.

Tabla 1. Evolución temporal del contenido en grasa (% ss), proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares (mg/g ss) y colágeno total (g/kg ss) (medias \pm SD, n = 5)

Muestreo	Fecha muestreo	Grasa (% ss)	Sarcoplásmicas (mg/g tej. ss)	Miofibrilares (mg/g tej. ss)	Colágeno total (g/kg tej. ss)
M1	Jun-07	16,75 ^c \pm 1,57	146,61 ^{ab} \pm 8,87	215,73 ^a \pm 23,34	—
M2	Jul-07	16,71 ^c \pm 0,76	147,28 ^{ab} \pm 22,50	226,20 ^a \pm 24,31	—
M3	Ago-07	13,20 ^b \pm 1,02	139,09 ^a \pm 21,10	223,76 ^a \pm 35,27	68,83 ^d \pm 3,09
M4	Oct-07	19,36 ^d \pm 1,94	155,39 ^{ab} \pm 22,80	242,60 ^{ab} \pm 22,18	67,38 ^{cd} \pm 2,05
M5	Dic-07	12,18 ^b \pm 0,60	152,81 ^{ab} \pm 27,78	243,25 ^{ab} \pm 13,15	65,08 ^c \pm 3,20
M6	Mar-08	8,80 ^a \pm 1,26	169,46 ^{bc} \pm 10,61	266,40 ^b \pm 14,71	58,49 ^b \pm 1,71
M7	Abr-08	9,95 ^a \pm 1,74	192,17 ^c \pm 9,72	379,53 ^c \pm 22,81	37,40 ^a \pm 0,85
M8	May-08	11,79 ^b \pm 0,99	192,16 ^c \pm 14,92	390,64 ^c \pm 28,18	36,37 ^a \pm 2,57

^{a,b} Distintos superíndices indican diferencias significativas entre distintos muestreos ($p < 0,05$).

Bibliografía

- Brown W. 1986. Fish muscle as food. In: Bechtel P.J. (Ed). *Muscle as food*. Academic Press. Orlando, Fla. pp. 405-451.
- Furné Castillo M. 2008. *Diferentes aspectos fisiológicos en el esturión Acipenser nacarii. Estudio comparado con la trucha Oncorhynchus mykiss*. Tesis doctoral. Universidad de Granada.
- Grigorakis K. 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: a review. *Aquaculture* (272): 55-75.
- Isani G., Andreani G., Monari M., Dalla Libera L., Carpenè E. 2000. Biochemical changes in gilthead sea-bream white muscle during post-larval growth. *Basic Appl Myol* (10): 285-290
- Poli B.M., Parisi G., Zamapacavall G., Lurzan F., Mecatti M., Lupi P., Bonelli A. 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial size fish. *Aquaculture International* (11): 301-311.

Presencia del coccidio *Aggregata octopiana* en pulpo común (*Octopus vulgaris*) procedente de acuicultura en el sureste peninsular

J. Peñalver¹, E. María Dolores¹, P. Muñoz², J. Cerezo³, B. García-García³, O. E. Viuda¹

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua. Apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia). Tfno: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carm.es

² Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria de Murcia

³ Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario

Abstract

The infection of the digestive tract by *Aggregata octopiana coccidia* is very common in the common octopus (*Octopus vulgaris*), which has a great potential in aquaculture. Under conditions of intensive cultivation have been described alterations in host-parasite balance, causing hyperinfection that jeopardize the health and viability of the animal. In this paper we make the first assessment of the degree of infection in cultured octopuses in tanks and in cages in open water in southeastern Spain, with a prevalence of 100% of the 49 specimens examined, although in no case was observed development of parasitic nodules in muscle tissue, being in all cases, fit for consumption.

Justificación

Los cefalópodos presentan de forma habitual coccidios asociados a su tracto digestivo, los cuales son específicos para cada hospedador. En el caso del pulpo común (*O. vulgaris*), es parasitado por *Aggregata octopiana*. Este coccidio tiene un ciclo complejo, que incluye la participación de crustáceos decápodos como hospedadores intermediarios (en los cuales tiene lugar la fase reproducción asexual) y que tiene al pulpo como hospedador definitivo, en el que ocurre la gametogonia y esporogonia del parásito.

La prevalencia de esta infección en pulpos silvestres es muy elevada, con porcentajes que rondan entre el 98 y el 100%. Gestal (2000) establece que el grado de la infección es mayor en los pulpos procedentes de poblaciones silvestres respecto a los pulpos cultivados, siendo en estos últimos inusual hallar nódulos parasitarios en localizaciones distintas a las del tracto digestivo. Sin embargo, en ocasiones se han detectado estas localizaciones fuera del digestivo (Pascual *et al.*, 2006).

En el presente trabajo se pretende estudiar la prevalencia de *A. octopiana* en cultivos de la Región de Murcia (SE de España), tanto en tanques de laboratorio como en jaulas en mar abierto. *Aggregata* no se transmite al hombre, por no encontrarse este entre los posibles hospedadores intermediarios o definitivos, y por tanto en este sentido no presenta un peligro para el consumo, si bien los reglamentos de higiene prohíben la comercialización de productos de la pesca claramente contaminados por parásitos.

Material y métodos

Los 49 pulpos del presente estudio fueron recolectados del medio natural, con el fin de experimentar y optimizar las técnicas de manejo y alimentación, así como determinar la prevalencia de *A. octopiana*. Un lote de 31 ejemplares fue instalado en una jaula en mar abierto, en el polígono acuícola de San Pedro de Pinatar. Los restantes 18 ejemplares fueron mantenidos en tanques de cultivo, en las instalaciones del IMIDA.

Tras el periodo de engorde de 2 a 3 meses y un peso entre 2 y 4 kg, los pulpos fueron sacrificados y examinados en fresco de forma macroscópica de visu y mediante lupa para la detección de los nódulos de *A. octopiana*. El estudio macroscópico se realizó en todos los ejemplares pero, debido a la finalidad del presente estudio, las pruebas histológicas se realizaron sólo en 16 individuos. Se obtuvieron fragmentos de tejidos infectados y se fijaron en formol al 10%. Fueron remitidas al Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Murcia: se incluyeron en parafina, se cortaron a 4 µm de grosor y se tiñeron mediante la técnica hematoxilina-eosina.

Resultados y discusión

La prevalencia de *Aggregata* fue del 100% en los ejemplares muestreados. Estos resultados están en concordancia con estudios previos en Galicia (Estévez *et al.*, 1996) e Italia (Liccardo *et al.*, 2005). Nódulos blanquecinos de aproximadamente un milímetro cuyo número y distribución variaba en función del grado de parasitación, siendo los órganos más frecuentemente infectados el intestino, el esófago y el ciego si bien en ningún caso se observaron nódulos en localizaciones distintas al tracto digestivo. La histología compro-

bó la presencia de los oocistos repletos de esporocistos en cuyo interior se observan los esporozoitos típicos de *A. octopiana*.

En los próximos años el cultivo del pulpo será una realidad en la acuicultura mediterránea, por lo que es de gran importancia realizar estudios sobre aquellos factores que puedan influir en su cría. Entre estos factores, los patológicos son, sin lugar a dudas, los de mayor importancia una vez se superen las barreras de la reproducción, el manejo y la alimentación. Las condiciones actuales de capturas del medio silvestre y su posterior engorde implica que los pulpos se alimentan durante un periodo importante de su vida con una dieta que incluye al cangrejo, el cual parece ser el hospedador intermediario de *A. octopiana* (Gestal *et al.*, 2002b), por lo que una proporción muy elevada de los pulpos presentarán parasitismo por este coccidio. En condiciones inadecuadas de explotación, el proceso latente puede exacerbarse, debido a la rotura del equilibrio entre el parásito y el hospedador y por tanto la salud del animal puede verse afectada, pudiendo provocar un descenso en el crecimiento e incluso muerte (Gestal *et al.*, 2002a; Mladineo y Jozic, 2005). En cualquier caso, debe tenerse en cuenta que la infección por este parásito siempre produce un efecto negativo sobre el hospedador (Gestal *et al.* 2002c; Gestal *et al.*, 2007). Por ello, una vez que se consiga completar el ciclo en cautividad del pulpo, será de gran importancia el diseño de una dieta que excluya al hospedador intermedio.

Referencias

- Estévez J.; S. Pascual; C. Gestal; M. Soto; H. Rogriguez; C. Arias. 1996. *Aggregata octopiana* from *Octopus vulgaris* of NW Spain. *Dis. Aquat. Org.* 27: 227-231.
- Gestal, C. 2000. Epidemiología y patología de las coccidiosis en cefalópodos. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo. 157 pp.
- Gestal, C.; M. Páez; S. Pascual. 2002a. Malabsorption syndrome observed in the common octopus *O. vulgaris* with *Aggregata octopiana*. *Dis. Aquat. Org.* 51: 61-65.
- Gestal, C.; Guerra, A.; Pascual, S.; Azevedo, C. 2002b. Life cycle of *A. eberthi* and observations on *A. octopiana* (Apicomplexa, Aggregatidae) from Galicia (NE Atlantic). *European Journal of Protistology.* 2002. 37 (4): 427-435.
- Gestal, C., E. Abollo; S. Pascual. 2002c. Observations on associated histopathology with *Aggregata octopiana* infection (Protista: Apicomplexa) in *Octopus vulgaris*. *Dis. Aquatic Organisms.* 50 (1): 45-49.
- Gestal, C.; A. Guerra; S. Pascual. 2007. *Aggregata octopiana*: a dangerous pathogen during commercial *O. vulgaris* on-growing. *Journal of Marine Science.* 64: 1743- 1748.
- Liccardo, G.; A. Garciano; G. Nocera; G. Gaglio; F. Marino; G. De Vico. 2005. Contribution to the knowledge of tissue damage due to *Aggregata octopiana* in *Octopus vulgaris* in the southern Tyrrhenian Sea. *Ittiopatologia* 2: 193-198.
- Mladineo, I.; M. Jozic. 2005. *Aggregata* infection in the common octopus, *Octopus vulgaris* (Linneus, 1758), Cephalopoda: Octopodidae, reared in a flowthrough system. *Acta Adriat.* 46(2): 193-199.
- Pascual, S.; A. F. González; A. Guerra. 2006. Unusual sites of *Aggregata octopiana* infection in octopus cultured in floating cages. *Aquaculture*, 254: 21-23.

Estudio del envasado y conservación de lubina (*Dicentrarchus labrax*). Análisis del momento óptimo de procesado tras captura y presentación en el envasado

L. Provincial, V. Alonso, M. Gil, E. Guillén, P. Roncalés y J.A. Beltrán

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
Miguel Servet, 199. 50009 Zaragoza. jbeltran@unizar.es

Abstract

The objective of this study was to determine the shelf life of fresh sea bass when stored gutted or filleted in MAP with 60%CO₂ / 40%N₂ in refrigeration (4 ± 1°C) during 18 days and supermarket lighting conditions (14 h a day). A second objective was to determine the days that the processing time could be delay maintaining whole sea bass in ice. CO₂ absorption, drip loss and pH were higher in gutted sea bass while lipid oxidation and microbiological counts were higher in filleted sea bass. Gutted sea bass showed the lowest values in sensory appreciation as well in raw as in cooked samples. Shelf life for gutted sea bass was 7-11 days while for filleted ones was 15 days. Storage in ice has a protective effect and the processing time could be delay until day 7 after slaughter it but do not extend the shelf life of fish beyond the cited days.

Introducción

Actualmente, los productos de la pesca envasados en atmósfera modificada (AM) están experimentado un aumento en su demanda, ya que se consigue prolongar la vida útil de una forma notable (1).

Objetivos

El objetivo fue estudiar la influencia de dos condiciones en el envasado de lubinas como son el día de envasado a partir de la fecha de captura a partir de ejemplares conservados en hielo y la calidad del producto en función de la forma de presentación diferenciando entre lubinas enteras evisceradas o fileteadas.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 112 ejemplares de lubina fresca. El día de la recepción de las muestras, se procesaron 50 lubinas; 20 de ellas fueron evisceradas y envasadas en entero y las 30 restantes fueron fileteadas a mano. Las muestras fueron envasadas en atmósfera modificada con 60% CO₂ y 40% N₂ para su conservación, se dividieron en tantos lotes como puntos de control a realizar y se almacenaron durante 18 días en cámara frigorífica a 4°C ± 1°C con 14 horas de luz al día. Las lubinas que no se procesaron el día de la recepción, fueron almacenadas en contenedores plásticos con hielo en escamas en cámara frigorífica a 3°C ± 1°C y bajo condiciones de oscuridad hasta el momento de su envasado. Se realizó la selección y el procesado a partir de los ejemplares almacenados en hielo, de la misma forma a los 4, 7 y 11 días tras la recepción para reproducir el momento óptimo de espera hasta el envasado de las muestras. Los parámetros medidos fueron: pH por homogeneización (Crison Modelo Basic 20), medida de la oxidación lipídica (TBARS) método de Pfalzgraf *et al.* (2); color (Cie Lab) mediante espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón); recuento microbiano de mesófilos y psicrótrofos totales por homogeneización en masa con PCA y análisis sensorial con panel entrenado de 6 miembros, utilizando escalas estructuradas para valorar la lubina en fresco y tras cocinado a 72°C, determinando la significación mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS (2005) (3).

Resultados

En el caso de los ejemplares enteros eviscerados, se apreció una mayor absorción de CO₂. Estos resultados indican que si bien es cierto que el músculo es capaz de absorber CO₂, otras estructuras presentes en las lubinas enteras evisceradas, tales como la cabeza, la piel, la grasa subcutánea, etc., son capaces de hacerlo en mayor medida, aunque la absorción efectiva por parte del músculo sea menor que en los filetes expuestos. Respecto a la merma, en filetes la pérdida de agua fue menor que en los ejemplares enteros eviscerados, esto se debe a que en el caso de las lubinas enteras evisceradas, la pérdida no sólo se refiere al músculo, sino que engloba el agua perdida por parte del resto de estructuras que lo acompañan, resultando además mayor en los ejemplares que más tiempo llevan almacenados, por el hecho de que durante el almacenamiento en hielo, cierta cantidad de agua se introduce en la cabeza, en la cavidad abdominal etc. aumentando el agua disponible de la muestra. Los valores iniciales de pH fueron de 6,19 ± 0,044 (media ± desviación estándar) y durante el periodo de almacenamiento se observó que; en general, el pH de las lubi-

nas enteras evisceradas se mantuvo más elevado que el de las lubinas fileteadas debido a que al estar menos expuesto el músculo al CO_2 , éste absorbe menos gas y por tanto su pH se ve menos modificado. Los valores iniciales de color en los filetes de lubina fueron; $L^* 38,85 \pm 1,340$; $a^* -3,470 \pm 0,382$ y $b^* -0,41 \pm 1,908$. A lo largo del tiempo, los valores de luminosidad se mantuvieron más constantes que el índice de rojo y de amarillo. Los resultados obtenidos en la determinación de la oxidación lipídica mostraron unos valores bajos en general para los dos tipos de envasado, no superando en ningún caso los $0,638 \pm 0,006$ mg de MDA.kg^{-1} , resultando un valor inferior a 1-2 mg de MDA.kg^{-1} que se considera el valor límite aceptable en el pescado (4). Se observó menor oxidación en los ejemplares de lubinas enteras evisceradas envasadas ya que el músculo en éstas está menos expuesto a la luz. También podemos indicar que la oxidación fue mayor cuanto más tiempo se tardó en procesarlas y envasarlas dado que durante su almacenamiento en hielo, estuvieron sometidas al efecto del O_2 ambiental ya que no estaban conservadas en contenedores herméticos. En las lubinas almacenadas en hielo, los recuentos de mesófilos fueron algo mayores que en las muestras envasadas en atmósfera modificada para el mismo día de estudio ya que éstas se vieron favorecidas por la presencia de CO_2 del cual es bien conocida su acción bacteriostática (5,6,7). En el caso de los psicrótrofos, hasta el día 4, los recuentos de los ejemplares almacenados en hielo presentaron valores intermedios respecto a los conservados en MAP. Por un lado fueron mayores que los filetes envasados que estaban protegidos por la atmósfera modificada y por otro fueron inferiores a los de las lubinas enteras evisceradas ya que éstas pueden presentar mayor contaminación por la presencia de bacterias en las estructuras de la cabeza, abdomen, etc. El análisis sensorial en fresco de los ejemplares fileteados, indicó que los ejemplares envasados más cerca del día de recepción o punto inicial desarrollaron olores menos desagradables que los ejemplares conservados en hielo durante más tiempo, ya que éstos permanecieron en contacto con el O_2 ambiental y la presencia del aparato digestivo, etc., acelera el proceso de descomposición. En el caso de las lubinas conservadas en hielo, se apreciaron mejores valoraciones que en las envasadas en MAP, gracias al efecto protector de la temperatura. También podemos destacar que más allá del día 7 de almacenamiento (punto 2), las características de las lubinas enteras evisceradas ya no fueron aceptables por parte del consumidor. En el caso del análisis sensorial tras el cocinado, las lubinas fileteadas obtuvieron mejores valoraciones y concretamente las que más tarde fueron envasadas, dado el efecto protector del hielo.

Conclusiones

La absorción de CO_2 , la merma y el pH fueron mayores en las lubinas enteras evisceradas mientras que la oxidación lipídica y los recuentos microbiológicos fueron mayores en los ejemplares fileteados. Las lubinas enteras evisceradas mostraron peores puntuaciones en el análisis sensorial tanto en fresco como tras cocinado. Basándonos en todos los datos recogidos, podemos establecer una vida útil de las lubinas enteras evisceradas de 7-11 días y para las fileteadas de 15 días. El almacenamiento en hielo hasta el momento del procesado es un sistema muy eficaz de preservación de la calidad del pescado fresco, de manera que se puede retrasar el momento del envasado hasta el día 7 post captura pero en ningún caso, el envasado tardío permite alargar la vida útil del producto más allá de 7-11 ó 15 días para las lubinas enteras evisceradas y fileteadas respectivamente.

Bibliografía

1. Giménez B., Sánchez-Escalante A., Torrescano G., Roncalés P., Beltrán J.A. 2002. Different packaging conditions to improve shelf life of filleted gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 11: 275-286.
2. Pfalzgraf A., Frigg M., Steinhart H. 1995. Alpha tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *J. Agric. Food. Chem* 43: 1339-1342.
3. SPSS .2005. *Statistical package for social sciences for Windows (version 14.0)*. Chicago IL: SPSS Inc.
4. Connell J.J. 1975. *Control of fish quality*, 1st Edition. Fishing Books Limited. London.
5. Torrieri E., Cavella S., Villani F., Masi P. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf-life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *J of Food Engineering* 77: 1078-1086.
6. Devlieghere F., Debeverea J., Van Impe J. 1998. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 43: 105-113.
7. Finne G. 1982. Modified and controlled atmosphere storage of muscle foods. *Food Technology*, pp. 128-133.

Diferencias sensoriales entre la lubina de crianza y la de pesca extractiva

L. Rincón¹, E. Aguirre², R. Ginés¹, A. Claret³, L. Guerrero³, M.D. Hernández⁴ y A. Álvarez⁴

¹ ICCM-ULPGC. Trasmontaña, s/n. 35413 Arucas. larima@hotmail.com

² EPDAP. Bergantín, 39. 41012 Sevilla

³ IRTA. Finca Camps i Armet. 17121 Monells

⁴ IMIDA-Acuicultura. Box 65. 30740 San Pedro del Pinatar

Abstract

Although European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) has an important production level in the Mediterranean area, few information is available about sensory differences between wild and farmed fish. For that, three trained panels have compared fish from both origins. The sensory profile used had 15 descriptors: three of odour, three of appearance, five of texture, three of flavour and one more of aftertaste. Fillets of farmed sea bass showed less global odour intensity and also less intensity of marine odour and marine flavour. On the other hand, adhesiveness of fillets in the teeth after chewing had lower intensity in wild fish.

Justificación

Si bien pueden encontrarse en la literatura algunos trabajos que establezcan diferencias entre lubinas procedentes de pesca extractiva frente a las obtenidas mediante producción controlada (Periago *et al.*, 2005; Ozyurt y Polat, 2006), éstos hacen referencia a aspectos relacionados con las características bioquímicas del filete u otros análisis instrumentales que contribuyen a plasmar dichas diferencias. Sin embargo, un aspecto fundamental para la aceptación por parte de los consumidores de los productos de acuicultura, como son las propiedades sensoriales, no ha sido analizado con igual profundidad. Así, el objetivo del presente trabajo es evaluar las diferencias sensoriales en lubina según su origen, definiendo mediante el estudio de un perfil sensorial específico los atributos que las determinan.

Material y Métodos

El material animal utilizado para las pruebas sensoriales procedió por un lado de capturas realizadas en el litoral gaditano durante los meses de febrero y marzo del año 2009, y por otro de instalaciones de jaulas flotantes sumergibles (Ocean Spar) de la misma zona. De manera simultánea, las valoraciones fueron llevadas a cabo por tres paneles de evaluadores entrenados radicados en diferentes centros de investigación (ICCM, IMIDA e IRTA). Un total de 12 evaluadores por panel realizaron cuatro sesiones de cata, aportándose cuatro muestras en cada una de ellas.

Las muestras fueron preparadas separando ambos filetes de cada pieza y, sin retirar la piel, cortando de la parte central de cada uno tres porciones rectangulares de 3 cm de anchura y 3 cm de longitud aproximadamente. Dichas porciones fueron cocinadas en cajas de aluminio con su correspondiente tapa en un horno de convección a 115°C durante 10 minutos, siendo inmediatamente ofrecidas a los jueces para su evaluación.

Cada evaluador contó con una plantilla en la que se incluyeron 15 descriptores, indicando su puntuación sobre una escala no estructurada de 10 cm con anclajes en los extremos. Los descriptores fueron agrupados en cinco bloques atendiendo al tipo de percepción sensorial: tres atributos de olor, tres de apariencia, cinco de textura, tres de flavor y uno de gusto residual tras la deglución. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un modelo lineal general univariante en el que se incluyeron como factores el origen del pescado y el panel de evaluadores. También se hizo un análisis de componentes principales.

Resultados y Discusión

De los 15 atributos incluidos en el perfil sensorial, sólo se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en tres, la intensidad global de olor, el flavor marino y la textura adherente del filete al pegarse a las piezas dentales durante la masticación. En los tres primeros la mayor intensidad fue para los individuos procedentes de pesca extractiva mientras que para el último la mayor adherencia la presentaron los filetes del pescado de crianza. En experiencias realizadas con lubina en las que se probaron diferentes dietas, Montero *et al.* (2005) no obtuvieron diferencias en adherencia ligadas a la dieta, aunque en todas ellas el porcentaje de lípidos en el músculo tampoco fue diferente. Precisamente este componente muscular

Perfil descriptivo de besugo (*Pagellus bogaraveo*). Comparativa entre salvaje y cultivado por tres paneles de catadores entrenados

M.D. Hernández¹, A. Álvarez¹, J.B. Peleteiro², A. Claret³, L. Guerrero³, L. Rincón⁴ y R. Ginés⁴

¹ IMIDA-Acuicultura. Apdo. 65. 30740 San Pedro del Pinatar (Murcia). mdolores.hernandez6@carm.es

² IEO Vigo. Cabo Estay-Canido. 36280 Vigo

³ IRTA. IRTA. Finca Camps i Armet. 17121 Monells

⁴ ULPGC-GIA. Trasmontaña, s/n. 35413 Arucas (Las Palmas de Gran Canaria)

Abstract

Quality attributes of fish are measurable both with instrumental and sensory methods. However, the results of both kind of test are not always correlated. In sensory tests there is an interaction between the food and the person that doesn't exist when an instrument is used. The objective of this work was to evaluate possible sensory differences between blackspot seabream obtained by fishing and those cultured. In order to get this, three panels of independent tasters (IRTA, ULPGC, IMIDA) were trained in the specific characteristics of this species. Significant differences have been found ($p < 0.05$) depending of the origin for intensity of characteristics odor and shellfish odor, oily odor, color, shine, integrity of laminar structure, intensity of characteristic flavor and shellfish flavor, oily flavor, sweetness, roughness, persistence, juiciness, chewiness, fatness and adherence. The origin of the blackspot seabream seems to have an important effect on its organoleptic characteristics.

Justificación

La calidad del pescado cultivado puede verse influenciada por multitud de factores: fisiológicos (edad, maduración sexual, etc.), ambientales (temperatura, salinidad, presión, etc.) y por la dieta (ayuno, composición de la dieta, etc.) (Haard, 1992). Los atributos de calidad que posee el pescado son medibles tanto de forma instrumental como sensorial. Sin embargo, no siempre existe una correlación entre ambos tipos de pruebas. La razón fundamental es que en las pruebas sensoriales hay una interacción individuo-alimento que no valora el instrumento y que da como resultado una percepción del parámetro a medir diferente. La valoración sensorial de un alimento es un aspecto clave en la percepción de calidad del mismo. El objetivo de este trabajo fue evaluar las posibles diferencias sensoriales de doradas procedentes de la pesca y de crianza.

Material y Métodos

Para ello tres paneles de catadores independientes (IRTA, ULPGC, IMIDA) fueron entrenados en las características propias de la especie (ISO 8586-1, 1993). Los besugos utilizados en el estudio provenían de una misma localización geográfica, de una empresa gallega los cultivados y de las Islas Azores los salvajes.

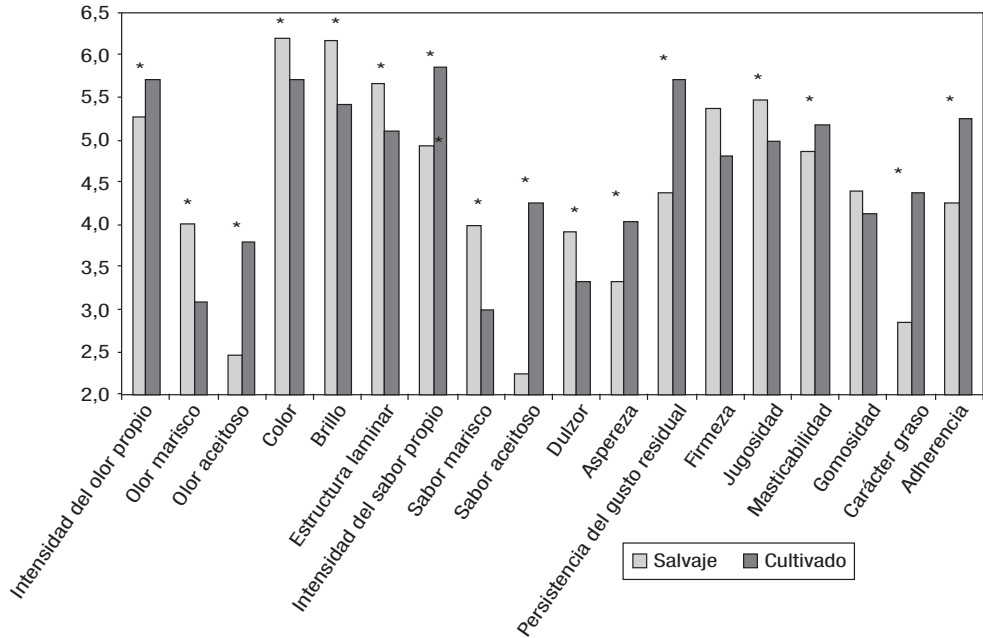
Para la elaboración del perfil descriptivo del besugo, se partió de una propuesta de posibles descriptores que fueron consensuados por los panelistas de los tres paneles. El perfil estaba compuesto por tres atributos de olor, tres de apariencia, seis de sabor y seis de textura. Se utilizó una escala no estructurada de 10 cm con anclajes en los extremos. Como referencia, se trabajó con distintos tipos de pescados (fletán, panga, emperador, mújol, salmón, merluza, lenguado, rape, hurta) para definir los extremos de las escalas para cada uno de los atributos.

También se consensuó entre los tres paneles el protocolo experimental para que las pruebas se desarrollaran de igual manera para los tres grupos. Los peces fueron descamados, eviscerados y fileteados. De cada filete se extraían tres porciones de la parte dorsal de unos dos centímetros de ancho por tres de alto. Cada trozo se colocaba en una cajetilla de aluminio y se tapaban para su cocinado en horno a 115°C durante 10 minutos. Las muestras fueron identificadas con un código con tres dígitos. Cada catador realizó 8 catas de besugo de cada uno de los orígenes (8 réplicas) en cuatro días diferentes para evitar la fatiga sensorial.

Resultados y Discusión

Se han detectado diferencias significativas ($p < 0,05$) según el origen para la intensidad del olor propio, la del olor a marisco y la del olor aceitoso, el color, el brillo, la integridad de la estructura laminar, la intensidad del sabor propio, la del sabor a marisco, la del sabor aceitoso, el dulzor, la aspereza, la persistencia del gusto residual, la jugosidad, la masticabilidad, el carácter graso y la adherencia (Fig. 1).

Figura 1. Valores medios obtenidos para cada atributo para el besugo salvaje y cultivado. Diferencias entre los mismos (* = $p < 0,005$)



El origen del besugo parece tener una importante influencia sobre sus características organolépticas. El besugo salvaje presenta una mayor intensidad de olor y sabor a marisco, es más blanco y más jugoso. Mientras que besugo cultivado tiene un carácter graso más marcado que le confiere una mayor intensidad de olor y sabor aceitoso y una cierta adherencia. El besugo cultivado también presenta una mayor intensidad tanto de olor como de sabor propios.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los «Planes Nacionales de Acuicultura (JACUMAR)».

Bibliografía

Haard N. 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 25: 289-307.
 ISO 8586-1.1993) Sensory analysis. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors.

Diferenciación genética de poblaciones de erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) basada en RAPDs

M. Rey-Méndez¹, N. Tourón¹, J. Rodríguez-Castro¹, J. Quinteiro¹

¹ Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad asociada al CSIC). CIBUS, Campus Sur. 15782 Santiago de Compostela, A Coruña. e-mail : manuel.rey.mendez@usc.es

Abstract

As a part of financed project by JACUMAR on culture and management of *Paracentrotus lividus* in the autonomous regions of Asturias, Canary Islands and Galicia, was expected to use in Canary Islands youthful individuals obtained in other communities, estimating that, according to previous publications, did not be genetic diversity between Mediterranean and Atlantic populations (Duran *et al.*, 2004). To ensure that this import of youthful would not alter the genetic assets of Canary Islands, was completed this populational study employing nuclear anonymous markers through RAPDs analysis.

Justificación

Paracentrotus lividus es el equinoideo comestible más importante desde el punto de vista comercial. Su distribución es muy amplia, abarcando la totalidad del Atlántico Norte, desde Escocia hasta Marruecos, y el Mediterráneo hasta el mar Adriático. En todos los países productores se observa un declive de sus poblaciones, debido a la sobreexplotación. Las comunidades autónomas de Asturias, Canarias y Galicia plantearon un proyecto, financiado por JACUMAR, para la repoblación y explotación sostenible, haciendo necesario el conocimiento de la estructura genética de las poblaciones naturales. Asturias y Galicia obtendrían los individuos en criaderos propios, y los compartirían con Canarias, ya que a tenor de publicaciones previas, basadas en el análisis de una única secuencia mitocondrial (COI) (Duran *et al.*, 2004) se estimaba la no existencia de diferenciación genética interpoblacional. Para no alterar posibles características singulares del patrimonio genético de Canarias, se realizó este estudio poblacional en las tres CC. AA.

Materiales y métodos

Se analizaron muestras de tres localizaciones geográficas (Tabla 1), con un total de 28 individuos, de las CC. AA. de Asturias (N = 5), Galicia (N = 10) y Canarias (N = 13). El ADN se aisló a partir de 30 mg de tejido preservado en etanol, mediante la metodología NucPrep (Applied Biosystems) en un equipo semiautomatizado ABI 6100 (Applied Biosystems). El ADN fue cuantificado y evaluada su integridad mediante electroforesis. Un alícuota de dicho ADN se amplificó con el kit Illustra Ready-To-Go RAPD Analysis (GE Healthcare) en las condiciones descritas por el proveedor con los cebadores 1, 2 y 3. Los productos de amplificación fueron separados en agarosa 3.5%, documentados en un equipo GelDoc II (Bio-Rad) y analizados con el software Quantity One (Bio-Rad).

Resultados y discusión

La resolución de los fragmentos amplificados con el cebador 1 muestra una clara diferenciación entre los patrones obtenidos para la muestra de Canarias respecto a las de la Península Ibérica. Como resultado del análisis comparativo de las bandas detectadas y la reconstrucción gráfica de la similitud entre patrones mediante UPGMA, se observan dos cladogramas divergentes (Figura 1a). El superior contiene casi exclusivamente individuos de Canarias, mientras que el inferior agrupa a las muestras peninsulares. De forma similar, las muestras de Canarias se agrupan, preferentemente, en un clado divergente del clado que agrupa a las muestras peninsulares para los cebadores 2 (Figura 1b) y 3 (Figura 1c).

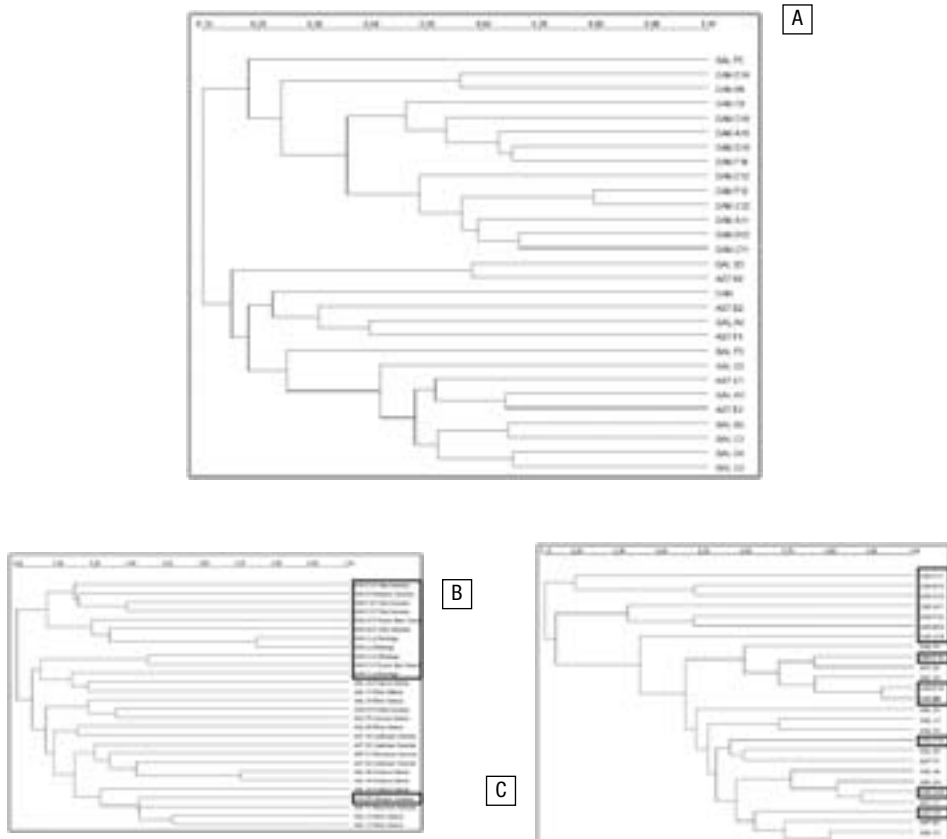
Los resultados obtenidos, con una agrupación clara de las muestras de Canarias, diferente a las de Asturias y Galicia y mostrando dos cladogramas divergentes, desaconsejaron la importación de ejemplares desde Galicia o Asturias hacia Canarias. La CC. AA. de Canarias cambió el proyecto inicialmente planteado, incorporando la obtención de juveniles a partir de erizos autóctonos de las islas.

Agradecimientos

Este trabajo está cofinanciado por JACUMAR-Secretaría General de Pesca Marítima.

Tabla 1. Localizaciones geográficas y número de erizos analizados

CA	Localidad	N	Código ADN
Asturias	Rinconcín	2	C1, F1
	Castropol	3	D2, E2, H2
Galicia	Rinlo	5	A3, B3, C3, D3, F3
	Fisterra	4	A4, B4, C4, D4
	Carnota	1	F5
Canarias	Medano	2	B9, C9
	Tufia	5	A10, C10, E10, F10, G10
	Puerto Naos	2	A11, C11
	La Restinga	4	B12, C12, E12, F12

Figura 1. Árbol de UPGMA mostrando las relaciones de similitud entre los patrones de RAPDs obtenidos con: a) Cebador 1; b) Cebador 2; c) Cebador 3.**Bibliografía**

Duran, S., C. Palacin, M.A. Becerro, X. Turon, y G. Giribet. 2004. Genetic diversity and population structure of the commercially harvested sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). *Molecular Ecology*. 13(11): 3317-28.

Fitotoxicidad inducida por formaldehído, amonio cuaternario y peróxido de hidrógeno sobre la macroalga marina *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyta)

J. M. Salinas¹, C. Fuertes¹, J. Cremades² y S. Guerrero³

¹ Planta de Cultivo de Algas «El Bocal», Centro Oceanográfico de Santander, Instituto Español de Oceanografía, Barrio Corbanera s/n (Monte), Apdo. 240, 38012 Santander, e-mail: juanma.salinas@st.ieo.es

² Laboratorio de Algas marinas, Grupo de Biología costera, Facultad de Ciencias, Universidad de A Coruña, Campus da Zapateira s/n., 15071 A Coruña

³ Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia., Vilanova de Arousa, 36620 Pontevedra

Abstract

In this contribution the fitotoxicity of some of the more used disinfectants in the fish farming industry are try out on the kelp *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyta). The results of this study show that amounts greater than 1,5 ppm both formalin and quaternary ammonia cause the irreversible damage of cellular fotosystems and the dead of the seaweed. On the other hand, 2-12 ppm of hydrogen peroxide cause reversible lesions of the algae tissues and apparently do not damage the cellular fotosystems. The high sensibility of some kelps to certain disinfectants must be taken into account when it comes to design integrated fish-seaweeds aquaculture systems and open the doors to the use of this kind of seaweeds in biomonitoring techniques of marine environment.

Justificación

Las plantas de cultivo de peces cuentan con protocolos de desinfección, tanto de instalaciones como de los propios peces, que permiten controlar parasitosis e infecciones bacterianas epiteliales. Principalmente se utilizan distintas concentraciones de formaldehído, amonios cuaternarios o peróxido de hidrógeno. Una vez terminado el periodo de tratamiento, los residuos de estas sustancias son vertidos al mar por los emisarios de las plantas o se incorporan al circuito de recirculación. Es por ello que con vistas al futuro desarrollo de técnicas indoor de cultivo multitrófico integrado peces-macroalgas se tendrá que tener en cuenta la posible fitotoxicidad de estas sustancias, particularmente sobre *Saccharina latissima* (Linnaeus) Lane, Mayes, Druehl & Saunders (Laminariales, Phaeophyta), uno de los mejores candidatos para el desarrollo de estas técnicas en las costas atlánticas peninsulares durante el período otoño-primavera (Guerrero *et al.*, 2008).

Material y Métodos

El equipo de investigación se planteó en primer lugar la definición precisa del grado de fitotoxicidad producido por estas sustancias sobre *Saccharina latissima*, tanto por concentración del tóxico como por duración de la exposición y la densidad de cultivo. Se tratan en resumen de llegar a conocer, para tenerla en consideración en el diseño de los sistemas y protocolos de mantenimiento, la concentración o dosis máxima de las mismas soportable en el tiempo por los cultivos de esta especie.

Para la realización de los ensayos se utilizaron plantas juveniles cultivadas en suspensión a partir de lotes de germoplasma LAMI 07/3 y BOCAL 05/17 en las instalaciones de la planta de cultivo de algas de El Bocal, del Instituto Español de Oceanografía de Santander. Este tipo de plantas son las que se emplean para arrancar los sistemas de cultivo multitróficos con esta especie.

Los bioensayos se realizaron en recipientes cerrados de 1 l de capacidad sobre lotes de 10-12 plantas tomadas al azar y sometidas a agitación rotacional a 30 rpm y en condiciones de cultivo naturales (agua de mar estéril enriquecida con 25 mg/l de NO₃Na, 2,05 mg/l de PO₄H₂Na y 1 ml/l de Gisaquel-Fe, T 12-14° C, fotoperiodo 12:12 y 75 μmol/m².s⁻¹ de intensidad lumínica). Los distintos tratamientos duraron por regla general entre 24 y 48 horas y se utilizó siempre un testigo de referencia.

La valoración de la fitotoxicidad se realizó mediante la estimación de la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) con un equipo HANSATCH-FMS 2 programado a luz de saturación de 2500 μmol/m².s⁻¹. El tiempo de medida fue de 6 segundos después de 15 minutos de oscuridad. Las lecturas se realizaron en la zona meristemática superior de la planta.

Los ensayos con concentraciones subletales de estos tóxicos a larga distancia se realizaron en recipientes de vidrio de 15 l de capacidad, manteniendo la densidad de 4 g/l y con cambios de medio diario tanto del control como de los tratamientos. Para estimar la recuperación de las plantas, en el caso del peróxido

hidrógeno, se cultivaron las plantas tratadas con distintas concentraciones del mismo en tanques de vidrio de 15 l de capacidad. Para la estimación del crecimiento posterior a los tratamientos se tomaron en las plantas parámetros biométricos tales como talla, peso y anchura máxima.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran que el cultivo en suspensión de *S. latissima* es incompatible con dosis superiores a 1 ppm de formaldehído. Solamente con densidades de cultivo muy altas podría aceptarse concentraciones puntuales inferiores a 5 ppm de esta sustancia, pero siempre y cuando no se mantengan en el tiempo. En el caso del cloruro de benzalconio la situación es aún más dramática: dosis superiores a 1,5 ppm durante tan sólo 4 horas provocan la destrucción irreversible del fotosistema. Esta sensibilidad a los amonios cuaternarios puede tener importantes implicaciones en la supervivencia de poblaciones naturales de *S. latissima* ya que es un producto frecuente en los emisarios de aguas urbanas e industriales.

En el caso del peróxido de hidrógeno, tratamientos iguales o superiores a 2 ppm durante 24 h. provocan lesiones en *S. latissima* con una fuerte repercusión en su tasa de crecimiento. Por encima de 15 ppm de peróxido la planta sufre fuertes daños en el fotosistema comprometiendo su viabilidad. Al contrario de los tratamientos con formaldehído o cloruro de benzalconio, las lesiones sufridas por concentraciones subletales de peróxido (2-12 ppm) no afectan sustancialmente al fotosistema y parecen circunscribirse a las células de la lámina a las que induce su despigmentación y posterior necrosis; mientras que la zona meristemática mantiene su viabilidad, iniciándose la recuperación de la biomasa inicial en cualquiera de los casos a partir de los 14 días de cesado el tratamiento.

La gran sensibilidad de algunas laminariales, al menos la de *S. latissima*, a ciertos desinfectantes usados rutinariamente en acuicultura se debe tener muy en cuenta a la hora del diseño y manejo de sistemas de cultivo multitróficos con ellas. Por otra parte, abre las puertas al empleo de esta y otras especies en técnicas de biomonitorización ambiental, muy poco desarrolladas con macroalgas (Eklund & Kautsky, 2003).

Agradecimientos

Este estudio está cofinanciado por el Plan Nacional de Cultivos Marinos JACUMAR, Secretaría General de Pesca Marítima: «Acuicultura integrada: desarrollo de experiencias de cultivos multitróficos (2008-2011)».

Bibliografía

- Eklund, B. T. & Kautsky, L. (2003). Review on toxicity testing with marine macroalgae and the need for method standardization-exemplified with copper and phenol. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 171-181.
- S. Guerrero, J. Cremades, J.M. Salinas, S. Ocaña, C. Fuertes, J.J. Sanmartín, S. Devesa, A. Muñíos & A. Pallarés. (2009). Desarrollo de experiencias de cultivo multitrófico integrado aplicables a la acuicultura marina gallega. *Actas XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*, 11: 309-316.

Inducción de procesos de detoxificación en peces cultivados como indicativo de la existencia de una contaminación difusa

A. Valdehita¹, F. Torrent² y J. M. Navas¹

¹ Departamento de Medio Ambiente, INIA. Ctra. de la Coruña, Km 7.5, E-28040 Madrid, jmnavas@inia.es

² Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n, E-28040 Madrid

Abstract

A variety of aryl hydrocarbon receptor (AhR) activators are able to provoke low dose effects at long term. After interaction with the AhR these pollutants induce cytochrome P4501A (CYP1A) and consequently CYP1A has been used as a biomarker of xenobiotic exposure in the aquatic environment. AhR activation can modulate the functionality estrogen receptor (ER) and the vitellogenin (VTG) hepatic production affecting fish reproductive performance. In the present study an abnormally high induction of CYP1A was detected in farmed trouts at the transcriptional level by means of real time PCR and at the enzyme level by measuring the CYP1A-associated ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity. Such inductions were confirmed by comparing results with those of trouts coming from a farm used as control. ER and VTG gene expression levels were also studied to elucidate possible effects on endocrine regulation of reproduction. The results from this study provide evidence that fish of one of both fish farms are exposed to low levels of CYP1A inducers, although the real effects on animal welfare or reproductive processes are still to be elucidated.

Justificación

Tras una serie de muestreos rutinarios en varias piscifactorías continentales de salmónidos se encontró que en una de ellas los ejemplares de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) presentaban una activación anormalmente fuerte de diversos mecanismos de detoxificación, en concreto del citocromo P4501A (CYP1A) y de la actividad enzimática etoxiresorufina-O-deetilasa (EROD) asociada al citado citocromo.

El CYP1A es inducido tras la activación del receptor de hidrocarburos aromáticos (AhR) por alguno de sus ligandos, entre los que se encuentran diferentes contaminantes ambientales como dioxinas, furanos, hidrocarburos aromáticos policíclicos. Todos estos ligandos comparten ciertas características estructurales: se trata de compuestos planares, policíclicos y aromáticos. Pero, en los últimos años se ha observado que el AhR puede ser también activado por multitud de compuestos que no cumplen con estos requerimientos en su estructura, como algunos imidazoles o carbamatos usados como pesticidas y que pueden llegar a los peces en cultivo (Boronat *et al.*, 2007; Alonso *et al.*, 2008). La activación del AhR afecta a la actividad del receptor de estrógenos (ER) lo que puede provocar alteraciones en la regulación hormonal del proceso reproductor, dando lugar, por ejemplo a una disminución de la producción de vitelogenina (VTG) (Navas y Segner, 2000), proteína precursora del vitelo que constituye las reservas de los huevos. Esta alteración disminuiría la calidad de los huevos y por tanto mermaría la eficacia reproductora de los peces.

Todo lo anteriormente expuesto llevó a plantear un estudio en profundidad sobre el proceso de inducción del CYP1A que se había observado puntualmente con el objetivo de determinar si tal inducción podría estar asociada con una llegada de contaminantes hasta los peces que afectara al control hormonal de la reproducción o, sin provocar alteraciones patentes, estuviera teniendo efectos negativos sobre el bienestar animal.

Material y Métodos

Animales

Se seleccionaron dos piscifactorías: «A», donde se detectó la inducción del CYP1A y «B», que se tomó como referencia. Se realizaron dos muestreos sacrificando en cada uno de ellos ocho ejemplares hembra de trucha arcoiris en reposo sexual, de aproximadamente 300 g de peso. Se extrajo el hígado y se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido para su transporte hasta el laboratorio. Se mantuvo a -80° C hasta el momento de los análisis.

Análisis enzimático, medida de actividad EROD

Tras el aislamiento de un concentrado proteico rico en microsomas del tejido hepático, se realizó la valoración de la actividad EROD de todos los ejemplares muestreados.

PCR cuantitativa a tiempo real (PCRQ)

Para evaluar la expresión génica de los diferentes genes objeto de estudio se procedió al aislamiento de ARNm de las muestras el cual se sometió a RT-PCRQ empleando cebadores específicos para cada uno de ellos.

Resultados y Discusión

Actividad EROD en hígados de trucha arcoíris

Los análisis de la actividad EROD en el primer muestreo mostraron niveles prácticamente nulos en la piscifactoría B, usada como control, y una actividad especialmente alta, con niveles de aproximadamente 400 pmol /mg/min en la piscifactoría A. En el segundo muestreo la piscifactoría B mostró niveles de entre 50 y 100 pmol/mg/min mientras que en la piscifactoría A los niveles de actividad EROD seguían siendo superiores a 200 pmol/mg/min.

Niveles de expresión génica del CYP1A, ER y VTG

Tras los experimentos de PCRQ se observa una marcada sobreexpresión del CYP1A en hígados procedentes de truchas de la piscifactoría problema A respecto a la piscifactoría de referencia B. Además, el análisis de expresión del ER así como de la VTG muestra una disminución en los niveles de su ARNm en los ejemplares de la piscifactoría «A» respecto de la «B».

Multitud de estudios previos han mostrado que existe una relación inversa entre los procesos mediados por el ER y los mediados por el AhR (Navas y Segner, 1998), lo que estaría en consonancia con la disminución de los niveles de ER y de VTG (ambos genes estrógeno dependientes) observada en el presente trabajo en paralelo a una inducción de la actividad EROD y de la transcripción del CYP1A. Teniendo en cuenta la magnitud de la inducción de los procesos dependientes del AhR en el hígado de las truchas de la piscifactoría A todo hace pensar que estos animales están expuestos a algún inductor del AhR que está llegando a través de las aguas o de los piensos. Aunque los animales no muestran alteraciones patentes probablemente se está produciendo una desviación de energía hacia los procesos de detoxificación lo que puede subyacer a problemas de prevalencia de ciertas infecciones o a problemas reproductivos que se observan con cierta frecuencia en la piscifactoría problema.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RTA2009-00074-00-00 y AT-08-003

Bibliografía

- Navas J. M., Segner H. (2000). Antiestrogenicity of beta-naphthoflavone and PAHs in cultured rainbow trout hepatocytes: evidence for a role of the arylhydrocarbon receptor. *Aquat Toxicology*. 51(1): 79-92.
- Boronat S., Casado S., Navas J. M., Piña B. (2007). Modulation of aryl hydrocarbon receptor transactivation by carbaryl, a nonconventional ligand. *FEBS J*. 274(16): 4347-59.
- Alonso M., Casado S., Miranda C., Tarazona J. V., Navas J. M., Herradón B. (2008). Decabromobiphenyl (PBB-209) activates the aryl hydrocarbon receptor while decachlorobiphenyl (PCB-209) is inactive: experimental evidence and computational rationalization of the different behavior of some halogenated biphenyls. *Chem Res Toxicol*. 21(3): 643-58.
- Navas J. M., Segner H. (1998). Antiestrogenic activity of anthropogenic and natural chemicals. *Environ Sci Pollut Res Int*. 5(2): 75-82.

Monitorización temporal de la calidad del agua de cultivo de *Mytilus galloprovincialis* en la Ría de Vigo utilizando el test de mutagenicidad de *Vibrio harveyi*

Y. Ruiz¹, P. Suárez¹, A. Alonso¹, M. Gómez², E. Longo³ y F. San Juan¹

¹ Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo. fsanjuan@uvigo.es

² Estudiante de la E.T.S. de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid

³ Área de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo

Abstract

The production of mussel in Galicia is one of the principal sources of wealth, for this reason, it is basic to know the quality of the water of the culture areas, to guarantee the good state and quality of the mussel. The toxic effects that exercise the pollutants (PAHs, pesticides, PCBs) in the marine environment on these organisms are still enough unknown. One of the most striking and alarming is the induction of neoplasias. The evaluation of the mutagenic capacity of the waters gives rapid and satisfactory information of the water quality in order to prevent possible negative effects on the aquaculture production, as reproductive or grown alterations of mussels, and also negative affects on their marketing as possible risks for the human consumption. In this work, we analyzed the seasonal variation of the water mutagenicity of one of the culture areas of the Ria of Vigo. We use the mutagenicity test of *Vibrio harveyi* relating it to the accumulation of different pollutants in *Mytilus galloprovincialis*, showing its validity in the biomonitoring of these culture areas.

Justificación

El cultivo de mejillón gallego goza de prestigio mundial, representando el 95% del producido en España, el 50% de la Comunidad Europea y el 25% de la producción mundial. Se producen más de 250.000 toneladas de mejillón, con una facturación superior a 130.000.000 euros. Los mejillones ingieren todo tipo de contaminantes presentes en su hábitat, acumulándolos en mayor magnitud que otras especies, por lo que es primordial conocer la calidad del agua de las zonas de cultivo. A menudo es difícil analizar todos los posibles contaminantes presentes en el medio ya que frecuentemente se encuentran en concentraciones muy por debajo de los límites de detección, debido al efecto dilutorio al llegar al mar. Además es importante tener en cuenta los efectos sinérgicos que pueden existir entre ellos. Se han descrito casos de neoplasia gonadal en la Ría de Vigo (Alonso *et al.*, 2001a,b) que afectan a la viabilidad de los gametos y a la capacidad de reproducción. Esta patología coincide con periodos de máxima actividad gametogénica y presencia de focos puntuales de contaminación (Alonso *et al.*, 2003). Esto sugiere que la neoplasia gonadal puede estar causada por contaminantes con efectos mutagénicos. Por tanto, la evaluación de la capacidad mutagénica de las aguas de las zonas de cultivo puede aportarnos una información rápida y satisfactoria de la calidad del agua con el objetivo de poder prevenir posibles alteraciones en el ciclo reproductivo y, en general, en la producción de este recurso acuícola.

Material y Métodos

Las muestras de agua y ejemplares de *Mytilus galloprovincialis* utilizados en este trabajo proceden del polígono de bateas de Moaña, Ría de Vigo, y fueron recogidas durante el periodo comprendido entre febrero del 2001 y agosto del 2002 con el fin de abarcar un ciclo gonadal completo. La capacidad mutagénica de las aguas que rodean las bateas se ensayó por medio del test de mutagenicidad de *Vibrio harveyi* (Czyz *et al.*, 2000, 2002, 2003). Este test se basa en la aparición de mutantes fácilmente detectables de varias cepas modificadas genéticamente (BB7M, BB7X, BB7XM) de la bacteria marina *V. harveyi* (BB7) tras el contacto con los mutágenos. El índice de mutagenicidad (I.M) del agua se calcula como la proporción de mutantes resistentes a la neomicina tras dos horas de incubación en las muestras de agua y agua de mar artificial (mutagenicidad espontánea). Índices entre 1.5-2 indican un posible efecto mutagénico y, superiores a 2 revelan un poder mutagénico del agua analizada. Para el estudio histopatológico se recogieron 30 individuos en cada muestreo. Se diseccionó una parte del tejido del manto y se procesaron utilizando técnicas histológicas rutinarias. El resto del organismo fue congelado en N₂ líquido y liofilizado. El análisis de HAPs se llevó a cabo según el método de Viñas Diéguez *et al.* (2002), el de PCBs y OCPs según González-Quijano y Fumega (1996) y, el de metales según Besada *et al.* (2002). Los HAPs analizados son: Fe, A, F, P, Cris, BaA, BbF, BkF, BeP, BaP, IP, BPer y DBA; PCBs: 28, 31, 52, 101, 105, 118, 138, 153, 156 y 180; Pesticidas: HCHs, DDE, DDD, 2,4-DDT y 4,4-DDT; Metales traza: Cd, Cu, Hg, Pb, Zn y As.

Resultados y Discusión

A lo largo del periodo muestreado hemos encontrado puntos donde los valores del índice de mutagenicidad revelan un carácter mutagénico de las aguas según las distintas cepas de *V. harveyi* excepto con la cepa salvaje (BB7). Cada cepa de *V. harveyi* es sensible a distintos tipos de mutágenos (Czyz *et al.*, 2000). De las cuatro cepas de *V. harveyi* utilizadas en este estudio, la que presenta mayor sensibilidad a este tipo de muestras es la BB7M.

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria (AESA), siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), propone el seguimiento de 6 especies de HAPs (BaA, BbF, BkF, BaP, diBA, IP), que pueden suponer un peligro potencial para el ecosistema marino y la salud humana por encima de determinadas concentraciones. Los muestreos reconocidos como potencialmente mutagénicos ($I.M > 1.5$) y mutagénicos ($I.M > 2$) por la cepa BB7M, coinciden con episodios de contaminación. Observamos una correlación significativa ($r: 0.798, p < 0.01$) entre el índice de mutagenicidad de la cepa BB7M y el sumatorio de estas especies de HAPs, descritas la mayoría de ellas como extremadamente mutagénicas. En cuanto a los metales pesados, se observa una correlación positiva con varios elementos estudiados: Cd, Zn y As ($r: 0.413, 0.365, 0.378; p < 0.05$, respectivamente), al igual que con el sumatorio de metales ($r: 0.371, p < 0.05$). Con el resto de contaminantes estudiados no se observa correlación alguna. Estos resultados confirman la especificidad de cada cepa para detectar contaminantes en particular, por lo que podríamos concluir que la cepa BB7M es óptima para detectar principalmente HAPs y metales. No obstante, hay que tener muy presente, los posibles efectos de sinergia que pueden darse entre los contaminantes presentes en el medio.

Por otro lado encontramos también una correlación positiva entre la cepa BB7M y la prevalencia del germinoma detectada a lo largo del muestreo ($r: 0.468; p < 0.05$). La aparición de esta patología coincide con periodos de alta contaminación, encontrando correlación positiva entre el sumatorio de HAPs propuesta por la AESA y la neoplasia ($r: 0.605, p < 0.01$), y con los metales pesados ($r: 0.712; p < 0.01$). La estrecha relación entre la mutagenicidad del agua, el desarrollo del germinoma y la acumulación de HAPs y metales pesados evidencia la rápida acumulación de contaminantes por parte de *M. galloprovincialis*, probablemente debido a su alta capacidad de filtración, y el posible efecto negativo de estas especies de HAPs y de metales pesados como el Cd, Hg y Pb sobre la producción y calidad alimentaria de bivalvos.

Estos resultados nos permiten concluir que el test de mutagenicidad de *V. harveyi* es un método óptimo para evaluar la calidad de las aguas de las zonas de cultivo de mejillón, pudiendo detectar de este modo episodios de contaminación puntuales que pueden generar problemas en el estado de salud de los mejillones y, por tanto, en su producción, y en la seguridad alimentaria.

Bibliografía

- Alonso *et al.*, 2001a. Dis. Aquat. Org. 47 : 73-79.
Alonso *et al.*, 2001b. Aquatic. 13 :1-6.
Alonso *et al.*, 2003. III Int. Congress of European Societies of Malacology. Pp : 198.
Besada *et al.* (2002). Sci. Total. Environ. 288: 239-253.
Czyz *et al.*, (2002). Mutat. Res. 519: 67-74.
Czyz *et al.*, (2000). Appl. Environ. Microbiol. 66 (2): 599-605.
Czyz *et al.*, (2003). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70: 1065-1070.
González-Quijano y Fumega (1996). IEO. 160: 1-27
Viñas Diéguez *et al.* (2002). Polycyclic Aromatic Compounds. 22: 161-173.

Conectividad entre piscifactorías por la movilidad de peces salvajes agregados: consecuencias potenciales para el cultivo

P. Arechavala-López¹, I. Uglem², P. Sánchez-Jerez¹, D. Fernández-Jover¹,
J. Bayle-Sempere¹ y R. Nielsen³

¹ Dpto de Ciencias del Mar y Biología Aplicada. Universidad de Alicante, PO Box 99, 03080 Alicante.
pablo.arechavala@ua.es

² Norwegian Institute of Nature Research, Tungasletta 2, 7485 Trondheim, Noruega

³ NOFIMA, Muninbakken 9-13, PO Box 6122, 9291 Tromsø, Noruega

Abstract

Coastal aquaculture attracts a wide range of wild fish which feed on lost pellets in high quantities. These changed feeding habits affect their physical, biological and physiological condition, modifying in great measure the natural behaviour and migrations of wild fish. The movements among farms and coastal fishing areas of *Liza aurata* and *Chelon labrosus* (Mugilidae) were determined by using implanted acoustic transmitters and an extensive array of automatic receivers in a farm area in the SW Mediterranean Sea. A high percentage of individuals of both species remained around farm facilities. *L. aurata* undertook a high number of movements among different farms while *C. labrosus* were repeatedly detected making coast-farm movements. Thus, fish farms should be considered as connected among them through wild fish movements since they move from one farm to another. Moreover, the movement patterns of mugilids in the Mediterranean sea at aquaculture areas pre-dispose them to act as vectors for transmission of diseases and pathogens among farms and among wild fish populations.

Justificación

La acuicultura costera atrae a un gran número de peces que se alimentan del pienso sobrante (Dempster *et al.*, 2002; Fernández-Jover *et al.*, 2008), afectando directamente a la condición física y fisiológica de los peces agregados (Fernández-Jover *et al.*, 2007; Arechavala-López *et al.*, in press), así como al comportamiento y su distribución. Los mugílidos (p.e. *Liza aurata*, *Chelon labrosus*) son uno de los grupos más abundantes alrededor de las jaulas de cultivo del Mediterráneo (Fernández-Jover *et al.*, 2008), y como tal, podrían actuar como vectores de agentes patógenos al transitar entre las instalaciones acuícolas adyacentes. Esta interacción entre peces salvajes y cultivados ha sido demostrada en otras partes del mundo pero son muy escasos los estudios llevados a cabo en el SW Mediterráneo (Fernández-Jover *et al.*, 2009). Además, poco se sabe de la extensión y la frecuencia de los movimientos de este y otros grupos de peces agregados en el entorno de las piscifactorías. Por ello, este estudio trata de analizar el comportamiento y la distribución de dos especies de mugílidos agregados y proporcionar pruebas de la conectividad existente entre las instalaciones de acuicultura, así como una revisión de los posibles efectos colaterales en las piscifactorías adyacentes y en los poblamientos ícticos salvajes mediterráneos.

Material y Métodos

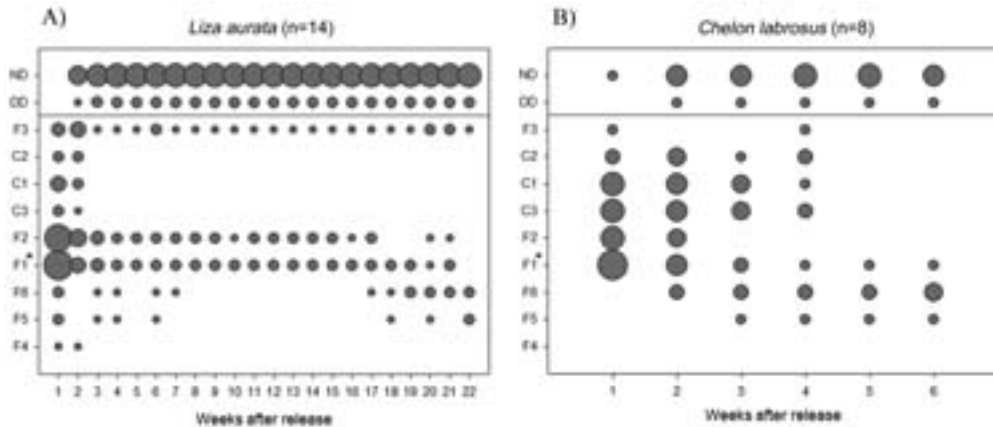
El estudio se llevó a cabo en la bahía de Guardamar, Alicante, donde se localiza una extensa superficie acuícola de doradas y lubinas en jaulas flotantes en mar abierto. Un total de 14 individuos de *Liza aurata* y 8 individuos de *Chelon labrosus* fueron capturados alrededor de las jaulas y marcados con transmisores acústicos internos. Se desplegaron 9 receptores automáticos (VR2) formando una red que abarcaba la totalidad de las instalaciones y algunos caladeros costeros cercanos a las piscifactorías. La distribución y los movimientos de los individuos marcados fueron examinados comparando el tiempo de permanencia y la proporción de individuos observados en las instalaciones acuícolas o los caladeros costeros a lo largo de todo el periodo de estudio (15/10/08-15/03/09 para *L. aurata* y 04/02/09-15/03/09 para *C. labrosus*).

Resultados y Discusión

En este estudio se demuestra que las piscifactorías del Mediterráneo están conectadas por los movimientos de los peces salvajes agregados a las jaulas, ya que como muestran los resultados, los mugílidos marcados permanecieron en las inmediaciones de las jaulas de cultivo durante largos periodos de tiempo realizando frecuentes desplazamientos a las piscifactorías adyacentes (Fig. 1). Los individuos de *L. aurata* (Fig. 1A) mostraron una mayor afinidad por las jaulas de cultivo que los individuos de *C. labrosus* (Fig. 1B). Algunos individuos de ambas especies desaparecieron del área de detección en las primeras semanas de estudio, probablemente como consecuencia de migraciones fuera del área de detección o porque fueron capturados por los pescadores locales (Fig. 1). Se concluye que algunos individuos marcados presentaron una alta

Figura 1. Proporciones de los individuos marcados de *Liza aurata* y *Chelon labrous* detectados por los receptores acústicos a lo largo de todo el estudio en las piscifactorías (F1-F6) y caladeros costeros (C1-C3). ND: no existen datos; DD: individuos muertos.

*: instalación donde se liberaron los peces marcados. La burbuja más pequeña representa el 7.14% para *L. aurata* y el 12.5% para *C. labrous*, la grande representa el 100% para ambas especies



afinidad por las jaulas de cultivo además de una alta movilidad, pudiendo realizar movimientos de varios kilómetros, conectando así las diferentes piscifactorías de la zona, y actuando como potenciales vectores de agentes patógenos entre las diferentes especies cultivadas y los poblamientos ícticos salvajes.

Bibliografía

- Arechavala-López, P., Sánchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J., Fernández-Jover, D., Martínez-Rubio, L., López-Jiménez, J. A., and Martínez-López, F.J. 2009. Direct interaction between wild fish aggregations at fish farms and fisheries activity at fishing grounds: a case study with *Boops boops*. *Aquac. Res.*, in press.
- Dempster, T., Sánchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J. T., Giménez-Casalduero, F., Valle, C. 2002. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: spatial and short-term temporal variability. *Marine Ecology Progress Series*, 242:237-252.
- Fernández-Jover, D., Faliex, E., Sánchez-Jerez, P., Sasal, P., Bayle-Sempere. 2009. Fish farms effect on the parasite communities of wild fish. *Aquaculture*, in press.
- Fernández-Jover, D., López-Jiménez, J. A., Sánchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J., Giménez-Casalduero, F., Martínez-López, F. J., Dempster, T. 2007. Changes in body condition and fatty acid composition of wild Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*, Steindachner, 1868) associated with sea cage fish farms. *Marine Environmental Research*, 63:1-18.
- Fernández-Jover, D., Sánchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J. T., Valle, C., Dempster, T. 2008. Seasonal patterns and diets of wild fish assemblages associated to Mediterranean coastal fish farms. *ICES Journal of Marine Science*, 65:1153-1160.

P.N. JACUMAR (2006-2008) Mitigación del impacto ambiental generado por los cultivos marinos en estructuras flotantes.

Evaluación de la eficacia de la utilización de biofiltros artificiales de fondo para la mitigación del impacto ambiental derivado de la piscicultura marina en jaulas flotantes. Resultados finales

F. Aguado-Giménez¹, V. Aliaga², P. Ávila³, B. García-García¹, N. García⁴, N. González⁴, J.M. Gutiérrez², A. Ibáñez³, J.C. Macías³, M.A. Piedecausa¹, M. Ruiz⁴

¹ IMIDA. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. Correo-e: felipe.aguado@carm.es

² Taxon Estudios Ambientales S.L. Urb. La Fuensanta 2. 30150 Algezares, Murcia

³ Empresa Pública DAP. Avda. Reino Unido, Edif. Adytec 4ª planta. 41012 Sevilla

⁴ ICCM. Apdo. 56. 35200 Telde, Gran Canaria

Abstract

The deployment of benthic biofilters in offshore areas influenced by fish farming activity meant a clear increase in biodiversity and trophic complexity around the biofilters, as a result of the reutilization and recycling of fish farm-derived wastes that reached the biofilters. However, this mitigation effects did not mean an improvement of sediment quality around the biofilters, probably because of the small spatial and temporal magnitude of the application in relation with the farm dimensions.

Justificación

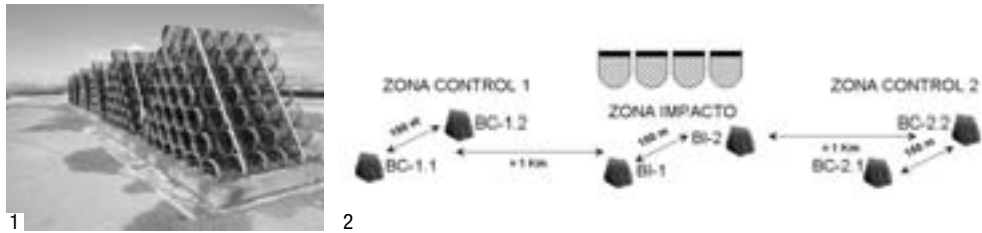
En condiciones de mar abierto, la gestión de los residuos orgánicos derivados de los cultivos de peces en jaulas flotantes es complicada. Recientemente se han planteado diversas alternativas entre las que destacan la integración de otros cultivos asociados que aprovechen los excedentes del cultivo principal de peces (Troelly Norberg, 1998), la utilización de biofiltros de columna de agua (Cook et al., 2006) o la utilización de biofiltros de fondo a modo de arrecifes artificiales (Angel y Spanier 2002; Gao et al., 2008). Al proporcionar una gran superficie para la fijación o refugio a organismos necto-bentónicos, biofiltros de fondo ubicados en zonas influenciadas por los cultivos de peces facilitarían la descomposición aeróbica de estos aportes, al mismo tiempo que estimularían la biodiversidad del entorno y en el mejor de los casos podrían fomentar la recuperación de los fondos directamente afectados.

Material y Métodos

Bajo la hipótesis de que un incremento de la complejidad estructural del hábitat bentónico en que se desarrollan los cultivos marinos de peces en jaulas flotantes, favorecería la colonización de organismos tanto bentónicos como nectónicos que reutilizarían los residuos generados al quedar estos desechos inmersos en una red trófica más compleja, y se minimizaría el impacto ambiental, se diseñaron unos biofiltros bentónicos (Fig. 1) a modo de arrecifes artificiales que fueron fondeados en primavera de 2006 bajo instalaciones de engorde de peces en mar abierto y en zonas control (Fig. 2) en las costas de Murcia, Andalucía y Gran Canaria. Por tanto, y en relación a la hipótesis planteada, cabría esperar que la presencia de las instalaciones de engorde de peces generase una mayor abundancia y/o biomasa de organismos tanto bentónicos (*fouling*) como nectónicos (ictiofauna) asociados a los biofiltros que en las zonas control, o al menos que hubiesen diferencias en cuanto a la estructura de la comunidad, que estos organismos se estuviesen beneficiando directa o indirectamente de los residuos de las granjas, y que esto supusiese una mejora en la calidad del sedimento en el entorno de los biofiltros en tanto que una parte de los residuos que sin biofiltros llegarían al fondo, podrían estar siendo consumidos por los organismos asociados a ellos. Para ello se estudió el flujo de material particulado en las zonas de estudio, la evolución físico-química y biológica de los sedimentos en el entorno de los biofiltros y la evolución de los organismos bentónicos y nectónicos asociados a los mismos.

Resultados y Discusión

El flujo de material particulado y su relación isotópica $\delta^{15}\text{N}$ fueron siempre superiores en la zona impacto, indicando un mayor grado de enriquecimiento en ^{15}N derivado de los residuos de la granja. El proceso de colonización del *fouling* fue muy rápido y progresivo en todos los biofiltros. La biomasa del *fouling*

Figuras 1 y 2. Biofiltros bentónicos y esquema del diseño experimental para el fondo.

experimentó fluctuaciones de diferente magnitud y temporalidad en cada biofiltro; no obstante, la biomasa promedio fijada en el biofiltro de la zona impacto fue superior que la de los controles. La relación isotópica $\delta^{15}\text{N}$ para el fouling de la zona impacto siempre resultó superior a la de los controles, indicándonos que están utilizando parcialmente los residuos derivados de las granjas. Los biofiltros de la zona impacto estuvieron dominados por organismos suspensivos, y en menor medida por detritívoros y carroñeros. La comunidad del fouling fue alcanzando progresivamente un mayor grado de madurez y equitatividad. Se observó un claro efecto de atracción de peces en todos los biofiltros, siendo superior en abundancia y biomasa en la zona impacto. Se reveló una clara diferencia entre el poblamiento de peces de la zona impacto y de los controles, debido a la notable dominancia de especies pelágicas asociadas a los biofiltros de la zona impacto. Especies depredadoras, como *Conger conger* y *Scorpaena scrofa*, o bento-planctófagas *Diplodus vulgaris* o *Spicara maena*, fueron más abundantes y de mayor tamaño en los biofiltros de la zona impacto, probablemente debido a la mayor disponibilidad de recursos tróficos ofertada por la granja. La efectividad de los biofiltros para incrementar la biodiversidad ha sido manifiesta, si bien la mayor disponibilidad de recursos tróficos existente en el entorno de las granjas, ha potenciado significativamente sus efectos de generación de nueva biomasa en forma de organismos bentónicos y de atracción de peces bentónicos, demersales y pelágicos, contribuyendo al desarrollo de una red trófica más compleja. Asimismo hemos podido demostrar esa biomasa generada bajo las granjas ha estado aprovechando los residuos de las mismas, reutilizándolos y reciclándolos, ocasionando un efecto mitigante que pese a todo no ha supuesto una mejora de la calidad de los sedimentos en torno a los biofiltros bajo las granjas. En este último sentido merece destacarse que el espacio ocupado por el biofiltro y su área de influencia, en proporción al ocupado por las jaulas de cultivo es bastante pequeño, lo que pudiera afectar sin duda a la magnitud del efecto que el biofiltro pudiera tener sobre los fondos. No obstante, el diseño piramidal de nuestros arrecifes puede que sea más adecuado para albergar una comunidad necto-bentónica diversa propia de sustratos duros que como aprovecha parcialmente los excedentes de las granjas, que para atrapar una mayor cantidad de esos residuos. Por tanto, los resultados de este proyecto mantienen abierta la puerta a la utilización de estructuras artificiales para mitigar los efectos adversos de la acuicultura, si bien son necesarios mayores esfuerzos en términos de diseño de estructuras biofiltrantes, magnitud de su aplicación y escalas espacial y temporal de las actuaciones.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura JACUMAR.

Bibliografía

- Angel, D.L., Spanier, E. (2002). ICES J. Mar. Sci. 59(1): 324-329.
 Cook et al. (2006). ICES J. Mar. Sci. 63: 637-649.
 Gao et al. (2008). Mar. Poll. Bull. 57: 652-661.
 Troell, M., Norberg, J. (1998). Ecol. Model. 110: 65-77.

Repoblación de rodaballo (*Scophthalmus maximus*, L.) en la Costa de Galicia

J. C. Mariño¹, G. Pérez, J. L. Rodríguez, E. Cid, B. Fernández y M. I. Graña²

¹ Centro de Investigación Mariñas. CIMA. Pedras de Corón s/n. Vilanova de Arousa. Galicia. España.
e-mail: carlosm@cimacoron.org

² Instituto Galego de Formación en Acuicultura. IGaFA. Niño do Corvo s/n. Illa de Arousa. Galicia

Abstract

A restocking project with turbot (*Scophthalmus maximus*) has been developing in Galicia for four years. During 2008, eight thousands turbot fries, externally tagged using T-anchor tags, were released in the Ría de Arousa (NW Spain) in two times (different season). In spring, 4.000 juveniles with a medium weight 78.35 g and in autumn 2.000 fish of two weight 30 and 60 g. After nine months, the results show an important difference in the number of recaptures; while in the spring stock were recaptured 29 fries, in the autumn stock were recaptured only 2 fries. The distribution was in all directions from released point and the maximum distance was 12 nautical miles. Finally, the growth was similar to cultured fish.

Justificación

En la gestión de los stocks naturales de las especies comerciales, cada vez son más las herramientas administrativas y biológicas que se ponen en marcha con el objetivo del mantenimiento y explotación del recurso; entre ellas los planes de repoblación pretenden ayudar, de manera artificial, a la mejora y recuperación de estos stocks. En los últimos 25 años, muchos son los proyectos de investigación que evalúan si la suelta de determinadas especies al medio natural provoca un efecto sobre la población natural sometida al esfuerzo pesquero.

En España, fueron varios los proyectos que desarrollaron esta actividad de la repoblación en el medio marino. De destacar son los trabajos de Sanchez-Lamadrid (2002) con dorada en la Bahía de Cádiz e Iglesias Martínez-Ojea (1994) con rodaballo en Galicia. Sin embargo hasta 2008 no se plantea un proyecto a nivel nacional (JACUMAR), con cinco CC. AA. para establecer unas pautas sobre las actuaciones futuras en este campo.

Material y Métodos

Los ejemplares empleados en las sueltas procedían de plantas comerciales de cultivo de rodaballo existentes en Galicia. Trasladados al Instituto Galego de Formación e Acuicultura (IGAFA), fueron engordados hasta la talla de suelta. El marcaje se realizó con etiquetas externas del tipo «T-bar» FF-94 1/2", colocadas en la parte dorsal y hacia la aleta caudal.

Los alevines se mantuvieron sin alimentar los tres días anteriores a la suelta. El traslado hasta el lugar donde fueron liberados se realizó en tanques con aporte de oxígeno (carga máxima 65 kg /m³), durante 40 minutos; en una embarcación del servicio de Guardacostas de Galicia.

Se realizaron dos experiencias en las mismas áreas; en la suelta de primavera, se liberaron 4.000 rodaballos con un peso medio de 78,35 gramos y en la realizada en otoño, el mismo número de ejemplares, pero en dos lotes (a partes iguales) de peces 30 y 60 gramos.

Con posterioridad a la suelta se realizaron campañas de muestreos mensuales (no tratados en este trabajo) y un plan de divulgación, consistente en visitas a las lonjas y mercados de la zona, reuniones con patrones y marineros, colocación de pósters y pegatinas vinílicas para pegar en los barcos y cartas a las embarcaciones de la Ría de Arousa.

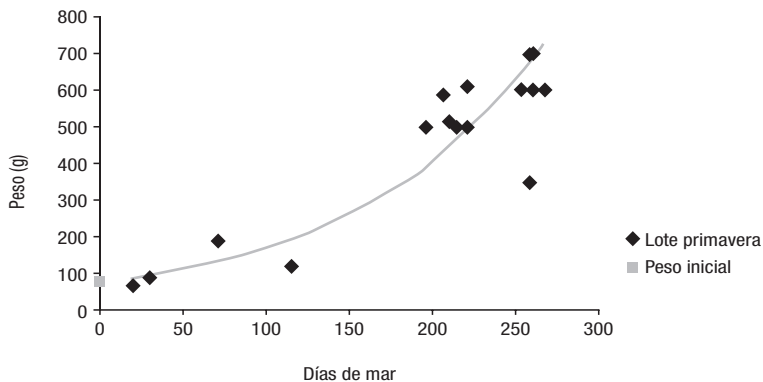
Resultados y discusión

El número de recapturas obtenidas por los pescadores profesionales durante los 270 días posteriores a la suelta (Tabla 1), muestra una gran diferencia entre el lote de primavera y el lote de otoño. Del primero se pescaron 29 ejemplares y del segundo tan solo 2 recuperaciones.

El porcentaje de recapturas fue inferior al 1%, sin embargo, aquí no se tienen en cuenta los ejemplares recuperados en las campañas de muestreo que mensualmente se realizaron a partir del primer mes después de la suelta; en este caso, el porcentaje del lote primavera estaría próximo al 3%.

Tabla 1. Resultados de las recapturas después de 270 días en el mar. * peces en mal estado

Fecha	N.º peces	Peso medio (g)	N.º recapturas	Peso máximo (g)	Distancia máx. (millas náuticas)
30/6/08	3.978	78,35	29	700	12
7/11/08	4.000	30; 60	2	*	5

Fig. 1. Crecimiento en peso (g) de lote de primavera después del período estudiado

El crecimiento en peso de los rodaballos recapturados se ajusta a la curva exponencial: $Y = 69,84 \exp(0,0088X)$ y un $r = 0,873$ que aparece representada en la Figura 1.

Estos resultados se asemejan bastante a los obtenidos por otros autores en experiencias de repoblación anteriores con esta especie. Las tasas de crecimiento observadas en este estudio, 0,3-0,6 mm por día, son ligeramente superiores a las obtenidas por Støttrup *et al.* (2002) en las sueltas en Dinamarca, sin embargo son similares a las dadas por Iglesias y Rodríguez-Ojea (1994), en otra experiencia de repoblación realizada en Galicia.

El porcentaje de recapturas está por debajo del obtenido por los autores gallegos citados anteriormente (9,1%), pero dentro del rango observado por los investigadores daneses (1-11%) o por el trabajo de Bergstad y Folkvord (1997) en Noruega (2%).

Hasta el momento, los resultados son provisionales ya que el período de recaptura que aquí se muestra (9 meses), es menor al presentado en otros estudios de repoblación, que suelen incluir varios años.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en parte, gracias a un proyecto del Plan Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR) y a otro de la Dirección Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro de la Xunta de Galicia.

Bibliografía

- Bergstad O. y Folkvord A. (1997). Dispersal of tagged juvenile turbot *Scophthalmus maximus* on the Norwegian Skagerrak coast. *Fisheries Research* 29 (1997) 211-215
- Iglesias J. y Rodríguez-Ojea G. (1994). Fitness of hatchery-reared turbot, *Scophthalmus maximus* L., for survival in the sea: first year results on feeding, growth and distribution. *Aquaculture and Fisheries Management*. 25-Supplement 1: 179-188
- Sanchez-Lamadrid A. (2002). Stock enhancement of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.): assessment of season, fish size and place of release in SW Spanish coast. *Aquaculture* 210: 187-202
- Støttrup J. G., Sparrevohn C. R., Modin J. y Lehmann K. (2002). The use of releases of reared fish to enhance natural populations. A case of study on turbot *Psetta maxima* (Linné, 1758). *Fisheries Research* 1361: 1-20.

Acuicultura integrada: desarrollo de experiencias de cultivos multitróficos en la costa española

J. C. Macías¹, F. Aguado-Gimenez², N. Gonzalez³, S. Guerrero⁴, A. Estevez⁵ y J. M.^a Valencia⁶

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCIA. C/ Bergantín 39, Sevilla. jcmacias@dap.es

² IMIDA Equipo Acuicultura Marina. PO box 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia

³ ICCM Gestión Litoral y Desarrollo Sostenible. Apdo. 56. 35200 Telde, Las Palmas de Gran Canaria

⁴ CIMA, Consellería do Mar. Piedras de Coron, Apdo. 13. 36620 Villanova de Arosa Pontevedra

⁵ IRTA Centro de Sant Carles de la Rápita. Ctra Poble Nou, km 6, San Carlos de la Rápita, 43540 Tarragona

⁶ LIMA Dirección General de Pesca. Avda. Ing. G. Roca, 69. 07158 Port d'Andratx. Illes Balears

Abstract

The proposal defined in this project is based on the development of several pilot experiences of Integrated Farming Systems based both inland and marine facilities. Two main aims are pursued in the project, on the one hand the economical profit through the increase of the production in the same area and on the other the environmental benefit of making the most of the existing resources through removing from the environment the remaining compounds from the farming activities (fish farming in our study case). Therefore, each participant Autonomous Region will make an experience of integrated aquaculture depending on its specific characteristics and interesting species. To evaluate the economical and technical viability of the proposed system, an integrated monitoring of each experience will be carried out to obtain the degree of success as a grade of enterprise competitiveness.

Justificación

La puesta en marcha de distintas experiencias de cultivos multitróficos en el contexto de este Plan Jacumar surge como consecuencia de la necesidad de las empresas de obtener un mayor rendimiento económico de su actividad al tiempo que pueda mejorarse la calidad ambiental del entorno. Así, la acuicultura integrada podría definirse como la combinación de diferentes cultivos marinos empleando especies de distintos grupos taxonómicos en un mismo sistema físico o instalación, con el fin de mejorar la calidad ambiental del medio y el aprovechamiento de los recursos del sistema.

Para el desarrollo de estas experiencias y una vez seleccionadas las mejores opciones de cultivo según localización geográfica, se realiza un seguimiento técnico-científico sobre las poblaciones en cultivo, evaluando sus ritmos de crecimiento y calidad, así como un seguimiento ambiental sobre el sistema natural, analizando parámetros indicadores de la posible afección ambiental.

Este Proyecto cuenta con la financiación de la Secretaría General del Mar del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino a través de JACUMAR.

Material y Métodos

La combinación del cultivo de peces, moluscos y otros niveles tróficos como algas es interesante pero no siempre posible en relación con las condiciones del cultivo, características ambientales, disponibilidad de instalaciones, equipos, etc. En este sentido existen múltiples combinaciones posibles, basadas en el esquema teórico de cultivo principal de peces, a un nivel de producción importante, que producen una serie de aportes al medio (principalmente MOP y nutrientes disueltos), los cuales pueden ser aprovechados por *moluscos* por medio de la filtración y otras especies de interés como *macroalgas* por medio de la asimilación para su crecimiento y aumento de biomasa.

Tras realizar un análisis de posibilidades y una caracterización ambiental de las posibles zonas de estudio, considerando la idoneidad del medio, las características propias del cultivo, las especies, y el interés del propio sector, etc., se han identificado una serie de opciones experimentales.

Posteriormente, se ha realizado el diseño de las experiencias y su seguimiento tratando aspectos biológicos, ambientales y económicos con el fin de obtener una serie de datos de interés para valorar los resultados obtenidos a la finalización del proyecto experimental.

Resultados y discusión

Actualmente las experiencias de cultivos multitróficos planteadas en las distintas regiones costeras españolas participantes en el proyecto se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 1. Cultivos multitroóficos desarrollados por los distintos grupos de investigación del proyecto

Región	Experiencia (Sistema cultivo-Especies)
Andalucía	Cultivo suspendido en longline, de ostión (<i>Crassostrea gigas</i>) y macroalgas asociado a cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas en mar abierto.
	Cultivo suspendido en cuerdas, de mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) asociado a cultivo de dorada (<i>Sparus aurata</i>) y lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas en mar abierto.
	Policultivo en esteros de ostión (<i>Crassostrea gigas</i>) y langostinos (<i>Pennaus japonicus</i>), asociado a un cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>).
Canarias	Cultivo suspendido en long-line de mejillón (<i>Perna perna</i>) y macroalgas (<i>Ulva rigida</i> y <i>Grateloupia</i> sp), asociado a cultivo de erizo (<i>Paracentrotus lividus</i>) en jaulas suspendidas y al cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas flotantes en mar abierto.
	Cultivo suspendido en jaulas de equinodermos (<i>Holothuria sanctorii</i> y <i>Diadema antillarum</i>), asociado a cultivo de lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas flotantes en mar abierto
	Cultivo de distintas especies de organismos: mejillones (<i>Perna perna</i>), algas (<i>Ulva rigida</i> y <i>Grateloupia</i> spp) erizos y holoturias, en tanques asociados a los efluentes de las producciones intensivas de cultivo de peces en tierra.
	Cultivo de macroalgas, asociado los efluentes de una producción intensiva de peces para el abastecimiento de alimento de cultivo asociado de oreja de mar (<i>Haliotis tuberculata</i>).
Cataluña	Cultivo larvario de pulpo y engorde de moluscos bivalvos mediante el uso del agua de vertido de engorde de peces marinos (dorada, corvina, lenguado).
Baleares	Cultivo de mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>), zamburiña (<i>Chlamys varia</i>), centollo (<i>Maja squinado</i>) y holoturias, asociados a cultivo de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) en un polígono de jaulas en un entorno antropizado
Galicia	Cultivo suspendido de kombu (<i>Saccharina latissima</i>) asociado a cultivos experimentales de abadejo y besugo en jaulas y a cultivo de mejillón en bateas en las rías de Ares y Betanzos.
	Cultivos de alga <i>Saccharina latissima</i> en el sistema de recirculación de agua de una instalación en tierra, de cultivo de lenguado y rodaballo.
	Cultivo de macroalgas (<i>Gracilaria</i> spp. <i>Ulva</i> spp. y <i>Codium</i> spp.) en el efluente de una piscifactoría de rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>), asociando además invertebrados suspensivos (<i>Anemonia viridis</i>) y/o filtradores (distintas especies de almeja)
Murcia	Cultivo suspendido de ostra plana (<i>Ostrea edulis</i>) asociado a cultivos de dorada (<i>Sparus aurata</i>) y lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en jaulas flotantes en mar abierto.
	Cultivos de espardeña (<i>Stichopus regalis</i>) y cohombro de mar (<i>Holothuria tubulosa</i>) en fondos bajo granja de dorada (<i>Sparus aurata</i>) en jaulas flotantes en mar abierto.

Estas experiencias de cultivo ya se han iniciado en su mayoría, y toda la información relativa al mismo están recogidos en la web del proyecto: www.acuiculturaintegrada.com

Agradecimientos

A todas las empresas y entidades que han prestado su colaboración para la ejecución del proyecto.

Bibliografía

- De-Pauw, N. y Salomón, C. 1991. Aquaculture systems for waste treatment. *EAS (European Aquaculture Society) special publication 14*: 87-88.
- Edwards, P. 1998. A systems approach for the promotion of integrated aquaculture. *Aquac. Econ. Manag.* 2: 1-12.

Policultivo en esteros de ostión (*Crassostrea gigas*) y langostinos (*Penaeus japonicus*), asociado a un cultivo de lubina (*Dicentrarchus labrax*)

M. M. Agraso¹, M. M. Segura¹, M. Fernández¹, Oscar Mansilla¹ y J. C. Macías¹

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCIA. c/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla. Correo electrónico: mdmagraso@dap.es

Abstract

In this study, technical, economic, environmental and multi-trophy or integrated farming systems feasibility, has been evaluated by examining the efficiency and profitability of aquaculture enterprises exploiting the full potential of marine resources and the carrying capacity, and by improving the potential environmental impacts. Specifically, we have developed an field experiment in a fish aquaculture firm, located in a turned marsh zone, near Guadalquivir river, in Trebujena. Specific aims include: To assess the effectiveness of multi-trophy farming systems developed in processed salt marshes for marine farming. To test the effectiveness of such cultures on the water quality before discharge. To demonstrate the economic viability of integrated culture systems. To analyze the negative or positive consequence for production. To identify interesting species and systems according to culture areas. Cupped oyster (*Crassostrea gigas*) and prawn (*Penaeus japonicus*) are the chosen species for this culture.

Justificación

La finalidad de la experiencia de cultivo planteada es evaluar distintas formas de cultivos integrados y/o policultivos como formula para avanzar en la sostenibilidad económica y ambiental de las instalaciones. Así , los criterios empleados para su planteamiento han estado relacionados con la aplicabilidad futura de los experimentos, las especies y los sistemas comúnmente utilizados en Andalucía.

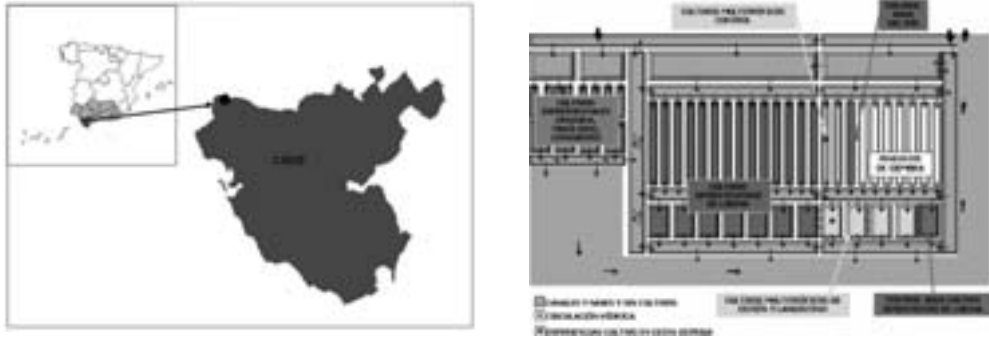
La selección de esta instalación localizada en una zona de marismas transformadas adyacente al río Guadalquivir se ha basado en criterios medioambientales relativos a la optimización en la utilización de las aguas de cultivo, con el consiguiente aprovechamiento de los recursos naturales, así como en criterios de índole biológica ya que permite integrar el cultivo de especies de gran importancia e interés para los cultivos marinos desarrollados en tierra, predominantes en la zona suratlántica de Andalucía. Esta experiencia se enmarca en la Plan Jacumar de Acuic. Integrada, en su segunda fase de diseño y puesta en marcha de experiencias de cultivos multitróficos.

Material y Métodos

La experiencia se ha diseñado considerando las características ambientales de la zona de estudio, los estudios de cultivos multitróficos existentes, así como las especies de cultivo de interés en la región suratlántica. Partiendo de lo anterior, se optó por desarrollar un cultivo donde analizar las relaciones biológicas y ambientales en el cultivo de peces, moluscos y crustáceos, determinando como cultivo principal lubina (*Dicentrarchus labrax*), cuyo efluente abastece a estanques con policultivo de ostión (*Crassostrea gigas*) y langostino (*Penaeus japonicus*).

La experiencia se está desarrollando en 8 estanques de cultivo, con superficies entre 2000-4000 m². En 2 de estos estanques de 4.000 m² de superficie, se está realizando un policultivo control de ostión y langostino, en el que se ha sembrado un total de 174.680 semillas de ostión, y 138.255 post-larvas de langostino a diferentes densidades (10 ind ostión/m², y a 5-10 ind langostino/m²), y que se abastece de agua que no pasa por ningún cultivo principal. Por otra parte, otros 4 estanques de 2.000 m² de superficie, se emplearán para un policultivo de ostión y langostino, a diferentes densidades de cultivo (10 ind ostión/m², y 5-10 ind langostino/m²), en el que el agua procede de los efluentes del cultivo de lubina. Finalmente, las dos naves restantes, localizadas en la zona control y experimental se están monitorizando para controlar la calidad de las aguas sin el efecto del cultivo de moluscos y crustáceos.

Con el fin de analizar la hipótesis de partida se están considerando aspectos biológicos, ambientales y económicos. De esta forma, el seguimiento biológico se basa en la realización de muestreos de ostión y de langostino mensuales, en el que se realizan biometrías, así como contabilización de mortalidades mensuales comparando el cultivo experimental y control. Además, desde que el ostión alcance la talla comercial hasta el final del ciclo se realizarán estudios de índice de condición. El muestreo de ostión se realiza recogiendo una muestra de 1 m² en la entrada, zona media y salida. En el caso de los langostinos, se instalan nasas en el perímetro de las naves al anochecer, recogiénolas al amanecer del día siguiente.



El seguimiento ambiental consiste en la realización de campañas de recopilación de datos ambientales de interés en relación con el cultivo, tanto de calidad del agua como de sedimento. Por otra parte, el seguimiento económico se fundamentará en la evaluación de los resultados obtenidos a escala productiva, con el fin de conocer la aportación de estos sistemas de cultivo al rendimiento de la empresa.

Resultados y Discusión

Tras realizar diversos muestreos biológicos, se ha determinado un crecimiento segregado de las poblaciones de ostión. De esta forma los ejemplares de ostiones localizados en zonas con fondos más degradados crecen de forma irregular, presentando mayor rango de mortalidad. Por otra parte, el langostino está mostrando un rápido ritmo de crecimiento, pendiente de determinar su porcentaje de supervivencia con la finalización del ciclo de cultivo.

Respecto a los resultados de índole ambiental, a priori las condiciones físico-químicas del agua parecen adecuadas para el cultivo, no obstante habrá que esperar a disponer de una mayor cantidad de datos para establecer los parámetros de cultivo. Por otra parte, se ha realizado un estudio de las características del fondo donde se ha podido verificar zonas localizadas en los estanques de cultivo con un potencial redox muy negativo, posible causantes de la limitación en crecimiento y supervivencia de algunos individuos en cultivo.

Agradecimientos

A la empresa Piscícola de Trebujena, S. A., por su participación en el proyecto.

Bibliografía

Petchey, OL; Downing, AL; Mittelbach, GG; Persson, L; Steiner, CF; Warren, PH; Woodward, G. Species loss and the structure and functioning of multitrophic aquatic systems. *Oikos* [Oikos]. Vol. 104, no. 3, pp. 467-478. Mar 2004.

Stephen F. Cross. Water Quality Interactions and the Implications for Integrated Finfish-Shellfish

Evaluación del crecimiento de la ostra plana (*Ostrea edulis* L.) en cultivo integrado con un cultivo intensivo de peces en mar abierto

F. Aguado Giménez¹, R. Serra Llinares¹, M.A. Piedecausa Narejo¹, B. García García¹, M.D. Hernández Llorente¹, J. Cerezo Valverde¹ y M. Marhuenda²

¹ IMIDA. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. Correo-e: felipe.aguado@carm.es

² Ostres de la Badía S.L. Llotja vella – Moll Pesquer s/n. 03130 Santa Pola, Alicante

Abstract

The integration of a flat oyster (*Ostrea edulis* L.) culture in an offshore fish farm did not mean any improvement on its growth and development compared with a control location. However, it was demonstrated that integrated oyster culture exploited the fish farm wastes as nutritional source.

Introducción

Los cultivos de peces generan importantes cantidades de residuos tanto disueltos como particulados que son eliminados directamente al medio (Aguado-Giménez et al., 2007). La sostenibilidad de la acuicultura pasa entre otras medidas, por la minimización de las interacciones de las actividades productivas con el medio ambiente, y la integración de cultivos de moluscos con los de peces ha sido propuesta como una alternativa con una doble finalidad: dar un valor añadido a los desechos y reducir el impacto ambiental (Levebvre et al., 2000). Se ha postulado que los excedentes nutritivos de los cultivos de peces tendrían potencial para incrementar el crecimiento de moluscos bivalvos. Por tanto, los cultivos integrados tendrían la capacidad de incrementar la eficiencia y productividad de las granjas de peces, a la vez que reducirían la descarga de residuos y los impactos ambientales (Cheshuk et al., 2003). En este trabajo se evalúa el crecimiento de la ostra plana (*Ostrea edulis* L.) asociado a un cultivo de dorada (*Sparus aurata* L.) y lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) en mar abierto y se realiza un seguimiento de la señal isotópica del ¹⁵N como marcador del aprovechamiento de los residuos derivados del cultivo principal.

Material y Métodos

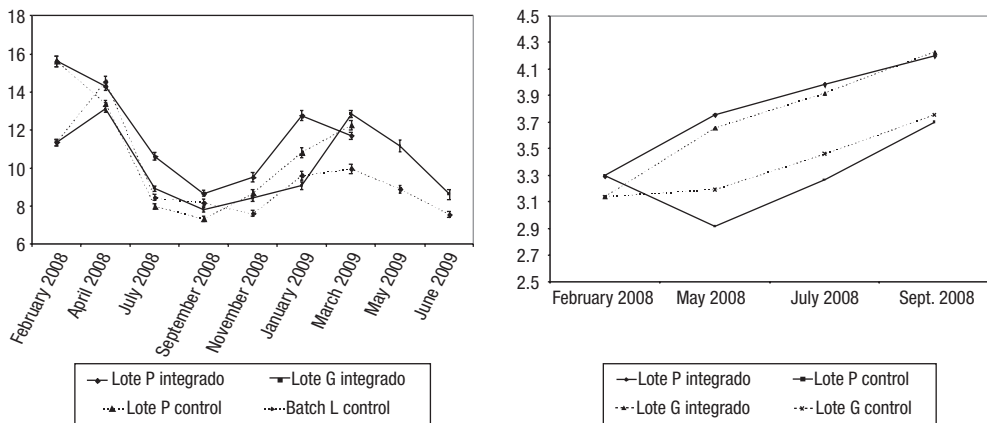
Se dispusieron dos lotes de ostra plana de distinto peso inicial en cestas cuadradas apiladas de 80x80 cm y luz de malla de 2 cm, a sotavento de la corriente predominante de una granja de dorada y lubina localizada frente a las costas de San Pedro del Pinatar (Murcia), y en una granja productora de ostras frente a las costas de Santa Pola (Alicante) que nos servía como control, a 12 metros de profundidad. Con periodicidad bimensual desde el fondeo (febrero de 2008) se vienen muestreando ambos lotes de ambas zonas, siendo las variables medidas las siguientes: peso fresco total (P_t), peso fresco de la carne (P_c), longitud (L) máxima de la concha, índice de condición (IC: $P_c \times 100 / P_t$) y la relación isotópica $\delta^{15}\text{N}$ en la carne. Asimismo, se calculó la tasa de crecimiento específico {TCE: $100 \times [\ln(P_t) - \ln(P_i)] / t$ } para P_t , P_c y L. Se tomaron muestras de agua periódicamente en ambas zonas de estudio para medir la materia particulada total (TPM), orgánica (POM) e inorgánica (PIM), e inferior a 60 μ . En el material particulado capturado mediante trampas de sedimentación en ambas zonas de estudio, se analizó la relación isotópica $\delta^{15}\text{N}$. Los piensos para peces contienen un contenido elevado en proteína ($\approx 45\%$) y una proporción de $\delta^{15}\text{N}$ alta ($\approx 9\%$), luego los residuos nitrogenados estarán enriquecidos en ¹⁵N, de modo que la cadena trófica que aproveche estos residuos se verá asimismo enriquecida en este isótopo estable. Mediante análisis de regresión lineal simple se evalúa la influencia de la zona de cultivo en la evolución de las variables biométricas y químicas ($\delta^{15}\text{N}$) de las ostras. Mediante análisis de regresión múltiple se evalúa la influencia de la zona de cultivo, el peso de las ostras y la temperatura sobre la TCE.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestran los resultados de los análisis de material particulado en el agua de ambas zonas de estudio. Se observa que hay diferencias cuantitativas y cualitativas entre ambas zonas de estudio. Los TPM totales y disponibles para las ostras ($< 60 \mu$) son mayores y con una proporción POM superior en la zona integrada. No obstante, los análisis de regresión lineal simple revelaron que la diferente ubicación (integrado vs control) de los lotes de ostra plana, no supuso diferencias significativas para la evolución en el tiempo de las variables biométricas utilizadas. El análisis de regresión múltiple mostró que la evolución

Tabla 1. Material particulado en el agua de las dos zonas de estudio

Zona	Integrado		Control	
	Fracción	Total	Total	< 60 μ
TPM (mg l ⁻¹) / (%)		1.03	0.94	0.84 / 89%
POM (mg l ⁻¹)		0.62	0.42	0.42
(%)		60%	44%	46%
PIM (mg l ⁻¹)		0.41	0.52	0.45
(%)		40%	56%	54%

Fig. 1 y 2. Evolución del índice de condición y de la señal isotópica $\delta^{15}\text{N}$ en la carne de ostra de los diferentes lotes en ambas zonas de estudio

del crecimiento en ambas zonas de estudio tampoco difería significativamente. Esto parece indicar que la mayor disponibilidad de POM disponible en la zona integrada no se traduce en un mejor crecimiento, probablemente debido a que los TPM totales se encuentran por encima del umbral para la producción de pseudoheces (Chesuk et al., 2003), lo que reduciría la eficiencia del crecimiento. La enorme variabilidad interindividual observada impidió la elaboración de un modelo de crecimiento fiable en función de la temperatura y el peso que permitiese determinar la temperatura óptima de crecimiento. Pese a esto, se observó que el crecimiento de esta especie funciona a pulsos temporales relacionados con la estación del año y el período reproductivo. Las mejores tasas de crecimiento se obtuvieron a temperaturas en torno a 18-20° C (principios de invierno y primavera) previo a la liberación de gametos, para posteriormente decaer en los meses estivales coincidiendo con la elevación de la temperatura, para luego volver a recuperarse. Esto se observa con claridad viendo la evolución del IC (Fig. 1). El seguimiento de la señal isotópica $\delta^{15}\text{N}$ puso de manifiesto que el material particulado (TPM) capturado junto a la granja de peces y la carne de las ostras allí cultivadas, acumulan más ^{15}N (Fig. 2), lo que viene a indicar que las ostras están aprovechando parte de los residuos derivados del cultivo de peces.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura JACUMAR.

Bibliografía

- Aguado-Giménez et al., 2007. *Aquaculture* 271: 357-370.
 Chesuk et al. (2003). *Aquaculture* 218: 357-378.
 Lefebvre et al. (2000). *Aquaculture* 187: 185-198.

Procedimientos de maduración y cría en cautividad de ejemplares madurados en cautividad procedentes de poblaciones amenazadas: calandino (*Iberocypris alburnoides*) y pardilla (*Iberochondrostoma lemmingii*)

C. Alonso González¹⁻², M. Marchamalo Sacristán¹, F. Torrent Bravo¹ y D. García de Jalón¹

¹ Grupo de Investigación de Hidrobiología; ETSI de MONTES, UPM, Ciudad Universitaria s/n; 28040 MADRID; carlosalonso@ecohidraulica.com, miguel.marchamalo@upm.es, diego.gjalon@upm.es

² ECOHIDRAULICA, S.L. Empresa ligada a la Univ. Politécnica de Madrid. c/Rodríguez San Pedro, 13, of. 407, 28015, MADRID

Abstract

Cyprinid dominated fish community in river Perales is among the least altered communities in the region of Madrid (Central Spain). With the aim of selecting a procedure to keep a sample of the most endangered species of this community and to reproduce them in captivity, several experiments have been carried in this study. Results have been obtained and advices to keep individuals from endangered populations in captivity are given.

Justificación

Las comunidades de peces en los ríos de la Península Ibérica están adaptadas a las condiciones impredecibles y cambiantes de los ambientes mediterráneos (Corbacho y Sánchez, 2001). Las especies exóticas menos especializadas son favorecidas por la regulación de los caudales mientras que las especies autóctonas, que están adaptadas a las citadas condiciones cambiantes, tienden a desaparecer. El río Perales es un pequeño afluente arenoso del río Alberche en la Comunidad de Madrid que presenta una comunidad íctica única con ciprínidos amenazados como el calandino *Iberocypris alburnoides* (Steindachner, 1866) y pardilla *Iberochondrostoma lemmingii* (Steindachner, 1866) que todavía predominan sobre especies alóctonas como el pez sol *Lepomis gibbosus*, L. y el pez gato *Ameiurus melas* (Rafinesque, 1820), siendo la población de calandino abundante y la de la pardilla escasa. El objetivo de este estudio es reseñar y evaluar propuestas para la conservación de las especies autóctonas del río Perales basadas en la reproducción de ejemplares madurados en cautividad procedentes de poblaciones salvajes.

El criterio elegido para este Proyecto es el siguiente: «la repoblación se efectuará con el único fin de recuperar el reclutamiento de una cohorte que haya sufrido un deterioro que pueda amenazar la supervivencia de la población». De esta forma además de asegurar la recuperación de una estructura poblacional dañada por un episodio catastrófico se consigue mantener una «copia de seguridad» de una población amenazada.

Material y métodos

En la actualidad, la cría en cautividad de ciprínidos ibéricos con este fin se ha llevado a cabo principalmente con individuos madurados en libertad. En la mayoría de los casos se consigue que los ciprínidos maduren en cautividad, pero es infrecuente que lleguen a ovular. Por ello se tiende a inducir la ovulación mediante análogos de GnRH (Gonadotropine Release Hormone) actuando en el eje cerebro-pituitaria-gónada en combinación con inhibidores dopaminérgicos, con el fin de aplicar técnicas de reproducción asistida (más eficiente que la natural) en la cría de ciprínidos.

En este contexto, se han llevado a cabo los trabajos de la Actividad 4 planteando una serie de experimentos dirigidos a determinar la técnica más efectiva en para la reproducción en cautividad de la pardilla y el calandino del río Perales. Contando con la capacidad de reproducir las condiciones naturales de este río en estanques exteriores de la piscifactoría, así como mantener unas condiciones controladas en laboratorio, se establecieron tres lotes de ejemplares capturados de la población salvaje:

1. Lote EE: Aclimatación en exterior, maduración en exterior y reproducción espontánea – tratando de representar el ciclo vital en condiciones naturales.
2. Lote EI: Aclimatación en exterior, maduración en exterior y reproducción inducida – tratando de representar el proceso de cría de un lote madurado en libertad, capturado y desovado en cautividad con ovulación inducida en laboratorio.

3. Lote II: Aclimatación en interior, maduración en interior y reproducción inducida – tratando de representar la captura de ejemplares inmaduros, maduración en laboratorio y reproducción inducida.

Resultados y Discusión

Debido al delicado estado de conservación de la población de pardilla en el río Perales, se llevaron a cabo los primeros ensayos de inducción a la ovulación en el calandino, ya que tiene una maduración más temprana en el año, con el fin de «preparar el terreno» al empleo de estas técnicas en los ejemplares de pardilla. Para ello se siguió un proceso idéntico al que tendría lugar con las pardillas en ejemplares de calandino procedentes de la comunidad de peces del río Perales y madurados en cautividad. La determinación del estado de los oocitos analizando mediante biopsias el fluido ovárico de varios ejemplares permitió detectar el momento óptimo para la inducción a la ovulación con una combinación de 20 mg/ml de análogo de GnRH de salmón y 10 mg/ml de inhibidor de la dopamina más propilenglicol (OVAPRIM, Syndel). Cada manipulación se realizó con ejemplares anestesiados (MS-222). Los resultados del ensayo con calandino fueron positivos obteniéndose una descendencia a partir de parejas de progenitores de la misma especie. Asimismo, la maduración de lotes en condiciones de temperatura y duración del día controlados ha permitido establecer un modelo de estimación del termo- y fotoperiodo necesario para la maduración de los ejemplares mantenidos en cautividad sin necesidad de ser sometido a biopsia, proceso que implica fuerte estrés y mortandad en la muestra.

Al aplicar el procedimiento a la pardilla, inicialmente, el lote II no respondió al tratamiento, y el seguimiento de su maduración a través de biopsias no dio resultados positivos al observarse que los ovarios no se habían desarrollado, encontrándose en su lugar unas aletas de tejido adiposo que incrementaron el factor de condición.

El procedimiento empleado en el lote EE se manifestó como el de mayor éxito de la reproducción en número de alevines reclutados (3 meses de vida) por reproductor. Asimismo es el procedimiento, de los tres estudiados, que menos incertidumbre y mortalidad incorpora en el proceso de aplicar técnicas de reproducción en cautividad. Esta circunstancia es muy útil cuando se trata de madurar reproductores en cautividad procedentes de poblaciones muy amenazadas o por debajo de su umbral de viabilidad poblacional.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado y apoyado técnicamente por la convocatoria 2002 de Proyectos de Investigación en Tecnologías Medioambientales, de los Materiales y Procesos Químicos y Biotecnología. Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y la Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid (Proyecto de Investigación 07M/0007/2002).

Guía para el desarrollo sostenible de la acuicultura mediterránea selección y gestión de emplazamientos para acuicultura

P. Ávila², F. Simard¹, S. Simoes¹ y J.C. Macías²

¹ Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. PTA. C/ Marie Curie, 22. 25590. Campanillas, Málaga.
Correo electrónico: pavila@dap.es

² Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCÍA.
c/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla.

Abstract

The aim of this Guide, «Guide on Aquaculture Site Selection and Site Management» the second in a series, is to promote the sustainable development of Mediterranean aquaculture by providing basic guidelines for good practice in aquaculture site selection and site management. It has been produced by the IUCN/FEAP working group on aquaculture with the financial support of the General Secretariat of the Sea (SGM) of the Spanish Ministry of the Environment and Rural and Marine Affairs (MARM), in cooperation with the FAO General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM). More than 50 experts in different areas, including socio-economists, biologists, lawyers, aquaculture farmers, and government and environmental organization representatives from most of the Mediterranean countries took part in a number of workshops.

Justificación

La disponibilidad de zonas apropiadas para la acuicultura en el Mediterráneo se está convirtiendo en un problema importante para el desarrollo de la actividad. Se necesitan emplazamientos con características ambientales apropiadas y con aguas de buena calidad. Además de estos factores limitantes, los aspectos sociales derivados de las interacciones con otras actividades humanas, o los conflictos sobre el uso y apropiación de los recursos en un litoral muy explotado constituyen limitaciones que hay que tener en cuenta a la hora de seleccionar emplazamientos para acuicultura.

La selección y gestión de zonas para acuicultura se encuentran entre las cuestiones más importantes para el éxito de la actividad y se deben abordar bajo directrices de sostenibilidad y buenas prácticas. Esto es lo que pretende el Programa Marino de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). De este modo, junto con los Productores Europeos de Acuicultura (FEAP) y la Secretaría de Pesca del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (MAPA)¹ se firmó un acuerdo de cooperación para la elaboración de una serie de «Guías para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura Mediterránea».

La primera guía estaba consagrada a estudiar las *Interacciones entre la Acuicultura y el Medio Ambiente*, en particular, subrayaba el hecho de que la mayor parte de los impactos potenciales para el medio ambiente se podían gestionar y minimizar por medio de una comprensión de los procesos, una gestión responsable y una selección adecuada de los emplazamientos de las granjas acuícolas. Éste último aspecto es el que ha dado pie a la elaboración de la segunda guía de esta serie.

Material y Métodos

El procedimiento de elaboración de la guía ha seguido un enfoque participativo y un proceso de co-construcción, reuniendo a más de 50 expertos en diferentes áreas, como; socio-economistas, biólogos, abogados, acuicultores, gobiernos y organizaciones representativas de la mayoría de los países del Mediterráneo, que han participado a través de una serie de talleres de trabajo específicos. De estas reuniones se han extraído las temáticas abordadas en la guía, la estructura de la misma, así como los Principios y Directrices a seguir en cada uno de los aspectos.

Éstos, son fruto de extensos debates que tuvieron lugar en talleres de trabajo, además de las posteriores reuniones de coordinación, y trabajo en línea mediante correo electrónico. Los capítulos han sido desarrollados por diferentes expertos, los cuales han aportado su conocimiento para así elaborar el eje central y cuerpo de cada capítulo. El equipo de redacción ha aunado criterios y formatos para de nuevo consensuar con los expertos el contenido final.



¹ Actualmente, Secretaría del Mar del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino de España (MARM).

Cada capítulo se ha estructurado de la siguiente forma: Definición; con los conceptos, objetivos y aplicaciones. Justificación. Principio general, Directrices y ejemplos de aplicación en el Mediterráneo.

Resultados y Discusión

El resultado ha sido la publicación de una guía con la siguiente estructura y contenido:

Conceptos	<i>Importancia del conocimiento</i>	Reforzar la toma de decisiones a través del conocimiento ambiental, legal, técnico y social.
	<i>Enfoque participativo</i>	Asegurar la participación de todas las partes interesadas desde el nacimiento del proyecto.
	<i>Aceptabilidad social</i>	Alcanzar la aceptación general y compatibilidad del proyecto, como meta a alcanzar en el proceso.
	<i>Principio de precaución</i>	Ayudar a la toma de decisiones teniendo en cuenta todos los aspectos y riesgos existentes
	<i>Enfoque de escala</i>	Tener una visión adecuada en tiempo y espacio
	<i>Enfoque adaptativo</i>	Anticiparse a los cambios a través del aprendizaje y la flexibilidad
	<i>Aspectos económicos</i>	Proveer de indicadores económicos como herramientas que apoyen la toma de decisiones
Marcos	<i>Importancia de la gobernanza</i>	Marco legal y procedimientos administrativos: situación legal en el Mediterráneo (procedimientos de concesión de licencias).
		Planificación sectorial: la importancia de la planificación de la actividad para el desarrollo sostenible del sector de la acuicultura
		Organización del sector privado: estructura y organización actual
Métodos	<i>Gestión integral de zonas costeras</i>	Facilita la implementación coherente de las diversas actividades que coexisten en el dominio público.
	<i>Proceso de selección de emplazamientos</i>	Metodología aplicable para un proceso de selección sostenible
	<i>Enfoque ecosistémico</i>	Metodología a aplicar en el proceso de selección basada en la gestión ecosistémica.
Herramientas	<i>Capacidad de carga</i>	Indicadores y modelos: herramientas de determinación de la capacidad del ecosistema para alojar la actividad acuícola.
	<i>Evaluación de impacto ambiental</i>	Para asegurar que las decisiones tomadas están basadas en datos que aseguren la ausencia de impacto de la actividad en el ecosistema.
	<i>Planes de vigilancia ambiental</i>	Una herramienta de seguimiento de la sostenibilidad ambiental de la actividad
	<i>Sistemas de información geográfica</i>	Una herramienta práctica para visualización ordenada de la información y marco común y objetivo de discusión

Agradecimientos

Al grupo de expertos para el desarrollo de la acuicultura mediterránea, la SGM, y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

Bibliografía

Cada capítulo incluye la bibliografía específica utilizada.

Impacto ambiental del cultivo de mejillón en longline (Fuerteventura, Islas Canarias)

A. Bilbao¹, M. P. Viera², G. Courtois de Viçose², Y. Pérez¹, R. Falcón¹, L. Aarab²,
A. Bilbao-Villena², H. Fernández-Palacios², L. Molina², M. S. Izquierdo² y N. Pavón¹

¹ Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. C/Subida al Mayorazgo nº 26, portal B, 2º planta.
Políg. Ind. El Mayorazgo. 38108 Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias. albertobs@gmrcanarias.com
² Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & IUSA P.O. Box 56. 35200. Telde, Islas Canarias

Abstract

In view of the depleted natural population of the Canarian mussel *Perna perna* L., mainly due to overfishing and a high demand on the local market, its culture, could be a further challenge for local aquaculture. Besides, there is a public interest in developing the culture techniques of this species to contribute to the recovery of wild populations. A pilot study assessing the feasibility of mussel culture on longline system, at sea, is being developed on the island of Fuerteventura (Canary Islands). An environment impact study, described in the present communication, has been realized according to environmental laws. The aim of this study is to contribute to the knowledge of the potential environmental impacts of mussel culture to help stakeholders in the hypothetical development of this culture in the Canary Islands.

Justificación

En marzo de 2009, comienza por primera vez en Canarias, concretamente en la Isla de Fuerteventura, un proyecto piloto para el cultivo del mejillón, *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en estructuras tipo *longline* en mar abierto. Dichas instalaciones de cultivo están constituidas por una sola línea de dimensiones experimentales (sub-superficiales, 110 m de longitud, 40 cuerdas de cultivo de 2 m, densidad de cultivo inicial de 1 kgm⁻¹ y profundidad media de 30 metros) localizadas en dos emplazamientos, alejados 60 Km entre sí, a una distancia de la costa de unos 1.5 km. La duración del estudio se prevé de un máximo de dos 2 años. Con vistas a un futuro desarrollo del cultivo de mejillón en Canarias, la finalidad de la presente comunicación es la de, a través de un caso práctico, contribuir al conocimiento, tanto desde un punto de vista empresarial como de las administraciones competentes, de los posibles impactos ambientales asociados a dicha actividad. Los objetivos propuestos son: identificar, analizar, valorar y jerarquizar los impactos ambientales potenciales de un cultivo de mejillón en *longline* y proponer un Plan de Vigilancia Ambiental (PVA) para este cultivo.

Material y Métodos

En términos generales la estructura y metodología del estudio se basa en una adaptación del *Protocolo para la realización de estudios de impacto ambiental en el medio marino según* Oiahana, Bald y Borja (2003). La información necesaria para el estudio se ha obtenido únicamente a través de análisis bibliográfico.

Resultados y Discusión

Si consideramos el proyecto en su totalidad, el impacto producido se considera moderado o poco significativo. Por actividades, la jerarquización de los impactos sería: el económico (detrimento de la inversión realizada) severo o significativo; recolección de semilla, impacto moderado o poco significativo y el resto de actividades serían compatibles o sin relación. El PVA debe identificar todas las medidas para mitigar los impactos ambientales negativos y significativamente adversos identificados en el Estudio. En nuestro caso, en cuanto a los aspectos identificados como notables, únicamente es posible actuar sobre el detrimento de la inversión económica con respecto a la estructura de cultivo.

Se considera como medida mitigadora la revisión, por profesionales, de la instalación de cultivo con una frecuencia no superior a seis meses. En resumen, la extensión y magnitud de los impactos ambientales en acuicultura son función de la escala y la intensidad de la operación (Gavine y McKinnon, 2002). Además, una de las claves de la sostenibilidad de una granja de mejillones es asegurar que la densidad del stock permanece en concordancia con la capacidad asimilativa y dispersiva del ambiente que la rodea (Lasiak, Underwood y Hoskin, 2006). En cuanto al PVA se debe centrar únicamente en aquellos aspectos que el ESIE haya determinado como afectados de manera notable ya que no todas las variables se pueden ver afectadas, ni tener la misma relevancia, con lo que se evitarán sobre costes económicos innecesarios en la ejecución del Programa.

Tabla 1. *Identificación de impactos (modificado de Gavine y McKinnon, 2002 entre otros)*

Medio	Recurso	Fuente/origen	Impacto	Consecuencias Potenciales
Medio físico	<i>Sedimentos</i>	Biodeposiciones	Acumulación bajo las áreas de cultivo	Deterioro localizado en la calidad ambiental. Alteración de la estructura física del sedimento. Sedimentos anóxicos y reductores.
	<i>Columna de agua</i>	Alimentación por filtración del stock	Absorción de la producción primaria y secundaria	Agotamiento de recursos esenciales.
				Modificación del ciclo de nutrientes.
		Reducción de los niveles de oxígeno disuelto.		
	Estructura de cultivo	Modificación de la hidrodinamia	Cambios en la composición de las comunidades planctónicas.	
<i>Paisaje</i>	Estructura de cultivo	Calidad visual afectada	Deterioro localizado en la calidad paisajística	
Medio Biológico	<i>Biológicos</i>	Stock de semilla	Recolección de la semilla	Impactos en la población nativa
		Estructura de cultivo y Biodeposiciones	Creación de hábitats	Posible impacto en la biodiversidad. Cambios en la composición de las comunidades.
		Estructura de cultivo	Obstrucción a la fauna marina (mamíferos, tortugas y aves)	Posible impacto en la fauna marina
		Stock del cultivo	Creación de lechos de mejillones	Incremento en la población nativa de moluscos
Medio Socio-económico	<i>Navegación</i>	Estructura de cultivo	Prohibición de estas actividades	Conflictos sociales
	<i>Pesca profesional</i>			
	<i>Deportes acuáticos</i>			
	<i>Otras zonas de cultivo</i>	Biodeposiciones y alimentación por filtración del stock	Acumulación bajo las áreas de cultivo y absorción de la producción primaria y secundaria	Sinergias negativas y positivas
	<i>Arrecifes artificiales</i>			
	<i>Arqueología</i>		Fondeos	Pérdida de los valores arqueológicos
	<i>Amenidad</i>	Estructuras de cultivo	Mala gestión y señalización	Pérdida de amenidad
<i>Consecución del proyecto</i>	Económico		Ditrimiento en la inversión realizada	
Ámbitos de Protección	<i>Valores intrínsecos</i>	Biodeposiciones	Acumulación en áreas protegidas	Pérdida de valores intrínsecos
		Alimentación por filtración del stock	Absorción de la producción primaria y secundaria	
		Estructura de cultivo	Calidad visual afectada	

Agradecimientos

Proyecto cofinanciado por la Unión Europea (fondos I.F.O.P. y F.E.P.) y la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias.

Bibliografía

- Gavine, F.M. y L.J. McKinnon. 2002. Environmental Monitoring of Marine Aquaculture in Victorian Coastal Waters: A Review of Appropriate Methods. Technical Report No.46. Marine and Freshwater Resources Institute, Victoria. 50 pp.
- Lasiak, T.A., A.J. Underwood y M. Hoskin. 2006. An experimental assessment of the potential impacts of longline mussel farming on the infauna in an open coastal embayment. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 16: 289–300.
- Oiahana, S., J. Bald y A. Borja. 2003. *Protocolo para la realización de los estudios de impacto ambiental en el medio marino*. AZTI, Instituto Tecnológico Pesquero y Alimentario. 82 pp.

Experiencia de cultivo integrado de macroalgas en jaulas de peces en la Ría de Muros y Noia (A Coruña)

J. Cremades¹, M. Andrade¹, S. Ocaña¹, S. Guerrero², C. Ancosmede² y J. M. Salinas³

¹ Laboratorio de Algas marinas, Grupo de Biología costera, Facultad de Ciencias, Universidad de A Coruña, Campus da Zapateira s/n., 15071 A Coruña, e-mail: creuga@udc.es

² Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia., Vilanova de Arousa, 36620 Pontevedra

³ Planta de Cultivo de Algas «El Bocal», Centro Oceanográfico de Santander, Instituto Español de Oceanografía, Barrio Corbanera s/n (Monte), Apdo. 240, 38012 Santander

Abstract

An integrated multi-trophic aquaculture system was developed using the seaweed *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyta) in cages of turbot farming in the Ría de Muros y Noia (Galicia, Spain). The used system to farming seaweeds involves an early sowing on vertical ropes. The average yield of harvested biomass in the period the culture was 8,8 kg/m in the first meter of the ropes. The growth of the seaweed was reduced for the hydrodynamics changes and the shadow due for the fish cages. The result of this experience suggests that a separate distribution of the species can be more efficient using seaweeds like biofilters in this large aquaculture area.

Justificación

En esta experiencia se trata de valorar las posibles ventajas e inconvenientes de la integración de cultivos de macroalgas marinas y peces. La hipótesis previa es que dicha integración, por una parte, puede incrementar la producción de ambos cultivos a la vez que mejora la calidad del agua, tanto por la reducción de la eutrofización como de las cifras de CO₂ disuelto, y, por otra, propicia la diversificación de la acuicultura gallega.

Material y Métodos

La experiencia se llevó a cabo en las jaulas de cultivo para peces propiedad de la empresa colaboradora MARCULTURA, S. A., y que se encuentra localizada en el lugar de Somorto, Esteiro, perteneciente a la ría de Muros y Noia (A Coruña). La instalación consta de 8 jaulas flotantes cuadradas unidas unas con otras y dispuestas en línea. Las tres primeras jaulas tuvieron rodaballo en engorde durante todo el experimento, mientras que las 5 restantes estuvieron desocupadas. Las cuerdas de cultivo de algas se pusieron en vertical en las zonas de unión entre jaulas y a ambos lados de las mismas. En total se pusieron 14 cuerdas de cultivo de 2,5m de longitud. La especie de macroalga cultivada fue *Saccharina latissima* (Linnaeus) Lane, Mayes, Druehl y Saunders (Laminariales, Phaeophyta), conocida como «kombu de azúcar». Esta especie autóctona en el noroeste ibérico, puede ser materia prima para la obtención de alginatos y biogás; sin embargo, tiene mayor valor añadido en su uso para la alimentación animal y humana.

La semilla de *Saccharina latissima* fue producida en la Planta de Cultivos de Algas del IEO en Santander utilizando su banco de germoplasma y mediante la técnica de free-living (Perez *et al.*, 1992). La siembra se realizó el 20 de noviembre de 2008. El método de siembra utilizado fue el conocido como japonés. En él, los hilos de semilla son cortados en fragmentos de unos 5 cm de longitud que se colocan cada 10 cm a lo largo de la cuerda de cultivo.

Para seguir las variaciones de las condiciones ambientales en el transcurso de la experiencia se colocó un sensor de intensidad lumínica y temperatura que grababa lecturas cada 15 minutos. El muestreo final del cultivo de algas se realizó el 6 de abril de 2008, transcurridos 137 días desde el inicio de la inmersión en el mar. Para la toma de muestras se recolectaron los 5 primeros implantes de cada cuerda, que se pesaron individualmente. Estos pesos sirvieron para estimar la producción por metro de cultivo. Del conjunto de los implantes recolectados en cada cuerda se separaron los 10 ejemplares de mayor peso para la realización de biometrías (largo y ancho máximos de la lámina, largo del estipe, peso total escurrido, estado fenológico y grado de epifitismo) y toma de muestras para el análisis de la relación $\delta^{15}N$, lo que nos permitirá valorar en qué medida las algas han tenido acceso a las fuentes de nitrógeno derivadas del metabolismo de los peces.

Resultados y discusión

Las cifras de producción media de *Saccharina latissima* oscilaron entre los 7,2 y 10,7 kg/m, por lo que se encuentran dentro del intervalo de valores obtenidos en otras experiencias realizadas en Galicia. Son

inferiores a las de 13,1 kg/m obtenidas por Cremades et al. (2007) utilizando también cuerdas verticales lejos de otras estructuras acuícolas, pero superiores a las de 6,2 kg/m obtenidas por Peteiro *et. al.* (2006) sobre cuerdas en long-line.

Al menos en el período y densidad de cultivo de macroalgas ensayado, la proximidad a los peces no resulta beneficiosa, ya que las macroalgas más próximas a ellos y que, además, presentaron la mayor relación $\delta^{15}\text{N}$ (6,2); es decir, que sin duda accedieron a esta fuente adicional de nitrógeno, alcanzaron las menores tallas y cifras de producción por metro de cultivo de todo el experimento. La explicación de este inesperado detrimento en la producción podría explicarse por una menor incidencia lumínica sobre estas cuerdas debido al sombreado y mayor grado de turbidez de las jaulas ocupadas por los peces frente a las que se encontraban vacías, ya que según (Cremades *et al.*, 2007) variaciones de este factor puede producir drásticas disminuciones de la producción. Tampoco debemos descartar algún posible efecto inhibitor del crecimiento de las algas debido a los tratamientos tópicos a que pudieron ser sometidos los peces ni olvidarnos de que la presencia cercana de los peces y de estructuras sumergidas exacerba los procesos de sedimentación y recluta que pueden provocar un considerable aumento del fouling, uno de los principales problemas de los cultivos de macroalgas.

A la vista de los resultados obtenidos parece evidente que la causa primordial de la aparente ausencia de una ventaja neta de la integración macroalgas-peces que se ha obtenido en este experimento deriva de que, con la densidad de cultivo ensayada, durante toda su duración y en todas las zonas del mismo, los nutrientes no debieron ser en ningún caso un factor limitante para el desarrollo de *Saccharina latissima*. Podemos concluir por tanto que en las técnicas de acuicultura multitrófica peces-algas en las rías gallegas es preferible una distribución en mosaico frente a una mezcla de ambos cultivos, lo que tiene importantes implicaciones a la hora de la futura ordenación litoral de la producción acuícola. Por el alto nivel de nutrientes de las rías gallegas el beneficio de la integración de cultivos no está en relación directa a la cercanía entre ellos, que incluso llegar a ser un handicap, y debe ser evaluado tanto por la mejora de la calidad del medio marino como por el aumento y diversificación de la producción acuícola total.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la empresa MARCULTURA, S. A., y en especial a Antonio Pallarés las facilidades prestadas para realizar estas experiencias en sus concesiones administrativas. Este estudio está cofinanciado por el Plan Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR). Secretaría General de Pesca Marítima: «Acuicultura integrada: desarrollo de experiencias de cultivos multitróficos (2008-2011)».

Bibliografía

- Cremades, J., Ó. Freire, S. Baamonde, J. M. Salinas y C. Fuertes (2007). Nuevo método para el cultivo industrial de *Laminaria saccharina* (Laminariales, Phaeophyta) en las costas gallegas. Actas XI Congreso Nacional de Acuicultura, 1: 559-562.
- Pérez, R., Kaas, R., Campello, F., Arbault, S. & O. Barbaroux (1992). La culture des algues marines dans le monde. Service de la Documentation et des Publications (SDP). IFREMER. Plouzane.
- Peteiro, C., J. M. Salinas, O. Freire y C. Fuertes (2006). Cultivation of the autoctonous seaweed *Laminaria saccharina* of the Galician Coast (NW Spain): production and features of the sporophytes for an annual and biennial harvest. *Thalassas* 22: 45-53.

Cultivo larvario de la centolla mediterránea, *Maja squinado*, usando diferentes secuencias alimenticias

J. Durán¹, E. Pastor¹, I. Riera¹, V. Prieto¹

¹ Laboratori d' Investigacions Marines i Aqüicultura. Direcció General de Pesca. Govern de Les Illes Balears. Avda. Ingeniero Gabriel Roca, 69, 07158, Port d'Andratx, Mallorca. jduran@dgpescas.caib.es

Abstract

Under the National Plan for restocking program improvement, a Mediterranean spider crab larvae test has been carried out. Two treatment, using two strains and sizes of *Artemia*, introduced at different times of larval development have been tested. Growth in both treatments did not show significant differences in the last larval stage, but obtained survival did it. The results, obtained with the use of a more varied feeding larval sequence, mean an improvement over previous studies. Further work it's necessary in this area.

Justificación

En las Islas Baleares, la centolla mediterránea, *Maja squinado*, se ha convertido en una especie muy rara, hasta el punto, de que actualmente, solo hay constancia de una decena de capturas anuales en las islas de Formentera e Ibiza. Las razones de esta rarificación no han sido específicamente estudiadas (García, 2007). La situación de la población de *Maja squinado* en Baleares requiere de herramientas de gestión pesquera para mantener y recobrar el stock. La repoblación es una de ellas. Trabajos previos (Durán *et al.*, 2008), han demostrado que el cultivo larvario de esta especie es posible con el uso de una única presa durante todo el desarrollo larvario, pero que a su vez, presenta una alta variabilidad de resultados. Este hecho sugiere la posibilidad de introducir diferentes tipos, calidades y tamaños de presas en la secuencia alimenticia larvaria de *Maja squinado*, como ya lo hicieran otros autores en otras especies de cangrejos (Mann *et al.*, 2001; Ruscoe *et al.*, 2004; Palma *et al.*, 2008).

El presente trabajo, representa el inicio de una serie de ensayos para conseguir la secuencia alimenticia óptima que estandarice el cultivo larvario de la centolla mediterránea, y que nos permita la obtención regular de juveniles que puedan ser utilizados en el programa de repoblación de esta especie. Se describen aquí, los efectos que la introducción de dos diferentes cepas de *Artemia sp.* en diferentes fases larvarias de *Maja squinado* tienen en la supervivencia, crecimiento y duración del desarrollo larvario. Este estudio se ha realizado en el marco del Plan Nacional de propuestas y mejoras para el diseño y control de los planes de repoblación.

Material y Métodos

Las zoeas necesarias para la realización de este ensayo, fueron obtenidas de una puesta natural de 150.000 larvas de una hembra salvaje capturada y transportada desde Córcega, y mantenida en nuestras instalaciones a temperatura controlada ($21,55 \pm 0,12^\circ \text{C}$) y fotoperiodo natural. Las zoeas se recogieron en un colector con malla de 500 μm . y se desinfectaron con formalina (400 ppm, 40") y yodóforos (400 ppm, 60"). Una muestra de 2 g se guardó a -80°C para su posterior análisis bioquímico. Se realizaron dos experiencias por triplicado (Tabla 1): el **grupo 1** basado en una alimentación con nauplios de *Artemia* tipo OF (talla de eclosión 500 μm y $\Sigma\omega\text{3HUFA} > 15 \text{ mg/g dwt}$, INVE) durante las fases de zoea I (ZI) y II (ZII) (0-9 DPH) y metanauplios de *Artemia* tipo EG enriquecidos (Selco S.presse, INVE) durante la fase megalopa (M) (a partir de 9 DPH). El **grupo 2**, alimentado con nauplios OF durante ZI, y metanauplios EG enriquecidos durante las fases de ZII y M. La *Artemia* fue distribuida a una concentración de 3 ind. ml^{-1} . Diariamente se suministró a los tanques una mezcla de distintas microalgas liofilizadas (GreenStim™ Shrimp PLUS, Sbae Industries), a razón de 1,10⁵ células. ml^{-1} .

36.000 ZI de 0 DAH (days after hatching) fueron distribuidas a una densidad inicial de 60 zoeas $\cdot\text{l}^{-1}$ en seis tanques cilindro-cónicos de 100 l de capacidad, tres por cada tratamiento. Todo el proceso de cultivo larvario se desarrolló en circuito cerrado. Diariamente se renovaba el agua de los tanque para eliminar las presas sobrantes con una tasa de renovación del 100%. h^{-1} , los tanque se airearon ligeramente desde fondo del cono, la temperatura se mantuvo a $18,53 \pm 1,15^\circ \text{C}$, la salinidad a 37‰ y el fotoperiodo de 14 L/100. La experiencia se mantuvo desde 0 hasta 12 DAH, momento en que las M fueron transferidas a un tanque de fondo plano. Para la anotación de la duración de las fases larvarias, diariamente se muestrearon 10 individuos, y en cada fase larvaria se realizaron muestreos de peso seco (PS) y longitud de caparazón (CL) de cada tanque, así como contajes por volumetría para el cálculo de la supervivencia (S).

Tabla 1. *Secuencias de alimentación de presas para los diferentes grupos*

GRUPO 1				GRUPO 2		
FASE PRESA	ZI (0-4 dph) OF	ZII (5-9 dph) OF	M (9 dph-) EG	ZI (0-4 dph) OF	ZII (5-9 dph) EG	M(9 dph-) EG

Tabla 2. *Crecimiento y supervivencias de los diferentes grupos larvarios*

	ZI		ZII		M	
Triplicado	Grupo1	Grupo 2	Grupo1	Grupo 2	Grupo1	Grupo 2
CL (mm)	1,08 ± 0,105	1,08 ± 0,105	1,39 ± 0,04	1,39 ± 0,04	2,027 ± 0,07	2,023 ± 0,09
PS (mg)	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,28 ± 0,019	0,28 ± 0,019	0,37 ± 0,05	0,42 ± 0,05
S (%)			82 ± 1,73	85,33 ± 5,03	15,96 ± 2,47	9,66 ± 2,02

Resultados y Discusión

PS, CL y S de ambos grupos larvarios tratados, son mostrados en la Tabla 2. A pesar de que el PS en la aparición de la fase M fue ligeramente mayor en el grupo 2, no se han observado diferencias estadísticamente significativas ni para el crecimiento en peso ni en longitud ($p < 0,05$; F-test), entre los dos grupos, en ninguna de las fases estudiadas. Sin embargo, los valores de supervivencia de la fase M, son mayores y significativamente diferentes ($p < 0,05$; F-test), en el grupo 1 que en el grupo 2. No existe diferencia apreciable en la duración de las fases larvarias de los diferentes tratamientos. Ruscoe *et al.* (2004), consiguió también mejores resultados en la supervivencia a M de *Scylla serrata*, introduciendo presas de menor tamaño durante las primeras fases larvarias. Usando una secuencia de presas parecida a la del grupo 2, Palma *et al.*, 2008, obtuvo, para la centolla atlántica, valores de CL de $1,26 \pm 0,06$ y $1,59 \pm 0,06$ para ZII y M respectivamente, a $19,9 \pm 0,1^\circ$ C. En anteriores ensayos, usando el mismo tamaño y tipo de presa (metanauplios EG enriquecidos) durante todo el desarrollo larvario, Durán *et al.* (2008) alcanzó un crecimiento prácticamente similar tanto al grupo 1 como al 2, pero una supervivencia más baja que la obtenida en el grupo 1 utilizando nauplios de *Artemia* OF durante toda la fase ZI y ZII. Estos resultados demuestran la viabilidad del cultivo de centolla mediterránea, pero se debe de seguir investigando en el rendimiento del uso de diferentes presas durante la fase larvaria así como en la estandarización de otras variables de cultivo.

Bibliografía

- Durán, J., E. Pastor, A. Grau, E. Massuti-Pascual, J.M. Valencia y M. M. Gil. (2008). First results of mediterranean spider crab (*Maja squinado*, herbst, 1788) rearing. *Aquaculture Europe* 2008, Krakow, September 15-18, 195-196.
- Palma, J., M. Correia, J.P. Andrade (2008). Usefulness of flat bottom tank on the settlement of spider crab (*Maja squinado*, Herbst) larvae. *Aquaculture Research* 39: 1005-1008.
- Ruscoe, I.M., W. G. Williams y C. Shelley (2004). Limiting the use of rotifers to the first zoeal stage in mud crab (*Scylla serrata* Forskal) larval rearing. *Aquaculture* 231: 517-527.

Influencia del aporte de cobre y zinc en una piscifactoría de jaulas flotantes en los niveles de organismos y sedimentos del entorno

Y. Favieres¹, T. Morata¹, K. Atissano², M.R. Milani², L. F. Niencheski², S. Falco¹ y M. Rodilla¹

¹ IGIC, Universidad Politécnica de Valencia, Paranímf, 1, 46730 Gandia. Email: tamohi@upvnet.upv.es

² Laboratorio de Hidroquímica, FURG, Avda. Italia Km 8, Rio Grande, RS, Brasil

Abstract

Levels of Zn and Cu were determined in the main compartments of a sea bream (*Sparus aurata*) fish farm. The greatest part of metals reaches the system across the food. Results show that filtering organisms attached to the cage and other submerged structures accumulate metals, and they reach relatively high levels for the Mediterranean. However, the budget shows that is very probable that an important part of metals are exported out of the influence zone of this study.

Justificación

La acumulación de metales, como el zinc y el cobre, ha sido estudiada en diferentes instalaciones de producción de peces (Brooks y Mahnken, 2003, Dean *et al.*, 2007). Los piensos para peces puede contener zinc, cobre, cadmio, hierro, manganeso, cobalto, níquel, plomo, magnesio, selenio y mercurio (Tacon *et al.*, 1995; Lorentzen y Maage, 1999; Naylor *et al.*, 1999). Algunos de los metales se aportan en el pienso en formas de sales como el sulfato de cobre, que actúa como un conservante (Dean *et al.*, 2007). Pero esta no es la única vía de entrada para estos elementos, ya que habría que añadir que los alevines que se siembran en una instalación aportan una cantidad de metales y por otro lado las pinturas antifouling de las embarcaciones o las impregnaciones de las redes pueden aportar importantes cantidades de metales. Los efectos de las entradas de materiales aportados por granjas de jaulas flotantes en el ecosistema marino suelen quedar restringidos a un área pequeña alrededor de las jaulas (Pereira *et al.*, 2004), aunque en el caso de los nutrientes pueden extenderse a decenas de kilómetros (Machias *et al.*, 2004) por lo menos en entornos oligotróficos.

Los objetivos de este trabajos son: evaluar los niveles de Cu y Zn de *Sparus aurata*, alimento suministrado, sedimentos del entorno de la instalación y de algunos organismos abundantes (*Mytilus galloprovincialis* y *Sagartia elegans*) en el entorno de una piscifactoría de engorde de dorada en jaulas flotantes en el Mediterráneo Occidental, y establecer la distancia de influencia de la piscifactoría en relación a los niveles de metales aportados.

Material y Métodos

La zona de estudio es el entorno de una piscifactoría de engorde de dorada (*Sparus aurata*), situada en la costa occidental del Mediterráneo, concretamente en Sagunto, Valencia. Las muestras (sedimentos, peces de talla comercial (400 g), alevines de 25 g, piensos de diferentes diámetros, mejillones (*Mytilus galloprovincialis*) y actinias (*Sagartia elegans*) se recogieron en noviembre de 2007.

Las muestras de sedimentos se tomaron en noviembre, en 4 puntos de la zona de influencia. Uno en el interior de la concesión de jaulas, tres en dirección Sur a 50, 100 y 500 m de la última jaula del polígono, y el último a 500 m en dirección Norte. Todas las muestras fueron tomadas por submarinistas, en inmersión con escafandra autónoma, con corers de metacrilato de 6 cm de diámetro y 30 cm de longitud. La conservación de muestras, procesado y digestión y análisis con un equipo de absorción atómica se realizó siguiendo la metodología propuesta en Niencheski (2006). Los materiales de referencia utilizados fueron Tuna 350 de M.E.S.L, IAEA, Mónaco.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos muestran un proceso de bioacumulación en los filtradores anclados en la estructura de la jaula (tabla 1). Los niveles en doradas son bajos, siendo el hígado el órgano que acumula cobre y las agallas más zinc. Las doradas más pequeñas muestran mayor concentración de metales probablemente por tener un metabolismo más rápido.

Los sedimentos no muestran una clara acumulación, y puesto que los piensos presentan niveles muy altos (Cu $24,77 \pm 2,46$ y Zn $25,91 \pm 1,07 \mu\text{g g}^{-1}$) se plantea la hipótesis de que una parte importante de estos

Tabla 1. Niveles de Cu y Zn en $\mu\text{g g}^{-1}$ en organismos

Parámetro	<i>Sagartia elegans</i>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		<i>Sparus aurata</i>			
	Prof.	Prof.	Prof.	400 g			25 g
	0,20 m	0,20 m	15 m	Agallas	Hígado	Músculo	Músculo
Cu	11,80	19,33	13,26	4,17	10,41	3,60	5,67
Zn	31,67	44,60	31,32	16,08	11,97	8,41	19,90

Tabla 2. Niveles de Cu y Zn en $\mu\text{g g}^{-1}$ en sedimentos

Parámetro	N	S	S	S	Instalación						
	500 m	500 m	100 m	50 m	1 cm	2 cm	3 cm	4 cm	5 cm	8 cm	11 cm
	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	2 cm	3 cm	4 cm	5 cm	8 cm	11 cm
Cu	8,66	8,37	9,48	8,71	8,41	8,41	9,14	7,09	7,39	9,16	8,14
Zn	2,39	2,26	3,00	3,17	3,71	3,24	3,20	3,38	2,98	2,92	2,89

metales son exportados fuera del área de influencia directa de la instalación tal como ocurre con los nutrientes.

Agradecimientos

Este trabajo es fruto del Programa de intercambio Hispano-Brasileño financiado por el MEC y Capes con la referencia PHB2005-0097-PC.

Bibliografía

- Brooks, K.M., C.V.W. Mahnken. 2003. Interactions of Atlantic salmon in the Pacific Northwest environment III. Accumulation of zinc and copper. *Fisheries Research* 62: 295-305.
- Dean R.J., T. M. Shimmield, K.D. Black. 2007. Cooper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: An extensive survey. *Environmental Pollution* 145: 84-95.
- Lorentzen, M., A. Maage 1999. Trace element status of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed a fish-meal based diet with or without supplementation of zinc, iron, manganese and copper from first feeding. *Aquaculture Nutrition* 5: 163-171.
- Machias, A., I. Karakassis, M. Labropoulou, S. Somarakis, K.N. Papadopoulou, C. Papaconstantinou. 2004. Changes in wild fish assemblages after the establishment of a fish farming zone in an oligotrophic marine ecosystem. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 60: 771-779.
- Naylor, S.J., R.D. Moccia, G.M. Cdurant. 1999. The chemical composition of settle able solid fish waste (manure) from commercial rainbow trout farms in Ontario, Canada. *North American Journal of Aquaculture* 61: 21-26.
- Niencheski, L.F. 2006. Determinação de metais traço. In: Lana, P.; Bianchini, A.; Ribeiro, C.; Niencheski, L.F.; Fillmann, G.; Santos, C., Avaliação ambiental de estuários brasileiros: aspectos metodológicos: 64-85. Rio de Janeiro: Museu Nacional (Brasil). Série Livros; 22. 156 pp.
- Pereira, P.M.F., K.D. Black, D.S. Mcluskay, T.D. Nickell. 2004. Recovery of sediments after cessation of marine fish farm production. *Aquaculture* 235: 315-330.
- Tacon, A.G.J., M.J. Phillips, U.C. Barg. 1995. Aquaculture feeds and the environment the Asian experience. *Water Science and Technology* 31: 41-59.

Protocolo para la realización de los planes de vigilancia ambiental de las instalaciones de acuicultura marina en la región de Murcia

J. M. Gutiérrez¹, E. María Dolores², A. Perán¹, A. Belmonte¹, V. Aliaga¹, T. Senabre¹
y L. Bermúdez²

¹ Taxon Estudios Ambientales, S.L. Urb. La Fuensanta n.º 2, Algezares. 30157 Murcia.
e-mail: jm.gutierrez@taxon.es web: www.taxon.es

² Servicio de Pesca y Acuicultura. Consejería de Agricultura y Agua. CARM.
C/ Campos, s/n. Edificio Foro, 2ª planta. 30201 CARTAGENA

Abstract

The protocol (TAXON Estudios Ambientales, 2007) presented here is an initial attempt to standardize environmental monitoring programs, which must be enhanced in the future. This standardization will help to acquire an important database that will serve to improve the PVAs in the future. The protocol establishes the methodology, the sampling design and the appropriate indicators to be used in aquaculture monitoring, as the result of an intense bibliographic review filtered by the experience accumulated in the last 15 years. In addition, this protocol try to establish the limits for the values which should be considered as undesirable disturbance, i.e. as Environmental Quality Standards (EQSs), obtained using the selected indicators. So far the countries that have developed such protocols have a long tradition in marine aquaculture (Scotland, Norway) which has allowed them to have a lot of information for their development. Still, for the development of protocols and establishing EQSs is necessary to develop research projects, some at the European level (MARAQUA, MERAMED).

Justificación

En el litoral murciano, la acuicultura en jaulas flotantes y en mar abierto, como ha ocurrido en el resto del mundo, se ha visto incrementada notablemente en los últimos diez años. Durante este periodo se ha puesto de manifiesto la necesidad de un mayor control de la actividad, como mejor estrategia para garantizar la sostenibilidad ambiental de la actividad. En esta Comunidad Autónoma, existen claros ejemplos de que la buena gestión de las instalaciones implica necesariamente la sostenibilidad de la actividad y, muy al contrario, que una gestión negligente puede provocar terribles daños al medio y un descenso de la calidad del producto, además de dañar sensiblemente la imagen del sector. En este contexto, la administración regional murciana, a través de su órgano sustantivo en materia de acuicultura (Servicio de Pesca y Acuicultura), y ante la disparidad en la gestión de las diferentes instalaciones, quiso establecer unos criterios mínimos, únicos y comparables para el seguimiento de los efectos sobre el medio receptor de todas las instalaciones.

Material y Métodos

Se ha analizado la situación de la gestión de la acuicultura en el mundo, a partir de los ejemplos más emblemáticos obtenidos de la amplia revisión bibliográfica realizada, que tomó como punto de partida la situación en el norte de Europa (Escocia, Noruega, etc.), Canadá, EE. UU., Japón, Australia, Tasmania y Chile, donde se ha realizado un esfuerzo considerable para la correcta evaluación de los efectos de la acuicultura sobre el medio, fundamentalmente para el cultivo del salmón que es, hablando siempre de peces, el más extendido en estos países. Además se han tenido en cuenta los resultados del Proyecto MERAMED, desarrollado con fondos de la UE, y que ha abordado estos aspectos para el cultivo de dorada y lubina en el Mediterráneo oriental.

Resultados y Discusión

Los conceptos básicos y estrategias desarrolladas y probadas en países más tradición han sido incorporados a la gestión de la acuicultura en Murcia, pero teniendo en cuenta las peculiaridades y la experiencia propias:

- Uso del concepto de «perturbación indeseable» (DEFRA, 2004) en la gestión de la acuicultura para la determinación de los Objetivos de Calidad, indicadores, intensidad de muestreo, etc.
- Uso del concepto de «Zona de Efectos Permitidos» (AZE) (SEPA, 2003) en la gestión de la acuicultura para el establecimiento de los Estándares de Calidad, diseño de muestreo, etc.
- Estrategia Adaptativa de PVA: este tipo de estrategia, recomendada la GESAMP (2001) y adoptada por otros países (Noruega, fundamentalmente).

En el planteamiento realizado de «estrategia adaptativa» de PVA, una vez valoradas las condiciones de la actividad (producción y especies cultivadas), del vertido (tipo de alimento, tamaño y composición de las heces), las condiciones hidrodinámicas (exposición, corrientes, oleaje, mareas) y las comunidades bionómicas (su valor ecológico y sensibilidad), se establecen los niveles iniciales del PVA, que serán revisados anualmente a tenor de los resultados de los informes presentados ante la administración, según el esquema planteado por TAXON (Perán et al, 2003). Cada nivel de impacto lleva asociado su correspondiente nivel de seguimiento, en el que se determinan los compartimentos objetivo, descriptores recomendados, metodología y periodicidad del muestreo. Así, cuando las cargas de cultivo sean elevadas y las condiciones hidrodinámicas desfavorables se debe establecer un nivel III, mientras que, por el contrario se establecerá un nivel I, cuando las cargas de cultivo sean bajas y las condiciones hidrodinámicas favorable. En este esquema cuando los resultados de los PVAs ponen de manifiesto que no hay afección se pueden aumentar los niveles de producción y viceversa, es decir cuando se detectan efectos indeseables debe aumentarse el nivel de seguimiento al tiempo que se disminuye el nivel de producción. En cualquier caso antes de disminuir niveles en el PVA, atendiendo al principio de precaución, deberá haber transcurrido el tiempo suficiente para que los posibles efectos adversos hayan podido ser detectados.

El último aspecto a considerado y el más conflictivo es el establecimiento de los valores límites a partir de los cuales, los valores obtenidos mediante el uso de los indicadores anteriores debe ser considerado como perturbación indeseable, es decir los Estándares de calidad (EQSs). A escala regional e incluso nacional, no existen datos suficientes como para fijar los valores de EQS con la suficiente fiabilidad, los propuestos por TAXON Estudios Ambientales 2007) se basaron en el uso del principio de precaución, y en la revisión de lo usados en otras administraciones (Australia, Chile, Noruega, Escocia), las recomendaciones de la OSPAR, y las directivas Europea (79/929/ECC y 76/464/EEC).

Agradecimientos

El trabajo «Protocolo para la realización de los Planes de Vigilancia Ambiental de las instalaciones de acuicultura marina en la Región de Murcia» es el resultado de una Asistencia Técnica financiada por el Servicio de Pesca y Acuicultura (Consejería de Agricultura y Agua de la CARM).

Bibliografía

- Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA). 2004. *Understanding of undesirable disturbance in the context of eutrophication, and development of uk assessment methodology for coastal and marine waters. Stage 1 project report: what is undesirable disturbance?* Published by Napier University, Edinburgh. <http://www.lifesciences.napier.ac.uk/research/Envbiofiles/EUD.htm>.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNE Joint Group of Expert on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). 2001. *Planning and Management for sustainable Coastal Aquaculture development*. Rep. Stud. GESAMP, (68): 90p.
- Perán, A., A. Belmonte, J.M. Gutiérrez y V. Aliaga. 2003. Desarrollo de una estrategia adaptativa en los Planes de Vigilancia Ambiental de la acuicultura. En: *Actas del IX Congreso Nacional de Acuicultura*: 40 - 41.
- TAXON Estudios Ambientales. 2007. *Protocolo para la realización de Planes de Vigilancia Ambiental de las instalaciones de acuicultura de la Región de Murcia*. Consejería de Agricultura y Agua de la CARM: 148 pp.

Análisis de ictiofauna asociada a biofiltros fondeados en instalaciones de cultivos marinos en mar abierto

A. Ibáñez¹, P. Ávila¹, J. C. Macías¹, P. León¹, A. Guerrero¹, MM. Agraso¹

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca, JUNTA DE ANDALUCÍA. C/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla. Correo electrónico: ajibanuez@dap.es

Abstract

Several studies prove the emission of organic material from offshore fish cages and how those inputs in the environment are consumed by wild fish attracted by the nutrients (Dempster *et al.*, 2002) (Cars, 1990). But those pelagic fish populations incorporate not all the effluents, and some are deployed on the sea bottom. Structures as «Biofilters» has been designed to minimize the accumulation of organic material. It has been proved through sampling of the fish communities, that biofilters attract and help the settlement of all categories of fish species. And so creating a new trophic level characterized by the presence of fish species from rocky shores, incrementing biomass and therefore reducing the inputs of organic material on the sea bottom. This biofilters are considered therefore, as a tool to be used for reducing effluents from fish farming cages.

Justificación

Las instalaciones de acuicultura en jaulas flotantes, dependiendo de su ubicación y su nivel de producción, pueden introducir en el medio un aporte de nutrientes derivado del propio manejo del cultivo. Así, diversos trabajos demuestran que las granjas marinas funcionan como sistemas de atracción de especies piscícolas salvajes (Dempster *et al.*, 2002) ofreciéndoles alimento y un lugar de refugio y protección (Cars, 1990). Otros estudios demuestran la capacidad de los peces salvajes de asimilar gran cantidad de nutrientes liberados por las jaulas (Vita *et al.*, 2004; Felsing *et al.*, 2005; Fernández-Jover *et al.*, 2007; P. Arechavala, 2008), siendo la gran mayoría de estas especies de carácter pelágico. Si bien es cierto que parte de dichos efluentes se pueden depositar en el fondo marino adyacente y alterar el estado inicial del sedimento.

Con el fin de analizar métodos de minimización del posible impacto asociado a los procesos de cultivo, se realizó el fondeo de estructuras tipo «biofiltro» en el fondo marino de la zona próxima a una instalación de jaulas flotantes en la Bahía de Almería. Posteriormente, se ha desarrollado un estudio de la ictiofauna, tanto demersal como bentónica, asociada a estas estructuras fondeadas, todo ello en el marco de un Plan JACUMAR denominado «Mitigación del impacto ambiental generado por los cultivos marinos en estructuras flotantes» y que se ha desarrollado entre 2006 y 2008.

Material y Métodos

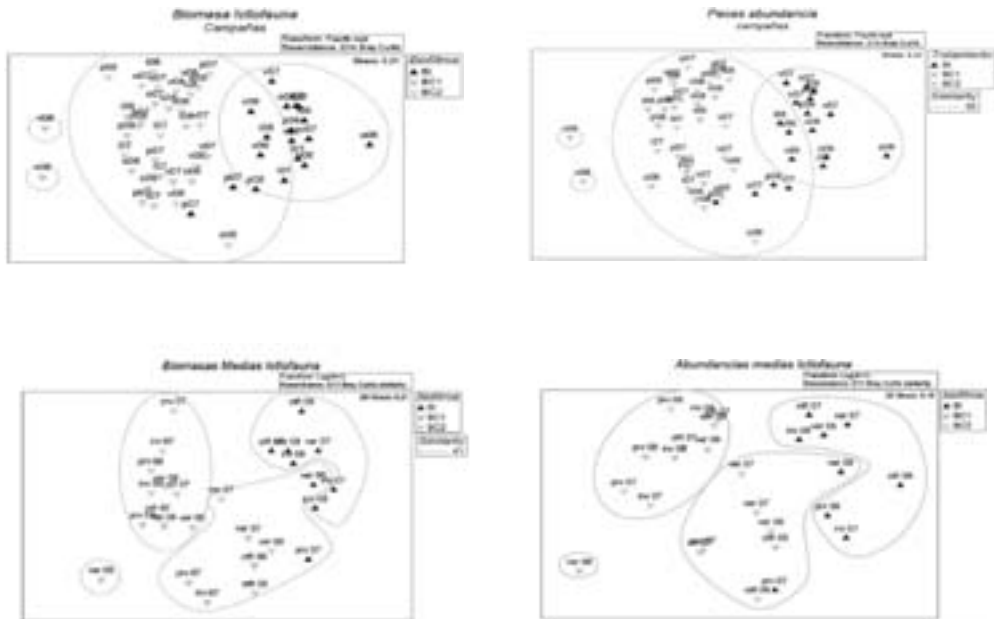
En mayo 2006, se fondearon 6 biofiltros en una instalación de jaulas flotantes para el cultivo de dorada y lubina; Dos biofiltros (BI) bajo la instalación. Dos controles a 1.000 m a levante y otros dos controles 1.000 m a poniente de la instalación (BC1 y BC2).

Los censos visuales de ictiofauna se realizaron trimestralmente con equipo de buceo autónomo, siguiendo la metodología Harmelin (1987). En cada biofiltro se registró el número de individuos y la talla de todas las especies de peces encontrados, 5 metros alrededor y en 10 metros por encima del biofiltro. Posteriormente, se estimó la biomasa de cada una de los peces a partir de la longitud observada y aplicando las ecuaciones de relación talla-peso obtenidas en <http://www.fishbase.org>. Además, se calcularon índices de riqueza y diversidad y peso medio por individuo. Los datos de abundancia y biomasa, fueron tratados por métodos estadísticos multivariantes utilizando el software estadístico PRIMER V 6.0. Para dicho tratamiento se aplicó la transformación Log (X+1) a los datos, se construyeron las matrices de similaridad por el Coef. de Bray Curtis; se realizaron nMDS como método de escalamiento multidimensional y se generaron dendrogramas a partir del análisis CLUSTER.

Resultados y Discusión

Se han llevado a cabo un total de 54 censos en campañas trimestrales, identificando hasta 44 especies piscícolas diferentes en el área de influencia de los biofiltros. Tanto para la biomasa, como para la abundancia, en los nMDS se puede observar como existe una agregación de los censos de los biofiltros control, separándose de los censos realizados en los biofiltros localizados en la instalación. La misma agrupación de censos se observa en los resultados del CLUSTER. Realizando el estudio de las medias, se observa como

Figura 1. Análisis de ordenación mediante escalado multidimensional para biomasa y abundancia de Ictiofauna de los diferentes biofiltros a lo largo de las campañas



las muestras del BI están agregadas y como en los controles hay dos grupos, uno en el que se engloban los censos del primer año y otro en el que están los dos últimos años de muestreo, debidas a la presencia de bancos de pelágicos en las primeras fases de asentamiento, según el análisis SIMPER .

Los resultados indican una colonización progresiva en todos los biofiltros, con una evolución hacia comunidades maduras típicas de sustratos rocosos del litoral mediterráneo andaluz. Si bien la proporción de especies demersales/bentónicas en las tres zonas de estudio es similar, el análisis multivariante y los resultados del análisis SIMPER, muestran diferencias en composición faunística entre BI y Controles. Además en la zona bajo las jaulas se encuentra un mayor peso medio por individuo, indicando la utilización del excedente orgánico de la instalación por la ictiofauna local.

Los biofiltros han demostrado su capacidad como estructuras susceptibles de colonización, generando así un soporte para una nueva cadena trófica asociada al fondo marino. Tanto la tigmotaxia como la capacidad de alojar distintas especies de peces, favorecen el aprovechamiento del efluente liberado desde la instalación, disminuyendo así la acumulación de los mismos en el sustrato marino adyacente.

Agradecimientos

Al personal de la empresa Piscifactoría de Aguadulce, S.A, grupo Culmarex por su colaboración en el proyecto.

Bibliografía

- Angel, D. L. and Spanier, E. (2002). An application of artificial reefs to reduce organic enrichment caused by net-cage fish farming: preliminary results. *Journal of Marine Science* 59:000-000
- Carss, D.N. (1990). Concentrations of wild and escaped fishes immediately adjacent to fish farm cages. *Aquaculture* 90: 29-40.

Cultivo suspendido en cuerdas, de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) asociado a cultivo de dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*) en jaulas en mar abierto

A. Ibáñez¹, P. Álvarez¹, C. López¹, O. Mansilla¹, M. Mar Agraso¹, J. C. Macías¹

¹ Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCIA. C/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla. Correo electrónico: ajibañez@dap.es

Abstract

In this study, technical, economic, environmental and multi-trophy or integrated farming systems feasibility, has been evaluated by examining the efficiency and profitability of aquaculture enterprises exploiting the full potential of marine resources and the carrying capacity, and by improving the potential environmental impacts. Specifically, the study try to show the efficiency of the integrated aquaculture in offshore fish farm through mussel culture associated to the sea bream and sea bass farm.

The design of the experience has been thought to analyse the influence of fish farm waste in growth of mussel located near and far of farm. The project contain a environmental characterization and a scientific and technical tracking of the growing of the oysters. Several sampling stations have been situated in different parts of a offshore fish farm and every month a couple of divers extract the specimens to look his evolution. To Analyse the reason of the different growing of the mussels a Doppler's current meter and a Ctd with fluorine meter have been stationally placed in the fish farm.

Justificación

La finalidad de esta experiencia de cultivo es evaluar la viabilidad técnica, económica y ambiental del cultivo integrado en mar abierto como formula para avanzar en la sostenibilidad económica y ambiental de las instalaciones. Y bajo este supuesto y teniendo en cuenta que tanto el cultivo de dorada y lubina como el de mejillón están demostrados en la zona mediterránea, el principal objetivo es probar la coexistencia de ambos cultivos como formula de aprovechamiento óptima del medio y los recursos naturales.

Para la selección de esta instalación se ha tenido en cuenta la fijación de semillas de mejillón en redes, estachas, jaulas, etc, y así se ha diseñado una experiencia cuyo cultivo principal es de dorada (*Sparus aurata*), y lubina (*Dicentrarchus labrax*), al cual se ha añadido un cultivo complementario de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*). Así, mediante el estudio de crecimiento de las poblaciones de mejillón en cultivo situados por un lado junto a las jaulas y por otro lado en una estación control fuera sin influencia, se pretende demostrar la viabilidad de la experiencia propuesta.

Esta experiencia se enmarca en la Plan Jacumar de Acuic. Integrada, en su segunda fase de diseño y puesta en marcha de experiencias de cultivos multitrofos.

Material y Métodos

Para el desarrollo de la experiencia se ha dispuesto una jaula de gravedad como anclaje de tres cuerdas de cultivo de mejillón con una densidad de 1 kg/m, y situada en zona muy próxima a uno de los trenes de jaulas con el cultivo de peces.

Por otra parte, se ha establecido una zona de cultivo control sin influencia del cultivo de peces a un kilómetro al oeste de la instalación, mediante una estructura formada por dos boyas incompresibles de 600 litros sumergidas a 5 m de profundidad y unidas por una cuerda de 8 metros, en la que cuelgan 3 cuerdas de cultivo de 1 kg/m de densidad.

A lo largo de un ciclo completo de cultivo, se realizará un seguimiento biológico de la experiencia comparando el crecimiento del cultivo del mejillón en la instalación con el de la zona control. Para ello, se realizarán muestreos mensuales con biometrías y contabilización de mortalidades, además de estudios del índice de condición una vez alcanzada la talla comercial.

Esta información será completada con la del seguimiento ambiental relacionado con el cultivo y un seguimiento económico que permita evaluar los resultados obtenidos a escala productiva para conocer la aportación de estos sistemas de cultivo.

Resultados y Discusión

La experiencia se encuentra en su fase inicial por lo que aún no se han podido recopilar datos diferenciales sobre el crecimiento de mejillón en la zona experimental y control.

Figura 1. Estructura del cultivo control

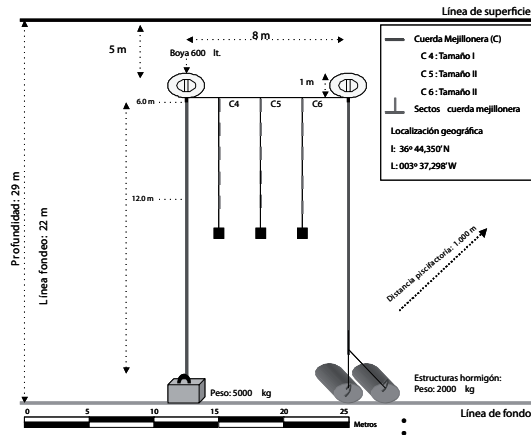
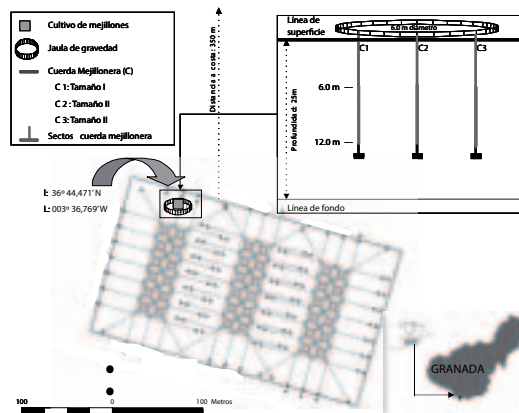


Figura 2. Posición y estructura del cultivo



La siembra se ha desarrollado considerando dos tallas iniciales significativamente diferentes: Tamaño I, con peso medio de 0,65 g y longitud media de 19,01 mm; y tamaño II, con un peso medio de 2,58 g y longitud media de 30,61 mm. Si bien, en el primer muestreo realizado se ha detectado una alta depredación de la semilla más pequeña por parte de poblaciones piscícolas residentes en el entorno.

En este sentido, además de la información relativa a la experiencia de cultivo multitrófico, se obtendrán datos sobre el tamaño idóneo de siembra, que aun siendo por algunos autores menor a 20 mm (Tirado & Macias, 2006), no se han hecho estudios comparativos sobre diferentes tamaños de siembra, pudiendo ser este un factor importante a la hora de subsanar los problemas locales ocasionados por depredación natural.

Esta información complementada con datos sobre el manejo del cultivo, beneficio económico, calidad del producto, etc servirá de base a la empresa para optar al desarrollo de este tipo de cultivos de forma rutinaria.

Agradecimientos

A la empresa Piscifactoría Azucarera del Guadalfeo, Salobreña (Granada) por su participación en el proyecto.

Bibliografía

Tirado, C. y Macias, J. C. 2006. Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca: 176 pp.

Ordenación y estima de la capacidad de carga de un polígono de acuicultura mediante el uso de modelos ecológicos

F. López¹, J. M. Gutiérrez¹, A. Perán¹, A. Belmonte¹ y V. Aliaga¹

¹ TAXON Estudios Ambientales, S. L., Urb. La Fuensanta n.º 2, 30157 Murcia. e-mail: fr.lopez@taxon.es

Abstract

The study area was a site previously selected as interesting for aquaculture development. This zone in the S.W. of Gran Canaria coast was used to estimate the maximum potential aquaculture which is environmentally sustainable. We use a 3D hydrodynamic model coupled to an ecological model in order to evaluate the zone potentiality. Three study cases, with different cultured fish biomasses (20000 t, 26300 t and 40200 t), were tested. The sedimentation rate of organic matter and the chlorophyll a concentration in water column were selected as environmental indicators, whilst ammonium and dissolved oxygen were the indicators of the culture health. COHERENS hydrodynamic model was used to develop this study. The sedimentation rates was analyzed using a lagrangian scheme for particle tracing, whereas the rest of indicators were analyzed under an eulerian dispersion scheme which works coupled to the module of water quality, developed and calibrated in Canarian waters by Tett *et al.* (2002). Results showed the convenience of selecting a conservative limit of 26200 t.

Justificación

¿Cuántas toneladas de pescado es posible cultivar sin provocar un deterioro del medio ambiente? La cuestión no tiene una fácil respuesta, especialmente cuando la biomasa cultivada es elevada, como es el caso de los polígonos de acuicultura. Los estudios sobre el tema han puesto de manifiesto que los efectos son resultado de peculiaridades oceanográficas y ecológicas que varían a escalas muy locales. Bajo esta perspectiva lo ideal es disponer de modelos ecológicos que incorporen estas variaciones y sean capaces de analizar el comportamiento del ecosistema en presencia de diferentes escenarios de cultivo. De esta forma es además posible estudiar a diferentes escalas el efecto global de todas las instalaciones presentes así como la influencia de otras fuentes de vertido.

Material y Métodos

Para el modelo hidrodinámico se seleccionó un doble dominio. El mayor, usado para el seguimiento de la clorofila, amonio y oxígeno, con 4.055 km² abarcó la mitad sur de la isla de Gran Canaria, fue dividido en 6.336 nodos de 800 metros, mientras que el menor, usado para el estudio del enriquecimiento bentónico, fue de 160 km², integrado por 4.018 nodos de 200 metros. Sobre ambos dominios se calibró el modelo COHERENS utilizando como forzantes principales la batimetría, la marea y los vientos. Esta parametrización fue calibrada a partir de los registros de viento procedentes del aeropuerto de Gran Canaria y de la marea registrada en la boya del Puerto de Arinaga. El modelo de calidad agua se basó en el módulo desarrollado por P. Tett para COHERENS y calibrado por este mismo autor para las aguas canarias (Tett *et al.*, 2002). El modelo contempla como variables de estado C, N, con detalle de la fracción detritus y metabolismo planctónico y bentónico. Se analizaron 3 escenarios de vertidos consistentes en la instalación de un número creciente de jaulas hasta completar 20,000 t, 26,300 t y 40,200 t. Las jaulas fueron distribuidas según potenciales concesiones, excluyendo las zonas incompatibles según criterios técnicos y ecológicos. Los vertidos sólidos y disueltos de cada jaula fueron establecidos según los resultados de un modelo bioenergético basado en el de Lupatsch y Kissil (1998) para la dorada y lubina. Siendo especificada una distribución de tamaños de partículas para la fracción sólida.

La selección de la alternativa de producción se realizó sobre los resultados del impacto causado por el vertido particulado, verificándose sobre esta alternativa el impacto sobre la calidad del agua.

Resultados y Discusión

La distribución tasa de sedimentación y alcance del carbono particulado se presenta en la figura 1 para la alternativa II de cultivo de 26.300 t, que fue la seleccionada tras el análisis.

Los resultados de la evolución de las sustancias disueltas (amonio, oxígeno y clorofila) fue evaluada a través de su distribución espacial interpolada, usando tres puntos de control situados a distancias crecientes del punto de vertido (ver Tabla 1). Estos datos evidenciaron la necesidad de realizar un calibrado más fino del modelo de Tett para la zona costera.

Figura 1. Perfiles de sedimentación de *C* particulado bajo las jaulas

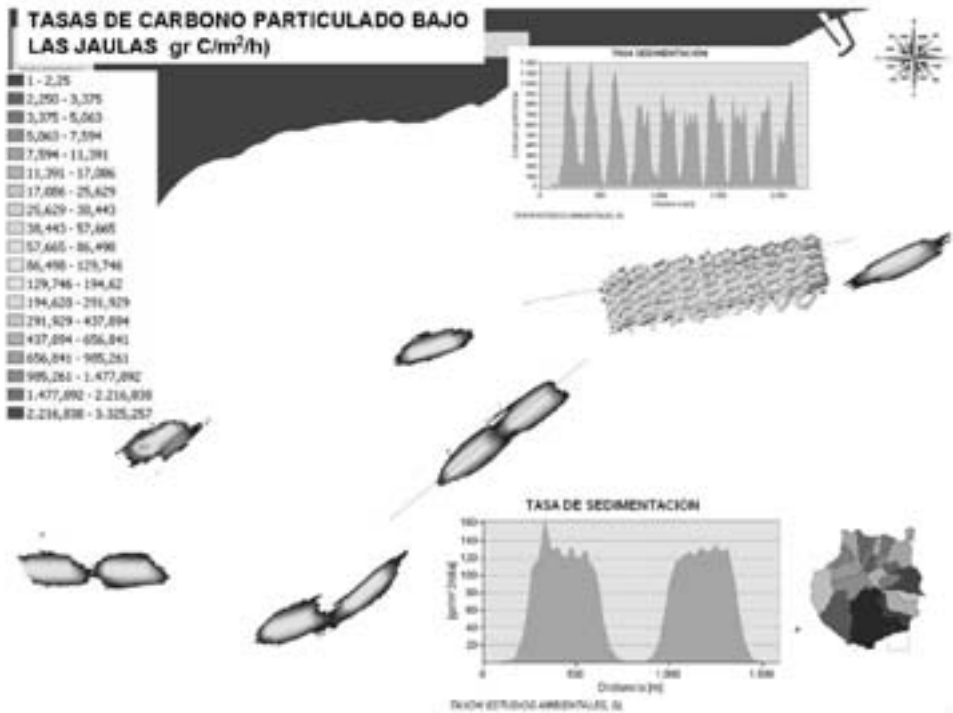


Tabla 1. Resultados en mmol/m³ de la concentración de amonio, oxígeno y clorofilas a distancias crecientes del punto de vertido para la alternativa II (26.300 t)

Parámetro	A	B	C
Amonio	0.16	0.25	0.99
Oxígeno	0.25	0.14	0.98
Clorofila	160	120	100

Bibliografía

Tett P., J. Arístegui, D. Barton; G. Basterretxea, J. De Armas, J. Escámez, S. Hernández-León, L. Lorenzo y N. Montero. 2002. Steady-state DCM dynamics in Canary waters. *Deep-Sea Research II*(49): 3543–3559.

Lupatsch I., Wm Kissil G. 1998. Predicting aquaculture waste from gilthead seabream (*Sparus aurata*) culture using a nutritional approach. *Aquat. Living Resour.* 11(4): 265-268.

Cultivo suspendido en long-line de ostión (*Crassostrea gigas*) asociado a cultivo de lubina (*Dicentrarchus labrax*) en jaulas en mar abierto

O. Mansilla¹, M. Fernández¹, MM. Agraso¹ y J.C. Macías¹

¹ Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCIA. C/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla. Correo electrónico: omansilla@dap.es

Abstract

In this study, technical, economic, environmental and multi-trophy or integrated farming systems feasibility, has been evaluated by examining the efficiency and profitability of aquaculture enterprises exploiting the full potential of marine resources and the carrying capacity, and by improving the potential environmental impacts. Specifically, the study try to show the efficiency of the integrated aquaculture in offshore fish farm.

Thus, during the year 2009, 8640 oysters have been cultivated in oysters cage in a fish farm in Conil de la Frontera, Cadiz (Spain). The plan contain a environmental characterization and a scientific and technical tracking of the growing of the oysters. Six sampling stations have been situated in different parts of a offshore fish farm and every month a couple of divers extract the specimens to look his evolution. To Analyse the reason of the different growing of the oysters a Doppler's current meter and a Ctd with fluorine meter have been stationally placed in the fish farm.

Justificación

La finalidad de la experiencia de cultivo suspendido en long-line de ostión (*Crassostrea gigas*) asociado a cultivo de lubina (*Dicentrarchus labrax*) en jaulas en mar abierto, es evaluar la viabilidad técnica, económica y ambiental de distintas formas de acuicultura integrada como formula para avanzar en la sostenibilidad económica y ambiental de estas instalaciones.

La experiencia se realiza en las instalaciones de la Cofradía de Pescadores de Conil (Cádiz), que cuentan con jaulas para el cultivo de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y long-lines con cestas para el cultivo de ostión (*Crassostrea gigas*). Sobre este esquema de producción se han colocado cestas de ostiones distintas estaciones dentro y fuera del polígono de cultivo para realizar un seguimiento del crecimiento de moluscos bivalvos en relación con el cultivo principal de peces, para posteriormente, y en caso de considerarlo viable experimentar con un cultivo complementario de algas.

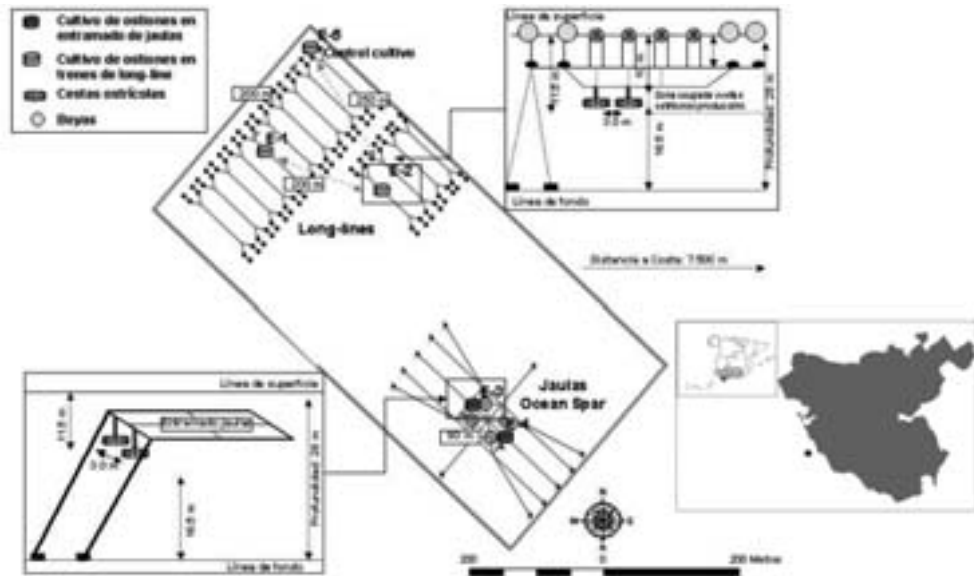
Esta experiencia se enmarca en la Plan Jacumar de Acuicultura Integrada, en su segunda fase de diseño y puesta en marcha de experiencias de cultivos multitrofos.

Material y Métodos

Se han fondeado estaciones de cultivo de ostión en distintos puntos de la instalación considerando aspectos como la cercanía al cultivo de peces, y por otro lado se ha dispuesto una sexta estación localizada fuera del polígono para el monitoreo control. Cada una de estas estaciones está compuesta por dos cestas ostrícolas de seis pisos cada una, donde se han colocado 720 ostiones repartidos en cuarterones de 30 individuos de unos 5 gramos cada uno, sembrando un total de 8640 individuos.

La siembra se realizó en mayo de 2009 y hasta la fecha se han realizado 3 muestreos mensuales, en los que se toman muestras de las distintas estaciones y se realizan las biometrías y controles correspondientes. Además, la zona está monitorizada ambientalmente mediante correntímetros y CTD's programados para tomar datos de corrientes, t° , fluorescencia, O.D, etc., en continuo, y que servirán para relacionarlos con los resultados biológicos del cultivo.

Con el fin de analizar la hipótesis de partida, se realizará un seguimiento biológico de la experiencia comparando el crecimiento del cultivo de ostión de las estaciones experimentales y control. Para ello, mensualmente se recogerán 30 individuos aleatoriamente de cada cuarterón de la cesta de cultivo, a los cuales se les realizará un seguimiento de su crecimiento tanto en peso como en tamaño. Además se realizará un seguimiento de carácter ambiental instalando correntímetros doppler con el fin de monitorizar el efecto de las corrientes en toda la columna de agua. Además, estos aparatos están dotados de sensores adicionales de oxígeno disuelto, conductividad y temperatura. La riqueza fitoplanctónica de la zona se estimará mediante un Ctd que se instala estacionalmente en la concesión y tomará valores en continuo durante los periodos de tiempo que se encuentre instalado. Finalmente, y una vez finalizado el cultivo, se realizará una valoración socioeconómica de las ventajas de la acuicultura multitrofica.

Figura 1. Localización geográfica, posición de las cestas y estructura del punto control

Resultados y Discusión

La experiencia se encuentra en su fase inicial, pero los seguimientos biológicos desarrollados hasta el momento, han mostrado un buen ritmo de crecimiento (triplicando mensualmente la talla inicial), localizando episodios muy puntuales de mortalidad.

Respecto al efecto beneficioso del cultivo multitrófico, se ha observado como en el último muestreo de junio la estación situada en las cercanías de las jaulas de cultivo de lubina, ha obtenido un mejor resultado biométrico y en peso que las situadas en los trenes de long-lines. Así, la media del último muestreo realizado en junio obtenía 39,37 gramos para esta estación, frente a los 37,63 gramos, 31,15 gramos y 33,81 del resto de las estaciones. Sin embargo, es necesario continuar con el estudio algunos meses más para poder sacar conclusiones más fiables de la experiencia, ya que todavía los resultados no son concluyentes.

Agradecimientos

A la Cofradía de Pescadores de Conil de la Frontera por su colaboración en el proyecto.

Bibliografía

2ª Fase del estudio de localización de zonas de interés para el desarrollo de la acuicultura en el litoral andaluz: estudio del medio físico. Empresa Pública desarrollo Agrario y Pesquero.

Chopin, T; Bastarache, S. Sep 2004 Mariculture in Canada: Finfish, shellfish and seaweed. World Aquaculture [World Aquacult.]. Vol. 35, no. 3, pp. 37-41.

Cambios en la composición lipídica de tejidos de boga (*Boops boops*) asociada a jaulas de engorde de dorada y lubina en el SE Ibérico

L. Martínez-Rubio¹, P. Arechavala-López³, F. J. Martínez², P. Sánchez-Jerez³,
D. Fernández Jover³, J. Bayle Sempere³, J. A. López²

¹ Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA (Scotland) laura.martinez@stir.ac.uk

² Dpto. Fisiología Animal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 30100, Murcia

³ Dpto. de Ciencias del Mar y Biología Aplicada, Universidad de Alicante, Ap.C. 99, E-03080 Alicante

Abstract

The bogue, *Boops boops*, is one of the most abundant fish aggregated at fish-farms cages in the Mediterranean Sea. The incidence of the change in its feeding behavior, because the use of lost food pellets, was evaluated by the fatty acid composition of six tissues: brain, gill, liver, gonad, flesh and adipose tissue from aggregated and non aggregated fishes. The comparison of control versus aggregated fish show a significant change on the fatty acid profile of each tissue, being more conserved the fatty acid profile of brain tissue. In general, the main changes are increasing levels of oleic (18:1n-9) and linoleic (18:2n-6) fatty acid, both from aquaculture feeds, and decreasing levels of DHA (22:6n-3), ARA (20:4n-6) and the relation ARA/EPA.

The incidence of those changes in the lipid metabolism requires further researches. Nevertheless, based on previous studies, those changes could affect every physiological processes in where fatty acids are involved, such as osmoregulation, gonad development, larval quality and survivability; and specially prostaglandin and eicosanoid production, due to the significant change on the ARA/EPA relation, which has an important role in inflammatory responses, reproductive behaviour and other immunological responses.

Justificación

Existen numerosos estudios que evalúan el impacto de la acuicultura en el medio marino, centrados principalmente en el bentos y la columna de agua. Sin embargo no se ha estudiado en profundidad los efectos sobre la comunidad íctica salvaje asociada a las jaulas en mar abierto. Se ha demostrado que los peces salvajes consumen pienso excedente suministrado a las jaulas, como es el caso de *Trachurus mediterraneus* (Fernández-Jover *et al*, 2007) y *Boops boops* (Arechavala-López *et al*, in press). Este cambio en la dieta debe producir efectos en la composición lipídica con potenciales efectos fisiológicos. El objetivo del presente estudio fue identificar cómo ese cambio en la dieta podría afectar la composición de ácidos grasos de la boga, *Boops boops*, especie muy abundante alrededor de las jaulas flotantes, con el fin de estimar los potenciales efectos fisiológicos que produce la acuicultura costera sobre los poblamientos de peces salvajes.

Material y Métodos

La zona de estudio se ubica en el SE Ibérico. Se muestrearon en 3 localidades: Altea, El Campello Y Guardamar. Para cada localidad se analizó la composición de ácidos grasos de 6 tejidos (cerebro, branquia, grasa perivisceral, gónada, hígado y músculo) de 10 individuos capturados por pesca de arrastre (control) y 10 individuos agregados a las jaulas (impacto).

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos muestran, de forma general, un cambio significativo en la composición de ácidos grasos de todos los tejidos estudiados (Tabla 1), centrándose este cambio en un aumento de los ácidos grasos oléico (18:1 n-9) y linoléico (18:2 n-6), y una disminución de los ácidos grasos DHA (22:6 n-3), ARA (20:4 n-6), así como de la relación ARA/EPA.

Cabe destacar, a nivel tisular, la mayor conservación del perfil lipídico del cerebro, debido, probablemente, a la importancia a nivel funcional, de la composición lipídica de las membranas celulares de este tejido. Sin embargo, los demás tejidos varían significativamente en la composición lipídica de casi todo el perfil., demostrándose la importancia del cambio en la dieta.

Aunque hace falta un estudio más profundo del metabolismo lipídico asociado a este comportamiento y de cómo éste puede afectar a la salud de estos peces; podría afirmarse, basándose en estudios previos (Sargent *et al*, 1999; Bell *et al*. 2003) que la naturaleza de estos cambios ocasionaría una variación de todos los procesos fisiológicos regulados directamente por la concentración de ciertos ácidos grasos. Procesos tan importantes, como la osmorregulación, el desarrollo gonadal, la calidad de las puestas y supervivencia de

Tabla 1. Composición lipídica de los tejidos indicados. * = $p < 0.05$

	Cerebro		Grasa perivisceral		Branquia	
	Control	Impacto	Control	Impacto	Control	Impacto
18:1n-9	20,54 ±2,91	20,89 ±1,30	16,85 ±7,14*	22,95 ±4,18	8,78 ±1,66*	15,39 ±2,20
18:2n-6	0,57 ±0,43*	3,99 ±2,30	3,01 ±2,10*	14,50 ±2,89	1,96 ±0,82*	12,07 ±2,31
20:4n-6	3,48 ±0,51*	2,64 ±0,81	4,72 ±2,56*	0,89 ±0,52	6,31 ±1,18*	2,18 ±1,07
20:5n-3	4,76 ±1,06	4,65 ±0,72	7,01 ±3,27*	4,83 ±1,76	8,46 ±1,54	8,03 ±0,96
22:6n-3	30,56 ±3,69*	24,71 ±4,04	16,83 ±4,76*	5,20 ±2,75	29,57 ±4,34*	14,83 ±1,41
n-3	36,61 ±2,82*	31,32 ±3,84	25,71 ±7,35*	14,70 ±5,09	41,29 ±5,40*	27,44 ±2,04
n-6	4,89 ±0,45*	7,89 ±1,58	9,79 ±4,05*	16,81 ±2,62	10,58 ±2,40*	15,95 ±1,51
Monoinsat	30,11 ±3,81	30,52 ±2,17	25,99 ±8,55*	34,91 ±4,97	14,93 ±2,09*	25,05 ±2,33
Saturados	28,38 ±1,54*	30,27 ±2,71	38,51 ±6,36	33,59 ±2,90	33,20 ±2,67	31,55 ±3,04
PUFA	41,51 ±2,75	39,21 ±3,06	35,50 ±8,19	31,51 ±5,71	51,87 ±4,28*	43,40 ±2,40
ARA/EPA	0,76 ±0,20	0,63 ±0,25	0,78 ±0,48*	0,19 ±0,08	0,76 ±0,22*	0,27 ±0,14
	Gónada		Hígado		Músculo	
	Control	Impacto	Control	Impacto	Control	Impacto
18:1n-9	7,91 ±0,92*	13,16 ±1,55	4,98 ±2,47*	15,97 ±4,93	4,03 ±1,42*	15,03 ±4,82
18:2n-6	1,43 ±0,37*	11,91 ±1,76	1,02 ±0,56*	11,63 ±1,96	2,44 ±3,07*	12,70 ±3,40
20:4n-6	3,93 ±1,65*	1,52 ±0,37	5,49 ±1,08*	1,73 ±0,93	4,33 ±0,95*	1,54 ±1,03
20:5n-3	10,16 ±2,23	10,04 ±1,05	10,30 ±2,04	8,76 ±2,57	6,34 ±0,77	7,04 ±0,97
22:6n-3	34,80 ±4,22*	21,87 ±2,96	37,35 ±5,33*	16,12 ±4,40	49,26 ±3,68*	19,65 ±8,09
n-3	49,04 ±3,16*	36,45 ±3,59	50,93 ±5,97*	29,14 ±6,76	58,31 ±3,86*	31,35 ±8,10
n-6	6,53 ±1,63*	14,91 ±1,70	7,30 ±1,33*	14,76 ±1,76	8,03 ±2,74*	15,44 ±2,70
Monoinsat	14,91 ±1,25*	20,92 ±2,14	9,23 ±3,19*	24,75 ±6,72	7,68 ±1,58*	23,66 ±6,82
Saturados	29,52 ±2,76*	27,72 ±1,65	32,54 ±3,87	31,34 ±2,28	25,99 ±1,03*	29,55 ±2,19
PUFA	55,57 ±2,97*	51,36 ±2,35	58,23 ±5,90*	43,90 ±5,97	66,33 ±1,43*	46,79 ±7,28
ARA/EPA	0,40 ±0,16*	0,15 ±0,04	0,56 ±0,18*	0,19 ±0,06	0,69 ±0,16*	0,22 ±0,16

las larvas pueden verse afectados. Especialmente, debido a la variación tan importante que se produce en la relación ARA/EPA, cabe esperar cambios en la producción de eicosanoides y prostaglandinas que afectarían directamente a la respuesta inflamatoria y otras respuestas inmunológicas, así como al comportamiento reproductivo de estos peces.

Bibliografía

- Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D., Estévez A. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* Volume 177, Issues 1-4, 1 July 1999, Pages 191-199.
- Bell G., Sargent J. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, Volume 218, Issues 1-4, 27 March 2003, Pages 491-499.
- Fernández-Jover D., López Jimenez J. A., Sánchez-Jerez P., Bayle-Sempere J., Giménez F., Martínez F. J., Dempster T. Changes in body condition and fatty acid composition of wild Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*, Steindachner, 1868) associated to sea cage fish farms. *Marine Environmental Research*, Volume 63, Issue 1, February 2007, Pages 1-18
- Arechavala-López, P. Sánchez-Jerez, P. Bayle-Sempere, J. Fernández-Jover, D., Martínez-Rubio, L., López-Jiménez, J.A. and Martínez-López, F. J. Direct interaction between wild fish aggregations at fish farms and fisheries activity at fishing grounds: a case study with *Boops boops*. *Aquaculture Research*, in press.

Respiración bentónica y flujos de nutrientes en piscifactorías marinas en jaulas flotantes

T. Morata, S. Falco, M. Rodilla, I. Gadea, J. Sospedra y M.^a T. Sebastián

IGIC, Universidad Politécnica de Valencia, Paraninf n.º1, Gandía (46730). E-mail: tamohi@upvnet.upv.es

Abstract

Fluxes in the water-sediment interface were measured in June 2009 *in situ* at a sea bream (*Sparus aurata*) fish farm in western Mediterranean coast. Benthic chambers (opaque and transparent) were used, both, under the installations and under a control station, for the experiments. O₂ flux was -64 ± 17 mmol.m⁻².d⁻¹ below the cages, suggesting that sediment oxygen consumption was high because of the recent and direct input of organic matter (feed and faeces). In the control station O₂ flux was negative in opaque chambers, and positive in transparent chambers because of primary production. Significant differences have been observed in NH₄⁺ and PO₄³⁻ fluxes between installations ($12,7 \pm 1,0$; $0,74 \pm 0,12$ mmol.m⁻².d⁻¹) and control station ($1,7 \pm 1,5$; $0,01 \pm 0,08$ mmol.m⁻².d⁻¹). NO₃⁻, NO₂⁻ and Si fluxes didn't show significant differences between installations and control station.

Justificación

El efecto ambiental más ampliamente conocido de aquellos relacionados con las instalaciones marinas de producción acuícola es el enriquecimiento orgánico en los fondos bentónicos bajo las mismas (Belias *et al.* 2007). Este aporte de materia orgánica procede principalmente del alimento no consumido y de las heces de los peces, restos orgánicos tras la limpieza de las instalaciones y de las posibles bajas (peces muertos). Esta acumulación o incremento de materia orgánica desencadena una serie de flujos de materiales y cambios físicos, químicos e incluso biológicos, ya que la fauna bentónica también se modificará siendo esta a su vez importante en otros procesos como la bioirrigación, bioturbación y mineralización (Volkenborn *et al.* 2007).

El objetivo de este estudio es cuantificar los flujos de oxígeno y nutrientes que se dan en la interfase agua-sedimento bajo las instalaciones acuícolas y compararlos con los medidos en una estación control.

Material y Métodos

La zona de estudio es la costa occidental del Mediterráneo, concretamente en Burriana, Castellón, donde se halla ubicada una piscifactoría de engorde de dorada (*Sparus aurata*). Las medidas se realizaron en junio del 2009 tanto bajo las jaulas como en una estación control localizada a 100 m al norte de la piscifactoría. La piscifactoría se encuentra a una distancia de la costa de 2 km y a una profundidad de 19 m.

Para medir los flujos de nutrientes entre el sedimento y la columna de agua se han utilizado en cada zona de muestreo (instalación y control) 6 cámaras bentónicas, 3 opacas y 3 transparentes. 3 réplicas para intentar minimizar los efectos de heterogeneidad espacial y de 2 tipos para ver si hay diferencias en los flujos en el caso de que llegue la luz por la posible existencia de producción primaria. Estas campanas se dejaron incubar durante 6 horas y se extrajeron muestras de agua cada 2 horas para obtener la evolución de las variables a analizar (Violler *et al.*, 2003). De cada muestra se analizó: oxígeno disuelto, amonio, nitrito, nitrato, fosfato y sílice según Baumgarten, *et al.* (1996). Los flujos se calculan según Hargrave y Connoly (1978).

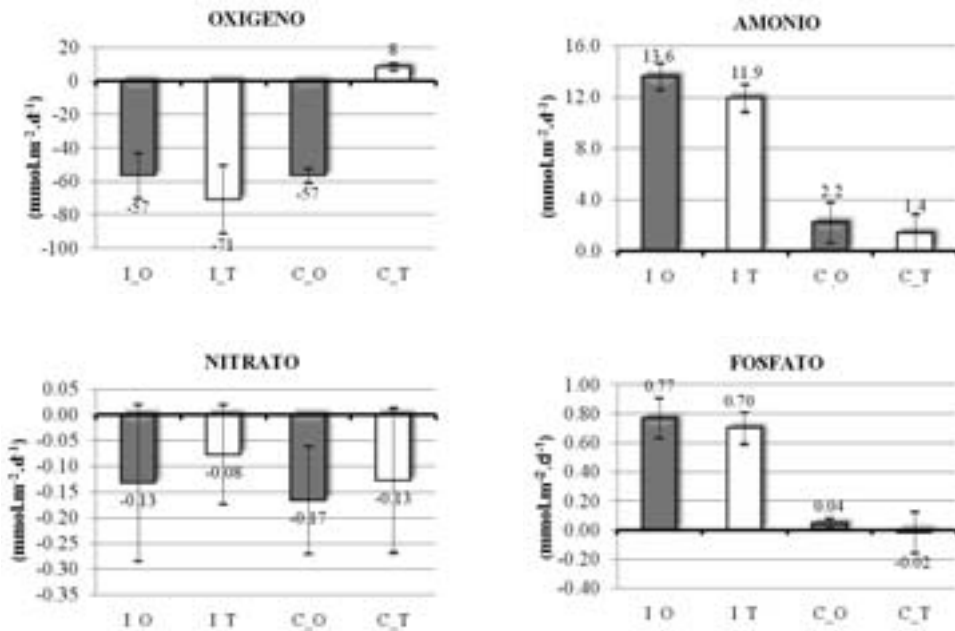
Además se tomaron 3 muestras de sedimento inalterado utilizando corers, tanto bajo las jaulas como en la estación control, y se midió en el primer centímetro: granulometría, porosidad, potencial redox y contenido en materia orgánica (calcinación).

Para la toma de muestras de sedimentos y para la extracción de muestras de agua de las campanas mediante jeringas ha sido fundamental la ayuda de buzos.

Resultados y Discusión

La temperatura del agua que está en contacto con los sedimentos fue de 19° C. El sedimento en ambos sitios es arenoso, la porosidad, expresada en % de humedad, fue muy similar en ambos sitios ($25,8 \pm 1,7$ en instalación y $24,9 \pm 1,0$ en control). El contenido en materia orgánica fue mayor bajo las jaulas con un $1,8 \pm 0,7$ % frente a $0,7 \pm 0,1$ % que presentaba la estación control. El potencial redox medido mostró que ambos sedimentos eran reductores; -207 ± 90 mV en los sedimentos bajo las jaulas y -101 ± 67 mV bajo la estación control. Como se observa en la figura 1, los flujos de oxígeno fueron negativos debido a la

Figura 1. Flujos de oxígeno, amonio, nitrato y fosfatos bajo las jaulas (I_O campanas opacas y I_T campanas transparentes) y en la estación control (C_O y C_T).



mineralización aerobia de la materia orgánica a excepción de las campanas transparentes en la estación control, donde se observó un flujo positivo, debido posiblemente a la producción primaria. En el resto de flujos no se observan diferencias significativas entre las campanas opacas y transparentes. Se observaron diferencias significativas en los flujos de amonio y fósforo entre las jaulas y la estación control (figura 1) como consecuencia de la mineralización de la materia orgánica que se encontraba en mayor concentración bajo las jaulas. No se observaron diferencias en los flujos de nitrato y silice. Los flujos de nitrato fueron ligeramente negativos en todos los casos, debido a la desnitrificación que se produce en los sedimentos ocasionando una pérdida de nitrógeno del sistema.

Agradecimientos

Caja del Mediterráneo (CAM) por financiar una beca predoctoral para estas investigaciones.

Bibliografía

- Baumgarten, M.G.Z., Rocha, J.M., Niencheski, L.F.H. 1996. Manual de análises em oceanografia química. Rio Grande, Ed. da FURG. 132p.
- Belias, C., M. Dassenakis, M.Scoullos. 2007. Study of the N, P and Si fluxes between fish farm sediment and seawater. Results of simulation experiments employing a benthic chamber under various redox conditions. *Marine Chemistry* 103: 266-275.
- Hargrave, B.T., and Connolly, G.F. 1978. A device to collect supernatant water for measurement of the flux of dissolved compounds across sediment surfaces. *Limnol. Oceanogr.* 23:1005-1010.
- Volkenborn, N., Polerecky, L., Hedtkamp, J., Beusekom, J., Beer, D. 2007. Bioturbation and bioirrigation extend the open exchange regions in permeable sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 52(5): 1898-1909.
- Violler, E., Rabouille, C., Apitz, S.E., Breuner, E., Chaillou, G., Dedieu, K., Furukawa, Y., Grenz, C., Hall, P., Janssen, F., Morford, J. L., Poggiale, J.-C., Roberts, S., Schimmield, T., Taillertfert, M., Tengberg, A., Wenzhöfer, F. y Witte, U. 2003. Benthic biogeochemistry: state of the art technologies and guidelines for the future of in situ survey. *Journal of Experimental Marine and Ecology*. 285-286. 5-31.

Estudio de indicadores ambientales en granjas de acuicultura en tierra en la región Sur-Atlántica

M. Peña¹, J. Fernández¹, J.C. Macías¹, A. G. León¹

¹ Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero, S.A. Consejería de Agricultura y Peca. JUNTA DE ANDALUCIA. C/ Bergantín, 39. SEVILLA. mpena@dap.es

Abstract

Aquaculture, like any other productive activity which uses natural resources, can have an impact on the environment. Both the magnitude and dimension of this influence are related to the type of culture being carried out, and the geographic location of the farm.

The present study focuses on the environmental impact associated with aquaculture activities, and identifies the best indicators in the water column and the seabed, in order to further our knowledge of the environmental impact of this activity, thus helping to improve the design aquaculture environmental monitoring.

Justificación

Actualmente las instalaciones de acuicultura en tierra no realizan programas de vigilancia ambiental principalmente porque no están obligados dada las peculiaridades de su actividad y sus niveles de producción (la mayoría menos de 500 toneladas o a densidades de carga muy pequeñas). Es cierto que a nivel nacional e internacional, la acuicultura marina está siendo sometida a un estricto control y seguimiento ambiental, pero sobre todo dirigido a las granjas de cultivo en jaulas flotantes cuyas producciones son normalmente muy superiores a las de tierra.

Macías *et al.*, 2006, señalaban que a la hora de diseñar y establecer un PVA, deberían de tenerse en cuenta, con carácter general, los factores siguientes: la localización de la instalación, la superficie cultivada/ocupada, los sistemas de producción, la producción estimada, la presencia de hábitats de elevado interés ambiental. En este marco y ante la abundante normativa ambiental aplicable al sector, y la nueva estrategia de la Comisión Europea para el Futuro de la Acuicultura, donde la sostenibilidad ambiental se convierte en una de las prioridades, es necesario identificar indicadores ambientales para el seguimiento de la actividad acuícola que sean asumibles por la empresa, fáciles de medir, y que aporten el máximo nivel de información.

Por todo ello, en el contexto del P.N. Jacumar de Indicadores Ambientales, y su Subproyecto de Andalucía, se diseñó y se está desarrollando un Plan de Vigilancia Ambiental piloto en una instalación de acuicultura en tierra en la provincia de Huelva, y de cuyos resultados se pretende obtener una información que podrá aplicarse a otras instalaciones de la misma topología.

Material y Métodos

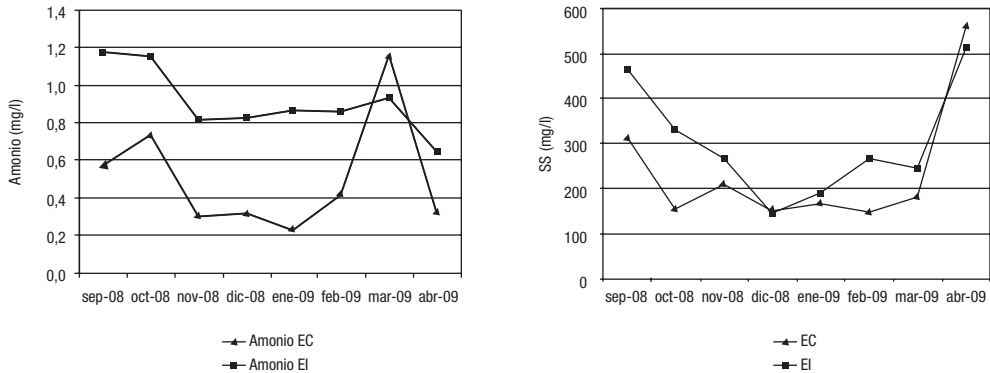
El estudio comenzó en septiembre de 2008 y finalizará en septiembre de 2009, y se está realizando en la instalación Langostinos de Huelva, que produce dorada y lubina en estanques en tierra.

Los subsistemas estudiados son agua y sedimentos (físico-químico, granulometría y bentos), en zonas próximas a el vertido del agua procedente del cultivo (estaciones de muestreo de impacto) así como en zonas no influenciadas por este (estaciones de muestreo control), ejecutándose un seguimiento mensual de los parámetros más representativos y su evolución temporal y espacial. Para obtener una evolución en la instalación, es necesario realizar un seguimiento de los parámetros en la instalación (entrada-cultivo-salida), para ello, se tomarán muestras tanto en la entrada como en la salida de la instalación, así como en la salida de los distintos tanques de cultivo.

Las tomas de muestras de agua se capturan a pie o desde embarcación dependiendo de la estación de muestreo, donde además de las muestras se toman medidas in situ mediante una sonda multiparamétrica de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, nivel de saturación de oxígeno (%), conductividad y pH. Una vez tomadas todas las muestras se envían refrigeradas al laboratorio donde se analiza Amonio (mgNH₄/l), Nitratos (mg NO₃/l), Nitritos (mg NO₂/l), Nitrógeno total (N mg/l), Carbono Orgánico Total (mg/l), Fósforo Total (mg P/l), Fosfatos (mg PO₄/l), Sólidos en suspensión (mg/l), Demanda bioquímica de oxígeno, DQO (O₂ mg/l), Demanda biológica de oxígeno, DBO (O₂ mg/l).

Las muestras de sedimentos se obtienen mediante una draga Van Veen, midiendo in situ temperatura, potencial redox y ph. Posteriormente las muestras se trasladan al laboratorio, donde se determinan la granu-

Gráficas 1 y 2. Evolución de las concentraciones en mg/l de Amonio y SS a lo largo del tiempo, en estaciones control y de impacto



lometría y materia orgánica. Además se toman muestras para el análisis de bentos con el objeto de evaluar posibles incidencias producidas sobre los distintos organismos y comunidades o biocenosis presentes en el medio natural, así como conocer el gradiente: entrada-cultivo-salida. Se analiza el número de individuos, determinando hasta nivel taxonómico de familia.

Resultados y Discusión

En la gráfica 1 y 2 se reflejan la evolución de la concentración de amonio y sólidos en suspensión a lo largo del tiempo, observándose como norma general que los valores ligeramente superiores en las estaciones de impacto respecto a las control. El amonio, se observa un descenso de las concentraciones en los meses de invierno coincidiendo con la menor carga del cultivo y con la época de menores temperaturas en las que el pescado se alimenta menos. Los sólidos en suspensión siguen la misma evolución, observándose los valores más altos en primavera y otoño coincidiendo con las mayores cargas de cultivo en la instalación y con una mayor actividad de los peces, los cuales remueven el fondo y se alimentan con mayor frecuencia. El valor más elevado del mes de abril puede deberse a las lluvias acontecidas en esta fecha que provocan un aumento de la turbidez en el río.

Por otro lado se puede observar que los valores de las muestras tomadas en las estaciones de impacto están dentro de los rangos permitidos en la legislación actual de vertidos.

Al finalizar el proyecto se realizará selección de aquellos parámetros más relevantes y significativos, elaborándose un protocolo de apoyo a las empresas sobre qué parámetros se deben estudiar en la instalación y su metodología de muestreo y análisis, así como la frecuencia de su estudio, con la finalidad de que todas las empresas de acuicultura en tierra puedan realizar los seguimientos ambientales que puedan exigirse de acuerdo a la normativa y que sean extrapolables a otras instalaciones acuícolas.

Agradecimientos

A la empresa de acuicultura Langostinos de Huelva S.L por su participación en el proyecto.

Bibliografía

- Carmona, J.; Villar, M.; Martínez, L; Molina, C., 2002. Acuicultura Litoral en Andalucía. Manual de Gestión Ambiental. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Dirección General de Prevención y Calidad Ambiental.
- Ministerio de Medio Ambiente, 2001. Situación y presiones del medio ambiente marino y del litoral mediterráneo. Agencia Europea del Medio ambiente. Madrid. 137 pp.
- Seguimiento Ambiental para Instalaciones de Acuicultura Marina. Macías JC et al. Boletín Instituto Español de Oceanografía 21 (1-4). 2005: 57-66
- MAPA, 2002. La Gestión Medio Ambiental en la Acuicultura Española. Madrid.

Sistema computacional para apoyar las buenas prácticas de gestión de la acuicultura en Brasil (AQUISYS) – énfasis en la tilapicultura

Maria Conceição Peres Young Pessoa¹, Ana Flávia Rodrigues Seixas², Marcos Eliseu Losekann³, Julio Ferraz de Queiroz⁴ y Mariana Silveira Guerra Moura e Silva⁵

¹ PhD Ingeniería Eléctrica (Automatización), Investigador Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP 340 Km 127,5 CEP: 13820-000 Jaguariúna, São Paulo (Brasil), Telefóneé: (+55) 19 33112679, e-mail: young@cnpm.br

² Beca/Embrapa (Proyecto01.60.060.100.304-05), estudiante Ingeniería Ambientale

³ MSc Zootecnia, Zootécnico

⁴ PhD Acuicultura, Oceanógrafo

⁵ MSc Biología, biólogo

Abstract

Brazilian pisciculture has been rising about 30% p.y., having as main factors its profitability and source of quality protein. Its strong interaction with water resources and its interference on the biodiversity turns it both potentially exposed to, as well as, source of negative environmental impacts, requiring the adoption of less impactant management practices. The producer needs information on these practices and the computer tools can be usefull for the rapid transfer and to motivate the incorporation of these activities to the property. Despite of African origin, the tilapicultura is nowadays present at large part of Brazilian territory, under pressure for greater quality and sustainable practices. Embrapa Environment has identified Good Practices of Management (GPM) for tilapia that can be immediately used by producer, from his observation on the property. Aquisys Computer System was developed in PHP and HTML languages (Apache server), in order to turn available the dynamic access, via Web, for the diagnosis of these assessment, as well as, production/management/water quality indicators. The present work presents the Aquisys tools for tilapia.

Justificación

Las creaciones de peces nativos tienen gran importancia en el contexto de la escena brasileña, pero la tilápia (*Oreochromis* sp), ha sido la mayoría de los peces de importancia económica. La dificultad sigue siendo el cultivo de peces para obtener tamaño uniforme y las normas exigidas por el mercado, que sólo se resolverá a través de la gestión del medio ambiente y los cultivos alimentarios adecuados (Beerli & Logato, 2009). Ayudado por la gran cantidad de remanso, excelente clima y los primeros resultados de la investigación disponible en Brasil, hoy la tilapicultura está presente en la mayor parte del territorio, pero aún sufre las presiones de una mayor calidad de los productos y un menor impacto de la adopción de prácticas de entorno. Entre ellos se menciona el consumo de recursos naturales, la generación de contaminación y la interferencia en los niveles de la diversidad biológica, pero su asociación directa con el uso de usos múltiples y esenciales para la calidad de vida (agua) (Tiago, 2007). En consecuencia, la adopción de Buenas Prácticas de Gestión (BPG) se convierte en importante medio para la sostenibilidad de la producción de tilápia en Brasil. Este es el código de conducta/ protocolo establecido para la gestión del sistema de cultivo que tiene un conjunto de requisitos y prácticas que deben ejercerse en la realización de su sistema de gestión y producción. Es libre la adhesión del productor, y se ha centrado en la calidad del producto y el medio ambiente, estableciendo directrices para la realización de una actividad productiva a la sostenibilidad medioambiental de su sistema de producción. El proyecto «Gestión y Manejo Ambiental de la Acuicultura» de la Embrapa Medio Ambiente ha identificado BPG de tilápia que pueden tener uso inmediato del productor a partir de su rápido estudio de la propiedad. Aquisys, el sistema en continuo desarrollo dentro del ese proyecto, tiene por objeto proporcionar un acceso dinámico a los productores, vía web, a las evaluaciones y cálculos de los indicadores de producción, gestión y calidad del agua en atención a BPG —disponible una forma rápida a los productores de información inicial y orientación, ayudando a que en el mejor de la observación y toma de decisiones de gestión de su propiedad. Este trabajo presenta las herramientas desarrolladas para lo Aquisys en apoyo a la BPG de la tilápia en Brasil.

Material y Métodos

La información utilizada en este estudio se han planteado en la literatura técnica consultas (Kubtza, 2001; Pavanelli et al., 2002; Ostrenski & Boeger, 1998; entre otros), en el trabajo de campo y en preguntas directas a investigadores de la Embrapa Medio Ambiente. El sistema Aquisys , y por tanto sus programas componentes, se han desarrollado en lenguajes de programación «Hypertext Preprocessor» (PHP) y «Hypertext Markup Language» (HTML), en el servidor Apache. Cuando sea necesario, los métodos de análisis de regresión se realizaron tal como se presenta en Dorn (1981).

Figura 1. Ejemplo de aplicación del Aquisys

a) Entrada de la información.



b) Respuesta por el sistema

Resultados y Discusión

Nueve programas fueron desarrollados para la evaluación directa de la cultura de la tilápia en el contexto de BPG, con el apoyo de las observaciones visuales directas del productor o el uso de equipos de la calidad del agua a bajo costo. Tenían la intención de determinar especialmente la falta de BPG. Se tomó en consideración: la etapa de desarrollo de los peces, la temperatura, pH, transparencia del agua, tasa de oxígeno disuelto, porcentaje de proteína cruda en la dieta, la apariencia física de la propiedad, la atención y el destino de los residuos, almacenamiento y selección de los productos químicos utilizados, los aspectos de la guardería, el uso de equipos, entre otros. Para los indicadores de productividad se pusieron a disposición de la biomasa de los cálculos de ganancia y tasa de conversión alimenticia, así como la cantidad de alimentos que debe proporcionarse de acuerdo con el peso de los peces y la temperatura, las estimaciones de los ingresos procedentes del cultivo y la evaluación de las enfermedades de los peces en función de los aspectos de comportamiento. Para evaluar la calidad del agua, se dispone de kits de análisis de los indicadores para las evaluaciones rápidas, así como la identificación de las actuales o la ausencia de poblaciones bentónica identificadas por las imágenes fotográficas. Otros dois programas presentan informaciones sobre aspectos de legislación ambiental vigentes en el país (licenciamientos, otorgamiento, acuicultura sustentable, etc) también están en Aquisys. Aquisys se halla aún en fase de evaluación y las pruebas con los productores. Un ejemplo de aplicación de Aquisys se muestra en la Figura 1.

Bibliografía

- Beerli, E. L.; Logato, P. V. R. Peixes de importância para a piscicultura brasileira. s.l, s.d., 36p. Disponível em http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_65.pdf acessado em jun/2009.
- Dorn, W. S. Cálculo numérico com estudos de casos em Fortran IV. Rio de Janeiro: Campus; São Paulo : Ed. da Universidade de São Paulo, 1981. 568p.
- Kubtza, M. M. L. Streptococcus versus tilápia: é preciso se antecipar aos problemas. Panorama da acuicultura, Rio de Janeiro, v. 11, edição 66, p. 33-36, julho/agosto 2001.
- Ostrenski, A.; Boeger, W. Piscicultura: Fundamentos e Técnicas de Manejo. Porto Alegre:Guaíba Agropecuária, 1998. 211 p.
- Pavanelli, G. C.; Eiras, J. C.; Takemoto, R. M. Doenças de peixes: profilaxia, diagnostico e tratamento. Maringá: Editora UEM, segunda edição., 305 p., 2002.
- Tiago, G. G. Aquicultura, Meio Ambiente e Legislação - 2.ª edição atualizada - 2007. São Paulo: Gláucio Gonçalves Tiago (editor), 201 p.

Velocidad de sedimentación y lixiviado de nitrógeno amoniacal total en piensos y heces de dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*)

M.A. Piedecausa, F. Aguado-Giménez, B. García-García, G. Ballester y T.C. Telfer.

Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). PO box 65. 30740. San Pedro del Pinatar. Murcia. felipe.aguado@carm.es

Abstract

Settling velocity and total ammonia nitrogen (TAN) leached from feed and faecal pellets of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* was investigated before and after soaking at 15 and 25° C. The settling velocity of feed pellets was influenced positively by pellet weight and negatively by immersion length as a result of changes in pellet dimensions. The settling velocity of faecal pellets was determined by pellet weight. TAN leaching over time from feed and faecal pellets was explained by means of a 1st order kinetic equation. TAN leaching from smaller pellets was greater than in larger pellets and faecal pellets was greater than in feed pellets. However neither T nor fish species influenced on TAN leaching from faeces.

Justificación

Los residuos particulados tienen características particulares y se someten a una serie de cambios fisicoquímicos mientras se dispersan y sedimentan lo que podría influir en el rango espacial de dispersión y en la carga orgánica neta que llega al fondo. Existen varios estudios que han analizado la velocidad de sedimentación del pienso y heces y el lixiviado de nutrientes en salmónidos, pero la información es escasa para especies cultivadas en el Mediterráneo (Vasallo *et al.*, 2006; Magill *et al.*, 2006). Existen pocos trabajos que hayan estudiado el lixiviado en piensos. Sin embargo, un mayor conocimiento de la dinámica de residuos antes de sedimentar podría ser útil para analizar cualquier impacto ambiental y para mejorar la precisión de modelos de dispersión de residuos. Por ello, en este estudio se pretende determinar bajo condiciones definidas de laboratorio algunas características fisicoquímicas de los residuos liberados por dorada y lubina (pienso y heces) como son la velocidad de sedimentación, cambios de tamaño y peso y lixiviado de nitrógeno amoniacal total (TAN).

Material y Métodos

Los piensos utilizados en este trabajo son de una gama de piensos comerciales de distintos tamaños: FP2, FP4a, FP4b, FP6, FP8. Las heces de dorada y lubina se recogieron por disección de los 4 cm distales del intestino de acuerdo con Chen *et al.* (1999). Se determinaron en 15 pellets de cada pienso los cambios de diámetro, longitud, peso y densidad al ser sumergidos en agua de mar filtrada a 15 y 25°C. La velocidad de sedimentación se determinó a 15 y 25° C utilizando una columna de sedimentación de metacrilato de 1 m de largo y 0.25 m de diámetro. La columna estaba marcada en 0.05, 0.40 y 0.75 m desde la parte superior. La Vsed se determinó de 30 pellets de cada pienso cronometrando el descenso entre dos marcas de 0.35 m a lo largo de la longitud de la columna. Para el lixiviado de TAN se asignaron 6 periodos de lixiviado (1, 5, 10, 15, 30, 60 minutos). Los pellets se pusieron individualmente en vasos de 50 ml con agua de mar filtrada a 15 y 25° C y se simuló turbulencias de sedimentación agitando las muestras con su Vsed determinada previamente. Cada tiempo de lixiviado tiene 5 réplicas. Después del lixiviado las muestras se fijaron con 0.1 ml de HCl 0.5N y se midió el TAN con un electrodo de ión selectivo ORION 9512BN como se describe en APHA (1995).

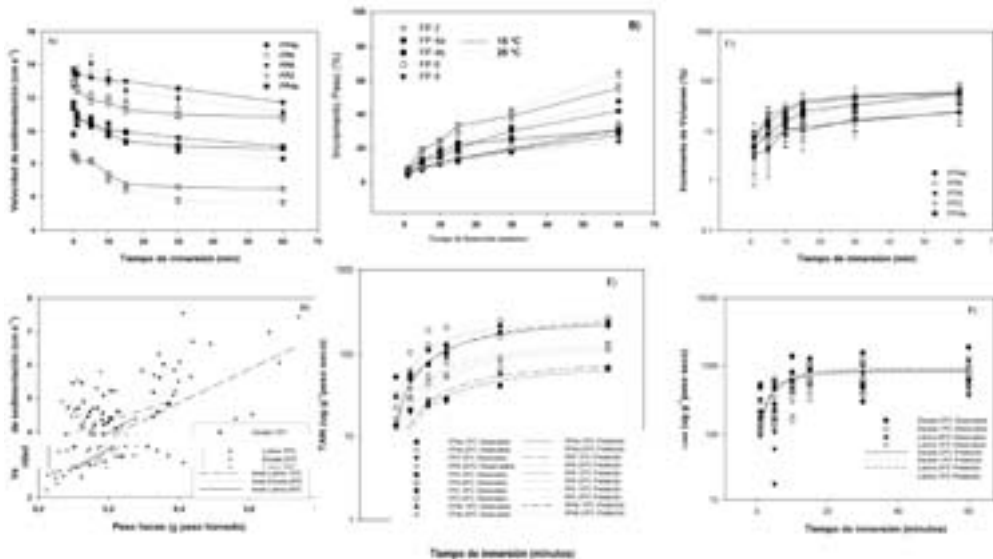
Resultados y Discusión

El peso influyó positivamente en la velocidad de sedimentación, siendo los pellets más grandes los que mostraron mayor Vsed; y negativamente con el tiempo de inmersión (Figura 1A) debido a cambios en las dimensiones de los pellets que causó una mayor fricción y una mayor resistencia en la velocidad de caída (Figuras 1B-C). La Vsed de las heces mostró una correlación positiva con el peso de los pellets (Figura 1D). La Vsed del pienso fue 60% más rápida que las de las heces debido a la menor densidad de las heces. El lixiviado de TAN en piensos y heces fue descrito por una ecuación cinética de primer orden:

$$y = a \cdot (1 - e^{-kt})$$

Donde, y es el lixiviado de TAN ($\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.), a y k son los parámetros que representan el máximo lixiviado de TAN ($\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) y la velocidad del proceso (min^{-1}) y t es el tiempo de inmersión (min) (Figuras E-F). Los pellets más pequeños lixiviarán más ya que al tener una mayor relación S/V su contacto con el agua es

Figura 1. A) Velocidad de sedimentación de los piensos. B) Incremento de peso de los piensos. C) Incremento de volumen de los piensos. D) Velocidad de Sedimentación de las heces en función del peso. E) Lixiviado de TAN de los piensos. F) Lixiviado de TAN de las heces.



mayor que en pellets grandes. El lixiviado de las heces es un proceso rápido y fue 3 veces más rápido y mayor por unidad de peso que el de los piensos. El test de Chow en las heces mostró que el lixiviado de TAN de dorada y lubina fueron similares y que la T no influyó en el lixiviado.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a María Martí Gálvez por su ayuda en la recogida de muestras y en el laboratorio. Trabajo financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura (JACUMAR).

Bibliografía

- APHA (American Public Health Association), 1995. Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, DC.
- Chen, Y.S., Beveridge, M.C.M., Telfer, T.C. 1999. Settling rate characteristics and nutrient content of the faeces of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and the implications for modeling of solid waste dispersion. *Aquac. Res.* 30: 395-398.
- Magill, S., Thetmeyer, H., Cromey, C. 2006. Settling velocity of faecal pellets of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and sensitivity analysis using measured data in a deposition model. *Aquaculture* 251: 295-305.
- Vassallo, P., Doglioli, A.M., Rinaldi, F., Beiso, M. 2006. Determination of physical behaviour of feed pellets in Mediterranean water. *Aquac. Res.* 37: 119-126.

Procesos geoquímicos en fondos marinos blandos influenciados por la acuicultura: consumo de oxígeno, flujo de amoníaco y producción de sulfuros

M.A. Piedecausa, F. Aguado-Giménez, J. Cerezo-Valverde, M.D. Hernández y B. García-García

Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). PO box 65. 30740. San Pedro del Pinatar. Murcia. felipe.aguado@carm.es

Abstract

Cores were taken at an area impacted by a gilthead seabream (*Sparus aurata*) farm and at an un-impacted area in order to evaluate the effect of three experimental treatments: no inoculation, fish feed pellet inoculation and fish faeces inoculation. Sediment oxygen uptake (SOU), total ammonia nitrogen flux (TAN_f) and acid volatile sulphide production (AVSp) was determined after 8 hour long incubations under temperature (T) controlled conditions. The impacted area showed greater benthic dynamism, bottom T and SOU being the most influential variables. TAN_f was more influenced by SOU and the protein content of the inoculated wastes, which disguised the influence of the sampling site. AVSp was always greater in the impacted sediment regardless of the type of inoculation. Offshore conditions, depth and hydrodynamic were probably responsible for benthic fluxes being lower in this study compared with the recent literature.

Justificación

La respuesta de las comunidades bentónicas y del sedimento a un incremento en la entrada de materia orgánica es bien conocida y definida en gran parte por la naturaleza física del sustrato, la disponibilidad del oxígeno disuelto y la composición de la comunidad biológica. Las condiciones de hipoxia o anoxia se crean en la superficie de los sedimentos cuando se excede la demanda de oxígeno, produciéndose sustancias tóxicas como amoníaco y sulfuros, lo que provoca una reducción en la diversidad de especies y biomasa de organismos bentónicos. Por medio de incubaciones de perfiles de sedimento investigamos algunos procesos clave que tienen lugar en la interfase agua-sedimento, como el consumo de oxígeno (CO), y la producción de compuestos tóxicos como amonio y sulfuros, así como la influencia en estos procesos del material particulado que se deposita en el fondo.

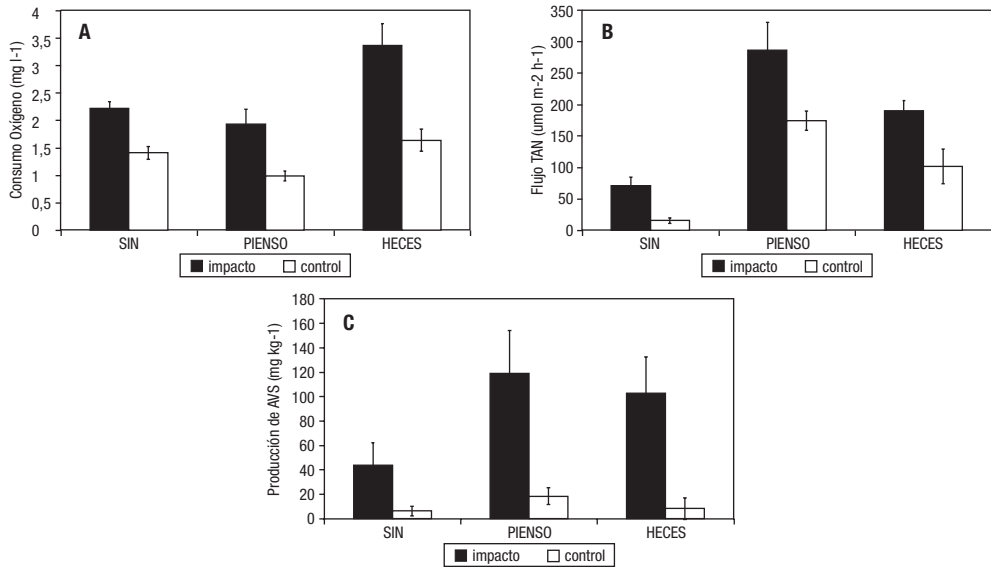
Material y Métodos

Se tomaron perfiles de sedimento con cores cilíndricos de metacrilato (53 × 300 mm) dentro de la granja bajo las jaulas (zona impacto-I-) y fuera de la granja a unos 500 m (zona control-C-) para evaluar el efecto de tres tratamientos: sin inóculo (0), inoculando pienso (P), inoculando heces (H). Se recogió muestras de agua del fondo con una botella Niskin de 10 l y se registró la temperatura del fondo. Una vez en el laboratorio los cores abiertos se introdujeron en un incubador de 90 l llenado con agua del fondo y mantenido a la temperatura registrada y con aireación para reestablecer las condiciones iniciales (*Preincubación*). Al día siguiente, se comienza con la fase de *Incubación*, por lo que se añade el inóculo correspondiente, se cierran los cores y se incuban durante 8 horas.

Se programaron 4 incubaciones para cada grupo: 1) I+0, 2) C+0, 3) I+P, 4) C+P, 5) I+H, 6) C+H. Para cada incubación se tomaban 18 cores: después de la preincubación se sacaban, por un lado, 4 cores a los cuales se les medía el O₂ en la columna de agua; se extraían 50ml de la columna de agua y se fijaban con 0.1 ml de HCl 0.5N y se medía el nitrógeno amoniacal total (TAN) tal y como se describe en APHA (1995); y se realizaba un análisis granulométrico de los primeros 5cm del sedimento (en seco) con una torre de tamices. Y por otro lado, se sacaban otros 4 cores donde se tomaban los primeros 5 cm del sedimento para la determinación de sulfuros volátiles en ácido (AVS) (Allen *et al.*, 1993). Y, finalmente, en dos cores se medía la porosidad. Después de las 8 h de incubación, se sacaban 4 cores a los que se les medía el O₂ y el TAN y otros 4 cores a los que se les determinaba los AVS. Se calculó, por tanto, el CO expresado como la diferencia entre el O₂ final menos el inicial. El flujo de TAN agua-sedimento (TAN_f) se calculó a partir de la ecuación: $TAN_f = ((C_8 - C_0) * V) / (A * t) * 10000$, donde, TAN_f se mide en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$; C₀ y C₈ es la concentración de TAN a tiempo 0 y a las 8 horas de incubación ($\mu\text{mol l}^{-1}$); t es el tiempo de incubación (h); A es el área de la superficie del sedimento en el core (cm²) y V es el volumen de agua (l). La producción de AVS (AVS_p) se determinó como la diferencia entre AVS final menos el inicial.

Se realizó una matriz de correlación para comprobar la covariabilidad entre las variables. Se compararon los datos obtenidos en cada caso con un ANCOVA de dos vías para SOU, TAN_f, AVS_p, y un ANOVA de una vía

Figura 1. A) Consumo de oxígeno. B) Flujo de nitrógeno amoniacal total. C) Producción de sulfuros volátiles en ácido procedente de los diferentes tipos de incubación en zonas impactadas y control.



para los finos y la porosidad. Para determinar las variables que explican la mayor parte de la varianza se realizó un análisis de componentes principales a todas las variables.

Resultados y Discusión

Uno de los primeros cambios que se observan en los sedimentos impactados por la acuicultura es un incremento en el CO tal y como hemos observado en este trabajo (Figura 1A). La T^a y CO se correlacionaron fuertemente. TAN_r fue mayor pero no significativo en sedimentos impactados (Figura 1B). Existe una fuerte correlación entre CO y TAN_r , como han observado otros autores, ello es lo que podría provocar que el CO enmascare el efecto de la zona y por ello no se observaran diferencias significativas. La adición de pienso provocó mayor TAN_r que de heces debido a un mayor contenido en proteína. Wang *et al.* (2008) mostró que inocular con piensos favorece la diagénesis del material particulado provocando mayores TAN_r . En condiciones óxicas, ese TAN podría ser consumido por nitrificación mientras que el nitrato es eliminado por denitrificación. Sin embargo, en condiciones anóxicas con altas concentraciones de sulfuros, la denitrificación podría ser inhibida al mismo tiempo que se favorece la reducción disimilatoria del nitrato para formar amonio favoreciendo la acumulación de TAN en la interfase agua-sedimento. Como han observado otros autores, la AVS_r fue mayor en sedimentos impactados debido a las altas tasas de sedimentación (Figura 1C). El PCA nos reveló las variables más importantes que determinan la influencia de la acuicultura en los procesos bentónicos. En general, las condiciones óxicas (42.27% de la varianza explicada) seguida por las características del sedimento (18.56%) y por las condiciones tóxicas (16.73%) determinaron la importancia relativa de los procesos bentónicos para diferenciar entre sedimentos impactados y no impactados por la acuicultura.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a María Martí Gálvez por su ayuda en la recogida de muestras y en el laboratorio. Trabajo financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura (JACUMAR).

Bibliografía

Allen *et al.* (1993). Environ. Toxicol. Chem. 12: 1441-1453.

APHA (American Public Health Association). 1995. American Public Health Association, Washington, DC.

Wang *et al.* (2008). Mar. Poll. Bull. 57: 681-688.

Patrones temporales de los residuos producidos por el cultivo de dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y atún rojo (*Thunnus thynnus*)

M.A. Piedecausa, F. Aguado-Giménez y B. García-García

Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). PO box 65. 30740. San Pedro del Pinatar. Murcia. felipe.aguado@carm.es

Abstract

Fish farm produces wastes mainly faecal pellets and uneaten food, releasing large proportions of nitrogen and phosphorus to the environment. Waste outputs estimates are based on bioenergetics or chemical methods and models have been developed for many cultured species. This work aims to ascertain the temporal pattern of waste loads coupling growth models and waste production models. For a similar annual biomass production, the simulations showed that waste output and temporal dumping pattern differ between the three species as a result of the disparities in growth velocity, nutrient digestibility, maintenance metabolic budget and husbandry. Under intensive industrial conditions and considering the overlapping of batches and management of stocks, the simulations allow us to determine the periods of maximum discharge and the N and P characterization of the wastes, being specie-specific.

Justificación

Los modelos de producción de residuos están basados en métodos bioenergéticos (balance de masas) o químicos (limnológicos). Se han desarrollado modelos para muchas especies, pero éstos aportan tasas brutas anuales o por ciclo de producción de nitrógeno y fósforo. Es conocido que la carga de residuos está sujeta a cambios teniendo en cuenta la dinámica de crecimiento y las prácticas de cultivo. Este trabajo pretende determinar el patrón temporal de residuos. Para ello, a partir de modelos de crecimiento (en función de peso y temperatura) y modelos de producción de residuos (nitrógeno y fósforo particulado y disuelto, en función de la biomasa estocada) se desarrollan unas simulaciones bajo condiciones normales de cultivo industrial para las tres especies más importantes cultivadas en el Mediterráneo, dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y atún rojo (*Thunnus thynnus*).

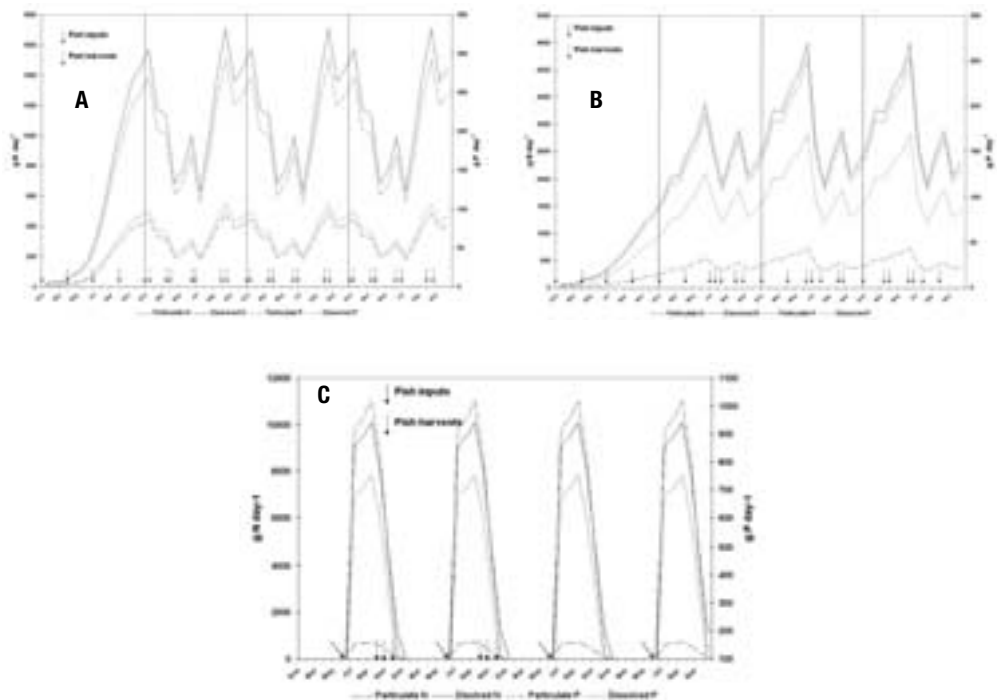
Material y Métodos

De una variedad de modelos disponibles en la bibliografía se han elegido los siguientes. El modelo de crecimiento de dorada desarrollado por García-García *et al.* (2007), el modelo de crecimiento de lubina desarrollado por Lanari *et al.* (2002) y el modelo de crecimiento de atún rojo desarrollado por Aguado-Giménez y García García (2005). Los modelos de producción de residuos para dorada, lubina y atún se extrajeron de Lupatsch y Kissil (1998), Lemarié *et al.* (1998) y Aguado-Giménez *et al.* (2006). Se acoplaron los modelos de crecimiento y producción de residuos de cada especie y se desarrollaron las simulaciones, emulando prácticas de cultivo reales. A fin de simplificar las simulaciones, se establecieron unas condiciones de cultivo: las cosechas se fijaron para lotes completos después de alcanzar un peso promedio de 350 gramos (talla comercial). Para simular la distribución de tamaño de frecuencia de un engorde de atunes capturados, se tuvieron en cuenta dos clases de tamaño con pesos promedio de 60 (830 individuos) y 140 kg (2.500 individuos), y la producción de residuos fue simulado para todo el grupo. La cosecha de atún comenzó después de tres meses de engorde, sacrificando 13 atunes pequeños y 30 grandes al día hasta el vaciado.

Resultados y Discusión

Para una producción de biomasa anual similar, las simulaciones realizadas mostraron que la producción de residuos y el patrón temporal difieren entre las tres especies como resultado de las diferencias en la velocidad de crecimiento, digestibilidad de nutrientes, coste metabólico de mantenimiento y prácticas de cultivo. Bajo condiciones industriales intensivas y teniendo en cuenta la superposición de lotes y, las simulaciones permiten determinar los periodos de máxima descarga y caracterizar los residuos nitrogenados y fosforados, siendo específica de la especie. Simulaciones bajo diferentes condiciones pueden hacerse fácilmente con cualquier hoja de cálculo.

Figura 1. Patrón temporal de residuos (Nitrógeno y Fósforo particulado y disuelto) simulando condiciones industriales de cultivo de A) *Sparus aurata* B) *Dicentrarchus labrax* C) *Thunnus thynnus*.



Bibliografía

- Aguado-Giménez y García-García (2005). *Aquaculture Research* 36: 610-614.
- Aguado-Giménez et al (2006) *Aquaculture Research* 37: 1254-1258.
- García-García et al. (2007). XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo, 24-28 septiembre. Libro de Actas, Tomo II, 1549-1552 pp.
- Lanariet al. (2002). *Ital. J. Anim. Sci.* 1: 181-185.
- Lemarié et al. (1998). *Aquatic Living Resources* 11: 247-254.
- Lupatsch. y Kissil (1998). *Aquat. Living Resour.*, 11(4): 265-268.

Influencia de la fauna necto-bentónica salvaje en la mineralización de los residuos particulados derivados de los cultivos marinos: experimentos de exclusión

M. A. Piedecausa Narejo, F. Aguado-Giménez, M. D. Hernández Llorente,
J. Cerezo Valverde y B. García-García

Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). PO box 65. 30740.
San Pedro del Pinatar. Murcia. Correo-e: mpn66t@carm.es

Abstract

This study assesses the influence of different trophic levels on the mineralization of fish farming derived wastes by mean of exclusion assays. Exclusion boxes (open, partially open and closed) were deployed on sediments impacted by an offshore fish farm and on un-impacted sediments. The results showed that total ammonium nitrogen (TAN) production in the pore water was higher in impacted sediments and greater as the level of exclusion increased. In impacted sediments, there was a significant incidence of the ichthyofauna and in a lesser extent the benthic macrofauna in the recycling of organic matter; while in un-impacted sediments the benthic macrofauna showed a more relevant role than the ichthyofauna. This is due to the attraction effect of wild fish in the aquaculture facilities.

Justificación

El cultivo de peces en zonas costeras genera cantidades importantes de desechos orgánicos particulados, procedentes fundamentalmente de heces y pérdida de alimento, que se depositan en el fondo y generan un impacto significativo que se caracteriza por un enriquecimiento orgánico de los sedimentos, cambios en las condiciones geoquímicas y toda una serie de alteraciones en la dinámica y estructura de los poblamientos bentónicos (Aguado-Giménez *et al.*, 2007). Este estudio tiene como objetivo evaluar la utilización por parte de diferentes niveles tróficos de los residuos generados por los cultivos marinos e identificar cambios en las características del sedimento en zonas impactadas y no impactadas.

Material y Métodos

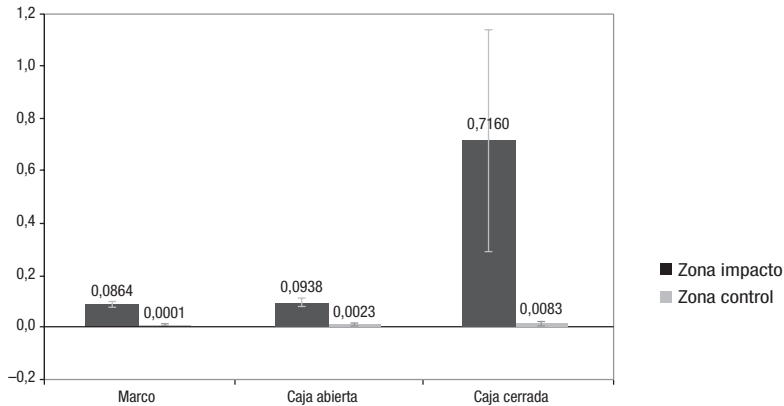
Este estudio se llevó a cabo en la costa este de San Pedro del Pinatar (Murcia, SE España: 37° 48.941' N; 00° 41.731' W). Se planteó un desarrollo experimental de inclusión-exclusión consistente en aplicar diferentes niveles de limitación de acceso a los residuos (pienso) para la fauna salvaje mediante cajas de exclusión (1 m² de superficie y 10 cm de altura). Se dispusieron tres niveles de exclusión, con cuatro réplicas cada uno sembrados con 100 g de un pienso comercial estándar para el engorde de dorada (48,8% de proteína y 21,5% de grasa) y se instalaron en sedimentos impactados y no impactados por la acuicultura durante 48 horas:

- Caja Cerrada: restricción a la macrofauna bentónica e ictiofauna y acceso a la infauna.
- Caja Abierta: restricción de la macrofauna bentónica y acceso a la ictiofauna e infauna.
- Marco: acceso a infauna, macrofauna bentónica e ictiofauna.

Se tomaron muestras del sedimento con corers cilíndricos, se analizó el contenido en TAN del agua intersticial como indicador de mineralización de la materia orgánica aportada. Las muestras fueron fijadas con 0,1 ml de 0,5 N HCl y TAN fue medido con un electrodo de ión selectivo. El contenido de TAN fue comparado entre zonas de experimentación y niveles de exclusión mediante un análisis de la varianza y las diferencias se testaron por medio del test SNK.

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se observa que la producción de TAN liberada desde los sedimentos impactados es mayor que el liberado en sedimentos no impactados alejados de la piscifactoría. Además, tal y como observó Vita *et al.* (2004) la producción de TAN mostró un aumento significativo conforme se incrementaba el nivel de exclusión. En los sedimentos impactados, la participación de la ictiofauna y la infauna (caso de caja abierta) disminuiría 7,6 veces la producción de TAN, y la participación de la macrofauna bentónica, en el caso del marco, sería de una disminución de 8,3 veces la producción de TAN. Esto pone de manifiesto que en sedimentos impactados existe una notable incidencia de la ictiofauna y no tanto de la macrofauna bentónica en el reciclado de materia orgánica en zonas impactadas. Por otro lado, en los sedimentos no

Figura 1. Producción de TAN en los distintos tratamientos de exclusión y zonas de experimentación

impactados, la participación de la ictiofauna e infauna (caso de la caja abierta) supone la disminución de 3,6 veces la producción de TAN; mientras que la participación de la macrofauna bentónica (caso del marco) supone la disminución de 83 veces la producción de TAN. En los sedimentos no impactados, por tanto, la macrofauna bentónica influye de manera más importante en la utilización del pienso que la ictiofauna.

Las piscifactorías introducen una complejidad espacial en el hábitat por lo que acaban convirtiéndose en una zona de atracción de peces salvajes (Fernández-Jover, 2008). La menor incidencia de la ictiofauna en zonas no impactadas puede deberse al efecto de atracción de peces bioturbadores en torno a las instalaciones de cultivo (Vita *et al.*, 2004), mientras que con respecto a la macrofauna bentónica ocurre todo lo contrario. En la Figura 1 se muestra como los sedimentos impactados producen niveles de TAN muy superiores a los de las zonas no impactadas, lo que pone de manifiesto la existencia de desequilibrios biogeoquímicos en los sedimentos influenciados por los cultivos marinos.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a María Martí Gálvez por su ayuda en la recogida de muestras y en el laboratorio. Trabajo financiado por INIA (proyecto AGL-2004-08350-C02-02).

Bibliografía

- Aguado-Giménez, F., Marín, A., Montoya, S., Marín-Guirao, L., Piedecausa, M.A. y García-García, B. 2007. Comparison between some procedures for monitoring offshore cage culture in western Mediterranean Sea: sampling methods and impact indicators in soft substrata. *Aquaculture* 271: 357-370.
- Fernández-Jover, D., Sánchez-Jérez, P., Bayle-Sempere, J.T., Valle, C. y Dempster, T. 2008. Seasonal patterns and diets of wild fish assemblages associated to Mediterranean coastal fish farms. *ICES Journal of Marine Science* 65: 1153-1160
- Vita, R., Marín, A., Madrid, J.A., Jiménez-Brinquis, B., Cesar, A., Marín-Guirao, L. 2004. Effects of wild fishes on waste exportation from a Mediterranean fish farm. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 277: 253-261.

La oceanografía como herramienta de apoyo a la gestión de la acuicultura en mar abierto

E. Reyes-Reyes¹, J. Andrés², A. Izquierdo¹, J. C. Macías²

¹ Dpto. Física Aplicada. Universidad de Cádiz, Av. República Saharaui, s/n, 11510, Puerto Real.

Correo electrónico: emma.reyes@uca.es

² Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. JUNTA DE ANDALUCÍA. C/ Bergantín, 39, 41012, Sevilla

Abstract

Marine aquaculture is facing up the challenge to settle at open sea, where oceanographic and meteorological conditions are often severe and the risks for production and the technologic requirements are consequently higher than in the protected locations. Ocean processes determine the environmental conditions affecting fish growing, operational work in the fish farm and the deformation of the net pens and the net drag force acting on the whole fish farm polygon, being therefore relevant for an appropriate design of the fish farming field and the scheduling of routinely works. In this paper we provide an illustrative example of how physical oceanography research can help to improve the open sea fish farming management.

Justificación

La acuicultura en mar abierto es una actividad altamente dependiente de las condiciones oceanográficas presentes en la zona de cultivo seleccionada, y por ello el conocimiento de éstas puede ser una herramienta de apoyo a la gestión de la instalación en distintas etapas y procesos del cultivo.

En este estudio se presenta un ejemplo de aplicación de investigación oceanográfica para intentar resolver problemas concretos y mejorar la gestión de la instalación, y se trata de evaluar el efecto que ejerce el campo de corrientes sobre las estructuras de las jaulas y fondeos para su aplicación en la previsión y optimización de los trabajos rutinarios en la instalación. En el caso de una jaula flotante, la velocidad de la corriente es capaz de deformar la red y alterar el volumen disponible para la biomasa y el transporte de oxígeno a los peces, además de transmitir tensiones a los anclajes de a misma. Este estudio en concreto, fue motivado por el excesivo sufrimiento que experimentaba la jaula n.º 6 (Fig. 1) tal y como observaron los técnicos de la empresa. El flujo de agua alrededor de la jaula vendrá influenciado por un amplio número de factores como el diseño de la jaula, su localización, las características hidrodinámicas del emplazamiento (Løland, 1993; Johansson *et al.*, 2006). Por lo tanto, el conocimiento de las condiciones del flujo y de la interacción de la jaula con el mismo son de suma importancia para conseguir un aprovechamiento óptimo de los recursos y para el cálculo del fondeo.

Material y Métodos

El estudio tuvo lugar en julio de 2007 en el interior de un polígono de jaulas (Fig. 1) situadas entre Agua-dulce y la playa del El Palmer (Bahía de Almería). El área alrededor de la jaula seleccionada fue monitorizada durante 48 horas, registrándose la velocidad de la corriente y la temperatura usando correntímetros y una cadena de termistores (ver Fig. 1).

Resultados y Discusión

De los registros obtenidos se deduce la predominancia de las corrientes en la dirección Noreste-Suroeste, paralelas a la costa y a la batimetría de la zona, y la obstaculización del flujo por la jaula, que ocasiona la deflexión de la corriente alrededor de la misma, con mayores intensidades (16 cms^{-1}) de corriente registradas por los correntímetros situados corriente arriba y corriente abajo, y las menores registradas por los correntímetros RCM7 y RCM9, situados al Sur y al Suroeste de la misma, respectivamente.

El efecto de las jaulas, es deflectar la corriente lateralmente respecto de la dirección predominante de la misma, comportándose como barreras semiporosas. Ello origina una deformación del tren de jaulas proporcional a la variación en el tiempo de la fuerza de deformación de la corriente por unidad de masa (Fig. 3). Este efecto origina una mayor deformación, y sufrimiento, en el centro del tren de jaulas, lo que explica el comportamiento de la jaula n.º 6. Este resultado concuerda con las medidas dinámométricas realizadas por Fredriksson *et al.*, 2007.

Los resultados expuestos muestran los beneficios de incluir estudios oceanográficos en los emplazamientos de jaulas de cultivo en mar abierto a fin de obtener la máxima rentabilidad en condiciones favorables y minimizar los riesgos en condiciones adversas.

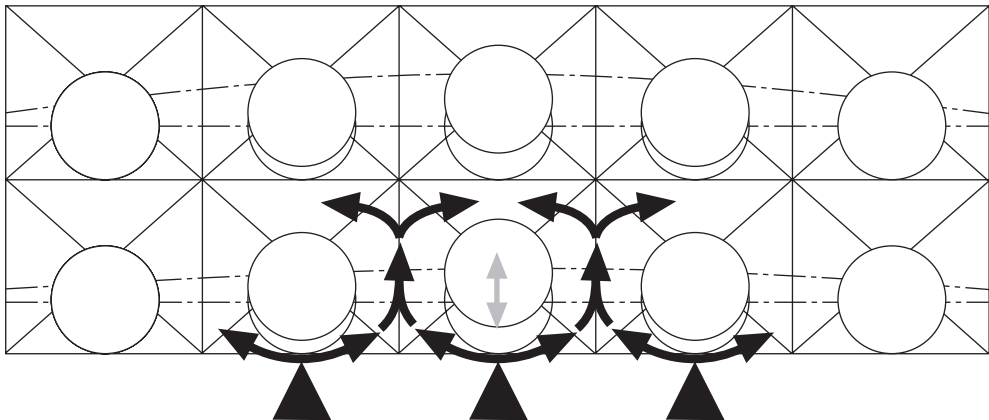
Figura 1. Localización geográfica y configuración de la instalación (jaula monitorizada sombreada y puntos que señalan las posiciones de los correntímetros, flecha negra señala la dirección predominante de la corriente).



Figura 2. Rosas de la velocidad de corriente (intensidad y dirección) registrados por cada uno de los correntímetros fondeados en las inmediaciones de la jaula de cultivo (letras correspondientes a la Fig.1)



Figura 3. Deformación del tren de jaulas y circulación de la corriente entorno a la jaula monitorizada (flechas negras). Los círculos negros indican la posición de las jaulas en equilibrio y los grises, las jaulas desplazadas por la acción de la corriente. Flecha gris: desplazamiento neto.



Agradecimientos

Los autores agradecen la dedicación de los operarios y encargados de PIAGUA,S.L, así como también a los profesores y técnicos del Dpto. de Física Aplicada y de D.A.P. que han colaborado en este proyecto.

Bibliografía

Fredriksson D.W., J.C. DeCew, I. Tsukrov, M.R. Swift, and J.D. Irish. 2007. Development of large fish farm numerical modelling techniques with in-situ mooring tension comparisons. *Aquac. eng.*, 36, no 2, pp. 137-148.
 Løland G. 1993. Current forces on, and water flow through and around, floating fish farms, *Aquac. Int.* 1, pp. 72-89.

Comunidad macrozoobentónica asociada a estructuras flotantes en una granja de peces marinos en mar abierto

R. Serra Llinares, F. Aguado Giménez, M.A. Piedecausa Narejo, B. García García

¹ IMIDA. Apdo 65. 30740 San Pedro del Pinatar, Murcia. Correo-e: felipe.aguado@carm.es

Abstract

Substratum and nutrient availability in cage fish farms allows its colonization by macrozoobenthic organisms which biomass, level of resources exploitation and community structure depends on the proximity to the waste point source.

Justificación

La liberación de nutrientes derivados del cultivo de peces tanto en forma disuelta como particulada, junto con la gran disponibilidad de sustrato que proporcionan las propias estructuras flotantes de las granjas marinas (boyas, jaulas, estachas, etc.), favorecen la aparición y desarrollo de una comunidad macrobentónica comúnmente denominada *fouling* (organismos incrustantes, epifauna y endofauna asociada). Esta comunidad, además de explotar estos recursos incrementa la complejidad de la cadena trófica que reutiliza los residuos liberados a la columna de agua por las granjas marinas. Éstos organismos bentónicos asociados a estructuras artificiales han sido propuestos como un filtro natural que podría servir para retener parte de los residuos y reducir así el impacto de los mismos sobre la columna de agua (Tsemel et al, 2006). Sin embargo, la bibliografía referente a la propia estructura de la comunidad del *fouling* y al impacto provocado sobre la misma por las instalaciones de engorde de peces es escasa y abarca condiciones de estudio diversas. En este trabajo se pretende determinar si la proximidad a una granja de engorde de peces en mar abierto determina la estructura de la comunidad macrozoobentónica asociada a las boyas que sustentan los trenes de fondeo, así como verificar si dicha comunidad se beneficia de los residuos liberados por el cultivo mediante el seguimiento de la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$.

Material y Métodos

Dado que las estructuras flotantes son sometidas a limpiezas periódicas, y a fin de evitar un desfase en el grado de colonización de las estaciones, se seleccionaron dos boyas que de acuerdo con las indicaciones de los operarios de la granja colaboradora, llevaban el mismo tiempo sin haber sido limpiadas. Una de ellas formaba parte del tren de fondeo de las jaulas de cultivo de peces, estando pues situada en la zona de liberación de residuos, y se denominó estación «impacto». La otra boya era una baliza de delimitación de la concesión, situada a barlovento de la corriente y a unos 250 m de la jaula más próxima, y se denominó estación «control». En cada una de ellas se tomaron cuatro muestras al azar (pseudo-réplicas) consistentes en el raspado de un cuadrado de 20x20 cm por debajo de la línea de flotación. Cada muestra se pasa por un tamiz de 500 μ a la vez que se lava con agua de mar, y se fija con formol al 4%. Se separan los diferentes grupos taxonómicos presentes, y se identifican con la mayor precisión taxonómica posible. Una vez identificados los taxones, se genera una matriz de abundancia (n , nº individuos de cada taxón por muestra) y se calcula la biomasa (g cm^{-2}) de cada taxón mediante secado hasta peso constante en estufa (105° C, 24 h), obteniendo una matriz de biomasa. La biomasa total de cada muestra es triturada, molida, homogeneizada y liofilizada para analizar la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$, al igual que en los piensos utilizados en la granja. Se calculan los siguientes índices biológicos univariantes: riqueza específica (S), índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') y el índice de equitatividad de Pielou (J'), que son contrastados entre estaciones mediante ANOVA. Las matrices de abundancia y biomasa son tratadas mediante métodos multivariantes para comparar entre estaciones: nMDS y PERMANOVA. Mediante el test SIMPER se determina la contribución de cada taxón a la disimilitud entre estaciones.

Resultados y Discusión

La biomasa total de las muestras impacto resultó 1,6 veces mayor que la de las muestras control, habiendo diferencias significativas entre estaciones (ANOVA $P < 0.01$). La señal isotópica $\delta^{15}\text{N}$ en los piensos fue de 5,6‰, mientras que las muestras impacto y control mostraron un enriquecimiento más moderado, observándose unos valores de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente superiores en las muestras de la estación impacto (3,91‰ y 3,55‰ respectivamente; ANOVA $P < 0,01$), luego esta estación se está aprovechando en mayor

Tabla 1. Valores medios (\pm d.e.) de la biomasa y $\delta^{15}\text{N}$ del fouling y de los índices biológicos univariantes, y resultados de los contrastes estadísticos mediante ANOVA, y resultados del análisis multivariante PERMANOVA

Est. Impacto	Est. Control	ANOVA, F(1,6)	
Biomasa (g cm ⁻²)	0,78 \pm 0,06	0,48 \pm 0,05	F = 14,31; P < 0,01
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	3,91 \pm 0,15	3,55 \pm 0,04	F = 21,20; P < 0,01
S	17,75 \pm 1,26	15,25 \pm 1,50	F = 6,52; P < 0,05
H'	1,85 \pm 0,16	1,54 \pm 0,16	F = 7,26; P < 0,05
J'	0,72 \pm 0,07	0,61 \pm 0,05	F = 8,19; P < 0,05
Permanova	F	P	P (test Monte Carlo)
Biomasa	4,51	0,037	0,022
Abundancia	13,03	0,037	0,001

medida de los residuos del cultivo. Asimismo, se observaron diferencias significativas entre estaciones en todos los índices univariantes calculados (ANOVA $P < 0.05$) (Tabla 1).

En cuanto a los análisis multivariantes, el nMDS mostró una clara segregación espacial entre las muestras control e impacto en cuanto a la estructura de la comunidad macrozoobentónica, tanto en términos de biomasa como de abundancia. El análisis PERMANOVA mostró que la comunidad se encontraba estructurada de distinta forma en cada estación tanto en términos de biomasa como de abundancia (Tabla 1). En términos de biomasa, el mejillón *Mytilus galloprovincialis* y el cirrípedo *Balanus perforatus*, dos especies típicamente suspensívoras, resultaron las especies con una mayor contribución a la disimilitud entre las muestras control e impacto, siendo su biomasa mayor en la estación impacto. Curiosamente, estas especies en cuanto a su abundancia contribuyen poco a la diferenciación entre estaciones. En términos de abundancia, anfípodos (4 familias) y nemátodos resultaron los grupos que contribuyen en mayor grado a la disimilitud entre las muestras control e impacto. Tres de las cuatro familias de anfípodos encontradas en las muestras presentan una abundancia mayor en las muestras impacto respecto a las muestras control, siendo este aumento especialmente llamativo en el caso de la familia *Caprellidae*, cuya abundancia llega a ser 10 veces superior en las muestras impacto. Con la familia *Corophiidae* ocurre justamente lo contrario, ya que su abundancia resultó el doble en las muestras control. El caso de los nemátodos es igualmente llamativo, ya que no se encontró ni un solo individuo en las muestras impacto, mientras que presentan una abundancia media de 244 individuos por muestra en la estación control. En definitiva, la mayor proximidad al foco de liberación de residuos de la granja marina, supuso una mayor biomasa y grado de aprovechamiento de los residuos que se tradujo en una diferente estructuración de la comunidad macrozoobentónica.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura JACUMAR.

Bibliografía

Tsemel et al., (2006). Bulletin of Marine Science, 78 (1): 103-113.

Importancia del control del agua de cultivo de los polígonos mejilloneros: acumulación de contaminantes en *Mytilus galloprovincialis* de la Ría de Vigo

P. Suárez¹, Y. Ruiz¹, A. Alonso¹, M. Gómez², E. Longo³ y F. San Juan¹

¹ Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo. fsanjuan@uvigo.es

² Estudiante de la E.T.S. de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid

³ Área de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo

Abstract

Galicia, is an important shellfish-producing region, characterized by a peculiar geography with a good oceanographic conditions for aquaculture, mainly for farming mussels. Galician mussel is the first and unique sea product to European level with Denomination of Origin. However, some of their areas of culture as Ría of Vigo, are densely populated and industrialized, and consequent with important pollutants levels. Among these pollutants, PAHs and heavy metals induce a number of adverse effects on organisms, such as the developed of neoplasias. Therefore is very important a suitable monitoring of the chemical quality of our aquaculture resources, so it can affect negatively in its production and also to the human health.

In this work we analyzed the seasonal variation of the levels accumulated of PAHs and heavy metals in *Mytilus galloprovincialis* in Ría of Vigo, finding a direct relation between these contaminants and the percentage of individuals with neoplasia gonadal.

Justificación

En el medio marino, las áreas costeras y los estuarios son zonas altamente productivas pero fuertemente afectadas por la contaminación mediambiental procedente de las zonas terrestres adyacentes. En este sentido, el uso de moluscos bivalvos como *Mytilus* para medir los niveles de contaminación está muy desarrollado, utilizándose como organismo centinela en numerosos programas de monitorización (Farrington *et al.*, 1983; O'Connor, 2002). Estos organismos se alimentan por filtración, por lo que, además del alimento ingieren contaminantes orgánicos (HAPs, PCBs, pesticidas) e inorgánicos (metales pesados), concentrándolos a niveles muy superiores a los detectados en las aguas circundantes (Baumard *et al.*, 1999). Estos contaminantes poseen numerosos efectos mutágenicos y carcinogénicos (Woodhead *et al.*, 1999) sobre los organismos vivos. Alonso *et al.* (2001) han descrito la aparición de una neoplasia gonadal en *Mytilus galloprovincialis*, que afecta a la viabilidad de los gametos y a la capacidad reproductora.

El objetivo de este estudio es analizar la variación estacional de los niveles de PAHs y metales pesados acumulados en el mejillon cultivado en la ría de Vigo y su posible implicación en el desarrollo de la neoplasia gonadal arriba mencionada.

Material y Métodos

Para la realización de este trabajo se utilizaron ejemplares de *Mytilus galloprovincialis* recogidos del polígono mejillonero de Moaña perteneciente a la ría de Vigo entre febrero de 2001 y agosto de 2002. En cada muestreo se tomaron un total de 30 individuos adultos (6-8 cm de longitud) siempre de la misma batea y a una profundidad de 5 m. Una pequeña sección de la gónada fue seccionada, fijada en Bouin, incluida en parafina y cortada a 5 µm. Las secciones fueron teñidas con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson, para ser examinado histológicamente y determinar posibles alteraciones tisulares. El resto de los tejidos blandos fueron inmediatamente congelados en N2 líquido y liofilizados, utilizándolos para el análisis de contaminantes.

La extracción y cuantificación de PAHs y metales pesados se realizó mediante los métodos descritos por López *et al.* (1996), Viñas Diéguez *et al.* (2002) y Besada *et al.* (2002). En este estudio se analizaron un total de 13 PHAs: Fe, An, F, P, BaA, Cris, BbF, BkF, BeP, BaP, DBA, IP y Bper así como 6 metales pesados: Cd, Cu, Hg, Pb, Zn y As.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos muestran una variación estacional significativa ($p < 0.05$) de los PAHs totales, con valores mínimos en primavera ($60 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w. en 2001 y $112 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w. en 2002) y al final del verano-comienzos del otoño ($52.26 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w.) y valores máximos a finales del invierno ($157 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w. en 2001 y $538 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w. en 2002) y en la primera mitad del verano ($350 \mu\text{g kg}^{-1}$ d.w. en 2001 y $739 \mu\text{g}$

kg⁻¹ d.w en 2002). Los metales pesados varían de forma similar, sus niveles se incrementan a lo largo del otoño-invierno hasta alcanzar sus valores máximos a comienzos de primavera (375.73 µg kg⁻¹ d.w. en 2001 y 250.30 µg kg⁻¹ en 2002); los valores mínimos aparecen a finales del verano (99.25 µg kg⁻¹ d.w.). La OMS y la AESA recomiendan que, en moluscos bivalvos como *Mytilus* destinados al consumo humano, la concentración total de las 6 especies de PAHs con mayor poder mutagénico conocido (BaA, BbF, BkF, BaP, DBA, IP) no sobrepase los 200 µg kg⁻¹ dw. En este estudio, observamos que la concentración de dichas especies se mantuvo por debajo de este límite en la mayoría de los muestreos. No obstante en enero, febrero y agosto de 2002 obtuvimos valores relativamente altos (150 µg kg⁻¹ dw) y en julio de 2002 se superó dicho límite (221 µg kg⁻¹ dw), alcanzando lo que podríamos considerar un «punto caliente». Los metales pesados analizados, se mantuvieron muy por debajo de los límites establecidos en moluscos comercializables por la ley, tanto a nivel estatal (AESAs) como europeo (OSPAR).

Las preparaciones histológicas de los individuos estudiados muestran un alto porcentaje de ejemplares con alteraciones en las células germinales que han sido descritas anteriormente como una neoplasia gonadal o germinoma (Alonso *et al.*, 2001). La prevalencia de esta patología se correlaciona significativamente con el Σ6 PHAs antes mencionados ($r = 0.605$; $p < 0.01$). Además, parece que las concentraciones mayores de 10 µg kg⁻¹ dw podrían provocar dichas alteraciones, teniendo efectos negativos sobre el cultivo y la producción de *Mytilus*. A concentraciones >50 µg kg⁻¹ dw observamos una disminución significativa ($p < 0,01$) de los individuos afectados, que podría ser debida a un efecto letal sobre *Mytilus*. Además, este efecto negativo podría estar potenciado por la presencia de metales pesados, como Cd o Pb cuya correlación con la acumulación de HAPs de 6 anillos ($r = 0,38$, $p < 0,05$; $r = 0,35$, $p < 0,05$, respectivamente) y con la aparición de la neoplasia son también significativas ($r = 0,73$, $p < 0,01$; $r = 0,51$, $p < 0,01$, respectivamente).

Estos resultados muestran la importancia de realizar un seguimiento de la calidad química del agua de las zonas de cultivo de moluscos, para prevenir posibles efectos negativos sobre su crecimiento y reproducción, así como los posibles riesgos para la salud humana.

Bibliografía

- Alonso *et al.* (2001). Dis. Aquat. Org. 47: 73-79.
Baumard *et al.* (1999). Mar. Environ. Res. 47: 415-439.
Besada *et al.* (2002). Sci. Total. Environ. 288: 239-253.
Farrington *et al.* (1983). Environ. Sci. Tech. 17. 490-496.
González-Quijano y Fumega (1996). IEO. 160: 1-27.
López *et al.* (1996). Quim. Anal. 15: 224-229.
O'Connor (2002). Mar. Environ. Res. 117-143.
Viñas Dieguez *et al.* (2002). Poly. Arom. Comp. 22. 161-173.
Woodhead *et al.* (1999). Mar. Pollut. Bull. 38: 773-779.

Caracterización de eventos de escape de *Sparus aurata* y *Dicentrarchus labrax* en Gran Canaria mediante entrevistas a pescadores deportivos

D. Tavares¹ y N. González¹

¹ Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Carretera de Taliarte s/n. 35214 Telde. Las Palmas. dtavares@iccm.rcanaria.es

Abstract

Sea-cage farming presents several environmental problems, such as the introduction of exotic species in the wild. In order to study *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* escaping events, 63 interviews to sportfishers were performed along the coast of Gran Canaria (Spain) between July and December 2009. Results show that escaping events have been occurring for at least 13 years and, before that, no catches were recorded, which indicates that catches in the wild are due to these events. All fishers reported to have caught one of these species at least once. Some report catches higher than 100 fish or 100 kg per fisher in just one day, which means that thousands of fish are escaping every year. Catches in zones far from sea-cage farms show that escaped fish have a great dispersal capacity. Captured fish with size and weight of adult specimens, indicate that escaped fish may be causing a high predation pressure over natural biological communities. However, there are no records wild juvenile fish, which indicates they can't reproduce. Consistent catches for long periods of time in the same zone indicate that fish can survive for at least 4 months in the wild.

Justificación

El engorde de peces en jaulas flotantes presenta graves problemas a nivel ambiental (Vergara-Martín *et al.*, 2005), como los escapes de especies exóticas (CIESM, 2007). Sin embargo, el impacto de los escapes en las poblaciones naturales todavía está poco documentado (Sola *et al.*, 2006), principalmente porque no existen imposiciones legales que obliguen a los acuicultores a documentar la ocurrencia de este tipo de eventos. Los escapes son responsables de la suelta involuntaria de cantidades desconocidas de peces de cultivo al medio natural (CIESM, 2007), lo que posibilita que ocurra mezcla genética o interacciones ecológicas entre peces salvajes y escapados (Youngson *et al.*, 2001). Esta situación podría estar produciendo efectos negativos en los ecosistemas marinos, como: 1) la reducción del *fitness* ecológico de las poblaciones naturales; 2) cambio del fenotipo de las poblaciones naturales; 3) competencia por comida entre individuos escapados y salvajes de la misma o de otras especies; 4) transmisión de enfermedades y patógenos (CIESM, 2007; Domínguez-Molina y Vergara-Martín, 2005), 5) depredación de organismos naturales o 6) destrucción de hábitats (Domínguez-Molina y Vergara-Martín, 2005). Los aspectos mencionados podrían estar causando daños ambientales impredecibles (Domínguez-Molina y Vergara-Martín, 2005), que incluyen la reducción, o incluso la extinción, de especies o de poblaciones naturales (Townsend y Simon, 2006). Además, el problema podría agravarse, ya que conforme aumenta el número de jaulas en Canarias, también aumenta el riesgo de que las poblaciones naturales interactúen con peces escapados (CIESM, 2007). Considerando estas premisas, el objetivo de este estudio fue recoger información acerca de los eventos de escapes y de los peces escapados en Gran Canaria que pueda servir de base en futuros estudios acerca de esta temática.

Material y Métodos

Entre julio y diciembre de 2008, se realizaron 63 entrevistas a pescadores deportivos a lo largo de la costa de Gran Canaria. Se hicieron preguntas sobre la ocurrencia de eventos de escape, las capturas de las especies-objetivo y el perfil de los entrevistados. Las localidades donde se efectuaron entrevistas estaban situadas en zonas cercanas y lejanas a jaulas de cultivos marinos.

Resultados y Discusión

Los escapes son frecuentes y suelen existir todos los años. Ningún pescador mencionó la ocurrencia de escapes antes de 1994, el año de la instalación de la primera granja marina en Gran Canaria. Además, todas las capturas de dorada o lubina fueron realizadas después de 1996. Con todo, aproximadamente un 73,68% de los pescadores empezó a pescar antes de haber jaulas en Gran Canaria, lo que indica que las capturas se deben a la ocurrencia de escapes. La mayor parte (79,4%) de los pescadores entrevistados cogió doradas (74,6%) o lubinas (65,1%) en Gran Canaria, al menos una vez. Además, la captura máxima de especímenes de doradas realizada por un solo pescador en Gran Canaria fue de 175 piezas en un día, mientras que la de lubinas fue de 67 piezas. Asimismo, la captura máxima de doradas fue de 100,5 kg, mientras que la de

lubinas fue de 40,2 kg en un solo día. Esto indica que se están escapando miles de peces en toda la isla. Según las zonas donde se realizaron capturas, se determinó que los peces escapados tienen la tendencia a acercarse a la orilla y refugiarse en zonas protegidas del oleaje. Los pescadores capturaron estas especies en zonas lejanas a granjas marinas, lo que indica que los peces escapados tienen una gran capacidad de dispersión. La talla máxima de las doradas y lubinas capturadas fue de 50 cm, mientras que la talla mínima fue de 6 cm en el caso de las doradas y de 10 cm en el caso de las lubinas. Esto demuestra que los peces escapados presentan tallas próximas a los adultos, por lo que podrían estar causando una presión excesiva sobre las comunidades biológicas naturales. Además, muchos peces escapados presentan tallas que superan la talla de madurez sexual, aunque no está aún confirmada su capacidad para reproducirse en Canarias. Por último, las capturas de doradas y de lubinas de forma consistente a lo largo de varios meses en la zona sureste tras un escape masivo ocurrido algunos meses antes indican que los peces pueden sobrevivir en el medio natural.

Agradecimientos

Proyecto financiado por los Planes Nacionales de Acuicultura JACUMAR.

A Juan Martínez Barrio y a Pablo Manent Sintés por su colaboración en los muestreos.

Bibliografía

- CIESM. 2007. Impact of Mariculture on Coastal Ecosystems. CIESM Workshop Monographs 32
- FAO (2005-2009). Text by Bagni, M. En: FAO – Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 6 April 2005. [Citada en 13 de Febrero del 2009] (http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en)
- Molina-Dominguez, L. y J.M. Vergara-Martín. 2005. Impacto ambiental de jaulas flotantes: estado actual de conocimientos y conclusiones prácticas. Boletín del Instituto Español de Oceanografía. 21(1-4): 75-81.
- Moreira, F., Assis, C.A., Almeida, P.R., Costa, J.L. y M.J. Costa. 1992. Trophic relationships in the community of the Upper Tagus Estuary (Portugal: a preliminary approach). Estuarine, Coastal and Shelf-Science. 34: 617-623.
- Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A. y C.S. Tsigonopoulos (2007). Gilthead seabream - *Sparus aurata*. En: Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations. Svåsand T., Crosetti D.,
- Townsend, C. R. y K. S. Simmon. 2006. Consequences of brown trout invasion for stream ecosystems. En: Allen, R. B.; Lee, W. G. (Eds). Biological Invasions in New Zealand, Ecological Studies, Vol. 186, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 213-225.
- Vergara-Martín, J. M., Haroun-Tabrue, R., González-Henríquez, M. N., Molina-Dominguez, L., Briz- Vicenconsejería de Pesca del Gobierno de Canarias (2009). Cultivos marinos de Canarias [Citada en 13 de Febrero del 2009] (<http://www.gobiernodecanarias.org/agricultura/pesca/cultivosmarinos>).
- Youngson, A. F., Dosdat, A., Saroglia, M. y W.C. Jordan (2001). Genetic interaction between marine finfish species in European aquaculture and wild conspecifics. Journal of Applied Ichthyology. 17(4): 153-162.

Efectos de diversas piscifactorías aragonesas de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) sobre las comunidades de macroinvertebrados bentónicos

A. Torralba-Burrial¹ y F.J. Ocharan^{1,2}

¹ Dpto. Biología de Organismos y Sistemas, Universidad de Oviedo, Catedrático Rodrigo Uría s/n, E-33071 Oviedo, España. e-mail: antonioib@hotmail.com
² e-mail: focharan@uniovi.es

Abstract

Aquatic macroinvertebrate communities were used to assess environmental impacts of three rainbow trout farms in Aragon (NE Spain). Macroinvertebrates were sampled in three reaches with a Surber net: upstream of fish farm, at the mouth of the effluent channel, and downstream. Sampling was conducted in August and October-November of 2005 and 2006. Important disturbances weren't found. However several metrics shown low impacts on macroinvertebrate communities: density of collector taxa was incremented and taxa richness decrease slightly in some reaches. Ecological status of these rivers should be evaluated periodically to monitoring aquaculture activities and make sure their compatibility with a sustainable development.

Justificación

El cultivo intensivo de peces de agua dulce en piscifactorías esta extendida por todo el mundo, pudiendo tener efectos perjudiciales en los ríos (Phillips *et al.*, 1985; Beardmore *et al.*, 1997; Stephens y Farris, 2004). En Aragón, la piscicultura de carácter intensivo gira principalmente alrededor de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792), con una producción aproximada de 4000 toneladas anuales (Ruiz *et al.*, 2002). Con el fin de poder reconocer los posibles impactos de los centros de acuicultura sobre los ríos, existía un seguimiento sanitario y de calidad de sus aguas, valorando su incidencia sobre la fauna piscícola. No obstante, para valorar la adecuación de las explotaciones acuícolas a un desarrollo sostenible deben evaluarse también sus impactos sobre el resto del ecosistema. Así, a ese seguimiento se añadió una evaluación piloto de los impactos sobre las comunidades de macroinvertebrados bentónicos, indicadores biológicos recogidos en la Directiva Marco de Aguas. El objetivo de este estudio es valorar, tras dos años de estudio, si existen perturbaciones atribuibles a tres piscifactorías de trucha arco iris, situadas en Oliván (río Gállego), Cimballa (río Piedra) y Villarluego (río Pitarque).

Material y Métodos

Para cada piscifactoría se eligieron tres tramos: (1) aguas arriba, (2) desembocadura del canal de salida y (3) aproximadamente 1 km aguas abajo. Esto nos permitiría realizar una valoración del posible impacto de estas piscifactorías, incluso en ausencia de datos previos sobre las comunidades de macroinvertebrados.

La evaluación se llevó a cabo durante dos años (2005 y 2006) para comprobar si los resultados eran coherentes en el tiempo, realizando dos campañas de muestreo por año, una en agosto y otra en octubre-noviembre, con el fin de obtener datos de las comunidades de macroinvertebrados en situaciones hídricas totalmente distintas. El protocolo de muestreo seguido se expone en Torralba Burrial y Ocharan (2007).

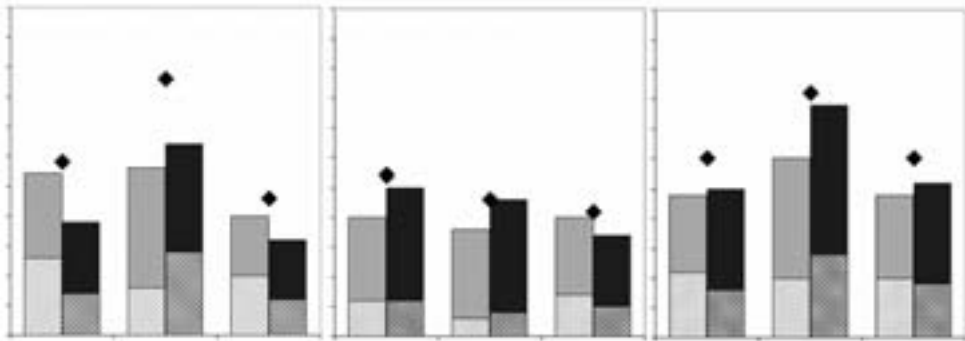
Tras determinar los macroinvertebrados bentónicos en el laboratorio, se aplicaron las siguientes métricas con el fin de detectar desviaciones entre el tramo pre-vertido, el tramo de vertido y el post-vertido: riqueza global de taxones, riqueza de taxones por campaña, IBMWP, IASPT, EPT, diversidad de Shannon-Wiever, equidad de Pielou y dominancia de Simpson.

Resultados y Discusión

Los resultados fueron similares ambos años, sin detectarse perturbaciones de origen humano notables en las comunidades de macroinvertebrados. La valoración del IBMWP y riqueza de taxones (fig. 1) mostró un ligero incremento en el punto de vertido, y una disminución posterior, salvo en el caso de Cimballa, aunque puede ser debido a las características hidromorfológicas del tramo de vertido.

Las diferencias en la densidad de macroinvertebrados, especialmente en los taxones colectores o los que se alimentan de algas, indican que se produce un incremento de la materia orgánica en el río Gállego tras la salida de la piscifactoría de Oliván, al igual que en el río Pitarque tras la salida de la piscifactoría de

Figura 1. Riqueza total de taxones, riqueza de taxones por campaña y riqueza de taxones de los grupos EPT en los tramos prevvertido, de vertido y postvertido de las piscifactorías estudiadas en 2006.



Villarluengo. Sin embargo, aunque presentan un impacto sobre las comunidades, dichos vertidos son de momento inferiores a la capacidad de autodepuración del río, ya que no disminuyen el estado ecológico del tramo. No obstante, es necesario vigilar que no se incremente el aporte de materia orgánica ni disminuya el caudal de los tramos afectados.

Agradecimientos

La Dirección General de Medio Natural del Dpto. de Medio Ambiente del Gobierno de Aragón financió este estudio (proyectos CN-05-137 y CN-06-100). Ester Ginés i Llorens (SODEMASA), facilitó el desarrollo del estudio y la cartografía de los puntos de muestreo. Diversas personas acompañaron en los muestreos realizados, en especial Juan Antonio Torralba Vinué.

Bibliografía

- Beardmore, J.A., G.C. Mair y R.I. Lewis. 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. *Aquaculture Research* 28: 829-839.
- Phillips, M.J., M.C.M. Beveridge y L.G. Ross. 1985. The environmental impact of salmonid cage culture on inland fisheries: present status and future trends. *J. Fish Biol.* 27 (Supplement A): 123-137.
- Ruiz I., J.L. Clavero, J. Orós, R. Claver y J.L. Múzquiz. 2002. *Seguimiento sanitario de los centros de piscicultura y los ríos en la Comunidad Autónoma de Aragón*. Prames, Zaragoza: 31 pp.
- Stephens, W.W. y J.L. Farris. 2004. Instream community assessment of aquaculture effluents. *Aquaculture* 231: 149-162.
- Torralba Burrial, A. & F.J. Ocharan. 2007. Protocolo para la evaluación del estado ecológico de la red fluvial de Aragón (NE de España) según sus comunidades de macroinvertebrados bentónicos. *Limnetica* 26: 149-162.