

IV FORUM IBEROAMERICANO DE LOS RECURSOS
MARINOS Y DE LA AGUACULTURA



IV FIRMA PORTUGAL 2011

27_29|10|2011 VIANA DO CASTELO

IV FORUM IBEROAMERICANO DE LOS RECURSOS
MARINOS Y DE LA AGUACULTURA



IV FIRMA PORTUGAL 2011

27_29|10|2011 VIANA DO CASTELO

Organización



Apoio



Co-financiamento



UNÃO EUROPEIA
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional

DESIGN: GCI - Gabinete de Comunicação e Imagem - IPVC

IV FORUM IBEROAMERICANO DE LOS RECURSOS
MARINOS Y DE LA AGUACULTURA

IV FIRMA PORTUGAL 2011

27_29|10|2011 VIANA DO CASTELO



SEJAM BEM-VINDOS A PORTUGAL EM 2011!
BIENVENIDOS A PORTUGAL EN 2011!

IV Fórum Ibero-Americano dos Recursos Marinhos e da Aquacultura

Viana do Castelo, Portugal 26 a 28 outubro de 2011

Este livro deve ser citado da seguinte forma:

Todo o livro:

Vaz Velho M., Fernandes Seixas P., Lodeiros C., González N., Rey-Méndez M. 2012. *IV Foro Iberoamericano de Recursos Marinos y de Acuicultura*. Edit. Asociación Cultural Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, Santiago de Compostela, A Coruña, España. 468 pp.

Para um trabalho em especial (exemplo):

Moreira F., Pinheiro R., Carvalho D. 2012. A aplicabilidade dos princípios do *Toyota Production System* na indústria conserveira. *IV Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.*:135-144.

Composição: Libromar Ediciones y Gestión S.L.

Composição da cobertura:

Dep. Legal Libro: C2177-2012

ISBN Libro: 978-84695-6332-8

Apresentação

O Fórum Ibero-Americano dos Recursos Marinhos e da Aquacultura (FIRMA) foi criado para analisar o estado dos recursos marinhos vivos - grau de exploração, sustentabilidade, conhecimento e perspectivas de sua utilização - em diferentes países ibero-americanos e coadjuvar na promoção de uma exploração sustentada e eficiente das pescas e da produção aquícola. O FIRMA não é um congresso meramente científico que cobre os habituais circuitos de difusão da investigação na área das ciências marinhas e aquacultura. O FIRMA foi criado pela mão e à imagem do “Foro dos Recursos Marinhos e da Acuicultura das Rías Galegas” e teve a sua primeira edição em 2007 - I Foro Ibero-Americano dos Recursos Marinhos e da Aquacultura - na Ilha da Toxa, na Galiza. O II FIRMA (2008) teve lugar na Venezuela, e o III FIRMA (2010) no México.

Na sequência do planeado anteriormente o IV FIRMA teve lugar em 2011 em Viana do Castelo, Portugal.

O IV FIRMA, tal como os Fórum anteriores, pretendeu ser um espaço onde que os agentes envolvidos - empresas do sector, investigadores, universidades, instituições governamentais, e outros agentes de desenvolvimento regional, nacional e internacional, pudessem facilmente compreender, divulgar e interagir em prol do desenvolvimento do sector e num espaço mais alargado visando obter propostas concretas que permitam exercer ações a curto e médio prazo, com o objetivo de otimizar a gestão dos recursos marinhos e o desenvolvimento da aquacultura no espaço Ibero-americano.

Durante este IV-FIRMA, no qual contámos com agentes e participantes de vários sectores, debateram-se questões fundamentais sobre o estado da pesca em Portugal que, apesar de ser dos países da Europa com maior área de pesca, tem sofrido sucessivos cortes nas suas quotas (até 50% desde a adesão de Portugal à CEE), e afronta hoje sérias dificuldades para permanecer ativa e viva.

Também se debateu a concorrência desleal de países terceiros que praticam a pesca sem qualquer tipo de regras ou as práticas ilegais que devem ser perseguidas e punidas para impedir estas injustiças que muitas vezes acabam com aqueles que agem com respeito pelo mar.

A necessidade de se atuar, primeiro com debate e pensamento estratégico e depois com ações concertadas entre os vários agentes científicos, associações profissionais e governamentais, foi relevada no IV FIRMA, concluindo-se ser necessária uma abordagem holística para as questões do mar, assente numa gestão integrada das zonas costeiras e num planeamento

estratégico para a utilização do espaço marítimo.

No setor da aquacultura, fonte de proteína animal marinha e demais recursos, fez-se um retrato do panorama nacional e das perspectivas de futuro em Portugal. É certo que na última década a produção nacional se estancou nas cerca de 8.000 Ton/ano, mas nestes últimos anos muito se tem feito para contornar esta situação, atraindo não só investimentos estrangeiros, como também apoiando as empresas já consolidadas. Existe hoje, como nunca antes houve, um plano estratégico de incentivo à aquacultura que se espera que permita despertar todo o potencial disponível. A sustentabilidade foi tema central neste debate, já que é preciso conciliar produção aquícola com geração de postos de trabalho e riqueza, e com conservação e gestão cuidada do meio natural.

Os convidados da Espanha e da América Latina ensinaram-nos que muito mais pode ser feito, e brindaram-nos com exemplos de inovação e melhoria de competitividade, com aproveitamento e valorização de efluentes, com aquacultura integrada e potencial de novas espécies de elevado valor comercial. Houve tempo para tudo, até para questionar se realmente estamos a interligar bem as interdependências entre recursos ambientais com a sociedade e a economia.

Mas a maior satisfação veio dos estudantes e assistentes que reiteradamente nos transmitiram a sua satisfação pelas questões tratadas neste IV FIRMA e da utilidade deste evento como ponto de encontro de empresas, institutos de I+D e órgãos governamentais, que no seu conjunto aportaram uma visão mais global das oportunidades e problemas da atualidade.

Este IV FIRMA destacou-se ainda pelo elevado número de empresas convidadas nas diferentes temáticas que nos deram a sua visão num contexto de dificuldades acrescidas e crise agravada. Partilhar connosco soluções e formas de reagir a esses problemas incentiva-nos a acreditar que podemos fazer mais e melhor.

Com a mesa da tecnologia do pescado e alimentação aprendemos certamente mais sobre a importância da dieta Atlântica e dos hábitos de consumo ibéricos. Falou-se ainda do valor acrescentado que podem ter produtos e subprodutos da pesca e aquacultura, e que podem originar novas oportunidades de negócio.

Não poderíamos deixar de falar do bacalhau, rei incontestável nas nossas mesas em inúmeras ocasiões, seja em reuniões de negócios ou em lazer com familiares e amigos. A história que nos liga a este recurso é secular, recheada de tragédia mas também de fortuna e abundância, já enraizada talvez nos nossos genes. O bacalhau é motor da economia, e é certamente um recurso que pode trazer ainda mais-valias para a indústria da transformação através do desenvolvimento de novos produtos inovadores para exportação.

No sector da biotecnologia, destacou-se o papel que as micro- e as macroalgas podem ter como fonte de extração de compostos de alto valor comercial para a aquacultura e para o consumo humano, ou como fonte de biocombustíveis. Estes recursos, tão abundantes na nossa costa, continuam a ser menosprezados quando neles deveriam ser realçados.

Também as fontes hidrotermais encerram um enorme potencial biotecnológico que não pode ser descurado, podendo dar trabalho a investigadores, estudantes, empreendedores e empresas visionárias.

Finalmente concluímos que sem as redes de cooperação nada podemos fazer, a comunicação é vital, a troca de informações é hoje chave de acesso a conhecimento e competitividade. Só com diálogo, esforços conjuntos e construindo laços estratégicos podemos fazer a ponte da Ibéria com a América Latina, para ligar os dois continentes separados por este vasto Oceano Atlântico.

Este livro pretende refletir a imagem de todas as vivências, debates e discussões do IV FIRMA, através das suas 468 páginas, contendo a maioria das conferências e dos trabalhos apresentados.

A Comissão Organizadora

Agradecimentos

A comissão organizadora do IV Fórum Ibero-americano dos Recursos Marinhos e da Aquacultura apresentam os seus agradecimentos pela colaboração e apoio prestados na organização e desenvolvimento do IV FIRMA às seguintes entidades:

Instituto Politécnico de Viana do Castelo (IPVC), Portugal

Universidade do Porto, Portugal

Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

Universidade do Oriente, Venezuela

Fundación Sonora, México

Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR), Portugal

Escola Superior de Tecnologia e Gestão (ESTG/IPVC), Portugal

Grupo de Ação Costeira do Litoral Norte (GAC Alto Minho), Portugal

Asociación Cultural Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas

PORTUGAL FOODS, Pólo de Competitividade Agroindustrial, Portugal

OCEANO XXI, Cluster do Conhecimento e Economia do Mar, Portugal

Câmara Municipal de Viana do Castelo (CMVC), Portugal

Comunidade Intermunicipal do Alto-Minho (CIM-Alto Minho), Portugal

AQUALGAE S.L., Espanha

Programa Operacional Regional do Norte, ON2, Portugal

Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN) 2007/2013, Portugal

União Europeia, Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional

A todas as pessoas e instituições que contribuíram para o sucesso deste Fórum, mais uma vez, o nosso muito obrigado

Comité Presidencial

Rui Alberto Martins Teixeira, Presidente do Instituto Politécnico de Viana do Castelo

José Carlos Diogo Marques dos Santos, Reitor da Universidade do Porto

Juan Casares Long, Reitor da Universidade de Santiago de Compostela

Milena Bravo, Reitora da Universidade do Oriente, Venezuela

Avelino de Freitas de Meneses, Reitor da Universidade dos Açores

João Pinto Guerreiro, Reitor da Universidade do Algarve

Nuno André Oliveira Mangas Pereira, Presidente do Instituto Politécnico de Leiria

Carlos Moreira da Silva, Presidente da COTEC Portugal, Associação Empresarial para a Inovação

António Nogueira Leite, Presidente do Conselho de Administração da Oceano XXI

Basílio Horta, Presidente do Conselho de Administração da AICEP, Agência Portuguesa para o Investimento

José Maria Costa, Presidente da Câmara Municipal de Viana do Castelo e Presidente do Órgão de Administração do Grupo de Acção Costeira Litoral Norte

Júlia Paula Pires Pereira da Costa, Presidente da Câmara Municipal de Caminha

Fernando João Couto e Cepa, Presidente da Câmara Municipal de Esposende

José Manuel Vaz Carpinteira, Presidente da Câmara Municipal de Vila Nova de Cerveira

Comissão organizadora:

Manuela Vaz Velho, Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo (ESTG/IPVC), Portugal

João Coimbra, do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR) da Universidade do Porto, Portugal

Pedro Seixas, Centro de Investigação em Biologia (CIBUS), Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

César Lodeiros Seijo, Universidad de Oriente, Venezuela

Rodrigo Osório, CIIMAR

Rita Pinheiro, ESTG/IPVC, Portugal

Joana Santos Guerreiro, ESTG/IPVC, Portugal

Júlio César Lopes, Escola Superior Agrária do IPVC, Portugal

Comissão Científica:

João Coimbra, CIIMAR, Portugal

César Lodeiros Seijo, Universidad de Oriente, Venezuela

Manuel Rey Méndez, Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

Luísa Valente, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal

Maria Teresa Dinis, Universidade do Algarve, Portugal

Manuela Vaz Velho, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal

Ricardo Serrão Santos, Universidade dos Açores, Portugal

Rui Pedrosa, Instituto Politécnico de Leiria, Portugal

Leonor Nunes, Instituto Nacional dos Recursos Biológicos/Instituto de Investigação das Pescas e do Mar, Portugal

Nieves González, Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), Espanha

Alejandro Guerra Díaz, Centro de Investigacións Marinas (CIMA), Xunta da Galiza

Jacobo Fernández Casal, Insuiña, S.L., Galiza, Espanha

José Iglesias Estévez, Instituto Espanhol de Oceanografía

Associação Cultural Fórum dos Recursos Marinhos e Aquacultura das Rias Galegas:

Presidente: Manuel Rey Méndez. Universidad de Santiago de Compostela

Secretaria: Rosa M^a Martín García

Tesoureiro: Alejandro Guerra Díaz. Centro de Investigacións Mariñas de Corón

Vocal: Jacobo Fernández Casal. Biólogo de Insuiña S.L.

Vocal: Jorge Rodríguez Castro. Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular da Universidade de Santiago de Compostela

Vocal: Meyling Tang. Periodista

Coordinador Xeral Firma: César Lodeiros Seijo, Universidad de Oriente, Venezuela

Índice	Pág.
Programa IV FIRMA	15
Conferências	21
Produção de bivalves em Portugal	
Gaspar M.B., Joaquim S., Matias D., Leitão A.	23
Cultivo de especies de interés comercial en diferentes salinidades ambientales: dorada, corvina y pargo como ejemplos	
Mancera J. M., Cárdenas S.	37
Producción de atún rojo en el Mediterráneo	
De la Gándara F.	49
Valorization of semi-intensive aquaculture products	
Dinis M.T.	59
Dieta Atlántica	
Tojo R., Leis R.	65
Fotobiorreactores: aplicaciones biotecnológicas para acuicultura	
Seixas P. , Peña J.	89
<i>Quorum sensing</i> y <i>Quorum quenching</i> en el medio marino: una alternativa a los antibióticos en acuicultura	
Romero M., Otero A.	91
Exploring the potential value of the immense Portuguese Sea	
Martins A.R., Rodrigues C., Andrade G, Cerejo M., Pinheiro R., Calado P, Vieira H.	101
As algas como fonte de compostos bioativos	
Pinteus S., Alves C., Rodrigues A., Horta A., Simões T., Tecelão C., Pedrosa R.	109
Biotecnología algal en Latinoamérica: evolución de líneas de investigación y nuevos retos en Campos de Frontera	
Olgúin E.J.	115
Acuicultura para el desarrollo sostenible: plan de cooperación tecnológica para el desarrollo de la acuicultura marina en el Perú	
Fernández Aldana J.M.	127
Posters	133
A aplicabilidade dos princípios do <i>Toyota Production System</i> na indústria con- serveira	
Moreira F., Pinheiro R., Carvalho D.	135

Amino acid research in marine fish larvae and juveniles: applications to aquaculture	
Aragão C., Pinto W., Costas B., Dinis M.T., Conceição L.E.C.	145
Avaliação da virulência de duas estirpes de <i>Tenacibaculum maritimum</i> por métodos <i>in vitro</i>	
Simões I., Costas B., Marques J.F., Castro-Cunha M., Afonso A.	147
Características morfológicas de los huevos y las larvas de la merluza europea (<i>Merluccius merluccius</i> L.)	
Sánchez F.J., Otero J.J., Cal R.M., Lago M.J., Gómez C., Iglesias J.	155
Comparación del crecimiento de <i>Isochrysis aff. galbana</i> clon T-ISO en distintos modelos de fotobiorreactor	
Cortina-Burgueño A., Nascimento P., Freire I., Ación F.G., Otero A.	163
Conservação de refeições à base de peixe em atmosfera modificada	
Araújo A., Barbosa C., Alves M.R.	171
Constructed Wetlands for freshwater and saline aquaculture wastewater treatment: a microcosm experience	
Jesus J.M., Borges M.T., Calheiros C., Castro P.M.L.	179
Consumo de água e geração de resíduos na preparação de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>)	
Lourenço M.S., Nunes M.L., Costa S.R.R., Xavier L.S., Peixoto J.A.A., Chaguri M.P., Sant'Ana L.S.	187
Crecimiento de <i>Anemonia viridis</i> (Forskål, 1775) en el effluente de una piscifactoría	
Guerrero S., Domínguez J., Cremades J., Ancosmede C.	197
Crecimiento del mejillón <i>Perna perna</i> (Linnaeus, 1758), cultivado junto a una piscifactoría en Gran Canaria (Islas Canarias)	
Pérez Y., Bilbao A., Pavón N., Rey-Méndez M., Ruiz M., Louzara G., González N.	203
Dietary probiotics supplementation on growth performance and immune responses in rainbow trout	
Ramos M.A., Gonçalves J.F., Costas B., Batista S., Marujo V., Ramos B., Rema P., Ozório R.	215
Dissolved CO₂ monitoring in aquaculture: from indirect methods to fiber optic sensors	
Borges M.T., Jesus J.M., Domingues J.M., Jorge P.A.S., Pereira C.M.	223

Diversidad genética de la claca (<i>Megabalanus azoricus</i> Pilsbry, 1916) en los archipiélagos de la región Macaronésica	
Quinteiro J., Pérez-Diéguez L., Rodríguez-Castro J., Manent P., Araujo R., Carreira G., Brito A., González-Henríquez N., Rey-Méndez M.	227
Efecto de alimentos con harina de lombriz en alevines de trucha	
Isea León F., Medina A.L., Rial L., González A., Aguirre P.	237
Efecto de diferentes medios de cultivo sobre la producción de <i>Thalassiosira weissflogii</i>	
Freire I., Seixas P., Otero A.	251
Eficacia de tres productos comerciales: Sanocare® ACE, Micro Control RICH y Pyceze® en la reducción de la carga bacteriana de Metanauplios de <i>Artemia</i> enriquecidos	
Rivera L., Costas D., Villanueva A.G., Casal A., Costoya N.	261
El consumidor español ante el etiquetado de los productos del mar: los criterios de compra	
Domínguez Jurado J.M., Jiménez García M.	269
Ensayos de reproducción de <i>Hippocampus reidi</i> (Ginsburg, 1933) 281	
González A., García L.	281
Esquema sensorial QIM (Método do Índice de Qualidade) do goraz-de-pinta (<i>Pagellus bogaraveo</i>)	
Sant'Ana L., Soares S., Vaz-Pires P.	289
Estudos preliminares para o desenvolvimento de um novo produto tipo “ca- viar”	
Pinheiro C., Pinheiro R., Fonseca S., Vaz Velho M.	297
Evolución de la comunidad acompañante tras la extracción del erizo <i>Diadema aff. antillarum</i> en Gran Canaria (Islas Canarias)	
Ruiz de la Rosa M., Louzara G., González-Henríquez N.	305
Gonadal macroscopic characteristics as a management tool in a razor clam fishery	
Hernández-Otero A., Macho G., Martínez-Castro C., Torres-Machado A., Ferreiro P., Vázquez E.	327
Identificación y cuantificación de larvas de ostras por PCR en tiempo real	
Sánchez A., Quinteiro J., Rey-Méndez M., Pérez-Martín ^R . R.I., Sotelo C.	337
Metales, metalotioninas y tasa de crecimiento del bivalvo <i>Lima scabra</i>, Venezuela	
Lemus M., Cedeño A., Salazar R., Aponte A., Chung K.	349

Moluscos como recurso marino en asentamientos precolombinos en el Edo. Sucre, Venezuela	
Lodeiros C., Antulio P., Cipriani R., Pérez L.G., Conteras R.	357
Novas estratégias de valorização de produtos da pesca e aquacultura	
Nunes M.L., Cardoso C.	367
O efeito da ultracongelção de <i>Laminaria ochroleuca</i> nas suas propriedades organolépticas	
Pinheiro R., Pimenta I., Vaz Velho M.	377
Observações a bordo da pescaria do cerco: padrão de actividade, composição das capturas, rendimentos de pesca e interacções com cetáceos em 2010	
Feijó* D., Marçalo A., Vingada J., Silva A.	383
Osmoregulation and energy metabolism in the thick-lipped grey mullet (<i>Chelon labrosus</i>) submitted to different environmental salinities	
Pujante I.M., Martos-Sitcha J.A., Ruiz-Jarabo I., Mancera J.M.	399
Preengorde en el medio natural de semilla de almeja babosa (<i>Venerupis pullastra</i>) y coquina (<i>Donax trunculus</i>) en sistemas de flujo forzado invertido y flujo lineal	
Guerra A., Lastres M., Rivas M.C., Ancosmede C., De Santiago J.A.	409
Presencia de toxinas PSP en fitoplancton y en moluscos de la costa norte del estado Sucre, Venezuela y su relación con las condiciones climáticas	
Rojas de Astudillo L., Diaz- Ramos J.R., Cova M., Subero-Pino S.	421
Presencia y efectos histopatológicos del copépodo (<i>Herrmannella rostrata</i> Canu, 1891) en berberechos (<i>Cerastoderma edule</i> Linnaeus, 1758) de Galicia (NO España)	
Díaz S., Madinabeitia I., Villalba A., Ho J., Carballal M.J.	435
Química sanguínea en juveniles de <i>Colossoma macropomum</i> en condiciones de cultivo	
Salazar-Lugo R., Vargas A., Blanco Y., Lemus M., Centeno L.	445
Viabilidad del cultivo de ostra plana <i>Ostrea edulis</i> en Galicia en zonas afectadas por bonamiosis	
Montes J., Iglesias D., Guerra A.	453
Índice de autores	463

Programa

Quinta-feira, 27/10/2011 -1º Dia IV FÓRUM

08:30-09:15 Recepção e recolha da documentação. Colocação dos *posters*

09:15-10:15 Inauguração oficial do IV FIRMA

Presidente da Comissão Organizadora do IV FIRMA e Directora da ESTG/IPVC,
Manuela Vaz Velho

Presidente da Comissão Científica do IV FIRMA e Director do CIIMAR, João
Coimbra

Presidente do IPVC, Rui Teixeira

Presidente da Câmara Municipal de Viana do Castelo, José Maria Costa

Secretário de Estado do Mar, Manuel Pinto de Abreu

Presidente da Associação Cultural Forum dos Recursos Marinhos e Aquacultura das
Rias Galegas, Manuel Rey Méndez

Coordenador Geral do FIRMA, César Lodeiros Seijo, Universidad de Oriente,
Venezuela

Tema I: Pescas e Sustentabilidade dos Recursos Marinhos

Moderador: Nuno Campo

10:20 Rede Nacional de Grupos de Acção Costeira – GAC

José Maria Costa, Presidente do Órgão de Administração do GAC-Litoral Norte.

10:40 Situação actual e futuro da pesca industrial em Portugal

Miguel Cunha, Associação dos Armadores das Pescas Industriais (ADAPI), Portugal.

11:00 *Coffee-break* e visualização dos *posters*

11:20 Trocas comerciais de pescado/controlo e vigilância das pescas nas relações Europa
países Iberoamericanos

Mário Lopes dos Santos, Agência Comunitária de Controlo das Pescas (CFCA), Vigo,
Espanha

11:40 Certificação MSC da sardinha portuguesa

Humberto Jorge - Associação Nacional das Organizações de Produtores da Pesca do
Cercos (ANPOCERCO), Portugal

12:00 Conferência Magistral: “Recursos Marinhos e Aquacultura no Brasil”

Wagner Valenti, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil

13:00 Almoço

Tema II: Aquacultura: sustentabilidade e novas oportunidades

Moderador: Rodrigo Ozório

14:30 Perspectiva actual da aquacultura em Portugal

José Calheiros – Quinta do Salmão/AQUAMAR, Portugal

14:50 Produção de bivalves em Portugal

Miguel Gaspar, Centro Regional de Investigação Pesqueira do Sul (CRIPSul), IPIMAR, Portugal

15:10 Cultivo de espécies de interesse aquícola em diferentes salinidades ambientais

Juan M. Mancera, Universidade de Cádiz (UCA) y Salvador Cárdenas, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Espanha

15:30 Linguado e pregado em sistemas de recirculação (RAS) intensivos

Renata Serradeiro, AQUACRIA Piscícolas S.A., Portugal

15:50 Conferência magistral: Applied Nutrition for Sustainable Aquaculture Development

Sadasivam Kaushik, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), França

16:30 *Coffee-break* e visualização dos *posters*

Moderador: Luísa Valente

16:50 Produção do atum vermelho no Mediterrâneo

Fernando de La Gandara, Instituto Espanhol de Oceanografia, Centro de Múrcia, Espanha.

17:10 Valorização de produtos de aquacultura semi-intensiva

Maria Teresa Dinis, CCMAR, Universidade do Algarve, Portugal

17:30 Aproveitamento e tratamento de efluentes de águas residuais de aquacultura marinha em terra

Alejandro Guerra, Centro de Investigacións Marinas (CIMA), Xunta da Galiza, Espanha

17:50 A aquacultura no México e projecções para a sua diversificação

Manuel Lira, Fundación Sonora, México

Tema III: Alimentação, Tecnologia e Qualidade do Pescado

Moderador: Manuela Vaz Velho

18:10 O consumo de pescado na Europa - Caracterização do consumidor português e tendências

Ana Oliveira Madsen, Universidade de Syddansk, Dinamarca

18:30 Dieta Atlântica

Rafael Tojo, Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

18:50 Avaliação da qualidade de pescado

Paulo Vaz-Pires, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

19:10 Sistema Integrado de Gestão Alimentar - Projecto SIGA - FoodIntech e IPVC

Miguel Fernandes, FoodIntech.

19:30 Novas estratégias de valorização de produtos da pesca e aquacultura

Leonor Nunes, Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (IPIMAR)

19:50 A Indústria do bacalhau em Portugal - Situação actual e perspectivas futuras

João Vieira, Pascoal e Filhos S.A.

20:10 Encerramento da jornada

21:00 Jantar

Sexta-feira, 28/10/2011- 2º Dia IV FÓRUM

Tema IV: Biotecnología

Moderador: Manuel Rey Méndez.

09:30 Microalgas como fonte de redução de CO2 e produção de biocombustíveis

Maria Barbosa, Algae Production and Research Centre- Universidade de Wageningen, Holanda

09:50 Fotobiorreactores - Aplicações biotecnológicas para aquacultura

Pedro Seixas, AQUALGAE S.L., Espanha

10:10 *Quorum sensing e quorum quenching* no meio marinho: a alternativa aos antibióticos em aquacultura

Ana Maria Otero, Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

10:30 Exploração do potencial biotecnológico do mar Português

Ana Martins, BIOALVO, Portugal

11:00 *Coffee-break* e visualização dos *posters*

Moderador: Pedro Seixas

11:30 As algas como fonte de compostos bioactivos

Rui Pedrosa, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria, Portugal

11:50 Fontes hidrotermais

Ricardo Serrão Santos, Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores, Portugal

12:10 Conferência magistral: evolução e impacto da biotecnologia de algas na América Latina

Eugenia Olguin Palacios, Presidente da Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal, Instituto de Ecología de México

13:00 Almoço

Tema V: Redes de cooperação

Moderador: João Coimbra

14:30 Cooperação científico-empresarial no entorno Ibero-americano

Javier Remiro, Director Gerente da Fundação Observatório Espanhol da Aquacultura

14:50 Portugal Foods - Apresentação das linhas estratégicas do Pólo de Competitividade

Ondina Afonso, Directora Executiva

15:20 OCEANO XXI – Cluster do Conhecimento e Economia do Mar

Emílio Brogueira Dias, Director

15:40 Plan de cooperación tecnológica entre Perú y España para el desarrollo de los cultivos marinos en el Perú

Juan M. Fernández Aldana, Director de APROMAR Cooperación (Espanha)

16:00 Cooperação Internacional da Galiza à América do Sul

António Fernandez Rodríguez, Subdirector Geral da Competitividad y Cooperación Internacional de la Xunta de Galicia

16:20 COTEC Portugal

Daniel Bessa, Director-Geral da COTEC Portugal, Associação Empresarial para a Inovação

16:40 Programa Ibero-americano de Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento (CYTED)

Jordi Aguiló, Coordenador do Programa Científico e Tecnológico do CYTED, Espanha

17.00 Entrega dos Prémios aos Melhores Posters

17.10 Conclusões finais

17.20 Apresentação do V FIRMA

Salvador Cárdenas, Junta da Andaluzia

19.30 Jantar no navio Santa Maria Manuela, limite de 200 pessoas

Sábado, 29/10/2011 -3º Dia IV FÓRUM

09.00 Viagem no Santa Maria Manuela (todo o dia em pensão completa, limite de 50 pessoas)

Conferências

Produção de bivalves em Portugal

Gaspar* M.B., Joaquim S., Matias D., Leitão A.

Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P/ L-IPIMAR, Av. 5 de Outubro s/n,
8700-305 Olhão, Portugal. *E-mail: mbgaspar@ipimar.pt

Introdução

A pesca artesanal e a aquicultura são actividades de extrema relevância para Portugal uma vez que funcionam como factores de fixação das populações sendo fundamentais para diversas comunidades ribeirinhas, especialmente aquelas extremamente dependentes da pesca e que apresentam dificuldades de reconversão e diversificação para além de, muitas vezes, não existirem, nessas áreas, alternativas de emprego viáveis. Ao longo de grande parte da costa do continente português ocorrem numerosas espécies de bivalves de elevado valor comercial e que têm sido alvo de exploração ou de produção aquícola desde há muito, contribuindo de forma significativa para a manutenção das economias locais e constituindo um motor gerador de riqueza e emprego no litoral. Deste modo, a captura e a moluscicultura de bivalves apresentam-se como actividades com grande importância sócio-económica em Portugal Continental, envolvendo directa ou indirectamente mais de 12.000 pessoas, com uma produção total declarada em 2009 de cerca de 7.500 t a que correspondeu a um valor aproximado de 30 milhões de euros.

A pesca de bivalves é efectuada ao longo de praticamente toda a costa, a partir de embarcação, por pescadores apeados ou apanhadores que desenvolvem a sua actividade em zonas arenosas do litoral oceânico, em falésias rochosas, estuários ou, ainda, em acidentes geográficos naturais como rias e lagoas costeiras e estuários. Por sua vez, a cultura de bivalves tem sido realizada tradicionalmente em lagoas costeiras, estuários e rias. No entanto, nos últimos anos tem-se assistido à expansão da moluscicultura para zonas de mar aberto *off-shore* em sistemas do tipo *long-line*. Enquanto que o potencial de crescimento da moluscicultura

in-shore é relativamente pequeno, dado que grande parte das áreas passíveis de produção já se encontram ocupadas, a moluscicultura *off-shore* apresenta-se como uma actividade em franco crescimento, podendo vir a ultrapassar, num futuro próximo, a produção de bivalves em sistemas tradicionais.

O presente artigo encontra-se dividido em três partes, sendo a primeira dedicada à pesca (áreas de pesca, frota de pesca, número de profissionais envolvidos, artes de pesca utilizadas, espécies alvo e produção), a segunda dirigida à moluscicultura (métodos de produção, áreas de produção e produção estimada) e a terceira está relacionada com a investigação realizada no IPIMAR quer na área da pesca, quer na área da moluscicultura. Neste último caso faz-se uma breve descrição das linhas de investigação levadas a cabo e que têm por objectivo último apoiar o sector pesqueiro e aquícola no sentido de garantir a sustentabilidade a longo-prazo destes dois importantes sectores.

A pescaria de bivalves

A pesca de bivalves é levada a cabo ao longo de toda a costa portuguesa quer através de uma frota de pesca especializada para a sua captura, quer através de pescadores apanhados e de apanhadores.

Pesca a partir de embarcação

Frota e áreas de pesca

A frota de pesca utiliza dois tipos de artes de pesca, ganchorra e sarilho, dependendo da área de pesca. A arte de ganchorra é utilizada ao longo de grande parte da zona costeira oceânica de Portugal continental enquanto a arte de sarilho é apenas utilizada no estuário do Rio Tejo (Fig.1).

Em 31 de Dezembro de 2010 encontravam-se licenciadas em Portugal continental para a pesca de bivalves com ganchorra 85 embarcações, 11 das quais operam na Zona Norte (ZN) (entre Matosinhos e a Figueira da Foz), 21 exercem a actividade na Zona Ocidental Sul (ZOS) (entre a Costa da Caparica e Sines) e as restantes 53 fainam na Zona Sul (ZS) (entre Lagos e Portimão e entre Olhos de Água e Vila Real de Santo António). A capacidade de pesca desta frota é de 650,83 t e de 5.592,39 kW, sendo de 158,72 t e 1.144,42 kW na ZON, de 193,88 t e 1509,31 kW na ZOS e de 298,23 t e 2.938,66 kW na ZS.

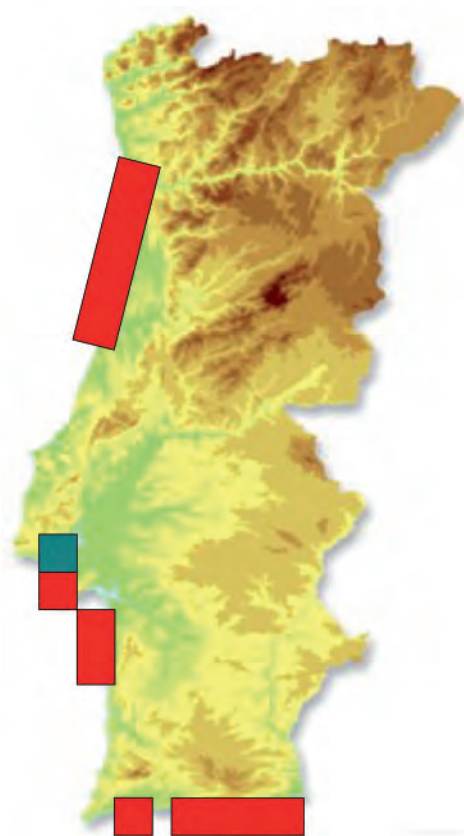


Figura 1.- Áreas de pesca da frota de ganchorra (■) e da frota de sarilho (■).

De sublinhar que para além das licenças atribuídas às embarcações acima referidas, existem, ainda, 25 licenças para embarcações espanholas que operam na Zona Sul ao abrigo do Acordo Luso-Espanhol, assinado em 2003.

A frota de sarilho é constituída por 31 embarcações com comprimento fora-a-fora entre 5,25 e 6,94 m, apresentando uma capacidade de pesca de 76,71 t e de 1.115,18 kW.

Artes de pesca

A pesca é realizada com ganchorra que é uma arte de arrasto pelo fundo. A ganchorra é uma estrutura metálica, constituída por um aro em semicircunferência, que na posição de diâmetro tem a barra onde está implantado um pente de dentes. O tamanho dos dentes, dependente da espécie a que se destina, variando entre os 10 cm no caso da conquinha e os

60 cm no caso da navalha. A este aro está soldada uma outra estrutura metálica, formada por três hastes em forma de tripé, onde se amarra o cabo de tracção e o cabo da “rabeira” ou do “vira”. O marisco que entra na ganchorra é retido por um saco de rede (ganchorra tradicional, Fig. 2A) ou por uma grelha metálica (ganchorra de grelha, Fig. 2B). Atualmente, a ganchorra tradicional é utilizada apenas na pesca da navalha, enquanto que a ganchorra de grelha é utilizada para capturar as outras espécies.



Figura 2.- A: Ganchorra tradicional; B: Ganchorra de grelha.

O sarilho utiliza na captura dos bivalves uma ganchorra do tipo tradicional só que quer a alagem da arte para bordo quer o arrasto é efetuado manualmente utilizando um sarilho (daí o nome da arte) que é um cilindro horizontal móvel, acionado por uma manivela ou um aro circular, em volta do qual se enrola o cabo de vira da arte (Fig. 3).



Figura 3.- Pesca de bivalves com ganchorra manobrada com sarilho (Fonte: Paula Chainho, Instituto de Oceanografia).

Espécies alvo

A pesca com ganchorra é dirigida a um conjunto de espécies que varia entre zonas de pesca. Na ZN, embora várias espécies possam ser alvo de captura (como a castanhola *Glycymeris glycymeris*, tellina-grande *Tellina crassa* e a amêijoia-relógio *Dosinia exoleta*), a maior parte do esforço de pesca recai sobre a amêijoia-branca (*Spisula solida*). Na ZOS as principais espécie alvo são a amêijoia-branca, a navalha (*Ensis siliqua*), a conquitilha (*Donax trunculus* e *D. vittatus*) e a ameijola (*Callista chione*). Relativamente à ZS, são quatro as espécies exploradas nomeadamente a amêijoia-branca, a navalha, a conquitilha (*D. trunculus*) e o pé-de-burrinho (*Chamelea gallina*).

No que respeita à pesca com sarilho, o esforço de pesca é dirigido unicamente à captura da amêijoia-macha (*Venerupis senegalensis*).

Pesca apeeda e apanha

Número de profissionais, áreas e artes/técnicas de pesca

Em 31 de Dezembro de 2010 encontravam-se licenciados em Portugal continental 1.451 profissionais, 341 dos quais são pescadores apeedos que utilizam na faina artes de pesca (ganchorra de mão, ancinho e berbigoeiro) (Fig. 4). Os restantes apanhadores (1.110) são classificados como “apanhadores de animais” e a captura é feita manualmente ou utilizando utensílios rudimentares de pesca (pá, sacho, faca de mariscar, etc) (Fig.5).

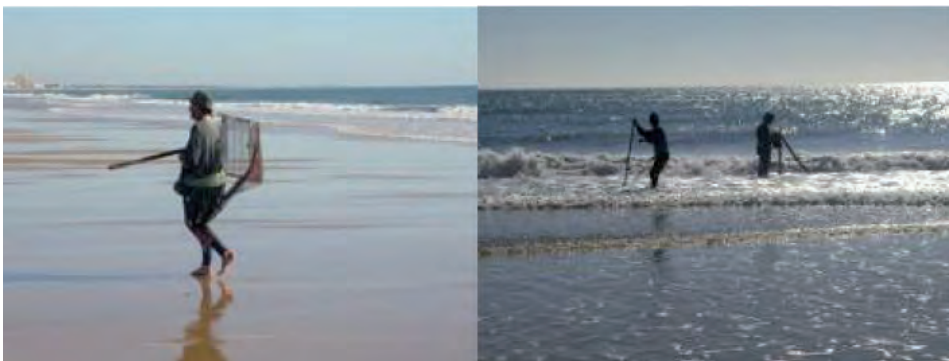


Figura 4.- Pesca apeeda com ganchorra de mão.



Figura 5.- Exemplos de métodos de pesca utilizados pelos apanhadores de bivalves.

O maior número de profissionais licenciados encontravam-se registados na NUTS II do Centro (533), seguindo-se da NUTS II Lisboa e Vale do Tejo, Algarve e Alentejo com 417, 403, 60 e 38 apanhadores, respectivamente. A distribuição do número de profissionais que se dedica à captura de bivalves está relacionada, por um lado, com a distribuição das espécies alvo e, por outro, com a localização dos principais acidentes naturais existentes no continente, nomeadamente, estuários, lagoas costeiras e rias.

A pesca apeada é exercida sobretudo ao longo de praias arenosas e rias, enquanto que a actividade de apanha é levada a cabo em zonas rochosas, estuários, lagoas costeiras e rias (Fig. 6).

Espécies alvo

A pesca apeada tem como espécies alvo a conquitilha, se a pesca é exercida em praias costeiras arenosas, e o berbigão (*Cerastoderma edule*), a amêijoia-macha e a amêijoia-japonesa (*Ruditapes philippinarum*), quando a pesca ocorre em acidentes naturais. No caso da apanha, em zonas rochosas a captura é dirigida para o mexilhão (*Mytilus edulis*), enquanto que nas rias, estuários e lagoas costeiras o esforço de pesca recai sobre variadas espécies como a amêijoia-boa (*Ruditapes decussatus*), a amêijoia-macha, a amêijoia-japonesa, o berbigão, a lambujinha (*Scrobicularia plana*), o longueirão (*Solen marginatus*) e a ostra (*Crassostrea* spp.).

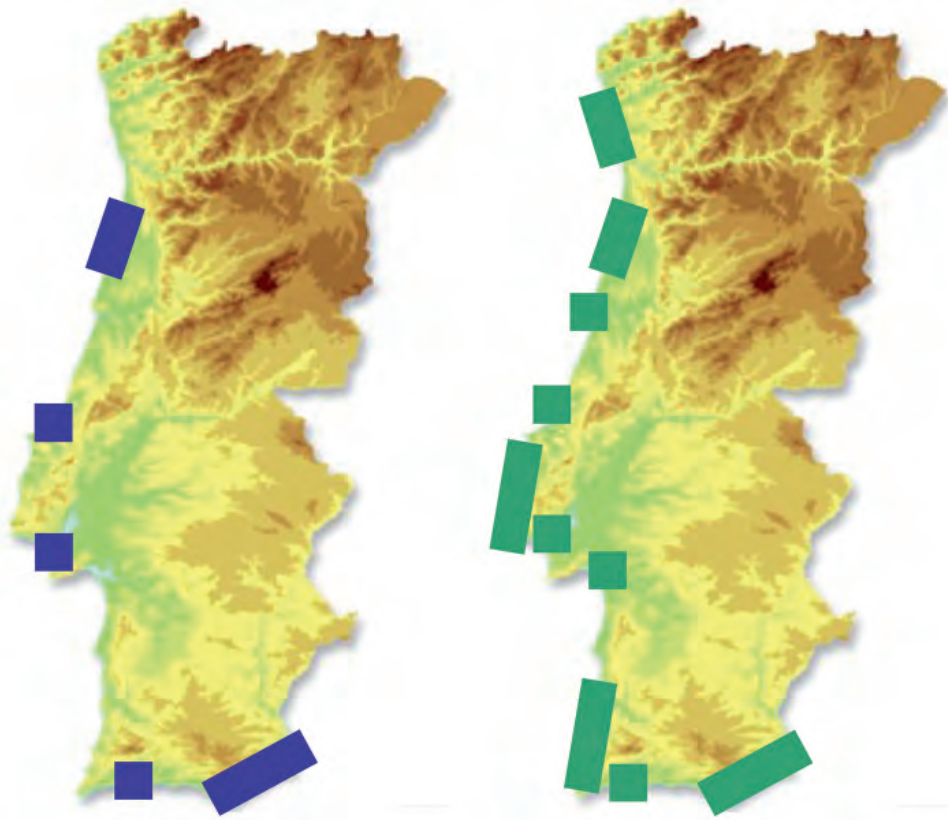


Figura 6.- Áreas de pesca para pescadores apeados (■) e apanhadores (■).

Regulamentação da pesca de bivalves

Em termos gerais, a pescaria de bivalves é gerida através de quotas diárias de pesca por embarcação e espécie e por um período de defeso que se estende de 1 de Maio a 15 de Junho. O esforço de pesca encontra-se, ainda, limitado através do número de licenças máximas, número de dias de pesca por semana, bem como o número de horas em que a actividade pode ser levada a cabo. As características técnicas das diferentes artes de pesca encontram-se, também, regulamentadas.

No que respeita à pesca apeada e à apanha estão definidas as características técnicas das artes, as áreas de pesca onde a actividade pode ser exercida, épocas de defeso, assim como quantitativos máximos diários de captura por pescador. O esforço de pesca encontra-se limitado através de um número máximo de licenças.

Produção

Na figura 7 pode ser observada a evolução das capturas para os três métodos de pesca e para o período compreendido entre 1995 e 2010 no caso da ganchorra e sarilho e entre 2007 e 2010 para a pesca apeada e apanha.

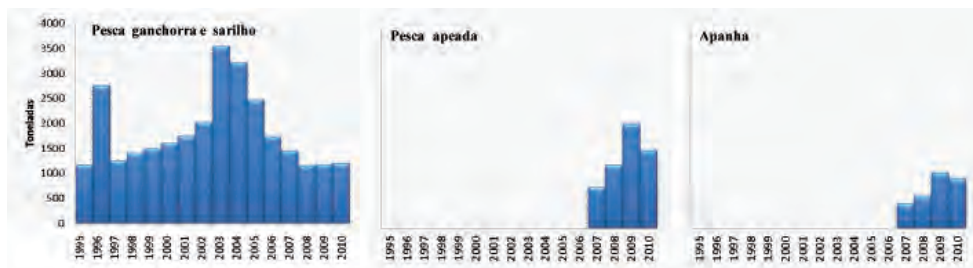


Figura 7.- Evolução das capturas de bivalves provenientes da frota de pesca de ganchorra e sarilho, pesca apeada e apanha (Fonte: DGPA).

Em 2010 foram desembarcadas 3.753 t de bivalves, das quais 1.200 t foram capturadas pela frota da ganchorra e sarilho, 1.554 t pela pesca apeada e 999 t foram provenientes da apanha. Em valor, as capturas totais corresponderam a cerca de 5,37 milhões € sendo a maior contribuição proveniente da frota da ganchorra e sarilho com 2,5 milhões € seguida da apanha e pesca apeada com 1,48 milhões € e 1,37 milhões € respectivamente (Fig. 8).

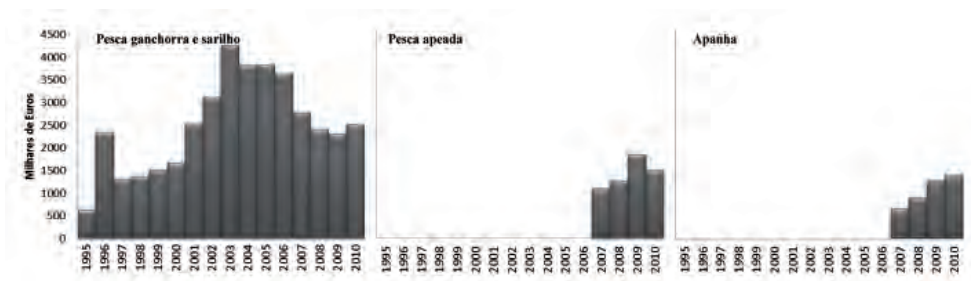


Figura 8.- Evolução do valor das capturas de bivalves provenientes da frota de pesca de ganchorra e sarilho, pesca apeada e apanha (Fonte: DGPA).

Pesca recreativa

Para além da pesca profissional existe uma pesca recreativa sazonal e significativa em

termos de volume capturado e que incide, sobretudo, sobre a conquitilha. Esta actividade recreativa é especialmente importante no Algarve (Sul de Portugal) durante o Verão. O grande fluxo de turistas para esta região aliado à grande acessibilidade dos bancos daquela espécie faz com que haja um aumento significativo da pressão sobre as populações de conquitilha. Para além do volume das capturas, estimadas entre 100 a 500 t/ano, a pesca recreativa poderá ter um impacto muito negativo dado que incide, maioritariamente, sobre a fracção juvenil da população da conquitilha. Tal, decorre do facto de na costa algarvia existir segregação por tamanhos em função da profundidade, ocorrendo uma maior proporção de juvenis na base da praia e uma predominância de adultos a maiores profundidades.

Moluscicultura

Aquacultura *in-shore*

Os sistemas de produção mais utilizados são os viveiros, parcelas do Domínio Público Marítimo, situadas nas zonas entre-marés, concessionadas especificamente para a atividade da moluscicultura. Segundo o plano de ordenamento da Ria Formosa, existem cerca de 1.560 áreas de concessão em exploração das 1.600 licenciadas, com uma área de ocupação de 470 ha. A Ria de Alvor e Vale da Lama têm 32 áreas de concessão licenciadas e a Ria de Aveiro tem 46 concessões que ocupam um total de 24 hectares.

O cultivo de amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) em viveiros processa-se, fundamentalmente, com base em juvenis capturados nos bancos naturais, sendo posteriormente, semeados nos viveiros a uma densidade entre 0,5 a 1 kg/m² (Fig. 9). Tomando como base a área ocupada pelos viveiros na Ria Formosa e considerando uma densidade média de produção de amêijoia-boia de 1,5 kg/m², avalia-se uma produção de cerca de 7.060 t por safra.

O cultivo de ostras (*Crassostrea gigas* e *C. angulata*) e os juvenis são proveniente de bancos naturais e de maternidades estrangeiras (Fig. 9).



Figura 9.- Cultivo de ostras e amêijo-a-boa em viveiros da Ria Formosa.

Apesar de numa escala reduzida, na Lagoa de Albufeira existe a cultura de mexilhão *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) em 19 jangadas, com uma produção média estimada de 45 t por jangada.

Aquacultura *off-shore*

A cultura em mar aberto *off-shore* insurgiu-se como alternativa aos sistemas tradicionais de produção de moluscos bivalves *in-shore*. Esta é uma atividade relativamente recente em Portugal, sendo o método asiático designado por *long-line* o mais utilizado. Este sistema está apto para o cultivo de ostra, viera (*Pecten* sp.) e mexilhão, entre outras espécies com interesse comercial. Trata-se de um sistema submersível que se adapta ao forte hidrodinamismo da costa portuguesa. É de fácil manutenção e com capacidade de ampliação.

Perante o interesse crescente pela cultura de bivalves em *off-shore*, em 2009 foi delimitada a primeira Área de Produção Aquícola (APA), denominada de Área Piloto de Produção Aquícola da Armonia (APPAA), situada em Olhão, no Algarve, ao largo da ilha da Armonia (Dec. Regulamentar nº9/2008 de 18 de Março) (Fig.10). Esta área é formada por um total de 60 lotes e estende-se por uma área útil de oito hectares cada um. Trinta por cento da produção aquícola na APPAA destina-se à produção de bivalves, sendo os lotes A1, B1, C1, D1 e E1 exclusivamente para bivalves, com a aposta a recair no mexilhão, nas ostras e nas vieiras. Possui capacidade para produzir 18 mil t, mais do dobro das oito mil toneladas que hoje se produzem em Portugal.

Mais de três dezenas destes lotes já foram atribuídos, 10 dos quais são projetos para a produção de bivalves. Estes projetos apostam em tecnologias inovadoras, como por exemplo os *smartline* para a produção de mexilhão. Este sistema foi concebido para a produção

exclusiva de mexilhão e está adaptado a zonas com forte hidrodinamismo. A sua manipulação e manutenção é rápida e dedicada o que permite a redução dos custos de mão-de-obra. Uma vez que todo o sistema fica submerso, o impacto ambiental e visual são reduzidos. Atualmente estão duas empresas a funcionar cuja produção atual é de 500 t/ano e a produção prevista ronda as 3.600 t/ano. Para além da zona da APPAA existem outras empresas a operar noutras áreas da costa algarvia. Entre Lagos e Sagres existem 3 empresas com licença de exploração com áreas de exploração que variam entre os 9 e os 33 ha e cuja produção também varia entre as 250 a e as 9.000 t por ciclo de produção.

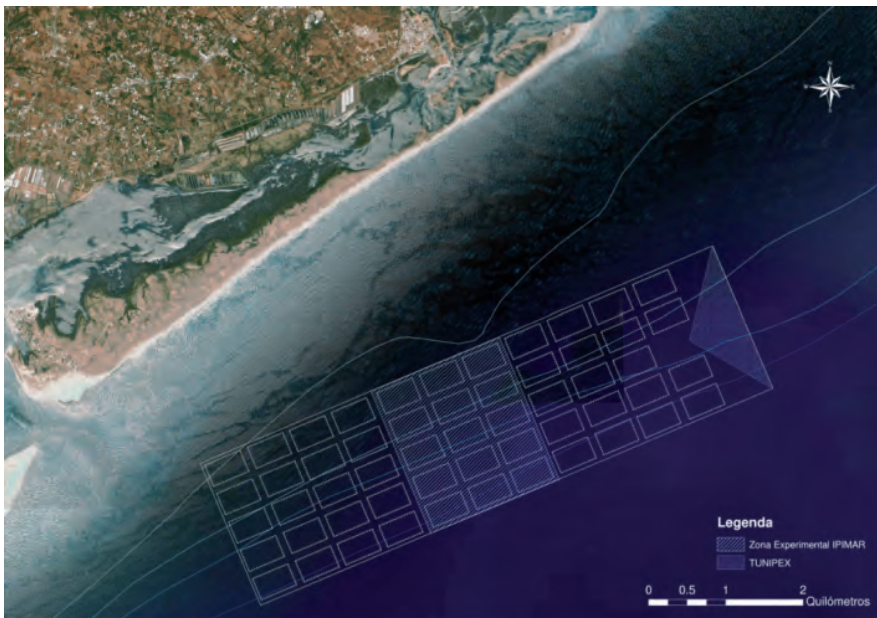
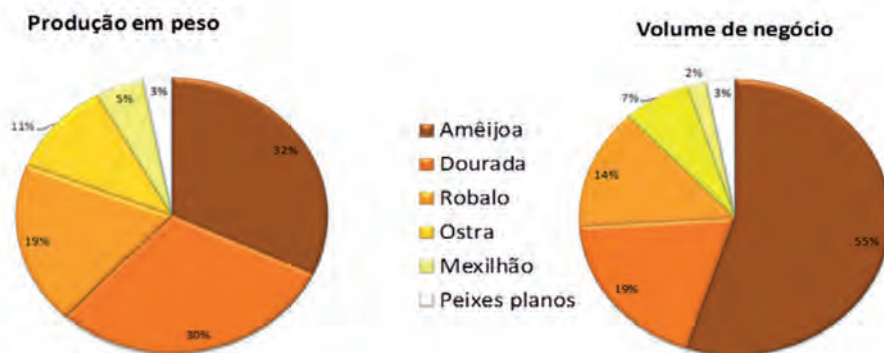


Figura 10.- Área Piloto de Produção Aquícola da Armona (APPAA), situada em Olhão, no Algarve.

Produção

Os cultivos marinhos constituem uma das actividades produtivas com maior potencialidade de crescimento como subsector pesqueiro em Portugal, atendendo às adequadas condições geográficas e socioeconómicas do país. Os bivalves representam uma grande parte da produção aquícola nacional, cerca de 48%, e se considerarmos o volume de negócio associado à actividade, essa representação é ainda superior (64%) (Fig. 11).

Em Portugal, a produção de moluscos bivalves baseia-se, essencialmente na cultura de amêijoia-boa e de ostra sendo as principais zonas de produção a Ria Formosa, a Ria de Alvor e a Ria de Aveiro. No Algarve, a actividade da moluscicultura assume grande importância, representando cerca de 90% da cultura nacional. Em 2008 foram produzidas 2.021 t de amêijoia-boa em Portugal. Relativamente à produção de ostra, o Algarve e a Ria de Aveiro foram as zonas de maior produção: 712 e 330 t, respectivamente. No seu conjunto, a produção de bivalves correspondeu a um valor aproximado de 23 milhares €



Fonte: DGPA, 2009

Figura 11.- Produção aquícola em Portugal no ano de 2009 (Fonte: DGPA).

Investigação

Recursos pesqueiros

A investigação em moluscos bivalves desenvolvida no IPIMAR tem por objectivo obter conhecimento científico que permita garantir a exploração sustentada dos recursos numa perspectiva ecosistémica. Assim, para além da monitorização dos recursos, fundamental para adoptar o esforço de pesca ao estado de conservação dos *stocks* comerciais, são levados a cabo estudos sobre a Biologia (ciclo reprodutivo e crescimento) e Ecologia (habitat, profundidade máxima de enterramento, etc.) das espécies, o que permite, por um lado definir tamanhos mínimos de captura e áreas de defeso e, por outro, adequar a arte de pesca à espécie alvo. Neste sentido, são também efectuados estudos de selectividade para definir qual a melhor malhagem ou comprimento de dentes a utilizar na exploração dos diferentes recursos de bivalves.

Um outro aspecto que tem merecido especial atenção prende-se com estudos de impacto da pesca na diversidade genética dos recursos explorados e no ecossistema. A identificação dos principais impactes tem permitido modificar a arte de pesca e implementar medidas de gestão de modo a mitigar os efeitos negativos da pesca quer no ecossistema quer nas populações exploradas.

Uma outra linha de investigação em curso está relacionada com o ensaio de novas medidas de gestão e aplicação de novos modelos de gestão (dinâmicos e holísticos) numa perspectiva de melhorar a gestão espacial dos recursos e dos ecossistemas.

Finalmente, têm sido realizados diversos ensaios de repovoamento utilizando várias técnicas, no sentido de avaliar o seu potencial para promover a rápida recuperação de bancos de bivalves sobreexplorados.

Moluscicultura

No âmbito da investigação em aquacultura, o IPIMAR tem como objetivo principal o aperfeiçoamento das tecnologias de produção. Neste sentido são desenvolvidos estudos em diferentes linhas de investigação: Zootecnia, Nutrição, Reprodução e Recursos e melhoramento genético.

No âmbito da zootecnia são efetuados estudos que visam tanto a otimização de protocolos de cultura para as espécies tradicionalmente cultivadas como a definição de novos protocolos para novas espécies (diversificação). A realização de estudos multidisciplinares de interação ambiente-aquacultura têm permitido melhorar e rentabilizar a produção de bivalves.

Em termos nutricionais, os estudos efetuados pretendem definir as necessidades nutricionais e identificar dietas ótimas adaptadas às diferentes fases do ciclo de vida dos organismos, bem como desenvolver dietas alternativas (inertes). Por outro lado, o conhecimento de índices de qualidade reprodutiva dos progenitores têm permitido manipular o ciclo gametogénico das espécies estudadas, por forma a obter posturas fora da época natural.

Finalmente, têm sido realizados estudos de melhoramento genético e desenvolvimento de programas de conservação de stocks, bem como a análise cariológica comparativa e clarificação das relações taxonómicas de bivalves com interesse aquícola. Os fenómenos de aneuploidia, triploidia e tetraploidia, naturais ou induzidos em bivalves, são também alvo de estudo.

Agradecimentos

Agradece-se à Direcção Geral das Pescas e Aquicultura a cedência dos dados estatísticos apresentados ao longo deste artigo.

Cultivo de especies de interés comercial en diferentes salinidades ambientales: dorada, corvina y pargo como ejemplos

Mancera¹ J.M., Cárdenas² S.

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, 11510 Puerto Real, Cádiz, España. E-mail: juanmiguel.mancera@uca.es

²Departamento de Producción, Centro *El Toruño*, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Junta de Andalucía, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, España. E-mail: salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia.es

Resumen

Los teleósteos eurihalinos presentan la capacidad de adaptarse a una amplia gama de salinidades ambientales, gracias a la actividad de sus órganos osmorreguladores. De este modo, pueden soportar o tolerar altas variaciones en la salinidad del medio que habitan, permitiendo una mayor posibilidad de modificar las condiciones osmóticas del medio y, con el objeto de optimizar su producción, determinar la salinidad óptima de cultivo para cada especie y para cada momento de su ciclo de vida. El mantenimiento de un medio interno estable (concentración osmótica y concentración iónica determinada) diferente del medio ambiente supone un gasto energético considerable para el animal. En aguas con una salinidad de 300 mOsm/L los teleósteos son casi isoosmóticos, asumiéndose que el coste energético de la osmorregulación debería ser menor que en salinidades superiores o inferiores, resultando una mayor cantidad de energía disponible para el crecimiento. Además, este mayor crecimiento podría deberse a otros factores: i) aumento de la ingestión de alimento o de la eficacia en la conversión del mismo, y/o ii) la implicación de las mismas hormonas tanto en los procesos osmorreguladores como en el crecimiento de los teleósteos (por ejemplo, la hormona de crecimiento). A la vista de los resultados aportados en la literatura científica, está claro que la manipulación

de la salinidad ambiental para conseguir una mejora del crecimiento debería ser tomada con precaución. La existencia de otros factores (fotoperiodo, temperatura, tipo de alimentación, etc.) o bien las complejas interacciones de algunos de estos factores, pueden modular/interferir el efecto de la salinidad ambiental sobre el crecimiento en las especies. Además, la existencia de una gran variabilidad en la respuesta del crecimiento a variaciones en la salinidad ambiental según la especie estudiada, así como de diferencias dependiendo de la edad del ejemplar (larva, juvenil, adulto) hace que la generalización sea difícil. En este sentido es necesario probar el posible efecto beneficioso de la manipulación en la salinidad ambiental sobre el crecimiento según la especie con la que se trabaja, características de la instalación de cultivo y tipo de cultivo que se realice (cría larvaria, juvenil, preengorde, engorde).

Palabras clave

Crecimiento, osmorregulación, salinidad, teleósteos eurihalinos.

Introducción

Los animales acuáticos se encuentran en un medio en el cual diversos factores abióticos (temperatura, salinidad, fotoperiodo, oxígeno, etc.) modulan sus actividades biológicas (desarrollo, crecimiento, reproducción, etc.). Los factores abióticos más importantes que pueden afectar dichos procesos biológicos son: a) temperatura, b) salinidad, y c) fotoperíodo.

En la acuicultura, como en cualquier otra actividad económica, se tiende a la optimización de la producción. Para ello se pretende:

- a. Conseguir una reproducción en cautividad de la especie cultivada, con el objetivo de asegurarse un suministro constante de larvas.
- b. Determinar las condiciones idóneas para la cría larvaria, con el fin de minimizar la alta tasa de mortalidad existente en este periodo.
- c. Optimizar las condiciones para conseguir el mayor crecimiento en el menor tiempo.

La manipulación de los factores abióticos, con vistas a la consecución de los objetivos anteriormente citados, es una práctica común en la actividad acuícola. En este sentido, la salinidad es un importante factor abiótico susceptible de ser modificado. Sin embargo, esta

manipulación dependerá de las características osmorreguladoras de la especie cultivada:

- a. Las especies estenohalinas toleran sólo variaciones muy limitadas en la salinidad del medio ambiente, siendo necesario mantener una salinidad constante para su cultivo.
- b. Las especies eurihalinas presentan la capacidad de adaptarse a una amplia gama de salinidades ambientales, gracias a la actividad de sus órganos osmorreguladores, pudiendo soportar o tolerar variaciones altas en la salinidad del medio que habitan.

Las especies eurihalinas permiten una mayor posibilidad de modificar las condiciones osmóticas del medio, de modo que siempre se procura determinar la salinidad óptima de cultivo para cada especie y para cada momento de su ciclo de vida.

Salinidad ambiental y crecimiento

Los teleósteos eurihalinos, al poder vivir en aguas de diferente salinidad ambiental, deben enfrentarse a dos situaciones osmorreguladoras:

- a. En ambientes marinos son hipoosmóticos (menor osmolalidad plasmática) e hipoiónicos (menor concentración iónica) respecto al ambiente. Este hecho origina dos problemas básicos: i) pérdida osmótica de agua y ii) ganancia pasiva de iones.
- b. En ambientes dulceacuícolas son hiperosmóticos (mayor osmolalidad plasmática) e hiperiónicos (mayor concentración iónica) respecto al medio ambiente. Esta situación induce: i) ganancia osmótica de agua y ii) pérdida de iones por difusión.

El mantenimiento de un medio interno estable (concentración osmótica y concentración iónica determinada) diferente del medio ambiente supone un gasto energético considerable para el animal. En teleósteos marinos, la osmolalidad del medio interno (aprox. 300 mOsm/L) es equivalente a $30 \pm 2\%$ de salinidad ambiental (aprox. 1.000 mOsm/L). En aguas con una salinidad de 300 mOsm/L los teleósteos son casi isoosmóticos, asumiéndose que el coste energético de la osmorregulación debería ser menor que en salinidades superiores o inferiores.

Muchos estudios han demostrado la influencia de la salinidad ambiental sobre el crecimiento de los teleósteos eurihalinos de interés en acuicultura (Boeuf y Payan, 2001). Laiz-Carrión *et al.* (2005) describieron que los ejemplares juveniles de *Sparus auratus* crecen mejor en las salinidades intermedias (12‰), cercanas al punto isoosmótico del medio interno de esta especie, en comparación con el agua del mar (38‰) o agua de baja salinidad (6‰)

(Fig. 1). Por el contrario, Arjona *et al.* (2009) mostraron que los juveniles inmaduros de *Solea senegalensis* crecen de forma similar en salinidades de 25 y 39‰, mientras que en la salinidad cercana al punto isoosmótico (15‰) el crecimiento es menor. De esta forma, la salinidad óptima de cultivo va a depender de la especie estudiada, aunque la mayoría de los estudios reflejan un crecimiento mayor en las salinidades intermedias (cercasas al punto isoosmótico).

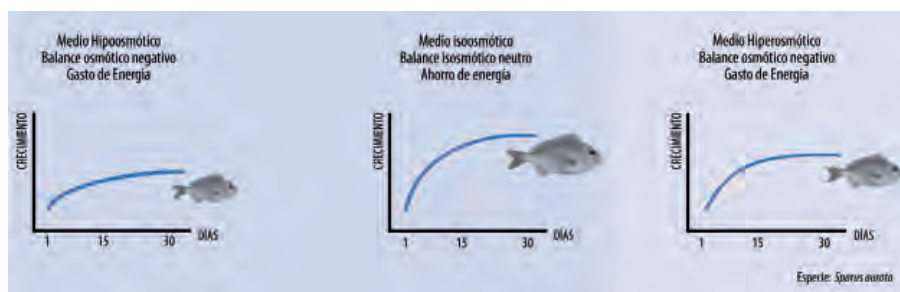


Figura 1.- Esquema donde se representa el crecimiento diferencial de la dorada (*Sparus auratus*) según la salinidad ambiental (12‰ > 38‰ > 6‰). Tomado de Mancera y Arjona (2011) a partir de datos de Laiz-Carrión *et al.* (2005).

¿Por qué existe un mejor crecimiento en determinadas salinidades ambientales?

Para responder a esta pregunta, tres posibles factores han sido sugeridos como responsables:

- La existencia de una tasa metabólica estándar menor en las salinidades cercanas al punto isoosmótico donde los gradientes entre el medio interno del animal y el medio externo son mínimos. Esto apoya la hipótesis de que el coste energético que suponen los procesos osmorreguladores es menor en un medio isoosmótico, resultando una mayor cantidad de energía disponible para el crecimiento (Soengas *et al.*, 2007).
- Un aumento de la ingestión de alimento o de la eficacia en la conversión del mismo. Diversos estudios han descrito alteraciones de las enzimas digestivas en respuesta a los cambios de las condiciones osmóticas, lo cual repercute en la digestibilidad y, en consecuencia, en la eficacia de la conversión del alimento. También se ha descrito que la salinidad afecta el transporte de nutrientes, lo que podría afectar a la disponibilidad de algunos macronutrientes (Boeuf y Payan, 2001).
- Estimulación hormonal. Algunos estudios han señalado la implicación de las mismas hormonas tanto en los procesos osmorreguladores como en el crecimiento de los

teleósteos. En este sentido, la hormona del crecimiento interviene en los procesos hipoosmorreguladores de algunas especies, apareciendo en concentraciones relativamente elevadas en los ejemplares eurihalinos que habitan ambientes isoosmóticos y favoreciendo su crecimiento (Mancera y McCormick, 2007).

Dorada (*Sparus auratus*)

La dorada es un teleósteo euritermo y eurihalino, perteneciente a la familia Sparidae, orden Perciformes, clase Osteictios, con la capacidad de vivir en aguas de diferente temperatura y salinidad ambiental: aguas litorales, estuarios (aguas salobres) y lagos costeros (aguas hipersalinas). La influencia de la salinidad ambiental sobre la adaptación y crecimiento de alevines y juveniles de *Sparus auratus* también ha sido estudiada. Los primeros trabajos de Chervinski (1984) demostraron la capacidad osmorreguladora de juveniles de esta especie. Estudios posteriores (Laiz-Carrión *et al.*, 2005) demostraron la alta capacidad osmorreguladora de la especie ante cambios bruscos de salinidad ambiental y las modificaciones fisiológicas originadas en el sistema osmorregulador por dichos cambios. Las salinidades óptimas para la incubación y desarrollo larvario también han sido estudiadas (Freddi *et al.*, 1981; Tandler *et al.*, 1995), analizándose el efecto de la salinidad (rango desde 15 a 40‰ salinidad) sobre el crecimiento, supervivencia e inflación de la vejiga natatoria en larvas. Estos trabajos demostraron que la mejor salinidad en términos de incremento de peso y desarrollo de la vejiga natatoria fue la de 25‰ salinidad. Conides *et al.* (1997) estudiaron la adaptación y crecimiento de alevines de *Sparus auratus* y observaron una adaptación en un rango entre 8-38‰ de salinidad, con un mejor crecimiento a una salinidad del 28‰.

Nuestro Grupo de Investigación ha estudiado la influencia de tres salinidades ambientales diferentes (agua de mar, 38‰; agua de salinidad intermedia, 12‰; y agua de baja salinidad, 6‰) sobre el crecimiento, la osmorregulación y el metabolismo de juveniles de dorada durante un periodo de 100 días. Los peces aclimatados a agua de salinidad intermedia mostraron un mejor crecimiento respecto a los peces aclimatados a agua de mar y agua de baja salinidad (12‰ > 38‰ > 6‰) (Fig. 2), siendo el crecimiento un 7% y un 19% mayor en salinidad intermedia que en salinidades del 38‰ y 6‰, respectivamente. Así mismo, la tasa específica de crecimiento (SGR) fue mayor en las doradas cultivadas en salinidades intermedias (12‰ > 38‰ > 6‰) (Laiz-Carrión *et al.*, 2005).

Nuestros resultados muestran cómo en el periodo de regulación crónica, es decir, en animales perfectamente adaptados a la salinidad ambiental donde viven, la actividad Na^+, K^+ -ATPasica branquial presenta respecto a la salinidad ambiental una curva en “forma de U”. De este modo, las mayores actividades se encontrarían en los peces adaptados a ambientes de salinidad extrema (6‰ y 38‰ de salinidad), mientras que las menores actividades se

encontrarían en los peces adaptados a salinidades intermedias. La actividad Na^+ , K^+ -ATPasica está relacionada con los procesos de excreción de iones a través de la branquia en ambientes hiperosmóticos (Marshall, 2002). Sin embargo esta actividad también ha sido relacionada en algunas especies eurihalinas, como ocurre con la dorada, con los procesos de captación iónica en ambientes hiposmóticos. La actividad Na^+ , K^+ -ATPasica es un proceso que demanda energía para poder realizar el transporte iónico contra gradiente. De este modo, una reducción en dicha actividad supondría un descenso en el consumo energético, pudiendo quedar esta energía disponible para otros procesos, como por ejemplo el crecimiento (Boeuf y Payan, 2001). En este sentido, el menor requerimiento energético de los animales aclimatados a salinidades intermedias concordaría con el hecho de que ejemplares de dorada aclimatados a ambientes isoosmóticos (12‰ de salinidad) muestren un mejor crecimiento que los aclimatados a ambientes hiposmóticos (6‰ de salinidad) o hiperosmóticos (38‰ de salinidad).

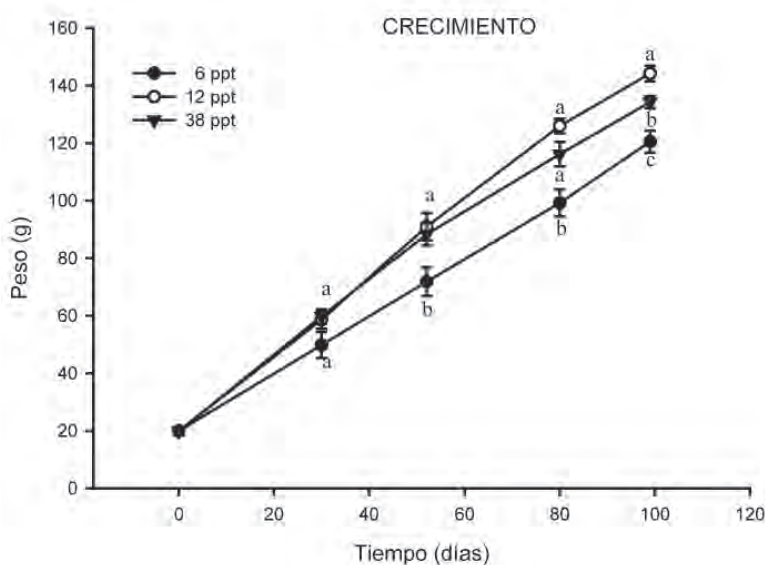


Figura 2.- Cambios en el peso de juveniles de dorada adaptadas a tres salinidades diferentes durante un periodo de 100 días. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los grupos a cada tiempo (ANOVA una vía, $P < 0,05$).

Corvina (*Argyrosomus regius*)

La corvina (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) pertenece a la familia Sciaenidae, orden Perciformes, clase Osteictios, y es una de las 18 especies de corvina que se crían a nivel

comercial o experimental en el mundo (Cárdenas, 2011). Según el informe APROMAR (2010), las especies de peces marinos actualmente criados en España a escala comercial son: dorada, rodaballo, lubina, anguila, besugo, corvina, lenguado y abadejo. La corvina (*A. regius*) va camino de ser la cuarta especie en importancia de la acuicultura marina de peces en España. La comercialización es su principal freno ya que no es una especie conocida de forma general en los mercados. Sin embargo, un punto a su favor con vistas a abrirse paso en el mercado, es que sus características organolépticas demuestran que las corvinas de cultivo desarrollan unas cantidades inusualmente bajas de grasa mesentérica y muscular en comparación con otras especies de granja. Además, admite un largo periodo de conservación, en condiciones de refrigeración. Estas características le confieren a la corvina de granja la categoría de producto de excelente calidad (Hernández *et al.*, 2009).

La principal ventaja de *A. regius*, como especie de cultivo, es su rápido crecimiento. En la fase larvaria cuadruplica el peso de larva de dorada, y cuando hablamos de engorde, a los 18 meses puede llegar a alcanzar 1 kg de peso vivo a diferencia de los 300-400 g que alcanza la dorada en este periodo. Además, es una especie idónea para la transformación, tanto por su rendimiento en carne como por la facilidad para filetearla. En la actualidad existe una creciente demanda del producto transformado siendo la corvina una candidata ideal. Al tratarse de una especie eurihalina, permite su adaptación a ambientes muy diversos, incluso a la cría terrestre en aguas salobres (Cárdenas, 2010).

En un experimento realizado en el Centro IFAPA *El Toruño* (El Puerto de Santa María, Cádiz, España) se analizó la influencia de la salinidad ambiental sobre la cría de *A. regius*, con vistas a la determinación de la salinidad óptima para el preengorde (Tinoco *et al.*, 2009). En dicha salinidad óptima, la reducción del coste metabólico de la regulación osmótica e iónica, gracias a la manipulación de la salinidad ambiental, podría reflejarse en una mejora del crecimiento y utilización del alimento por parte del animal.

En el experimento se utilizaron alevines de *A. regius* obtenidos en las instalaciones del Centro IFAPA *El Toruño* a partir de un *stock* de reproductores propio. A estos ejemplares se le indujo la puesta (24/04/08) mediante inyección de GnRH, según el protocolo descrito por Grau *et al.* (2007). Especímenes con un peso medio de $4,32 \pm 0,07$ g fueron aclimatados a dos salinidades ambientales diferentes (agua de salinidad intermedia: 12‰; agua de mar: 39‰) por un período de 45 días (junio y julio 2008). Cada condición experimental se realizó en cuatro réplicas. Los animales se mantuvieron bajo condiciones naturales de fotoperíodo y temperatura (21,5-21,6 °C), realizándose muestreos de talla y peso semanalmente y en el punto final del experimento, así como de plasma, hígado y músculo en este punto final. La mortalidad observada durante el experimento fue de un 2% para la salinidad del 12% y de un 3% para la salinidad del 39‰.

Los resultados mostraron como los especímenes aclimatados a 12‰ presentaron mayor crecimiento (Fig. 3), ganancia de peso, tasa específica de crecimiento, tasa diaria de crecimiento, factor de condición, índice hepatosomático y tasa de eficiencia proteica que los aclimatados a 39‰ (Tabla I). El factor de conversión fue mayor en la salinidad del 39‰, pero no se observaron diferencias en la tasa de alimentación específica y en la relación talla-peso. La osmolalidad plasmática y la actividad Na^+, K^+ -ATPásica branquial y renal no se vieron afectadas por la salinidad ambiental. Los niveles de cortisol y metabolitos plasmáticos (glucosa, lactato y triglicéridos) indican estrés crónico en ejemplares aclimatados a salinidad del 39‰. Los cambios metabólicos observados en tejidos (hígado, branquias, riñón) a esta salinidad, también indican una situación de estrés. Nuestros resultados muestran que *A. regius* es capaz de aclimatarse a diferentes salinidades ambientales (12 y 39‰). Sin embargo, su aclimatación a la salinidad del 39‰ provoca una situación de estrés y un peor crecimiento respecto a salinidad del 12‰ en los alevines de este peso.

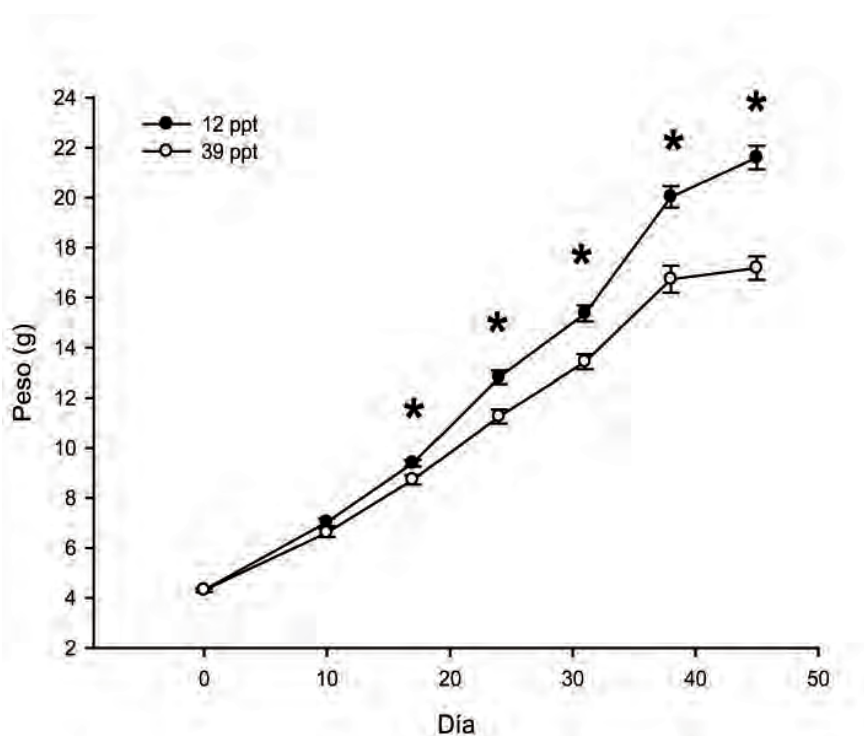


Figura 3.- Evolución temporal del peso húmedo (media \pm ESM) de ejemplares de *A. regius* cultivados a diferentes salinidades ambientales. Asteriscos indican diferencias significativas entre las condiciones experimentales (p-valor < 0,05).

Tabla I.- Peso final, Crecimiento Diario (DGR), Ganancia en Peso (WG), Tasa Especifica de Crecimiento (SGR), Tasa Especifica de Alimentación (SFR) y Factor de Conversión (FCR) en ejemplares de *A. regius* cultivados a diferentes salinidades ambientales. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las condiciones experimentales (p-valor < 0,05).

PARÁMETROS	12‰	39‰
Peso final (g)	21,6 ± 0,5 ^a	17,2 ± 0,5 ^b
DGR (g / día)	0,41 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,00 ^b
WG (%)	400 ± 8,6 ^a	300 ± 2,6 ^b
SGR(% / día)	3,83 ± 0,04 ^a	3,30 ± 0,02 ^b
SFR (% / biomasa peces)	4,36 ± 0,06 ^a	4,43 ± 0,09 ^a
FCR	1,14 ± 0,02 ^a	1,34 ± 0,02 ^b

Pargo (*Pagrus pagrus*)

El bocinegro o pargo (*Pagrus pagrus* Linnaeus, 1758) pertenece a la familia Sparidae, orden Perciformes, clase Osteictios, siendo una especie de alto valor comercial cuya crianza es objeto de estudio por parte del Centro IFAPA *El Toruño*, donde se han llevado a cabo investigaciones para la optimización del cultivo de esta especie (Cárdenas y Calvo, 2003).

En un experimento realizado con ejemplares procedentes de puestas obtenidas durante el año 2008 en dicho Centro se analizó en juveniles (6,01 ± 0,2 g de peso total y 6,62 ± 0,1 cm de longitud total, respectivamente) la influencia de dos salinidades ambientales (agua de salinidad intermedia (AS): 12‰, agua de mar (AM): 39‰) por un período de 45 días (junio y julio 2008). Cada condición experimental se realizó en cuatro replicas. Los animales se mantuvieron bajo condiciones naturales de fotoperíodo y temperatura (21,5 - 21,6 °C), realizándose muestreos de talla y peso los días 1, 18, 28, y 45, así como de plasma, hígado y músculo en el punto final del experimento con el objeto de realizar un estudio fisiológico tanto a nivel osmorregulador como metabólico (Vargas-Chacoff *et al.*, 2009).

Los valores merísticos nos indican que los peces aclimatados a AS presentaron un mayor incremento en peso que los peces mantenidos en AM (Tabla II), sugiriendo que en esta especie y en el rango de peso utilizado el ambiente isosmótico del AS estimula el crecimiento respecto al ambiente hiperosmótico del AM. Los ejemplares de *P. pagrus* mantenidos en AS muestran una hipoosmolalidad plasmática así como disminución de la actividad Na⁺,K⁺-ATPásica branquial. Además el cortisol (típica hormona de estrés) presentó valores similares en los ejemplares aclimatados a AM y a AS. Por último, los estudios metabólicos a nivel

plasmático, hepático y muscular mostraron una mejor condición metabólica en los ejemplares mantenidos en AS respecto a los de AM, que podrían reflejarse en un mejor crecimiento.

Tabla II.- Parámetros productivos en juveniles de *P. pagrus* sometidos a diferentes salinidades de cultivo. Los valores son representados como media \pm ESM (n=20). Diferentes letras indican diferencias significativas entre grupos.

PARÁMETROS	12‰	39‰
Longitud total inicial (cm)	6,84 \pm 0,1 ^a	6,46 \pm 0,1 ^a
Longitud total final (cm)	8,76 \pm 0,2 ^a	8,54 \pm 0,1 ^a
Peso inicial (g)	5,84 \pm 0,3 ^a	6,16 \pm 0,2 ^a
Peso final (g)	13,27 \pm 0,8 ^b	11,69 \pm 0,4 ^a
WG (%)	127	89
SGR (%/día)	1,82 \pm 0,2 ^b	1,42 \pm 0,1 ^a
IHS (%)	2,54 \pm 0,0 ^a	2,37 \pm 0,2 ^a
K	1,97 \pm 0,2 ^a	1,87 \pm 0,1 ^a

Conclusión

En los teleósteos existe un amplio conocimiento sobre los diversos procesos fisiológicos que se ven influenciados por la salinidad ambiental y que interaccionan con su crecimiento. Sin embargo, no existe un modelo o explicación estándar válida de la interacción salinidad-crecimiento para todas las especies. A la vista de los resultados aportados en la literatura científica, está claro que la manipulación de la salinidad ambiental para conseguir una mejora del crecimiento debería ser tomada con precaución. La existencia de otros factores (fotoperiodo, temperatura, tipo de alimentación, etc.) o bien las complejas interacciones de algunos de estos factores, pueden modular/interferir el efecto de la salinidad ambiental sobre el crecimiento en las especies. Además, la existencia de una gran variabilidad en la respuesta del crecimiento a variaciones en la salinidad ambiental según la especie estudiada, así como de diferencias dependiendo de la edad del ejemplar (larva, juvenil, adulto) hace que la generalización sea difícil. En este sentido es necesario probar el posible efecto beneficioso de la manipulación en la salinidad ambiental sobre el crecimiento según la especie con la que se trabaja, características de la instalación de cultivo y tipo de cultivo que se realice (cría larvaria, juvenil, preengorde, engorde).

Agradecimientos

Los autores agradecen a todas aquellas personas, tanto del ámbito universitario como empresarial, que con su ayuda han permitido obtener los resultados presentados. Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto RTA2007-00033-C02-02 del INIA (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas) a S.C. y Proyectos AGL2007-61211/ACU (Ministerio de Educación y Ciencia, España) y Proyecto de Excelencia PO7-RNM-02843 (Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Junta de Andalucía) a J.M.M.

Bibliografía

- APROMAR 2010. La Acuicultura Marina de Peces en España. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. 69 páginas.
- Arjona F.J., Vargas-Chacoff L., Ruiz-Jarabo I., Gonçalves O., Páscoa I., Martín del Río M.P., Mancera J.M. 2009. Tertiary stress responses in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) to osmotic challenge: Implications for osmoregulation, energy metabolism and growth. *Aquaculture*, 287: 419-426.
- Boeuf G., Payan P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry Physiology*, C 130: 411-423.
- Cárdenas S. 2010. Cultivo de Corvina (*Argyrosomus regius*). Serie Cuadernos de Acuicultura nº3. Fundación OESA y CSIC. Madrid. 100 páginas.
- Cárdenas S. 2011. Acuicultura mundial de corvinas. Hojas divulgativas FOESA-SEA. *Revista IPACUICULTURA*, 58: 12-13.
- Cárdenas S., Calvo A. 2003. Reproducción en el mar y en cautividad del Pargo Común o Bocinegro, *Pagrus pagrus* (Pisces: Sparidae). *Comunicaciones y foros de discusión del II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura (CIVA 2003)*. pp. 468-480. Univ. Zaragoza, Zaragoza. Disponible: <http://www.revistaaquatic.com/civa2003>.
- Chervinski J. 1984. Salinity tolerance of young gilthead seabream *Sparus aurata*. *Bamidgeh*, 36: 121-124.
- Conides A.J., Parpoura A.R., Fotis G. 1997. Study on the effects of salinity on the fry of the euryhaline species gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *J. Aquacult. Trop.* 12: 297-303.

- Freddi A., Berg L., Bilio M. 1981. Optimal salinity-temperature combinations for the early life stages of the gilthead seabream *Sparus aurata* L. *J. World Maricult. Soc.* 12: 130-136.
- Grau A., Rodríguez-Rúa A., Massuti-Pascual E., Jiménez M.T., Durán J., Jiménez-Cantizano R.M., Pastor E., Cárdenas S. 2007. Spawning of meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) using GnRH α . *Aquaculture Europe 2007*. European Aquaculture Society. Estambul, Turquía.
- Hernández M.D., López M.B., Álvarez A., Ferrandini E., García García B., Garrido M.D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, 114: 237-245.
- Laiz-Carrión R., Sangiao-Alvarellos S., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Soengas J.L., Mancera J.M. 2005. Growth performance of gilthead sea bream *Sparus auratus* in different osmotic conditions: Implications for osmoregulation and energy metabolism. *Aquaculture*, 250: 849-861.
- Mancera J.M., McCormick S.D. 2007. Role of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol in teleost osmoregulation. In Baldisserotto B., Mancera J.M., and Kapoor B.G. (Eds). *Fish Osmoregulation*. Science Publishers, Inc. Enfield (NH) & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, pp. 497-515.
- Mancera J.M., Arjona F.J. 2011. Salinidad ambiental y crecimientos en teleósteos. Hojas divulgativas FOESA-SEA. *Revista IPACUICULTURA* 56: 14-15.
- Marshall W.S. 2002. Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ and Zn²⁺ transport by fish gills: retrospective review and prospective synthesis. *J. Exp. Zool.* 293: 264-283.
- Soengas J.L., Sangiao-Alvarellos S., Laiz-Carrión R., Mancera J.M. 2007. Energy metabolism and osmotic acclimation in teleost fish. In Baldisserotto B., Mancera J.M., and Kapoor B.G. (Eds). *Fish Osmoregulation*. Science Publishers, Inc. Enfield (NH) & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, pp. 278-307.
- Tandler A., Anav F.A., Choshniak I. 1995. The effect of salinity on growth rate, survival and swimbladder inflation in gilthead seabream, *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 135: 343-353.
- Tinoco A.B., Rodríguez-Rúa A., Ruiz-Jarabo I., Vargas-Chacoff L.H., Mancera J.M., Cárdenas S. 2009. Preengorde de corvina (*Argyrosomus regius*) en diferentes salinidades ambientales. Páginas 476-477 en Beaz D, Villarroel M, Cárdenas S. eds. *XII Congreso Nacional de Acuicultura: Con la acuicultura alimentamos tu salud* MARM, SEA y FOESA. Madrid, España.
- Vargas-Chacoff L., Calvo A., Muñoz J.L., Tinoco A.B., Ruiz-Jarabo I., Mancera J.M., Cárdenas S. 2009. Efecto de la salinidad y densidad de cultivo sobre la biometría y el metabolismo en alevines de bocinegro, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758). *Libro de Resúmenes del II Congreso Nacional de Acuicultura*, 7-9 de enero de 2009. Temuco. Chile, p. 75.

Producción de atún rojo en el Mediterráneo

De la Gándara F.

Instituto Español de Oceanografía (IEO) Centro Oceanográfico de Murcia. Planta de Cultivos Marinos. Ctra de La Azohía s/n 30860 Puerto de Mazarrón (Murcia, España).

E-mail: fernando.delagandara@mu.ieo.es.

Resumen

El atún rojo, *Thunnus thynnus* (L., 1758) es un pez emblemático que viene alimentando a las poblaciones del Mediterráneo desde hace milenios. Desde finales de los años 90, se viene realizando una actividad denominada “engrase” que consiste la captura de ejemplares vivos en las áreas de puesta del Mediterráneo, aprovechando su migración sexual anual, su transporte hasta granjas cercanas a la costa, su alimentación con pequeños pelágicos durante un tiempo que suele variar entre 6 meses y más de un año, su sacrificio y su venta, fundamentalmente en el mercado japonés. Debido a la alta demanda de dicho mercado unido a los altos precios que en él se pagan, los *stocks* naturales se vieron sometidos a una fuerte sobreexplotación que puso en riesgo la supervivencia del recurso. Para evitar el colapso de esta especie, la Comisión Internacional para la Conservación del Atún Atlántico (ICCAT) estableció en 2008 un Plan de recuperación, limitando drásticamente sus capturas así como elevando la talla mínima y estableciendo periodos de veda entre otras recomendaciones. Esto ha llevado a que las producciones sean cada vez más reducidas y que la producción mediante técnicas de acuicultura integral, pueda hacer que las poblaciones naturales recuperen la estructura que tenían hace cientos de años, sin renunciar al consumo de su carne en la cantidad y calidad que requiere un mercado, cada vez más importante y selectivo. A este respecto y desde finales de los años 90 se vienen desarrollando diferentes proyectos de investigación (DOTT, REPRODOTT, SELFDOTT), cofinanciados por los Programas Marco de la Unión Europea, al objeto de desarrollar técnicas de cultivo que permitan en un futuro la producción independiente de atún rojo mediante técnicas de acuicultura, sin necesidad de capturar ejemplares en el medio natural.

Palabras clave

Atún rojo, *Thunnus thynnus*, acuicultura, producción.

Introducción

El atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758) un teleósteo perteneciente a la familia *Scombridae* (Fig.1) es una especie emblemática que se captura desde la antigüedad, y viene alimentando a las poblaciones del Mediterráneo desde hace milenios. Hay incluso estudios que afirman que el hombre de Neandertal, aunque no sabía pescarlo, ya lo consumía cuando, huyendo de las orcas, lo encontraba varado en las playas del sur de España. Muy posteriormente se desarrollaron en esa misma zona así como en otras del Mediterráneo las almadras, que son artes fijas que capturan el atún rojo, aprovechando sus migraciones anuales (Cort, 2007).



Figura 1.- Atún rojo (*Thunnus thynnus*).

A partir de años 90 se inicia, en el Mediterráneo, el llamado engrase, que consiste en capturar ejemplares vivos mediante arte de cerco en las zonas de puesta, trasladarlos a granjas cercanas a la costa, alimentarlos durante varios meses con pequeños peces pelágicos ricos en materia grasa, y una vez sacrificados de forma rápida para evitar la formación de lactato, enviarlos al mercado, especialmente al japonés (Belmonte y De la Gándara, 2008; Mylonas *et al.*, 2010). Los altos precios que el atún de granja ha alcanzado en este mercado (en 2005 se pagaron por un atún de 342 kg 320.000 €) han llevado a la sobreexplotación de las

poblaciones naturales, con una importante reducción del *stock* de reproductores (Fromentin y Powers, 2005). Cifras no oficiales arrojan valores anuales de capturas por encima de las 60.000 toneladas, más del doble de lo oficialmente reportado. Para paliar esta situación de sobrepesca, que de continuar podría haber llevado a las poblaciones naturales al colapso, el Consejo Internacional para la Conservación del Atún Atlántico (ICCAT) estableció en 1999 un sistema de cuotas para limitar las capturas, y en 2008 un Plan de recuperación con una reducción importante de dichas cuotas, del tamaño mínimo de ejemplares capturables, así como un sistema de vedas (ICCAT, 2011). La aplicación de estas medidas está haciendo que en la actualidad se estén observando claros signos de recuperación de esta especie. Desde el punto de vista de la producción mediante engrase, todas estas medidas han hecho que las producciones hayan caído de forma muy importante habiendo sido en 2011 de 12.900 t de las cuales 2.411 correspondieron a España. Así mismo se ha asistido a una drástica reducción del número de empresas que se dedican a esta actividad. En nuestro país, de las 14 empresas que operaban en 2003, hemos pasado a solamente 2 en 2011: la empresa catalana Grup Balfegó y la murciana, Caladeros del Mediterráneo, perteneciente al grupo Ricardo Fuentes e Hijos.

La domesticación del atún rojo

Es evidente que, a pesar de los efectos positivos que sobre la recuperación del *stock* están ejerciendo todas estas medidas, éstas van a continuar en un futuro próximo. Por tanto y para garantizar el abastecimiento de atún rojo en la cantidad y calidad que requiere un mercado cada vez más importante y selectivo, éste tiene que venir indefectiblemente de su producción mediante técnicas de acuicultura integral, lo que además redundará en que las poblaciones naturales recuperen la estructura que tenían hace cientos de años, de una forma más rápida.

A este respecto y a finales de la década de los 90, varios investigadores pertenecientes a un buen número de Instituciones Europeas, entre ellas el IEO, constituyeron un grupo denominado DOTT, acrónimo de “Domestication of *Thunnus thynnus*, the Bluefin tuna”. El objetivo de dicho grupo fue el de recorrer el largo camino que, sin duda, culmina en lo que puede ser el reto más importante de la acuicultura marina, la domesticación del atún rojo para aliviar la presión sobre las poblaciones naturales consiguiendo su producción enteramente en cautividad, de forma independiente al *stock* silvestre, tal y como ocurre con otras muchas especies producidas en cautividad.

El primer proyecto llevado a cabo por el grupo DOTT, fue la celebración del I Simposio Internacional sobre la domesticación del atún rojo. Este proyecto, financiado por la Comisión

Europea, estuvo coordinado por el investigador israelí Hillel Gordin, del IORL-NCM, y reunió en febrero de 2002 en Cartagena (España), a la mayoría de expertos en el tema.

A partir de este proyecto, el IEO asume el liderazgo de la investigación sobre el cultivo de atún rojo a nivel europeo (de la Gándara y Ortega, 2008) y coordina la siguiente acción del grupo DOTT: el proyecto REPRODOTT (Reproduction of the Bluefin Tuna in Captivity - feasibility study for the domestication of *Thunnus thynnus*), que se llevó a cabo en el periodo comprendido entre los años 2003-2006. Este proyecto, financiado con 1,5 millones de euros por el 5º Programa Marco de la UE, contó con la participación de 8 Instituciones europeas de investigación, y con la empresa Tuna Graso, perteneciente al grupo Ricardo Fuentes, con el que el IEO tiene firmado un convenio de colaboración. Uno de los resultados de este proyecto fue la consecución por primera vez a nivel mundial, de puestas de atún rojo en cautividad (Mylonas *et al.*, 2007).

Entre los años 2006 y 2008, y bajo la dirección del IEO, se llevaron a cabo los proyectos ADAR-AJAR, financiados mediante un Convenio entre el propio IEO, la CARM a través de la CAA y el grupo Ricardo Fuentes. Dichos proyectos tuvieron como objetivo “la Captura y la Domesticación de juveniles de atún rojo”. En ellos se desarrolló una técnica de captura al curricán con anzuelos sin muerte de juveniles 0+ vivos de atún rojo (De la Gándara *et al.*, 2009).

El siguiente proyecto, SELFDOTT: From capture based to self sustained aquaculture and domestication of bluefin tuna, *Thunnus thunnus* (KBBE-2007-1-2-09 Cooperation Work Programme: Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology), con un presupuesto total de 4,4 millones de euros, 3 de ellos cofinanciados por el 7º Programa Marco de la Comisión Europea y coordinado por el Instituto Español de Oceanografía (IEO) se puso en marcha en Enero de 2008, con el objetivo de sentar las bases para producir atún rojo mediante técnicas de acuicultura integral (De la Gándara y Ortega, 2008). Los objetivos de SELFDOTT se han basado en tres pilares fundamentales:

1. La reafirmación de los conocimientos actuales sobre la reproducción en cautividad de esta especie
2. El establecimiento de los conocimientos básicos necesarios para la obtención de puestas y el control del desarrollo larvario
3. 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

Los reproductores de atún se han mantenido en las instalaciones de las empresas participantes en el proyecto, el grupo español Ricardo Fuentes y la maltesa Malta FishFarming. Los otros miembros del consorcio han sido el Hellenic Centre for Marine Research de

Grecia, el IFREMER (Institut Français d'Exploitation de la Mer, Francia); la Universidad de Düsseldorf, Alemania; el National Centre for Mariculture, Israel; la Universidad de Cádiz, España; la Universidad de Bari, Italia; el Ministry for Rural Affairs and Environment (MRAE-Aquaculture) Malta, el Centre National pour la Recherche Scientifique (CNRS, Francia), la Universidad de Montpellier 2, Francia y el Skretting Aquaculture Research Centre (SARC) de Noruega, perteneciente a la multinacional Nutreco, una de los grupos empresariales más importantes a nivel mundial en la producción de alimento para peces.

En España se ha mantenido un *stock* de alrededor de 30 reproductores de atún rojo frente a El Gorguel (Cartagena), en una concesión del Grupo Ricardo Fuentes. Estos reproductores, capturados en el Mar Balear en junio de 2007, se ubicaron en una jaula circular de 25 m de diámetro y 20 m 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 se alimentaron una vez al día, a saciedad, con estornino (*Scomber japonicus*) y caballa (*Scomber scombrus*). Otro *stock* en condiciones semejantes fue mantenido en Malta por la empresa Malta Fishfarming.

Para la recogida de huevos, se colocó en la época de puesta (junio-julio) una cortina de 6 m de altura, rodeando totalmente la parte superior de la jaula. Se instaló a principios de julio en 2008, a finales de junio en 2009, a mediados de junio en 2010 y a principios de junio en 2011, oscilando las temperaturas del agua entre los 21 y los 26 °C. En los años 2008 y 2009 se utilizaron implantes hormonales con GnRH α según la técnica desarrollada en el anterior proyecto REPRODOTT, utilizando para ello un arpón submarino (Mylonas *et al.*, 2007).

En julio de 2008 no se obtuvieron puestas de huevos, probablemente debido a que se realizaron los implantes y se instaló la cortina muy tarde. En 2009 fue el primer año en que empezaron a obtenerse puestas masivas de huevos fértiles (140 millones de huevos a lo largo de 17 días, con un pico máximo de 60 millones de huevos en un solo día). En 2010 y 2011, en los que se ubicó la cortina mucho antes, se recolectaron puestas masivas de forma espontánea, sin necesidad de implantes hormonales. En 2010 se obtuvieron 60 millones de huevos a lo largo de 40 días siendo los resultados de 2011 de 162 millones durante un periodo de tiempo semejante aunque se comenzaron a recolectar las puestas con una semana de antelación (De la Gándara *et al.*, 2011).

Los huevos se recogieron entre las 3 y las 5 de la madrugada de la superficie de la jaula mediante salabres con malla de 500 μ m (Fig. 2), y se trasladaron a la Planta de Cultivos del IEO en Mazarrón para proceder a evaluar su cantidad y calidad, a su eclosión y a su cultivo larvario. Así mismo y según estaba previsto en el Anexo Técnico del Proyecto SELFDOTT, se realizaron con éxito envíos de huevos vivos a los socios del proyecto en Francia, Grecia e Israel.



Figura 2.- Recolección de huevos, en la jaula de reproductores.

Por su parte, el laboratorio maltés del MCFS utilizó las puestas obtenidas del *stock* de reproductores ubicado en las instalaciones de la empresa Malta Fishfarming. En este caso el número de huevos colectado fue muy inferior al obtenido en Cartagena, aunque suficiente para llevar a cabo los experimentos previstos en el citado Centro.

Para el cultivo larvario se emplearon las técnicas conocidas como *pseudogreen water*, mesocosmos y agua clara. Las dos primeras coinciden en el uso de microalgas en los tanque de cultivo larvario. Se diferencian en que en el primer caso se utilizan tanques de menor tamaño (5 m³) y la densidad inicial de larvas es mayor (20-50 larvas/L). En el segundo caso se utilizan tanques de mayor volumen (20-40 m³) siendo menor la densidad inicial (1-10 larvas/L). En el caso de agua clara, no se utilizan microalgas y las densidades larvarias iniciales son altas, siendo como en el primer caso, los tanques de tamaño reducido. La estrategia de alimentación larvaria consistió en utilizar rotífero y artemia enriquecidos con productos comerciales, larvas de dorada (*Sparus aurata*) recién eclosionadas y alimentación artificial desarrollada por el SARC (Fig. 3).

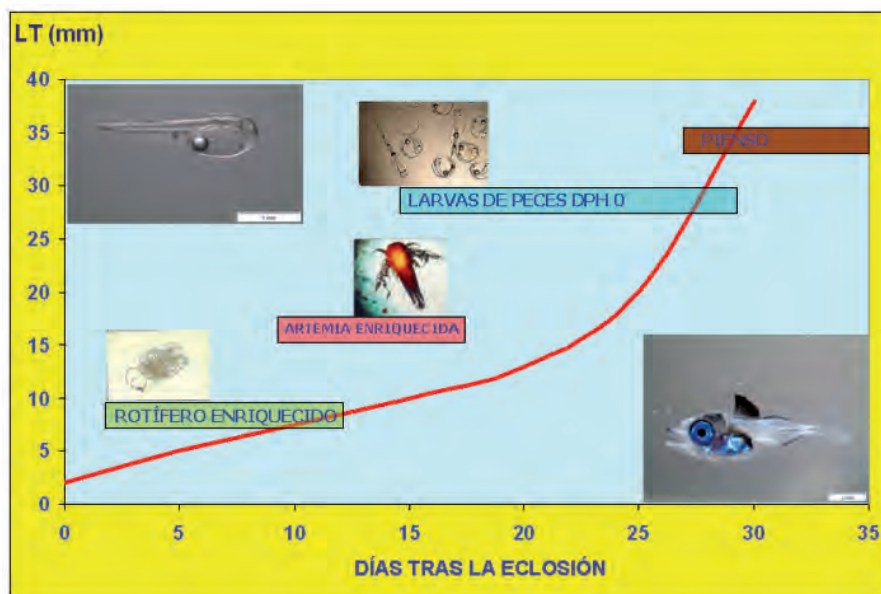


Figura 3.- Crecimiento de larvas de atún rojo y estrategia de alimentación durante el primer mes de vida, en el IEO.

Los cultivos larvarios realizados en la Planta de Cultivos Marinos del IEO en Mazarrón, con el método de pseudogreen water (Fig. 4) fueron los más exitosos, consiguiendo una supervivencia de 73 días en 2009 (30 g de peso) y 110 días (100 g de peso) en 2010. En 2011 se produjeron 3.000 juveniles de atún rojo de 40 días de edad y alrededor de 10 g de peso en estas instalaciones del IEO. Parte de ellos fueron transportados a jaulas en el mar, gestionadas por el grupo empresarial Ricardo Fuentes (Ortega *et al.*, 2011). A los 4 meses de vida, los ejemplares supervivientes superaban el kilo de peso (Fig. 5), alcanzando los 2 kg a principios de 2012. Se espera que un buen número de ellos alcance el estado adulto tras un mínimo de cuatro años y pueda reproducirse, consiguiendo por tanto y por primera vez en esta especie, cerrar su ciclo biológico en cautividad.

En cuanto a los resultados del tercer objetivo, el grupo SARC desarrolló una alimentación artificial que fue bien aceptada por los juveniles de esta especie tanto producidos en cautividad como capturados en el medio natural, y ubicados en jaulas flotantes gestionadas por el grupo empresarial Ricardo Fuentes.

Los crecimientos obtenidos son comparables a los de alimentación a base de pescado, lo que abre la posibilidad de realizar su crianza de una forma más respetuosa con el medio ambiente, tal y como estaba previsto en los objetivos del proyecto.



Figura 4.- Uno de los tanques de cultivo larvario utilizado por el IEO.

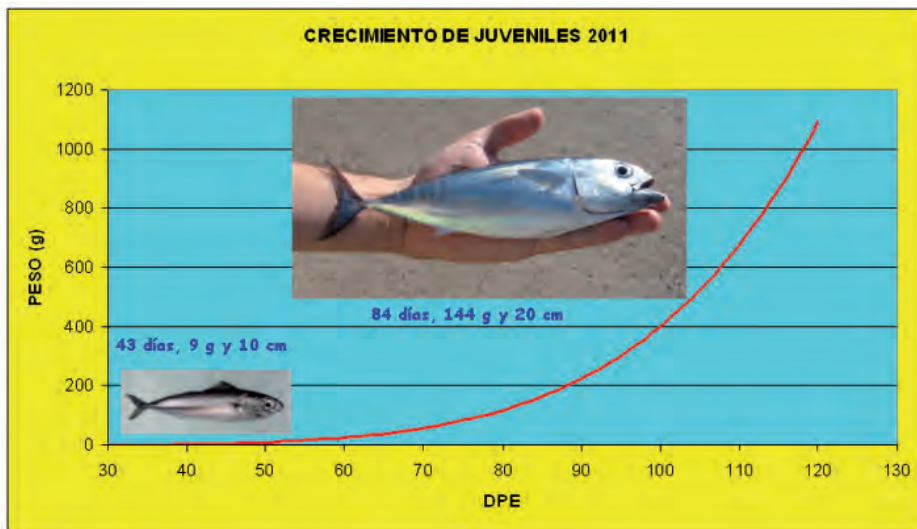


Figura 5.- Crecimiento de juveniles de atún rojo en el IEO hasta los 120 días de vida.

Conclusiones

Sólo la producción independiente de atún rojo a nivel industrial, junto a un sistema de capturas responsable, puede hacer que las poblaciones naturales recuperen la estructura que tenían hace cientos de años, sin renunciar al consumo de la carne de este emblemático pez, en la cantidad y calidad que requiere un mercado, cada vez más importante y selectivo.

Bibliografía

- Belmonte A., De la Gándara F. 2008. El cultivo del atún rojo *Thunnus thynnus*. *Fundación Observatorio Español de Acuicultura*, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 37 pp.
- Cort J.L. 2007. El enigma del atún rojo reproductor del Atlántico Nororiental. Bedia Artes Gráficas, S.C. Santander, 63 pp.
- De la Gándara F., Ortega A. 2008. Eight years of research on bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) culture at the Spanish Institute of Oceanography (IEO). Proceedings of the EAS 2008, 15-18 September 2008, Krakow (Poland) pp 185-186.
- De la Gándara F., Ortega A., Belmonte A., Prieto J.R.. 2009. Captura y acondicionamiento de juveniles 0+ de atún rojo *Thunnus thynnus* en jaulas flotantes. *Libro de resúmenes del XII Congreso Nacional de Acuicultura*. Madrid, 24-26 noviembre de 2009, pp 96-97
- De la Gándara F., Ortega A., Belmonte A., Mylonas C.C., Prieto J.R., Viguri J. 2011. Obtención de puestas masivas de huevos de atún rojo (*Thunnus thynnus*) en cautividad, durante 3 años consecutivos. *Actas del XIII Congreso Nacional de Acuicultura*. 21-24 Noviembre 2011, Castelldefels- Barcelona, España: P-151-2.
- Fromentin J.M., Powers J.E. 2005. Atlantic bluefin tuna: population dynamics, ecology, fisheries and management. *Fish and Fisheries*, 6: 281-306.
- ICCAT. 2011. Compendio de recomendaciones y resoluciones en materia de ordenación adoptadas por ICCAT para la conservación de los túnidos atlánticos y especies afines. ICCAT, agosto de 2011: 273 pp.
- Mylonas C.C., Bridges C.R., Gordin H., Belmonte A., Garcia-Gomez A., De la Gándara F., Fauvel C., Suquet M., Medina A., Papadaki M., Heinisch G., De Metrio G., Corriero A., Vassallo-Agius R., Guzman J.M., Mañanos E., Zohar Y. 2007. *Reviews*

in Fisheries Science 15(3), pp 183-210.

Mylonas C.C., De la Gándara F., Corriero A., Belmonte A. 2010. Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*) Farming and Fattening in the Mediterranean Sea. *Reviews in Fisheries Science*, 18(3), 266-280.

Ortega A., Seoka M., Belmonte A., Prieto J.R., Viguri J., De la Gándara F. 2011. Cultivo larvario de atún rojo (*Thunnus thynnus*) en el Centro Oceanográfico de Murcia. *Actas del XIII Congreso Nacional de Acuicultura*. 21–24 noviembre 2011, Castelldefels-Barcelona, España: O-066-2.

Valorization of semi-intensive aquaculture products

Dinis M.T.

Centro de Ciências do Mar, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, Edif. 7
8005-139 Faro, Portugal. E-mail: mtdinis@ualg.pt

Abstract

The main conclusions obtained during the Seacase project on the valorization of the semi-intensive aquaculture products are presented based on published articles and on the final report of the project. Quality assessment obtained during the project permits differentiation of the products coming from these systems, and quality markers may be a starting point for the creation of a complete certification system of non-intensive aquaculture products, at the European level. A more “natural image” could help to maintain the economic sustainability of this type of aquaculture, matching market demands of those consumers who are concerned with welfare considerations and environmental protection.

Key words

Seacase project, semi-intensive aquaculture, quality markers.

Introduction

The global food system will experience an unprecedented confluence of pressures over the next 40 years. On the demand side, global population size will increase from nearly seven

billion today to eight billion by 2030, and probably to over nine billion by 2050. Many people are likely to be wealthier, creating demand for a more varied, high-quality diet requiring additional resources to be produced. On the production side, competition for land, water and energy will intensify, while the effects of climate change will become increasingly apparent (Foresight, 2011).

At the same time at European level, in order to cope with an increasing global population, a rapid depletion of many resources and increasing environmental pressures, it is necessary to change the approach to production, consumption, processing, storage, recycling and disposal of biological resources. The 'Strategy for sustainable development of European Aquaculture' (COM (2002) 511) recognized the positive effects of low technology production farming systems (extensive and semi-intensive) in coastal areas. Those systems can facilitate the environmental protection and restoration in areas of particular ecological interest, including wetlands, lagoons, estuaries and salt marshes. However, natural processes limit the productivity, therefore reducing economic yield and profitability. Nonetheless, specific cases have demonstrated that added-value and sustainability can be obtained for those products when being quality differentiated from standard products (e.g. oyster fattening in ponds) either through certified cultural practices or product characteristics. Environmental and quality labeling certifications, recognized by the European Aquaculture Strategy (COM(2002)511), facilitate this differentiation. New production systems such as polyculture, increase food availability by fertilization techniques, are now considered to increase natural productivity without significant ecological side-effects. Coastal production systems occupy large areas. Therefore, they require an integrated coastal zone management approach as supported by the Commission (COM (2000), 547) to solve the problem of space allocation.

Despite the continuous demand of fish for the European aquaculture industry, the production trend of semi-intensive and extensive coastal aquaculture systems has shown a marked decrease in the last decade. These systems are facing big difficulties related with the competition in coastal areas and prices of fish, coming from intensive aquaculture where production costs are lower. However they showed some positive effects related with employment opportunities and development in rural and coastal areas and environmental protection and restoration in areas of ecological interest.

So there is an urgent need to valorize these systems. This might be done by:

- ❖ Increasing production per hectare within sound environmental conditions
- ❖ Increasing added value to production through quality markers

To address these issues, the SEACASE project (www.seacase.org) aimed to develop effective tools for maintenance of competitiveness, productivity, profitability and thus durability of extensive and semi-intensive aquaculture production in Southern Europe, which in turn contribute to improve the image of aquaculture as an environmentally sound economic activity producing high quality products. This should also contribute to assuring the availability to consumers of high quality products that are healthy, safe, high quality and produced without major environmental costs (Seacase, 2010).

Increasing production per hectare within sound environmental conditions

Within the SEACASE project, several performance trials were undertaken to evaluate the effects of replacing fishmeal and/or fish oil in a practical diet of gilthead seabream with a complementary mixture of vegetable proteins (soy, peas, wheat) and oil (soybean, rapeseed) sources, in terms of growth performance, feed utilization, apparent digestibility of nutrients and soluble nitrogen and phosphorus excretion. Data generated in the project clearly shows that the growth performance of gilthead sea bream (from 30 to 300 g) can be sustained by a practical dietary formulation containing as little as 13% of marine-derived proteins. (Dias *et al.*, 2009). The environmental impact of fish farming is closely associated to excessive feed wastage and sub-optimal nutrient utilization. In this regard, when using plant ingredients as major dietary protein sources in fish feeds; one aspect that deserves special attention is the phosphorus (P) bioavailability. The project data shows that when compared to a fishmeal meal based diet, soluble phosphorus excretion was significantly reduced by the use of balanced plant-protein rich diets (Dias *et al.*, 2009)

Increasing added value to production through quality markers

The Seacase project investigated quality criteria as potential markers to differentiate fish (seabream) reared in different systems. Sanitary and nutritional quality, yields and body traits, color, sensory quality and muscle structure were followed. The main conclusions were (Valente *et al.*, 2011; Cardinal *et al.*, 2011)

1. The lipid content of the flesh is often lower in sea bream from non-intensive systems (not always, some variations exist according to the farm and the season) and therefore the trimming loss after filleting can be lower in this case

2. Compared to intensive production, integrated systems, semi-intensive systems, and to a lesser extent extensive systems, lead to products with a better nutritional balance, with a generally higher level of polyunsaturated w3 and a lower level of w6, which means a better w3/w6 ratio for human consumption
3. Sensory characteristics discriminate the kind of rearing system. For extensive systems, samples are generally perceived less firm and less dense during chewing, with higher moisture in flesh and less fatty characteristics in odor, taste and texture. Some quality characteristics of seabream from integrated systems seem to be a consequence of the environmental conditions in earth ponds. Appearance (golden line between eyes and orange color in gill area), odor and taste are a sort of fingerprint of these conditions. Moreover, the rearing system seems to modulate the muscle structure, since the muscle of seabream from intensive system had a higher number of small fibers and a higher density of fibers
4. Environmental conditions have been identified as an influent factor on odor and taste characteristics of fish reared in earth pond or estuaries. Products from intensive farming have more constant sensory characteristics and present a generally whiter fillet color, after cooking; on the other hand, the characteristics of the products from the non-intensive systems reflect the influence of natural conditions, in terms of external appearance and sensory properties

Conclusions

1. A clear identification of the product origin and rearing system would allow the consumer to understand that aquaculture can propose different types of products
2. Semi-intensive aquaculture products can be discriminated from intensive ones by their external appearance and could offer the consumers high levels of long-chain n-3 fatty acids and good n-3/n-6 ratios
3. Non-intensive rearing systems in earthen ponds seem more propitious to the development of certain characteristics related to the environment whereas intensive conditions allow more constant sensory characteristics

References

- Cardinal M., Cornet J., Donnay-Moreno C., Gouygou J.P., Bergé J.P., Rocha E., Soares S., Escórcio C., Borges P., Valente L.M.P. 2011, Seasonal variation of physical, chemical and sensory characteristics of sea bream (*Sparus aurata*) reared under intensive conditions in Southern Europe. *Food Control*, 22: 574-585.
- Dias J., Conceição L.E.C., Ribeiro A.R., Borges P., Valente L.M., Dinis M.T. 2009. Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance and reduce soluble phosphorous loads in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 293: 255–262.
- EU. 2002. Strategy for sustainable development of European Aquaculture, COM (2002) 511), 28pp.
- EU. 2000. Relativamente à gestão integrada da zona costeira: uma estratégia para a Europa, COM(2000) 547 final, 29p.
- Foresight, 2011. The Future of Food and Farming . Executive Summary. The Government Office for Science, London.40pp.
- SEACASE , 2010, Sustainable extensive and semi-intensive coastal aquaculture in Southern Europe, SSP-2005-44483. Final report.
- Valente L.M.P., Cornet J., Donnay-Moreno C., Gouygou J.P., Bergé J.P., Bacelar M., Escórcio C., Rocha E., Malhão F., Cardinal M. 2011. Quality differences of gilthead sea bream from distinct production systems in Southern Europe: Intensive, integrated, semi-intensive or extensive systems. *Food Control*, 22: 708-717.

Dieta Atlántica

Tojo R., Leis R.

Catedrático y Profesora Titular de Pediatría. Director y Codirectora de la Unidad de investigación en Nutrición y Desarrollo Humano de Galicia. Patrono de la Fundación de la Dieta Atlántica-Universidad de Santiago-Hospital Clínico Universitario de Santiago.

La España Atlántica y su dieta

España tiene la fortuna de estar bañada por dos grandes mares, el océano Atlántico y el mar Mediterráneo. El noroeste, por el primero y el este por el segundo. El mar Cantábrico baña las regiones atlánticas: Galicia, Asturias, Cantabria y el País Vasco y el mar Mediterráneo Cataluña, Valencia, Islas Baleares, Murcia y Andalucía. El mar Mediterráneo ha sido la puerta de entrada de las culturas griega, cartaginesa, romana y árabe y la consiguiente introducción de alimentos, cultivos, ganadería, pesca y el océano Atlántico ha sido el vehículo de introducción desde 1492 con el descubrimiento de América, de alimentos y cultivos que fueron clave para nuestra alimentación.

Por lo que se refiere a las regiones atlánticas, el gran patriarca de la gastronomía española y referente internacional de la misma, el vasco Juan Marí Arzak define de la siguiente forma el mar Cantábrico: “Es un mar bravío y muy bello que baña los pueblos del norte con un paisaje compartido. También unas cocinas que son en sus esencias y modos primas hermanas entre sí, con unas materias, unos géneros de primera categoría, presentes de una u otra manera en todas ellas y que se extiende de Bayona a Baiona. Destaca en todas ellas la figura tan norteña de la mujer cocinera que reina en los fogones, según una tradición muy remota que enlaza con el matriarcado de esos pueblos. Cada una con sus características específicas, pero todos ellos comparten a la vez rasgos comunes a la cultura del cantábrico. Una de las cosas más entrañables que nos han legado esas mujeres es la cocina, esos platos que en todo el cantábrico huelen a mar. Los cocineros profesionales y los restauradores son el otro puntal

sobre el que descansa la culinaria. Tradición e innovación. Artesanía que llega hasta cotas auténticamente artísticas.

El océano Atlántico es una de las mejores despensas del mundo y Galicia una parte especialmente privilegiada. Las características riquezas del mar que la baña, con incontables especies de pescados, moluscos, crustáceos y algas, que ahora se ve aumentada con el extraordinario desarrollo de la acuicultura y de las algas; y de su tierra con numerosos microclimas, valles y ríos que permiten una gran variedad de cultivos de plantas y especies arbóreas, el desarrollo de la ganadería, así como algunas especies de pescados anódromos son una buena muestra de ellos. Pero además es importante reseñar el profundo impacto que desde hace más de un milenio ha significado el fenómeno de las peregrinaciones a Santiago de Compostela (camino de Santiago de Compostela), el primer itinerario cultural europeo con un importante intercambio de productos alimentarios, recetas de cocina y nuevos cultivos. El camino francés, el más importante de los caminos a Santiago desde Europa pasa por todas las regiones del norte. Los monasterios Benedictinos y Cistercienses que se fundaron en estas regiones tuvieron un papel importante en el desarrollo de la agricultura y preparaciones culinarias. Un hecho clave fue el descubrimiento de América con la llegada de muchos alimentos desconocidos. El impacto de la patata y maíz son dos ejemplos de lo que significa para la alimentación, la cocina y gastronomía del norte. Debemos destacar el papel secular de las flotas pesqueras del norte de España que faenaron desde hace muchos siglos fuera de la plataforma continental, así como las pesquerías en los múltiples ríos y la larga experiencia en salazón y conservas. El mar de Galicia dispone de un extraordinario sistema de “fertilización” que es consecuencia de un efecto combinado de las grandes corrientes oceánicas, del régimen de las mareas, del oleaje, de los vientos del norte y del nordeste y del aporte de agua dulce de las rías. Todos estos factores favorecen que empujen el agua superficial de las rías hacia el interior del océano y que cerca de la costa suban a la superficie las aguas profundas y frías que contienen abundantes sales inorgánicas, necesarias para crear la materia viva. Esta corriente de “agua abonada” que sube a la superficie se conoce como “afloramiento” y dura unos 180 días. A más nutrientes más abundancia de fitoplancton y zooplancton, todos estos cambios de la rías gallegas favorecen extraordinariamente la producción de biomasa. No es de extrañar que en las regiones del norte los pescados, moluscos y crustáceos tengan una importancia grande en la alimentación, en la dieta y gocen de gran prestigio.

Evolución de la dieta en España. 1966-2010

Consideramos de gran interés valorar la evolución de la dieta en España durante el

periodo comprendido entre 1966 y 2010, reflejo del paso de una España subdesarrollada a una desarrollada con un potente sector industrial y de servicios y con profundos cambios en los estilos de vida, incluidos la dieta, la actividad física, la estructura social y familiar, la renta *per cápita*, la urbanización, etc. En los 44 años transcurridos el aporte en calorías, de proteínas, carbohidratos y grasas han experimentado cambios significativos en el porcentaje aportado por estos tres macronutrientes. Descenso notable del porcentaje de hidratos de carbono, aumento moderado del de proteínas y notable del de las grasas (Fig. 1).

DIETA ATLÁNTICA

EVOLUCIÓN DEL APORTE CALÓRICO DE LOS MACRONUTRIENTES EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS HOGARES ESPAÑOLES. 1966-2010

PORCENTAJE DE CALORIAS DE LOS MACRONUTRIENTES

AÑO	Proteínas		Carbohidratos		Grasas	
	%	R %	%	R %	%	R %
1966	11,0	12-15	58,0	50-60	31,0	< 35
1980	13,0	12-15	46,0	50-60	40,0	< 35
1990	15,0	12-15	39,2	50-60	45,8	< 35
2000	14,6	12-15	40,8	50-60	44,6	< 35
2010	16	12-15	41,4	50-60	40,2	< 35

R = Recomendado

G. Varela (1966-1980). MAPA (1990-200). AESAN-ENIDE (2010).

Figura 1.- Evolución del aporte calórico de los macronutrientes en la alimentación de los hogares españoles, 1966-2010.

También nos ha parecido de interés conocer las diferencias actuales en el consumo de alimentos/habitantes/año, según se trata de la Comunidades Autónomas atlánticas con relación a las mediterráneas y del conjunto de España. Ello nos permite valorar la comparación de la dieta y qué grupos de alimentos se consumen más o menos en una y otra. Para ello valoramos la última encuesta anual disponible del consumo de España de 2010. Nadie discute la calidad nutricional de la Dieta Mediterránea, pero tanto la OMS como la FAO alertan del abandono progresivo de la misma en las naciones mediterráneas, incluida España como demuestra el estudio ENRICA. Por el contrario se experimenta un aumento progresivo del consumo de la “dieta occidental”, cuyo paradigma es Estados Unidos, que coincide con el aumento notable de la prevalencia de enfermedades que son la primera causa de morbi-mortalidad (Fig. 2, 3 y 4).

DIETA ATLÁNTICA

El peligro de extinción de las dietas saludables tradicionales

El cambio progresivo a la dieta occidental

Dietas ricas en cereales, frutas, vegetales, legumbres, pescados, aceite de oliva, vino con moderación y bajo consumo de carne roja.

- ❖ Desciende el riesgo de morbimortalidad.
- ❖ Aumenta el estado de salud y bienestar.

Un reciente informe de la FAO manifiesta el deterioro progresivo de la dieta mediterránea o su abandono a ambas orillas del Mediterráneo desde 1970 hasta la actualidad.

- ❖ Aumento de la obesidad y comorbilidades y otras patologías principales causantes de morbimortalidad.

Sofi F. Adherence to Mediterranean diet and Health status. BMJ 2008; 11:1337-44
Sofi F. The "Florence" diet is no Mediterranean Eur J Clin Nutr 2005; 59:584-91
Scarnicas N. Mediterranean diet and cognitive impairment. Arch Neurol 2009; 66:216-25

Figura 2.- El peligro de extinción de las dietas saludables tradicionales.

DIETA ATLÁNTICA

ESTUDIO ENRICA. Agencia Española De Seguridad Alimentaria y Nutrición. Departamento de salud de la Generalitat de Cataluña y compañía farmacéutica Sanofi. 2011.

Examen de salud, hábitos alimentarios y de muestras biológicas (sangre, orina) en 12 000 adultos jóvenes de ≥ 18 años de edad

- ❖ Dieta mediterránea evolucionada: 3,7 en la escala de adecuación.
 - Excesivamente rica en carne y grasa animal. Elevación en grasa saturada y trans.
 - Escaso porcentaje de población con consumo recomendado de verduras y hortalizas, fruta, leche y derivados, hidratos de carbono y fibra.
- ❖ El 62% de la población tiene exceso de peso: 39% sobrepeso, 23% obesidad.
- ❖ El 33% de la población es hipertensa: solo 20% bien controlado.
- ❖ El 50% de la población tiene colesterol elevado: 53% tratado esta bien controlado.
- ❖ El 7% de la población es diabética y el 20% ignoran que lo son. Menos de la mitad están controlados.

A menor nivel socioeconómico y educacional mayor frecuencia de afección cardiovascular, hipertensión, obesidad, síndrome metabólico, diabetes, tabaquismo e inactividad física.

Figura 3.- Examen de salud, hábitos alimentarios y de muestras biológicas (sangre, orina) en 12.000 adultos jóvenes de 18 años o más.

DIETA ATLÁNTICA

Dieta actual. Interacción entre genoma y ambiente

La “dieta occidental” (USA, Europa) se caracteriza por:

- Predominio de alimentos manufacturados ricos en calorías, grasas saturadas, trans y omega-6, azúcares y sodio (sal) y bajos en fibra, grasas omega-3 y componentes funcionales.
- Favorece la prevalencia creciente de obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, enfermedades neurodegenerativas, osteoporosis y ciertos tipos de cáncer.
- Estas “enfermedades de la civilización”, se deben más a cambios rápidos ambientales que del genoma.

Aranceta J, Serra LL, Mataix J, Tojo R. Dieta y riesgo cardiovascular en España (Estudio DORICA III). Ed. Medica Panamericana. 2007; pp 121-162.
Soli F. BMJ 2008; Iqbal R. Circulation 2008; 114:1299-37, Cordain L. AJCN 2005; 81: 341-54
Tojo R, Lois R. La obesidad en la infancia y adolescencia. Estrategia NAOS.MSC-AESAN. EM Panamericana 2007

Figura 4.- Dieta actual, interacción entre genoma y ambiente.

Consumo por grupos de alimentos en las Comunidades Autónomas atlánticas y mediterráneas y en el conjunto de España (Fig. 5 a 25)

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de pan y cereales en el hogar (k/l/persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlántica y Mediterránea. Año 2009.

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
PAN						
Pan	45,2	123,7	32,7	89,7	37,4	102,4
Pan fresco normal	38,8	106,3	25,2	69,0	30,2	82,7
Pan fresco integral	1,6	4,38	2,2	6,0	2,0	5,5
Bollería / pastelería/ galletas / cereales	14,7	40,3	11,9	32,5	12,7	36,7

➤ Kcal/100gr – 240, fibra: 3-7gr, Sodio: 500-700mg; Fe: 1.6mg; Ca: 30-60mg; Mg: 80-130mg; complejo B.

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 5.- Consumo de pan y cereales en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlántica y mediterránea. Año 2009.

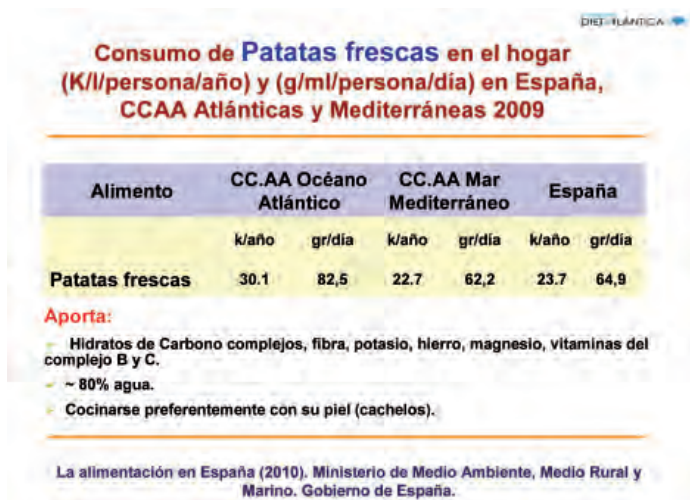


Figura 6.- Consumo de patatas frescas en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas en 2009.



Figura 7.- Consumo de verduras, hortalizas y frutas. Recomendación de la UE: 2 y 3 raciones día.

Consumo de hortalizas en el hogar (K/l/persona/año) y (g/ml/persona/año) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Hortalizas frescas	50,5	138,4	61,1	167,4	58,8	161,1
Hortalizas más consumidas						
Tomate	9,7	26,6	15,1	41,1	13,7	37,5
Cebolla	8,2	22,5	7,9	21,6	7,4	20,3
Lechuga	5,5	15,1	4,7	12,9	4,9	13,4
Pimiento	4,8	13,2	4,6	12,6	4,8	13,2
Zanahorias	3,7	10,1	3,1	8,5	3,4	9,3
Calabacín	2,7	6	3,1	8,5	3,5	9,6
Coles	2,6	7,1	1,3	3,6	1,9	5,2
Judías verdes	2,2	3	2,0	5,5	2,3	6,8
Champiñones, otras setas	1,1	3	1,2	3,3	1,1	3
Pepino	0,7	3	2,5	6,8	2,2	6

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 8.- Consumo de hortalizas en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/año) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

Consumo de frutas frescas en el hogar (k/l/persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Frutas frescas	102,7	281,3	86,6	237,7	95,7	262
Frutas más consumidas						
Naranjas	25,9	70,9	15,5	42,4	20,2	53,3
Manzanas	15,1	41,3	10,1	27,6	11,4	31,2
Plátanos	10,1	27,6	9,4	25,7	9,5	26
Peras	8,1	22,1	5,7	15,6	6,7	18,3
Mandarinas	6,1	16,7	5,0	13,6	6,1	16,7
Melón	4,8	13,1	8,1	22,1	7,8	21,3
Kiwi	3,7	10,1	2,8	7,6	3,2	8,7
Fresas	3,4	9,3	2,2	6,1	2,5	6,8
Uvas	2,5	6,8	2,0	5,4	2,1	5,7
Sandía	2,3	6,3	7,3	20	6,7	18,3

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 9.- Consumo de frutas frescas en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de leguminosas y frutos secos en el hogar (k/l/persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA. Océano Atlántico		CC.AA. Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
LEGUMINOSAS (proteínas, carbohidratos, fibra, K, Fe, Ca, mg, vit B, fólico)	3,86	10,56	3,09	8,46	3,27	8,96
Garbanzos	1,27	3,47	1,24	3,4	1,22	3,34
Alubias	1,33	3,65	0,96	2,64	1,02	2,79
Lentejas	1,22	3,34	0,93	2,54	1	2,74
FRUTOS SECOS (Ac. Monoinsaturados, K,Ca, Fe, P, Mg, Vit B, E fólico)	2,90	7,94	2,88	7,90	2,83	7,75
Nueces	1,12	3,05	0,53	1,46	0,65	1,78
Cacahuetes	0,23	0,64	0,26	0,71	0,26	0,71
Avellanas	0,14	0,38	0,07	0,19	0,10	0,27
Almendras	0,11	0,29	0,42	1,16	0,28	0,77

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 10.- Consumo de leguminosas y frutos secos en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de aceite de oliva en el hogar (K/l/persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA. Océano Atlántico		CC.AA. Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Total aceite	17,4	47,7	12,7	34,7	13,9	38,2
Total aceite de oliva	12,2	33,5	8,9	24,2	9,8	26,9
Aceite de oliva virgen	4,3	11,8	2,9	7,9	3,4	9,3
Aceite de oliva extra	3,9	10,7	2,6	7,2	3,1	8,3
Aceite de girasol	4,8	13,2	3,3	9,0	3,7	10,1

Rico en ácido oleico, antioxidantes

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 11.- Consumo de aceite de oliva en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de lácteos en el hogar (Kl/persona/año) y (g/ml/persona/año) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA. Océano Atlántico		CC.AA. Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Leche total	90.8	248.7	69.3	189.9	77.3	211.8
Leche entera	29.1	79.9	20.6	56.4	25.6	70.1
Leche semidesnatada	33.1	90.6	31.1	85.3	31.1	85.2
Leche desnatada	25.8	70.6	17.0	45.9	19.6	53.6
Derivados lácteos	32.5	89.0	33.5	91	32.4	88.8
Leches fermentadas	18.0	49.3	14.0	38.4	14.9	40.9
Yogurt	11.69	32.0	8.6	22.4	9.2	25.1
Queso	6.8	18.6	7.2	19.6	6.7	18.4
Queso fresco	2.3	6.3	2.2	6.0	2.1	5.7

Aporta ~ 70% del calcio de la dieta, vitaminas y CLA.

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 12.- Consumo de lácteos en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.


DIETA ATLÁNTICA

Productos del mar

- **Pescados, mariscos, moluscos, crustáceos, huevas, algas.**

Fuente única de ácidos grasos omega-3 (ω -3) de cadena larga ≥ 20 átomos de carbono.

- **Dos ácidos grasos ω -3 principales para la salud:**
 - ✓ **Ácido Eicosapentaenoico (EPA: 20:5 ω -3)**
 - ✓ **Ácido Docosahexaenoico (DHA: 22:6 ω -6)**



Pescado

Pescados, mariscos, crustáceos, moluscos, algas, aceites de pescados y algas	ω-3, Vit. A, D, E, Complejo B, Selenio, Yodo, Magnesio, Cinc, Calcio, Potasio, Hierro, Fósforo.
---	--

R. Tojo, Fundación Dieta Atlántica. USC 2007
R. Tojo, R. Leis, La Dieta Atlántica, el pescado y las algas. Monografía. Servicio Publicación USC. 2009

Figura 13.- Productos del mar.

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de pescado en el hogar (K/l/persona/año) y (g/ml/persona/año) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Pescado total	34.1	93.6	23.8	65.3	27.6	75.5
Pescados	19.9	54.5	12.2	33.4	15.3	41.9
Pescado fresco	17.2	47.1	9.3	25.5	12.2	33.4
Pescados azules	10.3	28.2	7.3	20	8.6	23.6
Mariscos, moluscos y crustáceos	10.3	28.2	7.7	21.1	8.3	22.7

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 14.- Consumo de pescado en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

DIETA ATLÁNTICA

Contenido de ácidos grasos poliinsaturados ω -3 en pescados, aceites de pescados, moluscos y crustáceos (g/100 g)

Alimento	Ácidos grasos ω -3			
	DHA	22:6 ω -3	EPA	20:5 ω -3
Pescados				
Arenque		1,34		1,15
Sardina		1,20		1,17
Caballa		1,10		0,71
Anchoa		0,90		0,50
Salmón		0,86		0,53
Trucha		0,83		0,23
Merluza		0,72		0,68
Róbalo		0,59		0,17
Atún		0,27		0,06
Bacalao		0,16		0,08
Lamprea		0,25		0,19
Lenguado		0,10		Tr

Mataix J, Gil A. 2004

Figura 15.- Contenido de ácidos grasos poliinsaturados ω -3 en pescados (g/ 100 g).

DIET ATLÁNTICA

Contenido de ácidos grasos poliinsaturados ω -3 en pescados, aceites de pescados, moluscos y crustáceos (g/100 g)

Alimento	Ácidos grasos ω -3			
	DHA	22:6 ω -3	EPA	20:5 ω -3
Aceites de pescado				
Salmón		18,23		13,02
Higado de bacalao		10,97		6,90
Arenque		6,21		6,27
Crustáceos y moluscos				
Cangrejo		0,45		0,47
Calamar		0,25		0,13
Mejillón		0,16		0,41
Pulpo		0,10		0,10

Mataix J, Gil A. 2004

Figura 16.- Contenido de ácidos grasos poliinsaturados ω -3 en aceites de pescados, moluscos y crustáceos (g/ 100 g).

DIET ATLÁNTICA

Contenido de ácidos grasos en macroalgas de aguas frías

Aguas frías Canadá	Nereocystis Luetkeana	Porphyra Perforata	Fucus Distichus	Fucus Sp	Pteridogophora sp	Ulva Fenestrata
Lípidos totales (mg/g peso seco)	33,6	19,2	10,6	9,7	9,5	5,0
% Saturados	27,0	37,9	29,7	15,6	24,2	30,9
% Monoins.	15,8	19,1	28,1	28,5	15,2	14,5
% Polinsat.	57,1	42,8	42,0	55,8	60,4	54,9
ω -3	35,5	28,6	17,2	22,0	42,3	48,8
ω -6	24,2	13,2	23,8	32,8	17,1	5,4
ω -3/ ω -6	1,3	2,1	0,7	0,6	2,6	8,8
20:4 ω -6	16,7	6,7	11,7	17,3	9,6	1,1
20:5 ω -6	12,5	14,3	4,4	8,8	14,6	3,3

Colombo ML. Plant Foods Hum Nutr 2006; 61: 67-72

Figura 17.- Contenido de ácidos grasos en macroalgas de aguas frías.

Consumo de carne en el hogar (K/l/persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Carne total	51.5	128.2	46.8	128.2	49.8	136.4
Carne fresca	39.2	107.4	34.8	95.3	37	101.4
Pollo	12.6	34.5	13.0	35.6	12.7	34.8
Cerdo	11.0	30.1	10.5	28.8	11.3	31
Vacuno	10.2	27.9	5.5	15.1	6.6	18.1
Tenera	7.6	20.8	3.8	10.4	5.1	14
Carne transformada	11.6	31.8	11.5	31.5	11.9	32.6

➤ **Proteína, grasa, K, Mg, Fe, Se, complejo B.**

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 18.- Consumo de carne en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

DIETA ATLÁNTICA

Consumo de huevos en el hogar (K/l/persona/año) en España CCAA Atlántica y Mediterránea 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Huevos	10.1	27.7	7.8	21.4	8.6	23.5
Unidades	159.8	0.44	124.3	0.34	135.7	0.37

➤ **Proteínas de alto valor biológico, vitaminas A, D y B12, selenio y fósforo.**

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 19.- Consumo de huevos en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

Consumo de vino y cerveza en el hogar (K//persona/año) y (g/ml/persona/día) en España, CCAA Atlánticas y Mediterráneas 2009

Alimento	CC.AA Océano Atlántico		CC.AA Mar Mediterráneo		España	
	k/año	gr/día	k/año	gr/día	k/año	gr/día
Vino total	12.9	35.2	9.1	24.9	8.8	24.1
Vino tinto	8.7	24.3	5.1	13.8	5.2	14.2
Con D.O mesa	3.7	10.2	2.4	6.8	2.3	6.3
Cerveza total	9.96	27.2	19.9	53.8	16.4	44.9
Cerveza con alcohol	6.7	18.1	15.6	42.9	12.8	34.7

— Contiene resveratrol (vino tinto).

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 20.- Consumo de vino y cerveza en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día) en España, CCAA atlánticas y mediterráneas, 2009.

Consumo per cápita de alimentos en el hogar (K//persona/año) y (K//persona/día). 2009

CCAA	Consumo	
	k//año	k//día
España	586.4	1.6
Arco atlántico		
Galicia	562.0	1.5
Asturias	618.3	1.7
País Vasco	555.6	1.5
Cantabria	648.2	1.8
Global	596.0	1.63
Mar Mediterráneo		
Cataluña	629.9	1.7
C. Valenciana	558.9	1.5
Andalucía	567.8	1.6
I. Baleares	621.7	1.7
Murcia	556.6	1.5
Global	586.9	1.6

La alimentación en España (2010). Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

Figura 21.- Consumo *per cápita* de alimentos en el hogar (kg/L/persona/año) y (g/mL/persona/día), 2009.



Figura 22.- Características saludables de la dieta atlántica tradicional de Galicia (I).

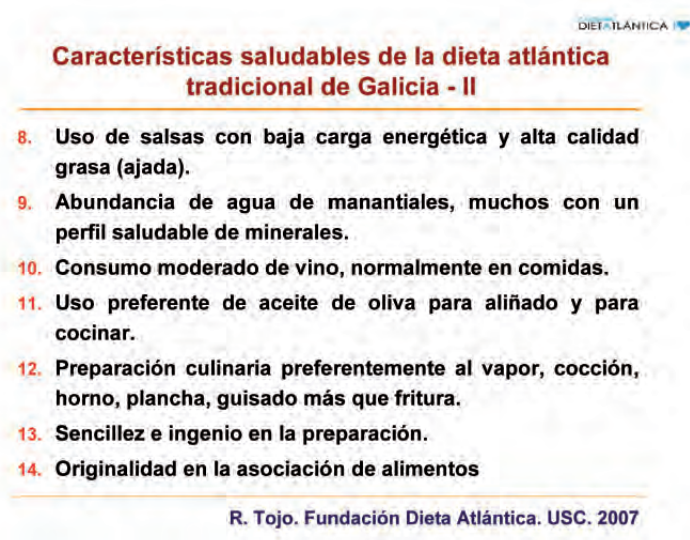


Figura 23.- Características saludables de la dieta atlántica tradicional de Galicia (II)



Figura 24.- Pirámide de la dieta atlántica: saludable, funcional y bioactiva.

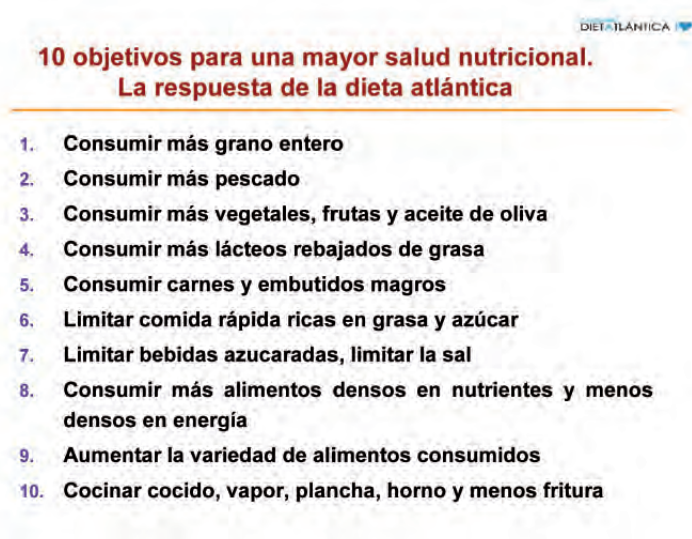


Figura 25.- 10 objetivos para una mayor salud nutricional, la respuesta de la dieta atlántica.

Dieta Atlántica: salud y longevidad

Beneficios de los pescados, moluscos y crustáceos y algas. Importancia de los ácidos grasos omega-3 de cadena muy larga (LCPUFAs)

Los países del arco atlántico europeo y muy particularmente España y Portugal tienen un alto consumo de productos del mar y acuicultura y cada vez más de algas. La importancia de estos alimentos se relaciona con su composición nutricional muy especialmente por ser los únicos que presentan una concentración elevada de ω -3 y una ratio ω -3/ ω -6 favorable. Su riqueza en vitaminas y minerales eleva aun más su categoría de alimento saludable. En la actualidad la ratio ω -6/ ω -3 es en los países desarrollados de 10-15/1 mientras que la ratio ideal para la salud es del 2:1. Por ello la recomendación unánime de la OMS, FAO, UE y sociedades médicas es aumentar el consumo de pescado especialmente azules por la riqueza en ω -3.

Se debe tener presente que los ácidos grasos ω -3 se encuentran en las membranas de todas las células de nuestro organismo y en consecuencia son críticos para su función, muy especialmente de la retina, espermatozoides, cerebro, eritrocitos, corazón (Fig. 26-28).

Sus beneficios, ya son patentes en el feto, con particular importancia para el desarrollo cerebral y retiniano. Este beneficio continúa cuando el lactante es alimentado con leche de mujer que contiene ω -3. Recientemente la autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, ha recomendado la suplementación de las madres embarazadas y lactando con EPA+DHA y durante la niñez y adolescencia (Fig. 29-31).

También el beneficio de la función cerebral continúa durante todo el ciclo vital, limitando el proceso degenerativo cerebral, la función cardíaca, el metabolismo lipídico y el proceso aterogénico. En experimentación animal se evidencia que la acción inmediata de dosis masivas ω -3 después de una lesión medular, mejora la recuperación funcional con relación al grupo placebo (Fig. 32-36).

Por todo ello, el consumo de pescados y otros productos del mar o agua dulce se convierte en una prioridad.

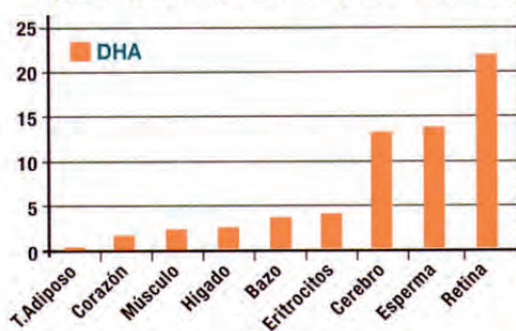
Efectos de los ácidos grasos omega-3

- Favorecen la fluidez, la estabilidad y la función de las membranas celulares.
- Influyen en proteínas de membrana (receptores, canales iónicos, enzimas).
- Modulan neurotransmisión dopaminérgica, serotoninérgica y colinérgica.
- Regulan vía de señales de transducción.
- Influyen en la expresión de genes.
- Favorecen neurodesarrollo, función cerebral y visual.
- Inhiben la apoptosis neuronal.
- Inhiben la respuesta inflamatoria.
- Metabolismo energético.

Lahe MA. Prog Neurobiol 2005; 75:275-93
 Kim HY. J Biol Chemistry 2007; 282:18661-5
 Calder PC. AJCN 2006; 83 (suppl 6): 1505S-19S
 Vance G. J Lipid Res 2008; 49:340-8
 Raz R. Dev Med Clin Neurol 2009;51:580-92

Figura 26.- Efectos de los ácidos grasos omega-3.

Composición de ácidos grasos en diferentes tejidos (g/100 de ácidos grasos totales)



Arterburn L.M. AJCN 2006; 83 (suppl): 1467S-76S

Figura 27.- Composición de ácidos grasos en diferentes tejidos (g/100 de ácidos grasos totales).

Composición del semen de individuos normozoospermicos y astenozoospermicos		
Parámetros semen	Normozoospermia	astenozoospermia
Concentración esperma (10^6 ml^{-1})	119,3 ± 79,3	87,6 ± 25,2
Total esperma eyaculado (10^6)	393,2 ± 252	397 ± 134,7
Morfología normal (%)	21,1 ± 5,0	8 ± 3,3 <0,001
Cabeza anormal Morfología (%)	28,3 ± 6	33,8 ± 7 <0,05
Motilidad rápida progresiva (%)	26,8 ± 7	5,1 ± 6,3 <0,001
No motilidad (%)	31,2 ± 9,9	57,2 ± 11,6 <0,001
Contenido DHA mmol/ 10^8 espermatoz.	98,5 ± 4,5	53,9 ± 11,6 <0,001

Tavilani H. Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids 2007;77:45-50.
Tavilani H. Andrologia 2006;38:173-8.

Figura 28.- Composición del semen de individuos normozoospermicos y astenozoospermicos.

Consumo de pescado de la madre en el embarazo y riesgo de deficiencias del neurodesarrollo. Estudio en niños a los 8 años: Estudio ALSPAC

Consumo de pescado en el embarazo			
Neurodesarrollo del niño (Edad 8 años)	No	1-340g/semana	>340g/semana
	% de niños en el cuartil inferior		
C. Inteligencia verbal	32.3	24.1	16.3
Motor fino	29.1	24.3	18.7
Prosocial	12.1	9.7	7.2
Desarrollo social	26.4	25.2	21.7

A mayor cantidad de ω -3 ingerido en el embarazo, menor porcentaje de niños con riesgos en el neurodesarrollo ($p < 0.001$)

Hibbeln JR. Lancet 2007; 369: 578-85

Figura 29. - Consumo de pescado de la madre en el embarazo y riesgo de deficiencias del neurodesarrollo, estudio en niños a los 8 años: estudio ALSPAC.

Asociación entre ingesta de pescado en el embarazo y la lactancia y neurodesarrollo en la infancia. Danish National Birth Cohort.

- Estudio en 25446 recién nacidos (1997-2002), valoración a los 6 y 18 meses de edad.
- El consumo materno de pescado durante el embarazo y la lactancia, asociadas independientemente con mayor desarrollo del niño.
- Alta ingesta materna de pescado en embarazo y lactancia se asocia con mayor neurodesarrollo a 18 meses de edad (OR:1.29, 95% CI: 1.20% 1.38)

Oken E. AJCN 2009; 88:789-96

Figura 30.- Asociación entre ingesta de pescado en el embarazo y la lactancia y neurodesarrollo en la infancia. Danish National Birth Cohort.

Beneficios de los omega-3 en la demencia. Situación actual.

- 2005. Demanda de información del US Department of Health and Human Services sobre el estado de evidencia científica (metanálisis).
 - ❖ Suficiente evidencia que justifica la realización de ensayos clínicos sobre prevención y tratamiento.
- 2005-2009. Estudios epidemiológicos sobre el incremento del consumo de pescado.
 - ❖ Se asocia a un reducido riesgo del declinar cognitivo y demencia, incluida enfermedad de Alzheimer (EA).
 - ❖ Varios estudios demuestran la reducción de un 40 -50% de este riesgo.
 - ❖ Algunos estudios no muestran efecto en pacientes de EA con riesgo genético de Apo E .4.
- Niveles de ω -3 y ω -6.
 - ❖ Altos niveles sanguíneos de DHA disminuyen el riesgo.
 - ❖ Altos niveles de ω -6, ácidos grasos saturados, trans y colesterol y ratio alta ω -6/ ω -3 aumentan el riesgo.

Cole GM. Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids 2009;81:213-21

Figura 31.- Beneficios de los omega-3 en la demencia, situación actual.

Dieta y riesgo de demencia

The Three-City Cohort Study Bordeaux, Dijon, Montpellier

- **8085 personas de ≥65 años no demenciadas seguidas durante 4 años (1999-2000 a 2004)**
 - ❖ Se produjeron 281 casos de demencia (183 E. Alzheimer)
- **Consumo semanal de pescado**
 - ❖ Reduce riesgo de EA (0.65, 95% CI 0.43-0.99) y todas las causas de demencia en los no portadores de Apo E ε4 (0.60, 95% CI 0.40-0.90)
- **Consumo regular de aceites ricos en ω-3**
 - ❖ Reduce riesgo todas las causas de demencia (0.46)
- **Consumo diario de frutas y vegetales**
 - ❖ Reduce riesgo todas causas demencia (0.72: 95% CI 0.93-0.97)
- **Consumo regular de aceites ricos en ω-6**
 - ❖ Aumenta el riesgo de demencia (2.12, 95% CI 1.30-3.46) en Apo E ε4 no portadores
- **Consumo elevado de grasa saturada, trans y colesterol aumenta el riesgo de demencia.**

Barberger-Gateau P. Neurology 2007; 69:1921-30
Cole GM. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2009;8:213-21

Figura 32.- Dieta y riesgo de demencia.

Consumo de pescado o aceite de pescado y mortalidad cardiovascular

Dosis 250 mg/día EPA + DHA		
Mortalidad	Efecto clínico	Fuerza de la evidencia científica
Mortalidad cardiovascular	~35% reducción	Fuerte
Muerte súbita	~50% reducción	Fuerte
Stroke isquémico	~30% reducción	Moderada

Menor progresión aterosclerosis

Mozaffarian D. JAMA 2006;296:1885-99
Erkkila AT. J Lipid Res 2006; 47:2814-19

Figura 33.- Consumo de pescado o aceite de pescado y mortalidad cardiovascular.

Riesgo relativo de muerte súbita cardíaca. Valoración del Índice Omega-3.

Índice omega-3: % de EPA + DHA en eritrocitos del total de ácidos grasos (no deseable 0-4%, intermedio 4-8% y deseable \geq 8%).				
Estudio prospectivo de cohortes				
Índice ω -3 (%)	3,9	5,1	6	7,3
Riesgo relativo	1	0,5	0,3	0,1
Estudio casos-control				
Índice ω -3 (%)	3,3	4,3	5	6,3
OR	1	0,6	0,2	0,1

Harris WS. Pharmacol Res 2007;55:217-23.
Von Schacky C. Cardiovasc Res 2007;73:310-15.

Figura 34. - Riesgo relativo de muerte súbita cardíaca, valoración del Índice Omega-3.

Efecto de niveles plasmáticos elevados de DHA sobre la reducción de la progresión de la aterosclerosis coronaria en 228 mujeres postmenopáusicas menores de 80 años con enfermedad cardíaca coronaria. Estrogen Replacement and Atherosclerosis Trial.

Estudio con angiocardiografía coronaria al inicio del estudio y 3 años después.

➤ Mujeres con niveles de DHA en fosfolípidos y triglicéridos plasmáticos por encima de la media con relación a las que los tienen por debajo demuestran los siguientes hallazgos:

- ❖ < progresión de la aterosclerosis $p < ,0006$.
- ❖ < nuevas lesiones $p < ,0009$

➤ Alta ingesta de pescado y altos niveles de DHA en fosfolípidos y triglicéridos plasmáticos limitan la progresión y severidad de la aterosclerosis coronaria.

Erkkila AT. J Lipid Res 2006;47:2814-19.
Tavazzi L. Lancet 2008;372:1223-30.

Figura 35. - Efecto de niveles plasmáticos elevados de DHA sobre la reducción de la progresión de la aterosclerosis coronaria en 228 mujeres postmenopáusicas menores de 80 años con enfermedad cardíaca coronaria, Estrogen Replacement and Atherosclerosis Trial.

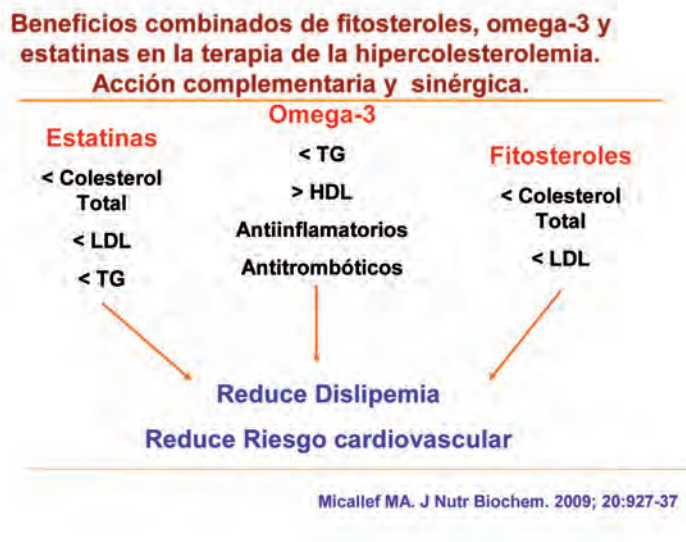


Figura 36.- Beneficios combinados de fitosteroles, omega-3 y estatinas en la terapia de la hipercolesterolemia, acción complementaria y sinérgica.

Beneficios para la longevidad

El último informe del Instituto Nacional de Estadística sobre la longevidad en España pone de manifiesto un porcentaje significativamente mayor de personas de más de 65, 85 y 100 años en las comunidades atlánticas españolas con relación a las mediterráneas. Ello puede ser interpretado como que los estilos de vida, la alimentación, la actividad física deben tener algún papel en las mayores expectativas de vida (Fig. 37-39).

DIET ATLÁNTICA

Porcentaje de población en España según la edad. INE 2011				
	% ≥ 65	% ≥ 85	% ≥ 100	% ≥ 65-100
CCAA Atlánticas				
Galicia	19.17	3.35	0.037	22.55
P. Asturias	18.89	3.47	0.029	22.38
Cantabria	15.80	2.96	0.027	18.76
País Vasco	16.90	2.63	0.021	19.55
Global	17.69	3.10	0.029	20.55
CCAA Mediterráneas				
Cataluña	14.40	2.38	0.021	16.80
C. Valenciana	15.11	2.04	0.017	17.17
I. Baleares	12.42	1.83	0.016	14.26
C. Murcia	12.42	1.62	0.010	14.05
Andalucía	13.50	1.71	0.017	15.22
Global	13.57	2.00	0.018	15.49
España	14.83	2.32	0.022	17.17

Figura 37.- Porcentaje de población en España según la edad, INE 2011.

DIET ATLÁNTICA

LONGEVIDAD EN ESPAÑA. INE 2011 (I)			
POBLACIÓN ≥ 100 AÑOS			
ESPAÑA	VARONES	MUJERES	TOTAL
N ≥ 100 AÑOS	2270	8381	10 651
% del total de la población global	0,009	0,035	0,022
CCAA ATLÁNTICAS			
Galicia	N	228	794
	%	0,017	0,055
Asturias	N	53	262
	%	0,010	0,046
Cantabria	N	19	144
	%	0,006	0,047
País Vasco	N	64	398
	%	0,006	0,035
Global	N	362	1598
	%	0,011	0,046

Figura 38.- Longevidad en España, INE 2011, población de 100 años o mayor (I).

LONGEVIDAD EN ESPAÑA, INE 2011 (II)				
POBLACIÓN ≥ 100 AÑOS				
CCAA		VARONES	MUJERES	TOTAL
CATALUÑA	N	337	1287	1624
	%	0,009	0,033	0,021
VALENCIA	N	208	679	887
	%	0,008	0,024	0,017
I.BALEARES	N	46	139	185
	%	0,008	0,025	0,016
MUERCIA	N	31	121	152
	%	0,004	0,016	0,010
ANDALUCIA	N	358	1108	1466
	%	0,008	0,026	0,017
Global	N	980	3334	4314
	%	0,008	0,027	0,018

Figura 39.- Longevidad en España, INE 2011, población ≤ 100 años (II).

Referencias de libros y monografías sobre la Dieta Atlántica

- Caballero O. 2009. *La Dieta Atlántica*. Alianza Editorial. Madrid.
- Castro X. 2010. *Yantares Gallegos. Historia de la Dieta Atlántica*. Universidade de Santiago de Compostela. Servizo de Publicacións de Intercambio científico. Santiago de Compostela.
- Charro A., Tojo R. 2008. IV Reunión internacional. La dieta atlántica y la nutrición en el siglo XXI. *Dieta Atlántica*. Fundación Española de la Nutrición. Madrid.
- Mataix J., Gil A. 2004. Figura de composición de alimentos españoles. IV Ed. Universidad de Granada.
- Tojo R., Leis R. 2009. *La Dieta Atlántica. El pescado y las algas. Su implicación en el neurodesarrollo y la función cerebral*. Fundación Dietatlántica. Universidade de Santiago. Servizo de Publicacións de Intercambio científico. Santiago de Compostela.
- Varela G., Moreiras O. 2004. Consumo de alimentos en Galicia. *La Dieta Atlántica*. Fundación Española de la Nutrición. Madrid.
- R. Tojo, R. Leis. *Dieta Atlántica. Beneficios para la salud y el bienestar de los alimentos acuícolas*. En M. Rey, J. Fernández, C. Lodeiros, A. Guerra eds. XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. Santiago 2009; pp. 169-180.

***Quorum sensing* y *Quorum quenching* en el medio marino: una alternativa a los antibióticos en acuicultura**

Romero M., Otero* A.

Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

*Email: anamaria.otero@usc.es

Resumen

Las bacterias comunican su presencia a otras bacterias usando pequeñas moléculas de señalización química denominadas autoinductores que les permiten coordinarse para realizar acciones concertadas. Las señales mejor conocidas son las *N*-acilhomoserín lactonas (AHLs), basadas en un anillo lactona al que se une un ácido graso que constituye la cadena lateral. Debido a que la comunicación bacteriana o *quorum sensing* (QS) juega un papel crítico en la regulación de numerosas funciones fisiológicas microbianas, incluyendo las relacionadas con la patogenicidad, existe un enorme interés en el diseño e implementación de estrategias de inactivación de estos sistemas, también denominadas *quorum quenching* (QQ), que puedan funcionar como nuevas fórmulas de lucha antimicrobiana. Estas estrategias son especialmente interesantes en el campo de la acuicultura debido al limitado uso de antibióticos y al alto número de especies bacterianas patógenas de peces que presentan sistemas de QS mediados por AHLs. En una búsqueda de bacterias marinas con actividad QQ realizada en un trabajo anterior por nuestro grupo, se seleccionó una de las bacterias más activas, identificada como *Tenacibaculum discolor* 20J, para la caracterización de su actividad enzimática degradadora de AHLs. Los resultados obtenidos demuestran que 20J presenta actividad sobre todo el rango de tamaños de AHLs conocido y una altísima actividad catalítica sobre estos autoinductores, mucho mayor que la descrita para otras enzimas degradadoras de AHLs conocidas hasta la fecha. Además, extractos celulares de 20J fueron efectivos para la eliminación de las

AHLs producidas por cultivos vivos del patógeno de peces *Edwardsiella tarda* ACC35.1, lo que indica que 20J constituye un candidato prometedor para el control de bacterias patógenas con sistemas de QS basados en AHL.

Palabras clave

Quorum sensing, *Quorum quenching*, AHL, lactonasa, acilasa, *Tenacibaculum*.

Introducción

La detección de *quórum* o *quorum sensing* -QS (Fuqua *et al.*, 1994) describe la capacidad de un microorganismo para percibir y responder a la densidad poblacional mediante la regulación de la expresión genética, siendo así capaz de desarrollar un comportamiento social coordinado. Las bacterias comunican su presencia a las demás usando pequeñas moléculas de señalización química denominadas autoinductores. Este proceso fue descrito por primera vez en la bacteria marina simbiote bioluminiscente *Vibrio fischeri* (Nealson y Hastings, 1979). Esta bacteria sólo emite luz cuando el cultivo alcanza una densidad celular mínima o *quorum*. Más tarde se descubrió que un mecanismo similar, mediado por distintas moléculas señal, estaba implicado en la regulación genética de procesos tan diversos como la producción de antibióticos, la liberación de factores de virulencia, la maduración de biopelículas, etc., lo que inició una serie innumerable de descubrimientos que nos han brindado una nueva visión del mundo microbiano (Williams *et al.*, 2007).

El sistema de QS más estudiado es el empleado por bacterias Gram-negativas que producen autoinductores tipo *N*-acilhomoserín lactonas (AHLs), basadas en un anillo lactona (HSL) al que se une, mediante enlace amida, un ácido graso que constituye la cadena lateral. Poseen una elevada diversidad conformacional, difiriendo en la longitud de cadena lateral, que normalmente contiene entre 4 y 18 carbonos, saturada o insaturada y con o sin sustituciones oxo- o hidroxil- en el tercer carbono (Whitehead *et al.*, 2001). Muchos patógenos importantes en acuicultura como *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio salmonicida*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *Edwardsiella tarda* o *Tenacibaculum maritimum* utilizan este tipo de señales (Freeman y Bassler, 1999; Swift *et al.*, 1999; Croxatto *et al.*, 2002; Buch *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Bruhn *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2010).

Debido a la gran cantidad de bacterias patógenas que coordinan la expresión de factores de virulencia mediante sistemas de QS, se ha propuesto la interceptación de este tipo de comunicación bacteriana como un método prometedor de control de patógenos bacterianos (Dong y Zhang 2005; Dong *et al.*, 2007), especialmente en el campo de la acuicultura (Defoirdt *et al.*, 2004). De hecho, cuando estos sistemas de comunicación son bloqueados, la virulencia se ve obstaculizada en muchos patógenos, facilitando la eliminación de la bacteria por el sistema inmune. Esta nueva estrategia ha sido denominada de forma genérica como *quorum quenching* (QQ) y no afecta a la supervivencia del patógeno, por lo que este tipo de tratamiento no generaría resistencias.

En los últimos años se ha prestado especial atención a la posibilidad de aplicación de estrategias biotecnológicas basadas en QQ para el control de infecciones bacterianas en acuicultura, y en este campo se han obtenido resultados alentadores. Así, el uso del inhibidor de AHLs furanona C-30 redujo de forma significativa la patogenicidad de *V. anguillarum* en trucha arcoíris (Rasch *et al.*, 2004). Las furanonas también inhibieron la patogenicidad de *V. harveyi*, *V. campbellii* y *V. parahaemolyticus* en artemia y los efectos negativos de *V. harveyi* en cultivos de rotífero, pero desafortunadamente las furanonas resultan tóxicas, lo que limita el uso de estos compuestos. También se ha demostrado que consorcios bacterianos con actividad enzimática degradadora de AHLs, protegen artemia, rotífero, larvas de rodaballo y larvas de langostino de infecciones bacterianas (Tinh *et al.*, 2007; Nhan *et al.*, 2010). La degradación por la enzima tipo lactonasa AiiA de *Bacillus* sp. de señales AHL producidas por el patógeno *A. hydrophila* también incrementó la supervivencia de carpas infectadas intraperitonealmente (Chen *et al.*, 2010).

En un estudio previo de nuestro grupo se ha identificado una bacteria marina como *Tenacibaculum discolor* 20J, perteneciente al filo *Bacteroidetes*, con alta capacidad degradadora de señales AHL (Romero *et al.*, 2011), lo que ha motivado un análisis más detallado de sus propiedades enzimáticas degradadoras de autoinductores y su capacidad de bloquear un sistema de QS basado en AHLs en cultivos del patógeno marino *E. tarda* ACC35.1, con el objetivo de evaluar su potencial uso biotecnológico como tratamiento o prevención de infecciones bacterianas en acuicultura.

Materiales y métodos

La cepa 20J de *T. discolor* aislada en nuestro laboratorio a partir de una muestra marina (Romero *et al.*, 2011) se cultivó de forma rutinaria en agar marino o caldo marino (AM/

CM, Difco) a 22 °C. Se utilizó *Chromobacterium violaceum* CV026 como cepa biosensora para la detección de AHLs (McClellan *et al.*, 1997). El patógeno de peces *Edwardsiella tarda* ACC35.1 se cultivó a 25 °C en TSA o TSC.

Con el objetivo de determinar la localización celular de la actividad degradadora de AHLs de *T. discolor* 20J, se obtuvieron el sobrenadante y extracto celular crudo (ECC), por sonicación en PBS de biomasa centrifugada, de un cultivo de 24 horas en 15 mL de CM (Uroz *et al.*, 2005). La concentración de proteína total de los ECCs se estimó por el método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

Se determinó la presencia de actividad interceptora de AHLs (C4-C14 con o sin sustituciones O-/OH-) en sobrenadantes, ECCs y célula viva de 20J y posteriormente se cuantificó la concentración de cada AHL restante mediante bioensayo con biosensor CV026 (McClellan *et al.*, 1997) o mediante metodología HPLC-MS (Milton *et al.*, 2001). En el caso de metodología HPLC-MS se extrajo cada muestra con acetato de etilo con o sin acidificación previa a pH 2, con el objetivo de detectar actividad degradadora de tipo lactonasa. Tras acidificación, si la actividad degradadora de señales AHL es de tipo lactonasa, se producirá una recuperación de la señal por recircularización del anillo lactona previamente roto por la lactonasa (Yates *et al.*, 2002).

Para determinar la concentración mínima activa y cinética de degradación de AHL de ECCs de *T. discolor* 20J, se expusieron las señales C10 y C12-HSL a diferentes diluciones de ECC en agua de mar o PBS y posteriormente se extrajo la AHL restante y cuantificó mediante metodología HPLC-MS. Las unidades de actividad catalítica de AHL (U) de los ECCs se definieron como la cantidad de proteína que degrada 1 nM de AHL por minuto. También se estudió la cinética de degradación con célula viva de 20J.

Finalmente se estudió la producción de AHLs por *E. tarda* ACC35.1 en cultivos de 100 mL de TSC con o sin adición de ECCs de *T. discolor* 20J en diferentes concentraciones, se tomaron muestras de 15 mL a diferentes intervalos y se cuantificaron las AHLs presentes en cada muestra.

Resultados y discusión

De las cepas bacterianas con actividad QQ aisladas e identificadas en un estudio previo de nuestro grupo (Romero *et al.*, 2011), se seleccionó la cepa 20J, representante no patógeno de la especie *Tenacibaculum discolor*, para un estudio más detallado de su actividad anti-AHL.

El género *Tenacibaculum* pertenece al filo *Bacteroidetes* que constituye uno de los grupos de bacterias heterotróficas dominantes en hábitats acuáticos. La actividad QQ en este género ya había sido descrita con anterioridad en nuestro grupo para la especie *T. maritimum* NCIMB2154^T (Romero *et al.*, 2010) aunque en este caso esta especie no degrada AHLs de cadena corta. A pesar de presentar una homología del 99% con la cepa tipo del patógeno *T. discolor* (Piñeiro-Vidal *et al.*, 2008), la cepa 20J presentó características claramente diferenciadoras, como la capacidad de crecer en medio TSA-1% NaCl y además 20J no resultó patógena en inyección intraperitoneal de rodaballos (datos no incluidos).

Un resultado sorprendente de la cepa 20J fue su capacidad de degradar AHLs incluso en medios ricos en nutrientes como CM, donde existen otras fuentes de carbono disponibles, lo que sugiere que la capacidad de degradar señales de QS en esta bacteria no ocurre con arreglo a la obtención de energía, sino que esta actividad QQ se expresa de manera constitutiva probablemente para conferir a la cepa ventajas adaptativas respecto a competidores que utilizan sistemas de QS basados en AHLs. Un hecho que apoya esta hipótesis fue la incapacidad de la cepa 20J para crecer en medios de enriquecimiento con C6 ó C10-HSL como única fuente de carbono (datos no incluidos). Se detectó actividad QQ en bioensayos (Fig. 1) y HPLC-MS tanto en sobrenadantes como ECCs de *T. discolor* 20J. Además, el análisis por HPLC-MS reveló que el 100% de las AHLs ensayadas (C4-C14 con o sin sustituciones O-/OH-) eran degradadas por 20J y su extracto celular. En el caso de AHLs de cadena corta la acidificación permitió la recuperación de parte de la señal indicando la presencia de una enzima de QQ de tipo lactonasa (Yates *et al.*, 2002) para AHLs cortas. Esta recuperación no se observó en AHLs de cadena larga indicando que este tipo de AHLs podrían ser degradadas por una enzima diferente a la lactonasa. La existencia de varios enzimas de QQ en una sola especie ya había sido descrita con anterioridad para especies como *Pseudomonas aeruginosa* PAOI y *Rhodococcus erythropolis* W2 (Huang *et al.*, 2006; Uroz *et al.*, 2008).

Se estudiaron las cinéticas de degradación de C4 y C12-HSL por célula viva de *T. discolor* 20J tomando muestras a diferentes tiempos: 0, 30, 60 y 120 minutos (Fig. 2A). La cepa 20J mostró una alta capacidad degradadora de C4-HSL, puesto que tras 30 minutos redujo la concentración inicial de C4-HSL a la mitad. Esta actividad fue aún más intensa para C12-HSL, puesto que el 100% de la señal fue interceptada tras 30 minutos (Fig. 2A).

Para determinar la concentración mínima activa de ECCs de 20J, se utilizó la señal C10-HSL en concentración 50 μ M, resultando la concentración 10 μ g proteína ECC mL⁻¹ como la más activa y se seleccionó para el estudio de actividad catalítica de AHLs por ECCs de 20J. También se realizó un estudio cinético para ECCs obtenidos en PBS o agua de mar (Fig. 2B). La actividad degradadora de la señal fue significativamente más rápida para el ECC obtenido en agua de mar, ya que tras únicamente dos horas de ensayo el 95% de C12-HSL

fue degradado por este ECC en concentración $10 \mu\text{g}$ proteína mL^{-1} . Sin embargo un ECC con la misma concentración de proteína preparado en PBS pudo degradar el 60% de señal en el mismo periodo de tiempo (Fig. 2B). Esta diferencia se vio reflejada también en las unidades de actividad catalítica de AHL (U), definidas como la cantidad de proteína en ECCs ($\mu\text{g mL}^{-1}$) que degradan 1 nM de C12-HSL por minuto, siendo 0,036 U para ECCs obtenidos en agua marina y casi tres veces mayor para ECCs en PBS (0,104 U). Estos resultados indican que la actividad enzimática anti-AHL de *T. discolor* 20J se ve incrementada por oligoelementos presentes en el agua de mar. Aunque no directamente comparable, la actividad enzimática de ECCs de 20J sobre AHLs fue significativamente mayor que la descrita para otras enzimas de QQ conocidas como la lactonasa AiiA de *Bacillus* (84.450 U para C12-HSL; Chen *et al.*, 2010), lo que confirma el potencial de 20J como bloqueador de comunicación bacteriana.

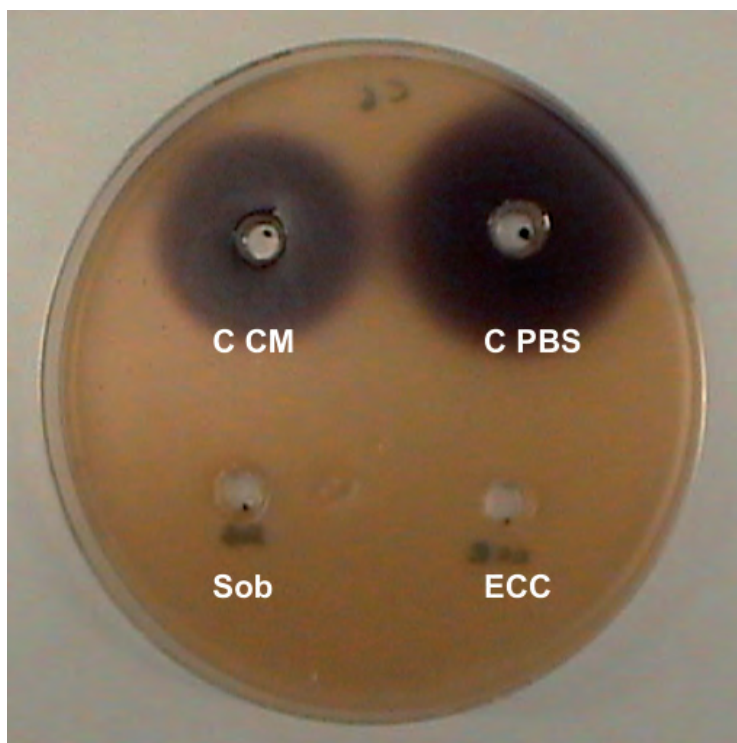


Figura 1.- Bioensayo de *C. violaceum* CV026 para la detección de degradación de C6-HSL por sobrenadante (Sob) o extracto celular crudo (ECC) de 20J en relación a controles (C) de CM y PBS.

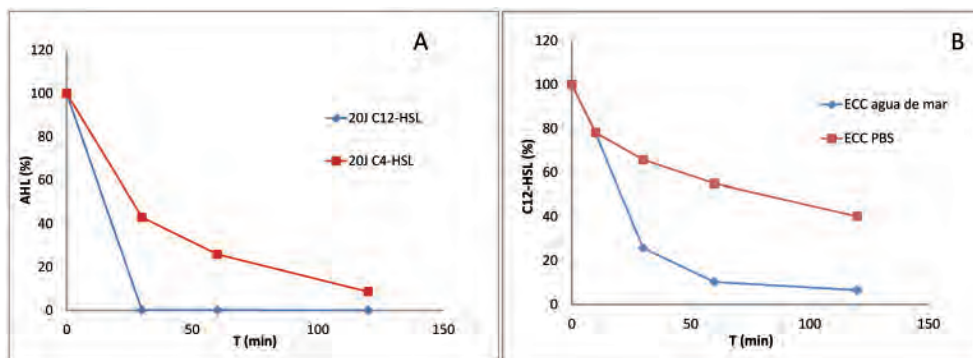


Figura 2.- A) Cinéticas de degradación de C4 y C12-HSL por célula viva de 20J. B) Cinéticas de degradación de C12-HSL por ECCs de 20J obtenidos en agua de mar o PBS. Los valores representados son medias de dos experimentos independientes.

Con el objetivo de estudiar la posible aplicación de *T. discolor* 20J para bloquear un sistema de QS basado en AHL de un patógeno marino se añadieron ECCs de 20J a cultivos de *E. tarda* ACC35.1. *E. tarda* es el agente causante de la septicemia edwardsiellosis, que afecta a una amplia variedad de peces, incluyendo especies de importancia económica como: *Psetta maxima* y *Solea senegalensis* (Nougayrede *et al.*, 1994; Castro *et al.*, 2011). La presencia de un sistema de QS basado en AHL en este patógeno ya había sido descrita en varios trabajos, sin embargo se encontraron diferencias en el perfil de señales producidos por diferentes cepas de la especie (Morohoshi *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2010). Las AHLs encontradas en sobrenadantes de la cepa ACC35.1 de *E. tarda* estudiada en este trabajo fueron C6 y OC6-HSL. La máxima concentración alcanzada por las señales en el medio se registró a las 24 horas de cultivo del patógeno para OC6-HSL y a las 48 horas para C6-HSL (Fig. 3).

La cantidad de OC6-HSL fue aproximadamente un orden de magnitud mayor que la de C6-HSL. Sin embargo, no se observó acumulación de ambas señales en el medio cultivo en presencia de ECC de 20J en concentración de $1.000 \mu\text{g proteína mL}^{-1}$. En el caso de cultivos suplementados con ECC en concentración $100 \mu\text{g proteína mL}^{-1}$ la acumulación de AHLs fue muy escasa y tras 24 horas de cultivo desaparecen completamente. En cuanto a cultivos con ECCs en concentración $10 \mu\text{g proteína mL}^{-1}$, las AHLs son completamente degradadas o reducen su concentración significativamente tras 48 horas de cultivo, aunque es importante destacar que el medio de cultivo utilizado para *E. tarda* ACC35.1 fue TSC, que no incluye sales marinas y por tanto carece de los oligoelementos que incrementarían la actividad del ECC de 20J. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la célula viva o ECCs de *T. discolor* 20J constituyen uno de los sistemas de bloqueo de AHLs más efectivos de los

que disponemos en la actualidad, por su alta inespecificidad (posibilidad de aplicación para numerosos patógenos por su degradación de todo el rango de tamaños de AHL) y su alta actividad catalítica sobre AHLs. Además, el uso de la cepa 20J como antipatogénico sería una solución interesante y respetuosa con el medio ambiente para el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas como la edwardsiellosis.

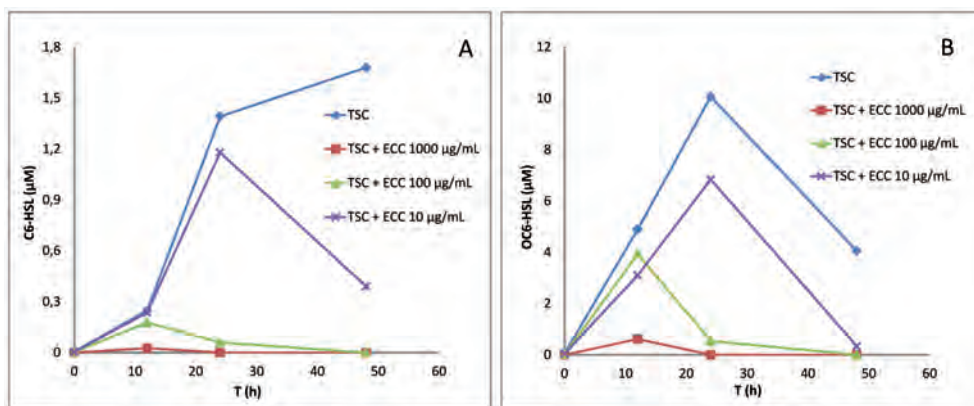


Figura 3.- Producción de C6-HSL (A) y OC6-HSL (B) por cultivos de *E. tarda* ACC35.1 con o sin ECCs de 20J en diferentes concentraciones.

Bibliografía

- Bruhn J.B. *et al.*, 2005. Quorum sensing signal molecules (acylated homoserine lactones) in gram-negative fish pathogenic bacteria. *Dis. Aquat. Org.* 65:43-52
- Buch C. *et al.*, 2003. Production of acylated homoserine lactones by different serotypes of *Vibrio anguillarum* both in culture and during infection of rainbow trout. *Syst. Appl. Microbiol.* 26:338-349
- Castro N. *et al.*, 2011. First description of *Edwardsiella tarda* in Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup). *J. Fish Dis.* (in press)
- Chen R. *et al.*, 2010. High yield expression of an AHL-lactonase from *Bacillus* sp. B546 in *Pichia pastoris* and its application to reduce *Aeromonas hydrophila* mortality in aquaculture. *Microb. Cell. Fact.* 9:39
- Croxatto A. *et al.*, 2002. VanT, a homologue of *Vibrio harveyi* LuxR, regulates serine,

- metalloprotease, pigment, and biofilm production in *Vibrio anguillarum*. *J. Bacteriol* 184:1617-1629
- Defoirdt *et al.*, 2004. Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture* 240:69-88
- Dong Y.H., Zhang L.H. 2005. Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *J. Microbiol* 43: 101-109.
- Dong Y.H. *et al.*, 2007. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Phil.Trans. R. Soc. B* 362:1201-1211
- Freeman J.A., Bassler B.L. 1999. A genetic analysis of the function of LuxO, a two component response regulator involved in quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Mol. Microbiol.* 31:665-677
- Fuqua W.C. *et al.*, 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J. Bacteriol.* 176: 269-275.
- Han Y. *et al.*, 2010. Detection of different quorum-sensing signal molecules in a virulent *Edwardsiella tarda* strain LTB-4. *J. Appl. Microbiol.* 108:139-147
- Huang J.J. *et al.*, 2006. Identification of QuiP, the product of Gene PA1032, as the second acyl-homoserine lactone acylase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl. Environ Microbiol.* 72:1190-1197
- Kim S.Y. *et al.*, 2003. Regulation of *Vibrio vulnificus* virulence by the LuxS quorum-sensing system. *Mol. Microbiol.* 48:1647-1664
- Lowry O.H. *et al.*, 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193:265-275
- McClellan K.H. *et al.*, 1997. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acyl homoserine lactones. *Microbiology* 143:3703-3711
- Milton D. *et al.*, 2001. The LuxM homologue, VanM from *Vibrio anguillarum* directs the synthesis of N-(3-hydroxyhexanoyl)homoserine lactone and N-hexanoylhomoserine lactone. *J. Bacteriol.* 183:3537-3547
- Morohoshi T. *et al.*, 2004. Identification of quorum-sensing signal molecules and the LuxRI homologs in fish pathogen *Edwardsiella tarda*. *J. Biosci. Bioeng.* 98:274-281
- Neelson K.H., Hastings J.W. 1979. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiol. Rev.* 43: 496-518.
- Nhan D.T. *et al.*, 2010. Quorum quenching bacteria protect *Macrobrachium rosenbergii* larvae from *Vibrio harveyi* infection. *J. Appl. Microbiol.* 109:1007-1016
- Nougayrede P. *et al.*, 1994. First isolation of *Edwardsiella tarda* from diseased turbot

- (*Scophthalmus maximus*) reared in a sea farm in the Bay of Biscay. *Bull Eur Assoc Fish. Pathol.* 14:128-129
- Piñeiro-Vidal M. *et al.*, 2008. *Tenacibaculum discolor* sp. nov. and *Tenacibaculum galaicum* sp. nov. isolated from sole (*Solea senegalensis*) and turbot (*Psetta maxima*) culture systems. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58:21-25
- Rasch M. *et al.*, 2004. An inhibitor of bacterial quorum sensing reduces mortalities caused by vibriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *System. Appl Microbiol.* 27:350-359
- Romero M. *et al.*, 2010. Acyl homoserine lactone production and degradation by the fish pathogen *Tenacibaculum maritimum*, a member of the *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* (CFB) division. *FEMS Microbiol. Lett.* 304:131-139
- Romero M. *et al.*, 2011. Quorum quenching in cultivable bacteria from dense marine coastal microbial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 75:205-217
- Swift S. *et al.*, 1999. In: Dunny GM, Winans S (eds) Cell-Cell Signalling in Bacteria. *Am. Soc. Microbiol.*, Washington DC
- Tinh N.T.N. *et al.*, 2007. Interference with the quorum sensing systems in a *Vibrio harveyi* strain alters the growth rate of gnotobiotically cultured rotifer *Brachionus plicatilis*. *J. Appl. Microbiol.* 103:194-203
- Uroz S. *et al.*, 2005. N-acylhomoserine lactone quorum-sensing molecules are modified and degraded by *Rhodococcus erythropolis* W2 by both amidolytic and novel oxidoreductase activities. *Microbiol.* 151:3313-3322
- Uroz S. *et al.*, 2008. A *Rhodococcus qsdA*-encoded enzyme defines a novel class of large-spectrum quorum-quenching lactonases. *Appl. Environ. Microbiol.* 74:1357-1366
- Whitehead N.A. *et al.*, 2001. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25:365-404
- Williams P. *et al.*, 2007. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 362: 1119-1134.
- Yates E.A. *et al.*, 2002. N-Acylhomoserine lactones undergo lactonolysis in a pH, temperature, and acyl chain length-dependent manner during growth of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.* 70:5635-5646

Fotobiorreactores: aplicaciones biotecnológicas para acuicultura

Seixas P., Peña J.

AQUALGAE SL, 15706 Santiago de Compostela – España.

E-mail: info@aqualgae.com

Resumen

Uno de los procesos clave en acuicultura es la obtención de alevines de peces, de larvas de crustáceos o de semilla de moluscos, a partir de *stocks* de reproductores mantenidos en cautividad. Las microalgas juegan un papel fundamental en la producción de las fases larvarias de casi todas las especies marinas, ya que son el alimento directo de muchas de ellas, o indirecto en algunos casos (sirven de alimento de rotíferos y *artemia*, que constituyen las presas vivas de larvas de peces y crustáceos). Adicionalmente las microalgas se usan para crear las llamadas “aguas verdes”, una técnica utilizada a menudo en *hatcheries* de peces que consiste en añadir microalgas a los tanques de cultivos larvarios y cuya eficacia ha sido demostrada para mejorar la supervivencia y crecimiento de un gran número de especies. La producción de microalgas sigue siendo un freno en el desarrollo de un gran número de procesos en acuicultura, debido a las bajas productividades alcanzadas con las técnicas de producción de microalgas actuales, y al elevado coste que suponen estos cultivos para los acuicultores. Estos problemas derivan de la utilización de sistemas de cultivo de eficiencia bajísima, basados en cultivos discontinuos, o *batch*, en bolsas de polietileno casi siempre de 400 L, en los que no hay control sobre los principales parámetros de cultivo de las microalgas, principalmente la disponibilidad de nutrientes, luz y CO₂. En la mayor parte de los casos la técnica de cultivo se basa en la inoculación en serie de cultivos de volumen creciente, empezando en matraces no aireados de 250 mL hasta llegar al cultivo en bolsas de 100-400 litros o tanques de mayor volumen. Un primer problema de esta técnica de escalado es la que un cultivo sirve como

inóculo a otro de volumen mayor, en un proceso que puede durar semanas, es el riesgo de colapso y la lentitud de la respuesta del sistema ante un incremento de la demanda. La utilización de estos sistemas con una baja relación superficie/volumen y baja automatización, contrasta con el desarrollo en los últimos años de fotobiorreactores (FBRs) de alta eficiencia en el campo de la biotecnología de microalgas para la producción de biomasa microalgal de elevada calidad, que generan productividades de más de diez veces a las alcanzadas en los sistemas tradicionales utilizados en acuicultura, pudiendo esta tecnología ser clave para incrementar la falta de biomasa de microalgas. La producción de microalgas en FBRs permite, además, obtener biomasa de composición estable a lo largo del tiempo y la modulación de la composición nutricional jugando con las condiciones de cultivo.

Palabras clave

Microalgas, acuicultura, moluscos, peces.

Exploring the potential value of the immense Portuguese Sea

Martins A.R., Rodrigues C., Andrade G, Cerejo M., Pinheiro R., Calado P.,Vieira* H.
BIOALVO SA, Edifício ICAT – Campus da FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal
*E-mail: helena.vieira@bioalvo.com

Abstract

The interest in the usage of marine natural sources for bioactive discovery has increased tremendously in the last decade. BIOALVO owns a unique collection of more than 100 prokaryotic extremophiles isolated from deep sea hydrothermal vents in the Mid Atlantic Rift, near Azores Islands. The extreme conditions of temperature and chemical composition of those vents make these microorganisms potential sources for bioactive compounds. Based on this assumption, a collection of both aqueous and organic extracts produced from those microorganisms, entitled PharmaBUG, has been tested for both pharmaceutical and cosmetic usages in BIOALVO's internal research projects and also in collaboration with partners. In order to expand the PharmaBUG library, new strains are being selected based on the diversity of environments from which they derive with this expanded collection being expected to reach 90 000 extracts by the end of 2013. BIOALVO presents itself as a one-stop-shop for natural product development, based not only on its extensive, yet continuously expanding, comprehensive natural extract library and corresponding bioactivities, but also on expert and customizable assay development, which can be coupled to an in-house robotized screening facility, effectively speeding up the testing process and bringing a natural product solution closer and quicker to market.

Keywords

BIOALVO, PharmaBUG, GPSD²® Technology.

BIOALVO's history

BIOALVO's was founded in 2006 as an early drug discovery company developing its own pipeline of drugs against neurological disorders. Its platform technology was patented and has demonstrated a true potential to identify active compounds against different targets. In a constant search for innovative molecules and compounds, BIOALVO turned into the sea and other natural sources for new actives. This powerful combination provided very positive results in identifying new compounds and activities. Recently, in 2010, the company started to slowly enter into other pharmaceutical and cosmetics areas, establishing collaborations with its partners/clients. In 2011, BIOALVO made a deep repositioning strategy, focusing on the exploitation of its assets and uniqueness: the combination of unique and proprietary libraries of extracts with its patented GPS D2[®] (Global Platform Screening for Drug Discovery) technology that maximizes the applications of natural products/compounds in all possible industries. Today BIOALVO is the Biotech for Natural Products.

Marine natural products and the Portuguese Sea

A natural product (NP) is a compound chemically produced by a living organism in nature that has a biological activity useful for different applications (Newman and Cragg, 2007). NPs represent an unlimited source of unique and complex molecular structures that have already led to drugs in all major medical areas. In fact, since 2000, the interest in the NPs as a source of new therapeutic molecules has increased. As the number of new drugs launched in the market did not increase proportionately to the efforts and resources spent on chemical synthetic libraries, the advantages of NPs have become more evident (Chin *et al.*, 2006). In addition to the pharmaceutical industry, also the cosmetic sector has shown increasing interest in natural products. In fact, whereas the growth rate of conventional cosmetics has shown stagnation in recent years, natural and organic products, are reaching 10% of total sales of the cosmetics industry. In fact, the forecast of sales in the European organic and

natural cosmetics market in 2010 was of 2 thousand million Euros (<http://www.organicmonitor.com>).

Being our planet more than 70% water, the search for natural compounds in aquatic environments is extremely appealing. Marine natural products have long attracted the attention of scientists around the world and have already led to the discovery of thousands of products, many of them with biological activity (<http://www.naturalcosmeticsnews.com>). These products are mostly natural compounds produced by plants, algae, invertebrates and marine microorganisms. The latter ones have the great advantage over the formers as they grow very fast, are reproducible and economically competitive, which encourages investment in the development of sustainable methodologies for microorganisms.

According to EUROPABIO, the marine biotechnology, or blue biotechnology, can be defined as the discovery, exploitation and application of biological products and processes derived from marine and aquatic organisms, including whole organisms, cells, genes or other components to the manufacture of valuable products for the end user. Therefore, marine biotechnology has a transversal application to several different sectors and the marine and aquatic environments provide resources to all of them. In fact, it is estimated that the global marine biotechnology market will reach 4.1 thousand million dollars in 2015 (<http://convention.biomarine.org/index>).

The sea is one of Portugal's greater richness's. Historically, it has been a factor of national identity, conditioning the perception that Portuguese have of them as a nation. In addition, the sea is a supplier of multiple resources and supports a comprehensive set of economic activities, generally referred to as the "sea economy".

The Portuguese Exclusive Economic Zone (*Zona Económica Exclusiva* - ZEE) is one of the largest in Europe, accounting for a total of 1.7 million km², which represents approximately 18 times the country's land area. The ZEE is demarcated by the Portuguese continental shelf, which currently extends up to 300 kilometers off the coast. The extensive maritime area, under Portugal authority, comprises aquatic ecosystems of highest importance, constituting a unique natural heritage. In May 11, 2009, the Mission Structure for Extended Continental Shelf (*Estrutura de Missão para a Extensão Plataforma Continental* - EMEPC) presented a proposal to the Commission on the Limits for the Extension of Continental Shelf of the United Nations. The development of this proposal was based on several scientific papers that provide knowledge about the seafloor, in order to prove that the Portuguese continental platform effectively extends beyond 300 kilometers. If this claim is accepted, Portugal will have the second largest continental shelf of the world, with 2.15 million km², only supplanted by the continental shelf of the United States of America (<http://www.emam.com.pt>).

Bioalvo's Libraries: Different products from Portuguese nature

BIOALVO owns a large natural extract library, holding unique extracts derived mostly from a diverse array of microorganisms that can be industrially produced by sustainable culturing methods. This collection is expected to reach 90,000 extracts by the end of 2013, and includes a variety of exquisite sources, ranging from deep sea vents in the Azores to some main land ecosystems. These natural extracts collections are used for internal R&D projects, resorting to the in-house cell-based robotized facility and are also made available to partners through licensing deals that explore its potential. BIOALVO has developed or is currently developing the following subsets: PharmaBUG, LUSOEXTRACT 2010 and LUSOMAREXTRACT 2011.

PharmaBUG is a collection of a 140 marine bacteria, isolated during the Portuguese mission SEAHMA-1 (Seafloor and Sub-Seafloor Hydrothermal Modeling in the Azores Sea) that occurred in August 2002 within the SEAHMA project (PDCTM1999MAR15281). PharmaBUG collection derived from water samples, small animals, sediments and chimneys isolated from hydrothermal vents in the Mid-Atlantic Rift: *Menez Gwen*, *Lucky Strike*, *Rainbow* and *Monte Saldanha*. Menez Gwen, Lucky Strike and Rainbow have intense hydrothermal activity and are characterized by expelling fluids at very high temperatures (around 300 °C). Monte Saldanha is a hydrothermal field yet in formation with small orifices scattered through the seafloor where the water temperature is only 3-4 °C higher than the one of the surrounding water. This marine bacteria collection comprises to date around 484 extracts.

LUSOEXTRACT collection is composed of 1,330 samples of marine macroorganisms, bacteria, yeast and fungi and their 40,000 extracts isolated from unique Portuguese marine and terrestrial unique ecosystems. This collection is being obtained from ongoing collaborations with major Portuguese Universities and research centers, such as FCUL (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa), FCT-UNL (Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa), CCMAR (Centro de Ciências do Mar da Universidade do Algarve), Universidade de Aveiro (UA) and FCUP (Faculdade de Ciências da Universidade do Porto). Due to the extreme complexity that extracts may represent, each one is being fractionated in order to obtain at least 10 fractions from each extract. The initial separation of crude extracts will result in a library consisting of almost 40,000 extracts.

LUSOMAREXTRACT is an expansion of the PharmaBUG collection with over new 1,000 deep sub seafloor microorganisms and their extracts. Sediments samples for new microorganism's isolation are being provided by EMEPC. The LUSOMAREXTRACT library will be based on a bank of new 1,100 bacteria and fungi. The initial separation of crude

extracts will result in a library consisting of almost 50,000 extracts.

The GPS D2© Technology

BIOALVO developed its own proprietary bioactive discovery platform technology based on *in vivo* assays. These are robust bioactive discovery assays mainly based on genetically modified yeast strains, designed to express the desired target (human or not), in addition to a DNA sensor, responsive to the presence of this target. This DNA sensor is operably linked to a reporter gene, allowing additional modulation readouts. This innovative and patented in-house technology was named GPS D²© and up to date has generated several patent applications and attracted several interested partners.

The major advantage of the GPS D²© technology lies in its flexibility to be adapted to other human and non-human targets, making it a very powerful and versatile tool for bioactive discovery in a wide variety of biotechnology sectors. In fact, several targets have also been established, in non-pharmaceutical areas, or are currently under development for partners, to feed into their own pipeline development in several different industries. Hence, in this unit, BIOALVO develops, validates and performs its own, as well as its partners' high-throughput assays, making BIOALVO an integrated and one of a kind new bioactive identification and resupply provider.

What do BIOALVO brings: A unique combination of assets

It is in this context that BIOALVO is exploring the unique resources of Portuguese ecosystems, mainly within the extended continental shelf, supported by the immense power of its flexible technological platform, GPS D²©. Using its unique high throughput screening (HTS) GPS D²© screening systems, and taking advantage of its in-house library of more than 50,000 chemically synthesized small molecules and its ever expanding proprietary natural extracts library, BIOALVO has identified, through its robotics unit, several bioactive molecules as exemplified on figure 1. These identified bioactives are currently under development for several applications in pharmaceuticals, well being and cosmetic industries.

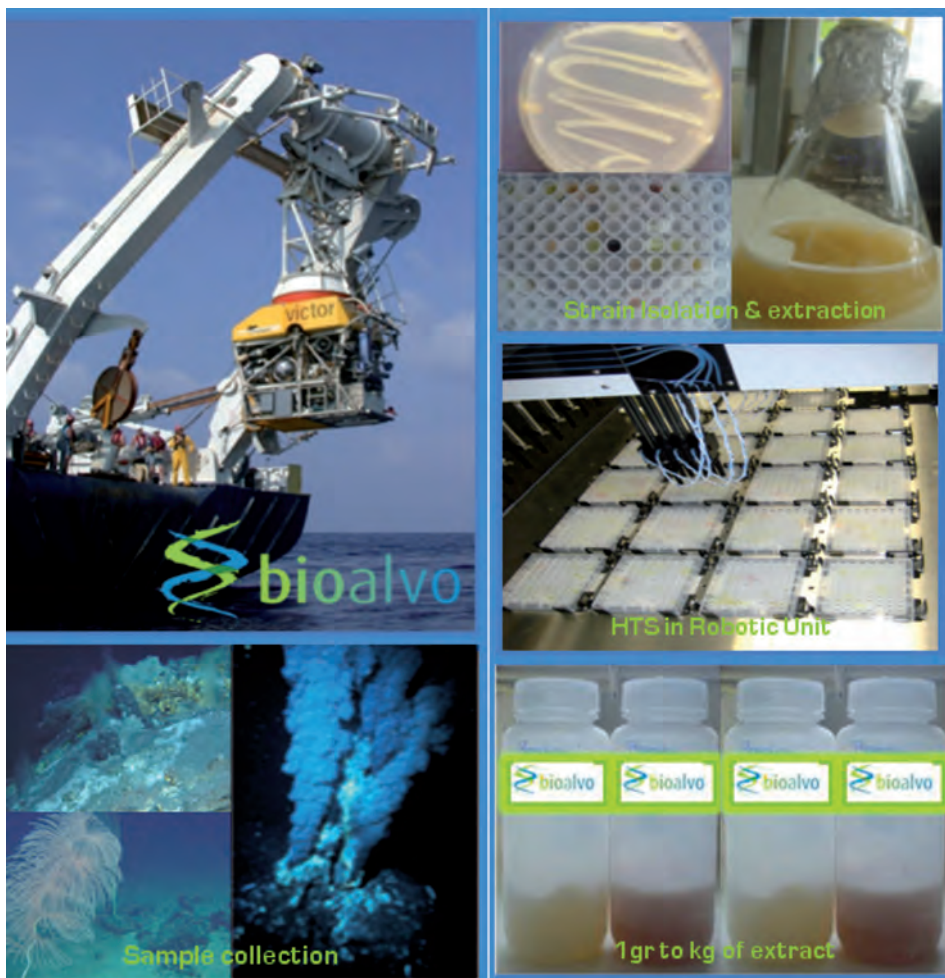


Figure 1.- Description of the process from collection to production of BIOALVO's natural extracts collections.

What's in it for cosmetics: an example of success

The bioactivity potential of BIOALVO's marine extracts collection has already been tested for CNS targets, some immune disorders targets, cosmetic activity and also for some enzymatic activities. From these, anti-UV and anti-oxidant activities, amongst others, have been identified in the PharmaBUG extracts that can be useful for cosmetic industry,

an industry that has demonstrated a strong interest in the usage of marine natural products (www.naturalcosmeticsnews.com). BIOALVO has quickly recognized this niche market and is currently working in two fronts. One is on the production of several aqueous extracts to be incorporated in a new cosmetic product that will be launched in the market next year. This product has shown an interesting mode of action and powerful activities, such as anti-wrinkles and anti-oxidant, and is being developed in collaboration with an international partner. Other activities are expected to be present in many of other non-tested extracts and BIOALVO intends to further explore this avenue. Additionally, new and specific cellular assays using the GPS D²® platform as a basis are being developed to allow the identification of new bioactives with interesting properties for BIOALVO's new cosmetic unit.

Partnering opportunities

BIOALVO presents itself as a one-stop-shop for natural product development, based not only on its extensive, yet continuously expanding, comprehensive natural extract library and bioactivities, but also on expert and customizable assay development, which can be coupled to an in-house robotized screening facility, effectively speeding up the testing process and bringing a natural product solution closer and quicker to market. With a risk-sharing and milestone-coupled payment BIOALVO offers its partners a competitive approach to speed up their product development time as well as lowering their costs and risks. The combination of miniaturization and high-throughput capabilities available for effective and quick bioactive identification, with the unique natural extract libraries available makes BIOALVO an integrated and one of a kind new bioactive identification partner.

Acknowledgements

Fundação para a Ciência e Tecnologia (SFRH/B1/51091/2010)



References

BIOALVO's patents mentioned in the text: BLOCKADE application (WO12/520348, PCT/PT2007/000051, UK Pat. N° 0625310.8, pending) that identifies indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) enzyme inhibitors, DISAGGREGATOR I (WO2008/150186, granted) aiming at identifying modulators of protein misfolding (including Tauopathies and Alzheimer's disease) and DISAGGREGATOR II (WO2008/150186, granted) also designed as the same type of targets but specifically for identifying anti-aggregation modulators.

Chin Y-W *et al.* (2006) Drug Discovery from Natural Sources. *The AAPS Journal*. 8 (2): E239-253.

<http://www.organicmonitor.com>

<http://www.naturalcosmeticsnews.com>

<http://www.convention.biomare.org/index>

<http://www.emam.com.pt>

Newman D.J., Crag G.M. (2007). Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J. Nat. Prod.*70: 461-477.

As algas como fonte de compostos bioativos

Pinteus¹ S., Alves¹ C., Rodrigues¹ A., Horta¹ A., Simões¹ T., Tecelão^{1,2} C., Pedrosa^{1*} R.

¹Grupo de Investigação em Recursos Marinhos (GIRM), ESTM, Instituto Politécnico de Leiria (IPL), Peniche, Portugal.

²Centro de Engenharia dos Biosistemas, Instituto Superior de Agronomia (ISA), Lisboa, Portugal.

*E-mail: rpedrosa@ipleiria.pt

Resumo

Aos olhos da biotecnologia muitos dos organismos marinhos são vistos como biorreatores complexos com um enorme potencial para a síntese de compostos bioativos. Nesta perspetiva, as macroalgas são particularmente interessantes para a pesquisa de compostos bioativos, porque a investigação pode ser desenvolvida em três níveis interdependentes: 1) isolamento de moléculas para a indústria farmacêutica e cosmética; 2) desenvolvimento de novos produtos de aplicação não farmacológica; 3) valorização nutricional das macroalgas edíveis. O objetivo do presente trabalho foi colocar em evidência o potencial das macroalgas marinhas da costa Portuguesa para a biotecnologia nos três níveis de aplicação anteriormente referidos.

De mais de dez macroalgas estudadas, as algas edíveis *Saccorhisa polyschides* e *Fucus spiralis* demonstraram elevada capacidade antioxidante, com conteúdos em polifenóis de $90,01 \pm 0,003$ e $68,71 \pm 0,003$ mg/g de extrato, respetivamente. As algas *Sphaerococcus coronopifolius* e *Asparagopsis armata* revelaram um enorme poder antimicrobiano, contra fungos e bactérias gram positivas, e antitumoral com efeitos inibitórios no crescimento de linhas celulares humanas hepáticas (HepG-2) e intestinais (Caco-2). No projeto europeu BAMMBO está a ser realizado trabalho para estabelecer culturas de tecidos estáveis das macroalgas *Fucus spiralis* e *Sphaerococcus coronopifolius* para produção sustentável de florotaninas e de bromoterpenos, respetivamente. Para além do elevado conteúdo em polifenóis,

a alga *Fucus spiralis* também demonstrou possuir um elevado conteúdo em EPA (ómega 3) e ácido araquidónico, dois ácidos gordos de elevado valor nutricional. Por outro lado, gelo suplementado com os extratos de *Fucus spiralis* (Algelo) demonstrou potencial na redução (34%) da oxidação lipídica em filetes de sardinha após 48 h.

Como conclusão podemos dizer que as macroalgas são ricas em compostos bioativos com potencial antioxidante, antimicrobiano e antitumoral. Neste contexto, as algas *Saccorhiza polyschides*, *Fucus spiralis*, *Sphaerococcus coronopifolius* e *Asparagopsis armata* revelaram ser particularmente interessantes. A pesquisa de compostos bioativos pode ainda ser potenciada pela valorização nutricional das macroalgas edíveis e pelo desenvolvimento de novos produtos utilizando as referidas algas.

Palavras-chave

Macroalgas edíveis, capacidade antioxidante, capacidade antitumoral, algelo.

Introdução

Durante as últimas quatro décadas os organismos marinhos têm sido alvo particular de estudo, principalmente pela sua capacidade geradora de moléculas com atividade biológica. Na realidade, nos últimos quarenta e cinco anos foram isoladas, a partir de organismos marinhos, mais de vinte mil moléculas com potencial biotecnológico (Mayer e Gustafson, 2008; Costa-Lotufo *et al.*, 2009). A importância da investigação e do potencial económico em torno do potencial biotecnológico dos organismos marinhos está bem marcada no número de patentes registadas em associação com as moléculas isoladas dos organismos marinhos, que foi de mais 130 nos últimos 35 anos, em que 100 dos registos foram apenas efetuados na última década (Leary *et al.*, 2009). No entanto, apesar dos enormes avanços ocorridos nos últimos anos, o tempo e o investimento económico despendido entre o isolamento e a identificação de moléculas com potencial biomédico até à sua aplicação clínica, são enormes. Por outro lado, o sucesso de novas aplicações terapêuticas associado a moléculas isoladas de organismos marinhos é, normalmente, extremamente reduzido. Isto é bem evidente se atentarmos ao facto de até 2007 existirem apenas quatro moléculas com utilização terapêutica que foram desenvolvidas a partir de moléculas identificadas em organismos marinhos (Glaser e Mayer, 2009). Por tudo isto é fundamental desenvolver áreas de investigação paralelas e

interdependentes à pesquisa e identificação de composto bioativos, como sejam a valorização nutricional de organismos marinhos como as algas ou o desenvolvimento de novos produtos de aplicação não farmacológica a partir dos compostos ativos identificados. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi colocar em evidência o potencial das macroalgas marinhas da costa Portuguesa para a biotecnologia em três níveis interdependentes: 1) isolamento de moléculas para a indústria farmacêutica e cosmética; 2) desenvolvimento de novos produtos de aplicação não farmacológica; 3) valorização nutricional das macroalgas edíveis.

Materiais e métodos

O *screening* da atividade antioxidante das macroalgas (*Asparagopsis armata*, *Plocamium cartilagineum*, *Ceramium ciliatum*, *Sphaerococcus coronopifolius*, *Codium Adhaerens*, *Ulva Compressa*, *Fucus spiralis*, *Saccorhiza polyschides*, *Stypocaulon scoparium* e *Halopteris filicina*), recolhidas nas costa de Peniche, foi realizado pela quantificação do conteúdo total de polifenóis e pela capacidade de redução do radica livre DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl).

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo teste de difusão em disco utilizando como organismos de referência *Bacillus subtilis* (gram positivo) e *Escherichia coli* (gram negativo). A atividade antifúngica foi avaliada pelo crescimento da *Saccharomyces cerevisiae* na presença e na ausência de extratos de macroalgas.

O potencial antitumoral dos extratos das macroalgas foi avaliado pela citotoxicidade em duas linhas tumorais humanas, as células HepG-2 (hepáticas) e as células Caco-2 (intestinais).

O efeito do gelo suplementado com extratos da alga *Fucus spiralis* na estabilidade oxidativa de filetes de sardinha (*Sardina pilchardus*) foi avaliado pela avaliação da peroxidação lipídica (TBARs). O perfil em ácidos gordos da alga *Fucus spiralis* foi avaliado por GC.

Resultados e discussão

As algas *Fucus spiralis* e *Saccorhiza polyschides* foram as algas com maior conteúdo em polifenóis e com maior capacidade de redução do radical DPPH (Fig. 1 e Tabela I).

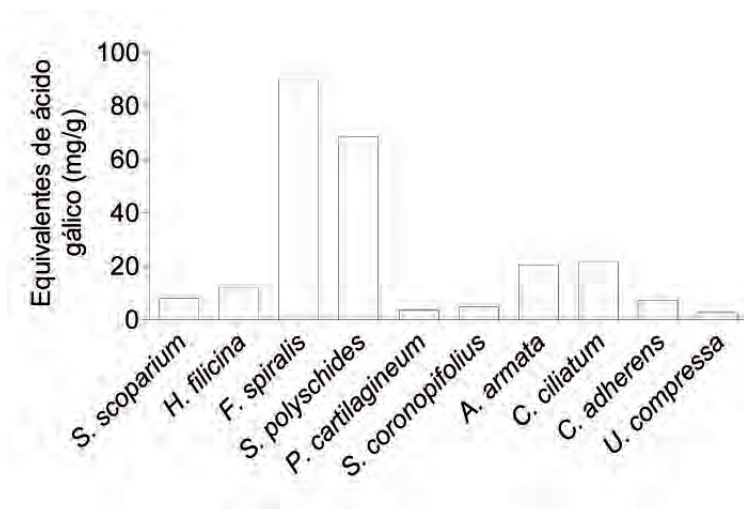


Figura 1.- Quantificação total de polifenóis (equivalentes de ácido gálico/g de extrato metanólico). Cada coluna representa a média de 3 experiências independentes. As linhas verticais representam o SEM.

Tabela I.- IC₅₀ para a redução do DPPH de extratos metanólicos das algas com maior atividade antioxidante.

Algas	IC ₅₀ (mg/mL)
<i>Asparagopsis armata</i>	1,446 (1,086-1,926)
<i>Fucus spiralis</i>	0,099 (0,080-0,122)
<i>Saccorhiza polyschides</i>	0,049 (0,037-0,066)
<i>Halopteris filicina</i>	0,958 (0,799-1,147)

*BHT (controlo) IC₅₀ = 0,0406 mg/mL (0,026-0,064)

Os extratos metanólicos das algas *Sphaerococcus coronopifolius* e *Asparagopsis armata* apresentaram uma elevada capacidade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, com halos de inibição (100 µg extrato/mL) de 7 ± 0,33 e 10 ± 0,57 mm, respetivamente. A alga *Sphaerococcus coronopifolius* teve o maior potencial antifúngico, com um IC₅₀ de 56,44 (35,6 – 89,4) µg de extrato/mL para a inibição do crescimento de *S. cerevisiae*.

Na tabela II encontram-se os resultados mais relevantes da capacidade citotóxica dos

extratos metanólicos da macroalgas testadas. Neste contexto, a alga *Sphaerococcus coronopifolius* e *Asparagopsis armata* foram as que obtiveram resultados mais promissores.

Tabela II.- IC₅₀ para a redução da viabilidade celular nas células Caco-2 e HepG-2 induzida pelos extratos metanólicos de macroalgas. Os valores são a média de 8 experiências independentes.

Algas	Caco-2	HepG-2
	IC ₅₀ (extrato µg/mL)	IC ₅₀ (extrato µg/mL)
<i>Fucus spiralis</i>	935,2 (573,3 – 1526,0)	739,4 (521,9 – 1047,0)
<i>Asparagopsis armata</i>	823,0 (421,8 – 1606,0)	567,9 (317,7 – 1015,0)
<i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	559,5 (374,2 – 836,4)	470,6 (310,7 – 712,6)

O perfil de ácidos gordos da alga *Fucus spiralis* revelou a presença de ácidos gordos de elevado valor nutricional e biotecnológico, como o ácido araquidónico e o EPA, com 23,33±0,32% (300 mg/100 g de peso seco) e 12,05±0,20% (600 mg/100 g de peso seco) do total de ácidos gordos, respetivamente.

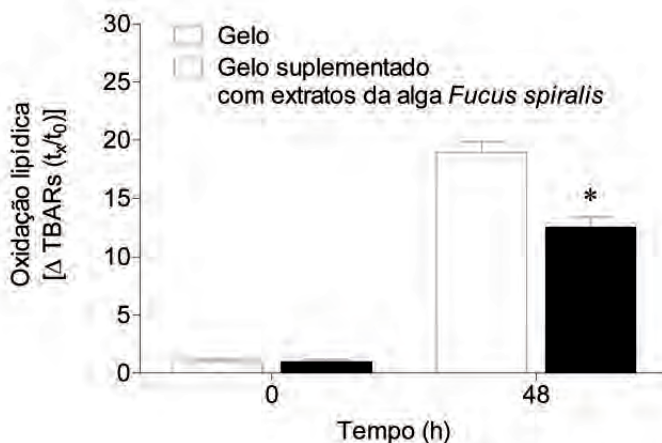


Figura 2.- Oxidação lipídica [Índice do ácido tiobarbitúrico (TBA)] em filetes de sardinha armazenados durante 48 h a 4 °C em gelo e em gelo suplementado com extratos da alga *Fucus spiralis* (500 mg polifenóis/L). Os valores correspondem à média da razão $tx/t_0 \pm SEM$. Os ensaios foram realizados em três experiências independentes. * $p < 0,05$ representa diferenças estatisticamente significativas quando comparado com a situação controlo (gelo).

Os resultados da oxidação lipídica dos filetes de sardinha conservados, na presença e na ausência de gelo suplementado, com extratos da alga *Fucus spiralis* (500 mg de equivalentes de ácido gálico/L) encontram-se representados na figura 2. O gelo suplementado com extratos da alga *Fucus spiralis* reduz em 34% a oxidação lipídica dos filetes de sardinha ao fim de 48 h.

Conclusões

Com os resultados apresentados fica claro que a pesquisa de compostos bioativos com aplicação biomédica pode ser potenciada pela valorização nutricional das macroalgas edíveis e pelo desenvolvimento de novos produtos utilizando as referidas algas. Neste contexto as algas *Saccorhisa polyschides*, *Fucus spiralis*, *Sphaerococcus coronopifolius* e *Asparagopsis armata* revelaram um enorme potencial biotecnológico.

Agradecimentos

O presente trabalho foi financiado pelo projeto europeu BAMMBO (FP7 nº 265896) e pela bolsa de ignição Algelo do programa INOV.C do QREN.

Bibliografia

- Costa-Lotufo L.V. *et al.*, 2009. Marine Organisms as a Source of New Pharmaceuticals: History and Perspectives. *Química Nova*, 32(3): 703-716.
- Glaser K.B., Mayer A. M. 2009. A renaissance in marine pharmacology: from preclinical curiosity to clinical reality. *Biochem Pharmacol*, 78(5): 440-448.
- Leary D. *et al.*, 2009. Marine genetic resources: A review of scientific and commercial interest. *Marine Policy*, 33(2): 183-194.
- Mayer A.M., Gustafson K.R. 2008. Marine pharmacology in 2005-2006: antitumour and cytotoxic compounds. *Eur. J. Cancer*, 44(16): 2357-2387.

Biotecnología algal en Latinoamérica: evolución de líneas de investigación y nuevos retos en Campos de Frontera

Olguín E.J.

Instituto de Ecología (INECOL), Carretera Antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa, Veracruz, 91070 México.

E-mail: eugenia.olguin@inecol.edu.mx

Resumen

La biotecnología en general es un campo que ofrece múltiples nichos de oportunidad. Uno de ellos es la Biotecnología Algal en el cual se puede incidir en varias líneas de investigación, ya sea para extraer algunos productos de alto valor agregado de las microalgas o para utilizarlas en procesos de biorremediación, de captura de CO₂ y/o de producción de biocombustibles, por mencionar algunas de ellas. En este trabajo se describe de manera breve la evolución de las líneas de investigación en la región latinoamericana durante el período 2008-2010. Se indica que algunos nuevos campos emergentes tales como la producción de biocombustibles han incrementado su actividad. Asimismo, se destacan otras líneas tales como todos los aspectos relacionados al cultivo de microalgas en donde también se ha incrementado el número de investigaciones, a juzgar por el número de trabajos presentados en los Congresos de la Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal (SOLABIAA). Se describe brevemente algunos aspectos del origen de esta sociedad y de la revista del mismo nombre (RELBA). A manera de una breve discusión de los aspectos más relevantes dentro de un campo emergente, se discuten algunos retos a vencer en la producción de biodiesel a partir de microalgas. Se destacan el uso de aguas residuales y la estrategia de producción dentro de una biorefinería, como dos de las áreas con mayores oportunidades de innovación. Finalmente, se presentan algunas estrategias de orden general que podrían

promover la investigación y el desarrollo tecnológico en la región latinoamericana y en particular, dentro del campo de la Biotecnología Algal.

Palabras clave

Investigación y Desarrollo, biocombustibles, microalgas, biodiesel.

Introducción

Actualmente, la biotecnología es un campo con enorme potencial por lo menos en cuatro grandes ámbitos: a) para la generación de nuevos productos para el sector industrial o el sector salud; b) desarrollo de nuevos servicios tales como el tratamiento de aguas residuales y rescate de ambientes contaminados; c) desarrollo de biocombustibles para la mitigación del cambio climático y d) generación de nuevos paradigmas, especialmente mediante el uso de herramientas de biología molecular y de uso de equipos analíticos de alta resolución. Dentro de este contexto, la biotecnología orientada al manejo y aprovechamiento de las microalgas y macroalgas está creciendo a un ritmo muy acelerado y la generación de conocimiento en este campo ofrece múltiples oportunidades. El presente trabajo intenta proporcionar una imagen de la Biotecnología Algal en la región latinoamericana, sin pretender ser una revisión exhaustiva sobre el tema. La revisión se ha orientado a tratar de entender la evolución de las líneas de investigación en grupos latinoamericanos, a conocer su dinámica en agrupaciones científicas y a discutir algunos de los retos de investigación que permitan incidir en los campos de frontera. De manera específica, se escogió el campo de “Producción de Biodiesel a partir de Microalgas”, con el objeto de discutir los principales retos de investigación y desarrollo que enfrentan los investigadores, no sólo a nivel regional, sino también a nivel global.

Evolución de las líneas de investigación en grupos latinoamericanos

La diversidad de temas en los que trabajan los grupos de investigación relacionados a biotecnología algal en la región latinoamericana es amplia. Este campo ha evolucionado como era de esperarse de acuerdo al entorno internacional y a la propia evolución de los

grupos de investigación. Sin pretender realizar un estudio exhaustivo, se investigó el tipo de líneas de investigación en los que se presentaron trabajos en dos Congresos de la Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal (SOLABIAA). El primero celebrado en junio del 2008 en la ciudad de Xalapa, México y el segundo celebrado en diciembre del 2010, en la ciudad de Cancún, México (Memorias disponibles en la página de SOLABIAA).

En el 2008, los estudios relacionados a Biodiversidad y a Toxicología representaron cada uno el 15% de los trabajos totales presentados, seguidos de estudios en el cultivo de algas (12%), en ficorremediación (12%), en fisiología (10%), en acuicultura (10%) y en otras líneas con menor participación, tales como manejo (8%), genética(7%), biocombustibles (5%) y secuestro de carbono (2%) (Fig.1). En ese mismo Congreso, como era de esperarse por realizarse en Xalapa, Veracruz, el mayor número de trabajos fue presentado por investigadores mexicanos (27), seguidos de investigadores venezolanos (11), argentinos (9) y de otros países con menor número de participantes (Fig. 2). Con sólo dos años de diferencia, la distribución de los trabajos presentados en el Congreso de SOLABIAA en el 2010, fue bastante diferente. En este Congreso, predominaron los trabajos relacionados al cultivo de algas (24%) y a biocombustibles (15%), con una menor participación de otras líneas que antes habían estado con mayor participación (Fig. 3). Nuevamente, se registró un mayor número de ponencias por investigadores mexicanos (30) y venezolanos (10) (Fig. 4).

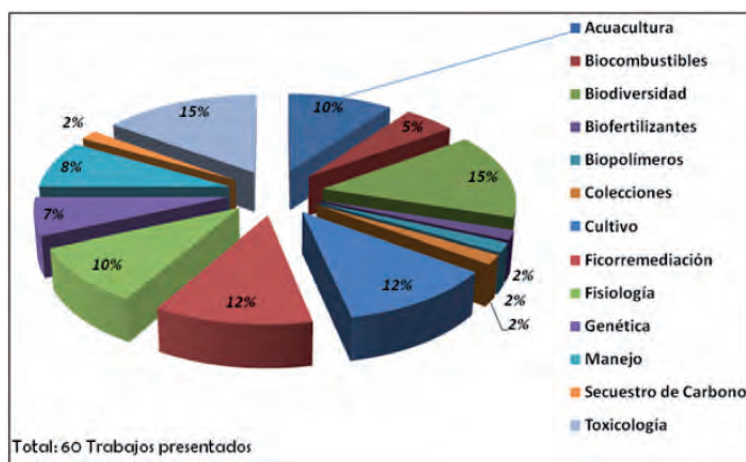


Figura 1.- Porcentaje de distribución en temas de Biotecnología Algal, Congreso SOLABIAA 2008.

Los resultados antes presentados sobre un breve análisis de la evolución de las líneas de investigación en la región latinoamericana, indican que los grupos de investigación están

evolucionando de acuerdo al entorno internacional, en el cual se ha observado una gran efervescencia en el área de producción de biocombustibles a partir de microalgas y también macroalgas. La línea de biotecnología del cultivo de algas ha despertado un gran interés a nivel internacional y por ende a nivel latinoamericano, en donde aún existen muchos retos por vencer.

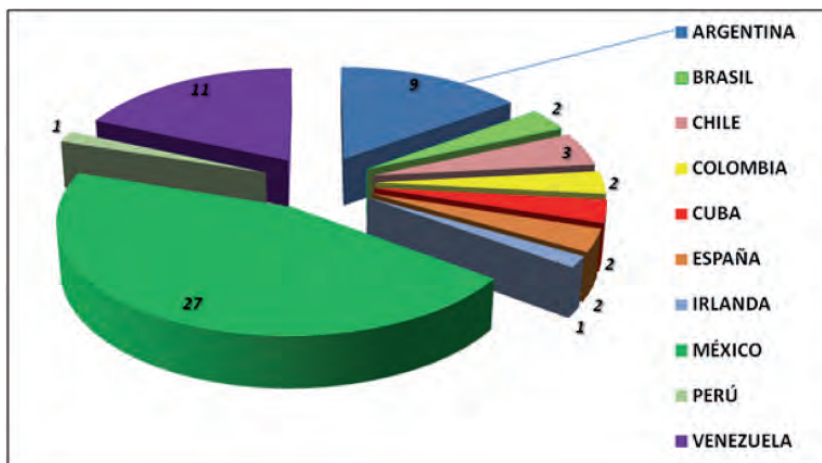


Figura 2.- Número de trabajos por país presentados en temas de biotecnología algal, Congreso SOLABIAA 2008.

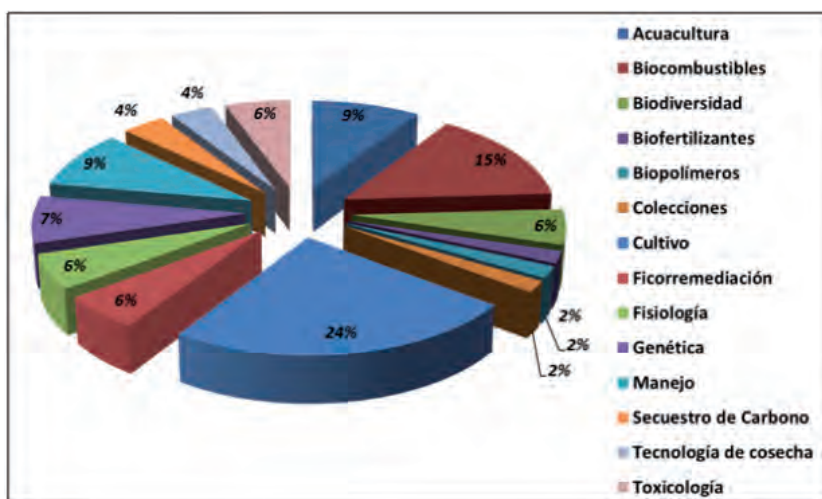


Figura 3.- Porcentaje de distribución en temas de biotecnología algal, congreso SOLABIAA 2010.

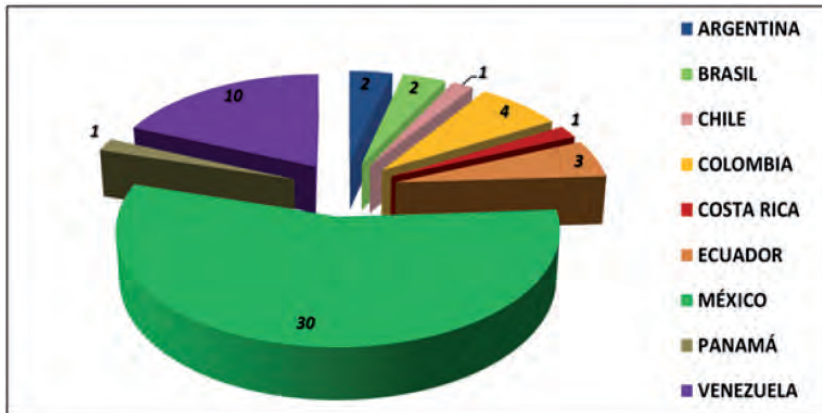


Figura 4.- Número de trabajos por país presentados en temas de biotecnología algal, Congreso SOLABIAA 2010.

Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal (SOLABIAA) y Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal (RELBAA)

La SOLABIAA fue fundada en octubre del 2008 durante los Congreso Latinoamericanos de Biotecnología Ambiental y Biotecnología Algal celebrados en la ciudad de Xalapa, México, por convocatoria del Instituto de Ecología. En el 2008 se registraron 80 miembros fundadores, (investigadores y estudiantes), representando a 10 Países Latinoamericanos. También se registraron miembros fundadores de España, Estados Unidos e Israel. En el 2010, se celebró el II Congreso Latinoamericano de Biotecnología Ambiental y Algal en la ciudad de Cancún, México, ya convocado por SOLABIAA. En este Congreso, se registraron 44 nuevos miembros (investigadores y estudiantes), representando a 9 Países Latinoamericanos y nuevos miembros de España.

RELBAA es la primera revista en la región, dedicada a la publicación de trabajos inéditos de carácter científico y/o de desarrollo tecnológico o revisiones críticas relacionados con la biotecnología ambiental y algal y también con los bioprocesos más limpios para el desarrollo sustentable. Asimismo, ofrece un foro para que la comunidad científica y tecnológica latinoamericana, comunique sus investigaciones en el ámbito internacional, dado que se aceptan trabajos en español e inglés. Los manuscritos enviados se someten a un proceso riguroso de revisión por pares. Actualmente, la página de RELBAA recibe un promedio de 711 consultas al mes.

Nuevos Retos de Investigación:

En consideración a que la región Latinoamericana ya cuenta con numerosos grupos de investigación de calidad, es de esperarse que al aprovechar la capacidad humana desarrollada, se avance de manera importante. Uno de los retos más importantes es incidir en los campos de frontera a nivel internacional y generar tanto conocimiento científico como desarrollo tecnológico que permita posicionar a la región. Existen muchos de estos campos de frontera y será capacidad de los investigadores competir por recursos y avanzar con propuestas de gran calidad. En este trabajo no se intenta profundizar en las múltiples oportunidades. Sin embargo, sólo se mencionará brevemente que uno de los campos de frontera en biotecnología algal es la producción de biocombustibles. De manera particular, existe una actividad muy acelerada en relación a la producción de biodiesel a partir de microalgas. Sin embargo, varios autores coinciden en que aún falta por vencer varios obstáculos antes de que este proceso sea competitivo (Singh y Gu, 2010; Tredici, 2010; Lam and Lee, 2012). De acuerdo a revisiones recientes sobre el tema (Greenwell *et al.*, 2010; Loera-Quezada y Olgúin, 2010; McGinn *et al.*, 2011), los principales retos a vencer son:

- a. *Selección de la especie adecuada.* En este rubro, aunque ya existe un buen número de especies de microalgas descritas con altos contenidos de lípidos, se recomienda aislar nuevas especies a partir de ambientes con condiciones extremas o a partir de aguas residuales
- b. *Promoción de una mayor productividad de biomasa y de lípidos.* La deficiencia de N en el medio de cultivo es el factor que más afecta y promueve un incremento en el contenido de lípidos (Gouveia y Oliveira, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009). Adicionalmente, se han descrito otros factores tales como la intensidad luminosa (Loera-Quezada *et al.*, 2011)
- c. *Diseño y operación de reactores con menor costo de inversión y operación.* Actualmente existe un gran debate sobre las ventajas y desventajas de los diversos tipos de reactores para la producción de microalgas (Ma, 2009). Una de las alternativas que han sido adoptadas para resolver esta problemática, es el uso de una combinación de reactores. Los fotobiorreactores al ser más productivos se proponen para producción de inóculo y las lagunas de oxidación de alta tasa para producción posterior (Schenk *et al.*, 2008)
- d. *Diseño y operación de biorefinerías para producción de diversos biocombustibles y de co-productos de alto valor agregado.* La estrategia de utilizar biorefinerías promueve la factibilidad económica de la producción simultánea de varios biocombustibles y co-productos (Fig. 5). Las biorefinerías se definen como aquellas instalaciones donde se integran los procesos y equipos para la conversión de biomasa con producción de

biocombustibles, energía, materiales y productos químicos (Cherubini, 2010; Singh y Gu, 2010)



Figura 5.- La estrategia de biorefinería para promover la factibilidad económica de la producción simultánea de varios biocombustibles y co-productos.

- e. *Diseño y operación de sistemas de doble propósito para el tratamiento de aguas residuales con recuperación de biomasa algal con potencial para producción de biodiesel.* Este tipo de sistemas de doble propósito representan una opción atractiva para reducir el costo de energía, fertilizantes y agua, así como para reducir las emisiones de gases efecto invernadero (Pittman *et al.*, 2011). Adicionalmente, se ha demostrado que el costo de producción y cosecha de las microalgas utilizando lagunas de oxidación de alta tasa quedan cubiertos dentro de los costos de inversión y operación de la planta de tratamiento y por lo mismo, tienen menor impacto ambiental en términos de huella ecológica del agua y uso de energía y fertilizantes, comparados con los sistemas que utilizan agua fresca y fertilizantes (Park *et al.*, 2011)



Figura 6.- Diversas estrategias para hacer rentable la producción de biodiesel a partir de microalgas.

Conclusiones y recomendaciones: estrategias para el impulso de la biotecnología algal en América Latina

Dependiendo de las condiciones de cada país latinoamericano, surgirán diversas estrategias para el impulso a la biotecnología algal en la región. A continuación se sugieren algunas de ellas:

- ❖ *Apoyo decidido a la ciencia y al desarrollo tecnológico.* A este respecto, se ha insistido en que se debe aumentar el porcentaje del producto interno bruto (pib) con el objeto de fortalecer la infraestructura científica, aumentar el número de investigadores calificados, fomentar y fortalecer los posgrados nacionales, entre otros objetivos
- ❖ *Trabajar en campos de frontera.* En este caso, cada país deberá estudiar cuáles son los campos emergentes en donde convenga invertir más. Tradicionalmente, se han

seguido mucho las tendencias internacionales sin contar con un diagnóstico propio que señale las prioridades. Es importante fomentar Comités de Expertos que evalúen los campos de frontera en los que se podrá incidir y llegar a metas cuantificables en tiempos relativamente cortos. En algunos casos, el rezago respecto a otros países desarrollados es tan grande que no vale la pena incursionar. En cambio, existen campos prioritarios como el control de la contaminación, desarrollo de sistemas alternativos de tratamiento de aguas residuales, producción de biocombustibles, por mencionar algunos. La estrategia fundamental será el aplicar herramientas avanzadas y contar con investigadores altamente calificados para lograr el desarrollo de tecnologías propias y apropiadas al contexto socio-económico de cada país

- ❖ *Trabajar en equipos multi-disciplinarios e inter-institucionales.* Se deben promover los esfuerzos por trabajar en grupos multi-disciplinarios y multi-nacionales, en donde se complementen las habilidades y experiencia acumulada. Actualmente, están surgiendo varios de estos grupos inducidos por las reglas de diversas convocatorias de fondos internacionales como los de la Unión Europea o de fondos nacionales como los de CONACYT en México y muy posiblemente los de Agencias similares en otros países de la región. Como uno de los ejemplos recientes, cabe mencionar el proyecto “biorefinería para la producción de biogás, biodiesel e hidrógeno a partir de microalgas y aguas residuales”, en el que participan 5 grupos mexicanos: INECOL (Dra. Eugenia J. Olgún y Dra. Gloria Sánchez), CIBNOR (Dra. Concepción Lora), CIMAV (Dr. López), UANL (Dra. Katiushka Arévalo) y UAM-I (Dr. Oscar Monroy). También han sido invitados dos grupos europeos: Universidad de Almería (Dr. Emilio Molina-Grima y Dr. Gabriel Acién) y Universidad de Florencia (Dr. Roberto DePhilippis). El proyecto ha sido financiado por la Secretaría de Energía-CONACYT de México
- ❖ *Contar con asesores especializados en patentar y en transferencias de tecnologías.* Uno de los problemas fundamentales en la región latinoamericana es que la generación de patentes es mínima respecto a los países desarrollados. El origen de este fenómeno es complejo. Sin embargo, se podrá mitigar si se fomenta la formación de recursos humanos especializados en la escritura y registro de patentes que asesoren a los investigadores. Además, las instituciones deberán asignar recursos para el pago de registro de patentes y su mantenimiento. Adicionalmente, los investigadores tendrán que seleccionar trabajar bajo la demanda del sector productivo y en campos innovadores
- ❖ *Mayor vinculación con empresas.* Otro de los problemas recurrentes que se observa en la región, es que no se fomenta la vinculación con empresas y se trabaja en líneas de interés personal sin conocer las demandas del sector productivo. Este factor juega un papel crucial que limita el desarrollo tecnológico y mantiene mucho de

la investigación a nivel básico y de escala laboratorio. Por otra parte, los gobiernos deberán exigir a las empresas contribuir con parte de los fondos para investigaciones aplicadas, mediante Convocatorias muy claras

- ❖ *Mayor presencia a nivel internacional (Sociedades, Congresos y Revistas).* No está claro si sólo son factores financieros o además culturales los que expliquen la baja presencia de los grupos latinoamericanos en los Congresos Internacionales. Su poca visibilidad genera una imagen distorsionada a nivel internacional, que se confunde con falta de infraestructura y recursos humanos. Es recomendable promover sociedades y congresos con imagen internacional, así como publicar en revistas internacionales prestigiadas. Simultáneamente, es deseable promover revistas de alta calidad con estricto arbitraje que publiquen tanto en español como en inglés y resulten un foro para proyección de los grupos latinos

Agradecimientos

La autora agradece de manera muy especial la invitación para impartir una conferencia magistral en representación de SOLABIAA, realizada por el comité organizador del congreso FIRMA. En particular, agradece al Dr. César Lodeiros y al Dr. Ever Morales, la oportunidad para que SOLABIAA inicie interacciones con la red de investigadores que conforman el FIRMA. También agradece el apoyo gráfico del Ing. Quím. Erik González Portella del INECOL.

Referencias

- Cherubini F. 2010. The Biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energ. Convers. Manage.* 51: 1412–21.
- Gouveia L., Oliveira A.C. 2009. Microalgae as a raw material for biodiesel production. *J Ind Microbiol Biotechnol* 36: 269–74.
- Greenwell H.C., Laurens L.M.L., Shields R.J., Lovitt R.W., Flynn K.J. 2010. Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges. *J. R. Soc. Interface*, 7: 703–26.
- Lam M.K., Lee K.T. 2012. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnol Adv.* 30: 673–90.

- Loera-Quezada M.M., Olguín E.J. 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Rev. Latinoam Biotecnol. Amb. Algal*, 1 (1): 91-116.
- Loera-Quezada M.M., Ángeles G., Olguín E.J. 2011. Effect of irradiance on the cell density, size and lipid accumulation of *Neochloris oleoabundans*. *Rev Latinoam Biotecnol Amb. Algal*, 2(2): 81-92
- McGinn P.J., Dickinson K.E., Bhatti S., Frigon J.C., Guiot S.R., O’Leary S.J.B. 2011. Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: opportunities and limitations. *Photosynth. Res.* 109:231–47.
- Park J.B.K., Craggs RJ, Shilton A.N. 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technol.* 102: 35–42.
- Pittman J.K., Dean A.P., Osundeko O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technol.* 102:17–25.
- Rodolfi L., Zitelli G.C., Bassi N., Padovani G., Biondi N., Bonini G. *et al.*, 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng.* 102:100–12.
- Schenk P., Thomas-Hall S., Stephens E., Marx U., Mussgnug J., Posten C. *et al.*, 2008. Second generation biofuels: High-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Res.* 1:20–43.
- Singh J., Gu S. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14: 2596–2610.
- Tredici M.R. 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: Understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels*, 1:143–62.

Acuicultura para el desarrollo sostenible: plan de cooperación tecnológica para el desarrollo de la acuicultura marina en el Perú

Fernández Aldana J.M.

Director de Cooperación de Asociación Empresarial de Cultivos Marinos de España (APROMAR)

APROMAR es la Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos de España

- ❖ Es una organización de carácter profesional y de ámbito nacional
- ❖ Reconocida desde 1986 como Organización de Productores (OPP-30)
- ❖ Representa, asesora y apoya el sector español de la acuicultura marina
- ❖ Comunica, promociona e informa sobre el sector

Forman parte de APROMAR:

- ❖ Productores de peces marinos, criaderos de moluscos y de crustáceos de España
- ❖ Asociaciones regionales y sectoriales de los mismos cultivos
- ❖ Empresas proveedoras de productos y servicios

APROMAR COOPERACION

Apromar Cooperación se inicio en el año 2004/2005, como una línea de actividad dentro de APROMAR .

Los objetivos de APROMAR COOPERACION son:

- ❖ Promover la acuicultura como herramienta de Desarrollo Sostenible en el mundo
- ❖ Favorecer el crecimiento empresarial de la acuicultura en los países en desarrollo, como fuente de riqueza y sostenibilidad

La gran experiencia a nivel mundial de la acuicultura española es el principal valor de Apromar Cooperación y su transferencia tecnológica sin coste para la región o país de actuación.

Principales proyectos de cooperación realizados

- ❖ Plan de Formación en Acuicultura en Marruecos. 2004-2005
- ❖ Realización de Guías para el desarrollo sostenible de la acuicultura en el Mediterraneo. 2007-2010
- ❖ Participación en el Seminario OLDEPESCA Lima/Perú 2007. (Creación del Observatorio Iberoamericano de Acuicultura)
- ❖ Proyecto para la promoción del cultivo de peces marinos en la región de Ancash. Perú. 2010
- ❖ Revisión técnica y desarrollo de una prospectiva sobre la CAPACIDAD de CARGA en aguas continentales y marinas. Perú 2011

¿Cómo actúa Apromar Cooperación?

En Apromar Cooperación se trabaja desde la transferencia de la tecnología y de la experiencia que el sector empresarial español posee y lo hacemos sin la búsqueda de un retorno económico, si no con el único objetivo de contribuir al desarrollo sostenible de la acuicultura en la región o país de aplicación.

Consideramos dos niveles básicos de la cooperación en acuicultura:

- a. Acuicultura de subsistencia: busca garantizar una fuente de alimento
- b. Acuicultura “sectorial”: Favorece las bases para la existencia de un sector empresarial

acuícola en el país

Apromar Cooperación busca actuar en el segundo nivel, lo que denominamos ACUICULTURA SECTORIAL.

- ❖ En conjunto con los actores sociales, administrativos y económicos del país/región se promueven proyectos que favorezcan el desarrollo sostenible empresarial
- ❖ Trabajamos para la sostenibilidad y desarrollo a largo plazo
- ❖ Sostenibilidad medioambiental, social y económica
- ❖ Desarrollo acuícola de la zona mediante la creación y apoyo de un sector empresarial acuícola rentable y sostenible

Plan de Cooperación Tecnológica para el Desarrollo de la Acuicultura Marina en el Perú

Como consecuencia de los trabajos de Cooperación realizados en el Perú en los años 2010 y 2011, la Administración peruana y Apromar han considerado firmar un Convenio Marco de Cooperación Interinstitucional, que tendrá una duración de al menos 5 años (2012-2017).

Las bases del Convenio son:

- ❖ Objetivo: Desarrollar de forma conjunta actividades, programas y proyectos en ciencia, tecnología e innovación en beneficio del desarrollo sostenible de la actividad acuícola en el Perú
- ❖ Intervinientes:
 - ◇ PRODUCE (Ministerio de la Producción)
 - ◇ FONDEPES (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero)
 - ◇ IMARPE (Instituto del Mar del Perú)
 - ◇ Universidad Nacional del Santa
 - ◇ APROMAR

Duración: 2012-2017.

Programa:

- ❖ Selección de especies/Mercados/Tecnología
- ❖ Evaluación del área marina
- ❖ Reproducción de peces marinos
- ❖ Instalaciones de crianza
- ❖ Engorde y manejo de peces marinos
- ❖ Modelo de gestión de empresas acuícolas

Actuaciones:

- ❖ Organización de seminarios y cursos prácticos
- ❖ Visitas de trabajo de expertos españoles a la región
- ❖ Pasantías de profesionales peruanos a Centros y empresas españolas
- ❖ Comité de seguimiento del Convenio



Fotos 1 y 2.- Cultivo de concha abanico (*Argopecten purpuratus*) en la Bahía de Simancos.



Fotos 3 y 4.- Estudio sobre la capacidad de carga de la laguna amazónica del Sauce. Tarapoto/ San Martín.

Posters

A aplicabilidade dos princípios do *Toyota Production System* na indústria conserveira

Moreira^{1,2*} F., Pinheiro¹ R., Carvalho² D.

¹Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Avenida do Atlântico, Viana do Castelo, Portugal

*E-mail: moreirafilomena@estg.ipvc.pt

²Departamento de Produção e Sistemas da Universidade do Minho, Campus de Azurém, Guimarães, Portugal

Resumo

O objetivo deste trabalho consiste em identificar as limitações e particularidades da implementação dos princípios *Toyota Production System* (TPS) na indústria alimentar, nomeadamente no processo produtivo de sardinha enlatada de uma indústria conserveira. De facto, pela sua complexidade, a indústria conserveira possui tipologias de produção distintas das originárias do TPS.

É conhecido que os conceitos *lean* se aplicam à indústria automóvel, conduzindo a uma otimização do processo. No entanto, pouco é conhecido em relação à indústria alimentar, apesar de aplicar conceitos *lean*, como o *just-in-time*, há já algum tempo.

Neste trabalho concluiu-se que é possível aplicar alguns dos princípios *lean* ao processo produtivo estudado como o valor, a cadeia de valor e a perfeição. No entanto, para implementar os princípios *pull* e fluxo contínuo será necessário adaptar a estrutura do processo de forma a eliminar/reduzir restrições identificadas.

Palavras-chave

TPS, sistema pull, indústria conserveira, sardinha.

Introdução

Numa análise setorial das indústrias alimentares (Anónimo, 2011) especificamente na indústria de preparação e conservação de peixes, crustáceos e moluscos, verifica-se que esta detém 3% do número total de empresas da indústria alimentar, emprega 8% das pessoas no ativo e representa 9% do volume total de negócios. Relativamente ao tipo de empresa, usual deste setor, verifica-se que a indústria de preparação e conservação de peixes, crustáceos e moluscos possui 3% de microempresas, das quais 10% são PME's e 7% Grandes empresas. Este setor possui essencialmente PME's que geralmente apresentam uma estrutura mais frágil e que se depara com dificuldades ao nível da concorrência.

A produção *lean* foi desenvolvida pela *Toyota Motor Corporation* com a designação de sistema de produção da Toyota. A aplicação destes conceitos pode considerar-se vantajosa, uma vez que, a implementação *Lean* tem como objetivo fazer mais com menos, menos esforço humano, menos equipamentos, menos tempo e menos espaço, mas sempre com a perspetiva de oferecer ao cliente aquilo que realmente precisa. (Womack e Jones, 1990).

Esta “forma de estar na produção” possibilita melhorar a qualidade, reduzir custos e o *lead time* e rege-se por cinco princípios: valor, fluxo de valor, fluxo contínuo, *pull* e a perfeição Womack e Jones (2003).

Todos estes princípios surgiram com o intuito de reduzir os desperdícios existentes nas organizações. Na tabela I, encontram-se descritos cada um destes princípios e é efetuada a análise da respetiva aplicabilidade.

Tabela I. – Análise da aplicabilidade dos Princípios Lean.

Princípios <i>lean</i>	Descrição	Aplicação
Valor	Com este princípio pretende-se identificar o que o cliente pretende, ou seja, qual a atribuição de valor, de modo a conseguir satisfazer ou superar as suas expectativas.	Como se pode verificar a sua aplicação é transversal a qualquer tipo de setor ou atividade industrial pois estes três princípios referem-se a conceitos generalistas que auxiliam a incutir valores e formas de atuação e como tal não implicam restrições de implementação na área alimentar, em qualquer tipo de subsetor.
Cadeia de valor	O objetivo deste princípio consiste em analisar a cadeia de valor, otimizando-a e eliminando ao máximo todo o tipo de desperdícios que sejam identificados.	
Perfeição	Com este princípio o que se pretende é promover o espírito de fazer bem sempre à primeira.	
<i>Pull</i>	O que se pretende com este princípio é que o cliente puxe o produto consoante as suas necessidades e pretensões em vez de se empurrar produtos indesejados para o cliente.	Relativamente aos princípios <i>pull</i> e ao fluxo contínuo pode já ser mais complexa a sua aplicação, considerando por exemplo: a existência de produtos sazonais, de produtos perecíveis, a variabilidade dos fatores produtivos, de processos com difícil otimização de capacidade ou a grande variabilidade da procura.
Fluxo contínuo	Com este princípio pretende-se criar o fluxo contínuo do processo, apostando na produção de pequenos lotes, consoante as necessidades reais, sendo processados e enviados para o processo seguinte, uma peça de cada vez. Deve referir-se que o envio do material deve ser efetuado, <i>just-in-time</i> , atempadamente o suficiente sem que o equipamento/processo seguinte fique em espera.	

(Fonte: Womack e Jones, 1990)

Métodos

Recorreu-se à análise do processo produtivo da sardinha enlatada, como metodologia utilizada. Este estudo foi dividido em três fases distintas: 1) seleção da empresa, 2) levantamento do fluxograma de processo, 3) análise das respetivas etapas.

Resultados e discussão

A indústria alimentar depara-se com algumas particularidades: variabilidade de fatores produtivos (matéria-prima), perecibilidade dos produtos (matéria-prima e produtos intermédios), variabilidade e imprevisibilidade das necessidades de capacidade, existência do perigo de contaminação alimentar e a variabilidade da procura (produto final).

Baseado no levantamento do processo de fabrico (Fig. 1) foi possível identificar as etapas do processo que poderão oferecer dificuldades na implementação dos Princípios *Lean*.

Da análise efetuada, identificou-se um processo que apresenta bastantes particularidades e que pode representar algumas dificuldades em assegurar uma gestão eficiente do processo produtivo, que é a esterilização, a qual se realiza num equipamento designado de autoclave.

Aprofundando o funcionamento do processo identificado, verifica-se que, para se garantir a qualidade do produto final, devem ser definidas algumas boas práticas: 1) o enchimento das latas deve ser controlado de acordo com padrões previamente definidos uma vez que as latas demasiado cheias podem sofrer danos durante a esterilização; 2) após a cravação das latas de conserva, a esterilização deve ser iniciada o mais breve possível uma vez que a degradação do produto após a realização da cravação, se inicia rapidamente. As embalagens depois de cravadas devem ser rapidamente esterilizadas de modo a impedir o desenvolvimento microbiano. Mesmo que a deterioração seja muito pequena, esta afeta imediatamente o produto: a) o tempo de esterilização deve ser definido consoante o necessário. Trata-se de um ponto crítico de controlo da produção de conservas de peixe (segurança alimentar). b) devem ser utilizadas temperaturas standard de esterilização definidas para os produtos enlatados, sendo que, a segurança do processo pode ser afetada pela ocorrência de variações, por exemplo, na temperatura de adição do molho, na composição do produto, no tamanho ou na quantidade de latas em cada esterilização; c) latas com tamanhos diferentes não devem ser processadas em simultâneo uma vez que, a duração do processo térmico varia com a dimensão da lata.

Se forem processadas latas de tamanho diferente ao mesmo tempo, o tempo de esterilização que se vai utilizar é o das latas maiores para garantir um produto final seguro o que implica que as latas mais pequenas serão submetidas a um tratamento térmico mais severo podendo originar a perda de qualidade no produto final.

Ao nível do forno verifica-se que este tem uma produção em lotes e que não são misturados diferentes produtos.

Ao nível da quarentena verifica-se que após o produto estar enlatado, terá que ficar um determinado tempo em repouso para assegurar a qualidade final do produto.



Figura 1.- Fluxo do processo produtivo da sardinha enlatada: (A) – Fluxograma do processo produtivo; (B) – Pontos assinalados

Neste seguimento, na tabela II encontra-se a análise da aplicabilidade destes princípios num caso da indústria conserveira.

Tabela II. – Aplicabilidade dos princípios *lean* na indústria conserveira.

Princípios <i>lean</i>	Grau de implementação			
	AS ¹	NSA ²	Fácil	Difícil
Valor	✓		✓	

Justificação:

Este princípio aplica-se sempre e é de fácil aplicação uma vez que após a identificação do significado de valor para o cliente, basta conseguir-se adaptar as formas de trabalho às suas necessidades.

Cadeia de valor	✓		✓	
-----------------	---	--	---	--

Justificação:

Este princípio aplica-se sempre de forma fácil pois é possível sempre utilizar ferramentas de análise da cadeia de valor e efetuar alguma alteração, podendo apenas o impacto ser de maior ou menor dimensão.

Perfeição	✓		✓	
-----------	---	--	---	--

Justificação:

Este princípio aplica-se sempre e é de fácil aplicação pois, para se conseguir fazer bem à primeira, existem muitas ferramentas de auxílio sendo a melhoria contínua a grande potenciadora do sucesso. Desde que exista o empenho e comprometimento de todos os colaboradores consegue-se sempre implementar medidas que previnam a ocorrência de falhas.

<i>Pull</i> e fluxo contínuo		✗		✗
------------------------------	--	---	--	---

Justificação:

Na aplicação destes dois princípios, verificou-se que diversas fases produtivas podem ser otimizadas e que podem funcionar utilizando o *Pull* e o Fluxo Contínuo, sendo elas: a descongelação e salmoura, o enlatamento, evisceração e lavagem, adição de molho e cravação e a pré-lavagem. No entanto, como surgem algumas fases do processo que apresentam restrições, tal como a fase de cozimento, a esterilização ou a quarentena, a aplicação destes conceitos acabam por não conseguidos pois a sua aplicação ou ocorre no processo global ou não é viável. A descongelação e salmoura são efetuadas em tinas e podem ser realizadas consoante as quantidades necessárias. A fase de enlatamento, evisceração e lavagem assenta num trabalho manual em que é produzida

peça a peça. A adição de molho e a cravação consiste numa linha em que entra peça a peça para ser processada e que faz ligação direta com a linha de pré-lavagem onde as peças ao sair do processo anterior seguem num tapete rolante que culmina na acumulação de latas num cesto que depois será introduzido na autoclave para ser realizada a esterilização. Por último, é necessário deixar as latas em quarentena por um período definido. O forno apesar de também produzir em lotes como a autoclave, apresenta a particularidade de pelo facto de se introduzir menos carga não afetar a qualidade do produto, e para isso apenas se estaria a desperdiçar a recursos. No entanto, apresenta a restrição de ter que processar apenas o mesmo tipo de produto.

Neste seguimento, o Princípio *Pull* pode ser posto em causa, pois o início da encomenda deveria ser puxada pelo cliente, isto é, cada posto de trabalho deveria dar a indicação ao posto anterior para iniciar a produção e, no caso da autoclave, verifica-se que são os postos anteriores que empurram a produção até que a quantidade necessária para encher a autoclave seja alcançada. Além disso, é um processo que varia consoante o tipo de produto, a duração da esterilização é fixa, independentemente da carga da autoclave e verificou-se ainda que no final do dia toda a quantidade produzida tem que estar esterilizada.

Ao nível do Fluxo Contínuo, verifica-se que a autoclave é um equipamento que apresenta limitações pois pode não conseguir ter tempos de ciclo rápidos necessários para atingir o “*takt time*” previsto durante o tempo de trabalho regular, consoante a dimensão do mesmo. Acresce ainda que a autoclave é um equipamento projetado para processar em lotes, assim como por exemplo o forno, o que não permite a produção “peça-a-peça”. Verifica-se também que as restantes fases produtivas continuam a laborar, enviando de etapa para etapa produto intermédio o qual culmina na acumulação de stock junto do autoclave, ou porque este está em utilização, ou porque não existe a quantidade suficiente para pôr a autoclave em funcionamento. Por último verificou-se que grande parte do tempo diário, a autoclave se encontra em espera até que tenha material suficiente para ser iniciado o que demonstra que o fluxo contínuo não é conseguido e o princípio *pull* não são utilizados nesta fase do processo estando sim todos os outros postos de trabalho a laborar para abastecer o processo de esterilização.

AS- Aplica-se sempre, ² NSA – Nem sempre se aplica

Conclusões

Com este estudo concluiu-se que na indústria conserveira existem processos que podem dificultar a aplicação dos princípios *lean*: a cozedura, a esterilização e a quarentena.

Verificou-se ainda que um dos problemas que se podem encontrar em unidades produtivas deste género prende-se com a seleção dos equipamentos. De facto nem sempre se tem em consideração todos os fatores que podem afetar a otimização dos recursos, sugerindo-se deste modo que seja realizada uma análise cuidadosa antes de novas aquisições.

Bibliografia

- Anónimo. 2011. Análise Sectorial das Indústrias Alimentares - Estudo da Central de Balanços. Banco de Portugal. Consultado em Setembro de 2011, Disponível em: <http://www.bportugal.pt/pt-PT/ServicosaoPublico/CentraldeBalancos/Publicacoes/Biblioteca%20de%20Tumbnails/Estudos%20da%20CB%204%20-%202011.pdf>
- Dudbridge M. 2011. Handbook of Lean Manufacturing in the Food Industry. John Wiley & Sons. 1st Edition, Capítulo 1 – Capítulo 2
- Jacob D., Bergland S., Cox J. 2010. Velocity: Combining Lean, Six Sigma and the Theory of Constraints to Achieve Breakthrough Performance - A Business Novel. Elsevier. 1st Edition. pp. 1-310
- Tato I., Martins B. 2000. Boas Práticas de fabrico para a indústria de conservas de peixe. Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica (AESBUC). Consultado em Março de 2011, Disponível em: <http://www.esac.pt/noronha/manuais/bPF%20pescado.pdf>
- Toneli F., Revetria R., Revello E. 2008. Evaluating the Impact of the Lean Approach on a Food Processing Line. 6th International Industrial Simulation Conference. Jun 09-11, 2008. Lyon, França. pp. 93-98
- Womack J., Jones D., Daniel R. 1990. The machine that changed the world. Free Press. 1st Edition. pp. 15-18
- Womack J., Jones D. 2003. Lean Thinking: Banish Waste and Create Wealth in Your Corporation. Simon and Schuster. 2nd Edition. pp. 15-90

A APLICABILIDADE DOS PRINCÍPIOS DO TOYOTA PRODUCTION SYSTEM NA INDÚSTRIA CONSERVEIRA

Filomena Moreira*, Rita Pinheiro*, Dinis Carvalho**

* Escola Superior de Tecnologia e Gestão | *moreirafilomena@estg.ipvc.pt
 Instituto Politécnico de Viana do Castelo
 Avenida do Atlântico
 4900-348 Viana do Castelo
 Portugal

** Departamento de Produção e Sistemas | **dinis@ips.unlho.pt
 Universidade de Minho
 Campus de Azurém
 4800-058 Guimarães
 Portugal

INTRODUÇÃO

EVOLUÇÃO DA LINHA DE PRODUÇÃO DA TOYOTA [DE 1952 ATÉ À ACTUALIDADE]



Perante os bons resultados obtidos resultantes das práticas desenvolvidas na Toyota, que originaram os princípios TPS, com este trabalho pretende-se identificar as limitações e particularidades de implementação dos princípios do TPS na Indústria Alimentar, nomeadamente no processo produtivo de sardinha enlatada.

APLICABILIDADE DOS PRINCÍPIOS LEAN NA INDÚSTRIA ALIMENTAR



MÉTODOS


ANÁLISE NA PERSPECTIVA DOS PRINCÍPIOS DO TPS

INDÚSTRIA CONSERVEIRA SARDINHA ENLATADA



RESULTADOS

IMPEDIMENTOS À IMPLEMENTAÇÃO LEAN



Existem características do sistema de produção que tornam a sua gestão mais complexa tais como:

- A) A produção caótica;
- B) A Proliferação de produtos;
- C) Recursos impossíveis de replicar;
- D) Rota dinâmica;
- E) Rápida mudança de encomendas.

Existem também processos que pelas suas características dificultam a aplicabilidade dos princípios TPS



Processo de Esterilização



Quarentena

Processos que podem dificultar a aplicação dos Princípios Pull e Fluxo Contínuo

A esterilização apresenta variáveis de processo que influenciam a produção e o tratamento térmico varia com o formato, material, tamanho das latas, tipo de molho e a carga de autoclave:

- a) a temperatura e o tempo de entrada na autoclave, a temperatura inicial do produto e as condições de arrefecimento variam;
- b) a duração da esterilização é fixa, independentemente da carga de autoclave;
- c) no final do dia toda a quantidade produzida tem que estar esterilizada, independentemente das condições processuais.

A quarentena apresenta uma duração fixa independentemente de quantidade em causa.

A aplicabilidade dos princípios TPS

O Princípio Pull pode ser posto em causa pois o início da encomenda deverá ser puzado pelo cliente, mas perante as condições apresentadas pode restringir-se à capacidade da empresa.

O Fluxo Contínuo pode ser posto em causa, uma vez que após o início, não podem ser interrompidos.

Primeiro prêmio melhor poster

Amino acid research in marine fish larvae and juveniles: applications to aquaculture

Aragão* C., Pinto W., Costas B., Dinis M.T., Conceição L.E.C.

CCMAR-CIMAR LA, Campus de Gambelas, Edifício 7, 8005-139 Faro, Portugal

*E-mail: caragao@ualg.pt

Abstract

The Aquaculture Research Group at Centre of Marine Sciences of Algarve (CCMAR) has assembled a range of competences that allow a multidisciplinary approach of several research themes, which have been integrated in two key areas: Sustainable Practices and Nutrition for enhanced Performance and Quality. The later integrates an important research line that is being developed for more than ten years: Nitrogen in Fish. Research in this area has tackled fundamental and practical questions, expecting to contribute with important answers for the aquaculture industry.



In this work we will provide an overview of our results in this research area and will try to show why and how these data may be important for the aquaculture industry. Through amino acid analysis by HPLC we have tackled qualitative amino acid requirements in marine fish larvae and have explored the relations between stress and amino acid metabolism. Examples on how amino acid requirements change during ontogeny or due to stress conditions will be presented. Furthermore, the team has now more than ten years of experience with *in vivo* tracer studies, including several techniques that allowed to overcome some major limitations in nutritional studies with fish larvae, in order to elucidate metabolic fluxes of amino acids in these small organisms. Some examples will be given as these tools can help us to understand, for instance, how stressful events or metamorphosis can affect amino acid utilisation and the effects of dietary supplements on amino acid metabolism. The importance of these results to the aquaculture industry will be highlighted.

Keywords

Nutrition, fish, amino acids, tracer studies.

Cláudia Aragão*
Wilson Pinto
Benjamín Costas
María Teresa Dinis
Luís E.C. Conceição

* caragao@ualg.pt


CCMAR – CIMAR L.A.
Centro de Ciências do Mar do
Algarve, Campus de Gambelas,
Edifício 7, 8005-139 Faro,
Portugal

Acknowledgments
FCT (Financiamento Científico e Tecnológico) e CCMAR

References
Conceição, F. et al., 2004. Increased amino acid requirements during early ontogeny in fish with different life history patterns and feeding habits. *Journal of Experimental Biology* 247: 589-601.
Costas, B., Dinis, M. T. & Conceição, L. E. C., 2008. Nitrogen and energy in juvenile sole (Parophrys reticulatus) fed with different diets. *Journal of Experimental Biology* 241: 183-191.
Pinto, W. & Dinis, M. T., 2012. Dietary lysine utilization in European sea bass (Dicentrarchus labrax) and its relationship with growth and survival. *Journal of Experimental Biology* 245: 1022-1031.
Pinto, W., Aragão, C., 2001. How does fish metabolism affect amino acid metabolism? *Amino Acids* 21: 171-181.

Amino acid research in marine fish larvae and juveniles: applications to aquaculture

Aquaculture Research Group - key research areas:

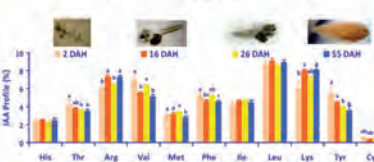


Amino acid research line

Techniques most often used:

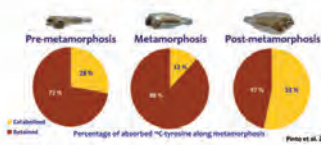
- HPLC analysis of free and protein-bound amino acids
- Tube-feeding of ¹⁴C-labelled amino acids, followed by incubation in metabolic chambers

(1) Amino acid analysis: towards determination of amino acid requirements



Angulo et al. 2004

(2) Metabolic fluxes of amino acids in fish larvae



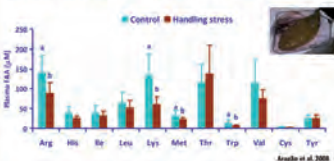
Pinto et al. 2009

Tyrosine is more retained during Senegalese sole metamorphosis

Amino acid profile change during Senegalese sole ontogeny

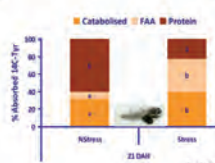
Indications of changes in amino acid requirements in fish larvae and juveniles

Stressful husbandry conditions affect plasma amino acid concentrations in Senegalese sole



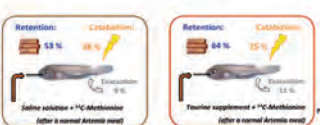
Angulo et al. 2008

Tyrosine metabolism is disturbed after acute stress in postlarval sole



Angulo et al. 2008

Methionine retention increases in seabream larvae in the presence of a taurine supplement



Pinto et al. in press

Avaliação da virulência de duas estirpes de *Tenacibaculum maritimum* por métodos *in vitro*

Simões^{1,2,*}I., Costas^{1,2,3}B., Marques^{1,4}J.F., Castro-Cunha⁵M., Afonso^{1,2}A.

¹CIMAR/CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal.

²ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Largo Prof. Abel Salazar 2, 4099-002 Porto, Portugal. *Email: ildefonsosimoes@sapo.pt

³CIMAR/CCMAR – Centro de Ciências do Mar do Algarve, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

⁴Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Edifício FC4, Rua do Campo Alegre 823, 4150-180 Porto, Portugal.

⁵A. Coelho & Castro Lda., Praça Luís de Camões, 15 R/C, 4490-441 Póvoa de Varzim, Portugal.

Resumo

Tenacibaculum maritimum é o agente etiológico de uma doença ulcerativa em peixes conhecida como tenacibaculose. É uma bactéria de crescimento lento, cuja cultura levanta inúmeros problemas técnicos. Sendo aceite como causadora de importantes prejuízos na aquacultura do linguado (*Solea senegalensis*), é importante desenvolver esforços no sentido de melhorar o conhecimento dos mecanismos de interação patógeno/hospedeiro, pois todo o conhecimento acrescido poderá ajudar na aplicação de medidas que levem a melhores práticas de prevenção e manejo, e contribuam para a minimização dos problemas levantados por esta infecção. Dada a existência, no laboratório de Imunobiologia do CIIMAR, de duas estirpes desta bactéria, ambas isoladas a partir de linguados de uma piscicultura em Portugal, surgiu a oportunidade de avaliar o seu grau de virulência.

Assim, com o objectivo de avaliar a virulência destas duas estirpes (ACC6.1 e ACC13.1), procedeu-se a ensaios *in vitro*, utilizando leucócitos do rim anterior de linguados adultos (aprox. 350 g). Os leucócitos aderentes ao fundo das placas de cultura (macrófagos na sua maioria) foram expostos a várias concentrações (1×10^5 , 10^4 e 10^3 cfu/mL) de bactéria das duas estirpes, de forma a avaliar a resposta das células aos estímulos inflamatórios. Foram testadas duas funções leucocitárias em resposta à presença da bactéria, a explosão respiratória, utilizando um método de quantificação da redução do ferrocitocromo C pelo anião O_2^- e a produção de óxido nítrico, utilizando um método baseado na reacção de Griess, que quantifica os nitritos no sobrenadante de leucócitos cultivados durante 72 h na presença do agente infeccioso.

Os valores obtidos foram significativamente superiores na concentração mais elevada (1×10^5 cfu/mL) de bactéria da estirpe ACC6.1 nos dois ensaios *in vitro* (explosão respiratória e produção de óxido nítrico), não sendo verificadas diferenças significativas nas concentrações mais baixas. Assim, os resultados observados, sugerem que a estirpe ACC6.1 poderá ser mais virulenta que a ACC13.1.

Palavras-chave

Tenacibaculum maritimum, *Solea senegalensis*, explosão respiratória, óxido nítrico.

Introdução

A *Tenacibaculum maritimum*, anteriormente conhecida como *Flexibacter maritimus*, é o agente etiológico da tenacibaculose, é uma doença ulcerativa que afecta um largo número de espécies de peixes marinhos por todo o mundo, e que tem uma importância económica considerável para a aquacultura marinha (Avendaño-Herrera *et al.*, 2005). As *T. maritimum* são bactérias Gram-negativas, as suas colónias são planas, finas e apresentam uma cor amarelada com bordos irregulares. O isolamento da bactéria a partir de peixes doentes é difícil devido ao seu crescimento lento e à abundância de outras espécies de bactérias presentes nas lesões que podem também levar à inibição do seu crescimento (Avendaño-Herrera *et al.*, 2004; Gelderen *et al.*, 2010). Apesar da importância da *T. maritimum* em aquacultura, não se sabe muito em relação à sua patogenicidade e ainda não foi desenvolvido um modelo experimental que possa ajudar a compreender a via de infecção deste agente patogénico (Avendaño-Herrera *et*

al., 2006). Por tanto, é de vital importância aumentar o conhecimento sobre os mecanismos de interação patogénio/hospedeiro. O objectivo deste trabalho foi avaliar as respostas leucocitárias do linguado perante um desafio com *T. maritimum* através de técnicas *in vitro*.

Materiais e métodos

Os linguados utilizados no trabalho (peso médio aprox. 350 g), provenientes de uma aquacultura do norte de Portugal, foram aclimatados durante 7 dias e posteriormente mantidos num sistema semi-fechado de recirculação de água salgada, temperatura 20 - 22 °C, salinidade de 34‰ e saturação de oxigénio superior a 90%, até à sua utilização para colheita de células do rim anterior.

Para a recolha de leucócitos do rim anterior utilizou-se o método descrito por Secombes (1990). O rim anterior foi removido em condições assépticas, em seguida foi macerado suavemente através de uma rede de nylon com um poro de 100µm usando meio Leibovitz (L15, Gibco) suplementado com penicilina (100 IU/mL), estreptomicina (100 µg/mL), heparina (20 unidades/mL) e 2% de FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco) (L15 - 2%). A suspensão de células resultante foi colocada sobre um gradiente de Percoll 34/51% e centrifugada a 400 × g durante 40 minutos a 4 °C. O anel de leucócitos foi retirado da interface do Percoll e lavado 3 vezes em L15 - 2% e resuspendido em L15 Leibovitz com 0,1% de FBS (L15 - 0,1%). As células foram distribuídas por placas de 96 poços de fundo plano (100 µL por poço). Após a incubação *overnight* a 18 °C as células não aderentes foram retiradas por lavagem e a camada aderente foi mantida em L15 - 5%.

No ensaio da explosão respiratória utilizou-se um método de quantificação da redução do ferrocitocromo C pelo anião O₂⁻ extracelular (Secombes, 1990). A camada única de células foi lavada com L-15, e foi adicionado a cada poço 100 µL da suspensão da solução de ferrocitocromo C (2 mg de ferrocitocromo C/mL diluído em HBSS- *Hank's balanced salt solution* sem vermelho de fenol) com as diversas concentrações de bactéria (1 × 10³, 10⁴ e 10⁵ cfu (unidades formadoras de colónias) /mL) em triplicado. As placas foram lidas no espectrofotómetro Power-Wave™ (BioTek) a 550 nm 30 minutos após a adição dos reagentes às células.

O ensaio de produção de óxido nítrico pelos leucócitos do rim anterior foi realizado pelo método descrito por Neumann *et al.* (1995) e modificado por Tafalla e Novoa (2000). Este método quantifica o conteúdo em nitritos no sobrenadante dos leucócitos, dado que o óxido nítrico é uma molécula instável que se degrada em nitritos e nitratos. Para estimular os leucócitos do rim anterior para a produção de óxido nítrico a monocamada de células foi

exposta a diversas concentrações de bactéria (1×10^3 , 10^4 e 10^5 cfu/mL). Após 72 horas de incubação a 18 °C, foram retirados 50 µL do sobrenadante dos leucócitos, que se colocaram em novas placas de 96 poços. A cada um destes poços adicionou-se 100 µL de sulfanilamida a 1% (Sigma) em ácido fosfórico a 2,5%, e em seguida 100 µL de NED (N-naphthyl-ethylene-diamine (Sigma)) a 0,1% em ácido fosfórico a 2,5%. Após 5 minutos à temperatura ambiente e protegidos da luz, foi medida a absorvância a 540 nm. A concentração dos nitritos da amostra foi determinada a partir das curvas padrão, geradas por concentrações conhecidas de nitrato de sódio.

Todos os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados para a normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade da variância (teste de Levene), e quando necessário fez-se a transformação logarítmica dos dados, antes de serem tratados estatisticamente. Os dados do ensaio foram analisados através de uma ANOVA de duas vias, quando estes dados não cumpriram os requisitos para utilização de uma ANOVA, foram aplicados testes não paramétricos. O nível de significância considerado foi $P < 0,05$.

Resultados

No ensaio referente à explosão respiratória as células exibiram respostas diferentes às duas estirpes em estudo, apresentando diferenças significativas entre os diversos tratamentos ($P < 0,001$). Os leucócitos estimulados com a estirpe ACC6.1 na concentração mais elevada (1×10^5 cfu/mL) apresentaram um valor de produção do anião O_2^- significativamente superior a todos os restantes tratamentos, que aparentemente depende da interacção estirpe/concentração, pois o valor da interacção é significativo ($P < 0,001$). Nas duas concentrações mais baixas de bactéria (1×10^3 e 10^4 cfu/mL) não existem diferenças significativas entre as duas estirpes, mas existem diferenças significativas entre concentrações (Tabela I).

Tabela I.- Produção do anião O_2^- (nmoles) extracelular por leucócitos do rim anterior de *S. senegalensis* estimulados com diferentes concentrações de 2 estirpes (ACC6.1 e ACC13.1) de *T. maritimum*.

Estirpes	Bactéria (cfu/mL)		
	1×10^3	1×10^4	1×10^5
ACC 6.1	$0,58 \pm 0,18$	$1,02 \pm 0,12$	$6,56 \pm 0,29$
ACC 13.1	$0,63 \pm 0,16$	$0,97 \pm 0,16$	$3,19 \pm 0,21$

No ensaio referente à produção de óxido nítrico os leucócitos do rim anterior apresentaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos ($P < 0,001$). E também neste caso a resposta foi significativamente diferente na estirpe ACC6.1 na concentração de 1×10^5 cfu/mL, que apresentou um valor mais elevado de produção de nitritos ($P < 0,001$). As duas concentrações inferiores não apresentaram diferenças significativas entre estirpes, mas entre concentrações os valores obtidos já apresentam diferenças significativas ($P < 0,001$) (Tabela II).

Tabela II.- Produção de óxido nítrico (μM) de leucócitos do rim anterior de *S. senegalensis* estimulados com diferentes concentrações de 2 estirpes de *T. maritimum*.

Estirpes	Bactéria (cfu/mL)		
	1×10^3	1×10^4	1×10^5
ACC 6.1	$1,63 \pm 0,34$	$2,20 \pm 0,45$	$7,53 \pm 1,81$
ACC 13.1	$1,47 \pm 0,26$	$1,82 \pm 0,42$	$2,98 \pm 0,39$

Discussão

Apesar de a tenacibaculose ser uma doença que afecta várias espécies marinhas, o comportamento da *T. maritimum* com o hospedeiro é desconhecido (Avendaño-Herrera *et al.*, 2006). No presente trabalho, estudou-se a resposta dos leucócitos do rim anterior a estímulos produzidos por duas estirpes de *T. maritimum*, em várias concentrações.

Com os dados obtidos podemos afirmar que os leucócitos do rim anterior do linguado respondem à infecção da *T. maritimum*, pois tanto no ensaio da explosão respiratória como no do óxido nítrico, a resposta celular funcionou, e em ambos os casos os valores obtidos, aumentam da concentração mais baixa de bactéria para a concentração mais alta. Podemos com este facto afirmar que a concentração de bactéria é um factor que vai influenciar a resposta celular.

Assim, com o resultado do estudo pode afirmar-se que a estirpe ACC6.1 induz uma resposta significativamente superior à da estirpe ACC13.1, na concentração mais alta. Foi já comprovado no nosso laboratório, em estudos anteriores de Costas *et al.* (comunicação pessoal) com a *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* e o linguado, que quanto maior a

virulência da bactéria maior o valor da resposta celular na produção de anião O_2^- . Podemos assim sugerir que a estirpe ACC6.1 poderá apresentar um grau de virulência superior. Nas concentrações inferiores não existem diferenças significativas entre estirpes, o que pode ser indicativo de que os ensaios não são sensíveis o suficiente para detectar as diferenças entre estirpes ou as concentrações de bactéria utilizadas nos ensaios, não são suficientes para provocar uma resposta diferenciada das células. Estudos posteriores serão necessários para clarificar estes resultados. Recomendar-se-á a utilização da estirpe ACC6.1 para futuros trabalhos de infecção experimental em linguados.

Conclusões

Com os resultados obtidos no nosso estudo podemos concluir que os leucócitos do rim anterior do linguado apresentam respostas celulares ao estímulo inflamatório provocado pela *T. maritimum*, e sugerir que a estirpe ACC6.1 poderá eventualmente ser mais virulenta do que a ACC13.1.

Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projecto OPTISOLE. Com um montante de investimento superior a 100.000 €, este projeto tem como objetivo introduzir melhorias ao nível da organização e gestão da empresa e estimular a sua presença no mercado Internacional. Foi co-financiado pelo Quadro de Referência Estratégico Nacional - QREN, no âmbito do Programa Operacional Regional do Norte - ON2, no montante de 343.751,84 € provenientes do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional - FEDER. Benjamín Costas foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, Portugal (SFRH/BD/38697/2007).

Bibliografia

Avendaño-Herrera R., Rodríguez J., Magariños B., Romalde J.L., Toranzo A.E. 2004. Intraspecific diversity of the marine fish pathogen *Tenacibaculum maritimum* as determined by randomly amplified polymorphic DNA-PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 871–877.

- Avendaño-Herrera R., Toranzo A.E., Romalde J.L., Lemos M.L., Magariños B. 2005. Iron uptake mechanisms in the fish pathogen *Tenacibaculum maritimum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11): 6947-6953.
- Avendaño-Herrera R., Irgang R., Magariños B., Romalde J.L., Toranzo A.E. 2006. Use of microcosms to determine the survival of the fish pathogen *Tenacibaculum maritimum* in seawater. *Environmental Microbiology*, 8(5): 921-928.
- Gelderen R., Carson J., Gudkovs N., Nowak B. 2010. Physical characterisation of *Tenacibaculum maritimum* for vaccine development. *Journal of Applied Microbiology*, 1-9.
- Neumann N.F., Fagan D., Belosevic M. 1995. Macrophage activating factor(s) secreted by mitogen stimulated goldfish kidney leukocytes synergize with bacterial lipopolysaccharide to induce nitric oxide production in teleost macrophages. *Developmental and Comparative Immunology*, 19(6): 473-482.
- Secombes C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Roberson B.S., van Muiswinkel W.B., editors. *Techniques in fish immunology*. Fair Haven: SOS Publications. pp 137-154.
- Tafalla C., Novoa B. 2000. Requirements for nitric oxide production by turbot (*Scophthalmus maximus*) head kidney macrophages. *Developmental Comparative Immunology*, 24: 623 – 631.

Idelfonso Simões^{1,2}
Benjamin Costas^{1,2,3}
Joana Marques^{1,4}
Manuela Castro-Cunha⁴
António Afonso^{1,2}

¹CIMAR/CIMAR
Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental

²CBAS-UP
Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar, Universidade Porto

³PORTO
Universidade do Porto

⁴CIMAR/CCMAR
Centro de Ciências da Mar do
Algarve, Universidade Algarve

⁵Faculdade de Ciências
Universidade Porto

⁶A. Coelho & Castro,
Lda.
A. Coelho e Castro, Lda.

Agradecimentos
Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projecto OPTISOLE. Com um montante de investimento superior a 100.000 €, este projecto tem como objectivo introduzir melhorias ao nível da organização e gestão da empresa e estimular a sua presença no mercado internacional. Foi co-financiado pelo Quadro de Referência Estratégico Nacional - QREN, no âmbito do Programa Operacional Regional do Norte - ON2, no montante de 343.751,84 €, e provenientes do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional - FEDER.



Bibliografia
1. Simões, I., Simões, B., Simões, A.C., Ferreira, J.L., Lopes, M.L., Marques, B. (2012) Tenacibaculum maritimum: a new fish pathogen. *International Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 7(1), 64-70.
2. Simões, I., Simões, B., Simões, A.C., Ferreira, J.L., Lopes, M.L., Marques, B. (2012) Tenacibaculum maritimum: a new fish pathogen. *International Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 7(1), 64-70.
3. Simões, I., Simões, B., Simões, A.C., Ferreira, J.L., Lopes, M.L., Marques, B. (2012) Tenacibaculum maritimum: a new fish pathogen. *International Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 7(1), 64-70.

Avaliação da virulência de duas estirpes de *Tenacibaculum maritimum* por métodos *in vitro*

INTRODUÇÃO

Tenacibaculum maritimum é o agente etiológico de uma doença ulcerativa conhecida como Flexibacteriose [1]. É um organismo de crescimento lento e cuja cultura levanta problemas [2]. Sendo este agente patogénico a causa de importantes prejuízos na produção comercial em aquacultura do linguado (*Solea senegalensis*), é importante desenvolver esforços no sentido de melhorar o conhecimento dos mecanismos de interação patogénico/hospedeiro, pois todo o conhecimento acrescido poderá ajudar na aplicação de imunostimulantes e no desenvolvimento de vacinas, podendo no futuro conduzir a melhores práticas de prevenção e manejo, e contribuir para a eliminação dos problemas levantados por esta infecção na aquacultura do linguado.

MATERIAL E MÉTODOS

Tenacibaculum maritimum ACC6.1 e ACC13.1
 1×10^3 ; 1×10^4 ; 1×10^5 cfu/ml
Viva ou morta por UV dependendo do ensaio

Solea senegalensis (aprox. 350g)



Explosão Respiratória
Redução do ferrocitocromo C pelo anião O_2^-
30min - 18°C

Produção de Óxido Nítrico
Reacção de Griess - quantificação de nitratos do sobrenadante dos leucócitos
72h - 18°C

RESULTADOS

Tabela 1
Produção do anião O_2^- (nmoles) extracelular por leucócitos do rim anterior de *S. senegalensis* estimulados com diferentes concentrações de 2 estirpes (ACC6.1 e ACC13.1) de *T. maritimum*.

Estirpes	Bactéria (cfu/ml)		
	1×10^3	1×10^4	1×10^5
ACC 6.1	0,58 ± 0,18	1,02 ± 0,12	6,56 ± 0,29
ACC 13.1	0,63 ± 0,16	0,97 ± 0,16	3,19 ± 0,21

Todos os valores foram apresentados como média ± desvio padrão (ANOVA, duas vias, P<0,001). Todos os ensaios estatísticos foram realizados usando o programa SPSS 15.0 para WINDOWS.

Tabela 2
Produção de óxido nítrico (μ M) de leucócitos do rim anterior de *S. senegalensis* estimulados com diferentes concentrações de 2 estirpes (ACC6.1 e ACC13.1) de *T. maritimum*.

Estirpes	Bactéria (cfu/ml)		
	1×10^3	1×10^4	1×10^5
ACC 6.1	1,63 ± 0,34	2,20 ± 0,45	7,53 ± 1,81
ACC 13.1	1,47 ± 0,26	1,82 ± 0,42	2,96 ± 0,39

Todos os valores foram apresentados como média ± desvio padrão (Teste Kruskal-Wallis, P<0,001). Todos os ensaios estatísticos foram realizados usando o programa SPSS 15.0 para WINDOWS.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente estudo mostram pela primeira vez as respostas celulares do linguado perante um desafio com *T. maritimum*. A explosão respiratória e a produção de óxido nítrico são mecanismos críticos na limitação do crescimento de agentes patogénicos [3]. Assim, para a concentração mais alta verificou-se que a estirpe ACC6.1 induz uma resposta superior à da estirpe ACC13.1, o que poderá ser indicativo de que a estirpe ACC6.1 apresenta um grau de virulência superior. Em estudos anteriores no nosso laboratório, Costas *et al.* (comunicação pessoal) verificaram que células do rim anterior do linguado infectadas com *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* apresentavam uma maior produção de anião O_2^- quando desafiadas com a estirpe mais virulenta. O facto de não existirem diferenças significativas entre estirpes quando utilizadas concentrações de bactéria inferiores a 1×10^3 cfu/ml, pode ser indicativo de que os ensaios não são suficientemente sensíveis para detectar eventuais diferenças.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos no nosso estudo podemos sugerir que a estirpe ACC6.1 poderá ser mais virulenta do que a ACC13.1. No entanto, estudos de desafio com estas estirpes e com a utilização de ferramentas moleculares, poderão ajudar a clarificar esta hipótese, assim como dar mais indícios na interação agente patogénico/hospedeiro.

Características morfológicas de los huevos y las larvas de la merluza europea (*Merluccius merluccius* L.)

Sánchez* F.J., Otero J.J., Cal R.M., Lago M.J., Gómez C., Iglesias J.

Centro Oceanográfico de Vigo. Instituto Español de Oceanografía. Subida a Radio Faro 50. Apdo. 1552. 36200. Vigo. Pontevedra. España. *E-mail: javier.sanchez@vi.ieo.es

Resumen

En el Centro Oceanográfico de Vigo del Instituto Español de Oceanografía (IEO) se estableció un stock de reproductores de merluza en los años 2007 y 2008. Las merluzas fueron pescadas en la ría de Vigo usando un arte de arrastre modificado en su parte final, constituido por un cilindro de lona y anillas de polietileno de tal forma que en su interior retenía el agua cuando era izado a bordo. Del interior del copo se trasladaron las merluzas a tanques isoterms con agua fría y a continuación al laboratorio donde se estabularon en tanques de 8 m³. Al principio se les alimentó con pescado vivo (*Ammodytes* spp.), posteriormente se les suministró pescado congelado (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) y finalmente un pienso húmedo elaborado con sardina, bacaladilla (*Micromesistius poutassou* Risso 1827), calamar (*Loligo gahi* D'Orbigny, 1835), mejillón (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) y harina de pescado. Las condiciones de captura, transporte y acondicionamiento al cautiverio se describen en Iglesias *et al.* (2010). En este trabajo se hace una descripción morfológica de los huevos de la merluza desde sus primeros estados de desarrollo hasta el momento de la eclosión y también se describen en detalle los cambios somáticos que ocurren en las larvas desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino (Sánchez *et al.*, en prensa).

Los huevos de merluza europea son transparentes, esféricos y tienen un diámetro medio de 1,067 mm. El vitelo ocupa la casi totalidad del volumen del huevo, por lo que el espacio perivitelino es muy reducido. La gota de grasa tiene un diámetro de 0,23 mm y el periodo de incubación dura 4 días a 14 °C. El consumo del saco vitelino se produce a los 6 días de la

eclosión, cuando la larva ya tiene 4 mm e inicia su alimentación exógena.

Palabras clave

Merluccius merluccius, merluza, huevos, larvas.

Introducción

En los últimos años existe un interés creciente en el cultivo de la merluza europea (*Merluccius merluccius* Linneo, 1758), ya que es una especie con una gran demanda comercial. Bjelland (2001) y Bjelland & Skiftesvik (2006) cultivaron por primera vez larvas de merluza a partir de fertilizaciones artificiales realizadas con huevos obtenidos de ejemplares salvajes. Otros autores (Bustos & Landaeta, 2005) realizaron cultivos de larvas de merluza austral (*Merluccius australis* Hutton, 1872) en Chile.

En los años 2007 y 2008 se llevaron a cabo dos campañas de pesca que tuvieron como objetivo la captura de ejemplares vivos de merluza con el fin de establecer un stock de reproductores en las instalaciones del IEO en Vigo. Iglesias *et al.* (2010) describen todo el proceso de captura, transporte y adaptación a la cautividad de estos peces. Una vez adaptados los reproductores, se registró la primera puesta en abril de 2009 y desde finales de verano y durante todo el año 2010 se obtuvieron puestas espontáneas fertilizadas que sirvieron para desarrollar los primeros cultivos de larvas de merluza en España. Actualmente se dispone de 20 merluzas (machos y hembras) que constituyen el único stock de reproductores de merluza europea que se ha reportado por la bibliografía especializada.

Materiales y métodos

Los huevos fertilizados fueron recogidos en un colector con malla de 500 μm situado en la salida superficial del tanque de 8 m³. Se analizó su estado de desarrollo y se contaron por volumetría los huevos flotantes y no flotantes con una probeta graduada. Los huevos viables (flotantes) se incubaron en un tanque de 150 litros con circuito abierto de agua a $14 \pm 0,5$ °C,

salinidad del 34‰ y provisto de un cilíndrico central de PVC y malla de 500 μm en el desagüe. La entrada de agua se diseñó usando un tubo de PVC colocado a 5 cm de la superficie del agua provisto de perforaciones de 1 mm distanciadas 1 cm y situadas a lo largo del tubo. El agua era forzada a salir en unos chorros finos que formaban un ángulo de 45° con la superficie. De esta forma los huevos eran empujados hacia abajo distribuyéndose en toda la columna de agua, evitando el problema de que quedaran flotando en superficie debido a su naturaleza hidrófuga.

Una vez que los huevos eclosionaron, las larvas fueron trasladadas a un tanque de 500 L donde se cultivaron hasta el consumo total del saco vitelino. Las observaciones de la morfología de los diferentes estadios de los huevos y de las larvas se realizaron utilizando un microscopio estereoscópico Leica MZ6 provisto de un ocular con retículo micrométrico para registrar las mediciones.

Resultados y discusión

Los huevos de la merluza europea son transparentes, esféricos y miden $1,067 \pm 0,024$ mm. Poseen una gota lipídica que mide $0,027 \pm 0,03$ mm de diámetro al eclosionar y va disminuyendo de tamaño a medida que se va consumiendo el saco vitelino (Tabla I). Los huevos con dos divisiones, según el trabajo de Marrale *et al.* (1996) en experiencias realizadas a 14 °C, corresponden a dos horas después de la fertilización y la mórula a las cinco horas. Al día siguiente se forma la blástula y los blastómeros van recubriendo el vitelo y a continuación comienza la invaginación hasta llegar a la fase de gástrula. A los dos días ya se puede observar la formación del embrión con sus vesículas ópticas, el corazón latiendo y la formación de la notocorda. A las 72 horas la longitud del embrión ocupa el 75% de la longitud de la circunferencia y ya se pueden distinguir numerosos cromatóforos y también los otolitos. Se inicia la formación de la retina. A las 80 horas se aprecian los primeros movimientos, iniciándose la eclosión. A las 90 horas el 50% de los huevos han eclosionado y 6 horas más tarde lo hacen el resto.

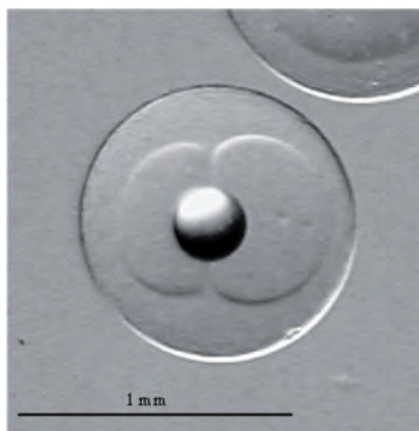


Figura 1.- Detalle del huevo de merluza con dos divisiones a las dos horas de la fertilización. Diámetro 1,067 mm.

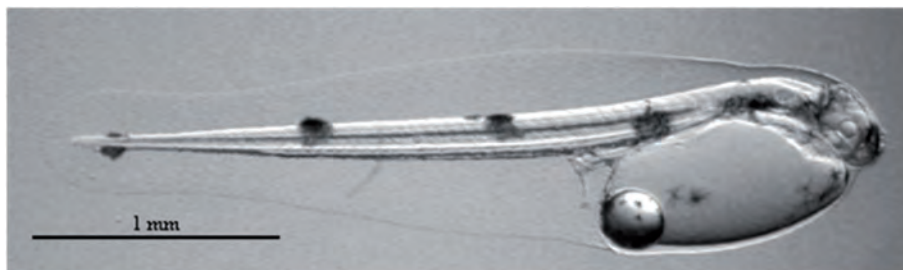


Figura 2.- Larva de merluza recién nacida después de 4 días de incubación a 14 °C. Longitud total 3,20 mm.

Las larvas recién eclosionadas miden $3,20 \pm 0,13$ mm y presentan tres bandas de pigmentación desde la mitad posterior hasta la aleta caudal. En la zona dorsal de la cabeza así como en la gota de grasa también se distinguen cromatóforos dendríticos. El saco vitelino representa el 30% de la longitud total y la gota de grasa se localiza adherida a la parte posterior del saco. En algunos casos la gota lipídica nada libremente en el saco vitelino, lo cual indica que la larva no absorberá los componentes químicos contenidos en ella y por lo tanto no vivirá mucho mas allá del consumo del saco vitelino (Bustos *et al.*, 2007).

Tabla I.- Datos morfométricos de larvas de merluza desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino, a 14 °C.

Edad	N	LT (mm)	LE (mm)	PS (mg)	GG Ø (mm)	LSV (mm)
0	19	3,20±0,13	3,05±0,13	0,064±0,01	0,27±0,003	1,05±0,08
1	10	3,52±0,23	3,39±0,23	0,074±0,01	0,25±0,010	1,03±0,06
2	10	3,78±0,25	3,63±0,25	0,082±0,01	0,24±0,007	0,79±0,07
3	10	4,08±0,12	3,93±0,12	0,103±0,02	0,22±0,012	0,60±0,06
4	10	4,11±0,11	3,98±0,12	0,104±0,02	0,19±0,013	0,54±0,06
5	10	4,14±0,11	4,01±0,09	---	0,17±0,009	0,44±0,06
6	20	4,15±0,08	4,00±0,09	0,017±0,02	0,14±0,010	0,33±0,03

Edad en días; N: Tamaño de muestra; LT: Longitud Total; LE: Longitud Estándar; PS: Peso Seco; GG: diámetro de la Gota de Grasa; LSV: Longitud del Saco Vitelino.

Un día más tarde, las larvas mantenidas a 14 °C presentan un aspecto muy similar, situándose en posición vertical entre aguas, dejándose llevar pasivamente por las corrientes del tanque. A los dos días de la eclosión las larvas nadan activamente y se observa como el saco vitelino y gota de grasa van disminuyendo de tamaño (Tabla I), los ojos aparecen claramente diferenciados y pigmentados y ya se puede observar el tubo digestivo. A los tres días se comienza a diferenciar la aleta caudal y la mandíbula inferior. La apertura de la boca se observa el quinto día y un día más tarde la boca esta perfectamente diferenciada (mandíbula superior e inferior) y es absolutamente funcional, pudiendo la larva iniciar su alimentación exógena, aunque aún posee vestigios de saco de vitelo y gota lipídica. En larvas de una semana de vida se distinguen con claridad las aletas pectorales y la vejiga natatoria. A esta edad son capaces de capturar presas con movimientos rápidos y precisos.

El diámetro del huevo aportado en este trabajo (1,067 mm) y la duración del periodo embrionario (4 días), así como la longitud de la larva en la eclosión (3,20 mm) son muy similares a los datos de Rusell (1976), que da de 0,94 a 1,03 mm de diámetro de huevo y 3,0 mm para la longitud de la larva en la eclosión. Además, Bjelland & Skiftesvik (2006) reportan un diámetro de 1,07±0,01 mm y una longitud total de la larva de 3,0 mm. Bustos & Landaeta (2005) describen diámetros de 0,9 a 1,1 mm y longitud estándar de 2,8 mm para larvas recién eclosionadas de merluza austral.

La duración del periodo de incubación observada en este trabajo (4 días a 14 °C) esta de acuerdo con los aportados por Bjelland & Skiftesvik (2006), que dan valores de 4 días a 14,5 °C para el periodo embrionario. Finalmente, los datos de consumo del saco vitelino y edad de la primera alimentación aportados en este trabajo (6 días tras la eclosión) coinciden con los datos señalados por Bjelland & Skiftesvik (2006) para la misma especie.

Bibliografía

- Bjelland R.M. 2001. European hake, *Merluccius merluccius* L., a new candidate for aquaculture? Rearing techniques, larval development and startfeeding. Thesis doctoral, Department of Fisheries and Marine Biology, University of Bergen, Norway 77pp.
- Bjelland R.M., Skiftesvik A.B. 2006. Larval development in European hake (*Merluccius merluccius* L.) reared in a semi-intensive culture system. *Aquaculture Research* 37: 1117–1129.
- Bustos C.A., Landaeta M.F. 2005. Development of eggs and early larvae of the Southern hake, *Merluccius australis* reared under laboratory conditions. *Gayana* 69: 402–408.
- Bustos C.A., Landaeta M.F., Bay-Schmith E., Lewis R., Moraga X. 2007. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae. *Aquaculture*, 270: 535–540.
- Iglesias J., Lago M.J., Sánchez F.J., Cal R. 2010. Capture, transport and acclimatization to captivity of European Hake (*Merluccius merluccius* L.). Preliminary data on feeding and growth. *Aquaculture Research*, 41: 607–609.
- Marrale D., Alvarez P., Motos L. 1996. Development and identification of European hake, *Merluccius merluccius* L., embryonic and yolk-sac larval stages. *Ozeanografika*, 1: 1–26.
- Russell F.S. 1976. The Eggs and Planktonic Stages of British Marine Fishes. Academic Press, London, UK, 524pp.
- Sánchez F.J., Otero J.J., Cal R., Lago M.J., Gómez C., Iglesias J. (en prensa). The first spontaneous spawning of European hake *Merluccius merluccius* L.: Characteristics of eggs and early larval stages. *Aquaculture Research*. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02966.x

Características morfológicas de los huevos y las larvas de la merluza europea (*Merluccius merluccius* L.)

F. J. Sánchez, J. J. Otero, R. M. Cal, M. J. Lago, C. Gómez y J. Iglesias



CENTRO OCEANOGRÁFICO DE VIGO
Subida a Radio Faro 50, 36390 – Vigo, España

RESUMEN

En el Centro Oceanográfico de Vigo del Instituto Español de Oceanografía se estableció un banco de reproducción de merluza en los años 2007 y 2008. Las merluzas fueron pescadas en la zona de Vigo usando un arte de arrastre modificado en su parte frontal, constituida por un cilindro de fosa y anillas de polietileno de tal forma que en su interior quedaba agua limpia cuando era sacado a bordo. Del interior del cono se trasladaban las merluzas a tanques isotermos con agua fría y a continuación al laboratorio donde se establecieron en tanques de 8 l/m³. Al principio se les suministró un pezcapo vivo (*Ammodytes* spp.), posteriormente se les suministró pezcapo congelado (*Corella philippensis*) y finalmente se les suministró. Las condiciones de calidad, transporte y acondicionamiento al cautiverio se describen en Iglesias et al. 2010.

En abril de 2009 se produjo una primera puesta y a partir de esto se comenzaron a obtener puestas espontáneas que se extendieron a lo largo de todo el año 2010. Los huevos fertilizados fueron recogidos en un colectivo de 500 µm, se analizó su estado de desarrollo y se contaron por volumetría los huevos fértiles y no fértiles. Los huevos fértiles (100%) se incubaron en un tanque de 120 litros, en circuito abierto de agua dulce (100%) a 14°C y salinidad de 34‰ y a presión de 500 µm en el desague. La entrada de agua se controla utilizando un tubo de PVC provisto de perforaciones de 1 mm cada cm y situado a 5 cm sobre la superficie. El agua sale en un chorro fino formando un ángulo de 40°. De esta forma los huevos, que en esta especie tienen naturaleza hidrófila y tienden a flotar espontáneamente para poder respirar al aire, están empujados hacia abajo distribuyéndose en toda la columna de agua.

En este trabajo se hace una descripción morfológica de los huevos de la merluza desde sus primeros estados de desarrollo, hasta el momento de la eclosión y también se describen en detalle los cambios morfológicos que ocurren en las larvas desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino (Sánchez et al. en prensa).

MATERIAL Y MÉTODOS

PESCA, TRANSPORTE Y ACCLIMATACIÓN



B/O Francisco de Paula Novais, L.E.O.



Tanda isotérmica para introducir al aire de la vejiga isotérmica.



Stock de reproducción.



Arte de arrastre con cono cilíndrico rígido.



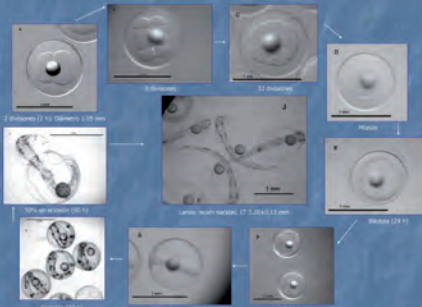
Transporte en tanques isotermos a 13-14°C.



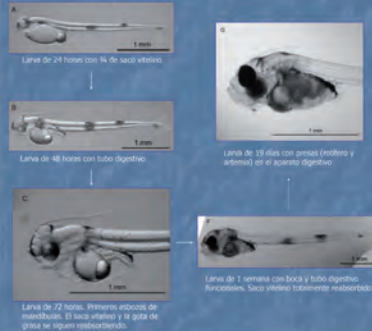
Bancal suministrado.

RESULTADOS

DESARROLLO EMBRIONARIO A 14°C



DESARROLLO LARVARIO A 14°C



ASPECTOS DESTACABLES



Nuevos hidrófugos: a la derecha se muestra su naturaleza hidrófuga.



Incubador: Los fros chicos de agua "obliga" a los huevos a permanecer sumergidos.

ADHERENCIA DE LA GOTTA LÍFICA



Larva recién nacida. Gota lífica bien adherida.



Larva recién nacida. Gota lífica no adherida.

CONCLUSIONES

El desarrollo embrionario desde las primeras divisiones hasta la eclosión dura 96 horas a 14°C. El desarrollo larvario desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino dura 7 días a 14°C.

BIBLIOGRAFÍA

Iglesias, J., Lago, M.J., Sánchez, F. J. & Cal, R. (2010). Culture, transport and acclimatization to captivity of European hake, *Merluccius merluccius* L: preliminary data on feeding and growth. *Aquaculture Research* 41, 607-609.

Sánchez, F. J., Otero, J.J., Cal, R., Lago, M.J., Gómez, C. & Iglesias, J. The first spontaneous spawning of European hake *Merluccius merluccius* L.: Characteristics of eggs and early larval stages. *Aquaculture Research* (en prensa).

Comparación del crecimiento de *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO en distintos modelos de fotobiorreactor

Cortina-Burgueño^{1*} A., Nascimento¹ P., Freire I., Ación² F.G., Otero¹ A.

¹Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela

*E-mail: angela.cortina@usc.es

²Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería

Resumen

Las microalgas son la base de la cadena trófica en acuicultura además de una fuente potencial de compuestos de interés biotecnológico y han sido propuestas como la vía más rentable de producción de biodiesel. Por ello es de gran interés desarrollar sistemas de cultivo que permitan alcanzar máxima productividad y abaratar los costes de producción. Aunque últimamente se ha mejorado mucho el diseño y manejo de los fotobiorreactores (FBRs), existen pocos datos comparativos de los distintos modelos en uso para identificar los sistemas más eficientes, siendo éste el objetivo del presente trabajo. Se comparó el crecimiento de la microalga *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO en una bolsa cilíndrica tradicional de 400 L y 60 cm de diámetro, en FBR-bolsa plana de 200 L con 5 cm de paso de luz y en una columna de metacrilato de 100 L y 25 cm de diámetro. Estos prototipos, diseñados por la UAL, están situados en un invernadero en la EE Las Palmerillas (Fundación Cajamar, Almería) con luz natural, control de temperatura para no superar 27 °C y enriquecimiento del aire con CO₂ para mantener el pH en 7,6. El seguimiento de la densidad celular finalizó cuando los cultivos alcanzaron la fase estacionaria.

No hay diferencias significativas en la densidad máxima alcanzada entre el FBR bolsa plana y la columna, con 44,25±1,07 células·mL⁻¹ en la bolsa plana y 44,50±0,7 células·mL⁻¹ en la columna. Sin embargo, el sistema tradicional de cultivo en bolsa cilíndrica no superó los 12,68±1,9 células·mL⁻¹. Estas diferencias en densidad se deben probablemente a que la

cantidad de luz por célula disponible es mayor en los sistemas más productivos debido a una mayor relación superficie/volumen. Por lo tanto, y debido a la diferencia de volumen existente entre los distintos sistemas, la producción del FBR panel es aproximadamente el doble que la columna y la bolsa cilíndrica con $8,85 \cdot 10^{12}$ células totales en la Panel frente a $4,45 \cdot 10^{12}$ células totales en la columna y $5,07 \cdot 10^{12}$ células totales en la cilíndrica. Como conclusión, el sistema de bolsa plana se presenta como un sistema eficiente y manejable para obtener biomasa microalgal.

Palabras clave

Microalgas, fotobiorreactores, *Isochrysis*.

Introducción

En los últimos años ha habido un creciente protagonismo de las microalgas para sectores diversos como la acuicultura, la cosmética o la nutrición, especialmente porque son fuente de moléculas de interés biotecnológico, como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y pigmentos. Además, debido a la necesidad de diversificación en la producción de energía, se ha centrado el interés en las microalgas para la producción de biodiesel, ya que se las considera la fuente más rentable (Mata *et al.*, 2010). Para poder dar respuesta a la creciente demanda, es necesario desarrollar y comparar nuevos sistemas de cultivo masivo que permitan conseguir altas productividades con un manejo sencillo y bajos costes de producción. En el sector de la acuicultura, la producción de microalgas para larvas y semilla de moluscos, alimento vivo en la cadena trófica de peces y crustáceos así como aguas verdes, se realiza generalmente con biomasa producida *in situ* en los criaderos. *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO, una de las microalgas más utilizadas en acuicultura por su excelente perfil nutricional (Ferreira *et al.*, 2008), se cultiva *in situ* en bolsas plásticas cilíndricas poco eficientes y que producen biomasa de baja calidad nutricional. Se han ensayado otros sistemas para cultivo masivo para esta microalga, más productivos y con luz natural, como el cultivo en *raceway* (Boussiba, *et al.*, 1988), en columnas (Qiang & Richmond, 1994), reactores planos de vidrio (Zhang & Richmond, 2003) y en fotobiorreactores tubulares (Molina Grima *et al.*, 1994). La optimización de los parámetros físicos de cultivo en bolsas de polietileno con paso de luz reducido, en sustitución de los sistemas planos de vidrio (Sierra *et al.*, 2008), las presenta como una opción interesante para el cultivo de microalgas, de tal forma que es necesario realizar una comparación con los diseños existentes, en condiciones de producción reales, para identificar los modelos más eficientes.

Objetivo

El objetivo fue comparar el crecimiento de la microalga *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO en distintos sistemas de cultivo para determinar su eficiencia.

Materiales y métodos

La microalga marina *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO (CCMP1324) se cultivó en agua de riego ultrafiltrada y ozonizada a la que se añadieron 35 g·L⁻¹ de NaCl, fertilizante basado en NaNO₃ y K₂HPO₄, oligoelementos, hasta una concentración de nitrógeno de 12 mM, y las vitaminas tiamina y B₁₂ en una concentración de 140 y 12 µg·L⁻¹. Los sistemas de cultivo, una columna de 100 L y 25 cm de diámetro (Sánchez Mirón *et al.*, 2002), un sistema de panel consistente en una bolsa de polietileno de 200 L y 5 cm de paso de luz (Sierra *et al.*, 2008) y el sistema tradicional de cultivo en bolsa de polietileno de 400 L y 60 cm de diámetro, son un diseño propio del departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería. Estos se situaron en un invernadero en la EE Las Palmerillas, con aireación, control de temperatura a 27 °C y pH 7,6 por enriquecimiento del aire con CO₂.

Resultados

En todos los sistemas, la densidad máxima se alcanza a los 9 días de iniciar el cultivo. Ningún sistema estaba limitado por nutrientes o CO₂ por lo que probablemente, el factor limitante del crecimiento fue la luz. Todos los sistemas presentan un retardo en el inicio del crecimiento de 4 días, antes de empezar a dividirse exponencialmente.

Como se observa en la figura 1, los sistemas que permiten que se alcance la mayor densidad son la bolsa plana y la columna, no habiendo diferencias significativas entre las densidades de ambos sistemas (44,50±0,7·10⁶ células·mL⁻¹ en la columna de 100 L y 44,25±1,07·10⁶ células·mL⁻¹ en la bolsa plana. Sin embargo, como ambos sistemas son igualmente productivos, la bolsa plana, que tiene el doble de volumen, permite el cosechado del doble de células en el mismo periodo de tiempo. La bolsa cilíndrica tan solo alcanzó 12,68±1,9·10⁶ células·mL⁻¹, demostrando la baja productividad de estos sistemas (1,4·10⁹ células·L⁻¹·día⁻¹

frente a una media de $4,93 \cdot 10^9$ células \cdot L⁻¹ \cdot día⁻¹ alcanzada en la columna y la bolsa plana). Debido a esta baja densidad, hace falta 4 veces más volumen para obtener un cosechado similar que el que se obtiene en la columna (Fig. 2).

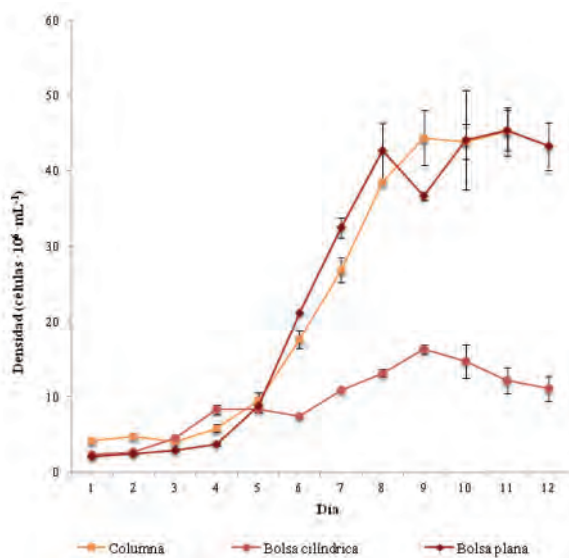


Figura 1.- Evolución de la densidad en los distintos sistemas.

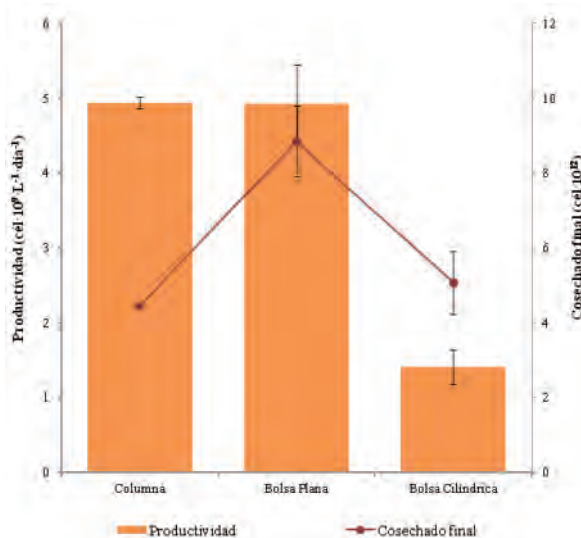


Figura 2.- Productividad y producción total en los sistemas de cultivo.

Discusión

El retraso inicial de 4 días en el crecimiento ya se observó para esta especie en cultivos con luz natural (Molina-Grima *et al.*, 1994; Bergeijk *et al.*, 2003) y se atribuye a la fotoinhibición debida al incremento de la luz en el cultivo a causa de la dilución del inóculo. Sin embargo, tras este período, T-ISO creció con normalidad en todos los sistemas. Las columnas de burbujeo normalmente se utilizan en interior, con luz artificial (Chini-Zittelli *et al.*, 2003; Oncel & Sukan, 2008; Ranjbar *et al.*, 2008) pero, en el presente trabajo, el cultivo con luz natural para T-ISO se muestra posible en este sistema y permite obtener cultivos densos. La densidad alcanzada en la columna de 100 L es similar a la obtenida en cultivos densos de menor volumen en laboratorio (Seixas *et al.*, 2008) aunque el volumen es mucho mayor en la columna, probablemente debido a que el diámetro de los sistemas es similar, igualando la cantidad de luz recibida por célula. De la misma manera, no hay diferencias significativas con la bolsa plana de 200 L, a pesar del incremento de volumen. Obtener una densidad similar en sistemas con volúmenes inferiores y el fracaso productivo de la bolsa cilíndrica pueden ser causados por la menor cantidad de luz disponible por célula, debido a una menor relación superficie/volumen. Varios autores (Qiang & Richmond, 1994; Chini-Zittellin *et al.*, 2003; Zhang & Richmond, 2003) también atribuyen una mayor productividad al incremento de la luz por célula, ya sea por incremento de la iluminación incidente o por reducción del paso de luz del reactor.

La baja productividad de las bolsas cilíndricas de elevado diámetro para el cultivo de microalgas ya es conocida (Tredici, 1999) y sin embargo es un sistema frecuente de cultivo debido a su bajo coste. Esto se debe a que la mayoría de los sistemas de cultivo son caros y de complicado manejo. De hecho, la mayoría de los sistemas planos se elaboran con materiales de precio elevado como metacrilato (Fábregas *et al.*, 2002; Tamburic *et al.*, 2011), frágiles como el vidrio (Zhang & Richmond, 2003) o difíciles de limpiar y de deterioro rápido como el policarbonato. A pesar de esto, los reactores planos, con una elevada relación superficie/volumen son mejor opción que las bolsas tradicionales porque, además del mejor aprovechamiento de la luz, se pueden escalar sin perder productividad, alargando el sistema. Además son los diseños que mejor gestionan la eliminación del O₂, el reparto de nutrientes y la evitación de la sedimentación (Sierra *et al.*, 2008; Grobbelaar, 2009). La bolsa plana de polietileno de 5 cm resultó 3,5 veces más productiva que la cilíndrica, con costes similares de producción y mantenimiento, permite mejorar la productividad *in situ* y por lo tanto reducir los costes de producción de microalga, que para un criadero pueden alcanzar el 33% de los costes totales (Coutteau & Sorgeloos, 1993).

Densidades similares a las obtenidas en la bolsa plana y la columna también se han

conseguido en sistemas abiertos. En un reactor tipo *raceway*, con elevada relación superficie/volumen (Boussiba *et al.*, 1988), se consiguieron $43 \cdot 10^6$ cél·mL⁻¹ en 12 días, con un inóculo similar. Kaplan *et al.* (1986), en miniestanques de 150 L con iluminación natural, consigue una densidad máxima de $50 \cdot 10^6$ cél·mL⁻¹. Sin embargo, a pesar de que en sistemas abiertos también se pueden obtener elevadas productividades, en acuicultura este tipo de producción no es viable en localizaciones con elevada evaporación o riesgo de precipitación, no asegurando además un cultivo fiable a largo plazo, ya que hay mayor riesgo de colapso por predación, competición con otras especies o contaminación bacteriana.

Conclusiones

La bolsa plana de 200 L se presenta como un sistema eficiente y manejable para la obtención de biomasa de *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO cuyo cultivo masivo es altamente productivo. Así mismo, la columna también permite obtener cultivos densos con un mayor control sobre la producción, aunque con mayor coste y dificultad de escalado.

Bibliografía

- Boussiba S., Sandbank E., Shelef G., Cohen Z., Vonshak A., Ben-Amotz A., Arad S., Richmond, A. 1988. Outdoor cultivation of the marine microalga *Isochrysis galbana* in open reactors. *Aquaculture*, 72: 247-253.
- Chini-Zittelli G., Rodolfi L., Tredici, M.R. 2003. Mass cultivation of *Nannochloropsis sp.* in annular reactors. *Journal of Applied Phycology*, 15: 107-114.
- Coutteau P., Sorgeloos P. 1993. Substitute diets for live algae in the intensive rearing of bivalve mollusk-a state of the art report. *World Aquaculture*, 24: 45-52.
- Fábregas J., Maseda A., Domínguez A., Ferreira M., Otero A. 2002. Changes in the cell composition of the marine microalga, *Nannochloropsis gaditana*, during a light : dark cycle. *Biotechnology Letters*. 24: 1699-1703.
- Ferreira M., Fábregas J., Otero A. 2008. Enriching rotifers with "premium" microalgae. *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO. *Aquaculture*. 279: 126-130.
- Grobbelaar J.U. 2009. Factors governing algal growth in photobioreactors: the "open" versus "closed" debate. *Journal of Applied Phycology* 21: 489-492.
- Kaplan D., Cohen Z., Abeliovich A. 1986. Optimal growth conditions for *Isochrysis galbana*,

- Biomass*, 9: 37-48.
- Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14: 217-232.
- Molina Grima E., Pérez J.A.S., Camacho F.G., Sánchez J.L.G., Fernández F.G.A., López Alonso D.L. 1994. Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 37: 159-166.
- Oncel S., Sukan F.V. 2008. Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Artrospira platensis* (*Spirulina platensis*), *Bioresource technology*, 99: 4755-4760.
- Qiang H., Richmond A. 1994. Optimizing the population density in *Isochrysis galbana* grown outdoor in a glass column photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 6: 391-396.
- Ranjbar R., Inoue R., Shiraishi H., Katsuda T., Katoh S. 2008. High efficiency production of astaxanthin by autotrophic cultivation of *Haematococcus pluvialis* in a bubble column photobioreactor. *Biochemical engineering journal*, 39: 575-580.
- Sánchez Mirón A., Cerón García M.C., García Camacho F., Molina Grima E., Chisti Y. 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 1015-1023.
- Seixas P., Rey-Méndez M., Valente L., Otero A. 2008. Producing juvenile Artemia as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture*, 283: 83-91.
- Sierra E., Acien F.G., Fernández J.M., García J.L., González C., Molina E. 2008. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 38: 136-147.
- Tamburic B., Zemichael F.W., Crudge P., Maitland G.C., Hellgardt K. 2011. Design of a novel flat-plate photobioreactor system for green algal hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 6: 6578-6591.
- Tredici M.R. 1999. Photobioreactors. In: Flickinger M.C. and Drew S.W. (eds), *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation*. J. Wiley & Sons, New York, pp. 395-419.
- Van Bergeijk S.A., Salas-Leiton E., Canavate J.P. 2010. Low and variable productivity and low efficiency of mass cultures of the haptophyte *Isochrysis aff. galbana* (T-iso) in outdoor tubular photobioreactors. *Aquacultural Engineering*, 43: 14-23.
- Zhang C., Richmond A. 2003. Sustainable, high-yielding outdoor mass cultures of *Chaetoceros muelleri* var. *subsalsum* and *Isochrysis galbana* in vertical plate reactors. *Marine Biotechnology*, 5: 302-310.



Comparación del crecimiento de *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO en distintos modelos de fotobiorreactor

Cortina-Burgueño, A.¹, Nascimento, P.¹, Freire, I.¹, Acián, F. G.², y Otero, A.¹, e-mail: angela.cortina@usc.es
¹Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela, España
²Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería, España

Las microalgas son la base de la cadena trófica en acuicultura además de una fuente potencial de compuestos de interés biotecnológico y han sido propuestas como la vía más rentable de producción de biodiesel. Por ello es de gran interés desarrollar sistemas de cultivo que permitan alcanzar máxima productividad y abaratar los costes de producción. Aunque últimamente se ha mejorado mucho el diseño y manejo de los fotobiorreactores (FBRs), existen pocos datos comparativos de los distintos modelos en uso para identificar los sistemas más eficientes.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue comparar el crecimiento de la microalga marina *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO en distintos sistemas de cultivo masivo para determinar la eficiencia de cada uno.

Material y métodos

- La microalga marina *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO (CCMP1324) se cultivó en agua de riego a la que se añadió 35 g·L⁻¹ de NaCl, abono Welgro Hidroponic hasta una concentración de nitrógeno de 12 mM y vitaminas tiamina y B₁₂, en una concentración de 140 y 12 µg·L⁻¹.
- Los fotobiorreactores, diseño propio del departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería, se situaron en un invernadero en la EE Las Palmerías, con aireación, control de temperatura para no superar 27°C y mantenimiento de pH en 7,6 por enriquecimiento del aire con CO₂.



Imagen 1. Columnas de 100L y 25 cm de diámetro.



Imagen 2. Sistema de Bolsa plana. Bolsa de polietileno de 200 L y 5 cm de paso de luz



Imagen 3. Bolsa de polietileno de 400 L y 60 cm de diámetro.

Resultados

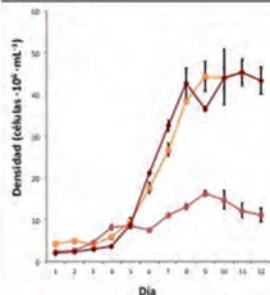


Figura 1. Evolución de la densidad de T-ISO en los distintos sistemas de cultivo.

- A pesar de la diferencia de volumen, no hay diferencias significativas en la densidad máxima alcanzada entre la columna de 100 L (44,50±0,7 células·mL⁻¹) y la bolsa plana de 200 L (44,25±1,07 células·mL⁻¹). La bolsa cilíndrica tan solo alcanzó 12,68±1,9 células·mL⁻¹ probablemente a la menor cantidad de luz disponible debido a una menor relación superficie/volumen.
- Por lo tanto, la productividad de la columna y la bolsa plana también son similares cerca de 5·10⁹ células·L⁻¹·día⁻¹ y son 3,5 veces más productivos que la bolsa cilíndrica.

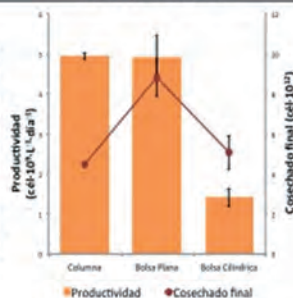


Figura 2. Productividad y producción total en los distintos sistemas de cultivo.

Conclusiones

El sistema Panel-Bolsa se presenta como un sistema eficiente y manejable para la obtención de biomasa de *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO cuyo cultivo masivo en este sistema es altamente productivo.



Conservação de refeições à base de peixe em atmosfera modificada

Araújo^{1*} A., Barbosa^{1,2} C., Alves^{1,2} M.R.

¹Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Avenida do Atlântico, 4900-348 Viana do Castelo, Portugal

*E-mail: alberta@estg.ipv.pt

²REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal

Resumo

No âmbito do projeto “Transformação de Cantinas em Unidades de Produção” desenvolvido na Unidade de Investigação, Desenvolvimento e Inovação em Ciência e Tecnologia Alimentar (UIDICTA) da ESTG em colaboração com os Serviços de Ação Social (SAS) do IPVC foi realizado um estudo, cujo principal objetivo é avaliar o tempo de vida útil e disponibilidade de refeições confeccionadas na cantina central da ESTG e armazenadas em atmosfera modificada (AM). A conservação em AM aumenta o tempo de vida útil dos alimentos, no entanto, é necessário assegurar que as características organolépticas e propriedades físico-químicas se mantêm. A presença de elevada concentração de CO₂ conjugado com a ausência de O₂ pode afetar as propriedades organolépticas e microbiológicas. Neste sentido, foram testadas várias condições de armazenamento em AM variando as percentagens de O₂ e CO₂ de 2 refeições à base de peixe, confeccionadas na cantina da ESTG até um limite máximo de 23 dias.

Palavras-chave

Armazenamento em atmosfera modificada, avaliação sensorial, tempo de vida útil, segurança alimentar.

Introdução

Atualmente a população gasta menos tempo na confecção das suas refeições devido ao ritmo de vida acelerado, dando assim preferência às refeições rápidas, mas procurando preservar simultaneamente a sua qualidade e segurança alimentar do ponto de vista químico e microbiológico, de acordo com Cegielska-Radziejewska *et al.* (2008).

A crescente procura de refeições prontas a comer, conduziu ao aumento de serviços de take-away, incluindo refeições refrigeradas e regeneradas pelo consumidor, de acordo com Foley (2001)

A indústria alimentar tem evoluído no sentido de ir ao encontro das expectativas dos consumidores em produtos alimentares de elevada segurança e qualidade organolética e alimentos prontos a consumir, tentando preservar ao máximo as qualidades originais dos alimentos com a utilização de tecnologias não térmicas, menos nefastas para as propriedades dos alimentos, de acordo com Chen (2003), Chen (2003) e Murcia *et al.* (2003).

Há assim necessidade de desenvolver novas técnicas para manter as qualidades naturais de alimentos confeccionados sem adição de preservativos químicos. Tudo isto requer a combinação de matérias-primas de elevada qualidade, rastreabilidade dos alimentos pela na implementação de sistemas integrados desde a produção ao consumo, de acordo com Chen (2003), Chen (2003), Murcia *et al.* (2003), Corbo *et al.* (2008).

Na preservação dos alimentos as barreiras mais importantes são temperatura, atividade da água, acidez (pH) e microrganismos competitivos (bactérias lácticas). Podem ser ainda combinadas várias barreiras para aumentar a qualidade total dos alimentos, estabilidade microbiológica e qualidade sensorial dos alimentos, assim como manter as suas propriedades nutricionais, de acordo com Leistner (2000).

A utilização de temperaturas de refrigeração diminui o crescimento microbiano mas não é suficiente para controlar a proliferação microbiana e aumentar o tempo de vida das refeições.

Apesar do armazenamento em refrigeração reduzir a taxa de crescimento da população microbiana, alguns microrganismos tais como *Listeria monocytogenes* são capazes de se multiplicar às temperaturas de refrigeração, de acordo com Foley (2001).

Para preservar a qualidade das refeições de 5ª gama, as baixas temperaturas podem ser combinadas com a embalagem em vácuo ou atmosfera modificada, aumentando assim o tempo de conservação (superiores a 1 semana), de acordo com Leistner (2000); Corbo *et al.* (2008), Chen *et al.* (2003).

Este estudo tem como objetivo determinar o efeito da EAM nas propriedades organolépticas (percepção de defeitos), pH e crescimento microbiano de 2 refeições confeccionadas à base de peixe.

Materiais e métodos

As refeições inseridas neste estudo foram: solha gratinada e bacalhau assado, confeccionadas na cantina da ESTG. As condições de armazenamento em AM foram: 10/60; 10/80; 5/80 O₂/CO₂ (v/v), vácuo, refrigeração normal e congelação.

A evolução das propriedades organolépticas foi avaliada em sessões de prova, no início do estudo, aos 6º, 13º, 20º e 27º dias de conservação e consistiu numa análise descritiva quantitativa (ADQ) cujos atributos, previamente definidos, foram: cor, brilho, aroma típico, textura, sabor típico entre outros, avaliados numa escala de 9 pontos. A avaliação sensorial foi efectuada por um painel de 9 provadores. Para correlacionar as respostas dos provadores com as diferentes condições de armazenamento ao longo do tempo, recorreu-se a uma análise de componentes principais (ACP) e a uma análise de variáveis canónicas (AVC), utilizando o *software Statistica for Windows* (versão 7). Uma vez por semana, foram avaliados os parâmetros microbiológicos (contagem de microrganismos totais em 72 h pela ISO 4833:2003), *Clostridium perfringens*, *Enterobacteriaceae*, *Estafilococos coagulase positiva*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, variação dos gases no interior da embalagem.

Resultados

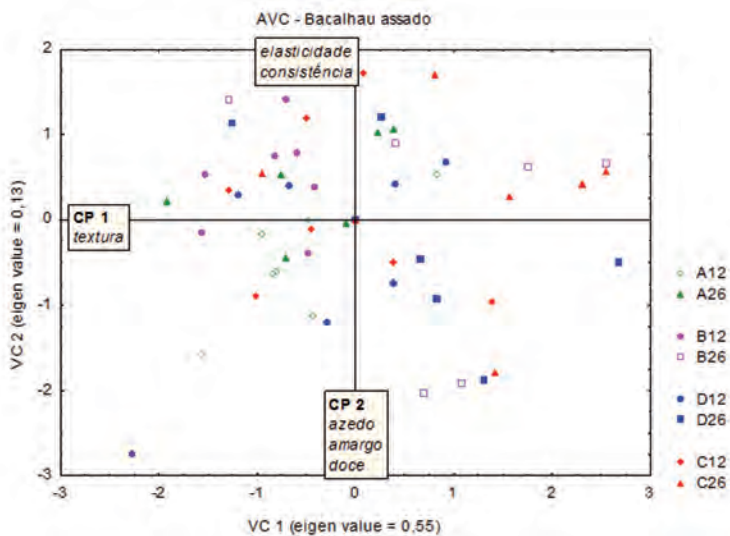


Figura 1. - Análise de variáveis canônicas de bacalhau assado.

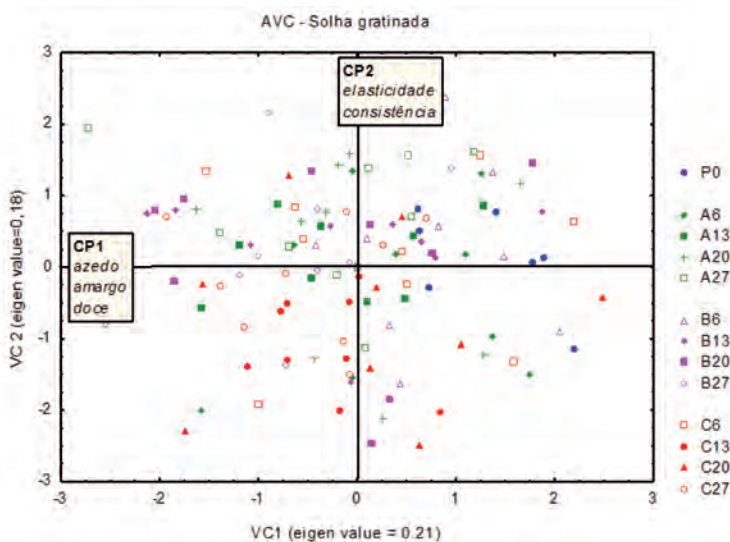


Figura 2. -Análise de variáveis canônicas de solha gratinada.

Tabela I - Evolução do nº de microorganismos viáveis totais no bacalhau assado para as diferentes condições de conservação ao longo de 26 dias.

Bacalhau	Dias	UFC/g	Bacalhau	Dias	UFC/g
10/60 O ₂ /CO ₂	5	< 10	5/80 O ₂ /CO ₂	5	< 10
	12	< 10		12	20
	19	< 10		19	< 10
	26	< 10		26	< 10
10/80 O ₂ /CO ₂	5	10	Congelado	5	< 10
	12	< 10		12	< 10
	19	< 10		19	< 10
	26	< 10		26	70

Discussão

A análise discriminativa realizada revela que os provadores não detetam diferenças estatisticamente significativas, em ambos os casos de estudo. No caso de bacalhau assado *Wilk's Lambda* = 0,523 ($p = 0,286$) e na solha gratinada *Wilk's Lambda* = 0,646 ($p = 0,298$). Esta análise permite concluir que, globalmente, não há diferenças entre grupos. Facto visível na AVC representada nas figuras. Pois em nenhuma das dimensões se verifica discriminação de grupos, apresentando valores próprios muito inferiores a 1 (eigen values). Os resultados microbiológicos demonstram que as refeições armazenadas em atmosfera com elevada percentagem de CO₂ apresentam eficiente conservação, devido ao efeito inibidor/ação antimicrobiana deste gás, no desenvolvimento de alguns microorganismos (aeróbios).

Conclusões

Os resultados microbiológicos apresentam valores abaixo do limite legal, mesmo para 26 dias de conservação, indicando que o tempo de vida útil destas refeições pode ser prolongado até pelo menos 20 dias, mantendo a segurança microbiológica dos alimentos próprios para consumo. Do mesmo modo, a avaliação sensorial, revela que as diferentes formas de conservação estudadas são eficientes, uma vez que o painel de provadores se apresentou relativamente confuso. Na sua avaliação não conseguiu discriminar diferenças devido à semelhança entre as amostras que lhes foram apresentadas. O que é indicativo da manutenção das propriedades organolépticas das amostras conservadas pelos diferentes métodos ao longo do tempo deste estudo.

Assim, é possível adotar novas técnicas de confeção e conservação, sem alterar as propriedades organoléticas dos alimentos, aumentando ao mesmo tempo a oferta variada de refeições servidas e respetivo controlo em unidades de restauração.

Bibliografia

- Cegielska-Radziejewska R. *et al.*, 2008. Quality and shelf life of chilled, pretreated map poultry meat products. *Bulletin of the veterinary Institute in Pulawy*, 52-4: 603-609.
- Chen C.R., Ramaswamy H.S. 2003. Analysis of critical control points in deviant thermal processes using artificial neural networks. *Journal of Food Engineering*, 57-3: 225-235.
- Chen S.C. *et al.*, 2003. Inhibition of microbial growth in ready-to-eat food stored at ambient temperature by modified atmosphere packaging. *Packaging Technology and Science*, 16-6: 239-247.
- Corbo M.R. *et al.*, 2008. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality delay of packed fish hamburger. *International Journal of Food Microbiology*, 127-3: 261-267.
- Foley D.M. *et al.*, 2001. Elimination of *Listeria monocytogenes* and changes in physical and sensory qualities of a prepared meal following gamma irradiation. *Food microbiology*, 18-2: 193-204.
- Leistner L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of food microbiology*, 55-1,3: 181-186.
- Murcia M.A. *et al.*, 2003. Extending the shelf-life and proximate composition stability of ready to eat foods in vacuum or modified atmosphere packaging. *Food microbiology*, 20-6: 671-679.

CONSERVAÇÃO DE REFEIÇÕES À BASE DE PEIXE EM ATMOSFERA MODIFICADA



Araújo, Alberta¹, C. Barbosa^{1,2}, M. R. Alves^{1,2}

¹ Escola Superior de Tecnologias e Gestão
Instituto Politécnico de Viana do Castelo
Avenida do Atlântico
4900-348 Viana do Castelo
Portugal

² REQUIMTE
Departamento de Ciências Químicas
Faculdade de Farmácia
Universidade do Porto
Portugal

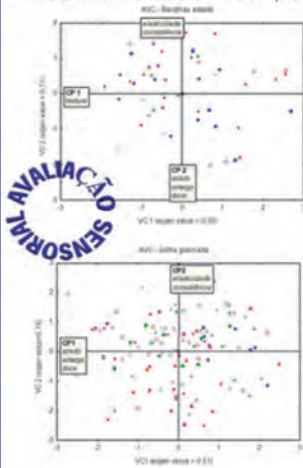
SUMÁRIO

No âmbito do projecto "Transformação de Cantinas em Unidades de Produção" desenvolvido na *Unidade de Investigação, Desenvolvimento e Inovação em Ciência e Tecnologia Alimentar (UIDGITA)* da ESTG em colaboração com os *Serviços de Acção Social (SAS)* do IPVC foi realizado um estudo, cujo principal objectivo é avaliar o tempo de vida útil e disponibilidade de refeições confeccionadas na cantina central da ESTG e armazenadas em atmosfera modificada (AM). A conservação em AM aumenta o tempo de vida útil dos alimentos, no entanto, é necessário assegurar que as características organolépticas e propriedades físico-químicas se mantêm. A presença de elevada concentração de CO₂ conjugado com a ausência de O₂ pode afectar as propriedades organolépticas e microbiológicas. Neste sentido, foram testadas várias condições de armazenamento em AM variando as percentagens de O₂ e CO₂ de 2 refeições à base de peixe, confeccionadas na cantina da ESTG.

MATERIAIS E MÉTODOS



As refeições inseridas neste estudo foram: solha gratinada (S) e bacalhau assado (B). A evolução das propriedades organolépticas foi avaliada em sessões de prova, no início do estudo, aos 6^o, 13^o, 20^o e 27^o dias de conservação e consistiu numa análise descritiva quantitativa (ADQ) cujos atributos, previamente definidos, foram: cor, brilho, aroma típico, textura, sabor típico entre outros, avaliados numa escala de 9 pontos. Para correlacionar as respostas dos provadores com as diferentes condições de armazenamento ao longo do tempo, recorreu-se a uma análise de componentes principais (ACP) e a uma análise de variáveis canónicas (AVC), utilizando o software *Statistica* for Windows (versão 7).



A análise discriminativa realizada revela que os provadores não detectam diferenças estatisticamente significativas, em ambos os casos de estudo:

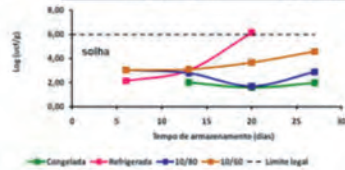
- Bacalhau assado
Wilks's Lambda = 0,523 (p = 0,285)
- Solha gratinada
Wilks's Lambda = 0,646 (p = 0,298)

Esta análise permite concluir que, globalmente, não há diferenças entre grupos. Facto visível na AVC representada nas figuras. Pois, em nenhuma das dimensões se verifica discriminação de grupos, apresentando valores próprios muito inferiores a 1 (eigen values).

- Legenda:
- A - 10% O₂, 80% CO₂ (viv)
 - B - 10% O₂, 80% CO₂ (viv)
 - D - 5% O₂, 80% CO₂ (viv)
 - C - congelado
 - P (produto avaliado no início do estudo)

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Bacalhau	Dias	UFC/g	Bacalhau	Dias	UFC/g
60 O ₂ /CO ₂	5	<10	5/80 O ₂ /CO ₂	5	<10
	12	<10		12	20
	19	<10		19	<10
	25	<10		26	<10
20 O ₂ /CO ₂	5	10	Congelado	5	<10
	12	<10		12	<10
	19	<10		19	<10
	25	<10		26	70



Evolução do número de microrganismos viáveis totais na solha gratinada e bacalhau assado embaladas em AM refrigerada e congelada ao longo do tempo de conservação de 27 e 26 dias, respectivamente.

Os resultados demonstram que as refeições armazenadas em atmosfera com elevada percentagem de CO₂ apresentam eficiente conservação, devido ao efeito inibitório antimicrobiano deste gás, no desenvolvimento de alguns microrganismos (aeróbios).

CONCLUSÕES

Os resultados microbiológicos apresentam valores abaixo do limite legal, mesmo para 26 dias de conservação, indicando que o tempo de vida útil destas refeições pode ser prolongado até pelo menos 20 dias, mantendo a segurança microbiológica dos alimentos próprios para consumo. Do mesmo modo, a avaliação sensorial, revela que as diferentes formas de conservação estudadas são eficientes, uma vez que o painel de provadores se apresentou relativamente confuso. Na sua avaliação não conseguiu discriminar diferenças devido à semelhança entre as amostras que lhes foram apresentadas. O que é indicativo da manutenção das propriedades organolépticas das amostras conservadas pelos diferentes métodos ao longo do tempo deste estudo.

Assim, é possível adoptar novas técnicas de confeção e conservação, sem alterar as propriedades organolépticas dos alimentos, aumentando ao mesmo tempo a oferta variada de refeições servidas e respectivo controlo em unidades de restauração.

Constructed Wetlands for freshwater and saline aquaculture wastewater treatment: a microcosm experience

Jesus^{1*} J.M., Borges² M.T., Calheiros³ C., Castro³ P.M.L.

¹Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal. *E-mail: JoaoJesusCTA@hotmail.com

²CIIMAR and Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal.

³School of Biotechnology (Porto), Portuguese Catholic University, Portugal.

Abstract

The aquaculture industry discharges large volumes of nutrient rich wastewater, contributing to eutrophication events. Recent culture intensification methodologies such as recirculation (RAS) and shallow raceway (SRS) systems discharge wastewater with even higher nutrient concentrations, though at lower volumes (Rana *et al.*, 2005). Hence, effluent treatment options are of vital importance. Constructed wetlands (CWs) are a possible but underexplored treatment solution even for high salinity situations (Lybery *et al.*, 2006) consisting of planted shallow channels, relying upon biological, physical and chemical processes to treat wastewater (EPA, 2000). Therefore, this study aims to extend the knowledge on the possible use of CWs for aquaculture wastewater treatment, either fresh or saline.

To fulfill this goal, several microcosms were created simulating subsurface systems with HRT = 7 days and planted with *Typha latifolia*. Substrate used was expanded clay 8 – 12.5 mm Ø. Macrophyte survival, growth, and nutrient removal (phosphate, nitrite, nitrate and ammonia) were assessed over a period of 4 weeks. Freshwater (simulated) and saline (real) fish farm effluents (recirculation SRS, 2.4% salinity) were tested.

Results showed that plants adapted better to freshwater conditions exhibiting higher growth rate. Plants at 2.4% salinity did not growth in height after 2 weeks, but survival remained high.

The microcosm wetland system was able to treat the effluent by removing 61%, 78% and 98% of NH_4 , NO_2 and PO_4 , respectively, in fresh water, and 94%; 78%, 34% and 100% of NH_4 , NO_2 , NO_3 and PO_4 , respectively, in saline wastewater. An improvement of removal with time was observed, suggesting the existence of a system adaptation period. The microcosm treatment was able to reduce nutrient concentrations to legally acceptable values. Hence, constructed wetlands can be an adequate solution for aquaculture effluent treatment. Further studies are necessary, however, to achieve a better adaptation of the plant used to salinity.

Keywords

Constructed wetland, phytoremediation, aquaculture wastewater, seawater.

Introduction

Aquaculture activity produces wastewater with increasing nutrient loadings due to new intensification practices, putting environmental pressure in the vicinity of the culture farms. This discharge contributes to the degradation of receiving waters, becoming a problem that needs to be addressed. Intensive culture methods, such as recirculation (RAS) and shallow raceways (SRS), increase effluent nutrient concentrations (Rana *et al.*, 2005). However, the unique characteristics of aquaculture wastewaters make their treatment costly and energy intensive. Constructed wetlands are a possible but not much explored treatment solution even for high saline wastewater (Lymbery *et al.*, 2006), consisting of planted shallow channels with aquatic plants, relying upon biological, physical and chemical processes to treat wastewater (EPA, 2000).

The choice of plant is extremely important and must fit a vast list of case-specific criteria, like being native, perennial, flood resistant and able to withstand possible toxic effects of the wastewater (of which salinity is an example). Some macrophytes commonly used in CWs are *Typha latifolia* and *Phragmites australis*, both considered halotolerant (Crites *et al.*, 2006).

Substrate is equally important as it provides support to the root system of the plants, promotes the establishment of microbial biofilms, and physically adsorbs nutrients (mainly phosphorous). Expanded clay is an inexpensive, non-toxic substrate with high hydraulic conductivity, largely employed in CWs (Calheiros *et al.*, 2009).

This study aims to provide insights to key question marks regarding the use of constructed wetlands to treat freshwater or saline intensive aquaculture wastewater.

Materials and methods

Microcosms were set up indoors, in a naturally well illuminated location, using transparent polypropylene plastic containers with an approximate area of 0.1 m² and total volume 10.5 L. The substrate used was expanded clay 8-12.5 mm planted with *T. latifolia* at a density of 30 m⁻².

Two sets of microcosms were used in triplicate. The first set was irrigated (HRT = 7 days) with a simulated freshwater aquaculture effluent with initial nutrient concentrations of 0.44 ± 0.11 ; 3.14 ± 0.09 ; 0.36 ± 0.01 ; 1.18 ± 0.06 mg L⁻¹ of ammonia (N-NH₄⁺), nitrate (N-NO₃⁻), nitrite (N-NO₂⁻) and phosphate (P-PO₄³⁻), respectively, as well as several trace elements. The second set of microcosms were planted and irrigated (HRT = 7 days) with aquaculture wastewater from a RAS-SRS aquaculture facility with the following main characteristics: 0.25 ± 0.13 ; 18.83 ± 8.93 ; 0.78 ± 0.62 ; 1.41 ± 0.21 mg L⁻¹ of ammonia (N-NH₄⁺), nitrate (N-NO₃⁻), nitrite (N-NO₂⁻) and phosphate (P-PO₄³⁻), respectively, as well as a salinity $2.43 \pm 0.10\%$. Samples were collected weekly and analyzed for a period of 4 weeks. Macrophyte survival, growth, and nutrient removal (phosphate, nitrite, nitrate and ammonia) were assessed.

Results

Throughout the 4 week experimental period temperature and humidity did not fluctuate greatly and mean values of 23.1 ± 4.7 °C (n=22) and $51.7 \pm 8.2\%$ (n=22), respectively, were observed. Plants were better adapted to freshwater conditions, as expected, with the highest maximum growth values (65 cm after 4 weeks, compared to the 6.5 cm for saline conditions). Plants at high salinity did not growth in height after 2 weeks but revealed high survival rate (close to freshwater specimens) and remained green.

Nutrient concentrations were monitored weekly (except for nitrates in freshwater due to chemical interferences in the technique used) and average nutrient removal percentages were calculated based on the acquired data (Fig. 1).

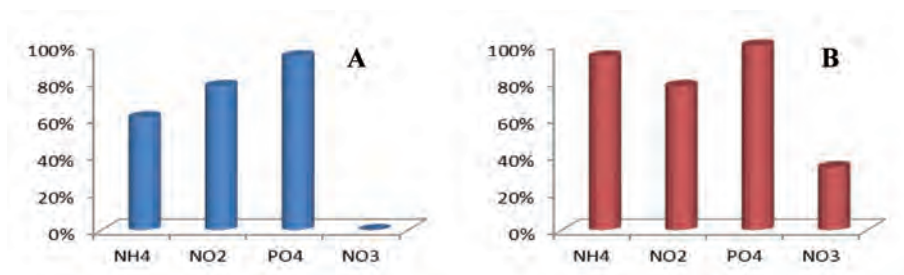


Figure 1.- Nutrient removal (%) in microcosms planted with *T. latifolia* and irrigated with aquaculture effluents from a simulated fresh water system (A: NO₃ not determined) and a saline aquaculture system (B: 2.4% salinity).

Removal rates were similar in both fresh and saline aquaculture wastewater microcosms, with the exception of a slightly higher ammonia removal in saline water. Nitrate removal was low, possibly due to its high initial concentration. PO₄ increased over time, reaching close to 100% removal.

Discussion

Regarding *Typha latifolia* growth, there are several aspects to take into account when assessing plant performance in either fresh or saline water. One of the most important factors can be related to the nutrient composition of the effluents used, which are slightly different, in particular regarding nitrate concentrations, reflecting their different origin. High nitrate and low ammonia concentrations can limit *Typha latifolia* growth (Brix *et al.*, 2002). As for salinity tolerance, our results are consistent with the adaptation strategy of the plant to high salinity, known to remain viable even at very high salinities but with growth inhibition, resuming its growth, at a very high rate, when there are surplus of either nutrients or fresh-water. Still, maximum acceptable values for *Typha latifolia* tolerance are not yet settled in the literature and the results of this study can extend the knowledge on this particular subject.

Concerning nutrient removal rates an adaptation period of 2 to 3 weeks seems to be needed in simulated CWs to enable nitrification, also confirmed in other studies (Calheiros *et al.*, 2009). Substrate is probably the biggest responsible for the elevated phosphate removal observed (Albuquerque *et al.*, 2009). The tested treatment enables nutrient concentration reduction to legal values in accordance with Portuguese laws (D-L n° 348/98 and D-L n° 152/97)

Conclusions

Constructed wetlands can be an adequate solution for aquaculture effluent treatment, achieving nutrient removals able to meet legal standards for discharge wastewater. However, further studies with longer durations are needed for full scale applications.

Acknowledgments

The authors would like to thank the commercial fish farm for providing effluents as well as Câmara do Porto for providing plant specimens.

References

- Albuquerque A., Oliveira J., Semitela S., Amaral L. 2009. Influence of bed media characteristics on ammonia and nitrate removal in shallow horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 100: 6269-6277.
- Brix H., Dyhr-Jensen K., Lorenzen B. 2002. Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *Journal of Experimental Botany* 53: 2441-2450.
- Calheiros C.S.C., Rangel A.O.S.S., Castro P.M.L. 2009. Treatment of industrial wastewater with two-stage constructed wetlands planted with *Typha latifolia* and *Phragmites australis*. *Bioresource Technology* 100: 3205-3213.
- Crites R.W., Gunther D.C., Pelz J.D., Tchobanoglous G. 1988. Constructed Wetlands and Aquatic Plant Systems for Municipal Wastewater Treatment. U.S. Environmental Protection Agency Office of Research and Development 1, 20-35.
- Decreto-Lei nº 348/98, de 9 de Novembro de 1998 “D.R. Série A” (9-11-1998)
- Decreto-Lei nº 152/97, de 19 de Junho de 1997 “D.R. Série A” (2959)
- EPA – Environmental Protection Agency, (2000), Constructed wetlands treatments of Municipal Wastewaters - National Risk Management Research Laboratory Office of research and Development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio 45268

- Lombardi T., Fochetti T., Bertacchi A., Onnis A. 1997. Germination requirements in a population of *Typha latifolia*. *Aquatic Botany* 56: 1-10.
- Lymbery A.J., Doupé R.G., Bennett T., Starcevich M.R. 2006. Efficacy of a subsurface-flow wetland using the estuarine sedge *Juncus kraussii* to treat effluent from inland saline aquaculture. *Aquaculture Engineering* 34: 1-7.
- Rana K.J. 2005. Regional review on aquaculture development. 6. Western-European region, Institute of Aquaculture, Stirling, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland.

Constructed Wetlands for freshwater and saline aquaculture wastewater treatment – a microcosm experience

U. PORTO



J. M. Jesus¹, M-T Borges², C. Calheiros³ and PML Castro²
¹Master in Environmental Science and Technology, Faculty of Sciences, University of Porto
²CIMAR and Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto
³School of Biotechnology (Oporto), Portuguese Catholic University, Portugal



Introduction & Aims

Aquaculture is a source of wastewater with variable nutrient loading and volume. Culture intensification methods, such as recirculation (RAS) and shallow raceways (SRS), increase effluent nutrient concentrations [1]. Constructed wetlands are a possible, yet generally underexplored treatment solution, even under high salinity [2], consisting of shallow channels planted with aquatic plants, relying upon biological, physical and chemical processes to treat wastewater [3]. This study aims to provide insights to key question marks regarding the use of constructed wetlands to treat freshwater or saline intensive aquaculture wastewater.

Materials & Methods

Microcosms, simulating VSS systems with HRT = 7 days, were created and planted with non acclimated *Typha latifolia* collected in Oporto, Portugal. Substrate used was expanded clay 8 - 12.5 mm Ø. Macrophyte survival, growth, and nutrient removal (phosphate, nitrite, nitrate and ammonia) were assessed. Freshwater (simulated) and saline fish farm effluents (recirculation shallow raceway system, 2.4% salinity) were tested.

Freshwater



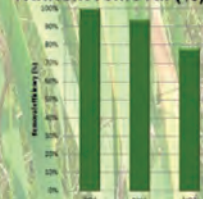
Nutrient removal (%)



Saltwater



Nutrient removal (%)



Results & Discussion

•It was observed an improvement in the capacity of treatment over time, suggesting an adaptation period of 2 weeks.

•The plants had a very high survival rate (94%) but complete growth inhibition was observed after 2 weeks in saline effluent.

•Good removal rate was observed in both systems tested for all the nutrients, except nitrates, as conditions in the microcosms were not ideal for denitrification to occur.

•Obtained final nutrient levels conform with Portuguese effluent discharge legislation.

Conclusions

Constructed wetlands can be an adequate solution for aquaculture effluent treatment and further studies with longer durations are needed for full scale applications.

Acknowledgments

Commercial fish farm for providing effluents
 Câmara do Porto for providing plant specimens

References

- [1] Egan, K. J. (2005). Regional criteria on a quantification des risques à l'intérieur d'Europe et en région, Institute of Aquaculture, Dublin, Dublin Kingdom of Great Britain and Northern Ireland.
- [2] Lindberg, A., Borges, M., Borges, T., Beirão, M. (2014). "Effect of a submerged-flow wetland using the emergent sedge *Aizoon arvense* to treat effluent from inland saline aquaculture." *Aquacultural Engineering* 58(2): 3-11.
- [3] EPA - Environmental Protection Agency, (2002). "Constructed wetlands to treat municipal wastewater"

Consumo de água e geração de resíduos na preparação de corvina (*Argyrosomus regius*)

Lourenço¹ M.S., Nunes² M.L., Costa³ S.R.R., Xavier⁴ L.S., Peixoto⁴ J.A.A., Chaguri⁵ M.P., Sant'Ana⁵ L.S.

¹UFF- Universidade Federal Fluminense – Faculdade de Nutrição – RJ/Brasil

²IPIMAR - Instituto Investigação das Pescas e do Mar – Lisboa/Portugal

³UFRRJ -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Ciência e Tecnologia de Alimentos – RJ/Brasil.

⁴CEFET/RJ – Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – RJ/Brasil

⁵UNESP- Centro de Aquacultura – Jaboticabal/Brasil. Email: mariastelasol@gmail.com

Resumo

A problemática da geração e destino final dos resíduos tem aumentado significativamente e deve ser tratada de forma global. A produção, transformação e preparação de alimentos exigem grande quantidade de recursos naturais e, conseqüentemente, geram diversos tipos de resíduos. Neste contexto, o processo de transformação de matérias-primas, efectuado pelas empresas e indústrias pode contribuir para o aumento do impacto ambiental. A indústria de alimentos produz uma série de resíduos com possibilidade de reutilização, sendo que os mesmos necessitam de destino adequado, pois além de criarem potenciais problemas ambientais, representam perdas de matérias-primas e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para o controlo da poluição. O objectivo deste estudo foi analisar e quantificar o consumo de água e inventariar os efluentes e os resíduos gerados desde a captura da corvina (*Argyrosomus regius*) de aquacultura até a filetagem. O abate foi feito por hipotermia (mistura de água do mar e gelo; 1/1), usando uma relação peixe/mistura de água e gelo de cerca de 1:3. Assim, por cada 100 kg de peixe abatido obtém-se cerca de 300 L de

efluente ao qual há também que acrescentar cerca de 200 L de águas de lavagem do tanque de abate, num total de 500 L. O rendimento dos filetes foi de aproximadamente 32,5%, sendo que os resíduos gerados nesta operação incluíam cabeças (29%), brânquias (3,5%), pele (7,5%), vísceras (4,5%), nadadeiras (3%), escamas (2%) e carcaças (18%). Nas operações de lavagem dos filetes e do equipamento associado à sua preparação foi gerada uma quantidade de efluente de cerca de 2 L/kg corvina. Este estudo, ainda que preliminar, proporciona uma reflexão sobre a utilização de pescado de aquacultura e sobre o controle ambiental do processo. Deste modo, considera-se indispensável criar estratégias que permitam o aproveitamento de subprodutos, a monitorização do consumo de água bem como a inventariação de efluentes e a sugestão de tratamento adequado.

Palavras-chave

Água, efluentes, corvinas, resíduos.

Introdução

O desempenho ambiental de produtos, incluindo seus processos produtivos e serviços relacionados, vem tornando-se uma questão de importância cada vez maior, pelo que a investigação sobre o consumo de recursos naturais e a geração de resíduos advindos dos processos deve ser contemplada nos diversos segmentos da sociedade. Com esta premissa, a adoção de estratégias para minimizar este quadro seria a gestão adequada destes recursos, como também os processos de transformação de matérias-primas que podem causar danos ao meio ambiente e a saúde humana.

O Relatório de *Brundtland* destaca a preocupação mundial quanto à preservação dos recursos naturais e ambientais, e a busca através do Desenvolvimento Sustentável que é um processo de mudanças no qual: “a exploração de recursos, o direcionamento de investimentos e a orientação do desenvolvimento tecnológico e institucional, atuem em maior harmonia e aumentem o potencial atual e futuro de satisfazer as necessidades e aspirações das populações humanas” (WCED, 1987). A preocupação ecológica tem apresentado destaque significativo, com isso tem-se exigido das empresas um novo posicionamento de sua interação com o meio ambiente (Andrade *et al.*, 2002).

A água que tecnicamente é um recurso renovável apresenta sinais inequívocos de deterioração em quase todo o planeta. A quantidade e a qualidade dos recursos hídricos apresentam prognósticos alarmantes, sendo considerado que a água será o recurso mais escasso do século XXI e provavelmente será a causa de muitos conflitos (BARBIERI, 2006). O consumo de água é variável de acordo com o tipo de indústria, as técnicas, os processos e equipamentos usados nas etapas de processamento, nos sistemas de tratamento, com as recirculações e reaproveitamentos internos (Azevedo Neto, 1998).

Segundo Seiffert (2010), um dos focos do controlo operacional é a prevenção da poluição através da gestão de resíduos. Destaca que a produção de resíduos significa desperdício de matérias-primas e insumos, sendo um indicativo de falhas no projeto do produto ou no processo de produção. Para eliminar estas falhas, podem ser usados os mesmos princípios básicos dos programas de qualidade com o objetivo de utilizar os insumos com eficiência. O sector de serviços apresenta uma variedade de aspectos ambientais que, devido à atividade exercida, podem se transformar em menores ou maiores impactos ambientais, pois os usuários consomem diariamente uma grande quantidade de recursos como água e energia, como também geram resíduos sólidos e efluentes (Vilela Júnior e Demajorovic, 2006). Segundo Lin *et al.* (2009), a produção de alimentos e geração de resíduos afetam diretamente os recursos, como a energia e a água, sendo que muitas vezes contaminam o meio ambiente.

A aquacultura é a criação ou cultura de organismos aquáticos que aplica técnicas concebidas para aumentar, além das capacidades naturais do meio, a produção dos organismos em questão, durante toda a fase de criação ou cultura, inclusive até a sua colheita (Portugal, 2009).

O objectivo da política portuguesa das pescas em relação à aquacultura é aumentar a produção e a diversidade de produtos, como também melhorar a qualidade do produto para melhorar a competitividade do sector (FAO, 2011). A Estatística das Pescas na produção nacional de peixes marinhos em aquacultura em Portugal no ano de 2008 foi de aproximadamente 3.134 toneladas (Portugal, 2011a). A aquacultura se desenvolvida e gerida de forma adequada, pode tornar-se uma indústria sustentável, complementando o fornecimento da pesca (FAO, 2010).

Segundo a Comissão Européia (2002), uma gota de uma substância perigosa pode poluir milhares de líquidos de água e a poluição causada poderá permanecer durante gerações nas águas subterrâneas destinadas ao consumo humano. As indústrias, inicialmente deverão analisar as atividades que demandam baixo custo de investimento, através de programas de conservação e otimização do uso de água. Este programa envolve a avaliação dos processos e rotinas industriais, identificação dos setores que utilizam água, identificação de perdas e

vazamentos, verificação dos sectores que possam reduzir o consumo de água e geração de efluentes, eliminação de desperdícios, mudanças de procedimentos operacionais e alteração do método de produção. Posteriormente, a esta estratégia é importante a inclusão de medidas que utilizam a prática de reuso de água e efluentes (Mierzwa e Hespanhol, 2005).

Com este argumento, o objectivo deste estudo foi analisar a gestão ambiental com enfoque na quantificação do consumo de água desde a captura da corvina (*Argyrosomus regius*) de aquacultura até a filetagem, bem como a inventariação dos efluentes e resíduos gerados.

Material e métodos

A presente pesquisa é considerada como estudo de caso numa produção de corvinas em Aquicultura localizada na região do Algarve. Segundo Gil (2002), o estudo de caso é o estudo de um ou de poucos objectos, de modo a permitir um conhecimento sobre o fato ao qual eles fazem parte. Esse método se caracteriza na idéia de que a análise de uma unidade de determinado universo possibilita a compreensão da generalidade do mesmo, porém existe uma limitação devido à generalização dos resultados obtidos através do estudo. Porém sendo uma pesquisa exploratória, Gil (2002) destaca que representa um estudo preliminar que visa obter maior conhecimento sobre o fenómeno que se pretende investigar e assim limitando-se a definir objectivos e buscar informações acerca de determinado assunto. A pesquisa exploratória refere-se ao aspecto empírico sobre a gestão ambiental na produção de corvinas na aquíicultura estudada.

O estudo foi pautado no consumo de água e geração de efluentes no processo produtivo de 100 kg de corvinas, contemplando desde a captura dos peixes (Aquicultura), no abate, nas operações de preparação das corvinas, na filetagem e lavagem dos filetes e do material/equipamento utilizado, bem como a geração de resíduos na preparação e filetagem das corvinas estudadas. Ressalta-se que a estratégia de investigação no processo produtivo do abate foi feito por hipotermia (mistura de água do mar e gelo: 1/1), usando uma relação peixe/mistura de água e gelo de cerca de 1:3. A corvina foi depois mantida em gelo por um período de 24 horas, posteriormente foram separados e quantificados os resíduos gerados, tendo-se considerado no estudo: escamas, peles, cabeças, brânquias, vísceras, nadadeiras e carcaças e de seguida as corvinas foram filetadas manualmente, e assim obteve-se o rendimento dos filetes.

Resultados

No abate, o consumo de água foi referente à utilização de gelo (150 kg), como também foram usados 150 litros de água do mar, assim foram gerados 300 litros de efluentes nesta etapa do processo. Posteriormente se utilizou aproximadamente 200 litros de água na limpeza do tanque em que houve o abate das corvinas.

Nas operações de preparação das corvinas, filetagem e lavagem dos filetes e do material/equipamento, o consumo de água foi de 150 litros e 50 kg de gelo e foram gerados 200 litros de efluentes, ou seja, de cerca de 2 L/kg corvina.

Ressalta-se que os efluentes gerados não têm nenhum tipo de tratamento.

Na preparação e filetagem das corvinas, os resíduos produzidos estão descritos na figura 1. O rendimento de 100 kg de corvinas em filetes foi de aproximadamente 32,5%.

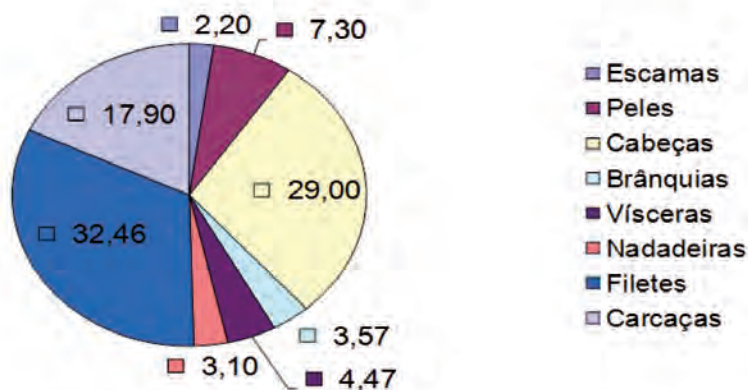


Figura 1.- Resíduos da corvina (%) estudada. Fonte: Autores (2011).

De acordo com o exposto, torna-se necessário um estudo sobre a viabilidade do manejo dos referidos resíduos das corvinas, e assim utilizar uma estratégia para minimizar o possível impacto ambiental. Destaca-se que o Decreto-Lei nº 73/2011 do Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, o governo português considera prioritário reforçar a prevenção

da produção de resíduos e fomentar a sua reutilização e reciclagem com o intuito de prolongar o seu uso na economia antes da sua devolução em condições adequadas ao ambiente, como também promover o total aproveitamento de novo mercado organizado de resíduos e assim consolidar a valorização dos mesmos com vantagens do ponto de vista económico (Portugal, 2011b).

Discussão

Nesta pesquisa, verificou que não é realizada a monitorização e controlo do consumo de água e geração de efluentes, bem como não é realizado o aproveitamento dos resíduos das corvinas. Spear (2011) destaca que a água está cada vez mais se tornando um sério risco para empresas devido ao problema de acesso que está crescendo, muitas citam a água como prioridade na sustentabilidade do processo, mas muitas vezes ficam aquém do que comunicam em dados. No entanto, a indústria de alimentos e bebidas tem sido ativa neste espaço, porque a água é parte integrante de seus negócios na maioria dos aspectos da cadeia de suprimentos.

A descarga de efluentes de empreendimentos aquícolas ricos em nutrientes pode causar a eutrofização e outros efeitos deletérios nos corpos d'água receptores (Konnerup *et al.* (2011)).

Segundo Visvanathan (2007), o consumo de água na produção de peixes inclui o armazenamento e transporte de peixes, limpeza, refrigeração, congelação e limpeza de equipamentos e área física, e a origem dos efluentes no processamento de peixes inclui a manipulação e o armazenamento de peixes crus antes do processamento, o descongelamento, a evisceração, descamação, porcionamento e filetagem do peixe e a lavagem de todo o processo da pesca. Para UNEP (2000), nas fábricas de processamento de pescado, o processo de filetagem e embalagem consomem grande quantidade de água e a maior parte da água consumida torna-se efluente, pois uma característica da transformação de pescado tem uma influência sobre as cargas de efluentes devido a sua natureza altamente perecível, pois se deteriora com o tempo e o rendimento do produto diminui e as perdas de produto contribuem para as cargas de resíduos. No estudo realizado por Maghaydah (2003), 30 a 80% do peixe não é utilizado para consumo humano e sim descartado como subprodutos ou resíduos, destacando que no processamento de truta, o rendimento em filetes foi de aproximadamente 50% do peixe vivo, sendo que os subprodutos são constituídos de aparas, cabeças, nadadeiras, pele e vísceras, sendo ricos em proteínas como a carne e são descartados como lixo. Tal disposição pode acarretar problemas ambientais e é uma perda de nutrientes valiosos.

Conclusão

Este estudo, ainda que preliminar, proporciona uma reflexão sobre a utilização de pescado de aquacultura e sobre o controlo ambiental do processo. Deste modo, considera-se indispensável criar estratégias que permitam o aproveitamento de subprodutos, a monitorização do consumo de água, bem como a inventariação de efluentes e a sugestão de tratamento adequado.

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB)/Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (IPIMAR) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (C APES).

Bibliografia

- Andrade R.O.B., Tachizawa T., Carvalho A.B. 2002. Gestão Ambiental: enfoque estratégico aplicado ao desenvolvimento sustentável. 2ª Ed. Markron Brooks, São Paulo.
- Azevedo Neto J.M. 1998. Manual de hidráulica. 8ª ed. E.Blucher, São Paulo. 669 pp.
- Barbieri J.C. 2006. Gestão empresarial: conceitos, modelos e instrumentos. Ed. Saraiva, São Paulo.
- FAO. 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. BRUGÈRE, C.; RIDLER, N.; G. MACFADYEN, G.; HISHAMUNDA, N. Aquaculture planning: policy formulation and implementation for sustainable development. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. n. 542, Rome, FAO, 70 pp.
- FAO. 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. Fishery and Aquaculture Country Profiles, Portugal.
- Gil. A.C. Como Elaborar Projetos de Pesquisa. 4ª ed. São Paulo: Atlas, 2002.
- Konnerup D., Trang N.T.D., Brix H. 2011. Treatment of fishpond water by recirculating horizontal and vertical flow constructed wetlands in the tropics. *Aquaculture*, 313: 57–64.

- Lin A.Y-C., Hon S.T-Y.H., Wahlqvist M. 2009. Waste management to improve food safety and security for health advancement. *Asia Pac J Clin Nutr*, 18 (4): 538-545.
- Maghaydah S. 2003. Utilization of fish processing by-products for nutritional formulation of fish feed. University of Wisconsin-Stout.
- Mierzwa J.C., Hespanhol I. 2005. Água na Indústria: Uso racional e reuso. Ed. Oficina de Textos. São Paulo, 144 p.
- Portugal. 2009. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Decreto-Lei n.º 152/2009 de 02 de julho de 2009. Diário da República, 1.ª série - N.º 126 - 02 de julho de 2009.
- Portugal. 2011a. Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território. DGPA, Direcção-Geral das Pescas e Aquicultura. Produção nacional em aquíicultura.
- Portugal. 2011b. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território. Decreto-Lei nº 73/2011. Decreto-lei altera o regime geral da gestão de resíduos e transpõe a Directiva nº 2008/98/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 19 de novembro, relativa aos resíduos. Diário da República, 1ª série, nº 116, 17 de junho de 2011.
- Seiffert M.E.B. 2010. ISO 14001 sistemas de gestão ambiental: implantação objetiva e econômica. 3ª ed., 4ª reimpressão. Editora Atlas, São Paulo.
- Spear E. 2011. Maturity and challenges of water sustainability across the supply chain. Duke University.
- UNEP. 2000. United Nations Environment Programme. Cleaner Production Assessment in Fish Processing. *Division of Technology, Industry and Economics*. COWI Consulting Engineers and Planners AS, Denmark
- Vilela Júnior A., Demajorovic J. 2006. Modelos e ferramentas de gestão ambiental: desafios e perspectivas para as organizações. Editora Senac, São Paulo.
- Visvanathan C. 2007. Seafood Processing. Industrial waste abatement and management. Asian Institute Technology. *School of Environment, Resource & Development*.
- WCED. 1987. World Commission on Environment and Development. Our Common Future. Oxford University Press, Oxford.



Consumo de água e geração de resíduos na preparação de corvina (*Argyrosomus regius*)



Lourenço¹, M.S.; Nunes², M.L.; Costa³, S.R.R.; Xavier⁴, L.S.; Peixoto⁴, J.A.A.; Chaguri⁵, M.P.; Sant'Ana⁵, L.S.
¹ UFF- Universidade Federal Fluminense – Faculdade de Nutrição – RJ/Brasil
² IPIMAR - Instituto Investigação das Pescas e do Mar – Lisboa/Portugal
³ UFRRJ -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Ciência e Tecnologia de Alimentos – RJ/Brasil.
⁴ CEFET/RJ – Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – RJ/Brasil
⁵ CAUNESP- Centro de Aquicultura da Unesp – Jaboticabal/Brasil

INTRODUÇÃO

A problemática da geração e destino final dos resíduos tem aumentado significativamente e deve ser tratada de forma global. A produção, transformação e preparação de alimentos exigem grande quantidade de recursos naturais e geram diversos tipos de resíduos, alguns dos quais com possibilidade de reutilização. Deste modo, importa implementar estratégias que inventariem a produção de resíduos e alternativas tecnológicas que minimizem os potenciais problemas ambientais.

OBJECTIVO

O objectivo deste estudo foi analisar e quantificar o consumo de água e inventariar os efluentes e os resíduos gerados desde a captura da corvina (*Argyrosomus regius*) de aquacultura até à filetagem.

METODOLOGIA

O abate foi feito por hipotermia (mistura de água do mar e gelo: 1/1), usando uma relação peixe/mistura de água e gelo de cerca de 1:3. A corvina foi depois mantida em gelo por um período de 24 horas e de seguida filetada manualmente.

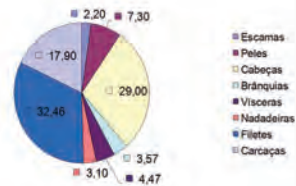
AGRADECIMENTOS:



RESULTADOS

No abate da corvina e nas inerentes operações de limpeza foram produzidos 500 litros de efluentes (300 litros no abate e 200 litros na limpeza) por cada lote de 100 kg de peixe. Nas operações de preparação, filetagem e lavagem dos filetes e do material/equipamento foi gerada uma quantidade de efluente de cerca de 2 l/kg corvina. O rendimento dos filetes foi de aproximadamente 32,5 %, sendo que os resíduos produzidos foram (Figura 1).

Figura 1 Resíduos da corvina (%)



CONCLUSÃO

Este estudo, ainda que preliminar, proporciona uma reflexão sobre a utilização de pescado de aquacultura e sobre o controlo ambiental do processo. Deste modo, considera-se indispensável criar estratégias que permitam o aproveitamento de subprodutos, a monitorização do consumo de água, bem como a inventariação de efluentes e a sugestão de tratamento adequado.

Menção honrosa 2º melhor poster

Crecimiento de *Anemonia viridis* (Forskål, 1775) en el efluente de una piscifactoría

Guerrero¹* S., Domínguez¹ J., Cremades² J., Ancosmede¹ C.

¹Centro de Investigacions Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia. 36620 Vilanova de Arousa, Pontevedra Spain). *E-mail: salvadorg@cimacoron.org

²Grupo de Investigación en Bioloxía Costeira (BioCost), Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña (Spain). 15071 A Coruña.

Resumen

La anémona *Anemonia viridis* (Forskål, 1775) es un cnidario sedimentívoro de la clase Antozoos, que está adquiriendo actualmente una especial relevancia económica en Galicia. La experiencia que aquí se presenta tuvo como objeto el estudio de la posibilidad de su cultivo utilizando el efluente de una piscifactoría de peces planos, dentro de un contexto multitrófico, para analizar la productividad obtenida mediante el uso de las aguas enriquecidas de los cultivos asociados y la capacidad de depuración del propio efluente. Después de un período de 45 días de cultivo se observó en el peso de las anémonas cultivadas con agua filtrada, un descenso del 33%, mientras que las anémonas cultivadas en agua sin filtrar experimentaron un incremento en biomasa del 50% y en número de individuos. Estos resultados iniciales indican la posibilidad de utilizar especies sedimentívoras como biofiltro en granjas marinas de peces. A lo largo del experimento también hemos constatado que la reproducción por bipartición es muy frecuente y que es un factor muy positivo para la posible explotación de este recurso dentro de un marco sostenible.

Palabras clave

Anémonas, *Anemonia viridis*, cultivos multitróficos, IMTA

Introducción

La anémona *Anemonia viridis* (Forskål, 1775) es un cnidario de la clase Antozoos que por su reproducción y abundancia en el medio natural ha sido objeto de recientes estudios con el objetivo de regular su extracción en zonas costeras de Galicia a través de planes de explotación específicos (Lustres Pérez, 2010).

La aparición de los cultivos multitróficos en Galicia es muy reciente y tiene todavía un carácter experimental. Las actuales experiencias han tenido como objeto la puesta en marcha de diversos experimentos encaminados al estudio de la posibilidad de su cultivo debido a que esta especie está adquiriendo especial relevancia económica en Galicia (Guerrero *et al.*, 2011). Además se trata de una especie potencialmente utilizable dentro de un contexto multitrófico, en donde es posible incrementar la productividad por el uso de aguas enriquecidas en cultivos asociados y la capacidad de depuración del propio efluente.

Materiales y métodos

En este trabajo se analizó la influencia del sedimento suspendido sobre el crecimiento de las anémonas mantenidas en el efluente de una piscifactoría de peces planos con agua sin filtrar y con agua filtrada hasta tamaño menor de 20 micras. El sistema empleado para el cultivo fue el de tanques cuadrangulares plásticos de 90 litros de capacidad con aireación y en circuito abierto con 20 renovaciones por día. En los tanques se estabularon las anémonas a una densidad inicial de 11 individuos por metro cuadrado y se tomaron los datos de temperatura y pH con una periodicidad de 5 días por semana durante todo el período de estudio. Para comprobar las diferencias de crecimiento entre los distintos tratamientos al término de la experiencia se realizó la comparación estadística de muestras independientes mediante la prueba t de Student.

Resultados y discusión

Durante el periodo analizado de 45 días, el pH registró un ligero descenso mientras que la temperatura del agua presentó una tendencia de aumento considerable (Fig. 1).

El incremento de peso se vio muy afectado por la temperatura del agua, de manera que cuando ésta fue inferior a 10 °C, el crecimiento fue muy bajo o, incluso, negativo, y solo fue evidente cuando la temperatura superó esa cifra, a partir de los 15 días de iniciado el experimento. Al final del experimento se registraron diferencias significativas en biomasa entre ambos tratamientos, resultando un crecimiento más elevado en agua sin filtrar que en agua filtrada. En las anémonas mantenidas en el agua si filtrar el incremento fue del orden del 30% en peso medio de los individuos y del 50% en la biomasa total obtenida; mientras que en las mantenidas en el agua filtrada ambos parámetros no mostraron diferencias significativas en todo el período. El mayor porcentaje de incremento en biomasa total frente al del peso de los individuos mantenidos en el agua sin filtrar se explica por el aumento de la población debido a procesos reproductivos por bipartición.

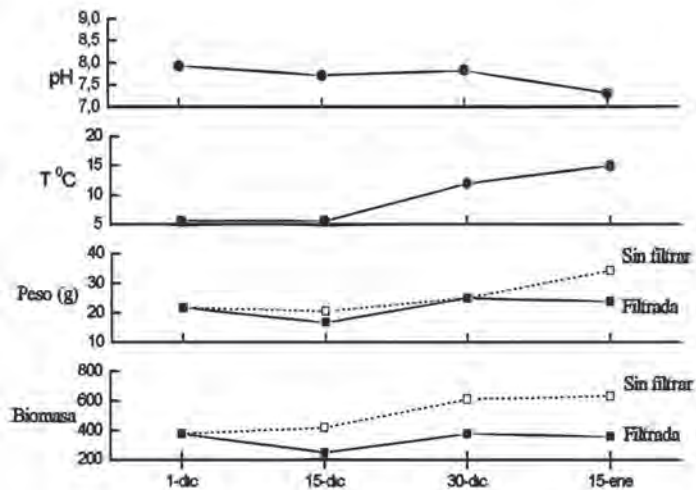


Figura 1.- Variación de los parámetros ambientales y crecimiento en peso medio de los individuos y biomasa total obtenida de la anémona *Anemonia viridis* en el efluente de piscifactoría filtrado y sin filtrar tras 45 días de cultivo.

Conclusiones

El progresivo aumento de la temperatura del agua influyó sobre el crecimiento de las anémonas de manera positiva hasta que se alcanzaron los 15 °C. Cuando se cultivaron en agua sin filtrar el crecimiento fue superior que en agua filtrada. El incremento de peso indica sin lugar a dudas el valor proteínico de las heces de los peces y de los restos del pienso.

Durante el período de cultivo los individuos más grandes sufrieron procesos reproductivos asexuales por bipartición, provocando el aumento de la población, hecho que debe ser tenido en cuenta por las importantes repercusiones que tiene en la potencialidad de cultivo del recurso dentro de un marco sostenible.

La asociación del cultivo de anémona con el de los peces planos en la piscifactoría resultó beneficiosa por el incremento de su biomasa, número de individuos y la mejora conseguida sobre la calidad del propio efluente debidos a la capacidad de asimilación de la materia en suspensión. Estos primeros resultados abren la puerta al empleo de especies sedimentívoras como biofiltros en las granjas marinas de peces.

Agradecimientos

Este estudio ha sido cofinanciado por el Plan Nacional: “Acuicultura Integrada: desarrollo de experiencias de cultivos multitróficos (2008-2011)” de la Junta Asesora de Cultivos Marinos JACUMAR dependiente de la Secretaría General de Pesca Marítima.

Bibliografía

- Guerrero S., Cremades J., Ancosmede C., Domínguez J.C., Muñiz V. 2011. Aproximación a la utilización de anémonas y poliquetos como sedimentívoros dentro de un cultivo multitrófico integrado (AMTI). En: *Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal.* Rey-Méndez M. Lodeiros C. Fernández Casal J. Guerra A. (eds.) 13: 165-172.
- Lustres Pérez V. 2010. Plans Experimentais de Explotación de *Anemonia viridis* en Galicia. *Xornadas de Explotación Sustentable de Recursos Acuícolas e Marisqueiros*. Junio 2010, Sanxenxo, Pontevedra, España.

CRECIMIENTO DE ANÉMOMA EN EL EFLUENTE DE UNA PISCIFACTORÍA

GUERRERO¹, S.; DOMÍNGUEZ¹, J.; CREMADES², J.; ANCOSMEDE¹, C. y MUÑOZ¹, V.

¹ Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia, 36620 Vilanova de Arousa, Pontevedra. E-mail: salvadore@cimacoron.org

² Dpto. de Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, 15071 A Coruña.



INTRODUCCIÓN

La anémoma es un cnidario de la clase antozoos y su reproducción y abundancia, en poblaciones naturales, han sido estudiadas con la finalidad de aportar datos para regular su extracción potencial en determinadas zonas de Galicia, lo que permitiría iniciar su explotación comercial (Lustres Pérez, V. 2010). La experiencia que aquí se plantea ha demandado la puesta en marcha de diversos experimen-

tos, encaminados a estudiar las posibilidades de cultivo de *Anemona viridis*, que está en proceso de adquirir interés económico en Galicia (Guerrero, et al., 2011). Otra de las ventajas añadidas de esta especie la constituye que es potencialmente utilizable en un contexto multifrónico, lo que posibilitaría incrementar la productividad con uso de aguas enriquecidas por cultivos asociados y aprovechar también su capacidad de depuración del efluente.

MATERIAL Y MÉTODOS

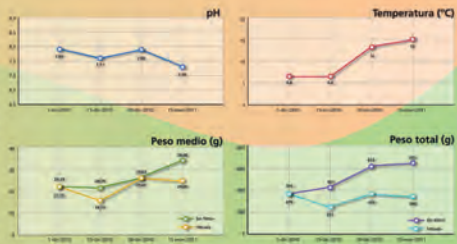
En este caso se ha estudiado la influencia del sedimento suspendido, procedente del efluente de una piscifactoría de peces planos, en el crecimiento de los individuos. Se comparó agua residual con heces y restos de pienso, filtrada hasta un tamaño menor de 20 micras, con agua sin filtrar. Como se dijo, el sistema empleado para el cultivo incluyó al invertebrado sedimentívoro *Anemona viridis*, y se emplearon tanques cuadrados de plástico de 90 litros de capacidad y dotados con aireación. Las anémonas se establecieron inicialmente con una densidad de 11 individuos por metro cuadrado y un flujo en circuito abierto de 20 renovaciones/día. También se obtuvieron datos diarios de temperatura y de pH, con una periodicidad de cinco días por semana.

Los invertebrados supervivientes retiran las partículas en suspensión del efluente de la planta. Con esta integración de cultivos se obtienen los siguientes beneficios: mejora de la calidad del agua del efluente y aumentar y diversificar la producción acuícola de la planta. La comparación estadística de las muestras independientes, se realizó mediante una prueba t de Student.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Durante el periodo analizado el pH se ha mantenido en valores normales, siempre por encima de 7 y por debajo de 8. En cuanto a la temperatura, cuando ha sido inferior a 10°C, el crecimiento ha sido nulo o muy reducido. El aumento fue significativo, de un 95%, cuando la temperatura aumentó paulatinamente, hasta alcanzar los 15°C. A los 45 días se observó en el agua filtrada, un descenso en el peso de las anémonas del 33%, mientras que en las aguas sin filtrar el incremento, en peso fresco medio, fue del 50%. Esto se atribuye al valor proteico de las heces de los peces y de los restos de pienso. También se observó que la población experimentó un incremento de la biomasa total y en número, debido a la reproducción por bipartición de los ejemplares más grandes.

Estos resultados iniciales respaldan la posibilidad de utilizar sedimentívoros como biofiltros en granjas marinas de peces. A lo largo del experimento hemos constatado un elevado porcentaje de reproducción por bipartición en la población. Por consiguiente y en el caso de *Anemona viridis*, las posibilidades potenciales de cultivo son muy elevadas y también hay que destacar la importancia de la reproducción asexual, lo que puede ser un factor muy importante para una posible explotación de este recurso, en forma regulada para que resulte sostenible.



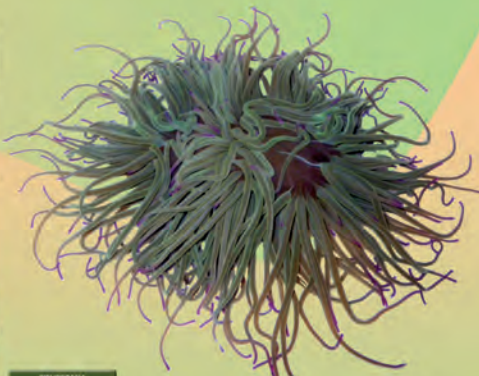
Incremento de *Anemona viridis* en el efluente de una piscifactoría.



Arriba, bipartición de *Anemona viridis*. Abajo, ejemplares en acuario.



Desde arriba, instalación en Acuario, Tanque de anémonas y ejemplares en la parral del tanque.



BIBLIOGRAFÍA

Guerrero, S.; Cremades, J.; Ancośmede, C.; Domínguez, J. C. y Muñoz, V. 2011. Aproximación a la utilización de anémonas y poliquetos como sedimentívoros dentro de un cultivo multifrónico integrado (AMTI). Libro: *Acta Floris Mar. Mar. An. Real Gal. Volumen 13*. 429-438

Lustres Pérez, V. 2010. Plan de Experimentación de Explotación de *Anemona viridis* en Galicia. *Memorias de Explotación Sustrate de Recursos Acuáticos y Maricultivos*. Sernitras, Pontevedra, Junio 2010.

AGRADECIMIENTOS

El equipo de investigadores que formó parte del proyecto desea mostrar su agradecimiento a la empresa Aquacria S.L., y en particular a Sergio Devina, por las enormes facilidades que nos ha dado para la realización de las experiencias.

Este estudio está cofinanciado por la Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR), Secretaría General de Pesca Marítima, dentro del programa "Acuicultura Integrada. Experiencia piloto para el desarrollo de sistemas de cultivo multifrónico". 2008-2011.

Crecimiento del mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758), cultivado junto a una piscifactoría en Gran Canaria (Islas Canarias)

Pérez^{1*} Y., Bilbao¹ A., Pavón¹ N., Rey-Méndez² M., Ruiz³ M., Louzara³ G., González⁴ N.

¹Gestión del Medio Rural de Canarias, S.A.U. C/Subida a El Mayorazgo nº 24 portal B Planta 2 Pol. Ind. El Mayorazgo 38110 Santa Cruz de Tenerife (Tenerife, Islas Canarias) España.

*E-mail: yeraypg@gmrcanarias.com

²Departamento de Bioquímica e Biología Molecular. Edificio CIBUS. Campus VIDA. Universidad de Santiago de Compostela. C.P. 15706 Santiago de Compostela, Galicia, España.

³ECOS, Estudios Ambientales y Oceanografía s.l. C/ Alfred Nobel,31B. Los Tarahales, C.P. 35013. Las Palmas de Gran Canaria (Gran Canaria, Islas Canarias), España.

⁴Instituto Canario de Ciencias Marinas. Ctra. de Taliarte s/n 35200 Telde. (Gran Canaria, Islas Canarias) España.

Resumen

La acuicultura multitrófica integrada (IMTA), introduce co-cultivos de organismos de niveles tróficos menores (e.g.: los mejillones), con el objeto de minimizar los desechos del cultivo de peces en el medioambiente adyacente, mediante la conversión de éstos en biomasa corporal cosechable; y potencialmente, incrementando los beneficios económicos. Para comprobar la eficacia del mejillón *Perna perna*, en este contexto, se evaluó su crecimiento en un *long line* dispuesto junto a una piscifactoría (mar abierto; especie cultivada: lubina, *Dicentrarchus labrax*; Linnaeus, 1758), en Salinetas (este de Gran Canaria, Islas Canarias). Se sembraron 9 cuerdas con mejillones (junio de 2010) de longitud total media (LT): 24,7 mm (DE: 5,4). Estas unidades fueron situadas en tres grupos, cada uno con mejillones a 2, 4 y 6 m de profundidad. Se muestreo bimestralmente y se cosechó en septiembre 2011. Se empleó

estadística descriptiva para la LT, el peso fresco entero y cerrado (PFE) y el peso fresco de vianda (PFV). Con la masa seca de vianda y concha, se estimó el índice de condición. Se empleó un ANOVA y ANCOVA para determinar si hay un incremento significativo de la LT durante el cultivo, y observar la influencia de la profundidad y LT, en el crecimiento del PFV. Como control se empleó la comparación gráfica, con estudios de la población natural de Fuerteventura (Islas Canarias) y otros países. Se verificó un incremento medio significativo, en LT (tasa: $3,60 \text{ mm} \cdot \text{mes}^{-1}$) y en PFV ($0,42 \text{ g} \cdot \text{mes}^{-1}$); cuyas cifras medias alcanzaron $84,39 \text{ mm}$ (DE: 8,03) y $8,87 \text{ g}$ (DE: 2,11), consideradas como comerciales. No se hallaron diferencias entre profundidades. El índice de condición alcanzó el valor medio máximo de 9,0% (DE: 1,3). PFV medio (según la LT) en Salinetas se aproximó al valor medio de la población natural de Fuerteventura. En cuanto al PFE, se alcanzaron valores medios (LT idéntica) mayores que en un estudio desarrollado en Sicilia y similares a los de Fuerteventura. Los resultados apoyan, inicialmente, que el desarrollo de cultivos de *P. perna* en piscifactorías (este de Gran Canaria) es posible, pero es necesario introducir un cultivo control para obtener resultados más concluyentes.

Palabras clave

IMTA, mejillón, crecimiento, *Perna perna*.

Introducción

La acuicultura multitrófica integrada (IMTA), introduce co-cultivos de organismos de niveles tróficos menores (e.g.: los mejillones), con el objeto de minimizar los desechos producidos por el cultivo de peces en el medioambiente que los rodea y potencialmente, incrementar los beneficios económicos (Sàra *et al.*, 2009).

Los moluscos y otros filtradores transforman cantidades importantes de materia particulada, proveniente de la comida sobrante y las heces del cultivo de peces, en biomasa corporal cosechable (Chávez-Crook & Obrequé-Contreras, 2010). Los organismos filtradores, como los mejillones, son capaces de alimentarse de esta materia y del fitoplancton que crece a partir de los nutrientes excretados por los peces (Troell, 2009).

En un primer contacto, en la comprobación de la eficacia del mejillón *Perna perna* en

cuanto a su capacidad de reducir los desechos de la acuicultura de peces en jaulas cercanas a costa en Canarias, se ha marcado como objetivo inicial, la evaluación de su crecimiento y condición en un *longline* dispuesto junto a una piscifactoría en Salinetas (este de Gran Canaria, Islas Canarias).

Materiales y métodos

El planteamiento inicial de la experiencia fue realizar dos cultivos contemporáneos, uno junto a una piscifactoría y otro en una zona cercana de control, donde no existen jaulas de cultivo. Se han realizado dos ensayos, el primero ha finalizado, pero no contó con el control. El segundo ensayo comenzó en julio de 2011 y posee cultivo control. Este trabajo expone los resultados del primer ensayo.

El área de estudio incluyó a una piscifactoría situada al este de la Isla de Gran Canaria (especie cultivada: lubina, *Dicentrarchus labrax*; Linnaeus, 1758), en Salinetas (Fig. 1). Al sur de esta empresa se instaló un sistema de cultivo multitrófico experimental que cuenta con un *long line* con mejillones, sobre un fondo de 40 m, a unos 400 m de costa. El mejillón sembrado procede de la población de la isla de Fuerteventura (Fig. 1), donde su colecta resulta muy complicada (escasos y peligrosidad), pero es la mayor población de *Perna perna* en Canarias.



Figura 1.- Situación del lugar de estudio (Gran Canaria) y la población natural del mejillón colectado (Fuerteventura), en Canarias.

El *long line* consistió en una cuerda horizontal de 15 m situada cerca de superficie, donde

se situaron 9 cuerdas con mejillón. Éstas se dispusieron en tres grupos de tres cuerdas, cada conjunto con mejillones a 1,5-2,5 m ó 3,5-4,5 m ó 5,5-6,5 m de profundidad, por cuerda.

La experiencia siguió el modelo gallego, con dos fases (Figueras, 2007): el pre-engorde (siembra-desdoble) y el engorde (desdoble-cosecha). En la siembra (11 junio de 2010): se obtuvieron 9-10 kg de semilla (mejillón longitud total, LT, ≤ 40 mm). Cada cuerda poseía 1 kg (463 mejillones; D.E.: 27). Tras desdoblar, las 9 cuerdas se duplicaron en dos líneas, y cada cuerda fue sembrada con mejillón de $30 < LT \leq 50$ mm, y $LT > 50$ mm, por separado; en 1,5 m de longitud. El desdoble y la cosecha sucedieron en abril y septiembre de 2011, respectivamente.

Cada 2 meses se extrajeron 30 mejillones (n) por profundidad (salvo en octubre de 2010). Esto implicó tomar aleatoriamente, 10 individuos por cuerda hasta el desdoble, y luego tomar 1+5 mejillones por cuerda (1 de los sembrados en desdoble con $30 < LT \leq 50$ mm, y 5 con $LT > 50$ mm en desdoble, según proporción numérica). Esto dio 90 ejemplares por muestreo.

A cada espécimen se le tomó la LT en concha con un calibrador (sensibilidad de 0,01 mm), así como, con una balanza se tomaron medidas gravimétricas (0,01 g): el peso fresco entero del mejillón cerrado (PFE), el peso fresco de la vianda (PFV), de las conchas (PFC), el peso seco de la vianda (PSV) y la concha (PSC), se estimó el índice de condición: $IC = PSV \cdot 100 \cdot PSC^{-1}$ (Walne, 1976). Se calculó la mortalidad media por cuerda, en número. En cuanto a estos parámetros, se ha seguido a Pogoda *et al.* (2011).

Se estimaron medias aritméticas y la desviación estándar (DE) de los parámetros descritos. Para evaluar las diferencias temporales de la LT, se empleó un ANOVA de dos vías, como factores fijos: profundidad (3 niveles: 2, 4 y 6 m) y muestreo (7 niveles). La normalidad fue comprobada con el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza con el tests de Levene. No obstante, ANOVA es robusto a la falta de normalidad de los datos, e incluso heterogeneidad de la varianza cuando los diseños experimentales son quasi-equilibrados (número de muestras semejante) (Peña-Sánchez de Ribera, 2010), como es este caso.

Para evaluar el efecto de la profundidad en el PFV, se realizó un ANCOVA empleando la relación alométrica ($PFV = a \cdot LT^b$) y transformando mediante logaritmos (Sàra *et al.*, 2009). También se empleó la misma relación, para comparar gráficamente, el PFV obtenido con el de otros estudios de la evaluación en la población natural de Fuerteventura (Núñez *et al.*, 1995; Viera *et al.*, 2009; Fig. 1), y para el PFE, se empleó también una experiencia de cultivo junto a jaulas, con *Mytilus galloprovincialis* (Linnaeus, 1758) en Sicilia (Sàra *et al.*, 2009).

Resultados

La semilla empleada se caracterizó con la LT, el PFE, el PFV y el PSV, cuyos estadísticos descriptivos se presentan en la tabla I. La LT media (mm) que poseían los mejillones sembrados fue de 24,70 mm (DE: 5,42) y su PFE medio de 1,99 (DE: 1,05) (Tabla I).

Tabla I.- Estadísticos descriptivos de la muestra inicial y final de los mejillones.

Parámetro	Media inicial (DE)	Media Final (DE)
LT (mm)	24,70 (5,42)	84,44 (7,99)
PFE (g)	1,99 (1,05)	41,79 (9,98)
PFV (g)	0,30 (0,17)	8,88 (2,10)
PSV (g)	0,06 (0,03)	1,63 (0,43)

LT \approx Longitud total; PFE \approx Peso fresco entero y cerrado; PFV \approx Peso fresco de la vianda; PSV \approx Peso seco de la vianda. DE: desviación estándar.

En septiembre de 2011, tras 15 meses de cultivo (459 días), se cosecharon 12 cuerdas, 4 se dejaron en el agua (tras contar los mejillones) para comprobar su evolución y 2 se perdieron. Los estadísticos mostrados en la tabla I son de los mejillones cosechados, que tras el desdoble presentaban una LT > 50 mm; puesto que en ese momento representaban, en número, un porcentaje medio del total del 77,19% por cuerda (DE: 3,44), lo que se corresponde con la mayor parte del total. La mortalidad media final, en número, resultó de 42,8% (DE:5,8) por cuerda.

La longitud total media (LT) lograda fue de 84,39 mm (DE: 8,03) (Fig. 2a). Registrándose una tasa mensual media de 3,60 mm·mes⁻¹ (DE: 1,32) (Fig. 2a). Este crecimiento resultó significativo (F= 145,50; p < 0,05) de acuerdo con el tiempo de cultivo (factor muestreo, en resultados ANOVA de dos vías, Tabla II), no obstante, no hubo diferencias en LT según la profundidad y el incremento observado se comportó de manera muy similar entre profundidades (interacción muestreo x profundidad, no significativa; ver resultados del análisis SC del tipo III, Tabla II). El análisis *post hoc*, reveló diferencias de LT entre todos los muestreos, salvo entre diciembre de 2010 y febrero de 2011, en concordancia con lo observado en la figura 2a.

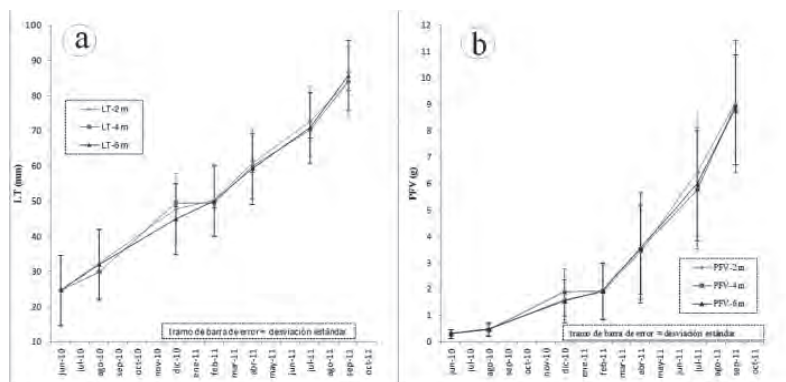


Figura 2.- Evolución temporal de la longitud total media (LT, a) y el peso fresco de la vianda (PFV, b) en función de la profundidad.

El PFV tuvo un tasa de incremento de $0,52 \text{ g} \cdot \text{mes}^{-1}$ (DE: 0,44). En la siembra presentó $0,30$ (DE:0,17) y en la cosecha $8,87 \text{ g}$ (DE: 2,11) (Fig. 2b). Se detecta un incremento significativo ($F= 4383,38$ y $p<0,05$) de este parámetro con respecto a la LT (resultado análisis ANCOVA y del análisis SC del tipo III; Tabla III). El PFV no varía con respecto a la profundidad, y su incremento con la LT, es semejante en las 3 profundidades de estudio (resultados del análisis SC del tipo III y el contraste de pendientes, Tabla III). El PFE presentó resultados semejantes en cuanto a LT y profundidad. Las relaciones alométricas fueron: $\text{PFV} = 1,90 \cdot 10^{-5} \cdot \text{LT}^{2,9305}$ ($R^2=0,9590$; $n=660$) y $\text{PFE} = 3,60 \cdot 10^{-4} \cdot \text{LT}^{2,6060}$ ($R^2=0,9655$; $n=670$).

Tabla II.- Resultados ANOVA de 2 vías para la longitud total (LT).

Resultado	Fuente de variación	g.l.	SC	MC	F	p-valor
ANOVA (2 vías)	Modelo	21	295014,44	14048,31	145,50	< 0,0001
	Error	751	72512,02	96,55		
	Total corregido	772	367526,46			
Análisis SC del tipo III	Muestreo	6	289887,34	48314,56	500,39	< 0,0001
	Profundidad	3	133,60	44,53	0,46	0,709
	Muestreo x Profundidad	12	599,49	49,96	0,52	0,904

g.l.≈ grados de libertad; SC ≈ suma de cuadrados (SS en inglés); MC ≈ media de los cuadrados (MS en inglés).

La relación entre el PSV y el PFV resultó buena (Fig. 3a). Se representó el índice de

condición medio en 2011, cuando el mejillón contaba con una LT igual a la de primera madurez en la población natural de procedencia (45-50 mm, Carrillo, 1992). Su cifra media se incrementó desde 6,64 % (DE: 1,32) en febrero de 2011 a 9,14 % (DE: 1,24), en septiembre de 2011 (Fig. 3b); no apreciándose un aumento muy importante o un máximo claro (Fig. 3b).

Tabla III.- Resultados ANCOVA para la relación peso fresco de la vianda (PFV) vs. longitud total (LT).

Resultado	Fuente de variación	g.l.	SC	MC	F	p-valor
ANCOVA	Modelo	5	266,16	53,23	4383,38	< 0,0001
	Error	747	9,07	0,01		
	Total corregido	752	275,24			
Análisis SC del tipo III	Log ₁₀ (LT)	1	265,78	265,78	21885,64	< 0,0001
	Profundidad	2	0,04	0,02	1,70	0,184
	Log ₁₀ (LT)xProfundidad	2	0,03	0,01	1,16	0,314
Contraste de pendientes	Fuente de variación		t-student	p-valor		
	Log ₁₀ (LT) x Profundidad (2 m y 6 m)		0,58	0,56		
	Log ₁₀ (LT) x Profundidad (2 m y 4 m)		1,51	0,13		
	Log ₁₀ (LT) x Profundidad (6 m y 4 m)		0,92	0,36		

g.l. ≈ grados de libertad; SC ≈ suma de cuadrados (SS en inglés); MC ≈ media de los cuadrados (MS en inglés);

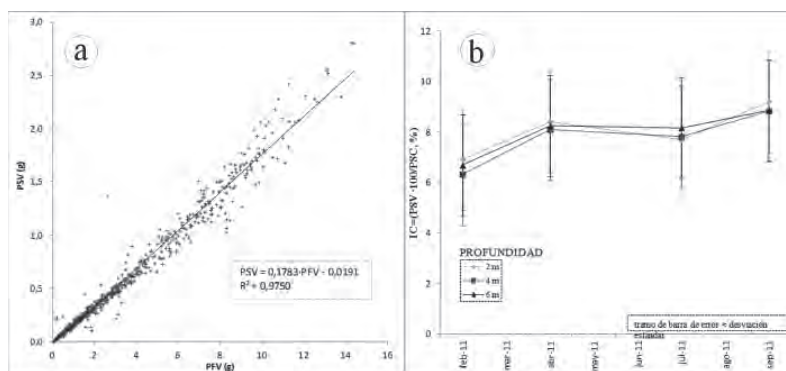


Figura 3.- Relación peso fresco de la vianda (PFV) versus peso seco de la vianda (PSV)(a) y evolución temporal del índice de condición (b).

Discusión

Con los valores de LT alcanzados tras 459 días (84,39 mm, DE: 8,03), y la tasa de crecimiento media de $3,60 \text{ mm} \cdot \text{mes}^{-1}$, es posible concluir que el mejillón ha incrementado su LT de una manera significativa, puesto que la tasa media en estudios de *Perna perna*, varía entre $2\text{-}6 \text{ mm} \cdot \text{mes}^{-1}$ (11 estudios revisados), siendo 4 la cifra más común; y porque la revisión bibliográfica presenta ejemplos con tasas, de $3\text{-}4 \text{ mm} \cdot \text{mes}^{-1}$ (Berry, 1978; De Sá *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 1983; Id-Halla M., 2005; Magalhães *et al.*, 1983; McQuaid & Lindsay, 2007; Marqués *et al.*, 1998; Pérez-Camacho *et al.*, 1991), en ésta y otras especies, en estudios realizados en poblaciones naturales y en cultivos.

Los resultados referentes al PFV y al PFE, se han comparado mediante la representación gráfica de la relación de ambos parámetros con la LT. En el caso del PFV (Fig. 4a), se contrastó con los datos obtenidos en dos estudios de la población natural de Fuerteventura (Núñez *et al.*, 1995; Viera *et al.*, 2009). Los valores del PFV medio en Salinetas se aproximan a los de la población natural con los datos de Núñez *et al.* (1995), con el aumento de LT (Fig. 4a); y se asemejan bastante al estudio de 2008 en la población de Fuerteventura (Viera *et al.*, 2009).

En cuanto al PFE, conociendo que el cultivo de Salinetas y el de Sarà *et al.*, 2009, (estudio de Sicilia, donde hubo un mayor crecimiento de mejillón junto a las jaulas) parten de LT semejantes, basta con observar que los mejillones alcanzaron 57 mm (Sicilia) y 65 mm (Salinetas) de LT en un año, para comprender que el PFE medio en Salinetas fue superior (Fig. 4b). En cuanto a la población natural (Núñez *et al.*, 1995; Viera *et al.*, 2009), el PFE medio fue semejante entre el cultivo de Salinetas y el hallado en aquella (Fig. 4b). Las comparaciones (PFV y PFE) son orientativas, porque se están comparando las cifras medias, sin tener en cuenta su variación.

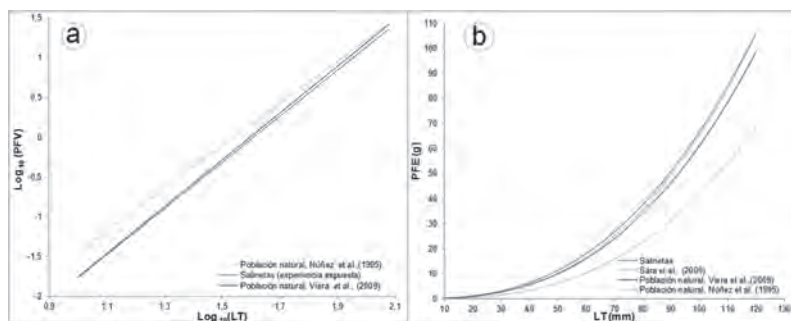


Figura 4.- Comparativa de relaciones alométricas. Relación peso fresco de la vianda (PFV) vs. longitud total (LT) (transformada mediante logaritmos) (a), y relación peso fresco entero (PFE) vs. LT (b).

El índice de condición no ha mostrado un máximo. Este hecho, junto con el cambio aparente de la vianda, en abril y julio de 2011, indican la posibilidad de un episodio reproductivo. Los mejillones ya contaban con LT mínima de madurez sexual (45-50 mm, Carrillo *et al.*, 1992) y la especie es capaz de reproducirse durante todo el año en Fuerteventura (Arab *et al.*, 2009).

La LT media en la cosecha es considerada como comercial en Venezuela (Acosta *et al.*, 2006) y en otras especies como *M. galloprovincialis* (Figueras, 2007). Y el PFV, al ser semejante al de la población natural, puede catalogarse como bueno, puesto que la costa oeste de Fuerteventura es de las más ricas de Canarias. La mortalidad media por cuerda, en todo el cultivo, en las cuerdas donde no hubo problemas con la instalación, fue de 42,8% (DE:5,8) por cuerda.

Conclusiones

i. El mejillón *Perna perna*, posee la capacidad de incrementar su talla (longitud: 3,60 mm·mes⁻¹ -DE: 1,32-, y peso: 0,52 g·mes⁻¹ -DE: 0,44-) de manera significativa, contrastando con poblaciones naturales de Canarias y cultivos, estando sembrado junto a una piscifactoría en aguas abiertas del este de Gran Canaria (a 2-6 m de profundidad)

ii. Es imprescindible completar el estudio con otro ensayo, que cuente con un control, para discriminar si el crecimiento hallado es, o no, debido a la piscifactoría. Asimismo, resulta conveniente conocer la gestión de la granja de peces y los parámetros ambientales en la zona de estudio, para conocer el alcance de la reproducibilidad de los resultados del cultivo

Agradecimientos


Se agradece la colaboración de las siguientes personas: Aída, Beatriz, Germán, Óliver, Pachi, Raúl y Yaiza.

Estudio financiado por el Proyecto ACUICULTURA INTEGRADA: EXPERIENCIA PILOTO PARA EL DESARROLLO DE SISTEMAS DE CULTIVOS MULTITRÓFICOS (JACUMAR, MARM)

Bibliografía

- Aarab L., Bilbao-Villena A., Viera M.P., Courtois de Viçose G., Bilbao A., Pérez Y., Falcón R., Merbah S., Pavón N., Fernández-Palacios H., Molina L. 2009. Caracterización del ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en las Islas Canarias. *XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 24-26 de noviembre de 2009, Madrid, España. Pp. 504-505.
- Acosta V., Prieto A., Lodeiros C. 2006. Índice de condición de los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) bajo un sistema suspendido de cultivo en la Ensenada de Turpialito, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 24 (2): 177-192 pp.
- Acosta V., Prieto A. 2008. Producción secundaria de una población de *Perna perna* (Bivalvia: mytilidae) en condiciones de cultivo suspendido. *Interciencia*, 33 (9):687-692.
- Berry P.F. 1978. Reproduction, growth, and production in the mussel, *Perna perna* (Linnaeus), on the coast of South Africa. *Published by The Oceanography Research Institute. Republic of South Africa.*
- Carrillo M., Bacallado J.J., Cruz T. 1992. Primeros datos sobre mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en la costa de Fuerteventura (Islas Canarias). *Actas V Simp. Ibér. Estud. Bentos Mar.* Septiembre de 1992, Tenerife, España. Vol. 2: Pp. 411-422.
- Chávez-Crook P., Obrique-Contreras J. 2010. Bioremediation of aquaculture wastes. *Current Opinion in Biotechnology*, 21:313-317.
- De Sá F.S., Nalesso R.C., Paresque K. 2007. Foliuing organisms on *Perna perna* mussels: Is it worth removing them? *Brazilian Journal of Oceanography*, 55 (2): 155-161.
- Fernandes F.C., Rafael P.R.B., Fernandes H.V.C. 1983. Dinâmica de populações do mexilhão *Perna perna* cultivado na região do Cabo Frio, Brasil. In: *Proceedings of the First Meeting on Mussel and Oyster Cultive*, Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brazil, p. 1.
- Figueras A. 2007. *Biología y cultivo del mejillón (Mytilus galloprovincialis) en Galicia*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Educación y Ciencia. Biblioteca de Ciencias. Madrid (España). 282 p.
- Id-Halla M. 2005. Biologie de deux moules *Perna perna* Born (1780) et *Mytilus edulis* Lamarck (1819) en élevage sur filieres subflottantes en off shore dans la Baie D'Agadir. *These doctorat*. pp. 132.
- Marques H.L. de A., Pereira R.T.L., Correa B.C. 1998. Seasonal variation in growth and yield of the brown mussel *Perna perna* (L.) cultured in Ubatuba, Brazil. *Aquaculture*, 169: 263-273 pp.

- McQuaid C.D., Lindsay T.L. 2007. Wave exposure effects on population structure and recruitment in the mussel *Perna perna* suggest regulation primarily through availability of recruits and food, not space. *Mar Biol*, 151: 2123-2131 pp.
- Nuñez-Fraga J., Brito-Hernández A., Barquín-Diez J., Ocaña-Vicente O., Brito-Castro M^a.C., Pascual-Serrano M., González-Lorenzo G., Luis-Castro J.M^a., Luis-Castro M^a.C. 1995. Estudio ecológico del mejillón y otros moluscos en la isla de Fuerteventura. (Moluscos de interés marisquero: mejillón, lapas y burgados). Universidad de la Laguna.
- Peña-Sánchez de Ribera D. 2010. *Regresión y diseño de experimentos*. Alianza Editorial. Madrid. 744 pp.
- Pérez-Camacho A., González R., Fuentes J. 1991. Mussel cultura in Galicia (N.W. Spain). *Aquaculture*, 94: 263-278.
- Pogoda B., Buck B.H., Hagen W. 2011. Growth performance and condition of oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*) farmed in an offshore environment (North Sea, Germany). *Aquaculture*, 319:484-492.
- Sàra G., Zenone A., Tomasello A. 2009. Growth of *Mytilus galloprovincialis* (mollusca, bivalvia) close to fish farms: a case of integrated multi-trophic aquaculture within the Tyrrhenian Sea. *Hydrobiologia*, (2009) 636:129–136.
- Troell M., Joyce A., Chopin T., Neori A., Buschmann A.H., Fang J.G. 2009. Ecological engineering in aquaculture-potencial for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture*, 297: 1-9.
- Viera M.P., Aarab L., Courtois de Viçose G., Bilbao-Villena A., Bilbao A., Pérez Y., Merbah S., Falcón R., Pavón N., Fernández-Palacios H., Molina L., Izquierdo M.S., 2009. Cultivo de mejillón (*Perna perna*) en Canarias: enfoque y perspectivas. XII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura. 8-9 de octubre de 2009, O’Grove, España. pp. 323-325.
- Walne P.R. 1976. Experiments on the culture in the sea of the butterfish *Venerupis decussata* L. *Aquaculture*, 8: 371-381.



Crecimiento del mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758), cultivado junto a una piscifactoría en Gran Canaria (Islas Canarias).

*Gestión del Medio Rural de Canarias, S.A.U. C/Edificio A El Morro Negro nº 24 punto B Planta 2 Pab. 10 El Morro Negro 35115 Santa Cruz de Tenerife (Tenerife, Islas Canarias) España.
 †Pérez, Y., Bilbao, A., Pavón, N., Rey-Méndez, M., Ruiz, M., Louzán, G. y González, N.
 ‡Departamento de Acuicultura y Biología Molecular, Edificio CEUS, Campus VDA, Universidad de Santiago de Compostela, C.P. 15704 Santiago de Compostela, Galicia, España.
 §ECOS, Estación Acuicultura y Oceanografía s.l. C/Alfar 1064-318, Los Tumbales, C.P. 35013 Las Palmas de Gran Canaria (Gran Canaria, Islas Canarias) España.
 ¶Instituto Canario de Ciencia Marina (ICCM), Avda de Tánamo s/n 35200 Tánamo, Gran Canaria, Islas Canarias) España.

"V Foro Internacional de los Recursos Marinos y la Acuicultura de Viena Do Costello, Portugal, 27-29 de octubre de 2011"

Resumen

Se verificó un crecimiento significativo, en longitud total (LT) (tasa media, 3,60 mm mes⁻¹) y en peso fresco de la vida (PFV) (0,42 g mes⁻¹), cuyas cifras medias alcanzaron 84,30 mm (DE: 8,03) y 8,87 g (DE: 2,11), ambas consideradas como comerciales. No se hallaron diferencias entre profundidades de cultivo (2 - 6 m). El peso fresco de la vida (PFV) medio (según la LT) en la zona de estudio tiende a aproximarse al valor medio de la población natural de Fuerteventura, según los datos más actuales de esta zona. En cuanto al peso fresco entero y cernado (PFE), se alcanzaron valores medios (LT idéntica) similares a los de la población natural de Fuerteventura. Esto implica que el crecimiento es significativo, desde un punto biológico, puesto que la costa oeste de Fuerteventura es considerada de las más ricas del Archipiélago y presenta la población más importante de *Perna perna* en Canarias.

Introducción

La acuicultura multifuncional integrada (IMTA), contempla la introducción de co-cultivos de organismos de niveles tróficos menores (e.g., los mejillones), con el objeto de minimizar los desechos producidos por el cultivo de peces en el medioambiente que los rodea e incrementando, potencialmente, los beneficios económicos de la explotación (Sáiz, et al., 2009). Los moluscos y otros filtradores transforman cantidades importantes de materia particulada proveniente de la comida sobrante y las heces del cultivo de peces, en biomasa corporal cosechable (Chávez-Crook & Obraque-Contreras, 2010). Los organismos filtradores, como los mejillones, son capaces de alimentarse de esta materia y del fitoplancton que crece a partir de los nutrientes excretados por los peces (Troxel, 2009). La experiencia descrita, marca el primer contacto en la comprobación de la eficacia del mejillón *Perna perna*, en cuanto a su capacidad de reducir los desechos de la acuicultura de peces en jaulas de Canarias. Y para ello, se ha propuesto como objetivo inicial, la evaluación de su crecimiento y condición en un orgine dispuesto junto a una piscifactoría en mar abierto en Salinetas (este de Gran Canaria, Islas Canarias, Fig. 1).

Materia y Métodos

La Figura 1 muestra la localización de la experiencia en Salinetas (Gran Canaria). Se sembraron 6 cuerdas con mejillones (junio de 2010) de LT 24,7 mm (DE: 5,4) y un PFE medio de 1,90 (DE: 1,05). Estas unidades fueron situadas en tres grupos, cada uno con mejillones a 2, 4 y 6 m de profundidad, su número se duplicó tras desdoblar (Fig. 2). Se muestreó bimestralmente y se cosechó en septiembre 2011 (12 cuerdas cosechadas, 4 se dejaron para comprobar su evolución y 2 se perdieron). Como control se empleó la comparación gráfica, con estadíos de la población natural de Fuerteventura (Islas Canarias) y el extranjero. Se empleó estadística descriptiva para la LT, el peso fresco entero y cernado y el peso fresco de la vida (PFV). Se empleó un ANOVA y ANCOVA, respectivamente, para determinar si hay un incremento significativo en LT a lo largo del cultivo, y comprobar la influencia de la profundidad y LT, en el crecimiento del PFV. Se estimó la mortalidad numérica durante todo el cultivo por cuerda.

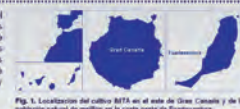


Fig. 1. Localización del cultivo IMTA en el este de Gran Canaria y de la población natural de mejillón en la costa oeste de Fuerteventura.

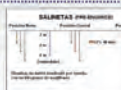




Fig. 2. Esquemas subsistema mejillones, sin pre-ensayo y pre-ensayo.






Resultados

Se cosechó en septiembre de 2011, tras 15 meses (459 días). La LT presentó una cifra media final de 84,30 mm (DE: 8,03, Tabla 1), tras crecer a una tasa media de 3,50 mm mes⁻¹ (DE: 1,32) (Fig. 3a). Este crecimiento resultó significativo (F= 145,59, p < 0,05) de acuerdo con el tiempo de cultivo (factor muestreo, ANCOVA, Tabla 2), no obstante, no hubo diferencias en LT según la profundidad y el incremento observado se comportó de manera muy similar entre profundidades (interacción muestreo x profundidad, no significativa, Tabla 2). El PFV tuvo un tasa de incremento de 0,52 g mes⁻¹ (DE: 0,44). En la siembra presentó 0,30 (DE: 0,17) y en la cosecha 8,87 g (DE: 2,11, el 24% del PFE) (Tabla 1 y Fig. 3b). Se detecta un incremento significativo (F= 4863,39 y p<0,05) de este parámetro con respecto a la LT (análisis ANCOVA, Tabla 3). El PFV no varía con respecto a la profundidad de cultivo, y su incremento con la LT, es similar entre 2-6 m de profundidad (análisis ANCOVA, Tabla 3). El PFE presentó un comportamiento semejante al cuanto a LT y profundidad. Las relaciones alométricas fueron: PFV = 1,90 10⁻⁴ LT^{1,08} (R=0,959) y PFE = 3,50 10⁻⁴ LT^{1,08} (R=0,966). La mortalidad media final, en número resultó de 42,8 % (DE: 5,8) por cuerda.

Discusión

Con la LT media lograda y su tasa media, es posible concluir que el mejillón incrementó la LT de manera significativa, media, biológica y productivamente, puesto que la tasa media en estudios de *Perna perna*, varía entre 2-6 mm mes⁻¹, siendo 4 la cifra más común y además, la bibliográfica presenta ejemplos con tasas de 3 y 4 mm mes⁻¹ (Berry, 1972; De Sá et al., 2007; Fernandes et al., 1983; Ish-Haila, M., 2005; Magalhães et al., 1983; McQuaid & Lindsay, 2007; Marqués et al., 1998; Pérez-Camacho et al., 1991), en poblaciones naturales y cultivos de moluscos. El PFV y el PFE, se han comparado mediante la representación gráfica de la relación de ambos parámetros con la LT. En el caso del PFV (Fig. 4a), se contrastó con los resultados obtenidos en dos estadios de la población natural de Fuerteventura (Núñez et al., 1995; Viera et al., 2009). Los valores del PFV medio en Salinetas tienden a aproximarse a los naturales de Núñez et al. (1995) (Fig. 4a), y son semejantes a los datos de 2008 (Viera et al., 2009). El PFE medio resultó ser similar al de la población natural, y mayor al lograda en un estudio de IMTA con mejillones en Sicilia (Sáiz et al., 2009) (Fig. 4b).



UNTA NACIONAL ASOCIADA DE CULTIVOS MARINOS

Conclusiones

El mejillón *Perna perna*, posee la capacidad de incrementar su talla (longitud 3,60 mm mes⁻¹, DE: 1,32, y peso de vida: 0,52 g mes⁻¹, DE: 0,44) de manera significativa, contrastando con poblaciones naturales y cultivos, estando sembrado (2-6 m de profundidad) junto a una piscifactoría en aguas abiertas en la zona de estudio.

Es imprescindible completar el estudio con otro ensayo que cuente con un cultivo control, para discriminar si el crecimiento hallado es, o no, debido a la piscifactoría. Asimismo, resulta conveniente conocer gestión de la granja de peces y los parámetros ambientales en la zona de estudio, para conocer el alcance de la reproducibilidad de los resultados del cultivo.

Agradecimientos

Proyecto Financiado por la Junta Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR).
 Agradecemos también la ayuda de las personas colaboradoras: Aida, Beatriz, German, Oliver, Pachi, Raúl y Yazca.

Dietary probiotics supplementation on growth performance and immune responses in rainbow trout

Ramos^{1,2*} M.A., Gonçalves^{1,3} J.F, Costas^{1,3} B., Batista^{1,3} S., Marujo V., Ramos³ B., Rema^{1,4} P., Ozório¹ R.

¹CIMAR/CIIMAR - Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Rua dos Bragas, 289, 4050-123 Porto, Portugal. *E-mail: amelia.ramos@gmail.com

²CERNAS - Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, 3040-316 Coimbra, Portugal.

³ICBAS - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade de Porto, Largo Professor Abel Salazar 2, 4099-003 – Porto, Portugal

⁴UTAD – Universidade de Trás-os-Montes e Alto-Douro, Apartado 1013, 5001-801 Vila Real, Portugal.

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of dietary supplementation of multi-species (*Bacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp.) and mono-species probiotics (*Pediococcus acidilactici*) on growth performance and innate immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Six hundred fish (16.4 ± 0.5 g) were evenly distributed into 30 groups and fed five diets until satiation ($n=6$). Diets were nutritionally identical: Control (non-probiotic diet) and A₁, A₂, B₁, B₂, differing in the probiotic type (A, multi-species or B, mono-species) and concentration (8.6×10^5 ; 1.6×10^6 ; 2.60×10^4 or 7.2×10^4 cfu/g, respectively). Fish were reared in a semi-closed recirculating freshwater system, stocked at an initial density of 6.6 kg/m^3 and reared at 17°C . At 4 weeks of feeding, no measurable effects of dietary probiotic supplementation were observed on growth performance, when compared to the control group. However, at the end of feeding trial (8 weeks), fish fed the A₁ diet presented a significantly higher final body weight (89.5 ± 3.7 g) and better daily growth

index ($3.4 \pm 0.1\%$ BW/day) than fish fed the control diet (82.3 ± 3.0 g and $3.2 \pm 0.1\%$ BW/day, respectively). Feed conversion ratio was significantly better in fish fed the A₁ (0.94 ± 0.05) and B₂ diets (0.92 ± 0.02) than fish fed the control diet (1.02 ± 0.05).

Results also showed that cellular immune responses (respiratory burst activity and nitric oxide production) were not affected by dietary treatments. Plasma humoral responses (lysozyme, total peroxidase and alternative complement pathway activities) are still being analysed. First results indicate benefits in growth performance using both probiotic types.

Keywords

Probiotics, rainbow trout, growth, innate immunity.

Introduction

Probiotics are defined as living microorganisms which beneficially affect growth and welfare of the host animal (Carnevali *et al.*, 2006). Probiotics may inhibit the colonization of pathogen bacteria in the intestinal tract (Watson *et al.*, 2008) and may improve stress resistance in fish (Makridis *et al.*, 2008). Dietary probiotic supplementation showed to improve growth performances (Bagheri *et al.*, 2008) and immunity status (Panigrahi *et al.*, 2004; Panigrahi *et al.*, 2005; Kim and Austin, 2006; Sharifuzzaman and Austin, 2009) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). This study was conducted to evaluate the effects of dietary supplementation of multi-strain (*Bacillus* sp., *Pedococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp.) and mono-strain probiotics (*Pedococcus acidilactici*) on the growth performance and innate immune responses of rainbow trout.

Materials and methods

The present experience was conducted according to the European Economic Community animal experimentation guidelines, Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

Animals, diets and experimental conditions

Fish (initial body weight= 16.4 ± 0.5 g) were initially stocked at 6.6 kg/m^2 and reared at 17 ± 1 °C in a controlled recirculating freshwater system. A basal diet (46% protein, 16% lipid, 21 kJ.g^{-1} energy) without probiotic (control diet) was compared with the same diet supplemented either with a probiotic A (*Bacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp.) or probiotic B (*Pediococcus acidilactici*) at two different concentrations (8.6×10^5 ; 1.6×10^6 ; 2.60×10^4 or 7.2×10^4 cfu/g, respectively A₁, A₂, B₁, B₂). Diets were fed *ad libitum* to 30 groups (20 fish per tank, 6 tanks per diet) for 8 weeks. At the middle (4 weeks) and at the end (8 weeks) of the feeding trial, animals from each tank were bulk weighed for growth performance evaluation. Then, 6 animals per treatment (one fish per tank) were sacrificed, blood and head kidney were sampled to evaluate selected cellular and humoral immune parameters. For whole body proximate composition 12 animals per treatment were sampled at the end of feeding trial.

Diets and carcass chemical analyses

Proximate composition analysis of diets and whole fish carried out in duplicate or triplicate according to reference procedures (AOAC, 2006). Briefly, dry matter by drying at 105 °C for 24 h; total ash by combustion at 550 °C for 6h in a muffle furnace; crude protein, by multiplying nitrogen content by 6.25 (N determined using a LECO nitrogen analyser, FP-528 model); crude lipid by petroleum ether extraction (Soxtec 2055 model, Foss); gross energy by complete combustion in an adiabatic bomb calorimeter (Werke C2000, IKA).

Respiratory burst activity and nitric oxide production by head-kidney leucocytes

Head-kidney leucocytes were isolated and maintained as described by Secombes (1990). Briefly, under aseptic conditions, the head-kidney was removed, pushed through a nylon mesh (100 µm) in Leibovitz L-15 medium (L15) supplemented with 2% foetal bovine serum (FBS), 1% Penicillin/Streptomycin and 0.1% heparin. The suspensions were loaded onto a 34% : 51% Percoll density gradient and centrifuged ($400 \times g$, 4 °C, 40 min). The interface band of cells was collected, counted (haemocytometer) and adjusted to 2×10^7 cells/mL. Cells were plated in 96-well plates (100 µL/well). After overnight incubation (18 °C), the non-adherent cells were washed off with L-15 and the monolayers were maintained with L-15 5% FBS, until the respiratory burst and nitric oxide assays were conducted following 24 and 72 h incubation at 18 °C, respectively. Respiratory burst activity was based on the reduction of ferricytochrome C (Cyt C) method for the detection of extracellular O_2^- production (Secombes, 1990). Then 100 µL of Cyt C solution containing 10 mg/mL phorbol

myristate acetate (PMA) was added as a stimulant of the respiratory burst. Cyt C with PMA and superoxide dismutase (300 U/mL) was used to confirm reaction specificity. After 30 minutes the plates were read in a microplate spectrophotometer at 550 nm. Optical densities were converted to nmol of O_2^- produced by multiplying by 15.87 (Pick, 1986). Nitric oxide (NO) production was assessed by the method described by Neumann *et al.* (1995), based on the Griess reaction (Green *et al.*, 1982) that quantifies the nitrite content of the leucocytes supernatant. To stimulate leucocytes for NO production, cells monolayers were exposed to *E. coli* serotype 0111: B4 LPS (1 mg/mL). N^G -Methyl-L-arginine (1 mM) and LPS were also added to some wells to confirm the specificity of the reaction. After 72 h incubation, leucocytes supernatants (50 μ L) were placed in a separate 96-well plate. Afterwards, 1% sulfanilamide, followed by 0.1% N-naphthylethylene-diamine was added to each well, both in 2.5% phosphoric acid. After 5 minutes the plate was read at spectrophotometer at 540 nm. The molar concentration of nitrite was quantified using a standard curve produced with known concentrations of sodium nitrite. All tests were done in triplicates.

Statistical analysis

Statistical analysis was carried out using STATISTICA software (StatSoft, Inc., 2008, version 8). Data was submitted to Kolmogorov-Smirnov and Levene tests, to verify normal data distribution and homogeneity of variances, respectively. Then data was submitted to a one-way analysis of variance (ANOVA). Post-hot Tuckey test was used when ANOVA showed significance, to determine significant differences between means. Significance differences were considered when $P < 0.05$ for all statistical tests. Results are presented as mean \pm standard deviation.

Results and discussion

At 4 weeks of feeding, no measurable effects of dietary probiotic supplementation were observed on growth performance, when compared to the control group. At 8 weeks of feeding (Table I), fish fed the A_1 diet presented a higher final body weight (89.5 ± 3.7 g) and better growth rate (DGI, $3.4 \pm 0.1\%$ BW.day⁻¹) than fish fed the control diet (82.3 ± 3.0 g and $3.2 \pm 0.1\%$ BW/day, respectively). Feed conversion ratio were significantly better in fish fed A_1 (0.94 ± 0.05) and B_2 diets (0.92 ± 0.02) than in fish fed the control diet (1.02 ± 0.05).

Merrifield *et al.* (2011) observed no significant changes regarding specific growth rate and feed conversion ratio in rainbow trout juveniles fed a diet supplemented with *Pediococcus*

acidilactici for 10 weeks, using a higher probiotic incorporation in the diet than the one in the current study. Probiotic A comprised several microorganisms: *Bacillus* sp., *Pedococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp. A study of rainbow trout juveniles fed diets supplemented with *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for 10 weeks, resulted in better feed conversion ratio in animals specimens fed *E. faecium* alone or with *B. licheniformis* and *B. subtilis* (Merrifield *et al.*, 2010b). However, growth performance was not significantly different.

Table I. - Growth and feed conversion performance of rainbow trout fed the trial diets for 8 weeks.

	Control	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	p-value
FBW (g)	82.3 ± 3.0 ^a	89.5 ± 3.7 ^b	84.4 ± 5.4 ^{ab}	87.0 ± 2.7 ^{ab}	86.3 ± 3.3 ^{ab}	0.029
DGI	3.2 ± 0.1 ^a	3.4 ± 0.1 ^b	3.3 ± 0.1 ^{ab}	3.4 ± 0.1 ^{ab}	3.4 ± 0.1 ^{ab}	0.028
FCR	1.02 ± 0.05 ^a	0.94 ± 0.05 ^b	0.95 ± 0.04 ^{ab}	0.97 ± 0.05 ^{ab}	0.92 ± 0.02 ^b	0.006

Mean ± SD (n=6). In each row, means with different superscripts indicate significance differences between treatments (One-way ANOVA; $p < 0.05$). FCR, Feed conversion ratio = dry feed intake / weight gain. DGI, Daily growth index = $100 \times [(Final\ body\ weight)^{1/3} - (Initial\ body\ weight)^{1/3}] / days$.

After 8 weeks of feeding no significant differences were observed in proximate whole body composition, similarly to observed by Merrifield *et al.* (2010a).

The respiratory burst activity of head-kidney leucocytes (Table II) was not significantly affected by dietary treatments, like the observed by Panigrahi *et al.* (2004) after supplementing rainbow trout with *Lactobacillus* during 30 days. Similarly, *in vitro* NO production of head-kidney leucocytes revealed the same tendency.

Table II.– Respiratory burst activity (nmoles O₂⁻) and nitric oxide production (nitrite μM) of head kidney leucocytes after 4 or 8 weeks (W) of experience.

		Control	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	p-value
nmoles O ₂ ⁻	4 W	2.8 ± 0.6	3.2 ± 0.8	2.4 ± 0.7	3.3 ± 0.3	2.7 ± 0.6	0.145
	8 W	5.1 ± 0.6	5.1 ± 0.5	4.4 ± 0.4	4.4 ± 0.5	5.1 ± 0.7	0.088
Nitrite (μM)	4 W	4.0 ± 2.7	1.9 ± 0.8	2.8 ± 2.4	1.8 ± 0.7	2.7 ± 2.5	0.480
	8 W	5.8 ± 4.0	7.1 ± 2.8	5.2 ± 1.5	6.7 ± 3.2	4.8 ± 1.8	0.697

Conclusions

Under the current trial conditions, the multi-species probiotic blend had a positive effect on growth performance, while both (multi-species and mono-species) probiotic types improved feed conversion ratio. Regarding the immune status, respiratory burst activity and NO production of head-kidney leucocytes were not significantly affected by dietary treatments. Further analyses of plasma humoral responses (lysozyme, total peroxidase and alternative complement pathway activities) are being carried out, and may help to elucidate if the tested probiotics can modulate fish innate immunity.

Acknowledgments

M. A. Ramos would like to thank Lab. de Engenharia Aquática and Lab. de Fisiologia Aplicada from ICBAS and LANUCE from CIIMAR for the use of the facilities and equipments and for technical support. M. A. Ramos was supported by FCT-MCTES (SFRH/PROTEC/67567/2010).

References

- AOAC 2006. *Official Methods of Analysis*, AOAC International, Maryland, USA.
- Bagheri T., Hedayati S.A., Yavari V., Alizade M., Farzanfar A. 2008. Growth, Survival and Gut Microbial Load of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fry Given Diet Supplemented with Probiotic during the Two Months of First Feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 43-48.
- Carnevali O., de Vivo L., Sulpizo R., Giocchini G., Olivoto I., Silvi S., Cresci A. 2006. Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture International*, 258: 430-438.
- Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L., Wishnok J.S., Tannenbaum S. 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and (15N) nitrate in biological fluids. *Analyt Biochem*, 126: 131-138.
- Kim D.H., Austin B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish & Shellfish Immunology*, 21: 513-524.

- Makridis P., Martins S., Reis J., Dinis M.T. 2008. Use of probiotic bacteria in the rearing of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture Research*, 39: 627 - 634.
- Merrifield D.L., Bradley G., Baker R.T.M., Davies S.J. 2010a. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. *Aquaculture Nutrition*, 16: 496-503.
- Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B., Davies S.J. 2011. Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 17: 73-79.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Bradley G., Baker R.T.M., Davies S.J. 2010b. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*, 16: 504-510.
- Neumann N.F., Fagan D., Belosevic, M. 1995. Macrophage activating factor(s) secreted by mitogen stimulated goldfish kidney leucocytes synergize with bacterial lipopolysaccharide to induce nitric oxide production in teleost macrophages. *Developmental & Comparative Immunology*, 19: 473-482.
- Panigrahi A., Kiron V., Kobayashi T., Puangkaew J., Satoh S., Sugita H. 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102: 379-388.
- Panigrahi A., Kiron V., Puangkaew J., Kobayashi T., Satoh S., Sugita H. 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 243: 241-254.
- Pick E. 1986. Microassays for superoxide and hydrogen peroxide production and nitroblue tetrazolium reduction using and enzyme immunoassay microplate reader. *Methods Enzymol.*, 132: 407-421.
- Secombes C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Roberson B.S., VanMuiswinkel W.B. (Eds.). *Techniques in fish immunology*. SOS Publications, pp: 137-154.
- Sharifuzzaman S.M., Austin B. 2009. Influence of probiotic feeding duration on disease resistance and immune parameters in rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology*, 27: 440-445.
- Watson D., Sleator R., Hill C., Gahan C. 2008. Enhancing bile tolerance improves survival and persistence of *Bifidobacterium* and *Lactococcus* in the murine gastrointestinal tract. *BMC Microbiology*, 8: 176.

M. Amélia Ramos^{1,2*}
 José F. Gonçalves^{1,2}
 Benjamin Costas^{1,3}
 Vanessa Marujo¹
 Bruno Ramos²
 Paulo Rema^{1,4}
 Rodrigo Ozório¹



Dietary probiotics supplementation on growth performance and immune responses in rainbow trout

INTRODUCTION & OBJECTIVES

Probiotics may be successfully incorporated in rainbow trout diets contributing to enhance the immune system and/or improve zootechnical performance. The potential probiotic effects of two distinct formulations (mono vs multispecies), was evaluated in a growth and immune response trial, with juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

MATERIAL & METHODS

• Five nutritionally identical diets (45.5% protein, 16% lipid, 21kJ g⁻¹ gross energy) containing no probiotics (control diet) or 2 different probiotic formulations (A, multispecific and B, monospecific) at 2 concentrations, were fed to 30 groups (n=6) of 20 fish (16.4 ± 0.5 g), 3 times a day (9:00, 12:30, 16:00h) until apparent satiety for 8 weeks.

• Fish were reared in a controlled semi-closed recirculated freshwater system, stocked at an initial density of 6.6 kg/m³ and reared at 17 °C.

Microbial preparations	Experimental diets			
(colony forming unit/g of diet)	Control	A1	A2	B1, B2
<i>Bacillus</i> sp. <i>Pediococcus</i> sp.	-	8 × 10 ⁸	1.6 × 10 ⁹	-
<i>Enterococcus</i> sp.	-	-	-	2.6 × 10 ⁸
<i>Lactobacillus</i> sp.	-	-	-	7.2 × 10 ⁸
<i>Pediococcus acidilactici</i>	-	-	-	-

• At the end of feeding trial (8 weeks), 12 animals per treatment were sampled, to evaluate whole carcass proximate composition.

• At the middle (4 weeks) and at the end (8 weeks) of the feeding trial, animals were bulk weighed, to determine growth and feed conversion performance.

• Six animals per treatment were sampled, to evaluate the selected immune parameters:

- 1) Respiratory burst activity (reduction of ferricytochrome C method to detect O₂).
- 2) Nitric oxide production (quantification of nitrite produced through Griess reaction) of head-kidney leucocytes.
- 3) Humoral immune parameters: plasma lysozyme, total peroxidase and alternative complement activity (currently being analyzed).



RESULTS

• At 4 weeks of feeding, no measurable effects of dietary probiotic supplementation were observed on growth performances, when compared to the control group.

	4 weeks				ANOVA p-value
	Control	A1	A2	B1, B2	
IBW (g)	16.4 ± 0.1	16.6 ± 0.2	16.1 ± 0.2	16.5 ± 0.1	0.001
FBW (g)	38.4 ± 1.2 ^a	42.0 ± 1.2 ^b	38.5 ± 1.2 ^a	40.9 ± 1.2 ^{ab}	0.001
DGI	3.2 ± 0.1 ^a	3.3 ± 0.1 ^a	3.0 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.1 ^a	0.001
FCR	1.1 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.1 ^a	0.001

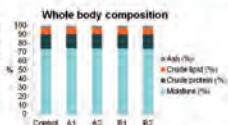
Means ± SD (n=6), in each row, means with different superscripts letters indicate significance differences between treatments (Turkey test).

• At 8 weeks of feeding trial, fish fed the A1 diet gained significantly more weight and had better daily growth index (%BW day⁻¹) than the control group. Feed conversion ratio (FCR) were significantly better in fish fed A1 (0.94 ± 0.05) and B2 groups (0.92 ± 0.02) than the control group (1.02 ± 0.05).

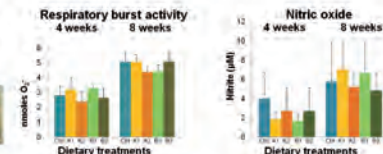
	8 weeks				ANOVA p-value
	Control	A1	A2	B1, B2	
FBW (g)	62.3 ± 1.2 ^a	66.5 ± 1.2 ^b	64.4 ± 1.2 ^a	67.0 ± 1.2 ^{ab}	0.001
DGI	3.2 ± 0.1 ^a	3.4 ± 0.1 ^b	3.3 ± 0.1 ^a	3.4 ± 0.1 ^a	0.001
FCR	1.0 ± 0.1 ^a	0.94 ± 0.05 ^b	1.0 ± 0.1 ^a	1.0 ± 0.1 ^a	0.001

Means ± SD (n=6), in each row, means with different superscripts letters indicate significance differences between treatments (Turkey test).

• At 8 weeks of feeding trial no significant differences were observed in proximate whole body composition.



• At 4 or 8 weeks of feeding trial no significant differences were observed on the cellular immune parameters (respiratory burst or nitric oxide production by head-kidney leucocytes in culture).



DISCUSSION & CONCLUSIONS

- The present results suggest that both probiotics tested showed interest in growth or conversion performance
- Respiratory burst and nitric oxide production were not affected by 8 weeks supplementation of probiotics

Acknowledgments

Dissolved CO₂ monitoring in aquaculture: from indirect methods to fiber optic sensors

Borges^{1*} M.T., Jesus² J.M., Domingues² J.M., Jorge³ P.A.S., Pereira⁴ C.M.

¹ CIIMAR and Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal.

*E-mail: mtborges@fc.up.pt

² Master in Environmental Science and Technology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal.

³ Optoelectronics Unit, INESC-Porto, R: Campo Alegre 687, 4169-007, Porto, Portugal.

⁴ CIQ and Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal.

Keywords

Dissolved CO₂, continuous monitoring, fiber optics, aquaculture.

Objectives

Recent developments in aquaculture systems, such as recirculation and shallow raceway hyper intensive systems, resulted in dissolved CO₂ becoming an important metabolite to manage.

This study aims to give an overview of available options for dissolved CO₂ measurements and to point out new developments in the field.

Methods

The OxyGuard Portable CO₂ Analyzer®, based in partial pressure evaluation, with data logging capability, is recommended for aquaculture but its use is not widespread. So it was tested in this work in a constructed prototype and in a real Shallow Raceway System marine fish farm.

Results

Obtained results showed that without agitation the probe under reads dissolved CO₂ and response time is high (> 60 minutes). A flow cell was created to provide adequate agitation resulting in a reduction of response time to 7-15 minutes.

Tests conducted in prototype and real aquaculture systems were successful and 2-hour continuous logging was possible in a heavily stocked tank, but at only one sampling point.

Multipoint, real-time detection can be possible with fiber optic sensors, which are being developed to measure dissolved CO₂ under the scope of research project AQUAMONITOR. These sensors can be miniaturized, are immune to electromagnetic interference and preliminary results reveal high sensitivity to dissolved CO₂.

Conclusions

Despite satisfactory performance the OxyGuard Portable CO₂ Analyzer® coupled with a flow cell is big, has moving parts and monitors only one sampling point at a time. Fiber optic sensors under development can be a more adequate solution.

Acknowledgments

Projects RACEWAYS (EC-FP6-COOP-CT/016869/2006-2008), AQUAMONITOR (FCT-PTDC/AAC-AMB/112424/2009).

Dissolved CO₂ monitoring in Aquaculture - from indirect methods to new fiber-optic sensors



Borges¹ M.-T., Jesus² J. M., Domingues² J. M., Jorge³, P.A.S. and Pereira, C.M.⁴
¹ CIMAR and Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal
² Master in Environmental Science and Technology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal
³ Optoelectronics Unit, INESC-Porto, R. Campo Alegre 687, 4169-007, Porto, Portugal
⁴ CIQ and Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal



Background

Intensification of aquaculture via recirculation (RAS) and shallow raceway systems (SRS) lead to increasing metabolite concentrations in culture water. Dissolved CO₂ (dCO₂), from fish and bacterial activity, accumulates and needs to be managed as it is harmful to fish. However, monitoring and controlling dCO₂ is a difficult task, more specifically in saltwater and under continuous operation.

Objectives

Overview of available options for dCO₂ monitoring in aquaculture and new developments in the field.

RESULTS

Literature survey

> Indirect methods (most common; not continuous operation)

- pH/Alkalinity method: not adequate for saltwater [1]
- Titrimetric Method: inadequate for water with high total dissolved solids [2]

> Direct methods (continuous monitoring possible)

- Gas Sensitive Electrode: used in industry; costly.
- dCO₂ Partial pressure probe: precise, agitation needed [2].
- Optical sensors: complex, costly, under development [3].

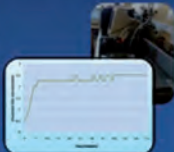


Monitoring tests

OxyGuard Portable CO₂ Analyzer® testing in prototype SRS and in real SRS

Problem: agitation needed
 Solution: designed flow cell

Response time improved
 from over 60 minutes
 to 7 to 15 minutes.

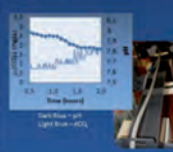


Continuous monitoring
 possible in real
 aquaculture system
 (SRS)



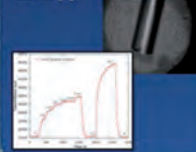
Shallow Raceway
 prototype

SRS prototype built as pilot
 scale model for further
 research under controlled
 conditions.



Future solutions:
 Fiber-optic Sensors

New fiber optic sensors are
 currently being developed
 with promising preliminary
 results [4].



Conclusions

- The OxyGuard Probe® with the flow cell is large, has moving parts and monitors only one sampling point at a time.
- Fiber optic sensors under development are promising and multipoint, real-time detection, can be possible.
- Moreover, these sensors can be miniaturized and are a better solution for Shallow Raceway Systems.

Acknowledgments

Fish farm manager
 EC Project RACEWAYS, COOP-CT-015669/2006-2008
 Portuguese Science and Technology Foundation
 Project AQUAMONITOR
 (Ref. ECT-PTDC/AQUAMB/112434/2009; FCOMP-01-0124-FEDER-013911).



References

- [1] Hiron, D., Tringali, S., Jefferson, J. F., 2013, *Aquacultural Engineering* 43, 101-107.
- [2] Pfeiffer, T.J., Summerfelt, S.T., Watten, R.J., 2011, *Aquacultural Engineering* 44, 1-9.
- [3] Burns, D., Mahony, R., Rooney, R.J., Burns, P., McCann, P., Collins, J., 2008, *Sensors and Actuators B: Chemical* 133, 208-204.
- [4] Borges, M.T., Pereira, C.M., Gomes, C., Torres, R., Jorge, P.A.S., 2011, *Victorias Internacionais*, SA.

Diversidad genética de la claca (*Megabalanus azoricus* Pilsbry, 1916) en los archipiélagos de la región Macaronésica

Quinteiro^{1*} J., Pérez-Diéguez¹ L., Rodríguez-Castro¹ J., Manent² P., Araujo³ R., Carreira⁴ G., Brito⁵ A., González-Henríquez² N., Rey-Méndez^{1,2} M.

¹Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad Asociada al CSIC). Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, CIBUS, Campus Vida, Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela A Coruña. España.

²Instituto Canario de Ciencias Marinas. Gran Canaria. España.

³Museu de Historia Natural do Funchal. Madeira. Portugal.

⁴Universidade dos Açores. Açores. Portugal.

⁵Universidad de La Laguna. Tenerife. España

*Email: javier.quinteiro@usc.es

Introducción

La claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), es un cirrípedo Balanomorpha intensamente explotado en los archipiélagos atlánticos de la región macaronésica (Henry y McLaughlin, 1986) (Fig.1). En consecuencia, el estado de conservación posiblemente se encuentre en un nivel crítico. Ante esta situación es indispensable el conocimiento de la diversidad genética y su estructuración en el área de distribución de la especie.

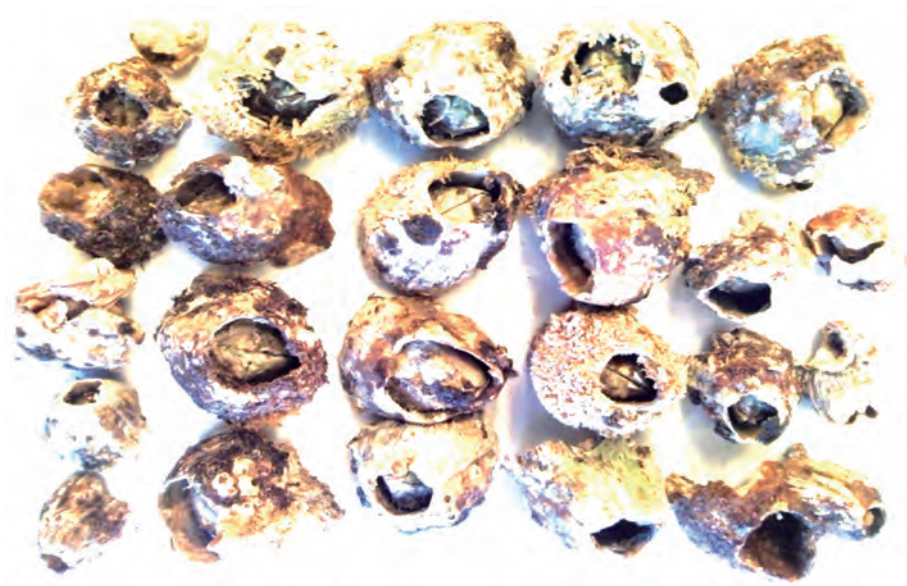


Figura 1.- Ejemplares de *Megabalanus azoricus*.

Materiales y métodos

Muestreo: se utilizaron 3 muestras obtenidas en otras tantas localizaciones geográficas en islas del área macaronésica (archipiélago de Canarias, la isla de las Salvagens y en el archipiélago de las Azores), con un total de 118 individuos de *Megabalanus azoricus*. A partir de éstos se obtuvo un juego de datos conteniendo 102 secuencias de la región control mitocondrial (Fig. 2).

Aislamiento de ADN: el tejido muscular preservado a -20 °C, se utilizó para el aislamiento del ADN total. Un total de 30 mg de tejido de cada individuo se usó para el aislamiento mediante el kit EZNA DNA Mollusk (Omega Bio-Tek).

PCR: la región control mitocondrial de *Megabalanus azoricus* fue localizada entre los genes 12S rRNA y el tRNA-Ile, de acuerdo a la información disponible sobre el genoma mitocondrial de *Megabalanus volcano* (NC 006293). Esa región, comprendida entre dichos genes, fue caracterizada mediante la amplificación con cebadores específicos de cirrípedos (Quinteiro *et al.*, 2007). A partir de la secuencia obtenida fueron diseñados cebadores específicos para *M. azoricus*, denominados Mazo-12S-1F y Mazo-Ile-2R, localizados en las secuencias flanqueantes 12S rRNA y tRNA-Ile, respectivamente (Fig. 3). Las reacciones de

amplificación se llevaron a cabo en 15 μ L de volumen, utilizando un termociclador GeneAmp 9700 (Applied Biosystems). Cada reacción incluyó 1x Green GoTaq Buffer (Promega), 1,5 mM $MgCl_2$, 200 μ M de cada dNTP, 0,3 unidades de GoTaq (Promega), 0,1 μ M de cada cebador y 0,5 μ L de la solución de ADN. El perfil térmico de la PCR para la región control mitocondrial fue el siguiente: 95 $^{\circ}C$, 2 min, seguido de 35 ciclos de 95 $^{\circ}C$, 40 seg; 50 $^{\circ}C$, 40 seg y 72 $^{\circ}C$, 1 min.

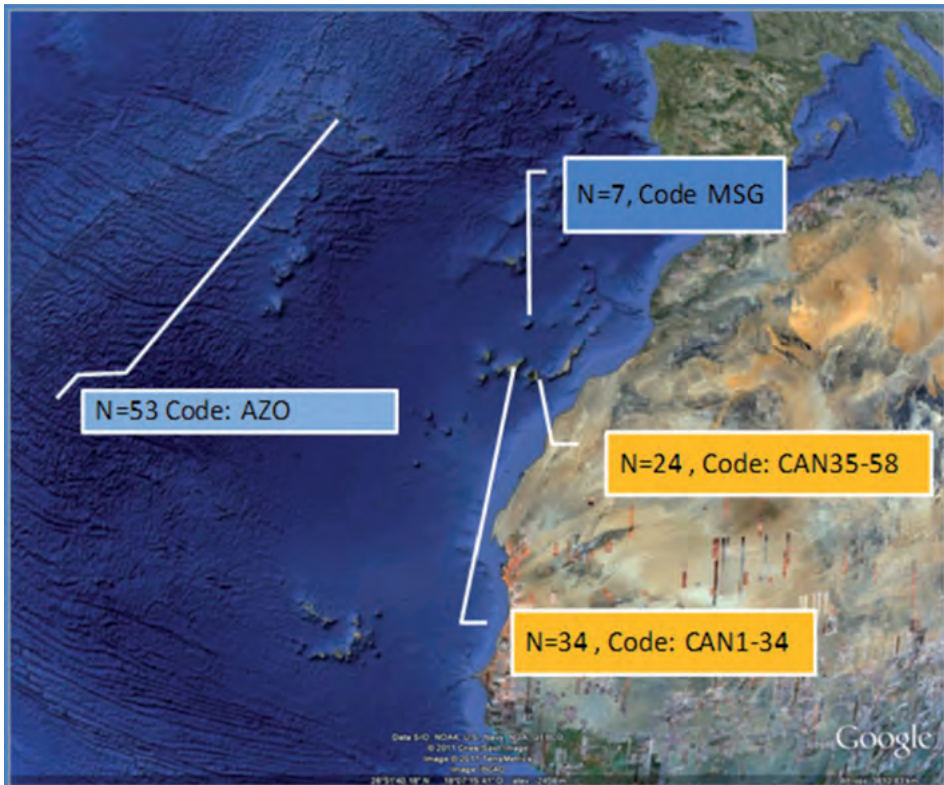


Figura 2.- Localización y número de individuos de *Megabalanus azoricus* utilizados en el presente estudio.

Secuenciación: los productos de PCR fueron tratados con ExoSAP-It (APBiotech). La secuenciación de los productos de PCR se llevó a cabo usando el kit BigDye 3.1 sequencing (Applied Biosystems). Los productos de extensión se purificaron con las columnas DyeEx 2.0 Spin (Qiagen), siendo detectados en un secuenciador automático ABI PRISM 377XL (Applied Biosystems). Los electroferogramas fueron revisados, y las secuencias editadas y alineadas con BioEdit 7.0.1 (Hall *et al.*, 1999).

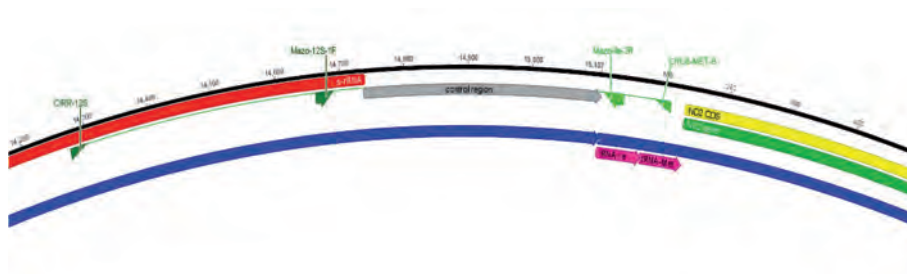


Figura 3.- Esquema de la zona de amplificación mostrando la región control mitocondrial, genes flanqueantes y situación de los cebadores diseñados (Mazo-12S-1F y Mazo-12S-2R).

Análisis de secuencias: el análisis de las secuencias obtenidas y el cálculo de estimaciones básicas se llevó a cabo mediante el uso de los programas DnaSP (Rozas *et al.*, 2003), Arlequín (Excoffier *et al.*, 2005) y Network (Bandelt *et al.*, 1999). Se obtuvieron así los valores de diversidad nucleotídica y haplotípica, heterogeneidad geográfica y relaciones filogenéticas entre haplotipos, distribuciones de desajustes entre pares de secuencias, estimación de flujo génico entre muestras, estimación de estadísticos poblacionales y el análisis de la variación jerarquizada de la variabilidad genética poblacional mediante AMOVA.

Resultados y discusión

El alineamiento de 426 pb obtenido para las 102 secuencias de *Megabalanus azoricus*, incluye individuos de Azores (AZO), Salvagems (MSG) y Canarias (CAN). Se han detectado 10 huecos en el alineamiento, con 41 sitios polimórficos (Tabla I).

Tabla I.- Datos y parámetros básicos estimados para las poblaciones muestreadas y basados en las secuencias obtenidas de la región control, incluyendo h (diversidad haplotípica) y π (diversidad nucleotídica).

Población	N individuos	N secuencias	N haplotipos	h	π
Azores	53	42	19	0,864	0,0104
Canarias	58	53	34	0,941	0,0141
Salvagems	7	7	6	0,952	0,0125

La red de haplotipos, estimada a partir de las secuencias de la región control para las

muestras poblacionales de Canarias, Salvagem y Azores, muestra un haplotipo mayoritario (N=27) representado de forma similar en las poblaciones de Canarias y Azores, y presente en un individuo de Salvagem. Un segundo haplogrupo divergente incluye dos haplotipos mayoritarios, cada uno de ellos presente mayoritariamente en la muestra de Canarias o en la de Azores. Un tercer grupo de haplotipos, minoritarios y altamente divergentes, se ha detectado en las poblaciones con un mayor muestreo: Canarias y Azores. La mayoría del resto de haplotipos constituyen haplotipos radiales de los mayoritarios (Fig. 4).

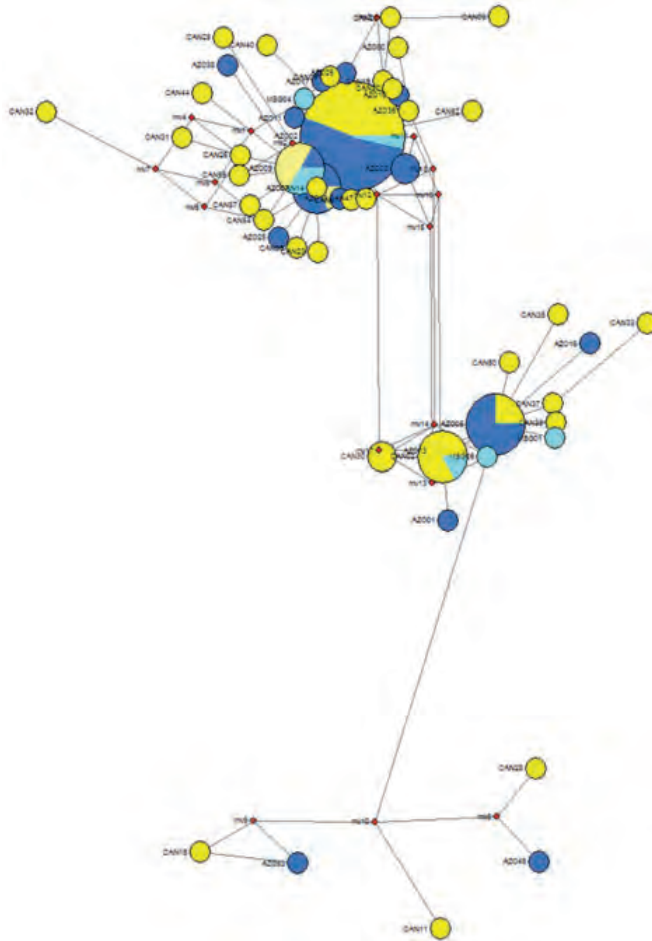


Figura 4.- Rede de haplotipos calculada a partir de las secuencias obtenidas de la región control de las muestras de Azores (azul), Salvagem (azul claro) y Canarias (amarillo) de *Megabalanus azoricus*. Cada círculo se muestra proporcional al número de individuos que presentan tal haplotipo. El nodo rojo indica un haplotipo intermedio no existente o no detectado. Los nodos sobre las ramas indican la posición nucleotídica que alberga el polimorfismo.

La presencia de los haplotipos divergentes se refleja en la distribución de las diferencias entre pares de secuencias observada (Fig. 5).

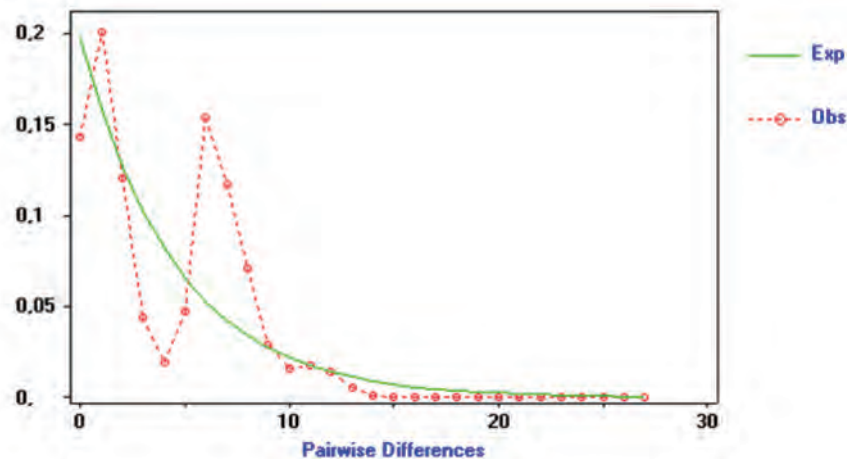


Figura 5.- Distribución entre pares de secuencias de la región control de *Megabalanus azoricus*. La línea roja indica las diferencias observadas, mientras que la línea verde muestra la distribución de las diferencias esperadas bajo un modelo de tamaño constante de la población.

El análisis del flujo génico se ha basado en las estimaciones a partir de los datos de la región control, debido a la mayor resolución presentada por esos datos. Se incluyen así, las 3 poblaciones muestreadas en las islas Azores, Salvagems y Canarias con un total de 102 secuencias alineadas.

La estimación del estadístico F_{st} indica una ausencia de diferenciación poblacional entre las 3 muestras estudiadas (Azores, Salvagems y Canarias), con valores no significativos ($P > 0.5$) (Tabla II). Los valores de N_m estimados son de infinito, sin significancia alguna.

Tabla II.- Valores de F_{st} entre pares de poblaciones, basados en distancias de Tamura-Nei.

Azores	0
Canarias	-0,00965 0
Salvagems	-0,01713 -0,05009 0

El análisis de AMOVA (Análisis Molecular de la Varianza) indica, de forma congruente con los anteriores análisis, una falta de diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas. Ninguna de las estructuras evaluada presenta valores significativos. Por ejemplo, la definición de un grupo incluyendo las muestras de Canarias y Salvagens frente a la muestra de Azores, no permite detectar ninguna variación asociada a dichos grupos. La mayoría de la variación detectada se localiza dentro de las poblaciones (Tabla III).

Tabla III.- Análisis de AMOVA (análisis molecular de la varianza) basado en las secuencias de la región control de *Megabalanus azoricus*.

Fuente Variación	Componente varianza	% Variación	Índices	P
Entre grupos	0,07845	3,37	Fct	0,32
Entre poblaciones dentro de grupos	-0,1050	-4,51	Fsc	0,77
Dentro de poblaciones	2,35	101,14	Fst	0,74

Conclusiones

Este análisis preliminar indica un elevado flujo génico entre los archipiélagos macaronésicos, con una ausencia de diferenciaciones poblacionales significativas, conllevando la definición de un único pool genético para *Megabalanus azoricus* en la región Macaronésica. Sin embargo, la presencia de haplogrupos divergentes augura una compleja filogeografía para esta especie.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el PROGRAMA DE COOPERACIÓN TRANSACCIONAL AZORES-MADEIRA-CANARIAS (PCT-MAC). Proyecto Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia. BANGEN (MAC/1/C070).

Bibliografía

- Bandelt H.J., Forster P., Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16(1): 37-48.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinf. Online*, 1: 47-50.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Henry D.P., McLaughlin P.A. 1986. The recent species of *Megabalanus* (Cirripedia: Balanomorpha) with special emphasis on *Balanus tintinnabulum* (Linnaeus) *sensu lato*. *Zoologische Verhandlungen*, 235: 3-60.
- Quinteiro J., Rodríguez-Castro J., Rey-Méndez M. 2007. Population genetic structure of the stalked barnacle *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1789) in the northeastern Atlantic: influence of coastal currents and mesoscale hydrographic structures. *Mar. Biol.* 153(1): 47-60.
- Rozas J., Sánchez-del Barrio J.C., Messeguer X., Rozas R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496-2497.

DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA CLACA (*MEGABALANUS AZORICUS* PILSBRY, 1916) EN LOS ARCHIPIÉLAGOS DE LA REGIÓN MACARONÉSICA

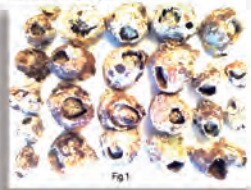
Quinteiro J.¹,
Pérez-Díez L.¹,
Rodríguez-Castro J.¹,
Manent P.²,
Araujo R.³,
Carreira G.⁴,
Brito A.⁵,
González N.² y
Rey-Méndez M.^{1,2}



¹Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad Asociada al CSIC), Departamento de Biología y Biología Molecular, CIBIO, Campus Vida, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña, España.
²Instituto Canario de Ciencias Marinas, Gran Canaria, España.
³Museo de Historia Natural do Funchal, Madeira, Portugal.
⁴Universidade dos Açores, Açores, Portugal.
⁵Universidad de La Laguna, Tenerife, España.
Email: jquinteiro@usc.es

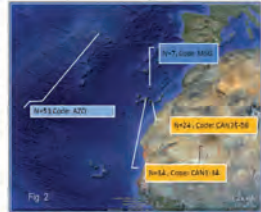
Introducción

La claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), es un cirripedo *Balanomorpha* intensamente explotado en los archipiélagos atlánticos de la región macaronésica (Fig. 1). En consecuencia, el estado de conservación posiblemente se encuentre en un nivel crítico. Ante esta situación es indispensable el conocimiento de la diversidad genética y su estructuración en el área de distribución de la especie.



Materiales y Métodos

Muestras. Han sido obtenidos 3 muestras de estas cirripodomas geográficas en el caso de una muestra con un total de 103 individuos de *Megabalanus azoricus*, en el archipiélago de Canarias, en las islas Lanzarote y en el archipiélago de las Azores (Fig. 2). **Alineamiento de ADN.** Se isoló mucosa preservada a 20°C. Se aisló, usando para el aislamiento de ADN una muestra, utilizando 10 mg de cada individuo para el aislamiento mediante el kit EZNA-DNA lysis (Omega Bio-Lab). **PCR.** La región control mitocondrial de *Megabalanus azoricus* fue localizada entre las genes 12S rRNA y el 16S rRNA de acuerdo a la información. Disponible sobre el genoma mitocondrial de *Megabalanus azoricus* (NC 300283). Esta región comprendió entre dichos genes la característica mediante la secuenciación con sondas específicas de primario (Quinteiro et al., 2007). A partir de la secuencia obtenida fueron diseñadas sondas específicas para *M. azoricus*: *megazones* M100 (259 bp) y *megazones* M2 (259 bp). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en 15 µL de volumen, utilizando un reactivo comercial (9500 (Applied Biosystems). Cada reacción incluyó 10 µL de *Acidic Buffer* (Phenag), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM de cada dNTP, 0.1 unidades de *GoTaq* (Promega), 0.1 µM de cada cebador y 0.5 µL de la solución de ADN. El perfil térmico de la PCR para la región control mitocondrial fue el siguiente: 95°C, 2 min, seguido de 35 ciclos de 95°C, 45 s, 55°C, 45 s y 72°C, 1 min. **Secuenciación.** Los productos de PCR fueron tratados con ExoSAP-IT (Applied Biosystems). La secuenciación de los productos de PCR se llevó a cabo usando el kit BigDye 3.1 sequencing (Applied Biosystems). Los productos de secuencia se purificaron con las columnas Sephadex 25 (Spin Column), siendo secuenciados en un secuenciador automático ABI PRISM 3770XL (Applied Biosystems). Los electrogramas fueron revisados y las secuencias editadas y alineadas con *Clustal W*. **El análisis de las secuencias filogenéticas y el cálculo de estimaciones filogenéticas se llevó a cabo mediante el uso de los programas MEGA2 (Molecular Evolutionary Analysis) y *henn86*. Se han obtenido así los valores de diversidad nucleotídica y haplotípica, heterogeneidad genética y nucleotídica. Se han obtenido, asimismo, distribuciones de densidades entre pares de secuencias, estimación de flujo génico entre muestras, estimación de estadísticas poblacionales y el análisis de la asociación proporcional de la variabilidad genética poblacional mediante AMOVA.**



Resultados y Discusión

El alineamiento de 426 pb obtenido para las 102 secuencias de *Megabalanus azoricus*, incluye individuos de Azores (AZO), Salvagem (MSG) y Canarias (CAN). Se han detectado 10 huecos en el alineamiento, con 41 sitios polimórficos (Tabla 1).

Posición	Secuencia	Secuencia	Secuencia	Secuencia
1	ATG	ATG	ATG	ATG
2	ATG	ATG	ATG	ATG
3	ATG	ATG	ATG	ATG
4	ATG	ATG	ATG	ATG
5	ATG	ATG	ATG	ATG
6	ATG	ATG	ATG	ATG
7	ATG	ATG	ATG	ATG
8	ATG	ATG	ATG	ATG
9	ATG	ATG	ATG	ATG
10	ATG	ATG	ATG	ATG

La red de haplotipos, estimada a partir de las secuencias de la región control para las muestras poblacionales de Canarias, Salvagem y Azores, muestra un haplotipo mayoritario (N=27) representado de forma similar en las poblaciones de Canarias y Azores, y presente en un individuo de Salvagem. Un segundo haplogrupo divergente incluye dos haplotipos mayoritarios, cada uno de ellos presente mayoritariamente en la muestra de Canarias o en la de Azores. Un tercer grupo de haplotipos, minoritarios y altamente divergentes, se ha detectado en las poblaciones con mayor muestreo: Canarias y Azores. La mayoría del resto de haplotipos constituyen haplotipos radiales de los haplotipos mayoritarios (Fig. 4).

La presencia de los haplotipos divergentes se refleja en la distribución de las diferencias entre pares de secuencias observada (Fig. 4).

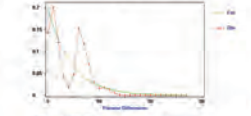


Figura 4. Distribución de las diferencias entre pares de secuencias observada en las muestras poblacionales de Canarias, Salvagem y Azores. La línea alta indica el número de diferencias entre pares de secuencias observadas en las muestras de Canarias, la línea media indica el número de diferencias entre pares de secuencias observadas en las muestras de Salvagem y la línea baja indica el número de diferencias entre pares de secuencias observadas en las muestras de Azores.

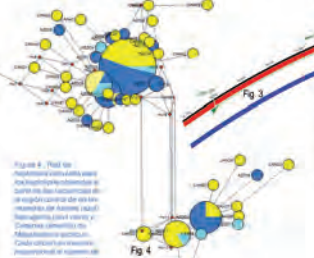


Figura 4. Red de haplotipos para *Megabalanus azoricus* estimada a partir de las secuencias de la región control para las muestras poblacionales de Canarias, Salvagem y Azores. El tamaño de los círculos indica el número de individuos que poseen cada haplotipo. El color indica el grupo de haplotipos al que pertenece cada individuo. El tamaño de los círculos indica el número de individuos que poseen cada haplotipo. El color indica el grupo de haplotipos al que pertenece cada individuo. El tamaño de los círculos indica el número de individuos que poseen cada haplotipo. El color indica el grupo de haplotipos al que pertenece cada individuo.

Conclusiones

Este análisis preliminar indica un elevado flujo génico entre los archipiélagos macaronésicos, con una ausencia de significativas diferenciaciones poblacionales, confirmando la definición de un único pool genético para *Megabalanus azoricus* en la región Macaronésica. Sin embargo, la presencia de haplogrupos divergentes sugiere una compleja filogeografía para este especie.

Fig. 2

El análisis del flujo génico se ha basado en las estimaciones a partir de los datos de la región control, debido a la mayor resolución presentada por estos datos. Se incluyen así, las 3 poblaciones muestreadas en las islas Azores, Salvagem y Canarias con un total de 102 individuos analizados. La estimación del estadístico *F_{st}* indica una ausencia de diferenciación poblacional entre las 3 muestras estudiadas (Azores, Salvagem y Canarias), con valores no significativos ($P > 0.5$) (Tabla 2). Los valores de *N_m* estimados son de *inf*, sin significación alguna.

El análisis de AMOVA (Análisis Molecular de la Varianza) indica, de forma congruente con los anteriores análisis, una falta de diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas. Ninguna de las estructuras evaluada presenta valores significativos. Por ejemplo, la definición de un grupo incluyendo las muestras de Canarias y Salvagem frente a la muestra de Azores, no permite detectar ninguna variación asociada a dichos grupos. La mayoría de la variación detectada se localiza dentro de las poblaciones (Tabla 3).

Grupos	Entre grupos	Dentro grupos	Total
Canarias	0.000	0.000	0.000
Salvagem	0.000	0.000	0.000
Azores	0.000	0.000	0.000

Tabla 3. Resultados de AMOVA (Análisis Molecular de la Varianza) para *Megabalanus azoricus* basados en los datos de la región control de 102 individuos muestreados.

Fuente de variación	Componentes principales	λ	W	η	P
Entre grupos	1.000	0.000	0.000	0.000	0.22
Dentro grupos	4.999	0.000	0.000	0.000	0.00
Total	6.000	0.000	0.000	0.000	0.00

Referencias

Quinteiro, J., Pérez-Díez, L., Rodríguez-Castro, J., Manent, P., Araujo, R., Carreira, G., Brito, A., González, N., Rey-Méndez, M. (2007). Molecular genetic diversity for polymorphic mitochondrial cytochrome b and control region of *Megabalanus azoricus* (Cirripedia: Thoracica) in the Macaronesic region. *Journal of Molecular Evolution* 65, 545-555.

Quinteiro, J., Rodríguez-Castro, J., Pérez-Díez, L., Manent, P., Araujo, R., Carreira, G., Brito, A., González, N., Rey-Méndez, M. (2007). Population genetic structure of the Atlantic Cirripedia *Megabalanus azoricus* (Cirripedia: Thoracica) in the Macaronesic region: evidence of genetic connectivity and recent genetic divergence. *Journal of Molecular Evolution* 65, 545-555.

Quinteiro, J., Rodríguez-Castro, J., Pérez-Díez, L., Manent, P., Araujo, R., Carreira, G., Brito, A., González, N., Rey-Méndez, M. (2007). Genetic diversity and population structure of the Atlantic Cirripedia *Megabalanus azoricus* (Cirripedia: Thoracica) in the Macaronesic region: evidence of genetic connectivity and recent genetic divergence. *Journal of Molecular Evolution* 65, 545-555.

Efecto de alimentos con harina de lombriz en alevines de trucha

Isea León^{1*} F., Medina² A.L., Rial² L., González¹ A., Aguirre³ P.

¹Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR), Coordinación de Ingeniería de Alimentos. 4058. Santa Bárbara de Zulia, Venezuela.

*E-mail: iseaf@unesur.edu.ve, fernandoisea@yahoo.es

²Universidad de Los Andes (ULA-Mérida). Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Mérida, Venezuela.

³Unidad Mixta de Investigación, Institut National de Recherche Agronomique (INRA) Saint Pee Sur Nivelles, Francia.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la harina de lombriz como alternativa de sustitución de la harina de pescado en la alimentación de alevines de trucha arcoíris. Esta investigación fue realizada en las instalaciones de la Estación Experimental Truchícola INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas), La Mucuy, estado Mérida, Venezuela. Se utilizaron un total de 1.500 alevines de trucha, de los cuales se seleccionó un pool inicial (300 g de alevines) y del resto se colocaron 100 alevines/tanque. Se evaluaron cinco (5) alimentos con o sin la incorporación de la harina de lombriz (HLF), harina de pescado a base de trucha de descarte (HPT) y harina de pescado cumana (HPC) venezolana, además de un alimento comercial (Trucharina) con tres (3) repeticiones, para un total de 15 grupos de alevines. Se determinó el peso (g) y talla (cm), inicial y final de los alevines evaluados, así mismo durante el transcurso de este ensayo se tomaron datos diarios del tanto por ciento de mortalidad. Los alevines del pool inicial y los alimentados durante el ensayo fueron sacrificados y sometidos a liofilización, posteriormente se realizaron las determinaciones de composición química de la carne. El alimento a base de harina de trucha de descarte en un

70%, fue la que tuvo la mejor respuesta en los parámetros zootécnicos nutricionales. En un análisis de correlación proteína/grasa se obtuvo que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la composición de la carne de los alevines para estas variables, entre los distintos alimentos, infiriendo que un incremento en grasa del mismo, produce un aumento de grasa en la carne y una disminución en su composición proteica, por tal motivo se observó una mayor incorporación proteica en los alimentos formulados con harina de lombriz y bajo contenido graso. Los mayores valores en peso se presume fueron a causa del porcentaje de grasa de los alimentos que fueron suministrados e incorporados en la carne del alevín. La talla no sufrió mucha diferencia entre los alevines de las dietas con mayor contenido graso, pero fue inferior en dietas a base de harina de lombriz con menor contenido graso.

Palabras clave

Lombriz, harina, trucha, alevines.

Introducción

El cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se produce en Venezuela desde el año 1937 (Bastardo, 1994), constituyendo un recurso biológico de gran relevancia para las zonas altas andinas de los estado Mérida, Trujillo y Táchira. Al inicio del cultivo, la alimentación se efectuaba utilizando alimento fresco (vísceras de res), posteriormente, la empresa privada comenzó la fabricación de alimentos para esta especie de pez, luego se incorporaron otras empresas comerciales que se dedicaban a la formulación de alimentos para todo tipo de animales, las cuales no han tenido una producción sostenible ni en calidad, ni en disponibilidad (Bastardo *et al.*, 1997). Por otro lado, en Venezuela no se fabrica harina de pescado de calidad, principal materia prima usada en las formulaciones alimenticias de peces carnívoros.

Una clave para resolver este dilema será el continuo progreso para mejorar la eficacia de las fórmulas de los alimentos (piensos), reduciendo la cantidad de harina de pescado que contienen y buscando variantes de base vegetal u otras fuentes proteicas alternativas (FAO, 2006).

Una opción podría ser la harina de lombriz, que posee una composición proteica bastante importante de hasta un 70% de proteína (Isea *et al.*, 2007). Existen diferentes trabajos que

recomiendan el uso de la harina de lombriz para enriquecer alimentos tanto para consumo animal como humano (Velásquez *et al.*, 1986; Medina, *et al.*, 2003), debido a que ésta posee un alto porcentaje de proteína (> 60% p/p, base seca) de interés nutricional ya que proporciona aminoácidos esenciales (Velásquez *et al.*, 1986), entre ellos es importante mencionar a la lisina, aminoácido que suele estar ausente en los alimentos básicos (Albarran, 1996).

En este trabajo se persigue evaluar el uso de la harina de lombriz sobre la talla, peso y composición de la carne de alevines de trucha arcoíris.

Materiales y métodos

Materias Primas

Se utilizó como materias primas: harina de lombriz (*Eisenia andrei*) [HLF] y harina de pescado a base de truchas de descarte [HPT] procesadas en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes-Mérida; harina de pescado Cumaná [HPC] suministrada por el INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias) Cumana, elaborada a partir de desechos de pescado de fábricas ubicadas en el estado Sucre, Venezuela; harina de afrecho de trigo [HAT] y harina de maíz amarillo [HMA] adquirido del mercado local. También se usaron otros ingredientes como: aceite de pescado, mezclas de vitaminas, mezcla de minerales y carboximetil celulosa [CMC] (agente ligante). A estas materias primas se les realizó el análisis proximal [materia seca (MS), humedad (H), proteína bruta (PB), grasa bruta (GB), cenizas (C) y por diferencia entre todos, excluyendo la MS, se obtuvo el contenido de extractos no nitrogenados brutos (ENNB)] de las materias primas: harina de lombriz (HLF), harina de pescado trucha (HPT), harina de pescado Cumaná (HPC), harina de afrecho de trigo (HAT) y harina de maíz amarillo (HMA), según lo establecido en la AOAC, 1990.

Diseño de hoja de cálculo para la formulación alimenticia

Luego de obtener los datos del análisis proximal, se procedió al diseño de una hoja de cálculo Excel para la determinación de la composición porcentual de cada ingrediente, y obtener la receta de preparación de los alimentos (Tabla I) y la composición química de éstos (Tabla II) de acuerdo al porcentaje de sustitución de las materias primas en estudio, en este caso HLF; HPC, y la HPT, fijando los valores porcentuales de los demás ingredientes [Harina de maíz amarillo (HMA), harina de afrecho de trigo (HAT), aceite de pescado, mezcla de

vitaminas, mezcla de minerales y carboximetil celulosa (CMC)].

Tabla I.- Formulación alimenticia en porcentaje (g/100g).

Materias Primas	Alimentos			
	08-FI-01	08-FI-02	08-FI-03	08-FI-04
Harina Pescado Trucha	70	30	0	0
Harina de Pescado Cumana	0	0	70	30
Harina de Lombriz Farmacia	0	40	0	40
Aceite de pescado	10	10	10	10
Harina de afrecho de trigo	6	6	6	6
Harina de maíz amarillo	10	10	10	10
Mezcla Mineral	1	1	1	1
Mezcla Vitamínica	1	1	1	1
CMC	2	2	2	2
Total	100	100	100	100

08-FI-01: Alimento 1, Fernando Isea, 2008; 08-FI-02: Alimento 2, Fernando Isea, 2008
 08-FI-03: Alimento 3, Fernando Isea, 2008; 08-FI-04: Alimento 4, Fernando Isea, 2008

Tabla II.- Composición química de los alimentos.

Alimentos	Humedad%	Proteína%	Lípidos%	ENN%	Cenizas%
08-FI-01	3,4	44,7	30,2	15,3	6,4
08-FI-02	5,8	47,2	21,8	19,8	5,5
08-FI-03	1,9	43,3	20,2	21,4	13,2
08-FI-04	5,1	46,5	17,5	22,4	8,4

08-FI-01: Alimento 1, Fernando Isea, 2008; 08-FI-02: Alimento 2, Fernando Isea, 2008

08-FI-03: Alimento 3, Fernando Isea, 2008; 08-FI-04: Alimento 4, Fernando Isea, 2008

ENN: Extractos no nitrogenados

La mezcla de minerales se preparó en el laboratorio a partir de reactivos del mismo, siguiendo las especificaciones de cantidades presentes en la tabla C.16, anexo C., ejemplo de mezcla mineral para peces (Kaushik y Cuzon, 1999), citado en el libro “Nutrición y alimentación de peces y crustáceos” (Guillaume *et al.*, 1999). Para el caso de mezcla de vitaminas, del mismo modo se baso en las recomendaciones presentes en la tabla C.15 Ejemplo de mezcla de vitaminas para peces (Kaushik y Cuzon, 1999), presente en los anexos de necesidades nutricionales, formulas, tipos, tablas de racionamiento y diversas fuentes del libro “Nutrición y alimentación de peces y crustáceos” (Guillaume, *et al.*, 1999). Usando como

base un producto comercial denominado Aminovival (Polivitaminas y aminoácidos) marca VALMORCA, incorporándole las vitaminas faltantes mediante el uso de Vitamina E 60, capsulas blandas de 400 mg marca PLUSANDES, Vitamina C (en forma de ascorbato de sodio) de 500 mg marca LETISAN y Vitamina A cristalina Alfa-Mon marca BIOTECH.

Preparación de los alimentos (Dietas)

Para la preparación de los alimentos identificados como (08-FI-01; 08-FI-02; 08-FI-03 y 08-FI-04) se utilizó la hoja de registro de componentes de los mismos (Tabla I), se procedió a realizar el pesaje de las materias primas en una balanza, se colocó el envase de mezclado plástico, se taró y se colocó el primer ingrediente, seguidamente, se volvió a tarar y se colocó el segundo ingrediente, y así sucesivamente hasta incorporar todos los componentes de la formula; en total se prepararon 2 kg de alimento por cada dieta experimental. Posteriormente, se llevó el envase a un equipo de mezclado y se comenzó la incorporación del agua (500 mL) poco a poco para facilitar la formación de la masa adecuada, que se establece como consecuencia de la combinación del ligante (CMC) con el agua. Al tacto la mezcla permaneció bien unida cuando se hizo presión con la mano indicando una buena acción del agente ligante. Al obtener la consistencia adecuada, se procedió a llevar la preparación a otro equipo [procesador de carne] para la fabricación de los gránulos (pellets) marca C.A.F Modelo 10. El siguiente paso consistió en colocar los fideos preparados en un envase plástico y transportados hacia el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ingeniería de la ULA-Mérida, donde posteriormente fueron colocados en bandejas previamente acondicionada con papel encerado, identificadas con el código correspondiente del alimento y trasladada a una estufa ventilada, a una temperatura de 60 °C por 24 horas. Durante la preparación de los fideos, se tomaron muestras para los análisis respectivos de la composición practica de los alimentos, para ello se tomo una bandeja de aluminio rotulada y se colocó el resto de mezcla para su secado en la estufa.

Trascurrido el tiempo de secado de los fideos, se procede al molido de los mismos y el producto obtenido fue llevado a la nevera refrigerada y trasladados posteriormente a la “Estación Experimental Truchícola” del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) del estado Mérida, donde se montó posteriormente el ensayo biológico.

Análisis de los alimentos formulados

Luego de obtenida la muestra seca de los alimentos, se procedió a su molido para tener un tamaño de partícula uniforme, este procedimiento se realizó con el equipo de procesamiento de alimentos marca Oster, posteriormente las muestras fueron envasadas e identificadas para

proceder luego a su análisis proximal de rutina [materia seca (MS), humedad (H), proteína bruta (PB), grasa bruta (GB), cenizas (C) y por diferencia entre todos, excluyendo la MS, se obtuvo el contenido de extractos no nitrogenados brutos (ENNB)] y de esta manera obtener los valores prácticos de la experiencia a realizar. Todos estos análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bromatología I del Departamento de Ciencia de Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la ULA.

Ubicación y montaje del ensayo biológico de valorización de la harina de lombriz (*Eisenia andrei*)

Esta experiencia fue realizada en las instalaciones de la Estación Experimental Truchícola INIA, La Mucuy, ubicada en el Parque nacional Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela, a una altitud de 2.300 msnm, latitud norte 8° 40' y longitud oeste 71° 5'. El agua utilizada para mantener los alevines de trucha es de origen glacial, naciente de la Sierra Nevada a 4200 msnm.

En este estudio, se utilizaron un total de 1.500 alevines de trucha, los cuales se obtuvieron en la estación de un lote cuya fecha de incubación fue el 03/10/2007, fecha de eclosión 01/11/2007, su primera alimentación fue el 19/11/2007. El ensayo fue montado el 07/01/08 (Es decir, alevines de 2 meses de eclosionados), para ello se decidió colocar 100 alevines/tanque, colectándolos y pesándolos en una balanza analítica marca Adventurer® marca OHAUS de precisión 10^{-4} , para obtener su peso (g) inicial en pool, seguidamente estos fueron colocados en el tanque correspondiente, previamente identificado, para así proporcionarles el primer alimento, consecutivamente se le suministraría el alimento y a los treinta (30) días se volvería a tomar el peso en pool total de los alevines.

El agua usada en esta investigación presentó las siguientes características: $12,70 \pm 0,300$ °C de temperatura promedio; pH promedio de $7,27 \pm 0,203$; conductividad promedio de $0,057 \pm 0,013$ ms/s y $10,63 \pm 0,166$ mg/mL de oxígeno disuelto promedio.

Durante el transcurso de este ensayo se tomaron datos diarios del tanto por ciento de mortalidad de los alevines, cantidad de alimento consumido (g), peso de alevines (g). Se tomó una muestra inicial de 300 g de alevines, la cual fue sometida a un tratamiento de sacrificio y trasvasado en una bolsa plástica hermética rotulada y conservado a -20 °C, para posteriormente liofilizarla y hacerle los análisis de su composición (valor de referencia inicial de composición del lote de alevines).

Se evaluaron cinco (5) alimentos con o sin la incorporación de la HLF, HPT, o HPC, y uno comercial (Trucharina) con tres (3) repeticiones, para un total de 15 grupos de alevines, los

cuales al final del ensayo fueron pesados con una balanza analítica marca Adventurer® marca OHAUS de precisión 10^{-4} . En esta experiencia se efectuó la medición de la talla (longitud) y peso, con un alevinometro (equipo de medición de talla de alevines) marca TESOVI, y una balanza analítica de precisión 1×10^{-4} Adventurer® marca OHAUS, respectivamente, de 6 alevines/repeticion/alimento aleatoriamente, al inicio y al final del ensayo.

A los resultados se les aplicó un análisis estadístico descriptivo, con análisis de varianza (ANOVA) para las variables longitud y peso, la prueba de rango múltiple de Tukey para evaluar las diferencias en composición de la carne; y análisis de varianza multivariado MANOVA y el análisis de correlación simple para proteína/grasa. Estos cálculos se efectuaron utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Product and Service Solutions) versión 13 y SAS (Statistical Analysis Software) versión 9.1, para Windows.

Resultados

A continuación se listan los resultados más resaltantes de esta investigación:

Tabla III.- Composición físico-química de harina de carne de alevines de trucha arco iris provenientes del estudio nutricional de evaluación de la harina de lombriz (*Eisenia andrei*).

Alimento	% Humedad	% MS	% Proteína**	% Grasa**	% Ceniza**	% ENN**
08-FI-01	5,0 ^d ±1,394	95,0 ^a ±1,138	53,1 ^a ±0,539	37,5 ^e ±0,929	6,7 ^a ±0,361	2,7 ^a ±0,367
08-FI-02	3,3 ^b ±1,005	96,7 ^{bc} ±0,177	69,0 ^d ±0,389	18,6 ^b ±0,450	10,0 ^c ±0,450	2,5 ^a ±0,846
08-FI-03	4,0 ^c ±0,776	96,0 ^{ab} ±0,876	63,2 ^c ±0,912	25,0 ^c ±0,498	8,8 ^b ±0,414	3,0 ^{ab} ±0,382
08-FI-04	3,1 ^b ±0,515	97,0 ^{bc} ±0,497	71,0 ^c ±0,733	15,6 ^a ±0,441	10,8 ^d ±0,226	2,7 ^a ±0,685
Trucharina	2,8 ^a ±0,282	97,2 ^c ±0,268	60,1 ^b ±0,534	27,4 ^d ±0,433	8,6 ^b ±0,331	3,9 ^b ±0,449
Pool Inicial	7,8 [*] ±0,140	92,2 [*] ±0,140	60,9 [*] ±0,280	17,0 [*] ±0,025	8,5 [*] ±0,229	5,9 [*] ±0,254

08-FI-01: 70% harina de trucha de descarte; 08-FI-02: 40% harina de lombriz + 30% harina de trucha de descarte; 08-FI-03: 70% harina de pescado Cumaná; 08-FI-04: 40% harina de lombriz + 30% harina de pescado Cumaná; MS: Materia seca; ENN: Extractos No Nitrogenados. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

*Valores del Pool Inicial como punto de comparación sin aplicación de ANOVA ni análisis de Tukey por ser solo una muestra global.

**Valores expresados en base seca

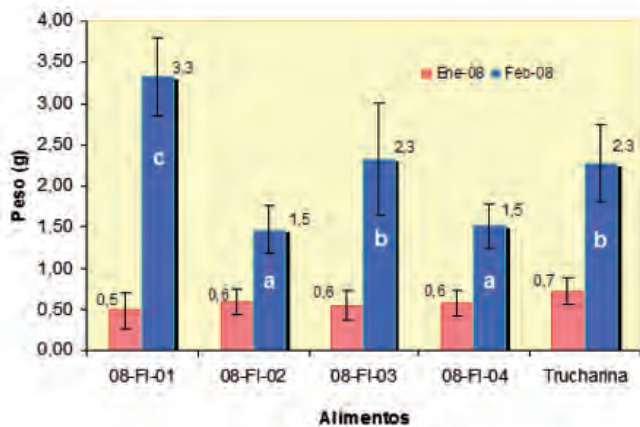


Figura 1.- Peso (g) inicial y final de alevines alimentados con dietas a base de 40% de harina de lombriz (*Eisenia andrei*). 08-FI-01: 70% harina de trucha de descarte; 08-FI-02: 40% harina de lombriz + 30% harina de trucha de descarte; 08-FI-03: 70% harina de pescado Cumaná; 08-FI-04: 40% harina de lombriz + 30% harina de pescado Cumaná.

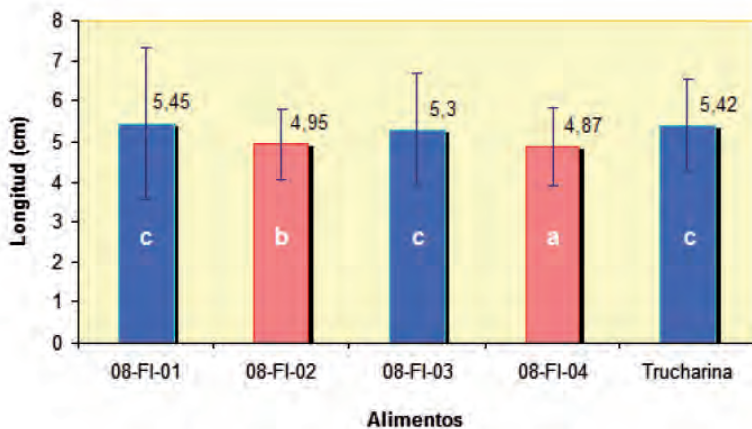


Figura 2.- Longitud (cm) inicial y final de alevines alimentados con dietas a base de 40% de harina de lombriz (*Eisenia andrei*). 08-FI-01: 70% harina de trucha de descarte; 08-FI-02: 40% harina de lombriz + 30% harina de trucha de descarte; 08-FI-03: 70% harina de pescado Cumaná; 08-FI-04: 40% harina de lombriz + 30% harina de pescado Cumaná.

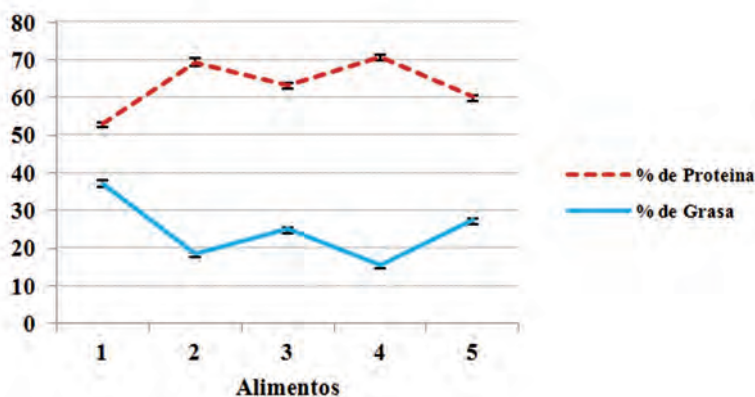


Figura 3.- Correlación entre el contenido de proteína y grasa de la carne de alevines alimentados con dietas a base de 40% de harina de lombriz (*Eisenia andrei*). 08-FI-01: 70% harina de trucha de descarte; 08-FI-02: 40% harina de lombriz + 30% harina de trucha de descarte; 08-FI-03: 70% harina de pescado Cumaná; 08-FI-04: 40% harina de lombriz + 30% harina de pescado Cumaná.

Discusión

La tabla III, muestra la composición físico-química de la carne liofilizada de los alevines de trucha arco iris, provenientes del estudio nutricional de evaluación de la harina de lombriz (*Eisenia andrei*), luego de ser alimentados. La prueba de rango múltiple de Tukey mostró, igualmente, que existen diferencias ($P < 0,05$) entre las diferentes componentes de las muestras.

Los valores en humedad de los alevines liofilizados oscilaron entre 2,8 y 7,8; para la materia seca fluctuaron entre 95,0% y 97,2%; siendo los alimentos: Trucharina, 4 (08-FI-04) y 2 (08-FI-02), los que presentaron los mayores porcentajes. Con respecto al contenido proteico, los contenidos variaron entre 53,1% y 71,0%, presentando los mayores valores los alevines de los alimentos 4 (08-FI-04), 2 (08-FI-02) y 3 (08-FI-03), los dos primeros con 40% de harina de lombriz y el ultimo con 70% de harina de pescado Cumaná (Tabla 3). Los contenidos en% de grasa, estuvieron comprendidos entre 15,6% y 37,5%, presentando los mayores valores en contenido graso los alevines de los alimentos 1 (08-FI-01), trucharina y

3 (08-FI-03). En cenizas los alevines presentaron material inorgánico entre 6,7% y 10,8%, incorporando las mayores cantidades de minerales los alimentos 4 (08-FI-04), 2 (08-FI-02) y 3 (08-FI-03). Finalmente los % en ENN, estuvieron ubicados entre 2,5% y 5,9%, con los mayores contenidos para los alevines del pool inicial y aquellos cultivados con los alimentos trucharina, 3 (08-FI-03) y 4 (08-FI-04).

Los resultados del peso (g) y longitud (cm) de alevines de trucha arco iris, provenientes del estudio de valorización biológica de la harina de lombriz se muestra en las figura 1 y 2. El análisis de varianza (ANOVA) detectó diferencias significativas ($Z_{4,170}=961,834$, $p < 0,001$) para la variable peso, entre la respuesta del tiempo del ensayo, el tipo de alimento y la interacción tiempo-alimento. No se detectaron diferencias significativas entre los alimentos a base de harina de lombriz (2 y 4), quienes obtuvieron los menores valores, el alimento a base de 70% de harina de pescado cumana y el producto comercial tampoco presentaron entre sí diferencias significativas. Los mayores pesos de alevines los mostró el alimento 1 (08-FI-01) a base de 70% de harina de pescado trucha de descarte (Fig. 1). Estos resultados son similares a los obtenidos por Tacon *et al.*, 1983, quienes evaluaron 3 dietas, un alimento control y dos alimentos con 34% y 68% de harina de lombriz en la dieta, obteniendo como resultado una reducción del peso de los peces alimentados con la harina de lombriz. Los alimentos 3 y producto comercial (Trucharina) fueron los que al igual que el testigo presentaron los mejores valores en ganancia de masa. Estos resultados difieren de los mostrados por Pereira y Gomes (1995) quienes no encontraron diferencias significativas en los pesos finales de alevines alimentados con diferentes porcentajes de sustitución de la harina de pescado por lombriz. Del mismo modo, Stafford y Tacon (1985), no detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en peces de trucha arco iris alimentados con 5%, 10%, 20% y 30% de harina de lombriz en las formula.

En la figura 2, se muestra la variación de la longitud en cm de alevines del estudio de valorización de la harina de lombriz, donde se muestra que los alimentos 1 (08-FI-01), 3 (08-FI-03), y formula comercial, mostraron las mayores tallas de peces y no presentaron diferencias significativas ($p > 0,001$) entre si, al igual que los alimentos 2 y 4, que presentaron los menores valores en longitud, pero muy cercanos. Bastardo *et al.* (2005), obtuvieron longitudes de alevines inferiores (3,73 cm) a las logradas en este estudio con el alimento a base de harina de pescado cumaná (5,3 cm) a pesar de que el tiempo de evaluación fue mayor (90 días), para la dieta a base de 40% de harina de lombriz también se obtuvieron tallas superiores (4,87 cm y 4,95 cm) a las obtenidas por Bastardo *et al.*, 2005 (3,06 cm) a pesar de solo tener 36 días de evaluación.

En la figura 3 se muestra el resultado del análisis de correlación entre el contenido de proteína y grasa de la carne de alevines de trucha arcoíris. El análisis MANOVA detecto

diferencias significativas en la relación del contenido de proteína y grasa de los alimentos suministrados a los alevines; determinando que un incremento en grasa del mismo produce un aumento de grasa en la carne y una disminución en su composición proteica, y viceversa, por tal motivo se observó una mayor incorporación proteica en los alimentos formulados con harina de lombriz y bajo contenido graso en los alimentos formulados. Las tallas y pesos fueron mayores en los peces alimentados con dietas altas en grasa y se presume fue la causa de estos resultados. La trucha, requiere un contenido de lípidos entre 14 y 20%, lo cual mejora el rendimiento del crecimiento y la eficiencia alimenticia, e incluso si hay un aporte proteico menor. Este es el efecto de ahorro de proteínas por los lípidos, el pez toma la energía de los lípidos y gana masa muscular (Guillaume *et al.*, 1999).

Conclusiones

El mayor contenido proteico de la carne lo obtuvieron los alevines alimentados con harina de lombriz, y el mayor contenido en grasa de la carne se presentó en el testigo, dieta a base de pescado y alimento comercial.

El peso y la talla fueron mejores en el testigo, alimento con harina de pescado venezolana y comercial. La relación proteína/grasa determinó un efecto significativo en las variables peso y talla. Los alevines con mayor contenido graso tuvieron mayor peso y talla, pero menos contenido proteico.

Agradecimientos

Al CDCHT: Proyecto N° FA-342-05-01-ED, Universidad de los Andes (ULA), Mérida, y al Programa Alma-Mater OPSU. Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Mérida), al Proyecto FONACIT G-200-5000-869 y al Programa de Cooperación de Posgraduados (PCP) franco-venezolano por los entrenamientos recibidos en Francia.

Bibliografía

- Albarrán G.N. 1996. Formulación de alimentos concentrados para animales a partir de harina de lombriz. [Tesis de licenciatura, Ingeniería]. Laboratorio de Ciencia de los Alimentos. Mérida-Venezuela. Universidad de Los Andes.
- Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, The Association. Washington D.C.
- Bastardo H. 1994. Sobre vivencia de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en condiciones de cultivo, en Mérida Venezuela. *Zootecnia Tropical*. Vol. 12 (1) 77-97.
- Bastardo H., Scorza C., Sofia S. 1997. Histopatología hepática de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, alimentadas con dietas diferentes. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5 (Supl. 1): 267-270.
- Bastardo H., Median A.L., Bianchi G. 2005. Utilización de proteína no convencional en dietas para iniciador de trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*. Sitio Argentino de Producción Animal. AAPA-ALPA, Cuzco-Perú. p 1-5.
- Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Métallier R. 1999. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Ediciones Mundi-Prensa. Edición Española. ISBN: 84-8476-150-9. España. Madrid. 367-382 pp.
- Isea F., Medina A.L., Santiago B., Salcedo D. 2007. Composición química de materias primas usadas En dietas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Boletín del centro de investigaciones biológicas*, volumen 41, no. 2, 2007, pp. 161–180
- Kaushik S.J., Cuzon G. 1999. Besoins nutritionnels, formules types, tables de rationnement et données diverses. In Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot et R. Métallier. *Nutrition et alimentation des poissons et crustacés*. INRA, Francia. 489 p.
- Medina A.L., Cova J.A., Vielma R.A., Pujic P., Carlos M.P., Torres J.V. 2003. Immunological and chemical analysis of proteins from *Eisenia foetida* earthworm. *Food and Agricultural Immunology*, 15 (3/4) :255-263.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 2006. Sala de Prensa. Cerca de la mitad del pescado procede hoy de la acuicultura. 4 de septiembre de 2006, Roma/Nueva Delhi. Disponible en la página: <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2006/1000383/index.html>
- Pereira J., Gomes F. 1995. Growth of rainbow trout fed a diet supplemented with earthworms, after chemical treatment. *Aquaculture International*, 3:36-42.
- Stafford E.A., Tacon A.G.J. 1984a. The use of earthworm as a food for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Institute of Acuaculture, University of Stirling: Scotland.

- Stafford E. A., Tacon A.G.J. 1985. The nutritional evaluation of dried earthworm meal (*Eisenia foetida*, Savigny, 1828) included at low levels in production diets for rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Aquaculture and Fisheries Management*, 16: 213-222
- Tacon A.G.J., Stafford E.A., Edwards C.A. 1983. A preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for rainbow trout. *Aquaculture*. Vol. 35. 187-199.
- Velásquez L., Herrera C., Ibáñez I. 1986. Harina de lombriz. I Parte: Obtención, composición química, valor nutricional y calidad bacteriológica. *Alimentos*, 11 (1): 15-21.



Efecto de Alimentos con Harina de Lombriz en Alevines de Trucha

Isea León¹, F., Medina² A.L., Rial² L., González¹ A. y Aguirre³ P.

¹Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR), Coordinación de Ingeniería de Alimentos. 4058. Santa Bárbara de Zulia, Venezuela iseaf@unesur.edu.ve
²Universidad de Los Andes (ULA-Mérida), Facultad de Farmacia y Bionálisis. Mérida, Venezuela analiza.medina@gmail.com; gonzalezv@unesur.edu.ve
³Unidad Mixta de Investigación, Institut National de Recherche Agronomique (INRA) Saint Pee Sur Nivelle, Francia aguirrepeyo@yahoo.fr



INTRODUCCIÓN

La trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se produce en Venezuela desde 1937 (Bastardo 1994), constituyendo un recurso biológico importante para las zonas altas andinas de los estados Mérida, Trujillo y Táchira. Al inicio la alimentación se efectuaba utilizando alimento fresco (vísceras bovinas), posteriormente algunas empresas iniciaron la fabricación de alimentos, sin embargo, no han tenido una producción sostenible ni en cantidad, ni en disponibilidad (Bastardo et al. 1997). Una clave para resolver este dilema consiste en mejorar la eficacia de las fórmulas de los alimentos (piensos), reduciendo la cantidad de harina de pescado que contienen y buscando variantes de base vegetal u otras fuentes proteicas alternativas (FAO, 2006). Una opción podría ser la harina de lombriz; algunos autores la recomiendan para enriquecer alimentos tanto para consumo animal como humano (Velásquez et al., 1986; Medina, et al., 2003), por su contenido proteico (> 60% p/p, base seca) e interés nutricional (Velásquez et al., 1986). En este trabajo se persigue evaluar el uso de la harina de lombriz sobre la talla, peso y composición de la carne de alevines de trucha arco iris.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3.- Composición físico-química de harina de carne de alevines de trucha arco iris alimentados con harina de lombriz (*Eisenia andrei*).

Alimento	% Humedad	% Sís	% Proteína*	% Grasa**	% Cenizas**	% ENN**
08-FI-01	5,0 ± 0,294	95,0 ± 0,210	33,4 ± 0,509	37,0 ± 0,773	6,7 ± 0,263	2,7 ± 0,247
08-FI-02	3,2 ± 0,185	96,7 ± 0,177	69,0 ± 0,399	19,2 ± 0,409	10,0 ± 0,409	2,3 ± 0,030
08-FI-03	4,9 ± 0,779	90,0 ± 0,874	43,2 ± 0,892	25,0 ± 0,499	9,0 ± 0,414	3,0 ± 0,302
08-FI-04	3,3 ± 0,353	97,0 ± 0,307	71,0 ± 0,713	15,0 ± 0,403	9,0 ± 0,226	3,7 ± 0,088
Trucharia	2,0 ± 0,205	97,2 ± 0,208	60,0 ± 0,354	17,4 ± 0,463	9,0 ± 0,533	3,0 ± 0,440
Feed Inicial	7,0 ± 0,110	92,2 ± 0,110	40,0 ± 0,150	7,0 ± 0,025	6,5 ± 0,027	2,0 ± 0,024

MATERIALES Y MÉTODOS



Tabla 1.- Formulación alimenticia en porcentaje (g/100g)

Materia Prima	Alimentos			
	08-FI-01	08-FI-02	08-FI-03	08-FI-04
Harina Pescado Trucha	70	30	70	30
Harina de Pescado Cumana	0	0	70	30
Harina de Lombriz	0	40	0	40
Farmacía				
Aceite de pescado	10	10	10	10
Harina de alvicho de trigo	1	1	1	1
Harina de maíz amarillo	10	10	10	10
Mezcla Mineral	1	1	1	1
Mezcla Vitaminica	1	1	1	1
CMC	2	2	2	2
Total	100	100	100	100

- 08-FI-01: 70 % harina de trucha de descarte;
- 08-FI-02: 40 % harina de lombriz + 30 % harina de trucha de descarte;
- 08-FI-03: 70 % harina de pescado Cumana;
- 08-FI-04: 40 % harina de lombriz + 30 % harina de pescado Cumana;
- Alimento Comercial "Trucharina".

Tabla 2.- Composición química de los alimentos

Alimento	Humedad %	Proteína %	Lípidos %	ENN %	Cenizas %
08-FI-01	3,4	44,7	30,2	15,3	6,4
08-FI-02	5,3	47,2	34,8	19,8	5,8
08-FI-03	1,9	43,3	28,2	21,4	13,3
08-FI-04	5,1	46,5	17,5	22,4	9,4

ENN: Extractos no nitrogenados



Esta experiencia fue realizada en las instalaciones de la Estación Experimental Truchícola (INIA, La Mucuy, ubicada en el Parque nacional Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela, a una altitud de 2300 msnm, latitud norte 8° 40' y longitud oeste 71° 5'. El agua utilizada para mantener los alevines de trucha fue de origen glacial, naciente de la Sierra Nevada a 4200 msnm.

De 1500 alevines de trucha (de 2 meses de eclosionados), se colocaron 100 alevines/tanque/triplicado.

Se determinó el peso inicial y final (g) en una balanza analítica marca Adventure® marca CHAUS de precisión 10-4

En esta experiencia se efectuó la medición de la talla (longitud) y peso, con un alevómetro (equipo de medición de talla de alevines) marca TESOLV, y una balanza analítica de precisión 1x10-4 Adventure® marca CHAUS, respectivamente, de 6 alevines/replicación/alimento aleatoriamente, al inicio y al final del ensayo.



MS: Materia seca; ENN: Extractos No Nitrogenados. (* < 0,05). Colores con letras diferentes indican diferencias significativas.
 * Valores del Feed Inicial como punto de comparación en aplicación de ANOVA ni análisis de Tukey por ser sólo una muestra global.
 ** Valores expresados en base seca.

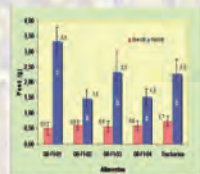


Figura 1.- Peso (g) inicial y final de alevines alimentados con dietas a base de 40 % de harina de lombriz (*Eisenia andrei*).

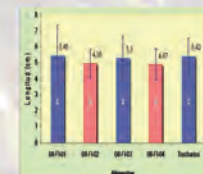


Figura 2.- Longitud (cm) inicial y final de alevines alimentados con dietas a base de 40 % de harina de lombriz (*Eisenia andrei*).

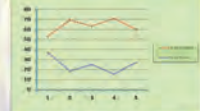


Figura 3.- Correlación entre el contenido de proteína y grasa de la carne de alevines alimentados con dietas a base de 40 % de harina de lombriz (*Eisenia andrei*).

En la Figura 3 se muestra el resultado del análisis de correlación entre el contenido de proteína y grasa de la carne de alevines de trucha arco iris. El análisis MANOVA detectó diferencias significativas en la relación del contenido de proteína y grasa de los alimentos suministrados a los alevines; determinando que un incremento en grasa del mismo produce un aumento de grasa en la carne y una disminución en su composición proteica, y viceversa, por tal motivo se observó una mayor incorporación proteica en los alimentos formulados con harina de lombriz y bajo contenido graso en los alimentos formulados. Las tallas y pesos fueron mayores en los peces alimentados con dietas altas en grasa y se presume fue la causa de estos resultados.

Los resultados del peso (g) y longitud (cm) de alevines de trucha arco iris, provenientes del estudio de valorización biológica de la harina de lombriz se muestra en las Fig 1 y 2. El análisis de varianza (ANOVA) detectó diferencias significativas ($p < 0,001$) para la variable peso, entre la respuesta del tiempo del ensayo, el tipo de alimento y la interacción tiempo-alimento. No se detectaron diferencias significativas entre los alimentos a base de harina de lombriz (2 y 4), quienes obtuvieron los menores valores, el alimento a base de 70 % de harina de pescado cumana y el producto comercial tampoco presentaron entre sí diferencias significativas. Los mayores pesos de alevines los mostró el alimento 1 (08-FI-01) a base de 70 % de harina de pescado trucha de descarte (Fig. 1).

En la Figura 2, se muestra la variación de la longitud en cm de alevines del estudio de valorización de la harina de lombriz, donde se muestra que los alimentos 1 (08-FI-01), 3 (08-FI-03), y formula comercial, mostraron las mayores tallas de peces y no presentaron diferencias significativas ($p < 0,001$) entre sí, al igual que los alimentos 2 y 4, que presentaron los menores valores en longitud, pero muy cercanos.

CONCLUSIONES

El mayor contenido proteico de la carne lo obtuvieron los alevines alimentados con harina de lombriz, y el mayor contenido en grasa de la carne se presentó en el testigo, dieta a base de pescado y alimento comercial.

El peso y la talla fueron mejores en los alimentos: testigo, el elaborado con harina de pescado venezolana y la Trucharina comercial.

La relación proteína/grasa determinó un efecto significativo en las variables peso y talla. Los alevines con mayor contenido graso tuvieron mayor peso y talla, pero menos contenido proteico.

Esta investigación fu financiada por el Proyecto FONACIT G-2005000869 y por la Beca ALMA MATTER

Segundo prêmio melhor poster

Efecto de diferentes medios de cultivo sobre la producción de *Thalassiosira weissflogii*

Freire¹ I., Seixas² P., Otero^{1*} A.

¹Dpto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología/CIBUS, Campus Vida, Universidad de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, España.

²AQUALGAE SL, Ed. FEUGA, Avda. Lope Gomez de Marzoa s/n, 15706 Santiago de Compostela, España.

*E-mail: anamaria.otero@usc.es

Resumen

La producción de la diatomea *Thalassiosira weissflogii* tiene especial interés en las etapas iniciales del cultivo de moluscos y crustáceos. Esta especie presenta cierta dificultad técnica en su cultivo, siendo necesario mejorar la productividad alcanzada y optimizar su composición bioquímica. Debido al elevado potencial del uso de fotobiorreactores para la producción de microalgas en régimen continuo, puesto que permiten mejorar no solo la productividad sino también el perfil bioquímico de la biomasa microalgal, es necesario también evaluar la viabilidad del establecimiento de cultivos continuos de esta diatomea. Se cultivó la diatomea en batch y en régimen semi-continuo con una tasa de renovación diaria del 25%, con diferentes medios de cultivo, teniendo como control el medio comercial ALGAL-1. Este medio se comparó con el medio comercial Diatomedium (AQUALGAE SL, España), y con abonos agrícolas suplementados con oligoelementos y vitaminas. Además, se ha probado el efecto de diferentes concentraciones de Silicio (Si). El ensayo se ha llevado a cabo en mini-fotobiorreactores tubulares de fondo cóncavo de 300 mm de diámetro interno, con 80 mL de volumen. La aireación fue continua siendo suplementada con pulsos de CO₂. Se determinó la densidad celular, la biomasa en peso seco, y se hicieron análisis de C:N y perfil de ácidos grasos. No se observaron diferencias considerables de las densidades celulares tanto en la

fase estacionaria de cultivos *batch* como en la fase de estabilización de los cultivos semi-continuos. Las densidades celulares más elevadas se alcanzaron con el medio Diatomedium y abonos suplementados con oligoelementos, sin diferencias significativas entre ellos ($2,7 \times 10^6$ células/mL; *Steady state*) y con la concentración de Si más alta (240 mg/L). Los datos de biomasa seca obtenidos han sido proporcionales a los datos de densidades celulares en los diferentes medios de cultivo. En cuanto a la composición bioquímica. Se han encontrado valores elevados de EPA en la biomasa, alcanzando un 18,4% derivados de la aplicación del cultivo continuo. Los datos demuestran la viabilidad de los cultivos continuos de esta diatomea, y la importancia de la utilización de medios de cultivos efectivos que permiten una mejora significativa de la productividad, así como la modulación de su composición bioquímica.

Palabras clave

Thalassiosira weissflogii, diatomea, fotobiorreactor, productividad, cultivo.

Introducción

Las diatomeas son esenciales para el cultivo de moluscos (Lavens *et al.*, 1996) y también son ampliamente utilizadas en el cultivo de crustáceos. La diatomea *Thalassiosira weissflogii* ha producido buenos resultados de crecimiento en copépodos (Arendt *et al.*, 2005; Ederington *et al.*, 1995), lo que indica su potencial para su utilización en acuicultura. Es, sin embargo, necesario establecer los parámetros óptimos para su cultivo, sobre todo desde el punto de vista nutricional y, debido al elevado potencial del uso de fotobiorreactores para la producción de microalgas en régimen continuo, puesto que permiten mejorar no solo la productividad sino también el perfil bioquímico de la biomasa microalgal (Fábregas *et al.*, 1999; Herrero *et al.*, 1990).

Materiales y métodos

Thalassiosira weissflogii se ha cultivado en un régimen semicontinuo con agua de

mar autoclavada enriquecida con distintos medios de cultivo. La salinidad del agua de mar utilizada fue de 35‰. Para cultivar las microalgas se utilizaron minifotobiorreactores tubulares de vidrio de 80 mL, de fondo cóncavo y 310 mm de diámetro externo (Fig. 1), con aireación continua suplementada con CO₂ en pulsos con el fin de mantener el pH entre 7,5 y 8,0. El flujo de aire fue de 142 mL min⁻¹ de cultivo min⁻¹ y los biorreactores se mantuvieron con un fotoperiodo circadiano de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, con una irradiancia de 175 μmol photon m⁻² s⁻¹, proporcionada por tubos fluorescentes. El cultivo se realizó en una cámara termostatazada con una temperatura de 21±1,5 °C.

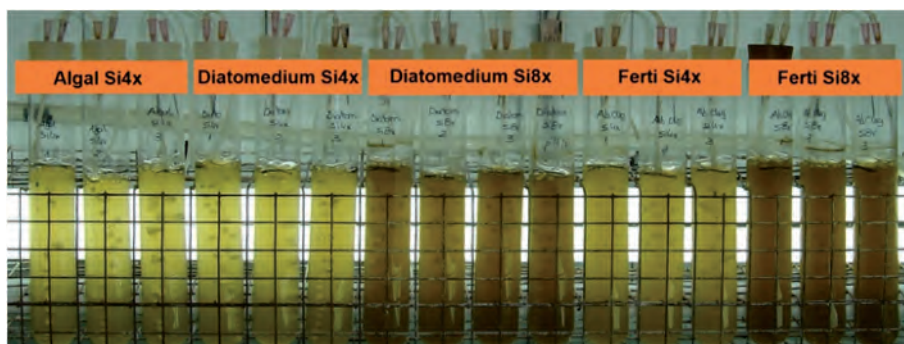


Figura 1.- Sistema de cultivo en fotobiorreactores de 80 mL. Utilizado para la valoración de distintos medios de cultivo para la producción de *Thalassiosira weissflogii* en cultivo semicontinuo.

Los distintos medios de cultivo que se utilizaron fueron los siguientes: ALGAL (Fábregas *et al.*, 1986) con una concentración equivalente a 4 mM de NaNO₃; Diatomedium (Aqualgae S.L.) con NaNO₃ a 4 mM y un fertilizante comercial que contiene Ca(NO₃)₂, (4 mM) MgSO₄, KH₂PO₄, boro y la solución comercial de micronutrientes Welgro. Los cultivos se suplementaron con silicatos a una concentración 4,24 mM (120 g/L) ó 8,48 mM (240 g/L) correspondientes al cuádruple y óctuplo respectivamente de la concentración utilizada en el medio estándar F/2 (Guillard, Ryther, 1962).

Los cultivos se iniciaron con una densidad de 0,23x10⁶ células/mL (10 mL de inóculo) y se realizaron recuentos cada dos días utilizando un hematocitómetro Improved Neubauer (ICSH, 1988) hasta alcanzar la fase estacionaria. El cultivo semicontinuo se realizó una vez alcanzada la fase estacionaria retirando a diario el 25% del volumen y añadiendo a continuación nuevo medio fresco enriquecido con nutrientes en la misma proporción. La renovación de los cultivos se ha realizado durante la primera hora del período de luz puesto que en

estudio anteriores se ha demostrado que ese momento es el más conveniente (Otero, 1994), manteniéndose el régimen semicontinuo durante 8 días.

La biomasa se cosechó por centrifugación en tubos Falcon[®] de 50 mL. La biomasa así obtenida se liofilizó y pesó para la estima del peso seco y fue utilizada para la realización de los análisis de la composición elemental (C:H:N) con un autoanalizador Fisons Model EA 1108. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Se analizó también la composición de ácidos grasos de la biomasa en el *steady-state*. Para ello se realizó una extracción de los lípidos siguiendo el método de Bligh & Dyer (1959) a partir de la biomasa congelada obtenida pro centrifugación. Posteriormente se procedió a una derivatización de los ácidos grasos (Sato y Murata, 1988), que fueron analizados mediante una cromatografía de gases-espectrometría de masas utilizando una columna Omegawax 250.

Resultados y discusión

Los resultados de crecimiento, expresados como número de células por mL demuestran una limitación por silicatos con la concentración de 0,12 g/L, observándose un mayor crecimiento de *T. weissflogii* a mayor concentración de los mismos con la concentración 0,24 g/L, 8 veces mayor que la del medio F/2 (Fig. 2). Para las concentraciones de nutrientes probadas, y considerando una misma concentración de silicatos, no hay diferencias significativas en las densidades celulares obtenidas entre las distintas formulaciones de nutrientes. Es de destacar que se obtuvieron los valores mismos de densidad celular para las formulaciones Diatom Si8x y Ferti Si8x aún cuando la concentración de nitrógeno es el doble en esta última, lo que podría indicar una limitación por nutrientes en el medio Diatom, que podría por lo tanto producir resultados mejores que los obtenidos en estos experimentos si se utilizase a una mayor concentración.

En cuanto al peso seco de la biomasa microalgal comparado con las densidades obtenidas en *steady state* se observa una relación directa entre la densidad celular alcanzada y la biomasa excepto en el medio de cultivo Diatomedium Si8x en donde la biomasa es menor (Fig. 3). Además, se observa que cultivos en misma proporción de silicatos (Si4x) tienen similar biomasa seca exceptuando el Fertilizante que aumenta en todas las situaciones que se puede deber al alto contenido en cenizas del medio.

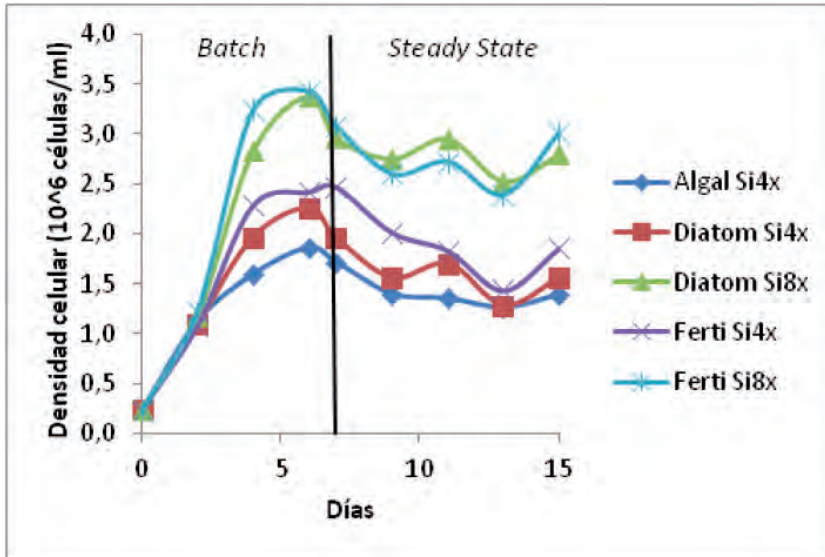


Figura 2.- Densidades celulares (10^6 células/mL) alcanzadas con los diferentes medios de cultivo. Se inició el régimen semicontinuo a partir del día 7 del cultivo, con una tasa de renovación del 25% del volumen de cultivo por día. *Diatom: medio comercial Diatomedium (Aqualgae S.L.); Ferti: fertilizante comercial.

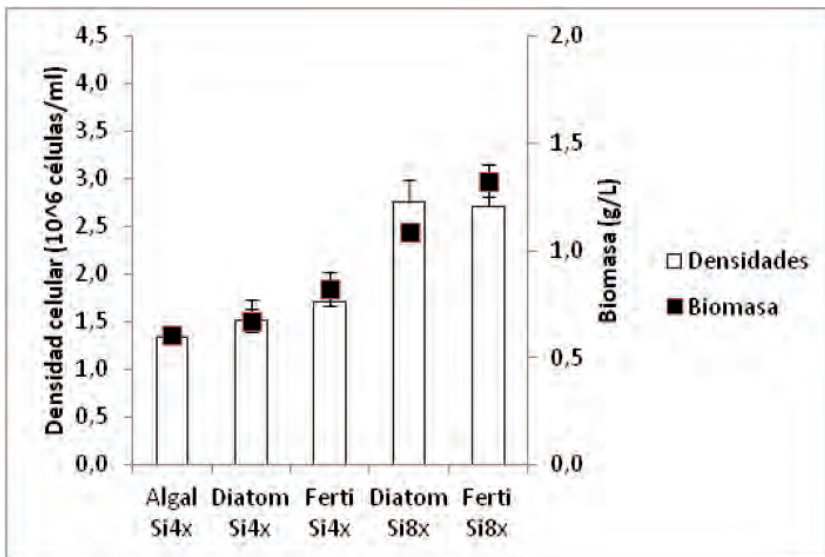


Figura 3.- Densidad celular (10^6 células/mL) y concentración de biomasa (g/L) obtenidas en el *Steady state* de cultivos continuos de *T. weissflogii* con una TR del 25% por día.

En el análisis elemental (C:H:N) de la diatomea (Fig.4) ha mostrado valores de la relación C/N (átomos) y de proteína celular (pg/célula) similares en todos los medios de cultivo excepto en el Ferti Si8x que ha alcanzado una mayor relación C/N. Aunque existen pocas diferencias en el contenido celular de proteína, es de destacar el valor ligeramente más bajo de proteína encontrado en el Diatomedium con la concentración 8x de silicato, probablemente derivado de una limitación por nitrógeno en estos cultivos. El fertilizante, que presenta el doble de concentración de nitrógeno, presenta valores similares de proteína, lo que podría indicar una peor asimilación del $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ por parte de la diatomea, o la interferencia de otros componentes del fertilizante en la incorporación de nitrógeno.

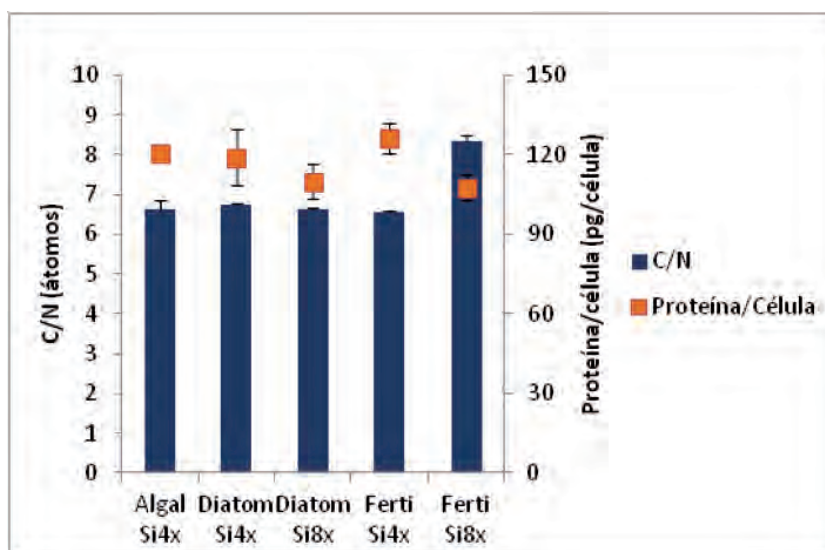


Figura 4. - Composición de C:N (átomo) y contenido celular de proteína (pg/célula) en *Steady state* de los diferentes grupos con una tasa de renovación del 25%. Media \pm desv.est (n=3).

La composición de ácidos grasos de la diatomea (Tabla I) no ha mostrado diferencias importantes, aunque se encuentran valores porcentuales ligeramente superiores de ácidos grasos ω 3 y ω 6 con los medios de cultivo Algal y Diatomedium Si4x. El ácido graso en mayor porcentaje es el ácido palmítico (16:0), con porcentajes entre el 20 y el 26%, palmitoleico (16:1), con porcentajes del 20 al 30% y el ácido eicosapentaenoico (EPA;20:5n3) con porcentajes entre el 17 y 19%. Los valores obtenidos para los ácidos grasos poliinsaturados EPA (20:5n3) y DHA (22:6n3) son significativamente más altos que los descritos en la bibliografía para cultivos batch de esta diatomea, en las células en comparación con experimentos donde

se obtuvieron, en porcentaje total, 8,43% de EPA y 1,88% de DHA (Arendt *et al.*, 2005); estos experimentos se hicieron con medio B1 (Hansen, 1989) y en cultivo discontinuo a diferencia del presente que se cultivo semicontinuo. Los resultados demuestran la efectividad de la aplicación de la técnica de cultivo continuo para la mejora del perfil bioquímico de la biomasa microalgal (Ferreira *et al.*, 2009).

Tabla I.- Composición de ácidos grasos de *T. weissflogii* en la fase de estabilización en los distintos medios de cultivo en régimen semicontinuo expresada en porcentajes sobre el total de los ácidos grasos. Medias \pm desv.est (n=3) excepto el medio control.

	*ALGAL SI4x	DIATO SI4x	DIATO SI8x	Ferti SI4x	Ferti SI8x
AG 14:0	7,8	7,6 \pm 1,10	7,49 \pm 0,35	7,5 \pm 0,71	6,6 \pm 0,53
AG 15:0	1,6	1,0 \pm 0,31	1,15 \pm 0,12	1,1 \pm 0,21	1,7 \pm 0,49
AG 16:0	20,4	23,3 \pm 2,78	23,67 \pm 0,43	24,4 \pm 0,49	26,8 \pm 0,24
AG 16:1n7	21,1	25,2 \pm 1,62	27,70 \pm 0,98	26,4 \pm 1,85	30,3 \pm 0,69
AG 16:2n4	3,5	1,6 \pm 1,56	1,48 \pm 1,29	2,8 \pm 0,33	2,4 \pm 0,40
AG 16:3	9,0	6,7 \pm 0,77	8,25 \pm 0,79	7,4 \pm 0,04	6,7 \pm 0,38
AG 18:0	5,9	10,0 \pm 0,10	5,37 \pm 2,74	4,8 \pm 0,75	2,6 \pm 0,09
AG E18:1	3,1	2,4 \pm 0,38	1,49 \pm 0,79	2,4 \pm 0,54	1,5 \pm 0,73
AG 18:2n6	0,9	0,7 \pm 0,07	0,54 \pm 0,20	0,6 \pm 0,09	0,8 \pm 0,15
AG 18:3n6	2,7	2,4 \pm 0,47	1,51 \pm 0,32	1,8 \pm 0,37	1,8 \pm 0,30
AG 20:3	0,6	1,03 \pm 0,13	0,95 \pm 0,20	0,80 \pm 0,25	1,08 \pm 0,18
AG 20:5n3	18,4	18,9 \pm 0,62	17,70 \pm 0,77	18,0 \pm 0,23	17,2 \pm 0,44
AG 22:6n3	2,5	2,6 \pm 0,46	2,18 \pm 0,17	2,0 \pm 0,15	2,3 \pm 0,76
ΣSATURADOS	35,8	37,7 \pm 4,77	38,6 \pm 2,77	37,8 \pm 0,83	38,3 \pm 0,70
SMONOSATURADOS	24,2	27,7 \pm 0,70	28,8 \pm 1,23	28,7 \pm 1,31	29,5 \pm 2,94
ΣPUFA	37,7	34,1 \pm 3,63	32,6 \pm 1,55	33,4 \pm 1,21	32,1 \pm 2,67
ω3	30,0	31,6	28,9	27,4	26,4
ω6	3,6	3,1	1,8	2,3	2,8

*No se ha realizado análisis de ácidos grasos por triplicado.

Conclusiones

La aplicación de medios de cultivo mejorados han permitido el mantenimiento de cultivos continuos de la diatomea *Thalassiosira weissflogii* la mejora de su perfil bioquímico. Los silicatos han sido limitantes para el cultivo de la diatomea a una concentración 8,48 mM en todos los medios probados. El fertilizante empobrece ligeramente su composición bioquímica aunque alcanza buenas densidades; mientras que el medio Diatomedium podría estar limitado en nitrógeno puesto que alcanza densidades celulares similares a las del fertilizante con la mitad de concentración de nitrato.

Referencias

- Arendt K.E., Jónasdóttir S.H., Hansen P.J., Gärtner S. 2005. Effects of dietary fatty acids on the reproductive success of the calanoid copepod *Temora longicornis*. *Marine Biology*, 146, 513-530.
- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37,911-917.
- Ederington M.C., McManus G.B., Harvey H.R. 1995. Trophic transfer of fatty acids sterols, and triterpenoid alcohol between bacteria, a ciliate, and the copepod *Acartia tonsa*. *Limnol Oceanogr.* 40 (5), 860-867.
- Fábregas J., Domínguez A., Regueiro M., Maseta A., Otero A., 2000. Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 53, 530-535.
- Fábregas J., Herrero C., Cabezas B., Abalde J. 1986. Biomass production and biochemical composition in mass cultura of the marine microalga *Isochrysis galbana* Parke at varying nutrient concentrations. *Aquaculture*, 53, 101-113.
- Ferreira M., Coutinho P., Seixas P., Fábregas J., Otero A. 2009. Enriching Rotifers with "Premium" Microalgae *Nannochloropsis gaditana*. Springer Science.
- Guillard R.R.L., Rather J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confertacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, Vol.8, pp. 229-239.
- Hansen P.J. 1989. The red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense*: effects on behavior and growth of a tintinnid ciliate. *Mar Ecol. Prog. Ser.* 53:105-116.

- Herrero C., Cid A., Fábregas J., Abalde J. 1990. Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media.
- ICSH, 1988. International committee for standardization in haematology (ICSH): selected method for visual platelet counting. *Labmedica*, 5 (4): 25-36.
- Otero A. 1994. Modificación de la composición bioquímica de microalgas marinas en régimen de ciclostato. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 1994. 168 pp.
- Sato N., Murata 1988. Membrane lipids. *Methods Enzimol*, 167, 251-259.



Efecto de diferentes medios de cultivo sobre la producción de *Thalassiosira weissflogii*

Freire I.¹, Seixas² P., y Otero¹ A.*

¹ Dpto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología/CIBUS, Campus Vida, Universidad de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, España.

² AQUALGAE SL, Ed. FEUGA, Avda. Lope Gomez de Marzoa s/n, 15706 Santiago de Compostela, España.

*E-mail: anamaria.otero@usc.es



INTRODUCCIÓN

La producción de la diatomea *Thalassiosira weissflogii* tiene especial interés en las etapas iniciales del cultivo de moluscos y crustáceos. Esta especie presenta cierta dificultad técnica en su cultivo, siendo necesario mejorar la productividad alcanzada y optimizar su composición bioquímica. Debido al elevado potencial del uso de fotobiorreactores para la producción de microalgas en régimen continuo, puesto que permiten mejorar no solo la productividad sino también el perfil bioquímico de la biomasa microalgal, es necesario también evaluar la viabilidad del establecimiento de cultivos continuos de esta diatomea.

MATERIALES Y MÉTODOS



Fig. 1 – Cultivo de *Thalassiosira weissflogii* en régimen semi-continuo en FBRs de vidrio con 80 ml de volumen con una tasa de renovación diaria del 25% del volumen total.

Se ha cultivado la diatomea *Thalassiosira weissflogii* y comparado su crecimiento y biomasa en peso seco con diferentes medios de cultivo:

1. Diatomedium (AQUALGAE SL, España)
 2. Fertilizantes agrícolas suplementados con oligoelementos y vitaminas del medio ALGAL-1.
- Para ambas formulaciones se probaron 2 de silicatos: 120 mg/L y 240 mg/L, correspondientes a 4 (SI4x) y 8 (SI8x) veces la concentración del medio de referencia I/2. Como control se utilizó el medio de referencia ALGAL (Fábregas et al. 1984) con SI4x.

Se realizó el seguimiento tanto en la fase de estacionaria (cultivo discontinuo) como la fase de estabilización (cultivo semi-continuo) con una tasa de renovación del 25% de volumen de cultivo con un fotoperiodo de 12:12h de luz-oscuidad; aireación continua y pulsos de CO₂ cada 10 minutos durante 10 segundos para controlar el pH y con una temperatura media de 21,5±1°C (Fig. 1).

RESULTADOS

Las mayores densidades celulares se alcanzaron con los medios de cultivo Fertilizante suplementados y Diatomedium con SI8x (aprox. 2,7x10⁸ células/ml en SS) (Fig. 2 y 3) seguidos de los suplementados con SI4x, mejorando en ambos casos al medio de cultivo de referencia (ALGAL). En la fase de estacionaria y de estabilización las biomasa han reflejado las de las densidades siendo, en la fase de estabilización, 1,32 g/L para el medio de Fertilizantes con SI8x y 1,09 para Diatomedium SI8x (Fig. 2 y 3). En cuanto a la composición bioquímica de las células de los diferentes medios de cultivo: tienen una relación C:N parecida en las dos fases del cultivo siendo, en la fase de estabilización, los cultivos con mayor relación C:N los obtenidos con Fertilizante SI8x (Fig. 4).

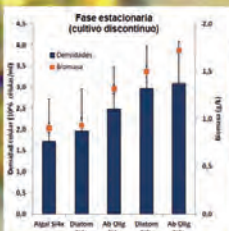


Fig. 2 – Densidades celulares y biomasa en peso seco de la fase de estacionaria

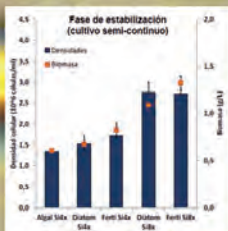


Fig. 3 – Densidades celulares y biomasa en peso seco de la fase de estabilización.

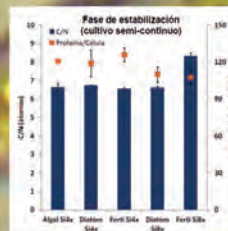


Fig. 4 – Relación C:N y proteína celular de la fase de estabilización.

CONCLUSIONES

- La utilización de medios mejorados y la optimización de la concentración de silicatos ha permitido duplicar la producción de *Thalassiosira weissflogii* con respecto al medio control ALGAL.
- El silicato se mostró como limitante en el medio de cultivo a la concentración de 120 mg/L.



Eficacia de tres productos comerciales: Sanocare® ACE, Micro Control RICH y Pyceze® en la reducción de la carga bacteriana de Metanauplios de *Artemia* enriquecidos

Rivera* L., Costas D., Villanueva A.G., Casal A., Costoya N.

Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), Universidade de Vigo, Isla de Toralla s/n, 36331 Vigo, *e-mail: leticia.rivera@uvigo.es

Resumen

Se llevó a cabo un estudio para determinar la eficacia de tres productos comerciales: Sanocare® ACE, Micro Control RICH y Pyceze® (empleado únicamente en la fase de enriquecimiento o bien en las fases de incubación y enriquecimiento), para reducir la carga bacteriana en metanauplios de *Artemia* enriquecida. Los metanauplios se produjeron de acuerdo a los procedimientos de operación estándar industrial. La carga bacteriana de las muestras de *Artemia* enriquecida se determinó mediante siembra en placas de agar marino (AM) y tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) obteniéndose los siguientes resultados de los recuentos de UFC/g *Artemia*, para los grupos control fueron de $3,86 \cdot 10^8 - 3,04 \cdot 10^9$ (AM) y $5,18 \cdot 10^6 - 1,32 \cdot 10^7$ (TCBS); para el Sanocare® ACE fueron de $3,99 \cdot 10^8 - 8,74 \cdot 10^8$ (AM) $5,52 \cdot 10^7 - 1,49 \cdot 10^8$ (TCBS); para el Micro Control RICH de $8,96 \cdot 10^8 - 1,76 \cdot 10^9$ (AM) y $1,22 \cdot 10^6 - 5,79 \cdot 10^6$ (TCBS); para Pyceze® en enriquecimiento $5,94 \cdot 10^7 - 5,73 \cdot 10^8$ (AM) y $4,32 \cdot 10^5 - 2,79 \cdot 10^6$ (TCBS); para Pyceze® en incubación y enriquecimiento $9,05 \cdot 10^4 - 2,93 \cdot 10^5$ (AM) y $8,38 \cdot 10^3 - 5,73 \cdot 10^4$ (TCBS). El producto que mejores resultados proporcionó en la disminución de la carga bacteriana, tanto de las bacterias marinas heterotróficas (AM), como de las vibrionáceas (TCBS), fue el Pyceze® cuando dicho producto se emplea tanto en incubación como en enriquecimiento ($p < 0,001$).

Palabras clave

Artemia, desinfección, carga bacteriana, alimento vivo.

Introducción

Los nauplios y metanauplios de *Artemia* han sido ampliamente utilizados como alimento vivo en el cultivo larvario tanto de peces como de crustáceos debido a las importantes ventajas nutricionales que presentan. Pese a las bondades que presenta como fuente de alimentación, diversos autores (Pérez Benavente & Gatesoupe, 1988; Grisez *et al.*, 1996) han apuntado que el alimento vivo, y especialmente la *Artemia*, es el principal vector de numerosas infecciones en el cultivo larvario de peces. La microbiota bacteriana asociada a los cultivos de *Artemia* aumenta de forma exponencial durante los procesos de incubación y enriquecimiento. La proporción de bacterias del género *Vibrio* en metanauplios de *Artemia* enriquecida representa más del 50% del recuento total de bacterias cultivables aerobias heterótroficas (Olsen *et al.*, 2000; Ritar *et al.*, 2004), pudiendo suponer una importante amenaza para la salud de las larvas que van a ser alimentadas. El tratamiento inadecuado del alimento vivo puede desencadenar un aumento de la mortalidad o producciones inestables a causa de la incidencia de la carga bacteriana introducida en el cultivo larvario. Debido a ello, es frecuente que las empresas productoras sufran importantes pérdidas, especialmente durante la fase larvaria. Tratando de minimizar este problema, se han testado distintas metodologías, desde el uso de antibióticos (Sahul A.S.; Balasubramanian G. 2000), probióticos (Villamil *et al.*, 2003) o desinfectantes químicos (Gatesoupe, 2002; Sahul, A.S.; Balasubramanian, G. 2000).

Según los fabricantes, el Sanocare ® ACE aumenta la calidad y vitalidad de los nauplios de *Artemia*, mejora la calidad del agua, estabiliza el pH, evita la formación de espuma e intensifica el color de la *Artemia*. El Micro Control RICH ha sido desarrollado para controlar a la perfección el desarrollo de bacterias patógenas en peces y crustáceos cultivados. Pudiendo sustituir el uso de productos químicos peligrosos que se utilizan en la desinfección, así como los antibióticos utilizados para aumentar la supervivencia de las larvas.

El Pyceze® es un compuesto químico con una alta actividad antimicrobiana (Saito & Onoda, 1974) ampliamente utilizado en la industria farmacéutica y cosmética (Croschaw *et al.*, 1964). En acuicultura se aplica principalmente para el control de las infecciones fúngicas en huevos de salmónidos.

El objetivo del presente trabajo, que ha sido realizado en la Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), es evaluar la eficacia antimicrobiana de tres productos comerciales para controlar la microbiota asociada a los cultivos de *Artemia*.

Materiales y métodos

La producción de *Artemia* se llevó a cabo siguiendo protocolos industriales ampliamente implantados. Los cistes de *Artemia* (Salt Lake Aquafeed - Premium Artemia Feeds, Catvis BV, Netherlands) fueron descapsulados y a continuación incubados a una densidad de 3 g cistes/L de agua, en tanques troncocónicos con 30L de agua, Salinidad 36‰ filtrada a 1 μm y esterilizada mediante radiación ultravioleta e hipoclorito sódico, Temperatura 28 - 29 °C, con aireación, oxigenación y control de pH mediante la adición de 1 g/L de bicarbonato sódico (NaHCO_3). Transcurridas 24 h se realizó la cosecha, se procedió al lavado de la *Artemia* para a continuación pasar a la fase de enriquecimiento, que se llevó a cabo a una salinidad de 36‰, temperatura de 26 °C, a una densidad de 0,5 millones de nauplios/L de agua, utilizando 0,4 g/L de Ori-Gold (Skretting España SA, Burgos) como dieta de enriquecimiento. La cosecha se realizó tras 12-14 h. Una vez cosechada, se procedió al lavado de la *Artemia* con agua de mar filtrada a 1 μm y esterilizada mediante radiación ultravioleta durante 15 minutos.

Para la determinación de la carga bacteriana las muestras se recogieron de contenedores de almacenamiento en frío después de la cosecha, donde la concentración de metanauplios fue de 3 millones/L.

Para evaluar la eficacia de los productos ensayados, se llevaron a cabo 3 réplicas para los grupos control y 3 réplicas para cada uno de los grupos experimentales, en los cuales se añadieron los productos comerciales según las indicaciones dadas por el fabricante.

Se tomaron muestras de 5mL de Metanauplios de *Artemia* cosechadas de los grupos control y experimentales. Para separar la *Artemia* del agua de cultivo, se pasaron las muestras de cada tratamiento por un tamiz estéril de 100 μm de luz de malla. La *Artemia* que quedó retenida se lavó con 10 mL de agua de mar estéril. En condiciones de esterilidad, se tomaron 30 mg de *Artemia*, se introdujeron en microtubos (Eppendorf) estériles, y se resuspendieron en 1 mL de agua de mar estéril y se homogeneizó empleando micropistilos estériles (Eppendorf). Con el fin de determinar la carga bacteriana en la *Artemia*, se realizaron diluciones seriadas de las muestras y se sembraron 100 μL de cada dilución en placas de agar marino (AM) y de tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS). Se incubaron las placas durante 48 - 72 h a temperatura ambiente (22 °C). Una vez transcurrido este tiempo, se realizó el recuento de las colonias

y se calculó la cantidad de bacterias como unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de *Artemia*.

Los datos obtenidos fueron comparados utilizando ANOVA de una vía y prueba de contraste SNK (Student-Newman-Keuls). Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar. Se consideró que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$.

Resultados y discusión

Los resultados de los recuentos de UFC/g *Artemia* para los grupos control fueron de $3,86 \cdot 10^8 - 3,04 \cdot 10^9$ (AM) y $5,18 \cdot 10^6 - 1,32 \cdot 10^7$ (TCBS); para el Sanocare® ACE fueron de $3,99 \cdot 10^8 - 8,74 \cdot 10^8$ (AM) $5,52 \cdot 10^7 - 1,49 \cdot 10^8$ (TCBS); para el Micro Control RICH de $8,96 \cdot 10^8 - 1,76 \cdot 10^9$ (AM) y $1,22 \cdot 10^6 - 5,79 \cdot 10^6$ (TCBS); para Pyceze® en enriquecimiento $5,94 \cdot 10^7 - 5,73 \cdot 10^8$ (AM) y $4,32 \cdot 10^5 - 2,79 \cdot 10^6$ (TCBS); para Pyceze® en incubación y enriquecimiento $9,05 \cdot 10^4 - 2,93 \cdot 10^5$ (AM) y $8,38 \cdot 10^3 - 5,73 \cdot 10^4$ (TCBS). La media y su desviación estándar d estos resultados se indican en la figura 1.

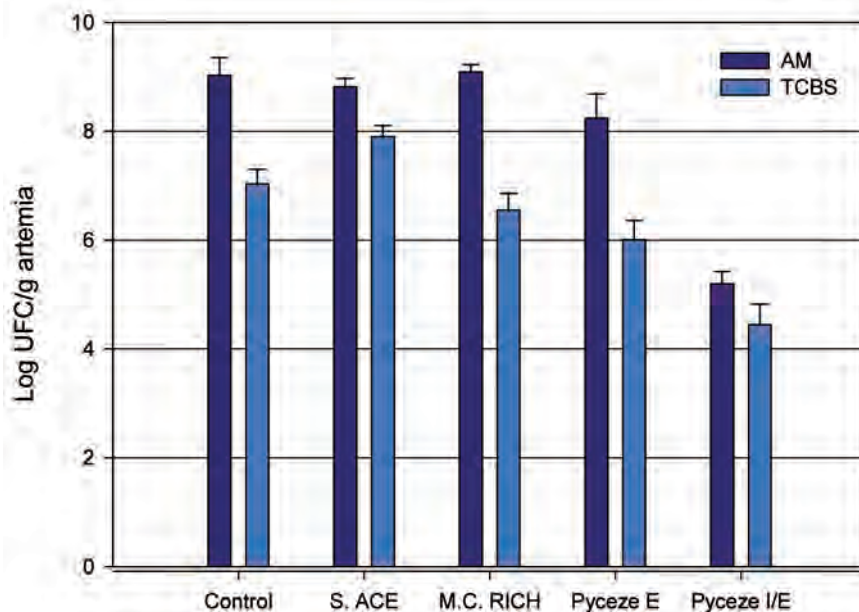


Figura 1.- Log UFC/g *Artemia* para el grupo control y los grupos experimentales.

No se observan diferencias significativas en los recuentos de bacterias marinas heterótrofas (placas de AM) entre el grupo control y los tratados con Sanocare® ACE y Micro Control RICH. El tratamiento con Pyceze®, tanto se si emplea únicamente en la fase de enriquecimiento, como si se emplea en las fases de incubación y enriquecimiento, disminuyó significativamente la carga bacteriana. Asimismo existen diferencias significativas en la disminución de la carga bacteriana si el producto es empleado únicamente en la fase de enriquecimiento o si se emplea en las fases de incubación y de enriquecimiento.

Por otra parte, todos los tratamientos excepto el Sanocare® ACE disminuyen significativamente las bacterias del género *Vibrio* (placas de TCBS) respecto al grupo control.

Con el empleo de Pyceze® se han obtenido mejores resultados que empleando antibióticos (Sahul & Balasubramanian, 2000), probióticos (Villamil *et al.*, 2003) o desinfectantes químicos (Gatesoupe, 2002; Sahul & Balasubramanian, 2000),

Los resultados obtenidos en este estudio son preliminares, existiendo la necesidad de profundizar en los siguientes aspectos: dosis empleadas, métodos de aplicación y efecto de dichos productos sobre las larvas que van a ser alimentadas.

Conclusiones

El producto que mejores resultados proporciona en la disminución de la carga bacteriana, tanto de las bacterias marinas heterotróficas (AM), como de las vibrionáceas (TCBS), es el Pyceze® cuando dicho producto se emplea tanto en incubación como en enriquecimiento ($p < 0,001$).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la dirección y al personal de la ECIMAT la ayuda humana y técnica facilitada durante la realización de los experimentos.

Bibliografía

- Croshaw B., Groves M.J., Lessel B. 1964. Some properties of bronopol, a new antimicrobial agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Pharm. Pharmacol.* 16: 127T.
- Gatesoupe F. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture*, 212: 347-360.
- Grisez L., Chair M., Sorgeloos P., Ollevier F. 1996. Mode of infection and spread of *Vibrio anguillarum* in Turbot *Scophthalmus maximus* larvae after oral challenge through live feed. *Diseases of Aquatic Organisms*, 26 : 181-187.
- Olsen A.I., Olsen Y., Attramadal Y., Christie K., Birkbeck T.H., Skjermo J., Vadstein O. 2000. Effects of short term feeding of microalgae on the bacterial flora associated with juvenile *Artemia franciscana*. *Aquaculture* 190: 11–25.
- Pérez Benavente G., Gatesoupe F. 1988. Bacteria Associated with Cultured Rotifers and *Artemia* are Detrimental to Larval Turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquacultural Engineering*, 7 : 289-293.
- Ritar A.J., Dunstan G.A., Nelson M.M., Brown M.R., Nichols P.D., Thomas G.W., Smith E.G., Crear B.J., Kolkovski S. 2004. Nutritional and bacterial profiles of juvenile *Artemia* fed different enrichments and during starvation. *Aquaculture* 239: 351–373.
- Sahul A.S., Balasubramanian G. 2000. Antibiotic resistance in bacteria isolated from *Artemia* nauplii and efficacy of formaldehyde to control bacterial load. *Aquaculture*, 183: 195-205.
- Saito H., Onoda T. 1974. Antibacterial action of bronopol on various bacteria, especially on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy* (Tokyo), 22: 1466–1473.
- Sorgeloos P., Dhert P., Candreva P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200 : 147-159.
- Villamil L., Figueras M., Planas M., Novoa B. 2003. Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture*, 219: 43-56.

Eficacia de tres productos comerciales: Sanocare® ACE, Micro Control RICH y Pyceze® en la reducción de la carga bacteriana de Metanauplios de Artemia enriquecidos.

L. Rivera¹, D. Costas¹, A. G. Villanueva¹, A. Casal¹, N. Costoya¹

¹ Estación de Ciencias Marinhas de Toralla (ECIMAT), Universidade de Vigo, Isla de Toralla s/n, 36331 Vigo. email: leticia.rivera@uvigo.es

INTRODUCCIÓN

El alimento vivo, y especialmente la *Artemia*, es el principal vector de numerosas infecciones en el cultivo larvario de peces (Pérez Benavente & Gatesoupe, 1988; Grisez et al., 1996).

El tratamiento inadecuado del alimento vivo puede desencadenar un aumento de la mortalidad o producciones inestables a causa de la incidencia de la carga bacteriana introducida en el cultivo larvario.

El objetivo del trabajo es evaluar la eficacia antimicrobiana de tres productos comerciales para controlar la microbiota asociada a los cultivos de *Artemia*.

MATERIAL Y METODOS

La producción de *Artemia* se llevó a cabo siguiendo protocolos industriales ampliamente implantados.

Los productos comerciales se aplicaron siguiendo el esquema de la Figura 1. (Fig. 2 y 3 imágenes en detalle de tanques y cosechador).

La carga bacteriana de las muestras de *Artemia* enriquecida (Fig. 4) se determinó mediante siembra en placas de agar marino (AM) y tioulsulfato citrato bilis sacarosa (TCBS).

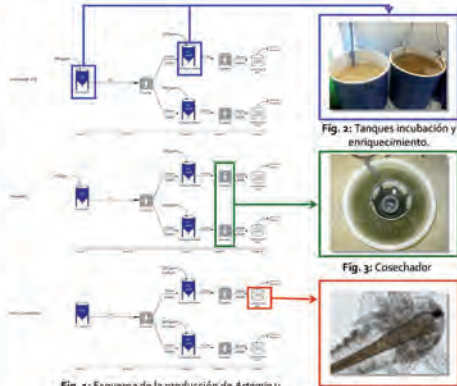


Fig. 1: Esquema de la producción de *Artemia* y aplicación de los productos comerciales.

Fig. 2: Tanques incubación y enriquecimiento.

Fig. 3: Cosechador

Fig. 4: Metanauplio enriquecido

RESULTADOS

- No existen diferencias significativas en los recuentos de bacterias marinas heterótrofas (placas AM) entre el grupo control y los tratados con Sanocare® ACE y Micro Control RICH. El tratamiento con Pyceze®, empleado únicamente en enriquecimiento, o en incubación y enriquecimiento, reduce significativamente ($p < 0.001$) la carga bacteriana (Figura 5).
- Todos los tratamientos excepto el Sanocare® ACE reducen significativamente ($p < 0.001$) las bacterias del género *Vibrio* (placas TCBS) (Figura 5).

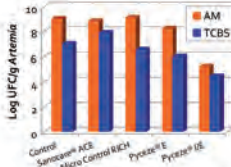


Fig. 5: Log UFC/g *Artemia* para el grupo control y los grupos tratados.

Agradecimientos:

Los autores agradecen a la dirección y al personal de la ECIMAT la ayuda humana y técnica facilitada durante la realización de los experimentos.

BIBLIOGRAFÍA:

- Gatesoupe, F. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia nauplii* as food for larval gollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture* **211**: 347-350.
- Grisez, L., Chaiq, M., Sorgeloos, P., Ollivier, F. 1996. Mode of infection and spread of *Vibrio anguillarum* in Turbot, *Scophthalmus maximus* larvae after oral challenge through live feed. *Diseases of Aquatic Organisms* **26**: 181-187.
- Pérez Benavente, G., Gatesoupe, F. 1988. Bacteria Associated with Cultured Rotifers and *Artemia* are Detrimental to Larval Turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquacultural Engineering* **7**: 289-293.
- Sahul, A.S., Balasubramanian, G. 2000. Antibiotic resistance in bacteria isolated from *Artemia nauplii* and efficacy of formaldehyde to control bacterial load. *Aquaculture* **183**: 195-205.
- Villamil, L., Figueras, M., Planas, M., Novoa, B. 2003. Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture* **219**: 43-56.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El empleo de Pyceze® proporciona mejores resultados que empleando antibióticos (Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000), probióticos (Villamil et al., 2003) o desinfectantes químicos (Gatesoupe, 2002; Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000).

El producto que mejores resultados proporciona en la disminución de la carga bacteriana, tanto las bacterias marinas heterótrofas (AM), como las vibriónicas (TCBS), es el Pyceze® cuando dicho producto se emplea tanto en incubación como en enriquecimiento ($p < 0,001$).

El consumidor español ante el etiquetado de los productos del mar: los criterios de compra

Domínguez Jurado* J.M., Jiménez García M.

Facultad de CC. Económicas y Empresariales, Modulo de Despachos y Seminarios. Avenida de la Universidad sin número. CP.11405.Jerez de la Frontera. España.

*E-mail: josemiguel.dominguez@uca.es

Resumen

En este trabajo, enmarcado dentro del proyecto europeo de pesca Desarrollo Sostenible de las Pesquerías Artesanales del Arco Atlántico “PRESPO”, se realiza una primera aproximación teórica al objeto de estudio: las etiquetas para los productos pesqueros. Posteriormente, se ha centrado en un análisis empírico sobre la respuesta del consumidor español ante tres tipos de etiquetas pesqueras concretas, a saber, la etiqueta de salud, la ecoetiqueta y la etiqueta justa. El análisis ha profundizado en el estudio de los criterios que guían la compra del consumidor potencial de cada etiqueta. Se trabaja a partir de información primaria obtenida a través de un proceso de encuestación realizado a consumidores españoles en los meses de agosto y septiembre de 2010. Se concluye que la etiqueta que podría tener una mejor acogida por el consumidor potencial es la etiqueta salud aunque, en términos generales, es necesaria una mayor información al consumidor sobre el etiquetado de productos pesqueros.

Palabras clave

Etiquetado, pesca, criterios de compra.

Introducción

El trabajo aquí presentado representa una de las líneas de investigación seguidas en el proyecto europeo de pesca “PRESPO”¹, destinado al estudio de las etiquetas pesqueras. En este caso concreto, el objetivo perseguido es el conocimiento tanto del grado de respuesta del consumidor español ante tres etiquetas de pescado fresco (etiqueta de salud, ecoetiqueta y etiqueta justa), bajo el supuesto de igualdad de precio con un producto sin etiquetar, como de los criterios que rigen su compra de este tipo de productos.

Para ello, se realiza, en un primer epígrafe, una breve introducción al etiquetado, con especial referencia a los productos pesqueros, para centrarnos en la explicación de las tres etiquetas analizadas en este trabajo. Posteriormente, en un segundo epígrafe, se expone la metodología y los principales resultados del análisis empírico realizado, a través de un proceso de encuestación.

El etiquetado, especial referencia al sector pesquero

El etiquetado es la vía de comunicación más importante entre los productores de alimentos y los consumidores. La información que se transmite a través de una etiqueta puede ser de muy diversa índole y carácter. De esta forma, podemos hablar de la existencia de etiquetas obligatorias –impuestas por legislación– y de etiquetas de carácter voluntario para el productor y a través de las cuales éste obtiene un criterio de diferenciación adicional de su producto, dando lugar a una mayor competitividad y a la posibilidad de un sobreprecio del mismo.

Respecto a la primera de ellas, y según el Centro Europeo del Consumidor en España, etiquetado de los productos atiende a los derechos a la seguridad y a la información del consumidor, ya que entre una de sus principales funciones se encuentra la de identificar al responsable de dicho producto. No obstante, como se acaba de mencionar, además de esta etiqueta básica a la que hace referencia el Centro Europeo del Consumidor, han proliferado multitud de etiquetas de diversa índole para certificar, cada una de ellas, diversos aspectos y características vinculadas al producto. En este sentido, existen en la actualidad etiquetas para múltiples tipos de productos, desde productos alimenticios hasta textiles, calzado, juguetes, etc. Las más conocidas por los consumidores son las Denominaciones de Origen, pero existen otras como la FSC (*Forest Stewardship Council*) en el sector silvícola, etiquetas “Bio” de agricultura biológica o la etiqueta europea para productos manufacturados, entre otras.

1. <http://www.cripsul.ipimar.pt/PRESPO/index.php?pag=13&codIdioma=4>

En el caso concreto de este trabajo, nos centramos en el estudio de un tipo muy concreto de etiquetas, las destinadas a los productos de la pesca.

Como una primera aproximación a las etiquetas para este tipo de productos, se puede mencionar que la legislación española establece en el artículo 4 del Real Decreto 121/2004, de 23 de enero (sobre la identificación de los productos de la pesca, de la acuicultura y del marisqueo vivos, frescos, refrigerados o cocidos), la información mínima obligatoria que debe contener las etiquetas del pescado, ya sea en el envase y/o embalaje, en los *pallets* o en las tablillas o carteles de la venta a granel al consumidor final. Ésta es la siguiente:

- a. Denominación comercial y científica de la especie. Por ejemplo, boquerón-*Engraulis encrasicolus*. La denominación comercial de la especie es de gran importancia para evitar confundir al consumidor con otros productos de la pesca foráneos y de inferior calidad pero de aspecto similar a los capturados por nuestras flotas, y en el caso de la venta del producto fresco al por menor sin envase, siempre debe aparecer en la tablilla o cartel de la pescadería.
- b. Método de producción (pesca extractiva o pescado, pescado en aguas dulces, criado o acuicultura y marisqueo).
- c. Nombre de la zona de captura o de cría (Atlántico noroeste, Mar Negro, Mar Mediterráneo, etc.).
- d. Peso neto (sólo debe constar en las etiquetas de productos envasados).
- e. Modo de presentación y/o tratamiento (eviscerado, con cabeza, sin cabeza, fileteado, cocido, descongelado, otros). Es habitual encontrar en el mercado, sobre todo en la venta al por menor sin envase, productos descongelados que se venden como frescos. En este caso, la legislación obliga a que se explicita en la tablilla de venta la mención de descongelado y la fecha de caducidad, aunque en la práctica esto no siempre es así.
- f. Identificación del primer expedidor o centro de expedición (lonjas, establecimientos autorizados en primera venta, etc.). Esta información no es obligatoria que aparezca en la tablilla de información al consumidor en la venta al por menor, pero el establecimiento debe conocerla.

Sin embargo, además de esta etiqueta a la que acabamos de hacer referencia, de cumplimiento obligatorio y recogida en el Boletín Oficial del Estado, existen numerosas etiquetas para los productos de la pesca de aplicación voluntaria y que realzan o certifican una determinada característica de ese producto para, de esa manera, buscar la diferenciación en el mercado y hacerse más atractivo frente al consumidor. Ésta es una de las líneas de investigación del proyecto europeo PRESPO, en el que se enmarca este estudio, donde se trabaja sobre tres tipos de etiquetas de pesca diferentes, a saber (Domínguez Jurado y Pérez Pécuro, 2011):

- ❖ Etiqueta de Salud o “saludable”, que garantiza que ese pescado tiene altos beneficios para la salud.
- ❖ Etiqueta Ecológica o Ecoetiquetado (en inglés *Ecolabel*), que garantiza que el pescado etiquetado se ha obtenido aplicando unas técnicas respetuosas con el caladero y que permiten su sostenibilidad a largo plazo.
- ❖ Etiqueta Justa o Equitativa, que garantice que los productores puedan recibir un mayor valor por la venta y comercialización de ese pescado.

Existen en la actualidad numerosos ejemplos de etiquetas (de alguno de los tres tipos anteriores, pero fundamentalmente, ecoetiquetas²) destinadas a los productos pesqueros, entre ellas podemos encontrar:

- ❖ *Marine Stewardship Council (MSC)*: basada en tres principios sobre el estado de los *stocks*, el impacto de la pesca sobre el ecosistema y el sistema de gestión de la pesquería.
- ❖ *Friend of the Sea (FOS)*: basada, al igual que la anterior, en el estado de los *stocks*, pero también en la trazabilidad, gestión, legislación, selectividad y destructividad de los aparejos.
- ❖ *KRAV*: es un estándar dividido en cuatro partes diferentes: estado del stock, barcos de pesca, método de pesca y desembarco y transformación.
- ❖ Carrefour “Pesca responsable”: etiqueta que certifica criterios de calidad alimentaria y seguridad sanitaria, de protección y gestión del recurso y de protección medio ambiental.
- ❖ Alcampo “Por una pesca responsable”: basada en el estado del recurso, las zonas de captura, métodos de pesca, estaciones de reproducción y tallas mínimas de captura.
- ❖ Findus “Respeto de los recursos marinos”: que sigue diez principios: respeto de la legalidad, evaluación de riesgos, transparencia del etiquetaje, promoción de una pesca sostenible, mejora permanente, diálogo, prohibición, investigación, trazabilidad y ética y medio ambiente.

2. El interés de los consumidores por este tipo de etiquetas ha aumentado debido, en gran parte, al énfasis por la sostenibilidad del medio marino de la Política Pesquera Común Reformada de 2002.

Análisis empírico: metodología y principales resultados

Los resultados que aquí se presentan, se han basado en la explotación de una serie de encuestas realizadas por la Universidad de Cádiz en el marco del proyecto europeo PRESPO en agosto y septiembre de 2010. Para el proceso de encuestado se ha seleccionado una muestra estratificada por perfiles socioeconómicos a más 400 personas en todo el territorio español, lo que garantiza un error inferior al 5 por ciento (con $p_i=0,5$). Las encuestas fueron realizadas de forma personal, para poder respetar la estratificación de la muestra, y en lugares ajenos a la compra del pescado (mercados) o al consumo (restaurantes), para evitar el sesgo derivado de ambas situaciones.

Para conocer el grado de respuesta del consumidor español antes las etiquetas de los productos pesqueros frescos, se les pregunta, en primer lugar, por su elección ante el mismo producto a precio similar. Los resultados de la encuestas han señalado que el 93,4 por ciento de los consumidores españoles han elegido comprar un producto del mar etiquetado frente a un producto sin etiqueta. Sin embargo, las preferencias ante los tres tipos de etiquetas que componen nuestro estudio han sido diferentes: las etiquetas de salud se encuentran en primer lugar, con un 68,1 por ciento de los casos, seguidas, a gran distancia, por las ecoetiquetas con un 20,6 por ciento y, finalmente, sólo el 11,3 por ciento de los consumidores preferirían una etiqueta de precio justo (Fig.1).

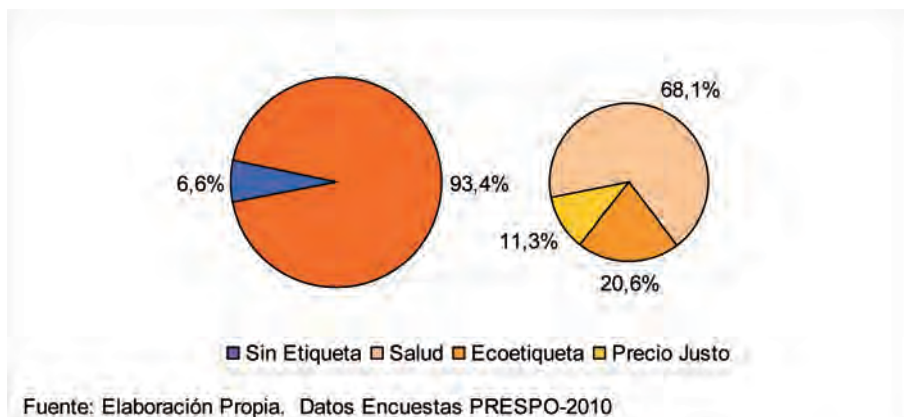


Figura 1.- Elección de etiqueta a precio similar.

No obstante, los consumidores se han mostrado receptivos a cualquiera de las tres etiquetas, puesto que el 85,8 por ciento de los mismos han manifestado que en alguna ocasión

comprarían productos con etiqueta de salud, el 78,3 por ciento lo harían con una ecoetiqueta, y en el 68,4 por ciento podría comprar productos con etiqueta de precio justo.

Una vez conocida su actitud ante la etiqueta de los productos frescos del mar, se aborda la cuestión de los criterios que guían su compra y si éstos son diferentes en función de la etiqueta que ha seleccionado cada consumidor, para, de esta manera, establecer los primeros rasgos de un posible perfil del consumidor. Estos criterios han presentado coincidencias en el grado de respuestas que, a través de un análisis para detectar las comunalidades existentes entre características (Domínguez Jurado y Pérez Péculo, 2011), se pueden resumir en dos grandes categorías: por un lado, las relacionadas con el sistema productivo, es decir, con la forma de explotación del recurso, y por otro lado, con su presentación en el mercado. Además, se ha añadido una tercera categoría de vital importancia y que no se enmarca en ninguna de las dos anteriores, el precio (Tabla I).

Tabla I.-Asociación de los criterios de compra.

Procesos Productivos	Presentación en el Mercado	Precios
Su origen geográfico	Forma de preparación	
Origen salvaje o piscicultura	Aspecto visual (frescura)	Precios
La técnica de pesca	Sus cualidades nutritivas	
Estado del stock del recurso		

Fuente: Elaboración propia.

Complementando los resultados de la tabla I, en la figura 2 se observa que, para el consumidor de producto con etiqueta, los criterios más valorados han sido los relacionados con la presentación en el mercado (apariencia visual, cualidades nutricionales y forma de preparación) y el precio de venta, mientras que los menos valorados han sido el estado de agotamiento de los recursos y las técnicas de pesca.

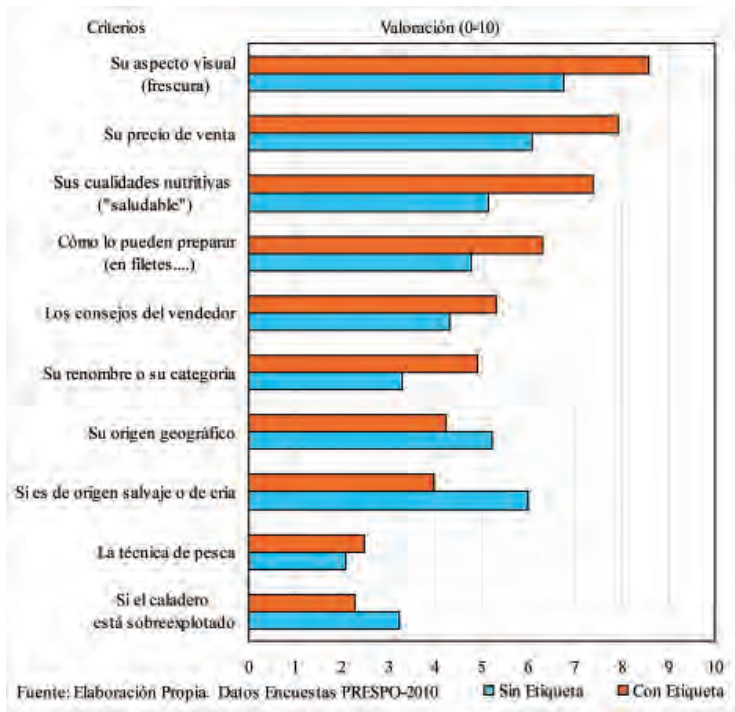


Figura 2.- Valoración de los Criterios de Compra (0-10).

También es importante resaltar, de la figura 2, que se ha constatado una diferencia importante en los criterios de compra relacionados con la forma de presentación en los mercados entre los encuestados que han elegido una etiqueta y los que no. Los consumidores que han preferido un pescado etiquetado han sido más exigentes a la hora de valorar las cualidades nutricionales y el aspecto visual, y también se han mostrado más sensibles al precio. A diferencia de los criterios relacionados con los procesos productivos que son, como se ha señalado anteriormente, de obligado cumplimiento en las tablillas y ballets de venta al consumidor final.

Continuando con el estudio, hemos analizado la relación entre los criterios de compra y la preferencia por un determinado tipo de etiqueta. De esta manera, según se representa en la figura 3, el aspecto visual es el criterio más valorado, con una puntuación de 8,6 (sobre 10), seguido del precio de venta con casi el 8. Las cualidades nutritivas ha sido un aspecto con una valoración notable, casi un 7,5. En el lado contrario se encuentran la explotación del caladero y la técnica de pesca, con una puntuación cercana al 2,5. El entorno geográfico y su origen (pesca extractiva o piscifactoría) también reciben una puntuación inferior a 5. Igualmente, el

consumidor se muestra poco receptivo al renombre y a los consejos del vendedor.

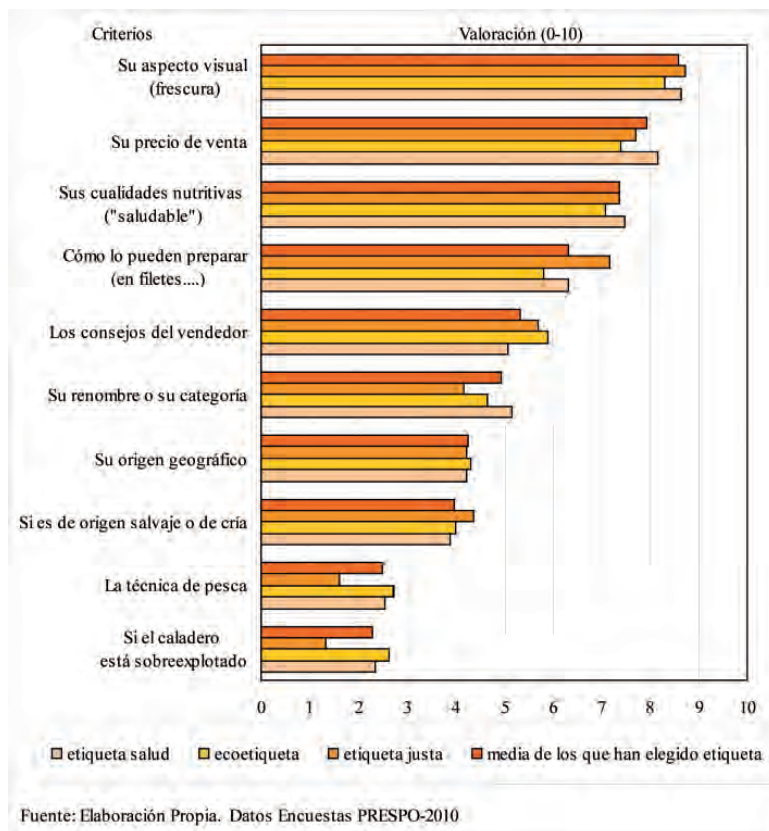


Figura 3.- Valoración de los Criterios de Compra (0-10) para los consumidores de productos etiquetados.

Específicamente, haciendo referencia a cada tipo de etiqueta, tal y como se recoge en la figura 3, se puede relacionar la elección de cada etiqueta con unos criterios de compra determinados:

- ❖ Los consumidores de etiqueta de Salud son los que más valor han dado al precio de venta, a las cualidades nutritivas y al renombre o reputación del producto.
- ❖ Los consumidores de ecoetiqueta, han dado mayor puntuación a los criterios relacionados con la explotación del caladero, técnica de pesca, origen geográfico y consejos del vendedor.

- ❖ Los consumidores de etiqueta de precio justo, se centran, fundamentalmente, en el aspecto visual y a la forma de preparación.

Sin embargo, las diferencias observadas entre los criterios de compra no son significativas para los consumidores de ecoetiqueta, que presentan un comportamiento homogéneo. Sí se han detectado diferencias relevantes en el precio -un criterio especialmente importante para los consumidores que eligen etiquetas de salud-, y en la forma de presentación -criterio muy importante para los consumidores que han elegido una etiqueta de precio justo-.

Conclusiones

El etiquetado de los productos agroalimentarios permite la puesta en valor de una serie de características específicas. En este sentido, a lo largo de los últimos años han ido ganando peso en los mercados las etiquetas relacionadas con la cualidades sanitarias de los productos (“Bio”), con la sostenibilidad de los recursos (“Ecológicas”) y con la garantía de rentas a los productores (Precio Justo). La diferenciación a través de las etiquetas permite la puesta en valor de unas características que el mercado debe remunerar a través de los precios.

El estudio realizado para ver el grado de respuesta de los criterios de compra del consumidor español ante el etiquetado de los productos del mar frescos pone de manifiesto que:

- ❖ Para el consumidor español es muy importante la forma de presentación en los mercados, valorando especialmente la frescura de los productos y sus cualidades nutricionales.
- ❖ El precio de venta sigue siendo muy importante, ya que es el segundo criterio más valorado a la hora de comprar pescado.
- ❖ El consumidor español, presta menos importancia a la forma de extracción de los productos pesqueros, razón por la cual tiene una menor valoración del estado de los recursos, su forma de explotación, etc.

De todo ello se puede señalar que las etiquetas relacionadas con los productos de salud podrían tener una buena aceptación en el mercado nacional y las etiquetas relacionadas con la sostenibilidad de las pesquerías presentan unas buenas perspectivas, ya que hay una demanda incipiente, pero sería necesario un mayor conocimiento por parte del público ya que no son conocidas por el consumidor.

Como comentario final, reflejar la escasa valoración que el consumidor otorga a los criterios relacionados con los procesos productivos y que son los que, por normativa, deben aparecer reflejados en pallets, tablillas, carteles, de venta al público.

Bibliografía

Boletín Oficial del Estado (BOE) núm. 31. Jueves 5 febrero 2004, pp. 4864-4868.

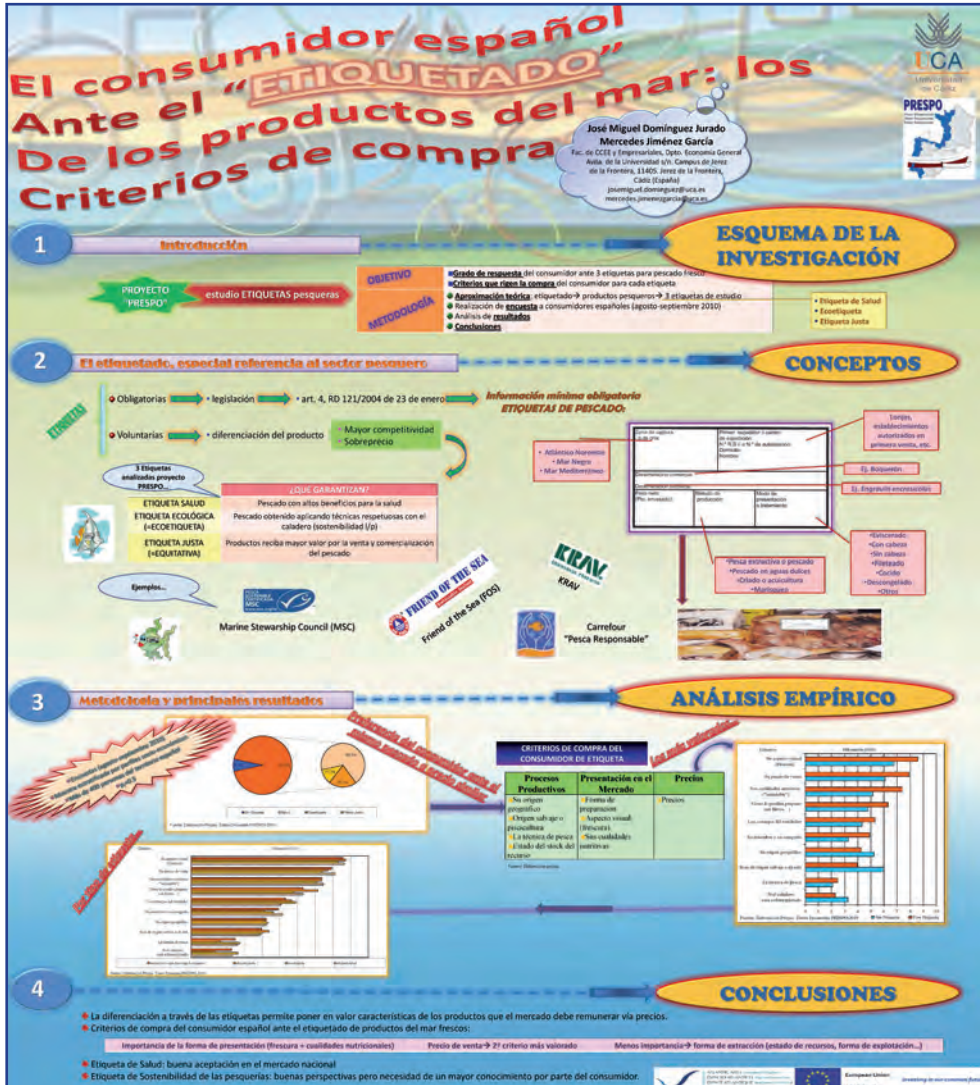
Boletín Oficial de la Junta de Andalucía (BOJA) núm. 157. Sevilla, 9 de agosto 2007, pp. 30-33.

Centro Europeo del Consumidor en España: <http://cec.consumo-inc.es/cec/Index.html>

Domínguez Jurado J.M., Pérez Péculo I., 2011. ¿Cuál es el mercado potencial para los productos de la pesca con etiquetado ecológico? Las expectativas y el comportamiento del consumidor en España. UCA Report of Project PRESPO, pp.21.

Office National Projet Interprofessionnel des produits de la mer et de l'aquaculture (OFIMER): Étude de faisabilité de la mise en place d'un ecolabel dans la filière des produits de la pêche maritime. Rapport final. 08/02/08.

Página oficial de PRESPO: <http://www.cripsul.ipimar.pt/PRESPO/index.php?pag=13&codIdioma=4>



Ensayos de reproducción de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)

González* A., García** L.

36620 Vilanova de Arousa, Spain

E-mail: *anagc82@hotmail.com, **naupliusa@hotmail.com

Resumen

A partir de tres ejemplares de caballito de mar narizón (*Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933) adquiridos en la red comercial se llevó a cabo su reproducción bajo condiciones controladas. La alimentación de los reproductores estuvo basada en *Artemia salina* viva en estado adulto proporcionada en dos tomas diarias. Se comenzó con 200 artemias/individuo/día llegando a suministrarles 700 artemias/individuo/día desde la segunda semana de la experiencia. Los ensayos de reproducción se realizaron en un acuario de 250 L con agua de mar filtrada y esterilizada. Los parámetros de cultivo fueron temperatura 25 ± 1 °C; la salinidad en torno a 35‰, el pH en 8-9 y el oxígeno disuelto por encima de 6 mg/L. Fueron sometidos a un fotoperiodo de 12:12 (González *et al*, 2004). Se observó la edad de diferenciación sexual y de primera reproducción así como los rituales de cortejo y la ausencia de fidelidad a la pareja en cautividad.

Bajo estas condiciones se obtuvieron crías a los 69 días desde el inicio de la experiencia, teniendo los reproductores una edad de 4 meses y medio. Al contrario de lo citado en las referencias bibliográficas (Sobolewski, 1997) no fue necesaria una altura de columna de agua de 90 cm para que tuviese lugar la cópula. Se determinó que una buena dieta basada en alimento vivo fue fundamental para la obtención de puestas de calidad.

Palabras clave

Hippocampus, acuariofilia, reproducción, artemia.

Introducción

Más de 20 millones de caballitos de mar son extraídos de su medio cada año. Como respuesta al incremento global de la pesca indiscriminada, se han creado en el ámbito mundial proyectos con el fin de preservar la especie y el entorno donde habita (Vincent, 1995). Desde el año 2004 las 32 especies del género *Hippocampus* están incluidas en el apéndice II del CITES.

La mayor parte de los caballitos capturados están destinados al mercado asiático, donde se comercializan en seco y se les atribuyen propiedades afrodisíacas y curativas. Asimismo, existe un mercado específico para acuariofilia, principalmente en Europa y E.E.U.U (FAO, 2004).

La demanda de caballitos de mar vivos para acuarios ha incrementado en los últimos años. Destaca Alemania con un volumen de importaciones de 6.000 individuos al año (UNEP- WCMC CITES, 2008). Este incremento de la demanda ha provocado la aparición de criaderos en Europa y aun así se siguen importando ejemplares. Para evitar la disminución de las poblaciones naturales es necesario aumentar el cultivo de las especies de este género.

El *Hippocampus reidi* es una de las especies más demandadas en el comercio de los peces ornamentales (Dos Santos, 2009), con un rápido crecimiento y elevada supervivencia (González *et al*, 2004).

Con esta experiencia queremos estudiar su comportamiento reproductivo y así facilitar un mayor conocimiento sobre su cultivo.

Materiales y métodos

Esta experiencia se realizó con dos machos y una hembra de *Hippocampus reidi* adquiridos

en la red comercial y mantenidos en cautividad. En el momento de su recepción los ejemplares tenían la edad de 2 meses, según la relación talla-edad de González *et al* (2004).

El traslado de los ejemplares a las instalaciones de cultivo tuvo una duración de 2 horas en las que los individuos se mantuvieron en bolsas traslúcidas de 1 L de capacidad, con ¼ de agua y el resto de oxígeno medicinal.

Una vez en las instalaciones, los tres individuos fueron introducidos en un acuario de 90 L de capacidad con fondo transparente, en circuito cerrado, con temperatura controlada y equipado con un filtro de nyal de 100 µm para evitar la pérdida de alimento vivo. El sistema de tratamiento de agua incluía un filtro biológico, filtración mecánica hasta 1 µm y esterilización por UV (Chamorro *et al*, 2007). El acuario fue ambientado con una rejilla plástica y con algas artificiales para que los individuos, de hábitos bentónicos, pudiesen sujetarse con su cola prensil. Transcurridos 9 días desde la recepción se cambió el color del fondo del acuario pasando de ser transparente a amarillo, para comprobar si en estos individuos existe mimetismo con el medio.

Para la alimentación de los reproductores se cultivó *Artemia salina* EG, proporcionándola en estado adulto. La alimentación de la artemia se realizó con la microalga *Isochrysis galbana* en vivo y además fue enriquecida en ácidos grasos (Payne *et al*, 2000) con un producto comercial (Red Pepper). La frecuencia de alimentación de los ejemplares de *Hippocampus reidi* fue de dos tomas diarias, una por la mañana y otra por la tarde (excepto los fines de semana, con una sola toma al día). Se comenzó con una dieta de 200 artemias vivas por individuo/día, incrementándola paulatinamente hasta llegar a 700 artemias/individuo/día.

Diariamente se midieron los parámetros físico-químicos del agua. La temperatura se mantuvo en 25 ± 1 °C; la salinidad en torno a 35‰, el pH en 8-9, el oxígeno disuelto siempre por encima de 6 mg/L y los valores de amonio, nitritos y nitratos se mantuvieron por debajo de los niveles de toxicidad. El fotoperiodo al que se sometieron fue de 12:12 (González *et al*, 2004).

Las operaciones de cultivo consistieron en: la limpieza del acuario sifonando los desechos; la revisión y limpieza diaria del filtro que evitaba la pérdida del alimento; y renovaciones diarias del agua de aproximadamente el 10% del volumen total.

Los ejemplares fueron observados diariamente para controlar su conducta durante las etapas de diferenciación sexual, madurez, cortejo y cópula. La diferenciación sexual se basa en la aparición de una bolsa de gestación en los machos, y de un ovopositor en las hembras. En la fase de cópula la hembra transfiere sus gametos al macho, que será el que expulse las crías.

Se tomaron datos de la longitud y el peso de los ejemplares a los 35 días desde el inicio de la experiencia. No se realizaron más medidas por temor a que dicho manejo provocase un estrés en los individuos que pudiese afectar al proceso de cópula. La medida que se tomó fue la longitud total, LT, que va desde la corona hasta el extremo de la cola.

Una vez observado el primer cortejo, se individualizó la primera pareja en un acuario de 250 L con 1 metro de altura para que tuviese lugar la cópula, ya que existen referencias (Sobolewski, 1997) de que es necesario disponer de al menos 90 cm de columna de agua para que ésta tenga lugar. Para comprobar si existía rivalidad entre los dos machos puestos en contacto con una sola hembra, el segundo macho se introdujo en el acuario de 250 L trece días después.

Debido a problemas logísticos nos vimos obligados a introducir a los tres ejemplares en un nuevo acuario de 90 L con 40 cm de altura. Las condiciones de cultivo en este nuevo acuario fueron las mismas que las utilizadas hasta ese momento.

Resultados y discusión

Una vez iniciado el cultivo, se observó la evolución de los ejemplares tras un periodo de aclimatación de 7 horas. Los individuos mostraron una buena adaptación a su nuevo hábitat, nadando activamente. El comportamiento alimenticio de los ejemplares mostró patrones activos de captura de presa. En el momento en que se cambió la alimentación a artemia congelada hubo una interrupción en las puestas por lo que se continuó con alimento vivo.

En el transcurso del cultivo se observó un cambio de coloración de los individuos pasando de una tonalidad parda a amarilla intensa, en el momento en que se cambió el fondo del acuario de transparente a amarillo. Este hecho pone de manifiesto la capacidad que tienen estos individuos para mimetizarse con el medio.

Tras 28 días desde el inicio de la experiencia, se observó la presencia de la bolsa de gestación en los machos, lo que se corresponde con una edad de tres meses según la curva de crecimiento de González *et al.* (2004). La aparición del ovopositor en la hembra se observó 17 días después. Estos caracteres permitieron diferenciarlos sexualmente. Quince días después de la aparición de la bolsa, se observaron los primeros rituales de cortejo entre los tres ejemplares. El macho y la hembra se entrelazaban con la cola, nadando de forma sincronizada con el hocico pegado a su parte ventral y ambos aclaraban su coloración. El hecho de que la hembra participase en rituales de cortejo con ambos machos indica que en cautividad no se

conserva la fidelidad a la pareja.

El día 35 se midieron los tres ejemplares de *Hippocampus reidi* que en ese momento tendrían casi 4 meses de edad. La hembra midió $7 \pm 0,1$ cm, el macho más grande $10 \pm 0,1$ cm y el macho pequeño $8 \pm 0,1$ cm. En este momento del ensayo, se pesaron los tres individuos obteniéndose un peso de $5,1 \pm 0,1$ g para la hembra, y de $6,7 \pm 0,1$ g y $6,1 \pm 0,1$ g para los machos.

Cuatro días después de que la primera pareja fuese individualizada tuvo lugar la cópula, por tanto, 27 días después de la aparición de la bolsa de gestación y con una edad de 4 meses.

Transcurridos 14 días desde la cópula, el macho 1, de menor tamaño, expulsó 4 crías con una talla media de $4,86 \pm 0,01$ mm y un peso húmedo medio de $1,4 \pm 0,01$ mg. El macho 2, de mayor tamaño, expulsó 20 crías 13 días después del primero. La segunda puesta del macho 1 se consiguió 26 días después de la primera, produciéndose la liberación de 85 crías.

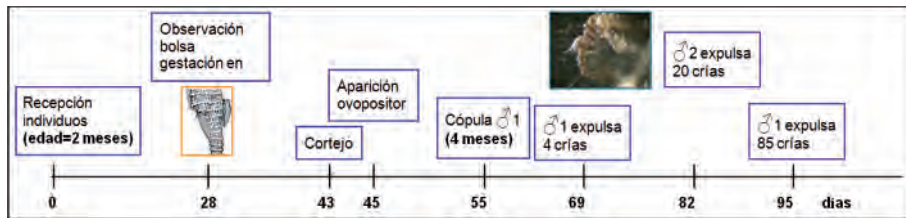


Figura 1.- Temporalización de los principales eventos reproductivos de *Hippocampus reidi* en cautividad

Podemos concluir que en las condiciones de estudio una vez observado el primer cortejo, éstos se suceden de forma continua, preferentemente a primera hora de la mañana. La hembra realiza cortejos con ambos machos y entre ellos no se observó rivalidad en ningún caso.

El tiempo de gestación de los machos de *H. reidi* se corresponde con las referencias existentes (Gómez *et al.*, 2004) para esta especie, durando en nuestro caso aproximadamente 15 días.

Se observó que la hembra depositó sus huevos en diferentes machos con un intervalo de trece días. En este ensayo se observó que un mismo macho tuvo una frecuencia de puestas de 26 días, pudiendo copular 12 días después de la expulsión de las crías.

Después de introducir a los tres ejemplares en el acuario de 90 L que tenía una altura de 40 cm, los rituales de cortejo, la cópula y las puestas se siguieron produciendo de forma sucesiva. En nuestro caso no fueron necesarios los 90 cm de columna de agua (Sobolewski, 1997) para que tuviese lugar la cópula. En este nuevo acuario, y tras un breve periodo de aclimatación, tuvo lugar la tercera puesta del macho 1, expulsando 120 crías.

Tal como se documenta en la bibliografía (González *et al*, 2004) el número de crías expulsadas por un macho de *H. reidi* en cautividad puede variar entre 45 y 940 crías, dependiendo del tamaño de los reproductores. En este ensayo el número de crías aumentó, pasando de 4 en la primera a 85 en la segunda y 120 en la tercera.

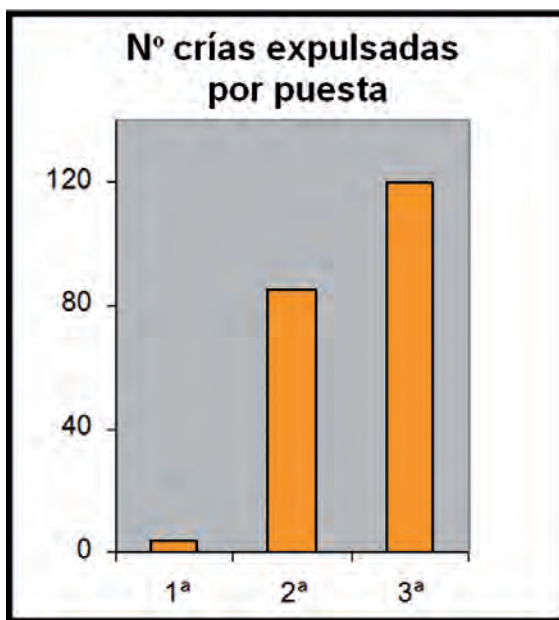


Figura 2.- Puestas de un mismo macho.

Conclusiones

Los resultados del estudio sugieren que manteniendo los reproductores en las instalaciones adecuadas y con una buena dieta, basada en alimento vivo, se pueden conseguir puestas con frecuencia y relativa facilidad.

Bibliografía

- Chamorro A., Planas M. 2007. Diseño de acuarios para mantenimiento y reproducción en cautividad del caballito de mar *Hippocampus guttulatus* Cuvier 1829. *XI Congreso Nacional de Acuicultura*. Sesión temática: Ingeniería y nuevas tecnologías. Paneles. 1541-1544.
- CITES 2002. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. *Decimoctava reunión del Comité de Fauna de San José* (Costa Rica), 8-12 de abril de 2002. AC18 doc. 18.1 (www.cites.org).
- Dos Santos M., Joeux J. 2009. Closing the reproductive cycle: Growth of the seahorse *Hippocampus reidi* from birth to adulthood under experimental conditions. *Aquaculture* 292 37-41.
- González E., Guevara C., Rivero N., Selema R. 2003. Algunos aspectos sobre la reproducción y cría del caballito de mar (*Hippocampus erectus* Perry, 1810) en condiciones de laboratorio. *CIVA* 2003, 871-877.
- González E., Guevara C., Alcalá A., Selema R. 2004. Algunos aspectos biológicos sobre el caballito de mar narizón (*Hippocampus reidi* Ginsburg, 1993) en cautiverio. *CIVA* 2004.
- Payne M.F., Rippingale R.J. 2000. Rearing West Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched artemia. *Aquaculture* 188 (2000) 353-361.
- Project Seahorse fundado por Dr. Amanda Vincent. <http://www.fisheries.ubc.ca/members/avincent/>
- Sobolewski A. 1997. Breeding the fat bellied seahorse. *Austasia Aquaculture*, 11 (4): 71-72. <http://www.unep-wcmc.org/citestrade/report.html>



ENSAYOS DE REPRODUCCIÓN DE *Hippocampus reidi*

González, Ana y García, Lara

Introducción

- El caballito de mar nanzón (*Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933) es una de las especies más demandadas en el comercio de peces ornamentales (CITES, 2008) con un rápido crecimiento y elevada supervivencia (González *et al.*, 2004).
- En esta experiencia se pretende estudiar su comportamiento reproductivo y facilitar un mayor conocimiento sobre su cultivo.
- Se observó la edad de diferenciación sexual y de primera reproducción así como los rituales de cortejo y la ausencia de fidelidad a la pareja en cautividad.

Material y Métodos

- A partir de tres ejemplares de *Hippocampus reidi* adquiridos en la red comercial se llevó a cabo su reproducción bajo condiciones controladas.

Parámetros de cultivo

T = 25±1°C

S % = 35‰

Oxígeno ≥ 6 mg/L

pH = 8-9

Fotoperiodo = 12:12

Alimentación

Artemia salina viva en estado adulto enriquecida en ácidos grasos
Dieta 700 art/ind/día suministrada en dos tomas



Instalaciones

El ensayo se realizó en dos acuarios.

De uno de 90L se pasó a uno de 250L en el momento en que se observaron los rituales de cortejo.

Agua de mar filtrada y esterilizada

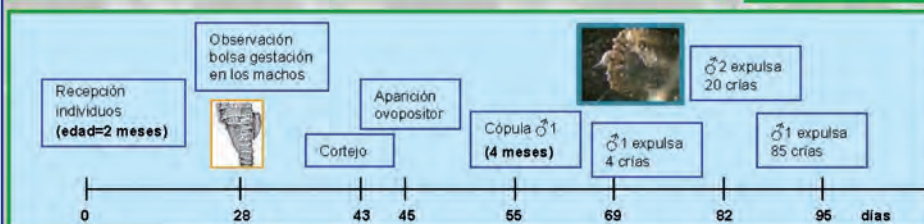
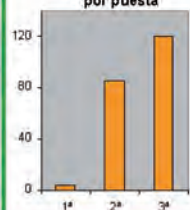


- Los ejemplares fueron observados diariamente para controlar su conducta durante las etapas de diferenciación sexual, madurez, cortejo y cópula.

Resultados y discusión

- Se observaron patrones activos de captura de presa. En el momento que se cambió de alimento vivo a congelado hubo una interrupción en las puestas. Se continuó con artemia viva demostrando que una buena alimentación es fundamental para la obtención de las crías.
- Se demostró mimetismo al cambiar la coloración del fondo del acuario.
- En el cortejo macho y hembra se entrelazaban con la cola, nadando de forma sincronizada, con el hocico pegado a su parte ventral. Ambos aclararon su coloración.
- Al contrario de lo citado en las referencias bibliográficas (Sobolewski, 1997) no fue necesaria una columna de agua de 90 cm para que tuviese lugar la cópula.
- La hembra depositó sus huevos en diferentes machos con un intervalo de 13 días, descartando la fidelidad a la pareja en cautividad.

N° crías expulsadas por puesta



Bibliografía

- CITES, 2008. Apéndices I, II y III. <www.cites.org>
- González, E., Guevara, C., Alcalá, A., Selma, R. Algunos aspectos biológicos sobre el caballito de mar nanzón en cautiverio. CIVA, 2004, 524-532.
- Sobolewski, A. 1997. Breeding the fat bellied seahorse. *Austasia Aquaculture*, 11 (4): 71-72.
- Vincent, A.C.I. The International Trade in Seahorse. Cambridge: Traffic International, 1996.

Esquema sensorial QIM (Método do Índice de Qualidade) do goraz-de-pinta (*Pagellus bogaraveo*)

Sant'Ana^{1,2*} L., Soares³ S., Vaz-Pires^{3,4} P.

¹Centro de Aquicultura (CAUNESP), SP, Brasil

²Dept. de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Fazenda Experimental Lageado, 18603-970 and Botucatu, SP, Brasil. *E-mail: santana@fca.unesp.br

³CIIMAR - Interdisciplinary Centre for Marine and Environmental Research, R. dos Bragas, 289, 4050-123 Porto, Portugal

⁴ICBAS - Abel Salazar Institute for the Biomedical Sciences, University of Porto, L. Prof. Abel Salazar, 2, 4099-003 Porto, Portugal

Resumo

Após uma apresentação dos métodos atuais para avaliação da qualidade do pescado, salienta-se a importância dos sensoriais. Destes, o Método do Índice de Qualidade (QIM, do inglês *Quality Index Method*), o mais recente método em desenvolvimento, cujas tabelas já existem para quase uma centena de espécies e produtos, é descrito nas suas componentes principais.

O trabalho consistiu na criação de uma nova tabela para o goraz-de-pinta (*Pagellus bogaraveo*), peixe com interesse potencial para aquicultura no sul da Europa. A tabela final é apresentada como o principal resultado deste trabalho.

Prevê-se que, num futuro próximo, continuem a ser publicadas tabelas para muitas outras espécies e produtos, uma vez que este sistema sensorial se tem revelado muito útil, prático, rápido, preciso e sem custos elevados.

Palavras-chave

Pagellus bogaraveo, quality index method, QIM.

Introdução

Existem para a avaliação da qualidade do pescado diversos métodos, divididos geralmente em sensoriais, químicos, físicos e microbiológicos. Entre os tipos de métodos disponíveis atualmente, os sensoriais assumem e deverão continuar a assumir uma importância destacada, sobretudo, entre outras razões, pela sua proximidade em relação à análise feita pelos consumidores (Bonilla, Sveinsdóttir e Martinsdóttir, 2007).

Neste grupo co-existem hoje em dia vários sistemas (muitos conhecidos por esquemas ou tabelas), dos quais se salientam os esquemas Torry (Shewan, Mackintosh, Tucker e Ehrenberg, 1953), o esquema da União Europeia ou esquema UE (Howgate *et al.* (1992) e o Método do Índice de Qualidade (QIM) (Branch e Vail, 1985; Bremner, 1985; Bremner, Olley e Vail, 1987).

Recentemente, tem vindo a realizar-se um esforço para a implementação do mais recente QIM, que se baseia em características organolépticas muito semelhantes às do esquema da UE, mas desenvolvido espécie a espécie e produto a produto (portanto, existem tabelas QIM para espécies e produtos diferentes); a atribuição de pontos é feita pelas características negativas que vão surgindo. O esquema apresenta assim pontuações crescentes, que se designam por pontos de demérito (pescado no momento da morte tem pontuação = 0). O QIM é um esquema mais preciso, mas também de uso mais demorado e complexo do que o esquema da UE.

A especificidade e precisão do QIM implicam a construção de tabelas dedicadas a cada espécie, produto e até mesmo tipo de armazenamento em causa. No sul da Europa, as espécies que mais têm sido alvo deste novo tipo de método são as dos peixes de aquacultura, com incidência principal nas espécies de elevado valor local e nas que mais recentemente entraram na lista de espécies cultiváveis.

O goraz-de-pinta é uma destas espécies: apresenta algum potencial para aquacultura, tem uma importância comercial local relevante e, adicionalmente, não é muito comum noutros países, pelo que a realização de um novo esquema para esta espécie (peixes inteiros

e conservados em gelo moído) foi o objetivo deste trabalho (Sant'Ana, Soares e Vaz-Pires, 2011).

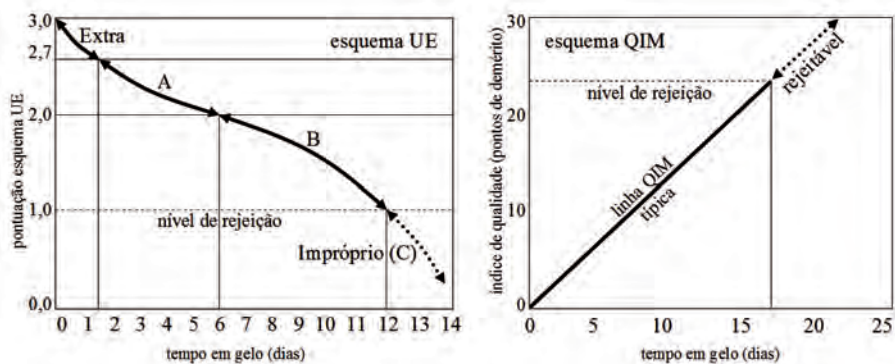


Figura 1.- Curvas típicas de esquemas recentes em análise do pescado: esquema UE e esquema QIM.

Materiais e métodos

A construção de um esquema QIM tem por base a observação e cuidadoso registo das alterações que ocorrem no pescado durante a sua degradação, até ser atingido o ponto de rejeição, definido principalmente por características sensoriais (*e.g.* aspeto, brilho e muco em peixe inteiro e/ou músculo, e/ou avaliações feitas por painéis (*e.g.* odor, flavor e textura, em filetes), geralmente complementadas por análises físicas, químicas e/ou microbiológicas. As características mais relevantes e com variações mais regulares ao longo da degradação foram usadas para construir uma tabela, na qual se referem os pontos (de demérito) a atribuir a cada característica.

Este esquema permite estimar o tempo passado em gelo *ice days* e prever o tempo restante até à rejeição. A precisão é de cerca de ± 1 dia em gelo.

Resultados

O resultado obtido neste trabalho é a tabela QIM para esta espécie.

Tabela I.- Esquema QIM do goraz-de-pinta (*Pagellus bogaraveo*), armazenado em caixas com gelo moído.

Atributo	Parâmetro	Caraterísticas	Pontuação	
Aparência	Pele dorsal	Brilhante, iridiscente, rosa-salmão	0	
		Ligeiramente brilhante	1	
		Nada brilhante, baça	2	
	Região abdominal e opérculo	Cheiro	Cinzeno, prateado	0
			Cinzeno, com pontos amarelados	1
			Cinzeno, com pontos castanhos	2
		Fresco, a algas	0	
		Neutro	1	
	A leite azedo	2		
	Metálico	3		
Textura	Firmeza	Firme	0	
		Algo mole	1	
		Muito mole	2	
Região bucal	Resistência	Elevada	0	
		Reduzida	1	
		Sem resistência	2	
	Cor	Rosado	0	
		Amarelado	1	
Região anal	Muco	Ausente	0	
		Presente	1	
	Posição	Fechada	0	
		Aberta	1	
		Muito aberta	2	
Olhos	Córnea	Clara, translúcida	0	
		Opaca e/ou vermelha	1	
		Leitosa, gelatinosa	2	
	Pupila	Preta, brilhante	0	
		Ligeiramente leitoso e opaco	1	
	Forma	Leitoso, branco, opaco	2	
		Plano	0	
		Convexo	1	
		Côncavo	2	
Deformado	3			
Brânquias	Cor	Vermelho brilhante	0	
		Vermelho, castanho-claro	1	
		Castanho e/ou esverdeado	2	
	Muco	Ausente	0	
		Transparente, gelatinoso	1	
		Milky	2	
	Cheiro	Transparente, aquoso	3	
		A algas	0	
		Neutro	1	
		A podre, metálico	2	
Pontuação total			0-30	

Discussão

A tabela apresentada é, como já se tornou comum neste tipo de primeiras publicações de tabelas QIM, uma primeira versão que só a utilização no terreno, de forma rotineira, permitirá melhorar através das dificuldades que os utilizadores vierem a revelar.

Pode considerar-se como um instrumento de trabalho muito útil, que permitirá de forma rápida, eficaz e precisa, e sem grandes custos, atribuir ao goraz-de-pinta uma determinada pontuação, correspondente a um índice de qualidade, que pode ser relacionado diretamente a dias em gelo correspondentes já passados, e dias restantes ainda disponíveis até à rejeição.

Conclusões

Salienta-se, como principal conclusão, que este tipo de tabelas no esquema QIM serão cada vez mais utilizadas e vulgarizadas no futuro, prevendo-se que todas as espécies comercializadas (e diferentes produtos) venham a ter mais tarde ou mais cedo o seu esquema QIM dedicado, que se tornará assim no sistema de avaliação sensorial de pescado mais comum e fácil de utilizar.


Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do Programa UNESP / Santander (Brasil).

Bibliografia

- Bonilla A.C., Sveinsdóttir K., Martinsdóttir E. 2007. Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food Control*, 18: 352-358.
- Branch A.C., Vail A.M.A. 1985. Bringing fish inspection into the computer age. *Food Technology in Australia*, 37: 352-355.

- Bremner H.A. 1985. A convenient, easy to use system for estimating the quality to chilled seafood. *Fish Processing Bulletin*, 7: 59-70.
- Bremner H.A., Olley J., Vail A.M.A. 1987. Estimating time-temperature effects by a rapid systematic sensory method. In D. E. Kramer, & J. Liston (Eds.), *Seafood Quality Determination*. Elsevier, pp. 413–435.
- Howgate P., Johnston A., Whittle K.J. 1992. Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products. Aberdeen: Torry Research Station, Food Safety Directorate, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Sant’Ana L., Soares S., Vaz-Pires P. 2011. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*)”. *LWT (Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie) - Food Science and Technology*, 44 (10) 2253-2259.
- Shewan J.M., Mackintosh R.G., Tucker C.G., Ehrenberg A.S.C. 1953. The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice. *Journal of Science and Food Agriculture*, 6:183–189.




Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*)

Quality Index Method (QIM) sensory scheme

Sant'Ana^{1,2} Léa Silvia, Soares³ Sílvia, Vaz-Pires^{3,4} Paulo

¹ Centro de Aquicultura (CAURESP), SP, Brazil; ² Dept. de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade Experimental Lagoinha, 13025-970 and Botucatu, SP, Brazil; ³ CIAMAR - Interdisciplinary Centre for Marine and Environmental Research, R. das Brigadas, 289, 4550-123 Porto, Portugal; ⁴ ICBAS - Abel Salazar Institute for the Biomedical Sciences, University of Porto, L. Prof. Abel Salazar, 2, 4099-003 Porto, Portugal



1 Introduction

Among the several sensory, chemical, physical and microbiological methods nowadays available to evaluate seafood freshness, the sensory are the most common and the closest to the used by consumers. They are considered as reference methods and used to validate all others.

The Food Technology Laboratory (LTA) of ICBAS published some of the last QIM (Quality Index Method) tables dedicated to locally relevant species, namely: common octopus (*Octopus vulgaris*), cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex condeletii*), and more recently blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*), a species that shows some potential for aquaculture.

This poster indicates the QIM schemes already published and available and, with some detail, the scheme for the blackspot seabream (common name in Portuguese: goraz-de-pinto).

3 Main characteristics of the QIM system

A QIM scheme is based on the observation and careful registration of seafood changes during their degradation, until they reach a rejection point, defined mainly by external sensory characteristics (e.g. appearance, brightness and mucous in whole fish and/or muscle) and/or evaluated by a panel (e.g. smell, flavour and texture, in fillets) and generally complemented by physical, chemical and/or microbiological analysis.


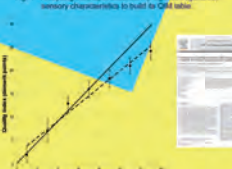
Most relevant characteristics are used to build a table, in which increasing points are attributed along the degradation in ice.

The system, after testing and fine tuning, validation and final adjustments, allows the estimation of the corresponding time in ice ("icedays") and also prediction of the remaining shelf-life until rejection. The precision is around ± 1 iceday, much higher than the previous European Union sensory scheme, which is about ± 2 icedays.

2 QIM schemes published

Common name	Scientific name	Product(s)
Atlantic halibut	<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	farmed
Herring	<i>Clupea harengus</i>	fresh, whole
Haddock	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	fresh, gutted
Cod	<i>Gadus morhua</i>	fresh, whole
Cod	<i>Gadus morhua</i>	fresh, gutted
Cod	<i>Gadus morhua</i>	fresh, cooked
Cod	<i>Gadus morhua</i>	fresh fillets, open fish
Cod	<i>Gadus morhua</i>	defrosted, whole
Cod	<i>Gadus morhua</i>	defrosted, fillets
Cod	<i>Gadus morhua</i>	defrosted, cooked fillets
Anchovy	<i>Engraulis encrasicolus</i>	fresh, whole
Shrimp	<i>Penaeus borealis</i>	fresh, whole
Shrimp	<i>Penaeus borealis</i>	cooked, peeled
Shrimp	<i>Litopenaeus setiferus</i>	fresh, whole, farmed
Horse mackerel (or scad)	<i>Trachurus trachurus</i>	fresh, whole
Cuttlefish	<i>Sepia officinalis</i>	fresh, whole, washed
Cuttlefish	<i>Sepia officinalis</i>	fresh, whole, unwashed
Seabream	<i>Sparus aurata</i>	fresh, whole
European eel	<i>Anguilla anguilla</i>	fresh, gutted, farmed
Pollock	<i>Polachius virens</i>	fresh, gutted
Pollock	<i>Polachius virens</i>	fresh, whole
Frigate tuna	<i>Axotis thazard</i>	fresh, whole
Senegalese sole	<i>Solea senegalensis</i>	fresh, whole, farmed
Sole	<i>Solea vulgaris</i>	fresh, whole
Silver seaboard	<i>Lepidotus caesiatus</i>	fresh, whole
Black seaboard	<i>Aphanipterus carbo</i>	fresh, whole
Redfish	<i>Sebastes mentella</i> , <i>S. marinus</i>	fresh, whole
Hake	<i>Merluccius merluccius</i>	fresh, whole
Hake	<i>Merluccius merluccius</i>	fresh, whole
Octopus	<i>Octopus vulgaris</i>	fresh, whole
Broadtail shortfin squid	<i>Illex condeletii</i>	fresh, whole
Turbot	<i>Scophthalmus maximus</i>	fresh, whole
Sea bass	<i>Dicentrarchus labrax</i>	fresh, whole, wild, farmed
Hybrid striped bass	<i>Morone saxatilis</i> , <i>M. chrysops</i>	fresh, whole, farmed
Btl	<i>Scophthalmus rhombus</i>	fresh, whole
Atlantic salmon	<i>Salmo salar</i>	fresh, whole, farmed
Arctic char	<i>Salvelinus alpinus</i>	fresh, whole, farmed
Mackerel	<i>Scomber scombrus</i>	fresh, whole
European sardine	<i>Sardinia pilchardus</i>	fresh, whole
Australian sardine	<i>Sardinops sagax</i>	fresh, whole
Flounder	<i>Platichthys flesus</i>	fresh, whole
Flounder	<i>Pleuronectes platessa</i>	fresh, whole
Flounder	<i>Paralichthys patagonicus</i>	fresh, whole
Dab	<i>Limanda limanda</i>	fresh, whole
Spotted trevally	<i>Seronolella punctata</i>	fresh, whole
Rainbow trout	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	whole, farmed
Blackspot seabream	<i>Pagellus bogaraveo</i>	fresh, whole

4 Blackspot seabream QIM scheme

Quality attribute	Parameter	Points
Appearance	General state	Bright, shiny, scales 6
		Shiny, bright 1
Mouth and operculum		Very slimy 6
		Slimy, yellowish spots 2
Odour		Very strong 6
		Fresh, not stinky 4
Texture		Sticky 2
		Medium 1
Colour	Finless	6
		Finless with 3
Mucous		Very soft 2
		Very 6
Lump		Large 6
		Small 2
Dark spots	Macro	6
		Micro 1
Eyes	Apparent	3
		Clear 6
Gills	Dark	1
		Extremely open 2
Fillet	Clear, translucent	6
		Opaque and/or red 1
Muscle	Mildly gelatinous	2
		Black, fragile, stringy 6
Skin	Slight white, yellow	1
		Mildly, white, opaque 2
Fillets	Firm	6
		Loose 1
Gills	Chopped	2
		Deformed 1
Muscle	Bright red	6
		Dark, light brown 1
Muscle	Brown and/or greenish	2
		Black 1
Muscle	Translucent, gelatinous	1
		Mildly 2
Muscle	Translucent, white	1
		See words 6
Muscle	Hard	1
		Soft and/or mushy 2
Total QIM score		6/10

5 Conclusion

The QIM system is modern and precise, allowing a rapid answer without sample destruction. Presumptively, it will be increasingly used at labs and all seafood chain.

The existence of QIM tables for wild and farmed species and products is useful and will be continued at the LTA of ICBAS. QIM tables allow a very precise evaluation and the prediction of the remaining shelf-life, minimizing effort and cost.

The differences between theoretical and obtained line, as they occur mainly at the end of the curve (less relevant portion), are not considered crucial, but further adjustments are needed to improve this point.

Menção honrosa melhor poster

Estudos preliminares para o desenvolvimento de um novo produto “caviar”

Pinheiro C., Pinheiro R., Fonseca S., Vaz Velho* M.

Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo

Av. Atlântico, 4900-348 Viana do Castelo

*E-mail: mvazvelho@estg.ipvc.pt

Resumo

Neste trabalho descrevem-se as diversas etapas efetuadas com vista ao lançamento no mercado de um novo produto, à base de ovas de sardinha (*Sardina pilchardus*) e de biqueirão (*Engraulis* spp.) anchovado, comercialmente designado como tipo “caviar”.

Os objetivos do trabalho para além da realização de testes preliminares para elaboração do novo produto visavam a elaboração e análise de um inquérito para estabelecimento do consumidor-alvo preferencial e do posicionamento específico do produto no mercado.

A técnica usada foi a esferificação básica. Trata-se da gelificação controlada de um líquido, misturado com alginato de sódio submergido numa solução de cloreto de cálcio.

Foi elaborado e realizado um inquérito onde foram equacionados diversos parâmetros, género, idade, escalão remuneratório, hábito de consumo de conservas de pescado, critério de escolha do produto, consumo ao longo do ano, curiosidade/interesse em produtos tipo “caviar”, tendo-se concluído que havia influência das variáveis género e escalão remuneratório no interesse no produto, mas não tendo sido detetada qualquer dependência em relação às outras variáveis analisadas.

Palavras-chave

Caviar, esferificação, consumidor-alvo.

Introdução

O número de empresas conserveiras diminuiu consideravelmente nos últimos anos, mas as que estão atualmente em funcionamento são empresas muito modernas e competitivas, que diversificaram a sua produção usando agora uma maior variedade de espécies e produtos (Dias, 1991; DGPA, 1999; DGPA, 2001; Anónimo, 2010).

Este trabalho foi realizado por solicitação de uma empresa de conservas que pretendia lançar no mercado um novo produto à base de matérias-primas comumente usadas pela empresa. Os objetivos do trabalho, para além da realização de testes preliminares para elaboração do novo produto, visaram a elaboração e análise de um inquérito para estabelecimento do consumidor-alvo preferencial e do posicionamento específico do produto no mercado (Lindon, 2006)

Materiais e métodos

A técnica usada foi a esferificação básica. Consiste na gelificação controlada de um líquido, misturado com alginato de sódio submergido numa outra solução líquida com cloreto de cálcio. O líquido contendo o alginato torna-se mais espesso, solidifica-se e forma então uma parede externa gelatinosa à superfície da esfera. A reação com o alginato de sódio é feita a frio e é muito rápida.

Para a primeira experiência, prepararam-se latas de conservas já esterilizadas de ovas de sardinha e latas de anchovas e foi usado o *kit* de esferificação gastronomy lab (El Bulli), constituído por diversos utensílios adequados para cada operação de esferificação (seringas, colheres, escorredor, etc.), alginato de sódio e cloreto de cálcio. Nesta primeira experiência, seguiram-se as indicações do *kit*. No caso das ovas de sardinha usaram-se 0,5 g/100cm³ de alginato de sódio e 0,5 g/100 cm³ de cloreto de cálcio. No caso do biqueirão anchovado foi usado 1 g/100 cm³ de alginato e 0,5 g/100 cm³ de cloreto de cálcio.

Na segunda experiência mantiveram-se as quantidades de cloreto de cálcio mas experimentaram-se diversas quantidades de alginato de sódio (2, 3 e 5 g/100 cm³). No caso do biqueirão anchovado para a diminuição do pH adicionou-se ainda citrato de sódio (0,5 g/100 cm³).

A fim de se poder avaliar a aceitação do produto e a definir-se o potencial consumidor, foi elaborado e realizado um inquérito onde foram equacionados diversos parâmetros, sexo, idade, escalão remuneratório, hábito de consumo de conservas de pescado, critério de escolha do produto, consumo ao longo do ano, curiosidade/interesse em produtos tipo caviar. Foram distribuídos 150 inquéritos a uma população adulta (>20 anos), entregues e rececionados em mão ou via correio eletrónico. Responderam 116 inquiridos (77,33%) tendo sido rejeitados 16 inquéritos (23,66%) por não se encontrarem completos.

Foram utilizados testes não paramétricos (teste da independência do qui-quadrado) a um nível de significância de 0,05, para avaliar a influência (dependência) das variáveis estudadas.

O teste de independência do qui-quadrado para tabelas de contingência 2x2 foi efetuado utilizando o STATISTICA V.7 (Statsoft, EUA) e para tabelas de ordem superior foi usada uma folha de cálculo *online*: <http://www.people.ku.edu/~preacher/chisq/chisq.htm>.

Resultados e discussão

No caso do produto à base de ovas de sardinha obtiveram-se umas esferas relativamente estáveis. O produto apresentava a cor característica própria da ova de sardinha, a cor salmão.

No caso do produto à base de anchovas não se conseguiram obter esferas estáveis - quase imediatamente após contacto com a solução de cloreto de cálcio, as esferas começavam a dissolver-se. O produto apresentava uma tonalidade acastanhada, característica da matéria-prima.

Após a 2ª experiência em que se experimentaram diferentes concentrações de alginato de sódio e se adicionou citrato de sódio para baixar o pH de 4,7 para 3,0, o produto à base biqueirão não apresentava as características desejáveis.

Para aperfeiçoamento da técnica decidiu-se frequentar uma formação com um dos grandes chefes da cozinha molecular, o Chef Thierry Marx, e com o Professor Raphaël Haumont, da Universidade de Paris-Sud, que após algumas reflexões sugeriram que se pusesse de parte

o biqueirão anchovado e que se experimentasse cozer previamente as ovas de sardinha em embalagens plásticas, recuperar o seu exsudado e só então adicionar o alginato de sódio para depois se proceder ao processo de esferificação. Estas experiências, posteriormente realizadas na empresa de conservas, mostraram ser efetivas produzindo-se esferas perfeitas e estáveis.

Aos 150 inquéritos distribuídos responderam 116 inquiridos (77,33%) tendo sido rejeitados 16 inquéritos (23,66%) por não se encontrarem completos.

Foram efetuados testes não paramétricos (teste da independência do qui-quadrado) a um nível de significância de 0,05, para avaliar a influência (dependência) das variáveis estudadas entre si. Este teste foi escolhido devido à existência de variáveis nominais (sexo, consumo de conserva e interesse no produto) que permitem apenas a determinação de dados de frequência (contagem). Responderam ao inquérito 33% de indivíduos do sexo masculino e 67% do sexo feminino e a maior parte dos inquiridos (45%) tinham idades compreendidas entre os 30 e os 50 anos. 70% dos inquiridos auferiam de remunerações mensais superiores a 1.000 euros. A maioria (95%), apresentaram-se como consumidores de conservas. Relativamente aos critérios de escolha dos produtos (marca, preço, qualidade, embalagem e outras razões que poderiam apontar) os inquiridos selecionaram sobretudo às componentes qualidade (70%) e preço do produto (55%), aparecendo a marca como 3º fator condicionante da escolha (48%). Verificou-se que o consumo de conservas era feito sobretudo no Verão (85%) e Primavera (50%). Os inquiridos revelaram um elevado interesse pelo produto tipo caviar. (67% dos inquiridos estaria interessado em comprar o novo produto, quer seja por curiosidade, quer seja pela sua denominação.

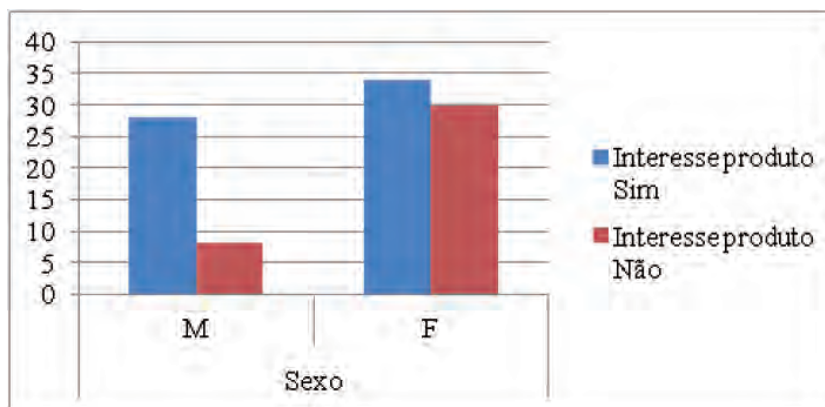


Figura 1. – Frequência absoluta de acordo com o sexo e interesse pelo produto.

Com exceção do género e do rendimento não se verificou influência das outras variáveis no consumo de conservas (Fig. 1 e 2).

O teste da independência do qui-quadrado entre as variáveis interesse no produto e género concluiu que estas são dependentes ($p=0,018$), havendo assim influência do género do inquirido no interesse pelo produto.

O teste de independência do qui-quadrado entre as variáveis rendimento e interesse no produto indicou que estas são estatisticamente diferentes ($p=0,025$). É possível verificar (Fig. 2) que os consumidores com rendimentos mais elevados estão mais interessados pelo novo produto embora fosse de esperar que o escalão remuneratório mais elevado (>2.000 euros) influenciasse mais o consumo do que o escalão de rendimentos entre 1.000 e 2.000 euros, como efetivamente aconteceu.

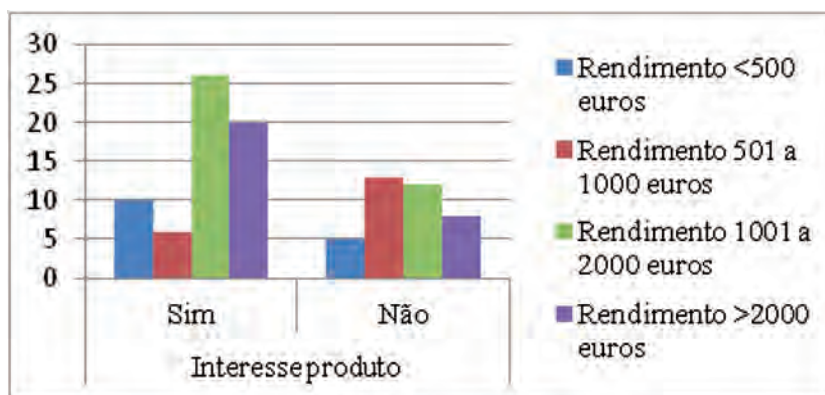


Figura 2. – Frequência absoluta de acordo com o rendimento e interesse pelo produto.

Conclusões

O produto à base de ovas de sardinha apresentou características organoléticas mais próximas do desejado do que o produto à base de biqueirão anchovado e depois deste estudo foi decidido por de parte esta matéria-prima e trabalhar-se somente no otimização do produto

a partir de ovas de sardinha.

Das variáveis analisadas só foi detetada influência das variáveis género e escalão remuneratório no interesse no produto tendo-se estabelecido a seguinte linha estratégica básica estabelecida para a comercialização do produto: População-alvo: adultos, ênfase no sexo masculino, com idades superiores a 20 anos e com remunerações mensais superiores a 1.000 euros.

Bibliografia

- Anónimo 2010 “Indústrias conserveiras otimistas com certificação da sardinha portuguesa”.
www.tsf.sapo.pt/PáginaInicial/Portugal/Interior.aspx?content_id=1467839
- Direcção Geral das Pescas e Aquicultura DGPA 1999 “Guia da indústria e transformadora de pesca de Portugal” Edição da Direcção Geral das Pescas e da Aquicultura.
- Direcção Geral das Pescas e Aquicultura DGPA 2001 Sabor e Saúde em conserva” Edição da Direcção Geral das Pescas e da Aquicultura.
- Lindon, D.; Dionísio, P.; Rodrigues, V. 2006 “Mercator – teoria e Prática de Marketing” 2ª Edição, Publicações Dom Quixote, Lisboa.
- Mata, Paulina (2009) “Método científico e alta cozinha de mãos dadas”. http://www.rcmpharma.com/uploads/files/02_PORTAL/11SAUDE/GastromiaMolecular.pdf



Estudos preliminares para o desenvolvimento de um novo produto tipo "caviar"

Carla Pinheiro, Rita Pinheiro, Susana Fonseca, Manuela Vaz Velho
 Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo
 Av. Atlântico, 4900-343 Viana do Castelo
 mvazvelho@estg.ipv.pt

RESUMO:

Neste trabalho descrevem-se as diversas etapas efetuadas com vista ao lançamento no mercado de um novo produto, à base de ovas de sardinha (*Sardina pilchardus*) e de biqueirão (*Engraulis spp*) anchovado, comercialmente designado como tipo "caviar".
 Os objetivos do trabalho para além da realização de testes preliminares para elaboração do novo produto visavam a elaboração e análise de um inquérito para estabelecimento do consumidor-alvo preferencial e do posicionamento específico do produto no mercado.
 A técnica usada foi a esferificação básica. Trata-se da gelificação controlada de um líquido, misturado com alginato de sódio submerso numa solução de cloreto de cálcio.
 Foi elaborado e realizado um inquérito onde foram equacionados diversos parâmetros, género, idade, escalão remuneratório, hábito de consumo de conservas de pescado, critério de escolha do produto, consumo ao longo do ano, curiosidade/interesse em produtos tipo "caviar", tendo-se concluído que havia influência das variáveis género e escalão remuneratório no interesse no produto, mas não tendo sido detetada qualquer dependência em relação às outras variáveis analisadas.

TESTES PRELIMINARES

A técnica usada foi a esferificação básica. Consiste na gelificação controlada de um líquido, misturado com alginato de sódio submerso numa outra solução líquida com cloreto de cálcio. O líquido contendo o alginato torna-se mais espesso, solidifica-se e forma então uma parede externa gelatinosa à superfície da esfera. A reação com o alginato de sódio é feita a frio e é muito rápida.
 Para a primeira experiência, prepararam-se latas de conservas já esterilizadas de ovas de sardinha e latas de anchovas e foi usado o kit de esferificação gastronomy lab (El Bulli), constituído por diversos utensílios adequados para cada operação de esferificação (seringas, colheres, escorredor, etc.), alginato de sódio e cloreto de cálcio. Nesta primeira experiência, seguiram-se as indicações do kit. No caso das ovas de sardinha usaram-se 0.5g/100cm³ de alginato de sódio e 0.5g/100 cm³ de cloreto de cálcio. No caso do biqueirão anchovado foi usado 1g/100 cm³ de alginato e 0.5g/100 cm³ de cloreto de cálcio.
 Na segunda experiência mantiveram-se as quantidades de cloreto de cálcio mas experimentaram-se diversas quantidades de alginato de sódio (2, 3 e 5g/100 cm³). No caso do biqueirão anchovado para a diminuição do pH adicionou-se ainda citrato de sódio (0.5g/100 cm³).
 No caso do produto à base de ovas de sardinha obtiveram-se umas esferas relativamente estáveis. O produto apresentava a cor característica própria da ova de sardinha, a cor salmão.
 No caso do produto à base de anchovas não se conseguiram obter esferas estáveis - quase imediatamente após contato com a solução de cloreto de cálcio, as esferas começavam a dissolver-se. O produto apresentava uma tonalidade acastanhada, característica da matéria-prima. Após a 2ª experiência em que se experimentaram diferentes concentrações de alginato de sódio e se adicionou citrato de sódio para baixar o pH de 4.7 para 3.0, o produto à base biqueirão não apresentava as características desejáveis.



Figura 1 - Micronizado de ovas de sardinha (formas esfericas, mais estáveis)



Figura 2 - Micronizado de anchovas sem estabilidade

O produto à base de ovas de sardinha apresentou características organolépticas mais próximas do desejado do que o produto à base de biqueirão anchovado e depois deste estudo foi decidido por de parte esta matéria-prima e trabalhar-se somente no otimização do produto a partir de ovas de sardinha.
 A figura 3 ilustra o fluxograma de produção integrada do micronizado a partir de ovas de sardinha a ser adoptado futuramente.



Figura 3- Fluxograma do processo de fabrico do micronizado de ovas de sardinha a ser adoptado futuramente

ESTUDO DE MERCADO – IDENTIFICAÇÃO DO CONSUMIDOR-ALVO

A fim de se poder avaliar a aceitação do produto e a definir-se o potencial consumidor, foi elaborado e realizado um inquérito e equacionados diversos parâmetros, sexo, idade, escalão remuneratório, hábito de consumo de conservas de pescado, critério de escolha do produto, consumo ao longo do ano, curiosidade/interesse em produtos tipo caviar. Foram distribuídos 150 inquéritos a uma população adulta (>20 anos), entregues e rececionados em mão ou via correio eletrónico. Responderam 116 inquéritos (77,33%) tendo sido rejeitados 16 inquéritos (23,66%) por não se encontrarem completos. Os testes de independência do qui-quadrado para tabelas de contingência 2x2 foi efectuado utilizando o STATISTICA V.7 (Statsoft, EUA) e para tabelas de ordem superior foi usada uma folha de cálculo online (<http://www.people.ku.edu/~rreacher/chisa/chisa.html>).

O teste da independência do qui-quadrado entre as variáveis interesse no produto e género concluiu que estas são dependentes ($p < 0.018$), havendo assim influência do sexo do inquirido no interesse pelo produto. Como se observa na primeira Figura, o interesse pelo produto é maior no sexo masculino do que no sexo feminino.

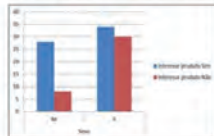


Figura 5- Influência do género no interesse pelo produto

O teste de independência do qui-quadrado entre as variáveis rendimento e interesse no produto indicou que estas são estatisticamente diferentes ($p < 0.025$). É possível concluir que os consumidores com rendimentos mais elevados estão mais interessados pelo novo produto.

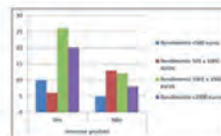


Figura 6- Influência do rendimento mensal no interesse pelo produto

Das variáveis analisadas só foi detetada influência das variáveis género e escalão remuneratório no interesse no produto tendo-se estabelecido a seguinte linha estratégica básica estabelecida para a comercialização do produto: População-alvo: adultos, ênfase no sexo masculino, com idades superiores a 20 anos e com remunerações mensais superiores a 1000 euros.

Evolución de la comunidad acompañante tras la extracción del erizo *Diadema aff. antillarum* en Gran Canaria (Islas Canarias)

Ruiz de la Rosa^{1*} M., Louzara¹ G., González-Henríquez² N.

¹ECOS, Estudios Ambientales y Oceanografía, Las Palmas de Gran Canaria, España

²Instituto Canario de Ciencias Marinas, Telde, España.

*E-mail: mruiz@ecoscanarias.com

Resumen

El proyecto Diademar tiene como objetivo principal recuperar la biodiversidad de los fondos de Canarias dominados por blanquiales mediante la revalorización económica del recurso *Diadema aff. antillarum*. Una de las actividades del proyecto ha sido desarrollar un plan de seguimiento ambiental para estudiar el equilibrio del medio y la sostenibilidad del recurso, a través de la evaluación del recurso en las zonas de trabajo antes y durante la actividad de extracción y el monitoreo de la estructura del ecosistema, diversidad y abundancia de especies de peces, invertebrados y algas.

Palabras clave

Diadema antillarum, blanquial, recuperación, ecosistema

Introducción

Diadema aff. antillarum es una especie de erizo de púas largas que se caracteriza por ser una voraz consumidora de algas, base de la cadena trófica de numerosos ecosistemas litorales del archipiélago Canario. La acción ramoneadora de *D. antillarum* ha generado, en gran parte de los fondos infralitorales de Canarias, zonas desprovistas de cualquier tipo de cobertura vegetal y animal conocidas como blanquizales, los cuales dominan en muchas zonas del archipiélago. (Brito *et al.*, 2004; Clemente *et al.*, 2008a, 2008b; Hernández *et al.*, 2006, 2007, 2008 a, 2008 b.; Tuya *et al.*, 2004).

El proyecto Diademar busca recuperar la biodiversidad de los fondos de Canarias dominados por blanquizales mediante la revalorización económica del recurso, fomentando y facilitando una intensa cooperación industrial, tecnológica y científica entre los participantes, orientada al desarrollo de productos, procesos y servicios dirigidos a un mercado potencial.

Dentro del objetivo 1 del proyecto, la acción 1.4 Desarrollo un plan de seguimiento ambiental: equilibrio del medio y sostenibilidad del recurso, trata de desarrollar un plan de seguimiento ambiental para el equilibrio del medio y la sostenibilidad del recurso.

El seguimiento ambiental de las actividades de extracción del erizo posee una doble finalidad: estudiar el equilibrio del medio y la sostenibilidad del recurso. Los objetivos específicos de esta acción son:

- ❖ Evaluación del recurso en las zonas de trabajo antes del comienzo de la actividad de extracción.
- ❖ Monitoreo del reclutamiento de erizos y de la estructura del ecosistema, diversidad y abundancia de especies presentes en la zona de estudio.

Materiales y métodos

Se seleccionaron dos localidades con características oceanográficas diferentes (Agaete y Arguineguín) dónde se localizaron 6 zonas con presencia de blanquizales desarrollados, divididas en zonas de extracción, dónde se llevo a cabo la recolección de todos los individuos de *D. antillarum* (970 t en Arguineguin y 2.400 t en Agaete) y 3 zonas de control. (Fig. 1)

Se realizaron 12 seguimientos ambientales cada 2 meses, incluyendo un T0 antes de la extracción. En cada seguimiento se realizaron 3 transectos de superficie conocida a dos profundidades dónde se censaron todas las especies de peces, incluyendo talla y abundancia, invertebrados y cobertura algal, así como la densidad de erizos por metro cuadrado presentes. Las profundidades de muestreo estuvieron comprendidas entre los 0 y los 20 m. Se muestrearon dos franjas de profundidad: 0-8 m (somera) y de 12-20 m (profunda) en cada una de las localidades.



Figura 1.- Zonas de muestreo.

Se utilizó el paquete estadístico Primer V6 para el análisis de diversidad y de la similitud de las zonas en base a las especies registradas mediante un análisis de escalamiento multidimensional (MDS), así como la realización de ANOVA de 3 vías para determinar diferencias significativas de la diversidad y riqueza de las zonas control y extracción tras 2 años de seguimiento.

- ❖ La selección de los lugares y épocas de extracción, se realizó en base a criterios ambientales y económicos (biología de la especie, cercanía a las cofradías de pescadores).
- ❖ Zonas seleccionadas: dos localidades, Agate y Arguineguín y tres zonas control (C)

y tres de extracción (E) en cada una de ellas.

- ❖ Periodo de estudio: se llevó a cabo el seguimiento mediante buzos con equipos de buceo autónomo desde julio 2009 a junio 2011. T0 a T11 cada dos meses, diferenciando tres tiempos o épocas: T0 (tiempo 0) al comienzo del experimento, agosto de 2009; T5 (tiempo 5) a la mitad del experimento, mayo de 2010; T11 (tiempo 11) al final del experimento, en junio 2011.

Métodos de muestreo:

- ❖ Densidad-Abundancia *Diadema aff. antillarum* y macroinvertebrados: Se realizaron 12 transectos lineales paralelos a costa de 10 m de longitud x 2 m de ancho
- ❖ Cobertura algal: En cada sitio se muestrearon 20 cuadrados de 25x25 cm (0,0625 m²) y se tomaron datos del porcentaje de cobertura algal y porcentaje de blanquiazal
- ❖ Comunidad íctica: Se utilizó el método del transecto (25 m longitud x 4 m ancho = 100 m²/transecto). Se realizaron 6 transectos en cada zona, 3 en cada franja de profundidad

Resultados

Los resultados determinaron poblaciones de erizos heterogéneas, con una alta capacidad de movilidad, ya que se determinó mayor densidad de erizos en las zonas de extracción en algunos seguimientos. Esta disparidad no permite un patrón de recolonización de las zonas de blanquiazal por parte de las algas e invertebrados de forma lógica, apareciendo en muchos casos una mayor cobertura de algas en las zonas de control, lo que influye directamente en las poblaciones de peces que se mueven a las zonas dónde hay mayor fuente de alimento.

Diadema aff. antillarum

La densidad media de erizos se mantuvo, tanto en la zona de control como en la zona de extracción entre 7 y 0 erizos por m². Si analizamos las densidades a lo largo del tiempo, se observa que en las dos localidades (Agaete y Arguineguín) existe una disminución de la densidad media de erizos a partir del T4-T5, coincidente con la primavera de 2010 cuando ocurrió la muerte masiva debido al episodio de la enfermedad de la calvicie (Fig. 2). Este descenso se observa tanto en las zonas de extracción como en las de control y a ambas profundidades, somera y profunda.

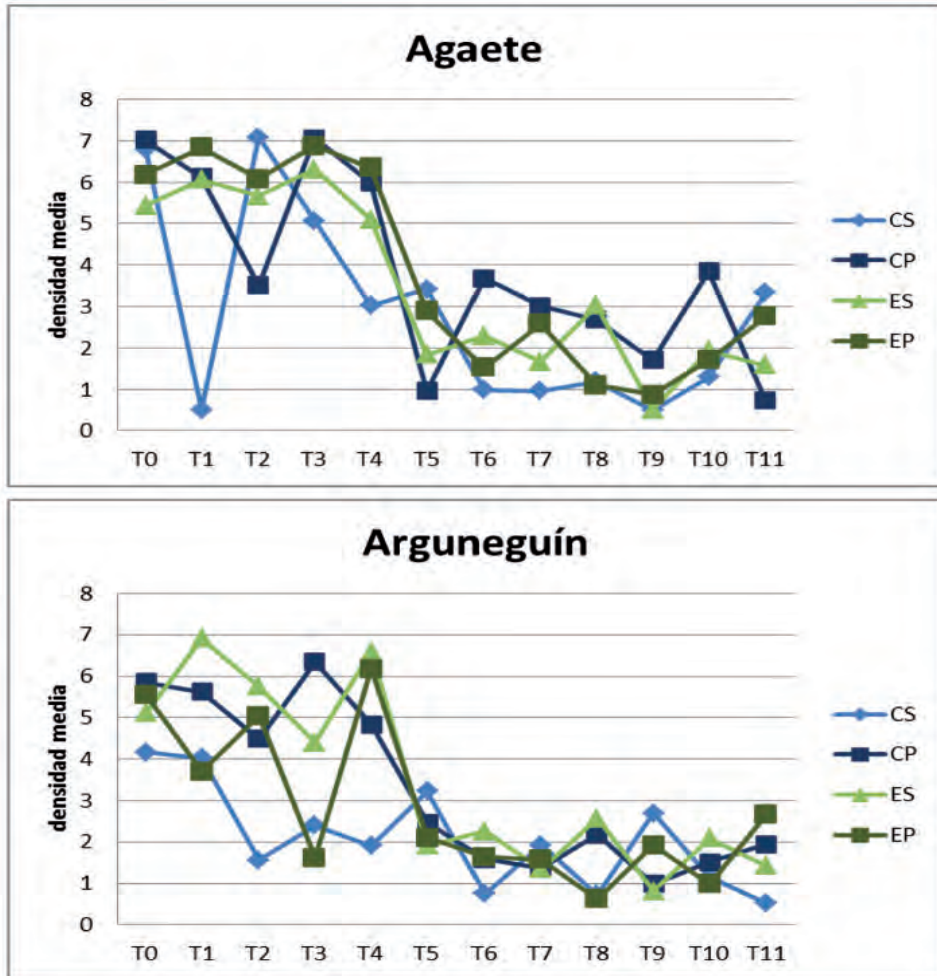


Figura 2.- Densidad media de erizos en el periodo de estudio.

El análisis estadístico (ANOVA de medidas repetidas) no detecta diferencias significativas entre los factores analizados (localidad: Arguineguín – Agaete; zona: control – extracción; y profundidad: somero – profundo) en ninguno de los tiempos. (Tabla I)

Este comportamiento no nos permite determinar un patrón estable para las zonas en cuanto a la presencia de *Diadema aff. antillarum*, siendo su comportamiento y densidad similar entre las zonas de extracción y las control, a pesar de haberse extraído 970 toneladas en Arguineguín y 2.000 toneladas en Agaete.

Tabla I.- Resultados del ANOVA de medidas repetidas.

Factor	Valor	F	Significancia
L	0,022	5,376	n.s.
Z	0,102	1,101	n.s.
P	0,015	7,989	n.s.
L*Z	0,023	5,318	n.s.
L*P	0,095	1,190	n.s.
Z*P	0,085	1,333	n.s.
L*Z*P	0,097	1,157	n.s.

Macroinvertebrados

La diversidad presenta los mismos patrones de comportamiento tanto para la zona somera como para la profunda, así como para las zonas C como para las E, en la localidad de Agaete.

- ❖ La abundancia presenta un pequeño descenso desde el T0 al T11, llegando casi hasta la mitad de especies registradas al comienzo del experimento. (Fig. 3)
- ❖ La riqueza nos indica, que aunque la abundancia disminuye a lo largo del tiempo, este parámetro en la zona E tiene un ligero aumento, tanto en la parte somera como la profunda en el T11, pero con un comportamiento desigual a lo largo del tiempo, un descenso hasta el T9 y un ligero aumento entre T3 a T7. La zona C, presenta una riqueza inferior en el T11 que en el T0, con un descenso en el T8.
- ❖ La diversidad de Margalef sigue el mismo patrón que la abundancia, con una pendiente negativa a lo largo del tiempo, aunque es menos acusada en la zona somera, dónde los valores son algo más estables al comienzo del experimento, al contrario que en la profunda, dónde los valores más bajos se encuentran en T1 y T2. (Fig. 3)
- ❖ La equitatividad de Pielou en la parte somera presenta el mismo patrón tanto en la zona C como en la zona E, presentando un leve aumento de los valores desde T0 (0,7 y 0,8), al T11 con valores próximos a 0,9. Mientras que en la parte profunda, los valores se mostraron estables a lo largo del tiempo, tanto en la zona C como en la E. (Fig 3).
- ❖ La diversidad de Shannon se mantiene estable en la parte somera, con valores situados entre 2-2,5, mientras que en la profunda se observa un descenso en todas las zonas C y E. (Fig. 3).
- ❖ El índice de Simpson, presenta valores que se mantienen muy estables, en torno a 1-1,2, tanto en las zonas C como E, y tanto en los censos someros como en los profundos. (Fig. 3).

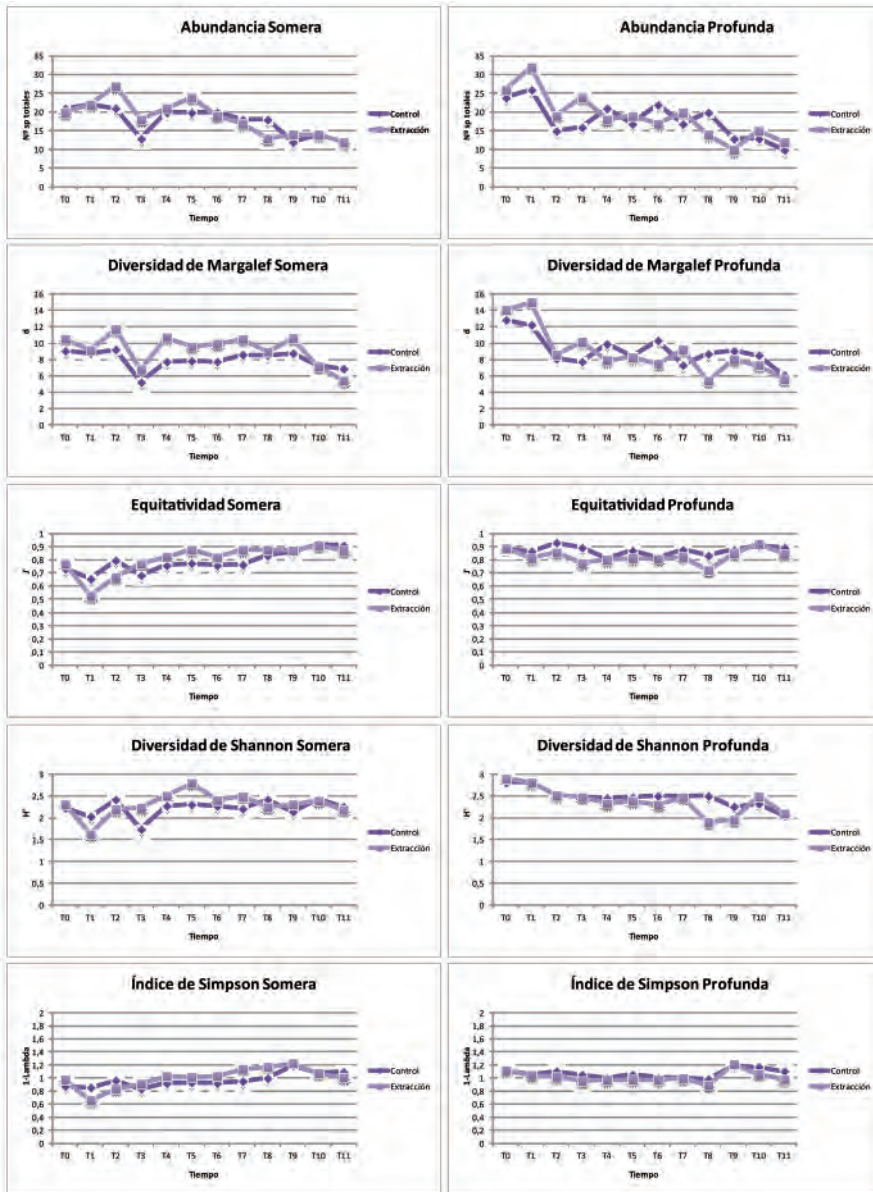


Figura 3.- Parámetros analizados en invertebrados (Agaete) para las zonas control y extracción .

En el caso de la localidad de Arguineguin:

- ❖ La abundancia, presenta tras un primer aumento registrado en el T2, una disminución de los valores en todos los casos hasta llegando al mismo rango de valores que en el T0, en torno a 10 individuos totales por censo (Fig. 4).
- ❖ La riqueza sin embargo, registra un ligero aumento en la parte somera, tanto en la zona C como en la zona E, con máximos y mínimos alternados a lo largo del tiempo. En la parte profunda este patrón es similar para la zona C, sin embargo en la zona E la riqueza disminuye ligeramente a lo largo del tiempo, registrándose un máximo en el T5 en torno a 16 especies diferentes censadas.
- ❖ La diversidad de Margalef registra un descenso en la zona C en ambas profundidades. En la zona E, la parte somera registra también un descenso similar a la C, mientras que en la parte profunda, tras un primer registro de aumento de diversidad entre el T0 y el T1, comienza a descender, quedándose el valor medio en el T11 similar al registrado en el T0 (Fig. 4).
- ❖ La equitatividad de Pielou, tanto en la zona C como E presenta un descenso entre el T0 y T11 en la parte somera. Registrándose dos mínimos en la zona C en T3 y T7, y siendo más estables los valores en la zona E. Esta estabilidad es la que se registró en la parte profunda de la zona E, tras el aumento de 0,3 a 0,8 en el T1, manteniéndose en 0,8 a lo largo del tiempo, similares al control (Fig. 4).
- ❖ Este mismo patrón se registró para la diversidad de Shannon y el índice de Simpson (Fig. 4).

Para poder comprobar las diferencias detectadas en el análisis de diversidad, se realizó un ANOVA de 4 vías con el factor transecto anidado en el factor profundidad y el factor profundidad a su vez anidado en el factor zona, para el T0 y el T11, dónde se evaluó principalmente la interacción entre el factor tiempo y el factor zona:

$$Ti + Z + P(Z) + Tr(P) + Ti \times Z$$

Tabla II.- Resultados para el ANOVA para Diversidad de Shannon y Riqueza.

		Agaete	Arguinegún
Riqueza	Ti	***	***
	Z	n.s.	n.s.
	Z(P)	n.s.	n.s.
	Ti*Z	n.s.	n.s.
Diversidad Shannon	Ti	n.s.	n.s.
	Z	n.s.	n.s.
	Z(P)	n.s.	n.s.
	Ti*Z	n.s.	n.s.

Para el ANOVA se escogió el parámetro de la riqueza específica y el de la diversidad de Shannon. El único factor que fue significativo fue el tiempo (T), detectándose diferencias

significativas entre el T0 y el T11, tanto para la riqueza específica como para la diversidad de Shannon (Tabla II).

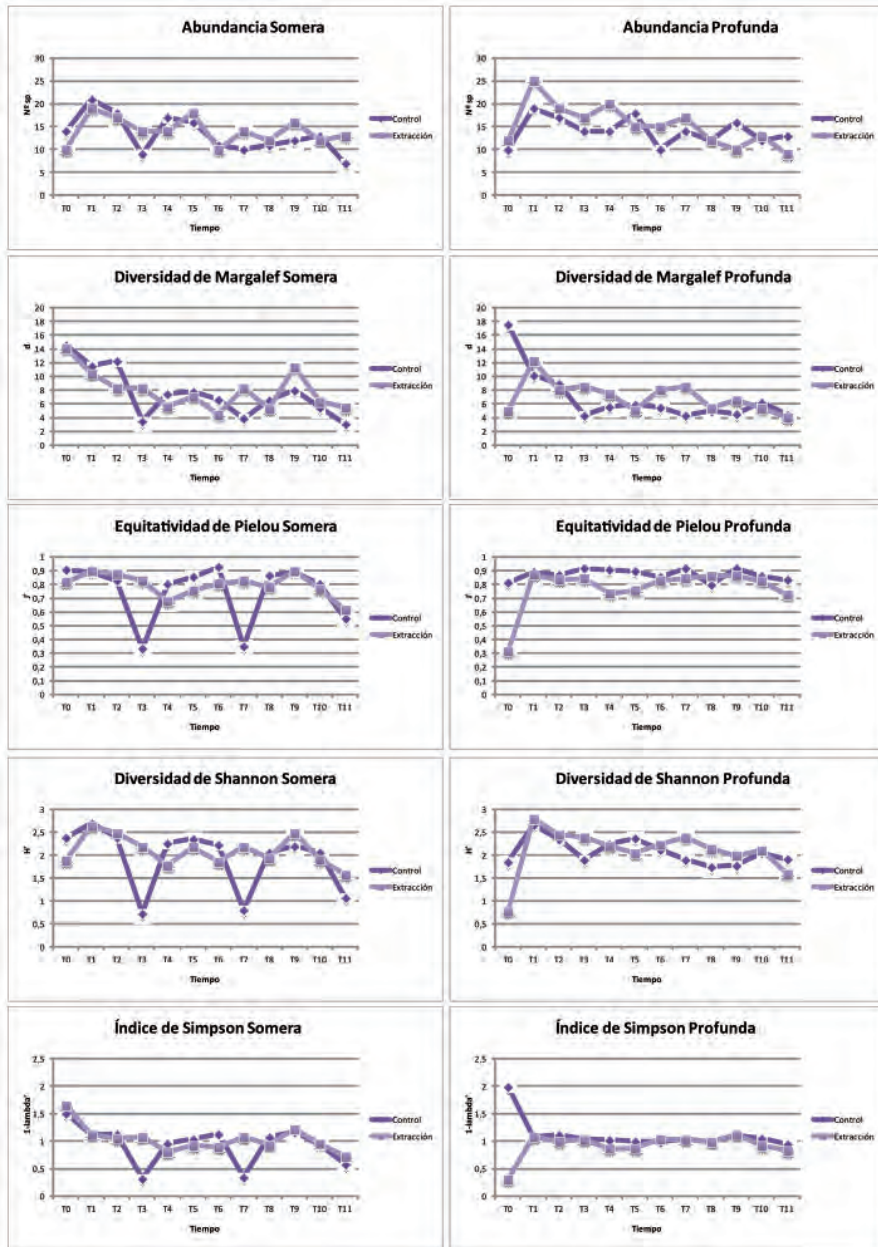


Figura 4.- Parámetros analizados en invertebrados (Arguineguán) para las zonas control y extracción.

Estas diferencias fueron corroboradas mediante un análisis de escalamiento multidimensional (MDS), dónde el factor tiempo agrupó, para el caso de Arguenguín, por un lado el T0 y por otro lado T6, T8, T9, T10 y T11, y para Agate separó T9, T10 y T11 del resto. (Fig. 5).



Figura 5.- Análisis MDS para macroinvertebrados, factor tiempo.

Cobertura algal

Para la zona de Agaete, mucho más expuesta que la zona de Arguineguín, se partió de una cobertura algal media en el T0 cercano a 0 en la zona C somera y profunda, detectándose la presencia de los géneros *Dictyota*, *Padina* y *Lobophora*, que no llegaban al 5% de cobertura.

En la zona E profunda se observó un 100% de cobertura de blanquizal frente al 38% en la parte somera, donde se presentaban especies de algas acompañantes de los géneros *Asparagopsis*, *Dictyota*, *Padina* y *Styopodium*.

En el T5, la zona C somera disminuyó la cobertura de blanquizal, pasando de 95% al 38%, apareciendo especies de algas *Asparagopsis* (22%), *Dictyota* (22%), *Padina* (14%) y *Styopodium* (3%). En la parte profunda, el blanquizal pasó de 96% a 76%, destacando la presencia de *Dictyota* con un 16,5%.

En la zona E somera, que presentaba una cobertura de *Cotoniella filamentosa* blanquizal de 38%, pasó tras casi un año al 90,5%, reduciéndose la cobertura algal al 10% aunque presentando las mismas especies que en T0. Mientras que en la parte profunda se pasó del 100% al 98%.

Tras dos años de experimento, en la zona C somera se registró un aumento de la zona de blanquizal en el segundo año hasta el 53%, tras llevar 1 año disminuyendo (95-38%),

el resto está repartido entre las especies algales *Cotoniella filamentosa*, *Padina pavonica* y *Dictyota* sp. En la parte profunda, también se observó el mismo comportamiento, tendencia a disminuir durante el primer año el blanquizal (96-76%), un aumento de la presencia de blanquizal, en el segundo año llegando al 87%, acompañado por y *Lobophora variegata*. (Fig. 6).

En la zona E somera que presentaba un aumento de la superficie del blanquizal, pasando del 38 al 90% en el primer año, se redujo en el segundo al 81%, siendo la principal especie de alga acompañante *Padina pavonica*. Mientras que en la parte profunda, si se observó una disminución de la superficie de blanquizal, pasando del 98% al 68%, apareciendo además algas filamentosas como *Cotoniella filamentosa*, junto con *Dictyota* sp y *Padina pavonica*.

En resumen, en Agaete, la zona E presenta una disminución del blanquizal y aumento de la cobertura algal progresiva y lentamente. Destacar que en T0 la cobertura algal de la parte somera es mayor que en T11.

La zona C presenta datos irregulares, ya que en el T5 se registra un descenso de la cobertura de blanquizal de forma importante (coincide con la disminución de la densidad de erizos causada por la enfermedad de la calvicie) y aumenta la cobertura algal, pero en el último año vuelve a aumentar la superficie de blanquizal.

Para la zona de Arguineguín, la zona C, tanto en la parte somera, como en la profunda, registró un 100% de cobertura de blanquizal. En la zona E también se presentó este patrón, en la parte profunda había un 100% de blanquizal, y en la parte somera el blanquizal estaba en torno al 96%, apareciendo algunos ejemplares de *Lophocladia trichoclados* y *Dyctiota* sp.

En T5 tras un año de seguimiento, en la zona C la superficie de blanquizal disminuyó ligeramente, estando, en la parte somera en torno al 10%, con presencia de *Lophocladia trichoclados* y *Dyctiota* sp, mientras que en la parte profunda, el blanquizal ocupaba el 98% de la superficie, con muy pocos ejemplares de *L. trichoclados*. En la zona E, si se observó como la superficie del blanquizal disminuía, situándose entre el 60-70%, apareciendo las especies *L. trichoclados*, *Dyctiota* sp. y *Padina pavonica*.

Tras 2 años de experimento T11, en la zona C se observó una reducción patente de la superficie del blanquizal hasta el 30-35%, apareciendo *L. trichoclados*, *Liagora* sp. *Dyctiota* sp. y *Lobophora variegata*. En la zona E, la tendencia a disminuir la cobertura de blanquizal siguió registrándose, estando la cobertura entre el 20-25%, apareciendo *L. trichoclados*, *P. pavonica*, *Dyctiota* sp. y *L. variegata*.

En resumen para Arguineguin se observa como, tanto en la zona E como en la C, la cobertura algal va en aumento, no detectándose diferencias entre ambas, ni en la profundidad.

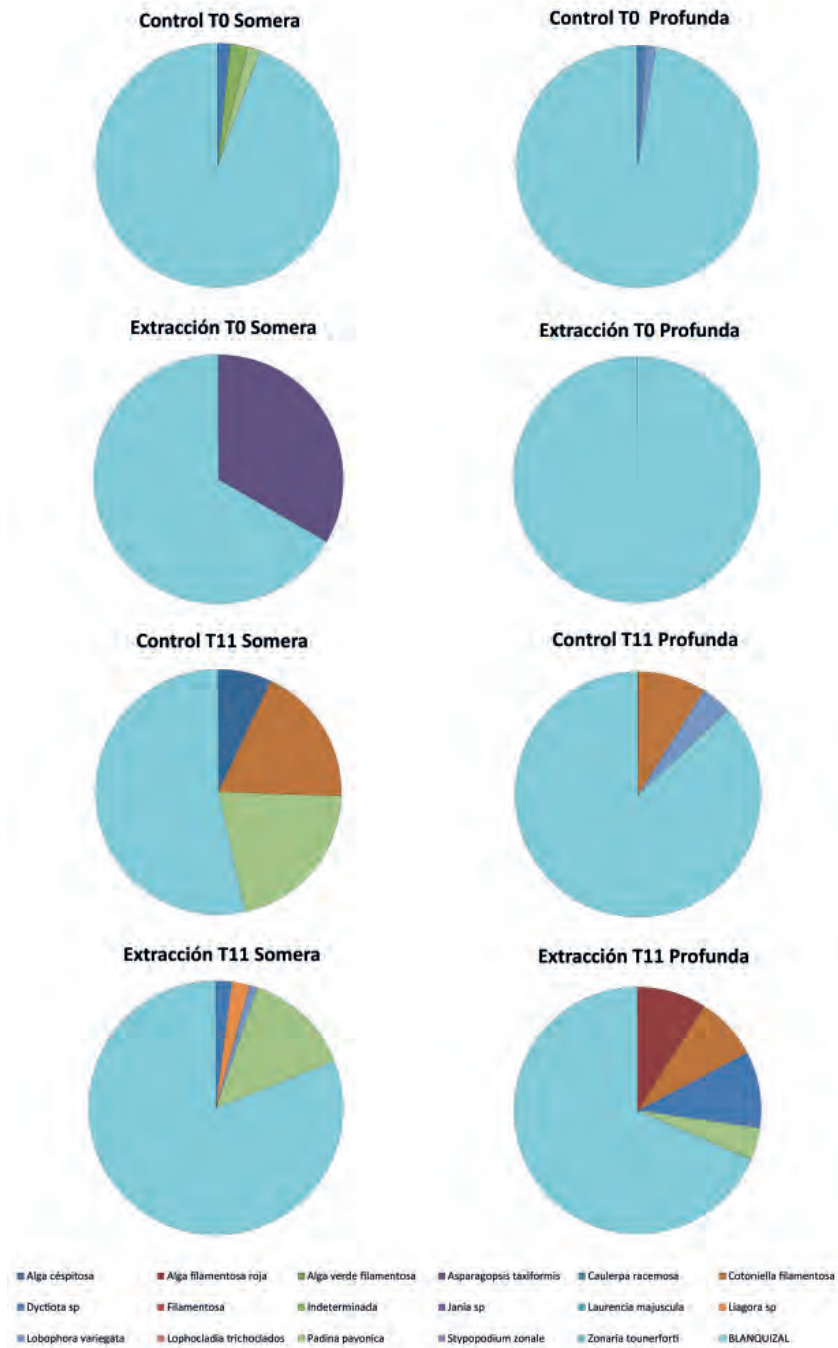


Figura 6.- Cobertura de blanquizal y algas en Agaete.

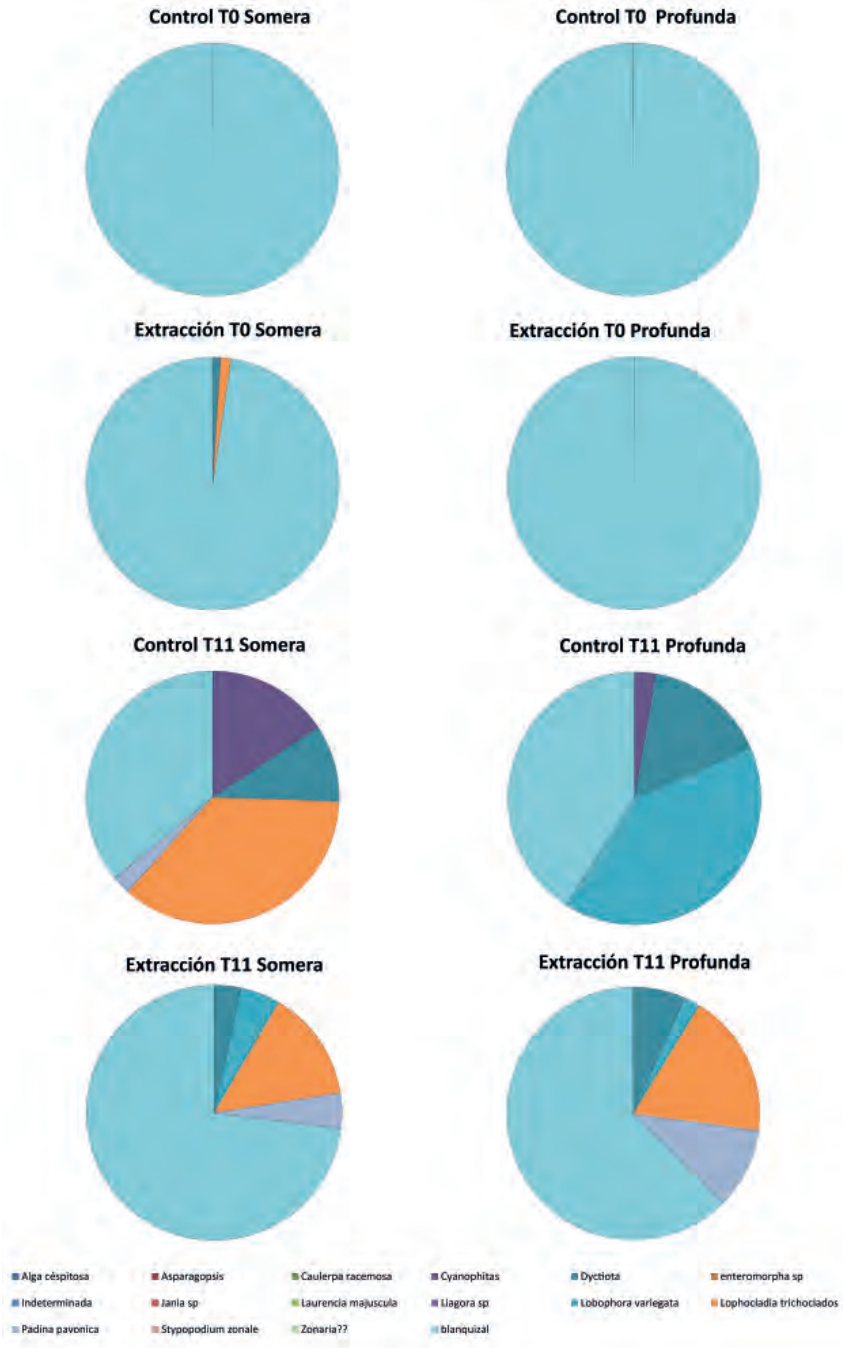


Figura 7.- Cobertura de blanquizal y algas en Arguineguin.

Comunidad íctica

En la localidad de Agaete, la zona C para T0, la zona profunda parece presentar un poco más de biodiversidad que la zona somera, aunque la abundancia de las especies más frecuentes se parece en ambas zonas. En T5, tanto en la parte somera como en la profunda, disminuye la biodiversidad y la abundancia presenta valores similares. Entre T5 y T11 no hay diferencias, la biodiversidad se mantiene igual y la abundancia apenas aumenta.

En la zona E la biodiversidad es apreciable en ambas profundidades pero con bajas abundancias por lo general, mientras que en T11, la diversidad de especies de peces baja mucho en ambas zonas y la abundancia no varía mucho (Fig. 8).

En la localidad de Arguineguín, las gráficas muestran, igual que en la localidad anterior datos en las tres épocas del seguimiento y a las dos profundidades estudiadas.

En la zona C para T0, la diversidad y la abundancia de especies en ambas profundidades es similar, sin embargo en la zona E parece existir mayor diversidad en la parte profunda que en la somera, mientras que a T11 parece aumentar de nuevo en la somera y mantenerse igual que en T5 la profunda.

En la zona E la diversidad disminuye con el tiempo en ambas profundidades, mientras que los valores de abundancia no parecen que sufran variaciones importantes (Fig. 9).

En la zona de Agaete, el análisis de diversidad registró, como los datos de abundancia total de individuos disminuían tanto en C como en E a lo largo del tiempo, llegando a censar en T11 diez veces menos de peces que en T0.

Únicamente destacar, un aumento en la zona E somera en el T1, que pasa de 100 individuos a más de 250, pero que en el T2, disminuye de nuevo por debajo de 100 individuos, por lo que se supone son variaciones estacionales o propias de la zona.

La riqueza específica registrada también sufre un ligero descenso a lo largo del tiempo, siendo similar el comportamiento detectado en la zona C y E, tanto en la parte somera como en la profunda.

Los valores de diversidad de Shannon, equitatividad de Pielou e índice de Simpson presentan el mismo patrón de comportamiento, con valores similares entre T0 y T11, tanto en la zona E como en la C y en la parte somera como en la profunda, pero con una gran variabilidad a lo largo de los 2 años de muestreo, principalmente en la parte somera (Fig. 10).

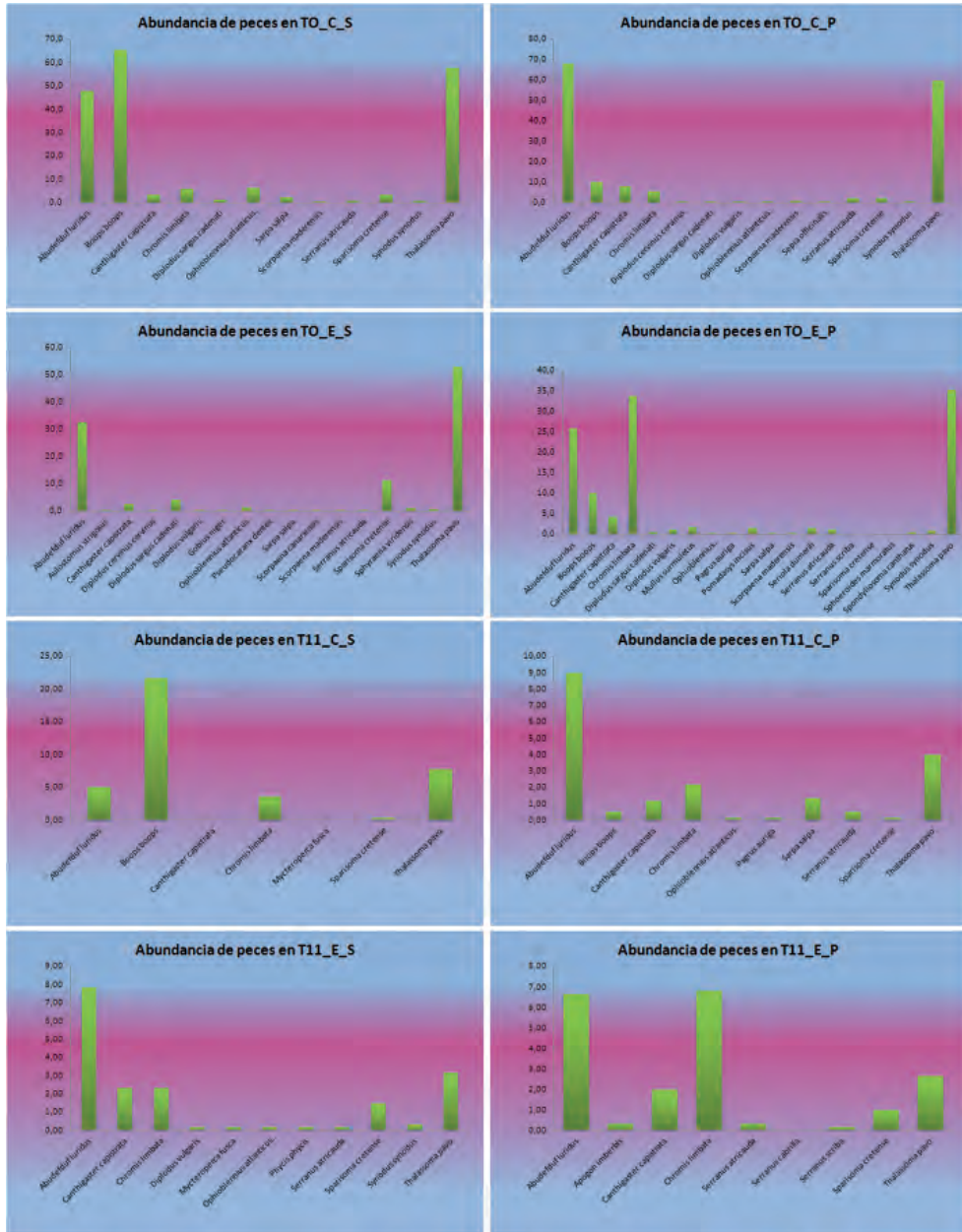


Figura 8.- Abundancia media de peces en T0 y T11, en Agaete.

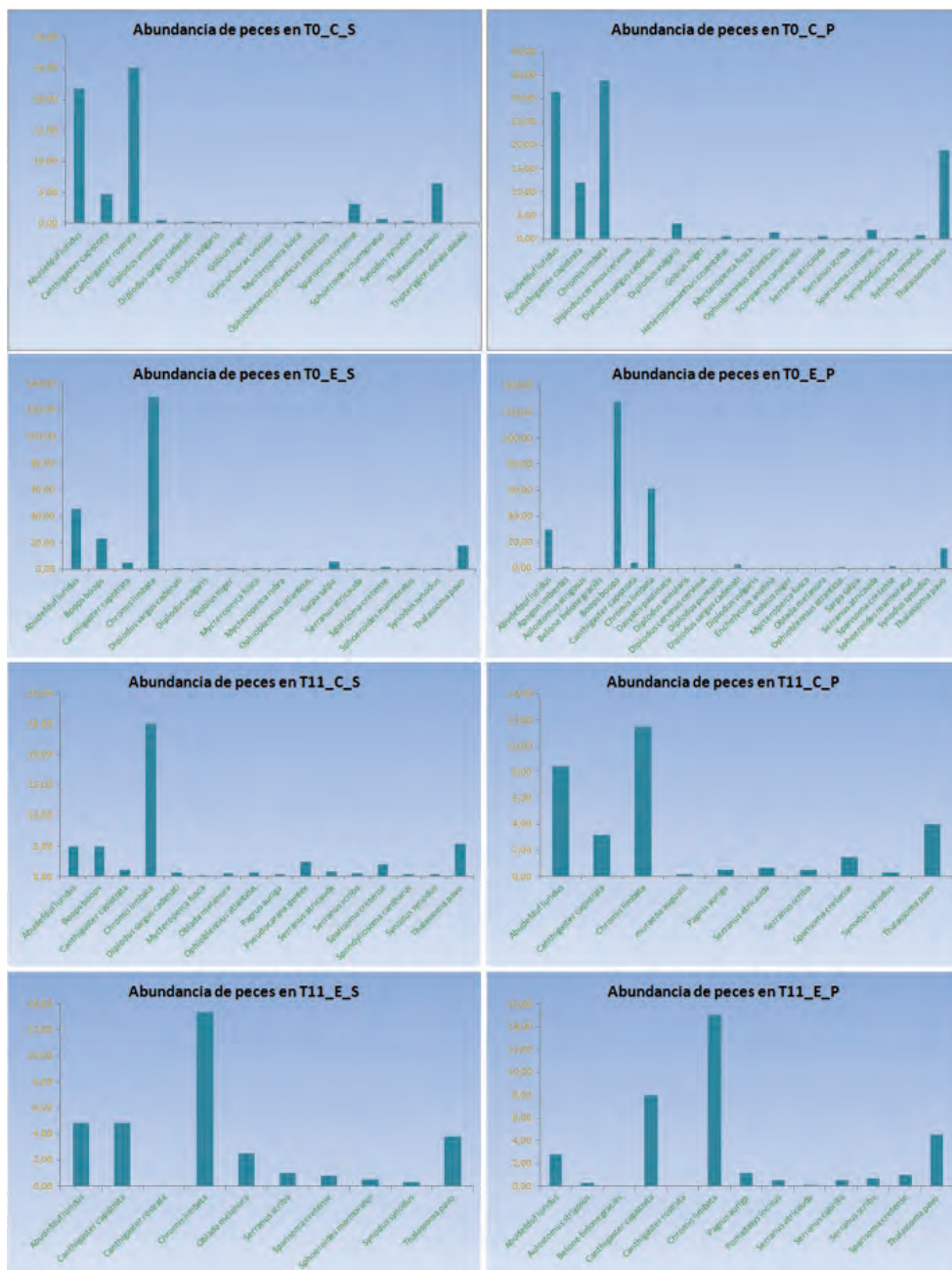


Figura 9.- Abundancia media de peces en T0 y T11, en Arguineguin.

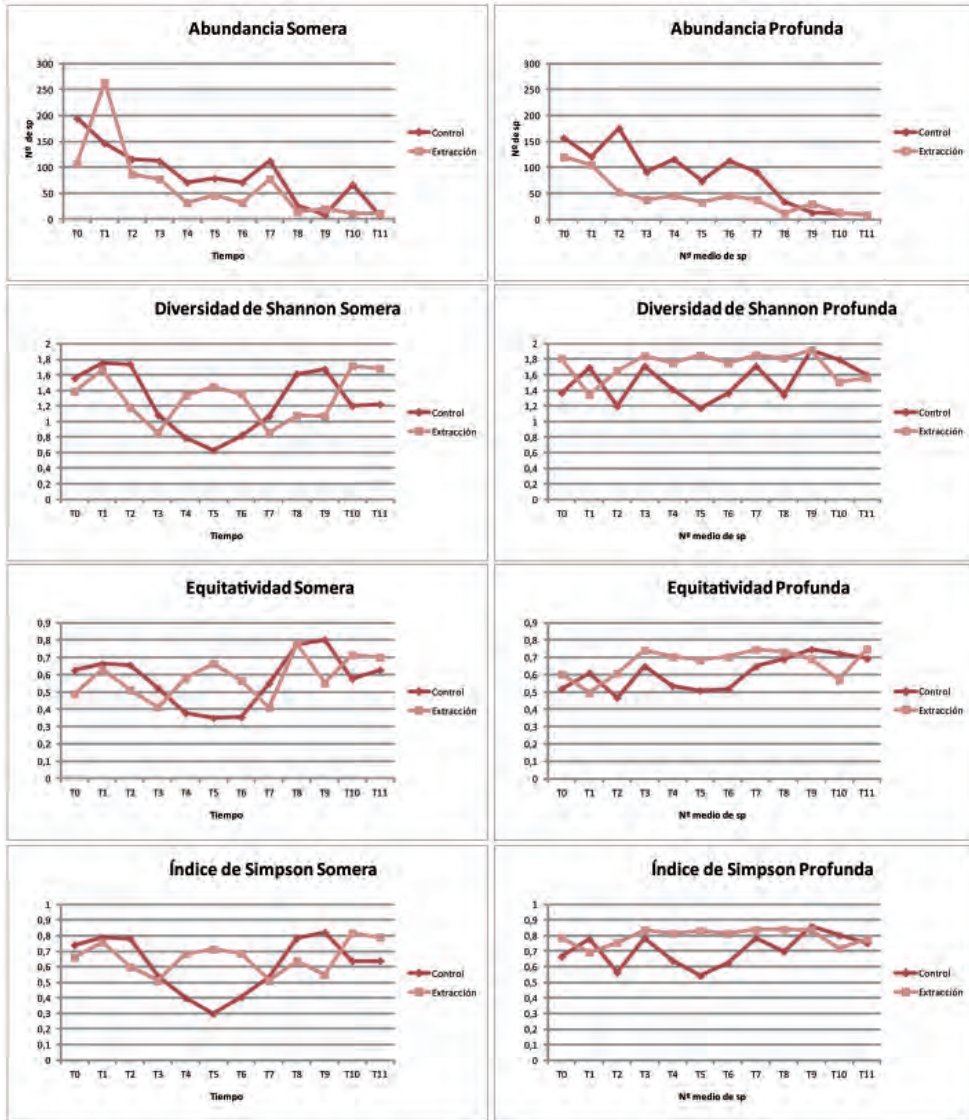


Figura 10.- Parámetros analizados en peces para las zonas control y extracción en Agaete.

En la zona de Arguineguín, la abundancia de individuos también registró un descenso desde T0 hasta T11 en las dos profundidades, principalmente en las zonas E.

La riqueza específica registró un descenso en todas las zonas y profundidades, menos en C somero, dónde se mantuvo estable en los dos años, con valores similares del T11 y T0.

La diversidad de Margalef presentó datos desiguales, aun siendo la tendencia a disminuir a lo largo del tiempo, presenta variaciones en los máximos y los mínimos para los diferentes T.

Los valores de equitatividad de Pielou si presentan un ligero aumento a lo largo del tiempo, pasando de valores cercanos a 0,5 a valores en torno a 0,7 en el T11. Este aumento indica una tendencia a la mejor repartición del número total de individuos en diferentes especies. Desapareciendo el papel de especies dominantes.

El mismo patrón anterior presenta la diversidad de Shannon y el índice de Simpson, aumentando ligeramente a medida que pasa el tiempo, teniendo en T11 mayor diversidad que en T0 (Fig. 11).

Para poder comprobar las diferencias detectadas en el análisis de diversidad, se realizó un ANOVA de 4 vías con el factor transecto anidado en el factor profundidad y el factor profundidad a su vez anidado en el factor zona, para el T0 y el T11, dónde se evaluó principalmente la interacción entre el factor tiempo y el factor zona:

$$Ti + Z + P(Z) + Tr(P) + Ti \times Z$$

Para el ANOVA se escogió el parámetro de la riqueza específica y el de la diversidad de Shannon.

Tabla III.- Resultados del ANOVA para la riqueza y diversidad de Shannon.

		Agate	Arguinegún
Riqueza	Ti	***	***
	Z	***	n.s.
	Z(P)	*	***
	Ti*Z	***	***
Diversidad Shannon	Ti	n.s.	***
	Z	*	***
	Z(P)	n.s.	n.s.
	Ti*Z	n.s.	***

En este caso, se detectaron diferencias significativas entre el T0 y T11 en ambas localidades, para la riqueza, mientras que para la diversidad de Shannon solo fue significativo en la localidad de Arguinegún. Las zonas, control y extracción, fueron significativas para riqueza en Agate, y para la diversidad de Shannon en ambas localidades. Mientras que, las profundidades fueron significativas solo con la riqueza en ambas zonas. Por último, la interacción tiempo x zona fue significativa para la riqueza en ambas zonas, mientras que para la diversidad de Shannon, únicamente en Arguinegún.

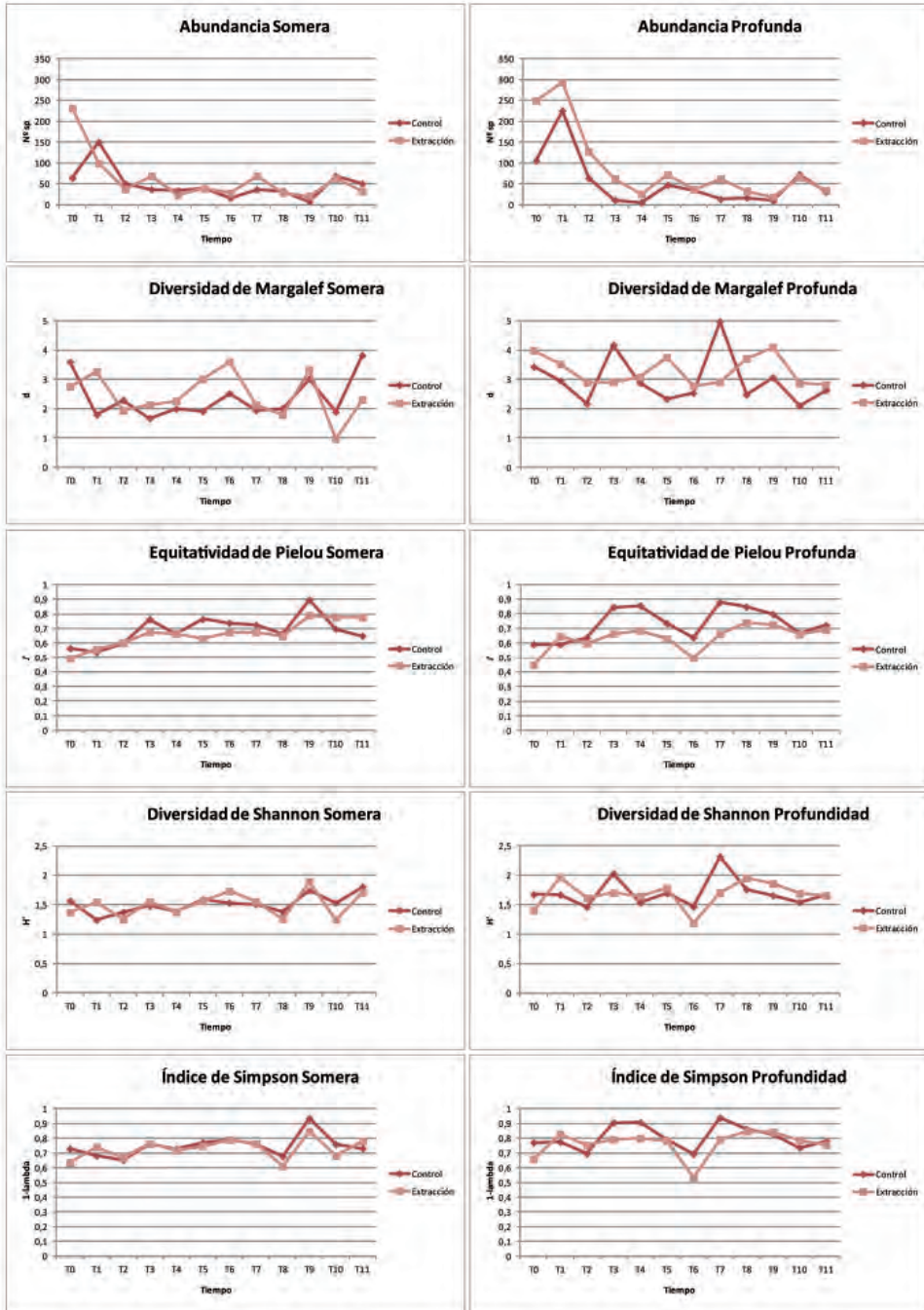


Figura 11.- Parámetros analizados en peces para las zonas control y extracción en Arguenguén.

Conclusiones

- ❖ Las densidades de *Diadema aff. antillarum* por metro cuadrado, tanto en la zona control, como en la zona de extracción, no presentan diferencias significativas. Las diferencias que aparecen pueden ser consecuencia de la enfermedad de la calvicie, que apareció en la primavera de 2010, que causó en algunos casos hasta el 40% de mortandad en las poblaciones, disminuyendo drásticamente la densidad de erizos en las poblaciones de toda Canarias. Este hecho puede haber afectado a los resultados del proyecto.
- ❖ Recuperación en la cobertura algal, disminuyendo la superficie de blanquizar a lo largo del tiempo. Este hecho se detecta tanto en la zona control como en la zona de extracción, por lo que no es efecto único de la extracción de erizos realizada en este proyecto, sino en todo caso, por la acción conjunta de ambas causas (enfermedad y extracción). No se observaron diferencias entre la zona somera y profunda.
- ❖ En cuanto a los invertebrados, hay una similitud en cuanto a las especies que se registraron en los últimos meses del estudio, pero no se detectaron diferencias entre zona de extracción y la de control, ni entre la zona somera y profunda, por lo que se debe a patrones estacionales de colonización, más que al efecto de la extracción del erizo *Diadema aff. antillarum*.
- ❖ El mismo patrón presenta el estudio de la ictiofauna, ya que no se observa que la extracción de erizos haya influido en cambios poblacionales de los peces de la zona.



Bibliografía

- Brito A., Hernández J.C., Falcón J.M., García N., González-Lorenzo G., Gil-Rodríguez M.C., Cruz-Reyes A., Herrera G., Sancho A., Clemente S., Cubero E., Girard D., Barquín J. 2004. El erizo de lima (*Diadema antillarum*), una especie clave en los fondos rocosos litorales de Canarias. *Makaronesia*, nº 6, pp. 68-86.
- Clemente S., Hernández J.C. 2008. Influence of wave exposure and habitat complexity in determining spatial variation of the sea urchin *Diadema* aff. *Antillarum* (Echinoidea: Diadematidae) populations and macroalgal cover (Canary Islands - Eastern Atlantic Ocean). *Rev. Biol. Trop.* (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 56 (Suppl. 3): 229-254.
- Clemente S., Hernández J.C., Brito A. 2008. Evidence of the top-down role of predators in structuring sublittoral rocky-reef communities in a Marine Protected Area and nearby areas of the Canary Islands. *ICES Journal of Marine Science Advance Access*, pp. 1-8
- Hernández J.C., Brito A., García N., Gil-Rodríguez M.C., Herrera G., Cruz-Reyes A., Falcón J.M. 2006. Spatial and seasonal variation of the gonad index of *Diadema antillarum* (Echinodermata: Echinoidea) in the Canary Islands. *Scientia Marina* 70(4), 689-698.
- Hernández J.C., Gil-Rodríguez M.C., Herrera-López G., Brito A. 2007. Of the “key herbivore” *Diadema antillarum* in two contrasting habitats in the Canary Islands (Eastern-Atlantic). *Vieraea*, Vol. 35 109-120.
- Hernández J.C., Clemente S., Sangil C., Brito A. 2008. Actual status of the sea urchin *Diadema* aff. *antillarum* populations and macroalgal cover in marine protected areas compared to a highly fished area (Canary Islands}eastern Atlantic Ocean). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18: 1091–1108.
- Hernández J.C., Clemente S., Sangil C., Brito A. 2008. The key role of the sea urchin *Diadema* aff. *antillarum* in controlling macroalgae assemblages throughout the Canary Islands (eastern subtropical Atlantic): An spatio-temporal approach. *Marine Environmental Research*, 66: 259–270.
- Tuya F., Boyra A., Sanchez-Jerez P., Barbera C., Haroun R.J. 2004. Relationships between rocky-reef fish assemblages, the sea urchin *Diadema antillarum* and macroalgae throughout the Canarian Archipelago. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 278: 157–169.

Evolución de la comunidad acompañante tras la extracción del erizo *Diadema aff. antillarum* en Gran Canaria (Islas Canarias)

Ruiz de la Rosa, M¹, Louzara G¹, González, N²
¹ ECOS, Estudios Ambientales y Oceanografía, Las Palmas de Gran Canaria, España
² Instituto Canario de Ciencias Marinas, Telde, España

1. Introducción


El proyecto Diademar busca recuperar la biodiversidad de los fondos de Canarias dominados por blanquales mediante la revalorización económica del recurso, fomentando y facilitando una intensa cooperación industrial, tecnológica y científica entre los participantes, orientada al desarrollo de productos, procesos y servicios dirigidos a un mercado potencial. Dentro del objetivo 1 del proyecto, la acción 1.4 *Desarrollo un plan de seguimiento ambiental: equilibrio del medio y sostenibilidad del recurso*, trata de desarrollar un plan de seguimiento ambiental para el equilibrio del medio y la sostenibilidad del recurso.

2. Objetivos

El seguimiento ambiental de las actividades de extracción del erizo posee una doble finalidad: estudiar el equilibrio del medio y la sostenibilidad del recurso. Los objetivos específicos de esta acción son:

- ◊ Evaluación del recurso en las zonas de trabajo antes del comienzo de la actividad de extracción.
- ◊ Monitoreo del reclutamiento de erizos y de la estructura del ecosistema, diversidad y abundancia de especies presentes en la zona de estudio.

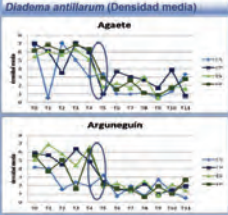
3. Metodología



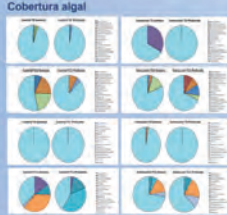
- ◊ La selección de los lugares y épocas de extracción, se realizó en base a criterios ambientales y económicos. (biología de la especie, cercanía a las cofradías de pescadores).
- ◊ Zonas seleccionadas: dos localidades, Agaete y Arguineguín y tres zonas control y tres de extracción en cada una de ellas.
- ◊ Período de estudio: se llevó a cabo el seguimiento mediante buzos con equipos de buceo autónomo desde Julio 2009 a Junio 2011. T0 a T11 cada dos meses, diferenciando tres tiempos o épocas: T0 (Tiempo 0): al comienzo del experimento, agosto de 2009; T5 (Tiempo 5): a la mitad del experimento, mayo de 2010; T11 (Tiempo 11): al final del experimento, en junio 2011.
- ◊ Parámetros y métodos análisis:
 - ◊ Densidad -Abundancia *Diadema aff. antillarum* y macroinvertebrados: Se realizaron 12 transectos lineales paralelos a costa de 10 m de longitud x 2 m de ancho.
 - ◊ Cobertura algal: En cada sitio se muestrearon 20 cuadrados de 25x25cm (0,0625 m²) y se tomaron datos del porcentaje de cobertura algal y porcentaje de blanquital.
 - ◊ Comunidad ictica: Se utilizó el método del transecto (25m longitud x 4m ancho = 100 m²/transecto). Se realizaron 6 transectos en cada zona, 3 en cada franja de profundidad.

4. Resultados

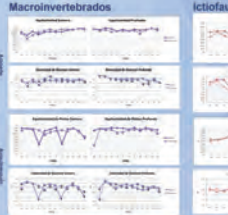
Diadema antillarum (Densidad media)




Cobertura algal



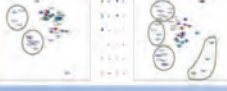
Macroinvertebrados



Ictiofauna



Macroinvertebrados: MDS Factor tiempo




ANOVA T0-T11

Variable	T0	T5	T11
Macroinvertebrados	1.2	1.5	1.8
Ictiofauna	2.1	2.3	2.5

5. Conclusiones

- ◊ Las densidades de *Diadema aff. antillarum* por metro cuadrado, tanto en la zona control, como en la zona de extracción, no presentan diferencias significativas. Las diferencias que aparecen pueden ser consecuencia de la enfermedad de la calvicie, que apareció en la primavera de 2010, que causó en algunos casos hasta el 40% de mortalidad en las poblaciones, disminuyendo drásticamente la densidad de erizos en las poblaciones de toda Canarias. Este hecho puede haber afectado a los resultados del proyecto.
- ◊ Recuperación en la cobertura algal, disminuyendo la superficie de blanquital a lo largo del tiempo. Este hecho se detecta tanto en la zona control como en la zona de extracción, por lo que no es efecto único de la extracción de erizos realizada en este proyecto, sino en todo caso, por la acción conjunta de ambas causas (enfermedad y extracción). No se observaron diferencias entre la zona somera y profunda.
- ◊ En cuanto a los invertebrados, hay una similitud en cuanto a las especies que se registraron en los últimos meses del estudio, pero no se detectaron diferencias entre la zona de extracción y la de control, ni entre la zona somera y profunda, por lo que se debe a patrones estacionales de colonización, más que al efecto de la extracción de erizos *Diadema aff. antillarum*.
- ◊ El mismo patrón presenta el estudio de la ictiofauna, ya que no se observa que la extracción de erizos haya influido en cambios poblacionales de los peces de la zona de estudio.



Proyecto subvencionado por el MARM

Gonadal macroscopic characteristics as a management tool in a razor clam fishery

Hernández-Otero* A., Macho G., Martínez-Castro C., Torres-Machado A., Ferreiro P., Vázquez E.

Dpto. de Ecoloxía e Bioloxía Animal, Fac. Ciencias do Mar and Estación de Ciencias Mariñas de Toralla. Universidade de Vigo - 36200 Vigo, Spain.

*E-mail: alba.hernandez@uvigo.es

Abstract

The exploitation of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) is one of the most important Galician shellfisheries. One of the main problems of the fishery is the break of razor clams when they are caught in specific times of the year mainly corresponding with the maturation period. The main objective of this study was to provide a simple tool to the fishers to adapt the rotational harvesting strategy to the reproductive stage of the resource. The reproductive cycle of *E. arcuatus* from three subtidal beds of the Ría de Pontevedra (Northwest of Spain) was studied using a macroscopic index (percentage of coverage of the gonad on and over the digestive gland), the gonadal smear, the gonadal condition index, and the gametogenic stages obtained by histology. Results showed a reproductive cycle characterized by a sexual rest stage during summer and early autumn, a start of gametogenesis in autumn and a period of successive spawns interspersed with gonadal restoration during winter and spring. We have detected small differences between the inner and middle beds of the ría and the external one, existing a delay in the beginning of the reproduction and an extension of the gonadal restoration phase in the outer bed. By combining the results of the different reproductive study methods we were able to construct an equivalence table linking the easiest and fastest indices (percentage of covering of the gonad over the digestive gland and the gonadal smear) to the time consuming but more accurate indices (GCI and histological method).

The equivalence table is a simple tool that it is being used in the daily fishery management, adapting the differences found in the gametogenic stage of the resource to the rotational harvesting strategy between beds and to the closure period.

Keywords

Bivalve, *Ensis arcuatus*, reproduction, fishery.

Introduction

The shellfisheries in Galicia are managed by the Autonomic Government and the Technical Assistant of the fisher's associations (ATL). The ATL is a person integrated in the fishing community with fisheries and social skills that serve as liaison between fishers, government and researchers, enabling the translation of the fishery problems to the scientist and the scientific information to the fishery community.

The razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia, Solenidae) is a Northeast Atlantic temperate species that lives buried in low intertidal and subtidal sandflats from Norway to Spain and along the British coast. It is the most important commercial species of razor clams in Spain and one of the most important shellfisheries in Galicia (290 t sold in 2011). The exploitation of the razor clam in the Ría de Pontevedra (NW Spain) is operated in response to a joint plan between 7 fisher's associations (*cofradías*) for all the beds of the ria with a total of 28 boats and 45 fishers (*navalleiros*), being the most productive of Galicia (62,230 kg in 2011). The plan is organized through a rotational harvesting strategy with a closure period of two months. However, the razor clam exploitation has been done until now with scarce or no information about some biological aspects as reproduction, recruitment or growth, since the only previous study of the reproductive cycle of *E. arcuatus* was conducted in the Ría de Vigo (Darriba 2001, 2004).

In recent years, there have been a number of problems with the razor clam fishery in the Ría de Pontevedra. On the one hand, the complete closure of the ria during the reproductive period lead to a market shortage of local product which is overcome importing foreign razor clams and a consequent fall in the market price. On the other hand, the razor clams break when harvesting during the gonadal development, which could be up to 30-40% of the catch.

Because of the relationship between this phenomenon and the gonadal development along the reproductive cycle observed by fishers and ATL, it became necessary to conduct a comprehensive study of the reproduction of the razor clam in the Ría de Pontevedra, where it has never been done before. The aims of this study were: (1) describe the reproductive cycle of *E. arcuatus* in several beds of the Ría de Pontevedra and (2) provide the fishery with a simple tool to adapt the rotational harvesting strategy to the reproductive stage of the resource, thereby reducing the current closure period of two months as well as the rate of fishing break.

Materials and methods

From March 2008 to July 2010 samples were taken monthly (during the sexual rest) and fortnightly (during the sexual period) by scuba diving from three beds in the Ría de Pontevedra: Brensa (inner bed), Bueu (middle bed) and Ons (outermost bed) (Fig. 1). During first year, degree of fishing break was recorded attending to a qualitative scale (Fig.2, Table I).



Figure 1.- Map of the Ría de Pontevedra showing the location of the *Ensis arcuatus* studied beds.

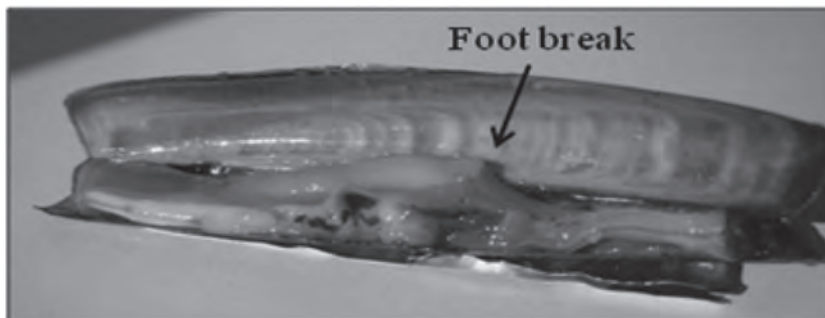


Figure 2.- *Ensis arcuatus* broken foot after harvesting.

Table I.- Qualitative scale of broken razor clam.

Scale	Definition
1	No broken razor clams
2	Some broken razor clams
3	Half of broken razor clams
4	Many broken razor clams
5	Lots of broken razor clams

Four methods were used to determine the reproductive cycle. 1) The classic histological methods, ascribing each individual to the following gametogenic stages: 0 (sexual rest), 1 (start of gametogenesis), 2 (advanced gametogenesis), 3 (ripe), 4A (post-spawning), 4B (restoration) and 5 (exhaustion) (scale modified from Darriba (2001) and Iglesias (2006)). 2) The gonadal condition index (GCI), calculated as gonad fresh weight/valve dry weight. 3) The percentage of coverage of the gonad on and around the digestive gland (percent gonad coverage) and 4) the gonadal smear, described by the following stages: A (start of maturation), B (maturation), C (gonadal restoration) and D (post-spawning and exhaustion).

Results

Figure 3 shows the percentage of individuals at each gametogenic stage from March 2008 to July 2010. From both gonadal index and histological study we have found that the sexes showed an asynchrony of gametogenic development getting ahead males over females

in about one month. The reproductive cycle of *Ensis arcuatus* in the Ría de Pontevedra is characterized by a sexual resting stage from June to October in the inner beds (Brensa and Bueu) and from July to November in the outermost bed (Ons), the start of gametogenesis between September and October, and a period of successive spawning events interspersed with gonadal restoration from March to May in the inner bed (Brensa), from April to June in the middle bed (Bueu), and from May to July in the outer bed (Ons). The differences detected between the inner, middle and outer beds of the ría showed a delay in one month at the beginning of the reproduction and an extension of fifteen days to one month of the gonadal restoration phase from the inner to the outer bed.

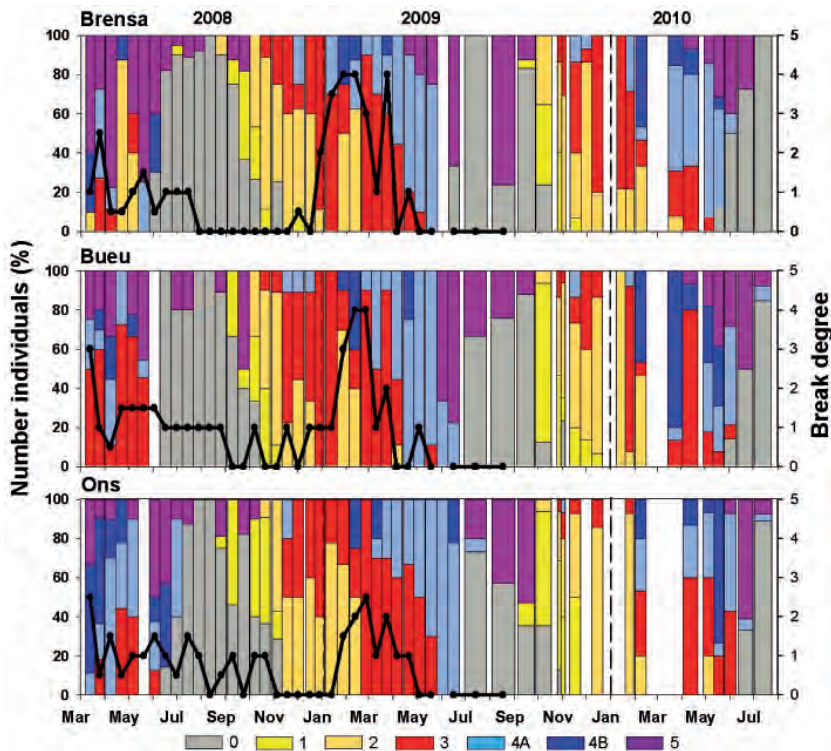


Figure 3.- Percentage of females displaying each gametogenic stage and break degree during the studied period.

Comparison of the histological study with the percent gonad coverage on the digestive gland and the gonadal smear stage indicated that both methods were good indicators of

gonadal stage. At the beginning of the cycle the percent gonad coverage showed minimum values (0-25%), corresponding with the smear stage A and the histological stages 1 and 2. Maximum values of percent gonad coverage (60-100%) occurred during the B smear stage and the 3 gametogenic stage. Values between 50-60% of percent gonad coverage corresponded to the D and C gonadal smear stage and the 4A and 4B gametogenic stages. At the end of the reproductive cycle, minimum values of gonad coverage (0-15%) were linked to the D smear stage and the 5 histological stage (Fig.4). Combining the results of these different study methods an equivalence table was built linking the easiest and quickest methods (the percent gonad coverage and the gonadal smear) to the time consuming, but more accurate, GCI and histological method (Fig. 5).

Finally, a relationship between stages 3 and 4 of the gonadal development and the greatest number of broken razor clams was observed (Fig. 3).

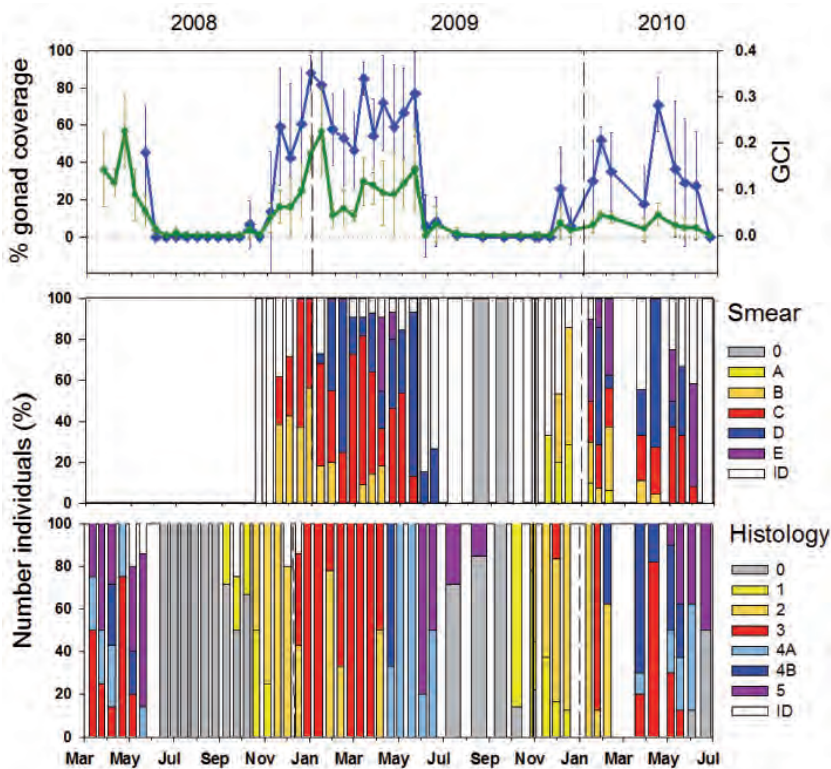


Figure 4.- Changes in percent gonad coverage, gonadal condition index (GCI), gonadal smear stages and gametogenic stages during the studied period.

Discussion

Proper management of bivalve fisheries requires knowledge of the reproductive cycle. Although this reproductive cycle was found to be similar to the results reported by Darriba (2001) in the Ría de Vigo (NW Spain), this study is the first attempt to determinate the gonadal development differences along a ria.

Gonadal condition indices are widely used in reproductive studies of marine bivalves since they are a simple method to obtain information of the sexual development stage and they are suitable for species with annual cycles (Grant & Tyler, 1983) and, in particular, in Solenidae species (Darriba, 2001). The GCI used in the present study was particularly appropriate to differentiate among different stages of gametogenic development in *E. arcuatus* because it is independent of the size of the animal and the somatic growth. The percent gonad coverage over the digestive gland is a good descriptor of the reproductive cycle of the razor clam because it is obtained from the observation of the gonad and it is faster, easier and cheaper (Aracena, 2003). The gonadal smear observation is less accurate than the histological study because the first development stages are not identified and it becomes difficult to distinguish between the beginning and restoration stages and between the post-spawning and exhaustion stages, but it results useful as a preliminary observation. Since the percent gonad coverage and the smear stage are qualitative parameters we recommend to use them joined taking into account the reproductive cycle timing described.

The equivalence table proposed allows incorporating the gonadal cycle differences detected among beds in the daily fishery management. Using this tool (Fig. 5) the razor clam fishery of the Ría de Pontevedra has adapted the bed rotation scheme to the delay observed in the reproductive cycle between the different beds along the ria. Thus, the exploitation rotates from the inner to the outer beds at the beginning of the maturation and from the outer to the inner beds at the end of the spawning period. This way, the ria is closed from the outer to the inner beds, avoiding harvesting in fully mature beds, reducing therefore the razor clams break (since its body breaks when its gonad is fully mature, as observed by the fishermen) and reducing also the closure period in about one month. This latter fact is important for Galician fishermen since higher imports of razor clams are developed during the closure period and those import channels are maintained later, strongly competing with local products by bringing down prices.






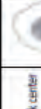


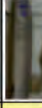














DATE	MACROSCOPIC CHARACTERISTICS			GONADAL SMEAR			GCI	HISTOLOGY			
	STAGE	Gonad general description	Gonad coverage (%) Scale Photo	STAGE	Description	Male		Description	Female	Stage	Male
June - September	SEXUAL REST	Transparent lamina over the anterior adductor muscle.	0% 	0: Sexual rest	Clear follicles with barely visible or inconspicuous edge. Some follicles almost empty.			0	0: Sexual rest		
September - November	START	Witch or beige fine lamina partly covering the anterior adductor muscle and the digestive gland and partly developing inside the foot.	0% - 25% 	A: Start of maturation	Medium follicles with dark center and clear ang thick edge		Small follicles with uniform or pedunculated oocytes attached to the membrane by a microfil.	0-0.03	1: Start of gametogenesis		
November - June	MATURATION	Witch or beige coarse lamina covering the anterior adductor muscle and the digestive gland and invading the interior of the foot, causing external protrusions and occasionally foot breaks.	60% - 100% 	B: Maturation	Big and dark follicles with a fine or no edge. Sometimes sperm package as dark oriented spots.		Big follicles with free polygonal or rounded oocytes. There are no free sperm.	0.07-0.2	3: Maturation		
	POST-SPAWNING		50% - 60% 	D: Post-spawning	Clear follicles, partial or totally empty.		Follicle in regression, practically empty.		4A: Post-spawning		
June - October	RESTORATION			C: Restoration	Follicles with clear spots (partially empty) and thick edge.		Coeistence of mature (big and rounded) and immature oocytes (small and with a bigger core).	0.04 - 0.07	4B: Restoration		
	EXHAUSTION	Digestive gland partly or totally covered by a fine lamina. Anterior adductor muscle lamina fine and transparent. Hemocytes invasion (brownish gonad).	0 - 15% 	D: Exhaustion	Clear follicles, partial or totally empty. Favonarine invasion.		Follicles in regression, partially or totally empty. Free rounded oocytes or in reabsorption. Favonarine presence.		5: Exhaustion		
USERS	FISHERMENS AND TECHNICAL ASSISTANCE			TECHNICAL ASSISTANCE			SCIENTIST				

Figure 5.- Equivalence table.

Conclusions

The combination of the differences detected in the development of the gonadal cycle along the ria and the equivalence table proposed have contributed to incorporate the reproductive stage of the resource in the daily fisheries management, leading to a more efficient and sustainable exploitation.

Conclusions acknowledgements

This work was supported by the “Consellería de Educación, Xunta de Galicia-FEDER (2010/87)” and by the “Consellería de Innovación en Industria, Xunta de Galicia (10MMA312025PR)”. We would like to thank to the Cofradía de Bueu for providing fishery traditional knowledge and sampling support and to the “Estación de Ciencias Mariñas de Toralla” (ECIMAT, Universidade de Vigo) for the histological processing.



References

- Aracena O., López I.M., Sánchez J., Carmona A.M., Medina L. Saavedra A. 2003. On two new macroscopic indices to evaluate the reproductive cycle of *Ensis macha* (Molina, 1782). *Journal of Shellfish research*, 22: 675-680.
- Darriba S. 2001. Biología de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865) de la R a de Vigo (N.O. de España): Crecimiento y reproducción. Tesis doctoral, Universidad de Vigo. 283 pp.
- Darriba S., San Juan F., Guerra A. 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 311: 101-115
- Grant A., Tyler P.A. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6: 259-269
- Iglesias D. 2006. Estudio patológico de las poblaciones de berberecho *Cerastoderma edule* (L.) de Galicia. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela.

Características macroscópicas de la gónada como herramienta de gestión en la pesquería de la navaja de la Ría de Pontevedra

Investigación de la Comisión de Educación Superior (CE3S) (2004-2005) y grupo Científico de Estudios de Acuicultura (CEA) (2004-2010)

Hernández-Otero, A., Macho, G., Martínez-Castro, C., Torres-Machado, A., Ferreiro, P., Vázquez, E.
 Dpto. de Biología y Embriología Animal, Fac. Ciencias do Mar and Estación de Ciencias Maritimas de Toralla, Universidade de Vigo, 36200 Vigo, Spain

INTRODUCCIÓN

La navaja *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) es el solenóido de mayor importancia económica en Galicia (200 Tm vendidos en 2009). En la Ría de Pontevedra se explota atendiendo al "Plan de explotación conjunto da navalla, longueirón e longueirón vello" al que se dedican un total de 28 embarcaciones y 45 navaleiros, siendo el de mayor producción de Galicia (44.671 kg en 2009, www.pescadegalicia.com). Sin embargo, se han detectado una serie de problemas en la pesquería:

- **Vedas:** al ser completas ocasionan desabastecimiento del mercado de navaja local, importación de navaja foránea y descenso del precio.
- Las navajas se rompen por el pie al ser capturadas, lo que provoca un aumento del esfuerzo pesquero y descartes. Esto sucede en invierno y antes en el interior de la ría.

Ante estas dificultades y debido a su posible relación con el ciclo reproductor surge la necesidad de llevar a cabo un estudio del mismo, nunca antes abordado en la Ría de Pontevedra.

OBJETIVOS

a. Describir el ciclo reproductivo de *Ensis arcuatus* en la Ría de Pontevedra.

b. Aportar a la pesquería una herramienta de gestión sencilla que permita adaptar la captura mediante rotación de bancos al estado gonadal del recurso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre febrero de 2008 y julio de 2010 se recogieron, quincenalmente durante la época de reproducción y mensualmente durante el reposo gonadal, 20 individuos en 3 bancos de la ría: Brensa (zona interna), Bueu (zona media) y Ons (zona externa). El estado gonadal fue analizado a través de los siguientes métodos:

- **Observación macroscópica:** porcentaje de cobertura de la gónada sobre el hepatopáncreas
- **Frotis:** descripción de 5 estados: A-inicio de la maduración, B-maduración, C-recuperación, D-postpuesta y E-agotamiento
- **Índice de condición gonadal:** ICG= peso gónada/peso seco valvas
- **Análisis Histológico:** determinación del estado gonadal según la escala modificada a partir de Darriba (2001) e Iglesias (2006)




Fig. 1. Ría de Pontevedra. Localización de los bancos de estudio.

RESULTADOS

a. Descripción del ciclo gonadal

E. arcuatus presenta en la Ría de Pontevedra un ciclo reproductor anual compuesto por una fase de inicio de la gametogénesis a finales de verano-principios de otoño, sucesivas puestas intercaladas con fases de restauración entre invierno y primavera y una fase de reposo en verano.

Tanto en el inicio de la gametogénesis como en la época de máxima madurez y puesta se detectaron diferencias entre los distintos bancos de la ría. Así, la actividad gonadal se adelanta alrededor de 15 días - 1 mes en el interior de la Ría con respecto al exterior. Se observó una relación entre el ciclo reproductor y el número de navajas capadas, de forma que el porcentaje fue mayor durante el estado de madurez.

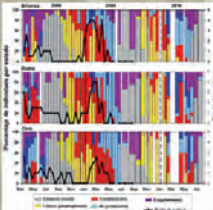


Fig. 2. Evolución del ciclo gametogénico y del grado de puesta de las navajas en los tres bancos de estudio.

b. Valoración de los métodos empleados

ICG

- Útil y satisfactorio
- Ajuste entre ICG y determinación histológica de estados de desarrollo

% DE COBERTURA

- Buen indicador del ICG y buen descriptor del ciclo reproductivo
- Eficaz, barato y fácil de usar

FROTIS

- Menos preciso que el estudio histológico.
- Se ajusta a la escala histológica
- Es válido para una primera aproximación del estado gonadal

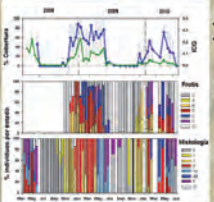


Fig. 3. Comparación de métodos de estudio del ciclo gonadal de *E. arcuatus* (datos de muestras del banco de Bueu).

HERRAMIENTA Y UTILIDADES

A partir de los resultados obtenidos se ha elaborado una tabla de equivalencias entre métodos que permite dinamizar la gestión de la pesquería a 3 niveles:

- Navaleiros: fácil identificación del estado gonadal (% cobertura).
- Asistencia técnica: verificación (frotis) y solicitud de medidas correctoras.
- Administración: toma de decisión y cambio de estrategia de gestión:

Rotación de la explotación del interior al exterior de la Ría al inicio del ciclo y del exterior al interior al final de las fase de puesta y recuperación.

CONSECUENCIAS

- ✓ Reducción del fenómeno de ruptura da navajas.
- ✓ Reducción del esfuerzo de pesca.
- ✓ Reducción del periodo de veda.

ESCALA	CONVENIENCIA RESPECTIVO/COMPARACIÓN		MUESTRA	ESTADO	VALOR	RANGO	ESTADO	MUESTRA	VALOR
	ESTADO	DESCRIPCIÓN GENERAL							
COBERTURA	0%	Gónada completamente ausente	A. Bueu	A	0	0-10	0	[Microscopic image]	0
	1-10%	Gónada parcialmente presente							
	11-20%	Gónada presente en la zona interna							
	21-30%	Gónada presente en la zona externa							
	31-40%	Gónada presente en la zona media							
FROTIS	1	Inicio de la maduración	B. Bueu	B	1	1-2	1	[Microscopic image]	1
	2	Maduración							
	3	Recuperación							
	4	Postpuesta							
	5	Agotamiento							
HISTOLOGÍA	1	Inicio de la maduración	C. Bueu	C	1-2	1-2	1	[Microscopic image]	1
	2	Maduración							
	3	Recuperación							
	4	Postpuesta							
	5	Agotamiento							

BIBLIOGRAFÍA: Darriba, S. 2001. Tesis Doctoral. Universidade de Vigo. Iglesias, D. 2006. Tesis Doctoral. Universidade de Santiago.

Identificación y cuantificación de larvas de ostras por PCR en tiempo real

Sánchez¹ A., Quinteiro² J., Rey-Méndez² M., Pérez-Martín¹ R.I., Sotelo¹ C.

¹Instituto de Investigaciones Marinas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). 36208-Vigo, Pontevedra, España

²Laboratorio de Sistemática Molecular (Unidad Asociada al CSIC). Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. CIBUS. Campus Vida. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela, A Coruña, España.

Introducción

Los estudios de la comunidad zooplanctónica son muy importantes para entender la estructura y dinámica poblacional, proporcionando la información necesaria para la adecuada administración de los recursos marinos salvajes y cultivados. La posibilidad de diferenciar las especies de bivalvos en sus fases larvianas tempranas es muy importante ya que su comportamiento específico permite determinar su distribución y abundancia como adultos, siendo de gran interés para regiones o países donde la producción de moluscos bivalvos es un recurso económico importante. El pequeño tamaño de las larvas planctónicas (<500 µm) y la gran semejanza morfológica entre las diferentes especies en las etapas tempranas de su ciclo biológico, especialmente en bivalvos (Garland y Zimmer 2002), complica su estudio haciendo muy difícil diferenciar morfológicamente especies que filogenéticamente son próximas (Levin, 1990). La metodología clásica basada en la observación de caracteres morfológicos por microscopía óptica, no es resolutoria ya que consume mucho tiempo en el proceso de identificación, además de que las larvas de la mayoría de los bivalvos no muestran diferencias morfológicas claras.

La ostra plana (*Ostrea edulis*) es la especie autóctona en el Noroeste de España (Galicia). Hoy en día, la producción natural de esta especie es casi simbólico (Iglesias y col., 2005)

debido a su alta susceptibilidad a la parasitosis por *Bonamia*. Esto condujo a la introducción de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*), principalmente procedente de Francia (Iglesias *et al.*, 2005; Mirella da Silva y col., 2005), que es ahora la principal ostra cultivada en Galicia, aunque su valor de mercado es más bajo que la ostra plana.

En el caso de las especies de ostra, la gran plasticidad fenotípica de las larvas dificulta su identificación por morfología (Boudry y col., 2003). Además, las larvas de la ostra del Pacífico no pueden ser identificadas utilizando estos criterios, especialmente cuando están mezcladas con larvas de otras especies estrechamente relacionadas (Patil y col., 2005).

Métodos moleculares como la hibridación *in situ*, técnicas inmunológicas o de PCR han sido aplicadas con éxito a la identificación de especies de bivalvos (Bendezu *et al.* 2005; Le Goff-Vitry *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2009; Henzler *et al.*, 2010). La PCR en tiempo real (qPCR) permite la identificación y cuantificación de ADN en una sola etapa, sin necesidad de procesamiento post-PCR, acortando por tanto el tiempo de análisis considerablemente. Esta técnica también proporciona una alta exactitud y más especificidad que otras. Recientemente, la qPCR ha sido utilizada para identificar y cuantificar especies del fitoplancton y larvas de invertebrados marinos (Hosoi-Tanabe y Sako 2005; Vadopalas *et al.*, 2006; Pan *et al.*, 2008; Wight *et al.*, 2009). Estos resultados indican la posibilidad de desarrollar ensayos de qPCR para cuantificación e identificación de larvas de bivalvos. El objetivo principal de este estudio es desarrollar un ensayo de qPCR fiable para cuantificación e identificación de larvas de *O. edulis* y *C. gigas* en muestras de plancton.

Materiales y métodos

Se emplearon tres tipos de muestras:

1) Muestras de plancton conteniendo larvas de bivalvos, recolectadas por CETMAR (Centro Tecnológico del Mar, Vigo, España) procedentes de diferentes localizaciones a lo largo de la costa Noroeste de España, en 2009 y 2010. El muestreo se realizó utilizando doble manga de plancton remolcada a una profundidad de 10 metros, con malla de 40 μm . Las muestras fueron filtradas otra vez a través de malla 40 μm al llegar al laboratorio y el material retenido se resuspendió en 20 mL de agua de mar estéril. Las larvas de bivalvos se aislaron mediante centrifugación en gradiente de sacarosa (Pérez *et al.*, 2009), suspendidas en agua de mar y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Larvas de ostra cultivada (150-200 μm de tamaño) fueron proporcionados por el CIMA de Corón (Centro de Investigaciones Marinas), procedentes de cultivos experimentales y preservadas en etanol a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2) Tejidos de bivalvos adultos (músculo aductor, manto o tejidos del pie) de *C. gigas*, *C. angulata*, *O. edulis* y otros especímenes adultos de bivalvos (99 especímenes de 38 especies) fueron extraídos con EZNA Mollusk kit (OMEGA bio-tek) o con el Wizard DNA Clean-up kit (Promega) después de una digestión en tampón de lisis. La concentración de ADN se ajustó a $25 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ para su uso en subsiguientes reacciones de qPCR.

3) Larvas cultivadas de *C. gigas* y *O. edulis* de tamaño comprendido entre 150 y 200 μm , proporcionadas por el CIMA de Corón (Centro de Investigaciones Marinas) procedentes de cultivos experimentales y preservadas en etanol a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, se contaron en un binocular (NIKON SMZ-2T) y se transfirieron mediante una pipeta a tubos de microfuga de 1,5 mL con 20 μL de etanol (33%) para preparar muestras que contienen de 1 a 128 larvas, que se utilizaron para realizar curvas estándar para cada especie. De igual forma, 1, 10 y 100 larvas cultivadas de cada especie, por triplicado, se añadieron a muestras de zooplancton que contenían alrededor de 250 larvas de otras especies de bivalvos, mayoritariamente *Mytilus galloprovincialis*.

Las larvas enteras preservadas en etanol se lavaron con agua Milli-Q estéril durante 20 minutos a temperatura ambiente antes de la extracción, concentrando por centrifugación (10.000 g, 1 min) para eliminar el agua. La digestión de las larvas se realizó con EZNA Mollusk kit (OMEGA bio-tek) y el ADN fue eluído en 50 μL .

Un fragmento de aproximadamente 490 pb del gen mitocondrial 16S rRNA fue amplificado utilizando los cebadores universales 16Sa y 16Sb (Palumbi *et al.*, 1991). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 μL utilizando Ready-to-Go PCR beads y cebadores (2,4 μM para cada cebador), agua y ADN. La amplificación se llevó a cabo con una etapa de precalentamiento a $94 \text{ }^\circ\text{C}$ por 3 min, seguido por 35 ciclos de $94 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 40 s, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 40 s, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 40 s y una etapa de extensión final de $72 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 7 min.

Los productos de PCR se trataron con ExoSAP-IT (Amersham Biosciences), seguido por secuenciación en un ABI PRISM 310 DNA Sequencer (Applied Biosystems) con el Big Dye (Applied Biosystems) kit siguiendo las instrucciones del fabricante, como se describe en Chapela *et al.* (2007). Las secuencias resultantes se analizaron con BIOEDIT (Hall 1999) y se alinearon con CLUSTAL (Thompson *et al.*, 1997), con las especies disponibles en el Genbank. Un alineamiento de las secuencias parciales del gen 16S rRNA de diferentes especies de bivalvos, fue usada para comprobar las regiones de ADN que confieren especificidad a los cebadores y sondas estudiados. Los cebadores y sondas Taqman-MGB específicas para *C. angulata/C. gigas* y *O. edulis* fueron diseñados a partir de secuencias del gen 16S rRNA. Un sistema de control positivo para bivalvos se diseñó utilizando 29 secuencias del gen 18S rRNA del Genbank. Las reacciones de qPCR se realizaron en un volumen total de 20

μL . Cada reacción lleva 50 ng de ADN y 10 μL de Taqman Fast Universal PCR Master Mix no UNG Amperase (2X). Las reacciones Taqman se corrieron en ABI 7500 Fast (Applied Biosystems) con el protocolo de termociclado estándar. El valor medio Ct, calculado para cada especie objetivo, fue comparado con todas las especies no objetivo, utilizando una prueba T-test de distribución normal con diferentes variables (Yuan *et al.*, 2006). El intervalo de confianza ($\alpha= 0,05$) se calculó con el valor Ct medio de las especies objetivo y no objetivo.

Resultados y discusión

La región mitocondrial 16S rRNA, flanqueada por los cebadores 16Sa y 16Sb (Palumbi *et al.*, 1991), fue amplificada y secuenciada para diferentes especímenes adultos de *C. gigas*, *C. angulata* y *O. edulis*, de varias ubicaciones a lo largo de las costas españolas y francesas. Secuencias homólogas del gen 16S rRNA fueron además secuenciadas (AJ808174-AJ808193) y obtenidas del GenBank para las diferentes especies de bivalvos utilizados para el diseño de un sistema específico de PCR a tiempo real para *C. gigas*, *C. angulata* y *O. edulis*. El alineamiento de las 34 secuencias del 16S rRNA muestra la existencia de muchas diferencias nucleotídicas interespecíficas entre las secuencias de *O. edulis*, *C. gigas* y *C. angulata* y el resto de las secuencias de bivalvos. No se encontraron diferencias nucleotídicas interespecíficas entre las secuencias de *C. gigas* y *C. angulata*. La ausencia de variabilidad interespecífica en estas dos especies confirma resultados anteriores sobre la relación filogenética cercana entre estos dos taxa (Boudry *et al.*, 2003; Reece *et al.*, 2008). Por tanto, se diseñó un sistema para *O. edulis* y otro para *C. gigas/C. angulata*.

Se desarrolló un sistema de control positivo para bivalvos, con el fin de verificar que los resultados negativos del ensayo exclusivo para las especies de ostra, no fueran falsos negativos. La tabla I muestra las secuencias de cebadores y sondas de cada uno de los sistemas desarrollados. No se detectó ninguna variabilidad intraespecífica que afectara a la especificidad de los sistemas, esto permite las identificaciones sin la aparición de falsos negativos.

La eficacia de los sistemas fue determinada observando los valores Ct frente el logaritmo de la concentración de ADN, utilizando siete (CGIG/ANG16S) o seis (OEDU16S) diluciones seriadas 10 veces, comenzando desde los 50 ng. La respuesta fue lineal en este rango de diluciones para los tres sistemas, con pendientes de -3,34, -3,41 y -3,35 para CGIG/ANG16S, OEDU16S y BIV_18S, respectivamente. La eficacia de los sistemas, según la ecuación $E = [10^{-(1/\text{pendiente})} - 1] \times 100$, fue del 99,4%, 96,4%, 98,9% para CGIG/ANG16S, OEDU16S y BIV_18S, respectivamente, apoyando las directrices seguidas para diseñar los sistemas.

Los sistemas CGIG/ANG16S y OEDU16S se probaron para su especificidad y reacciones cruzadas con las otras especies de bivalvos consideradas. El sistema CGIG/ANG16S, presenta un valor Ct medio de $17,37 \pm 0,27$ para todos los especímenes adultos de *C. angulata* y *C. gigas* utilizados en el estudio, mientras que ninguna amplificación o señal significativa se obtuvo de otras especies de bivalvos en los análisis de reactividad cruzada, incluyendo *O. edulis* (Ct medio de $39,49 \pm 0,36$ de 42 especímenes no-*C. gigas*/*C. angulata*) como se puede ver en la tabla II. Resultados similares fueron obtenidos para el sistema OEDU16S, para los cuales las muestras de adultos de *O. edulis* presentaron un valor Ct medio de $17,79 \pm 0,21$ y ninguna amplificación o señal significativa se obtuvo para la mayoría de especies de bivalvos en los análisis de reactividad cruzada, con la excepción de *O. angasi* que presenta un valor de Ct similar a *O. edulis*. Algunas publicaciones como Jozefowicz y Ó Foighil (1998), Kenchington *et al.* (2002) y Hurwood *et al.* (2005), consideran estos dos taxa como la misma especie. Siguiendo las sugerencias de estos trabajos, el Ct de *O. angasi* no deberá ser incluido en el cálculo de los valores medios Ct de especies no objetivo (Ct medio de $37,90 \pm 2,59$ para 43 no *O. edulis*).

Tabla I.- Secuencias de cebadores y sondas TaqMan MGB.

Sistema TaqMan MBG	Nombre	Secuencia 5'→3'	Tamaño amplicon (bp)	Concentración de primers y cebador (nM)
	CGIG/ANG16S_F	GGGCGCCTAGAAAGCAAGT		300
CGIG/ANG16S	CGIG/ANG16S_R	ATCGGGTCAAATCCGGAAAG	62	300
	CGIG/ANG16S_P	VIC-AACCTTTCTGAATAACTAAC-MGB		200
	OEDU16S_F	GGCGCCCCACCTAAAAAT		900
OEDU16S	OEDU16S_R	AGACCCCGTGCAACTTTTAAAG	62	900
	OEDU16S_P	FAM- TGAAACTCCTAAACAAGTTG-MGB		225
	BIV_18S_F	AGCCACACGAGATTGAGCAAT		300
Positive control	BIV_18S_R	GCGGCCCGAACATCTA	57	900
	BIV_18S_P	NED-ACAGGTCTGTGATGCC-MGB		200

Las especies utilizadas en la prueba de reactividad cruzada para los sistemas específicos de ostra, fueron también probados con el sistema de control positivo Biv_18S, mostrando una amplificación positiva en todos los casos (Tabla II) (Ct medio de $16,16 \pm 0,97$). Hay diferencias estadísticamente significativas entre el valor Ct obtenido para especies objetivo y para el resto de las especies analizadas ($P < 0,001$), para ambos sistemas.

La figura 1 muestra las curvas estándar para larvas cultivadas de *C. gigas* y *O. edulis*, con linealidad hasta 128 larvas, por tanto la detección mínima, una larva, es posible con ambos sistemas. La siguiente etapa fue probar su eficacia en muestras de plancton (con 1, 10 y 100 larvas cultivadas). El número de larvas objetivo se determinó por extrapolación de cada curva estándar. La tabla III, muestra una correlación considerable entre el número real de larvas y el estimado.

El método de cuantificación mostrado aquí está basado en el uso de estándares e igual tamaño de las larvas. Se podría suponer que el tamaño de la larva pudiera afectar al número de moléculas de ADN mitocondrial por larva, y por tanto, diferente tamaño de larvas pudieran producir respuestas diferentes en la PCR a tiempo real.

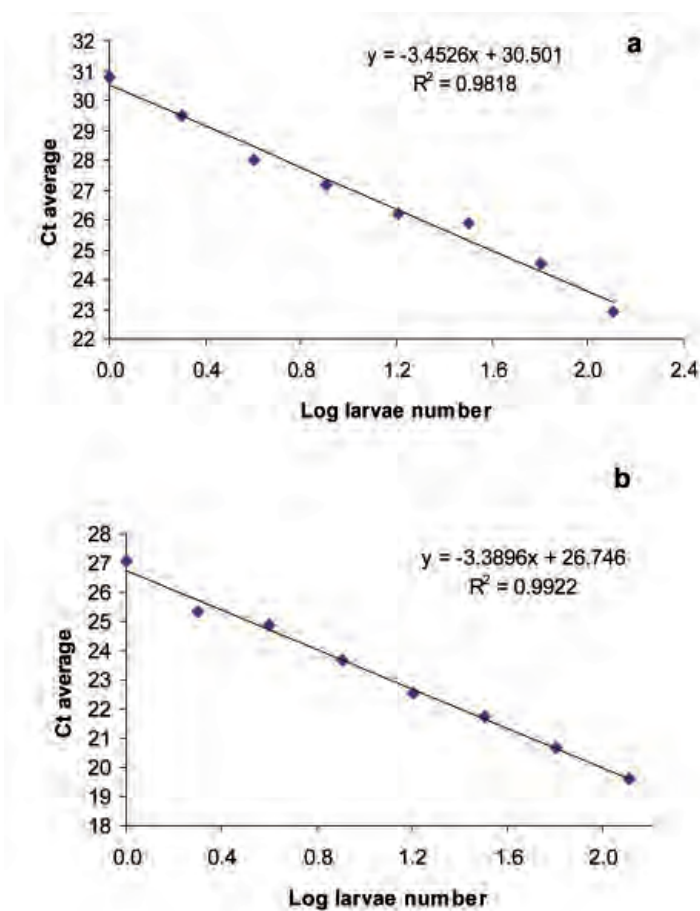


Figura 1. - Curva estándar de los sistemas CGIG/ANG16S (a) y OEDU16S (b) mostrando los valores Ct values frente al logaritmo del número de larvas (1 a 128).

Tabla II.- Resultados de ensayos de reacciones cruzadas. Valor medio Ct \pm SD para tres réplicas. En negrita valor medio Ct valor \pm intervalo de confianza ($\alpha= 0,05$) para sistemas específicos de ostra. Valores medios Ct de 40 no amplifican.

Especie	Valor medio Ct \pm SD CGIG/ ANG16S sistema	Valor medio Ct \pm SD OEDU16S sistema	Valor medio Ct \pm SD BIV18S sistema
CANG_C2		33,45 \pm 0,24	14,85 \pm 0,11
CANG_C3		31,40 \pm 0,38	
CANG_C4		29,23 \pm 0,01	
CGIG_F1	17,37 \pm 0,27	39,77 \pm 0,40	14,34 \pm 0,03
CGIG_F2		40	
CGIG_F3		36,63 \pm 0,82	
CHON	40	40	16,05 \pm 0,13
CSIK	39,31 \pm 0,43	40	14,50 \pm 0,12
CVIR	40	40	14,81 \pm 0,03
OEDU 1	40		13,22 \pm 0,03
OEDU 2	36,45 \pm 1,37	17,79 \pm 0,21	
OEDU 3	40		
OCHI	40	40	13,99 \pm 0,09
OSTE	40	40	15,05 \pm 0,08
OANG	40	18,86 \pm 0,18	15,70 \pm 0,03
CGAS	40	37,26 \pm 0,66	14,12 \pm 0,04
OCON	40	40	14,57 \pm 0,04
MEDU	36,47 \pm 1,03	35,27 \pm 1,08	13,66 \pm 0,08
MGAL	36,45 \pm 0,86	35,64 \pm 0,62	13,83 \pm 0,04
XSEC	40	37,23 \pm 0,63	14,73 \pm 0,13
AECH	40	39,59 \pm 0,71	24,52 \pm 0,14
AOPE	38,62 \pm 0,73	38,16 \pm 1,92	14,53 \pm 0,06
CVAR	40	36,94 \pm 0,76	13,71 \pm 0,09
LHIA	40	40	16,61 \pm 0,03
PMAX	40	37,87 \pm 1,18	14,06 \pm 0,09
CCHI	40	39,86 \pm 0,24	16,55 \pm 0,13
CEDU	39,69 \pm 0,54	37,20 \pm 1,21	25,79 \pm 0,13
CFAS	40	40	14,09 \pm 0,03
DPOL	40	38,91 \pm 1,38	15,03 \pm 0,13
DEXO	40	40	16,84 \pm 0,24
DTRU	39,88 \pm 0,20	36,12 \pm 0,83	18,52 \pm 0,14
EENS	40	40	15,59 \pm 0,14
ESIL	40	33,63 \pm 0,43	15,74 \pm 0,11
GDEP	40	38,65 \pm 1,58	18,92 \pm 0,03
GPIL	39,76 \pm 0,41	36,01 \pm 1,62	
LCRA	39,51 \pm 0,85	38,22 \pm 0,44	26,14 \pm 0,10
RDEC	39,68 \pm 0,56	40	15,21 \pm 0,04
RPHI	40	38,71 \pm 2,23	16,02 \pm 0,04
SPLA	40	39,54 \pm 0,79	17,47 \pm 0,10
SMAR	40	37,45 \pm 0,43	15,41 \pm 0,08
SSOL	40	40	18,58 \pm 0,05
VPUL	40	38,14 \pm 1,62	14,78 \pm 0,03
VRHO	40	39,99 \pm 0,02	16,33 \pm 0,04
VAUR	40	40	17,79 \pm 0,32
VCAS	36,43 \pm 0,29	33,87 \pm 0,18	14,43 \pm 0,03
VGAL	40	40	15,81 \pm 0,04
VVER	39,80 \pm 0,34	37,71 \pm 0,16	14,51 \pm 0,13

Tabla III.- Cálculo del número de larvas en muestras de plancton. Media \pm S.D.

Larvas añadidas	Larvas cultivadas	Larvas cultivadas
	<i>C. gigas</i>	<i>O. edulis</i>
0	0	0
1	2,3 \pm 0,9	1,0 \pm 0,4
10	8,7 \pm 2,2	12,6 \pm 2,1
100	83,7 \pm 20,0	129,6 \pm 10,6

Sin embargo, trabajos previos han demostrado que la cuantificación larvaria de orejas de mar no fue afectada por diferencias en el tamaño de las larvas (Vadopalas *et al.*, 2006). No obstante, sería necesario realizar otros estudios para verificar si el rango completo de medidas de larvas de ostra puede afectar a los resultados de cuantificación. Si fuera así, un nuevo protocolo que separase las larvas por medidas tendría que ser empleado para evitar este problema.

En este trabajo hemos demostrado que la PCR en tiempo real facilita la identificación y cuantificación de dos de las especies de ostras comerciales más importantes. Es la primera vez que esta técnica se utiliza para este propósito. La alta correlación observada entre el número de larvas calculado por la PCR a tiempo real y el número de larvas real en muestras de plancton, es verdaderamente notable. Este método puede ser una herramienta útil para controlar las puestas en ciertas áreas, incluso en áreas donde *C. gigas* y *O. edulis* están mezcladas con especies estrechamente relacionadas. También, la herramienta podría ser utilizada en estudios ecológicos como aquellos relacionados con la influencia de diferentes parámetros sobre la dinámica poblacional y fijación de las larvas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Xunta de Galicia a través del proyecto 07MMA024402PR.

Bibliografía

- Boudry P., Heurtebise S., Lapègue S. 2003. Mitochondrial and nuclear DNA sequence variation of presumed *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* specimens: A new oyster species in Hong Kong? *Aquaculture*, 228:15-25.
- Chapela M.J., Sánchez A., Suárez M.I., Pérez-Martín R.I., Sotelo C.G. 2007. A rapid methodology for screening hake species (*Merluccius* spp.) by single-stranded conformation polymorphism analysis. *J. Agric. Food. Chem.* 55: 6903-6909.
- Garland E.D., Zimmer C.A. 2002. Techniques for the identification of bivalve larvae. *Mar Ecol. Prog. Ser.* 225:299-310.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Henzler C.M., Hoaglund E.A., Gaines S.D. 2010. FISH-CS a rapid method for counting and sorting species of marine zooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 410: 1-11.
- Hosoi-Tanabe S., Sako Y. 2005. Species-specific detection and quantification of toxic marine dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* by real-time PCR assay. *Mar Biotechnol* 7: 506-514.
- Hurwood D.A., Heasman M.P., Mather P.B. 2005. Gene flow, colonisation and demographic history of the flat Oyster *Ostrea angasi*. *Mar Freshwater Res.* 56: 1099-1106.
- Iglesias D., Rodríguez L., Montes J., Conchas R.F., Pérez J.L., Fernández M., Guerra A. 2005. Estudio de viabilidad del cultivo de ostra rizada *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) en diferentes rías gallegas. Primeros resultados biológico-productivos. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 293-309.
- Jozefowicz C.J., Ó Foighil D. 1998. Phylogenetic analysis of southern hemisphere flat oysters based on partial mitochondrial 16S rDNA gene sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 10: 426-435.
- Kenchington E., Bird C.J., Osborne J., Reith M. 2002. Novel repeat elements in the nuclear ribosomal RNA operon of the flat oysters *O. edulis* C. Linnaeus, 1758 and *O. angasi* Sowerby, 1871. *J. Shellfish Res.* 21: 697-705.
- Le Goff-Vitry M.C., Jacquelin S., Comtet T. 2007. Towards Trucking marine larvae with *in situ* hybridization. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 87: 1077-1080.
- Levin L.A. 1990. A review of methods for labeling and tracking marine invertebrate larvae. *Ophelia*, 32:115-144.
- Mirella da Silva P., Fuentes J., Villalba A. 2005. Growth, mortality and disease susceptibility of oyster *Ostrea edulis* families obtained from brood stocks of different geographical

- origins, through on-growing in the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain). *Mar. Biol.* 147: 965-977.
- Palumbi S.R., Martin A., Romano S., McMillan W.O., Stice L., Grabowski G. 1991. The simple Fool's Guide to PCR. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii.
- Pan M., McBeath A.J.A., Hay S.J., Pierce G.J., Cunningham C.O. 2008. Real-time PCR assay for detection and relative quantification of *Liocarcinus depurator* larvae from plankton samples. *Mar. Biol.* 153:859-870.
- Patil J.G., Gunasekera R.M., Deagle B.E., Bax N.J. 2005. Specific detection of pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae in plankton samples using nested polymerase chain reaction. *Mar. Biotechnol.* 7:11-20.
- Pérez D., Lorenzo-Abalde S., González-Fernández A., Fuentes J. 2009. Immunodetection of *Mytilus galloprovincialis* larvae using monoclonal antibodies to monitor larval abundance on the Galician coast: Optimization of the method and comparison with identification by morphological traits. *Aquaculture*, 294: 86-92.
- Reece K.S., Cordes J.F., Stubbs J.B., Hudson K.L, Francis E.A. 2008. Molecular phylogenies help resolve taxonomic confusion with Asian *Crassostrea* oyster species. *Mar. Biol.* 153:709-721.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. 1997. The CLUSTAL X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic. Acids. Res.* 25:4876-4882.
- Vadopalas B., Bouma J.V., Jackels C.R., Friedman C.S. 2006. Application of real-time PCR for simultaneous identification and quantification of larval abalone. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 334:219-228.
- Wight N.A., Suzuki J., Vadopalas B., Friedman C.S. 2009. Development and optimization of quantitative PCR assays to aid *Ostrea lurida* carpenter 1864 restoration efforts. *J. Shellfish Res.* 28:33-41.
- Yuan J.S., Reed A., Chen F., Stewart Jr. C.N. 2006. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics* 7.

Menção honrosa melhor poster

Metales, metalotioninas y tasa de crecimiento del bivalvo *Lima scabra*, Venezuela

Lemus^{1,3,4*} M., Cedeño² A., Salazar² R., Aponte³ A., Chung⁴ K.

¹Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, 6101, Venezuela

²Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Inmunotoxicidad, Universidad de Oriente, Cumaná, 6101

³Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, Universidad de Oriente, Península de Araya, Venezuela

⁴Laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, 6101, Venezuela

*E-mail: mlemus88@gmail.com

Resumen

Las metalotioninas (Mts) son proteínas utilizadas comúnmente como biomarcadores de contaminación, particularmente de metales pesados, pero su inducción puede estar afectada por factores ambientales. En el presente trabajo se analizaron los niveles de metales pesados y Mts en ejemplares adultos hembras del bivalvo de fuego (*Lima scabra* Born, 1778) en las localidades de La Crucita y Las Minas en la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela. La localidad de Las Minas está caracterizada por la presencia visible de descargas de gas y el sedimento presenta señales visibles de rastros de aceites derivados de la fuga de gases en la zona, y la localidad de La Crucita es un área sin presencia visible de gas y aceites. Los ejemplares de *L. scabra* fueron manualmente colectados a profundidades de 2 a 3 m y presentaron tallas que oscilaron entre 4 a 10 cm de longitud. Los niveles Cr, Fe, Ni, Pb y Cd se evaluaron en hepatopáncreas (H), músculo (M), branquias (B), manto (Ma) y resto (R) por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando material certificado de referencia y los

resultados se expresaron en $\mu\text{g/g}$ de masa húmeda. Las Mts fueron cuantificadas en todos los tejidos. Se encontraron diferencias significativas en Cd y Cr en el sedimento, hallándose un valor promedio máximo de $0,501\pm 0,397 \mu\text{g/g}$ de Cr en Las Minas, y $0,610\pm 0,295 \mu\text{g/g}$ de Cd en La Crucita. Los metales en el tejido blando no presentaron diferencias significativas entre localidades con la excepción de Cr y Ni. La concentración de Mts no mostró variaciones significativas entre las dos localidades, aunque se evidenció un valor promedio máximo de éstas en el R (constituido por tejido gonadal y masa visceral) de ambas localidades, asociados a Cd, Fe, Pb y Ni bioacumulados.

Palabras clave

Metales pesados, Bioacumulación, Metalotioninas.

Introducción

La evaluación de biomarcadores en organismos marinos expuestos a xenobióticos y particularmente a metales pesados, ha sido ampliamente estudiada. Las proteínas llamadas metalotioninas (Mts) han sido propuestas como un indicador biológico de contaminación por metales en ecosistemas acuáticos (Langston *et al.*, 2002; Lemus *et al.*, 2010).

Las Mts constituyen un grupo de proteínas ampliamente distribuidas en los organismos y están presentes en todos los tejidos, exhibiendo su mayor concentración en hígado, riñón, páncreas e intestino. Se caracterizan por tener un alto contenido de grupos sulfhidrilos provenientes de los aminoácidos cisternas, capaces de unir metales esenciales y no esenciales. Varios metales, así como una gran cantidad de factores fisiológicos y patológicos inducen la síntesis de las Mts. En la actualidad, se ha postulado que estas proteínas pueden tener un papel importante en los procesos de depuración de metales pesados como el cadmio (Cd), regulación del metabolismo del zinc (Zn) y el cobre (Cu), así como en la modulación de la expresión de algunos genes (Brambila y cols., 1999).

El molusco de fuego *L. scabra*, es una especie con un atractivo color rojo, debido a la gran acumulación de carotenos, los cuales, conjuntamente con sus tentáculos normalmente extendidos puede llegar a medir unos 4-8 cm. Aunque la biomasa de esta especie puede ser relativamente alta ($11,3$ de masa seca/ m^2 en el Golfo de Cariaco), no es muy adecuado para

la explotación comercial, debido a la dificultad en la recolección desde los hábitats de corales (Lodeiros y Freitas, 2008).

En el presente trabajo, los ejemplares hembras de *L. scabra*, fueron colectados en la isla de Cubagua, ubicada al noreste de Venezuela, a fin de determinar los niveles de los metales Cd, Cr, Pb, Ni y Fe y metalotioninas (Mts) en una zona donde existen yacimientos de hidrocarburos activos en los alrededores de la isla y en el mar que la circunda.

Materiales y métodos

Área de Estudio

Se realizó un muestreo para la captura del bivalvo *L. scabra*, en el mes de julio del año 2009, en las localidades de Las Minas, ubicada al este de la Isla de Cubagua y La Crucita ubicada al oeste de dicha Isla 10°18'79'' N, 64°26'81'' O. Al mismo tiempo se recolectaron muestras de sedimentos superficiales en las localidades estudiadas.

Muestras de tejidos

Los tejidos blandos fueron extraídos de la concha para ser pesados y secados en una estufa a 60 °C durante 48 horas o hasta peso constante, luego fueron tratadas con ácido nítrico concentrado y ácido clorhídrico en una proporción 1:1, para ser digeridas a una temperatura de 60 °C, posteriormente fueron enrasadas hasta 25 mL con agua desionizada, previa filtración con papel Whatman N° 1.

Análisis de metales

Las determinaciones de Cd, Cr, Pb, Ni y Fe en sedimentos y tejidos, fueron analizadas en un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer, modelo 3110), siguiendo el procedimiento propuesto por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Se utilizaron los estándares certificados de materiales de referencia de las marcas comerciales TORT-2 y DORM-2, para el control de calidad de la determinación de metales. Los resultados se expresaron en µg/g de masa húmedo (µg/g m h).

Determinación de metalotioninas (Mts)

La cuantificación de Mts se realizó empleando la metodología propuesta por Viarengo *et al.* (1997). Los cálculos de las concentraciones de Mts, se realizaron utilizando una curva de calibración de glutatión reducido con las concentraciones desde 5 hasta 30 $\mu\text{mol/mL}$. Para obtener las concentraciones de Mts, se partió de la siguiente igualdad: 1 mmol GSH = 0,055 mmol/l de Mts. Las concentraciones de Mts fueron expresadas en μg de Mts/mg proteínas.

Análisis estadístico

Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para determinar si existen diferencias entre las concentraciones de metales en organismos de ambas localidades y para establecer si se hallaron diferencias entre la incorporación de metales en los tejidos y las localidades. Esta misma prueba fue aplicada a los niveles de Mts en los tejidos de los organismos de ambas localidades. Finalmente se determinó la asociación entre los niveles de Mts y los niveles de metales presentes en los tejidos analizados.

Resultados

Los niveles de metales en tejidos de *L. scabra* proveniente de dos localidades de la Isla de Cubagua, mostraron diferencias significativas en las concentraciones de Cr y Ni (Tabla I).

Tabla I.- Niveles de metales en *Lima scabra* de 2 localidades de la Isla de Cubagua, Venezuela.

Localidad	Cr	Ni	Fe	Pb	Cd
Las Crucitas (n=9)	0,61±0,42 (0,07-1,99)	0,27±0,26 (0-1,34)	41,44±48,66 (39,6-151,94)	0,28±0,36 (0,06-1,45)	0,87±0,70 (0,03-3,50)
Las Minas (n=10)	0,28±0,29 (0,05-1,48)	0,50±0,39 (0-1,77)	32,69±38,45 (3,66-138,90)	0,19±0,290 (0,05-1,25)	1,24±2,39 (0,11-15,76)
Kruskal Wallis (KW)	KW=24,40	KW= 10,874	KW= 0,897	KW= 1,54	KW= 0,68
Probabilidad (P)	P=0,0000007	P=0,00094	P= 0,343 NS	P=0,214 NS	P=0,408 NS

Las Mts en los tejidos presentaron diferencias significativas en ambas localidades y la mayor concentración se determinó en el resto (R) de los tejidos, constituido principalmente por

gónadas y masa visceral (Fig 1).

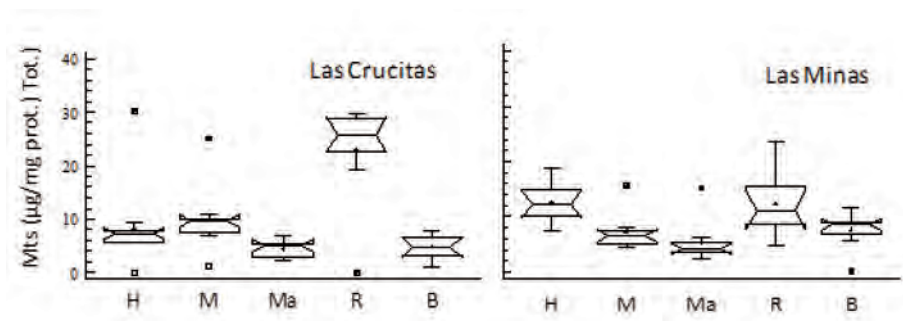


Figura 1.- Concentración de metalotininas en *Lima scabra* de dos localidades de la isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela.

Se determinaron relaciones significativas entre las Mts del R y los niveles de Fe, Pb, Ni y Cd presentes en los organismos de isla de Cubagua. No apreciándose relación a entre las Mts de las branquias y el manto con ninguno de los metales evaluados (Tabla II).

Tabla II.- Análisis de correlación entre la concentración de metales pesados de los tejidos hepatopáncreas (H), músculo (M), branquias (B), manto (Mto) y resto (R) y el contenido de metalotioninas (Mts) en el bivalvo *Lima scabra* de dos localidades de la Isla de Cubagua, estado Nueva Esparta, Venezuela.

r (Correlación)	Cd	Cr	Fe	Pb	Ni
p (Probabilidad)					
Mts H	0,004	0,642	0,353	0,292	0,389
Mts M	0,985 Ns	0,006*	0,133 Ns	0,214 Ns	0,098 Ns
Mts B	0,428	0,007	0,071	0,515	0,057
Mts Ma	0,069 Ns	0,976 Ns	0,760 Ns	0,028*	0,806 Ns
Mts R	-0,090	0,190	0,258	0,089	0,135
	0,701 Ns	0,419 Ns	0,2720 Ns	0,705 Ns	0,566 Ns
	0,012	0,321	0,059	0,001	0,065
	0,958 Ns	0,172 Ns	0,800 Ns	0,994 Ns	0,780 Ns
	0,557	0,170	0,752	0,530	0,645
	0,017*	0,470 Ns	0,001*	0,024*	0,006*

Discusión

Las concentraciones promedio de Pb y Cd estuvieron por debajo de los niveles permisibles de la FAO para consumo humano que establece 1 y 2 $\mu\text{g/g}$ de masa húmeda para Pb y Cd respectivamente. Sin embargo, algunos de los organismos superaron los límites permisibles (FAO, 1983). Los niveles de Cd determinados en esta especie estuvieron dentro del rango de los valores encontrados en la misma especie proveniente de zonas costeras cercanas a la Isla de Cubagua. Para el resto de los metales analizados la FAO no tiene normativas para límites permisibles.

El resto de los tejidos, constituido principalmente por tejido gonadal y digestivo mostraron una mayor capacidad de síntesis de Mts en relación a los tejidos que comúnmente han sido estudiados como tejidos blancos para la síntesis de esta proteína como lo son el hepatopáncreas y las branquias (Martins y Bianchini, 2009).

Estos resultados demuestran una asociación entre las Mts del resto (tejido gonadal y visceral) y los metales incorporados a excepción del Cr. Particularmente el Cd es un fuerte inductor de las Mts en los tejidos (Barrera-Escorcia y Wong-Chang, 2010), mientras que el Fe, Cr y Ni, aunque no se ha demostrado la inducibilidad directa de Mts, la formación de radicales libres producto de su toxicidad en la célula pueden inducir la síntesis de esta proteína (Viarengo *et al.*, 2000; Buico *et al.*, 2008).

Conclusión

Este trabajo demuestra que las Mts utilizadas comúnmente como un biomarcador, en esta especie reflejan una respuesta a la incorporación de metales particularmente en el tejido gonadal y masa visceral de esta especie.

Agradecimiento

Los autores agradecen al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por el financiamiento de esta investigación

Bibliografía

- Barrera-Escorcia G., Wong-Chang I. 2010. Lipid peroxidation and metallothionein induction by chromium and cadmium in Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) from Mandinga Lagoon, Veracruz. *Hidrobiológica* 20 (1): 31-40
- Brambila C., Lozano E., Zaráin P. 1999. "Metalotioninas, bioquímica y funciones propuestas". *Bol. Educ. Bioqui.* 18(1): 21-27.
- Buico A., Cassino C., Dondero F., Vergani L., Osella D. 2008. Radical scavenging abilities of fish Mt-A and mussel Mt-10 metallothionein isoforms: An ESR study. *J. Inorg. Biochem* 102(4): 921-927.
- Food and Agricultural Organization (FAO). 1983. Compilation of legal limits for hazardous substance in fish and fishery products. FAO.102 pp.
- Langston W.J., Chesman B.S., McEvoy J. 2002. Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality? *Res. Mar. Environ* 53: 263-293.
- Lemus J., Laurent C., Acagua A., Cabrera M., Aponte A., Chung K. 2010. Variación estacional de metales pesados en *Perna viridis*, de la localidad de Guayacán, península de Araya edo. Sucre Venezuela. *Biologist (Lima)* 8: 126-138.
- Lodeiros C., Freitas L. 2008. Estado Actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. Grupo de Investigación en Biología de Moluscos, Universidad de Oriente, 135-150 pp.
- Viarengo A., Burlando B., Caratto N., Panfoli I. 2000. Antioxidant role of metallothioneins: a comparative overview. *Cell. Mol. Biol* 46 (2): 407-417.
- Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri Y. 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ* 44: 69-84.



Metales, Metalotioninas y Tasa de Crecimiento del Bivalvo *Lima scabra*, Venezuela

Lemus^{1,3,4} M., Cedeño² A., Salazar R², Aponte³ A y Chung⁴ K

¹Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, ²Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Inmunotoxicidad, ³Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, ⁴Departamento de Biología Marina, Laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología, Instituto Oceanográfico de Venezuela

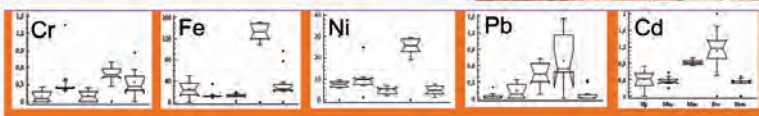
mlemus@iiovenezuela.com

INTRODUCCIÓN

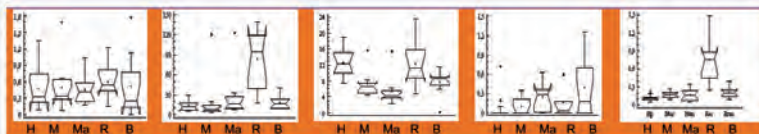
Las metalotioninas (MTs) son proteínas utilizadas comúnmente como biomarcadores de contaminación, particularmente de metales pesados, pero su inducción puede estar afectada por factores ambientales. El crecimiento evaluado a través de la relación ARN/ADN en musculatura determina la condición fisiológica del organismo. En este trabajo se evalúa si los niveles de metales en los distintos compartimientos están asociados a los niveles de MTs y a su vez pudieran afectar la condición fisiológica del organismo.

Metodología

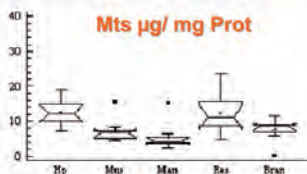
- Captura
- Morfometría
- Metales en tejidos
- Mts en tejidos
- ARN/ADN en músculo



La Cruzita



Las Minas



Relación entre Mts y los metales analizados en el resto de los tejidos

	Cd	Cr	Fe	Pb	Ni
MTs	0.557*	0.170Ns	0.752*	0.530*	0.641*



Conclusiones:

- ❑ Los metales analizados en los tejidos de *L. scabra* se presentaron en concentraciones similares en ambas zonas de muestreos y las concentraciones de MTs y relación ARN/ADN también fueron similar.
- ❑ Solo las Mts del resto (constituida principalmente por gónadas) presento relación con los niveles de Cd, Fe, Pb y Ni en el tejido

Moluscos como recurso marino en asentamientos precolombinos en el Edo. Sucre, Venezuela

Lodeiros¹ C., Antulio² P., Cipriani³ R., Pérez⁴ L.G., Conteras⁴ R.

¹Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. Edo. Sucre, Cumaná Venezuela.

²Dpto. Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

³Dpto. Estudios Ambientales, División Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

⁴Programa “Ciudad Cumaná Patrimonio Cultural”, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Resumen

En Venezuela, el recurso moluscos supone actualmente un grupo importante con pesquerías de primer orden. Esta importancia también data de la época neoindia y más aún en la indohispánica, donde la especie del bivalvo ostra perla *Pinctada imbricata* fue la atracción principal, por su producción de perlas, para la conquista de América, invocando los sucesivos viajes al “nuevo mundo”. El presente estudio pretende dar un aporte de la diversidad del recurso utilizado por indígenas presumiblemente Chaimas, asentados en tiempos precolombinos en las riberas de Campeche, en Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. Se realizó un análisis de muestras de exoesqueletos calcáreos provenientes de acumulaciones de conchas de moluscos producto de las actividades indígenas en dicha zona, sugiriendo a los moluscos como una de las principales dietas de dichos indígenas. Las principales especies identificadas fueron lo bivalvos *Arca zebra*, *Anadara notabilis*, *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Asaphis deflorata* y los gasterópodos *Astraea tuber*, *Strombus pugilis*, *Chicoreus brevifrons*, *Phyllonotus pomum*, *Melongena melongena* y *Fasciolaria tulipa*. Dada la abundancia y predominancia de conchas, se visualizaron dos tipos de acumulaciones, diferenciando la utilidad

del recurso por los indígenas precolombinos: una donde predomina la especie *Melongena melongena*, la cual se sugiere como la principal incorporada a la dieta de los indígenas y posible utilización como herramienta, y la otra acumulación donde predomina la ostra perla *Pinctada imbricata*, sugiriendo su separación para realizar actividades de extracción de perlas para uso ornamental, sin excluir su utilización para alimentación.

Palabras clave

Neoindio, *Pinctada imbricata*, *Melogeno melogena*, Caribe.

Introducción

En Venezuela, los moluscos son un grupo importante desde el punto de vista económico, algunas especies, particularmente bivalvos, sostienen pesquerías de primer orden. Cabe destacar que la pesquería de la pepitona (*Arca zebra*), de la cual se extraen unas 50.000 t/año (Mendoza, 2009), ocupa hoy en día el primer rubro de explotación en volumen por la pesca artesanal. Otra especie destacable, que ha sostenido la mayor importancia de Venezuela en tiempos pre y postcolombinos en el continente americano, fue la ostra perla *Pinctada imbricata*, por su producción de perlas (Lodeiros *et al.*, 1999). Existen diversos relatos e investigaciones sobre la explotación perlífera desde los comienzos de los viajes de Colon hasta la actualidad; sin embargo, poco se sabe del papel e importancia de los moluscos como alimento en las zonas del nororiente de Venezuela para las fechas precolombinas. Las investigaciones arqueológicas existentes se centran, más que todo, en las islas del Caribe, incluyendo el archipiélago Los Roques, indicando que la especie más importante de moluscos comestible fue el botuto *Strombus gigas*, teniendo a otras especies como *Cittarium pica*, *Melongena melongena* y los bivalvos *Donax* spp., *Tivela mactroides*, *Arca zebra*, *Chama* spp. como especies complementarias en la dieta, inclusive remontándose a épocas antiguas como la paleoindia (Borrero *et al.*, 1996; Antczak *et al.*, 2008).

El presente estudio pretende dar un aporte de la diversidad del recurso utilizado en indígenas presumiblemente Chaimas, asentados en tiempos precolombinos en las riberas de Campeche, en Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.

Materiales y métodos

Tres expediciones se realizaron entre junio y septiembre 2010 para la recolecta de exoesqueletos de moluscos en el extracto superficial de acumulaciones establecidas en un asentamiento precolombino indígena, presumiblemente Chaimas (siglo XII-XIII), localizado en las riberas de Campeche, en la zona industrial-urbana en las cercanías del aeropuerto de Cumaná, Edo. Sucre, en el nororiente de Venezuela, a unos 3 Km de la costa del Golfo de Cariaco (10°27'51" N , 64°08'35" O). El ordenamiento y descripción sistemática se basó en Thièle (1929-1935), Abbott (1974), Warmke & Abbott (1961), Díaz & Puyana (1994) y Lodeiros *et al.* (1999). Todo el material obtenido fue depositado en la colección malacológica del Grupo de Biología de Moluscos de la Universidad de Oriente. La abundancia relativa de las especies se determinó por observaciones cualitativas in situ contrastadas con observaciones de imágenes fotográficas de las acumulaciones de conchas, resultando en apreciaciones de muy abundante, abundante, poco abundante y escaso.

Resultados y discusión

De todos los exoesqueletos recolectados, la mayoría de las 24 especies identificadas (13; 54,2%) pertenecieron a la clase gasterópoda, reuniendo 10 familias pertenecientes a 5 órdenes, todos dentro de la subclase Prosobranchia. El resto de las especies (11; 45,8%) pertenecen a la clase bivalvia, representando a 8 familias y 3 órdenes de las subclases Pteriomorfa (6 especies) y Heterodonta=Eulamellibrancia (5 especies).

Teniendo en cuenta la selectividad de extracción mediante buceo y coleta manual, con el fin de búsqueda de alimento por los indígenas o especies para otros usos (extracción de perlas, confección de herramientas, etc.) y la desintegración y dispersión de los exoesqueletos en el transcurrir de más de 5 siglos a través de diferentes fenómenos (lluvias, escorrentías, viento, erosión, etc.) y que el muestreo se realizó de forma superficial en el conchero, en comparación con la extracción poco selectiva para la realización de estudios de biodiversidad de moluscos de las costas nororientales de Venezuela (utilización de dragas, rastras, cuadratas, etc), el número de especies encontradas en el presente estudio es elevado, considerando ser entre un 30-50% del número de especies en las investigaciones de biodiversidad actuales, provenientes de sistemas que generan alta diversidad específica como arrecifes, pastos marinos, bancos de moluscos, etc. (Graterol, 1986; Jiménez, 1994; Prieto *et al.*, 2001, 2003; Diaz & Liñero, 2004; Jiménez *et al.*, 2004; Villafranca & Jimenez, 2004; Fernández &

Jiménez, 2006; Acosta *et al.*, 2007; Licet *et al.*, 2009; Lodeiros *et al.*, 2011).

La mayoría de las especies consideradas como abundantes o muy abundantes (bivalvos: *Arca zebra*, *Anadara notabilis*, *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Asaphis deflorata*; gasterópodos: *Astraea tuber*, *Strombus pugilis*, *Chicoreus brevifrons*, *Phyllonotus pomum*, *Melongena melongena* y *Fasciolaria tulipa*) son especies que en la actualidad se consumen y algunas soportan pesquerías o actividades tradicionales de extracción por comunidades costeras del nororiente de Venezuela (Tabla I). Todas estas especies habitan en aguas someras, lo cual sugiere una fácil colecta por los indígenas de la zona en tiempos precolombinos, suponiendo que sus actividades de colecta se realizaban en las zonas costeras aledañas.



Figura 1.- Acumulaciones de conchas en el asentamiento indígena, izquierda con predominio del gasterópodo longo *Melongena melongena* y derecha con predominio del bivalvo ostra perla *Pinctada imbricata*.

Las especies más conspicuas y más abundantes resultaron ser el actualmente llamado longo *Melongena melongena* y la ostra perlífera *Pinctada imbricata*, de hecho, nuestras observaciones infieren una tendencia a la existencia de dos tipos de acumulaciones de conchas, una donde existe mayor abundancia de la especie *Pinctada imbricata* y otra donde existe mayor

abundancia de la especie *Melongena melongena*, sin la presencia de *Pinctada imbricata* (Fig. 1). La distinción y diferenciación de estos concheros podría ser debido a dos actividades diferentes realizadas por los indígenas. Los indicios de aberturas en las conchas (Fig. 2) realizados como técnicas de obtención de las viandas en los grandes gasterópodos, muestran la importancia de estos organismos en la alimentación de los indígenas. Por otra parte, la predominancia de ostras perlas de elevada talla, muchas de ellas superiores a 80 mm (Fig. 3), las cuales incluso son mayores a las reportadas para esta especie en los bancos naturales actuales (50-80 mm; Lodeiros *et al.*, 1999), muestran la factibilidad de formación de perlas de elevado valor y posible actividad de extracción por los indígenas para ser utilizadas como ornamento. Esta observación soporta la importancia que tuvieron las perlas en los grupos étnicos de la América caribeña lo cual fue de gran atracción y a la vez detonante del interés para la invasión y colonización de los hispánicos a las nuevas tierras conocidas a principios del siglo XVI.

Tabla I.- Abundancia relativa de las diferentes especies de moluscos encontrados en el asentamiento indígena de Sabana de Campeche, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. Las especies con un asterisco (*) soportan actualmente pesquerías o extracciones tradicionales por las comunidades costeras.

Clase	Especie	Abundancia
BIVALVIA	* <i>Arca zebra</i>	Abundante
	<i>Barbatia candida</i>	Abundante
	* <i>Anadara notabilis</i>	Abundante
	<i>Modiolus</i> sp.	Poco abundante
	* <i>Pinctada imbricata</i>	Muy abundante
	* <i>Crassostrea rhizophorae</i>	Abundante
	<i>Codakia orbicularis</i>	Abundante
	<i>Lucina pectinata</i>	Poco abundante
	<i>Trachicardium isocardia</i>	Poco abundante
	<i>Chione cancellata</i>	Poco abundante
	* <i>Asaphis deflorata</i>	Abundante
GASTERÓPODA	<i>Astraea tuber</i>	Abundante
	* <i>Strombus pugilis</i>	Abundante
	* <i>Strombus gigas</i>	Poco abundante
	<i>Polinices hepaticus</i>	Poco abundante
	<i>Cypraea spurca acicularis</i>	Escaso
	* <i>Cassis Madagascariensis</i>	Poco abundante
	* <i>Chicoreus brevifrons</i>	Muy abundante
	* <i>Phyllonotus pomum</i>	Muy abundante
	<i>Marginella lactea</i>	Poco abundante
	<i>Marginella</i> sp.	Escaso
* <i>Melongena melongena</i>	Muy abundante	
* <i>Fasciolaria tulipa</i>	Abundante	
<i>Crassispira fuscescens</i>	Poco abundante	



Figura 2.- Conchas de *Phyllonotus pomum* y *Melongena melongena* mostrando aberturas como técnica de extracción de la vianda por los indígenas (izquierda) y conchas de *Pinctada imbricata* de tallas dorso-ventrales mayores de 90 mm (derecha).

Dentro de las especies colectadas también se identificaron *Strombus púgiles* y *Strombus gigas*, estas especies se encuentran en el libro rojo de la fauna de Venezuela, la primera por no poseer información suficiente que pueda predecir su estado y la segunda en estado de vulnerable, encontrándose en riesgo de extinción en la vida silvestre a mediano plazo (Rodríguez y Rojas, 2003). El botuto *Strombus gigas* debido al contenido proteico de su carne y la utilidad de su concha, así como la facilidad con la que puede ser recolectado, han hecho de este molusco uno de los recursos marinos más apreciados en todo el Caribe (Appeldoorn, 1997). La presencia de grandes acumulaciones de conchas de esta especie ubicados en algunas islas del Caribe, y en el Parque Nacional Archipiélago Los Roques, así como algunas zonas costeras del Este de Venezuela, revela la importancia de este recurso a lo largo de los años, evidenciado por estudios arqueológicos que testimonian que la actividad pesquera de este gasterópodo se remonta a épocas precolombinas (Schapira *et al.*, 2006; Antczak *et al.*, 2008). No obstante, esta especie en el presente estudio, se determinó como poco abundante en las acumulaciones de conchas, lo cual muestra que no fue de tanta importancia para el asentamiento indígena, como en las islas y costas del occidente Venezolano. Esto, debe ser por la posible poca abundancia de este molusco en las cercanías (Golfo de Cariaco), como es sugerido por Antczak *et al.* (2008). La observación de pocas conchas enteras de las especies grandes de los gasterópodos *Strombus gigas* y *Cassis madagascariensis*, sugiere que los indígenas del asentamiento de Sabana de Campeche las hayan utilizado como materia prima sustitutiva de algunas herramientas líticas, tal como ha sido sugerido para el pueblo Manicuaroides (Rouse y Cruent, 1963), cercano (costa norte del Golfo de Cariaco) a la zona de estudio. Estas observaciones indican que el botuto *Strombus gigas*, no supone un símbolo de la actividad social prehispánica en el oriente de Venezuela, como ha sido señalado para el Caribe y mesoamérica (Antczak y Antczak, 2007), ocupando, la especie de ostra perla *Pinctada imbricata* la importancia prehispánica por la utilidad como ornato (y

de vital importancia en la época de la invasión y colonización hispánica), y la especie longo *Melongena melongena* como principal molusco incorporado a la dieta de los indígenas.

El resto de especies con importancia comercial encontradas en las acumulaciones de conchas en el presente trabajo, han sido reportados para acumulaciones de conchas en Campoma, en el costa oriental del Golfo de Cariaco, los cuales están representados particularmente por las especies *Melongena Melongena*, *Chione cancellata* y *Lucina pectinata* (Sanoja y Vargas, 1995), de igual manera en la Bahía de Charagato, en la Isla de Cubagua, Edo. Nueva Esparta, donde las acumulaciones de conchas se componen principalmente de bivalvos tales como *Chama macerophyla*, *Trachycardium* sp., *Anadara* sp. y *Arca zebra*, así como los gasterópodos *Strombus* spp. y *Cassis* spp., *Cittarium pica*, *Murex brevifrons*, *Fasciolaria tulipa* y particularmente la ostra perla *Pinctata imbricata* (Sanoja y Vargas, 1995). Estos trabajos sugieren una biodiversidad cualitativamente similar a la encontrada en el presente estudio, sugiriendo a estas especies como las principales de colecta en las comunidades prehispánicas de la zona nororiental de Venezuela.

Bibliografía

- Abbott R.T. 1974. American seashells. 2nd Edition. Van Nostrand Reinhold Ltd, NY
- Acosta V., Prieto A., Ruiz P., Gil H. 2007. Moluscos asociados a la pepitona *Arca zebra* (Mollusca: Bivalvia) en Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. *Saber*, 19:21-26
- Antczak A., Posada J., Schapira D., Antczak M., Cipriani R., Montaña I. 2008. A History of Human Impact on the Queen Conch (*Strombus gigas*) in Venezuela. pp:49-64. En: Antczak A, Cipriani R. *Early Human Impact on Megamolluscs*. BAR International Series 1865.
- Antczak M., Antczak A. 2007. Los Ídolos de las Islas Prometidas: Arqueología Prehispánica del Archipiélago de Los Roques. Caracas: Editorial Equinoccio.
- Appeldoorn R. 1997. Status of queen conch fishery in the caribbean sea. Pages 40 - 59 in: J.M. Posada y G. García-Moliner (eds.) *Conferencia Internacional del Caracol Reina Strombus gigas*. Caribbean Fisheries, Management Council, San Juan, Puerto Rico. 155 pp.
- Borrero J., Díaz J., Seczon A. 1996. Las ostras perlíferas (Bivalvia: Pteridae) en el Caribe colombiano. Historia de su explotación, ecología y perspectivas para su aprovechamiento. *INVEVAR, Serie Publicaciones Especiales* No. 1.
- Díaz J., Puyana M. 1994. Moluscos del Caribe Colombiano. Un Catálogo Ilustrado.

COLCIENCIAS, Fundación Natura e INVEMAR, Bogotá.

- Díaz O., Liñero A. 2004. Comunidad de moluscos asociados a praderas de *Thalassia testudinum* (Bank et Köning, 1805), en la Bahía de Mochima, Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 55: 44-55
- Fernández J., Jiménez M. 2006. Estructura de la comunidad de moluscos y relaciones tróficas en el litoral rocoso del estado Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 54: 121-130
- Graterol A. 1986. Diversidad de moluscos en dos localidades del Golfo de Cariaco, Edo. Sucre. *Lic. diossetation*, Universidad de Oriente, Venezuela.
- Jiménez M. 1994. Comunidad de moluscos asociada a *Thalassia testudinum* en la Ensenada de Reyes, Bahía de Mochima. Estado Sucre. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela*. Univ. Oriente 33: 67-76
- Jiménez M., Márquez B., Díaz O. 2004. Moluscos del litoral rocoso en cuatro localidades del Estado Sucre, Venezuela. *Saber*, 16: 8-17
- Licet B., Acosta V., Prieto A., García N. 2009. Contribución al conocimiento de los macromoluscos bentónicos asociados a la pepitona, *Arca zebra* (Swainson, 1833), del banco natural de Chacopata, Península de Araya, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 27: 195-203
- Lodeiros C., García N., Nuñez M., Marquez A., Carranza A. 2011. Diversity and community structure of soft-bottom benthic mollusks in the Araya Peninsula, Venezuela: a baseline for the assessment of environmental impacts. *Marine Biodiversity Records* 4: 1-8.
- Lodeiros C., Marín B., Prieto A. 1999. Catálogo de moluscos del nororiente de Venezuela. Clase Bivalvia. Edición APUDONS, Cumaná.
- Mendoza J. 2009. Situación actual y perspectivas de las pesquerías marítimas en Venezuela. *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.* II: 121-137
- Rodríguez J.P., Rojas F. 2003. Libro rojo de la fauna venezolana. Provita, Fundación Empresas Polar, Wildlife Conservation Society, Profauna, MARNR, UICN, segunda edición.
- Prieto A., Sant S., Méndez E., Lodeiros C. 2003. Diversidad y abundancia de moluscos en las praderas de *Thalassia testudinum* de la Bahía de Mochima, Parque Nacional Mochima, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 51: 413-426
- Prieto A., Ruiz L., García N., Álvarez M. 2001. Diversidad malacológica en una comunidad de *Arca zebra* (Mollusca: Bivalvia) en Chacopata, estado Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 49: 591-598.
- Rouse I., Crucent J. 1963. Venezuelan Archaeology. New Haven and London: *Yale University Press*.
- Sanoja M., Vargas I. 1995. Gente de la Canoa: Economía Política de la Antigua Sociedad

Apropiadora del Noreste de Venezuela. Caracas: *Fondo Editorial Topycos*.

Schapira D., Posada J., Antczak A. 2006. Evaluación Histórica y Bio-Ecológica de la Pesquería del Botuto (*Strombus gigas*) en el Parque Nacional Archipiélago de Los Roques (Venezuela), a través del Estudio de sus Concheros. 56th Gulf and Caribbean Fisheries Institute, pp: 754-762.

Thièle J. 1929-1935. Handbuch der systematischen weichtierkunde. Gustav Fischer, Jena.

Villafranca S., Jiménez M. 2004. Abundancia y diversidad de moluscos asociados al mejillón verde *Perna viridis* (bivalvia: mytilidae) en Guayacán, Estado Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* 43: 65-76

Warmke G., Abbott R.T. 1961. Caribbean Seashells. Livingston *Pub.,Co., Narberth*. USA.

Moluscos como recurso marino en asentamientos precolombinos en el edo. Sucre, Venezuela

Lodeiros César¹, Antulio Prieto², Roberto Cipriani³, Luis Germán León⁴ y Rommel Conteras⁴

¹Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente/Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura del Edo. Sucre, Cumaná Venezuela; ²Dpto. Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela; ³Dpto. Estudios Ambientales, División Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela; ⁴Programa "Ciudad Cumaná Patrimonio Cultural", Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, los moluscos son un grupo importante desde el punto de vista económico, algunas especies, particularmente bivalvos, sostienen pesquerías de primer orden. Cabe destacar la pesquería de la perifera (Arca zebra) con unas 50.000 toneladas (Mendoza 2009), siendo, hoy en día, el primer rubro de explotación en volar para la pesca artesanal. Otras especies, como por ejemplo el guacuco (*Tivela macrodoidea*) y los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis*, así como las ostras, la de mangle *Crassostrea rhizophorae*, la americana o de Guairique *Crassostrea virginica* y la ostra perla *Pinctada imbricata* soportan pesquerías de gran importancia socioeconómica. Algunas de estas especies también han sido cultivadas sosteniendo producciones comerciales (*Crassostrea rhizophorae* y *Perna perna*), siendo también *Pinctada imbricata*, *Crassostrea virginica* y *Perna viridis* consideradas como potenciales para el aumento de su producción por acuicultura, así como otras especies, principalmente los pelectidos *Euvula (Pecten) ziczac*, *Nodipecten nodosus* y *Argopecten nucleus*, los cuales han sido estudiados para establecer paquetes tecnológicos de cultivo (Lodeiros y Freites 2008). De todas estas especies, la que ha sostenido la mayor importancia en Venezuela en tiempos pre y postcolombinos en el continente americano fue la ostra perla *Pinctada imbricata*, por su producción de perlas, lo cual, sin duda alguna, fue la atracción principal para la conquista o invasión a América por parte de los hispánicos que invocó los sucesivos viajes a la tierra desconocida y con ello la transculuralización de las Américas (Lodeiros et al. 1999). En vista de ello, existen diversos relatos e investigaciones sobre la explotación costera desde los comienzos de los viajes de Colón hasta la actualidad; sin embargo, poco se sabe del papel e importancia de los moluscos como alimento en las zonas del nororiente de Venezuela para las fechas precolombinas. Las investigaciones arqueológicas existentes se centran, más que todo, en las islas de Caribe, incluyendo el Archipiélago Los Roques, indicando que la especie más importante de moluscos comestible fue el boluto *Strombus gigas*, teniendo a otras especies como *Cittarium pica*, *Melomelana melomelana* y los bivalvos *Donax* spp., *Tivela macrodoidea*, *Arca zebra*, *Chama* spp. como especies complementarias en la dieta indígena remontando a épocas antiguas como la paleoindia (Borrero et al. 1996, Anticazk et al. 2008). El presente estudio pretende dar un aporte de la diversidad del recurso utilizado en indígenas presumiblemente Chaimas, asentados en tiempos precolombinos en las riberas de Campeche, en Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Tres excavaciones se realizaron entre junio y septiembre 2010 para la recolección de exoesqueletos de moluscos en el extracto superficial de acumulaciones establecidas en un asentamiento precolombino indígena presumiblemente Chaimas (siglo XII-XIII), localizado en las riberas de Campeche, en la zona industrial-urbana en las cercanías del aeropuerto de Cumaná, Edo. Sucre, en el nororiente de Venezuela, a unos 3 km de la costa del Golfo de Cariaco (10°27'51" N, 64°08'35" O; Fig. 1). Los exoesqueletos fueron introducidos en bolsas plásticas etiquetadas y se trasladaron al Laboratorio de Acuicultura-sección moluscos del Instituto Oceanográfico de Venezuela, donde las especies se identificaron a través de las distinciones morfológicas de las conchas. El ornamentamiento y descripción sistemática se basó en Thiele (1926-1930), Abbott (1974), Warmke & Abbott (1961), Diaz & Puyana (1994) y Lodeiros et al. (1999). Todo el material obtenido fue depositado en la colección malacológica del Grupo de Biología de Moluscos de la Universidad de Oriente. La abundancia relativa de las especies se determinó por observaciones cualitativas *in situ* contrastadas con observaciones de imágenes fotográficas de las acumulaciones de conchas, resultando en apreciaciones de muy abundante, abundante, poco abundante y escasas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se encuentran representada la taxonomía y sistemática de las 24 especies de moluscos recientes identificados provenientes de las acumulaciones de exoesqueletos del asentamiento indígena localizado en Sabana de Campeche, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. La mayoría de estas especies (13; 54,2%) pertenecieron a la clase gasterópodo, reuniendo 10 familias pertenecientes a 5 órdenes, todo dentro de la subclase Prosobranchia. El resto de las especies (11; 45,8%) pertenecen a la clase bivalvia, representando a 8 familias y 3 órdenes de las subclases Pleriomorpha (6 especies) y Heterodonta+Eulamibranchia (5 especies). En el presente estudio se encontró unas 24 especies de moluscos, teniendo en cuenta la selectividad de extracción mediante buceo y coleta manual, con el fin de búsqueda de alimento por los indígenas o especies para otros usos (extracción de perlas, confección de herramientas, etc.) y la desintegración y dispersión de los exoesqueletos en el transcurrir por más de 5 siglos a través de diferentes fenómenos (lluvias, sacudimientos, viento, erosión, etc.) y que el muestreo se realizó de forma superficial en el conchero, en comparación con la extracción poco selectiva para la realización de estudios de biodiversidad de moluscos de las costas nororientales de Venezuela (utilización de dragas, rastras, cuadratas, etc.) el número de especies encontradas en el presente estudio es elevado, considerando ser entre un 30-50% de del número de especies en las investigaciones de biodiversidad actuales, provenientes de sistemas que generan alta diversidad específica como arrecifes, pastos marinos, bancos de moluscos, etc. (Graterol 1986, Jiménez 1994, Prieto et al. 2001, 2003, Diaz & Liñero 2004, Jiménez et al. 2004, Villafraña & Jiménez 2004, Fernández & Jiménez 2006, Acosta et al. 2007, Licet et al., 2009).

Tabla 1. Abundancia relativa en los diferentes estratos de extracción practicados en el asentamiento indígena de Sabana de Campeche, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela. Las especies más abundantes (*) y pocas abundantes (**) presentaban los siguientes hallazgos: (*) se recolectaron muchas; (**) se recolectaron pocas.

BIVALVIA	
* <i>Arca zebra</i>	Abundante
* <i>Horvathia costalis</i>	Abundante
* <i>Amusium senhousii</i>	Abundante
* <i>Modiolus sp.</i>	Poco abundante
* <i>Pinctada imbricata</i>	Muy abundante
* <i>Crassostrea rhizophorae</i>	Abundante
* <i>Chama senhousii</i>	Abundante
* <i>Lucina pectinata</i>	Poco abundante
* <i>Trachidomus insularis</i>	Poco abundante
* <i>Chama senhousii</i>	Poco abundante
* <i>Modiolus senhousii</i>	Abundante
GASTERÓPODA	
* <i>Arca zebra</i>	Abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Poco abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Poco abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Escasa
* <i>Strombus gigas</i>	Poco abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Muy abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Muy abundante
* <i>Strombus gigas</i>	Escasa
* <i>Melomelana melomelana</i>	Muy abundante
* <i>Panostrea fulgur</i>	Abundante
* <i>Crassostrea rhizophorae</i>	Poco abundante



Figura 1. Ubicación del asentamiento indígena en la zona industrial-urbana de las riberas de Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.



Figura 2. Acumulaciones de conchas en el asentamiento indígena, localizada en proximidad del área de extracción de perlas *Pinctada imbricata* y otros tipos de moluscos del gasterópodo como *Melomelana melomelana*.



Figura 3. Conchas de *Strombus gigas* y *Melomelana melomelana* recolectadas durante como muestra de extracción de la zona del Edo. Sucre, Venezuela. Las conchas de *Pinctada imbricata* de varias formas, pertenecientes a 6 órdenes.



Figura 4. Comparación de conchas externas traslúcidas e internas blancas del arco tricarino *Arca zebra* y el ornamentado de *Melomelana melomelana*.



Figura 5. Ubicación del asentamiento indígena en la zona industrial-urbana de las riberas de Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.

La mayoría de las especies consideradas como abundantes o muy abundantes (bivalvos: *Arca zebra*, *Anadara notabilis*, *Pinctada imbricata*, *Crassostrea rhizophorae*, *Asaphis deflorata*, gasterópodos: *Strombus gigas*, *Chione cancellata*, *Phrynosoma portum*, *Melomelana melomelana* y *Fasciolaria tulipa*) son especies que en la actualidad se consumen y algunas soportan pesquerías o actividades tradicionales de extracción por comunidades costeras del nororiente de Venezuela (Tabla 1). Todas estas especies habitan en aguas someras, lo cual sugiere una fácil colecta por los indígenas de la zona en tiempos precolombinos.

Las especies más conspicuas y más abundantes resultaron ser el actual gasterópodo llamado largo *Melomelana melomelana* y la ostra perla *Pinctada imbricata*, de hecho, nuestras observaciones inferen una tendencia a la existencia de 2 tipos de acumulaciones de conchas, una donde existe mayor abundancia de la especie *Pinctada imbricata* y otra donde existe mayor abundancia de la especie *Melomelana melomelana*, sin la presencia de *Pinctada imbricata* (Figura 2). La distinción y diferenciación de estos concheros podría ser debido a dos actividades diferentes realizadas por los indígenas. Los índices de abundancia en las conchas (Figura 3) realizados como técnicas de obtención de las viandas en los grandes gasterópodos muestran la importancia de estos organismos en la alimentación de los indígenas y la predominancia de ostras perlas de elevada talla, muchas de ellas superiores a 80 mm (Figura 3), las cuales incluso son mayores a las reportadas para esta especie en los bancos naturales actuales (50-90 mm, Lodeiros et al. 1999), muestran la facilidad de formación de perlas de elevado valor y posible actividad de extracción por los indígenas para ser utilizadas como ornamento. Esta observación soporta la importancia que tuvo las perlas en los grupos étnicos de la América caribeña lo cual fue de gran atracción y a la vez delatante interés para la invasión y colonización de las nuevas tierras conocidas a principios del siglo XV. Dentro de las especies recolectadas también se identificaron *Strombus gigas* y *Strombus gigas*, estas especies se encuentran en el libro rojo de la fauna de Venezuela, la primera por no poseer información suficiente que pueda predecir su estado y la segunda en estado vulnerable, encontrándose en riesgo de extinción en la vida silvestre a mediano plazo (Rodríguez y Rojas 2003). El boluto *Strombus gigas* debido a contenido proteico de su carne y la utilidad de su concha, así como la facilidad con la que puede ser recolectado, han hecho de este molusco uno de los recursos marinos más apreciados en todo el Caribe (Appelboom 1997). La presencia de acumulaciones de conchas de esta especie ubicadas en algunas islas del Caribe, y en el Parque Nacional Archipiélago Los Roques, así como algunas zonas costeras del Este de Venezuela, revela la importancia de este recurso a lo largo de los años, evidenciado por estudios arqueológicos que testimonian que la actividad pesquera de este gasterópodo se remonta a épocas precolombinas (Schapira et al. 2006, Anticazk et al. 2008). No obstante, esta especie en el Golfo de Cariaco, los cuales están representados principalmente por las acumulaciones de conchas, lo cual muestra que no fue de tanta importancia para el asentamiento indígena. Esto, debe ser por la poca abundancia de este molusco en las cercanías (Golfo de Cariaco), como se sugirió por Anticazk et al. (2008). La observación de abundancias entre las especies grandes de los gasterópodos *Strombus gigas* y *Cassa magalagascariensis*, sugiere que los indígenas del asentamiento de Sabana de Campeche las hayan utilizado como materia prima sustitutiva de algunas herramientas líticas, tal como se ha sido sugerido para el pueblo Manicouaride (Rouse y Cruent 1963), cercano (sudeste norte del Golfo de Cariaco) a la zona de estudio. Estas observaciones indican que el boluto *Strombus gigas*, no supone un símbolo de la actividad social prehispánica en el oriente de Venezuela, como ha sido señalado para el Caribe mesoamericano (Anticazk y Anticazk 2007), ocupando, la especie de ostra perla *Pinctada imbricata* la importancia prehispánica por la utilidad como ornato (y de vital importancia en la época de la invasión y colonización hispánica), y la especie largo *Melomelana melomelana* como principal molusco incorporado a la dieta de los indígenas.

El resto de especies con importancia comercial encontradas en las acumulaciones de conchas en el presente trabajo, han sido reportadas para acumulaciones de conchas en Campeche, en el costa oriental del Golfo de Cariaco, los cuales están representados principalmente por las especies *Melomelana melomelana*, *Chione cancellata* y *Lucina pectinata* (Sanjoja y Vargas, 1995), de igual manera en la Bahía de Charagato, en la Isla de Cubagua, Edo. Nueva Esparta, donde las acumulaciones de conchas se componen principalmente de bivalvos tales como *Chama macrophylla*, *Trachycardium* sp., *Anadara* sp. y *Arca zebra*, así como los gasterópodos *Strombus* spp. y *Cassia* spp., *Cittarium pica*, *Murex brevis*, *Fasciolaria tulipa* y particularmente la ostra perla *Pinctada imbricata* (Sanjoja y Vargas 1995). Estos trabajos sugieren una biodiversidad cualitativamente similar a la encontrada en el presente estudio, sugiriendo a estas especies como las principales de colecta en las comunidades prehispánicas de la zona nororiental de Venezuela. Dentro de las conchas recolectadas se encontraron restos de especies grandes (3 a 4 veces más grandes que los actuales (Figura 5), particularmente de ácidos, dada su proporción se sugiere que pertenecen a especies de megamoluscos, los cuales son indicadores de cambios climáticos que datan del período mediano en sus épocas del mioceno y plioceno, hace más de 20 millones de años. Estos hallazgos hacen del sitio un lugar estratégico para el estudio antropológico y paleontológico de Venezuela y América, sugiriendo considerar a la zona de gran importancia arqueológica y paleontológica, por lo cual deben ser conservados, aún más cuando estos asentamientos están adyacentes a desarrollos urbanos de la ciudad de Cumaná.

Novas estratégias de valorização de produtos da pesca e aquicultura

Nunes* M.L., Cardoso C.

Unidade de Valorização de Produtos da Pesca e Aquicultura, INRB, I.P./IPIMAR, Lisboa, Portugal.

*E-mail: mlnunes@ipimar.pt

Resumo

A procura de alimentos de origem marinha tem aumentado nos últimos anos devido à diversidade na oferta e à sua importância para a saúde. Mas, observa-se uma estagnação das capturas destinadas ao consumo humano e uma produção crescente em aquicultura. Assim, é indispensável planear e contribuir para uma utilização sustentável dos recursos, otimizar tecnologias e recorrer a processos inovadores, incluindo as tecnologias limpas. Por outro lado, o consumidor procura produtos saudáveis e convenientes e tem preocupações crescentes em matéria de origem e de rastreabilidade dos produtos que consome. Paralelamente, tem exigências ambientais e éticas e, obviamente, exige qualidade sensorial e segurança alimentar. Deste modo, é objectivo deste trabalho apresentar estratégias de valorização de produtos da pesca e aquicultura.

Palavras-chave

Produtos da pesca e aquicultura, conservação, processamento, novos produtos.

Introdução

A situação atual do sector dos produtos da pesca e aquicultura é caracterizada por um conjunto diverso de linhas de força, donde resultam impulsos que representam desafios para os diferentes intervenientes no sector. Por um lado, a procura de alimentos à base de pescado tem aumentado em virtude da sua diversidade e por ter sido demonstrado o seu valor nutricional, com elevados teores de proteínas com um perfil equilibrado de aminoácidos, vitaminas, minerais e ácidos gordos do tipo $\omega 3$. De facto, estes produtos são a principal fonte de ácidos gordos $\omega 3$, os quais influem positivamente na saúde cardiovascular e no desenvolvimento fetal (EFSA, 2005). Efectivamente, os consumidores estão cada vez melhor informados e mais exigentes e não só pretendem alimentos mais saudáveis, mas também produtos mais ajustados às necessidades da vida urbana contemporânea. Assim, há uma clara preferência por produtos convenientes que não necessitem de prolongados e complexos tratamentos culinários ou preparações, levando a um abandono gradual do consumo do peixe fresco inteiro. Para além da saúde e conveniência, há uma crescente preocupação ambiental (pesca sustentável, produção biológica, pegadas de carbono e hídrica, etc.), social e ética de amplos segmentos do mercado, o que se traduz por uma procura de mais informação sobre a origem e percurso dos alimentos (rastreadibilidade), bem como por uma clara exigência de cumprimento de critérios ambientais e éticos, compreendendo inclusive as condições de laboração dos trabalhadores (respeito pelos direitos sociais). Assim, existe uma sensibilidade a fenómenos de *dumping* ambiental e social e, portanto, uma predisposição para a aceitação de preços equitativos. Finalmente e não menos importante, o consumidor manifesta expectativas elevadas no que respeita às características sensoriais e à qualidade sanitária dos alimentos que consome. Isto é, um alimento idealmente deve ser nutritivo, saudável, seguro, ecológico, ético, informativo, conveniente, atraente e saboroso. Por outro lado, regista-se uma estagnação/diminuição das capturas da maioria das espécies destinadas ao consumo humano. Tal deve-se à sobre-exploração dos recursos pesqueiros, facto que tem estimulado a produção da aquicultura, a qual representa já perto de 40% do total da oferta de pescado (FAO, 2010). A esta realidade, acrescem aspectos ambientais, sobretudo, o desperdício de importantes recursos piscícolas - resultante do elevado volume de rejeições a bordo e das quantidades significativas de subprodutos gerados na cadeia de produção - e os impactes ambientais desde a captura ao consumidor. Deste modo, é indispensável uma utilização sustentável dos recursos pesqueiros, otimizar tecnologias tradicionais e recorrer a tecnologias de conservação e processamento inovadoras, incluindo as tecnologias limpas. Relativamente à aquicultura, é imprescindível desenvolver técnicas e processos produtivos de novas espécies, encontrar matérias-primas alternativas às farinhas e óleos de peixe ou preparar rações a partir de subprodutos e propor novas apresentações ao consumidor. Neste contexto, é de realçar

que a biomassa rejeitada, as retiradas e os subprodutos são constituídos maioritariamente por espécies subvalorizadas e subaproveitadas, peixe com tamanho abaixo do mínimo, peixe deteriorado ou danificado/rejeitado, espécies sem mercado, cabeças, vísceras, espinhas, produto rejeitado, pedaços, ‘serradura’, peles e escamas (Cabral *et al.*, 2003; ICES, 2006). Apesar deste subaproveitamento, por vezes, com impacte ambiental muito negativo, esta biomassa tem valor nutricional, nomeadamente, proteínas de elevado valor biológico, ácidos gordos $\omega 3$, minerais importantes e moléculas com interesse farmacêutico, cosmético, nutracêutico, etc. Esta biomassa pode encontrar aplicações como a produção de farinha e óleo de peixe (numa base ecologicamente mais aceitável na medida em que evita a captura de peixe para este propósito), rações, ensilados, hidrolisados proteicos, gelatina, sulfato de condroitina, peptonas, ácido hialurónico entre outras (Sathivel *et al.*, 2004). No entanto, existem diferentes abordagens possíveis para a resolução desta problemática.

Assim, este estudo visa apresentar algumas estratégias de valorização de produtos da pesca e aquicultura, mormente, (i) aproveitamento de rejeições a bordo, retiradas em lota, espécies pouco consumidas e subprodutos na preparação de ingredientes e produtos com valor acrescentado, (ii) recurso à combinação de tecnologias de conservação de modo a manter a qualidade, segurança e prolongar o tempo de vida útil dos produtos da pesca e aquicultura, (iii) aplicação de novas tecnologias de processamento, (iv) utilização de novos ingredientes e (v) preparação de novos produtos e apresentações.

Algumas estratégias de valorização

No que concerne a transformação de biomassa subaproveitada em produtos com valor acrescentado, diversos estudos têm conseguido avanços tecnológicos importantes. Sathivel e Bechtel (2008) mostraram que as proteínas liofilizadas de arenque podem ser usadas como agentes de emulsificação e gelificação, competindo com proteínas isoladas de soja ou a albumina do ovo. Outro estudo (Sathivel *et al.*, 2006) demonstrou a exequibilidade de produção de emulsificantes e suplementos nutricionais a partir das proteínas extraídas de cabeças de salmão. O processo de isolamento destas proteínas envolve uma extracção alcalina, seguida de precipitação no ponto isoeléctrico e liofilização (Pires *et al.*, 2012). As proteínas podem ser direccionadas para fins muito diversos, por exemplo, para a produção de filmes edíveis destinados a revestir filetes de peixe como se pode concluir pelo trabalho de Pires *et al.* (2011), usando aparas e ‘serradura’ do corte de pescada. Os hidrolisados proteicos, obtidos através de hidrólise enzimática ou química, representam outro produto de valor acrescentado preparado a partir de subprodutos da indústria de processamento do pescado.

Estes subprodutos podem ser também usados na recuperação de óleos. Assim com subprodutos do peixe-espada preto (cabeças, vísceras, peles e aparas), foi possível obter um óleo com uma razão $\omega 3/\omega 6$ elevada (>5) (Batista *et al.*, 2010). A produção de gelatinas de peixe com propriedades distintas, mormente menores temperaturas de gelificação e fusão (Tabela I), é possível a partir dos subprodutos do processamento do *surimi* de arenque (Norziah *et al.*, 2009). Em resumo, estes processos oferecem não só saídas tecnológicas e economicamente vantajosas para o escoamento de subprodutos, mas também podem conduzir à obtenção de produtos inovadores com propriedades e actividades biológicas diversas que lhes conferem valor acrescentado e abrem perspectivas para diversas aplicações farmacológicas, capazes de estimular o sistema imunitário, exibir potencial antioxidante ou proporcionar valiosos suplementos nutricionais (Shahidi, 2006).

Tabela I. Temperaturas de gelificação e fusão de gelatinas de diferentes origens.

Tipo de gelatina	Temperatura de gelificação (°C)	Temperatura de fusão (°C)
Gelatina bovina	12,6-19,3	26,5-28,7
Gelatina comercial de peixe	11,9-17,5	23,7-25,6
Gelatina de subprodutos do <i>surimi</i>	5,1-5,2	16,2-16,7

As tecnologias de conservação representam uma outra dimensão do esforço de valorização dos produtos da pesca e aquicultura. Um produto melhor conservado reduz a biomassa desperdiçada em virtude de fenómenos de deterioração. Existem várias tecnologias emergentes, como a atmosfera modificada, a atmosfera condicionada, para além de tecnologias já muito disseminadas como a refrigeração e a congelação. Relativamente às atmosferas modificadas (Tabela II), importa salientar a potencialidade de preparação de produtos convenientes, prontos a cozinhar, a partir de várias espécies de pescado (Gonçalves *et al.*, 2003, 2004; Mendes e Gonçalves, 2008). De um modo geral, verificou-se um efeito bacteriostático importante, principalmente devido à presença de CO₂ e/ou à redução da concentração de O₂ no interior das embalagens. Na maioria dos casos, registou-se um aumento do período de aceitabilidade sensorial e, conseqüentemente, um prolongamento do período de conservação útil dos produtos.

A utilização de tecnologias de processamento e ingredientes inovadores pode representar uma mais-valia para a valorização dos produtos da pesca e aquicultura, uma vez que estas soluções permitem criar novos produtos com propriedades interessantes ou compensar os aspectos negativos de alguns subprodutos. Entre estas, destaca-se a aplicação do campo eléctrico pulsado, de altas pressões hidrostáticas (APH) ou ainda a irradiação UV (IUV).

Todavia, os resultados têm sido díspares, variando entre uma perda de qualidade no caso da IUV (Cardoso *et al.*, 2011a) e uma notável melhoria textural com a APH (Cardoso *et al.*, 2010). No tocante à adição de ingredientes a produtos processados, a transglutaminase microbiana (MTGase) e as fibras dietéticas (FD) têm sido objecto de vários estudos (Borderías *et al.*, 2005). Em geral, tem sido verificado um efeito muito positivo da MTGase na textura (coesividade e nível de gelificação) com várias matérias-primas, desde espécies subvalorizadas (Cardoso *et al.*, 2009) a subprodutos da filetagem (Cardoso *et al.*, 2011b). Por outro lado, os efeitos das FD em produtos reestruturados de pescado são mais diversos, favorecendo, nalguns casos, uma maior maleabilidade, como é o caso da inulina (Cardoso *et al.*, 2007), e, noutros, um endurecimento, por exemplo, com o carragenato (Cardoso *et al.*, 2011b). Tal deve-se à grande variedade molecular de FD, abrangendo desde oligossacáridos que dificilmente gelificam por si até polissacáridos com grande poder gelificante.

Tabela II.- Efeito de tecnologias de conservação na qualidade de pescado.

Tempo de conservação útil a 0-5 °C (dias)		
Produto	Controlo	Atmosfera modificada
Peixe-espada preto (filetes)	Embalagem em ar (14)	40% CO ₂ /32% O ₂ /28% N ₂ (23)
Gamba inteira	Embalagem em ar (7)	40% CO ₂ /6-30% O ₂ (7-9)
Amêijoia-boia viva	Embalagem em ar (6)	70% O ₂ /30% N ₂ (6)
Dourada (inteira pronta a cozinhar)	Embalagem em ar (8)	Embalagem activa –ar c/ absorvente de O ₂ (10)
Dourada (filetes)	Filetes sem pré-tratamento (6)	Pré-tratamento por CO ₂ dissolvido (9-13)

Estas tecnologias e ingredientes permitem ir mais além e criar produtos inteiramente novos ou produtos clássicos imbuídos de um carácter funcional. Em particular, foi possível desenvolver a partir de aparas de pescada uma salsicha tipo Frankfurter sem carne de porco ou toucinho, mas com FD (Cardoso *et al.*, 2008a). Trata-se de reabilitar um produto tradicional, dando-lhe uma outra apresentação e conferindo-lhe valor funcional. Este produto reúne as qualidades indicadas acima para um alimento ideal. Isto porque é uma salsicha nutritiva (constituintes da pescada e FD), saudável hipocalórica e com ω3 (a única fonte de gordura é a pescada), ecológica (com uma baixa pegada hídrica), ética (porque dá um uso nobre às aparas), rastreável, conveniente (não requer cozedura), atraente (Fig. 1) e saborosa (graças à inulina que permite mimetizar a cremosidade da gordura na ausência desta). A isto acresce, a segurança alimentar, comprovada através de um estudo de conservação (Cardoso *et al.*, 2008b). Outros exemplos se poderiam dar, como massas, aperitivos, fiambres ou hambúrgues de peixe (Borderías *et al.*, 2005).



Figura 1.- Salsicha Frankfurter de pescada com FD.

Conclusões

O sector dos produtos da pesca e aquicultura enfrenta desafios decorrentes das exigências do mercado e do esgotamento de recursos que podem ser superados através de novas estratégias com incidência desde a captura até à criação de produtos funcionais convenientes.

Bibliografia

Batista I., Ramos C., Coutinho J., Bandarra N.M., Nunes M.L. 2010. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. *Process Biochemistry*, 45: 18-24.

- Borderías A.J., Sánchez-Alonso I., Pérez-Mateos M. 2005. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 458-465.
- Cabral H., Duque J., Costa M.J. 2003. Discards of the beach seine fishery in the central coast of Portugal. *Fisheries Research*, 63: 63-71.
- Cardoso C., Mendes R., Nunes M.L. 2007. Dietary fibers' effect on the textural properties of fish heat-induced gels. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 16(3): 19-30.
- Cardoso C., Mendes R., Nunes M.L. 2008a. Development of a healthy low fat fish sausage containing dietary fibre. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(2): 276-283.
- Cardoso C., Mendes R., Pedro S., Nunes M.L. 2008b. Quality changes during storage of fish sausages containing dietary fibre. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 17(1): 73-95.
- Cardoso C., Mendes R., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2009. Effect of dietary fibre and MTGase on the quality of mackerel surimi gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(10): 1648-1658.
- Cardoso C., Mendes R., Saraiva J.A., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2010. Quality characteristics of high pressure-induced hake (*Merluccius capensis*) protein gels with and without MTGase. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 19(3): 193-213.
- Cardoso C., Mendes R., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2011a. Effect of MTGase, dietary fibre and UV irradiation upon heat-induced gilthead seabream (*Sparus aurata*) gels. *Food Science and Technology International*, 17(2): 155-165.
- Cardoso C., Mendes R., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2011b. Production of high quality gels from sea bass: effect of MTGase and dietary fibre. *Food Science and Technology*, 44(5): 1282-1290.
- EFSA 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*, 236, 118pp.
- FAO 2010. The state of world fisheries and aquaculture. Fisheries & Aquaculture Department Rome. 197 pp.
- Gonçalves A., López-Caballero M.E., Nunes M.L. 2003. Quality changes of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) packed in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 68(8): 2586-2590.
- Gonçalves A., Mendes R., Nunes M.L. 2004. Effect of oxygen absorber on the shelf life of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(3): 49-59.
- ICES 2006. Report of the ICES advisory committee on fishery management. *ICES Advice*,

Books, 1-10: 9.

- Mendes R., Gonçalves A. 2008. Effect of soluble CO₂ stabilisation and vacuum packaging in the shelf life of farmed sea bream and sea bass fillets. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9): 1678-1687.
- Norziah M.H., Al-Hassan A., Khairulnizam A.B., Mordi M.N., Norita M. 2009. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids*, 23: 1610-1616.
- Pires C., Ramos C., Teixeira G., Batista I., Mendes R., Nunes L., Marques A. 2011. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering*, 105: 422-428.
- Pires C., Costa S., Batista A.P., Nunes M.C., Raymundo A., Batista I. 2012. Properties of protein powder prepared from Cape hake by-products. *Journal of Food Engineering*, 108: 268-275.
- Sathivel S., Bechtel P.J., Babbitt J.K., Prinyawiwatkul W., Negulescu I.I., Reppond K.D. 2004. Properties of protein powders from arrowtooth flounder and herring byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5040–5046.
- Sathivel S., Bechtel P.J., Prinyawiwatkul W. 2006. *International Journal of Food Engineering* 2(2): Article 3.
- Sathivel S., Bechtel P.J. 2008. A comparison of physical and rheologic properties of Arrowtooth flounder protein made using three different extracting processes. *Journal of Food Biochemistry*, 32(5): 557–575.
- Shahidi F., 2006. Maximising the value of marine by-products. Woodhead Publishing, Cambridge. 560 p.



NOVAS ESTRATÉGIAS DE VALORIZAÇÃO DE PRODUTOS DA PESCA E AQUACULTURA

Maria Leonor Nunes

Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB), I.P./L-IPIMAR, Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura, Av. Brasília, 1449-006 Lisboa
mlnunes@ipimar.pt

OBJECTIVOS

Apresentar algumas estratégias de valorização de produtos da pesca e aquacultura que contribuam para o seu melhor aproveitamento/valorização e satisfação de mercados e consumidores.



SITUAÇÃO ACTUAL

A procura de alimentos à base de pescado tem aumentado devido à diversidade e por terem sido comprovados os efeitos benéficos para a saúde e bem-estar.

As capturas das espécies mais consumidas encontram-se em declínio e a produção da aquacultura tem aumentado de forma significativa.

Os mercados debatem-se com dificuldades no abastecimento e enfrentam um consumidor cada vez mais exigente e informado.

Os consumidores pretendem produtos mais ajustados às suas necessidades e exigem qualidade e o cumprimento de critérios ambientais e éticos.

Algumas ESTRATÉGIAS

Aproveitamento de:
Rejeições a bordo
Retiradas em lota
Espécies pouco consumidas
Subprodutos



GELATINA



SULFATO CONDRITINA



HIDROLISADOS PROTEICOS



ÓLEOS

Ácido hialurónico
Peleis

Combinação de tecnologias de conservação (prolongar o tempo de vida útil dos produtos e manter a qualidade/segurança)



REFRIGERAÇÃO



ATMOSFERA MODIFICADA



EMBALAGEM SOB VÁCUO



PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS

Embalagem activa
Embalagem inteligente

Aplicação de novas tecnologias de processamento
Utilização de novos ingredientes



ALTAS PRESSÕES



PULSOS ELÉCTRICOS



FIBRA MAÇA



TGA (Transglutaminase)

Concentrados
Taurina

Desenvolvimento de:
Novos produtos
Novas apresentações



COMPOSIÇÃO SALMÃO/ATUM



FISHBURGER c/VEGETAIS



SUSHI

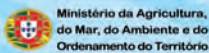


MASSA DE PESCADO

Fumados
Salgados/
congelados

Agradecimentos

A autora agradece ao Projecto BIOTECMAR 2008-1/032 (INTERREG). * Foto COOKINGLab©



Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.



O efeito da ultracongelção de *Laminaria ochroleuca* nas suas propriedades organolépticas

Pinheiro* R., Pimenta I., Vaz Velho M.

Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Av. Atlântico, Viana do Castelo, Portugal

*E-mail: ritapinheiro@estg.ipvc.pt.

Resumo

Numa perspectiva de potenciar o consumo de macroalgas, foi estudado neste trabalho o efeito do processo de ultracongelção nas propriedades organolépticas de *Laminaria ochroleuca*. Utilizou-se como amostra de referência um produto comercial, desidratado, elaborado a partir da mesma espécie de alga.

Estudaram-se dois tipos de métodos de congelação: ultracongelção e congelação lenta, em equipamentos igualmente distintos. As temperaturas de congelação variaram entre -20 °C (sem ventilação), -30 °C e -40 °C, com ventilação constante de ar forçado de 6,20 m/s. Este trabalho englobou o estudo da textura, da cor e análise sensorial com um painel de provadores semi-treinado, sendo caracterizados os seguintes atributos: aspecto, dureza e odor.

Considerando todos os resultados obtidos foi possível concluir que o melhor processo de conservação da alga *Laminaria ochroleuca* é o de ultracongelção a -20 °C, podendo ser considerado um processo alternativo ao processo de desidratação.

Palavras-chave

Ultracongelção, *Laminaria ochroleuca*, textura, análise sensorial.

Introdução

A costa litoral portuguesa apresenta uma elevada riqueza em macroalgas comestíveis. No entanto, em Portugal, ao contrário dos países asiáticos como a China e o Japão, o seu consumo ainda é reduzido. Os géneros *Undaria* (wakame), *Porphyra* (nori) e *Laminaria* (kombu) são os mais consumidos em todo o mundo. As algas são uma notável fonte de vitaminas, fibras dietéticas, minerais e proteínas (Lee *et al.*, 2008). Apresentam um baixo valor energético visto que contém baixos níveis de gordura. O teor de lipídios das algas é de 1% a 3% da matéria seca, com uma elevada proporção de ácidos gordos essenciais insaturados (Fleurence *et al.*, 1994; Sánchez-Machado *et al.*, 2004) os quais contribuem para a redução do risco de arteriosclerose, doença cardíaca coronária e doença inflamatória (Connor, 2000). Para além destes nutrientes é possível encontrar nas algas, mais particularmente nas algas castanhas, compostos bioactivos com propriedades antioxidantes, que desempenham um papel importante na protecção das células do organismo (Sánchez-Machado *et al.*, 2002).

É sabido que o processo de ultracongelção conserva as propriedades nutritivas e organolépticas dos alimentos. A implementação da congelação industrial das algas torna-se fácil, do ponto de vista de investimento em equipamentos pois é um processo que pode ser efectuado pela indústria de congelação/transformação do pescado.

Materiais e métodos

A alga estudada foi a *Laminaria ochroleuca* proveniente da praia do Norte, situada em Viana do Castelo. A colheita da alga foi efectuada durante a maré baixa nos meses de Maio e Junho de 2010. Foi escolhida esta alga pela acentuada presença nesta praia, pela sua constituição nutricional e por ser alvo de vários estudos (Besada *et al.*, 2009; Fleurence, 1999; Rupérez, 2002). Após a colheita das algas, estas foram colocadas em recipientes estanques e imersas em água do mar e seguidamente transportadas para o local de estudo. Posteriormente foram lavadas e cortadas em tiras de 20 cm de comprimento independentemente da sua largura, procedendo-se de imediato à sua congelação. Para comparação de resultados utilizou-se a alga *Laminaria* desidratada adquirida no mercado de produtos biológicos (Algamar). Esta alga encontra-se conservada por desidratação e está acondicionada em embalagens de 100 g. Estudaram-se dois tipos de métodos de congelação: ultracongelção e congelação lenta, em equipamentos igualmente distintos.

O túnel de congelação, Armfield, FT36 – “Blast and Fluid Bed Freezer” é um equipamento

que permite a ultracongelamento dos alimentos através da circulação de ar frio forçado dentro da câmara. Foram realizados três ensaios: -20 °C, -30 °C e -40 °C, mantendo-se a velocidade de circulação do ar, 6,20 m/s. Nos ensaios com congelamento lento da alga foi utilizada uma câmara de conservação a -20 °C, sem ventilação. A regeneração das amostras foi efectuada através da imersão das mesmas em água a 100 °C durante 10 e 30 minutos para cada ensaio. Este trabalho englobou o estudo da textura (texturómetro TAST2i Stable Micro Systems), cor (colorímetro Minolta CR-300, sistema CIEL*a*b*) e análise sensorial painel semi-treinado constituído por 7 provadores (esta análise fez-se em duas fases Treino dos provadores e Prova Descritiva).

Resultados e discussão

Com os resultados obtidos na análise à textura, mais especificamente à dureza (Fig. 1), verificou-se que a alga sujeita ao processo de congelamento, independentemente da velocidade e da temperatura utilizadas, apresentava valores de dureza inferiores aos da alga desidratada, após a respectiva regeneração. Este comportamento poderá ser indicativo de um aumento da rigidez dos tecidos da alga. Os resultados mostraram ainda que, a temperatura do processo de congelamento tem uma influencia bastante acentuada na dureza das algas, isto é, quanto maior a temperatura de congelamento menor a dureza da alga. Verificou-se ainda que o endurecimento do produto era directamente proporcional ao tempo de regeneração (dois tempos testados: 10 e 30 min), isto é, quanto maior o tempo de regeneração mais firme se torna a alga.

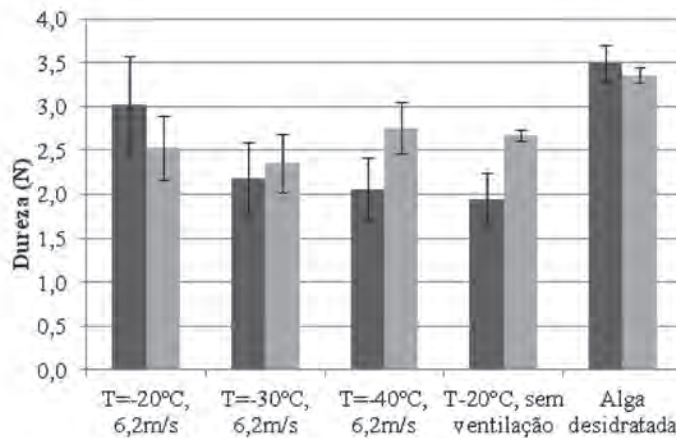


Figura 1.- Variação da dureza para os vários ensaios realizados com diferentes condições de congelamento. Valores médios \pm desvio padrão de 8 repetições ($p < 0,05$).

O tipo de processamento, provavelmente permite a ruptura da matriz celular, tornando-a mais macia (menor dureza), mais acentuado no caso das algas sujeitas a congelamento lento.

Através da análise da Tabela I verifica-se que os valores da coordenada de cromaticidade a^* , a qual permite aferir a tendência para o vermelho (+a) e para o verde (-a), tende para a cor verde, no caso da alga congelada. Por seu lado, a alga desidratada tende para o vermelho/castanho, uma vez que apresenta valores positivos. Segundo Pereira (2007) a coloração verde das algas pode ser justificada pelo facto de estas terem sido colhidas no período estival e em zonas de pouca profundidade. Relativamente ao parâmetro b^* (tendência para o amarelo, +b, e azul, -b) não se observaram variações significativas entre os ensaios realizados.

Tabela I - Valores de L^* , a^* e b^* das várias amostras. Valores médios \pm desvio padrão de 8 repetições ($p < 0,05$).

Ensaio	Tempo de regeneração	L^*	a^*	b^*
Ultracongelamento T= -20°C, 6,2m/s	10	35,2 \pm 3,5	-3,7 \pm 1,7	25,7 \pm 4,8
	30	32,7 \pm 1,1	-4,6 \pm 0,8	21,1 \pm 1,2
Ultracongelamento T= -30°C, 6,2m/s	10	36,8 \pm 1,9	-2,7 \pm 0,1	27,1 \pm 3,7
	30	34,3 \pm 3,4	-3,5 \pm 0,4	23,3 \pm 5,8
Ultracongelamento T= -40°C, 6,2m/s	10	34,1 \pm 2,4	-4,1 \pm 1,0	23,9 \pm 4,3
	30	37,7 \pm 1,7	-6,9 \pm 1,7	30,8 \pm 3,2
Congelamento T=-20°C, 3,15m/s	10	36,6 \pm 3,3	-6,7 \pm 1,7	28,5 \pm 5,3
	30	30,8 \pm 2,1	-3,1 \pm 1,8	17,7 \pm 3,2
Alga desidratada	10	32,1 \pm 1,3	5,0 \pm 0,7	21,3 \pm 0,9
	30	32,1 \pm 1,0	4,4 \pm 1,2	21,6 \pm 2,2

Quanto ao parâmetro luminosidade (L^*) constata-se que, embora não existam diferenças entre a alga congelada e desidratada, verifica-se que quanto menor o tempo de regeneração maior é o brilho das algas congeladas.

No gráfico da figura 2, faz-se a comparação entre os diferentes ensaios realizados, em relação aos atributos definidos para este produto. Relativamente aos atributos pigmentação, elasticidade, cor e sabor típico, o painel não encontrou diferenças significativas ($p > 0,05$). Pelo contrário, no que se refere à textura (primeira dentada) e à dureza ao corte, o painel encontrou diferenças, considerando a alga desidratada como sendo a mais dura e a alga congelada a -20 °C, com e sem ventilação, a mais macia.

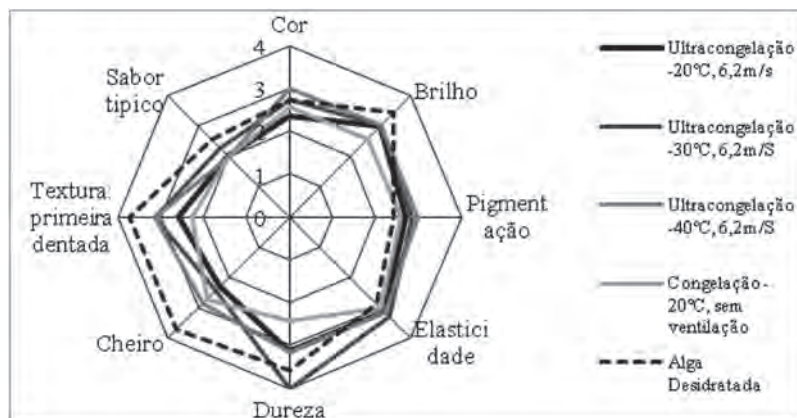


Figura 2.- Atributos avaliados na prova de análise sensorial à alga sujeita a diferentes processos, após regeneração de 30 min (Escala hedônica (0:pouco – 4:muito).

Conclusões

Concluiu-se que o melhor processo de conservação da alga *Laminaria ochroleuca* foi a ultracongelamento a -20 °C, podendo ser considerado um processo alternativo ao processo de desidratação não influenciando as suas propriedades de textura e sensoriais.

Bibliografia

- Besada V., Andrade J.M., Schultze F., González J.J. 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *Journal of Marine Systems*, 75: 305-313.
- Connor W.E. 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(1): 171S – 175S.
- Fleurence J., Gutbier G., Mabeau S., E Leray C. 1994. Fatty-acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany Coast. *Journal of Applied Phycology*, 6(5-6): 527-532.
- Lee S.B., Lee J.Y., Song D-G., Pan C.-H., Nho C.W., Kim M.C. 2008. Cancer chemopreventive effects of Korean seaweed extracts. *Food Science and Biotechnology*, 17(3): 613-622.
- Pereira L. 2007. As Algas Marinhas e Respectivas Utilidades; Departamento de Botânica; Universidade de Coimbra.

Rupérez P. 2002. Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry* 79: 23-26.

Sánchez-Machado D.I., López-Cervantes J., López-Hernández J., Paseiro-Losada P. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85(3): 439-444.

O efeito da ultracongelção de *Laminaria ochroleuca* nas suas propriedades organolépticas

Rita Pinheiro¹, Isabel Pimenta, Manuela Vaz Velho²

¹ Escola Superior de Tecnologia e Gestão | ² ritap@teknlogia.pt
 Instituto Politécnico de Viana do Castelo
 Av. Filipa de Alencar
 4905-349 Viana do Castelo
 Portugal

INTRODUÇÃO

A costa litoral portuguesa apresenta uma elevada riqueza em macroalgas comestíveis. No entanto em Portugal, ao contrário dos países asiáticos como a China e o Japão, o seu consumo ainda é reduzido. As algas apresentam uma composição elevada em micronutrientes tais como vitaminas e minerais, contêm proteínas com aminoácidos essenciais, hidratos de carbono e uma reduzida quantidade de gordura. Apresentam inúmeras vantagens ao nível da saúde, como a estimulação e regulação do metabolismo e reforçam as defesas naturais. Numa perspectiva de potenciar o consumo de macroalgas, foi estudado neste trabalho o efeito do processo de ultracongelção em *Laminaria ochroleuca* nas suas propriedades organolépticas. Utilizou-se como amostra de referência um produto comercial, desidratado, elaborado a partir da mesma espécie de alga.



MATERIAL E MÉTODOS



Estudaram-se dois tipos de métodos de congelação: ultracongelção e congelação lenta, em equipamentos igualmente distintos. As temperaturas de congelação variaram entre -20°C (sem ventilação), -30°C e -40°C, com ventilação constante de ar forçado de 6,20 m/s. Este trabalho englobou o estudo da textura (texturómetro TAXT2i Stable Micro Systems), cor (colorímetro Minolta CR-300, sistema CIEL*a*b*) e análise sensorial com um painel de 7 avaliadores semi-treinado.

Condições de ultracongelção (primeira):
 -20°C, -30°C, -40°C, com ventilação constante de ar forçado de 6,20 m/s



RESULTADOS

O rendimento da alga é diretamente proporcional ao tempo de regeneração:

As algas submetidas ao processo de congelação, independentemente da velocidade utilizada, são menos duras do que a alga desidratada após regeneração.



Velocidade de Processamento	Regeneração (min)	Yield (%)	Cor (L*)
Ultracongelção T=-20°C, 6,2m/s	10	~95	~45
	30	~95	~45
	60	~95	~45
Ultracongelção T=-30°C	10	~95	~45
	30	~95	~45
	60	~95	~45
Ultracongelção T=-40°C	10	~95	~45
	30	~95	~45
	60	~95	~45
Congelação T=-20°C, sem ventilação	10	~95	~45
	30	~95	~45
	60	~95	~45
Alga desidratada	-	~95	~45
	-	~95	~45
	-	~95	~45

As algas congeladas apresentam uma cor esverdeada, e quanto a alga desidratada apresenta uma cor castanha.

Obtém-se melhor o tempo de regeneção maior e o brilho das algas congeladas.

ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA



As algas congeladas a -20°C apresentam a cor mais esverdeada, mais próxima do produto original e que todas as algas congeladas, independentemente da temperatura, apresentam maior firmeza em relação à desidratada.

As algas ultracongeladas a -30°C foi a que apresentou maior firmeza ao corte, ao contrário da extraída a congelação a -20°C, sem ventilação, que era mais macia.

As algas congeladas apresentaram um sabor mais próximo do que o da alga desidratada.

Condições de ultracongelção (segunda):
 -20°C, -30°C, -40°C, com ventilação constante de ar forçado de 6,20 m/s

CONCLUSÕES

Considerando todos resultados obtidos foi possível concluir que o melhor processo de conservação da alga *Laminaria ochroleuca* é o de ultracongelção a -20°C, podendo ser considerado um processo alternativo ao processo de desidratação não influenciando as suas propriedades.

© FEPVIA - Fórum Brasileiro de Recursos Marinhos e de Aquicultura - 2013

Observações a bordo da pescaria do cerco: padrão de actividade, composição das capturas, rendimentos de pesca e interacções com cetáceos em 2010

Feijó^{1*} D., Marçalo^{2,3} A., Vingada^{2,3,4} J., Silva^{1} A.**

¹Instituto Nacional de Recursos Biológicos, IPIMAR, Portugal. * IPIMAR-Matosinhos, Avenida General Norton de Matos, 4, 4450-208, Matosinhos; **IPIMAR-Algés, Avenida de Brasília, 1449-006, Lisboa. E-mail: dfeijo@ipimar.pt

²Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem, Universidade do Minho, Departamento de Biologia, Campus de Gualtar, 4710-057, Braga, Portugal.

³Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM). Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal.

⁴Centro de Biologia Molecular e Ambiental, Departamento de Biologia, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057, Braga, Portugal.

Resumo

A pescaria de cerco é das pescarias mais importantes em Portugal, sendo responsável por cerca de 40% em peso dos desembarques no continente. Esta pescaria captura várias espécies de pequenos e médios pelágicos, tendo a sardinha como espécie alvo (80% dos desembarques). Este trabalho tem como objetivo estudar o padrão de atividade, a composição das capturas, o rendimento de pesca e as interações com cetáceos ao longo de Portugal continental, durante um ano de pesca. Foi utilizada informação recolhida por observadores a bordo de embarcações de cerco em 46 viagens realizadas em 2010, ao longo da costa Portuguesa, embora apenas dados de portos do Norte e costa Algarvia tenham sido utilizados na análise por ter havido maior esforço de observação. Os resultados mostraram que não há diferenças significativas quanto à duração das viagens e tempo de procura entre as

duas zonas analisadas, registando-se diferenças significativas relativamente aos tempos de navegação e operações de pesca com valores superiores no Sul do país. O esforço de pesca foi uniforme ao longo do ano nas duas zonas, enquanto a CPUE (captura por unidade de esforço de pesca) total foi relativamente mais baixo no norte no segundo semestre do ano. A sardinha foi a espécie mais capturada nas duas zonas, embora predomine a norte, enquanto no sul as capturas de sardinha e cavala sejam semelhantes. Os rendimentos médios foram superiores no Norte no caso da sardinha, sobretudo no segundo trimestre, e no Sul para a cavala ao longo do ano. As rejeições por *slipping* (manobra de libertação deliberada da parte ou total da captura) foram equivalentes em ambas as zonas, sendo a principal causa no Norte a quota diária e no Sul do país a mistura de espécies. As interações com cetáceos coincidiram com os meses em que houve uma maior captura de sardinha, embora com maior ocorrência a sul do país. Estes resultados indicam que existem variações sazonais e regionais do padrão de actividade, composição das capturas e interações com cetáceos que requerem um esforço de observação prolongado de maneira a se poderem extrapolar para toda a pescaria.

Palavras-chave

Pesca do cerco, sardinha, *slipping*, cetáceos.

Introdução

A pescaria de cerco é das pescarias mais importantes em Portugal, sendo responsável por cerca de 50% em peso e 20% em valor de primeira venda dos desembarques no continente (DGPA, 2010). É uma pescaria com grande importância social e económica que envolve no total mais de 3.000 trabalhadores entre setor pesqueiro e a indústria conserveira. O setor das conservas absorve cerca de 40% dos desembarques anuais do cerco e produz 28.000 toneladas (t) de sardinha, destinadas essencialmente ao mercado externo (*com. pess.* Castro e Melo, 2010). Os desembarques do cerco têm variado em torno de 75.000 t nos últimos anos sendo constituídos por 80% de sardinha (DGPA, 2010). Embora o cerco tenha como espécie-alvo a sardinha (*Sardina pilchardus*), a pesca é ocasionalmente dirigida a outras espécies de pequenos pelágicos como a cavala (*Scomber colias*), o biqueirão (*Engraulis encrasicolus*) e várias espécies de carapau (*Trachurus spp.*).

Segundo dados da Direcção Geral de Pescas e Aquicultura (DGPA, 2010), a frota dedicada

exclusivamente ao cerco tem cerca de 120 embarcações e é responsável pela maioria das capturas. Há cerca de uma centena de barcos polivalentes (locais e costeiros) que operam com redes de cerco. No seu conjunto, a frota tem uma idade média de 20 anos, comprimento de 20 m, 300 hp de potência de motor e 50 toneladas de arqueação bruta (TAB). As embarcações mais pequenas (<15 - 16 m) são também designadas rapas ou tucas e as de maiores dimensões cercadoras ou traineiras. Por lei, a frota é autorizada a actuar para fora de 1/4 de milha náutica de distância à linha da costa e, entre o 1/4 de milha e 1 milha, apenas em profundidades superiores a 20 m (DGPA, 2011). A arte de cerco é uma rede de forma rectangular, sustentada à superfície por um sistema de flutuação (tralha de flutuação) e mantida na vertical durante o cerco por um conjunto de pesos (tralha de chumbos). Montado no cabo dos chumbos, existe um conjunto de argolas por onde passa o cabo da retenida, que permite fechar a rede por baixo aprisionando os cardumes. O comprimento da rede de cerco varia entre 500 e 1.000 m e a altura entre 90 e 150 m, dependendo do comprimento da embarcação. A rede utilizada, por lei, tem uma malhagem mínima de 16 mm (Portaria n.º 1102-G/2000 e Portaria n.º 251/2010 *in* Diário da República).

A pesca realiza-se geralmente próximo dos portos de origem, em viagens curtas (diárias), onde a rede é largada uma ou duas vezes (ocasionalmente mais que duas vezes), normalmente de madrugada (Stratoudakis & Marçalo, 2002; Wise *et al.*, 2005, 2007). Uma grande parte de uma viagem de pesca de cerco é gasta a procurar os cardumes com o auxílio de sonda e sonar acústicos. Uma vez detectados os cardumes, as redes são rapidamente largadas pela traineira que, em círculo, rodeia os cardumes. A rede é alada inicialmente de forma mecânica com a ajuda de aladores e na fase final, de forma manual envolvendo todos os membros da tripulação (normalmente entre 15-20 pessoas) e o transbordo do peixe é efectuado em grande medida com a ajuda de paus de carga ou gruas (estas últimas existentes nas traineiras melhor equipadas). Em cada lance, podem ocorrer duas situações relativamente ao destino da captura: rejeição (devolução ao mar) por *slipping* ou transbordo para posterior desembarque em lota. No cerco, o *slipping* (abertura ou rebaixamento da rede, de forma que parte da captura consiga escapar, antes de ser alada para dentro da embarcação) difere da rejeição nas outras pescarias, por ser um processo em que o peixe nunca sai da água e supostamente é libertado vivo. Este ocorre quando o mestre verifica não ser interessante realizar o transbordo de parte ou do total da captura por razões diversas (presença de espécies não comerciais, presença de pescado abaixo do tamanho mínimo, etc.) (Marçalo *et al.*, 2006, 2008, 2010a). No caso do transbordo, o pescado permanece a bordo em dornas (contentores isotérmicos de 250 ou 500 kg de capacidade) com gelo até à eventual triagem no cais de desembarque. Nesta fase, pode ocorrer rejeição de parte da captura que não tem valor comercial.

O *stock* Ibero-Atlântico de sardinha é gerido com base em regulamentação nacional tanto em Portugal como em Espanha (ICES, 2011). A gestão da pescaria do cerco assenta

essencialmente nos dados científicos sobre o estado de exploração do *stock* de sardinha e dos desembarques em lota. A regulamentação Portuguesa inclui medidas técnicas (e.g. dimensões máximas da arte, tamanho mínimo de desembarque), limitação do esforço de pesca e quotas anuais de pesca (em alguns anos). Desde 1997, as Organizações de Produtores (OP) têm um papel activo na gestão da pescaria e controlo do mercado. Na zona Norte e Centro (Viana do Castelo a Peniche), as OPs estabelecem limites diários no desembarque de sardinha como forma de controlar a captura em períodos de baixa abundância e também de controlar a oferta e impedir o decréscimo do preço da primeira venda. Todavia, observações a bordo de traineiras no norte de Portugal têm indicado que, capturas em cima do limite diário estabelecido por OP, são o principal motivo de rejeição de sardinha viva no mar (Stratoudakis & Marçalo, 2002).

A pescaria da sardinha foi certificada como pescaria sustentável em Janeiro de 2010 pelo *Marine Stewardship Council* (MSC) (Hough *et al.*, 2010). Um dos critérios para a certificação relaciona-se com o impacto da pescaria ao nível do ecossistema, sendo condição necessária que a pescaria não afecte significativamente espécies protegidas como os cetáceos. Interações com cetáceos acontecem em vários tipos de pescaria, resultando por vezes, em consequências negativas para os animais (captura acidental e morte) e para a pescaria (redução das capturas, prolongamento da pesca, danos nas artes, depredação). Em águas continentais portuguesas, são observadas 19 espécies de cetáceos. Existem quatro espécies cujo habitat ou zona de maior abundância se sobrepõem com a pescaria de cerco: o bôto (*Phocoena phocoena*), o golfinho-comum (*Delphinus delphis*), o roaz corvineiro (*Tursiops truncatus*) e a baleia-anã (*Balaenoptera acutorostrata*), com comportamentos mais costeiros. Interações entre pequenos cetáceos e a pescaria de cerco são frequentemente descritas por pescadores em inquéritos realizados nos vários portos nacionais (Marçalo *et al.*, 2010b, 2011). Estas interações foram observadas por biólogos a bordo de cercadoras, embora estes trabalhos tenham sido realizados num curto espaço de tempo e apenas na costa norte e centro Portuguesa (Wise *et al.*, 2005, 2007). Existe portanto, necessidade de dar continuidade a este trabalho de monitorização de uma forma mais abrangente temporal e geograficamente, de forma a melhor descrever as interações e possíveis diferenças espaciais e sazonais.

A monitorização das pescarias, através de observações a bordo de embarcações comerciais, é crescentemente reconhecida como uma ferramenta essencial para melhorar o aconselhamento científico. Esta abordagem permite obter dados sobre o esforço de pesca, as capturas totais (incluindo devoluções ao mar) e as interações com mamíferos e aves marinhas, que não são acessíveis com outros métodos. No caso do cerco, estas observações *in situ* são fundamentais para avaliar em tempo real a situação dos recursos (em particular a sardinha) e perceber a sua variabilidade regional, poder avaliar o estado de recursos acessórios da pescaria (como a cavala), melhorar o conhecimento sobre a comunidade pelágica em geral e

a sua evolução face a alterações ambientais e mitigar eventuais interações com mamíferos e aves marinhas. Em 2006, o IPIMAR iniciou um programa de observações a bordo da pesca do cerco no âmbito do Plano Nacional de Amostragem Biológica (PNAB, EU DCF), que se coordenou desde 2009 com o programa de observações em curso no âmbito do Projecto SAFESEA (Sustentabilidade das artes das pescas locais e promoção de um mar seguro para cetáceos) e com o seu sucessor em 2011, o Projecto MARPRO (*Conservation in Marine Protected Species in Mainland Portugal*). Este trabalho tem como objectivo reportar os resultados das observações a bordo realizadas ao longo da costa durante 2010, nomeadamente quanto ao padrão de actividade, composição das capturas, rendimento de pesca e interações com cetáceos.

Materiais e métodos

De Janeiro a Dezembro de 2010, foram monitorizadas 46 viagens de cerco (80 lances de pesca) em diferentes portos ao longo da costa portuguesa, tendo sido dividida em 3 zonas (Tabela I). O esforço de observação a bordo foi realizado por unicamente dois observadores, com divisão geográfica de costa Ocidental e costa Sul. Este esforço foi inferior nos meses de inverno devido às condições meteorológicas.

Em cada viagem, foram recolhidos dados sobre a duração das várias fases da viagem, as operações de pesca, a composição das capturas e o rendimento de pesca e registadas as interações com cetáceos. Comparou-se o padrão de actividade, composição das capturas, rendimentos de pesca e interações com cetáceos entre o Norte e o Sul usando dados agregados das viagens nos portos de descarga de cada uma destas zonas. Os dados dos restantes portos não foram utilizados na análise estatística, por terem um esforço de observação reduzido.

O tempo de duração de viagem, navegação e procura foram comparados entre costa norte (Póvoa de Varzim à Figueira da Foz) e sul (Algarve) usando um teste *One-Way ANOVA*. O tempo de operação de pesca, esforço de pesca, rendimento total (CPUE: captura por unidade de esforço) e rendimento de sardinha por lance de pesca foram comparados entre costa norte e sul (Algarve) usando um teste *Kruskal-Wallis*. O nível de significância foi 5%.

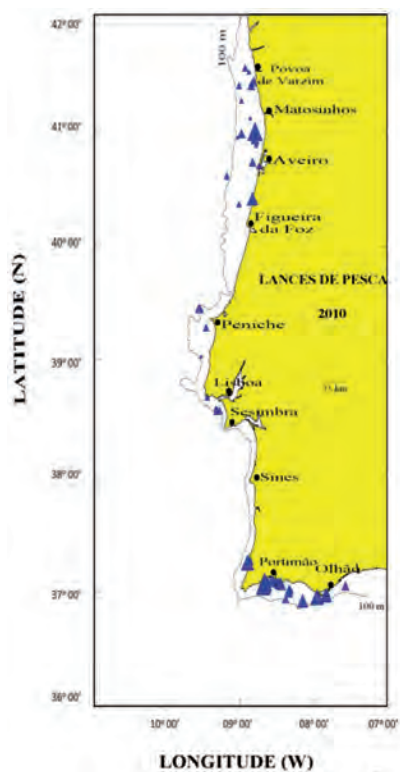


Figura 1.- Distribuição geográfica dos lances realizados pela frota do cerco durante as observações a bordo em 2010. O tamanho dos símbolos é proporcional ao rendimento de pesca total (CPUE, t/hora; o símbolo maior corresponde a 6,7 t/hora).

Resultados

Nas 46 viagens observadas, foram efectuados 80 lances de pesca cuja distribuição geográfica pode ser observada na figura 1. O rendimento de pesca total (CPUE, t/hora) é proporcional ao tamanho dos símbolos. O maior CPUE corresponde a cerca de 6,7 t/hora e menor a 0 t/hora, quando não ocorreu captura, apesar da realização de lance de pesca. O mais baixo CPUE com captura de pescado foi 0,032 t/hora.

Para melhor descrição local e sazonal dos embarques, os dados foram agrupados por

trimestre e por porto de pesca (Tabela I), observando-se um maior esforço de observação a Norte e a Sul, respectivamente com 15 e 23 viagens observadas, do que a Centro onde se realizaram apenas 8 viagens. O nº de lances a Norte foi de 25, no Centro de 17 e no Sul de 38. Em média, realizaram cerca de 2 lances por viagem no total da costa. Devido às piores condições do mar no Inverno, o esforço de observação concentrou-se no 2º, 3º e 4º trimestre de 2010 e por questões logísticas e proximidade dos dois observadores, as viagens concentraram-se tanto a Norte como a Sul.

Tabela I.- Resumo do esforço de observação a bordo da frota do cerco em 2010, por porto de descarga, trimestre, nº de viagens e nº de lances realizados.

ZONA	PORTO DESCARGA	TRIMESTRE	Nº VIAGENS	Nº LANCES
Norte	Póvoa de Varzim	3º	2	5
	Matosinhos	1º, 2º, 3º	7	11
	Aveiro	3º	2	4
	Figueira Foz	1º, 2º, 3º, 4º	4	5
Total Norte			15	25
Centro	Peniche	2º, 4º	4	6
	Algés	3º	1	3
	Sesimbra	4º	1	2
	Setúbal	3º	1	3
	Sines	4º	1	3
Total Centro			8	17
Sul	Portimão	2º, 3º, 4º	11	23
	Olhão	2º, 3º, 4º	12	15
Total Sul			23	38
TOTAL			46	80

Durante 2010, em termos nacionais, as espécies mais descarregadas nos embarques realizados, foram sem dúvida a sardinha (64%) e a cavala (35%), tendo o carapau e o biqueirão descargas reduzidas. Quando se observa os desembarques no Norte, a proporção de sardinha aumenta para 83%, reduzindo a presença de cavala para 14%. A percentagem de carapau desembarcado é de 2% e ocorreu unicamente a Norte, enquanto o biqueirão fez 1%. No Centro, ocorre a presença de sardinha e cavala, respectivamente com 86% e 14%. No Sul, as descargas de sardinha e cavala são semelhantes (55% e 44%), sendo a presença de biqueirão mais reduzida (Fig. 2).

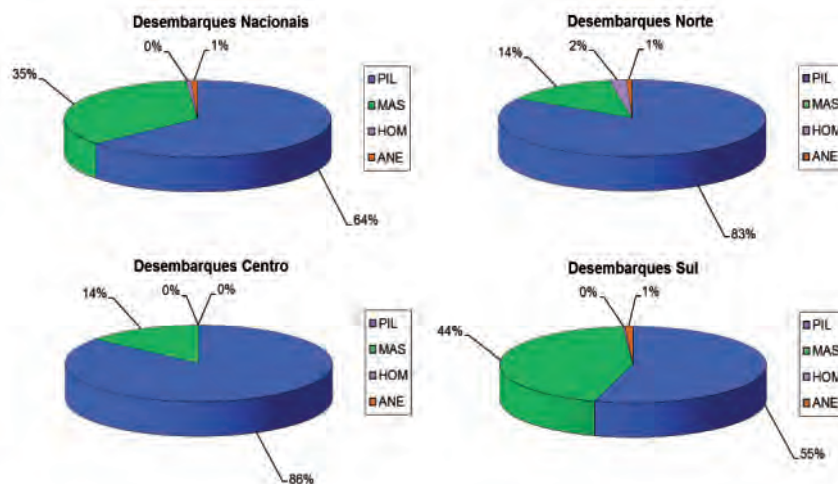


Figura 2.- Desembarques realizados em Lota nos embarques do cerco, a nível nacional, norte, centro e sul de Portugal (percentagem relativa às seguintes espécies – PIL (sardinha), MAS (cavala), HOM (carapau-branco) e ANE (biqueirão)).

De forma a simplificar a descrição da actividade de pesca, foram calculados valores médios para cada zona de Portugal continental (norte, centro e sul), apresentados na tabela II. Calculando o número médio de lances por viagem, verifica-se mais lances por viagem no Centro, apesar um número reduzido de viagens realizadas. O Norte e o Sul têm valores semelhantes (1,6 lance/viagem).

Tabela II.- Resumo da actividade da frota do cerco em 2010, por zona, em termos de valores médios por viagem: número de lances realizados, captura total e slipping (t), percentagem de ocorrência de slipping, tal como as espécies alvo de rejeição (código FAO; PIL = sardinha, MAS = cavala).

ZONA	NÚMERO LANCES / VIAGEM	CAPTURA MÉDIA / VIAGEM (t)	slipping MÉDIO / VIAGEM (t)	% SLIPPING NO TOTAL DEVIAGENS	ESPÉCIES REJEITADAS POR slipping
Norte	1,67	4,81	1,2	13,33	PIL
Centro	2,13	4,16	0	0,00	-
Sul	1,65	9,12	0,99	52,17	PIL e MAS

Tanto no Norte como no Centro em 2010, a captura média por viagem rondou as 4 e 5 t, observando-se aproximadamente o dobro no Sul (cerca de 9 t). No Norte, as rejeições por *slipping* corresponderam em média a 1,2 t de sardinha por viagem (a única espécie rejeitada), sendo a principal causa o limite da quota diária. Já no sul do país, o *slipping* médio por viagem foi de 0,99 t e foram observados lances de multi-espécies (reduzindo o valor em lota), sendo esta a principal causa de rejeição. No entanto, a Sul verificou-se ocorrência de *slipping* em cerca de metade das viagens, devido a presença de cavala misturada com sardinha.

Analisando os regimes da actividade da frota do cerco (Fig. 3), comparando o norte e sul de Portugal, os resultados mostraram que embora as viagens sejam ligeiramente mais curtas a norte, esta diferença não é significativa ($P > 0,05$). O tempo de procura é significativamente superior no Norte ($P < 0,05$), enquanto os tempos de navegação e a duração das operações de pesca são superiores no sul ($P = 0,001$ e $P < 0,001$, respectivamente). Ou seja, o tempo de viagem (média de 8-9 horas em ambas as áreas) é mais utilizado na procura de cardumes no Norte e na navegação e operações de pesca no Sul.

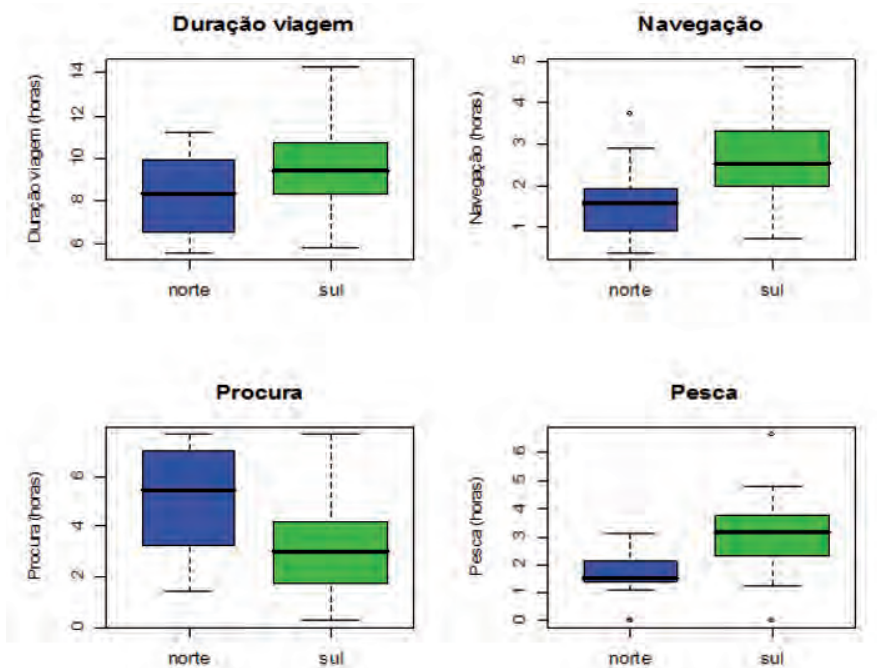


Figura 3.- Padrões de actividade da frota do cerco no norte e sul de Portugal: duração da viagem, navegação, procura e pesca.

O esforço de pesca não apresentou diferenças significativas entre as zonas Norte e Sul: em média, foram despendidas 3,9 horas (desvio padrão = 2,06 horas) nas actividades de pesquisa e pesca para cada lance (Fig. 3). O rendimento de pesca foi significativamente mais elevado no Sul ($1,6 \pm 1,5$ t/hora) do que no Norte ($0,65 \pm 1,4$ t/hora) devido sobretudo às elevadas capturas de cavala no Sul. No entanto, a sardinha foi a espécie mais capturada nas duas zonas com rendimentos por lance de pesca que não diferiram significativamente entre as zonas (Norte: $0,6 \pm 1,4$ t/hora; Sul: $0,9 \pm 1,4$ t/hora) (Fig. 4).

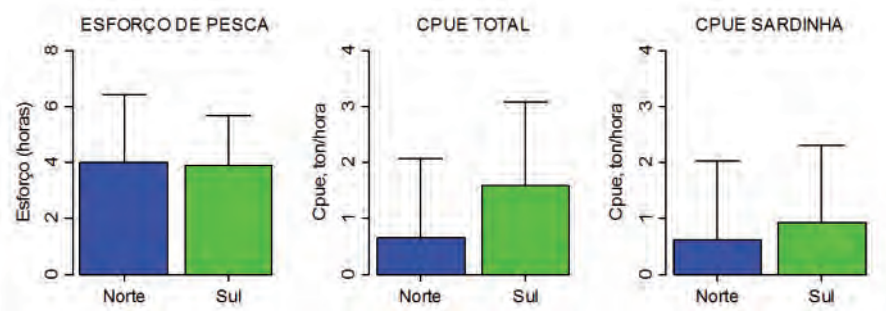


Figura 4.- Esforço e rendimentos de pesca (CPUE, t/hora) por zona (Norte a azul; Sul a verde).

No norte do país, as observações de interações da pesca com cetáceos coincidiram com os meses em que houve uma maior captura de sardinha (2º trimestre) e ocorreram em cerca de 20% dos lances. No Sul, as interações observadas aconteceram em cerca de 40 a 50% dos lances no 2º e 3º trimestre do ano (Fig. 5).

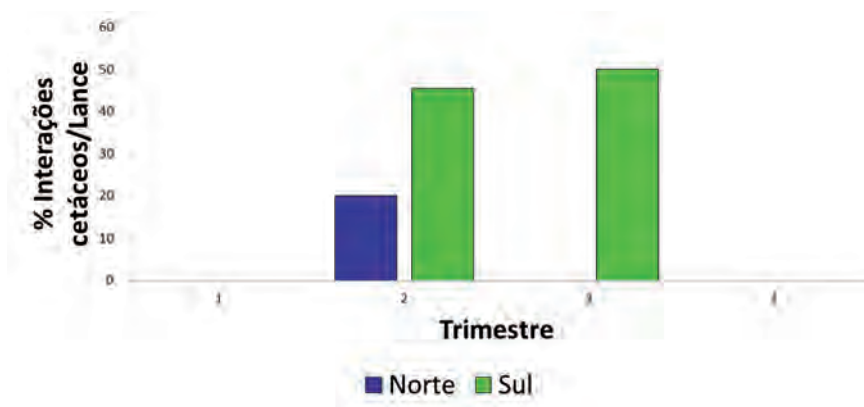


Figura 5.- Percentagem de interações de cetáceos por lance de pesca de Cerco por trimestre, para o Norte (Azul) e para o Sul (verde).

A única espécie de cetáceo a interagir foi o golfinho-comum (*D. delphis*) e normalmente as interações são observadas durante a alagem da rede e transbordo do peixe, com os animais a nadarem por fora da rede com comportamento normal. Nos 80 lances de pesca, foram observadas 14 interações (18% de interações em todos os lances observados) que resultaram apenas numa captura acidental e desta, resultou na morte de um animal.

Discussão

Quando se estuda uma pescaria, é necessário ter em conta vários factores: condições meteorológicas, disponibilidade das espécies-alvo a capturar e receptividade do mercado ao pescado capturado, disponibilidade da frota para realização de embarque, número e disponibilidade do(s) observador(es), disponibilidade financeira dos projectos de investigação e por fim, condições mínimas de segurança a bordo das embarcações de pesca.

O esforço de observação a bordo, ao longo de 2010, foi principalmente condicionado por condições meteorológicas e disponibilidade de observadores. Em períodos longos de invernias, existe um menor esforço de pesca comercial e por isso, o esforço de observação foi também menor nos meses do 1º trimestre e também últimos meses do 4º trimestre (Novembro e Dezembro) de 2010. Para além disso, a norte de Peniche ocorre anualmente, em Março, uma paragem deliberada pelas OPs, condicionando mais uma vez o esforço de observação

nesta zona. Tendo em conta os limitativos temporais, espaciais e financeiros que acarretam a monitorização de uma frota de pesca, com uma equipa reduzida de observadores, nem sempre foi possível da melhor forma distribuir geograficamente o esforço de observação. A norte de Sines, a distribuição de embarques anuais foi determinada pela importância relativa de desembarques da frota do Cerco de forma a obter dados representativos da frota (portos de pesca com maiores descargas anuais têm maior percentagem de esforço de observação). A sul, os embarques realizaram-se nos dois principais portos algarvios (Olhão e Portimão) e tiveram como objectivo a divisão quantitativa dos embarques, tendo em conta fatores temporais, financeiros e de disponibilidade do observador. Os locais em maior desfalque de observação e informação recolhida serão o Centro, com os portos entre Sesimbra e Sines em destaque. Aumento do número de observadores e viagens a observar poderão colmatar o défice de informação, aproximando os resultados ao panorama nacional.

Em Portugal, a tendência anual é habitualmente, a frota de cerco do norte do país ser a principal fonte de abastecimento de sardinha do mercado nacional. No entanto, em 2010, o CPUE (Captura por unidade de esforço de pesca) médio foi superior no Sul do país, observando-se a nível nacional rendimentos de pesca mais baixos a Norte tal como capturas inferiores ao habitual. No Sul, observou-se também maior presença de sardinha tal como de cavala em 2010. De uma forma geral, o 2º e 3º trimestres são mais produtivos, devido à melhoria das condições meteorológicas e às maiores exigências do mercado e consumo. A sardinha foi a espécie mais capturada nas duas zonas, mas enquanto que no Sul as capturas de sardinha e cavala sejam equivalentes (55% e 44% dos desembarques respetivos), a Norte predominam desembarques de sardinha (83%). Os rendimentos médios foram superiores no Norte, para o caso da sardinha, sobretudo no 2º trimestre, e superiores no Sul para a cavala ao longo do ano.

Como a pesca de cerco é costeira e junto aos portos de origem, as viagens foram de curta duração (8 - 9 horas por média) e na análise dos resultados da actividade pesqueira, verificou-se não existir diferenças significativas quanto à duração das viagens entre norte e sul de Portugal. Estes valores coincidem com os referidos na bibliografia (Wise *et al.*, 2007) No entanto, ocorreram diferenças significativas relativamente aos tempos de navegação e de operações de pesca (valores superiores a Sul como resultado dos pesqueiros serem por vezes mais longínquos e ocorrência de manobras de pesca mais lentas causados por cercadoras pior equipadas mecanicamente com dispositivos de alagem de rede). No que diz respeito a tempos de procura, estes foram significativamente superiores a Norte, pois o ano de 2010 foi caracterizado por uma escassez de peixe nesta zona do país. Como resultado deste efeito compensatório (tempos de navegação e operações de pesca superiores a Sul e tempos de procura superiores a Norte), o esforço de pesca em 2010 foi semelhante nas duas zonas.

No que diz respeito às rejeições por *slipping*, a Norte as OPs impõem limites diários de forma a gerir o máximo anual de desembarque para a sardinha e nesta zona, os mestres das embarcações procederam a rejeições quando a captura ultrapassou os limites estipulados. No sul do país, o *slipping* deveu-se acima de tudo a lances multi-espécie e a consequente baixa de rentabilidade na venda em lota. Para o ano de 2010, em termos de valor médio (t), o *slipping* foi semelhante no Norte e no Sul mas as quantidades foram inferiores a valores referidos em trabalhos realizados em anos anteriores (Stratoudakis & Marçalo, 2002). A composição do *slipping* por espécie entre as duas zonas é no entanto diferente. A Norte, em exclusivo sardinha e no Sul, sardinha e cavala.

O golfinho-comum (*D. delphis*), por ser o pequeno cetáceo mais abundante ao longo da costa Portuguesa, é a espécie que mais interage com as actividades pesqueiras e nomeadamente com a pescaria de cerco. Na costa Portuguesa, os peixes pelágicos e em particular a sardinha, são as presas preferenciais do golfinho-comum (Silva, 1999), fazendo com que a sua abundância esteja diretamente relacionada com a presença de alimento e em particular com esta presa. Tal como nos resultados apresentados apenas para a costa Ocidental por Wise *et al.* (2007), observou-se em 2010 que as interacções de cetáceos com a pescaria de cerco foram apenas de golfinhos-comuns e coincidiram com os meses em que houve uma maior captura de sardinha, embora aqui a ocorrência de interações tenha sido maior na costa Algarvia comparada com a costa Ocidental. A proporção de interações em 2010 é bastante superior (18%) ao observado por Wise *et al.* (4%), havendo também no presente trabalho pela primeira vez a observação de uma captura accidental que resultou em morte do animal. Este aumento de interações poderá estar relacionado pelo facto do maior número de ocorrências em 2010 ter sido observado ao longo da costa Algarvia, zona que em anos anteriores não fora estudada. De uma forma geral, as interacções com cetáceos e a pescaria de cerco podem ser positivas e/ou negativas. O facto dos cetáceos se aproximarem das embarcações, devido à maior disponibilidade de alimento, é favorável aos animais. No entanto, poderão afugentar os cardumes de peixe alvo de captura pela pesca comercial. Particularmente na pescaria de cerco, os pescadores por vezes referem que a presença dos cetáceos permite observar a presença do cardume de pelágicos, até mesmo concentrá-lo, facilitando a tarefa de pesca. Ocasionalmente, as interacções apresentam-se com efeitos negativos, tanto para os animais (captura accidental e morte) como para a pesca (aumento dos tempos de manobra, danos nas redes e perda de captura).

Conclusões

Dada a variabilidade regional e anual no regime operacional e composição das capturas da frota do Cerco em Portugal continental, tal como ocorrência de interações cetáceos *versus* pesca, aponta para a necessidade de prolongar e intensificar o esforço de observação de maneira a obter resultados mais precisos, com objectivo de obter uma melhor descrição do regime de pesca e do seu impacto no *stock* das espécies capturadas, das rejeições e interações com espécies protegidas.

Agradecimentos

Ao Programa Nacional de Amostragem Biológica (PNAB), parte integrante do *Data Collection Regulation*.

Ao Projeto SAFESEA – Sustentabilidade das artes das pescas locais e promoção de um mar seguro para cetáceos.

Ao Projeto MARPRO – *Conservation in Marine Protected Species in Mainland Portugal* (LIFE09/NAT/PT/038, 2011-2015).

Bibliografia

- DGPA, 2010. *Recursos da Pesca - Série Estatística*. Volume 22 A-B, Lisboa 182.
- Hough A., Nichols J., Scott I., Vingada J. 2010. Portuguese Sardine Purse Seine Fishery (Public Certification Report) in MSC: <http://www.msc.org/track-a-fishery/certified/north-east-atlantic/portugal-sardine-purse-seine/assessment-downloads-1/13.01.2010-portugal-sardine-pcr.pdf>
- ICES, 2011. *Report of the Workshop on Age Reading of European Atlantic Sardine* (WKARAS), 14-18 February 2011, Lisbon, Portugal: 87.
- Marçalo A., Feijó D., Ferreira M., Araújo H., Santos J., Oliveira I., Monteiro S., Miodinski J., Stratoudakis Y., Vingada J. 2011. *Observations of operational interactions between the Portuguese sardine purse seine fishery and cetaceans*. 25th European Cetacean

- Society, March 2011.
- Marçalo A., Marques T., Araújo J., Pousão-Ferreira P., Erzini K., Stratoudakis Y. 2010a. Fishing simulation experiments for predicting effects of purse seine capture on sardines (*Sardina pilchardus*). *ICES Journal of Marine Science* 67: 334-344.
- Marçalo A., Ferreira M., Monteiro S., Oliveira I., Santos J., Araújo H., Goetz S., Read F., Eira C., Vaqueiro J., Nicolau L., Miodonski J., Henriques A., Landeck P., Gomes P., Vingada J. 2010b. Cetacean interactions with fisheries in mainland Portugal: Overview and preliminary results. *SafeSea report to ICES-ICES-SGBYWG /WKRE* V812: 28.
- Marçalo A., Pousão-Ferreira P., Mateus L., Correia J.H.D., Stratoudakis Y. 2008. Sardine early survival, physical condition and stress after live capture at sea and transport to captivity. *Journal of Fish Biology* 72:103-120.
- Marçalo A., Mateus L., Correia J.H.D., Serra P., Fryer R., Stratoudakis Y. 2006. Sardine (*Sardina pilchardus*) stress reactions to purse seine fishing. *Marine Biology* 149: 1509–1518.
- Portaria n.º 1102-G/2000 in *Diário da República, 1ª série B Número 270*, 22 de Novembro de 2000: 6692 (18-20).
- Portaria n.º 251/2010 in *Diário da República, 1ª série, N.º 86*, 4 de Maio de 2010: 1584-1586.
- Silva M.A. 1999. Diet of common dolphins, *Delphinus delphis*, off the Portuguese continental coast. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* , 79: 531-540.
- Stratoudakis Y., Marçalo A. 2002. Sardine slipping during purse-seining off northern Portugal. *ICES Journal of Marine Science*. 59: 1256–1262.
- Wise L., Silva A., Ferreira M., Silva M.A., Sequeira M. 2007. Interactions between small cetaceans and the purse-seine fishery in western Portuguese waters. *Scientia marina* 71: 405–412.
- Wise L., Ferreira M., Silva A. 2005. Caracterização da pesca do cerco na costa oeste portuguesa. *Relatório científico e técnico do IPIMAR 24/2005*: 22.

Observações a bordo da pescaria do cerco: padrão de actividade, composição das capturas, rendimentos de pesca e interações com cetáceos em 2010

Filipe D., Marçal¹, A., Viegas^{2,3,4}, e Silva¹, A.

¹Centro de Estudos de Recursos Aquícolas e Piscícolas (CERAP), Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal; ²Centro de Estudos de Recursos Aquícolas e Piscícolas (CERAP), Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal; ³Centro de Estudos de Recursos Aquícolas e Piscícolas (CERAP), Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal; ⁴Centro de Estudos de Recursos Aquícolas e Piscícolas (CERAP), Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

Introdução



A pescaria de cerco em Portugal é das artes de pesca mais importantes no nosso país, responsável por cerca de 40% em peso dos desembarques no continente. Esta pescaria captura várias espécies de pequenos e médios pelágicos, sendo a sardinha a sua espécie alvo (80% dos seus desembarques). Na cerco, interessa monitorizar as diferentes fases das viagens bem como a composição da captura para obter estimativas do esforço e dos rendimentos de pesca. Podem ocorrer duas situações relativamente ao destino da captura durante as manobras de pesca: "slipping", manobra de libertação deliberada da captura, ou transbordo para posterior desembarque em lota. Algumas espécies de cetáceos têm áreas de distribuição que se sobrepõem à actividade da pescaria de cerco, por serem espécies protegidas (Decreto-Lei nº 263/81), há necessidade de monitorizar as interações destes animais com a pescaria. Este trabalho teve como objetivo estudar o padrão de actividade, a composição das capturas, o rendimento de pesca e as interações com cetáceos ao longo de Portugal continental, durante um ano de pesca.

Material e Métodos

De Janeiro a Dezembro de 2010, foram monitorizadas 46 viagens de cerco (80 lances de pesca) em diferentes portos ao longo da costa portuguesa (Tabela I).

Comparou-se o padrão de actividade, composição das capturas, rendimentos de pesca e interações com cetáceos entre portos do Norte e do Algarve. Os dados dos restantes portos não foram utilizados na análise estatística, por terem um esforço de observação reduzido.

O tempo de duração de viagem, navegação, e procura foram comparados entre costa norte e sul (Algarve) usando um teste One-Way ANOVA. O tempo de operação de pesca, esforço de pesca, rendimento total (CPUE: captura por unidade de esforço) e rendimento de sardinha por lance de pesca foram comparados entre costa norte e sul (Algarve), usando um teste Kruskal-Wallis. O nível de significância foi 5%.

Tabela I. Índice de observação e bordo da frota do cerco em 2010. Dados de Portugal até à zona do Algarve. Centro e Norte e Algarve desde ao porto de pesca. Esforço, número de viagens e lances observados.

Porto	Esforço	Nº viagens	Nº lances
Norte	100	10	20
Centro	100	10	20
Algarve	100	10	20
Total	300	30	60

Tabela II. Rendimentos de actividade da frota do cerco em 2010, por zona, em termos de tempo médio por viagem de busca, navegação, captura e "slipping", e percentagem de ocorrência de "slipping", em função do regime de actividade (Norte: N e Sul: S).

Regime	Tempo médio (min)	% "slipping"
Norte	100	10
Sul	100	10
Total	100	10

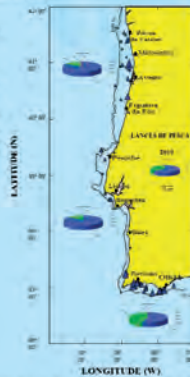


Figura 1. Distribuição geográfica dos lances realizados pela frota do cerco, nas áreas definidas a bordo das viagens (durante 2010). O tamanho das setas indica o proporcional ao rendimento de cerco total (CPUE), e o tamanho das setas indica o esforço de pesca. O tamanho das setas indica o tamanho do esforço de pesca observado e o tamanho das setas indica o tamanho do esforço de pesca observado e o tamanho das setas indica o tamanho do esforço de pesca observado.

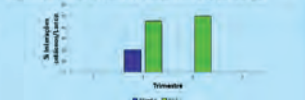


Figura 4. Percentagem de interações observadas (frequência/atividade de animais por unidade de esforço) por mês de pesca de cerco por transbordo, para o Norte (N) e para o Sul (S) de Portugal.

Resultados

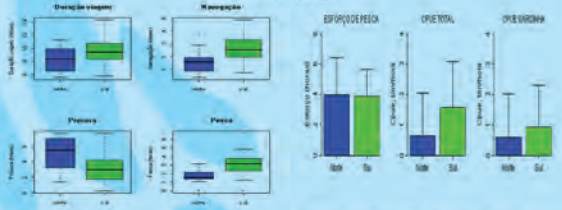


Figura 1. Análise dos rendimentos da frota do cerco, em termos de tempo médio por viagem (busca, navegação, captura e "slipping"), e percentagem de ocorrência de "slipping", em função do regime de actividade (Norte: N e Sul: S).

Em termos de regime de actividade da frota do cerco (Figura 1), os resultados mostraram que não há diferenças significativas na duração das viagens ($P > 0.05$), havendo diferenças significativas relativamente aos tempos de procura ($P < 0.05$), navegação ($P < 0.001$) e operações de pesca ($P < 0.001$). A duração das viagens é semelhante em ambas as áreas (média 8-9 horas), embora no norte grande parte do tempo da viagem tenha sido utilizado na procura de cardumes e no sul na navegação e operações de pesca significativamente mais duradouras.

No que diz respeito aos desembarques em lota (Figura 2), o esforço de pesca não apresentou diferenças significativas entre as zonas norte e sul: em média, foram despendidas 3,9 horas nas actividades de pesquisa e pesca para cada lance. O rendimento de pesca foi significativamente mais elevado no sul comparativamente ao norte, sobretudo devido às elevadas capturas de cavala no sul. No entanto, a sardinha foi a espécie mais capturada nas duas zonas com rendimentos por lance de pesca, não diferindo significativamente entre as zonas.

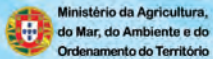
As interações da pesca com cetáceos coincidiram com os meses em que houve uma maior captura de sardinha no norte do país (2º trimestre), ocorrendo em cerca de 20 % dos lances. No sul, as interações aconteceram em cerca de 40 a 50 % dos lances no 2º e 3º trimestre do ano (Figura 4). A única espécie de cetáceo a interagir foi o golfinho-comum (*Delphinus delphis*). Nos 80 lances de pesca, foram observadas 14 interações que resultaram apenas numa captura accidental e desta, a morte de um animal.

Conclusões

Em 2010, observou-se um esforço de pesca uniforme, no entanto a CPUE total foi relativamente mais baixo no norte no 2º semestre. A sardinha foi a espécie mais capturada no cerco, com capturas predominantes a norte. No sul, as capturas de sardinha e cavala foram semelhantes.

Dada a variabilidade regional e anual no regime operacional e composição das capturas da Frota do Cerco em Portugal Continental, tal como ocorrência de interações cetáceos versus pesca, aponta para a necessidade de prolongar e intensificar o esforço de observação de maneira a obter resultados mais precisos, com objectivo de obter uma melhor descrição do regime de pesca e do seu impacto no stock das espécies capturadas e das rejeições.

Ao Programa Nacional de Amostragem Biológica (PNAB), parte integrante do Data Collection Regulation
 Ao Projeto SAFISEA - Sustentabilidade das artes de pesca locais e promoção de um mar seguro para cetáceos.
 Ao Projeto MARPRO - Conservation in Marine Protected Species in Mainland Portugal (LIFE09/NAT/PT/038, 2011-2015).



IV Fórum Ibero-Americano dos Recursos Marinhos e da Aquicultura, 27 a 29 Outubro 2011, Vila do Castelo

Osmoregulation and energy metabolism in the thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) submitted to different environmental salinities

Pujante^{1*} I.M., Martos-Sitcha^{1,2} J.A., Ruiz-Jarabo¹ I., Mancera¹ J.M.

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz, España. *E-mail: Isabel.pujante@uca.es

²Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Puerto Real 11510, Cádiz, España.

Abstract

Thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) is a marine teleost of the Mugilidae family very common in the estuaries of Cadiz Bay, having a great importance for aquaculture in this area. This euryhaline specie is characterized by amphidromic life cycles, migrating to estuarine areas for feeding and other physiological process. The influence of four environmental salinities (high salinity water, 55 ppt; seawater, 40 ppt; brackish water, 12 ppt and fresh water, 0 ppt) on osmoregulation and energy metabolism of juvenile *C. labrosus* was assessed. Immature specimens ($n=48.31 \pm 2$ g mean initial body weight) were randomly distributed into four tanks (12 fish per tank) and maintained under experimental salinities in a re-circulating system during 21 days. At the end of the experiment, specimens were weighed, measured and sampled for metabolic and osmoregulatory parameters. Plasma cortisol and glucose levels were significantly higher in low salinities ($12 > 0 > 40 > 55$ ppt). These changes could indicate that fish reared at 0 and 12 ppt were under stress situation facing extra energy costs. Plasmatic osmolality did not change in the salinity range tested, indicating a good osmoregulatory capacity of the specie. Gill Na^+, K^+ -ATPase activity will be presented and discussed under this hypothesis. At hepatic level glucose and triglyceride enhanced, while glycogen values decreased in specimens acclimated to low salinities

(0 and 12 ppt). Muscle metabolite levels increased in specimens acclimated to the highest salinity (55 ppt). These results suggest that juvenile of *C. labrosus* are strongly euryhaline, but acclimation to extreme salinities comes with an energetic cost.

Keywords

Thick-lipped grey mullet, osmoregulation, metabolism.

Introduction

Thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*, Risso, 1827) is a teleost of high commercial value, which production could be a good option for diversification of aquaculture in the Southern of Spain. This species is characterized by amphidromic life cycles, with migrations between areas with different environmental salinities according to the stage of the life of the specimens (Cardona, 2006). Its culture can be performed in estuarine areas as well as in earthen ponds. The water salinity in these areas is subjected to great changes depending on weather conditions. Thus, in times of heavy rains that salinity can decrease significantly, while in the summertime greatly increases. As the rest of euryhaline fish, *C. labrosus* adapts well to changes in environmental salinity without showing significant alterations in behavior and stress level in a short time (Marrero, 2008). However, long periods in fresh water can induce death, because this species is unable to sustain a hyperosmoregulatory capacity during long time (Laserre and Gallis, 1975). Previous studies in *C. labrosus* have shown that Na^+, K^+ -ATPase activity is involved into gill sodium excretion in seawater and sodium reabsorption by renal tubules in fresh water environments (Gallis and Bourdichon, 1976; Gallis *et al.*, 1979). However, nowadays there is no data about the changes in metabolic activity during the adaptation of *C. labrosus* to fresh water and high salinity water. The aim of this study was to analyze the influence of environmental salinity on the osmoregulatory system and metabolism of thick-lipped grey mullet to determine the range of euryhalinity of this specie as well as the optimal salinity of the culture. At this optimal salinity, reducing metabolic cost of osmotic regulation could improve growth and feed utilization by the specimens (Boeuf and Payan, 2001).

Materials and methods

The experiment was carried out in our facilities (University of Cádiz, Spain), with juvenile specimens of thick-lipped grey mullet ($n=48$, initial mean body weight of 31.0 ± 2.8 g) obtained from natural earthen ponds and acclimated to our facilities. Four homogenous groups (12 animals per tank) were randomly distributed in tanks of 400 L with different environmental salinities (fresh water: 0 ppt; brackish water: 12 ppt; sea water: 40 ppt; and high salinity water: 55 ppt) and maintained in a re-circulating system under natural photoperiod conditions (February-March, 2010) during 21 days. Fish were fed with the 1 % of their body weight. Before the experiment, fish were weighed and measured. At the end of the trial specimens were sacrificed, weighed, measured and different tissues obtained (plasma, liver and muscle). Metabolic parameters (glucose, lactate, glycogen and triglycerides) were determinate in these samples using commercial kits. In addition, osmoregulatory parameters were assessed both in plasma (cortisol and osmolality) as well as in gill and kidney (Na^+ , K^+ -ATPase activity).

Differences between groups were tested by one-way ANOVA using the different environmental salinities as a factor of variance. Homogeneity of variances was analyzed with Levene's test. When P values showed significance, individual means were compared using Tuckey's post-hoc test. Statistical significance was accepted at $P < 0.05$. When not satisfied the normality of the data, we applied the logarithm base 10 transformation.

Results and discussion

Table I presented growth rates of juveniles specimens of *C. labrosus* acclimated to different experimental salinities during 21. Weight gain percentage was highest in fish acclimated to brackish water (12 ppt), while the lowest values were observed in fresh water (0 ppt) group. The rest of parameters did not show significant differences between groups, probably due to the short period of the experiment.

Table I.- Biometric parameters of specimens of *C. labrosus* acclimated to different salinities. Data are presented as mean \pm SEM (n= 12). Different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). K: condition factor; SGR: specific growth ratio; WG: weight gain; HSI: hepatosomatic index.

	0 ppt	12 ppt	40 ppt	55 ppt
Initial weight (g)	33.6 \pm 2.7	31.7 \pm 4.0	24.7 \pm 1.9	33.7 \pm 2.9
Initial size (cm)	14.1 \pm 0.4	13.9 \pm 0.5	13.0 \pm 0.3	13.8 \pm 0.4
Final weight (g)	33.8 \pm 2.8	34.5 \pm 4.2	27.3 \pm 1.9	35.1 \pm 3.0
Final size (cm)	14.2 \pm 0.4	14.1 \pm 0.5	13.1 \pm 0.3	14.1 \pm 0.4
K (%)	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1
SGR (%)	0.0 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0
WG (%)	-1.4 \pm 2.2 ^a	13.2 \pm 2.2 ^b	8.3 \pm 1.6 ^b	6.8 \pm 1.2 ^b
HSI (%)	1.8 \pm 0.1	1.7 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	1.9 \pm 0.2

Different authors have described in some euryhaline species, including *C. labrosus*, that the relationship between gill Na⁺,K⁺-ATPase activity and environmental salinity presented a “U-shaped” curve (Gallis *et al.*, 1979; Laiz-Carrión *et al.*, 2005; Herrera *et al.*, 2009). In our study, this enzymatic activity showed a similar pattern, with the highest activities at extreme salinities (0 and 55 ppt) and the lowest in brackish water environments (12 ppt) (Fig. 1a). However, kidney Na⁺,K⁺-ATPase activity presented an inverse linear relationship respect to environmental salinity, reducing its activity with increasing salinity (Fig. 1b). Plasma osmolality levels enhanced with salinity, but significant differences were not detected between groups (Fig. 1c).

In some euryhaline teleost (i.e. gilthead sea bream *Sparus aurata*) plasma cortisol increased when environmental salinity decreased (Mancera *et al.*, 1993). This coupled with a parallel enhancement in plasma glucose levels, indicating a state of hyperglycemia in specimens under these environmental conditions. Our results showed the same pattern of change (Fig. 2a and 2b), suggesting that acclimation to low environmental salinities (0 and 12 ppt) induce a stress situation with enhanced plasma cortisol and glucose levels. The observed high plasma cortisol values with low plasma glucose levels in specimens maintained under freshwater conditions could be ascribe to an enhancement of glucose consumption under this environmental salinity.

The rest of plasmatic parameters (triglycerides and lactate) did not show any significant differences (Table I). Hepatic levels of glucose and triglycerides presented high values in specimens acclimated to 12 ppt (Table I), in agreement with plasmatic cortisol and glucose values. On the

other hand, muscle metabolites showed no significant differences between experimental groups, although the lowest values were observed at extreme salinities (0 and 55 ppt) (Table II).

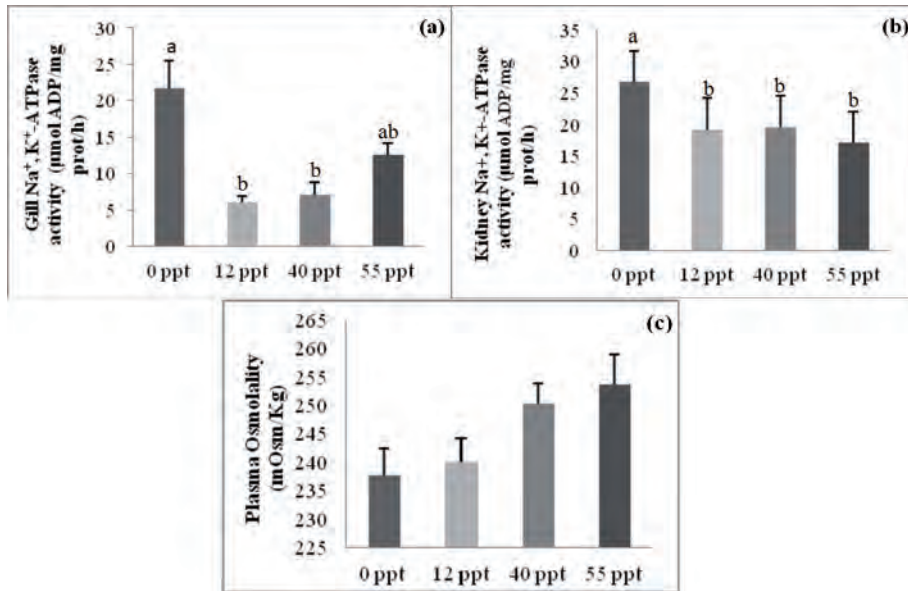


Figure 1.- Osmoregulatory parameters: (a) gill Na^+, K^+ -ATPase activity; (b) kidney Na^+, K^+ -ATPase activity; and (c) plasma osmolality in specimens of *C. labrosus* acclimated to different environmental salinities by 21 days. Data are presented as mean \pm SEM (n= 12). Different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

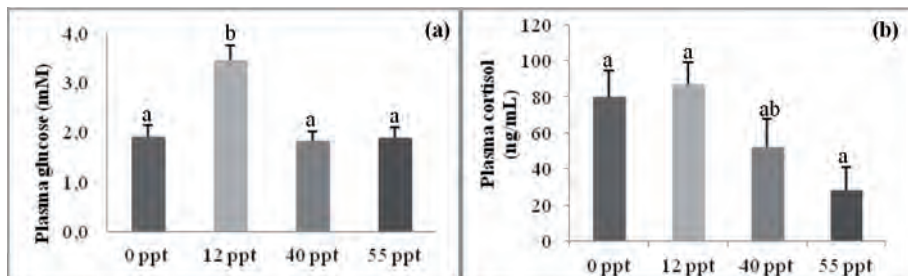


Figure 2.- Plasmatic stress parameters of stress (a, glucose; b, cortisol), determined in specimens of *C. labrosus* acclimated to different environmental salinities by 21 days.. Data are presented as mean \pm SEM of groups (n= 12). Different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

Table II.- Plasmatic, hepatic and muscular metabolites in juvenile *C. labrosus* specimens acclimated to different experimental salinities during 21 days. Dates are presented as mean \pm SEM. Different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

	0 ppt	12 ppt	40 ppt	55 ppt
Plasma				
Lactate (mM)	1.9 \pm 0.2	2.2 \pm 0.2	2.1 \pm 0.2	2.4 \pm 0.2
Triglycerides (mM)	1.13 \pm 0.07 ^a	0.77 \pm 0.05 ^b	0.69 \pm 0.04 ^b	0.77 \pm 0.07 ^b
Liver				
Glucose (μ mol glc/g pf)	78.9 \pm 3.4 ^a	81.1 \pm 3.9 ^a	57.9 \pm 8.1 ^b	48.8 \pm 3.7 ^b
Glycogen (μ mol gly/g pf)	206.1 \pm 9.2 ^a	194.9 \pm 13.0 ^a	199.4 \pm 14.5 ^a	276.4 \pm 13.5 ^b
Triglycerides (μ mol TAG/g pf)	3.6 \pm 0.2 ^{ab}	4.2 \pm 0.2 ^a	2.9 \pm 0.2 ^{bc}	2.6 \pm 0.2 ^c
Muscle				
Glucose (μ mol glc/g pf)	29.8 \pm 2.0 ^{ab}	31.2 \pm 3.3 ^{ab}	35.9 \pm 3.1 ^a	23.5 \pm 1.8 ^b
Glycogen (μ mol gly/g pf)	36.5 \pm 3.0	37.7 \pm 3.1	47.5 \pm 4.3	42.5 \pm 4.0
Triglycerides (μ mol TAG/g pf)	1.9 \pm 0.2 ^a	2.0 \pm 0.1 ^a	2.4 \pm 0.2 ^a	3.3 \pm 0.2 ^b
Lactate (μ mol lac/g pf)	50.2 \pm 4.0 ^{ab}	45.4 \pm 3.9 ^a	60.4 \pm 3.3 ^b	53.6 \pm 3.5 ^{ab}

These results indicate that *C. labrosus* is able to adapt to a wide range of environmental salinities, at least during the experimental period of 21 days, carrying out scarce changes in osmoregulatory and metabolic parameters. Changes in gills and kidney Na⁺, K⁺-ATPase activities as well as absence of any change in plasma osmolality values confirm the good osmoregulatory capacity of this species submitted to changes in external salinity. In addition, the energy requirements needed to support these environmental alterations are covered by plasmatic and hepatic metabolites, adapting the metabolic state to environmental conditions.

Conclusions

Juvenile specimens of *Chelon labrosus* were able to osmoregulate and grow in different environmental salinities (fresh water, brackish water and high salinity water) during the experimental period tested (21 days).

Modifications in environmental salinity induced metabolic reorganization in different

tissues (plasma, liver and muscle) to compensate osmoregulatory changes induced by salinity acclimation.

Chelon labrosus is a strongly euryhaline species, but acclimation to extreme environmental salinities involve to energy expenditure.

Acknowledgements

The authors wish to thank *Estero Leocadia* (Cádiz, Spain) for providing experimental fish. This work was funded by project AGL2010-14876 from MICINN to JMM. JAM-S is supported by a predoctoral fellowship (FPU, Reference AP2008-01194) from Ministry of Education (Spain).

References

- Boeuf G., Payan P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry Physiology*, 130: 411-423.
- Cardona L. 2006. Habitat selection by grey mullets (Osteichthyes: Mugilidae) in Mediterranean estuaries: the role of salinity. *Scientia Marina*, 70 (3): 443-455.
- Gallis J.L., Bourdichon M. 1976. Changes of (Na⁺- K⁺) dependent ATPase activity in gills and kidneys of two mullets *Chelon labrosus* (Risso) and *Liza ramada* (Risso) during fresh water adaptation. *Biochimie*, 58: 625-627.
- Gallis J.L., Lasserre P., Belloc F. 1979. Freshwater adaptation in the euryhaline teleost, *Chelon labrosus*: I. Effects of adaptation, prolactine, cortisol and actinomycin D on plasma osmotic balance and (Na⁺- K⁺) ATPase in gill and kidney. *General and Comparative Endocrinology*, 38: 1-10.
- Herrera M., Vargas-Chacoff L., Hachero I., Ruiz-Jarabo I., Rodiles A., Navas J.I., Mancera J.M. 2009. Osmoregulatory changes in wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) after acclimation to different environmental salinities. *Aquaculture Research*, 40: 762-771.
- Laiz-Carrión R., Sangiao-Alvarellos S., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Soengas J.L., Mancera J.M. 2005. Growth performance of gilthead sea bream *Sparus aurata* in different osmotic conditions: Implications for osmoregulation and energy

metabolism. *Aquaculture*, 250: 849-861.

Lasserre P., Gallis J.L. 1975. Osmoregulation and differential penetration of two grey mullets, *Chelon labrosus* (Risso) and *Liza ramada* (Risso) in estuarine fish ponds. *Aquaculture*, 5: 323-344.

Mancera J.M., Pérez-Figares J.M., Fernández-Llebrez P. 1993. Osmoregulatory responses to abrupt salinity changes in the euryhaline gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 106 A, 2: 245-250.

Marrero M.J. 2008. Estrés osmóticos en *Chelon labrosus* (Risso, 1827). *Anales Universitarios de Etología*, 2: 56-61.

OSMOREGULATION AND ENERGY METABOLISM IN THE THICK-LIPPED GREY MULLET (*Chelon labrosus*) SUBMITTED TO DIFFERENT ENVIRONMENTAL SALINITIES



Pujante¹ I.M., Martos-Sitcha^{1,2} J.A., Ruiz-Jarabo¹ I. and Mancera¹ J.M.
¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz, España.
 E-mail: icabel.pujante@uca.es
²Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Puerto Real 11510, Cádiz, España.



INTRODUCTION

Thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*, Risso, 1827) is a teleost of high commercial value, which production could contribute a good option for diversification of aquaculture in the Southern of Spain. This species is characterized by amphidromic life cycles, with migrations between areas with different environmental salinities according to the stage of the life of the species (Cardona, 2006). Its culture can be performed in estuaries as well in earthen ponds. The water salinity in these areas is subjected to great changes depending on weather conditions. Thus, in times of heavy rains that salinity can decrease significantly, while in the summertime greatly increases. However, *C. labrosus* is characterized by amphidromic life cycles. All of these characteristics make it a species capable of withstanding wide ranges of environmental salinity. As the rest of euryhaline fish, *C. labrosus* adapts well to changes of environmental salinity without showing significant alterations in behavior and stress level in a short time (Marrero, 2008). However, long periods in fresh water can induce death, because this species is unable to sustain a hyperosmoregulatory capacity during long time (Lasere and Gallis, 1975). Previous studies in *C. labrosus* have shown that Na⁺, K⁺-ATPase activity is involved into gill sodium excretion in seawater and into sodium reabsorption by the renal tubules in fresh water environments (Gallis and Bourdichon, 1976; Gallis et al., 1979). However, nowadays there is no data about the changes in metabolic activity during the adaptation of *C. labrosus* to fresh water and high salinity water.



The aim of this study was to analyze the influence of environmental salinity on the metabolism of thick-lipped grey mullet to determine the range of euryhalinity of this specie as well as the optimal salinity of the culture. At this optimal salinity, reducing metabolic cost of osmotic regulation could improve growth and feed utilization by the specimens (Boeuf and Payan, 2001).

MATERIALS AND METHODS

The experimental period was 21 days. Initial mean body weight was 31.0 ± 2.8 g



Metabolic Parameters
 Glucose, Lactate, Glycogen and Triglycerides

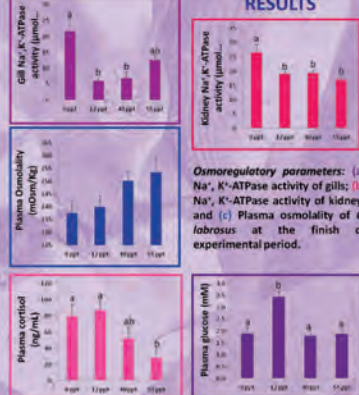
Osmoregulatory Parameters
 Na⁺, K⁺-ATPase activity, cortisol and osmolality

CONCLUSIONS

- Juvenile specimens of *Chelon labrosus* were able to osmoregulate and grow in different environmental salinities (fresh water, brackish water and high salinity water) during the experimental period tested (21 days).
- Modifications in environmental salinity induced metabolic reorganization in different tissues (plasma, liver and muscle) to compensate osmoregulatory changes induced by salinity acclimation.
- Chelon labrosus* is a strongly euryhaline species, but acclimation to extreme environmental salinities involve to energy expenditure.

The authors wish to thank Estero Lecodida (Cádiz, Spain) for providing experimental fish. This work was funded by project AGL2010-14876 from MICINN to JMM. JAM-S is supported by a predoctoral fellowship (FPU, Reference AP2008-01194) from Ministry of Education (Spain).

RESULTS



Osmoregulatory parameters: (a) Na⁺, K⁺-ATPase activity of gills; (b) Na⁺, K⁺-ATPase activity of kidney; and (c) Plasma osmolality of *C. labrosus* at the finish of experimental period.

Parameters of stress: (a) Plasmatic cortisol; and (b) Plasmatic glucose, determined in juvenile of *C. labrosus* at the finish of experimental period.

	0 ppt	12 ppt	40 ppt	55 ppt
Plasma				
Lactate (mM)	1.9 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.4 ± 0.2
Triglycerides (mM)	1.13 ± 0.07 ^a	0.77 ± 0.05 ^a	0.69 ± 0.04 ^a	0.77 ± 0.07 ^a
Liver				
Glucose (μmol gly/g ppt)	78.9 ± 3.4 ^a	81.1 ± 3.9 ^a	57.9 ± 8.1 ^a	68.8 ± 3.7 ^a
Glycogen (μmol gly/g ppt)	206.1 ± 9.2 ^a	194.9 ± 13.0 ^a	199.4 ± 14.5 ^a	276.4 ± 13.5 ^a
Triglycerides (μmol TAG/g ppt)	3.6 ± 0.2 ^a	4.2 ± 0.2 ^a	2.9 ± 0.2 ^a	2.6 ± 0.2 ^a
Muscle				
Glucose (μmol gly/g ppt)	29.8 ± 2.0 ^a	31.2 ± 3.3 ^a	35.9 ± 3.1 ^a	23.5 ± 1.8 ^a
Glycogen (μmol gly/g ppt)	36.5 ± 3.0	37.7 ± 3.1	47.5 ± 4.3	42.5 ± 4.0
Triglycerides (μmol TAG/g ppt)	1.9 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	3.3 ± 0.2 ^a
Lactate (μmol lac/g ppt)	50.2 ± 4.0 ^a	45.4 ± 3.9 ^a	60.4 ± 3.3 ^a	53.6 ± 3.5 ^a

Plasmatic, hepatic and muscular metabolites in juvenile *C. labrosus* specimens acclimated to different experimental salinities during 21 days.

Preengorde en el medio natural de semilla de almeja babosa (*Venerupis pullastra*) y coquina (*Donax trunculus*) en sistemas de flujo forzado invertido y flujo lineal

Guerra¹ A., Lastres² M., Rivas² M.C., Ancosmede³ C., De Santiago³ J.A.

¹Centro de Investigaci3n Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia, Vilanova de Arousa. 36620 Pontevedra.

²Instituto Galego de Formaci3n en Acuicultura (IGAFA). Illa de Arousa. Pontevedra.

³Fundaci3n CETMAR, Vigo, Pontevedra.

Resumen

La rentabilidad de los criaderos de moluscos bivalvos est1 asociada a la producci3n masiva y estable de semilla. Por ello debe disponerse de sistemas de preengorde de semilla -semilleros-, eficientes y con bajos costes operativos que permitan mantener la semilla de peque1o tama1o hasta lograr la talla adecuada (> 10 mm), para siembra directa y cultivo en el medio natural.

En un semillero flotante experimental, ubicado en un pantal1n del muelle deportivo de Camari1as (A Coru1a), en este *flupsy*, se realizan pruebas de preengorde en sistemas de contenedores con flujo invertido forzado por aire y con flujo lineal, respectivamente. Los ensayos se efect1an con semilla de criadero de diferente talla de almeja babosa (*Venerupis pullastra*) y de coquina (*Donax trunculus*).

Se preengordan lotes de semilla empleados de almeja babosa son de clase: T1 (1,5 ± 0,7 mm), T2 (3,0 ± 1,1 mm) y T3 (4,5 ± 1,4 mm) en sistemas de flujo invertido. Simult1neamente se preengordan, en sistemas de flujo lineal, lotes de semilla con talla ajustada al sistema: T2,

5 ($3,2 \pm 1,3$ mm), T3 ($4,5 \pm 1,4$ mm) y T5 ($7,0 \pm 1,7$ mm). En ambos casos, a los 30 días se consigue la talla objetivo (> 10 mm). Las tasas de recaptura superan en ambos sistemas el 95%. En este período de preengorde la biomasa de almejas se sextuplica en flujo invertido, y se consigue un incremento inferior ($\times 4,5$) en flujo lineal. Es en el lote de semilla de menor talla (T1) en el que se observa mayor incremento en talla y peso.

Con los lotes de semilla de coquina, de clase de talla T1 ($1,96 \pm 0,18$ mm) y peso ($1,46 \pm 0,00$ mg), se evalúa si se adaptan al sistema de preengorde en semillero exterior con flujo forzado invertido.

Se consolida con este sistema la posibilidad de preengordar en el medio natural, semilla de criadero a partir de talla 1,5 mm o inferior a partir de semilla retenida en tamiz de 600 μm .

Introducción

El éxito de un criadero de moluscos bivalvos se basa en la producción masiva de semilla de almeja de talla adecuada (>10 mm) para siembra y cultivo en el medio natural. A partir de este tamaño y siguiendo los métodos tradicionales de siembra y cultivo en el medio natural se alcanza la talla comercial.

Los criaderos están preparados para producir grandes cantidades de pequeña semilla, (1-2 mm) pero su capacidad productiva está muy limitada y los costes operativos, de mantenimiento y los riesgos aumentan de forma gradual, cuando la semilla permanece en la instalación para alcanzar mayor tamaño. Por ello se precisa definir sistemas en el medio natural, eficientes y de bajo coste, que permitan gestionar esta semilla hasta que alcance la talla adecuada para la siembra directa y cultivo en el exterior. Implementar sistemas sencillos y eficientes en el medio natural, en los cuales la semilla procedente del criadero alcance la talla de siembra, es fundamental para el éxito comercial de la producción.

En numerosos trabajos se describen y analizan sistemas y métodos de preengorde. En este trabajo analizamos la talla mínima en que se puede manejar la semilla de dos especies de moluscos obtenida en criadero, utilizando un sistema de preengorde ubicado en un recinto portuario. Se pretende definir el protocolo para el manejo de la semilla hasta una talla (> 10 mm), que Royo (2007) considera como la mínima para la siembra en el exterior. Este aspecto también se pone de manifiesto en reuniones con organizaciones del sector marisquero de Galicia (Guerra, 2010) que señalan esta talla como la más adecuada para sembrar directamente en las zonas de cultivo.

Objetivos

- ❖ Analizar un sistema de flujo forzado invertido para el cultivo de semilla de almeja babosa en medio natural.
- ❖ Comparar los resultados con un sistema de flujo lineal.
- ❖ Valorar el preengorde de semilla de coquina en ambos sistemas suspendidos.

Materiales y métodos

1.- La semilla

La semilla de ambas especies procedió de criadero. La experiencia se realizó con los tamaños (Li) y pesos (Pi) que se indican en la tabla I.

La experiencia en cada ubicación y contenedor, se inició simultáneamente a partir de muestras de biomasa homogéneas, para su posterior comparación respecto de los parámetros que se indican.

2.- El sistema de cultivo

El semillero es una plataforma flotante (Fig. 1) con un sistema de flujo forzado invertido *flupsy*, ubicado en el pantalán del muelle deportivo de Camariñas (A Coruña). Al inicio del cultivo los contenedores para el flujo forzado invertido son del tipo de bandejas apiladas, con una malla de 600 μm en la base y 707 cm^2 de superficie (Fig. 1A). Posteriormente para la semilla >2 mm, se utilizan los contenedores descritos por De Santiago *et al.* (2008), de 962 cm^2 de base (Fig. 1B).

Para el cultivo de semilla en flujo lineal, se utilizan cajas de polietileno, apilables de la casa comercial TEPESA (tamaño 50x34x12 cm) perforadas (de 2 mm de poro), con 1.500 cm^2 de superficie, según se describe en Villar (2011) (Fig. 1C).

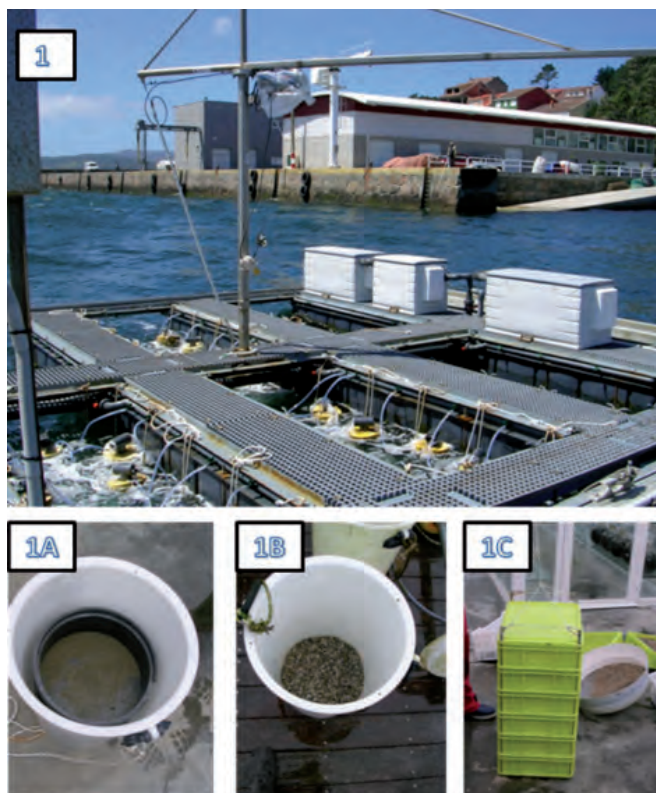


Figura 1.- Sistema de preengorde de semilla en el semillero de Camariñas (A Coruña). En flujo forzado invertido: 1A, en bandejas apiladas para semilla a partir de 1 mm. 1B, directamente en cubo contenedor a partir de semilla de 3 mm. En flujo lineal: 1C, en cajas apiladas suspendidas de la estructura del semillero, para semilla mayor de 3 mm.

3. Registro de temperaturas.

Los datos de la temperatura en el pantalán en el que se ubica el semillero, se tomaron automáticamente cada 2 horas, a lo largo del periodo de la experiencia, mediante un registrador (Stow Away Tidbit).

Las tallas y pesos iniciales de la semilla se recogen en la tabla I. La periodicidad de los muestreos en cada unidad de cultivo fue de 30 días. Para valorar el crecimiento se controlan los siguientes parámetros:

- ❖ Longitud (L): mediante medición antero-posterior de 50 individuos recogidos al azar con calibre Mitutoyo de precisión $\pm 0,01$ mm.
- ❖ La biomasa total (g) de la muestra se registró, una vez transcurridos 30 minutos fuera del agua. El peso individual (W_i), se obtuvo para cada lote, empleando 6 muestras al azar. Cada muestra de 50 unidades se pesó en balanza de 0,01 g de precisión.
- ❖ Crecimiento. Se calcularon tasas instantáneas de crecimiento G30 para 30 días (Claus, 1981), en peso (W) y longitud (L), mediante la relación:

$$\diamond GL30 = 30/t \times \ln (L_f/L_0)$$

$$\diamond GW30 = 30/t \times \ln (W_f/W_0)$$

W_f y W_i , L_f y L_i son los pesos húmedos y longitudes individuales finales e iniciales, respectivamente.

t el número de días de cultivo entre muestreos sucesivos.

ln (logaritmo neperiano).

Con el fin de determinar si hubo diferencias de crecimiento se utilizó el test de comparación de medias de la “t” de Student, que permite comprobar la existencia de diferencias significativas entre las tallas medias de dos muestreos consecutivos, para cada uno de los lotes de semilla.

I.- Pruebas de preengorde de semilla de almeja babosa

- a. En flujo forzado invertido. Primer período (30 días).
 - ◇ En 3 bandejas apiladas de malla 600 μ m.
 - ◇ Biomasa inicial, 100 g de semilla T1 ($1,5 \pm 0,7$ mm), T2 ($3,0 \pm 1,1$ mm) y T3 ($4,5 \pm 1,4$ mm), que representa alrededor de 1,5 kg/m².
- b. En flujo forzado invertido. Segundo período (a partir del día 30).
 - ◇ En 2 cubos con malla en fondo de 2 mm (descritos en De Santiago *et al.*, 2008).
- c. En flujo lineal.
 - ◇ Biomasa inicial, 200 g de semilla con tallas: T2,5 ($3,2 \pm 1,2$ mm), T3 ($4,5 \pm 1,4$ mm) y T5 ($7,0 \pm 1,7$ mm). Esto supone una biomasa de almejas entorno a 1,5 kg/m².

En ambos sistemas, de bandejas apiladas en flujo forzado y de cajas apiladas en flujo lineal, se iniciaron las pruebas con similar biomasa de semilla de almeja, alrededor de 1,5 kg/m².

II.- Preengorde de semilla de coquina

a. En flujo forzado invertido.

- ◇ En 2 bandejas apiladas de malla 600 μm .
- ◇ Biomasa inicial, 100 g de semilla T 1 ($1,5 \pm 0,7$ mm), en dos réplicas de 100 g/bandeja. Biomasa inicial por unidad de superficie del sistema: 1,5 kg/m².

4. Supervivencia

Al final del cultivo, se estimó la supervivencia en base a la mortalidad observada en cada uno de los muestreos, referida al total de la población utilizada en el ensayo.

Resultados

a) Temperatura

En la figura 2 se recogen los datos de temperaturas, máxima, mínima y media en el período en el que se realizaron las pruebas. Los valores varían en un rango de 15 °C a 21 °C.; con oscilaciones entre la máxima y la mínima de 2 °C. Esto confiere a la ubicación una gran estabilidad de este parámetro, aspecto importante en el preengorde y cultivo de estas especies.

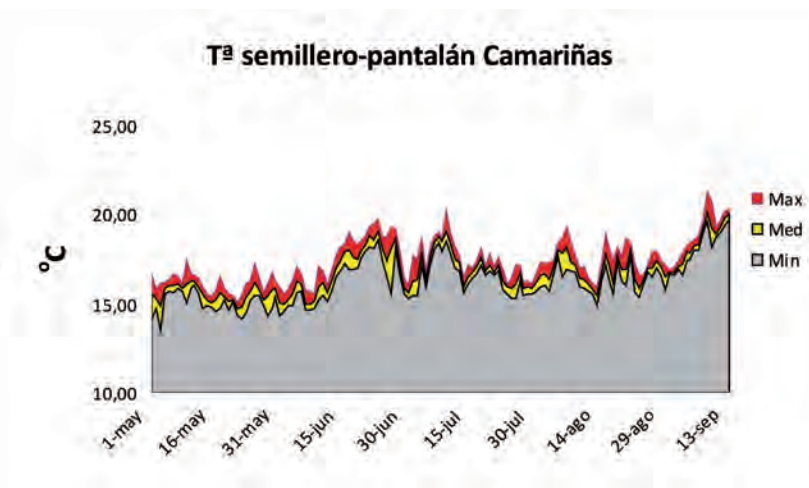


Figura 2.- Registros (cada 2 h) de temperaturas en el pantalán-semillero.

b) Preengorde de semilla

b.1.- Almeja babosa

En la figura 3 se indica la evolución de la semilla de almeja babosa, de tres clases de talla inicial (T1, T2, T3) que se mantiene hasta el día 30 en bandejas apiladas de flujo invertido. A partir de entonces pasan a 2 cubos (T1 y T2+T3 en el mismo sistema), hasta el día 47 de cultivo. A partir de este momento la semilla se desdobra y mantiene simultáneamente en sistemas de flujo forzado (T1 y INVG) y flujo lineal (LG y LP).

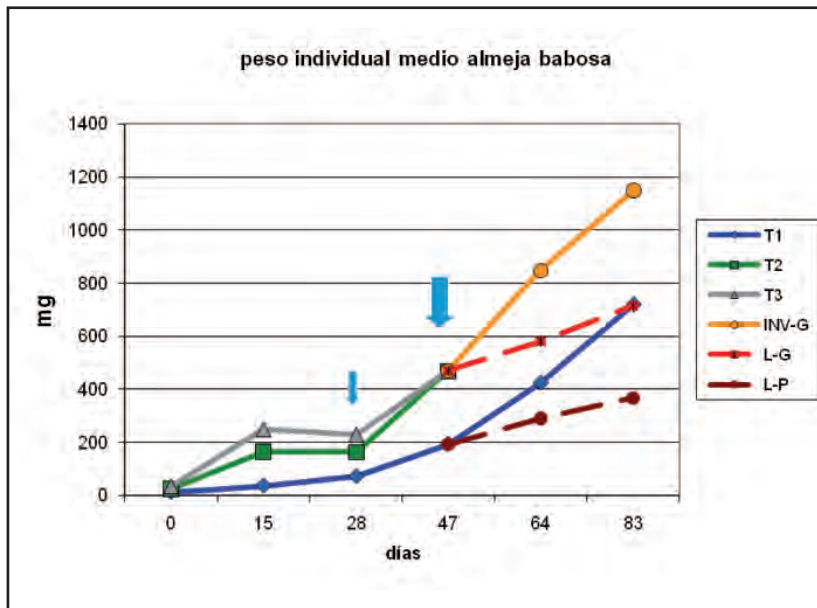


Figura. 3.- Crecimiento en peso (g) de la semilla de almeja babosa.

En la figura 4 se indica el incremento en biomasa de las distintas clases de semilla. La biomasa de T1 a los 47 días de cultivo prácticamente iguala a la suma de T2+T3.

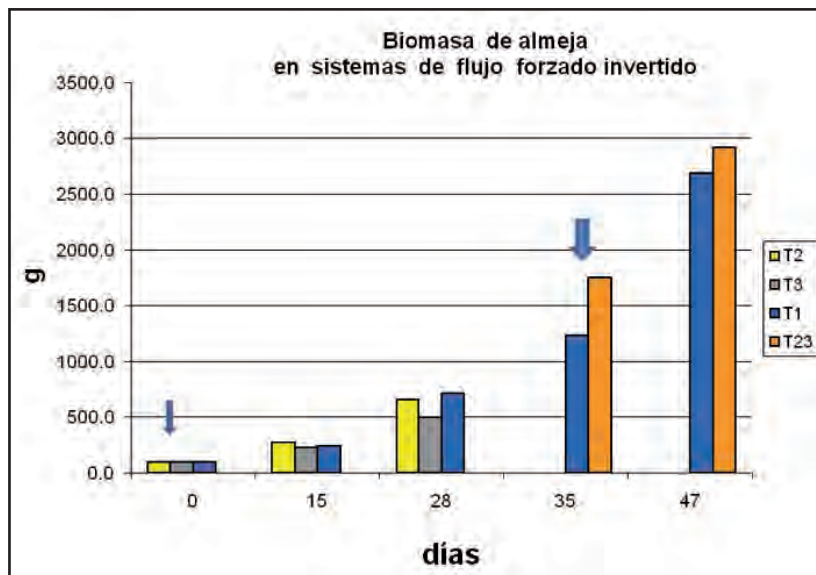


Figura 4.- Incremento de biomasa en tres bandejas en sistema de flujo forzado invertido, hasta el día 35. Pasando a partir del día 35 a dos cubos contenedores en el mismo sistema, y uniendo la semilla de la clase inicial T2 y T3.

En la tabla I, se resumen los resultados de la prueba de preengorde iniciada con 100 g de semilla de clase T1, T2 y T3 en flujo forzado invertido y simultáneamente en flujo lineal, con 200 g de semilla T/2,5; T/3 y T/5. En el sistema de flujo invertido en el período comprendido entre 15 y 30 días de cultivo, se observa (Tablas I y II) un escaso o nulo crecimiento de la semilla, hecho que coincide con un episodio de suspensión de sólidos en la zona por efecto de dragados. Este efecto negativo es más fuerte en los contenedores de flujo forzado que se colmatan rápidamente con los limos en suspensión; los sistemas en el flujo lineal resultan menos afectados en estas condiciones.

En el flujo forzado, el lote de 100 g de semilla de menor tamaño inicial (T1), se transforma a los 30 días de cultivo, en 710 g; alcanza 5 kg a los 50 días, y 10 kg a los 83 días, con talla superior a 20 mm. En los primeros muestreos (15 y 30 días) aparecieron diferencias significativas en talla y peso entre los lotes, aunque al final del período de cultivo, no hay diferencias notables en la biomasa total cosechada de las diferentes pruebas, ni diferencias significativas en la talla y peso individual.

Tabla I.- Resultados de las pruebas de preengorde de semilla de almeja babosa. A la izquierda en bandejas en flujo forzado invertido, y a la derecha en flujo lineal. La biomasa inicial de semilla es diferente en cada sistema (100 y 200 g respectivamente). En flujo forzado se juntan a los 50 días los lotes B y C en un solo contenedor y a los 64 se desdoblan ambos contenedores.

Días	Clase	Flujo invertido			Clase	Flujo lineal		
		Wt g	W±DS g	L±DS mm		Wt g	W±DS g	L±DS mm
0	A(T1)	100	0,0125	1,5±0,7	A(T2,5)	200	0,0201	3,2±1,3
	B(T2)	100	0,0250	3,0±1,1	B (T3)	200	0,0360	4,5±1,4
	C(T3)	100	0,0360	4,5±1,4	C (T5)	200	0,0921	7,0±1,7
15	A	240	0,0366	5,2±0,9	A	455	0,0443±0,022	6,9±1,3
	B	278	0,165	7,6±0,8	B	430	0,0793±0,029	8,3±1,3
	C	230	0,251	9,0±1,5	C	465	0,1847±0,052	11,4±1,2
30	A	713	0,0713±0,02	8,2±0,6	A	981	0,119±0,049	23,1±0,2
	B	661	0,1631±0,03	10,7±0,7	B	805	0,140±0,064	23,1±0,1
	C	495	0,2304±0,05	12,1±0,8	C	940	0,368±0,153	23,4±0,2
50	A	2.688	0,1933±0,09	14,0±1,7				
	B+C	2.918	0,4700±0,13	17,4±1,6				
64	A/2	2.555	0,4240±0,15	16,8±2,7				
	B+C/2	3.035	0,8480±0,25	22,3±3,4				
83	A/2	5.015	0,719±0,207	23,4±0,2				
	B+C/2	3.895	1,150±0,340	24,9±0,2				

Las tasas de crecimiento se indican en la tabla II. Los crecimientos son más intensos al inicio del cultivo y con semilla pequeña y se amortiguan a partir del momento en que la semilla adquiere mayor tamaño, aspecto que se acentúa en la semilla mantenida en flujo lineal.

Tabla II.- Tasas de crecimiento, expresadas a través de G30, (en peso y longitud) en las diferentes clases de semilla con que se realizaron las pruebas.

Días	Clase	Flujo invertido		Clase	Flujo lineal	
		GW30	GL30		GW30	GL30
15	A(T1)	2,15	2,50	A (2,5)	2,37	2,86
	B(T2)	3,77	1,85	B (T3)	1,48	1,15
	C(T3)	3,88	1,38	C (T5)	1,29	0,91
30	A	1,54	1,05	A	1,56	1,91
	B	-0,03	0,81	B	0,90	1,62
	C	-0,20	0,70	C	1,09	1,14
64	A/2	1,04			0,37	
	B+C/2	1,39			0,72	
83	A/2	0,48	0,83		0,33	0,63
	B+C/2	0,84	0,51		0,37	1,00

En la semilla de almeja babosa, mantenida desde el inicio en sistema de flujo lineal se parte, por requerimientos del sistema, de una talla más elevada (T2,5; T3 y T5) que en flujo forzado. La biomasa inicial (200 g), en este tipo de bandejas duplica a la del sistema de bandejas en forzado.

Supervivencia

En todos los ensayos efectuados, en sistemas de flujo forzado (en bandejas y posteriormente en cubos; y en cajas apiladas en flujo lineal), no aparece mortalidad apreciable, siendo las tasas de recaptura superiores al 80% al final de las diferentes pruebas.

Aunque el período del año en que se desarrollaron estas pruebas es de los más favorables para el crecimiento de bivalvos, conviene reseñar que los datos de crecimiento y de eficiencia del sistema son en general superiores a los apuntados por Cerviño (2011), recopilados de varios autores.

La experiencia realizada consolida la posibilidad de retirar del criadero, con garantías de crecimiento y supervivencia la semilla a partir de 1 mm. Esto facilita la capacidad productiva del criadero y las labores de manejo y control de los individuos en un semillero suspendido en el medio natural.

Por último en la tabla III se aportan los datos preliminares de preengorde de semilla de coquina T1, a efectos de valorar la capacidad del sistema de bandejas apiladas (en flujo forzado invertido) para mantener semilla de pequeño tamaño (< 2 mm). La prueba se inicia con 127.886 unidades de semilla T1, de talla $1,96 \pm 0,18$ mm. La semilla se distribuye en dos bandejas con igual biomasa. Una bandeja situada en la parte inferior (L2) que recibe el flujo directo, y una segunda (L1), colocada en la parte superior de forma que recibe el flujo de agua después de atravesar la bandeja inferior. Aunque los ensayos son preliminares y los resultados estarán sujetos a confirmación, se estima que la semilla de esta especie puede salir del criadero a sistema de semillero exterior con talla inferior a 2 mm.

Tabla III.- Datos preliminares del preengorde de semilla de coquina en semillero exterior en flujo forzado invertido.

Sistema	Días cultivo	Control n°	Biomasa (g)	W±DS mg	L±DS mm
Bandejas en flujo invertido	0		191,83	1,46±0,00	1,96± 0,18
	7	1	L1 85	1,41±0,00	2,04± 0,19
			L2 100	1,60±0,00	1,91± 0,14

Agradecimientos

Este trabajo se financió en el marco de los siguientes proyectos de investigación, con código: 09MMA009E y 10MMA103013PR. Del programa sectorial de Investigación Aplicada PEME I+D e I+D del Plan Galego de Investigación INCITE.

A los técnicos del minicriadero de Camariñas y Emilio Cid González por su colaboración en el desarrollo de las pruebas.

Bibliografía

- Cerviño A. 2011. Ciclo reproductivo, cultivo en criadero y en el medio natural de la almeja babosa *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803) Tesis doctoral. Universidad de Santiago. La Coruña.
- Claus C. 1981. Trends in nursery rearing of bivalve molluscs. *EMS, Special publication*, nº 7. Belgium
- De Santiago J.A., Fernandez A., Ruiz M., Guerra A. 2008. Preengorde de almeja babosa (*Venerupis pullastra*), almeja fina (*Ruditapes decussatus*) y almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*) en tres sistemas de preengorde. En: *X Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal.* Lodeiros C., Fernández Casal J., Guerra A., Rey-Méndez M. (eds.) 10: 381-388
- Guerra A. (ed.) 2010. Jornadas sobre criaderos, semilleros y cultivo de almejas. Consellería do Mar. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela. 165pp.
- Villar Rama 2011. Preengorde de moluscos bivalvos en batea. Sistemas mixto (caja-bolsa). En: *XIII Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal.* Lodeiros C., Fernández Casal J., Guerra A., Rey-Méndez M. (eds.)13: 421-428.



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MAR



PREENGORDE EN EL MEDIO NATURAL DE SEMILLA DE ALMEJA BABOSA (*Venerupis pullastra*) Y COQUINA (*Donax trunculus*) EN SISTEMAS DE FLUJO FORZADO INVERTIDO Y FLUJO LINEAL

Guerra¹ A.; Lastres², M.; Rivas², MC.; Ancosmede³, C.; De Santiago³, JA.
¹Centro de Investigacións Mariñas (CIMA), Xunta de Galicia, 36620 Vilanova de Arousa, Pontevedra.
²Instituto Galego de Formación en Acuicultura (IGAF), Illa de Arousa, Pontevedra.
³Fundación CETMAR, Muelle de Bouzas, Vigo, Pontevedra.

Introducción

El éxito de un criadero de moluscos bivalvos se basa en la producción masiva y estable de semilla, que en el caso de la almeja debe presentar una talla adecuada (>10 mm) para la siembra y el cultivo en el medio natural.

Los criaderos están preparados para producir grandes cantidades de semilla pequeña (1-2 mm), pero su capacidad productiva está limitada si la semilla se mantiene en la instalación hasta mayor tamaño. Debido a los costes operativos y de mantenimiento al tiempo que los riesgos aumentan progresivamente.

Para alcanzar el éxito comercial de una especie es imprescindible el desarrollo, en el medio natural, de semilleros sencillos y eficientes, en los cuales la semilla procedente del criadero alcance la talla adecuada de siembra. Con este objetivo se plantea este trabajo, orientado al preengorde de semilla de almeja babosa (*Venerupis pullastra*) y coquina (*Donax trunculus*) producida en criadero.

Material y métodos

El semillero es una plataforma flotante (Fig.1) ubicada en el pantalán del muelle deportivo de Camariñas (A Coruña).

1.-Sistema de contenedores en flujo forzado por aire. Utilizado en la primera fase de cultivo, dispone de contenedores para el flujo forzado invertido, con bandejas de malla de 600 µm apiladas en su interior y una superficie útil de 707cm² en la base cada una (Fig. 1A). En el momento que la semilla queda retenida en tamiz T2 (2 mm), se transfiere a cubos con fondo de malla de 962 cm² de base (Fig.1B). La semilla de almeja babosa se distribuye inicialmente en tres bandejas: A (T1), B (T2) y C (T3), según se indica en la Tabla I.

2.- Sistema en flujo lineal. En bandejas apilables de polietileno de la casa comercial TEPESA (tamaño 50x34x12 cm) perforadas (2 mm de poro) y de 1500 cm² de superficie útil cada una (Fig. 1C).

En el sistema de flujo invertido la biomasa inicial de semilla en cada bandeja fue de 100g/bandeja de clase T1, T2 y T3. En las bandejas en flujo lineal, al inicio fue de 200 g/bandeja de T2, T3 y T6 (Tabla I). En ambos casos la carga inicial equivale a unos 14 kg/m².



Días	Clase	Flujo Invertido			Flujo Lineal			
		Pt	PdDS	LdDS	Pt	PdDS	LdDS	
		g	mg	mm	g	mg	mm	
0	A (T1)	100	100	1,50	A (T2)	200	201	1,16
	B (T2)	100	100	2,70	B (T3)	200	201	2,70
	C (T3)	100	100	4,50	C (T6)	200	201	4,50
15	A	200	202	2,20	A	400	411	2,20
	B	200	205	2,60	B	400	415	2,60
	C	200	201	3,00	C	400	414	3,00
30	A	110	110	4,20	A	400	411	4,20
	B	100	100	10,40	B	400	411	10,40
	C	100	100	17,10	C	400	411	17,10
50	A	2.688	193,36	14,06	A	400	411	14,06
	B	2.971	219,05	17,15	B	400	411	17,15
	A2	2.533	424,06	16,56				
64	B	2.075	148,05	12,41				
	A2	2.013	119,20	11,46				
	B	2.895	115,00	11,36				

Tabla 1.- Evolución de la semilla en sistemas de flujo forzado y flujo lineal. Se indica la biomasa (Pt: peso medio (PdDS) en mg y talla media (LdDS) en mm.

Resultados y conclusiones

Almeja babosa. En la Tabla I se indica la evolución de la semilla en ambos sistemas de preengorde. En flujo invertido, hasta el día 30 de cultivo la semilla se mantiene en bandejas apiladas. A partir de entonces pasan a 2 cubos (T1 y T2+T3), continuando en flujo invertido hasta el día 50 de cultivo. A partir de este momento la semilla se desdobla: A/2 y B+C/2. La talla objetivo (10-12 mm), que resulta adecuada para siembra en parque, se alcanza, excepto para la clase T1 a los 30 días de mantenimiento en ambos sistemas.

La biomasa total en los sistemas se multiplica aproximadamente x5. El crecimiento es más acentuado en flujo forzado invertido y en la semilla de pequeño tamaño (T1), cuya biomasa se multiplica x7 a los 30 días y x27 a los 50 días una vez efectuado el cambio a cubos en el propio sistema de flujo invertido (Tabla I).

Las tasas de recaptura, considerando el total de individuos vivos, es superior al 90% a los 50 días en el sistema de flujo invertido y del 87% de media a los 30 días en el sistema de flujo lineal.

Coquina. Se reportan los datos preliminares de preengorde de semilla de coquina T1 (Tabla II), a efectos de valorar la capacidad del sistema de bandejas apiladas en flujo forzado invertido para mantener semilla de pequeño tamaño (<2mm) de esta especie. La prueba se inicia con 127.886 unidades de semilla T1 de talla 1,06± 0,18mm. La semilla se distribuye en dos bandejas con similar biomasa (L1 y L2).

Tabla II.- Biomasa (Pt) distribuida en dos bandejas (L1 y L2) en flujo invertido

Días	Pt (g)	PdDS (mg)	LdDS (mm)
0	191,83	1,46	1,96±0,18
14	L1	83	1,41
	L2	100	1,60

Tabla III.- Biomasa (Pt) distribuida en los bivalvos

Días	Pt (g)	PdDS (mg)	LdDS (mm)
0	191,83	1,46	1,96±0,18
14	83	1,41	1,41±0,14

Agradecimientos. A los Récords del maricultor de Camariñas y Emilio Cid González, por su colaboración en la realización de los bivalvos.

Este artículo está financiado a través del Programa Sectorial de Investigación Aplicada del Medio Marino (PR) (Código 10/MVA1030/SPR).

Presencia de toxinas PSP en fitoplancton y en moluscos de la costa norte del estado Sucre, Venezuela y su relación con las condiciones climáticas

Rojas de Astudillo^{1*} L., Diaz- Ramos² J.R., Cova¹ M., Subero-Pino³ S.

¹Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, estado Sucre, Venezuela. *Email: lrojas40@yahoo.com

²Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente, Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

³Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de oriente, Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

Resumen

Las toxinas paralizantes por consumo de moluscos (PSP) constituyen uno de los más importantes riesgos para la salud que está asociado a la proliferación de microalgas tóxicas y que ha afectado la acuicultura a nivel mundial. Estas toxinas se derivan de una base heterocíclica nitrogenada relacionada con la guanina. Las toxinas PSP están agrupadas en carbamatos (saxitoxinas (SXT), neosaxitoxinas (NeoSTX), gonyautoxinas (GTXs)], sulfamatos (GTX5,6; toxinas C) y decarbamatos (dcSTX, dcNeoSTX, dcGTXs). En este estudio, se determinó la presencia y concentración de estas toxinas en muestras del molusco bivalvo *Perna viridis* y de fitoplancton, recolectados en tres bancos naturales de la costa norte del estado Sucre, en las temporadas de lluvia y sequía del año 2008. Para la extracción se usó el método de Lawrence *et al.* (2004) usando cromatografía líquida de alto rendimiento. Se detectó toxicidad en los bivalvos y el fitoplancton de los tres bancos naturales estudiados. Los perfiles de las toxinas PSP y las concentraciones variaron dependiendo de la localidad. Las toxinas GTX y dcSTX fueron las que presentaron mayores concentraciones. En algunos casos, las concentraciones de las toxinas, tanto del fitoplancton como de los moluscos analizados, sobrepasaron

80 µg/100 g de tejido, valor que ha sido señalado como requisito mínimo de toxicidad de PSP y establecido por las autoridades sanitarias venezolanas. Un análisis de componentes principales demostró la existencia de una correlación positiva entre la temperatura del agua, la concentración de clorofila *a*, la abundancia del fitoplancton, la de los dinoflagelados y la concentración de las toxinas GTX2,3 en el fitoplancton. Por otra parte, en el segundo componente, se demostró la existencia de una correlación positiva entre la concentración de dcSTX en el fitoplancton y las concentraciones de dcSTX y GTX2,3 en los moluscos bivalvos. Los dinoflagelados toxigénicos *Pyrodinium bahamense* y *Gymnodinium* sp. estuvieron presentes en las muestras provenientes de los bancos naturales de Bahía Patilla y La Esmeralda, por lo que se supone que fueron los organismos responsables por la presencia de las toxinas PSP en los moluscos. Los resultados corroboran que las condiciones climáticas de la zona favorecen el crecimiento de dinoflagelados productores de toxinas PSP.

Palabras clave

Toxinas PSP, *Perna viridis*, Venezuela.

Introducción

Varios géneros de dinoflagelados (*Gymnodinium*, *Pyrodinium* y *Alexandrium*) son productores de toxinas que causan intoxicaciones paralizantes por consumo de moluscos (PSP, siglas en inglés) en humanos y pueden causar la mortalidad masiva de otros organismos marinos, incluyendo aquellos bajo cultivo (Sephton *et al.*, 2007). Las toxinas derivadas de esas microalgas también son acumuladas por los bivalvos, los cuales se convierten en vectores importantes de PSP a lo largo de la cadena alimenticia. Esto origina serios riesgos para la salud humana a través del consumo de individuos contaminados (Anderson *et al.*, 2009).

Las toxinas PSP son compuestos termorresistentes y los procesos de cocción, ahumado, secado y salado no los destruyen (Lawrence *et al.*, 1994). El proceso de intoxicación genera sustancias que bloquean los canales de sodio produciendo parálisis (Vélez *et al.*, 2001), y, en casos agudos, la muerte por asfixia al paralizar los músculos del tórax.

Teniendo en cuenta la carga molecular y la estructura, las toxinas PSP se pueden clasificar

en tres grupos: toxinas carbamatos [saxitoxinas (STX), neosaxitoxinas (Neo-STX) y gonyautoxinas (GTX1, GTX2, GTX3 y GTX4)] de elevada potencia tóxica, toxinas sulfocarbamatos (B1, B2, C1, C2, C3 y C4, GTX5 y GTX6) de toxicidad considerablemente menor y toxinas decarbamoiladas (dcSTX, dcNeo-STX, dcGTX1-dcGTX4) de toxicidad intermedia (Oshima, 1995). Adicionalmente, tres análogos que contienen hidroxibenzoatos fueron aislados de *G. catenatum* provenientes de Australia (Negri *et al.*, 2003) y luego en varios otros países (Bustillos-Guzmán *et al.*, 2011).

En Venezuela, la costa norte del estado Sucre (sureste del mar Caribe) ha sido la más afectada por las mareas rojas. En esta área, se encuentran grandes bancos naturales de bivalvos y, también, algunas especies de dinoflagelados tóxicos de los géneros *Gymnodinium* y *Alexandrium*. Estas especies son las responsables de los eventos tóxicos de tipo PSP registrados desde los años 70 del siglo pasado.

Saxitoxina (STX), gonyautoxinas (GTX) y sus análogos, y toxinas C fueron identificadas en mejillones *Perna viridis* en la costa norte del estado Sucre y en el Golfo de Paria. El perfil de las toxinas PSP y concentraciones variaron ampliamente entre áreas geográficas, predominando las toxinas GTX2,3 y las C1,2. Los mejillones de Playa Patilla, de la costa norte del estado Sucre presentaron la más alta concentración de toxinas PSP (468 mg/100 g), también como el mayor número de toxinas individuales identificadas (7 de 8), seguido por Güiría (154 mg/100 g; 5 de 8) en el norte del Golfo de Paria (Chang Yen *et al.*, 2006).

Bajo ciertas condiciones ambientales favorables para su desarrollo se produce un aumento exagerado de organismos fitoplanctónicos (especialmente dinoflagelados), lo que se conoce como florecimiento, floraciones algales o *bloom*. Sin embargo, La relación entre la presencia de dinoflagelados tóxicos y las condiciones ambientales no ha sido aclarada aún, debido a la dificultad de acceder a la dinámica ambiental (La Barbera Sánchez *et al.*, 1993).

En el presente trabajo se estudió la distribución espacial y temporal de toxinas PSP en moluscos y microalgas en la zona norte costera del estado Sucre, Venezuela y su relación con las condiciones climáticas.

Materiales y métodos

Muestreo y procesamiento

Los muestreos se realizaron en tres localidades de la costa norte, estado Sucre, zonas

donde existen bancos naturales del mejillón *P. viridis* (Fig. 1).

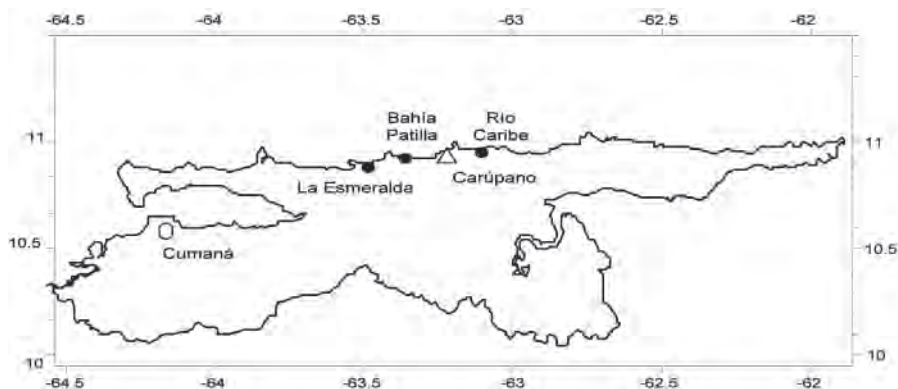


Figura 1.- Mapa del estado Sucre, Venezuela, indicando la ubicación de las estaciones que se emplearon en el estudio.

En cada localidad se midió la transparencia y la temperatura del agua con un disco de Secchi y un termómetro ambiental ($\pm 0,1$ °C), respectivamente. También se tomaron muestras de agua para cuantificar la biomasa del fitoplancton (1 - 2 L) y la abundancia del fitoplancton. En el primer caso, las muestras fueron almacenadas en una cava con hielo para su transporte al laboratorio y fueron procesadas de acuerdo al método modificado de Lorenzen descrito por Strickland y Parsons (1972) En el segundo caso, la muestra se fijó con formol neutralizado y se analizó de acuerdo al método de sedimentación de Utermöhl (1958).

Se recolectó una cantidad aproximada de 200 litros de agua de mar directamente de la superficie. Este volumen fue pasado por tamices de 60 y 20 μm de poro para concentrar los organismos. El concentrado de cada tamiz se diluyó con 200 mL de agua de mar filtrada, se vertió en botellas plásticas y se almacenó en una cava con hielo para su traslado al laboratorio. Esto se realizó para mantener los organismos del fitoplancton en un buen estado fisiológico hasta el momento de procesar las muestras. En el laboratorio, las muestras se concentraron con una bomba de vacío (GAST) y filtros de fibra de vidrio (1,2 μm de poro). Los filtros con las muestras concentradas se congelaron hasta el momento de su procesamiento.

Además, se recolectó una cantidad suficiente de *P. viridis* para obtener 200 g del tejido comestible (aprox. 20 individuos, de 8 a 10 cm de longitud). Los ejemplares se colocaron en bolsas plásticas Click y se almacenaron en una cava con hielo para su transporte al laboratorio.

Allí, se lavó el exterior y el interior de los bivalvos con agua destilada para eliminar la arena y otras sustancias extrañas. Se separó el tejido comestible de la concha y se depositó en un recipiente de vidrio; luego, fue homogenizado con una licuadora de cuchillas inoxidable. Finalmente, el homogeneizado se almacenó bajo congelación a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Extracción de las toxinas paralizantes PSP

Para la extracción de toxinas del fitoplancton, los filtros con las muestras concentradas se colocaron en tubos de ensayo a los que se le agregó 5 mL de ácido acético 1%. La suspensión algal se colocó en un baño de agua helada y se homogenizó con un homogenizador de tejido por una hora. La solución obtenida se centrifugó a 3.000 rpm por 30 min a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. El sobrenadante se guardó en viales bajo congelación a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su análisis.

Para el proceso de extracción las toxinas paralizantes PSP de los moluscos se utilizó el método de Lawrence *et al.* (2004). Para separar, las toxinas C3 y C4 de las toxinas GTX1 y GTX4 y las toxinas B2 de las NeoSTX, se utilizó microcolumnas intercambiadoras de iones. Las microcolumnas intercambiadoras de iones SPE-COOH, se acondicionaron haciendo pasar a través de ellas 10 mL de acetato de amonio $0,01\text{ mol L}^{-1}$, manteniendo la velocidad de flujo entre $2\text{--}3\text{ mL min}^{-1}$. Sin dejar que el cartucho se secase, se descartó el efluente. Luego, se dejó pasar una alícuota de 2 mL del extracto de molusco obtenido con los cartuchos de limpieza SPE C-18 a través del cartucho SPE-COOH y el efluente se colectó en un vial previamente pesado, el cual fue etiquetado como Fracción #1. A continuación, 4 mL de agua desionizada fueron pasados a través del cartucho SPE COOH y colectados en el mismo vial (Fracción #1) y se llevó a una masa final de 6 g con agua desionizada. Esta fracción contenía las toxinas C. Luego se agregaron 4 mL de una solución de NaCl $0,05\text{ mol L}^{-1}$ al mismo cartucho SPE-COOH y el efluente fue colectado en otro vial previamente pesado, marcado como Fracción #2, este último se llevó hasta una masa final de 5 g con agua desionizada. Esta fracción, contenía las toxinas GTX1,4, GTX2,3, B1, B2 y las dcGTX2,3. Nuevamente, al cartucho SPE-COOH se le agregaron 5 mL de una solución de NaCl $0,3\text{ mol L}^{-1}$ y el líquido se colectó en otro vial previamente pesado y etiquetado como Fracción #3. Una vez colectado el efluente se llevó el vial hasta una masa final de 5 g. En esta fracción, estaban presentes las toxinas STX y NeoSTX.

Identificación y cuantificación de las toxinas PSP

Los extractos de los moluscos colectados a través de los cartuchos SPE C-18 y SPE-COOH fueron tratados según Lawrence *et al.* (2004). Se utilizó una columna de fase reversa, Hypersil ODS de $5\text{ }\mu\text{m}$ de poro y $125 \times 4,0\text{ mm}$, un flujo de 2 mL min^{-1} . Las soluciones certificadas de calibración que contienen STX, NeoSTX, GTX1,4, GTX2,3 y C1,2 utilizadas para preparar la curva de calibración fueron adquiridas de la National Research Council of Canada.

Análisis estadísticos

Para determinar las diferencias temporales y espaciales de las variables estudiadas se efectuó un análisis de variancia no paramétrico de Kruskal-Wallace (Boyer *et al.*, 1997) y para establecer las posibles relaciones entre éstas, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) a partir de una matriz de correlación múltiple (Johnson y Wichern, 1992).

Resultados

Los estadísticos básicos de las variables estudiadas se presentan en la tabla I.

Tabla I.- Estadísticos básicos de las variables medidas en tres localidades de la costa norte del estado Sucre durante el periodo de septiembre 2007– julio 2008.

Variables	N	Promedio	S	Min.	Max.
Transparencia (m)	24	1,27	0,51	0,5	2
Temp. Agua (°C)	24	26,35	1,75	24	30
Chl a (mg chl a m ⁻³)	24	26,26	25,80	0	101,46
Dinoflagelados (x10 ³ céls L ⁻¹)	24	636	3.065,25	0	15.026
Abundancia total (x10 ³ céls L ⁻¹)	24	2.766	4.823,86	0	24.328

La transparencia del agua no varió de manera significativa con respecto a la época de muestreo. Sin embargo, se detectaron diferencias altamente significativas con respecto a la localidad (Kw= 12,63; p< 0,001). Bahía Patilla presentó la transparencia más baja y Río Caribe con los valores más altos. La temperatura del agua presentó una variación significativa con respecto a la fecha de muestreo (Kw= 5,68; p< 0,001), y osciló entre un mínimo 24 °C y un máximo de 30 °C, mientras que no se detectaron diferencias significativas con respecto a las localidades. La concentración de Chl *a* y abundancia total y la de los dinoflagelados no variaron de manera significativa con respecto a las épocas o a las localidades.

En los extractos de *P. viridis* se observó que los cromatogramas exhibieron señales analíticas muy similares a las obtenidas en los cromatogramas de los estándares de las toxinas

PSP. Lo que indica la presencia de toxinas PSP en las muestras de moluscos. Los extractos de *P. viridis* proveniente de Río Caribe y La Esmeralda de la época de sequía mostraron la presencia de las toxinas GTX2,3. Para esa misma época, los cromatogramas de las muestras de fitoplancton indicaron la presencia de: GTX en Río Caribe; dcSTX en Bahía Patilla; y toxinas C y dcSTX en La Esmeralda. El análisis del fitoplancton reveló la presencia de *Gymnodinium* sp. en Bahía Patilla, lo que sugiere que dicha especie pudo ser la productora de la toxina en esa localidad. En esas estaciones, también se notó la presencia de individuos del caracol *Voluta musica* moribundos.

En la Esmeralda, los extractos de *P. viridis* presentaron las toxinas GTX2,3. Sin embargo, en las muestras correspondientes al fitoplancton se detectó la presencia de las toxinas C1,2 y de la toxina dcSTX. El análisis de las muestras de fitoplancton reveló la presencia del dinoflagelado *Pyrodinium bahamense* en Bahía Patilla y *Gymnodinium* sp. en La Esmeralda, pudiendo ser estas especies ser las productoras de las toxinas.

En la época de transición y al inicio de la de lluvia, las muestras de *P. viridis* recolectadas en las tres localidades presentaron las toxinas GTX2,3 y la dcSTX. Mientras que en el fitoplancton solamente se detectó la toxina dcSTX.

Durante la época de lluvia (04/06/08), en los extractos de mejillones se determinó la presencia de la toxina STX en Río Caribe, GTX2,3 y STX en Bahía Patilla, y dcSTX y GTX2,3 en La Esmeralda. Mientras que en las muestras de fitoplancton sólo se identificaron las GTX2,3 para Bahía Patilla y Río Caribe y dcSTX para La Esmeralda.

El análisis de las muestras de Río Caribe el 15/07/08 mostró la presencia de las toxinas GTX2,3 y dcSTX. En los extractos de Bahía Patilla, sólo se detectó solamente la presencia de toxinas GTX2,3. Las muestras de fitoplancton de Río Caribe y de Bahía Patilla contenían GTX2,3 y dcSTX, respectivamente.

Para la cuantificación de las toxinas PSP, se realizaron curvas de calibración de las toxinas detectadas con sus respectivos estándares. Los valores del coeficiente de correlación para las cuatro curvas calibración correspondientes a los patrones de las toxinas PSP demostraron una alta linealidad y baja dispersión de valores. En la tabla II, se presentan las concentraciones calculadas para las toxinas PSP identificadas en las diferentes muestras.

Los resultados muestran que las mayores concentraciones de toxinas PSP en los moluscos se detectaron en las localidades Río Caribe y La Esmeralda mientras que las mayores concentraciones de toxinas en el fitoplancton se detectaron en Bahía Patilla y La Esmeralda. Las toxinas GTX2,3 y dcSTX fueron las más comunes en ambos tipos de muestras.

Tabla II.- Estadísticos básicos de las concentraciones ($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$) medidas en muestras de *Perna viridis* (molus) y fitoplancton (fito) de las tres localidades de la costa norte del estado Sucre.

Variables	N	Promedio	S	Min.	Max.
Toxin. GTX2,3 (fito.) ($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$)	24	655	309	54,3	1075
GTX2,3 (molus.)($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$)	24	459	173	171	685
dcSTX (fito.) ($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$)	24	363	111	45,1	453
dcSTX (molus.)($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$)	24	330	20,6	294	347
STX (molus.)($\mu\text{g } 10^{-2}\text{g}$)	24	4,83	0,06	4,80	4,90

Las concentraciones de las toxinas GTX2,3 en el fitoplancton y en los moluscos no mostraron diferencias temporales o espaciales significativas. Lo que indica que el fitoplancton produjo la toxina de manera continua y que los bivalvos la acumularon de igual manera. Sin embargo, para las concentraciones de la toxina STX se encontraron diferencias significativas con respecto al tiempo en las muestras de moluscos ($p < 0,05$) pero no se detectaron diferencias significativas con respecto a la estación. Las muestras de moluscos recolectadas el 04/06/08 presentaron las concentraciones más altas para esta toxina.

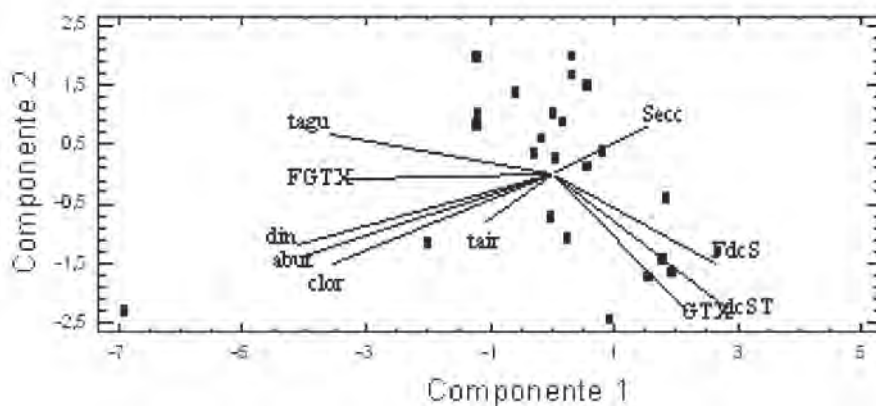


Figura 2.- Proyección ortogonal de las variables físico-químicas y biológicas en el espacio definido por los dos primeros componentes del ACP para los datos recolectados en la costa norte del estado Sucre. tagu, temperatura del agua; FGTX, toxina GTX del fitoplancton; dino, dinoflagelados; abut, abundancia total; clor, clorofila; tair, temperatura del aire; secc, transparencia; FdcS, toxina dcSTX del fitoplancton; dcST, toxina dcSTX en moluscos; GTX, toxina GTX en moluscos.

El ACP mostró una varianza acumulada para el primer y el segundo componente igual a 52,94% y para el tercero igual a 65,97%. En el primer componente, se demostró la existencia de una correlación positiva entre la temperatura del agua, la concentración de Chl *a*, la abundancia del fitoplancton y la de los dinoflagelados y la concentración de GTX en el fitoplancton figura 2. Estas variables, a su vez, se correlacionaron de forma negativa con la transparencia del agua y la concentración de dcSTX. Por otra parte, en el segundo componente, muestra la existencia de una correlación positiva entre la concentración de dcSTX en el fitoplancton y las concentraciones de dcSTX y GTX en los bivalvos.

Discusión

Las tres zonas estudiadas no presentan variaciones térmicas locales significativas y lo que predomina es el clima regional. Cabe destacar que en las tres zonas la agitación del agua era constante, lo que es característico de la región que está expuesta al norte-noreste y recibe el impacto de los vientos Alisios y de la energía que proviene del Océano Atlántico. Estos resultados están en concordancia con lo expuesto por Terejova *et al.* (1998) y Ferraz de Reyes (1976), sobre el clima de la región. Los resultados también indican que en las zonas muestreadas la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y la luminosidad fueron óptimas para el crecimiento del fitoplancton durante todo el año.

La inexistencia de diferencias temporales en la concentración de Chl *a*, la abundancia total y la de dinoflagelados se debe a que las condiciones climáticas de la región tienden a ser similares a lo largo del año. La corta estación de lluvia, un largo periodo de sequía, en el cual soplan vientos fuertes que provocan el movimiento vertical de las masas de agua y la existencia de bancos naturales de mejillones hace que el suministro de nutrientes sea constante. Esto explica el hecho de que los valores de Chl *a* detectados sean más elevados que los informados por Ferraz-Reyes (1992) para la ensenada de Canguas.

Al parecer, las condiciones ambientales de la costa norte del estado Sucre, favorecen el crecimiento de poblaciones de dinoflagelados productores de toxinas de manera permanente. En esta área, se combinan la alta disponibilidad de nutrientes provenientes de aguas de escorrentía, de los sedimentos y de los bancos naturales de bivalvos con una alta irradiación y poca turbulencia que permiten floraciones masivas de estos organismos (Ferraz de Reyes, 1976; Ferraz-Reyes *et al.*, 1979; Reyes Vásquez *et al.*, 1979; La Barbera-Sánchez *et al.*; 1993; 1996; 2004).

Las toxinas PSP identificadas se corresponden con lo informado por Lee (2006) y

Andrades (2007), quienes detectaron las toxinas C y GTX2,3 en moluscos del género *Perna* de varias localidades de la costa norte del estado Sucre y la presencia del dinoflagelado *Akashiwa sanguinea* y con los obtenidos por Chang Yen *et al.* (2004, 2006), quienes también reportaron la presencia de toxinas PSP en moluscos en el Golfo de Paria y en la costa norte del estado Sucre, Venezuela, predominando las toxinas C1,2 y GTX2,3. Los perfiles cromatograficos son similares a otros reportados por Jiang *et al.* (2000) en Daya Bay (Hong Kong), donde *P. viridis* presentó concentraciones de GTX 15 veces mayores que las de STX. Las toxinas GTXs fueron también dominantes en moluscos contaminados en otras regions geográficas (Carreto *et al.*, 1996; Ichimi *et al.*, 2001).

Los resultados de los cromatogramas y las concentraciones de las toxinas, están en correspondencia por los reportados por Ichimi *et al.* (2002) quienes señalaron que las toxinas varían de acuerdo a la ubicación geográfica y las especies de microalgas presentes en cada zona. En términos generales, las muestras presentaron concentraciones de toxinas PSP mayores que los valores permitidos por la FDA (1997) y la OMS, aceptadas en la República Bolivariana de Venezuela de 80 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de tejido comestible, lo que se puede corroborar en la tabla III que señala los estadísticos básicos de las concentraciones ($\mu\text{g } 10^2\text{g}$), medidas en muestras de las tres localidades de la costa norte del estado Sucre. Aunque por el bioensayo en ratón las toxinas GTX2,3 y dcsTX, muestran bajas toxicidades, en comparación con la STX (Oshima, 1995).

Esa alta correlación encontrada en este estudio confirma que *P. viridis* es un buen indicador de la presencia de las toxinas paralizantes. En otro estudio se demostró que este molusco acumula las toxinas PSP dentro de los primeros 16 días de exposición, por lo que permite monitorear la presencia de toxinas PSP en la etapa temprana del florecimiento algal (Sombrito *et al.*, 2007).

Los resultados del ACP se corresponden con lo expuesto por Ferraz de Reyes (1976) con respecto a las condiciones climáticas de la zona, las cuales favorecen el crecimiento de dinoflagelados tóxicos que son consumidos por los bivalvos que terminan acumulando las toxinas. Por esta razón, la costa norte del estado Sucre es afectada frecuentemente por florecimientos algales nocivos, como lo ha señalado La Barbera-Sanchez *et al.* (1993).

Conclusiones

Las áreas analizadas presentan características climáticas comunes y típicas de la región las cuales favorecen las floraciones algales nocivas de dinoflagelados.

Las toxinas PSP identificadas y cuantificadas que presentaron las mayores concentraciones en el fitoplancton y en los bivalvos fueron la GTX y la dcSTX que puede estar asociado a la presencia de los dinoflagelados *Pyrodinium bahamense* y *Gymnodinium* sp., encontrados en las muestras de fitoplancton y se puede asumir que fueron los organismos responsables por la presencia de las toxinas PSP, en las Bahía Patilla y La Esmeralda.

Estos hallazgos constituyen una base firme para el monitoreo directo de toxicidad en moluscos locales como una prioridad para proteger la salud humana; además, es necesario evaluar la dinámica de acumulación y detoxificación de esas toxinas y los factores ambientales que modifican esos procesos para para diseñar estrategias de mitigación para la industria pesquera.

Agradecimientos


El estudio fue financiado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente a través del Proyecto CI-2-010201-1501/08 y se agradece a Damelis Rojas, Jesús Indriago y Lina Charzeddine por la colaboración brindada en la realización de este trabajo.

Bibliografía

- Anderson D.M. 2009. *Ocean & Coastal Management*, 52: 342–347.
- Andrades M. 2007. Comparación de dos métodos cromatográficos con reacciones pre-columnas para la determinación de toxinas PSP en mejillones del género *Perna* de la costa nororiental del estado Sucre. Trabajo de Grado. Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Boyer J., Fourqurean J., Jones R. 1997. *Estuaries*, 20: 743-758.
- Bustillos-Guzmán J., Vale P., Band-Schmidt C. 2011. *Toxicon* 57: 922–926.
- Chang Yen I., Rojas de Astudillo L., Soler J., La Barbera-Sánchez A. 2004. *Toxicon*, 44: 743-747.
- Carreto J., Elbusto C., Sancho H., Carignan M., Yasumoto T., Oshima Y. 1996. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero*, 10: 101–107.
- Chang Yen I., Rojas de Astudillo L., La Barbera Sánchez A., Soler J. 2006. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 88- 94.

- Ferraz de Reyes E. 1976. Ciclo anual de fitoplancton en zonas de bancos naturales y de cultivo Del mejillón *Perna perna L.*, en el oriente de Venezuela. Trabajo de ascenso. Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente. pp. 3-14.
- Ferraz-Reyes E. 1992. *Boletín Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 31(1-2): 17-26.
- Ferraz-Reyes E., Reyes-Vásquez G., Bruzual I. 1979. Dinoflagellates blooms in teh Gulf of Cariaco, Venezuela. En: *Toxic dinoflagellates blooms*. Taylor, D. Seliger, H. Elsevier (eds). New York. pp. 155-160.
- Ichimi K., Suzuki T., Ito A. 2002. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 273: 51-60.
- Johnson R., Wichern D. 1992. Applied multivariate statistical analysis. Prentice- Hall Int. Tercera ed. N.J., U.S.A.
- La Barbera Sánchez A., Hall S., Ferráz-Reyes E. 1993. *Alexandrium sp.*, *Gymnodinium catenatum* and PSP in Venezuela. En: *toxic phytoplankton blooms in the sea*. Smayda, J. y Shimizu, Y. (eds.), Elsevier, Amsterdam. pp. 377-382.
- La Barbera Sánchez A., Estrella G. 1996. Occurrence of toxic dinoflagellates and PSP on the Northeast coast of Sucre state, Venezuela: relationship with environmental parameters. En: *Harmful and toxic algal blooms*. Yasumoto, T., Oshima, Y. & Fukuyo, O. (eds.). Intergovernmental Oceanographic Commission of Unesco.
- La Barbera Sánchez A., Soler J., Rojas de Astudillo L., Chang Yen I. 2004. *Revista de Biología Tropical*, 52:89-98.
- Lawrence J., Niedzwiadek B., Ménard C. 2004. *Journal of Association of Official Analytical Chemist International*, 87 (1): 1-12.
- Lawrence J.F., Maher M., Watson-Wright W. 1994. *Toxicon*. 32: 57-64.
- Lee A.H. 2006. Estudio comparativo de dos métodos de extracción para la cuantificación de saxitoxinas por cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta. Trabajo de Grado. Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Negri A., Stirling D., Quilliam M., Blackburn S., Bolch C., Burton I., Eaglesham G., Thomas K., Walter J., Willis R. 2003. *Chemical Research in Toxicology*, 16(8):1029-103.
- Oshima Y. 1995. *J. AOAC International*, 78(2): 528-532.
- Reyes-Vásquez E., Ferráz-Reyes E., Vásquez E. 1979. Toxic dinoflagellate blooms in northeastern Venezuela Turing 1977. En: *Toxic dinoflagellate blooms*, ed. D.L. Taylor & H. H. Seliger; 191. New York. Elsevier.
- Sephton D.H., Haya K., Martin J.L., LeGresley M.M., Page F.H. 2007. *Harmful Algae*, 6, 745-758.

- Sombrito E.Z., Honrado M.C.V., De Vera A., Tabbada R.S., Rañada M.A.L., Relox J.R.J., Tangonanu M.D.C. 2007. *Assay Environmental Bioindicators*, 2:264–272.
- Strickland J., Parson T. 1972. *Buletin Fisheries Research. Bd. Canada*, 167: 1- 310.
- Utermöhl H. 1958. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*. 9: 1- 38.
- Vélez P., Sierralta J., Alcayaga C., Fonseca M., Loyola H., Johns D.C., Tomaselli G.F., Marbanc E., Suañez-Isla B.A. 2001. *Toxicon*. 39:929-935.



PRESENCIA DE TOXINAS PSP EN FITOPLANCTON Y EN MOLUSCOS DE LA COSTA NORTE DEL ESTADO SUCRE, VENEZUELA Y SU RELACIÓN CON LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS

L. Rojas de Astudillo¹, M. Cova Ortiz¹, J.R. Díaz-Ramos³, S. Subero²

¹Departamento de Química, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, ²Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Cumaná, estado Sucre.

RESUMEN

Las toxinas paralizantes por consumo de moluscos (PSP) constituyen una de las más importantes riesgos para la salud que está asociado a la proliferación de microalgas tóxicas y que ha afectado la acuicultura a nivel mundial. Estas toxinas se derivan de una base heterocíclica nitrogenada relacionada con la guanina. Las toxinas PSP están agrupadas en catamatos (saxitoxinas (STX), neosaxitoxinas (NeoSTX)), gonyatocinas (GTX), sulfatoxinas (GTXA, GTXB) y decarboxinas (dcSTX, dcGTX, dcGTXA). En este estudio, se determinó la presencia y concentración de estas toxinas en muestras de moluscos bivalvos y fitoplancton recolectados en tres bancos naturales de la costa norte del estado Sucre, en las temporadas de lluvia y seca de año 2009. Para la extracción se usó el método de Lawrence et al. (2004) usando cromatografía líquida de alto rendimiento. Se detectó toxicidad en los bivalvos y el fitoplancton de los tres bancos naturales estudiados, así como de las toxinas PSP. Las concentraciones variaron dependiendo de la localidad. Las toxinas GTX y dcGTX fueron las que presentaron mayores concentraciones. En algunos casos, las concentraciones de las toxinas, tanto de fitoplancton como de los moluscos analizados, sobrepasaron 30 µg/100g de tejido, valor que ha sido señalado como requisito mínimo de toxicidad de PSP y establecido por las autoridades sanitarias venezolanas. Un análisis de componentes principales demostró la existencia de una correlación positiva entre la temperatura del agua, la concentración de clorofila, la abundancia del fitoplancton, la de los dinoflagelados y la concentración de las toxinas GTX-2.3 en el fitoplancton. Por otra parte, en el segundo componente, se demostró la existencia de una correlación positiva entre la concentración de dcSTX en el fitoplancton y las concentraciones de dcSTX y GTX-2.3 en los moluscos bivalvos. Los dinoflagelados tóxicos *Pfiesterium bahamense* y *Gymnodinium sp.* estuvieron presentes en las muestras provenientes de los bancos naturales de Bahía Patilla y La Esmeralda, por lo que se supone que fueron los organismos responsables por la presencia de las toxinas PSP en los moluscos. Los resultados corroboran que las condiciones climáticas de la zona favorecen el crecimiento de dinoflagelados productores de toxinas PSP.

Palabras clave: Toxinas PSP, Perla viridis, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

RESULTADOS

Las toxinas paralizantes por consumo de moluscos (PSP) constituyen una de las más importantes riesgos para la salud que está asociado a la proliferación de microalgas tóxicas. La causa principal es el consumo de moluscos contaminados por esas toxinas. Estas intoxicaciones han sido particularmente pronunciadas en países donde los moluscos es la principal fuente de proteínas. En Venezuela las costas del estado Sucre han sido las más afectadas por eventos tóxicos de toxinas PSP, y en la mayoría de las veces, han estado asociados con condiciones en moluscos que ha traído como consecuencia intoxicaciones y en algunos casos la muerte de personas. Eventos de PSP causados por dinoflagelados han sido registrados en la costa norte del estado Sucre, Venezuela desde hace 30 años.



Estructura de las perlas toxinas PSP.

En el presente trabajo de investigación se estudió la distribución espacial y temporal de toxinas PSP en moluscos y fitoplancton en la zona norte costera del estado Sucre, Venezuela, utilizando cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta tal como lo describe por Subero et al. (2002) y modificados por Lee (2009) y se relacionó con las condiciones climáticas.

METODOLOGÍA

1.- Muestreo:
Los muestreos se realizaron quincenalmente por un año en tres localidades de la costa norte, estado Sucre, zonas donde existen bancos naturales del mejillón *P. viridis*.

1.1.- Muestreo:
En cada localidad se recolectó una cantidad aproximada de 200 litros de agua de mar directamente de la superficie. Este volumen fue pasado por tambores de 60 y 20 µm de poro para concentrar los organismos. El concentrado de cada tiempo se diluyó con 200 ml de agua de mar filtrada, se vertió en botellas plásticas y se almacenó en una cava con hielo para su traslado al laboratorio. En el laboratorio, las muestras se concentraron con una sonda de vacío (SA57) y filtro de fibra de vidrio (1.3 µm de poro). Los filtros con las muestras concentradas se congelaron hasta el momento de su procesamiento.

1.2.- Moluscos:
En cada localidad se recolectó una cantidad suficiente de *P. viridis* para obtener 200 g de tejido comestible (aproximadamente 20 individuos de un tamaño entre 5 a 10 cm). Posteriormente se lavó el exterior y el interior de los bivalvos con agua destilada. Se separó el tejido comestible que luego fue homogeneizado usando una licuadora de quartzo movida y la mezcla almacenada bajo congelación a -15°C.



Sitio de muestreo de moluscos en la costa del norte del estado Sucre

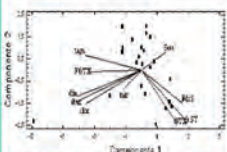
Presencia de fitoplancton gonyatocinogénico y decarboxinogénico (PSP)

Para la extracción de toxinas PSP en moluscos se usó el procedimiento usado para el aislamiento de toxinas (ACAC, 1995). Para el proceso de separación de las toxinas paralizantes PSP de los moluscos se utilizó el método de Lawrence et al. (2004). Para la extracción de toxinas del fitoplancton, los filtros con las muestras concentradas se colocaron en tubos de ensayo a los que se le agregó 5 ml de ácido acético 1N. La suspensión siguió en un baño de agua helada y se homogeneizó con un homogeneizador de tejido por una hora. La solución obtenida se centrifugó a 3000 rpm por 30 min a 25°C. El sobrenadante se guardó en vales bajo congelación a -20°C hasta el momento de su análisis. Alícuotas de cada extracto fueron usadas para la identificación y cuantificación usando cromatografía líquida de alto rendimiento con detector ultravioleta.

Estadísticas básicas de las concentraciones (µg 100g) medidas en muestras de Perla viridis y fitoplancton de las tres localidades de la costa norte del estado Sucre.

Toxinas (µg 100g)	N	Promedio	S	Min.	Max.
GTX2.3 (fitoplancton)	24	60.5	30.9	54.3	107.6
GTX2.3 (moluscos)	24	45.9	17.3	171	68.6
dcSTX (fitoplancton)	24	36.3	11.1	45.1	45.9
dcSTX (moluscos)	24	30.0	20.8	20.4	34.7
STX (moluscos)	24	4.83	0.06	4.80	4.90

Análisis de los dos primeros componentes principales ACP para los datos recolectados en la costa norte del estado Sucre.



Temperatura del agua, STX, GTX, GTXA, fitoplancton, dcGTX, sulfatoxinas, abundancia total del fitoplancton, abundancia de las tres especies de fitoplancton, Fitoclorofila, dcSTX, toxinas dcSTX y moluscos, GTX, toxina GTX y moluscos.

CONCLUSIONES

1. Las toxinas PSP identificadas y cuantificadas que presentaron las mayores concentraciones en el fitoplancton y en los bivalvos fueron la GTX y la dcGTX. Algunas muestras presentaron concentraciones de toxinas PSP mayores que los valores permitidos por la OMS, aceptados por la República Bolivariana de Venezuela, de 30 µg/100g de tejido comestible.
2. Los dinoflagelados productores de toxinas *Pfiesterium bahamense* y *Gymnodinium sp.* fueron detectados en las muestras de fitoplancton, por lo que se cree que fueron los organismos responsables por la presencia de las toxinas PSP.
3. Los resultados de los cromatogramas y las concentraciones de las toxinas están en correspondencia con los reportados por Ishiy et al. (2002), Chang 'en et al. (2006), quienes señalaron que las toxinas PSP varían de acuerdo a la situación geográfica y las especies de microalgas presentes en cada zona.
4. Las áreas analizadas presentan características climáticas comunes y típicas de la región las cuales favorecen las floraciones algales nocivas de dinoflagelados.
5. Estos hallazgos constituyen una base firme para el monitoreo directo de toxicidad en moluscos locales como una prioridad para proteger la salud humana. Además, es necesario evaluar la dinámica de acumulación y depuración de estas toxinas y los factores ambientales que modifican esos procesos para diseñar estrategias de mitigación para la industria pesquera.

REFERENCIAS

El apoyo financiero del Consejo de Investigación de la UDO y del Departamento de Química de la Universidad de Oriente, al CICS UDO-Académico, por el uso de HPLC y el apoyo logístico de la Lic. Daniela Rojas y el Sr. Jesús Montoya, por algunos aporoados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1995. *Journal of AOAC International*, 38: 21-22.
2. Chang 'en, L., Rojas de Astudillo, Franco Sosa J., La Barbera-Sánchez A., 2006. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 41-46.
3. Ishiy, N., Suzuki, T. y Ho A., 2002. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 272: 61-69.
4. Lawrence, J., Wrazelowski, B. y March, C., 2004. *Journal of AOAC International* 87(1): 1-12.
5. Subero, C., Noreiga, J. y D. Subo, G., 2003. *Tropico*, 42: 358-365.

434

Presencia y efectos histopatológicos del copépodo (*Herrmannella rostrata* Canu, 1891) en berberechos (*Cerastoderma edule* Linnaeus, 1758) de Galicia (NO España)

Díaz¹ S., Madinabeitia² I., Villalba¹ A., Ho³ J., Carballal^{1*} M.J.

¹Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA), Pedras Coron s/n, Vilanova de Arousa, España.

*E-mail: maria.carballal@cimacoron.org

²Department of Bioresource Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Japan

³Department of Biological Sciences, California State University, Long Beach, California, USA.

Resumen

El objetivo de este trabajo es identificar un copépodo que se ha encontrado asociado a berberechos (*Cerastoderma edule* Linnaeus, 1758) de Galicia en estudios previos. Además, se evalúa la variación estacional de la prevalencia de éste y se estudian los efectos patológicos que causan estos copépodos en el hospedador.

Para ello, se realizó un seguimiento histopatológico durante los años 2003 y 2004 de berberechos del banco Lombos de Ulla (NW España). En el año 2004, se diseccionaron 30 berberechos cada mes durante 3 meses, para aislar copépodos y fijarlos en etanol 70% para su identificación.

El estudio taxonómico permitió la identificación del copépodo *Herrmannella rostrata* (Canu, 1891) por características específicas encontradas en las antenas y apéndices de la boca. Se registraron de 1 a 13 copépodos por berberecho, tanto adultos de ambos sexos como

copepoditos. La presencia de este copépodo en berberechos se registró durante todo el año y su abundancia mostró un claro patrón estacional. No se encontraron daños histológicos graves asociados a la presencia de este copépodo ni en branquias ni en manto. La ausencia de daños en los tejidos de berberecho sugiere que *H. rostrata* es un comensal de *C. edule*.

En este trabajo se describe por primera vez al copépodo *H. rostrata* asociado a berberechos en la Península Ibérica.

Palabras clave

Cerastoderma edule, berberecho, *Herrmannella rostrata*, copépodo.

Introducción

En Galicia el marisqueo es una actividad socio-económica de primer orden. Los berberechos *C. edule* es una de las principales especies explotadas y gran fuente de ingresos en el ámbito del marisqueo en Galicia. La producción media anual en los últimos años se sitúa en torno a las 3.200 toneladas (Xunta de Galicia Plataforma Tecnológica da Pesca).

En estudios patológicos previos se describió la presencia de copépodos indeterminados en los berberechos de Galicia. Carballal *et al.* (2001) tanto en branquia como en digestivo. Describen la presencia de copépodos en 18/34 bancos gallegos estudiados.

Alrededor de 230 especies de copépodos simbioses de invertebrados marinos se han citado en las islas Británicas (Gotto, 1993) y 36 especies se han descrito en la Península Ibérica (López-González *et al.*, 1997), aunque no se conoce bien la naturaleza de dichas asociaciones.

El copépodo *Myticola intestinalis* (Steuer, 1902) se observó en el intestino de un amplio rango de bivalvos, incluyendo *C. edule*. Aunque existe una gran controversia acerca de la gravedad de las lesiones inducidas por este copépodo en mitílidos (Bower *et al.*, 1994) no se ha descrito patogenicidad en berberecho. Otros copépodos parásitos frecuentes en branquias de moluscos incluyen a: *Pseudomyicola spinosus* (Raffaele y Monticelli, 1885) y *Modiolicola gracialis* (Wilson 1935) identificado en ostiones, mejillones y almejas

(Cáceres-Martínez and Vázquez-Yeomans 1997); *Herrmannella tivelae* (Illg, 1949) en almeja pismo (*Tivela stultorum* Mawe, 1823) (Cáceres-Martínez *et al.*, 1998); *Lichomolgus leptodermatus* (Gooding, 1957) en berberecho y copépodos del género *Myicola* en ostras y almejas (Lauckner, 1983). Copépodos del orden Monstrilloida fueron asociados recientemente con quistes formados en el manto en mejillones de Brasil (Suárez-Morales *et al.*, 2010) conociéndose su amplia distribución por costa de Brasil y Argentina en forma de vida libre (Dias and Bonecker, 2007).

En este trabajo identificamos al copépodo *Herrmannella rostrata* asociado a branquias y manto de berberecho *Cerastoderma edule* de los bancos marisqueros de Galicia. Evaluamos la intensidad y prevalencia de este copépodo y sus efectos histopatológicos en los tejidos del hospedador.

Materiales y métodos

Se realizaron muestreos en el año 2003 y 2004 en el banco submareal de Lombos de Ulla (NW España). En el año 2003 se recogieron mensualmente muestras de 30 individuos de talla comercial (longitud anteroposterior mayor de 28 mm) y en el año 2004 trimestralmente. A cada individuo se le extrajo una pieza de tejido (de aproximadamente 5mm de espesor) que contenía masa visceral, pie, lóbulos del manto y branquia. Ésta se fijó en solución Davidson y fue incluida en parafina. Se realizaron cortes de 5 μ m de espesor que se tiñeron con hematoxilina de Harris y eosina. Estos cortes histológicos se examinaron al microscopio óptico para detectar la presencia de copépodos y los daños que causaban en los tejidos. Para cada mes se calculó la prevalencia (porcentaje de individuos en los que se detectaba copépodos).

Durante los meses de febrero, marzo y mayo del 2004 se recogieron 30 individuos para realizar observación macroscópica y aislar copépodos. Cada berberecho se abrió sobre una placa de petri para recuperar el agua de la cavidad paleal. Tanto en el agua intervalvar recuperada como en el cuerpo del berberecho se buscaron copépodos con ayuda de un microscopio estereoscópico. En todos los casos se registró el número de copépodos en cada berberecho, estadio de desarrollo (adulto o copepodito). Los copépodos se fijaron en etanol al 70% para su identificación.

Resultados

Histología

En los cortes histológicos se detectaron copépodos en cavidad paleal, branquia y digestivo. No se observaron alteraciones patológicas graves asociadas a los copépodos, aunque el tejido branquial que rodeaba a los copépodos aparecía en algunos casos hipertrofiado y con una intensa reacción hemocitaria (Fig.1). Copépodos del tipo *Mytilicola* fueron observados en el lumen intestinal (Fig.1), provocando ocasionalmente una metaplasia consistente en el reemplazamiento de las células cuboidales del epitelio intestinal por células columnares. Los copépodos de las branquias fueron más frecuentes que los intestinales. En los copépodos detectados en branquia y/o en la cavidad paleal frecuentemente se observaron ovisacos. En este trabajo estudiaremos los copépodos branquiales no identificados hasta el momento.

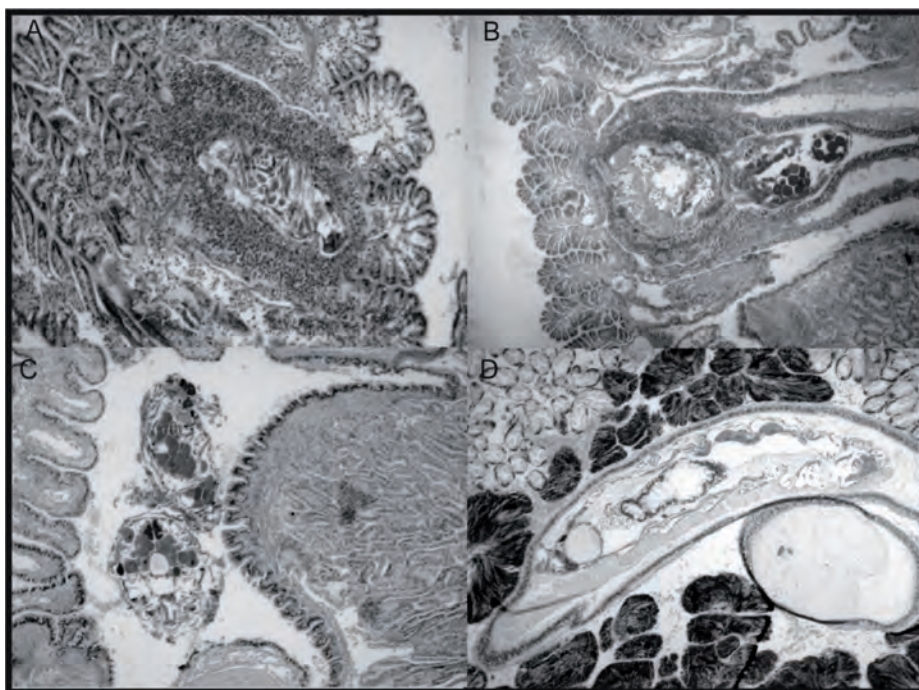


Figura 1.- Cortes histológicos de berberechos afectados por copépodos. A, B, copépodo en tejido branquial asociados a infiltraciones branquiales. C, copépodo en cavidad intervalvar. D, copépodo de tipo *Mytilicola* en lumen intestinal.

Mediante histología se ha registrado copépodos branquiales en todos los muestreos de los dos años oscilando las prevalencias del 3% al 76% (Fig.2). Se observó un patrón estacional. Las prevalencias comenzaban a aumentar en primavera alcanzando el pico máximo de prevalencia en verano (durante los meses de Julio y Agosto).

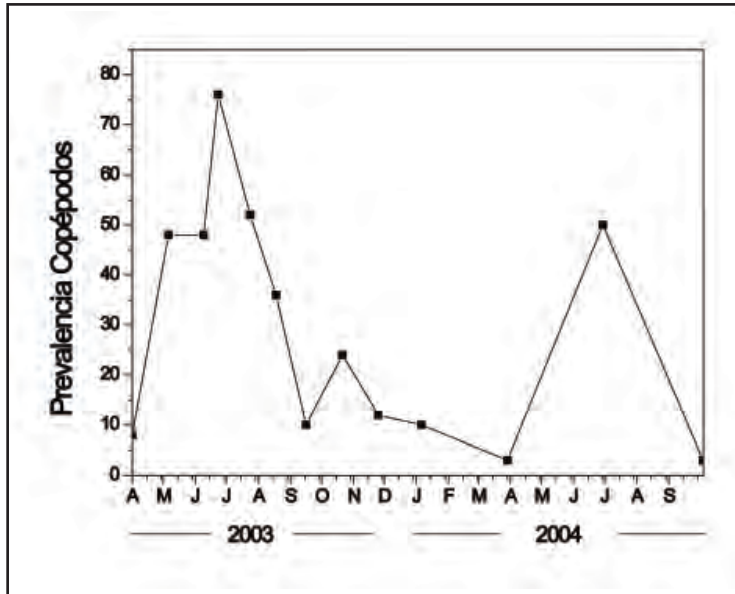


Figura 2.- Distribución de prevalencia de copépodos en berberecho *Cerastoderma edule* en branquia y cavidad paleal.

Disección

Se encontraron numerosos copépodos asociados a los berberechos, tanto en el agua intervalvar recuperada en las placas petri, como apoyados sobre tejidos del berberecho: manto, sifones, branquias y palpos (Fig.3). Los copépodos efectuaban movimientos lentos lo que facilitó su registro. A nivel macroscópico no se detectó ninguna alteración asociada a la presencia de los copépodos. En este trabajo no se han aislado los copépodos del lumen de los tubos digestivos.

Durante los meses muestreados, ningún berberecho diseccionado estaba libre de copépodos, la prevalencia fue del 100%. Se identificaron hasta 13 copépodos en un mismo berberecho, con una media de 4,4 copépodos por individuo. Se identificaron los dos sexos adultos y copepoditos, en una relación copépodo adulto: copepodito 1:1,7. Se identificaron

hembras con y sin ovisacos. En el caso de las hembras con huevos se diferenciaron distintas etapas de desarrollo: los sacos ovígeros eran blancos o rosados (la coloración indica un mayor desarrollo) (Fig.3).

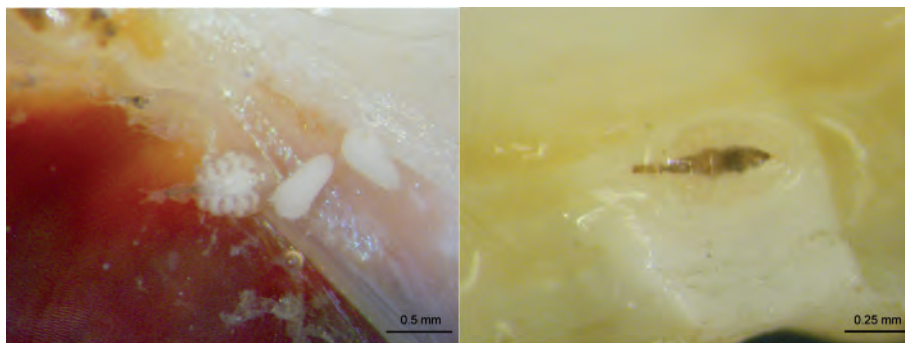


Figura 3.- Copépodo *Herrmannella rostrata* en tejidos de berberecho *Cerastoderma edule*.

El estudio taxonómico permitió la identificación de *Herrmannella rostrata* (Poecilostomatoida, Lichomolgoidea, Sabelliphilidae). Su cuerpo es alargado, casi cilíndrico, más ancho en la parte delantera. El cefalotórax es alargado y de forma ovalada con el 5º segmento torácico muy estrecho y se extiende frontalmente formando una especie de columna vertebral quitinosa. El abdomen está formado por 4 segmentos en hembras y 5 en machos. El 1º segmento es largo y dilatado y los demás tan largos como anchos en ambos sexos. La mandíbula es alargada con pequeños dentículos en la zona anterior y posterior. Las maxílulas son cortas, cilíndricas y terminan en dos sedas finas y cortas. Las maxilas externas son largas y convexas. El segundo segmento es alargado y cilíndrico con una seda en la zona proximal interna. Las maxilas internas son largas y robustas en ambos sexos. En hembras poseen dos sedas internas en el segundo segmento y el tercer segmento parece una garra extendida. En machos el segundo segmento es más largo que en hembras, es denticulado y tiene dos espinas muy largas. El tercer segmento tiene forma de pinza y tiene una seda rígida muy larga. Las anténulas 1º, 4º, 5º, 6º y 7º son de similar tamaño. La 2º es muy alargada y la 3º más corta. Los machos tienen 7 grandes filamentos sensoriales mientras las hembras poseen 3 más cortos. Las antenas son de pared gruesa y resistente. Con 2º segmento muy largo y 3º muy corto. 4º segmento más largo que ancho con una espina larga y gruesa con sedas rígidas. Las aberturas externas de los oviductos situados dorsalmente en el 1º segmento abdominal de la hembra con una fuerte espina quitinosa. Los sacos ovígeros son largos y de forma ovalada. El macho posee unos espermatozoides bien desarrollados.

Discusión

El copépodo *Herrmannella rostrata* se describió por primera vez por Canu 1981 en la costa francesa tanto nadando en el agua del mar libre como asociado a berberecho *C. edule* (Linnaeus, 1758) y volandeira (*Aequipecten opercularis* Linnaeus, 1758). Fraser (1932) identificó a este copépodo en manto y sifones de berberecho *C. edule* de la costa de gran Bretaña y recientemente ha sido identificado por primera vez en la Península Ibérica, Punta Umbría (S España) (López-González *et al.*, 1997). Las especies del género *Herrmannella* se asocian habitualmente con una especie particular de moluscos bivalvos (Bocquet and Stock, 1958; Humes and Cressey, 1958; Hume 1967; Illg 1949). Este género no suele encontrarse fijado al tejido del hospedador, por lo que la ausencia de lesiones importantes parece indicar que la relación de este copépodo con el berberecho no es de carácter negativo. Es probable que los copépodos aprovechen las partículas alimentarias que se encuentran en las branquias y cavidad paleal del berberecho, el molusco se beneficiaría por la “limpieza” continua de branquias y manto que realizan los copépodos al alimentarse, favoreciendo a eficiencia de filtración del molusco. Sería una asociación de tipo comensal o quizá simbiótica y no parasitaria (Cáceres-Martínez *et al.*, 1998). Sin embargo, estos copépodos producen pequeñas lesiones locales que podrían alcanzar cierta patogenicidad en berberechos parasitados con un número significativo de copépodos.

La presencia de los dos sexos, hembras ovadas y copepoditos; así como su detección durante todo el año; sugiere que la especie podría pasar a alcanzar la madurez sexual dentro del hospedador como sugiere Humes (1958).

Aunque la histología no es la mejor técnica para determinar la prevalencia de este copépodo. En este trabajo se encontró que la abundancia de este copépodo tiene un patrón estacional, como se ha descrito en otras especies de copépodos (Chang and Fang, 2004). Factores ambientales como la temperatura (Landry, 1983), salinidad (Covetto *et al.*, 1999), oxígeno disuelto (Escribano and Hidalgo, 2000) y disposición de alimento (Tang *et al.*, 1994) se conoce que afectan a la distribución y abundancia de los copépodos.

Conclusiones

- ❖ En este trabajo se cita por primera vez al copépodo *Herrmannella rostrata* asociado a berberechos en la Península Ibérica.

- ❖ *H. rostrata* no causa graves lesiones en el berberecho.
- ❖ La prevalencia de *H. rostrata* muestra un patrón estacional de asociación a berberecho.

Agradecimientos

Los autores agradecen a M. Angueira, E. Penas e I. Meléndez la asistencia técnica realizada. Este estudio se ha realizado con fondos de la Xunta de Galicia a través del proyecto de investigación PGIDIT06PXIB501132PR.

Bibliografía

- Bouquet M.P., Stock J.H. 1958. Copépodes parasites d'invertébrés des côtes de France. VI. Description de *Paranthessius myxicolae* nov. Sp, copépode semi-parasite du sabellidae *Myxicola infundibulum* (Rénier). *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen Series*. 61 (2): 243-253.
- Bower S.M., McGladdery S.E., Price I.M. 1994 Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. *Annual Review of Fish Diseases*, 4: 1-199.
- Cáceres-Martínez J., Macías-Montes P., Linné M., Vázquez-Yeomans R., Suárez-Morales E. 1998. Anuales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. Serie zoológica 69 (2): 155-164.
- Cáceres-Martínez J., Vázquez-Yeomans R. 1997. Presence and Histological effects of the copepod *Pseudomyicola spinosus* in *Mytilus galloprovincialis* and *Mytilus californianus*. *Journal of Invertebrate pathology*. 70: 150-155.
- Canu E. 1982. Les copepods du Boulonnais. Morphologie, embryologie, taxonomie. *Trav. Lab. Zool. Marit. Wimereux*. 6: 1-354.
- Carballal M.J., Iglesias D., Santamarina J., Ferro-Soto B., Villalba A. 2001. Parasites and pathologic conditions of the cockle *Cerastoderma edule* populations of the coast of Galicia (NW Spain). 78: 87-97.
- Chang W., Fang L. 2004. Temporal and spatial variations in the species composition, distribution and abundance of copepods in Kaohsiung Harbour, Taiwan. *Zoological studies*. 43(2): 454-463.

- Covetto C., Gaudy R., Pagano M. 1999. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *J. Exp. Biol. Ecol.* 239: 33-45.
- De Oliveira C., Costa S. 2007. Study of *Monstrilloida* distribution (Crustacea, Copepoda) in the Southwest Atlantic. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*.2 (3): 270-278.
- Escribano R., Hidalgo P. 2000. Spatial distribution of copepods in the north of the Humboldt Current region off Chile during coastal upwelling. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 80: 283-290.
- Fraser J.H. 1932. Occurrence of the Cyclopoid, *Herrmannella rostrata* Canu, in *Cardium edule*. *Nature*. 20: 279
- Gotto V. 1993. Commensal and parasitic copepods associated with marine invertebrates (and whales) In: Kermack, D. M., Barnes, R. S. K. and Crothers J. H.. *Synopses of the British Fauna New Series*, 46: 264 pp.
- Humes A.G. 1967. Cyclopoid copepods of the genus *Paranthesius* associated with marine pelecypods in Chile. *Proceedings of the United States National Museum*, 124 (3628): 1-18
- Humes A.G., Cressey R.F. 1958. Copepods parasitic on mollusc in West Africa. *Bulletin de l'institute fondamentale d'Afrique noire serie A*.20 (3): 921.
- Illg P.L. 1949. A review of the copepod genus *Paranthesius* Claus. *Proceedings of the United States National Museum* 99 (3245): 391-428.
- Landry M.R. 1983. The development of marine calanoid copepods with comment on the isochronal rule. *Limnol. Oceanogr.* 28: 614-624.
- Lauckner G. 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In Kinne O.(Eds.) Diseases of marine animals. *Introduction Bivalvia to Scaphopoda*. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland, pp.477-961.
- López-González P.J., Conradi M., García-Gómez J.C. 1997. *Miscelánea Zoológica* 20(1): 101-110.
- Suárez-Morales E., Paiva M., da Silva M. 2010. Occurrence and histopathological effects of *Monstrilla* sp. (Copepoda: Monstrilloida) and other parasites in the brown mussel *Perna perna* from Brazil. *Journal of the marine biological of the United Kingdom*, 90 (5): 953-958.
- Tang K.W., Chen Q.C., Wong C.K. 1994. Diel vertical migration and gut pigment rhythm of *Paracalanus parvus*, *P. crassirostris*, *Acartia erythraea* and *Eucalanus subcrassus* (copepoda, Calanoida) in Tolo Harbour, Hong Kong. *Hydrobiologia*. 292/293:389-396.
- Xunta de Galicia. Plataforma tecnológica da pesca. [on line] <http://www.pescadegalicia.com> [accedido 31/08/2011].

Química sanguínea en juveniles de *Colossoma macropomum* en condiciones de cultivo

Salazar-Lugo^{1,2*} R., Vargas³ A., Blanco¹ Y., Lemus^{4,5} M., Centeno⁶ L.

¹Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad, Universidad de Oriente, estado Sucre, Venezuela.

²Postgrado de Biología Aplicada, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Sucre. Venezuela.

*E-mail: rsalazarlugo@gmail.com

³Departamento de Enfermería, Universidad de Oriente, estado Sucre, Venezuela.

⁴Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, Universidad de Oriente, estado Sucre, Venezuela

⁵Departamento de Biología Marina, Laboratorio de Ecofisiología y Ecotoxicología, Instituto Oceanográfico de Venezuela

⁶Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Tucupita, estado Delta Amacuro, Venezuela.

Resumen

La “cachama” o “tambaqui” *Colossoma macropomum* es un pez con gran demanda para el desarrollo de la acuicultura dulceacuícola en Venezuela, por lo que el monitoreo del estado de salud es un requisito indispensable para el éxito durante su cultivo. El objetivo de este estudio fue establecer valores de referencias de conteaje de células sanguíneas y valores de química sanguínea en juveniles de cachama. Se emplearon 300 juveniles provenientes de la acuicultura Alma CA, Estado Anzoátegui, Venezuela con un peso entre 45,19 - 115,86 g y tamaño de 8- 23,9 cm de longitud. Se les tomaron muestras de sangre que se emplearon para las determinaciones hematológicas y de química sanguínea. Los valores de hemoglobina fueron $4,84 \pm 2,38$ g/dL, el hematocrito entre $14,61 \pm 7,33\%$, el conteaje total de glóbulos blancos fue de 9.130 ± 4.710 cel/mL; glóbulos rojos: 485.000 ± 224.000 cel/mL,

los linfocitos 8.299 ± 4.575 cel/mL, granulocitos neutrófilos: 1245 ± 905 ; los granulocitos eosinófilos estuvieron entre 0-253 cel/mL y los monocitos-macrófagos entre 0-286 cel/mL. Se observaron dos poblaciones diferenciadas de granulocitos neutrófilos, tipo I y II. Los parámetros plasmáticos determinados fueron: glucosa $70,67 \pm 14,71$ mg/dL, urea: $3,12 \pm 0,93$ mg/dL; colesterol $142,88 \pm 18,85$, triglicéridos $409,94 \pm 109,99$. La actividad de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT) fue de $4,83 \pm 1,34$ U/L; para la aspartato aminotransferasa (AST) fue de $143,64 \pm 28,44$ U/L; lactato deshidrogenasa (LDH): $706,17 \pm 155,85$ U/L; creatin kinasa (CK): $3830,50 \pm 769,91$ U/L y fosfatasa alcalina (ALP) $22,85 \pm 3,98$; los valores observados para los bioelementos fueron; calcio, $3,02 \pm 0,25$; fósforo, $4,05 \pm 0,49$ 5,8; magnesio, $1,33 \pm 0,12$; sodio $172,23 \pm 12,09$ y potasio $1,55 \pm 0,38$. Los parámetros determinados para cachama pueden ser utilizados como referencia para el monitoreo del estado de salud de peces juveniles en condiciones de cultivo.

Palabras clave

Colossoma, hemoglobina, química sanguínea, leucocitos.

Introducción

La cachama *Colossoma macropomum* es un pez relativamente grande, ampliamente distribuido en toda la cuenca amazónica, ha constituido por años un abundante y apetecido producto de la pesca fluvial. Los adultos tienen la región ventral oscura o negra; el dorso y los lados del cuerpo son oliváceos o color cobre con aletas negras. Se distribuye en las cuencas del Amazonas y Orinoco, comprendiendo Brasil, Venezuela, Colombia, Perú, Guyana y Bolivia. Se ubica desde Puerto Ayacucho, hasta el bajo Delta. En etapa adulta se halla generalmente en el canal principal de grandes ríos así como también en épocas de sequía en los caños con densa cobertura vegetal, mientras que los juveniles se hallan más frecuentemente en las lagunas de inundación (Machado-Allison, 1982). Alcanza una talla máxima de 92 cm. Es omnívoro, pero durante su fase larval es zooplantófago mientras que los juveniles muestran una dieta mixta, consumiendo tanto vegetales como animales. Cuando está en edad adulta es principalmente frugívoro, alimentándose de semillas.

Es una de las especies de agua dulce más importantes desde el punto de vista comercial; en especial, si se considera el gran potencial que tienen para el cultivo. Es muy abundante

en las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco. Particularmente en Venezuela, es parte de las pesquerías de los ríos Apure, Caroní, Guanare, Meta, Portuguesa y Orinoco (Fernández, 1986; García y Quiñones, 1988).

Materiales y metodos

Se utilizaron ejemplares de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), cuyos índices biométricos oscilaron entre 8-23,9 cm de longitud y 31,43-48,41 g de peso, los cuales fueron recolectados en lagunas artificiales de reproducción, y fueron provistos por la acuicultura Alma CA, Estado Anzoátegui, Venezuela.

Cada organismo fue pesado en una balanza analítica marca Ohaus (+/- 0,001 g) y medida su longitud estándar con un ictiómetro. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena caudal a nivel del arco hemal. La concentración de la hemoglobina (Hb) en los peces fue determinada utilizando el método de la cianometahemoglobina según Blaxhall y Daisley (1973); El valor para el hematocrito se obtuvo mediante el método microhematocrito (Blaxhall y Daisley, 1973). El conteo de glóbulos rojos y blancos se realizó en una cámara de conteo Neubauer doble, para lo cual se mezclaron 20 µL de sangre con 1,98 mL de la solución Dacie para peces (Blaxhall y Daisley, 1973).

Para determinar los índices hematimétricos: Volumen Corpuscular Medio (V.C.M), Hemoglobina Corpuscular Media (H.C.M) y Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (C.H.C.M); se utilizaron las relaciones matemáticas propuestas por Levinson y McFate (1964). Se utilizó el método del extendido según Lynch *et al* (1977) y los métodos de Coloración de Peroxidasa de Sato y Selkiya (Conroy, 1998) y de Giemsa, para lograr una mejor visualización de las diferentes tipos de células blancas de peces.

Resultados y discusion

Los tipos celulares leucocitarios se relacionaron con la talla del pez; en peces con tallas comprendidas entre 8-11,7 cm se observaron los más altos promedios de linfocitos y más bajos de granulocitos (80,97±7,44% de linfocitos y 15,60± 7,70), mientras que los grupos de mayor talla (11,8-15,5 y 15,6-23,9 cm de longitud total, presentaron los valores más bajos de linfocitos y más altos de granulocitos (73,10±12,26 y 72,87±8,01 linfocitos y 25,96±12,85 y

25,54±8,24 para granulocitos); No se observó relación ni diferencia entre el peso del pez y los porcentajes de células. El análisis de correlación entre la longitud y los valores de linfocitos y neutrófilos demostró que existe una relación positiva y significativa entre la longitud y el porcentaje de granulocitos y negativa entre la longitud y el porcentaje de linfocitos. Entre ambos parámetros, linfocitos y neutrófilos se determinó una relación negativa. Estos resultados sugieren que en cachama, a medida que aumentan de tamaño, se ve reforzado el sistema inmune innato celular representado por los granulocitos.

El análisis de componentes principales determinó que no existe correlación entre el número de leucocitos, eritrocitos, CHCM, el peso y la talla de los peces; los parámetros hemoglobina (Hb) y Hto no están correlacionados entre si por lo que no se pueden extrapolar cuando se hacen evaluaciones. Sólo en los peces de mayor talla se observó una correlación positiva entre los índices VCM, HCM, la talla y el peso del pez; a su vez, estos dos índices (VCM, HCM) están correlacionados negativamente con los eritrocitos, las hemoglobina y el hematocrito. Los resultados de este análisis sugieren que el pez, a medida que aumenta su talla, regula el contenido de hemoglobina en los eritrocitos por aumento del tamaño de la célula y por síntesis de esta proteína y no necesariamente por síntesis de nuevas células.

Tabla I.- Parámetros hematológicos y químicos en sangre de *C. macropomum*.

Parámetros sanguíneos	X ± DE	Parámetros químicos	X ± DE
Hemoglobina (g/dL)	4,84 ± 2,38	Glucosa (mg/dL)	70,67 ± 14,71
Hematocrito (%)	14,61 ± 7,33	Urea (mg/dL)	3,12 ± 0,93
Glóbulos Blancos (cél. \times mm ³)	9.130 ± 4.710	Colesterol (mg/dL)	142,88 ± 18,85
Glóbulos Rojos (cél. \times mm ³)	485.000 ± 224.000	Triglicéridos (mg/dL)	409,94 ± 109,99
V.C.M. (fl)	356,24 ± 226,11	VLDL (mg/dL)	71,50 ± 12,09
H.C.M. (pg)	112,59 ± 70,17	Bilirrubina total (mg/dL)	0,15 ± 0,05
C.H.C.M.(%)	33,44 ± 70,17	Bilirrubina directa (mg/dL)	0,10 ± 0,00
Linfocitos (cel/mL)	8.299 ± 4.575		
Neutrófilos	1.245 ± 905		
Eosinófilos	0-253		
Monocitos	0-286		

Tabla II.- Bioelementos y parámetros enzimáticos en *C. macropomum*.

Bioelementos	X ± DE	Parámetros enzimáticos	X ± DE
Calcio (mmol/L)	3,02 ± 0,25	CK (UI/L)	3830,50 ± 769,91
Fósforo (mmol/L)	4,05 ± 0,49	AST (UI/L)	143,64 ± 28,44
Magnesio (mmol/L)	1,33 ± 0,12	ALT (UI/L)	4,83 ± 1,34
Sodio (mEq/dL)	172,23 ± 12,09	ALP (UI/L)	22,85 ± 3,98
Potasio (mEq/dL)	1,55 ± 0,38	LDH (UI/L)	706,17 ± 155,85
		CK (UI/L)	3830,50 ± 769,91
		AST (UI/L)	143,64 ± 28,44

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con recursos del proyecto FONACIT-UDO G2005000775. Agradecemos al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente y al Instituto Nacional de investigaciones agrícolas sede Tucupita (estado Delta Amacuro, Venezuela) por su apoyo durante la realización de este trabajo.

Bibliografía

- Blaxhall P., Daisley K. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5:771-781.
- Conroy D. 1998. Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria. *Pharma-Fish*. Maracay Edo. Aragua.
- Fernández J.M. 1986. Peces más comunes del Territorio Federal Amazonas. Venezuela. *Fonaiap Divulga*, 21.
- García P.L., Quiñónez G.G. 1988. Ensayos de cultivo de *Colossoma macropomum* (cachama) en lagunas artificiales. "Bol. Inv. Biológicas.", 17." <<http://www.Altavista.com>> (21/11/2004).
- Goulding M., Carvalho M. 1982. Life history and managerment of the tambiqui (*C.*

macropomum, Characidae), an important Amazonian food fish. *Rev. Bras. Zool.*, 2:107-133.

Levinson S., McFate P. 1964. *Diagnóstico de Laboratorio*. Editorial El Ateneo. Barcelona – España. 124 pp.

Lynch M., Rápale S., Mellor L., Spare P. 1977. *Análisis clínicos*. 2ª edición. Nueva editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F. 1522 pp.

Machado-Allison A. 1982. Estudio sobre sistema de la subfamilia Serrasalminidae (Teleostei, Characidae). Parte I. Estudio comparado de los juveniles de Cachama en Venezuela (*Colossoma macropomum* y *Piaractus*). *Acta Biol. Vzla.* 11(3): 1-102.

Mago F. 1970. Lista de peces de Venezuela. Incluyendo un estudio preliminar sobre ictiografía del país. Mins. Agric. y Cría, ONP. Caracas. 283 pp.

QUÍMICA SANGUÍNEA EN JUVENILES DE *Colossoma macropomum* EN CONDICIONES DE CULTIVO.

Raquel Salazar-Lugo, América Vargas, Yvis Blanco, Mairin Lemus, Luisa Centeno2

1. Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Cumaná Venezuela 2. Instituto de Investigaciones Agrícolas sede Tacupita. Estado Delta Amacuro, Venezuela

raquelugove@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Los parámetros hematológicos y la química sanguínea en peces son utilizados como indicadores rápidos de cualquier perturbación fisiológica que pueda afectar la salud de la población piscícola; más aún, en las prácticas actuales, donde es común hablar de cultivos intensivos los cuales incrementan la susceptibilidad de los peces a sufrir infecciones, enfermedades nutricionales y diversas reacciones al ambiente. La "cachama" o "tambaqui" *Colossoma macropomum* es un pez con gran demanda para el desarrollo de la acuicultura dulceacuicola en Venezuela, por lo que el monitoreo del estado de salud es un requisito indispensable para el éxito durante su cultivo.

MÉTODOS

Se emplearon juveniles de cachama (I. O); con 1.5 An ± 0,5 cm de largo y un peso de 40,60 ± 0,1 g

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena caudal a nivel del arco hemal.



Una alícuota fue utilizada para la determinación de los parámetros hematológicos y otra para los análisis bioquímicos.

Se determinó Hb, Hcto, Contaje total y diferencial de leucocitos y conteo total de eritrocitos, VCM, HCM, CHCM y glicemia, urea, lípidos, VLDL, Bilirrubina total y fraccionada, las enzimas ALT, AST, LDH, CK y ALP y de los bioelementos calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio en un equipo de química sanguínea automatizado marca Olympus modelo AU60 con kits comerciales marca Roche

RESULTADOS

Parámetros sanguíneos	X ± DE
Hemoglobina (g/dl)	4,84 ± 2,38
Hematocrito (%)	14,61 ± 7,33
Globulinas (cels. mm ³)	9 130 ± 4710
Biancos (cels. mm ³)	224000
Globulinas Rojas (cels. mm ³)	485 000 ± 226,11
V.C.M. (fl)	356,24 ± 226,11
H.C.M. (pg)	112,59 ± 70,17
C.H.C.M.(%)	33,44 ± 79,17
Linfocitos (cel/ml)	8239 ± 4375
Neutrófilos	0-253
Eosinófilos	0-266
Monocitos	

Parámetros químicos	
Glucosa (mg/dl)	70,67 ± 14,71
Urea (mg/dl)	3,12 ± 0,93
Coolesterol (mg/dl)	142,88 ± 18,85
Triglicéridos (mg/dl)	409,94 ± 109,99
VLDL (mg/dl)	71,90 ± 12,09
Bilirrubina total (mg/dl)	0,15 ± 0,05
Bilirrubina directa (mg/dl)	0,10 ± 0,00
Bilirrubina indirecta (mg/dl)	0,13 ± 0,07

bioelementos	
Calcio (mmol/l)	3,02 ± 0,25
Fósforo (mmol/l)	4,05 ± 0,49
Magnesio (mmol/l)	1,33 ± 0,12
Sodio (mEq/dl)	172,23 ± 12,09
Potasio (mEq/dl)	1,55 ± 0,38

Parámetros enzimáticos	
CK (U/l)	3830,50 ± 769,91
AST (U/l)	143,64 ± 29,44
ALT (U/l)	4,63 ± 1,34
ALP (U/l)	22,85 ± 3,98
LDH (U/l)	706,17 ± 155,85

CONCLUSIÓN



Los parámetros bioquímicos evaluados pueden servir de punto de referencia para el monitoreo del estado de salud de juveniles de cachama en condiciones de cultivo.

FONACIT-UDO-INIA-LUZ PROYECTO G2005000775

Viabilidad del cultivo de ostra plana *Ostrea edulis* en Galicia en zonas afectadas por bonamiosis

Montes* J., Iglesias D., Guerra A.

Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA), Consellería do Mar, Apdo. 13, 36620 Vilanova de Arousa, Spain.

*E-mail: montes@cimacoron.org

Resumen

La enfermedad conocida como bonamiosis es la principal amenaza para el cultivo de la ostra plana (*Ostrea edulis*) en Galicia debido a las altas mortalidades que provoca. Para minimizar sus efectos los ostricultores gallegos han optado por disminuir el tiempo de cultivo introduciendo ostras de diversos países de talla próxima a la comercial. Esta modalidad entraña graves riesgos desde el punto de vista patológico pero parece actualmente ser la única alternativa viable. En este trabajo se analizó la evolución a nivel patológico de dos ciclos de cultivo cortos llevados a cabo en la Ría de Arousa durante 2009 y 2010 a partir de ostra plana procedente de Italia. Tras la realización de un control patológico inicial, las ostras se dispusieron en batea. Cada dos meses, y hasta la finalización del cultivo, se evaluó la mortalidad y la presencia de la enfermedad. En 2009 no se detectaron parásitos del género *Bonamia* hasta el segundo análisis de seguimiento. Cuando el cultivo finalizó, a los 8 meses, la prevalencia era del 15,0% y la mortalidad acumulada del 18,2%. El ciclo de cultivo efectuado en 2010 fue de sólo 6 meses. Tampoco se detectó *Bonamia* sp. en los primeros 4 meses de cultivo. Al finalizar el mismo la prevalencia fue del 8,3% y la mortalidad acumulada del 14,7%. Los resultados sugieren que, actualmente en Galicia el cultivo de ostra plana puede ser viable si se parte de ostra importada en la que no se detecte la enfermedad en el momento de su introducción y que alcance la talla comercial en ciclos de cultivo de entre 6 y 8 meses de duración. Tras la inmersión, la bonamiosis suele comenzar a detectarse por histología en torno a los 4

meses de cultivo. A partir del momento de la detección del parásito las prevalencias aumentan progresivamente al igual que la mortalidad. La interrupción del cultivo una vez que las prevalencias alcanzan niveles significativos constituye una herramienta de gestión que permite controlar los niveles de mortalidad. La clave del éxito reside en la información patológica aportada al ostricultor para la toma de decisiones.

Palabras clave

Ostra plana, bonamiosis, prevalencia, estrategias de cultivo.

Introducción

En Galicia, antiguamente existían importantes bancos naturales de ostra plana (*Ostrea edulis*) que soportaron durante siglos una pesquería tradicional intensiva y rentable que condujo al agotamiento de la mayoría de las poblaciones de ostra y al decaimiento de la industria ostrícola en los años 50 (Andreu, 1968). Como alternativa se desarrolló una actividad acuicultora basada en el engorde de ostra plana suspendida en batea. Sin embargo, la escasez de un suministro estable de semilla de origen autóctono hizo necesario importar grandes cantidades de ostra de diferentes países y, como consecuencia, acabó por introducirse el parásito *Bonamia ostreae* en las aguas gallegas (Polanco *et al.*, 1984).

La bonamiosis es una enfermedad infecciosa originada por parásitos haplosporidios del género *Bonamia*. Donde está presente la enfermedad constituye el principal factor limitante de la producción de ostra plana, tanto en cultivo como en poblaciones salvajes (Laing *et al.*, 2006). En Galicia la bonamiosis causa mortalidades masivas de ostra plana durante el segundo año de cultivo (Montes *et al.*, 1992). Por ello, la industria ostrícola se ha visto obligada a modificar su actividad productiva hacia una estrategia de supervivencia basada en la reducción de los tiempos de cultivo mediante la introducción de ostras de tamaño próximo al comercial procedentes de otros países (Montes *et al.*, 2003).

Actualmente, el sector ostrícola gallego ha entrado en una dinámica consistente en que la ausencia de semilla autóctona obliga a importar grandes cantidades de ostra foránea y, esto, a su vez, puede agravar la incidencia de la bonamiosis. Tal es así que, recientemente, se ha documentado en aguas gallegas la presencia del parásito *Bonamia exitiosa* (Abollo *et*

al., 2008), considerado exótico hasta el momento en los países de la Unión Europea según la Directiva 88/2006/CE. La posibilidad de romper esta dinámica pasa por la restauración de las poblaciones naturales y por el establecimiento de cultivos de ostra autóctona (Xunta de Galicia, 1992). Sin embargo, éste es un planteamiento a muy largo plazo y con una enorme incertidumbre en lo que se refiere a sus posibilidades de éxito (Mann y Powell, 2007). El grueso del sector ostrícola gallego responde a un perfil tipo de pequeñas empresas familiares con serias dificultades para el mantenimiento de su actividad año tras año. Plantear su supervivencia únicamente en base a los resultados de programas a largo plazo puede conducir a su desaparición. Se propone pues, como medida complementaria, el desarrollo de estrategias de cultivo fundamentadas en el análisis del riesgo patológico asociado a la bonamiosis y en el asesoramiento al ostricultor para la toma de decisiones. En este sentido se analizó la evolución de la prevalencia de la bonamiosis en dos ciclos de cultivo cortos llevados a cabo por un ostricultor profesional en la Ría de Arousa durante 2009 y 2010, con el fin de determinar los niveles de enfermedad asociados a la máxima mortalidad económicamente soportable en un cultivo comercial.

Materiales y métodos

Se desarrollaron dos experiencias consistentes en el seguimiento patológico de dos cultivos comerciales llevados a cabo por un ostricultor gallego en una batea ubicada en el polígono Grove A de la Ría de Arousa. El protocolo de cultivo consistió en la introducción de ostra plana de talla próxima a la comercial (60 mm) procedente de Italia y su engorde en cuerdas suspendidas en batea. El momento de finalización de los cultivos fue decidido por el ostricultor en base, fundamentalmente, a la oportunidad de comercialización del producto, coincidiendo con períodos de elevada demanda del mercado, y a los niveles máximos de mortalidad que consideraba aceptables; si bien éste estuvo informado de los niveles que alcanzaba la bonamiosis a lo largo del período de estudio.

La primera experiencia se inició en marzo de 2009 y finalizó en noviembre del mismo año (8 meses de duración). La segunda fue más corta, introduciéndose las ostras en febrero de 2010 y retirándose para su venta en agosto de 2010 (tras 6 meses de cultivo). En cada uno de los ciclos de cultivo, de manera previa a la inmersión de las ostras, se realizó un análisis histopatológico sobre 60 individuos de cada lote con el fin de comprobar que estaban libres de *Bonamia* spp. y de otras patologías relevantes. Con periodicidad bimestral se realizaron muestreos de seguimiento de la mortalidad y de la prevalencia de la enfermedad en las ostras cultivadas. Para evaluar la mortalidad al inicio del cultivo se dispusieron 600 ostras en

cuerdas marcadas y, con ocasión de cada muestreo, se contabilizaron aquellas que aparecían muertas. La tasa finita de supervivencia correspondiente al período de tiempo transcurrido entre muestreos, se determinó como el número de ostras vivas al final de dicho intervalo, dividido por el número inicial de ostras vivas al inicio del intervalo. Dicho número fue corregido considerando el número de ostras retiradas en cada muestreo para su análisis histopatológico, con el fin de determinar el número de ostras vivas existentes al inicio del intervalo correspondiente al muestreo siguiente. La mortalidad acumulada al final de cada experiencia de cultivo se calculó como la suma de las tasas instantáneas de mortalidad correspondientes a cada intervalo, transformándose a continuación a su expresión finita (Krebs, 1989). En cada uno de los muestreos se tomaron al azar 60 ostras de entre las ostras identificadas para seguimiento y se transportaron al laboratorio en una nevera portátil para su análisis histopatológico. Se mantuvieron refrigeradas (4 °C) hasta el inicio del procesamiento histológico. Éste consistió en la realización de un corte transversal a través del cuerpo de la ostra, justo bajo el nivel de los palpos labiales, y la extracción de una pieza de tejido de aproximadamente 5 mm de espesor que contuviese gónada, glándula digestiva y branquia. Esta muestra de tejido se fijó en solución de Davidson y se incluyó en parafina. A partir de la pieza de tejido incluida en parafina se realizaron cortes de 5 µm de espesor que se desparafinaron y tiñeron con hematoxilina de Harris y eosina. Estos cortes histológicos se examinaron al microscopio óptico con el fin de detectar organismos parásitos del género *Bonamia* en los tejidos de las ostras. Se calculó para cada muestra la prevalencia (en porcentaje) de la bonamiosis dividiendo el número de individuos afectados entre el total de individuos que integraban la muestra.

Resultados

El seguimiento patológico del cultivo desarrollado en 2009 implicó el análisis histológico de 270 ostras. No se detectaron parásitos del género *Bonamia* ni en el control inicial ni en el primer muestreo de seguimiento; encontrándose en baja prevalencia en los siguientes muestreos, hasta alcanzar una prevalencia máxima del 15,0% a la finalización del cultivo. La mortalidad inicial, en tanto no se detectaron infecciones por *Bonamia* sp., fue de apenas el 5,0%. A partir de la detección de la enfermedad, la mortalidad incrementa progresivamente hasta alcanzar valores del 18,2% de mortalidad acumulada a la finalización del cultivo (Fig. 1).

En el ciclo de cultivo efectuado en 2010 se analizaron por histología un total de 210 ostras. Al igual que en la experiencia anterior, no se detectó *Bonamia* sp. ni en el control inicial ni en el primer control de seguimiento; detectándose con una prevalencia del 3,3% a

los 4 meses y alcanzando el 8,3% al finalizar el cultivo. La mortalidad siguió una evolución similar a la de la experiencia de 2009, incrementando progresivamente desde el momento de detección de la enfermedad y alcanzando valores de mortalidad acumulada del 14,7% al final de la experiencia (Fig. 2).

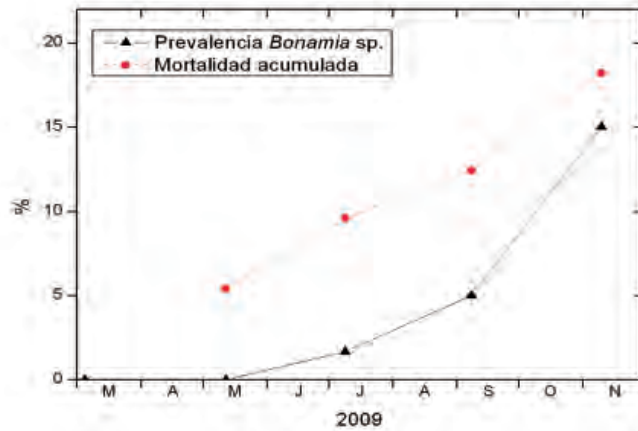


Figura 1.- Evolución de la prevalencia de la bonamiosis y de la mortalidad finita acumulada de las ostras (*Ostrea edulis*) en el ciclo de cultivo desarrollado en 2009.

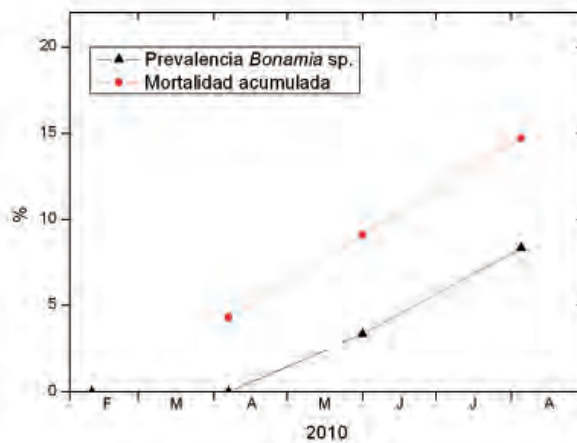


Figura 2.- Evolución de la prevalencia de la bonamiosis y de la mortalidad finita acumulada de las ostras (*Ostrea edulis*) en el ciclo de cultivo desarrollado en 2010.

Discusión

Los resultados de la dinámica de la infección por bonamiosis fueron coherentes con lo descrito en trabajos previos. Los 4 meses transcurridos desde la inmersión de los lotes de ostra “libres” de bonamiosis (entendiendo por libres aquellos en los que no se observaron mediante histología infecciones originadas por *Bonamia* sp.) hasta la detección de la enfermedad se encuentran comprendidos dentro del período de latencia de la infección de 3 a 6 meses previamente descrito para *B. ostreae* en las rías gallegas (Montes, 1991) y de 4-5 meses encontrado por Tigé y Grizel (1984) en aguas francesas. A partir del momento de la detección del parásito, y hasta que se toma la decisión de finalizar el cultivo, las prevalencias y la mortalidad aumentaron progresivamente de forma sostenida y pareja. La relación entre niveles de bonamiosis y tasas de mortalidad es clara y ha sido ampliamente documentada (Montes *et al.*, 1992; 2003). En zonas donde la presión por la bonamiosis es importante, la interrupción del cultivo una vez que las prevalencias alcanzan niveles significativos constituye una herramienta de gestión que permite controlar los niveles de mortalidad en unas cifras que se pueden entender como “soportables” de cara al rendimiento económico de la explotación (Montes *et al.*, 2003). En el presente estudio los valores máximos de mortalidad acumulada asumidos por el ostricultor se situaron entre el 15 y el 20%. Estos valores se alcanzaron con prevalencias de la enfermedad que oscilaron entre el 8 y el 15%.

De lo anterior se deriva que existen dos aspectos clave de cara al éxito del cultivo: (1) partir de ostras libres de bonamiosis y (2) determinar qué niveles de prevalencia causan mortalidades por encima del máximo económicamente soportable, con el fin de confeccionar modelos de análisis del riesgo que ayuden a la toma de decisiones.

Con respecto al primer punto se han producido avances importantes en los últimos años en lo que se refiere al desarrollo, puesta a punto y validación de técnicas de diagnóstico moleculares de elevada sensibilidad que las hace muy adecuadas para la determinación de que un lote está libre de la enfermedad (Balseiro *et al.*, 2006). Cabe resaltar, sin embargo, que la técnica histológica no resulta prescindible, especialmente en los estudios de seguimiento epidemiológico, ya que se trata de una técnica de amplio espectro que permite la diagnosis de otras patologías y condiciones del organismo. Aspecto que resulta fundamental considerando que se han descrito otras enfermedades como la neoplasia diseminada asociadas a mortalidad en ostra plana de las rías gallegas (Carballal *et al.*, 2010).

En cuanto al segundo aspecto, este trabajo constituye una primera aproximación a esta idea, si bien, la asociación entre prevalencia y mortalidad va a estar modulada por otros factores, comprendidos en la tríada epidemiológica de interacción entre hospedador, parásito

y ambiente, que también deberían ser analizados e integrados en el modelo para definir escenarios de riesgo más ajustados a la realidad. Cabe destacar, por ejemplo, como líneas futuras de investigación: la influencia de factores ambientales, como la temperatura, en la asociación prevalencia de bonamiosis y mortalidad; y aspectos del parásito, como virulencia y patogenicidad, que deben ser retomados ante la aparición en escena de la especie exótica *Bonamia exitiosa* en aguas gallegas.

Conclusiones

Los resultados sugieren que, actualmente, en Galicia el cultivo de ostra plana puede ser rentable si se parte de ostra importada en la que no se detecte la enfermedad en el momento de su introducción y que presente una talla inicial que permita alcanzar la comercial en ciclos de cultivo de entre 6 y 8 meses de duración. La clave del éxito reside en la información aportada por el diagnóstico inicial de las partidas introducidas y en el desarrollo de un seguimiento epidemiológico posterior del cultivo con el fin de proporcionar información útil para la toma de decisiones fundamentadas en el análisis de riesgo. Es necesario avanzar en el estudio de diferentes aspectos patológicos de la bonamiosis que permitan la definición de escenarios de riesgo realistas y útiles para la toma de decisiones.

Agradecimientos

Al ostricultor César García por su inestimable cooperación en las labores de cultivo en batea. A M^a Isabel Meléndez, Elena Penas, Sonia Balsa y Raquel Alves, por el procesamiento histológico de las ostras y su colaboración en los muestreos.

Bibliografía

- Abollo E., Ramilo A., Casas S.M., Comesaña P., Cao A., Carballal M.J., Villalba A. 2008. First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. *Aquaculture*, 274: 201-207.
- Andreu B. 1968. Pesquería y cultivo de mejillones y ostras en España. *Publ. Téc. Junta Est.*

Pesca, 7: 303-320.

- Balseiro P., Fernández Conchas R., Montes J., Gómez-León J., Novoa B., Figueras A. 2006. Comparison of diagnosis techniques for the protozoan parasite *Bonamia ostreae* in flat oyster *Ostrea edulis*. *Aquaculture*, 261: 1135-1143.
- Carballal M.J., Díaz S., Iglesias D., Villalba A. 2010. Significance of disseminated neoplasia and infection by *Bonamia exitiosa* for oyster *Ostrea edulis* culture in Galicia (NW Spain). *European Aquaculture Society Publication*, 170: 274-275.
- Krebs C.J. 1989. *Ecological Methodology*. 1st Ed. Harper Collins Publishers. 654 pp.
- Laing I., Walker P., Areal F. 2006. Return of the native - is European oyster (*Ostrea edulis*) stock restoration in the UK feasible? *Aquatic Living Resources*, 19: 283-287.
- Mann R., Powell E.N. 2007. Why oyster restoration goals in the Chesapeake Bay are not and probably cannot be achieved. *Journal of Shellfish Research* 26 (4): 905-917.
- Montes J. 1991. Lag time for the infestation of flat oyster (*Ostrea edulis* L.) by *Bonamia ostreae* in estuaries of Galicia (NW Spain). *Aquaculture*, 93: 235-239.
- Montes J., Carballal M.J., López M.C., Mourelle S.G. 1992. Incidence of bonamiosis in flat oyster, *Ostrea edulis* L., cultured in Galicia (N.W. Spain). *Aquaculture*, 107: 189-192.
- Montes J., Ferro-Soto B., Conchas R.F., Guerra A. 2003. Determining culture strategies in populations of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, affected by bonamiosis. *Aquaculture*, 220: 175-182.
- Polanco E., Montes J., Outon J., Melendez M.I. 1984. Situation pathologique du stock d'huîtres plates en Galice (Espagne) en relation avec *Bonamia ostreae*. *Haliotis*, 14: 91-95.
- Tigé G., Grizel H. 1984. Essai de contamination d'*Ostrea edulis* L. par *Bonamia ostreae* (Pichot *et al.*, 1979) en rivière de Crach (Morbihan). *Rev. Trav. Inst. Peches Marit.*, 46: 307-314.
- Xunta de Galicia. 1992. Plan de Ordenación dos Recursos Pesqueiros e Marisqueiros de Galicia. Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura. 874 pp.

VIABILIDAD DEL CULTIVO DE OSTRA PLANA *Ostrea edulis* EN GALICIA EN ZONAS AFECTADAS POR BONAMIOSIS

J. MONTES, D. IGLESIAS & A. GUERRA

Centro de Investigaciones Maritimas (CIMA), Pedras de Corón, Apdo. 13, 36620, Allarova de Arousa, Pontevedra, Spain.



INTRODUCCION

La bonamiosis es una enfermedad infecciosa originada por parásitos haplosporidios del género *Bonamia* (Fig. 1). En Galicia causa mortalidades masivas de ostra plana durante el segundo año de cultivo (Montes et al., 1992). Como consecuencia, la industria ostrícola se ha visto obligada a modificar su actividad productiva hacia una estrategia de supervivencia basada en la reducción de los tiempos de cultivo mediante la introducción de ostras de tamaño próximo al comercial procedentes de otros países (Montes et al., 2003). Esta modalidad entraña graves riesgos desde el punto de vista patológico pero parece actualmente la única alternativa viable a corto y medio plazo.

Con el fin de optimizar el rendimiento de los cultivos se propone incluir la información epidemiológica entre las variables contempladas para la toma de decisiones. Se trataría, en definitiva, de desarrollar estrategias de cultivo fundamentales en el análisis del riesgo patológico asociado a la bonamiosis. En este sentido se plantea el trabajo que se presenta, en el cual se analizó la evolución de la prevalencia de la bonamiosis en dos ciclos de cultivo cortos llevados a cabo por un ostricultor profesional en la Ria de Arousa durante 2009 y 2010, con el fin de determinar los niveles de enfermedad asociados a la máxima mortalidad económicamente soportable en un cultivo comercial.

RESULTADOS

El seguimiento patológico del cultivo desarrollado en 2009 implicó el análisis histológico de 270 ostras. No se detectaron parásitos del género *Bonamia* ni en el control inicial ni en el primer muestreo de seguimiento, encontrándose en baja prevalencia en los siguientes muestreos, hasta alcanzar una prevalencia máxima del 15,0% a la finalización del cultivo. La mortalidad inicial, en tanto no se detectaron infecciones por *Bonamia* sp., fue de apenas el 5,0%. A partir de la detección de la enfermedad, la mortalidad incrementa progresivamente hasta alcanzar valores del 18,2% de mortalidad acumulada a la finalización del cultivo (Fig. 2). En el ciclo de cultivo efectuado en 2010 se analizaron por histología un total de 210 ostras. Al igual que en la experiencia anterior, no se detectó *Bonamia* sp. ni en el control inicial ni en el primer control de seguimiento, detectándose con una prevalencia del 3,3% a los 4 meses y alcanzando el 8,3% al finalizar el cultivo. La mortalidad siguió una evolución similar a la de la experiencia de 2009, incrementando progresivamente desde el momento de detección de la enfermedad y alcanzando valores de mortalidad acumulada del 14,7% al final de la experiencia (Fig. 3).

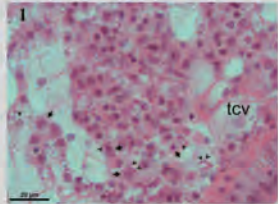


Fig. 1: Parásitos *Bonamia* sp. (puntas de flecha) en el interior de hemocitos (flechas) y libres en tejido conjuntivo vesicular (tcv) de ostra plana *Ostrea edulis*.

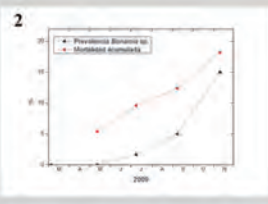


Fig. 2: Evolución de la prevalencia de la bonamiosis y de la mortalidad finita acumulada de las ostras (*Ostrea edulis*) en el ciclo de cultivo desarrollado en 2009.

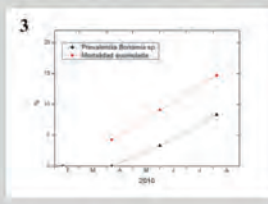


Fig. 3: Evolución de la prevalencia de la bonamiosis y de la mortalidad finita acumulada de las ostras (*Ostrea edulis*) en el ciclo de cultivo desarrollado en 2010.

CONCLUSIONES

Tras la inmersión, la bonamiosis suele comenzar a detectarse por histología en torno a los 4 meses de cultivo. A partir del momento de la detección del parásito las prevalencias aumentan progresivamente al igual que la mortalidad. La interrupción del cultivo una vez que las prevalencias alcanzan niveles significativos constituye una herramienta de gestión que permite controlar los niveles de mortalidad. Actualmente, en Galicia el cultivo de ostra plana puede ser rentable si se parte de ostra importada en la que no se detecte la enfermedad en el momento de su introducción y que presente una talla inicial que permita alcanzar la comercial en ciclos de cultivo de entre 6 y 8 meses de duración. La clave del éxito reside en la información aportada por el diagnóstico inicial de las partidas introducidas y en el desarrollo de un seguimiento epidemiológico posterior del cultivo con el fin de proporcionar información útil para la toma de decisiones fundamentales en el análisis de riesgo. Este trabajo constituye una primera aproximación a esta idea, si bien, la asociación entre prevalencia y mortalidad va a estar modulada por otros factores, comprendidos en la tríada epidemiológica de interacción entre hospedador, parásito y ambiente. Es necesario avanzar en el estudio de diferentes aspectos patológicos de la bonamiosis que permitan la definición de escenarios de riesgo realistas y útiles para la toma de decisiones.

BIBLIOGRAFÍA

Montes, J., Carballal, M.J., López, M.C., Mourelle, S.G. 1992. Incidence of bonamiasis in flat oyster, *Ostrea edulis* L., cultured in Galicia (N.W. Spain). *Aquaculture* 107: 189-192.

Montes, J., Ferro-Soto, B., Conchas, R.F., Guerra, A. 2003. Determining culture strategies in populations of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, affected by bonamiasis. *Aquaculture* 220: 175-182.

AGRADECIMIENTOS:

Al ostricultor César García por su inestimable cooperación en las labores de cultivo en batea. A M^ª Isabel Meléndez, Elena Pemas, Sonia Balsa y Raquel Alves, por el procesamiento histológico de las ostras y su colaboración en los muestreos. Este estudio fue financiado por la Consellería do Mar, Xunta de Galicia.

Índice de autores

Acién F.G.	163
Afonso A.	147
Aguirre P.	237
Alves C.	109
Alves M.R.	171
Ancosmede C.	197, 409
Andrade G.	101
Antulio P.	357
Aponte A.	349
Aragão C.	145
Araújo A.	171
Araujo R.	227
Barbosa C.	171
Batista S.	215
Bilbao A.	203
Blanco Y.	445
Borges M.T.	179, 223
Brito A.	227
Cal R.M.	155
Calado P.	101
Calheiros C.	179
Carballal M.J.	435
Cárdenas S.	37
Cardoso C.	367
Carreira G.	227
Carvalho D.	135
Casal A.	261
Castro P.M.L.	179
Castro-Cunha M.	147
Cedeño A.	349
Centeno L.	445
Cerejo M.	101
Cipriani R.	357
Conceição L.E.C.	145
Conteras R.	357
Cortina-Burgueño A.	163

Costa S.R.R.....	187
Costas B.	145, 147, 215
Costas D.....	261
Costoya N.....	261
Cova M.....	421
Cremades J.....	197
Chaguri M.P.	187
Chung K.	349
De la Gándara F.....	49
De Santiago J.A.	409
Díaz- Ramos J.R.	421
Díaz S.....	435
Dinis M.T.	59, 145
Domingues J.M.....	223
Domínguez J.	197
Domínguez Jurado J.M.	269
Feijó D.....	383
Fernández Aldana J.M.	127
Ferreiro P.....	327
Fonseca S.	297
Freire I.....	163, 251
García L.	281
Gaspar M.B.	23
Gómez C.	155
Gonçalves J.F.	215
González A.....	237
González A.....	281
González N.....	203
González-Henríquez N.....	227, 305
Guerra A.....	409, 453
Guerrero S.....	197
Hernández-Otero A.	327
Ho J.	435
Horta A.....	109
Iglesias D.	453
Iglesias J.....	155
Isea León F.....	237
Jesus J.M.....	179, 223

Jiménez García M.	269
Joaquim S.	23
Jorge P.A.S.	223
Lago M.J.	155
Lastres M.	409
Leis R.	65
Leitão A.	23
Lemus M.	349, 445
Lodeiros C.	357
Lourenço M.S.	187
Louzara G.	203, 305
Macho G.	327
Madinabeitia I.	435
Mancera J.M.	37, 399
Manent P.	227
Marçalo A.	383
Marques J.F.	147
Martínez-Castro C.	327
Martins A.R.	101
Martos-Sitcha J.A.	399
Marujo V.	215
Matias D.	23
Medina A.L.	237
Montes J.	453
Moreira F.	135
Nascimento P.	163
Nunes M.L.	187, 367
Olgúin E.J.	115
Otero A.	91, 163, 251
Otero J.J.	155
Ozório R.	215
Pavón N.	203
Pedrosa R.	109
Peixoto J.A.A.	187
Peña J.	89
Pereira C.M.	223
Pérez Y.	203
Pérez-Diéguez L.	227

Pérez L.G.	357
Pérez-Martín R.I.	337
Pimenta I.	377
Pinheiro C.	297
Pinheiro R.	101, 135, 297, 377
Pinteus S.....	109
Pinto W.....	145
Pujante I.M.....	399
Quinteiro J.....	227, 337
Ramos B.....	215
Ramos M.A.	215
Rema P.	215
Rey-Méndez M.	203, 227, 337
Rial L.	237
Rivas M.C.	409
Rivera L.	261
Rodrigues A.	109
Rodrigues C.	101
Rodríguez-Castro J.....	227
Rojas de Astudillo L.....	421
Romero M.	91
Ruiz de la Rosa M.....	305
Ruiz M.	203
Ruiz-Jarabo I.....	399
Salazar-Lugo R.	349, 445
Sánchez A.....	337
Sánchez F.J.....	155
Sant’ Ana L.....	187, 289
Seixas P.....	89, 251
Silva A.....	383
Simões I.	109, 147
Soares S.....	289
Sotelo C.....	337
Subero-Pino S.	421
Tecelão C.	109
Tojo R.....	65
Torres-Machado A.	327
Vargas A.	445

Vaz Velho M.....	297, 377
Vaz-Pires P.	289
Vázquez E.	327
Vieira H.	101
Villalba A.	435
VillanuevaA.G.	261
Vingada J.	383
Xavier L.S.	187

